

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta dissertação
será disponibilizado somente a partir
de 02/06/2026.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**Produção e caracterização de PHB sintetizado por *Escherichia coli*
modificada utilizando melação como fonte de carbono.**

MATHEUS VICTOR MASO LACÔRTE E SILVA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

Produção e caracterização de PHB sintetizado por *Escherichia coli* modificada utilizando melão como fonte de carbono.

MATHEUS VICTOR MASO LACÔRTE E SILVA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Orientador: Dr. Jonas Contiero

Co-orientadora: Dra. Rayane da Silva

S586e Silva, Matheus Victor Maso Lacôrte e
Produção e caracterização de PHB sintetizado por
Escherichia coli modificada utilizando melão como fonte de
carbono. / Matheus Victor Maso Lacôrte e Silva. -- Rio Claro,
2024
79p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Jonas Contiero
Coorientadora: Rayane da Silva
1. Polihidroxibutirato. 2. Escherichia coli. 3. melão. 4.
Burkholderia glumae. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados
fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Produção e caracterização de PHB sintetizado por Escherichia coli modificada utilizando melação como fonte de carbono

AUTOR: MATHEUS VICTOR MASO LACÔRTE E SILVA

ORIENTADOR: JONAS CONTIERO

COORIENTADORA: RAYANE DA SILVA VALE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **JONAS CONTIERO**
Data: 25/02/2025 16:09:49-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. JONAS CONTIERO (Participação Presencial)
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Unesp - IB Rio Claro

Prof. Dr. JOSÉ GREGÓRIO CABRERA GOMEZ (Participação Presencial)
Departamento de Microbiologia / USP

Prof. Dr. MICHEL BRIENZO (Participação Presencial)
Laboratório de Caracterização de Biomassa / Instituto de Pesquisa em Bioenergia- IPBEN

Rio Claro, 02 de dezembro de 2024

Este trabalho é dedicado a meus bisavós maternos Maximino Pontoglio e Amélia Roma Pontoglio. Espero trazer o mesmo orgulho que meu pai trouxe a vocês.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todas as pessoas que me apoiaram ao longo da minha trajetória e contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e científico. Porém, gostaria de expressar um agradecimento especial a algumas delas.

Agradeço a meus pais Victor Manoel Lacôrte e Silva e Marilene Maso Lacôrte e Silva, só consegui chegar aonde estou e me tornar quem sou graças aos ensinamentos e ao apoio de vocês. Vocês são meus pilares morais e críticos, e, independentemente da distância, estarão sempre comigo.

Quero expressar minha imensa gratidão a minha noiva Odaiza da Silva. Amor, essa jornada está apenas começando, mas sei que será bem mais fácil com você ao meu lado. Você sempre soube exatamente o que dizer para me animar, acalmar e motivar, e sou imensamente grato por tê-la em minha vida. O futuro pode ser incerto, mas com você ao meu lado, sei que tudo será muito melhor. Agradeço a minha sogra Doraci de Lourdes Silva e minha cunhada Jessica Larissa da Silva, me proporcionarem momentos tão felizes juntos, sou profundamente grato.

Dedico um agradecimento especial ao meu orientador professor Doutor Jonas Contiero. O senhor me acolheu em um momento em que eu estava sem rumo e me apresentou a área na qual quero seguir carreira e me aperfeiçoar cada vez mais. Agradeço por me orientar e por estar sempre disponível para ajudar, com tanto carinho e alegria. O senhor fez toda a diferença na minha vocação, e o considero um exemplo a ser seguido. Por isso, sou eternamente grato.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão aos professores Dr. Rodolfo Debone Piazza, Dr. José Gregorio Cabrera Gomez, Dr. Fábio Herbst Florenzano e Dr. Fabio Simões de Vicente, cujos apoios foram fundamentais na realização das caracterizações e na compreensão de cada processo.

Quero agradecer aos meus colegas de laboratório pelas conversas, risadas, ajuda e apoio. Vocês tornam cada dia único. Em especial, gostaria de agradecer a quatro pessoas: à Doutora Rayane da Silva Vale, pela paciência em me orientar e por sempre estar disposta a ajudar quando necessário; à Mestre Ingrid Yoshimura, que, mesmo a muitos quilômetros de distância, continua sendo a pessoa que mais me apoiou e esteve presente em todos os momentos; ao meu IC Pedro Henrique Araujo Leal, que, apesar de recente no laboratório, me ajudou muito a concluir minha pesquisa; e ao Mestre Adriano Uemura de Faria, a pessoa mais inteligente

que conheci, que me fez entender muito mais sobre o meu projeto e minha pesquisa. Obrigado por tudo que fizeram ao longo da minha jornada.

Quero registrar minha sincera gratidão ao Me. Mateus Manabu Abe, Renato Henrique Calore e ao Joneclei Alves Barreto por todo apoio, discussões de ideias e ajuda na realização do meu projeto.

Agradeço também aos meus amigos fora da faculdade: João Pedro De Mattia Riccitelli; Pedro Victhor Vêras do Nascimento; Arthur Bruck; Mateus Aparecido Gonçalves Rocha e Bruno Victor Viciania. Mesmo a distância ou tomando caminhos diferentes, estamos sempre próximos, trocando ideias, sentimentos e muitas risadas. Obrigado por serem parte tão importante da minha trajetória. A amizade de vocês é um presente que levarei comigo sempre.

Gostaria de agradecer à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, câmpus de Rio Claro, SP e aos professores e colaboradores da pós-graduação. Instituição em que tenho um imenso orgulho de fazer parte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“De tanto ver triunfar as nulidades, de tanto ver prosperar a desonra, de tanto ver crescer a injustiça, de tanto ver agigantarem-se os poderes nas mãos dos maus, o homem chega a desanimar da virtude, a rir-se da honra, a ter vergonha de ser honesto”.

(Rui Barbosa, 1914)

RESUMO

Plásticos de origem petroquímica tem se tornado um recurso obrigatório à humanidade, porém, essa dependência gera grandes problemas ambientais e de saúde humana. Uma das soluções para essa situação é o plástico biodegradável de origem microbiana, por exemplo o Polihidroxibutirato (PHB), um biopolímero renovável, biodegradável, biocompatível e biocompostável, com características térmicas e mecânicas maleáveis dependendo do seu uso. Este produto é de grande interesse médico, podendo ser usado em implantes e *drug delivery*, assim como *scaffolds* na engenharia de tecidos, membranas e filmes. Apesar de todas essas vantagens, seu custo de produção é elevado e os filmes de PHB ainda não são muito bem estudados considerando todo o seu potencial, necessitando de mais pesquisas focadas na área de redução dos custos da produção, caracterização e formação de filmes a partir de polihidroxialcanoatos. O presente trabalho tem como objetivo analisar o consumo e crescimento em meio de melaço, a otimização e produção de PHB, e caracterizar, de forma mecânica, química e morfológicamente, os filmes de PHB formados pela *Escherichia coli* denominada DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* para produção de PHB e consumo de sacarose, comparando-os com a produtora natural *Burkholderia glumae* denominada MA13. A cepa DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* foi capaz de consumir sacarose, glicose e frutose presente no melaço, obtendo um μ_{max} maior que a produtora natural MA13. Análises no GC-MS comprovaram que ambas as cepas produziram filmes de PHB. Esses filmes foram caracterizados utilizando 3 técnicas, a Análise Termogravimétrica (TGA), onde os filmes produzidos pela DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* revelaram polímeros com ponto de degradação irreversível em 293,7°C, e maior taxa de degradação em 318,7°C. Já as análises feitas nos filmes formados pela MA13, revelaram polímeros com ponto de degradação irreversível em 293,2°C, e maior taxa de degradação em 314,3°C. A Espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR), onde os espectros dos polímeros extraídos de ambas as cepas revelaram bandas de absorção típicas de PHAs. E Potencial Zeta, obtendo os pontos isoelétricos dos filmes produzidos pela DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* e MA13 nos pHs 2,75 e 3,40, respectivamente.

Palavras-chave: Polihidroxibutirato, *Echerichia coli*, melaço, *Burkholderia glumae*

ABSTRACT

Petrochemical-based plastics have become an essential resource for humanity; however, this dependency creates significant environmental and human health problems. One solution to this issue is microbial-based biodegradable plastic, such as Polyhydroxybutyrate (PHB), a renewable, biodegradable, biocompatible, and compostable biopolymer with thermal and mechanical properties that can be tailored depending on its application. This product holds significant medical interest, with potential uses in implants, drug delivery, as well as scaffolds in tissue engineering, membranes, and films. Despite all these advantages, its production cost is high, and PHB films are still not well-studied considering their full potential, requiring more research focused on reducing production costs, characterization, and film formation from polyhydroxyalkanoates. This study aims to analyze the consumption and growth in molasses medium, optimization and production of PHB, and to characterize, mechanically, chemically, and morphologically, the PHB films formed by *Escherichia coli* strain DH5 α cscBKAint.:pBR1MC-2::phaCAB for PHB production and sucrose consumption, comparing them with the natural producer *Burkholderia glumae* strain MA13. The DH5 α cscBKAint.:pBR1MC-2::phaCAB strain was able to consume sucrose, glucose, and fructose present in molasses, achieving a higher μ_{max} than the natural producer MA13. GC-MS analysis confirmed that both strains produced PHB films. These films were characterized using three techniques: Thermogravimetric Analysis (TGA), where the films produced by DH5 α cscBKAint.:pBR1MC-2::phaCAB revealed polymers with an irreversible degradation point at 293.7°C and the highest degradation rate at 318.7°C. The analysis of the films formed by MA13 revealed polymers with an irreversible degradation point at 293.2°C and the highest degradation rate at 314.3°C. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), where the spectra of polymers extracted from both strains revealed typical absorption bands of PHAs. And Zeta Potential, obtaining the isoelectric points of the films produced by DH5 α cscBKAint.:pBR1MC-2::phaCAB and MA13 at pHs 2.75 and 3.40, respectively.

