



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE MATERIAIS

JOÃO GABRIEL MACHADO DE AVELLAR

**BIODEGRADAÇÃO DE POLI(TEREFTALATO DE ETILENO) ADITIVADO COM
PRÓ-DEGRADANTE ORGÂNICO EM CONDIÇÕES ANAERÓBIAS.**

Recife
2024

JOÃO GABRIEL MACHADO DE AVELLAR

**BIODEGRADAÇÃO DE POLI(TEREFTALATO DE ETILENO) ADITIVADO COM
PRÓ-DEGRADANTE ORGÂNICO EM CONDIÇÕES ANAERÓBIAS.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências dos Materiais. Área de concentração: Materiais Não Metálicos.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Glória Maria Vinhas

Orientadora externa:

Prof^a. Dr^a. Maria de Los Angeles Perez
Fernandez Palha

Coorientadora: Yeda Medeiro Bastos de
Almeida

Recife

2024

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Avellar, Joao Gabriel Machado de.

Biodegradação de poli(tereftalato de etileno) aditivado com pró-degradante orgânico em condições anaeróbias / Joao Gabriel Machado de Avellar. - Recife, 2024.

90f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais, 2024.

Orientação: Glória Maria Vinhas.

Coorientação: Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha.

Coorientação: Yeda Medeiros Bastos de Almeida.

1. Polímeros biodegradáveis; 2. PET-ad; 3. Lodo. I. Vinhas, Glória Maria. II. Palha, Maria de Los Angeles Perez Fernandez. III. Almeida, Yeda Medeiros Bastos de. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

JOÃO GABRIEL MACHADO DE AVELLAR

**BIODEGRADAÇÃO DE POLI(TEREFTALATO DE ETILENO) ADITIVADO COM
PRÓ-DEGRADANTE ORGÂNICO EM CONDIÇÕES ANAERÓBIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 29/07/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Glória Maria Vinhas (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Severino Alves Júnior (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Sergio Peres Ramos da Silva (Examinador Externo)
Universidade de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelo apoio e suporte que ofereceram
sempre.

AGRADECIMENTOS

A meus pais, Cristiane Machado Nascimento e Flávio Saulo de Avellar, que sempre estiveram dispostos a contribuir para o meu crescimento acadêmico.

Às orientadoras Prof^ª. Dr^ª. Glória Maria Vinhas e Prof^ª. Dr^ª. Maria de Los Angeles Perez F. Palha, por todas as oportunidades, os ensinamentos, instruções e suporte na elaboração deste trabalho.

Ao professor Jorge Vinícius Fernandes Lima Cavalcanti e a professora Yeda Medeiros Bastos de Almeida, pela disponibilidade, instruções e apoio.

A Gisely Alves e a Conceição Andrade, pelo suporte, disponibilidade, ensinamentos e descontrações no laboratório.

A Mariana Alves Henrique e Ivo Diego de Lima Silva, pela colaboração e disponibilidade em toda a pesquisa.

Aos estagiários e alunos de iniciação científica, Andrews Messias Barbosa Santos, Petros Gabriel Fernandes Severo da Silva, Matheus de Paula Tenório, Vítor Pereira de Souza Brito, Emerson Fernandes Silva e Ana Luisa Silva de Sena, que auxiliaram nas análises laboratoriais.

Ao meu amigo Renan Rogério Oliveira de Souza pelo incentivo e suporte na realização da pesquisa, sempre disposto a ajudar.

Aos demais amigos e colegas que me apoiaram e ajudaram a desopilar.

A todos os professores e técnicos que contribuíram para minha formação.

À Universidade Federal de Pernambuco e em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais e ao Departamento de Engenharia Química que forneceu os meios materiais para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

EPÍGRAFE

“Nada é mais prático que uma boa teoria.”

Kurt Lewin

RESUMO

Os plásticos de uso único se tornaram uma parte significativa da economia global, com uma produção anual de 82 milhões de toneladas, o que representa quase um quinto do mercado global desse material. Alternativas para reduzir a durabilidade e a resistência à degradação desses polímeros são exploradas pela comunidade científica. Todavia, ainda há necessidade estudos mais aprofundados acerca da eficácia da biodegradação dos plásticos comercializáveis. O objetivo do estudo foi avaliar a biodegradabilidade, em condições anaeróbicas, do poli(tereftalato de etileno) aditivado (PET-ad), sendo esse material o filme comercializado por um empresa produtora de embalagens. Os filmes poliméricos foram submersos em lodo de estações de tratamento de esgoto, colocados em biodigestores. A quantificação da biodegradação foi feita por meio da avaliação do biogás por cromatografia gasosa. Em termos de caracterização dos filmes, eles foram submetidos à variação de massa, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Termogravimetria (TGA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Além disso, foram realizadas análises dos microrganismos presentes no meio. Os resultados exibiram variações de massa atribuídas a presença de componentes do lodo na superfície dos filmes, corroborados pelo MEV, sendo indícios do início da biodegradação. As propriedades térmicas não apresentaram alterações que indicassem degradação, com temperatura de fusão de 244 °C e temperatura de degradação entre 400 e 450 °C. Houve pequena variação de ligações químicas na superfície dos filmes, correspondendo ao início do processo de biodegradação. Constatou-se um aumento inicial na população anaeróbica (pico de 10^9 NMP/ml) e um declínio nos organismos aeróbicos (pico de 10^{23} NMP/ml); ao final da pesquisa, os microrganismos ainda permaneceram em concentrações significantes – 10^6 e 10^9 NMP/ml, anaeróbios e aeróbios, respectivamente –, exibindo potencial para se desenvolverem após condições adversas. A produção dos gases metano (60 % v/v) e dióxido de carbono (30 % v/v) atingiram seu pico no final do primeiro mês e diminuíram em sequência. Aos dezoito meses, não houve diferença expressiva na biodegradação entre os filmes de controle negativo (PET) e os filmes PET-ad.

Palavras-chave: polímeros biodegradáveis; PET-ad; lodo; digestão anaeróbia.

ABSTRACT

Single-use plastics have become a significant part of the global economy, with an annual production of 82 million metric tons, which represents almost a fifth of the global plastics market. Alternatives to reduce the durability and resistance to degradation of these materials are explored by the scientific community. However, it is still a need for further studies about the effectiveness of the biodegradation of marketable plastics. The purpose of the study was to evaluate the biodegradability, under anaerobic conditions, of additivated poly(ethylene terephthalate) (PET-ad), and this material is the film commercialized by a packaging company. The polymeric films were submerged in sludge from Sewage Treatment Plants, placed in digesters. The quantification of biodegradation was done through the evaluation of the biogas by gas chromatography. In terms of film characterizations, they were submitted to Scanning Electron Microscopy (SEM), Thermogravimetry (TG), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Furthermore, analyses of the microorganisms present in the medium were performed. The results indicated weight differences attributed to the presence of sludge components on the surface of the films, corroborated by SEM analysis, being evidence of the early stage of biodegradation. The thermal properties did not show any changes that would indicate degradation, with melting temperature of 244 °C and degradation temperature between 400 and 450 °C. There was a slight variation in the chemical bonds on films' surfaces, indicating the beginning of the biodegradation process. Furthermore, there was an increase in the anaerobic population (10^9 NMP/ml) and a decline in aerobic organisms (10^{23} NMP/ml); at the end of the research, the microorganisms still had a considerable concentration – 10^6 and 10^9 NMP/ml, anaerobic and aerobic, respectively –, demonstrating potential to grow after unfavorable conditions. The production of methane (60 % v/v) and carbon dioxide (30 % v/v) gases peaked at the end of the first month and decreased subsequently. At eighteen months, there was no difference in biodegradation between the negative control films (PET) and the PET-ad films.

Keywords: biodegradable polymers; PET-ad; sludge; anaerobic digestion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Conformação da molécula de PET na fase cristalina e na célula unitária..	19
Figura 2 –	Representação esquemática do mecanismo de polimerização do PET.....	20
Figura 3 –	Reações de Norrish I e II em um grupo cetona.....	25
Figura 4 –	Etapas de formação de biofilmes por (a) bactérias e (b) fungos.....	27
Figura 5 –	Rotas de hidrólise enzimática/oxidação da despolimerização.....	28
Figura 6 –	Representação do sítio catalítico da despolimerase e seu mecanismo de ação.....	29
Figura 7 –	– Caminho metabólico do PET pela <i>Ideonella sakaiensis</i>	30
Figura 8 –	Esquematização dos processos presentes na digestão anaeróbia.....	38
Figura 9 –	Fluxograma metodológico da presente pesquisa.....	42
Figura 10 –	Filmes de a) PET e b) PET aditivado para estudo sobrepostos ao logo da UFPE.....	42
Figura 11 –	Biodigestor preparado para o estudo.....	43
Figura 12 –	Variação de massa dos filmes de PET e PET-ad.....	52
Figura 13 –	Fotografias dos filmes de PET após secagem.....	53
Figura 14 –	Fotografias dos filmes de PET-ad após secagem.....	54
Figura 15 –	MEV das superfícies do PET no mês zero (superiores) e mês dezoito (inferiores)	55
Figura 16 –	MEV das superfícies do PET-ad no mês zero (superiores) e mês dezoito (inferiores)	56
Figura 17 –	Curvas termogravimétricas e derivadas dos filmes de PET e PET-ad.....	57
Figura 18 –	Curvas de fluxo de calor em função do tempo obtidas pela calorimetria exploratória diferencial.....	59
Figura 19 –	Curvas de fluxo de calor em função da temperatura no resfriamento.....	60
Figura 20 –	Curvas de fluxo de calor em função da temperatura no segundo aquecimento.....	60
Figura 21 –	Espectros de PET e PET-ad obtidos pela Espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier, em diferentes meses.....	62
Figura 22 –	Índices de carbonila, hidroxila e éster dos filmes de PET no decorrer do tempo.....	63
Figura 23 –	Índices de carbonila, hidroxila e éster dos filmes de PET-ad no decorrer do tempo.....	64

Figura 24 – Evolução das bactérias Aeróbias Heterotróficas e Produtoras de Ácido...	65
Figura 25 – Evolução das bactérias Anaeróbias Heterotróficas e Redutoras de Sulfato.....	66
Figura 26 – Evolução de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e fungos filamentosos.....	66
Figura 27 – Fotografias dos fungos filamentosos, à esquerda tem-se as diluições 0 e -1 e à direita, as diluições -2 e -3.....	70
Figura 28 – Quantidade de gás metano produzida por mês.....	71
Figura 29 – Quantidade de gás dióxido de carbono produzida por mês.....	71
Figura 30 – Biodegradação dos filmes de PET e PET-ad.....	73
Figura 31 – Valores de número mais provável de microrganismos aeróbios.....	89
Figura 32 – Valores de número mais provável de microrganismos anaeróbios.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Requerimentos para o reprocessamento de escamas de PET pós consumo.....	23
Tabela 2 –	Enzimas microbianas envolvidas na biodegradação do PET.....	32
Tabela 3 –	Lista de normas padronizadas publicadas para biodegradação.....	35
Tabela 4 –	Pró-degradantes a base de metais de transição comercializáveis.....	38
Tabela 5 –	Identificação dos sistemas de biodegradação.....	41
Tabela 6 –	Composição da água salina peptonada.....	46
Tabela 7 –	Composição da solução redutora.....	46
Tabela 8 –	Composição do meio Caldo Nutriente.....	47
Tabela 9 –	Composição do meio Asparagina.....	48
Tabela 10 –	Composição do meio Acetamida.....	48
Tabela 11 –	Composição do meio Caldo Vermelho Fenol.....	49
Tabela 12 –	Composição do meio Postgate E Modificado.....	50
Tabela 13 –	Parâmetros obtidos na análise termogravimétrica.....	58
Tabela 14 –	Parâmetros obtidos na calorimetria exploratória diferencial para amostras de PET.....	61
Tabela 15 –	Parâmetros obtidos na calorimetria exploratória diferencial para amostras de PET-ad.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ASTM	<i>American Standart for Testing Methods</i>
AS	<i>Standards Australia</i>
BS	<i>British Standards</i>
BHET	Bis-(hidroxietil) Tereftalato
CEN	<i>European Committee for Standardization</i>
DIN	<i>German Institute for Standardization</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
JIS	<i>Japanese Standards Association</i>
MHET	Mono-(2-hidroxietil) Tereftálico
PET	Poli(tereftalato de etileno)
rPET	Poli(tereftalato de etileno) reciclado

LISTA DE SIMBOLOS

T_f	Temperatura de fusão (°C)
T_C	Temperatura de cristalização (°C)
X_C	Grau de cristalinidade (%)
ΔH_f	Entalpia de fusão (J/g)
ΔH_c	Entalpia de cristalização (J/g)
$T_{\maxdeg}$	Temperatura de máxima degradação (°C)
T_{endset}	Temperatura de fim da degradação térmica (°C)
T_{onset}	Temperatura de início da degradação térmica (°C)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	OBJETIVO GERAL.....	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1	POLI(ETILENO TEREFTALATO).....	18
2.1.1	Estrutura, síntese, propriedade e aplicações.....	18
2.1.2	Reciclagem.....	21
2.2	BIODEGRADAÇÃO.....	24
2.2.1	Fatores abióticos.....	24
2.2.1.1	Estresse mecânico.....	25
2.2.1.2	Fotodegradação.....	25
2.2.1.3	Termodegradação.....	26
2.2.1.4	Degradação química.....	26
2.2.2	Fatores bióticos.....	26
2.2.2.1	Biodeterioração.....	26
2.2.2.2	Biofragmentação.....	28
2.2.2.3	Assimilação.....	30
2.2.2.4	Mineralização.....	31
2.2.3	Enzimas e microrganismos.....	31
2.2.4	Identificação da biodegradação.....	34
2.3	ESTRATÉGIAS PARA APRIMORAR A BIODEGRADAÇÃO.....	36
2.3.1	Abordagem enzimática na biodegradação do PET.....	36
2.3.2	Abordagem da biodegradação do PET.....	37
2.4	DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	39
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
3.1	FILMES.....	42
3.2	PREPARAÇÃO DOS BIODIGESTORES.....	43
3.3	CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES.....	44
3.3.1	Variação de massa.....	44
3.3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	44
3.3.3	Termogravimetria.....	44
3.3.4	Calorimetria Exploratória Diferencial.....	45

3.3.5	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier.....	45
3.4	MICRORGANISMOS PRESENTES NO MEIO.....	45
3.4.1	Soluções de diluição.....	46
3.4.2	Bactérias Aeróbias Heterotróficas.....	47
3.4.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Planctônicas.....	47
3.4.4	Bactérias Produtoras de Ácidos.....	49
3.4.5	Bactérias Anaeróbias Heterotróficas.....	49
3.4.6	Bactérias Redutoras de Sulfato.....	50
3.4.7	Fungos Filamentosos.....	51
3.5	PRODUÇÃO DE BIOGÁS.....	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1	VARIAÇÃO DE MASSA.....	52
4.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	54
4.3	TERMOGRAVIMETRIA.....	57
4.4	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	59
4.5	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	62
4.6	AVALIAÇÃO DOS MICRORGANISMOS PRESENTES NO MEIO.....	65
4.7	PRODUÇÃO DE BIOGÁS.....	71
5	CONCLUSÃO.....	75
6	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	77
	REFERENCIAS.....	78
	ANEXO A – VALORES DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE MICRORGANISMOS AERÓBIOS.....	89
	ANEXO B – VALORES DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS.....	90

1 INTRODUÇÃO

Documentadamente, a capacidade de uma sociedade de produzir e manipular materiais possui relação estreita com o desenvolvimento e evolução da humanidade, de tal forma que civilizações foram identificadas conforme os materiais mais relevantes, como a Idade da Pedra, Idade do Bronze e Idade do Ferro (Callister Jr.; Soares, 2008). Podem-se classificar os dias atuais como a Era dos Polímeros, em virtude de sua presença global em setores essenciais, como no automotivo, em construção, indústrias têxteis, embalagens e equipamentos elétricos e eletrônicos (Siracusa; Blanco, 2020).

Diante da demasiada utilização de materiais plásticos, enfatiza-se os de uso único, com vida útil extremamente curta e englobando cerca de um quinto da produção mundial de plástico, equivalente a 82 milhões de toneladas (Kushwaha *et al.*, 2023). Dentre eles, 90% são considerados convencionais, a base de petróleo, enquanto os restantes consistem em polímeros verdes e biopolímeros (Siracusa; Blanco, 2020).

Destaca-se o poli(tereftalato de etileno) (PET), como um dos plásticos de origem fóssil mais utilizados, principalmente devido às suas propriedades desejadas, como leveza, resistência ao impacto, alta transparência e impermeabilidade. Em anos recentes, a produção anual desse polímero atingiu aproximadamente 30 milhões de toneladas, resultando em um elevado acúmulo de resíduos plásticos (Benyathiar *et al.*, 2022).

A despeito da elevada produção, a destinação desses afasta-se do ideal, tendo em vista que cerca de 40 % são levados a aterros sanitários, 25 % são incinerados, 19 % são descartados imprópriamente e apenas 16 % são reciclados. Já no Brasil, apenas 1,28 % dos resíduos são reciclados, enquanto a grande parte é destinada a aterros sanitários ou descartados de forma irregular. Ademais, a lenta degradação do PET – que pode levar centenas de anos – contribui para maiores acúmulos na natureza, o que implica em impactos negativos para os seres vivos, em toda a cadeia alimentar. A longo prazo, pode haver a formação de microplásticos, cujos efeitos nos sistemas ecológicos e na saúde ainda requerem extensivos estudos (Soong; Sobktowicz; Xie, 2022).

A biodegradação desse plástico é um processo desejável, tendo em vista a atoxicidade dos subprodutos gerados (Janczak *et al.*, 2020). Contudo, o material deve sofrer a ação de mecanismos abióticos para reduzir a massa molar das cadeias poliméricas, a fim de viabilizar a ação dos microrganismos. Em razão do mencionado, almeja-se buscas por mecanismos para

promover a degradação e incorporação dos microrganismos nos polímeros (Ruggero; Gori; Lubello, 2019).

Uma alternativa para ensinar a biodegradação e mitigar tais impactos adversos advém de aditivos pró-degradantes incorporados em polímeros. Tais compostos são capazes de facilitar a ação dos seres com habilidades de utilizar o carbono presente nas cadeias como fonte energética (Ammala *et al.*, 2011; Rabello, 2000). Os aditivos podem agir de diversas formas, catalisando a decomposição de compostos em radicais livres, facilitando a foto ou termodegradação, ou atraindo microrganismos para aderir ao material (Ammala *et al.*, 2011).

Patentes a respeito dos aditivos pró-degradantes vêm sendo criadas desde 1940, com a utilização de compostos fotossensíveis. Em 1970 houve a incorporação de complexos de metais de transição, gerando maior eficiência. Tecnologias mais recentes abordam uma maior variedade de metais junto com constituintes biodegradáveis (Sato, 2015; Ammala *et al.*, 2011).

Há diversas marcas comerciais que viabilizam, de fato, a biodegradação, enquanto algumas promovem a oxidegradação, que consiste em reduzir o tamanho das cadeias poliméricas, facilitando a formação dos prejudiciais microplásticos. Ante o exposto, é imprescindível pesquisas a respeito dos aditivos disponíveis no mercado (Sato, 2015).

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a evolução da biodegradação de polímero comercial (denominado pelo autor de PET-ad) em lodo, proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), em regime anaeróbio.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar os principais grupos de microrganismos presentes e a produção de biogás.
- Caracterizar os filmes através da variação de massa, de técnicas de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, termogravimétricas e de calorimetria exploratória diferencial.
- Preparar os sistemas de biodigestores, compostos dos filmes padronizados e do lodo.
- Quantificar os microrganismos e a produção de biogás dos biodigestores mensalmente.
- Caracterizar os filmes após exposição ao lodo, mensalmente, com as análises físico-químicas descritas anteriormente.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nesta seção, discorre-se sobre o polímero estudado, o processo de biodegradação, possíveis aditivos que podem ser incorporados na estrutura polimérica e a digestão anaeróbia.

2.1 POLI(ETILENO TEREFTALATO)

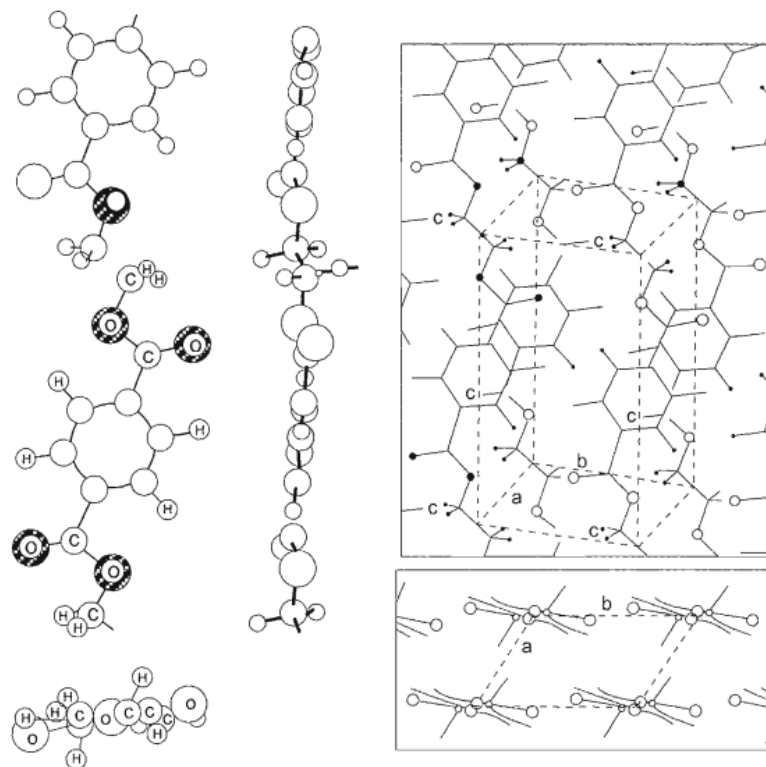
O PET é um polímero termoplástico, de origem fóssil, amplamente empregado mundialmente, reciclável e não biodegradável (Nisticò, 2020). A sua estrutura, o processo de síntese, propriedades, aplicações e aspectos acerca da reciclagem e descarte são discutidos em sequência.

2.1.1 Estrutura, síntese, propriedade e aplicações

A estrutura do PET é formada por uma fração alifática e outra aromática, esta última que confere uma maior estabilidade à molécula, promovida pela ressonância do anel aromático. A depender das condições de processamento, as cadeias poliméricas irão se dispor de diferentes maneiras, permitindo a obtenção de diferentes propriedades, estas que estão relacionadas a características do material, tais como a cristalinidade, orientação molecular e tensões internas geradas durante a fabricação (Maria; Rabello, 2008).

A despeito do PET ser inerentemente cristalizável, o processo de cristalização mostra-se lento, pois o alto volume dos grupos aromáticos e sua baixa mobilidade são fatores predominantes para o grau de cristalização, em detrimento da regularidade e polaridade da molécula. Isto posto, este polímero usualmente é comercializado com grau de cristalinidade inferior a 50%. No tocante a região cristalina, a célula unitária é triclinica e, a fim de permitir um melhor empacotamento, o grupamento ácido tereftálico realiza um diminuto ângulo com o eixo da cadeia polimérica, dada a Figura 1 (Canevaloro Jr., 2006).

