



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

GISELY ALVES DA SILVA

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PBAT EM BIODIGESTORES
ANAERÓBIOS**

Recife

2024

GISELY ALVES DA SILVA

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PBAT EM BIODIGESTORES
ANAERÓBIOS**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientadoras: Prof^a. Dra. Gloria Maria Vinhas

Prof^a. Dra. Maria de Los Angeles Perez F. Palha

Recife

2024

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Silva, Gisely Alves da.

Estudo da biodegradação de filmes de PBAT em biodigestores anaeróbios / Gisely Alves da Silva. - Recife, 2024.
79f.: il.

Tese (Doutorado) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIA, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Orientação: Profa . Dra. Gloria Maria Vinhas.

Coorientação: Profa . Dra. Maria de Los Angeles Perez F. Palha.

1. biodegradação anaeróbica; 2. lodo; 3. óleo de laranja; 4. PBAT. I. Vinhas, Profa . Dra. Gloria Maria. II. Palha, Profa . Dra. Maria de Los Angeles Perez F. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CDD 660

GISELY ALVES DA SILVA

**ESTUDO DA BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PBAT EM BIODIGESTORES
ANAERÓBIOS**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Aprovado em: 28/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Glória Maria Vinhas
(Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco –
UFPE

Prof. Dr. Fernando Hallwass
(Examinador Externo ao Programa)
Universidade Federal de Pernambuco -
UFPE

Prof^ª. Dra. Maria de Los Angeles P. F.
Palha (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco -
UFPE

Prof. Dr. Eduardo Padron Hernandez
(Examinador Externo ao Programa)
Universidade Federal de Pernambuco -
UFPE

Prof. Dr. Luciano Costa Almeida
(Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco -
UFPE

Prof. Dr. Pedro Ferreira de Souza Filho
(Examinador Externo ao Programa)
Universidade Federal de Pernambuco -
UFPE

Prof. Dr. Sergio Peres Ramos da Silva
(Examinador Externo a UFPE)
Universidade de Pernambuco – UPE

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado nos caminhos certos e por toda força a mim concedida nos momentos necessários.

A meu companheiro Stênio Malheiros por toda paciência e compreensão, nos dias e noites dedicados a esse trabalho e ao meu filho Heitor Malheiros que mesmo sem entender sentiu minha ausência.

À minha mãe Irani Alves, meu pai José Genivaldo (em memória) e minha irmã Isabela Alves, que muito me auxiliaram durante todo o percurso com seu apoio, paciência, amor e carinho.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Engenharia Química que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação profissional, em especial a funcionária e amiga Carla Fabiana.

A todos do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Engenharia Química, principalmente, Conceição Andrade, pela ajuda durante as atividades nos trabalhos desenvolvidos e todo apoio emocional.

Às Professoras Glória Maria Vinhas e Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha, pela orientação, paciência, dedicação e disposição. E por sempre acreditarem na minha capacidade, mesmo quando eu mesma duvidava. Obrigada por lutarem por mim.

À Universidade Federal de Pernambuco e em especial ao Departamento de Engenharia Química que me forneceu os meios materiais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Petroquímica do Instituto de Pesquisa Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo e Energia, LITPEG - UFPE; em especial a Ivo Diego, Michelle Andrade, Mariana Alves, Viviane Caetano, Luiz Emílio e Professora Yeda Almeida, que me receberam e foram bastante solícitos nas minhas análises.

A Matheus Oliveira e Alice Maria Z. dos Santos alunos de iniciação científica e bolsista de apoio técnico que foram essenciais no desenvolvimento prático e teórico deste trabalho.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

A utilização de polímeros biodegradáveis aplicados em sistemas de embalagens ativas, onde são incorporados aditivos que visam prolongar a vida útil dos alimentos, é um tema promissor na busca por materiais ecologicamente corretos. Porém, não se sabe se nestes sistemas a presença do aditivo antimicrobiano exercerá influência negativa no processo de biodegradação deste material polimérico. Assim, neste trabalho foi monitorado o processo de biodegradação de filmes de poli(adipato-co-tereftalato de butileno) (PBAT) aditivados com óleo essencial de laranja em biodigestores anaeróbios, bem como o crescimento dos micro-organismos envolvidos durante o processo, e a produção de gás metano que é o principal metabólito neste tipo de biodigestão anaeróbica. Para o desenvolvimento dessa pesquisa, filmes de PBAT foram produzidos através do processo de extrusão e adicionados de óleo essencial de laranja nas concentrações de 0 e 15% em peso. Os filmes antes e após a biodegradação de 90 dias foram avaliados macroscopicamente por infravermelho médio e análise termogravimétrica. Os resultados mostraram que no intervalo de 90 dias não foi suficiente para mineralizar o polímero e que o óleo essencial de laranja não teve influência no processo de biodegradação. Os filmes de PBAT e PBAT/OE foram estáveis quando submetidos à biodegradação em lodo por 90 dias. Para dar continuidade ao estudo de biodegradação dos filmes, o sistema foi mantido por 1080 e 1260 dias. Como resultados, macroscopicamente os filmes se mantiveram inteiros com 1080 dias e com 1260 observou-se a fragmentação acentuada das amostras. Não foi possível acompanhar a produção de gás nesse período, pois houve uma inviabilidade celular para a produção desse bioproduto. Referente aos micro-organismos presentes no meio, observou-se uma redução da quantidade de todas os grupos estudados. Foi possível determinar uma perda da massa de 11,28% para o PBAT e 17,66% para o PBAT/OE no final do processo com 1260 dias. Com relação as propriedades térmicas, as regiões cristalinas dos fragmentos dos filmes conservaram os parâmetros térmicos, apesar das amostras tanto de PBAT pura como as de PBAT/OE estarem em estado de alta fragmentação durante seu manuseio para realização das análises.

Palavras-Chave: biodegradação anaeróbica; lodo; óleo de laranja; PBAT.

ABSTRACT

The use of biodegradable polymers applied in active packaging systems, where additives are incorporated that aim to extend the shelf life of foods, is a promising topic in the search for ecologically correct materials. However, it is not known whether in these systems, the presence of the antimicrobials additive, will exert a negative influence on the biodegradation process of this polymeric material. Thus, in this work, the biodegradation process of poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) films additive with orange essential oil in anaerobic bioreactors was monitored, as well as the growth of microorganisms involved during the process, and the production of methane gas that is the main metabolite in this type of biodegradation. PBAT films were produced through the extrusion process and added orange essential oil at concentrations of 0 and 15 % wt. were used. The films before and after the 90-day biodegradation were macroscopically evaluated by medium infrared, exploratory differential calorimetry, and thermogravimetric analysis. The results showed that the evaluated period was not sufficient to mineralize the polymer and that orange essential oil had no influence on the biodegradation process. The PBAT and PBAT/EO films were stable when submitted to biodegradation in sludge for 90 days. The system was maintained and later analyzed with 1080 and 1260 days. Macroscopically, the films remained intact at 1080 days and at 1260, fragmentation of the films was observed. It was not possible to monitor gas production during this period. In relation to the microorganisms present in the environment, a reduction in the quantity of all groups studied was observed. It was possible to determine a mass loss of 11.28% for PBAT and 17.66% for PBAT/OE at the end of the process after 1260 days. Regarding thermal properties, the crystalline regions of the film fragments preserved their thermal parameters, despite the samples of both pure PBAT and PBAT/OE being in a state of high fragmentation during handling for analysis.

Keywords: anaerobic biodegradation; sludge; orange oil; PBAT.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura do PBAT e seus componentes, BT – Butileno tereftalato, BA – Butileno adipato ,ácido tereftálico (T), 1,4 butanodiol (B), ácido adípico (A).....	21
Figura 2 -	Possíveis mecanismos de liberação de agentes antimicrobianos em embalagens.....	23
Figura 3 -	Mecanismo de degradação do polímero por ação de micro-organismos.....	25
Figura 4 -	Vantagens do processo anaeróbico <i>versus</i> processos aeróbios...	28
Figura 5 -	Esquema representando as principais etapas do processo da biodigestão anaeróbia.....	29
Figura 6 -	Aparelho para digestão anaeróbica, A - Exemplo dado pela norma ISO14853, B- Aparato adaptado que foi utilizado nesta pesquisa.....	36
Figura 7 -	Esquema prático da metodologia <i>Pour plate</i>	42
Figura 8 -	Filmes PBAT e PBAT/OE.....	44
Figura 9 -	Materiais utilizados nos ensaios de biodegradação.....	45
Figura 10 -	Biodigestor com produção de gás evidenciada pelo deslocamento do embolo da seringa.....	46
Figura 11-	Volume de gás produzido, volume de metano e dióxido de carbonos em 90 dias de digestão e o percentual de metano.....	47
Figura 12 -	Filmes PBAT, PBAT/OE, PEBD submetidos ao processo de biodegradação anaeróbia em meio de Lodo de ETE após 1260 dias.....	51
Figura 13 -	Filmes PBAT, PBAT/OE, PEBD submetidos ao processo de biodegradação anaeróbia em meio de Lodo de ETE após 1260 dias.....	52
Figura 14 -	Gráfico da evolução da perda de massa dos materiais em relação ao tempo de exposição ao lodo em condições anaeróbicas.....	53

Figura 15 -	Espectros infravermelhos de PBAT puro (a) antes e após os dias de biodegradação em biorreator de lodo; e (b) espectros de infravermelho PBAT/EO antes e após os dias de biodegradação em biorreator de lodo; (c) espectro infravermelho do óleo essencial de laranja.....	54
Figura 16 -	Gráfico das scores dos filmes de PBAT, PBAT-0 antes do processo de biodegradação e PBAT-1260 após processo de biodegradação em condições anaeróbias.....	57
Figura 17 -	Gráfico das scores dos filmes de PBAT/OE, PBAT/OE-0 antes do processo de biodegradação e PBAT/OE-1260 após processo de biodegradação em condições anaeróbias.....	57
Figura 18 -	Gráficos de loadings dos filmes com 0 dias e 1260 dias do processo de biodegradação ,PBAT-0 e PBAT-1260 para o PBAT puro (a) e PBAT/EO-0 e PBAT/EO-1260 para o PBAT adicionado de 15% de óleo essencial de laranja (b).....	59
Figura 19 -	Curva de (a) TGA e (b) DTG do filme de PBAT puro antes e após os 90 dias de biodegradação.....	62
Figura 20 -	Curva de (a) TGA e (b) DTG do filme de PBAT/15% óleo antes e após os 1260 dias de biodegradação.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição do meio para bactérias aeróbias heterotróficas.....	38
Tabela 2 -	Composição do meio para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
Tabela 3 -	Composição do meio para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> planctônicas.....	39
Tabela 4 -	Composição da solução redutora.....	39
Tabela 5 -	Composição do meio para bactérias anaeróbias heterotróficas.	40
Tabela 6 -	Composição do meio para BRS.....	40
Tabela 7 -	Composição do meio para fungos.....	41
Tabela 8 -	Composição do meio para bactérias produtoras de ácidos.....	43
Tabela 9 -	Quantificação microbiológica do meio anaeróbio.....	49
Tabela 10 -	Bandas características para o PBAT.....	55
Tabela 11-	Bandas características do óleo de laranja com constituinte principal Limoneno.....	55
Tabela 12 -	Índice de carbonila dos filmes antes e pós ensaio de biodegradação, e seus respectivos desvios em relação as medidas.....	60
Tabela 13 -	Dados obtidos do TGA do filme de PBAT/15% óleo antes e após os 1260 dias de biodegradação.....	64
Tabela 14 -	Dados obtidos na calorimetria exploratória diferencial dos filmes antes e após 90 dias de ensaio de biodegradação.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- DSC – Differential scanning calorimetry - Calorimetria exploratória diferencial
- FTIR – Fourier-transform infrared spectroscopy - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
- PBAT – Poli (butileno adipato co-tereftalato)
- PCL – Policaprolactona
- PET – Poli (etileno tereftalato)
- PHA – Polihidroxiacanoato
- PHB – Poli (3-hidroxi butirato) ou polihidroxi butirato
- PLA – Políácido láctico
- PP – Polipropileno
- TGA – Thermogravimetric analysis - Análise termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVO GERAL.....	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1	POLIMEROS BIODEGRADÁVEIS	19
2.3	POLI(BUTILENO ADIPATO CO-TEREFTALATO) – PBAT.....	20
2.4	EMBALAGENS ATIVAS	22
2.4.1	Embalagens Ativas Antimicrobianas.....	22
2.2	BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS	24
2.5	DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	27
2.5.1	Hidrólise: Primeira etapa do processo de biodigestão	30
2.5.2	Acidogênese: Segunda etapa do processo de biodigestão	30
2.5.3	Acetogênese: Terceira etapa do processo de biodigestão.....	30
2.5.4	Metanogênese: Quarta etapa do processo de biodigestão.....	31
2.5.5	Sulfetogênese	32
3	MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1	PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	34
3.1.1	Preparação dos filmes	34
3.1.2	Caracterização dos filmes antes e após os ensaios de biodegradação.....	35
3.1.2.1	Caracterização Química por Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	35
3.1.2.2	Caracterização Física por Calorimetria diferencial exploratória (DSC)	35
3.1.2.3	Caracterização Física Análise termogravimétrica (TGA)	37
3.2	ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO	37
3.3	ANÁLISES DO GÁS	38
3.4	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MEIO.....	38
3.4.1	Bactérias Aeróbias Heterotróficas	39
3.4.2	Bactérias <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....	39
3.4.3	Bactérias Anaeróbias Heterotróficas	40
3.4.4	Bactérias Redutoras do Sulfato (BRS)	41
3.4.5	Fungos filamentosos	42

3.4.6	Bactérias Produtoras de Ácidos	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1	ASPECTOS MACROSCÓPICOS DOS FILMES PRODUZIDOS	45
4.2	ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO	46
4.3	ANÁLISE DO GÁS	47
4.4	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MEIO.....	49
4.5	ASPECTOS VISUAIS DOS FILMES PÓS PROCESSO BIODEGRADAÇÃO..	52
4.6	PERDA DE MASSA DOS FILMES.....	53
4.7	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	55
4.8	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	63
4.9	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL – DSC	65
5	CONCLUSÃO.....	67
	REFERÊNCIAS	68
	APÊNDICE	76
	APÊNDICE A	77
	ANEXOS	78

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa do World Wide Fund for Nature Internacional, aponta que 60% do plástico produzido é de uso único e tem alguma aplicação durante o período de um ano até ser descartado, gerando assim uma enorme quantidade de resíduos plásticos que se acumulam e tornam-se uma grande problemática associada a esses resíduos no meio ambiente principalmente os mares. O Brasil despeja cerca de 3,4 milhões de toneladas de resíduo plástico mal gerenciado no mar por ano (WWF, 2024; Alencar *et al*, 2023).

Segundo o Relatório das Nações Unidas essa problemática tende a ser minimizada, pois será possível reduzir a poluição plástica em 80% em todo o mundo até 2040. Para isso, serão necessários alguns passos, como a eliminação de plásticos problemáticos e desnecessários para minimizar o tamanho dessa disfunção ambiental. De acordo com o documento há necessidade de três mudanças no mercado– reutilizar, reciclar e reorientar e diversificar os produtos. Reorientar e diversificar significa substituição cuidadosa de produtos, como embalagens plásticas, sachês e embalagens para viagem, por produtos feitos de outros materiais alternativos (como papel ou materiais compostáveis), dessa forma, pode proporcionar uma redução adicional considerável na poluição plástica (ONU, 2023)

Nessa temática, com a intensão de redução da poluição plástica, a estratégias mais eficaz consiste no desenvolvimento de materiais biodegradáveis que possuem características físicas e químicas para substituir a utilização de plástico convencionais. As pesquisas sobre materiais biodegradáveis concentram-se principalmente em polímeros sintéticos e naturais (Cheng *et al.*, 2021).

Dentro desse assunto, muitos estudos vêm surgindo no âmbito que envolve materiais alternativos no desenvolvimento de embalagens a fim de torná-las mais sustentáveis e ecologicamente corretas. Uma vez que a maioria das embalagens utilizadas em alimentos não é feita de materiais degradáveis (Wróblewska-Krepsztul *et al*, 2018).

A indústria alimentícia vem direcionando esforços para adotar embalagens recicláveis e biodegradáveis (Agarwal, 2020). Visando prolongar a vida útil dos alimentos e preservar sua qualidade, tem-se desenvolvido embalagens ativas que possuam a capacidade de liberar substâncias ativas com funções específicas, protegendo os alimentos contra a ação prejudicial de micro-organismos e mesmo do oxigênio, fatores cruciais no processo de degradação alimentar (Paulo *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais extraídos de plantas têm recebido ampla atenção na indústria de alimentos por seu potencial como aditivos naturais, apresentando atividade contra micro-organismos e neutralizando espécies reativas de oxigênio (ERO's) (Thinh et al., 2023).

O uso de plásticos sintéticos (por exemplo: poli (cloreto de vinila), poliestireno, poli(tereftalato etileno), polietileno, polipropileno, poliamida, etc.) se dá devido ao seu baixo custo, boas propriedades mecânicas, como resistência à tração, resistência ao rasgo, boa barreira ao oxigênio e dióxido de carbono. No entanto, as preocupações ambientais exigem restrições em seu uso extensivo, principalmente porque não serão biodegradáveis e nem serão totalmente capazes de serem reciclados (Rocculi *et al*, 2008). A substituição desses tipos de plásticos deve ser feita apenas por materiais com impacto líquido positivo ao meio ambiente. Neste cenário ganham importância a substituição de polímeros sintéticos convencionais por outros materiais menos agressivos ao meio ambiente como as embalagens poliméricas biodegradáveis e os biopolímeros surgem como soluções para reduzir os resíduos poliméricos, principalmente as embalagens descartáveis que não sofrem degradação biológica e permanecem poluindo e agredindo o meio ambiente após seu descarte (Nobrega et al., 2013; Kanwal et al., 2022).

De acordo com a *American Standard for Testing and Methods* (ASTM), em sua norma D883, polímeros biodegradáveis são polímeros nos quais a degradação resulta primariamente da ação de micro-organismos tais como bactérias, fungos e algas de ocorrência natural. Os biopolímeros devem ser biodegradáveis, principalmente em termos de compostagem, para que sejam descartados no solo (Rocculi *et al*, 2008).

Dentre os polímeros ambientalmente corretos, o Poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT) é um exemplo, pois é considerado biodegradável, pode ser usado para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, com aplicabilidade direcionada para filmes flexíveis para embalagens de alimentos, uma vez que é considerado seguro e autorizado pela Food and Drug Administration (FDA) para ser utilizado para indústria de produtos alimentícios, por ser atóxico e apresentar-se livre de metais pesados (Muroi et al., 2017; Almeida et al., 2016).

A biodegradação de polímeros consiste em três etapas importantes: Biodeterioração, Biofragmentação e Assimilação (Lucas *et al.*, 2008). Os fatores mais relevantes que afetam a biodegradação do plástico no ambiente são a estrutura química, a cadeia polimérica, a cristalinidade e a complexidade da fórmula polimérica. Além disso, as condições ambientais em que os polímeros são descartados como pH, temperatura, umidade e o teor de oxigênio são fatores relevantes que devem ser considerados na biodegradação de polímeros (Massardier-Nageotte *et al.*, 2006, Kale *et al.*, 2007).

Pode-se inferir que o processo de biodegradação é um fenômeno natural, em que substâncias químicas orgânicas presentes no ambiente são convertidas em compostos mais simples, que são redistribuídos através dos ciclos elementares de carbono, nitrogênio e enxofre. Para que biodegradação ocorra é necessário a presença de microrganismos que desempenham um papel fundamental no processo, pela ação de enzimas, seja em condições de aerobiose ou anaerobiose, promovem a quebra das macromoléculas, reações denominadas de bióticas. As reações abióticas, como oxidação, fotodegradação ou hidrólise auxiliam no processo de fragmentação das cadeias poliméricas, que serão assimiladas pelas células (Zhong et al., 2020; Asiandu et al., 2022; Venkatesan et al., 2022).

Muitos bioplásticos contêm uma mistura de componentes, como polímeros sintéticos, ou outros aditivos, para aprimorar as características funcionais das embalagens e ampliar o escopo de aplicação, podendo inclusive facilitar seu processo de decomposição (Rocculi *et al.*, 2008).

Os materiais biodegradáveis podem ser eliminados em dois tipos de meios diferentes, o terrestre, que engloba o solo e a compostagem, e o aquático que envolve o lodo de esgoto aeróbico e o anaeróbico (Gomes *et al.*, 2017).

No caso de biodegradação anaeróbica terrestre, existem dois mecanismos de degradação do polímero. Na biodegradação aeróbica do bioplástico (como compostagem), basicamente o produto da decomposição do polímero é o dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O), enquanto que na biodegradação anaeróbica (como digestão anaeróbica em aterros sanitários) os produtos formados são o dióxido de carbono (CO_2), água (H_2O) e o gás metano (CH_4) (Rydz *et al.*, 2015; Krzemińska, Neczaj, Borowski, 2015).

Aspectos considerados importantes na biodigestão anaeróbia dos plásticos estão relacionados ao processo de despolimerização dessas macromoléculas por metabolismos anaeróbios eficientes, resultando como uma alternativa para diminuir o impacto ambiental do pós-consumo desses materiais. Outro aspecto importante é a produção do gás metano, principal produto na biodigestão anaeróbica realizado por um grupo de micro-organismos, *Archaea*. Logo, nesse processo a biodegradação dos plásticos também resultará em uma forma de obtenção de energia limpa e renovável (Coimbra-Araújo *et al.*, 2014; Raposo *et al.*, 2011).