Key-words: Polyhydroxybutyrate, *Echerichia coli*, molasses, *Burkholderia glumae*

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. JUSTIFICATIVA	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 Geral.....	24
3.2 Específicos	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Cepas bacterianas	25
4.2 Curva de crescimento com leitor de placas	25
4.3 Perfil de crescimento utilizando CGQ (<i>Cell Growth Quantifier</i>).....	25
4.4 Análise da superfície de resposta	26
4.5 Cultivo.....	28
4.5.1 Cultivo em <i>Lysogenic Broth</i> (LB)	28
4.5.2 Cultivo em meio mínimo M9	28
4.5.3 Cultivo em Biorreator	29
4.6 Métodos Analíticos	30
4.6.1 Quantificação do Melaço por <i>High performance liquid chromatography</i> (HPLC).....	30
4.6.2 Quantificação do PHB.....	30
4.7 Produção e caracterização dos filmes de PHB.....	32
4.7.1 Espectroscopia na região do Infravermelho.....	33
4.7.2 Analisador Termogravimétrico (TGA) e Termogravimetria Derivativa (DTG).....	33
4.7.3 Potencial Zeta	33
4.8 Análise comparativa	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Curva de Crescimento com leitor de placas	35
5.2 Perfil de crescimento utilizando CGQ (<i>Cell Growth Quantifier</i>).....	36
5.3 Análise da superfície de resposta.....	43
5.4 Cultivo.....	45
5.5 Análise no HPLC	45
5.6 Quantificação do PHA produzido.....	48
5.7 Formação e caracterização dos filmes	51
5.7.1 Espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR).....	51

5.7.2 Analisador Termogravimétrico	57
5.7.3 Potencial Zeta	60
6. CONCLUSÃO	64
7. REFERÊNCIAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

Os plásticos, devido às suas vantagens em custo, capacidade de processamento e propriedades como leveza, impermeabilidade e flexibilidade, tiveram seu uso intensificado com o crescimento exponencial da população humana, consolidando-se como elementos essenciais na sociedade moderna (PHANISANKAR; RAO; MANIKANTA, 2020). Esses materiais são inertes, resistentes à decomposição e altamente duráveis, podendo ser moldados em diferentes tamanhos e formatos para uma variedade de finalidades. Observa-se uma expansão exponencial na aplicação de plásticos, sendo os mais comuns o polietileno, poliestireno, cloreto de polivinila, polipropileno e tereftalato de polietileno. Seu uso abrange uma ampla gama de setores industriais, tais como médica, alimentícia, construção civil, transporte, residências, embalagens e recipientes, esses últimos representando até 40% de todo plástico produzido. Desde 1950 até 2024, a produção mundial de plásticos atingiu 5.619,1 milhões de toneladas (Mt), aumentando de 1,5 Mt/ano em 1950 para 413,8 Mt/ano em 2024. Em contrapartida, os plásticos de base biológica ou biodegradáveis representaram aproximadamente 2,9 Mt da produção total de 2024 (PLASTICS EUROPE, 2024; HAQUE et al., 2023; BAHL et al., 2021; GROH et al., 2019).

Toda a cadeia produtiva do plástico pode ser prejudicial ao meio ambiente de alguma forma. Anualmente, cerca de 1 bilhão de barris de petróleo são consumidos na fabricação de plásticos. Considerando que o petróleo é um recurso não renovável, o seu uso na produção de plásticos pode competir com outras finalidades, como a produção de combustíveis, óleos e gases para aquecimento, à medida que o setor de refino prioriza determinadas demandas em detrimento de outras (ELVIN, 2015).

Em 2023, Ohio testemunhou um dos mais graves desastres naturais nos Estados Unidos. Um descarrilamento de trem transportando produtos químicos e combustíveis resultou na dispersão dessas substâncias. Entre elas, destaca-se o cloreto de vinila, um gás tóxico e inflamável, usado principalmente para a produção do policloreto de vinila (PVC), um polímero sintético de plástico (HAUSER, 2023). Os plásticos não são biodegradáveis e tem uma decomposição natural muito lenta, com tempo estimado de mais 100 anos. Como resultado, eles não retornam facilmente ao ciclo natural do carbono, sendo descartados em aterros, instalações de descarte de

resíduos e nos oceanos, ameaçando o meio ambiente, lençóis freáticos e o ecossistema em que se encontram (PHANISANKAR; RAO; MANIKANTA, 2020).

De todo plástico consumido e descartado, somente 23,3% é tratado, sendo: 9% reciclado ou recuperado quimicamente, 19% incinerados, 50% enterrado em aterros e 22% destinados a ações ilegais, como descarte em aterros irregulares ou queimados de maneira indevida (OECD 2022).

Exceto pela reciclagem, todos os processos de tratamento dos plásticos têm impactos ambientais, mas a reciclagem apresenta suas próprias limitações. Na reciclagem mecânica, os resíduos plásticos são triturados e derretidos, para produzir novos materiais. Porém, esse processo gradualmente compromete as propriedades físico-químicas do material. A falta de separação e limpeza adequada dos tipos de plásticos antes da trituração pode resultar em produtos finais que não possuem todas as propriedades esperadas. Enquanto a reciclagem química é um processo complexo, necessitando de alto consumo energia e enfrenta desafios com as impurezas presentes nos resíduos plásticos (DAVIDSON; FURLONG; MCMANUS, 2021; KAMINSKY, 2021).

Por outro lado, a incineração dos plásticos é um processo de preferência em contextos industriais e países com restrição de espaço ou infraestrutura de descarte/reciclagem adequados. Isso ocorre graças a geração de energia pela queima dos plásticos, comparável à dos combustíveis fósseis. Possibilitando a conversão de resíduos em energia, ao mesmo tempo em que reduz a massa e o volume dos resíduos plásticos. No entanto, esse processo gera uma variedade de gases tóxicos como o furano e dioxina, que contribuem para efeito estufa e a destruição da camada de ozônio, além de causarem sérios problemas na saúde humana (KIBRIA et al., 2023; BAHL et al., 2021; PHANISANKAR; CHEN; WANG; ZHANG, 2021; RAO; MANIKANTA, 2020).

Os aterros também apresentam uma série de impactos ambientais, desde sua construção até sua atuação. A criação de aterros resulta na perda de 30-300 espécies de animais por hectare, além de moldar a biodiversidade natural, substituindo animais nativos por animais que se alimentam de resíduos. Somado a esse fato, a utilização de aterros resulta em grandes emissões de gases do efeito estufa devido à decomposição dos compostos ali presentes, como o plástico. Além da contaminação dos lençóis freáticos e mananciais subterrâneos, ocasionada pelas

chuvas que dissolvem os compostos (in)orgânicos dos resíduos depositados. A liberação dos compostos, poluentes tóxicos, metais pesados e micropartículas plásticas agregadas, acabam também resultando na infertilidade dos solos, alterando a porosidade e propriedades de ligação do solo, além de dificultar o crescimento de anelídeos e micro-organismos (KIBRIA et al., 2023; SIDDIQUA; HAHLADAKIS; AL-ATTIYA, 2022; CHEN et al., 2021).

Dentre os locais onde se encontram resíduos plásticos, os oceanos representam a maior preocupação, sendo uma quintessência de externalidade. Isso significa que são locais onde os resíduos prejudiciais se espalham de maneira difusa e oculta, difíceis de se quantificar e distantes de qualquer jurisdição de um único estado-nação (MENDENHALL, 2018).

Alguns produtos químicos utilizados na produção de plásticos, como o benzeno, tolueno e ftalato, são conhecidos por sua toxicidade. Esses plásticos são degradados muito lentamente, liberando gradualmente todos os resíduos tóxicos que armazenam dentro de si como o bisfenol A e tolueno, o que pode representar riscos para a saúde humana e ambiental (ELVIN, 2015).

Partículas extremamente pequenas, denominadas microplásticos, são formadas a partir da quebra mecânica e química dos plásticos. Esses materiais estão presentes em diversas mercadorias, como alguns produtos de limpeza, medicamentos, itens de higiene pessoal, roupas feitas de tecidos sintéticos, alguns produtos agrícolas e industriais, e resíduos de impressoras 3D. Os microplásticos, ao serem ingeridos, podem provocar efeitos desreguladores endócrinos, atuar como vetores de toxinas, graças a sua grande capacidade de adsorção, e, ainda, serem bioacumulativos, aumentando sua concentração nos animais de níveis tróficos superiores, como os seres humanos. Após a ingestão, os microplásticos são transportados pela corrente sanguínea, sendo confirmados microplásticos, mensurados entre 5-10 μm , na placenta humana (na parte materna, na parte fetal e nas membranas corioamnióticas), também foram encontrados nos pulmões, no coração, nas placas das artérias carótidas, nos testículos e no cérebro. Essas partículas podem se acumular em uma região específica de organismos multicelulares, resultando em uma toxicidade local devido ao estímulo contínuo e/ou gradual de respostas imunes. Isso pode comprometer a defesa contra outros patógenos, interferir nos processos metabólicos e liberar agentes tóxicos que estão

adsorvidos nos microplásticos. (CAMPEN et al., 2024; HU et al., 2024; KAUSHIK et al., 2024; MARFELLA et al., 2024; YANG et al., 2023; RAGUSA et al., 2021; MENDENHALL, 2018; ELVIN, 2015).

Os custos gerais envolvidos na manufatura do plástico petroquímico aliados aos gastos necessários para reparação dos danos de seus (sub)produtos em nível mundial levantam preocupações sobre a sustentabilidade a longo prazo da sua produção. Medidas significativas são necessárias para mitigar esses custos e reduzir os impactos ambientais, a fim de garantir a viabilidade futura da indústria do plástico. (ELVIN, 2015).

Uma alternativa aos plásticos de origem petroquímica são os bioplásticos, polímeros de origem renovável e/ou biodegradável, esquematizados na (Figura 1).