Figura 1 – Conformação da molécula de PET na fase cristalina e na célula unitária.

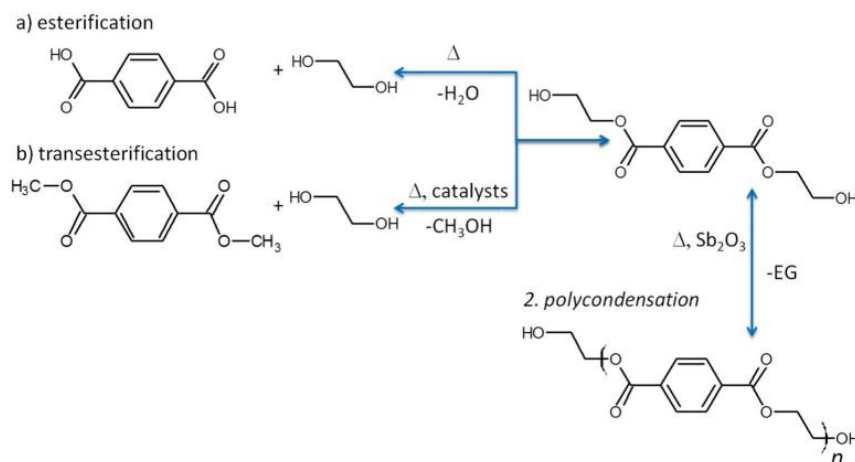


Fonte: Canevaloro Jr. (2006).

A síntese tradicional do PET ocorre a partir das refinarias de petróleo, através da reação entre o etilenoglicol e o ácido tereftálico. O etilenoglicol pode ser proveniente da oxidação do etileno, com a utilização de catalisador (ex.: Ag), formando óxido de etileno; posteriormente ocorre a hidrólise desse componente em meio ácido, resultando no etilenoglicol. O ácido tereftálico pode ser obtido a partir da oxidação do para-xileno em meio de ácido acético, na presença de catalisador (ex.: Co-Mn-Br) (Djapovic *et al.*, 2021; Nisticò, 2020).

Após a obtenção dos monômeros, ocorre a pré-polimerização seguida da policondensação. O processo pode ser uma esterificação, caso o monômero utilizado seja o ácido tereftálico, ou uma transesterificação, se o monômero em questão for o tereftalato de dimetila, conforme ilustrado na Figura 2 (El-Toufaili, 2006).

Figura 2 – Representação esquemática do mecanismo de polimerização do PET.



Fonte: Nisticò (2020).

No processo mais usual, a esterificação, emprega-se pressões entre 3 e 6 bar e temperaturas em torno de 250 °C, ademais, não requer a adição de catalisadores, haja vista a ocorrência da autocatálise entre os grupos funcionais carboxílicos e álcoois. Já a transesterificação requer a formação de um pré-polímero (tereftalato de bis-hidroxi etila) com emprego de catalisador a base de antimônio e remoção do subproduto metanol; seguida da policondensação a 300 °C, sob vácuo (Nisticò, 2020).

Todavia, o PET obtido por esse processo não possui as propriedades desejáveis para determinadas aplicações, como na indústria de embalagens. Os *pellets* amorfos devem ser processados por uma etapa de polimerização em estado sólido, que é realizada ao aquecer a uma temperatura próxima ao ponto de amolecimento, na presença de um gás inerte (Nisticò, 2020; Djapovic *et al.*, 2021; El-Toufaily, 2006).

A elevada demanda deste material é justificada por sua vasta gama de propriedades, conferindo diversas vias de aplicações. Pode-se destacar sua transparência ou translucidez (a depender do grau de cristalinidade), seu baixo peso molecular, possui propriedades de barreira a gases e umidade, é quimicamente estável, robusto, relativamente rígido, resistente a impactos mecânicos e capaz de formar blendas e copolímeros (Canevarolo Jr., 2006).

A respeito das propriedades térmicas, possui temperatura de transição vítrea entre 67 e 80 °C, a depender da orientação das cadeias poliméricas e da cristalinidade; a temperatura de fusão pode ultrapassar 250 °C, tendo em vista a presença dos anéis aromáticos e grupos polares ao longo da cadeia. Esses fatores permitem que o material seja rígido em temperatura ambiente (Lima *et al.*, 2020; Bannach *et al.*, 2011).

A orientação das cadeias, grau de cristalinidade e a forma estão estritamente relacionados com as propriedades mecânicas. Dentre os polímeros, o PET possui uma elevada rigidez, destacando-se o elevado módulo de Young, possui resistência ao “*stress cracking*” e boa ductilidade, que é desejável para o processamento. Quando submetido a trações, a orientação das macromoléculas permite que se formem ligações – entre os grupos aromáticos e ligações de hidrogênio entre os grupos ésteres, conferindo maior resistência à tensão aplicada (Nisticò, 2020; Ji, 2013).

Em geral, a produção destina-se para fibras sintéticas (60%), embalagens (30%) e para uso industrial (10%). Os filamentos de poliéster são empregados em roupas, móveis, cordas de pneus e em têxtil técnico; fibras descontínuas são utilizadas em tecidos de malha e de trama para roupas e móveis; os enchimentos de fibra podem ser usados para preencher almofadas e travesseiros. As embalagens de PET estão persistentemente presentes em bebidas, desde água até bebidas carbonatadas. Os filmes são aplicados em revestimentos, laminações e metalizações à vácuo. Por fim, ainda podem ser empregados em ramos elétricos, eletrônicos e similares (Ji, 2013).

No país, o descarte dos plásticos ocorre majoritariamente em aterros sanitários, o que reflete em acúmulo excessivo, tendo em vista que as condições anaeróbias em grande parte dos aterros reduzem ainda mais a taxa de degradação. Ocorre a contaminação por metais pesados e gases que contribuem para o efeito estufa, poluição de águas subterrâneas, torna o solo infértil e necessita de vasto espaço (Anuar *et al.*, 2022). A incineração reduz esse acúmulo, todavia ocasiona a liberação de componentes tóxicos, como amônia, ácidos orgânicos corrosivos, furanos, dióxido de enxofre, mercúrio, bifenóis, sendo produtos de difícil tratamento, além de requerer elevadas temperaturas e pressões (Abdel-Shafy; Mansour, 2018; Cleary, 2014).

2.1.2 Reciclagem

De acordo com a simbologia da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) para reciclagem, os produtos compostos por PET possuem a identificação “1”. O PET reciclado é denominado de “rPET” e, devido a degradação e contaminantes, há alterações em sua estrutura, resultando em perda de propriedades e, consequentemente, limitando as possíveis aplicações (Singh; Bedi; Kaith, 2021).

A conversão dos resíduos em outros materiais reusáveis é feita por via mecânica, química ou biológica, podendo ser classificada em primária, secundária, terciária ou quaternária (Romão *et al.*, 2009).

A reciclagem mecânica é o método mais comum e engloba as classificações primária e secundária, na primeira utilizando-se polímeros pré-consumo, enquanto na segunda emprega-se polímeros pós-consumo. Não há alteração na estrutura básica do material, possui um bom custo/benefício e é energeticamente eficiente, contudo, é limitado quanto a qualidade e quantidade de material coletado, além de estar sujeito a diversos contaminantes (Singh, Bedi e Kaith, 2021; Romão *et al.*, 2009).

O processo inicia-se com a coleta e trituração dos resíduos de PET em pequenos tamanhos, seguido da lavagem, separação dos contaminantes e derretimento para obtenção de uma resina fundida. Por fim, são colocados nos moldes apropriados para cada tipo de produto, como garrafas, fibras ou filmes (Joseph *et al.*, 2024; Samak *et al.*, 2020; Awaja; Pavel, 2005).

No reprocessamento, para melhorar a qualidade do produto, é desejável minimizar a quantidade de contaminantes presentes nos resíduos, considerando que são as principais causas da deterioração das propriedades físicas e químicas. Tais contaminantes podem ser ácidos, oriundos da degradação de polímeros como o acetato de polivinila ou o policloreto de vinila (PVC), sendo capazes de catalisar reações de cisão de cadeias; água, reduzindo a massa molecular através de reações de hidrólises; contaminantes coloridos, como tintas ou corantes; acetaldeído, proveniente da degradação do próprio PET; ou restos de substâncias que eram armazenadas por recipientes de PET, como pesticidas, detergentes, combustíveis (Awaja; Pavel, 2005). A Tabela 1 indica os requerimentos mínimos de concentração desses contaminantes para o reprocessamento.

Tabela 1 – Requerimentos para o reprocessamento de escamas de PET pós consumo.

Propriedade	Valor
Coeficiente de viscosidade	$> 0,7 \text{ dl.g}^{-1}$
Temperatura de amolecimento	$> 240 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Umidade	$< 0,02 \text{ \% (m/m)}$
Tamanho do floco	$0,4 \text{ mm} < \text{diâmetro} < 0,8 \text{ mm}$
Teor de corantes	$< 10 \text{ ppm}$
Índice de amarelamento	< 20
Teor de metais	$< 3 \text{ ppm}$
Teor de PVC	$< 50 \text{ ppm}$
Teor de poliolefinas	$< 10 \text{ ppm}$

Fonte: Adaptado de Jankauskaite, Macijauskas e Lygaitis (2008).

A reciclagem por reações químicas (terciária) pode ser realizada em meio ácido, alcalino ou neutro e requer elevados custos e consumo de energia, haja vista a necessidade de equipamentos complexos, elevadas temperaturas e catalisadores ativos. O processo consiste na despolimerização do PET, purificação e repolimerização, gerando novos produtos de alta qualidade. Apesar das duas vias citadas serem amplamente empregadas, os locais de reciclagem são propícios para disseminação de doenças e liberação de compostos orgânicos voláteis prejudiciais para os seres vivos (Joseph *et al.*, 2024; Samak *et al.*, 2020).

Dentro deste contexto, uma abordagem recente de reciclagem é a biológica (ou reciclagem enzimática), capaz de superar as limitações dos outros meios de reciclagem, reduzindo a emissão de gases, o consumo de energia e gerando produtos de melhor qualidade. O processo é realizado com a coleta e seleção dos resíduos, seguida da redução de tamanho, despolimerização enzimática, purificação e polimerização. Esse método mostra-se promissor para mitigar os impactos gerados pelos resíduos plásticos, sem haver perdas nas propriedades do material (Joseph *et al.*, 2024).

A reciclagem quaternária consiste no aproveitamento energético através da combustão dos resíduos poliméricos, convertendo-os em energia elétrica e térmica, podendo liberar subprodutos tóxicos, como dioxinas, mercúrio e furanos. Um quilograma de resíduos plásticos equivale, energeticamente, a aproximadamente dois quilogramas de óleo combustível. Difere-se da incineração comum pelo fator energético (Franchetti; Marconato, 2003).

Por outra perspectiva, com o intuito de incrementar propriedades específicas do rPET, pode-se reforçá-lo com outros materiais, formando compósitos. Esses materiais podem ser fibras (vidro, carbono, fibras naturais), melhorando propriedades mecânicas e físicas, tendo em vista a orientação longitudinal das cadeias; micropartículas (cinzas volantes, talco, carbonato de cálcio), impactando propriedades mecânicas, térmicas e elétricas; ou nanopartículas (nanotubos de carbono, nanoplaquetas de grafeno, óxidos de zinco), afetando não só propriedades mecânicas, mas também a estabilidade térmica, propriedades de barreira e tornar o compósito um retardante de chamas (Singh; Bedi; Kaith, 2021).

Ainda, é possível utilizar o rPET como reforço de outros materiais. Por exemplo, convertendo-o em fibras e reforçando borrachas naturais e epoxidadas, permitindo uma melhora na estabilidade térmica e no módulo de elasticidade, em detrimento da resistência à tração e da deformação na ruptura. Ainda, é possível formar blendas poliméricas com outros polímeros ou com o próprio PET (virgem), a exemplo de blendas de polietileno (alta ou baixa densidade)/rPET (Joseph *et al.*, 2024; Singh; Bedi; Kaith, 2021).

2.2 BIODERGRADAÇÃO

A biodegradação consiste na modificação do material a partir da ação de microrganismos, aliada à fatores ambientais. Em ordem desses seres serem capazes de consumir uma estrutura polimérica, esta deve sofrer também ação de fatores abióticos para que os microrganismos consigam se incorporar no resíduo e consumi-lo. Essas alterações nas características do polímero englobam a cristalinidade, mobilidade das cadeias, taticidade, massa molecular e grupos funcionais. Por conseguinte, o início do processo degradativo é predominado por fatores ambientais, enquanto a atividade microbiana torna-se mais relevante nas etapas seguintes (Ahmed *et al.*, 2018; Muthukumar; Veerappapillai, 2015).

2.2.1 Fatores abióticos

Os materiais descartados são expostos ao ambiente e passíveis de sofrerem ação por diversos mecanismos. Os fatores abióticos são responsáveis por enfraquecer a estrutura polimérica, podendo atuar sinergicamente ou prover as condições necessárias para que a biodegradação se inicie (Vohlídal, 2020).

2.2.1.1 Estresse mecânico

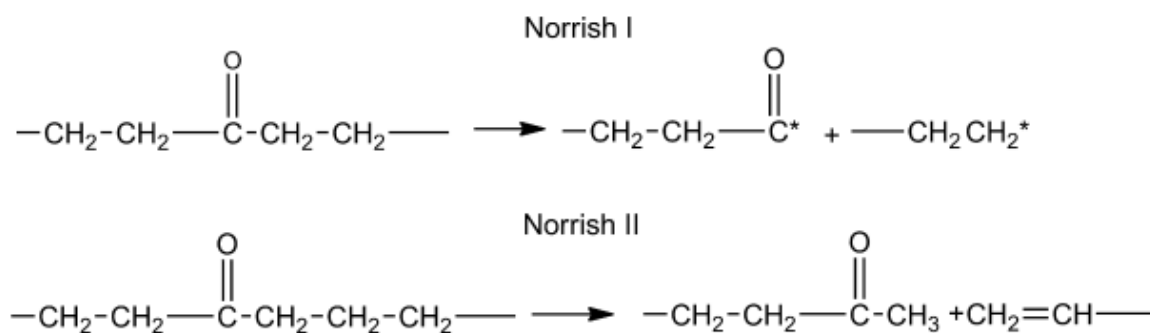
Ações mecânicas como turbulência d'água ou de ar, cargas, danos por animais ou vegetações são capazes de ocasionar forças de compressão, tração ou cisalhamento nos materiais expostos ao ambiente. Tais impactos afetam, primordialmente, em nível molecular, de modo que alterações macroscópicas podem não ser visíveis. Assim, a exposição do polímero ocasionadas pelas ações supracitadas pode atuar como iniciador ou acelerador para os demais fatores abióticos no processo de degradação (Lucas *et al.*, 2008).

2.2.1.2 Fotodegradação

A fotodegradação ocorre através das reações dos polímeros com o oxigênio presente na atmosfera, sob a presença de luz. A ação da luz ocorre através da transferência de energia presente nos fótons para as moléculas de um polímero, causando a excitação para estados instáveis, podendo ser por meio de uma fotoionização, fluorescência, luminescência ou radiação térmica. Em alguns casos, estruturas moleculares fotossensíveis (ex.: agentes pró-oxidantes) são incorporadas em polímeros convencionais, a fim de induzir a degradação após o descarte (Ammala *et al.*, 2011; Lucas *et al.*, 2008).

Entre os fatores abióticos, a fotodegradação é um dos parâmetros mais relevantes, atuando em sinergia com os demais. Esse fenômeno pode induzir reações de Norrish (Figura 3), de reticulação ou processos oxidativos. As reações de Norrish são capazes de modificar a estrutura polimérica por fotoionização (Norrish I) ou por cisão de cadeia (Norrish II) (Nakamura *et al.*, 2006).

Figura 3 – Reações de Norrish I e II em um grupo cetona.



Fonte: Ammala *et al.* (2011).

2.2.1.3 Termodegradação

A temperatura está estreitamente relacionada com a organização da estrutura molecular, destacando-se a temperatura de amolecimento e de transição vítrea, as quais afetam as frações amorfas e cristalinas, assim como a mobilidade das cadeias poliméricas. Há termoplásticos industriais que possuem polimorfismo de cristais, de forma que variações na temperatura podem permitir transição entre fases sólidas, podendo facilitar a ação de enzimas e, consequentemente, a biodegradação (Lucas *et al.*, 2008).

2.2.1.4 Degradação química

Juntamente com a fotodegradação, a transformação química é um dos fatores mais impactantes na degradação abiótica. As formas atmosféricas do oxigênio são as moléculas de maior contribuição para esse processo, formando radicais livres que resultam em cisão de cadeia e reticulação. Poluentes atmosféricos e agroquímicos também são capazes de interagir com os materiais poliméricos, alterando sua estrutura (Briassoulis, 2005).

A hidrólise evidencia-se entre as reações de degradação naqueles polímeros que possuem funções orgânicas hidrolisáveis, como éster, éter, amida, anidrido etc., e depende de fatores como umidade, temperatura, tempo e pH. As reações oxidativas e hidrolíticas são mais viáveis nos domínios amorfos, tendo em vista que regiões cristalinas dificultam a difusão de compostos, tais como O₂ e H₂O (Le Digabel; Averous, 2006; Yew *et al.*, 2006).

2.2.2 Fatores bióticos

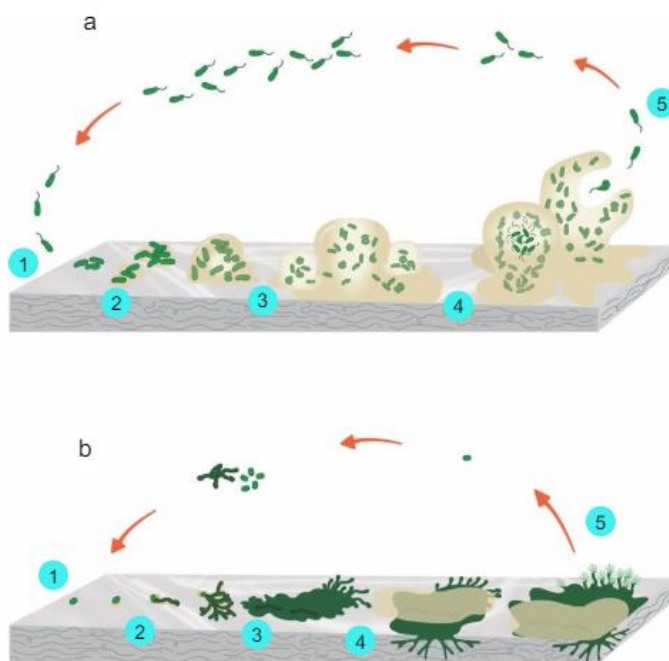
Tratando-se de microrganismos, para que a decomposição efetiva ocorra, as condições tornam-se de maior especificidade. O local de descarte, associado ao clima da região, poluentes atmosféricos, sazonalidade e as interações entre esses aspectos contribuem para a seleção dos microrganismos aptos a consumirem os resíduos poliméricos. Apesar da diversidade da microbiota, o processo de conversão das cadeias poliméricas em outros produtos segue um padrão que pode ser classificado em quatro etapas: biodeterioração, biofragmentação, assimilação e mineralização (Emadian; Onay; Demirel, 2017; Sivan, 2011).

2.2.2.1 Biodeterioração

O primeiro contato entre os microrganismos e o material a ser consumido ocorre na superfície deste último, através de vias mecânicas, químicas ou enzimáticas. Havendo disponibilidade de recursos, pode haver a formação de consórcios e estruturas organizadas –

denominadas de biofilmes, tanto por bactérias, como por fungos, protozoários, algas e grupos lichenaceae (Wallstrom *et al.*, 2005). Tais interações são facilitadas por poluentes atmosféricos, como dióxido de enxofre, hidrocarbonetos presentes no ar urbano e corantes orgânicos, tendo em vista que podem ser consumidos por microrganismos (Fay *et al.*, 2007). A Figura 4 ilustra o desenvolvimento de biofilmes por bactérias e fungos.

Figura 4 – Etapas de formação de biofilmes por (a) bactérias e (b) fungos.



Fonte: Bher *et al.* (2022).

A aderência dos microrganismos na superfície (etapas 1-2) ocorre a partir da secreção de uma matriz complexa polimérica (3-4), composta por polissacarídeos e proteínas. Essa substância infiltra-se na estrutura do material, afetando a porosidade e transferências de energia, além de protegê-los da variação da umidade, radiações e facilitar o acúmulo de substratos, o que viabiliza o crescimento microbiano (5) (Harding *et al.*, 2009; Lucas *et al.*, 2008).

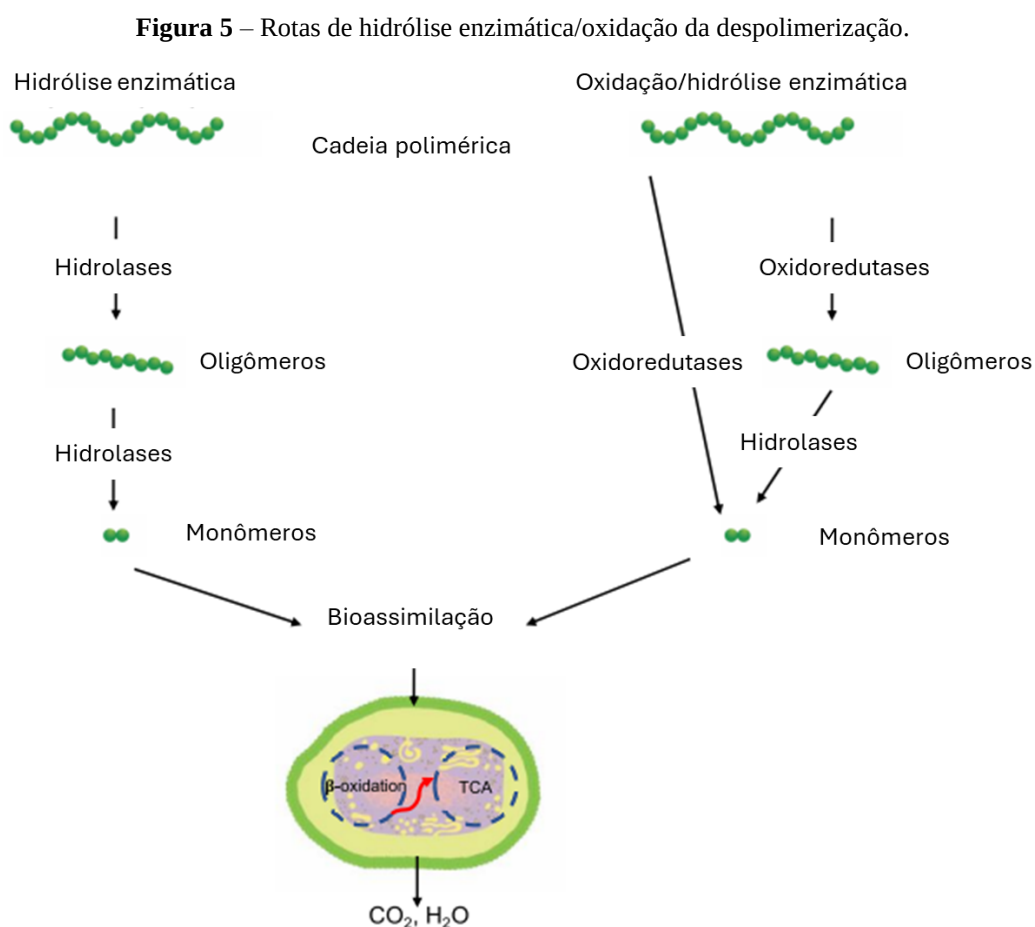
O mecanismo químico de adesão promovido por essa matriz polimérica consiste em sua atuação como surfactantes, viabilizando as trocas de substâncias entre as fases hidrofílicas e hidrofóbicas (Trinh Tan *et al.*, 2008). A diversidade de culturas também promove a biodeterioração: bactérias quimiolitotróficas consomem substratos inorgânicos para crescimento, enquanto microrganismos quimiorganotróficos utilizam compostos orgânicos e ambos os grupos excretam ácidos como subprodutos. Os ácidos liberados causam erosões na superfície do polímero, sequestram cátions presentes na matriz, possibilitam reações de

oxidação e podem ser utilizados por bactérias e fungos filamentosos para estender as estruturas dos micélios (Lucas *et al.*, 2008).