Diante do exposto, o uso generalizado de plásticos não biodegradáveis vem gerando um grande impacto negativo ao meio ambiente, sendo a substituição desse tipo de polímero pelos biodegradáveis uma solução para a problemática da poluição desses materiais pós-consumo nos biomas. Somado a isso, a valorização de produtos do metabolismo microbiano durante a

biodegradação anaeróbica dos polímeros é uma alternativa promissora para viabilizar a produção de energia.

1.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a biodegradação do Poli (butileno adipato co-tereftalato)-PBAT com e sem adição do óleo de laranja por biodigestão anaeróbia utilizando lodo de Estação de tratamento de esgoto (ETE) na produção de biogás.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o processo de preparação de filmes poliméricos de PBAT por extrusão, com e sem adição do aditivo antimicrobiano.
- Avaliar a biodegradação de filmes com e sem os aditivos antimicrobianos.
- Realizar as caracterizações térmica, química e morfológica dos filmes antes e após os ensaios de biodegradação.
- Investigar o meio (lodo ETE) quanto a população microbiana.
- Analisar os ensaios de biodegradação polimérica usando lodo de estação de tratamento de esgoto em condições anaeróbicas.
- Estudar a composição do gás produzido na biodigestão.
- Analisar a influência dos filmes poliméricos estudados na produção de biogás.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os Materiais poliméricos apresentam propriedades adequadas para diversas aplicações, como em embalagens, materiais de construção, produtos de higiene, indústria automobilística (Callister, Rethwisch, 2020). Dentre as aplicações citadas, esses materiais vêm sendo amplamente utilizados no mercado de embalagens alimentícias devido às diversas vantagens que oferecem para atender aos requisitos padrão de embalagens. Em geral, esses materiais apresentam bom desempenho mecânico, térmico e propriedades de barreira, além de serem moldáveis, proporcionando maior flexibilidade de *design*. Esses benefícios, combinados com características como baixo custo, inerticidade, leveza, transparência e a capacidade de impressão pela maioria dos polímeros, destacam os materiais poliméricos em relação a outras classes de materiais. Essa combinação de propriedades eleva a atratividade dos polímeros para aplicações específicas em embalagens alimentícias (Hrnjak-murgic, 2015; Yoshida *et al.* 2016).

A durabilidade, umas das características desejadas dos polímeros, podem levar a problemas ambientais, principalmente no caso de polímeros convencionais derivados do petróleo, pois esses materiais, em geral, não são biodegradáveis e, devido à sua resistência à degradação biológica, acumulam-se e poluem o meio ambiente. Desse modo há um aumento nos estudos sobre o uso de materiais biodegradáveis, que sejam capazes de substituir os polímeros convencionais, com a finalidade de mitigar a poluição ambiental da atualidade (Zhong *et al.*, 2020).

A categorização dos materiais poliméricos utilizados no acondicionamento de produtos baseia-se em sua origem, sendo classificados em dois grupos: renováveis e não renováveis. O primeiro conjunto engloba os biopolímeros, materiais naturais provenientes de fontes animais ou vegetais, como quitosana, amido, acetato de celulose e poli (ácido láctico) (PLA). Esses biopolímeros têm despertado um interesse crescente no cenário comercial, dada sua biodegradabilidade e caráter mais sustentável em comparação aos polímeros convencionais. Em contrapartida, o segundo grupo, constituído por polímeros derivados do petróleo e não biodegradáveis, ainda ocupa uma posição preponderante na indústria de embalagens para alimentos (Katiyar, 2017; Zhong *et al.*, 2020).

2.1 POLIMEROS BIODEGRADÁVEIS

Os plásticos degradáveis são polímeros passíveis de sofrer alterações em sua estrutura química em condições ambientais específicas, proporcionando perda significativa nas propriedades físicas e mecânicas, de acordo com a Sociedade Americana de Ensaio de Materiais (ASTM- American Society for Testing and Materials) e pela *International Standards Organization* (ISO). Nesta definição, os plásticos biodegradáveis são suscetíveis à degradação por enzimas produzidas por micro-organismos, incluindo bactérias, fungos e algas (Gross; Kalra, 2002).

ASTM D883-18 – É aquele em que todo o carbono orgânico deverá ser convertido para biomassa, água, dióxido de carbono, e/ou metano via a ação natural de micro-organismos de ocorrência natural, como bactérias e fungos, em um período de tempo consistente com as condições ambientais do método de disposição (Vieira, 2010).

A maioria dos plásticos de base fóssil usados hoje em dia, não são biodegradáveis, como por exemplo, o polietileno, polipropileno, poliestireno e poli(cloreto de vinila). Já os polímeros de base biológica são produzidos a partir de materiais naturais, como amido de milho, batata, goma de tapioca, arroz, trigo, mandioca, óleos de sementes de palmeira, linhaça, soja, entre outros. Há também os que são obtidos como produtos de fermentação, como poli(ácido láctico) (PLA) chamado de polímero biotecnológico, uma vez que seu monômero (ácido láctico) vem da fermentação do açúcar e sua polimerização é via síntese química. Uma outra classe desses polímeros é o microbiano, as bactérias produzem o poli(hidroxialcanoato) (PHA) como reserva energética, como exemplo dessa classe tem-se o poli(hidroxibutirato) (PHB). A maioria dos materiais de base biológica são biodegradáveis (Greene, 2018).

Há ainda uma classe de polímeros que são sintéticos, mas por apresentarem estruturas de poliésteres alifáticos, podem ser biodegradáveis, como representantes desses polímeros pode-se citar o poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT).

Como a maioria dos polímeros que são utilizados não são biodegradáveis, esses se acumulam no ambiente em grandes quantidades devido ao gerenciamento inadequado e descontrolado dos resíduos. Desta forma, representam uma ameaça ao planeta (Sharma, Dhingra 2016; Ahmed, 2018).

A participação de polímeros plásticos biodegradáveis para aplicações comerciais é muito baixa, principalmente devido à sua estrutura complexa e falta de conhecimento sobre condições otimizadas para degradação rápida (Rujnić-Sokele; Pilipović, 2017). Se estratégias como gerenciamento adequado de resíduos, controle de lixo, educação da comunidade e

desenvolvimento de instalações de biodegradação industrial forem adotadas, os plásticos biodegradáveis que apresentem propriedades semelhantes aos convencionais, poderão substituir polímeros não biodegradáveis em algumas aplicações, como embalagens de descartabilidade rápida, a fim de garantir a segurança ambiental (Ahmed, 2018).

2.3 POLI (BUTILENO ADIPATO CO-TEREFTALATO) – PBAT

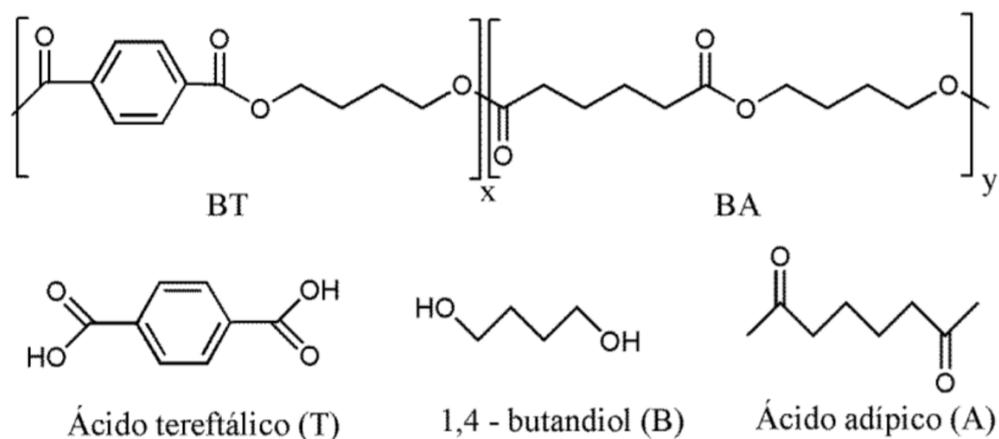
O PBAT aparece como uma opção dentro dos polímeros biodegradáveis uma vez que possui também diversas certificações internacionais havendo entre elas a certificação europeia (European Standard DIN EM 13432), norte-americana (ASTM D-6400), e japonesa (GreenPLA Standard) que validam sua biodegradabilidade e compostabilidade (BASF, 2023; Muroi et al., 2017; Zehetmeyer, 2016).

A BASF é a Empresa que comercializa o poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) com o nome comercial de Ecoflex® que é um copoliéster alifático-aromático derivado do 1,4 butanodiol, ácido adípico e dimetiltereftalato, cuja estrutura química está representada pela Figura 1 (La Fuente, Maniglia, Tadini, 2023; BASF, 2009). Este polímero está disponível para o mercado desde a década de 90. Devido as suas propriedades mecânicas, térmicas, e físico-químicas, o PBAT pode ser processado da mesma maneira que os plásticos convencionais, como por exemplo por extrusão (Gama, 2014).

O copoliéster PBAT apresenta processo de degradação acelerado quando em contato com enzimas encontradas no meio ambiente, pode resultar no final desse processo: água, dióxido de carbono e biomassa (La Fuente, Maniglia, Tadini, 2023). Em relação à composição, o PBAT é constituído de 43% do grupo teraftalato de butileno (BT), responsável pelas propriedades mecânicas e térmicas e 57% do grupo adipato de butileno (BA), que lhe conferem propriedades de flexibilidade e biodegradabilidade (Tavares et al., 2018).

Possui excelentes propriedades para preparação de filmes por extrusão ou para revestimentos, além de ser aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), agência federal americana que controla e supervisiona a segurança nos alimentos e fármacos, o que o torna uma excelente opção para a preparação de embalagens ativas (Zehetmeyer *et al*, 2015).

Figura 1 - Estrutura do PBAT e seus componentes, BT – Butileno tereftalato, BA – Butileno adipato, ácido tereftálico (T), 1,4 butanodiol (B), ácido adípico (A).



Fonte: Belmonte, 2015.

O PBAT apresenta propriedades similares ao polietileno de baixa densidade (PEBD), o que faz com que ele seja um substituto em potencial aos polímeros convencionais, muito utilizados na indústria, com alto impacto ambiental (Jian, Xiangbin, Xianbo, 2020; Rameshkumar et al., 2020).

De acordo com o fabricante, o PBAT pode ser utilizado para produção de filmes por sopro ou por extrusão, com destinações finais típicas sendo embalagens alimentícias, filmes para utilização na agricultura e sacolas compostáveis, com espessura mínima de 10 μm . O PBAT também é certificado para ter contato com alimentos pelas normas europeia e americana *EU Directive 2002/72/EC* e *US food contact notification FCN 907*, respectivamente, além de ser certificado como biodegradável e compostável pelas normas europeia, americana e japonesa, respectivamente: DIN EN 13432, ASTM D 6400 e GreenPla. Os valores de ponto de fusão variam na faixa de 110 a 120°C, a temperatura de transição vítrea (T_g) é igual a -30 °C e a resistência à tensão de 35/44 N/mm². É considerado um plástico compostável e é usado na obtenção de películas de revestimento bem como de filmes respiráveis para o setor de higiene (BASF, 2016).

Devido a suas características como elasticidade e ser isento de metais pesados torna-se um forte candidato para aplicações de embalagem. E com objetivo de incrementar as propriedades de embalagens, a adição de agentes antimicrobianos ao PBAT vem sendo usada em pesquisas no desenvolvimento de embalagens ativas (Morais Filho, 2020).

2.4 EMBALAGENS ATIVAS

A evolução tecnológica impulsionou o desenvolvimento das embalagens ativas, onde polímeros são impregnados com compostos multifuncionais, como propriedades antimicrobianas, antioxidantes, redutoras da atividade de água, neutracêuticos e agentes aromatizantes. Esses componentes interagem eficazmente com os produtos, permitindo a migração controlada de substâncias desejadas da embalagem para o alimento. Contrapondo-se às embalagens tradicionais, que atuam como barreiras físicas, químicas e microbiológicas. A inovação destas embalagens não só preserva a integridade dos produtos, mas também introduz elementos ativos, ampliando suas funções para além da proteção convencional (Araújo, 2019). Essa abordagem transformadora contribui significativamente para a segurança e durabilidade dos alimentos, alinhando-se com as demandas contemporâneas de eficiência e sustentabilidade na cadeia de distribuição.

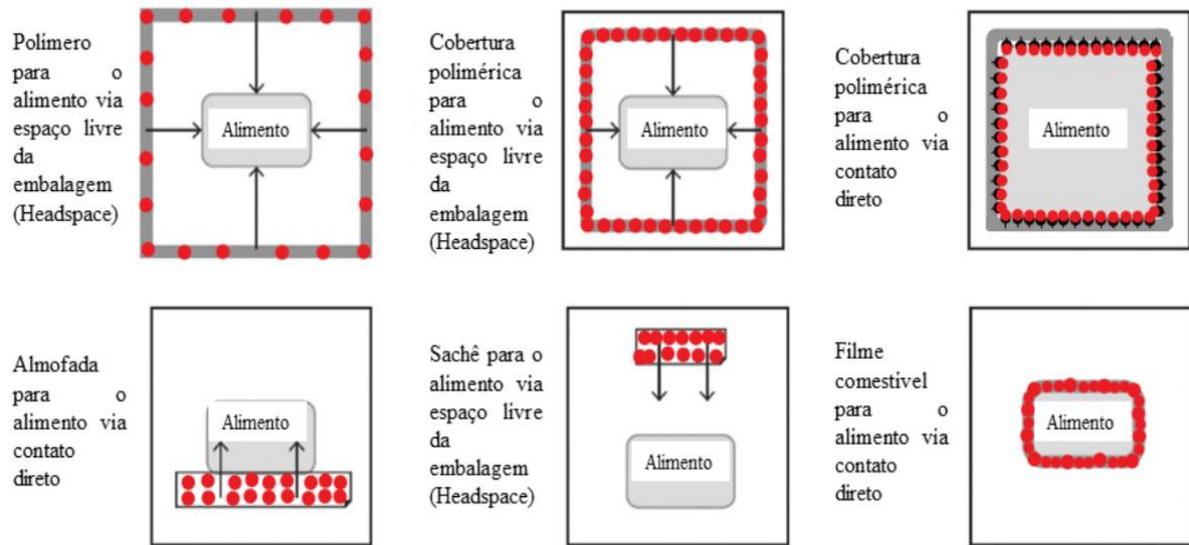
2.4.1 Embalagens Ativas Antimicrobianas

A incorporação de agentes antimicrobianos em embalagens poliméricas representa uma estratégia inovadora para melhorar a segurança e prolongar a vida útil dos alimentos. Conforme destacado por Coma (2008) e Pelissari et al. (2009), a migração lenta e controlada desses agentes para a superfície do produto, uma vez em contato com o alimento, permite uma atividade antimicrobiana mais intensa nos locais onde é mais necessária. Em resposta à demanda crescente por alternativas sustentáveis na indústria alimentícia, pesquisas têm explorado a utilização de polímeros biodegradáveis para a produção de embalagens, minimizando assim o impacto ambiental (Pelissari *et al.*, 2009).

Em relação às embalagens poliméricas antimicrobianas, é possível identificar cinco categorias distintas, conforme discutido por Hrnjak-Murgic (2015). A primeira categoria refere-se às embalagens que incorporam sachês ou almofadas contendo agentes antimicrobianos voláteis. Em seguida, há a aplicação desses agentes como revestimento ou absorção nas superfícies poliméricas, representando a segunda categoria. A terceira categoria diz respeito à incorporação direta de agentes antimicrobianos no material polimérico. A imobilização de agentes antimicrobianos nos polímeros, através de ligações iônicas e covalentes, constitui a quarta categoria. Além disso, a quinta categoria engloba embalagens que empregam polímeros antimicrobianos. Araújo (2019) ilustra, na Figura 2, os potenciais mecanismos de liberação de agentes antimicrobianos em embalagens ativas. Essas categorias delineiam a diversidade de

abordagens aplicadas para conferir propriedades antimicrobianas a embalagens poliméricas, destacando a relevância dessas estratégias na preservação da qualidade e segurança dos produtos embalados.

Figura 2 - Possíveis mecanismos de liberação de agentes antimicrobianos em embalagens.



Fonte: Adaptado de Araújo (2019).

A técnica de incorporação em embalagens antimicrobianas consiste na adição direta de substâncias ativas à matriz polimérica, promovendo liberação gradual nos alimentos. Em contraste, a imobilização utiliza ligações iônicas e covalentes para restringir a ação dos agentes à superfície do alimento, evitando migração. O revestimento implica o contato direto dos aditivos com o produto, enquanto os filmes multicamadas oferecem controle preciso da liberação, combinando camadas para barreira, agente ativo e contato direto com o alimento. Esta técnica se destaca ao proporcionar eficácia antimicrobiana, preservando propriedades sensoriais e apresenta vantagens econômicas ao oferecer barreira aprimorada sem aumentar a espessura total da embalagem (Braga; Silva, 2017; Robertson, 2013).

Dois sistemas de embalagens se diferenciam: o primeiro envolve o contato direto entre embalagem e produto (embalagem/produto) e o segundo, inclui um espaço livre dentro da embalagem (*headspace*) (embalagem/*headspace*/produto). Os agentes antimicrobianos, essenciais para inibir o crescimento microbiano, podem ser incorporados ao material da embalagem, na atmosfera interna ou no *headspace*. Conforme Pires (2014), embalagens ativas antimicrobianas podem ou não permitir a migração dos agentes. Na presença de migração, os compostos ativos difundem-se, seja da embalagem para o alimento ou por volatilização para o

headspace. Em embalagens sem migração, o composto ativo permanece no material ou em sua superfície, agindo como antimicrobiano quando o micro-organismo alvo entra em contato, oferecendo flexibilidade às necessidades de cada produto.

Em embalagens antimicrobianas que apresentam migração de agentes ativos, observa-se um sistema migratório contínuo, sendo desejável que a difusão do agente antimicrobiano ocorra de maneira lenta para permitir concentrações eficazes na superfície do produto ao longo de um extenso período de tempo (Hrnjak-Murgic, 2015). Nesse contexto, a escolha do polímero responsável pela liberação do agente antimicrobiano é crucial, uma vez que uma liberação lenta pode não ser efetiva em situações em que o período da fase lag (fase em que o número de micro-organismos permanece inalterado) da atividade microbiana é breve. Além disso, a seleção do componente antimicrobiano deve considerar a compatibilidade com o polímero, pois isso influencia a cinética do processo e pode comprometer a eficácia na liberação do agente antimicrobiano (Balasubramanian et al., 2009).

2.2 BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS

Para que o processo de biodegradação de um polímero ocorra, é necessário que micro-organismos (bactérias ou fungos) se alimentem desse material. Para isso é necessário que eles produzam enzimas capazes de quebrar as ligações químicas das cadeias poliméricas. Para isso, o meio ambiente deve ter as condições adequadas como temperatura, umidade e pH a fim de favorecer o crescimento e a proliferação dos micro-organismos (Zhong et al., 2020; Venkatesan et al., 2022).

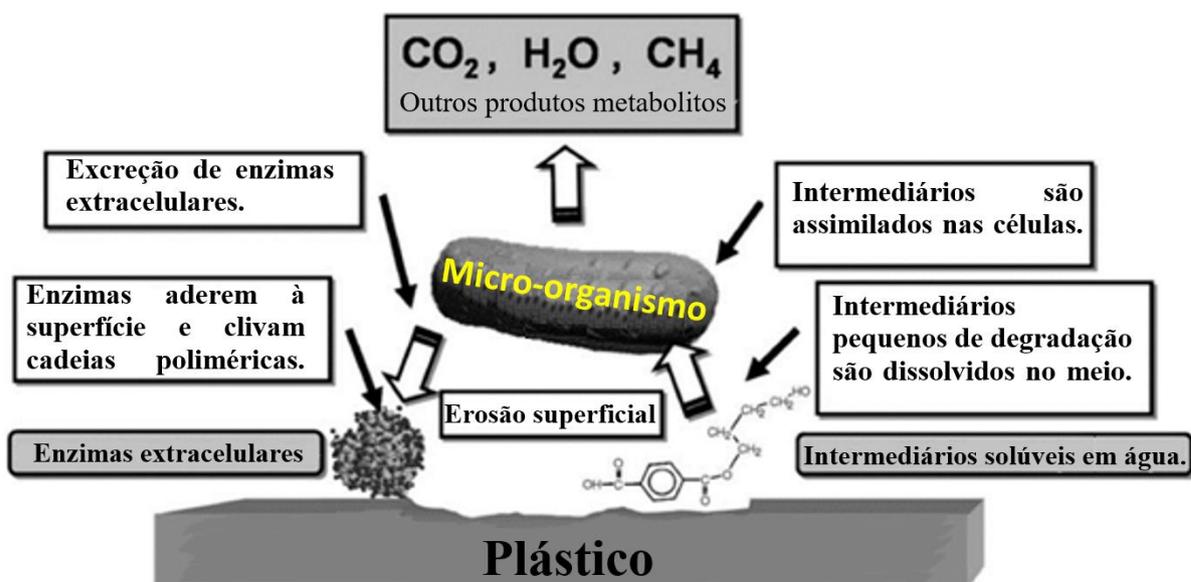
A biodegradabilidade pode ser definida como a tendência de um material em sofrer desagregação em suas moléculas constituintes por processos naturais (digestão microbiana), convém salientar que os metabólitos liberados também devem ser atóxicos ao meio ambiente. Nos polímeros a biodegradabilidade depende de sua composição química, quanto mais complexa, mais aromáticos mais difícil fica o ataque dos micro-organismos (Shinozaki *et al*, 2013).