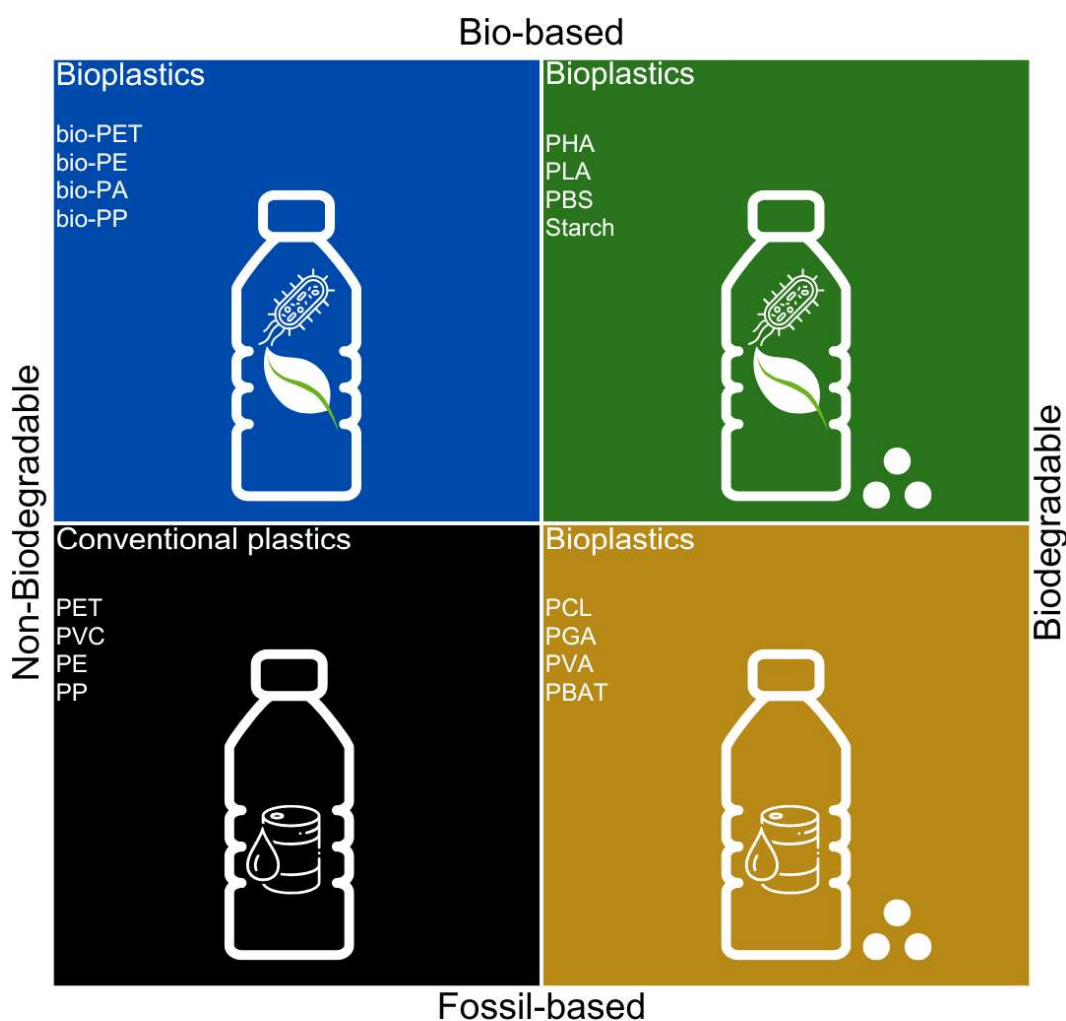


Figura 1: Esquematização dos bioplásticos, suas características e exemplares. Na região preta, representantes de plásticos petroquímicos, que possuem a característica de não

serem biodegradáveis, sendo eles Polietileno Tereftalato (PET); Policloreto de Vinila (PVC); Polietileno (PE); e Polipropileno (PP). Em azul, representantes de plásticos de origem biológica, que possuem a característica de não serem biodegradáveis. No setor amarelo, representantes de plásticos petroquímicos, que possuem a característica de serem biodegradáveis, sendo eles Policaprolactona (PCL); Poliglicolida (PGA); Álcool polivinílico (PVA); e Polibutileno adipato-co-tereftalato (PBAT). E na seção verde, representantes de plásticos de origem biológica, que possuem a característica de serem biodegradáveis, sendo eles Polihidroxicanoato (PHA); Ácido polilático (PLA), e Polibutileno succinato (PBS)Fonte: Autor.

Dentre esses polímeros com origem biológica e biodegradáveis estão as blendas de amido, ácido polilático (PLA), succinato de polibutileno (PBS) e polihidroxicanoatos (PHAs). Os PHAs foram descobertos por Maurice Lemoigne em 1926 em forma de grânulos na bactéria *Bacillus megaterium* (LEMOIGNE, 1926). A partir de sua descoberta, outros estudos identificaram a presença de grânulos intracelulares com características semelhantes, dando origem à família de biopolímeros naturais conhecida como Polihidroxicanoatos (PHA). As estruturas das unidades monoméricas dos membros da família dos PHAs são determinadas pela bactéria produtora, pelo tipo de PHA sintase (PhaC) envolvido na polimerização e pelo substrato disponível no meio durante o bioprocessamento, existindo mais de 150 monômeros de PHA's. Sendo o polihidroxibutirato (PHB) o membro mais conhecido, simples e estudado dessa família, representados na (**Figura 2**). O PHB possui dois isômeros estruturais: o poli(3-hidroxibutirato) (P3HB), que é um termoplástico, ou seja, um material que, em altas temperaturas, pode ser fundido e moldado sem perder suas propriedades físicas, mais voltado para aplicação em embalagens; e o poli(4-hidroxibutirato) (P4HB), que é um elastômero, um material que, à temperatura ambiente, pode ser deformado repetidamente em pelo menos duas vezes o seu tamanho original, retornando à forma original quando a força é removida, mais utilizado em aplicações biomédicas e clínicas (KANZARIYA et al., 2024; YOUSEFI; WNEK, 2024; UTSUNOMIA; REN; ZINN, 2020; SANHUEZA et al., 2019; CANEVAROLO JR, 2006).

Os PHAs são poliésteres naturais, não precisando de modificações após sua extração para formação dos polímeros termoplásticos ou elastômeros. Esses biopolímeros são armazenados intracelularmente no citosol em formato de corpos

de inclusão, denominados grânulos, e se destacam por sua característica de biodegradabilidade, biocompatibilidade e biocompostabilidade (ZHANG et al., 2018; JURASEK; RAY, KALIA, 2017; MARCHESSAULT, 2004; ANDERSON, DAWES, 1990).

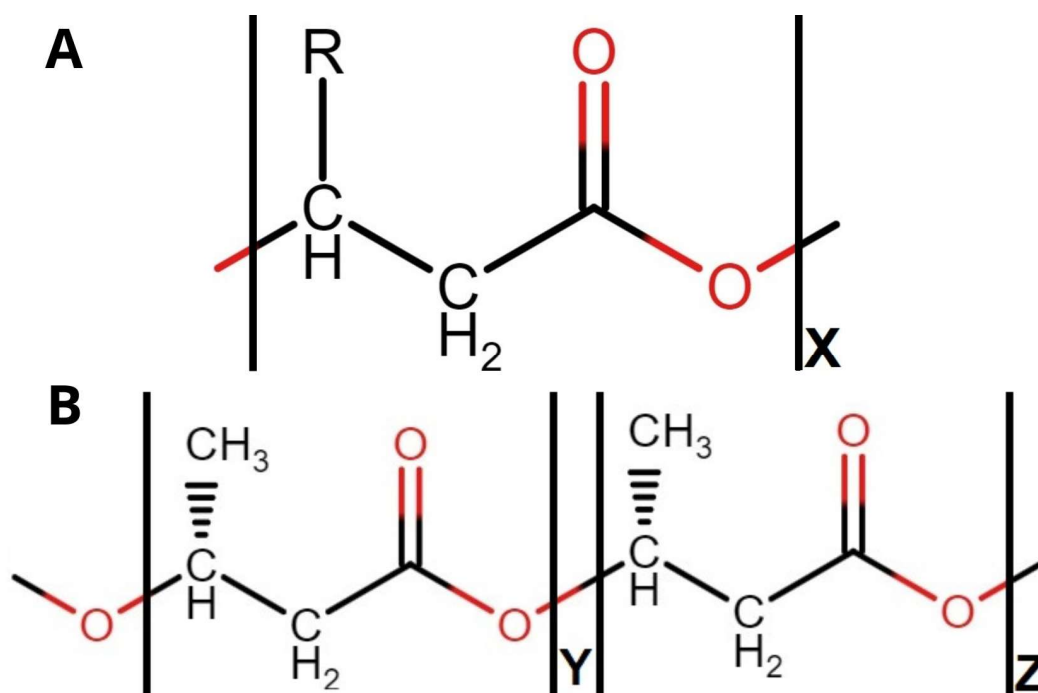


Figura 2: Representação da estrutura geral do PHA (A) e representação de um polímero de PHB (B). Fonte: Autor.

PHAs são produzidos a partir de biomassa ou recursos renováveis, e integram o ciclo do carbono, sendo degradados facilmente na natureza em diversas condições. Isso se deve à capacidade de diversos micro-organismos de metabolizar e degradar facilmente o PHA (BAHL et al., 2021; TOKIWA et al., 2009).

Os micro-organismos que produzem PHA frequentemente o fazem em resposta a uma escassez de nutrientes importantes no meio, como fósforo, oxigênio, nitrogênio, ferro, enxofre e magnésio junto com um excesso de carbono, aos quais são associados como sendo precursores de uma futura carência de substrato ou alimento. Quando os micro-organismos são expostos a um meio com essa deficiência, eles consomem o PHA produzido e armazenado intracelularmente em formato de grânulos, como fonte de carbono e energia, assim como os mamíferos que consomem reservas de energia em formato de gordura (KOLLER;

MUKHERJEE, 2020; LEONG et al., 2014; THIELEN, 2012). O acúmulo de PHA também promove vantagens biológicas, como resistência à radiação ultravioleta (UV), ao congelamento, ao calor, ao estresse oxidativo, à dessecação e a pressão osmótica (VICENTE; PROENÇA; MORAIS, 2023; AYUB; TRIBELLI; BATISTA et al., 2018; LÓPEZ, 2008). A via metabólica dos PHAs é altamente conservada e está presente em vários gêneros bacterianos, incluindo bactérias gram-positivas, gram-negativas e arqueas, dentre elas *Bacillus spp.*, *Alcaligenes spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Azotobacter spp.*, *Ralstonia eutropha* e *Burkholderia glumae* (MA13) (VICENTE; PROENÇA; MORAIS, 2023; DE PAULA., 2021; THOMAS et al., 2019; KUTRALAM-MUNIASAMY; MARSCH; PÉREZ-GUEVARA, 2018). Esta última isolada anteriormente da Mata Atlântica, estando registrado no banco de dados GenBank, com número de acesso KC111959, utilizada nesse estudo (PAULA et al., 2019).

Os PHAs têm chamado atenção devido às suas diversas vantagens, que incluem sua combinação de biocompatibilidade, biodegradabilidade e biocompostabilidade, além de propriedades térmicas e mecânicas controláveis. Eles podem ser projetados e sintetizados por meio do controle da atividade PHA sintase, bem como das vias metabólicas (ZHANG et al., 2018). Também apresentam funções alternativas de interesse como na medicina, sendo utilizados como materiais de implante promissores, *drug delivery* e *scaffolds*. Devido a característica de serem inertes em diversos tecidos do organismo, os materiais feitos com PHAs não desencadeiam respostas imunológicas nem alteram quimicamente seu ambiente durante a decomposição, ou seja, não são citotóxicos para os organismos vivos. Podem ser usados na agricultura, como filmes de estufa compostáveis, redes de proteção e sacos de cultivo, oferecendo uma alternativa sustentável aos plásticos convencionais. Além disso, devido a suas excelentes propriedades termoquímicas, os PHAs podem ser usados como embalagens na indústria alimentícia (SAMROT et al., 2021; ZHANG et al., 2018; RODRÍGUEZ-CONTRERAS et al., 2017).

