

PRODUÇÃO DE POLI-HIDROXIBUTIRATO (PHB) POR BACTÉRIAS DE MANGUEZAL UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS HIDROLISADOS POR CO-FERMENTAÇÃO

Lucas Gabriel Martins Carvalho⁴ (PIBIC EM/ CNPq); Jady Ayescka Santos Figueiredo⁴ (PIBIC EM/ CNPq), Pedro Henrique da Silva Rodrigues^{1,2,3} (PIBIC/CNPq); Rodrigo de Oliveira Santana^{3,5}, Helena de Almeida Cerqueira Kodel^{2,3}, Maria Lucila Hernández Macedo^{2,3,5} (Orientador)
Pedrohenri.biomed@gmail.com;

¹Universidade Tiradentes/Biomedicina/Aracaju/SE.

²Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Renorbio, Universidade Tiradentes

³Instituto de Tecnologia e Pesquisa – Laboratório de Biologia Molecular/Aracaju/SE.

⁴Centro De Excelência De Educação Profissional José Figueiredo Barreto/Aracaju/SE.

⁵Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Universidade Tiradentes/Aracaju/SE.

2.00.00.00-6 - Ciências Biológicas; 2.12.00.00-9 – Microbiologia

RESUMO

Introdução: O poli-hidroxi-butilato (PHB) é um biopolímero biodegradável e biocompatível pertencente à família dos polihidroxi-alcanoatos (PHAs), produzido por diferentes microrganismos sob condições de limitação nutricional e excesso de carbono. Por apresentar propriedades físico-químicas semelhantes às dos plásticos petroquímicos, o PHB se destaca como uma alternativa promissora e sustentável, contribuindo para a mitigação dos impactos ambientais causados pelo acúmulo de resíduos plásticos. Entretanto, o elevado custo das fontes de carbono utilizadas, como glicose, xilose e arabinose, ainda representa um desafio para sua viabilidade em escala industrial. Assim, identificar cepas microbianas com potencial para produção de PHB destaca uma etapa essencial no desenvolvimento de bioprocessos mais sustentáveis. Objetivo: Avaliar o potencial de produção de poli-hidroxi-butilato (PHB) por *Pseudomonas* sp. 5CR por meio de testes colorimétricos com Azul de Nilo e Sudan Black. Metodologia: O discente do ensino médio acompanhou as seguintes etapas metodológicas: reativação da cepa bacteriana *Pseudomonas* sp. 5CR e, isolada de manguezal em meio ágar nutriente a 28 °C por 24 h. Em seguida, foi verificada a presença de grânulos intracelulares de PHB através dos testes colorimétricos com Sudan Black B e Azul de Nilo. A coloração com Sudan Black foi realizado utilizando o corante a 0,02% em etanol 95%, o qual foi adicionado às colônias bacterianas previamente cultivada (48 h a 28 °C) . Para o teste com Azul de Nilo, o corante foi incorporado ao meio de cultivo na concentração de 0,25 mg/mL (0,4% v/v em dimetilsulfóxido), após incubação por 48 h a 28 °C, as placas foram expostas à radiação ultravioleta a 312 nm para observação da fluorescência. Resultados: A cepa *Pseudomonas* sp. 5CR apresentou fluorescência indicando acúmulo intracelular de PHB pelo teste com Azul de Nilo. No ensaio com Sudan Black B, observou-se retenção do corante após o processo de descoloração, evidenciando a capacidade da bactéria em sintetizar PHB. Esses resultados demonstram que a cepa *Pseudomonas* sp. 5CR apresenta potencial para produção de biopolímeros, podendo ser empregada em etapas futuras de cultivo utilizando substratos de origem agroindustrial. Este trabalho foi desenvolvido com a participação de estudantes do Ensino Médio vinculados ao programa de iniciação científica (PIBIC EM/ CNPq), destacando a relevância desta iniciativa que promovem o envolvimento precoce de alunos de ensino médio com a pesquisa científica . A experiência proporcionou aos estudantes a oportunidade de vivenciar práticas laboratoriais e compreender a importância da biotecnologia aplicada à sustentabilidade, incentivando a formação de jovens pesquisadores comprometidos com a ciência e o meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Biopolímero, Economia circular, *Pseudomonas* sp., Poli-hidroxibutirato (PHB).

ABSTRACT

Introduction: Polyhydroxybutyrate (PHB) is a biodegradable and biocompatible biopolymer belonging to the polyhydroxyalkanoate (PHA) family, produced by different microorganisms under conditions of nutrient limitation and carbon excess. Due to its physicochemical properties similar to those of petrochemical plastics, PHB stands out as a promising and sustainable alternative, contributing to the mitigation of environmental impacts caused by the accumulation of plastic waste. However, the high cost of carbon sources such as glucose, xylose, and arabinose still poses a challenge to its feasibility on an industrial scale. Therefore, identifying microbial strains with the potential for PHB production represents an essential step in developing more sustainable bioprocesses. Objective: To evaluate the polyhydroxybutyrate (PHB) production potential of *Pseudomonas* sp. 5CR through colorimetric tests using Nile Blue and Sudan Black. Methodology: The high school student followed the following methodological steps: reactivation of the bacterial strain *Pseudomonas* sp. 5CR, isolated from mangrove sediment, in nutrient agar medium at 28 °C for 24 h. Subsequently, the presence of intracellular PHB granules was verified through colorimetric tests with Sudan Black B and Nile Blue. The Sudan Black staining was performed using a 0.02% dye solution in 95% ethanol, which was added to the previously cultivated bacterial colonies (48 h at 28 °C). For the Nile Blue test, the dye was incorporated into the culture medium at a concentration of 0.25 mg/mL (0.4% v/v in dimethyl sulfoxide). After incubation for 48 h at 28 °C, the plates were exposed to ultraviolet radiation at 312 nm for fluorescence observation. Results: The *Pseudomonas* sp. 5CR strain exhibited fluorescence, indicating intracellular PHB accumulation in the Nile Blue test. In the Sudan Black B assay, dye retention was observed after the decolorization process, confirming the bacterium's ability to synthesize PHB. These results demonstrate that the *Pseudomonas* sp. 5CR strain shows potential for biopolymer production and may be used in future cultivation stages employing agro-industrial substrates. This work was developed with the participation of high school students involved in the Scientific Initiation Program (PIBIC EM/CNPq), highlighting the relevance of this initiative in promoting early engagement of high school students in scientific research. The experience provided students with the opportunity to perform laboratory practices and understand the importance of biotechnology applied to sustainability, encouraging the formation of young researchers committed to science and the environment.

KEYWORDS: Biopolymer, Circular economy, *Pseudomonas* sp., Polyhydroxybutyrate (PHB).