Algumas normas como a ASTM 6400, EN 13432 e a ABNT NBR 15448 são utilizadas para certificar a biodegradabilidade de um polímero. A norma ASTM 6400, por exemplo, especifica que pelo menos 90% do material deve ser convertido em CO₂, água e húmus através da ação microbiológica em no máximo 180 dias e não deve impactar negativamente nas plantas (ASTM 6400, 2021).

O mecanismo de biodegradação envolve várias etapas. Inicialmente, o micro-organismo excreta exoenzimas que têm a função de despolimerizar a molécula complexa em moléculas menores (Figura 3). Após a absorção das moléculas mais simples pela membrana semipermeável do micro-organismo, ele as utiliza como fonte de carbono e energia. As reações de biodegradação envolvem inúmeras outras enzimas intracelulares e há etapas tanto aeróbias quanto anaeróbias (Mueller, 2006; Muthukumar; Veerappapillai, 2015; Ahmed *et al.*, 2018).

As proteases, lipases e cutinases são enzimas microbianas importantes, pois são responsáveis pela biodegradação de polímeros (Tokiwa *et al.* 2009; Muhamad *et al.* 2015). Outras enzimas como esterases e lipases, produzidas pelos micro-organismos *Rhizopus delemar*, *R. arrhizus*, *Achromobacter sp.* e *Candida cylindracea*, demonstraram trabalhar em polímeros como poli (adipato de etileno) e poli (ϵ -caprolactona) (Lam *et al.*, 2009).

Figura 3 – Mecanismo de degradação do polímero por ação de micro-organismos.



Fonte: Adaptada de Rydz *et al.*, 2015

Quando a massa molar do polímero é reduzida suficientemente formam intermediários solúveis em água, esses compostos podem ser introduzidos nas vias metabólicas dos micro-organismos (Mueller, 2006). Como resultado final desses processos, sob condições anaeróbicas produz, principalmente, dióxido de carbono (CO_2), água (H_2O), metano (CH_4) e uma nova biomassa. Já sob condições aeróbicas, produz de CO_2 , H_2O e biomassa (Wang *et al.* 2013, Wang, Y.; Yun, J.; Chen, 2014).

A biodegradação consiste em três etapas principais de acordo com Catto (2014):

1. Biodeterioração, onde ocorre a modificação das propriedades mecânicas, químicas e físicas do polímero devido ao crescimento de micro-organismos na superfície ou no interior da estrutura dos polímeros;
2. Biofragmentação, que envolve a conversão de polímeros em oligômeros e monômeros pela ação de enzimas microbianas e seus metabólitos;
3. Assimilação, onde os produtos finais provenientes da fragmentação de polímeros que ocorre no processo de biodegradação são usados como fonte energética e nutricional para o anabolismo de organismos não produtores, convertendo por fim em CO₂, água e biomassa (Braunegg *et al.* 1998; Lucas *et al.*, 2008).

A biodegradação do plástico é influenciada por diversos fatores, entre eles estão a estrutura química, a cadeia polimérica, a cristalinidade e a complexidade de aditivos nas formulações dos polímeros, como por exemplo, aditivos antimicrobianos para o desenvolvimento de embalagem ativa (Fabra, López-rubio, Lagaron, 2016; Marturano *et al.*, 2019). Polímeros que possuem cadeia mais curta, forma mais amorfa e cadeia estrutural menos complexa tendem a ser mais suscetíveis à biodegradação. Outros fatores relevantes estão relacionados com o ambiente em que os polímeros são descartados, como o pH, a temperatura, a umidade e o teor de oxigênio. Esses fatores devem ser considerados na avaliação da biodegradação de polímeros (Massardier-Nageotte *et al.*, 2006; Kale *et al.*, 2007; Bernard, 2014).

A cristalinidade do polímero é um dos fatores que requer uma atenção especial quando se deseja a degradação desse material (De Paoli, 2009; Gorrasi, Pantani, 2013). Os polímeros formam estruturas com fases cristalina e amorfa e a razão estequiométrica entre elas representa o grau de cristalinidade, expresso em porcentagem. O aumento no grau de cristalinidade ocasiona uma barreira à luz, diminuindo a degradabilidade fotoquímica e a difusão de oxigênio e de líquidos através da matriz polimérica, reduzindo os processos de oxidação e reações químicas que são responsáveis pela quebra da cadeia polimérica (De Paoli, 2009).

Os poliésteres alifáticos considerados biodegradáveis são obtidos a partir da síntese de ácidos dicarboxílicos e dióis e os copolímeros alifático-aromático, sintetizados a partir de ácidos dicarboxílicos alifáticos e aromáticos e dióis alifáticos. A etapa limitante na velocidade de biodegradação é a hidrólise extracelular da ligação tipo éster, realizada por uma enzima hidrolase, conhecida como carboxilesterase. Esta etapa pode ser mais rápida quanto mais flexível for a cadeia polimérica e é desacelerada em caso de não uniformidade em copolímeros, regiões com maior número de composto aromático (Zumstein *et al.*, 2017).

Pode-se testar a biodegradação de um polímero por diferentes métodos. Os dois métodos de maior frequência reportados na literatura são o método de biodegradação em solo e em solução. O método de degradação em solo utiliza uma amostra de solo de compostagem ou solo artificial e enterra-se o polímero na amostra. Analisa-se o polímero após intervalos de tempo para determinar a perda de massa e variações nas propriedades. Variáveis como umidade do solo e temperatura devem ser controladas. No ensaio em solução, o polímero deve ser adicionado a um meio sem fonte de carbono e estéril. O meio deve então ser inoculado com um micro-organismo capaz de utilizar o polímero como fonte de carbono. Pode-se analisar a perda de massa e variação das propriedades bem como a evolução do gás carbônico, produto final da mineralização. Apesar do teste em solução poder ser melhor controlado e a biodegradação melhor avaliada com a evolução do CO₂, esse método necessita de equipamentos sofisticados e é mais complexo quando comparado ao teste no solo (Shah *et al*, 2016; Wang *et al*, 2015). Esses métodos são convencionalmente operados em condições aeróbicas, o estudo em condições de anaerobiose aparece em menor número na literatura, mas vem tendo uma importância relevante para aplicação em sistemas de biodigestores já existentes como no caso de reatores de produção de biogás e aterros sanitários (Šmejkalová *et al*, 2013; Hidaka *et al*, 2013).

Em relação a biodegradação em condições de anaerobiose o número de artigos publicados é relativamente escasso se comparado a degradação aeróbia por compostagem. No estudo de Yagi *et al*. (2014) foi relatado que eubactérias e arqueias estão envolvidas na degradação anaeróbica de poliésteres (PCL, PLA), citando como envolvidas na biodegradação anaeróbia a *Archaea Methanosaeta concilii* para PLA e *Methanobacterium petrolearium* para PCL.

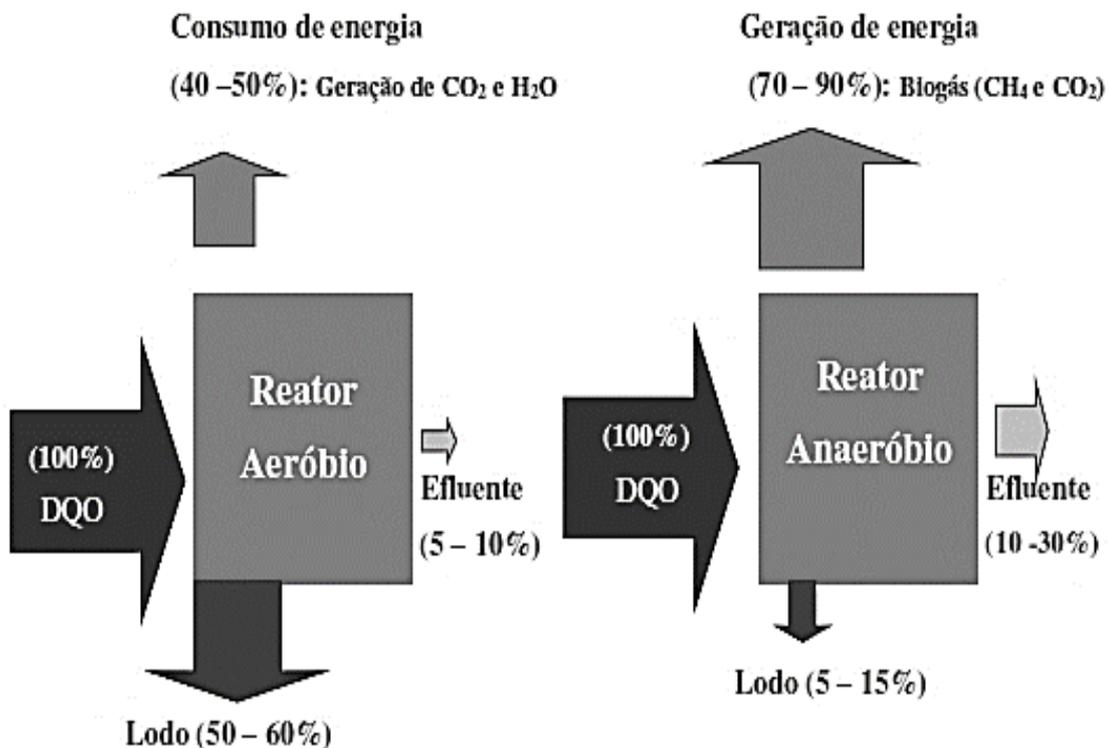
2.5 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é considerada uma opção viável para o tratamento biológico de resíduos, pois demanda pequena área e é de construção simples. Além de permitir a redução do potencial poluidor, configura-se como importante vetor energético, capaz de fornecer os benefícios da energia e a produção de biofertilizante. É um método para decompor a matéria orgânica com a ajuda da variedade de micro-organismos sob condições anaeróbicas. O produto final da digestão anaeróbia é o biogás, constituído basicamente de metano, dióxido de carbono e traços de impurezas, e o lodo residual (Campos *et al.*, 2005; Jain *et al.*, 2015).

Entre as vantagens dos tratamentos anaeróbios em relação aos aeróbios podem ser destacadas que nos processos anaeróbios não há consumo de energia, pelo contrário, o processo produz o gás metano que pode ser utilizado como fonte energética; não é necessária a adição de substâncias químicas ao processo; quando em condições favoráveis altas taxas de matéria orgânica podem ser aplicadas, sendo necessário o uso de pequeno espaço; baixa produção de resíduo (lodo), uma vez que uma menor biomassa é produzida. O lodo anaeróbio pode ser conservado sem alimentação por vários meses sem que ocorra grave deterioração de sua atividade microbiana (Chernicharo, 2007; Cortez *et al*, 2007).

A Figura 4 ilustra de maneira prática as principais características e diferenças entre o processo aeróbio e anaeróbio.

Figura 4 - Vantagens do processo anaeróbio *versus* processos aeróbios.

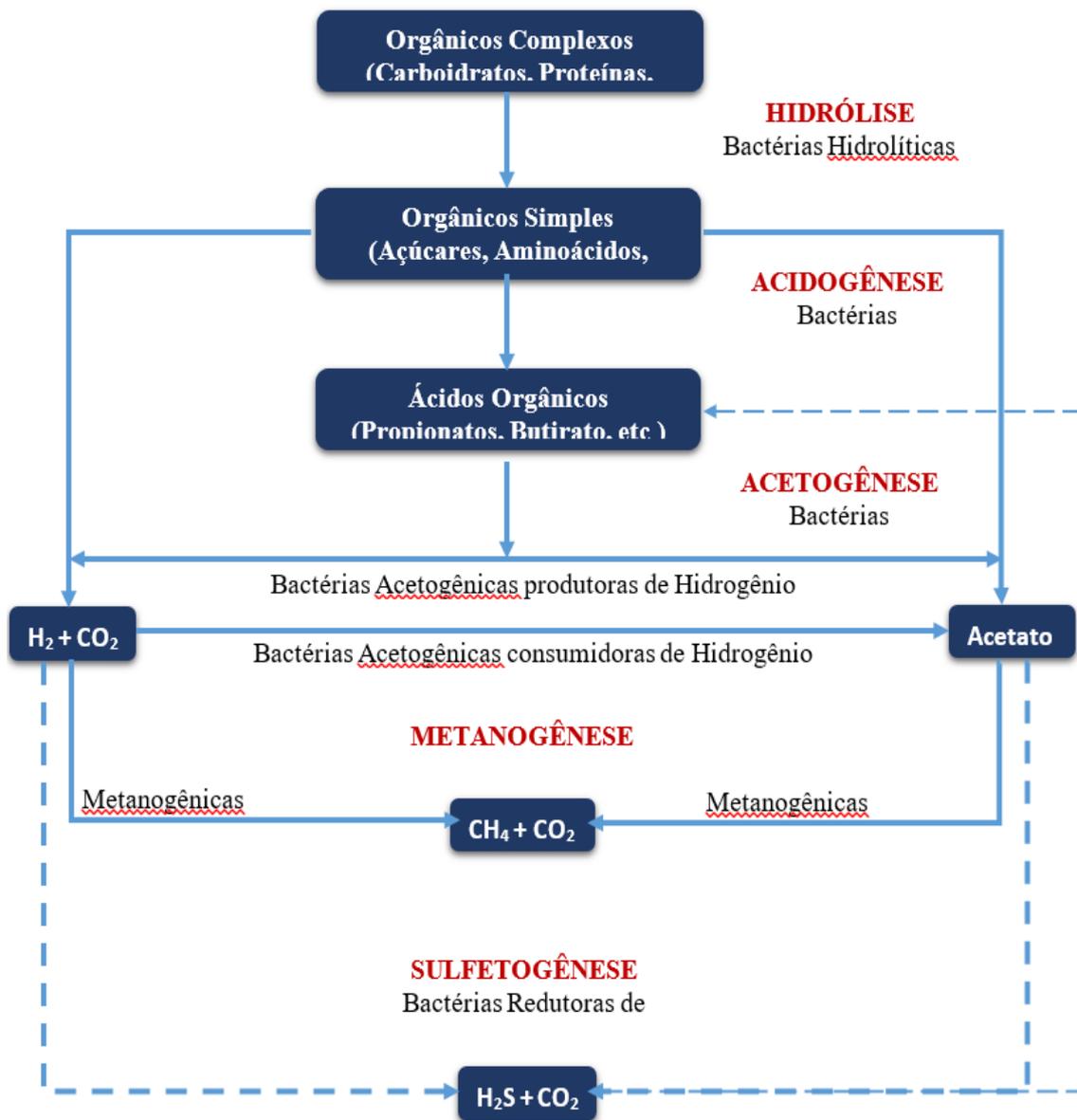


Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007)

Embora para autores como Aires e Lucas (2009), a biodigestão anaeróbia seja dividida em três fases, hidrólise, acidogênese e metanogênese. Autores como Baldacin e Pinto (2015), Rohstoffe, Paterson e Kuhn (2010), Huang *et al.* (2015) e Zahedi *et al.* (2013) afirmam que processo de decomposição anaeróbia ocorre em quatro etapas, considerando uma etapa

intermediária, a acetogênese. Este processo é apresentado no esquema da Figura 5 e suas etapas serão descritas a seguir.

Figura 5 - Esquema representando as principais etapas do processo da biodigestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007), Barros (2012)

2.5.1 Hidrólise: Primeira etapa do processo de biodigestão

Nesta fase a matéria orgânica complexa (polímeros, carboidratos, proteínas e lipídios) é hidrolisada em materiais dissolvidos mais simples (moléculas menores como açúcares, aminoácidos, peptídeos e ácidos graxos de cadeia longa) com o auxílio de enzimas extracelulares (celulases, amilases, proteases e lípases), produzidas por bactérias pertencentes a gêneros (grupos) como *Clostridium sp*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus*, *Vibrio* e *Bacterioides*, e fungos. Esses materiais dissolvidos conseguem atravessar as paredes celulares dos microorganismos fermentativos (Lucena, 2008). As bactérias fermentativas e hidrolíticas, por possuírem tantos membros anaeróbios facultativos quanto anaeróbios obrigatórios, conseguem remover as pequenas concentrações de O₂ que são introduzidas no reator durante a alimentação com o substrato. Segundo Zahedi *et al.* (2013), nesta fase é produzida uma grande quantidade de hidrogênio, além do CO₂.

2.5.2 Acidogênese: Segunda etapa do processo de biodigestão

Por meio de bactérias fermentativas acidogênicas, os compostos intermediários formados são então decompostos em ácidos graxos de cadeia curta (ácidos acético, propiônico e butírico), dióxido de carbono e outros ácidos orgânicos que podem ser convertidos em ácido acético. Adicionalmente, formam-se também pequenas quantidades de ácido lático e álcoois. Os tipos de compostos formados neste estágio dependem da concentração do hidrogênio intermediário (Rohstoffe; Paterson e Kuhn, 2010).

Os produtos solúveis da etapa anterior, como açúcares, aminoácidos, peptídeos e ácidos graxos são metabolizadas dentro das células das bactérias fermentativas, resultando em compostos mais simples que são excretados pelas células. A maior parte da concentração formada é de ácidos graxos voláteis (AGV) como o ácido acético, propiônico, butírico e outros ácidos de cadeia curta. Logo esse grupo de bactérias recebe o nome de bactérias fermentativas acidogênicas.

2.5.3 Acetogênese: Terceira etapa do processo de biodigestão

Os produtos da fase acidogênica são excretados pelas bactérias hidrolíticas acidogênicas e entram em solução no meio, passam a ser substratos para as bactérias acetogênicas que produzem hidrogênio, ácido acético e dióxido de carbono (precursores do biogás), como

metabólitos obrigatórios. Nessa fase, a pressão parcial do hidrogênio é importante, pois uma alta concentração de hidrogênio impede a conversão dos compostos intermediários da acidogênese, resultando no acúmulo de ácidos orgânicos inibidores da metanogênese (ácidos propiônico, isobutírico). Os micro-organismos acetogênicos devem estar associadas às arqueas metanogênicas, porque estas consomem hidrogênio e dióxido de carbono durante a formação do metano (Rohstoffe; Paterson; Kuhn, 2010).

2.5.4 Metanogênese: Quarta etapa do processo de biodigestão

Nesta fase, as arqueas metanogênicas estritamente anaeróbias convertem o ácido acético, o hidrogênio e o dióxido de carbono em metano (Markowski *et al.*, 2014).

Nesta fase, há divisão em duas etapas, a primeira consiste a produção de metano derivado da reação de hidrogênio e gás carbônico, classifica-se como metanogênes hidrogenotrófica, correspondente a 30% da produção de metano em um reator anaeróbio. Na presença de hidrogênio, a maior parte do metano restante é formada pela redução do gás carbônico, que atua como acceptor dos átomos de hidrogênio removidos dos compostos orgânicos por ação de enzimas segundo a Equação 1 (Baldacin; Pinto, 2015).



Na outra fase, ocorre a metanogênese acetotrófica, com o ácido acético sintetizando 70 % do metano, além de liberar dióxido de carbono. Na ausência de hidrogênio, a decomposição do ácido acético conduz a formação de metano e gás carbônico quando, o metil do ácido acético é reduzido a metano e o grupo carboxílico é oxidado a gás carbônico como mostrado na Equação 2 (Baldacin; Pinto, 2015).

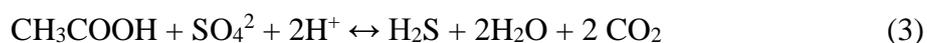


Zahedi *et al.* (2013) afirmam que os micro-organismos hidrolíticos-acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos não diferem apenas na nutrição e no pH requerido, são diferentes em sua fisiologia, cinética de crescimento, absorção de nutrientes e adaptação ao meio. Os micro-organismos metanogênicos crescem mais lentamente que as hidrolíticas-acidogênicas com uma taxa (massa/tempo) de crescimento próxima das bactérias acetogênicas (3,6 dias). O pH ótimo para a metanogênese e acetogênese é na faixa entre 6,5 e 8,5.

Ressaltando que devido ao fato dos micro-organismos metanogênicos serem os mais sensíveis a distúrbios durante o processo, em virtude de sua baixa taxa de crescimento, as condições do meio têm de ser adaptadas as suas necessidades (Rohstoffe; Paterson; Kuhn, 2010).

2.5.5 Sulfetogênese

Há que se considerar ainda a sulfetogênese, conforme descrito em Barros (2012), na qual Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) competem com as *archaeas* metanogênicas acetotróficas pelo substrato acetato e em razão de sua versatilidade, predominam nessa competição (Equação 3). Dessa forma, subprodutos em estágio intermediário de digestão podem se acumular, sobretudo os Ácidos Graxos Voláteis, que podem causar uma tendência de queda nos valores de pH. Em casos extremos, a valores de pH muito baixo que prejudicariam a sobrevivência das *archaeas* metanogênicas, causando o envenenamento do sistema, favorecendo a reação 3.



O H₂S causa inibição da formação de metano, além de ser um gás tóxico e corrosivo, para tanto deve-se evitar a presença de sulfatos no efluente, os quais devem ser removidos por meio de pré-tratamento (Baldacin; Pinto, 2015)

As condições ambientais específicas (nutrientes, temperatura, tempo de retenção hidráulica suficiente, entre outros) influenciam no sucesso do processo de biodigestão anaeróbia para que diferentes populações de micro-organismos possam crescer e se multiplicar em níveis adequados a simbiose, a fim de que haja produção de biogás rico em metano.

Pelo que foi exposto anteriormente, o metano, constituinte do biogás, é um importante biocombustível obtido a partir de fontes orgânicas biodegradáveis, permitindo produção de energia renováveis. Os resíduos podem ser agrícolas, urbanos ou industriais, vegetais ou animais. O biogás tem se tornado uma alternativa entre as energias renováveis. Dessa forma, cada vez mais países vêm criando leis que incentivem e regularizem à utilização de biodigestores anaeróbios em propriedades agrícolas (Brambilla *et al.*, 2012). Nesse contexto, o uso de polímeros, provenientes de descarte pós-consumo, podem ser utilizados como biomassa no sistema de biodigestão. Assim, a processo anaeróbico não será apenas utilizado para gerar

energia como também contribuir para a problemática ambiental de destinação final dos plásticos.