A maioria dos filmes poliméricos não são biodegradáveis ou de base biológica. Conseqüentemente, esses polímeros convencionais consomem os recursos fósseis limitados, geram resíduos tóxicos que não são tratados e contribuem com a poluição ambiental. Portanto, muitos esforços e incentivos têm sido feitos para substituir esses materiais, com destaque para os biopolímeros como uma alternativa. Proteínas e polissacarídeos são os biopolímeros mais amplamente

investigados no campo de revestimentos e filmes moldáveis e/ou biodegradáveis. As propriedades intrínsecas dessas moléculas abriram novas áreas de pesquisa focados na caracterização e desenvolvimento de novos filmes biodegradáveis (CAZÓN., et al 2022; TOMIETTO et al., 2020). Embora os PHAs sejam reconhecidos como um grande potencial como materiais de membrana e filmes, os biomateriais baseados em PHA apresentam muitas lacunas de pesquisa e estudos, principalmente os PHB cristalinos de cadeia curta. Portanto, há uma necessidade de mais pesquisas focadas na área de caracterização e formação de filmes a partir de polihidroxicanoatos (SHARMA; SEHGAL; GUPTA, 2021).

Apesar das várias vantagens em relação ao plástico petroquímico e suas diversas aplicações, os PHAs não são economicamente competitivos. Isso se deve à sua recente industrialização, com a primeira produção em 1982 pela Imperial Chemical Industries Ltd (LENZ; MARCHESSAULT, 2005), à complexidade do processo de recuperação do polímero em forma de grânulos dentro das células (processo *downstream*) (KOLLER, 2020; JURASEK; MARCHESSAULT, 2004), e ao custo significativo da matéria-prima, que representa 50% do custo total de produção, sendo a fonte de carbono responsável por 70-80% desse valor (LI; WILKINS., 2020). O valor de mercado dos PHAs varia entre 2,2 e 5 euros por quilo, dependendo da sua composição química e estrutural, podendo atingir até três vezes o preço dos plásticos à base de petróleo, que geralmente são encontrados por menos de 1 euro por quilo (SABAPATHY et al., 2020).

Diante dessa situação, vários estudos visam modificar geneticamente bactérias não produtoras de PHA, dentre elas a *Escherichia coli*, que é uma cepa promissora para produção de PHA. Isso se deve à ausência de vias metabólicas capazes de despolimerizar intracelularmente o PHA produzido, amplo conhecimento da maquinaria metabólica, produção e armazenamento do PHA durante a fase *log*, crescimento rápido e à capacidade de metabolizar diversas fontes de carbono (VICENTE; PROENÇA; MORAIS, 2023; JUNG et al., 2019). Além disso, a *Escherichia coli* é uma bactéria anaeróbia facultativa, o que significa que é capaz de utilizar o processo de produção (micro)anaeróbico, que consome menos energia em comparação com um meio aeróbico, acarretando em um custo menor de produção (WANG et al., 2012).

As modificações genéticas em *E. coli* para produção de PHA são amplamente estudadas, abrangendo desde a produção de PHAs específicos e/ou copolímeros, por meio da adição de precursores como ácido valérico para a produção de polihidroxicaprolato (PHBV) durante a fermentação (MISCEVIC et al., 2019), até a criação de vias metabólicas artificiais para introduzir novos monômeros nos polímeros de PHA, alterando suas propriedades (KAGEYAMA et al., 2021). Além disso, há a inserção de uma maquinaria metabólica para utilização de fontes de carbono mais baratas, como melaço (SARATALE et al., 2021) e glicerol (TA et al., 2023), e modificações em genes intrínsecos da bactéria responsáveis pela morfologia e características celulares. Essas alterações incluem a deleção de genes envolvidos na divisão binária, alterando o padrão de crescimento de fissão binária para múltipla (CHEN; JIANG, 2017), e a deleção de genes relacionados a vias competitivas, além da superexpressão de genes responsáveis pela interconversão de NADH e NADPH, aumentando a produção de PHA (JUNG et al., 2019).

Existem diversas técnicas para modificar o DNA, dentre elas o sistema CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) associado a proteína Cas9 (*CRISPR associated protein 9*) e com o auxílio do RNA guia (sgRNA). Este método, pioneiro na edição do DNA, é reconhecido pela sua inovação e eficácia (CHARPENTIER; DOUDNA, 2013; ULAGANATHAN et al., 2017). Através dessa técnica, foi inserido no genoma da *E. coli* a maquinaria necessária para produção de PHB e de consumo de sacarose, desenvolvendo a linhagem DH5 α *cscBKAint::pBR1MC-2::phaCAB* de *E. coli*, como parte do projeto FAPESP número 2020/02246-0 (com o bolsista de doutorado Joneclei Alves Barreto) e do projeto Temático FAPESP 2017/50249-6. Esta linhagem foi projetada para produzir PHB e utilizar fontes de carbono mais acessíveis, como o melaço, com alto teor de sacarose, provenientes de subprodutos industriais.

Os genes inseridos *phaCAB* estão relacionados à biossíntese dos PHA, sendo que existem três vias metabólicas bem estabelecidas para sua produção. A principal dessas vias é a que utiliza fontes de carbono, na qual os produtos proteicos dos genes *phaA*, *phaB* e *phaC* atuam em etapas enzimáticas sucessivas, incluindo: acetiltransferase, acetiltransferase redutase e PHA polimerase. Na primeira etapa, a enzima *PhaA* catalisa a conversão de duas moléculas de acetil-CoA em acetoacetil-CoA. Em seguida, *PhaB* reduz o acetoacetil-CoA a 3-hidroxiacetil-CoA, o monômero

que forma o polímero. Por fim, as proteínas *PhaC* polimerizam esses monômeros para formar os grânulos intracelulares (KUTRALAM-MUNIASAMY; MARSCH; PÉREZ-GUEVARA, 2018; SAGONG et al., 2018). Os genes inseridos *cscBKAint* estão relacionados ao metabolismo e ao consumo de sacarose. O grupo de genes *csc* é composto pelo *cscB*, que codifica o simporter H^+ /sacarose, uma permease da sacarose, o *cscK*, que codifica uma fructoquinase, e o *cscA*, que codifica a invertase sacarose-6-fosfato hidrolase (CARRUTHERS et al., 2020; MOHAMED et al., 2019).

Nas biorrefinarias de cana-de-açúcar, que produzem açúcar e bioetanol, são gerados como subproduto 280 kg de bagaço de cana e 60 kg de melaço por tonelada de cana processada. O melaço é um dos três subprodutos da produção de açúcar e bioetanol, sendo os outros bagaço e lama prensada. O melaço da indústria açucareira é comumente descartado ou aplicado na produção de alimentos ou rações de baixo valor. No entanto, devido à sua riqueza em açúcares, com uma composição geralmente contendo 78,3% de sacarose, 8,7% de glicose e 13% de frutose, ele pode ser aproveitado como uma fonte de carbono barata. Podendo ser utilizado para a produção de compostos com maior valor agregado, como PHB pela indústria de bioplástico, o que resultaria em uma sinergia benéfica para ambas as indústrias, agregando valor e tornando mais econômico à produção do PHB (KANZARIYA et al., 2024; DE PAULA-ELIAS et al., 2021; ZHANG; WANG; JIANG, 2021; MANGWANDA et al., 2021; PALMONARI et al., 2020; ÁLVAREZ-CAO et al., 2019; PAULA; PAULA; CONTIERO, 2018).

Diante do exposto, este projeto visa entender melhor a produção de PHB e as características físico-químicas dos filmes formados pelas cepas *Burkholderia glumae* MA13 e *Escherichia coli* DH5 α *cscBKAint::pBR1MC-2::phaCAB* modificada geneticamente.

6. CONCLUSÃO

A cepa DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* demonstrou capacidade de assimilar a sacarose presente no melaço, juntamente com a frutose e glicose, sendo que a glicose contribuiu para a aceleração na obtenção da maior quantidade de biomassa e da taxa máxima de crescimento μ_{max} . Mostrando que o melaço, além de ser considerado uma fonte de carbono mais barata, ele promove um crescimento acelerado, evidenciando-se como uma fonte de carbono alternativa de alto interesse industrial. Além disso, a cepa DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* apresentou um μ_{max} maior, produziu uma quantidade de PHB próxima à da produtora natural MA13 e com características semelhantes, ressaltando a importância de modificações genéticas em cepas promissoras, como a *Escherichia coli*, para melhorar a produção de produtos de valor agregado, como o PHB.

As caracterizações dos filmes mostraram que a cepa DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* geneticamente modificada produziu um filme com características semelhantes ao da cepa MA13, obtendo uma região cristalina mais acentuada em 1720 cm^{-1} na análise do FTIR, tornando seu filme mais rígido. Somado a isso os filmes produzidos pela cepa DH5 α *cscBKAint.::pBR1MC-2::phaCAB* apresentaram polímeros com ponto de degradação irreversível a $293,7^{\circ}\text{C}$ e a maior taxa de degradação a $318,7^{\circ}\text{C}$. Por outro lado, as análises dos filmes formados pela MA13 indicaram polímeros com ponto de degradação irreversível a $293,2^{\circ}\text{C}$ e maior taxa de degradação a $314,3^{\circ}\text{C}$. Além disso, ambas as cepas produziram um filme de PHB com potencial zeta com alto valor negativo, o que promove estabilidade, deixando o filme hidrofílico. Além de apresentarem pontos isoelétricos próximos de pH 3.

7. REFERÊNCIAS

ACHARJEE, Shiva Aley; BHARALI, Pranjal; RAMACHANDRAN, D.; KANAGASABAI, Viswanathan; GOGOI, Monti; HAZARIKA, Swapnali; KOCH, Pranab Jyoti; DUTTA, Nipu; MAADURSHNI, Gobichettipalayam Balasubramaniam; MANIVANNAN, Jeganathan. Polyhydroxybutyrate (PHB)-Based sustainable bioplastic derived from *Bacillus* sp. KE4 isolated from kitchen waste effluent. **Sustainable Chemistry And Pharmacy**, [S.L.], v. 39, p. 101507, jun. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scp.2024.101507>.

AKHTER, Sumaia; KHAN, Mubarak Ahmad; MAHMUD, Shobuz; BIKI, Suchi Parvin; SHAMSUZZOHA, Md.; HASAN, S.M. Kamrul; AHMED, Maruf. Biosynthesis and characterization of bacterial nanocellulose and polyhydroxyalkanoate films using bacterial strains isolated from fermented coconut water. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 122, p. 214-223, nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2022.09.006>.