Ainda, compostos como a água, ácidos, bases, radicais livres e metais de transição são capazes de promover a clivagem de ligações químicas, ocasionando em alterações na massa molar das cadeias poliméricas e perda de fragmentos ao longo do material (Pepic *et al.*, 2008).

2.2.2.2 Biofragmentação

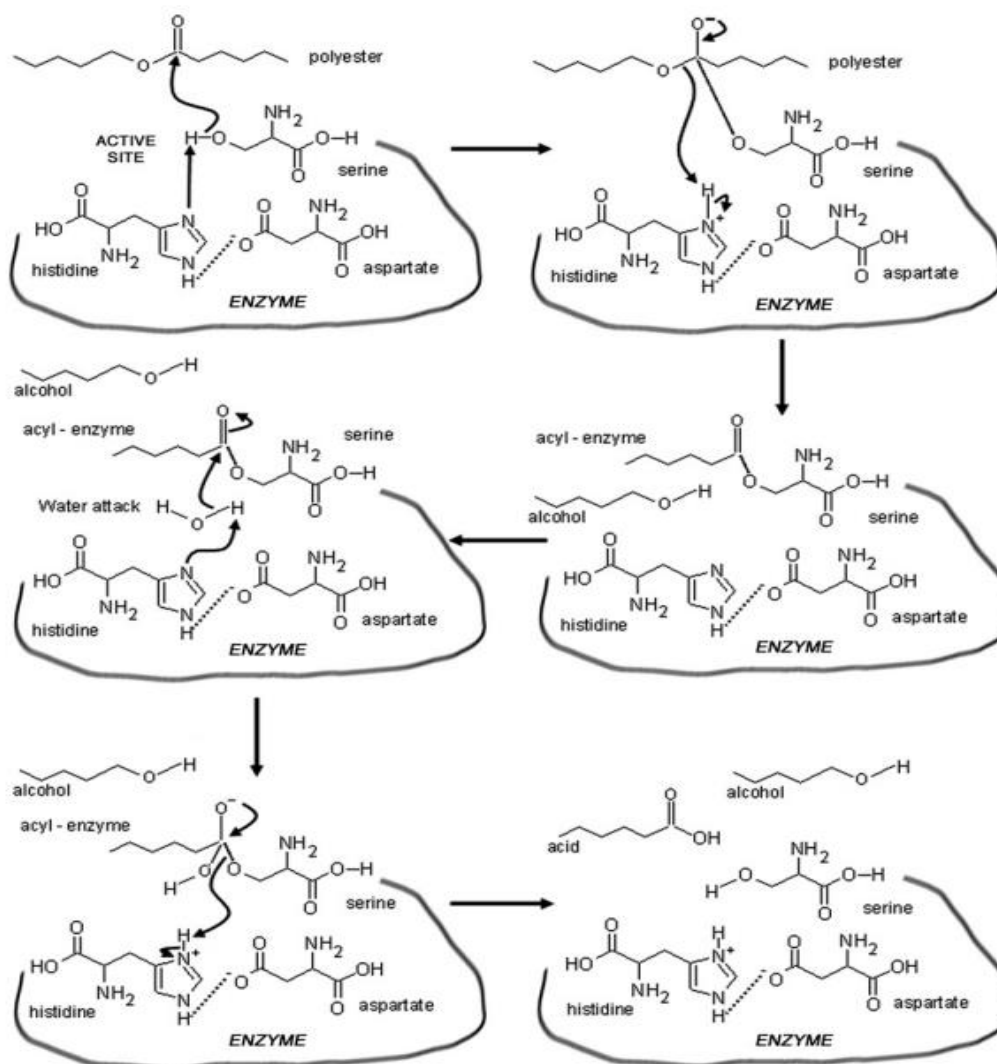
Seguida da incorporação de biofilmes no material, a biofragmentação é a etapa que ocorre a redução do peso molecular das cadeias poliméricas, a fim de poderem ser absorvidas pelas células microbianas, conforme exibido na Figura 5. Isto posto, as interações abióticas também são essenciais para esta fase (Shah *et al.*, 2008). A contribuição dos microrganismos para a redução do tamanho das cadeias carbônicas consiste na secreção de exoenzimas específicas ou na geração de radicais livres (Luo; Meng; Gu, 2017; Mateo *et al.*, 2007).



Fonte: Adaptado de Bher *et al.* (2022).

No que tange aos poliésteres, os grupos de enzimas responsáveis pela despolimerização são as esterases, específicas para interagir com ligações carboxílicas (Muller, 2006). A Figura 6 ilustra um exemplo de mecanismo de enzima pertencente às hidrolases.

Figura 6 – Representação do sítio catalítico da despolimerase e seu mecanismo de ação.



Fonte: Lucas *et al.* (2008).

A atividade da despolimerase engloba três aminoácidos: aspartato, histidina e serina. Inicialmente, uma ligação de hidrogênio é formada entre a histidina e o aspartato; a estrutura resultante orienta-se para interagir com a serina. Formada a base com os três aminoácidos, um grupo funcional da histidina desprotona a serina para produzir um grupo alcóxido intensamente nucleofílico. Este grupo é o responsável por atuar nas ligações ésteres: transformando-as em hidroxilas terminais e um complexo enzimático. Por fim, moléculas de água reagem com o

complexo formado, produzindo grupos carbonilas terminais e regenerando a enzima (Schimel; Schaeffer, 2012; Lucas *et al.*, 2008).

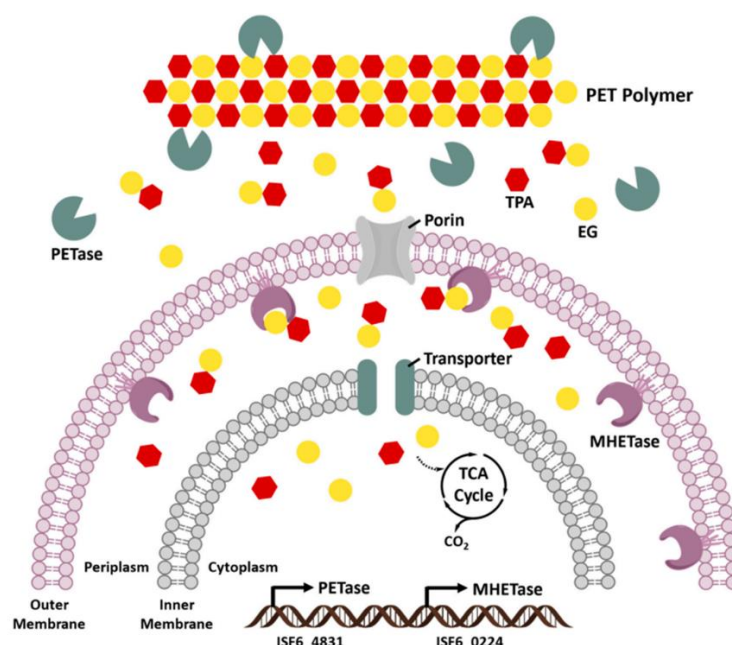
Alternativamente, em condições de difícil atuação de enzimas específicas – como em regiões cristalinas, hidrofóbicas ou com impedimentos estéricos, enzimas oxidativas podem ser capazes de interagir através de reações de oxidação. A exemplo das oxidoredutases, que atuam na perda ou recebimento de elétrons, resultando em grupos álcoois ou peróxidos, os quais são mais facilmente fragmentáveis (Pelmont, 2005).

Durante esta etapa, a crescente produção de grupos hidroxilas, carbonilas e carboxilas contribuem para uma região de maior polaridade, tornando o material com maior potencial higroscópico – favorável para ataques biológicos. Adicionalmente, há reações de oxidação catalisadas por enzimas que produzem radicais livres, acelerando a fragmentação das cadeias poliméricas (Lucas *et al.*, 2008).

2.2.2.3 Assimilação

Reduzidas as cadeias poliméricas a oligômeros ou monômeros, os microrganismos assimilam os materiais poliméricos através de suas membranas e os utilizam como fonte de energia, elétrons e elementos, permitindo o crescimento microbiano, ilustrado na Figura 7. No interior das células, as moléculas são transportadas e oxidadas através de rotas catabólicas para a produção de adenosina trifosfato (ATP) e elementos estruturais celulares (Moussard, 2006).

Figura 7 – Caminho metabólico do PET pela *Ideonella sakaiensis*.



Fonte: Adaptado de Soong, Sobkowicz e Xie. (2022).

2.2.2.4 Mineralização

A última etapa do processo de biodegradação se refere aos produtos formados dos resíduos descartados: componentes mineralizados, biomassa, gás carbônico, metano, água e, a depender da composição polimérica, outros componentes como sulfatos, sulfetos, amônia, nitritos, nitratos, fosfatos, fosfitos, cloretos e fluoretos (Bher *et al.*, 2022).

Os caminhos metabólicos diferem de acordo com os grupos microbianos e a disponibilidade de oxigênio. Os microrganismos que utilizam o oxigênio como aceptor final de elétrons (aeróbicos) são os que produzem a maior quantidade de ATP, viabilizando o crescimento celular; àqueles que realizam a oxidação completa, porém com outros elementos atuando como aceptor final de elétrons (anaeróbios), produzem menos moléculas de ATP; e os que não possuem sistema de transporte de elétrons (fermentativos), que resultam em menores quantias de energia e, conseqüentemente, menor capacidade de crescimento (Lucas *et al.*, 2008).

2.2.3 Enzimas e microrganismos

As enzimas secretadas por microrganismos capazes de promover reações com a estrutura do PET são denominadas de “PET hidrolases”. O mecanismo ocorre essencialmente devido à solubilidade em água e suas características consistem em um sítio ativo estreito e acessível a solventes, uma “fenda” ativa com macromoléculas aromáticas e uma afinidade por materiais hidrofóbicos nessa região. Os tipos de enzimas hidrolases reportadas consistem em cutinase, lipase, carboxilesterase, PETase, MHETase e esterase (Anuar *et al.*, 2022). A Tabela 2 apresenta as enzimas e sua respectiva origem microbiana à luz da atual literatura.

Tabela 2 – Enzimas microbianas envolvidas na biodegradação do PET.

Enzima	Fonte microbiana	Temperatura (°C)
BsEstB	<i>Bacillus subtilis</i> 4P3-11	40 - 45
CALB	<i>Candida antarctica</i>	50 - 60
Cut190	<i>Saccharomonospora viridis</i> AHK190	60 - 65
Cbotu_EstA	<i>Clostridium botulinum</i> ATCC3502	50
FsC	<i>Fusarium solani</i> pisi	30 - 60
HiC	<i>Humicola insolens</i>	30 - 85
IsPETase	<i>Ideonella sakaiensis</i> 201-F6	20 - 45
LCC	Bactéria não cultivada do metagenoma da LCC	50 - 70
PE-H	<i>Pseudomonas aestusnigri</i>	30
PET2	Bactéria não cultivada do metagenoma marinho	50
PET5	<i>Oleispira antarctica</i> RB-8	50
PET6	<i>Vibrio gazogenes</i>	50
PET12	<i>Polyangium brachysporum</i>	50
PmC	<i>Pseudomonas mendocina</i>	-
Tcur0390	<i>Thermomonospora curvata</i> DSM 43183	50
Tcur1278	<i>Thermomonospora curvata</i> DSM 43183	60
Tfca	<i>Thermobifida fusca</i> KW3	50 - 60
TfCut1	<i>Thermobifida fusca</i> KW3	55 - 65
TfCut2	<i>Thermobifida fusca</i> KW3	55 - 65
TfH	<i>Thermobifida fusca</i> DSM43793	55
Tha_Cut1	<i>Thermobifida alba</i> DSM43185	50
Thc_Cut1	<i>Thermobifida cellulosilytica</i>	50
Thc_Cut2	<i>Thermobifida cellulosilytica</i>	50
Thf42_Cut1	<i>Thermobifida fusca</i> DSM44342	50
Thh_Est	<i>Thermobifida halotolerans</i> DSM 44931	50

Fonte: Adaptado de Anuar *et al.* (2022).

Os sítios ativos das cutinases são compostos da tríada catalítica Ser-His-Asp, conforme descrito no exemplo da Figura 6, com a capacidade de modificar sua estrutura proteica para facilitar o acesso às cadeias do PET, além de possuir a flexibilidade de hidrolisar uma vasta gama de ligações ésteres, sendo produzidas principalmente por microrganismos saprófitos e fitopatógenos (Maurya; Bhattacharya; Khare, 2020; Gao; Pan; Lian, 2021). A bactéria

Thermobifida fusca e o fungo *Thermomyces insolens* são exemplos de microrganismos produtores dessa enzima, que é capaz de exercer atividade em até 70 °C, devido a sua elevada termoestabilidade (Babaremu *et al.*, 2022; Salam *et al.*, 2021; Carr.; Clarke; Dobson, 2020).

IsPETases possuem em sua composição a serina, asparagina e glutamina (Ser-Asn-Gln), com desdobramentos (*loops*) longos, que permitem maiores espaços para a enzima interagir com o PET. Perante as demais enzimas, a IsPETase é particularmente eficiente em baixas temperaturas. O seu sítio ativo aberto amplo com uma fenda de ligação de substrato alongada, que se subdivide em dois subsítios: no subsítio I, há o rompimento de ligações ésteres, enquanto o subsítio II fornece espaço para adesão do substrato (Taniguchi *et al.*, 2019; Joo *et al.*, 2018). A *Ideonella sakaiensis*, uma bactéria anaeróbia, é conhecida por produzir esse tipo de enzima a uma ampla faixa de temperatura e pH, além de exibir elevada atividade enzimática. A cepa 201-F6 mostrou-se capaz de crescer utilizando o PET como única fonte de carbono, tornando-as em um grande potencial para biodegradar esse polímero (Salam *et al.*, 2021; Campanale, 2020; Prata, 2020).

Outra enzima produzida pela *I. sakaiensis* é a MHETase, que atua cooperativamente com PETases. Sua estrutura é constituída de cerca de 240 resíduos de aminoácidos e utiliza a serina para executar um ataque nucleofílico no grupo funcional carbonila. A MHETase atua nos produtos gerados pela ação da IsPETase, mono(2-hidroxietil) tereftalato (MHET), convertendo-os em ácido tereftálico e etilenoglicol (Pinto *et al.*, 2021; Gao; Pan; Lian, 2021).

As lipases são formadas pela tríade catalítica Ser-His-Asp, com a serina atuando como nucleofílico, histidina como base e aspartato como ácido. São capazes de hidrolisar cadeias longas hidrofóbicas e, distintamente dos tipos enzimáticos descritos previamente, a atividade catalítica das lipases é realizada pelo mecanismo de ativação interfacial. Todavia, essa enzima requer melhoria na acessibilidade ao interior da estrutura do PET e na relação entre trajetória e orientação para formar ligações efetivas nos sítios ativos. A maior contribuição para a degradação consiste em sua influência na molhabilidade e absorção. Diversos grupos microbianos – bactérias e fungos – foram reportados como produtores de lipases, como *Candida antarctica*, *Triticum aestivum*, *Burkholderia spp.* e *Thermomyces lanuginosus* (Albayati *et al.*, 2020; Václavík *et al.*, 2016).

Carboxilesterases acomodam a mesma tríade de aminoácidos que as lipases, contudo catalisam cadeias curtas e hidrófilas e não requerem ativação interfacial. A enzima possui ampla especificidade de substrato, haja vista o seu sítio ativo aberto e a uma bolsa de ligação distinta

que permite a interação com diversos tipos de substratos (Sood, 2016). A carboxilesterase é produzida pela espécie termofílica *T. fusca* e, em 2020, descobriu-se que uma bactéria marinha mesofílica também é capaz de produzi-la (Anuar et al., 2022).

Esterases estão presentes em grande parte dos organismos vivos e também é composta pela tríade Ser-Asp-His e comumente catalisam a biossíntese de poliésteres de cadeias curtas. Os microrganismos principais relacionados à degradação do poliéster são *Bacillus subtilis*, *Thermobifida halotolerans* e *Saccharomonospora viridis* (Mizushima, 2014).

Em suma, as cutinases são as enzimas mais relevantes para a biodegradação do PET, principalmente pela vasta gama de especificidade, garantindo uma fácil acessibilidade na estrutura do PET, quando comparado com as outras enzimas citadas (Anuar et al., 2022).

2.2.4 Identificação da biodegradação

Conforme o exposto, a degradação de polímeros pode ser induzida por radiação, nível de umidade, calor e microrganismos. Os métodos mais efetivos para qualificar e quantificar consistem na aparência física, produção de biogás, massa molecular, sua distribuição e crescimento microbiano na superfície do material.

As metodologias padronizadas para avaliação desses parâmetros são desenvolvidas por diversas organizações: *American Society for testing and Materials* (ASTM), *Standards Australia* (AS), *British Standards* (BS), *European Committee for Standardization* (CEN), *German Institute for Standardization* (DIN), *International Organization for Standardization* (ISO) e *Japanese Standards Association* (JIS) (Ammala et al., 2011).

Especificando as normas direcionadas para a biodegradação, considera-se principalmente o campo de aplicação, demanda de oxigênio e a disposição final, como compostagem, solo, água marinha ou lodo. É comum a avaliação em condições ambientais aceleradas, haja vista o longo tempo de degradação dos polímeros de origem fóssil. A Tabela 3 dispõe de uma coletânea de normas a respeito da biodegradação polimérica.

Tabela 3 – Lista de normas padronizadas publicadas para biodegradação.

Norma	Descrição
AS 4736	Plástico biodegradável adequado para compostagem e outros tratamentos microbianos
ASTM D6954	Plásticos que se degradam no ambiente por meio de uma combinação de oxidação e biodegradação
ASTM D5209	Biodegradação aeróbica de materiais plásticos na presença de lodo de esgoto municipal
ASTM D5338	Biodegradação aeróbica de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem
ASTM D5511	Biodegradação anaeróbica de materiais plásticos em condições anaeróbicas com alto teor de sólidos.
ASTM D5526	Biodegradação anaeróbica de materiais plásticos em condições aceleradas de aterro sanitário
ASTM D5951	Biodegradabilidade para plásticos em resíduos sólidos para testes de toxicidade e qualidade do composto
ASTM D5988	Biodegradação aeróbica no solo de materiais plásticos ou material plástico residual após compostagem
ASTM D6002	Avaliação da compostabilidade de plásticos ambientalmente degradáveis
ASTM D6340	Biodegradação aeróbica de materiais plásticos radiomarcados em um ambiente aquoso ou de compostagem
ASTM D6400	Plásticos compostáveis
ASTM D6691	Biodegradação aeróbica de materiais plásticos no ambiente marinho por um consórcio microbiano definido
ASTM D6692	Biodegradabilidade de materiais plásticos poliméricos radiomarcados na água do mar
ASTM D7081	Plásticos biodegradáveis não flutuantes no ambiente marinho
DIN V 54900	Biodegradabilidade completa em compostagem de plásticos
EN 13432	Embalagens recuperáveis por meio de compostagem e biodegradação
EN 14045	Avaliação da desintegração de materiais de embalagem em testes práticos orientados sob condições definidas de compostagem
EN 14046	Avaliação da biodegradabilidade aeróbica de materiais de embalagem sob condições controladas de compostagem por CO ₂ liberado
EN 14047	Biodegradabilidade aeróbica final de materiais de embalagem em um meio aquoso por liberação de CO ₂
EN 14048	Biodegradabilidade aeróbica de materiais de embalagem em um meio aquoso, medição da demanda de oxigênio em um respirômetro fechado
EN 14806	Desintegração de materiais de embalagem sob compostagem
ISO 14852	Biodegradabilidade aeróbica de materiais plásticos em meio aquoso
ISO 14855	Biodegradabilidade aeróbica e desintegração de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem – evolução de CO ₂
ISO 14593	Avaliação da biodegradabilidade aeróbica final de compostos orgânicos em meio aquoso - teste de <i>headspace</i> de CO ₂
ISO 15314	Biodegradabilidade no ambiente marinho
ISO 17556	Biodegradabilidade aeróbica final no solo por meio da medição da demanda de oxigênio
ISO 20200	Desintegração de materiais plásticos sob compostagem
CEN/TR 15822	Plásticos biodegradáveis no solo– recuperação e descarte

Fonte: Adaptado de Ammala *et al.* (2011).

2.3 ESTRATÉGIAS PARA APRIMORAR A BIODERGRADAÇÃO

Mediante às adversidades supracitadas, busca-se alternativas que visam otimizar o processo de biodegradação, sobretudo de polímeros de origem fóssil. Tais alternativas enfatizam em melhorias enzimáticas e poliméricas (Kushwaha *et al.*, 2023).

2.3.1 Abordagem enzimática na biodegradação do PET

As estratégias relacionadas às enzimas presentes na biodegradação do PET consistem em modificações, cooperatividade, interações enzima-substrato e em melhoria da estabilidade desses biocatalisadores. As modificações enzimáticas visam aprimorar a atividade catalítica e estabilidade térmica, posto que as hidrolases não suportam as altas temperaturas envolvidas na bioreciclagem. Essas modificações podem ser atingidas através da engenharia de proteínas de cepas por meio de mutagênese dirigida por sítios e pela evolução orientada para o desenvolvimento de mutações (Carniel *et al.*, 2020; Samak *et al.*, 2020; Kawai; Kawabata; Oda, 2019).

A cooperatividade consiste na otimização das degradações realizadas por enzimas que atuam concomitantemente. Durante a degradação, há geração de produtos intermediários MHET e BHET, os quais diminuem a taxa de hidrolização devido à inibição competitiva entre essas moléculas e o substrato polimérico. Portanto, a remoção contínua desses metabólitos por uma membrana de ultrafiltração é uma alternativa para contornar essa competição (Barth *et al.*, 2016; Barth *et al.*, 2015).

Interações enzima-substrato estão diretamente relacionadas com o potencial da atividade enzimática. Todavia, devido à heterogeneidade bifásica do sistema (moléculas de PET e enzimas), as interações não são adequadas. As abordagens estudadas para promover melhor adsorção das enzimas na superfície do poliéster envolvem a ampliação do sítio catalítico, substituição de resíduos hidrofóbicos para diminuir o impedimento estérico e alterar a seletividade (Wei *et al.*, 2014; Acero *et al.*, 2011).