Em uma busca na literatura acerca de trabalhos sobre biodegradação de materiais poliméricos em condições anaeróbicas foram encontrados poucos estudos.

Yagi *et al* (2014) estudaram a biodegradação anaeróbia de alguns poliésteres biodegradáveis, policaprolactona (PCL), poli (ácido láctico) (PLA), polihidroxibutirato (PHB) e poli (hidroxibutirato (PHB) e poli (butileno succinato) (PBS), em pós. Os quais foram classificados em PHB >> PLA > PCL em termos de taxa de biodegradação anaeróbica. O PBS não pôde ser anaerobicamente biodegradado pelo lodo usado neste estudo.

Zhang *et al*, (2018) estudaram a degradação de nove polímeros comercialmente disponíveis e com certificados na Europa, na digestão anaeróbica mesófila simulada de resíduos de alimentos e concluíram que apenas quatro destes apresentaram biodegradabilidade substancial. Nessas condições, os resultados dos testes do potencial bioquímico de metano confirmam que a perda de massa rápida não ocorre por conversão biológica dos bioplásticos em produtos de carbono gasoso, sendo desta forma provavelmente devido a desintegração física.

Bacca *et al*. (2021) estudaram a biodegradação PHB em biodigestores anaeróbios obtendo resultados promissores, o inoculo teve uma grande efetividade na remoção de sólidos totais e consequente degradação do PHB. Cremonez (2019) ao observar a biodegradação em biodigestor tubular operado em regime de alimentação semi-contínuo em fase mesofílicas, concluiu que o polímero à base de fécula de mandioca, com aproximadamente 95% de fécula, apresentou um elevado potencial de biodegradação por biodigestão, produzindo biogás com elevado poder energético, rico em metano e hidrogênio.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

No desenvolvimento da pesquisa utilizou-se o polímero PBAT, fornecido pela empresa BASF, de nome comercial ECOFLEX® F BLEND C1200, o material foi recebido na forma de *pellets*. Entre as características informadas pela empresa continham: Intervalo de fusão entre 100 e 120 °C, decomposição térmica > 280 °C e densidade: 0,8 – 1,4 g/cm³.

O Óleo essencial de laranja utilizado na formulação dos filmes foi doado pela empresa Agroterenas, com 99,5% de D-limoneno.

O meio no qual os filmes foram submetidos ao teste de biodegradação foi o Lodo da estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira – ETE Mangueira, o lodo foi retirado do reator a 50 cm do chão, sendo desta forma a fração anaeróbia.

3.1 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Este subcapítulo descreve como foi feito e caracterizados os filmes de PBAT puro e com adição do óleo de laranja, utilizados no experimento. A identificação dos filmes adotada foi PBAT e PBAT/EO que correspondem a filmes de PBAT puro e filmes de PBAT incorporados com 15% m/m de óleo essencial de laranja, respectivamente.

3.1.1 Preparação dos filmes

O polímero puro e com adição de 15% (m/m) de óleo essencial de laranja foram processados em extrusora monorosca de bancada Lab-16 Chill roll AX PLÁSTICOS equipada com matriz plana. O percentual de óleo usado foi estudado anteriormente pelo grupo de pesquisa, dessa forma mantendo as características do polímero e a ação do agente antimicrobiano (Andrade et al. 2020). Foi utilizada temperatura fixa de 180 °C nas três zonas de aquecimento. A velocidade de extrusão foi de 45 rpm e a velocidade dos puxadores de 26 rpm.

Realizou-se uma pré-mistura entre o PBAT e o óleo para aumentar a interação dos componentes da mistura. Tanto o filme de PBAT puro, quanto com óleo foram adicionados diretamente no funil de alimentação, entre o processamento de uma formulação e outra foi realizada uma limpeza com o polipropileno, para em seguida, ser adicionada a nova formulação.

3.1.2 Caracterização dos filmes antes e após os ensaios de biodegradação.

Os filmes foram caracterizados em relação a suas propriedades térmica através da técnica de TGA (Análise Térmica Termogravimétrica) na qual se acompanha a decomposição através da variação de massa em relação a elevação da temperatura e as propriedades química foram caracterizadas por espectroscopia, onde foi possível determinar os grupos funcionais da estrutura do polímero.

3.1.2.1 Caracterização Química por Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As caracterizações por FTIR foram realizadas com um espectrômetro PerkinElmer® *precisely – Spectrum 3*, com acessório de refletância total atenuada (ATR), (*Universal ATR Sampling Accessory*). Os filmes foram lidos na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} . Os espectros obtidos com resolução de 4 cm^{-1} , número de varredura 16.

3.1.2.2 Caracterização Física por Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas na faixa de temperatura de 0 a 200 °C, utilizando equipamento Mettler Toledo, modelo 1STAR e System, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min).

As amostras foram cortadas e pesadas com aproximadamente 6 mg, e em seguida, seladas em cadinhos de alumínio. Todas as amostras foram submetidas à três zonas de aquecimento: a primeira de 0 a 200 °C com razão de aquecimento de 30 °C/min para eliminar a história térmica do polímero; a segunda zona de 200 a 0 °C e a terceira zona variando de 0 a 200 °C, ambas com razão de aquecimento de 10 °C/min.

Os resultados dos graus de cristalinidades (X_c), temperatura de fusão (T_m), temperatura de cristalização (T_c), entalpias de fusão (ΔH_m) e cristalização (ΔH_c) foram obtidos utilizando o programa Integral 1B®, seguindo a Equação 01:

$$X_c = \frac{\Delta H_m - \Delta H_c}{\Delta H_{m\infty}} \quad 01$$

Onde: ΔH_m é a entalpia de fusão, ΔH_c , entalpia associada aos cristais durante a etapa de aquecimento, $\Delta H_{m\infty}$ é a entalpia teórica do polímero 100 % cristalino, que é igual a 114 J.g^{-1} (Pereira; Morales, 2014).

3.1.2.3 Caracterização Física Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada em equipamento Mettler Toledo TGA 2 Star System. O teste foi realizado em atmosfera de N_2 com vazão de 50 mL/min. A rampa de aquecimento utilizada foi de 30 a 600 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min. Utilizou-se aproximadamente 5 mg de amostra em cadinhos de alumina de 70 μ L.

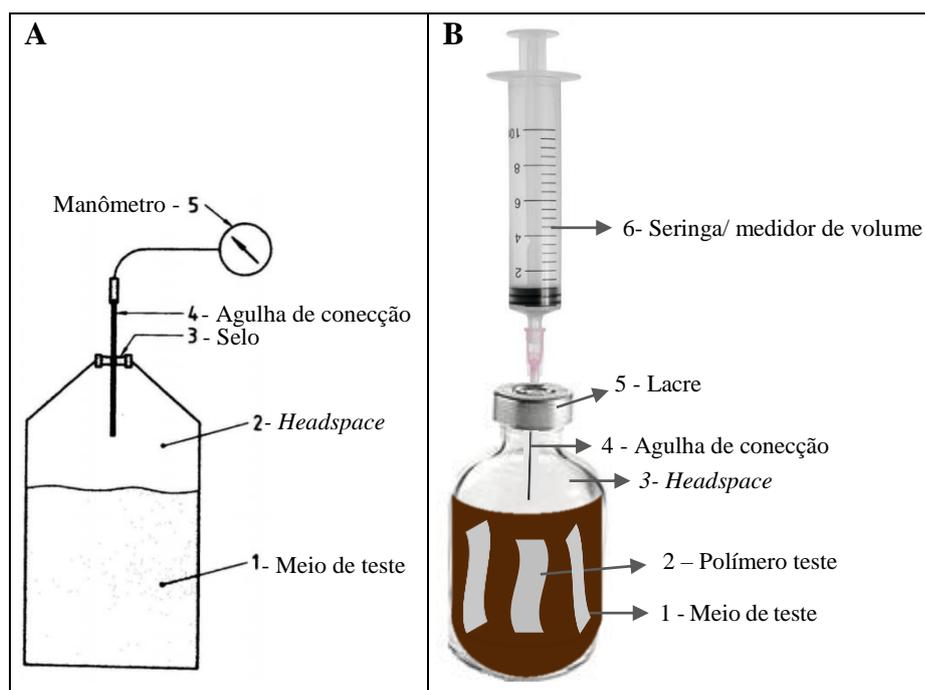
3.2 ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

Utilizou-se o Lodo de uma estação de tratamento de esgoto da região metropolitana do Recife como meio e fonte de micro-organismos.

Os filmes utilizados apresentaram dimensões de 5x2 cm^2 , foram pesados em balança analítica da marca Celtac, para realização dos ensaios de biodegradação.

O ensaio foi realizado baseado na norma ISO 14853 (2016). Utilizou-se frascos de penicilina com volume total de 100mL como reatores, vedado com tampa de borracha e lacre metálico para garantir a anaerobiose, para medição do volume de gás produzido foi usado uma agulha com seringa de 10mL, acoplado à tampa de borracha (Figura 6).

Figura 6- Aparelho para digestão anaeróbica, A - Exemplo dado pela norma ISO14853, B- Aparato adaptado que foi utilizado nesta pesquisa.



Fonte – Adaptado de ISO 14853 (2016)

Adicionou-se 3 filmes em cada reator anaeróbio, nas mesmas condições foram inoculados filmes de referência, polietileno que não é biodegradável e celulose como referência biodegradável.

Foram realizadas amostragens a cada 15 dias nos primeiros 3 meses de experimento, após esse período houve a Pandemia do Covid, onde foi inviabilizado as amostragens e análises para acompanhamento. O experimento de biodegradação foi mantido e com a liberação das atividades as amostragens foram retomadas. A primeira amostragem pós pandemia foi realizada com 3 anos do início do ensaio e a última amostragem com 3 anos e 6 meses.

3.3 ANÁLISES DO GÁS

Os gases produzidos nos biodigestores foram captados na seringa graduada em mililitros, na qual foi possível determinar o volume produzido. A avaliação qualitativa e quantitativa do biogás produzido foi realizada em termos de percentual volumétrico de metano e dióxido de carbono por cromatografia gasosa, em cromatógrafo Hp Helwlet Packard 5890 serie II, com detector de ionização de chama, utilizou-se como gás de arraste nitrogênio a 30 mL.min⁻¹; a coluna utilizada foi PORAPK N, 6 metros, 1/8 mm de diâmetro interno, a temperatura de injeção foi de 40°C inicial por 3 min, e rampa de aquecimento de 20°C.min⁻¹ até 120° C por mais 3 min.

No período de Pandemia e pós Pandemia não foi possível acompanhar a evolução da produção de gás.

3.4 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MEIO

Realizaram-se análises microbiológicas do meio a fim de identificar os grupos de micro-organismos presentes no meio de biodegradação. Os grupos pesquisados foram: bactéria aeróbias heterotróficas, *Pseudomonas aeruginosa*, bactérias precipitantes de ferro, bactérias anaeróbias heterotróficas, bactérias redutoras de sulfato, fungos filamentosos e bactérias produtoras de ácido. Os meios e como são obtidos os resultados estão descritos a seguir.

3.4.1 Bactérias Aeróbias Heterotróficas

Estas bactérias foram quantificadas através da técnica do número mais provável (NMP) (Harrison JR., 1982). O meio de cultura utilizado foi o caldo Nutriente (Tabela 1) que foi preparado e distribuído em tubos de ensaio contendo 9 mL cada, para posterior inoculação.

Tabela 1 - Composição do meio para bactérias aeróbias heterotróficas.

CALDO NUTRIENTE	
Componentes	Quantidades (g)
Peptona de carne	5,0
Extrato de carne	3,0
Sacarose	20,0
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

Ajustou-se a pH para 7,0. Em seguida o meio foi esterilizado em autoclave a 1,0 atm, 121°C, por 15 minutos. Após diluições sucessivas da suspensão celular, os tubos contendo os meios foram inoculados e depois incubados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. O crescimento dos microorganismos se deu mediante turvação do meio de cultura, causada pela presença de células microbianas e seus metabólitos.

3.4.2 Bactérias *Pseudomonas aeruginosa*

Para quantificação das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* também foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP) (Harrison Jr., 1982) em tubos de ensaio contendo 9 mL do meio presuntivo asparagina e para os tubos positivos de asparagina utilizou-se o meio confirmativo de acetamida, cujas composições são mostradas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Composição do meio para *Pseudomonas aeruginosa*.

ASPARAGINA	
Componentes	Quantidades (g)
Asparagina	6,0
K ₂ HPO ₄	2,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,0
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

Tabela 3 - Composição do meio para *Pseudomonas aeruginosa* planctônicas.

ACETAMIDA	
Componentes	Quantidades (g)
Acetamida	10,0
K ₂ HPO ₄	1,39
KH ₂ PO ₄	0,73
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
Vermelho de fenol	0,012
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

Ajustou-se o pH para 7,0. Em seguida os meios foram esterilizados em autoclave a 1,0 atm., 121°C, por 15 minutos.

Após as inoculações os tubos de asparagina foram incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas. O crescimento dos micro-organismos foi evidenciado pela turvação do meio de cultura. Depois do período de incubação dos tubos do meio de asparaginas com resultado positivo, tomou-se alíquotas que foram inoculados no meio acetamida e incubados também a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas. O resultado é positivo quando há mudança na coloração do meio de rosa para púrpura.

3.4.3 Bactérias Anaeróbias Heterotróficas

Estas bactérias também foram quantificadas pela técnica do número mais provável (NMP) usando-se frascos do tipo penicilina (10 mL) contendo 9,0 mL de meio fluido ao Tioglicolato (DIFCO N° 225650, Difco laboratories, Detroit, MI, USA), purgados com nitrogênio durante o tempo necessário para não se identificar mais a presença do oxigênio. Os frascos contendo o meio de cultura foram vedados com tampas de borracha e lacres metálicos, a fim de manter anaerobiose. Os mesmos foram inoculados com 1,0 mL das respectivas diluições (solução redutora) com auxílio de seringas descartáveis e incubados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias. As composições da solução redutora e do meio estão descritas nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 - Composição da solução redutora.

SOLUÇÃO REDUTORA	
Componentes	Quantidades (g)
Tioglicolato de sódio	0,124
Ácido ascórbico	0,1
Resazurina (0,025%)	4,0 mL
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

Tabela 5 - Composição do meio para bactérias anaeróbias heterotróficas.

MEIO FLUIDO AO TIOGLICOLATO	
Componentes	Quantidades (g)
Digestão enzimática de caseína	15,0
Extrato de levedura	5
Dextrose	5,5
L-cisteína	0,5
Cloreto de sódio	2,5
Tioglicolato de sódio	0,5
Resazurina	0,001
Agar	0,75
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

Ajustou-se o pH para 7,0. Em seguida o meio foi esterilizado em autoclave a 1,0 atm, 121°C, por 15 minutos.

Após o tempo de incubação, o crescimento destas bactérias foi identificado pela turvação do meio de cultura, causada pelo crescimento de células microbianas e a liberação de metabólitos.

3.4.4 Bactérias Redutoras do Sulfato (BRS)

A quantificação destes micro-organismos foi igualmente feita pela técnica do NMP (Harrison JR., 1982), utilizando-se o meio Postgate E modificado (Postgate, 1984), cuja composição pode ser vista na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição do meio para BRS.

POSTGATE E MODIFICADO	
Componentes	Quantidades (g)
KH ₂ PO ₄	0,5
NH ₄ Cl	1,0
Na ₂ SO ₄	1,0
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,67
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,68
Lactato de sódio	7,0 ml
Extrato de lêvedo	1,0
Ácido ascórbico	0,1
Ágar-ágar	1,9
Resazurina (0,025%)	4,0 ml
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,5
Água	1000ml

Fonte - A autora (2024).

Ajustou-se o pH para 7,0. Em seguida o meio foi esterilizado em autoclave a 1,0 atm, 121°C, por 15 minutos.

A determinação do crescimento celular foi realizada após incubação a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias. Após o período de incubação, o escurecimento do meio, devido a formação de depósitos de sulfeto de ferro, confirmou o crescimento das BRS. Essa coloração negra é consequência da formação de depósitos de sulfeto de ferro.

3.4.5 Fungos filamentosos

Foram quantificados pela contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de Petri contendo meio Sabouraud (DIFCO N° 210950, Difco laboratories, Detroit, MI, USA), cuja composição está descrita na Tabela 7.

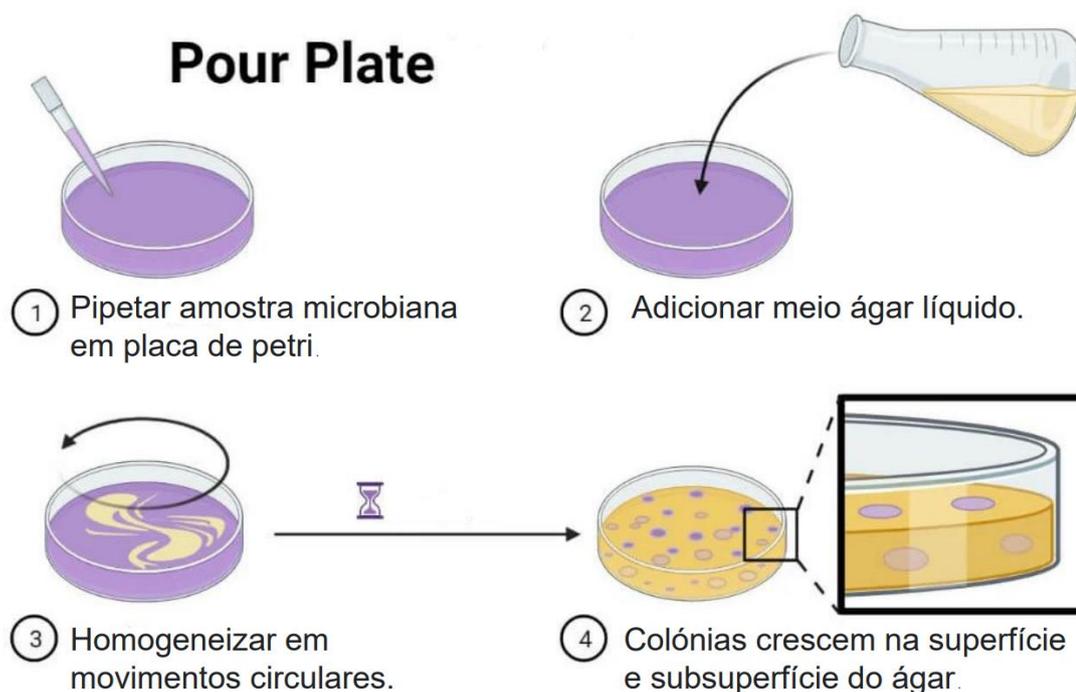
Tabela 7 - Composição do meio para fungos.

SABOURAUD	
Componentes	Quantidades (g)
Dextrose	40
Peptona	10
Agar	15
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

O meio foi esterilizado a 1atm, 121°C, por 15 minutos. Antes da inoculação o pH do meio deve ser ajustado para 4 a 5. Utilizou-se a técnica de *pour plate* (Figura 7) para a inoculação e as placas foram incubadas a 30°C ± 1°C por 5-7 dias, quando se procede a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC).

Figura 7 – Esquema prático da metodologia *Pour plate*.



Fonte: Adaptada de Prashant Dahal, (2022).

3.4.6 Bactérias Produtoras de Ácidos

A quantificação destes micro-organismos foi realizada pela técnica do NMP (Harrison Jr., 1982), utilizando o meio Caldo Vermelho Fenol, cuja composição pode ser vista na Tabela 8. A inoculação das diluições foi feita em tubos de ensaio contendo 9,0 mL do meio e a incubação das amostras a 30°C por 24/48h.

Tabela 8 - Composição do meio para bactérias produtoras de ácidos.

CALDO VERMELHO FENOL	
Componentes	Quantidades (g)
Sacarose	10
Triptona	10
Extrato de carne bovina	1
Cloreto de sódio	5
Vermelho de fenol	0,018
Água	1000mL

Fonte - A autora (2024).

Ajustou-se o pH para 7,0. Em seguida o meio foi esterilizado em autoclave a 1,0 atm, 121°C, por 15 minutos.

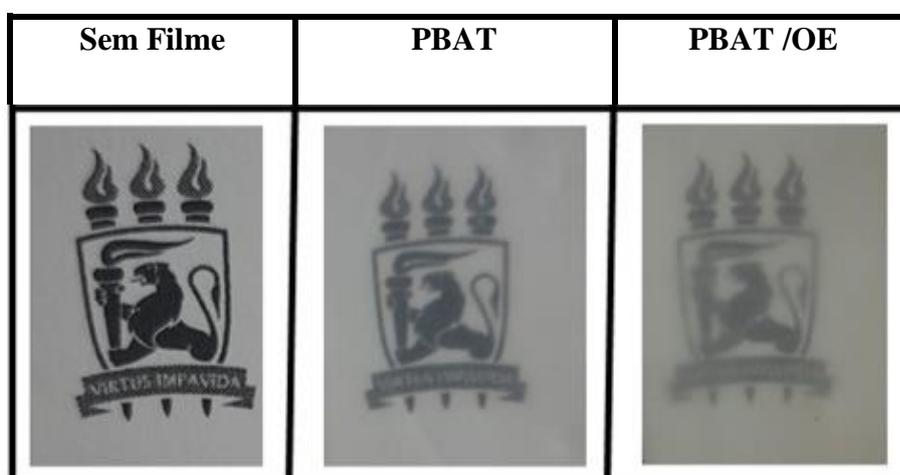
Após o tempo de incubação o crescimento destas bactérias foi identificado pela mudança da cor do meio de cultura, do vermelho para amarelo, causado pela liberação de ácidos no meio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS DOS FILMES PRODUZIDOS

Os filmes sem adição do óleo (PBAT) e com 15% de óleo essencial de laranja (PBAT/OE) obtidos no processo de extrusão podem ser observados na Figura 8. Na imagem observa-se que os filmes produzidos por extrusão apresentaram textura lisa e sem deformações aparentes. A espessura média dos filmes foi de 0,25 mm.