ÁLVAREZ-CAO, María-Efigenia; CERDÁN, María-Esperanza; GONZÁLEZ-SISO, María-Isabel; BECERRA, Manuel. Bioconversion of Beet Molasses to Alpha-Galactosidase and Ethanol. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 10, 7 mar. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00405>.

ANDERSON, A. J.; DAWES, E. A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. **Microbiological Reviews** v.54, p.450-472.

ANDLER, R.; GONZÁLEZ-ARANCIBIA, F.; VILOS, C.; SEPULVEDA-VERDUGO, R.; CASTRO, R.; MAMANI, M.; VALDÉS, C.; ARTO-PAZ, F.; DÍAZ-BARRERA, A.; MARTÍNEZ, I.. Production of poly-3-hydroxybutyrate (PHB) nanoparticles using grape residues as the sole carbon source. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 261, p. 129649, mar. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129649>.

ANDRADE, Camila Souza de; NASCIMENTO, Valkirea Matos; CORTEZ-VEGA, William Renzo; FAKHOURI, Farayde Matta; SILVA, Luiziana Ferreira; GOMEZ, José Gregório Cabrera; FONSECA, Gustavo Graciano. Exploiting Cheese Whey as Co-substrate for Polyhydroxyalkanoates Synthesis from *Burkholderia sacchari* and as Raw Material for the Development of Biofilms. **Waste And Biomass Valorization**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 1609-1616, 16 dez. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-017-0175-8>.

ARIFIN, Yalun; ARCHER, Colin; LIM, Sooa; QUEK, Lake-Ee; SUGIARTO, Haryadi; MARCELLIN, Esteban; VICKERS, Claudia E.; KRÖMER, Jens O.; NIELSEN, Lars K.. *Escherichia coli* W shows fast, highly oxidative sucrose metabolism and low acetate formation. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 98, n. 21, p. 9033-9044, 16 ago. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-014-5956-4>.

ASRAN, Ashraf Sh.; RAZGHANDI, Khashayar.; AGGARWAL, Neha; MICHLER, Goerg H.; GROTH, T.. Nanofibers from Blends of Polyvinyl Alcohol and Polyhydroxy

Butyrate As Potential Scaffold Material for Tissue Engineering of Skin.

Biomacromolecules, [S.L.], v. 11, n. 12, p. 3413-3421, 22 nov. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bm100912v>.

ATTAPONG, Marisa; CHATGASEM, Chotika; SIRIPORNADULSIL, Wilailak; SIRIPORNADULSIL, Surasak. Ability of converting sugarcane bagasse hydrolysate into polyhydroxybutyrate (PHB) by bacteria isolated from stressed environmental soils. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 50, p. 102676, jul. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102676>.

AYUB, Nicolás D.; TRIBELLI, Paula M.; LÓPEZ, Nancy I.. Polyhydroxyalkanoates are essential for maintenance of redox state in the Antarctic bacterium *Pseudomonas* sp. 14-3 during low temperature adaptation. **Extremophiles**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 59-66, 18 out. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00792-008-0197-z>.

BAHL, Shashi; DOLMA, Jigmat; SINGH, Jashan Jyot; SEHGAL, Shankar. Biodegradation of plastics: a state of the art review. **Materials Today: Proceedings**, [S.L.], v. 39, p. 31-34, 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.096>.

BATISTA, Marcelo B.; TEIXEIRA, Cícero S.; SFEIR, Michelle Z. T.; ALVES, Luis P. S.; VALDAMERI, Glaucio; PEDROSA, Fabio de Oliveira; SASSAKI, Guilherme L.; STEFFENS, Maria B. R.; SOUZA, Emanuel M. de; DIXON, Ray. PHB Biosynthesis Counteracts Redox Stress in *Herbaspirillum seropedicae*. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, 15 mar. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.00472>.

BIRADAR, Gurubasappa G.; SHIVASHARANA, C. T.; KALIWAL, Basappa B.. Characterization of Polyhydroxybutyrate (PHB) Produced by Novel Bacterium *Lysinibacillus sphaericus* BBKGBS6 Isolated From Soil. **Journal Of Polymers And The Environment**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 1685-1701, 28 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-017-1054-x>.

BRUDER, Stefan; REIFENRATH, Mara; THOMIK, Thomas; BOLES, Eckhard; HERZOG, Konrad. Parallelised online biomass monitoring in shake flasks enables efficient strain and carbon source dependent growth characterisation of *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 15, n. 1, 25 jul. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-016-0526-3>.

CANEVAROLO JR, Sebastião V.. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2nd. ed. [S.I.]: Artliber, 2006.

CARRUTHERS, David N.; SALESKI, Tatyana E.; SCHOLZ, Scott A.; LIN, Xiaoxia Nina. Random Chromosomal Integration and Screening Yields *E. coli* K-12 Derivatives Capable of Efficient Sucrose Utilization. **Acs Synthetic Biology**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 3311-3321, 25 nov. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acssynbio.0c00392>.

- CAZÓN, Patricia; MORALES-SANCHEZ, Eduardo; VELAZQUEZ, Gonzalo; VÁZQUEZ, Manuel. Measurement of the Water Vapor Permeability of Chitosan Films: a laboratory experiment on food packaging materials. **Journal Of Chemical Education**, [S.L.], v. 99, n. 6, p. 2403-2408, 31 maio 2022. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jchemed.2c00449>.
- CHARPENTIER, E.; DOUDNA, J. A. Rewriting a genome. *Nature*, v. 495, n. 7439, p. 50-51, 2013.
- CHEN, Guo-Qiang; JIANG, Xiao-Ran. Engineering bacteria for enhanced polyhydroxyalkanoates (PHA) biosynthesis. **Synthetic And Systems Biotechnology**, [S.L.], v. 2, n. 3, p. 192-197, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.synbio.2017.09.001>.
- CHEN, Hui Ling; NATH, Tapan Kumar; CHONG, Siewhui; FOO, Vernon; GIBBINS, Chris; LECHNER, Alex M.. The plastic waste problem in Malaysia: management, recycling and disposal of local and global plastic waste. **Sn Applied Sciences**, [S.L.], v. 3, n. 4, 8 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42452-021-04234-y>.
- CHEN, XI; WANG, Yudi; ZHANG, Lei. Recent Progress in the Chemical Upcycling of Plastic Wastes. **Chemsuschem**, [S.L.], v. 14, n. 19, p. 4137-4151, jun. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cssc.202100868>.
- CHU, Dominique; BARNES, David J.. The lag-phase during diauxic growth is a trade-off between fast adaptation and high growth rate. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 6, n. 1, 29 abr. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep25191>.
- DAVIDSON, Matthew G.; FURLONG, Rebecca A.; MCMANUS, Marcelle C.. Developments in the life cycle assessment of chemical recycling of plastic waste – A review. *Journal Of Cleaner Production*, [S.L.], v. 293, p. 126163, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126163>.
- DE PAULA, C. B. C. **Produção de polihidroxialcanoatos por Burkholderia glumae MA13: um conceito associado à indústria de biocombustíveis**. 2021. Tese (Doutorado) — Ciências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2021.
- DE PAULA-ELIAS, F.C.; DE PAULA, C.B.C.; DE OLIVEIRA, N.M.L.; ALMEIDA, A.F.; CONTIERO, J. Polyhydroxyalkanoates: naturally occurring microbial polymers suitable for nanotechnology applications. In: KHARISOV, B.; KHARISSOVA, O. **Handbook of Greener Synthesis of Nanomaterials and Compounds**. Vol. 2: Synthesis at the Macroscale and Nanoscale. New York: Elsevier, 2021. No prelo.
- DHANIA, Sunena; BERNELA, Manju; RANI, Ruma; PARSAD, Minakshi; GREWAL, Sapna; KUMARI, Santosh; THAKUR, Rajesh. Scaffolds the backbone of tissue engineering: advancements in use of polyhydroxyalkanoates (pha). **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 208, p. 243-259, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.030>.

DIAS, Miguel Miranda de Sousa; KOLLER, Martin; PUPPI, Dario; MORELLI, Andrea; CHIELLINI, Federica; BRAUNEGG, Gerhart. Fed-Batch Synthesis of Poly(3-Hydroxybutyrate) and Poly(3-Hydroxybutyrate-co-4-Hydroxybutyrate) from Sucrose and 4-Hydroxybutyrate Precursors by *Burkholderia sacchari* Strain DSM 17165.

Bioengineering, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 36, 20 abr. 2017. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/bioengineering4020036>.

D'ARIENZO, Lucia; ACIERNO, Stefano; PATTI, Antonella; MAIO, Luciano di. Cellulose/Polyhydroxybutyrate (PHB) Composites as a Sustainable Bio-Based Feedstock to 3D-Printing Applications. **Materials**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 916, 16 fev. 2024. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/ma17040916>.

ELVIN, George. **Post-Petroleum Design**. Routledge, 2015.

EVANGELINE, Soruba; SRIDHARAN, T.B.. Biosynthesis and statistical optimization of polyhydroxyalkanoate (PHA) produced by *Bacillus cereus* VIT-SSR1 and fabrication of biopolymer films for sustained drug release. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 135, p. 945-958, ago. 2019. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.163>.

EXTRAND, C.W.. Water Contact Angles and Hysteresis of Polyamide Surfaces. **Journal Of Colloid And Interface Science**, [S.L.], v. 248, n. 1, p. 136-142, abr. 2002. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1006/jcis.2001.8172>.

FARIA, Adriano Uemura de; MARTINS-FRANCHETTI, Sandra Mara. Biodegradação de filmes de polipropileno (PP), poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e blenda de PP/PHB por microrganismos das águas do Rio Atibaia. **Polímeros**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 141-147, 25 jun. 2010. FapUNIFESP (SciELO).

<http://dx.doi.org/10.1590/s0104-14282010005000024>.

FIGUEIREDO, Tamiris V. B.; CAMPOS, Márcio I.; SOUSA, Luciane S.; SILVA, Jaff R. da; DRUZIAN, Janice I.. Production and characterization of polyhydroxyalkanoates obtained by fermentation of crude glycerin from biodiesel. **Química Nova**, [S.L.], p. 1111-1117, 2014. GN1 Sistemas e Publicacoes Ltd..

<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140183>

FREIRE, Ernesto. Differential Scanning Calorimetry. **Protein Stability And Folding**, [S.L.], p. 191-218, 1995. Humana Press.

<http://dx.doi.org/10.1385/0-89603-301-5:191>.