Melhorias na estabilidade, particularmente a térmica, são necessárias para tornar os grupos ésteres mais acessíveis às hidrolases, principalmente em temperaturas acima da temperatura de transição vítrea. A estabilidade térmica das hidrolases pode ser aprimorada pela substituição de resíduos ácidos que servem de sítios de ligação de íons de cálcio ou magnésio, de forma a promover a formação de pontes salinas e ligações dissulfeto (Wei *et al.*, 2022; Then *et al.*, 2015).

2.3.2 Abordagem da biodegradação do PET

As modificações também são pertinentes nos polímeros, a partir de técnicas de pré-tratamento, condições de reação, tipo de meio de reação, tipo de agitação e a incorporação de aditivos (Kushwaha *et al.*, 2023).

Pré-tratamentos visam aperfeiçoar a despolimerização a partir de uma maior acessibilidade ao domínio amorfo, através da difusão e impregnação de polióis na matriz polimérica. A utilização de radiação ultravioleta para gerar fraturas intramoleculares, reduzindo o tamanho das cadeias carbônicas, também é empregada como pré-tratamento. Ainda, a redução das dimensões das partículas de PET contribui significativamente para a biodegradação, tendo em vista quanto maior a razão área superficial/volume das partículas, maior a carga de biocatalisadores que se pode suportar (Gamerith *et al.*, 2017).

A respeito das condições de reação, diversos fatores impactam a despolimerização e são passíveis de otimização, tais como composição e concentração, agitação, carga enzimática e aditivos. O tipo do meio de reação relaciona-se com as interações entre as espécies iônicas e a estrutura proteica das enzimas, que influenciam na taxa de hidrólise. O tipo de agitação afeta a adsorção das hidrolases e, conseqüentemente, a eficiência das reações de adsorção-hidrólise-dessorção. Esse efeito mostra-se mais evidente em biorreatores agitados mecanicamente, quando comparado com uma agitação por inversão de tubos cônicos (Carniel *et al.*, 2020; Schmidt *et al.*, 2016).

Entretanto, as estratégias descritas não são suficientes para englobar a massiva produção de resíduos. Diante desse cenário, a utilização de aditivos torna-se a alternativa mais relevante para mitigar os impactos causados por aqueles. Assim, os aditivos pró-degradantes aceleram as reações degradantes do polímero, por exemplo, interagindo com o ar atmosférico e incorporando moléculas de oxigênio nas cadeias carbônicas (Ammala *et al.*, 2011).

Tais aditivos podem ser sais de metais de transição, cuja atividade implica em catalisar a decomposição de hidroperóxidos em radicais livres, em concentrações de traços. Os comuns incluem ferro, efetivamente acelerando a fotodegradação; e o cobalto e manganês, mais sensíveis a termodegradação. Destacam-se os ferrocenos – ativando a degradação promovida pela luz – e os óxidos metálicos, como o dióxido de titânio e óxido de zinco, que são capazes de absorver radiação ultravioleta (Casey *et al.*, 2006).

Com aplicação menos vasta, há os pró-degradantes não metálicos, cujo princípio consiste na presença de grupos cromóforos – moléculas capazes de absorver radiação no espectro ultravioleta. A fotodegradação é promovida por esses aditivos, particularmente por grupos carbonilas, haja vista a absorção de energia coincidir com o comprimento de onda da radiação ultravioleta. Diversas patentes exploram a capacidade desses compostos, que podem ser copolímeros de cetona, grupos oxi-hidroxi, álcoois ou ésteres insaturados, γ -pironas, β -dicetonas, poli-isobutileno, aminas ou peróxidos (Ammala *et al.*, 2011; Feldman, 2002).

Grande parcela dos aditivos pró-degradantes comerciáveis são compostos por sais metálicos na forma de carboxilatos e ditiocarbamatos, com aplicações em poliolefinas, como em sacolas de resíduos, embalagens de alimentos, fraldas e na agricultura. A Tabela 4 exibe informações gerais sobre os produtos disponíveis no mercado, compatíveis com diferentes tipos de polímeros.

Tabela 4 – Pró-degradantes a base de metais de transição comercializáveis.

Marca	Produtor	Componentes ativos	Cargas (% m/m)	Condições de degradação		Tipos de polímeros
				Sem luz	Anaeróbio	
TDPA	EPI	Estearatos de metal (Fe, Ce, Co) e ácido cítrico (Co)	2-3	Sim	Sim	PP, PE, PS
Renatura	Nor-X Industries	Estearato de ferro e combinações de estabilizantes/antioxidantes	2	Sim	Possivelmente não	PP, PE
Reverte	Wells Plastics Limites	Embalagens inibidoras de luz, pró-degradante iônico metálico e celulose micronizada	1-5	Sim	Possivelmente não	PP, PE, OS, PET, ABS
AddiFlex	Add-X Biotech	Carboxilato metálico (Fe, Mn, Cu, Co, Ni), amido, CaCO_3	10-20	Sim	Possivelmente não	PP, PE, PS
d ₂ W	Symphony Environmental	Estearatos de metal e estabilizadores (Mn)	1-3	Não aplicável	Não	PP, PE
Scott-Gilead technology	Scott-Gilead technology	Metal ditiocarbamato		Não	Não	PP, PE

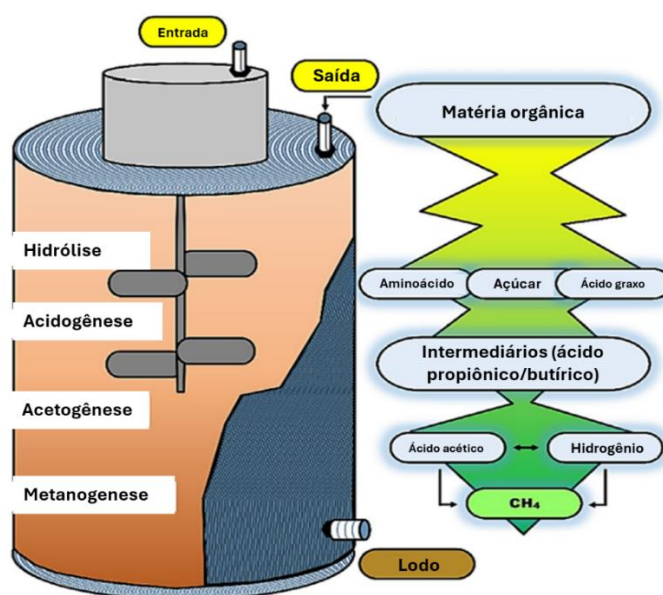
Fonte: Adaptado de Ammala *et al.* (2011).

A organização *Bio-Tech Environmental* desenvolveu aditivos orgânicos bioativos, com uma abordagem distinta dos convencionais. A oxidação degradativa é alcançada através da atração de microrganismos, feita pela incorporação de alimento na composição dos aditivos. Adicionalmente, inclui-se agentes de inchamento, para promover expansão na estrutura polimérica e, por conseguinte, viabilizando a colonização microbiana em seu interior. O processamento consiste na adição de 1 a 5 % (m/m) do aditivo na matriz do polímero, que consiste em furanona associada aos agentes de inchamento (fibras naturais ou colóides) (Lake; Adams, 2008).

2.4 DIGESTÃO ANAERÓBIA

Perante as adversidades do manejo de resíduos poliméricos, estuda-se a viabilidade de sua utilização para compor recursos no processo de digestão anaeróbia, que consiste na conversão e tratamento de biomassa e resíduos tóxicos em bioenergia (gás metano e dióxido de carbono). O processo (Figura 8) ocorre em biodigestores, onde são adicionados resíduos orgânicos sólidos (agricultura, alimentos, lodo), e requer controle de temperatura, pH, tempo de retenção, razão carbono/nitrogênio, proporção de alimentação (sólidos voláteis/matéria orgânica) e composição do substrato (Bastone *et al.*, 2018).

Figura 8 – Esquematização dos processos presentes na digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado de Rehman *et al.* (2019).

A primeira etapa, hidrólise, envolve a conversão de macromoléculas em oligômeros e monômeros simples, com auxílio de enzimas hidrolíticas – produzidas por bactérias hidrolíticas anaeróbias (predominantemente do gênero *Firmicutes* e *Bacteroidetes*). O oxigênio dissolvido no meio é consumido por grupos aeróbios facultativos, viabilizando o crescimento dos grupos estritamente anaeróbios. O tempo necessário para esta etapa ocorrer diverge conforme a complexidade dos polímeros, da liberação de subprodutos tóxicos (compostos heterocíclicos complexos) para os microrganismos envolvidos e de ácidos graxos voláteis não desejados (Rehman, 2019; Mulat; Horn, 2018).

Na acidogênese, etapa subsequente, os produtos da etapa prévia são utilizados como fonte energética para bactérias acidogênicas, resultando em ácidos orgânicos, álcool, hidrogênio e dióxido de carbono. Em primeira instância, as bactérias acidogênicas facultativas são responsáveis por esse processo, enquanto as bactérias acidogênicas estritas possuem maior relevância em estágios mais avançados da digestão anaeróbia. Os gêneros microbianos mais abundantes na acidogênese são *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Desulfovibrio*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Desulfobacter* (De Vrieze *et al.*, 2018).

Em sequência, a etapa de acetogênese consiste na conversão dos ácidos orgânicos e álcool em acetatos, a partir de dois grupos distintos de bactérias acetogênicas. As bactérias homoacetogênicas (*Syntrophomonas*) são responsáveis por reduzir o H_2 e CO_2 em acetato, enquanto as metanogênicas hidrogenotróficas transformam o hidrogênio em metano. Salienta-se a importância da pressão parcial de hidrogênio neste estágio, pois a elevada concentração de desse gás implica em impedimento das reações, ocasionando acúmulo de ácidos orgânicos, que prejudicam a produção do gás metano (Algapani *et al.*, 2018; Rohstoffe; Paterson; Kuhn, 2010).

Por fim, na última etapa, denominada de metanogênese, ocorre oxidação de H_2 e redução de CO_2 , associado com formiato, metanol e acetato para produzir CH_4 como produto final. Nesta etapa, é imprescindível a ausência de oxigênio, haja vista o caráter anaeróbio estrito das arqueas metanogênicas. Reportadamente, há conhecimento de 65 espécies de metanogênicas, podendo ser classificadas de acordo com o substrato consumido: metilotróficas, hidrogenotróficas ou acetoclásticas; em geral, dos gêneros *Methanosaeta* e *Methanosarcina* (Rehman *et al.*, 2019; Gomez Camacho; Ruggeri, 2018).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento consistiu na avaliação da biodegradação de filmes plásticos em sistemas similares a determinadas condições ambientais, compostos por biodigestores, de caráter anaeróbio, durante um período de 18 meses. O lodo foi coletado em uma Estação de Tratamento de Esgoto da Região Metropolitana do Recife. A metodologia foi baseada na norma ASTM D5511 e foi realizada em triplicata.

Quatro sistemas foram necessários para o estudo, explicitado na Tabela 5. No primeiro (B1) houve apenas a presença de lodo nos biodigestores; no segundo (B2) adicionou-se três filmes plásticos comuns (PET); no terceiro (B3) adicionou-se três filmes plásticos aditivados (PET-ad). Já o quarto sistema (B4) foi utilizado como controle positivo, através da adição de três filmes de celulose.

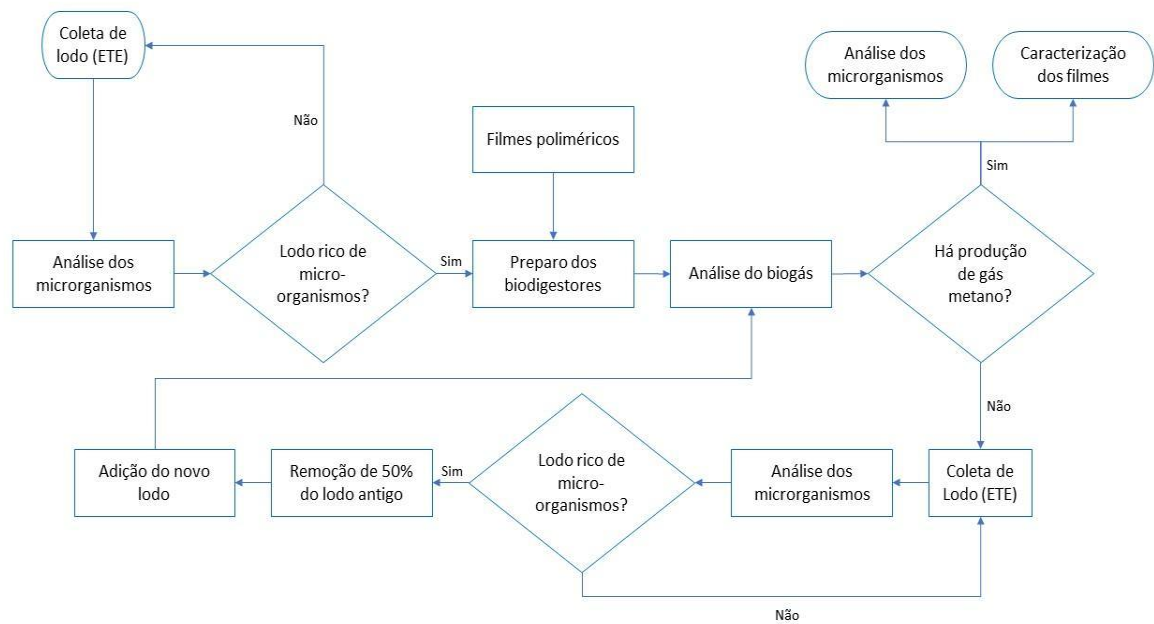
Tabela 5 – Identificação dos sistemas de biodegradação.

Identificação	Composição	Quantidade
B1	Lodo	18
B2	Lodo + PET	18
B3	Lodo + PET-ad	18
B4	Lodo + Celulose	2

Fonte: Autor, 2024.

A pesquisa foi conduzida através de três bases: caracterização dos filmes, análise dos microrganismos presentes no meio e análise do biogás produzido. As caracterizações dos filmes foram realizadas com periodicidade mensal, com o intuito de verificar alterações nas composições e propriedades dos filmes. As análises dos microrganismos presentes no meio foram feitas com periodicidade mensal, com o objetivo de quantificar determinados grupos que são capazes de influenciar na degradação de materiais. As análises do biogás produzido ocorreram com periodicidade semanal, com a finalidade de quantificar os gases que foram gerados no meio. O fluxograma do processo é apresentado na Figura 9.

Figura 9 – Fluxograma metodológico da presente pesquisa.

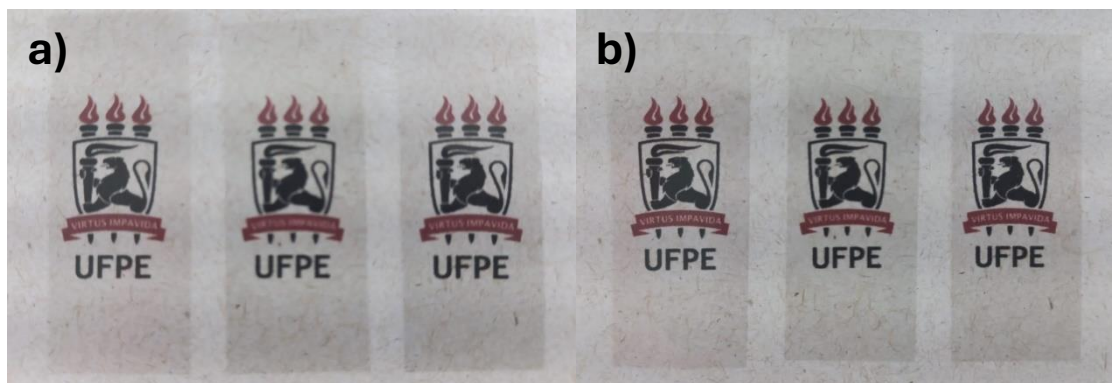


Fonte: Autor, 2024.

3.1 FILMES

Os filmes de PET e PET aditivado foram fornecidos por uma empresa produtora de embalagens, com espessura de 12 micrômetros, enquanto os filmes de celulose foram feitos a partir de uma bolsa (95 % de celulose). Todos os materiais foram padronizados com dimensões de 5x2 cm², conforme ilustrados na Figura 10. Os filmes foram manejados com luvas e pesados em balança analítica de marca CELTAC, modelo FA-2104N.

Figura 10 – Filmes de a) PET e b) PET aditivado para estudo sobrepostos ao logo da UFPE.



Fonte: Autor, 2024.

3.2 PREPARAÇÃO DOS BIODIGESTORES

O lodo foi proveniente de uma Estação de Tratamento de Esgoto na Região Metropolitana do Recife. O acondicionamento foi realizado a 4 °C, em geladeira de marca Consul. Os reatores foram compostos por frascos do tipo penicilina, com capacidade para 100 mL, hermeticamente fechados com tampas de borracha e lacres de metal. Para a captação do biogás produzido, inseriu-se seringas (10 mL) através das tampas de borracha.

Homogeneizou-se o lodo vigorosamente e inseriu-se 90 mL em cada reator (identificados de acordo com cada sistema), com auxílio de um funil. Em seguida, adicionou-se três filmes – do mesmo material – em cada reator e foram fechados e lacrados. Por fim, retirou-se 10 mL de ar de cada reator com uma seringa, colocou-se uma seringa em cada e foram acondicionados em temperatura ambiente (25 °C). A Figura 11 ilustra o resultado do biodigestor.

Figura 11 – Biodigestor preparado para o estudo.



Fonte: Autor, 2024.

3.3 CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES

As análises dos filmes foram efetuadas com base em suas variações de massa, morfologias, propriedades térmicas e propriedades químicas. As variações de massa foram feitas em balanças analíticas; as morfologias foram obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura; as propriedades térmicas foram determinadas pela Análise Termogravimétrica e Calorimetria Exploratória Diferencial e as propriedades químicas, a respeito das ligações químicas, foram estabelecidas a partir da Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier.

Em função de obter um material com o mínimo de impurezas, após a retirada dos filmes dos biodigestores, foi realizada uma lavagem com água destilada e foram colocados em um dessecador, da marca FANEM (modelo 315SE), por uma semana, para remoção da umidade.

3.3.1 Variação de massa

A relação entre a massa (m) inicial e final de cada filme foi obtida através da Equação 1, expressa em porcentagem, baseando-se no valor inicial.

$$Variação = \left(\frac{m_{inicial} - m_{final}}{m_{inicial}} \cdot \right) 100\% \quad (1)$$

Efetuuou-se a leitura dos resultados em uma balança analítica da marca CELTAC, modelo FA-2104N, com auxílio de um vidro de relógio.

3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

A superfície do material foi observada através da Microscopia Eletrônica de Varredura, em equipamento de modelo MIRA-3, Tescan Mira, com fonte FEG de alto brilho e alto vácuo.

3.3.3 Termogravimetria

O teste termogravimétrico foi realizado entre as temperaturas de 30 e 600 °C, com incremento de 10 °C/min, no equipamento Mettler Toledo TGA 2 Star System. As amostras foram cortadas em pequenos tamanhos e a massa utilizada foi de aproximadamente 2 mg, acondicionadas em cadinho de alumina, sob atmosfera inerte (gás nitrogênio). Os dados foram coletados através do software STAR^c e tratados no programa Origin 9.

3.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial

Na calorimetria exploratória diferencial foi feito um aquecimento, de 30 a 300 °C, um resfriamento, de 300 a 30 °C e outro aquecimento, de 30 a 300 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min. As análises ocorreram sob atmosfera inerte (N₂), com vazão de 50 mL/min. O modelo do equipamento foi o METTLER TOLEDO DSC 1 Star System, com auxílio do software STAR^e e Origin 9. Calculou-se a cristalinidade (X_c) relativa conforme a Equação 2.

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_f}{f \cdot \Delta H_f^0} \cdot 100\% \quad (2)$$

Onde “ ΔH_f ” é a entalpia de fusão dada pela análise, “f” a fração mássica de PET no filme e “ ΔH_f^0 ” é a entalpia teórica de PET totalmente cristalino, equivalente a 140 J/g (Gaonkar; Murudkar; Deshpande, 2020).

3.3.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

As caracterizações ocorreram na faixa de 650 a 4000 cm⁻¹, em um espectrômetro PerkinElmer Spectrum 3, com equipamento acessório L125-0050 UATR Spectrum 100 e resolução de 4 cm⁻¹. Os dados foram tratados através do programa Origin 9.

Os índices de carbonila (I_C), de hidroxila (I_H) e éster (I_E) foram calculados a partir da razão entre a respectiva absorbância e a absorbância de referência (ligação C-H), conforme as Equações 3, 4 e 5.

$$I_C = \frac{Abs_{C=O}}{Abs_{C-H}} \quad (3)$$

$$I_H = \frac{Abs_{O-H}}{Abs_{C-H}} \quad (4)$$

$$I_E = \frac{Abs_{O=C-O}}{Abs_{C-H}} \quad (5)$$

3.4 MICRORGANISMOS PRESENTES NO MEIO

Os grupos de microrganismos pesquisados envolveram cinco grupos de bactérias e um grupo de fungos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas, *Pseudomonas aeruginosa* Planctônicas, Bactérias Produtoras de Ácidos, Bactérias Anaeróbias Heterotróficas, Bactérias Redutoras de Sulfato e Fungos Filamentosos. As inoculações foram executadas a partir de 1 mL da amostra.

Os grupos bacterianos foram quantificados através da técnica do Número Mais Provável (NMP) (Anexo A) e os fungos através da técnica Unidades Formadoras de Colônias (UFC) (Anexo B).

3.4.1 Soluções de diluição

Para os microrganismos aeróbios (Bactérias Aeróbias Heterotróficas, *Pseudomonas aeruginosa* Planctônicas, Bactérias Produtoras de Ácidos e Fungos Filamentosos), utilizou-se água salina peptonada (Tabela 6) como solução de diluição, sendo distribuídos 90 mL para cada Erlenmeyer.

Tabela 6 – Composição da água salina peptonada.

Componentes	Quantidade por litro
Cloreto de sódio	8,5 g
Peptona	1,0 g
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Fonte: Autor, 2024.

As diluições foram feitas a partir de 10 mL do lodo de um biodigestor, transferindo esse volume para o primeiro Erlenmeyer (diluição de 10⁻¹). Em seguida, 10 mL desse Erlenmeyer foram transferidos para o segundo (diluição de 10⁻²) e assim sucessivamente.

Para os microrganismos anaeróbios (Bactérias Anaeróbias Heterotróficas e Bactérias Redutoras de Sulfato), utilizou-se a solução redutora (Tabela 7) como solução de diluição, sendo distribuídos 9 mL para cada tudo de ensaio.

Tabela 7 – Composição da solução redutora.

Componentes	Quantidade por litro
Tioglicolato de sódio	0,124 g
Ácido ascórbico	0,1 g
Resazurina 0,025%	4 mL
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Fonte: Autor, 2024.

As diluições foram feitas a partir de 1 mL do lodo de um biodigestor, transferindo esse volume para o primeiro tubo de ensaio (diluição de 10^{-1}). Em seguida, 1 mL desse Erlenmeyer foram transferidos para o segundo (diluição de 10^{-2}) e assim sucessivamente.