Figura 8 – Filmes PBAT e PBAT/OE



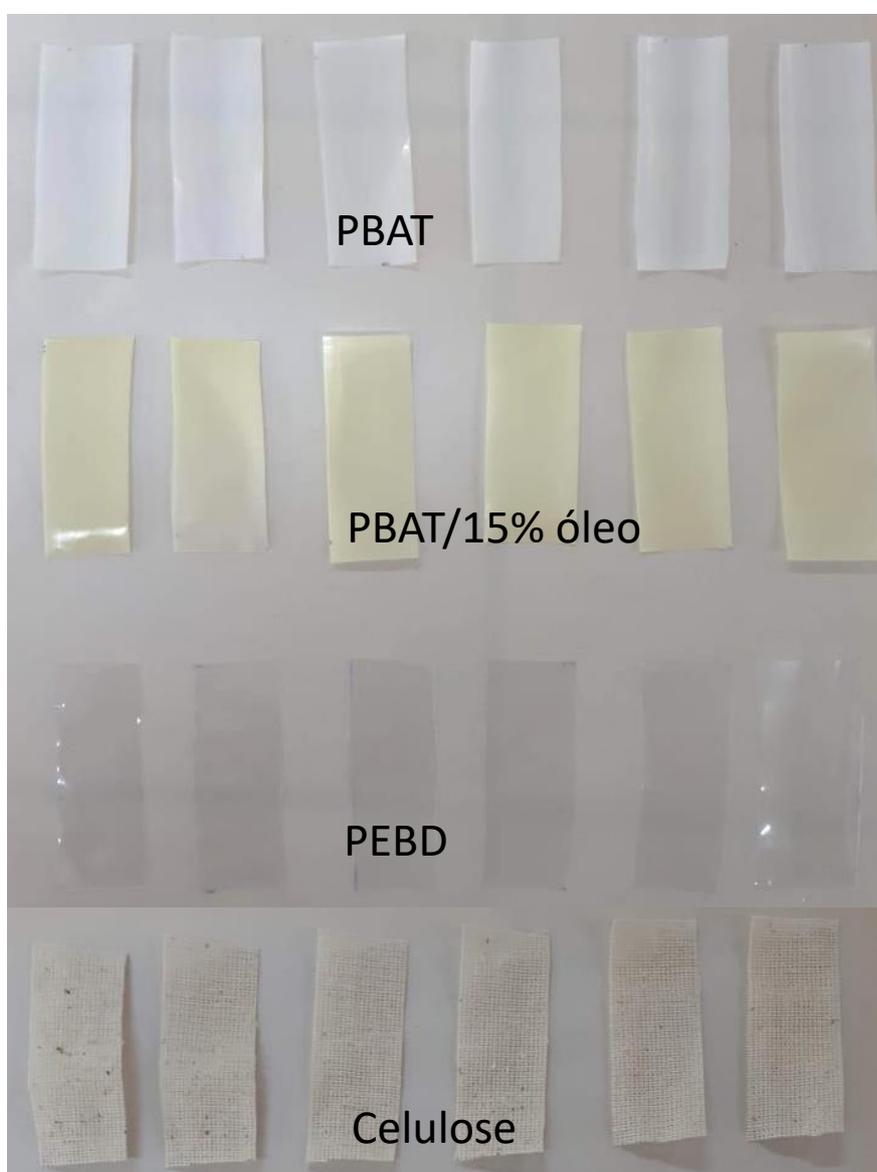
Fonte - A autora (2024).

O filme de PBAT puro apresentou cor esbranquiçada com uma leve transparência sem observação de defeitos ou porosidade. O filme com adição de óleo apresentou uma cor levemente amarelada, característica do óleo, e uma leve transparência. De modo geral, o filme aditivado apresentou uma superfície seca, similar ao observado no filme de PBAT puro.

4.2 ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

Na Figura 9 estão mostrados os filmes de PBAT, PBAT/OE obtidos por extrusão e os materiais utilizados como positivo (Celulose) e negativo (PEBD) do teste de biodegradabilidade, todos foram cortados nas dimensões 5x2 cm² e previamente pesados antes do início da exposição ao lodo. Pode observar que os filmes de PBAT extrudados apresentaram superfície homogênea desprovida de qualquer fissura ou falha (Figura 9) que poderiam ser indícios de regiões preferenciais durante o processo de biodegradação no lodo.

Figura 9 – Materiais utilizados nos ensaios de biodegradação.



Fonte - A autora (2024).

A montagem do biodigestor foi testada garantindo que sistema estava hermeticamente fechado, garantido que todo o gás produzido no processo de biodegradação foi capturado pela seringa coletora.

4.3 ANÁLISE DO GÁS

A produção de gás durante o experimento foi observada pelo deslocamento do embolo da seringa, desta forma também foi possível medir o volume de gás produzido através da degradação (Figura 10).

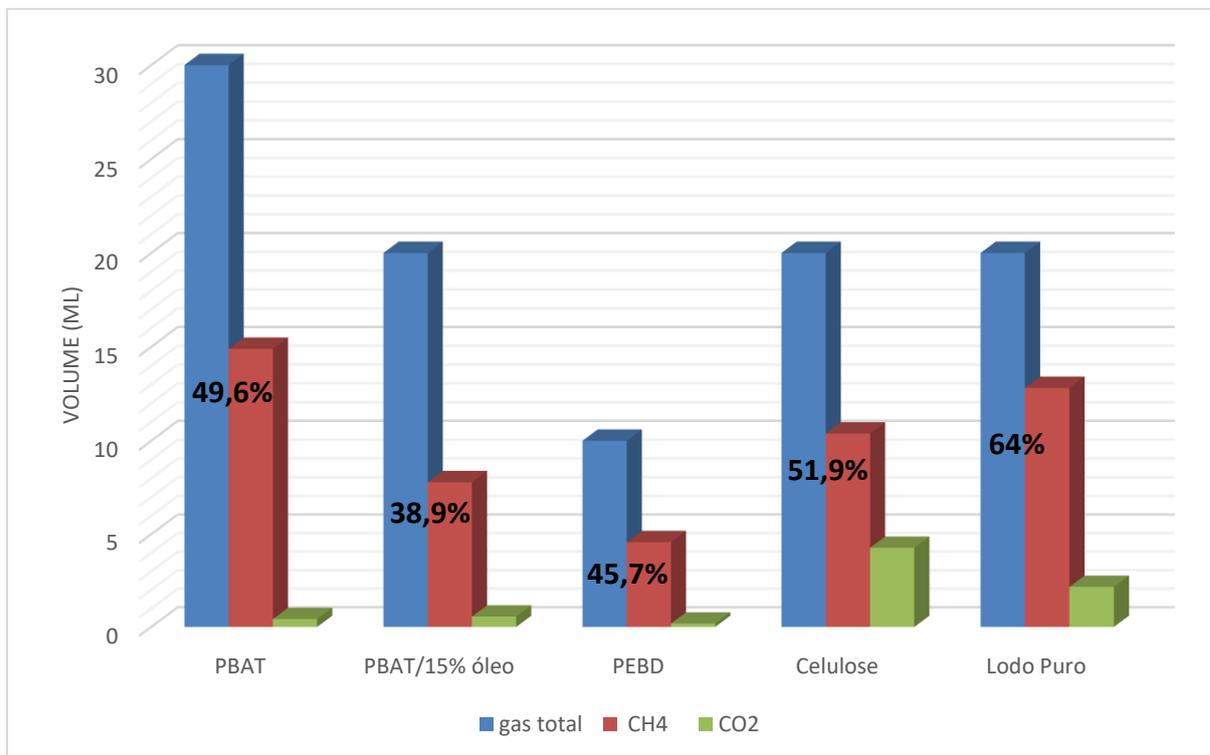
Figura 10 – Biodigestor com produção de gás evidenciada pelo deslocamento do embolo da seringa.



Fonte - A autora (2024).

A Figura 11 mostra o volume total de gás produzido, os volumes de CH_4 e CO_2 e o percentual de metano em relação ao volume total de gás, nos biodigestores que continham as amostras de PBAT, PBAT/OE, PEBD, Celulose e apenas o lodo.

Figura 11 – Volume de gás produzido, volume de metano e dióxido de carbonos em 90 dias de digestão e o percentual de metano.



Fonte - A autora (2020).

A Figura 11 mostra o volume de gás total, o processo de produção de gases é um indicativo de que os micro-organismos presentes nos sistemas estão adaptados ao ambiente e usando os nutrientes disponíveis e, a partir daí, produzindo enzimas que tendem a promover a hidrólise dos filmes (Quecholac-Piña *et al*, 2020).

Pode-se observar que a presença dos filmes de PBAT nos biodigestores não comprometeu a produção de biogás, conforme pode ser observado na Figura 11. O biodigestor que continha a amostra de PBAT obteve maior volume de gás produzido, 30mL, com 49,6% de metano, quando comparado para PBAT/OE que produziu 20mL com 38,9% de metano.

O biorreator com menor percentual de metano foi aquele que continha a amostra PBAT/OE. Porém, o volume de CO₂, que é um dos gases da respiração aeróbica, foi mantido. As Archaea metanogênicas produtoras de metano podem ter tido seu metabolismo comprometido pela ação do óleo de laranja, que possivelmente migrou para o meio contendo lodo, resultando na inibição da viabilidade desses micro-organismos. Neste caso, pode ter ocorrido uma mudança na rota bioquímica como forma de sobrevivência das espécies microbianas (Andrade *et al*. 2020, Evangelho *et al*. 2019, Mckay *et al*. 2021). Porém, outras bactérias anaeróbicas se multiplicaram no meio, o que pode ser observado pelo número de

bactérias anaeróbias que permaneceu constante ao final do experimento como será mostrado adiante na Tabela 9.

O reator contendo apenas lodo e outro contendo lodo e celulose foram responsáveis pelos maiores rendimentos de metano com percentual de 64 e 52%, respectivamente. Esses resultados são coerentes porque a celulose é um polímero de glicose e sua hidrólise é favorecida em ambientes contendo micro-organismos que excretam enzimas para facilitar a despolimerização desse polissacarídeo, favorecendo que a glicose livre seja utilizada como fonte de carbono pelos micro-organismos. O lodo é o *habitat* já adaptado pela população microbiana existente, portanto, era esperado um aumento na produção de gás.

4.4 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MEIO

A degradação anaeróbica é um processo biológico em um ambiente livre de oxigênio que transforma a matéria orgânica. Pode seguir duas vias: fermentação anaeróbica, onde a matéria orgânica pode atuar como doadora ou receptora de elétrons; ou respiração anaeróbica, que requer aceptadores como CO_2 , SO_4^{2-} , NO_3^- . O processo anaeróbio se desenvolve em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, que leva à produção de uma mistura de CH_4 e CO_2 , conhecida como biogás. Dois terços do CH_4 produzido num processo anaeróbico são devidos à fermentação e um terço à respiração. A eficiência da biodegradação anaeróbica é afetada por diversos fatores, sendo o mais relevante a presença e concentração dos diferentes micro-organismos envolvidos (Quecholac-Piña, *et al* 2020).

As determinações da concentração de cada grupo de bactérias foram feitas pelo método do número mais provável (NMP), no qual foram feitas diversas diluições para obter resultados positivos e negativos dentro de cada grupo de bactérias estudado, quantificando as bactérias presentes no lodo de esgoto durante o processo de biodegradação dos filmes. A contagem para determinação de fungos utilizou a unidade formadora de colônia. A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos de cada grupo de micro-organismos nos sistemas referentes aos filmes expostos, no início do processo de fermentação anaeróbia, após 90 dias, após 3 anos (1080 Dias) e no final do estudo 3 anos e meio (1260 Dias).

Tabela 9. Quantificação microbiológica do meio anaeróbio.

		PBAT	PBAT/EO	Celulose	Lodo puro
Bactérias Aeróbias (NMP)	Início	10^{14}	10^{14}	10^{10}	10^{13}
	90 dias	10^{20}	10^{19}	10^{19}	10^{19}
	1080 dias	10^{10}	10^9	10^9	10^9
	1260 dias	10^8	10^7	10^{10}	10^{10}
Bactérias Produtoras de Ácido (NMP)	início	10^{10}	10^{10}	10^{10}	10^{10}
	90 dias	10^{15}	10^{14}	10^{13}	10^{13}
	1080 dias	10^8	10^7	10^9	10^9
	1260 dias	10^6	10^6	10^7	10^7
<i>Pseudomonas</i> (NMP)	início	10^6	10^6	10^6	10^6
	90 dias	10^{13}	10^{13}	10^7	10^7
	1080 dias	10^6	10^5	10^5	10^5
	1260 dias	10^5	10^3	Ausência	10^1
Bactérias Anaeróbias (NMP)	início	10^{10}	10^{10}	10^{10}	10^{10}
	90 dias	10^{17}	10^{18}	10^{18}	10^{18}
	1080 dias	10^9	10^9	10^8	10^8
	1260 dias	10^7	10^7	10^6	10^7
Bactérias Redutoras de Sulfato (NMP)	início	10^5	10^5	10^5	10^5
	90 dias	10^4	10^4	10^4	10^4
	1080 dias	10^2	10^2	10^2	10^2
	1260 dias	10^2	10^2	10^2	10^2
Fungos (UFC)	início	10^3	10^3	10^3	10^3
	90 dias	10^1	10^1	10^2	10^1
	1080 dias	10^1	10^1	10^1	10^1
	1260 dias	10^1	10^1	10^1	10^1

Fonte - A autora (2024).

Observando a Tabela 9, fica evidente que nos primeiros 90 dias as populações microbianas permaneceram viáveis durante todo o tempo do estudo. A variação na concentração de espécies está relacionada à competição, ou seja, ao crescimento de uma espécie em detrimento de outras, à inibição de produtos durante o crescimento e à falta de oxigênio, entre outros fatores. Com exceção dos fungos e das bactérias redutoras de sulfato, os demais micro-organismos tiveram suas concentrações aumentadas, principalmente as bactérias

anaeróbias, grupo que inclui as Archeas metanogênicas, confirmando que um sistema contendo lodo doméstico é um ambiente que pode ser funcional para a correta degradação do PBAT, garantindo boa rendimento de biogás (Ruggero *et al* 2020; Wang, *et al* 2015).

Como era esperado no decorrer do tempo houve uma queda na população microbiana, isso devido a diversos fatores, escassez nutricional, desequilíbrio das condições de pH e oxigênio. Mas como observado visualmente e na demais análises em relação aos filmes, o processo de degradação continuou, uma vez que as enzimas que atuam na quebra das moléculas continuam presentes no meio.

Observa-se na Tabela 9 que o NMP/mL de bactérias aeróbias oscila com relação ao tempo decorrido em todos os sistemas e que há pouca diferença entre os sistemas com materiais diferentes, mas que de forma geral há uma população rica desse grupo de bactérias presentes no meio.

Em relação a *Pseudomonas* houve oscilações dos valores no decorrer dos dias, isso se dá devido a disponibilidade de oxigênio, e/ou nitratos e nitritos presentes no meio. Como o oxigênio se esgota uma vez que o sistema é mantido em condições anaeróbicas, faz-se necessário os nitratos e nitritos para atuarem como aceptores de elétrons.

Como explicado anteriormente no tópico digestão anaeróbica, há uma etapa conhecida com Acidogênese, onde há produção de ácido graxos, e desta forma espera-se que haja no sistema bactérias capazes de produzir ácido. De acordo com a Tabela 9, há ainda uma quantidade significativa desse grupo de bactérias. As bactérias anaeróbias também apresentaram queda populacional, mas ainda se encontram em quantidade significativa no meio. Esse grupo de bactérias inclui os micro-organismos responsáveis pela produção de metano, as archeas metanogênicas, que são estritamente anaeróbicas, entretanto, como não há mais produção de gás, esses micro-organismos possivelmente foram inibidos pelos produtos das fases anteriores, como ácidos, uma vez que atuam em pH neutro. (Markowski *et al.*, 2014). Assim, como os demais grupos, apresentaram oscilações, conseqüentemente, todos os grupos de bactérias irão variar devido ao processo ocorrer em simbiose. Yagi *et al.* (2014) relataram que Archaea *Methanosaeta concilii* e *Methanobacterium petrolearium* estão envolvidos na biodegradação anaeróbica de PLA e PCL, respectivamente. Esses micro-organismos são anaeróbios e podem está presente no sistema em estudo, dentro da contagem exposta na Tabela 9.

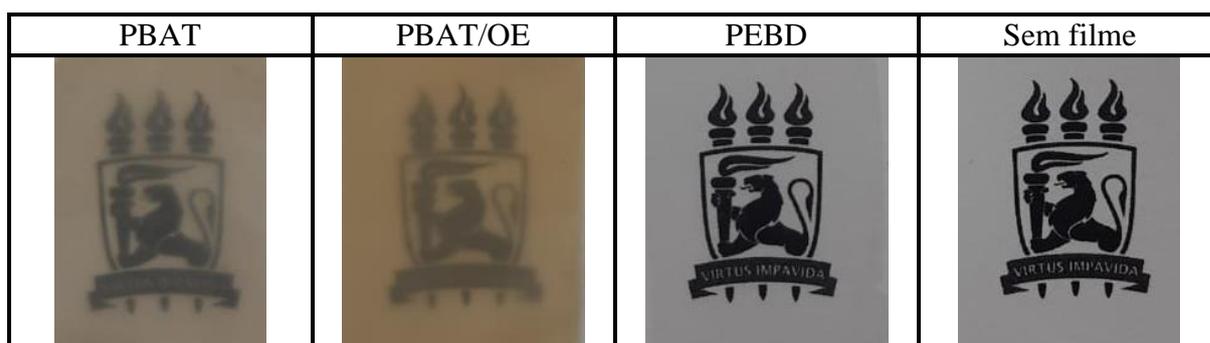
As Bactérias Redutoras de sulfato são um grupo de bactérias indesejadas, uma vez que são responsáveis pela redução dos sulfatos a sulfetos, sendo o mais comum e danoso o sulfeto de hidrogênio (H₂S). Os fungos são espécies eucarióticas, em sua maioria são produtores de

lipases, como por exemplo *Aspergillus niger*, *Cladosporium sphaerospermium*, *Cladosporium cladosporioides* e *Aspergillus glaucus*, *Penicillium sp.*, *Rhizomucor sp.*, essas enzimas são excretadas no meio extracelular que são importantes na hidrólise de poliésteres, atuam na interface orgânica-aquosa catalisando as reações de hidrólise de triglicerídeos e, em presença de baixas concentrações de água, atuam em reações de esterificação, transesterificação ou interesterificação, (Moura, *et al* 2013; Rodrigues, 2016). Como o polímero em estudo é um poliéster que apresenta alternância na cadeia principal de poliéster alifático e aromático, o que torna essas espécies importantes no estudo da biodegradação desses filmes.

4.5 ASPECTOS VISUAIS DOS FILMES PÓS PROCESSO BIODEGRADAÇÃO

Após a abertura dos sistemas os filmes foram coletados, lavados para retirar resíduos do lodo e secos em dessecador para posteriormente serem realizadas as caracterizações. A Figura 12 mostra o aspecto visual dos filmes de PBAT, PBAT/OE, PEBD após 3 anos dentro do sistema de biodegradação, utilizou-se o brasão da Universidade Federal de Pernambuco como fundo para identificação de transparência de cada amostra.

Figura 12– Filmes PBAT, PBAT/OE, PEBD submetidos ao processo de biodegradação anaeróbia em meio de Lodo de ETE após 1260 dias.



Fonte - A autora (2024).

Na Figura 12 é possível observar uma mudança na coloração dos filmes se comparados as Figuras 7 e 8, que mostram os filmes antes dos ensaios de biodegradação e um aumento na opacidade dos filmes, uma vez que a imagem do fundo ficou menos nítida nos filmes de PBAT e PBAT/OE em relação a Figura 7.

A Figura 13 mostra o aspecto visual das partículas dos filmes de PBAT, PBAT/OE, e o filme PEBD após 3 anos e 6 meses (1260 dias) dentro do sistema de biodegradação. Importante ressaltar que essas partículas foram coletadas dentro dos biodigestores com Lodo de cada sistema.

Figura 13 – Filmes PBAT, PBAT/OE, PEBD submetidos ao processo de biodegradação anaeróbia em meio de Lodo de ETE após 1260 dias.