GARCIA, Justine R.; LARSEN, Tyler J.; QUELLER, David C.; STRASSMANN, Joan E.. Fitness costs and benefits vary for two facultative *Burkholderia symbionts* of the social amoeba, *Dictyostelium discoideum*. **Ecology And Evolution**, [S.L.], v. 9, n. 17, p. 9878-9890, 15 ago. 2019. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/ece3.5529>.

GROH, Ksenia J.; BACKHAUS, Thomas; CARNEY-ALMROTH, Bethanie; GEUEKE, Birgit; INOSTROZA, Pedro A.; LENNQUIST, Anna; LESLIE, Heather A.; MAFFINI, Maricel; SLUNGE, Daniel; TRASANDE, Leonardo. Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. **Science Of The Total**

Environment, [S.L.], v. 651, p. 3253-3268, fev. 2019. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.015>.

HAQUE, Md. Kamrul; UDDIN, Minhaz; KORMOKER, Tapos; AHMED, Tareq; ZAMAN, Md. Rahat Uz; RAHMAN, M. Safiur; RAHMAN, Md. Ashekur; HOSSAIN, Md. Yeamin; RANA, Md. Masud; TSANG, Yiu Fai. Occurrences, sources, fate and impacts of plastic on aquatic organisms and human health in global perspectives: what bangladesh can do in future?. **Environmental Geochemistry And Health**, [S.L.], v. 45, n. 8, p. 5531-5556, 29 jun. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10653-023-01646-0>.

HAUSER, Christine. What We Know About the Train Derailment in Ohio. **The New York Times**, New York, 14 de fev. de 2023. Disponível em:

<<https://www.nytimes.com/article/ohio-train-derailment.html>>. Acesso em: 14 de fev. de 2023.

HOU, Liyuan; JIA, Linjing; MORRISON, Hailee M.; MAJUMDER, Erica L.-W.; KUMAR, Deepak. Enhanced polyhydroxybutyrate production from acid whey through determination of process and metabolic limiting factors. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 342, p. 125973, dez. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125973>.

HU, Chelin Jamie; A GARCIA, Marcus; NIHART, Alexander; LIU, Rui; YIN, Lei; ADOLPHI, Natalie; GALLEGRO, Daniel F; KANG, Huining; CAMPEN, Matthew J; YU, Xiaozhong. Microplastic presence in dog and human testis and its potential association with sperm count and weights of testis and epididymis. **Toxicological Sciences**, [S.L.], v. 200, n. 2, p. 235-240, 15 maio 2024. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfae060>.

JULINOVÁ, Markéta; LAŠINKOVÁ, Dagmar; MINAŘÍK, Antonín; KASZONYIOVÁ, Martina; KALEDOVÁ, Alena; KADLEČKOVÁ, Markéta; FAYYAZBAKHS, Ahmad; KOUTNÝ, Marek. Comprehensive Biodegradation Analysis of Chemically Modified Poly(3-hydroxybutyrate) Materials with Different Crystal Structures.

Biomacromolecules, [S.L.], v. 24, n. 11, p. 4939-4957, 11 out. 2023. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.biomac.3c00623>.

JURASEK, L.; MARCHESSAULT, R. H.. Polyhydroxyalkanoate (PHA) granule formation in *Ralstonia eutropha* cells: a computer simulation. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 64, n. 5, p. 611-617, 1 jun. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-003-1551-9>.

JUNG, H. R.; YANG, S. Y.; MOON, Y. M.; CHOI, T. R.; SONG, H. S.; BHATIA, S.; GURAV, R.; KIM, E. J.; KIM, B. G.; YANG, Y. H. Construction of Efficient Platform *Escherichia coli* Strains for Polyhydroxyalkanoate Production by Engineering Branched Pathway. **Polymers**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 509, 18 mar. 2019. MDPI AG.

KAGEYAMA, Yuki; TOMITA, Hiroya; ISONO, Takuya; SATOH, Toshifumi; MATSUMOTO, Ken'ichiro. Artificial polyhydroxyalkanoate poly[2-hydroxybutyrate-block-3-hydroxybutyrate] elastomer-like material. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, 17 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-01828-9>.

KAMINSKY, Walter. Chemical recycling of plastics by fluidized bed pyrolysis. **Fuel Communications**, [S.L.], v. 8, p. 100023, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fueco.2021.100023>.

KAMNEV, Alexander A.; TUGAROVA, Anna V.; DYATLOVA, Yulia A.; TARANTILIS, Petros A.; GRIGORYEVA, Olga P.; FAINLEIB, Alexander M.; LUCA, Stefania de. Methodological effects in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy: implications for structural analyses of biomacromolecular samples. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 193, p. 558-564, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2017.12.051>.

KANIUK, Łukasz; FERRARIS, Sara; SPRIANO, Silvia; LUXBACHER, Thomas; KRYSIAK, Zuzanna; BERNIAK, Krzysztof; ZASZCZYNSKA, Angelika; MARZEC, Mateusz M.; BERNASIK, Andrzej; SAJKIEWICZ, Paweł. Time-dependent effects on physicochemical and surface properties of PHBV fibers and films in relation to their interactions with fibroblasts. **Applied Surface Science**, [S.L.], v. 545, p. 148983, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2021.148983>.

KANZARIYA, Rekha; GAUTAM, Alok; PARIKH, Sachin; GAUTAM, Shina. Thermally Stable P(3HB) Synthesis from Cane Molasses by Co-culture of *Alcaligenes* sp. NCIM 5085 and *Bacillus subtilis*. **Waste And Biomass Valorization**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 3535-3552, 29 jan. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-023-02396-x>.

KARLSEN, Emil; GYLSETH, Marianne; SCHULZ, Christian; ALMAAS, Eivind. A study of a diauxic growth experiment using an expanded dynamic flux balance framework. **Plos One**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. e0280077, 6 jan. 2023. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0280077>.

KAUSHIK, Ajeet; SINGH, Avtar; GUPTA, V Kumar; MISHRA, Yogendra Kumar. Nano/micro-plastic, an invisible threat getting into the brain. **Chemosphere**, [S.L.], v. 361, p. 142380, ago. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142380>.

KIBRIA, Md. Golam; MASUK, Nahid Imtiaz; SAFAYET, Rafat; NGUYEN, Huy Quoc; MOURSHED, Monjur. Plastic Waste: challenges and opportunities to mitigate pollution and effective management. **International Journal Of Environmental Research**, [S.L.], v. 17, n. 1, 20 jan. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s41742-023-00507-z>.

KOLLER, Martin. Established and advanced approaches for recovery of microbial polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters from surrounding microbial biomass. **The Eurobiotech Journal**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 113-126, 1 jul. 2020. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.2478/ebtj-2020-0013>.

KOLLER, M.; MUKHERJEE, A. Polyhydroxyalkanoates – Linking Properties, Applications and End-of-life Options. **Chemical & Biochemical Engineering Quarterly**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 115-129, 2020 Croatian Society of Chemical Engineers/HDKI.

- KUTRALAM-MUNIASAMY, Gurusamy; MARSCH, Rodolfo; PÉREZ-GUEVARA, Fermín. Investigation on the Evolutionary Relation of Diverse Polyhydroxyalkanoate Gene Clusters in Betaproteobacteria. **Journal Of Molecular Evolution**, [S.L.], v. 86, n. 7, p. 470-483, 31 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00239-018-9859-3>.
- LACROIX, Ryan A.; SANDBERG, Troy E.; O'BRIEN, Edward J.; UTRILLA, Jose; EBRAHIM, Ali; GUZMAN, Gabriela I.; SZUBIN, Richard; PALSSON, Bernhard O.; FEIST, Adam M.. Use of Adaptive Laboratory Evolution To Discover Key Mutations Enabling Rapid Growth of *Escherichia coli* K-12 MG1655 on Glucose Minimal Medium. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 81, n. 1, p. 17-30, jan. 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.02246-14>.
- LEMOIGNE, M. Produits de deshydratation et de polymerisation de l'acide β -oxybutyrique. **Bull Soc Chim Biol**. p. 770-782, 1926.
- LENZ, R. W.; MARCHESSAULT, R. H. Bacterial polyesters: biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2005.
- LEONG, Yoong Kit; SHOW, Pau Loke; OOI, Chien Wei; LING, Tau Chuan; LAN, John Chi-Wei. Current trends in polyhydroxyalkanoates (PHAs) biosynthesis: insights from the recombinant *Escherichia coli*. **Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 180, p. 52-65, jun. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.03.020>.
- LI, Mengxing; WILKINS, Mark R.. Recent advances in polyhydroxyalkanoate production: feedstocks, strains and process developments. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 156, p. 691-703, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.082>.
- LUXBACHER, Thomas. The ZETA guide: Principles of the streaming potential technique. **Anton Paar GmbH: Graz**, 1st Edition, Graz, Austria. 2014.
- MAGOSSI, Maiara de Souza; FERNANDES, Daniela Silvestrini; FRANCO, Fernanda dos Santos; FELIPE, Alexsandro dos Santos; VICENTE, Fábio Simões de; CARMO, Devaney Ribeiro do. Inorganofunctionalization of Ti(IV) and Zr(IV) on the MCM-41 Surface and its Interaction with a Mixed Valence Complex to use as Isoniazid Sensing. **Journal Of Inorganic And Organometallic Polymers And Materials**, [S.L.], v. 31, n. 10, p. 4093-4102, 21 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10904-021-02025-x>.
- MAI, Jingjing; CHAN, Clement Matthew; COLWELL, John; PRATT, Steven; LAYCOCK, Bronwyn. Characterisation of end groups of hydroxy-functionalised scl-PHAs prepared by transesterification using ethylene glycol. **Polymer Degradation And Stability**, [S.L.], v. 205, p. 110123, nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2022.110123>.
- MAILLARD, Anike P.V. Ferreyra; ESPECHE, Juan Carlos; MATURANA, Patricia; CUTRO, Andrea C.; HOLLMANN, Axel. Zeta potential beyond materials science:

applications to bacterial systems and to the development of novel antimicrobials. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Biomembranes**, [S.L.], v. 1863, n. 6, p. 183597, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183597>.

MAJERCZAK, Katarzyna; WADKIN-SNAITH, Dominic; MAGUEIJO, Vitor; MULHERAN, Paul; LIGGAT, John; JOHNSTON, Karen. Polyhydroxybutyrate: a review of experimental and simulation studies of the effect of fillers on crystallinity and mechanical properties. **Polymer International**, [S.L.], v. 71, n. 12, p. 1398-1408, 26 abr. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pi.6402>.