3.4.2 Bactérias Aeróbias Heterotróficas

O meio de cultura utilizado para análise das Bactérias Aeróbias Heterotróficas foi o Caldo Nutriente, cujos componentes estão exibidos na Tabela 8, sendo distribuídos 9 mL para cada tubo de ensaio. Os tubos foram esterilizados em autoclave, de marca Phoenix Luterco, a 1 atm e 121 °C, por 15 minutos.

Tabela 8 – Composição do meio Caldo Nutriente.

Componentes	Quantidade por litro
Peptona de carne	5,0 g
Extrato de carne	3,0 g
Sacarose	20,0 g

Fonte: Autor, 2024.

Após a inoculação do lodo, proveniente do biodigestor, os tubos foram incubados a 30 ± 1 °C durante 48 horas, em estufa da marca LEEC. O crescimento dos microrganismos foi evidenciado pela turvação do meio de cultura.

3.4.3 *Pseudomonas aeruginosa* Planctônicas

Para análise das *Pseudomonas aeruginosa* Planctônicas, empregou-se dois meios de cultura: o presuntivo e o confirmativo. O meio de cultura presuntivo utilizado foi a Asparagina (Tabela 9), sendo distribuídos 9 mL para cada tubo de ensaio. Os tubos foram esterilizados em autoclave, de marca Phoenix Luterco, a 1 atm e 121 °C, por 15 minutos.

Tabela 9 – Composição do meio Asparagina.

Componentes	Quantidade por litro
Asparagina	4,0 g
KH ₂ PO ₄	20,0 g
K ₂ HPO ₄	2,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,0 g
Glicerol	16 mL
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Fonte: Autor, 2024.

Após a inoculação do lodo, proveniente do biodigestor, os tubos foram incubados a 35 ± 1 °C durante 96 horas, em estufa de marca FANEM LTDA (Modelo 002 CB). Os tubos positivos foram os que apresentaram turvação do meio de cultura.

Os tubos de ensaios caracterizados como positivos foram inoculados no meio de cultura (confirmativo) Acetamida (Tabela 10) e incubados nas mesmas condições do meio presuntivo. O crescimento dos microrganismos foi evidenciado pela coloração púrpura dos meios.

Tabela 10 - Composição do meio Acetamida.

Componentes	Quantidade por litro
Acetamida	10,0 g
NaCl	5,0 g
K ₂ HPO ₄	1,39 g
KH ₂ PO ₄	0,73 g
Vermelho fenol	0,012 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50 g
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Fonte: Autor, 2024.

3.4.4 Bactérias Produtoras de Ácidos

O meio de cultura utilizado para análise das Bactérias Produtoras de Ácidos foi o Caldo Vermelho Fenol (Tabela 11), sendo distribuídos 9 mL para cada tubo de ensaio. Os tubos foram esterilizados em autoclave, de marca Phoenix Luterco, a 1 atm e 121 °C, por 15 minutos.

Tabela 11 – Composição do meio Caldo Vermelho Fenol.

Componentes	Quantidade por litro
Sacarose	10,0 g
Tryptona	10,0 g
Extrato de carne bovina	1,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Vermelho de fenol	0,018 g
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Fonte: Autor, 2024.

Após a inoculação do lodo, proveniente do biodigestor, os tubos foram incubados a 30 ± 1 °C durante 48 horas, em estufa da marca LEEC. O crescimento dos microrganismos foi evidenciado pela coloração amarela do meio de cultura.

3.4.5 Bactérias Anaeróbias Heterotróficas

O meio de cultura utilizado para análise das Bactérias Anaeróbias Heterotróficas foi o Meio Fluido ao Tioglicolato (30 g/l), sendo purgado com gás nitrogênio e distribuído 9 mL para cada frasco do tipo penicilina. Os frascos foram vedados com tampas de borracha e lacres metálicos e foram esterilizados em autoclave, de marca Phoenix Luterco, a 1 atm e 121 °C, por 15 minutos.

Após a inoculação do lodo, proveniente do biodigestor, os frascos foram incubados a 30 ± 1 °C durante 28 dias, em estufa da marca LEEC. O crescimento dos microrganismos foi evidenciado pela turvação do meio de cultura.

3.4.6 Bactérias Redutoras de Sulfato

O meio de cultura utilizado para análise das Bactérias Redutoras de Sulfato foi o Postgate E Modificado (Tabela 12), sendo purgado com gás nitrogênio e distribuído 9 mL para cada frasco do tipo penicilina. Os frascos foram vedados com tampas de borracha e lacres metálicos e foram esterilizados em autoclave, de marca Phoenix Luterco, a 1 atm e 121 °C, por 15 minutos.

Tabela 12 – Composição do meio Postgate E Modificado.

Componentes	Quantidade por litro
KH ₂ PO ₄	0,5 g
NH ₄ Cl	1,0 g
Na ₂ SO ₄	1,0 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,67 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,68 g
Lactato de sódio	7,0 mL
Extrato de levedo	1,0 g
Ácido ascórbico	0,1 g
Ágar-ágar	1,9 g
Resazurina 0,025%	4,0 mL
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
Água destilada q.s.p.	1000 mL

Fonte: Autor, 2024.

Após a inoculação do lodo, proveniente do biodigestor, os frascos foram incubados a 30 ± 1 °C durante 28 dias, em estufa da marca LEEC. O crescimento dos microrganismos foi evidenciado pelo escurecimento do meio de cultura.

3.4.7 Fungos Filamentosos

O meio de cultura utilizado para análise dos Fungos Filamentosos foi o Sabouraud (65 g/l), sendo preparado 250 mL em cada Erlenmeyer, que foram esterilizados em autoclave, de marca Phoenix Luterco, a 1 atm e 121 °C, por 15 minutos.

O meio foi aquecido para tornar-se homogêneo e, após resfriado, inserido em placas de Petri e a inoculação foi realizada através do método *pour plate*. Em seguida, as placas foram incubadas a 30 ± 1 °C, por 7 dias, em estufa da marca LEEC. O crescimento dos fungos foi evidenciado a partir da formação de colônias.

3.5 PRODUÇÃO DE BIOGÁS

O gás produzido (CH_4 , CO_2 e H_2) foi analisado através da técnica de cromatografia gasosa (Hewlett Packard 5890), a uma temperatura de 90 °C. O gás nitrogênio foi utilizado como fase móvel, a um fluxo de 30 mL/min, coluna Porapak-N (6 metros de comprimento, diâmetro interno de 3/8 de polegada e espessura da fase sólida entre 50 e 60 mesh) e detector de condutividade térmica. Utilizou-se o software N2000 para obtenção dos dados.

A biodegradação foi estimada de acordo com a norma ASTM D5511, conforme a Equação 3, considerando os gases metano e dióxido de carbono. Os picos foram obtidos através do software N2000.

$$\%biodegradação = \frac{média\ C_g(teste) - média\ C_g(branco)}{C_i} \times 100 \quad (4)$$

Onde “ C_g ” é a quantidade de carbono presente no gás produzido, em gramas, e “ C_i ” é a quantidade de carbono presente nos filmes. O erro (S_e) foi calculado através da Equação 5.

$$S_e = \sqrt{\frac{s_{teste}^2}{n_1} + \frac{s_{branco}^2}{n_2}} \times \frac{100}{C_i} \quad (5)$$

Em que “s” equivale ao desvio padrão do total de carbono gasoso produzido, “ n_1 ” é o número de biodigestores com amostras poliméricas e “ n_2 ” é o número de biodigestores sem filmes.

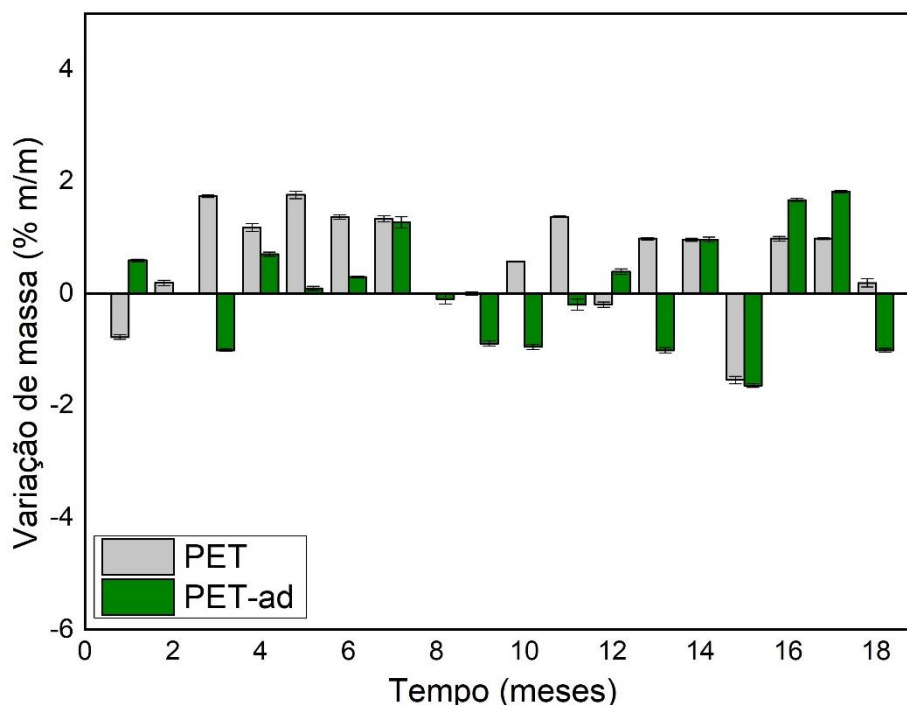
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos, assim como argumentações relativas às análises realizadas, correlacionando-as com a biodegradação.

4.1 VARIAÇÃO DE MASSA

A Figura 12 ilustra a variação de massa dos filmes após suas remoções dos biodigestores.

Figura 12 – Variação de massa dos filmes de PET e PET-ad.



Fonte: Autor, 2024.

A partir da Figura 12, não é observada uma tendência de variação de massa, havendo incrementos e decrementos não ordenados. Os filmes de PET apresentaram, no geral, uma ligeira perda de massa, atingindo até 1,76 % (m/m), enquanto os filmes de PET-ad exibiram tanto perda de massa, de até 1,82 % (m/m), como ganho de massa, alcançando -1,64 % (m/m), que pode estar relacionado à colonização de microrganismos na superfície dos filmes (Richert; Dabrowska, 2021). Diante da baixa velocidade de degradação conhecida do PET, alguns trabalhos inferem que a perda de massa pode estar relacionada a umidade inicial dos filmes, conforme relatado por Gutierrez-Wing *et al.* (2010) e por Abou-Zeid, Muller e Decker (2004).

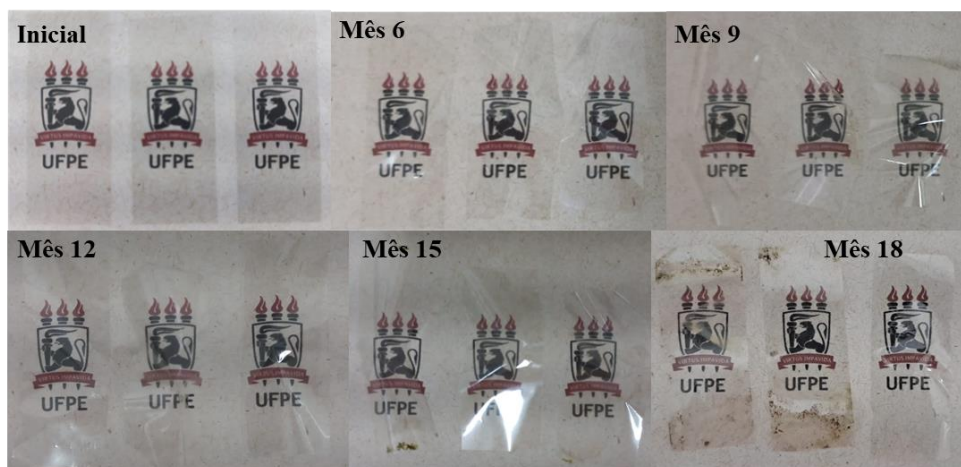
Nowak *et al.* (2011) avaliaram a biodegradação de filmes de PET aditivados com diferentes concentrações de Bionolle®, na presença de uma espécie de fungo filamentoso, durante noventa dias. O controle negativo (apenas PET) perdeu 0,08 % (m/m) de massa, o PET aditivado com concentração de 10 % (m/m) variou 0,07 % (m/m) e o PET com 25 % (m/m) de aditivo perdeu 0,21 % (m/m). Nos filmes com a menor quantidade de aditivo, observou-se degradações pontuais, com pequenos orifícios ($< 1 \mu\text{m}$), enquanto os filmes com a maior quantidade de aditivo apresentaram erosões superficiais e orifícios maiores (10 a 20 μm) em toda a extensão superficial.

Malafatti-Picca *et al.* (2023) obtiveram conclusões similares, a partir de estudos envolvendo microrganismos na presença do PET. Os autores descreveram que o aumento de massa foi provocado pela adesão de microrganismos ou pela absorção de água presente no meio de cultura. Adicionalmente, constataram que apenas a variação de massa não se mostrou uma análise conclusiva a respeito da biodegradação.

Perante os resultados descritos previamente e os obtidos na atual pesquisa, pode-se abstrair que a variação de massa engloba o biofilme formado pelos microrganismos, conjecturando o início da biodegradação, que ocorre com um pequeno aumento de massa. (Campanaro *et al.*, 2023).

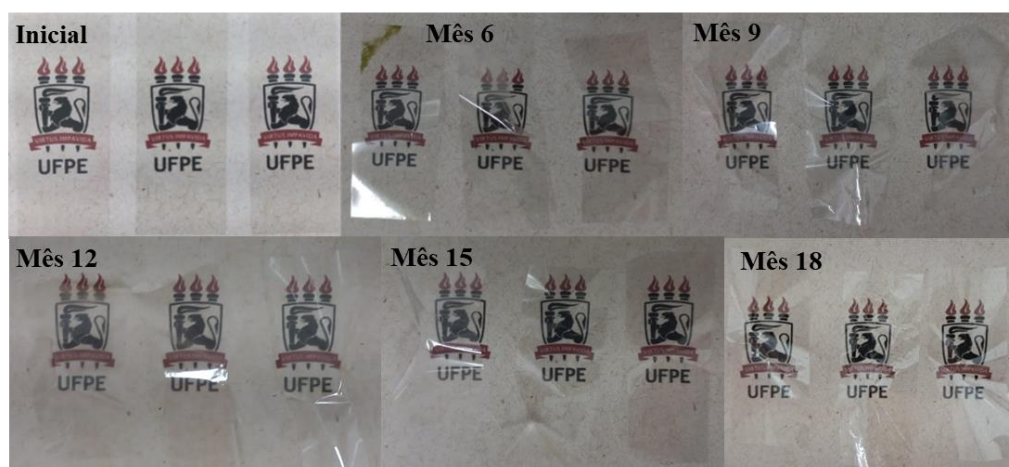
A avaliação visual dos filmes é exibida nas Figuras 13 e 14, estando sobrepostos ao logo da UFPE, impresso em papel reciclado.

Figura 13 – Fotografias dos filmes de PET após secagem.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 14 – Fotografias dos filmes de PET-ad após secagem.



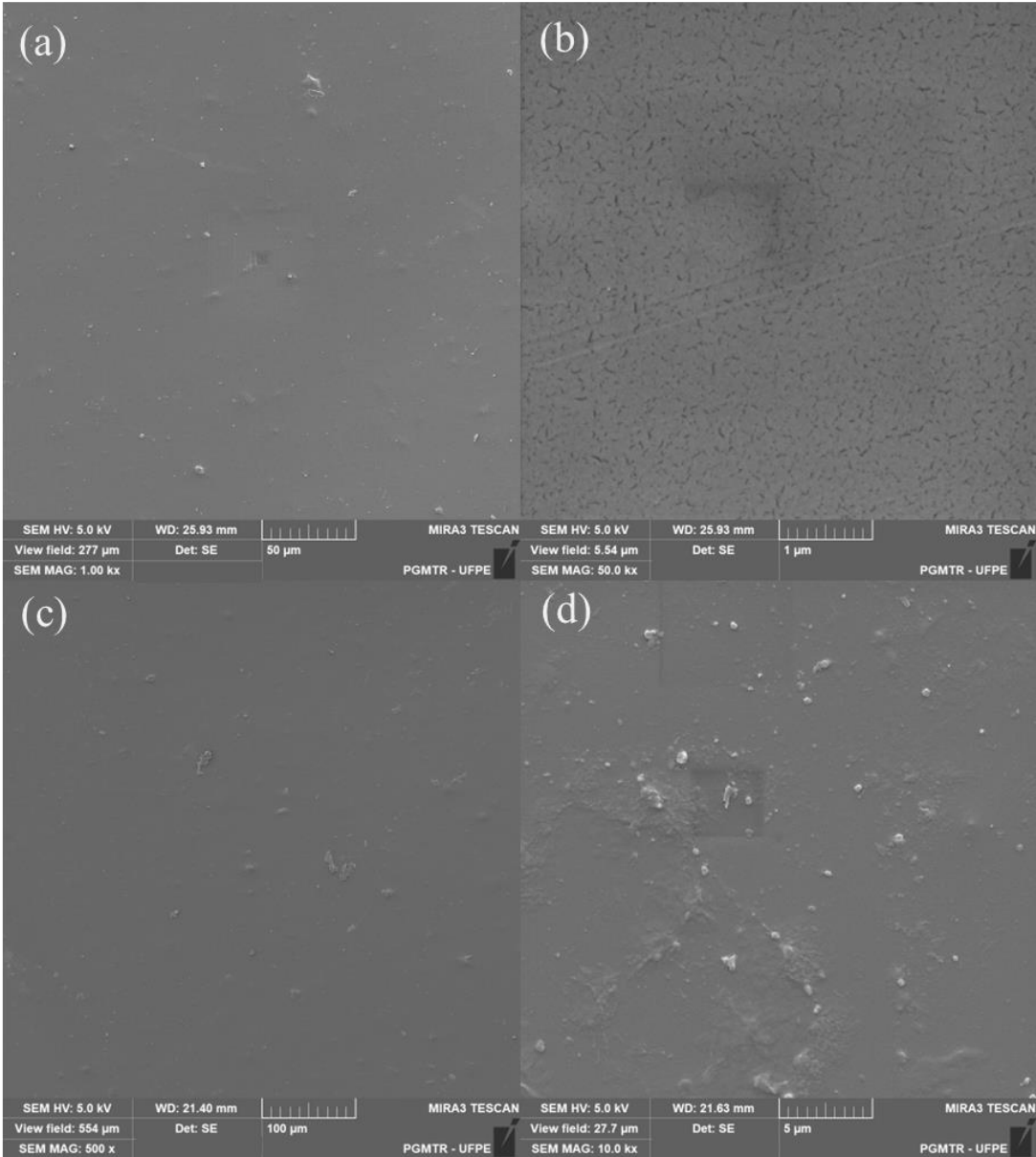
Fonte: Autor, 2024.

Visualmente, não se observa alterações na transparência dos filmes, nem sinais de degradação macroscópica ou amarelamento. Porém, nos filmes de PET após 15 e 18 meses e nos filmes de PET-ad após 6 meses, verifica-se o aparecimento de regiões esverdeadas. De uma perspectiva mais aproximada das superfícies dos filmes, foi constatado material aderido, favorecendo levemente a diminuição da transparência em ambos os tipos de filmes, nos períodos finais do estudo.

4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

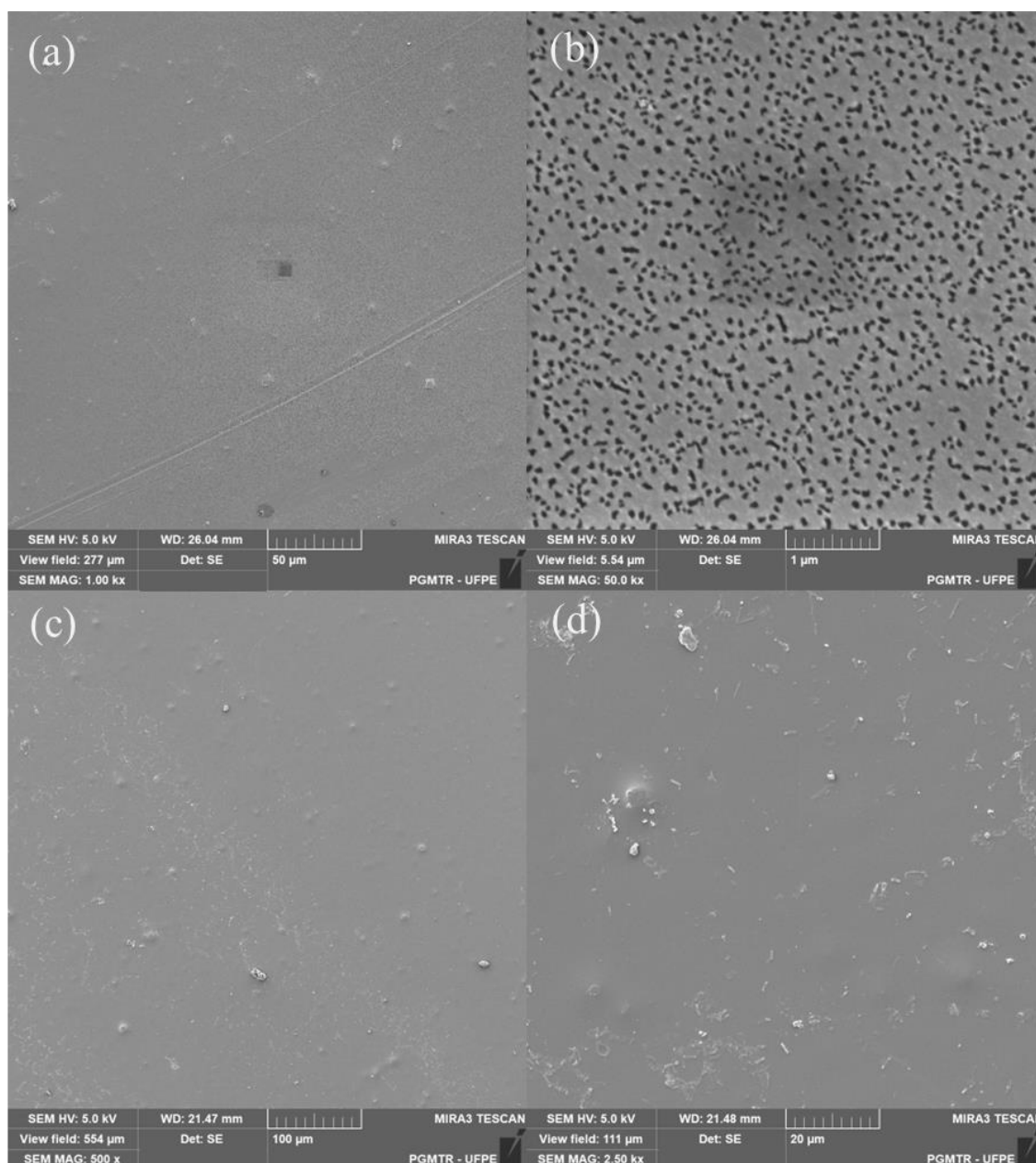
As Figuras 15 e 16 apresentam as imagens da superfície dos filmes, obtidas através da MEV, antes de serem colocados nos biodigestores e após 18 meses de contato com o lodo.