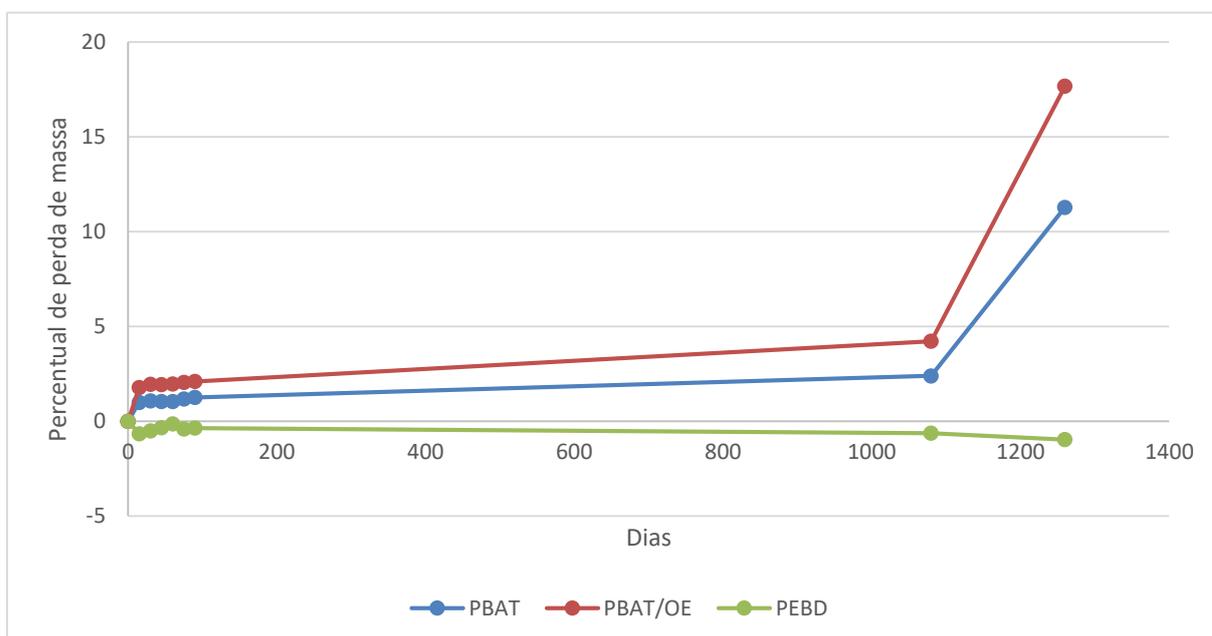
Fonte - A autora (2024).

4.6 PERDA DE MASSA DOS FILMES

A Figura 14 mostra a evolução das massas dos filmes PBAT, PBAT/OE e PRBD durante o processo de biodegradação de 0 a 1260 dias. Para fins de cálculos de perda de massa foram consideradas as massas dos 3 filmes inseridos em cada biodigestor, uma vez que não houve como fixar os filmes dentro do meio sem que houvesse prejuízo da vedação do sistema. Desta forma, considerou-se a massa inicial e final como a soma das massas dos três filmes.

Como esperado, o biodigestor contendo amostra de celulose, um polímero biodegradável, que funcionava como controle da capacidade de biodegradação do sistema desapareceu completamente no lodo ao final dos primeiros 90 dias estudados.

Figura 14 – Gráfico da evolução da perda de massa dos materiais em relação ao tempo de exposição ao lodo em condições anaeróbicas.



Fonte - A autora (2024).

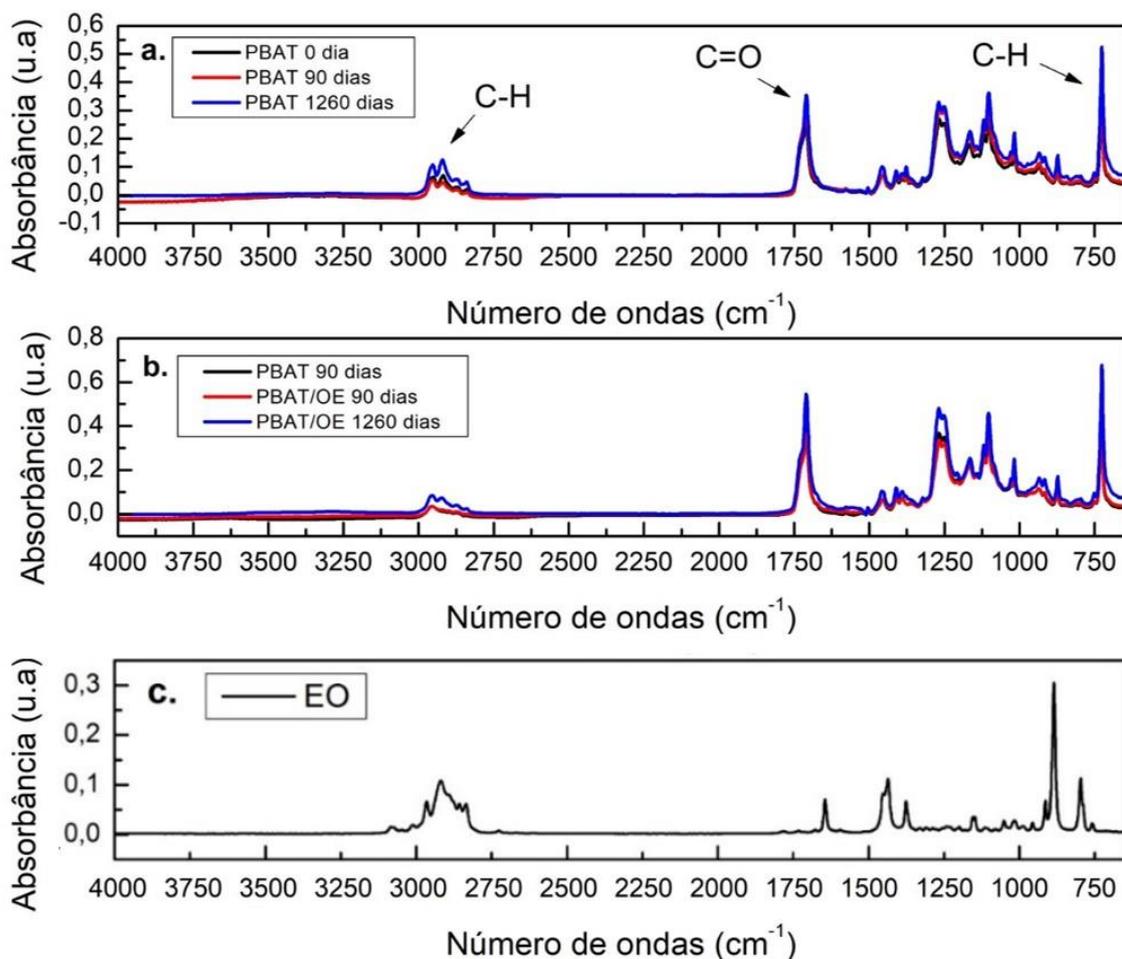
Na parte inicial do experimento (90 dias) onde foi possível realizar amostragens a cada 15 dias observou-se uma pequena perda de massa nos filmes de PBAT, 2,1% para PBAT/OE e 1,25% para o PBAT puro, para o polietileno de baixa densidade, controle negativo, observou-se um aumento de massa, isso pode ser devido ao crescimento de colônias na superfície do material. Ao retomar as análises com 1080 dias observa-se uma perda de massa maior, e com 1260 dias último ponto amostrado foi obtido um percentual de 11,28% para o PBAT e 17,66% para o PBAT/OE, e o mesmo comportamento observado inicialmente para o controle negativo (PEBD), onde houve um aumento de 0,96% na massa.

O Lodo é um meio rico em muitos nutrientes dissolvidos, sendo esses mais facilmente consumidos pelas espécies microbianas, o que foi confirmado na quantificação das espécies microbianas encontradas no lodo mesmo após 1260 dias de incubação. Isso é importante para a produção do metano e do biogás de grande valor comercial. Massardier-Nageotte (2006) em seus estudos de degradação para Mater-bi (mistura de amido / policaprolactona) e policaprolactona observaram que a parte amorfa do polímero que é mais atacada pelos microorganismos, mas, após 28 dias, eles parecem não quebrar as macromoléculas dentro do material: as bactérias atacam a superfície do polímero e parecem consumir as macromoléculas uma após a outra e não houve biodegradação.

4.7 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A Figura 15a mostra os espectros de PBAT-0, PBAT-90 e PBAT-1260 que correspondem ao filme PBAT puro antes e depois do teste de biodegradação. A Figura 15b mostra os espectros de PBAT/OE-0, PBAT/OE-90 e PBAT/OE-1260 que correspondem aos filmes de PBAT incorporados com 15% de óleo essencial de laranja antes e após o teste de biodegradação, respectivamente. A Figura 15c mostra os espectros do óleo essencial de laranja. A Tabela 10 mostra quais as bandas características do PBAT, e a Tabela 11 as bandas características do óleo de laranja utilizado.

Figura 15. Espectros infravermelhos de PBAT puro (a) antes e após os dias de biodegradação em biorreatores de lodo; e (b) espectros de infravermelho PBAT/EO antes e após os dias de biodegradação em biorreator de lodo; (c) espectro infravermelho do óleo essencial de laranja.



Fonte - A autora (2024).

Tabela 10 - Bandas características para o PBAT.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional
3065, 1019	=C-H
2958, 2875	Estiramento CH ₃ , CH ₂
1710	C=O da ligação éster
1578, 1504	Vibração do anel benzênico
1457, 1366, 850	Modo de torção fora do plano CH ₂
1409	Modo de torção fora do plano O-CH ₂
1271, 1105	Estiramento C-O
875	Modo de torção fora do plano =C-H do anel benzênico
720	Grupo metilênico (CH ₂)

Fonte - (Cai; Feng, 2013; Al-Itry; Lamnawar; Maazouz, 2012).

Tabela 11 - Bandas características do óleo de laranja com constituinte principal Limoneno.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional
3000 – 2850	Modo vibracionais –CH
2920	Vibração de estiramento CH ₃ , CH ₂ , CH
1742	Vibração de estiramento C=O
1644	Vibração de estiramento C=C
1450, 1436	Deformação CH ₂
1374	Deformação CH ₃
1311, 1293, 1243	Deformação =CH ₂
1155, 1147, 1052, 1016	Vibração C-H
957, 914	Vibração =C-H, =CH ₂
889	Vibração fora do plano =CH ₂
720	Grupo metilênico (CH ₂)

Fonte - (Zapata *et al.*, 2009).

As principais bandas vibracionais do PBAT e do óleo estão na mesma região, considerando o constituinte principal do óleo de laranja sendo composto majoritário 99,5% o limoneno.

Os picos característicos encontrados nos espectros avaliados estão de acordo com a literatura (Andrade *et al.* 2020, Ruggero, *et al.* 2020, Sangroniz, *et al.* 2018). Para os picos na região entre 3000-2800 cm⁻¹, é mostrado o modo de estiramento C-H das cadeias alifáticas e aromáticas do PBAT. Na banda de 1710 cm⁻¹ está localizada a vibração de alongamento C=O do grupo éster. O pico em 720 cm⁻¹ refere-se às vibrações -CH₂ dos grupos metileno existentes na estrutura do PBAT.

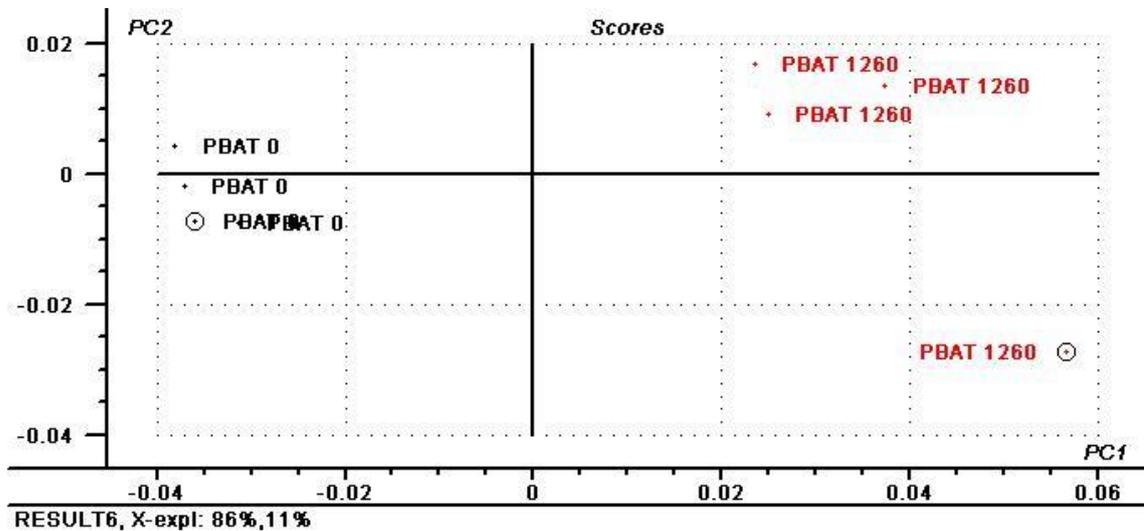
Ao comparar os filmes de PBAT puro e aqueles adicionados de óleo essencial de laranja (PBAT/EO), não foi possível verificar diferenças espectrais com a adição do óleo essencial aos filmes, como pode ser observado na Figura 15c e as Tabelas 10 e 11. A semelhança entre os espectros possivelmente está relacionada a uma sobreposição das bandas características do polímero e do óleo essencial, somando a isso, o fato do óleo essencial representar um menor percentual (15% m/m) comparado à matriz polimérica. Os espectros das amostras de PBAT puro e aditivados com óleo de laranja antes e após o ensaio de biodegradação também não apresentaram diferenças perceptíveis em seus picos característicos.

Dessa forma, empregou-se a técnica de análise de componentes principais (PCA) para prever uma possível distinção entre os filmes, devido a uma discreta alteração nas vibrações químicas resultante do processo de biodegradação, que pode provocar um leve deslocamento nas bandas características do polímero e/ou mudança na intensidade dos picos.

A PCA é um método estatístico de redução de dimensão que identifica índices que mais contribuem para a variação de uma amostra (Liu *et al.*, 2020) é uma técnica utilizada para identificação de padrões de semelhanças ou diferenças químicas entre amostras com base nas vibrações das ligações químicas das amostras.

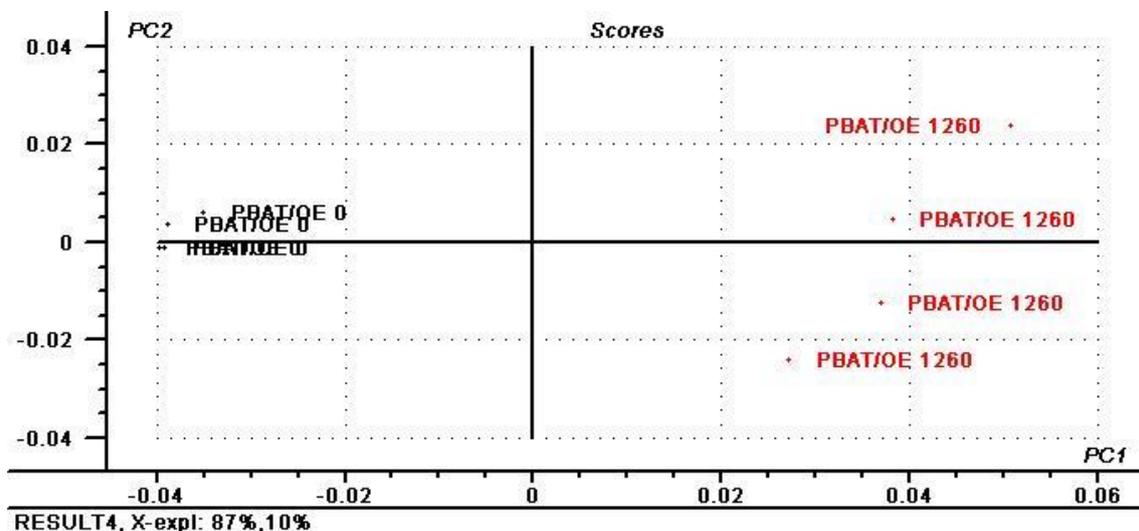
A Figura 16 apresenta o gráfico dos *scores* da análise de componentes principais dos espectros de FTIR de PBAT-0 e PBAT-1260 que correspondem ao filme de PBAT puro antes e após o teste de biodegradação, respectivamente. A Figura 17 apresenta o gráfico dos *scores* da análise de componentes principais dos espectros de FTIR de PBAT/EO-0 e PBAT/EO-1260 que correspondem aos filmes de PBAT incorporados com 15% de óleo essencial de laranja antes e após o teste de biodegradação, respectivamente.

Figura 16 - Gráfico das *scores* dos filmes de PBAT, PBAT-0 antes do processo de biodegradação e PBAT-1260 após processo de biodegradação em condições anaeróbias.



Fonte - A autora (2024).

Figura 17 - Gráfico das *scores* dos filmes de PBAT/OE, PBAT/OE-0 antes do processo de biodegradação e PBAT/OE-1260 após processo de biodegradação em condições anaeróbias.



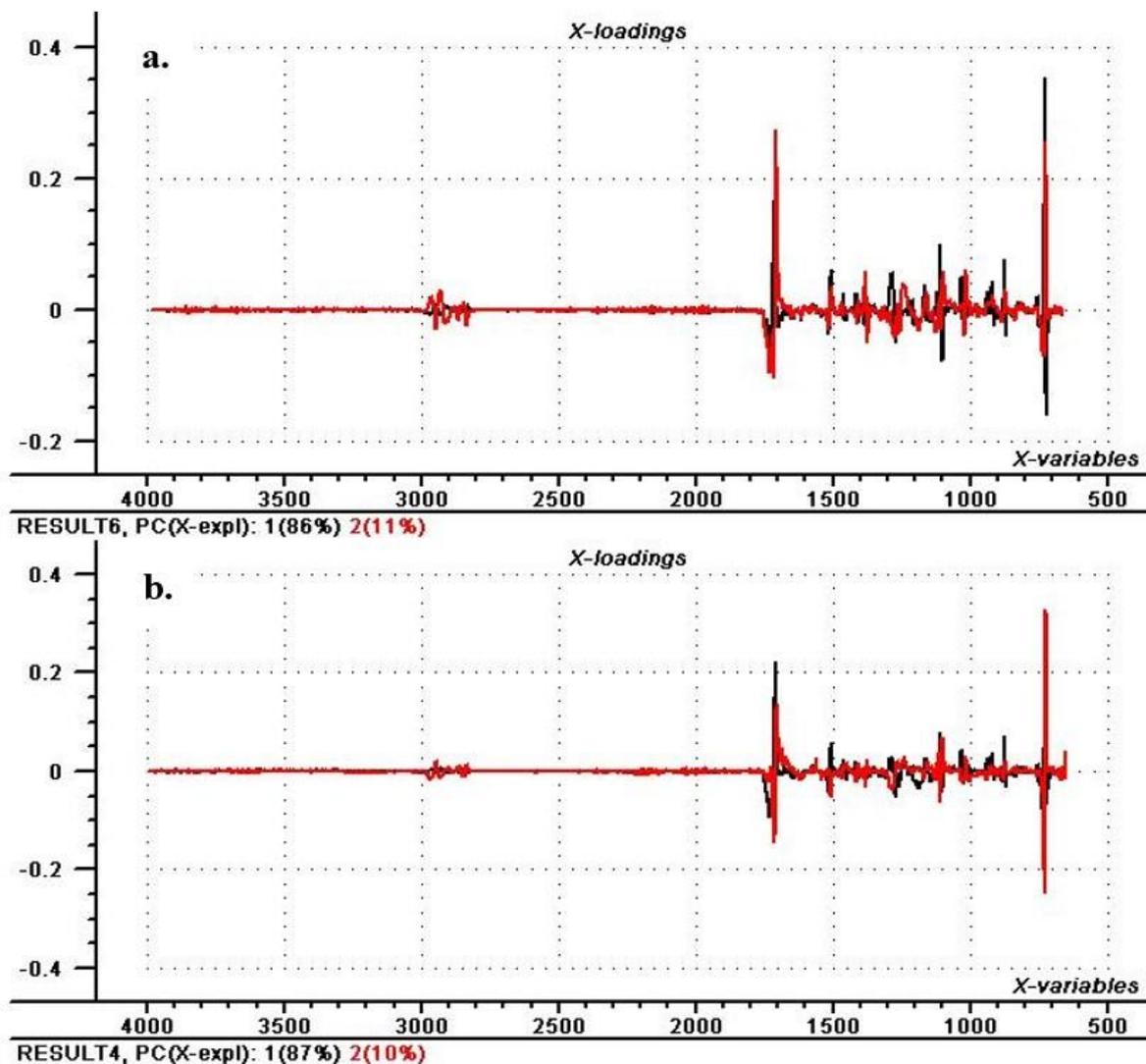
Fonte - A autora (2024).

Para o gráfico dos *scores* dos filmes de PBAT puro antes e depois do processo de biodegradação (Figura 16) foi observado que a primeira componente principal (PC1) explicou 86% das informações e a segunda componente principal (PC2) explicou 11% das informações espectrais. Na Figura 16 é possível observar a formação de dois agrupamentos referentes aos tempos de 0 dia e 1260 dias do teste de biodegradação.

Para os filmes de PBAT/OE o gráfico dos *scores* antes e depois do processo de biodegradação (Figura 17) foi observado que a primeira componente principal (PC1) explicou 87% das informações e a segunda componente principal (PC2) explicou 10% das informações espectrais. Na Figura 17 é possível observar a separação de dois grupos referentes aos tempos de 0 dia e 1260 dias do teste de biodegradação.

Para complementar os resultados obtidos nos gráficos de *scores* (Figura 16 e 17) é necessário avaliar as *loadings* dos PCAs desenvolvidos. Os *loadings* são responsáveis por apresentar quais regiões da matriz multivariada mais contribuem para a diferenciação entre as amostras, visualizadas nos gráficos de *scores*. Valores elevados de *loadings* (positivas ou negativas) indicam que o comprimento de onda da região espectral em questão influencia muito na diferenciação (separação) das amostras na componente principal específica (Hongyu, Sandanielo, Oliveira Junior, 2016). A Figura 18a mostra os gráficos de *loadings* de PBAT-0 e PBAT-1260 que correspondem ao filme PBAT puro antes e depois do teste de biodegradação, respectivamente. A Figura 18b mostra os gráficos de *loadings* de PBAT/EO-0 e PBAT/EO-1260 que correspondem aos filmes de PBAT incorporados com 15% de óleo essencial de laranja antes e após o teste de biodegradação, respectivamente.