MANDRAGUTTI, Teja; JARSO, Tura Safawo; GODI, Sudhakar; BEGUM, S Sharmila; K, Beulah. Physicochemical characterization of polyhydroxybutyrate (PHB) produced by the rare halophile *Brachybacterium paraconglomeratum* MTCC 13074. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 23, n. 1, 22 fev. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-024-02324-1>.

MANGWANDA, Tinashe; JOHNSON, Joel B.; MANI, Janice S.; JACKSON, Steve; CHANDRA, Shaneel; MCKEOWN, Tyryn; WHITE, Simon; NAIKER, Mani. Processes, Challenges and Optimisation of Rum Production from Molasses—A Contemporary Review. **Fermentation**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 21, 8 fev. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/fermentation7010021>.

MARCOTT, Curtis; KANSIZ, Mustafa; DILLON, Eoghan; COOK, Debra; MANG, Michael N.; NODA, Isao. Two-dimensional correlation analysis of highly spatially resolved simultaneous IR and Raman spectral imaging of bioplastics composite using optical photothermal Infrared and Raman spectroscopy. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1210, p. 128045, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128045>.

MARFELLA, Raffaele; PRATTICHIZZO, Francesco; SARDU, Celestino; FULGENZI, Gianluca; GRACIOTTI, Laura; SPADONI, Tatiana; D'ONOFRIO, Nunzia; SCISCIOLA, Lucia; LAGROTTA, Rosalba; FRIGÉ, Chiara. Microplastics and Nanoplastics in Atheromas and Cardiovascular Events. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 390, n. 10, p. 900-910, 7 mar. 2024. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa2309822>.

MASER, Andres; PEEBO, Karl; VILU, Raivo; NAHKU, Ranno. Amino acids are key substrates to *Escherichia coli* BW25113 for achieving high specific growth rate. **Research In Microbiology**, [S.L.], v. 171, n. 5-6, p. 185-193, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2020.02.001>.

MENDENHALL, Elizabeth. Oceans of plastic: a research agenda to propel policy development. **Marine Policy**, [S.L.], v. 96, p. 291-298, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpol.2018.05.005>.

MENDONÇA, Thatiane T.; TAVARES, Rafaela R.; CESPEDES, Lucas G.; SÁNCHEZ-RODRIGUEZ, Ruben J.; SCHRIPSEMA, Jan; TACIRO, Marilda K.; GOMEZ, José G.C.; SILVA, Luiziana F.. Combining molecular and bioprocess techniques to produce poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) with controlled monomer composition by *Burkholderia sacchari*. **International Journal Of**

Biological Macromolecules, [S.L.], v. 98, p. 654-663, maio 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.013>.

METWALLY, Sara; FERRARIS, Sara; SPRIANO, Silvia; KRYSIAK, Zuzanna J.; KANIUK, Łukasz; MARZEC, Mateusz M.; KIM, Sung Kyun; SZEWCZYK, Piotr K.; GRUSZCZYŃSKI, Adam; WYTRWAL-SARNA, Magdalena. Surface potential and roughness controlled cell adhesion and collagen formation in electrospun PCL fibers for bone regeneration. **Materials & Design**, [S.L.], v. 194, p. 108915, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2020.108915>.

MISCEVIC, Dragan; SRIRANGAN, Kajan; KEFALE, Teshager; KILPATRICK, Shane; CHUNG, Duane A.; MOO-YOUNG, Murray; CHOU, C. Perry. Heterologous production of 3-hydroxyvalerate in engineered *Escherichia coli*. **Metabolic Engineering**, [S.L.], v. 61, p. 141-151, set. 2020. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymben.2019.11.005>.

MOHAMED, Elsayed T.; MUNDHADA, Hemanshu; LANDBERG, Jenny; CANN, Isaac; MACKIE, Roderick I.; NIELSEN, Alex Toftgaard; HERRGÅRD, Markus J.; FEIST, Adam M.. Generation of an *E. coli* platform strain for improved sucrose utilization using adaptive laboratory evolution. *Microbial Cell Factories*, [S.L.], v. 18, n. 1, 29 jun. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-019-1165-2>.

NAGAJOTHI, Kasilingam; MURUGESAN, A. G.. Polyhydroxy butyrate biosynthesis by *Azotobacter chroococcum* MTCC 3858 through groundnut shell as lignocellulosic feedstock using resource surface methodology. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 13, n. 1, 3 jul. 2023. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-15672-y>.

NASCIMENTO, Valkirea Matos; SILVA, Luiziana Ferreira; GOMEZ, José Gregório Cabrera; FONSECA, Gustavo Graciano. Growth of *Burkholderia sacchari* LFM 101 cultivated in glucose, sucrose and glycerol at different temperatures. **Scientia Agricola**, [S.L.], v. 73, n. 5, p. 429-433, out. 2016. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0196>.

OECD (2022), *Global Plastics Outlook: Economic Drivers, Environmental Impacts and Policy Options*, OECD Publishing, Paris. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1787/de747aef-en>> Acesso em: 23 de setembro de 2024.

PALMONARI, A.; CAVALLINI, D.; SNIFFEN, C.J.; FERNANDES, L.; HOLDER, P.; FAGIOLI, L.; FUSARO, I.; BIAGI, G.; FORMIGONI, A.; MAMMI, L.. Short communication: characterization of molasses chemical composition. **Journal Of Dairy Science**, [S.L.], v. 103, n. 7, p. 6244-6249, jul. 2020. American Dairy Science Association. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-17644>.

PARVIZIFARD, Maryam; KARBASI, Saeed. Physical, mechanical and biological performance of PHB-Chitosan/MWCNTs nanocomposite coating deposited on bioglass based scaffold: potential application in bone tissue engineering.

International Journal Of Biological Macromolecules, [S.L.], v. 152, p. 645-662, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.266>.

PAULA, Fabrício C. de; PAULA, Carolina B.C. de; CONTIERO, Jonas. Prospective Biodegradable Plastics from Biomass Conversion Processes. **Biofuels - State Of Development**, [S.L.], p. 245-272, 11 jul. 2018. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.75111>.

PAULA, Fabrício Coutinho de; KAKAZU, Sérgio; PAULA, Carolina Bilia Chimello de; ALMEIDA, Alex Fernando de; GOMEZ, José Gregório Cabrera; CONTIERO, Jonas. *Burkholderia glumae* MA13: a newly isolated bacterial strain suitable for polyhydroxyalkanoate production from crude glycerol. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 20, p. 101268, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101268>.

PAWELEC, Kendell M.; WHITE, Ashley A.; BEST, Serena M.. Properties and characterization of bone repair materials. **Bone Repair Biomaterials**, [S.L.], p. 65-102, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-102451-5.00004-4>.

PERVEEN, Kousar; MASOOD, Farha; HAMEED, Abdul. Preparation, characterization and evaluation of antibacterial properties of epirubicin loaded PHB and PHBV nanoparticles. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 144, p. 259-266, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.049>.

PHANISANKAR, B.s.s.; RAO, N. Vasudeva; MANIKANTA, J.e.. Conversion of waste plastic to fuel products. **Materials Today: Proceedings**, [S.L.], v. 33, p. 5190-5195, 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.880>.

Plastics Europe. Plastics – the fast Facts 2024. Plastics Europe: Enabling a sustainable future. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2024/>> Acesso em: 07 de dezembro de 2024.

POMPE, Tilo; KELLER, Kristin; MOTHES, Gisela; NITSCHKE, Mirko; TEESE, Mark; ZIMMERMANN, Ralf; WERNER, Carsten. Surface modification of poly(hydroxybutyrate) films to control cell–matrix adhesion. **Biomaterials**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 28-37, jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.08.028>.

PRADELLA, José Geraldo da Cruz; TACIRO, Marilda Keico; MATEUS, Alis Yovana Pataquiva. High-cell-density poly (3-hydroxybutyrate) production from sucrose using *Burkholderia sacchari* culture in airlift bioreactor. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 101, n. 21, p. 8355-8360, nov. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.046>.

RAGUSA, Antonio; SVELATO, Alessandro; SANTACROCE, Criselda; CATALANO, Piera; NOTARSTEFANO, Valentina; CARNEVALI, Oliana; PAPA, Fabrizio; RONGIOLETTI, Mauro Ciro Antonio; BAIOTTO, Federico; DRAGHI, Simonetta. Plasticenta: first evidence of microplastics in human placenta. **Environment**

International, [S.L.], v. 146, p. 106274, jan. 2021. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2020.106274>.

RAY, Subhasree; KALIA, Vipin Chandra. Biomedical Applications of Polyhydroxyalkanoates. *Indian Journal Of Microbiology*, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 261-269, 22 abr. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12088-017-0651-7>.

REDDY, S. Vishnuvardhan; THIRUMALA, M.; MAHMOOD, S. K. A novel *Bacillus* sp. accumulating poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) from a single carbon substrate. *Journal Of Industrial Microbiology & Biotechnology*, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 837-843, 27 mar. 2009. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1007/s10295-009-0561-8>.

RODRÍGUEZ-CONTRERAS, Alejandra; GARCÍA, Yolanda; MANERO, José María; RUPÉREZ, Elisa. Antibacterial PHAs coating for titanium implants. *European Polymer Journal*, [S.L.], v. 90, p. 66-78, maio 2017. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.03.004>.

SAADATKHAH, Nooshin; GARCIA, Adrián Carillo; ACKERMANN, Sarah; LECLERC, Philippe; LATIFI, Mohammad; SAMIH, Said; PATIENCE, Gregory S.; CHAOUKI, Jamal. Experimental methods in chemical engineering: thermogravimetric analysis.: tga. *The Canadian Journal Of Chemical Engineering*, [S.L.], v. 98, n. 1, p. 34-43, 5 dez. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cjce.23673>.

SABAPATHY, Poorna Chandrika; DEVARAJ, Sabarinathan; MEIXNER, Katharina; ANBURAJAN, Parthiban; KATHIRVEL, Preethi; RAVIKUMAR, Yuvaraj; ZABED, Hossain M.; QI, Xianghui. Recent developments in Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production – A review. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 306, p. 123132, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123132>.

SAGONG, Hye-Young; SON, Hyeoncheol Francis; CHOI, So Young; LEE, Sang Yup; KIM, Kyung-Jin. Structural Insights into Polyhydroxyalkanoates Biosynthesis. *Trends In Biochemical Sciences*, [S.L.], v. 43, n. 10, p. 790-805, out. 2018. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2018.08.005>.

SAMBROOK, J.; FRITSH, E.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a Laboratory Manual**. New York: Cold Spring Harbor, 1988.

SALVY, Pierre; HATZIMANIKATIS, Vassily. Emergence of diauxie as an optimal growth strategy under resource allocation constraints in cellular metabolism. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [S.L.], v. 118, n. 8, 18 fev. 2021. Proceedings of the National Academy of Sciences.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2013836118>.

