

Alcanos são hidrocarbonetos saturados e constituem a maior parte dos componentes dos produtos derivados do refino do petróleo, como o óleo diesel. Bactérias degradadoras de alcanos são ubíquas na natureza e podem exercer um papel fundamental na degradação do óleo diesel ou de misturas de diesel e biodiesel (BX) durante seu armazenamento, metabolizando tais alcanos devido à presença de enzimas alcano hidroxilases (gene alk-B). Neste sentido, o objetivo do trabalho foi testar uma ferramenta molecular para avaliar o potencial deteriogênico das misturas BX por microrganismos, através da detecção do gene da alcano-hidroxilase (alk-B), por PCR. Para esta avaliação, extraiu-se o DNA, utilizando-se o Wizard Genomic DNA Purifications Kit (Promega), de 14 bactérias isoladas a partir do armazenamento simulado, em tanques de aço carbono de 1L, de misturas BX, em 60 dias de avaliação. Para a amplificação de parte do gene alk-B, utilizou-se o par de oligonucleotídeos iniciadores, PseuseF5'-AYGTSCGYGGCCACCATGT-3' e PseuasR5'-AYGTSCGYGGC CACCATGT-3', gerando um fragmento de 312pb. As mesmas bactérias também foram semeadas em meio cetrimida, seletivo para *Pseudomonas* sp.; e em meio indicativo de produção de biosurfactantes, do tipo ramnolipídico. Durante a coleta, não foi observada a formação de borra nos tanques, e a contagem dos microrganismos revelou níveis considerados normais de contaminação, não ultrapassando a contagem de  $5,1 \times 10^2$  UFC.ml<sup>-1</sup>. Entretanto, foi possível detectar o gene alk-B em 13 das 14 bactérias isoladas, sendo que as 13 foram classificadas como pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp. Entre os isolados positivos para alk-B, verificou-se 3 como produtores de biosurfactante ramnolipídico, comumente produzido por *Pseudomonas* sp. Através da detecção do gene alk-B, pode-se inferir que a técnica de PCR pode ser utilizada como uma ferramenta para identificar microrganismos com potencial de biodegradar o combustível, antes de atingir níveis de contaminação que acarretem na diminuição da qualidade final do produto.