Figura 18 – Gráficos de *loadings* dos filmes com 0 dias e 1260 dias do processo de biodegradação, PBAT-0 e PBAT-1260 para o PBAT puro (a) e PBAT/EO-0 e PBAT/EO-1260 para o PBAT adicionado de 15% de óleo essencial de laranja (b).



Fonte - A autora (2024).

Pelo gráfico das *loadings* dos filmes de PBAT e PBAT/OE antes e depois do processo de biodegradação (Figura 18a e 18b), percebeu-se que os picos que mais influenciaram na separação dos clusters foram em, 1720 e 726 cm^{-1} , referente as ligações ésteres e grupos metilênicos, respectivamente.

Esses grupos estão de acordo com os prováveis mecanismos de degradação térmica do PBAT, que incluem hidrólise e cisão aleatória da cadeia principal, levando a formação de éster vinílico e grupos ácidos terminais. Como também a degradação hidrolítica do PBAT que se dá devido principalmente a hidrólise das ligações éster, que ocorre mais ou menos aleatoriamente

ao longo da cadeia do polímero e necessita da presença de água. A água também pode reagir com os grupos carbonilas próximas do anel benzênico (Al-Itry, *et al.* 2012).

De acordo com Kijchavengkul *et al.* (2010) é possível investigar a biodegradação do PBAT a partir de seus grupos funcionais uma vez que a degradação promove a divisão dos grupos éster da cadeia principal que implica na produção de grupos terminais álcool e um ácido carboxílico, para que a hidrólise progrida.

Deste modo a partir dos *loadings* foi possível verificar uma grande influência dos grupos funcionais éster na separação entre as amostras iniciais e após a biodegradação, este comportamento é semelhante tanto para o PBAT puro quanto para o PBAT/OE. Através destes resultados, é possível notar uma discreta degradação da cadeia principal do PBAT.

O fato de conseguir agrupar os pontos tanto de PBAT puro quanto de PBAT/OE com 0 dias e 1260 dias sugere que há distinção entre os filmes inicial e pós ensaio de biodegradação, corroborando com a perda de massa observada.

Para identificar alguma mudança intra ou intermolecular na cadeia principal do polímero, calculou-se os índices de carbonila, visto que a hidrólise do éster resulta em ácido carboxílico e álcool, no caso do PBAT na sua completa despolimerização, o ácido tereftálico e 1,4 butandiol. Mas, uma mudança na quantidade do grupo carboxílico presentes deve ser observada.

Calculou-se o Índice de Carbonila (IC) de acordo com a Equação 02.

$$IC = \frac{Abs_{C=O}}{Abs_{C-H}} \quad \text{Equação 02}$$

Sendo IC o índice de carbonila, $Abs_{C=O}$ a absorbância do pico da carbonila, 1716 cm^{-1} e Abs_{C-H} a absorbância do pico C-H escolhido como de referência, 1454 cm^{-1} (PALSİKOSKI *et al.*, 2018). A Tabela 12 mostra os valores dos índices de carbonila antes e depois do processo de biodegradação.

Tabela 12 – Índice de carbonila dos filmes antes e pós ensaio de biodegradação e seus respectivos desvios em relação as medidas.

Tempo (dias)	Índice de carbonila	
	PBAT	PBAT/OE
0	3,33±0,16	5,45±0,07
90	3,48±0,51	4,59±0,41
1260	5,28±0,45	5,62±0,54

Fonte - A autora (2024).

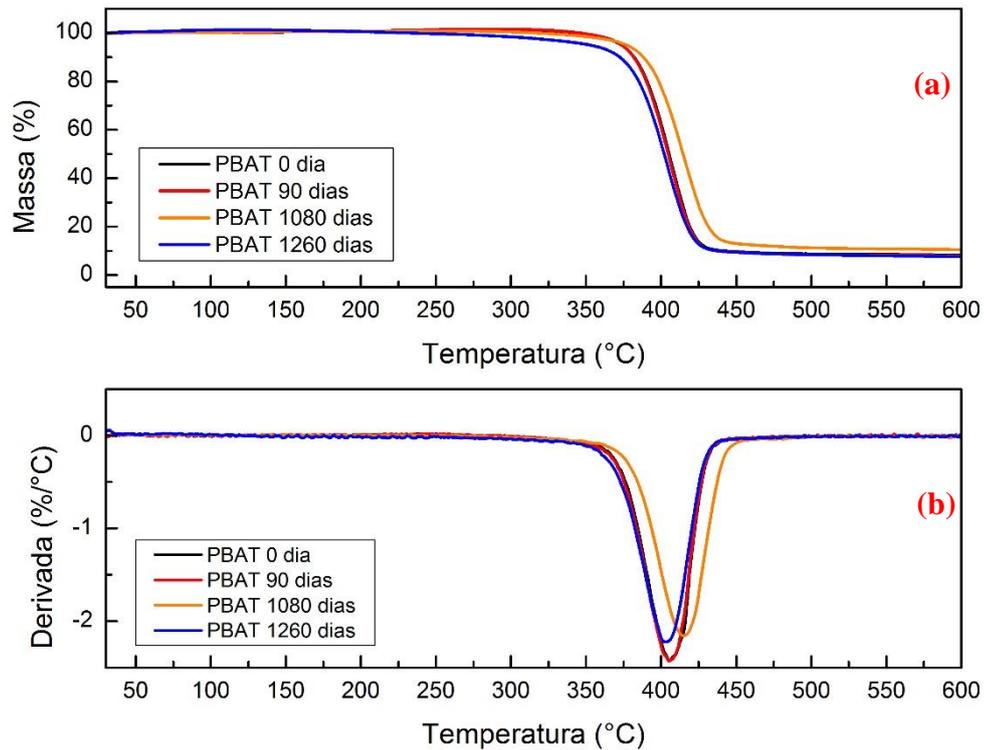
Para o PBAT puro observa-se um pequeno aumento no índice de carbonila após 90 dias de experimento e um aumento mais significativo no final do experimento, que está associado a quebra interna da cadeia polimérica, gerando grupos carboxílicos terminais. Já o PBAT/OE observa-se um decréscimo no índice de carbonila e posteriormente um aumento. Nessa situação, infere-se que parte das cadeias que sofreram hidrólise ainda pode se rearranjar, resultando na diminuição das carbonilas terminais. No caso associado a produção dos ácidos carboxílicos formados na hidrólise, esses podem ser facilmente assimilados pelos micro-organismos (Sadi, Fachine e Demarquette, 2013).

Desta forma, dependendo do ambiente químico, do aditivo presente no polímero, dos micro-organismos presentes no meio e do estágio de degradação em que o material se encontra, pode haver aumento ou diminuição do índice de carbonila do material durante o processo de biodegradação. A variação no índice de carbonila também corrobora com os resultados do percentual de perda de massa e dos PCAs, que indicam mudanças nos filmes antes e pós ensaio de biodegradação. Souza *et al* (2019) também encontraram redução no índice de carbonila após biodegradação do PBAT puro com fotoenvelhecimento e degradadas em solo.

4.8 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

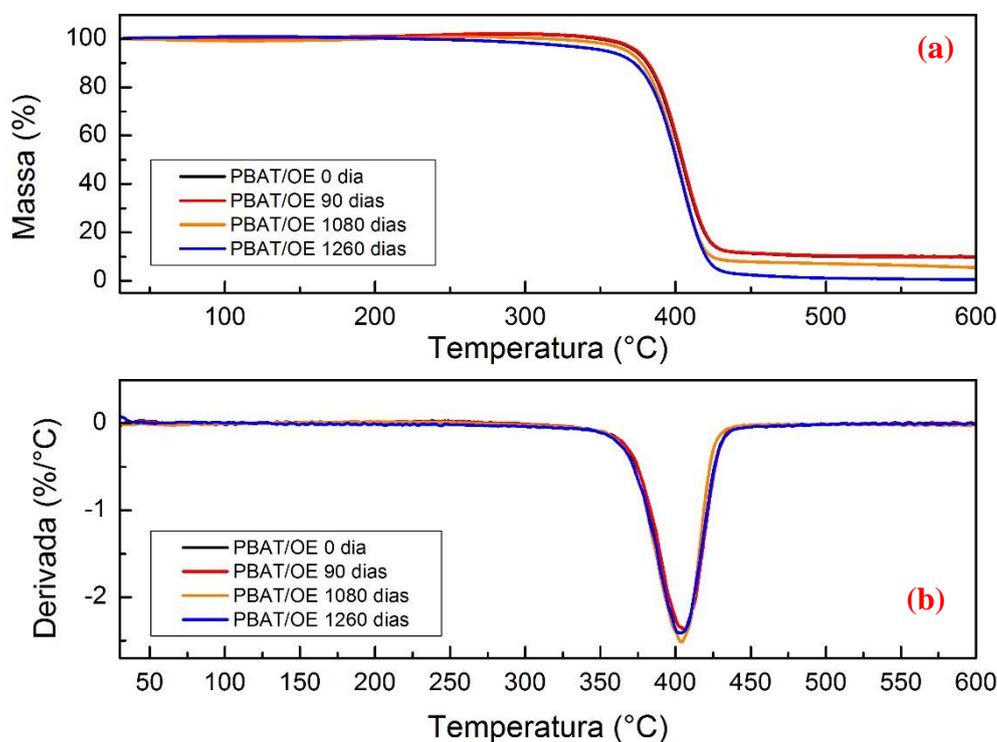
As Figuras 19 e 20 mostram as curvas de TGA e DTG dos filmes de PBAT com e sem óleo respectivamente, antes e após o processo de biodegradação.

Figura 19 – Curva de (a) TGA e (b) DTG do filme de PBAT puro antes e após os 90 dias de biodegradação.



Fonte - A autora (2024).

Figura 20 – Curva de (a) TGA e (b) DTG do filme de PBAT/OE antes e após os 1260 dias de biodegradação.



Fonte - A autora (2024).

Observando as Figuras 19 e 20, os perfis dos gráficos de TGA e DTG foram conservados, quando comparados as amostras de PBAT e PBAT/OE, antes e após o processo de biodegradação. Geralmente esse comportamento pode estar relacionado à região cristalina da estrutura do polímero, pois diferentemente da região amorfa, que são mais facilmente acessíveis as enzimas, durante o processo de despolimerização, as regiões mais organizadas com domínios cristalinos são mais inertes ao acesso dos biocatalisadores, o que inviabiliza as reações de quebra da cadeia principal do poliéster aromático.

Vale ressaltar que os fragmentos dos polímeros foram cuidadosamente retirados dos biodigestores, lavados e secados, antes da análise térmica para garantir a análise correta, em que apenas do material polimérico, sem resíduo de biomassa microbiana, fossem selecionados.

Apesar dos perfis dos gráficos tenham sido conservados, pode-se evidenciar deslocamento do pico máximo de degradação do PBAT puro, após 1260 dias de ensaio. Já para o PBAT/OE não foi observada alteração nesse parâmetro. Mas, as massas residuais de cada sistema, PBAT puro, como o PBAT/OE apresentaram menores valores após 1260 dias de

biodegradação, isso provavelmente está associado a presença de estruturas fragmentadas, e especificamente algumas reações de cisões na cadeia principal.

Tabela 13 –Dados obtidos do TGA do filme de PBAT/15% óleo antes e após os 1260 dias de biodegradação.

	T_{ON SET}	T_{END SET}	T_{MÁX}	MASSA RESIDUAL
PBAT - 0	372,7°C	426,8°C	405,9°C	8,33 %
PBAT - 90	370,8°C	428,1°C	405,8°C	7,99 %
PBAT - 1080	382,1°C	435,9°C	415,6°C	10,6 %
PBAT - 1260	375,7°C	424,5°C	403,4°C	7,6 %
PBAT/OE - 0	376,5°C	425,7°C	405,9°C	9,9 %
PBAT/OE - 90	372,9°C	427,6°C	407,4°C	10 %
PBAT/OE - 1080	373,6°C	422,5°C	403,4°C	5,52 %
PBAT/OE - 1260	372,9°C	427,1°C	404,2°C	0,46 %

Fonte - A autora (2024).

4.9 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL – DSC

A Tabela 14 mostra os resultados da análise de calorimetria exploratória diferencial dos filmes de PBAT puro e PBAT/óleo de laranja, antes e após 90 dias de biodegradação no biodigestor.

Tabela 14– Dados obtidos na calorimetria exploratória diferencial dos filmes antes e após 90 dias de ensaio de biodegradação.

	TEMPERATURA DE CRISTALIZAÇÃO (T_c) (°C)	ΔH_c (J.g⁻¹)	TEMPERATURA DE FUSÃO (T_m) (°C)	ΔH_f (J.g⁻¹)	X_c (%)
PBAT	80,18	12,72	121,19	8,9	7,8
PBAT 90	77,36	15,33	120,05	6,31	5,54
PBAT/15%ÓLEO	61,66	18,98	119,28	15,23	13,36
PBAT/15%ÓLEO 90	62,45	19,66	122,28	14,21	12,47

Fonte - A autora (2024).

Para o Filme de PBAT puro observa-se uma diminuição na temperatura de cristalização e percentual de cristalinidade do filme de PBAT puro após 90 dias de biodegradação. Este resultado pode ser explicado pela tendência do ataque enzimático ser preferencial pela região amorfa do polímero, em seguida, a região cristalina passa a ser parcialmente modificada, no

início do processo degradativo, interferindo no grau de cristalinidade e temperatura de cristalização. Já para o filme de PBAT/15% óleo não foram observadas alterações significativas nas propriedades térmicas, uma vez que esse filme com óleo já apresentou grau de cristalinidade maior que o PBAT puro antes da biodegradação, o que provavelmente possa ter dificultado o ataque enzimático nos 90 dias de biodegradação. Wang *et al*, (2015) observaram que o PBAT semicristalino não mostrou nenhuma mudança significativa na estrutura cristalina na análise DSC, após 3 meses de biodegradação em solo.

De forma geral, o tempo de 90 dias não foi suficiente para observar degradação considerável na estrutura do polímero, resultando em mínimas variações nas propriedades químicas e físicas dos filmes estudados, o que foi confirmado nos resultados de perda de massa, índice de carbonila e propriedades térmicas dos filmes. Entretanto, acredita-se que para maiores tempos de exposição desses filmes no lodo, tanto a parte alifática como a aromática da estrutura do polímero podem ser quimicamente alteradas pela ação das enzimas microbianas, que estão sendo produzidas durante a produção de biogás (biodigestão). Lembrando que o processo em estudo ocorre em condições anaeróbicas, no qual o metabolismo microbiano é mais lento, interferindo na multiplicação de micro-organismo, produção de enzimas, metabólitos e conseqüentemente retardando o processo de biodegradação dos filmes de PBAT. Não foi encontrado na literatura trabalhos que estudassem a biodegradação do PBAT em condições de anaerobiose, os resultados obtidos sugerem a necessidade de ampliação do tempo de ensaio em condições anaerobiose, uma vez que nessas condições o metabolismo microbiano é mais lento, se comparado a condições aeróbicas.

5 CONCLUSÃO

Os filmes de PBAT puro e com adição de óleo, preparados por extrusão, apresentaram aspectos ideais para aplicação em embalagens. Ambos os filmes apresentaram morfologia macroscópicas semelhantes, sem falhas, ranhuras, ou quaisquer defeitos em sua superfície. Visualmente observa-se uma diferença na coloração passando de branco para o PBAT puro e amarelado para o PBAT com 15% de óleo.

Em relação a população microbiana, foi constatado que o lodo de esgotos é rico em bactérias aeróbias, anaeróbias, *Pseudomonas*, bactérias produtoras de ácido, fungos e Bactérias redutoras de sulfato em menor proporção, o que torna um meio propício para biodegradação e produção de biogás.

No rendimento do biogás, não houve diferença significativa dessa produção na presença dos filmes, uma vez que ambos, não impediram a formação do biogás, não inibiram a microbiota do meio utilizado, o lodo de esgoto. Esse resultado se torna promissor para avaliar os biodigestores como possíveis locais para o descarte desses materiais pós-consumo.

Em relação a perda de massa pode-se observar que na parte inicial do experimento (90 dias) houve uma pequena perda de massa nos filmes de PBAT, 2,1% para PBAT/OE e 1,25% para o PBAT puro. Após 1260 dias obteve-se um percentual de perda de massa 11,28% para o PBAT e 17,66% para o PBAT/OE, e o mesmo comportamento observado inicialmente para o controle negativo (PEBD), onde houve um aumento de 0,96% na massa, isso pode ser devido ao crescimento de colônias na superfície do material.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier, mostraram pequenas variações entre as amostras após os ensaios de biodegradação, referente as carbonilas presentes nos filmes e, essas variações com aumento ou diminuição do índice de carbonila, indicam mudanças estruturais no polímero.

A caracterização térmica dos filmes mostrou um deslocamento do pico máximo de degradação do PBAT puro, após 1260 dias de ensaio. Já para o PBAT/OE não foi observada alteração nesse parâmetro. Em relação as massas residuais de cada sistema apresentaram redução nos valores, tanto para PBAT puro, como o PBAT/OE, indicação de presença de estruturas fragmentadas.

REFERÊNCIAS

Agarwal, S. Biodegradable polymers: presente opportunities and challenges in providing a microplastic-free environment. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v., n. 6, 2020.

Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I., Muhammad, S. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. **Environmental Science and Pollution Research**. 25. 1-12, 2018.

Aires, A.M.; Lucas, J.R. **Biodigestão Anaeróbia da Cama de Frangos de Corte para Produção de Biogás (Revisão)**. UNESP, Jaboticabal. 2009.

Alencar, M. V., Gimenez, B. G., Sasahara, C., Elliff, C. I., Velis, C. A., Rodrigues, L. S., Conti, L. A., Gonçalves-Dias, S. L. F., Cetrulo, T. B., Scrich, V. M., Turra, A., Advancing plastic pollution hotspotting at the subnational level: Brazil as a case study in the Global South, **Marine Pollution Bulletin**, Volume 194, Part B, 2023.

Almeida, T. G., Neto, J. E. S., Costa, A. R. M., Silva, A. S., Carvalho, L. H., Canedo, E. L. Degradation during processing in poly(butylene adipate-co-terephthalate)/vegetable fiber compounds estimated by torque rheometry. **Polym. Test.**, v. 55, p. 204-211, 2016.

Andrade, M. F, Silva, I. D. L., Silva, G. A., Cavalcante, P. V. D., Silva, F. T., almeida, Y. M. B., vinhas, G. M., carvalho, L. H. A study of poly (butylene adipate-co-terephthalate)/orange essential oil films for application in active antimicrobial packaging. **LWT- Food Science and Technology**, 2020, 125, 109148.

Araújo, Luís Otávio de. **Embalagens ativas: síntese de filmes antimicrobianos à base de Polietileno de baixa densidade e zeólita A contendo prata**. 2019. 60f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

Asiandu, A. P., Wahyudi, A., Sari, S. W. Aquatic Plastics Waste Biodegradation Using Plastic Degrading Microbes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, v. 20, p. 1-10, 2022.

ASTM I Standard **D883**. Standard Terminology Relating to Plastics, ASTM International, West Conshohocken. 2018.

ASTM I Standard **Specification for Labeling of Plastics Designed to be Aerobically Composted in Municipal or Industrial Facilities standard by ASTM International**. 2021.

Bacca, L. A. M.; Teleken, J. G.; Creamonez, P. A.; Oliveira, E. C. L. Avaliação da Degradação de Bioplástico Comercial Poli (β -hidroxibutirato) (PHB) Através de Biodigestão Anaeróbia em Diferentes Razões Inóculo/Substrato. **Revista Virtual de Química**, v. 14, p. 8-13, 2021.

Balasubramanian, A.; Linda E.; Rosenberg, K. Y.; Michael L. C. Antimicrobial packaging: potential vs. reality—a review. **Journal of Applied Packaging Research**, v. 3, n. 4, p. 193-221, 2009.

Baldacin, A. C. S.; Pinto, G. M. F. Biodigestão anaeróbia da vinhaça: aproveitamento energético do biogás. **Revista Eletrônica FACP**, São Paulo, ano 03, n. 7, Jan. 2015.

Barros, R. M. **Tratado sobre resíduos sólidos: gestão, uso e sustentabilidade**. Rio de Janeiro: Interciência, 374 p. 2012.

BASF, Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - ecoflex® F Blend C1200, 2016. Disponível em: Acesso em: 19 de outubro de 2021.

BASF. Disponível em:

https://plasticsrubber.basf.com/global/en/performance_polymers/products/ecoflex.html_artigo_2023.

Belmonte, G. K. **Modificação Superficial de Polímeros Fotoinduzida por Radiação UV, VUV E EUV**. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 109 p., 2015

Bernard M. Industrial potential of polyhydroxyalkanoate bioplastic: a brief review. **Univ Saskatchewan Undergraduate Res J** 1:1–14, 2014.

BRAGA, L. R.; SILVA, F. M. Embalagens ativas: uma nova abordagem para embalagens alimentícias. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 170-186, 2017.

Brambilla, M., Araldi, F., Marchesi, M., Bertazzoni, B., Zagni, M., Navarotto, P. Monitoring of the startup phase of one continuous anaerobic digester at pilot scale level. **Biomass and Bioenergy**, v. 36, p. 439–446, 2012.