SAMROT, Antony V.; SAMANVITHA, Sree K.; SHOBANA, N.; RENITTA, Emilin R.; SENTHILKUMAR, P.; KUMAR, Suresh S.; ABIRAMI, S.; DHIVA, S.; BAVANILATHA, M.; PRAKASH, P.. The Synthesis, Characterization and Applications of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) and PHA-Based Nanoparticles. *Polymers*, [S.L.], v. 13, n. 19, p. 3302, 27 set. 2021. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/polym13193302>.

SANHUEZA, Claudia; ACEVEDO, Francisca; ROCHA, Sebastian; VILLEGAS, Pamela; SEEGER, Michael; NAVIA, Rodrigo. Polyhydroxyalkanoates as biomaterial for electrospun scaffolds. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [S.L.], v. 124, p. 102-110, mar. 2019. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.068>.

SARATALE, Rijuta Ganesh; CHO, Si-Kyung; SARATALE, Ganesh Dattatraya; KADAM, Avinash A.; GHODAKE, Gajanan S.; KUMAR, Manu; BHARAGAVA, Ram Naresh; KUMAR, Gopalakrishnan; KIM, Dong Su; MULLA, Sikandar I.. A comprehensive overview and recent advances on polyhydroxyalkanoates (PHA) production using various organic waste streams. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 325, p. 124685, abr. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124685>.

SARATALE, Ganesh Dattatraya; SARATALE, Rijuta Ganesh; VARJANI, Sunita; CHO, Si-Kyung; GHODAKE, Gajanan S.; KADAM, Avinash; MULLA, Sikandar I; BHARAGAVA, Ram Naresh; KIM, Dong-Su; SHIN, Han Seung. Development of ultrasound aided chemical pretreatment methods to enrich saccharification of wheat waste biomass for polyhydroxybutyrate production and its characterization.

Industrial Crops And Products, [S.L.], v. 150, p. 112425, ago. 2020. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112425>.

SCHMIDT, Alexander; KOCHANOWSKI, Karl; VEDELAAR, Silke; AHRNÉ, Erik; VOLKMER, Benjamin; CALLIPO, Luciano; KNOOPS, Kèvin; BAUER, Manuel; AEBERSOLD, Ruedi; HEINEMANN, Matthias. The quantitative and condition-dependent *Escherichia coli* proteome. *Nature Biotechnology*, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 104-110, jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1038/nbt.3418>.

SHAH, Mohsin; NASEER, Muhammad Imran; CHOI, Mun Hwan; KIM, Myeong Ok; YOON, Sung Chul. Amphiphilic PHA–mPEG copolymeric nanocontainers for drug delivery: preparation, characterization and in vitro evaluation. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 400, n. 1-2, p. 165-175, nov. 2010. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.08.008>.

SHARMA, Vibhuti; SEHGAL, Rutika; GUPTA, Reena. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Properties and modifications. *Polymer*, v. 212, p. 123161, 2021.

SHISHATSKAYA, Ekaterina I.; MENZYANOVA, Natalia G.; SHUMILOVA, Anna A.. The effect of the chemical composition and structure of polymer films made from resorbable polyhydroxyalkanoates on blood cell response. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [S.L.], v. 141, p. 765-775, dez. 2019. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.015>.

SIDDIQUA, Ayesha; HAHLADAKIS, John N.; AL-ATTIYA, Wadha Ahmed K. An overview of the environmental pollution and health effects associated with waste landfilling and open dumping. *Environmental Science And Pollution Research*, [S.L.], v. 29, n. 39, p. 58514-58536, 1 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-022-21578-z>.

- SIROHI, Ranjna; PANDEY, Jai Prakash; TARAFDAR, Ayon; AGARWAL, Aparna; CHAUDHURI, Sadhan Kumar; SINDHU, Raveendran. An environmentally sustainable green process for the utilization of damaged wheat grains for poly-3-hydroxybutyrate production. **Environmental Technology & Innovation**, [S.L.], v. 21, p. 101271, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eti.2020.101271>.
- STANLEY, Angelina; MURTHY, P. S. Keshava; VIJAYENDRA, S. V. N.. Characterization of Polyhydroxyalkanoate Produced by *Halomonas venusta* KT832796. **Journal Of Polymers And The Environment**, [S.L.], v. 28, n. 3, p. 973-983, 25 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-020-01662-6>.
- TA, Doan-Thanh; CHIANG, Chung-Jen; HUANG, Zhu-Xuan; LUU, Nguyen-Luan; CHAO, Yun-Peng. High production of poly(3-hydroxybutyrate) in *Escherichia coli* using crude glycerol. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 384, p. 129315, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129315>.
- TAN, Giin-Yu Amy; CHEN, Chia-Lung; GE, Liya; LI, Ling; WANG, Lin; ZHAO, Lei; MO, Yu; TAN, Swee Ngjin; WANG, Jing-Yuan. Enhanced gas chromatography-mass spectrometry method for bacterial polyhydroxyalkanoates analysis. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 117, n. 3, p. 379-382, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.08.020>.
- THANH, Nguyen Hong; OLEKHNOVICH, Roman; SITNIKOVA, Vera; KREMLEVA, Arina; SNETKOV, Petr; USPENSKAYA, Mayya. PHB/PEG Nanofiber Mat Obtained by Electrospinning and Their Performances. **Technologies**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 48, 24 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/technologies11020048>.
- THIELEN, Michael. **Bioplastics: basics, applications, markets**. Polymedia, 2012.
- THOMAS, Tatiana; ELAIN, Anne; BAZIRE, Alexis; BRUZAUD, Stéphane. Complete genome sequence of the halophilic PHA-producing bacterium *Halomonas* sp. SF2003: insights into its biotechnological potential. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 35, n. 3, p. 35-50, mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-019-2627-8>.
- TOKIWA, Yutaka; CALABIA, Buenaventurada; UGWU, Charles; AIBA, Seiichi. Biodegradability of Plastics. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 3722-3742, 26 ago. 2009. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms10093722>.
- TOMIETTO, Pacôme; LOULERGUE, Patrick; PAUGAM, Lydie; AUDIC, Jean-Luc. Biobased polyhydroxyalkanoate (PHA) membranes: structure/performances relationship. **Separation And Purification Technology**, [S.L.], v. 252, p. 117419, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117419>.
- TRAKUNJAE, Chanaporn; BOONDAENG, Antika; APIWATANAPIWAT, Waraporn; KOSUGI, Akihiko; ARAI, Takamitsu; SUDESH, Kumar; VAITHANOMSAT, Pilanee. Enhanced polyhydroxybutyrate (PHB) production by newly isolated rare

actinomycetes *Rhodococcus* sp. strain BSRT1-1 using response surface methodology. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, 21 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-81386-2>.

TUGAROVA, Anna V.; DYATLOVA, Yulia A.; KENZHEGULOV, Odissey A.; KAMNEV, Alexander A.. Poly-3-hydroxybutyrate synthesis by different *Azospirillum brasilense* strains under varying nitrogen deficiency: a comparative in-situ FTIR spectroscopic analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 252, p. 119458, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2021.119458>.

ULAGANATHAN, Kandasamy; GOUD, Sravanthi; REDDY, Madhavi; KAYALVILI, Ulaganathan. Genome engineering for breaking barriers in lignocellulosic bioethanol production. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 74, p. 1080-1107, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.028>.

UTSUNOMIA, Camila; REN, Qun; ZINN, Manfred. Poly(4-Hydroxybutyrate): current state and perspectives. **Frontiers In Bioengineering And Biotechnology**, [S.L.], v. 8, 3 abr. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2020.00257>.

VALE, Rayane da Silva. **Estudo da estrutura de complexos de polieletrólitos sobre as propriedades de transporte de água e sais**. 2015. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/6614?show=full>. Acesso em: 20 de janeiro de 2023.

VICENTE, Diogo; PROENÇA, Diogo Neves; MORAIS, Paula V.. The Role of Bacterial Polyhydroalkanoate (PHA) in a Sustainable Future: a review on the biological diversity. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 2959, 8 fev. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph20042959>.

VOLKMER, Benjamin; HEINEMANN, Matthias. Condition-Dependent Cell Volume and Concentration of *Escherichia coli* to Facilitate Data Conversion for Systems Biology Modeling. **Plos One**, [S.L.], v. 6, n. 7, p. e23126, 29 jul. 2011. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0023126>.

WAGNER, Michael; HORN, Harald. Optical coherence tomography in biofilm research: a comprehensive review. **Biotechnology And Bioengineering**, [S.L.], v. 114, n. 7, p. 1386-1402, 23 mar. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bit.26283>.

WANG, Rui-Yan; SHI, Zhen-Yu; CHEN, Jin-Chun; WU, Qiong; CHEN, Guo-Qiang. Enhanced co-production of hydrogen and poly-(R)-3-hydroxybutyrate by recombinant PHB producing *E. coli* over-expressing hydrogenase 3 and acetyl-CoA synthetase. **Metabolic Engineering**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 496-503, set. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymben.2012.07.003>.

WANG, Baowei; ZHANG, Xiaoxia; YU, Xinlei; CUI, Zhenzhen; WANG, Zhiwen; CHEN, Tao; ZHAO, Xueming. Evolutionary engineering of *Escherichia coli* for

improved anaerobic growth in minimal medium accelerated lactate production. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 103, n. 5, p. 2155-2170, 8 jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-018-09588-9>.

YANG, Yunxiao; XIE, Enzehua; DU, Zhiyong; PENG, Zhan; HAN, Zhongyi; LI, Linyi; ZHAO, Rui; QIN, Yanwen; XUE, Mianqi; LI, Fengwang. Detection of Various Microplastics in Patients Undergoing Cardiac Surgery. **Environmental Science & Technology**, [S.L.], v. 57, n. 30, p. 10911-10918, 13 jul. 2023. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.2c07179>.

YOUSEFI, Amy M.; WNEK, Gary E..Poly(hydroxyalkanoates): emerging biopolymers in biomedical fields and packaging industries for a circular economy. **Biomedical Materials & Devices**, [S.L.], 11 mar. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s44174-024-00166-4>.

ZHANG, Junyu; SHISHATSKAYA, Ekaterina I.; VOLOVA, Tatiana G.; SILVA, Luiziana Ferreira da; CHEN, Guo-Qiang. Polyhydroxyalkanoates (PHA) for therapeutic applications. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 86, p. 144-150, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.12.035>.

ZHANG, Shuhang; WANG, Jingjing; JIANG, Hong. Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 346, p. 128860, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128860>.