Figura 15 – MEV das superfícies do PET no (a) e (b) mês zero, e no (c) e (d) mês dezoito.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 16 – MEV das superfícies do PET-ad no (a) e (b) mês zero, e no (c) e (d) mês dezoito.



Fonte: Autor, 2024.

Inicialmente, a superfície do filme de PET mostra-se lisa, uniforme e homogênea (Figura 15a e 15b), característica de um material processado industrialmente, enquanto, através uma maior ampliação, a do filme de PET-ad revela a presença de cargas distribuídas uniformemente ao longo de todo o espaço (Figura 16b), correspondendo ao aditivo pró-degradante incorporado no material. Após dezoito meses em contato com lodo, em ambos os tipos de filmes, observa-se rugosidade na superfície, proveniente da presença de partículas que pode estar atribuída as atividades metabólicas como aderência residual de biofilmes e/ou

componentes oriundos do lodo, conforme as Figuras 15c, 15d e 16c. Na maior ampliação (Figura 15d), os filmes de PET-ad não apresentam mais a presença do aditivo na região superficial, indicando uma possível migração ou consumo.

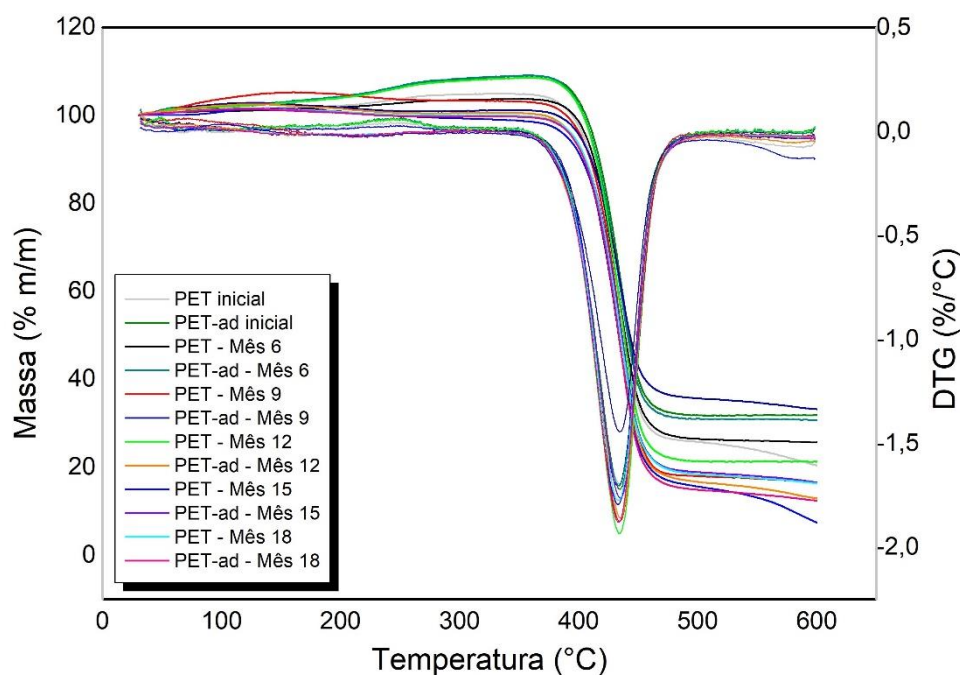
Maheswaran *et al.* (2023) avaliaram a morfologia da superfície de filmes de PET após tratamento biológico com diversos microrganismos – reportados como capazes de consumi-lo. Observaram ranhuras, rachaduras e desníveis na superfície, além da presença de extensa camada de biofilmes nas proximidades das irregularidades constatadas, indicando a ação dos microrganismos.

Em paralelo com resultados reportados na literatura, não se verifica fenômenos (rachaduras, buracos) que indiquem importantes alterações ocasionadas por microrganismos, apenas observa-se uma interação superficial entre os componentes do lodo e os filmes – sendo um indicativo do início do processo de biodegradação. Deste modo, nas condições estudadas, não se pode deduzir que o aditivo em questão acelerou a degradação inicial dos filmes.

4.3 TERMOGRAVIMETRIA

As curvas termogravimétricas, bem como os parâmetros extraídos dela são dispostos na Figura 17 e Tabela 13, respectivamente.

Figura 17 – Curvas termogravimétricas e derivadas dos filmes de PET e PET-ad.



Fonte: Autor, 2024.

Tabela 13 – Parâmetros obtidos na análise termogravimétrica.

Mês	PET				PET-ad			
	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	T _{máxdeg} (°C)	Resíduo (%)	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	T _{máxdeg} (°C)	Resíduo (%)
Zero	403,49	455,92	434,37	25,75	401,86	452,47	435,08	31,77
6	401,56	450,10	431,39	33,74	401,56	451,71	433,87	30,86
9	404,23	453,18	434,67	17,53	402,59	452,28	434,67	33,12
12	404,60	451,75	434,37	21,24	401,69	454,82	434,67	18,96
15	403,49	451,53	432,88	15,57	404,23	453,18	434,67	18,77
18	404,23	450,64	432,88	18,58	405,13	451,53	433,78	14,99

Fonte: Autor, 2024.

Tratando-se das curvas obtidas para os dois tipos de amostras, verifica-se, a partir do DTG, apenas um pico de degradação de curva em todos os meses analisados. Entretanto, as curvas termogravimétricas diferem por um aumento de massa antes da degradação, atingindo, nos meses iniciais, cerca de 10% de incremento de massa, entre 150 e 400 °C; nos meses 9 e 12, nota-se um aumento de massa entre 2 e 6 %, entre 30 e 300 °C; por fim, nos últimos meses não se verifica essa variação na massa. Paralelamente, as amostras iniciais resultam em maior resíduo, que decai para as demais amostras.

Mediante aos parâmetros do TGA para ambos os polímeros, constata-se que não houve variações expressivas das temperaturas de início e final da degradação e da temperatura de máxima degradação. Já em relação aos resíduos, nota-se que as amostras iniciais exibiram cerca de 30 % (m/m) de resíduo, enquanto as demais atingiram valores entre 14 e 21 % (m/m).

Os resultados obtidos, tanto do PET como do PET-ad, encontram-se de acordo com os dados da literatura, com exceção do aumento de massa anterior à degradação. Hu *et al.* (2020), Singh *et al.* (2019) e Tuffi *et al.* (2018) obtiveram um único pico da curva de DTG do PET, resultante da degradação das cadeias carbônicas, na faixa de temperatura de degradação de 390 a 475 °C. Dessa forma, como pode ser visto, a incorporação do aditivo pró-degradante não impactou na estabilidade térmica do polímero, assim como também não houve diferenças significativas nos filmes de PET e PET-ad expostos ao lodo, nas condições anaeróbicas.

Outra hipótese para o aumento de massa evidenciado pode ser um indicativo da forma de atuação do aditivo. Conforme Lake e Adams (2008), há pró-degradantes que agem atraindo microrganismos para o polímero, associado com agentes expansivos, a fim de permitir acesso

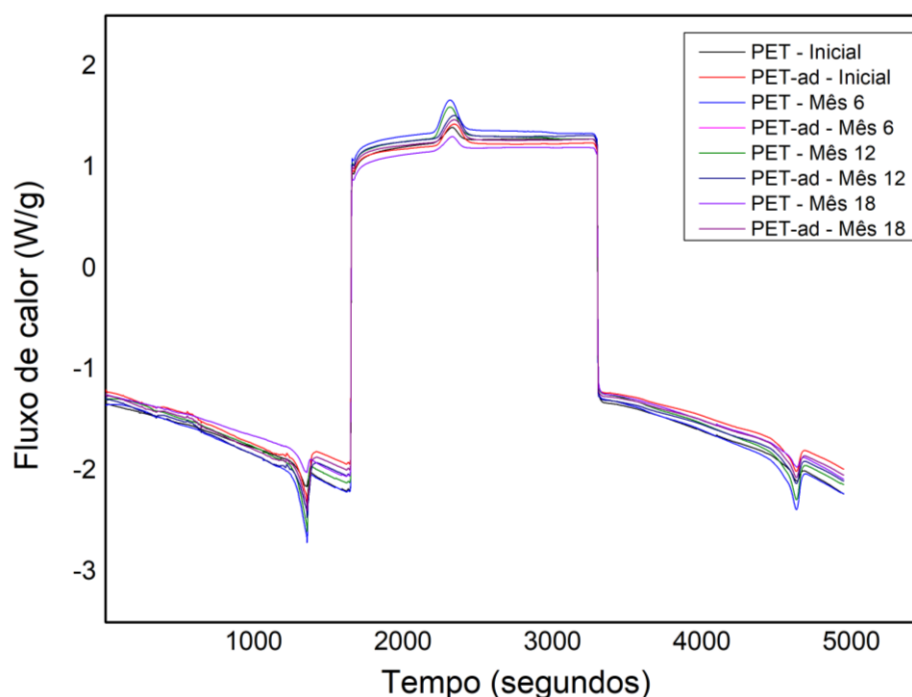
ao interior do material. Isto posto, o aquecimento pode desencadear a ativação desses agentes, permitindo o aprisionamento do gás utilizado na análise (nitrogênio) no interior do polímero, resultando em uma detecção de maior massa.

Perante o exposto, depreende-se que quanto mais tempo os polímeros aditivados permanecem nos biodigestores, mais os agentes expandem sua estrutura e posteriormente migram ou são degradados. Assim, por haver menor quantidade, permitem que menos gás seja aprisionado na estrutura do PET, elucidando o deslocamento para a esquerda da região onde há aumento de massa no termograma nas amostras do mês 6 a 12, e o desaparecimento nos meses seguintes (Li *et al.*, 2014).

4.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

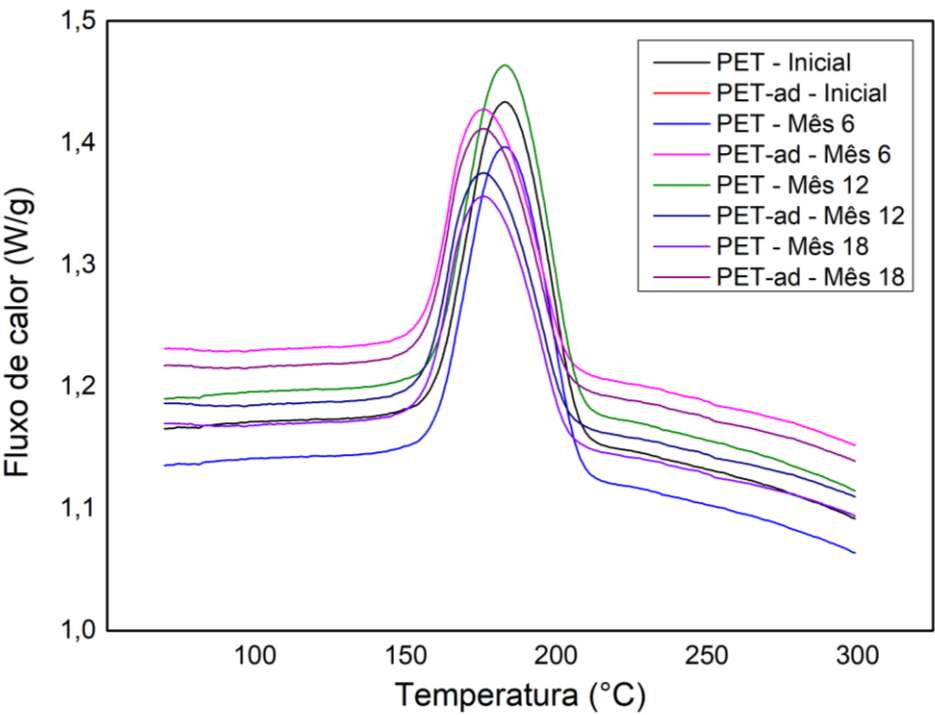
As Figuras 18, 19 e 20 e as Tabelas 14 e 15 exibem os resultados referentes à calorimetria exploratória diferencial.

Figura 18 – Curvas de fluxo de calor em função do tempo obtidas pela calorimetria exploratória diferencial.



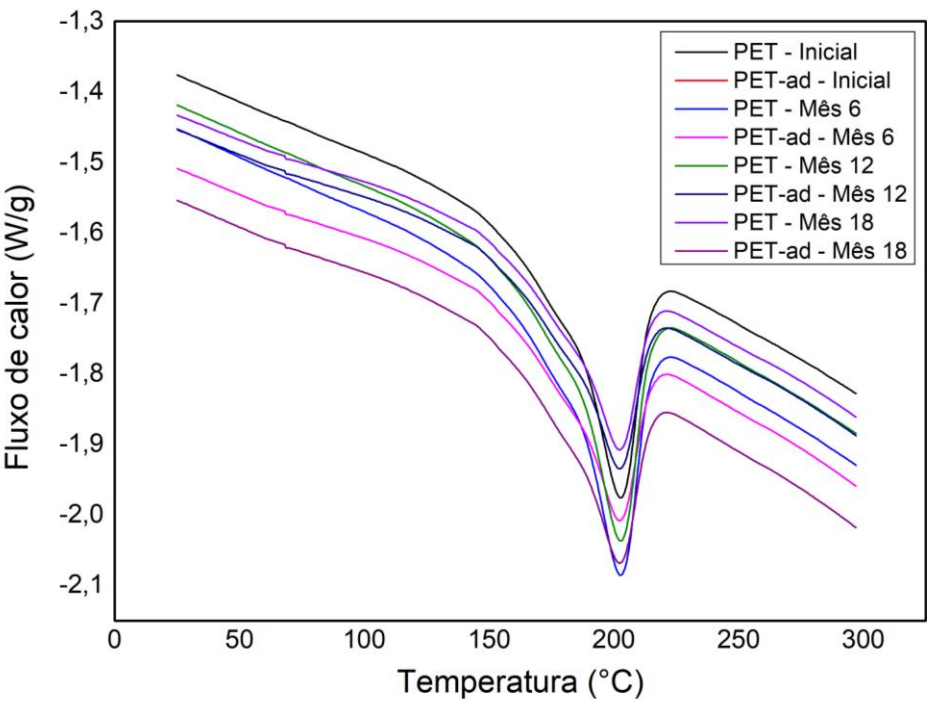
Fonte: Autor, 2024.

Figura 19 – Curvas de fluxo de calor em função da temperatura no resfriamento.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 20 – Curvas de fluxo de calor em função da temperatura no segundo aquecimento.



Fonte: Autor, 2024.

Tabela 14 – Parâmetros obtidos na calorimetria exploratória diferencial para amostras de PET.

Mês	T _f (°C)	ΔH _f (J/g)	ΔH _c (J/g)	X _c (%)	T _g (°C)
Zero	244,11	46,37	22,84	33,12	76,98
6	244,39	46,32	23,27	33,09	76,42
9	243,72	46,31	23,13	33,08	76,81
12	243,05	46,41	22,36	33,15	75,91
15	244,60	46,64	22,40	33,32	76,94
18	246,40	46,56	23,05	33,26	75,90

T_f: Temperatura de fusão, ΔH_f: entalpia de fusão, ΔH_c: entalpia de cristalização, X_c: cristalinidade e T_g: temperatura de transição vítrea.

Fonte: Autor, 2024.

Tabela 15 – Parâmetros obtidos na calorimetria exploratória diferencial para amostras de PET-ad.

Mês	T _f (°C)	ΔH _f (J/g)	ΔH _c (J/g)	X _c (%)	T _g (°C)
Zero	243,62	46,29	23,39	33,06	76,47
6	245,82	46,51	22,55	33,22	76,08
9	245,57	46,49	22,48	33,27	75,91
12	245,82	46,61	22,10	33,30	77,12
15	244,99	46,75	22,54	33,39	76,20
18	246,15	46,67	22,18	33,34	77,21

Fonte: Autor, 2024.

As curvas obtidas podem ser divididas em três regiões: primeiro aquecimento até 1800 s; resfriamento de 1700 até 3400 s e segundo aquecimento de 3400 a 5000 s. Para fins de tratamento de dados, desconsiderou-se o primeiro aquecimento – referente à história térmica. No resfriamento, nota-se os picos exotérmicos de cristalização, onde foi formado o domínio cristalino; no segundo aquecimento, constata-se sutis mudanças nas linhas de base, relativo às transições vítreas e picos de fusão, ambos endotérmicos.

Diante dos resultados, verifica-se similaridade das propriedades térmicas entre o PET e PET-ad em todo o período estudado. Portanto, não foi constatado alterações na mobilidade das cadeias carbônicas ou nas ligações intermoleculares dos polímeros – aditivados ou não – ao decorrer do tempo (Karimpour-Motlagh *et al.*, 2020).

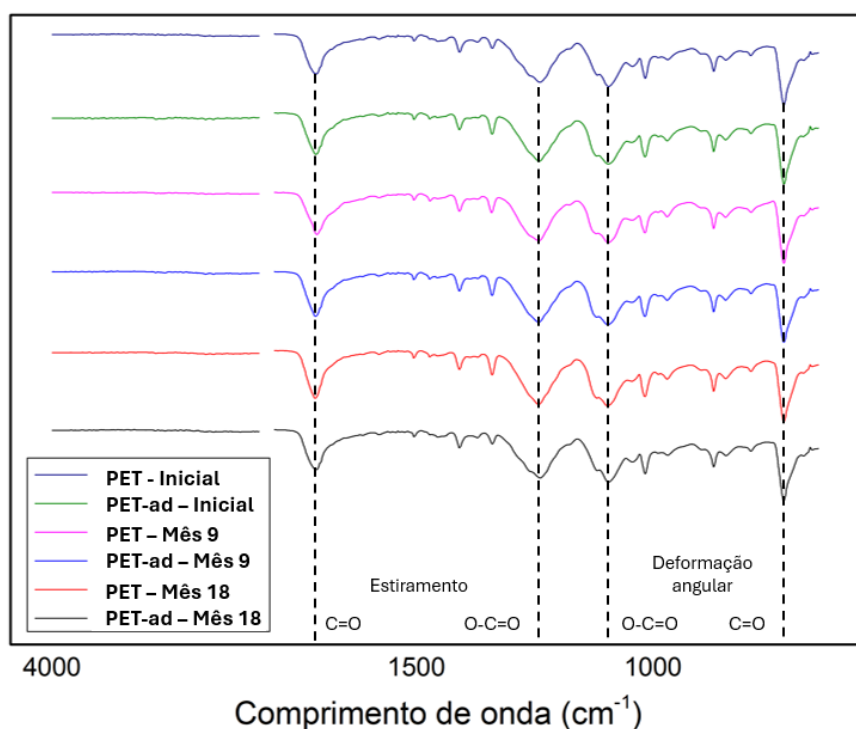
Conforme discutido por Mróz *et al.* (2013), evidências de alterações nas propriedades térmicas seriam indicadas pela redução nas temperaturas de transição vítrea e de fusão, resultante da diminuição da massa molecular das cadeias. Adicionalmente, é esperado um aumento na cristalinidade, devido a degradação se iniciar pelo domínio amorfo – por ser uma região mais acessível (Bandini *et al.*, 2020).

Os resultados no presente trabalho estão em conformidade com a literatura, uma vez que de acordo com Lima *et al.* (2020), considerando o PET puro, obtiveram cristalinidade de 32,6 % e temperatura de transição vítrea de 79,7 °C. Bannach *et al.* (2011) e Rabello e Wellen (2008) também apuraram valores semelhantes, além de temperatura de fusão de 249,7 °C e entalpia de fusão de 47,2 J/g. Logo, após os dezoito meses de exposição ao lodo, as amostras de PET e PET-ad apresentaram propriedades térmicas equivalentes às propriedades do PET reportadas na literatura, não indicando alterações significativas provenientes da biodegradação.

4.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros obtidos no início (mês 0), meio (mês 9) e fim (mês 18) são expostos na Figura 21.

Figura 21 – Espectros de PET e PET-ad obtidos pela Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier, em diferentes meses.



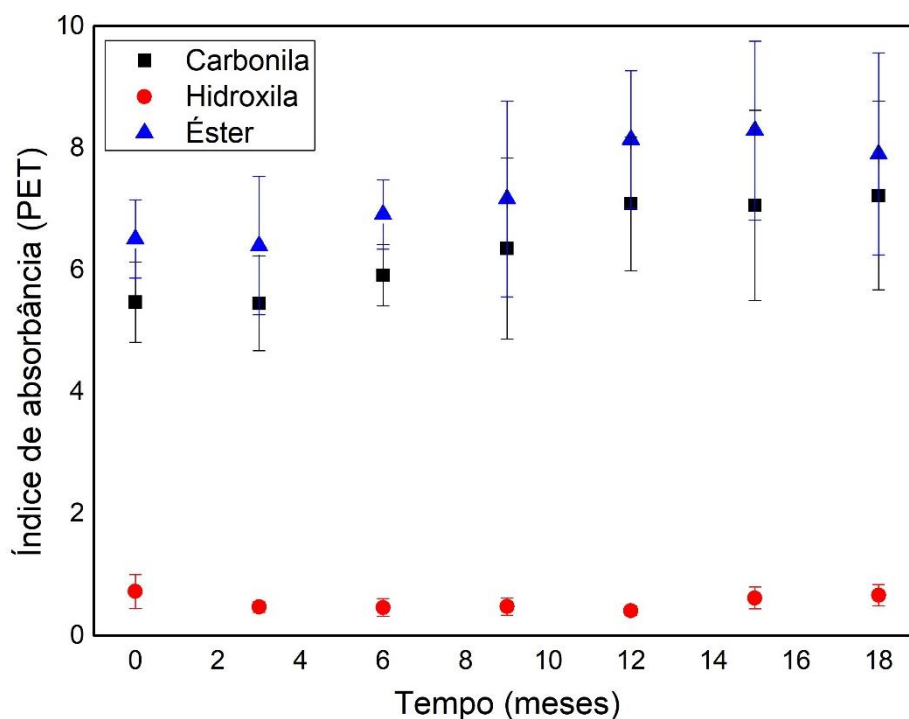
Fonte: Autor, 2024.

Visualmente, não se constata deslocamento de bandas, alterações de intensidade ou alguma mudança significativa no decorrer do tempo, assim como não se observa variações entre os filmes de PET e PET-ad.

Pode-se observar as bandas de absorção características do PET em ambos os tipos de filmes: o número de onda próximo a 1720 cm^{-1} corresponde ao estiramento do grupo carboxílico --C=O , em 1240 cm^{-1} está o estiramento do grupo éster O=C--O-- , 1100 cm^{-1} indica o ângulo de torção do grupo éster e 720 cm^{-1} está relacionado à ligação --C=O fora do plano do anel aromático (Mecozzi; Nisini, 2019; Chen; Hay; Jenkins, 2012).