Braunegg, G.; Lefebvre, G.; Genser, K. F. Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiological and engineering aspects. **Journal of Biotechnology**, v. 65, p. 127-161. 1998.

Callister, W. D., Rethwisch D. G. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma introdução**, LTC: Rio de Janeiro, 2020.

Campos, C. M. M.; Damasceno, L. H. S.; Mochizuki, E. T.; Botelho, C. G. Avaliação do desempenho do reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) em escala laboratorial na remoção da carga orgânica de águas residuárias da suinocultura. **Ciênc. Agrotec., Lavras**, v. 29, n. 2, p. 390-399, mar./abr., 2005.

Cheng, H.; Chen, L.; Mcclements, D. J.; Yang, T.; Zhang, Z.; Ren, F.; Jin, Z. Starch-based biodegradable packaging materials: A review of their preparation, characterization and diverse applications in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, Reino Unido, v. 114, p. 70–82, 2021.

Chernicharo, C. A. L., **Reatores anaeróbios. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. DESA/UFMG. Belo Horizonte – MG, v.5, 2ª edição, 2007.

Coimbra-Araújo, C. H.; Mariane, L.; Bley Jr, C.; Frigo, E. P.; Frigo, M. S.; Araújo, I. R. C.; Alves, H. J. Brazilian case study for biogas energy: Production of electric power, heat and

automotive energy in condominiums of agroenergy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 40, p. 826-839, 2014.

Coma, V. Bioactive packaging Technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**. 78(1-2), 90-103, 2008.

Cortez, L. A. B.; Silva, A.; Lucas Junior, J. de; Jordan, R. A.; Castro, L. R. de. Biodigestão de efluentes. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. S. (Coord.). Biomassa para energia. Campinas: **Editora da UNICAMP**, 2007. cap. 15, p. 493-529.

Cremones, P. A. **Digestão anaeróbia de um polímero à base de fécula de mandioca**. Tese de doutorado. Cascavel, Paraná: UNIOESTE, 2019.

De Paoli, M. Degradação e estabilização de polímeros (1 ed.). **Artliber Editora**. 2008.

Evangelho, J. A., Dannenberg, G. S., Biduski, B., Halal, L., Kringel, D. H., Gularte, M. A., Fiorentini, A. M., Zavareze, E. R. **Carbohydrate Polymers**, 222, 114981, 2019.

Fabra, M. J.; López-Rubio, A.; Lagaron, J. M. Use of the electrohydrodynamic process to develop active/bioactive bilayer films for food packaging applications. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 11–18, 2016.

Gama, Bruno Elias Pereira Nogueira da. **Preparação e caracterização do polímero biodegradável poli-butileno adipato cotereftalato, associado aos polímeros semicondutores poli-o-etoxianilina e poli-ometoxianilina e ao óxido de estanho e índio**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) - Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

Gomes, G. V., Suda, S. J., Rosa, A. P., Rodrigues, F. A., Estudo da produção de energia elétrica a partir de biogás com e sem purificação de estação de tratamento de esgoto. **The journal of Engineering and Exact Sciences**, vol. 03, N. 07, 2017.

Gorrasi G, Pantani R. Efeito dos graus de ácido polilático ed morfologias em hidrolítico de degradação na compostagem temperatura: Avaliação de estrutural modificação e cinético parâmetros. **Polímero Degradação e Estabilidade** 98(5):1006 – 1014, 2013.

GREENE, J. Biodegradation of Biodegradable and Compostable Plastics under Industrial Compost, Marine and Anaerobic Digestion. **SciEnvironm**, Volume 1(1): 13-18, 2018.

Gross, R. A., Kalra, B. **Polímeros biodegradáveis para o meio ambiente**. Science, 297, 803-806, 2002.

Hidaka, T., Wang, F., Togari, T., Uchida, T., Suzuki, Y. Comparative performance of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion for high-solid sewage sludge, **Bioresource Technology**, Volume 149, Pages 177-183, 2013.

Hongyu, K., Sandanielo, V., Oliveira Junior, G. Análise de Componentes Principais: Resumo Teórico, Aplicação e Interpretação. **E&S Engineering and Science**, v.1, ed. 5. p. 83-90, 2016. Huang, W.; Wang, Z.; Zhou, Y.; Ng, W. J. The role of hydrogenotrophic methanogens in an acidogenic reactor. *Chemosphere*. Elsevier 140, 40-46, 2015.

Jain, S., Jain, S., Wolf, I., Lee, J., Tong, Y. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 52, pp.142-154, 2015.

Jian, J., Xiangbin, Z., Xianbo, H. An overview on synthesis, properties and applications of poly(butylene-adipate-co-terephthalate)–PBAT, **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, Volume 3, Issue 1, Pages 19-26, 2020

Kale, G. Kijchavengkul, T. Auras, R. Compostability of bioplastic packaging materials: an overview. **Macromolecular Bioscience**, v. 7, p. 255-277, 2007.

Kanwal A., Zhang M., Sharaf F., Li C. B. Polymer pollution and its solutions with special emphasis on Poly (butylene adipate terephthalate (PBAT)). **Polymer Bulletin**, v. 79, p. 2-29, 2022.

Katiyar, Vimal. **Bio-based plastics for food packaging applications**. Smithers Pira, 298 p., 2017.

Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S., Ngouajio, M. R., Fernandez, T. Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester, **Polymer Degradation and Stability**, Volume 95, Issue 12, Pages 2641-2647, 2010.

Krzemińska, D., Neczaj, E., Borowski, G. Advanced oxidation processes for food industrial wastewater decontamination. **Journal of Ecological Engineering**. 16. 61-71, 2015.

La Fuente, C., Maniglia, B., Tadini, C. Biodegradable polymers: A review about biodegradation and its implications and applications. **Packaging Technology and Science**. 36. 10, 2023.

Lam C. X., Hutmacher D. W., Schantz J.T., Woodruff M. A., Teoh S.H. Evaluation of polycaprolactone scaffold degradation for 6 months in vitro and in vivo. **J Biomed Mater Res A** 90(3):906–919, 2009.

Lucas N, Bienaime C, Belloy C, Queneudec M, Silvestre F, Nava-Saucedo J E. 2008. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques. **Chemosphere** 73:429–442, 2008.

Lucena, R. M. **Identificação molecular da diversidade microbiana em reator UASB de estação de tratamento de esgoto**. 63 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE, 2008.

Markowski, M.; Bialobrzelski, I.; Zielinski, M.; Debowski, M. Optimizing low-temperature biogas production from biomass by anaerobic digestion. **Renewable Energy. Elsevier**, 69, 219-225, 2014.

Marturano, V.; Bizzarro, V.; Ambrogio, V.; Cutignano, A.; Tommonaro, G.; Abbamondi, G.; Giamberini, M.; Tylkowski, B.; Carfagna, C. Cerruti, P. Light-Responsive Nanocapsule-Coated Polymer Films for Antimicrobial Active Packaging. **Polymers**, v. 11, n.1, art. 68, 2019.

Massardier-Nageotte, V., Pestre, C., Cruard-Pradet, T., Bayard, R. Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization, **Polymer Degradation and Stability**, Volume 91, Issue 3, Pages 620-627, 2006.

Mckay, S., Sawant, P., Fehlberg, J., Almenar, E. **Waste Management**, 120, 230-239, 2021.

Moraes Filho, Luiz Emílio Pessôa Timeni de. **Desenvolvimento de filmes ativos de poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) e investigação da biodegradação em solo** / Luiz Emílio Pessôa Timeni de Moraes Filho – Recife, 2020.

Mueller, R.J. Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. **Process Biochemistry** 41, 2124–2128, 2006.

Muroi, F.; Tachibana, Y.; Soulethone, P.; Yamamoto, K.; Mizuno, T.; Sakurai, T.; Kobayashi, Y.; Kasuya, K. Characterization of a poly(butylene adipate- co -terephthalate) hydrolase from the aerobic mesophilic bacterium *Bacillus pumilus*. **Polymer Degradation and Stability**, v. 137, p. 11–22, 2017.

Muthukumar, A.; VEerappapillai, S.; Biodegradation of plastics – A brief review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.**, no. 36, p. 204-209, 2015.

Nobrega, M. M., Bona, E., Yamashita, F. An artificial neural network model for the prediction of mechanical and barrier properties of biodegradable films. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 33, p. 4331-4336, 2013.

ISO 14853 (2016). Plastics — **Determination of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in an aqueous system** — Method by measurement of biogas production. International Organization for Standardization, 2016.

Palsikowski, P. A.; Kuchnier, C. N.; Pinheiro, I. F.; Morales, A. R. Biodegradation in Soil of PLA/PBAT Blends Compatibilized with Chain Extender. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 1, p. 330–341, 2018.

Paulo, A.F.S; Balan, G.C.; Shirai, M.A. Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) na produção de filmes ativos biodegradáveis. In Verruck, S. (Eds) *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos* (pp. 430-443). **Editora Científica Digital**, 2021.

Pelissari, F.M.; Grossmann, M.V.E.; Yamashita, F.; Pineda, E.A.G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 57(16), 7499–7504, 2009.

Pires, M.; Petzhold, C. L.; Santos, R. V.; Perão, L.; Chies, A. P. Effect of antimicrobial compound migration on final properties of polyethylene based film. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 24(2), 237-242, 2014.

Quecholac-Piña, X., Hernández-Berriel, M. C., Mañón-Salas, M. C., Espinosa-Valdemar, R. M., Vázquez-Morillas. A., **Polymers**, 2020, 12, 109. <https://doi.org/10.3390/polym12010109>.

RameshKumar, S., Shaiju, P., O'Connor, K. E., Babu R. P. Bio-based and biodegradable polymers - State-of-the-art, challenges and emerging trends, **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, Volume 21, Pages 75-81, 2020.

Raposo, F.; De La Rubia, M.A.; Borja, F.C.R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.16, p.861–877. 2011.

Robertson, G. L. **Food packaging: principles and practice**. 3. ed. Boca Raton, Fl: Crc Press, 733 p. 2013.

Rocculi, P., Siracusa, V., Romani, S., Rosa, M. D., Biodegradable polymers for food packaging: a review, **Trends in Food Science & Technology**, Volume 19, Issue 12, Pages 634-643, 2008.

Rocha, M. A.; Araújo, A. S. F.; Campana-Filho, S. P. Treatment of pulp and paper mill wastewater—a review. *Sci. Electronic Arch*, v. 5, n. 1, 2008.

Rohstoffe, F. N.; Paterson, M.; Kuhn, W. **Guia prático do biogás**. 5ª edição, Gülzow, 2010.

Ruggero, F., Carretti, F., Gori, R., Lotti, T., Lubello, C. Monitoring of degradation of starch-based biopolymer film under different composting conditions, using TGA, FTIR and SEM analysis., **Chemosphere**, Volume 246, 2020.

Rujnić-Sokele M, Pilipović A. Challenges and opportunities of biodegradable plastics: A mini review. *Waste Management & Research*, 35(2):132-140, 2017.

Rydz, J.; Sikorska, W.; Kyulavska, M.; Christova, D. Polyester-Based (Bio)degradable Polymers as Environmentally Friendly Materials for Sustainable Development. **International Journal of Molecular Sciences**, 16, 564-596, 2015

Sadi, R. K.; Fechine, G. J. M.; Demarquette, N. R. Effect of prior photodegradation on the biodegradation of polypropylene/poly(3-hydroxybutyrate) blends. *Polymer Engineering & Science*, v.53, n. 10, p. 2109 – 2122, 2013.

Sangroniz, A., Sangroniz, L., Aranburu, N., Fernández, M., Santamaria, A., Iriarte, M., Etxeberria, A. Misturas de poli (adipato-co-tereftalato de butileno) biodegradável com poli (hidroxi amino éter) para aplicações em embalagens: miscibilidade, reologia e propriedades de transporte. **European Polymer Journal**, 2018, 105, 348-358.

Shah, Z.; Gulzar, M.; Hasan, F.; Shah, A. A. Degradation of polyester polyurethane by an indigenously developed consortium of *Pseudomonas* and *Bacillus* species isolated from soil. **Polymer Degradation and Stability**, v. 134, p. 349–356, 2016.

Sharma, M.; Dhingra, H. K. Poly-β-hydroxybutyrate: a biodegradable polyester, biosynthesis and biodegradation. **Br Microbiol Res J** 14(3):1 –11, 2016.

Shinozaki, Y.; Morita, T.; Cao, X.; Yashida, S.; Koitabashi, M.; Watanabe, T.; Suzuki, K.; Sameshima, Y.; Nakajima-Kambe, Y. T.; Fujii, T.; Kitamoto, H. K. Biodegradable plastic-degrading enzyme from *Pseudozyma antarctica*: cloning, sequencing, and characterization. **Appl Microbiol Biotechnol** 97:2951–2959, 2013

Thinh B.B, Khoi Nt, Doudkin R.V, Thin D.B, Ogunwande I.A. Chemical composition of essential oil and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Knema globularia* (Lam.) Warb. from Vietnam. **Nat Prod Res.** 2023.

Venkatesan, R., Santhamoorthy, M., Alagumalai, K., Haldhar, R., Raorane, C. J., Raj, V., Kim, S. C. Novel Approach in Biodegradation of Synthetic Thermoplastic Polymers: An Overview. *Polymers*, v. 14, p. 1-12, 2022.

Wang, H., Wei, D., Zheng, A., Xiao, H. Biodegradação de sepultamento no solo de filmes PBAT biodegradáveis antimicrobianos. **Polymer Degradation and Stability**, 116, 14-22, 2015.

Wang, Y.; Yun, J.; Chen, Gq. Polyhydroxyalkanoates, challenges and opportunities. **Current Opinion in Biotechnology**, 30: 59-65, 2014.

Wang, Z.; Lin, X.; Na, J.; Ren, C.; Yan, X. Biodegradation of Polyhydroxybutyrate Film by *Pseudomonas mendocina* DS04-T. *Polymer Plastics Technology and Engineering*, 52: 195–199, 2013

World Wide Fund Internacional (WWF), Maré subindo iii: Cidadãos de todo o mundo exigem regras fortes para acabar com a poluição plástica. **WWF Internacional e Plastic Free Fundation**, 2024.

Wróblewska-Krepsztul, J.; Rydzkowski, T.; Borowski, G.; Szczypiński, M.; Klepka, T.; Thakur, V. K. Recent progress in biodegradable polymers and nanocomposite-based packaging materials for sustainable environment. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, v. 23(4), p. 383-395, 2018.

Yagi, H.; Ninomiya, F.; Funabashi, M.; Kunioka, M. Mesophilic anaerobic biodegradation test and analysis of eubactéria and archaea involved um anaerobic biodegradation of four specified biodegradable polyesters. **Polymer Degradation and Stability**, 110, 278-283, 2014.

Yoshida, S.; Hiraga, K.; Takeo, M.; Taniguchi, I.; Yamaji, H.; Maeda, Y.; Toyota, K.; Miwa, T. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). **Science**, v. 351, n. 6278, p. 1196–1199, 2016.

Zahedi, S.; Sales, D.; Romero, L. I.; Solera, R. Optimisation of single-phase drythermophilic anaerobic digestion under high organic loading rates of industrial municipal solid waste: Population dynamics. *Bioresource Technology*. Elsevier, 146, 109-117, 2013.

Zapata, Rolando Barrera; Aída Luz Villa De, P.; De Correa, Consuelo Montes. Studying PW-amberlite catalyst deactivation in limonene epoxidation by hydrogen peroxide. *Ingenieria e Investigacion*, 2009.

Zehetmeyer, G. Doutorado em Ciência dos Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2016.

Zehetmeyer, G.; Meira, S. M. M.; Scheibel, J. M.; De Oliveira, R. V. B.; Brandelli, A.; Soares, R. M. D. Influence of melt processing on biodegradable nisin-PBAT films intended for active food packaging applications. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 133, n. 13, n.p., 2016.

Zhang, X.; Wang, S.; Yang, L.; Zhao, Y. Microbial degradation and modified plasticization of poly(butylene adipate-co-terephthalate). **RSC Adv**, v. 10, n. 52, p. 31231–31241, 2020.

Zhong, Y., Godwin P., Jin Y., Xiao H. Biodegradable polymers and greenbased antimicrobial packaging materials: A mini-review. *Advanced industrial and Engineering Polymer Research*, v. 3, p. 27-35, 2020.

Zumstein, M. T.; Rechsteiner, D.; Roduner, N.; Perz, V.; Ribitsch, D.; Guebitz, G. M.; Kholer, H.-P. E.; MCNEILL, K.; SANDER, M. Enzymatic Hydrolysis of Polyester Thin Films at the Nanoscale: Effects of Polyester Structure and Enzyme Active-Site Accessibility. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 13, p. 7476–7485, 2017.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Artigo da tese

Journal of Polymers and the Environment
<https://doi.org/10.1007/s10924-023-02833-x>

ORIGINAL PAPER



Evaluation of Active PBAT Films Incorporated with Orange Essential Oil Biodegradation in Anaerobic Biodigesters

Gisely Alves da Silva¹ · Michelle Felix de Andrade¹ · Viviane Fonseca Caetano¹ · Ivo Diego de Lima Silva¹ · Luiz Emílio Pessoa Timeni de Moraes Filho² · Jorge Vinícius Fernandes Lima Cavalcanti¹ · Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha¹ · Glória Maria Vinhas¹

Accepted: 9 March 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2023

Abstract

The use of biodegradable polymers applied in active packaging systems, where additives are incorporated that aim to extend the shelf life of foods, is a promising topic in the search for ecologically correct materials. However, it is not known whether in these systems, the presence of the antimicrobials additive, will exert a negative influence on the biodegradation process of this polymeric material. Thus, in this work, the biodegradation process of poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) films additive with orange essential oil in anaerobic biodigesters was monitored, as well as the growth of microorganisms involved during the process, and the production of methane gas that is the main metabolite in this type of biodegradation. PBAT films were produced through the extrusion process and added orange essential oil at concentrations of 0 and 15% wt. were used. The films before and after the 90-day biodegradation were macroscopically evaluated by medium infrared, exploratory differential calorimetry, and thermogravimetric analysis. The results showed that the evaluated period was not sufficient to mineralize the polymer and that orange essential oil had no influence on the biodegradation process. The PBAT and PBAT/EO films were stable when submitted to biodegradation in sludge for 90 days.

Keywords PBAT · Orange oil · Biodegradation · Sludge

Introduction

Polymers of petrochemical origin have been used for many decades in various sectors due to their excellent properties, such as durability, lightness, low cost and malleability [1]. However, its large use combined with inadequate disposal generates serious environmental problems in the soil, air and marine environments. One solution to this problem is the use of biodegradable polymers that, when degraded by the action of microorganisms and/or enzymes, are converted into low molecular weight molecules [2]. These polymers

can be obtained from natural sources, based on petroleum, or from biological sources [3].

In this context, poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), which is a biodegradable aromatic aliphatic copolyester of petrochemical origin, has resistance and flexibility compared to those of low-density polyethylene [4, 5].

Due to its characteristics, this polymer has great potential to be applied in the food packaging sector. It can have its properties enhanced with the incorporation of natural additives, such as essential oils, which would provide it with active properties as reported in the literature with orange essential oil [6].

Although this new active packaging technology is very promising, as it increases the shelf life of food [7], active substances, such as essential oils, can compromise the biodegradability of these plastics when discarded in the environment. This can occur due to the impairment of the microbiota of the environment by the migration of the active agent and consequently, there is the death of naturally degrading beings such as bacteria and fungi [8].

✉ Glória Maria Vinhas
 gmvinhas@yahoo.com.br

¹ Department of Chemical Engineering, Federal University of Pernambuco (UFPE), Avenida Dos Economistas, S/N, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco Cep: 50.740-590, Brazil

² Department of Chemical Engineering, Merrill Engineering, University of Utah, 50 Central Campus Dr84112, Salt Lake City, UT, USA

ANEXOS

ANEXO A

Tabela A.1 – Número mais provável (NMP) e intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade, para diversas combinações de tubos positivos em série de três tubos.

Combinação de tubos +	NMP/g ou ml	Intervalo de confiança (95%)		Combinação de tubos +	NMP/g ou ml	Intervalo de confiança (95%)	
		Mínimo	Máximo			Mínimo	Máximo
0-0-0	<3,0	-	9,5	2-2-0	21	4,5	42
0-0-1	3,0	0,15	9,6	2-2-1	28	8,7	94
0-1-0	3,0	0,15	11	2-2-2	35	8,7	94
0-1-1	6,1	1,2	18	2-3-0	29	8,7	94
0-2-0	6,2	1,2	18	2-3-1	36	8,7	94
0-3-0	9,4	3,6	38	3-0-0	23	4,6	94
1-0-0	3,6	0,17	18	3-0-1	38	8,7	110
1-0-1	7,2	1,3	18	3-0-2	64	17	180
1-0-2	11	3,6	38	3-1-0	43	9	180
1-1-0	7,4	1,3	20	3-1-1	75	17	200
1-1-1	11	3,6	38	3-1-2	120	37	420
1-2-0	11	3,6	42	3-1-3	160	40	420
1-2-1	15	4,5	42	3-2-0	93	18	420
1-3-0	16	4,5	42	3-2-1	150	37	420
2-0-0	9,2	1,4	38	3-2-2	210	40	430
2-0-1	14	3,6	42	3-2-3	290	90	1.000
2-0-2	20	4,5	42	3-3-0	240	42	1.000
2-1-0	15	3,7	42	3-3-1	460	90	2.000
2-1-1	20	4,5	42	3-3-2	1.100	180	4.100
2-1-2	27	8,7	94	3-3-3	>1.100	420	-

Fonte: *Bacteriological Analytical Manual* (Blodgett, 2010).