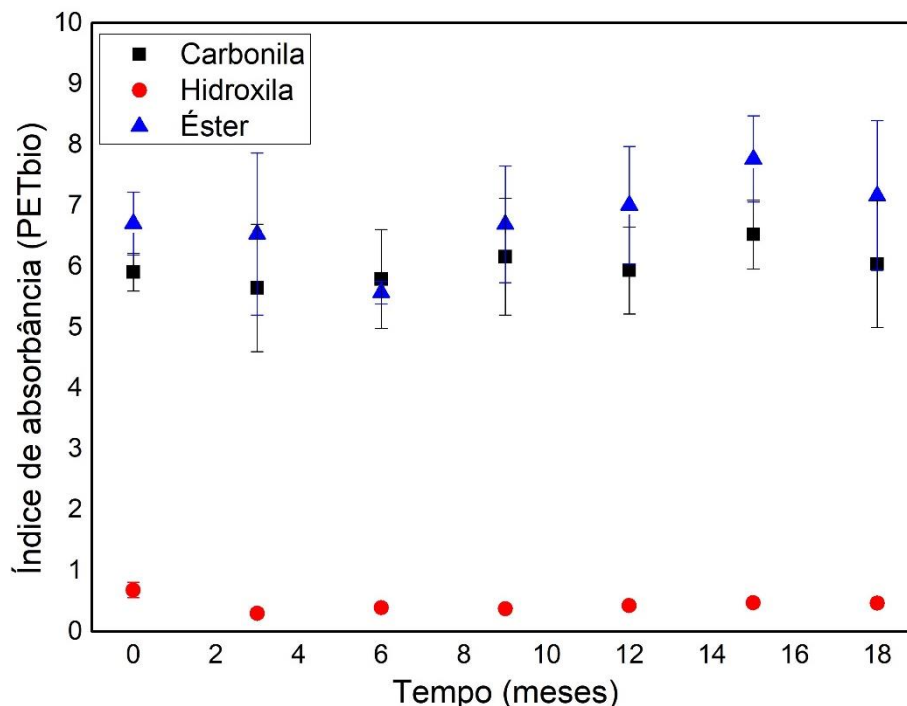
Tratando-se das intensidades relativas à banda C-H no comprimento de onda de 1470 cm^{-1} , pôde-se avaliar as alterações nos grupos mais relevantes do processo de biodegradação, de acordo com as Equações 3, 4 e 5. Os índices de carbonila, hidroxila e éster (Figura 22 e 23) foram determinados com o propósito de uma avaliação de maior precisão da análise em questão.

Figura 22 – Índices de carbonila, hidroxila e éster dos filmes de PET no decorrer do tempo.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 23 – Índices de carbonila, hidroxila e éster dos filmes de PET-ad no decorrer do tempo.



Fonte: Autor, 2024.

Observa-se, tanto para o PET como para o PET-ad, pequenas variações de todos os índices determinados, considerando o erro associado a cada medida. Os grupos funcionais carbonila e éster mostram-se em maior quantidade, tendo em vista suas presenças na estrutura de repetição do PET, enquanto o grupo hidroxila é proveniente de eventuais hidroxilas terminais. Adicionalmente, a maior variação dos índices a partir do nono mês pode advir de possíveis alterações na superfície dos filmes.

Torena, Alvarez-Cuenca e Reza (2021) avaliaram a biodegradação de PET em lodo aditivado com microrganismos capazes de degradá-lo, sendo o polímero a única fonte de carbono do meio. No espectro, verificaram que houve pequenos deslocamentos de bandas e alterações em intensidades; o aumento do índice de carbonila constatado foi causado tanto pela formação de carbonilas terminais após o rompimento de ligações ésteres (da região amorfa), quanto pela geração de produtos provenientes de reações de oxidação.

Complementarmente, foi realizada a análise dos componentes principais (PCA) como teste estatístico, entretanto não foi possível visualizar separação de grupos de forma significativa. O que corrobora com a não distinção reportada dos valores dos índices supracitados.

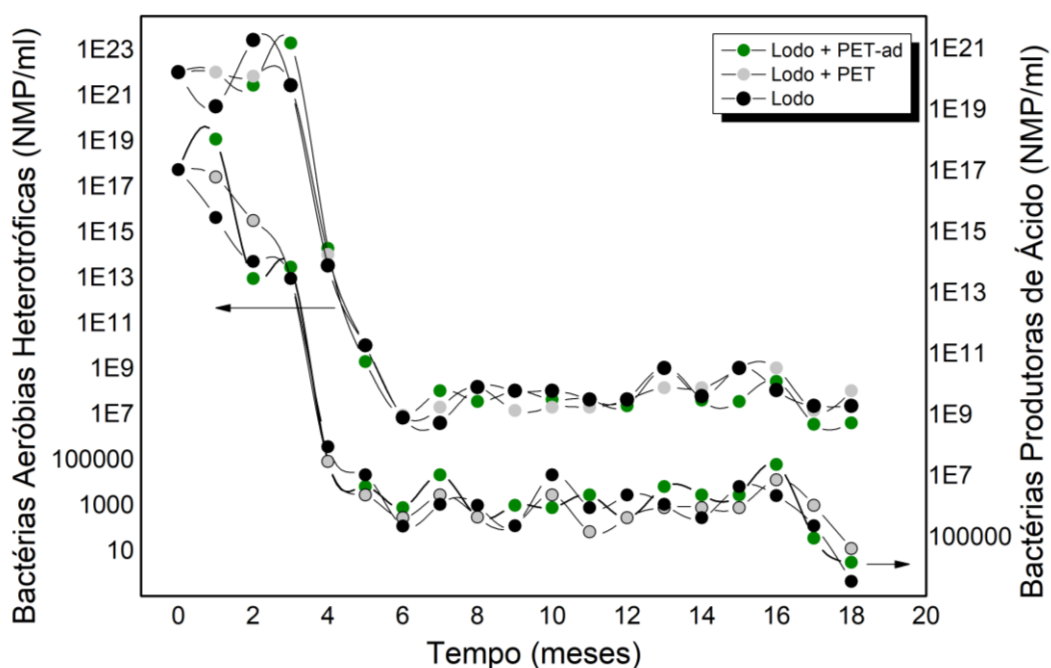
Perante o exposto, é esperado que inicialmente os grupos ésteres podem sofrer uma diminuição de sua intensidade, contudo, nessa região, pode haver formação de grupos ésteres, tendo em vista que as enzimas excretadas pelos microrganismos rompem e formam novas ligações. Dessa forma, o processo inicial da biodegradação pode ser constatado pelas alterações dos índices de éster, carbonila e hidroxila.

4.6 AVALIAÇÃO DOS MICRORGANISMOS PRESENTES NO MEIO

O lodo é um resíduo semi-sólido, majoritariamente orgânico, onde sua composição e microrganismos ali presentes dependem de diversas variáveis, como a origem do efluente, época do ano e os processos de tratamento utilizados. Dessa forma, há uma vasta gama de compostos que podem interagir com a superfície dos filmes de PET, resultando em impurezas tanto no PET como no PET-ad. De forma generalista, os constituintes orgânicos do lodo são baseados em carbono e nitrogênio, enquanto o fósforo predomina na forma inorgânica; pode-se destacar coagulantes, surfactantes, resíduos metálicos, óleos, graxas e compostos organo-halogenados (Carvalho *et al.*, 2015).

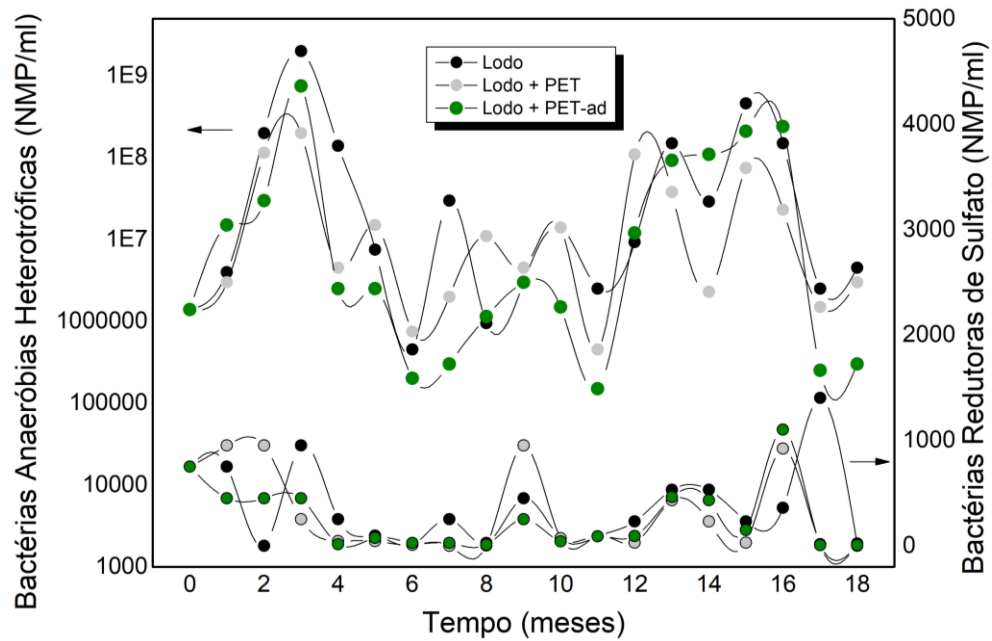
As estimativas da quantidade de cada grupo de microrganismo analisado foram apresentadas nas Figuras 24, 25 e 26.

Figura 24 – Evolução das bactérias Aeróbias Heterotróficas e Produtoras de Ácido.



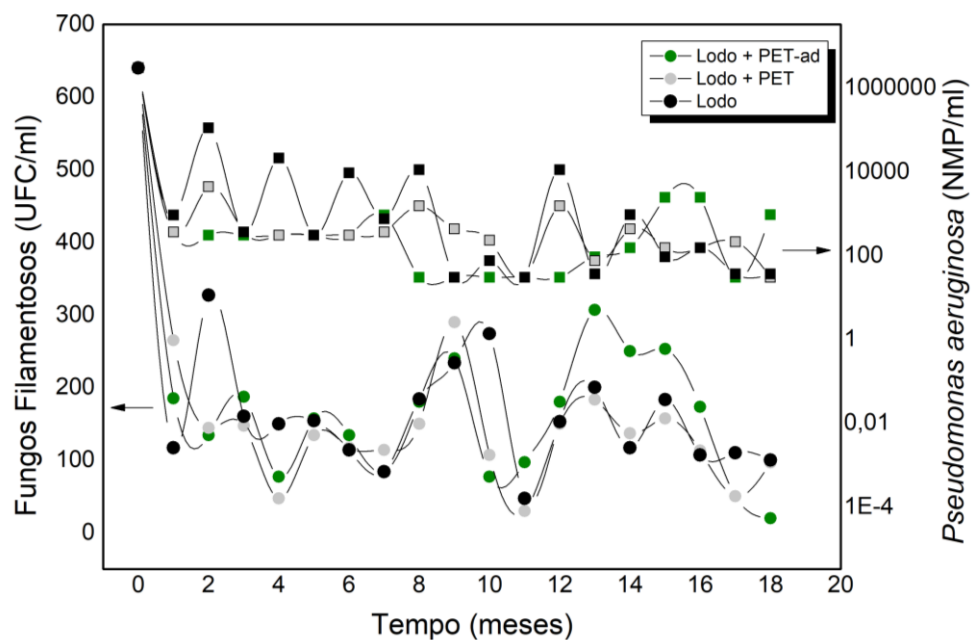
Fonte: Autor, 2024.

Figura 25 – Evolução das bactérias Anaeróbias Heterotróficas e Redutoras de Sulfato.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 26 – Evolução de *Pseudomonas aeruginosa* e fungos filamentosos.



Fonte: Autor, 2024.

Comparando os três sistemas, nota-se comportamentos semelhantes da evolução dos grupos microbianos analisados. Os grupos presentes majoritariamente foram as bactérias Aeróbias Heterotróficas e Produtoras de ácido, com concentração inicial na ordem de 10²² e

10^{18} NMP/mL, respectivamente. O primeiro grupo mantém-se em elevada quantidade até o terceiro mês, quando se observa um declínio vertiginoso até o sexto mês. A partir deste período, a população microbiana permanece relativamente constante, na ordem de grandeza de 10^7 NMP/mL. Já o segundo grupo exibe uma rápida diminuição até o sexto mês, quando permanece aproximadamente constante em 10^7 NMP/mL; por fim, no décimo sexto mês há outro declínio, atingindo a concentração de 10^4 NMP/mL.

Nos primeiros meses, a maior concentração das bactérias Aeróbias Heterotróficas sugere uma melhor adaptação desse grupo quando comparado com as bactérias Produtoras de Ácido. Contudo, dada a privação de oxigênio e o estado de batelada, ambos os grupos se estabilizaram em concentrações relativamente baixas e, nos últimos meses, o declínio na concentração está relacionado com o crescimento das Bactérias Redutoras de Sulfato. Salienta-se que alguns microrganismos podem se encontrar na forma de esporos nos biodigestores, tendo em vista as condições adversas para o crescimento aeróbio durante os primeiros meses de ensaio (Schupp *et al.*, 2022).

Torena, Alvarez-Cuenca e Reza (2021) identificaram e caracterizaram duas espécies de microrganismos aeróbios presentes em lodo, o *Bacillus cereus* e *Agromyces mediolanus*. Ambos foram isolados e exibiram crescimento exponencial em meio onde o PET foi a única fonte de carbono, demonstrando capacidade para consumi-lo. *B. cereus* é uma bactéria Gram-positiva, conhecida por ser capaz de degradar diversos polímeros, atingindo a concentração de $7,4 \times 10^6$ UFC/mL. Já a bactéria *A. mediolanus* (gram-positiva) ainda não foi associada à degradação de PET, entretanto demonstraram rápida mutagênese para adaptação ao meio que se encontram, alcançando concentração de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/mL. Diante disso, há a possibilidade de os microrganismos Aeróbios Heterotróficos no presente estudo exibirem potencial para consumir o polímero, quando submetidos a condições favoráveis (Auta; Emenike; Fauziah, 2017).

Ai *et al.* (2018) isolaram e identificaram bactérias Produtoras de Ácido em lodo proveniente de Estação de Tratamento de Água. Constataram a presença das espécies *Bacillus coagulans* e *Escherichia coli* e avaliaram os impactos no processo de digestão anaeróbia e produção de biogás. Este grupo é relevante para a digestão anaeróbia pela geração de compostos que são consumidos pelo grupo metanogênico, todavia, em excesso, pode resultar em redução acentuada de pH, impactando negativamente no processo. Em respeito da produção de biogás, a bactéria *B. coagulans* foi reportada como capaz de auxiliar a produção de gás metano e dióxido de carbono (Kavitha *et al.*, 2017).

As Bactérias Anaeróbias Heterotróficas (Figura 24) partiram da concentração de 10^6 NMP/mL, atingindo o pico ao terceiro mês (10^9 NMP/mL) e, em sequência, sua concentração média decai para valores entre 10^5 e 10^6 NMP/mL. A partir do décimo segundo mês, há um crescimento deste grupo, alcançando a ordem de grandeza de 10^8 NMP/mL. Nos meses finais do estudo, ocorre outra diminuição da concentração, finalizando em 10^6 NMP/mL.

As Bactérias Redutoras de Sulfato (Figura 25) iniciaram na concentração de 10^4 NMP/mL, decaindo a partir do terceiro mês para 10^3 NMP/mL, mantendo-se aproximadamente constante. Houve picos de crescimentos para 10^4 NMP/mL no mês 9 e 13 e, após o décimo quinto mês, observou-se crescimento de até 10^3 NMP/mL.

O crescimento dos grupos anaeróbios (Figura 26) até o terceiro mês corrobora com o decaimento dos grupos aeróbios até o mesmo período, dado o consumo de oxigênio restante nos biodigestores. Posteriormente há o decréscimo da população anaeróbia, motivado pela redução da disponibilidade de substrato no meio. No décimo sexto mês, o decaimento das Aeróbias Heterotróficas deve-se ao crescimento das Redutoras de Sulfato, tendo em vista que este último grupo produz componentes tóxicos (sulfetos e ácidos graxos voláteis) ao primeiro grupo, além de reduzir o pH do meio (Baldacin; Pinto, 2015).

Chen, Niu e Zhang (2010) identificaram cinco espécies anaeróbias presentes em lodo proveniente de esgoto: *Clostridium straminisolvens*, *Clostridium thermocellum*, *Acetivibrio cellulolyticus*, *Clostridium aldrichii* e *Saccharofermentans acetigenes*. São caracterizadas como mesofílicas, com crescimento otimizado em pH próximo ao neutro. Há evidências de suas capacidades em degradar polímeros amorfos de origem natural.

Nachod *et al.* (2021) avaliaram a degradação de PET através da digestão anaeróbia, utilizando resíduos alimentares. Após 104 dias, notou-se apenas mínimos sinais de degradação, enquanto polímeros de origem biotecnológica exibiram degradações notáveis, evidenciando a dificuldade dos microrganismos em degradar o PET, especialmente seu domínio cristalino.

De acordo com Al-Zuhair, El-Naas e Al-Hassani (2008), as Bactérias Redutoras de Sulfato, das espécies *Desulfobulbus propionicus*, *Desulfovibrio desulfuricans* e *Desulfovibrio intestinalis*, apresentam crescimento otimizado em 35 °C e pH neutro, todavia o acúmulo dos subprodutos gerados pode afetar significativamente o desenvolvimento deste grupo, assim como diversos outros grupos microbianos. Desse modo, implicando na estabilização em concentrações relativamente baixas desses microrganismos caso não haja remoção contínua desses compostos (Van den Brand *et al.*, 2015).

Inicialmente, as *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 26) apresentaram uma concentração de 10^6 NMP/mL, decaindo já após um mês de estudo para a ordem de grandeza de 10^3 NMP/mL, e permaneceu oscilando entre 10^3 e 10^2 NMP/mL. Os fungos filamentosos estavam presentes em concentração de 650 UFC/mL, diminuindo após um mês para uma média de 150 UFC/mL, com oscilações de até 300 UFC/mL em alguns meses.

Essa espécie de bactéria aeróbia (Gram-negativa) é reportada por ser capaz de degradar n-alcanos e hidrocarbonetos aromáticos com três ou quatro anéis aromáticos, além de sua capacidade de suportar ambientes hostis. Em relação à degradação do PET, há registros da formação de biofilmes na superfície desse polímero (como única fonte de carbono), indicando o estágio inicial da biodegradação. Todavia, ainda se carece de publicações a respeito do seu potencial em estágios mais avançados da biodegradação do PET (Vague *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2011).

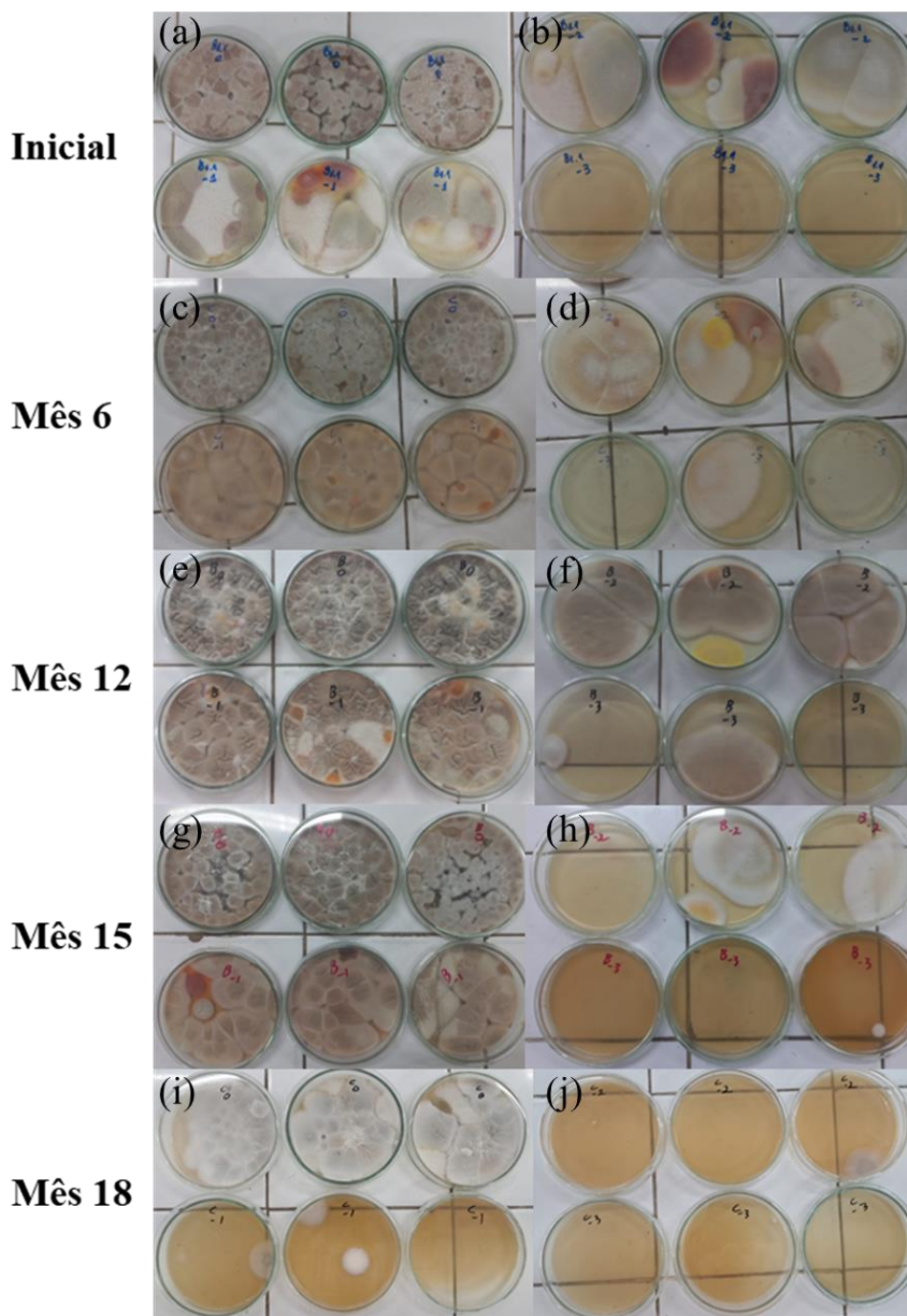
Tratando-se dos fungos filamentosos, a Figura 27 exhibe as fotografias de seu crescimento em placa de Petri, em quatro diluições sucessivas.

Observando as fotografias abaixo, percebe-se a diminuição da quantidade de colônias formadas, principalmente nas placas de Petri de maiores diluições. Visualmente, nota-se que os formatos e colorações iniciais perduram ao longo do experimento, com exceção do último mês, quando se observa predominantemente um aspecto esbranquiçado, até nas menores diluições.

Ahmaditabatabaei *et al.* (2021) constataram diversas espécies de fungos capazes de produzir enzimas cutinases, responsáveis pela degradação do PET, especialmente os de baixa cristalinidade. São eles: *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus nidulans*, *Penicillium citrinum*, *Humicola insolens*, *Fusarium solani*, e *Fusarium oxysporum*.

Eberl *et al.* (2009) avaliaram a atuação de lipases e cutinases provenientes das espécies *Thermomyces lanuginosus*, *Thermobifida fusca* e *Fusarium solani*, na presença de plastificantes – a fim de otimizar o processo de hidrólise. Compreende-se a relevância dos fungos na liberação de exoenzimas, de modo que, até o sistema atingir o regime predominantemente anaeróbio, ocorre a excreção dessas enzimas, que podem permanecer no meio e contribuir posteriormente para a biodegradação (Bermúdez-Garcia *et al.*, 2017).

Figura 27 – Fotografias dos fungos filamentosos, à esquerda (a) (c) (e) (g) (i) tem-se as diluições 0 e -1 e à direita (b) (d) (f) (h) (j) as diluições -2 e -3.



Fonte: Autor, 2024.

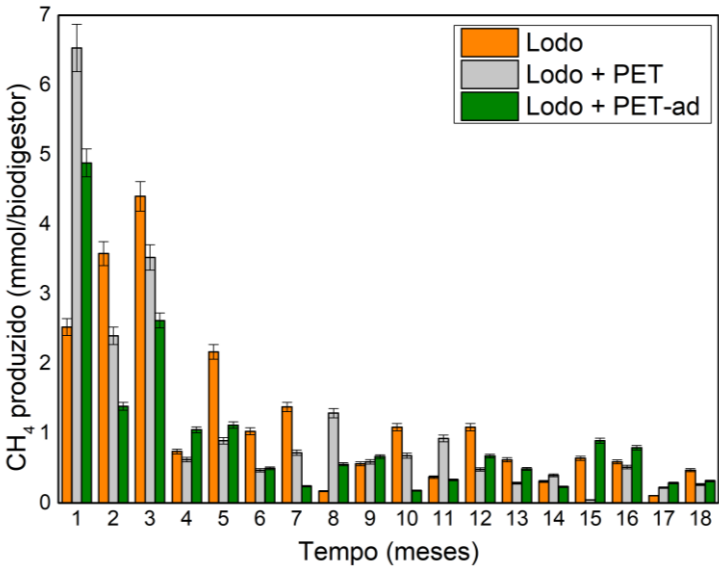
Diante dos resultados apresentados, infere-se que, apesar dos dezoito meses de regime anaeróbio, os microrganismos aeróbios, quando submetidos a condições favoráveis, foram capazes de se desenvolverem, atingindo concentrações significantes; e os grupos anaeróbios mantiveram-se em concentrações relevantes. Isto posto, em condições ambientais,

microrganismos potencialmente degradadores de PET são capazes de persistir mesmo quando submetidos temporariamente a situações adversas.

4.7 PRODUÇÃO DE BIOGÁS

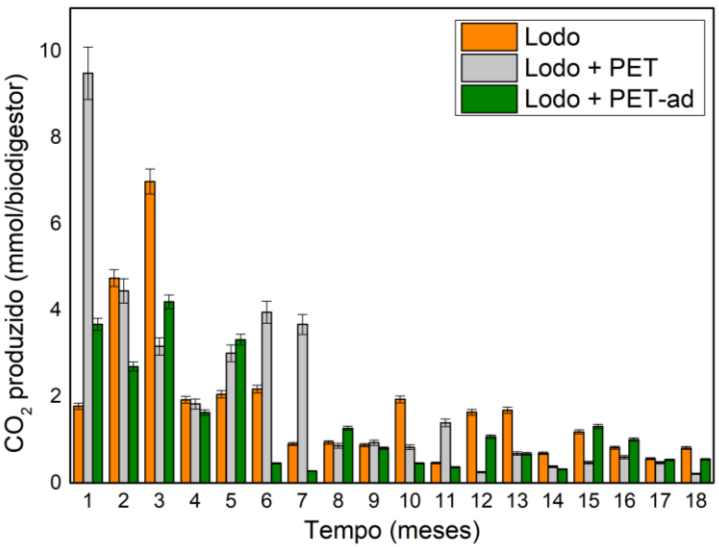
A produção do gás metano e dióxido de carbono foi ilustrada nas Figuras 28 e 29, de acordo com cada sistema.

Figura 28 – Quantidade de gás metano produzida por mês.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 29 – Quantidade de gás dióxido de carbono produzida por mês.



Fonte: Autor, 2024.

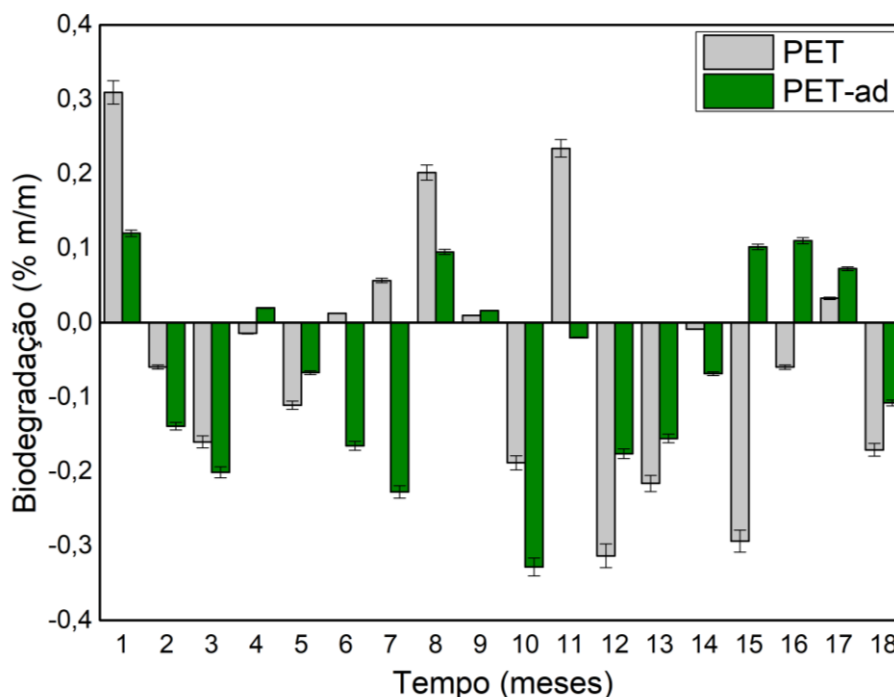
A produção de biogás atingiu seu pico máximo no primeiro mês, decaindo posteriormente até o quarto mês. A partir desse período de quatro meses, houve ligeiro decréscimo de gás produzido até o final dos dezoito meses. Os três sistemas evoluíram com a mesma tendência, apesar da variação mensal entre eles. Ao final, a quantidade de metano total dos sistemas B1 (Lodo), B2 (Lodo + PET) e B3 (Lodo + PET-ad) foram, em sequência, 128,86; 101,96 e 100,36 mmol enquanto a quantidade de dióxido de carbono foi equivalente a 215,83; 184,30 e 156,36 mmol, respectivamente. Prevê-se essa oscilação de produção de biogás entre os sistemas, haja vista a heterogeneidade que o lodo resultante de efluentes apresenta, conforme constatado por Carporagno *et al.* (2015) e por Fountoulakis, Petousi e Manios (2010).

Devido ao fato de o lodo ser biologicamente rico, com micro e macronutrientes necessários para o desenvolvimento dos microrganismos, é esperada uma elevada produção de gás inicialmente (Iticescu *et al.*, 2018). Em geral, pesquisas acerca da geração do biogás são direcionadas a analisá-lo durante semanas ou poucos meses, quando realizadas sob condição de batelada, pois a quantidade produzida decai rapidamente (Battista; Frison; Bolzonella, 2021; Shamurad *et al.*, 2020).

A maior produção média do gás metano, por biodigestor, foi de 4,65 mmol no primeiro mês, decaindo para uma média de 0,80 mmol no quarto mês. A partir daí em diante, manteve-se em pequeno declínio, atingindo 0,35 mmol ao final do décimo oitavo mês. O comportamento da produção de dióxido de carbono foi similar à do gás metano, todavia a maior taxa de declínio ocorreu do primeiro mês (4,98 mmol) até o sétimo (1,61 mmol). Posteriormente, a diminuição tornou-se diminuta até alcançar a média de 0,52 mmol ao final do estudo.

A proporção geral de metano e dióxido de carbono nos meses iniciais manteve-se entre 52,13 e 64,88 % (v/v) e 29,57 e 33,51 % (v/v), respectivamente. Torres *et al.* (2023) avaliaram a formação de biogás em biodigestores, em condições de anaerobiose, e constataram uma média de 65 % (v/v) de gás metano. Sato (2015) utilizou condições similares, na ausência e na presença de filmes de PET, e obteve valores médios de 5,11 mmol/mês de CH₄. Logo, é um indicativo de que a amostra do lodo utilizado pode ser considerada uma amostra representativa, com quantidades relevantes de microrganismos anaeróbios.

A partir da Equação 4 e 5, calculou-se a biodegradação dos filmes (Figura 30), considerando a conversão do carbono presente no polímero em gás metano e dióxido de carbono.

Figura 30 – Biodegradação dos filmes de PET e PET-ad.

Fonte: Autor, 2024.

Observa-se que não há uma tendência de biodegradação, tanto para o PET, como para o PET-ad. Os valores para o PET oscilaram entre -0,31 e 0,31 % (m/m), enquanto os resultados do PET-ad variaram entre -0,33 e 0,12 % (m/m). Isso ocorre devido à quantidade de biogás produzida pelo lodo ser demasiadamente maior que o biogás resultante do consumo dos polímeros. Ou seja, a oscilação provém da geração de CH_4 e CO_2 do lodo e não dos filmes, tendo em vista que os filmes estão na fase inicial da biodegradação, conforme discutido nas análises prévias.

Para efeitos de comparação, teoricamente, 100% de biodegradação equivaleria a 2,655 mmol de gás metano e dióxido de carbono produzidos, o que representa cerca de um quarto do biogás (médio) gerado no primeiro mês. Logo, torna-se difícil quantificar, com exatidão, sua conversão em biogás, tendo em vista a alta produção desses gases do próprio lodo.

Zafiu *et al.* (2023) investigaram a biodegradação do PET aditivado com pró-degradantes em condições aceleradas, em regime aeróbio e anaeróbio. Na ausência de oxigênio, houve uma variação na produção de biogás entre os sistemas com e sem os filmes, porém concluiu-se que não foi afetada pela biodegradação dos plásticos. Em condições aeróbias, identificou-se indícios de degradação apenas a nível molecular, em três meses de pesquisa.

Selke *et al.* (2015) ensaiaram a biodegradação de filmes de PET e polietileno incorporados com aditivos pró-degradantes de cinco diferentes marcas comercializadas nos Estados Unidos, em condições de aerobiose e anaerobiose. Em um período de três anos, não foram identificados indícios de biodegradação, indicando que, em condições naturais, os aditivos não foram capazes de promover efeitos degradantes.

A celulose presente nos biodigestores B4 (Lodo + Celulose), após um mês de pesquisa, não foi recuperada, tendo em vista sua elevada taxa de biodegradação, por ser um polissacarídeo produzido via biológica (Wang *et al.*, 2012). Dessa forma, assume-se que os microrganismos consumiram os filmes de celulose por completo – ou próximo à sua totalidade. Avaliando a biodegradação pela conversão em biogás, verifica-se valores de 10,19 e -5,06 % (m/m). Infere-se que a quantidade de CH₄ e CO₂ produzido apenas pelo lodo, no primeiro mês, é consideravelmente superior à massa da celulose degradada, sendo o valor final pouco influenciado pela biodegradação. Isto posto, corrobora-se a dificuldade de avaliação da biodegradação quando a geração inerente de gás do lodo for elevada e a velocidade de consumo do polímero for baixa.

Em suma, mediante às análises realizadas durante os dezoito meses de estudo, pode-se inferir que o aditivo pró-degradante incorporado no PET não foi capaz de acelerar a biodegradação – acerca da colonização microbiana na superfície dos filmes. Todavia, perante sua possível capacidade de expandir a estrutura polimérica, é razoável conjecturar uma maior taxa de biodegradação no interior dos filmes, em etapas subsequentes a etapa inicial desse processo.

5 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que, para determinar a biodegradação de um material de maneira efetiva, é imprescindível avaliá-lo em diferentes condições, tais como o meio de descarte, a disponibilidade de oxigênio e os microrganismos presentes no meio, tendo em vista a demasiada diversidade de locais onde os rejeitos poliméricos são destinados.

A respeito da variação de massa, foi constatado um diminuto acréscimo nos filmes de PET-ad, sugerindo uma agregação dos componentes do lodo na superfície polimérica, que pode resultar em um maior potencial para a formação de biofilmes. A avaliação superficial, através da MEV, permitiu a observação de resíduos do lodo nos filmes, tanto no PET como no PET-ad, mais evidentes nos meses finais do estudo.

As propriedades térmicas não sofreram alterações, tanto com a incorporação do aditivo, como no decorrer da pesquisa. As temperaturas teóricas de início e final de degradação térmica foram próximas de 403 e 452 °C, respectivamente, enquanto a temperatura de maior taxa de degradação foi de 432 °C. As temperaturas de transição vítrea e fusão foram, em sequência, de 76 e 245 °C; as entalpias de fusão e cristalização apresentaram valores em torno de 46 e 22 J/g, respectivamente, com cristalinidade de 33 %. Ademais, mediante a análise termogravimétrica, foi possível sugerir o modo de ação do pró-degradante, que é capaz de expandir a estrutura do PET, viabilizando o acesso ao interior da sua estrutura para microrganismos.

A partir dos índices de carbonila, hidroxila e éster, foram verificadas pequenas alterações nas ligações químicas presentes nos filmes, reiterando a baixa velocidade de degradação. Tais variações estão atreladas às interações químicas, provenientes de exoenzimas e de componentes do lodo, que ocorrem na superfície dos filmes.

Com referência aos microrganismos presentes no lodo, inicialmente notou-se elevadas quantidades de bactérias aeróbias – 10^{22} NMP/ml dos heterotróficas, 10^{18} NMP/ml produtoras de ácido, enquanto havia 10^6 NMP/ml do grupo anaeróbio. Até o terceiro mês, o grupo aeróbio decaiu, enquanto houve crescimento dos anaeróbios (até 10^9 NMP/ml); posteriormente, observou-se declínio de todos os grupos mencionados. As quantidades das *Pseudomonas aeruginosa*, Bactérias Redutoras de Sulfato e Fungos Filamentosos mantiveram-se aproximadamente constantes em 10^2 NMP/ml, 10^3 NMP/ml e 150 UFC/ml, respectivamente. Ainda, microrganismos potencialmente degradadores de PET são capazes de persistir mesmo quando submetidos a situações adversas.

A análise da produção de biogás revelou um lodo demasiadamente ativo no primeiro mês, decaindo sua formação vertiginosamente em sequência. Não foi constatada a conversão da estrutura polimérica em gás metano e dióxido de carbono, tendo em vista a baixa taxa de biodegradação do PET. Portanto, a quantificação da degradação a partir do biogás possui maior relevância quando a produção deste proveniente da biodegradação é consideravelmente superior à produção inerente ao lodo.

Em suma, após dezoito meses de imersão dos filmes em lodo, sob regime anaeróbio, não foram identificados indícios nítidos do aditivo promover a biodegradação em do PET em curto prazo. Todavia, tendo em vista seu possível potencial para facilitar a biofragmentação e pelo PET requerer centenas de anos para decompor (200 a 600 anos), é necessária uma avaliação mais prolongada, a fim de constatar a efetividade do efeito pró-degradante nas etapas seguintes da biodegradação.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Haja vista o mecanismo de atuação do aditivo pró-degradante, faz-se necessário a avaliação de sua eficiência em etapas mais avançadas de biodegradação, a exemplo da etapa de biofragmentação.

Para atingir esta etapa, pode-se simular condições ambientais aceleradas para que fatores abióticos modifiquem a estrutura polimérica, para que, posteriormente, os filmes sejam submetidos às condições experimentais em questão. Um exemplo para atingir esse objetivo se dá através de uma fotodegradação a partir de radiação ultravioleta. Também é possível preparar um aparato experimental que permita uma recirculação do lodo, de modo que haja maior contato com a superfície dos filmes, causando desgaste superficial e mais interações com os componentes do lodo.

Alternativamente, é possível avaliar o processo de biodegradação em um sistema onde o polímero seja a única fonte de carbono disponível para os microrganismos. O meio utilizado pode ser um meio de cultura específico para uma espécie ou grupo de microrganismos. Tais microrganismos seriam selecionados para compor o sistema de acordo com sua capacidade de consumir o PET.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-SHAIFY, H. I.; MANSOUR, M. S. M. Solid waste issue: Sources, composition, disposal, recycling, and valorization. **Egyptian Journal of Petroleum**, Cairo, v. 27, n. 4, p. 1275-1290, 2018.
- ABOU-ZEID, D. M.; MÜLLER, R. J.; DECKWER, W. D. Biodegradation of aliphatic homopolyesters and aliphatic-aromatic copolyesters by anaerobic microorganisms. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 1687–1697, 2004.
- ACERO, E. H.; RIBITSCH, D.; STEINKELLNER, G.; GRUBER, K.; GREIMEL, K.; EITELJOERG, I.; TROTSCHA, E.; WEI, R.; ZIMMERMANN, W.; ZINN, M.; CAVACO-PAULO, A.; FREDDI, G.; SCHWAB, H.; GUEBITZ, G. Enzymatic Surface Hydrolysis of PET: Effect of Structural Diversity on Kinetic Properties of Cutinases from *Thermobifida*. **Macromolecules**, Graz, v. 44, n. 12, p. 4632–4640, 2011.
- AHMADITABATABAEI, S.; KYAZZE, G.; IQBAL, H.M.N.; KESHAVARZ, T. Fungal Enzymes as Catalytic Tools for Polyethylene Terephthalate (PET) Degradation. **Journal of Fungi**, Londres, v. 7, n. 931, 2021.
- AHMED, T.; SHAHID, M.; AZEEM, F.; RASUL, I.; SHAH, A. A.; NOMAN, M.; HAMMED, A.; MANZOOR, I.; MUHAMMAD, S. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. **Environmental Science and Pollution Research**, Faisalabad, v. 25, n. 8, p. 7287–7298, 2018.
- AI, S.; LIU, H.; WU, M.; ZENG, G.; YANG, C. Roles of acid-producing bacteria in anaerobic digestion of waste activated sludge. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, Changsha, v. 12, n. 6, 2018.
- ALBAYATI, S. H.; MASOMIAN, M.; ISHAK, S. N. H.; MOHAMAD ALI, M. S. B.; THEAN, A. L.; SHARIFF, M.; NOOR, M.; RAJA ABD RAHMAN, R. N. Z. Main structural targets for engineering lipase substrate specificity. **Catalysts**, Selangor, v. 10, n. 747, 2020.
- ALGAPANI, D. E.; QIAO, W.; PUMPO, F.; DI BIANCHI, D.; WANDERA, S. M.; ADANI, F.; DONG, R. Long-term bio-H₂ and bio-CH₄ production from food waste in a continuous two-stage system: Energy efficiency and conversion pathways. **Bioresource Technology**, Beijing, v. 248, p. 204–213, 2018.
- AL-ZUHAIR, S.; EL-NAAS, M. H.; AL-HASSANI, H. Sulfate inhibition effect on sulfate reducing bacteria. **Journal of Biochemical Technology**, v. 1, n. 2, p. 39-44, 2008.
- AMMALA, A.; BATEMAN, S.; DEAN, K.; PETINAKIS, E.; SANGWAN, P.; WONG, S.; YUAN, Q.; YU, L.; PATRICK, C.; LEONG, K. H. An overview of degradable and biodegradable polyolefins. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 1015-1049, 2011.
- ANUAR, K. N. F. S.; HUYOP, F.; UR-REHMAN, G.; ABDULLAH, F.; NORMI, Y. M.; SABULLAH, M.K.; WAHAB, A. R. An Overview into Polyethylene Terephthalate (PET) Hydrolases and Efforts in Tailoring Enzymes for Improved Plastic Degradation. **International Journal of Molecular Science**, Johor Bahru, v. 23, n. 12644, 2022.

AUSTIN, G. H. P.; BEDNAR, D.; DAMBORSKY, J.; BORNSCHEUER, U. T. Mechanism-Based Design of Efficient PET Hydrolases. **ACS Catalysis**, Greifswald, v. 12, n. 6, p. 3382–3396, 2022.

AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; FAUZIAH, S. H. Screening of Bacillus strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. **Environmental Pollution**, Kuala Lumpur, n. 231, p. 1552–1559, 2017.

AWAJA, F.; PAVEL, D. Recycling of PET. **European Polymer Journal**, Melbourne, v. 41, n. 7, p. 1453–1477, 2005.

BABAREMU, K.; OKOYA, S.; HUGHES, E.; TIJANI, B.; TEIDI, D.; AKPAN, A.; IGWE, J.; KARERA, S.; OYINLOLA, M.; AKINLABI, E. Sustainable plastic waste management in a circular economy. **Heliyon**, Johannesburg, v. 8, n. e09984, 2022.

BALDACIN, A. C. S.; PINTO, G. M. F. Biodigestão anaeróbia da vinhaça: aproveitamento energético do biogás. **Revista Eletrônica FACP**. Ano III, n. 7, 2015.

BANDINI, F.; FRACHE, A.; FERRARINI, A.; TASKIN, E.; COCCONCELLI, P. S.; PUGLISI, E. Fate of Biodegradable Polymers Under Industrial Conditions for Anaerobic Digestion and Aerobic Composting of Food Waste. **Journal of Polymers and the Environment**, Piacenza, 2020.

BANNACH, G.; PERPÉTUO, G. L.; CAVALHEIRO, É. T. G.; CAVALHEIRO, C. C. S.; ROCHA, R. R. Efeitos da história térmica nas propriedades do polímero pet: um experimento para ensino de análise térmica. **Química Nova**. São Paulo, v. 34, p. 825–829, 2011.

BARTH, M.; HONAK, A.; OESER, T.; WEI, R.; BELISÁRIO-FERRARI, M. R.; THEN, J.; SCHMIDT, J.; ZIMMERMANN, W. A dual enzyme system composed of a polyester hydrolase and a carboxylesterase enhances the biocatalytic degradation of polyethylene terephthalate films. **Biotechnology Journal**, Leipzig, v. 11, n. 8, p. 1082–1087, 2016.

BARTH, M.; WEI, R.; OESER, T.; THEN, J.; SCHMIDT, J.; WOHLGEMUTH, F.; ZIMMERMANN, W. Enzymatic hydrolysis of polyethylene terephthalate films in an ultrafiltration membrane reactor. **Journal of Membrane Science**, Wohlgemuth, v. 494, p. 182–187, 2015.

BATSTONE, D. J.; TAIT, S.; JENSEN, P. D.; LU, Y.; YAP, S.; PECES, M.; ASTALS, S. Humic acid inhibition of hydrolysis and methanogenesis with different anaerobic inocula. **Waste Management**, Brisbane, v. 80, p. 130–136, 2018.

BATTISTA, F.; FRISON, N.; BOLZONELLA, D. Can bioplastics be treated in conventional anaerobic digesters for food waste treatment? **Environmental Technology & Innovation**, Verona, v. 22, n. 101393, 2021.

BENYATHIAR, P.; KUMAR, P.; CARPENTER, G.; BRACE, J.; MISHRA, D. K. Polyethylene Terephthalate (PET) Bottle-to-Bottle Recycling for the Beverage Industry: A Review. **Polymers**, Kanchanaburi, v. 14, n. 2366, 2022.

BERMÚDEZ-GARCÍA, E.; PEÑA-MONTES, C.; CASTRO-RODRÍGUEZ, J. A.; GONZÁLEZ-CANTO, A.; NAVARRO-OCAÑA, A.; FARRÉS, A. ANCUT2, a Thermo-alkaline Cutinase from *Aspergillus nidulans* and Its Potential Applications. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Cidade do México, v. 182, n. 3, p. 1014–1036, 2017.

BHER, A.; MAYEKAR, P. C.; AURAS, R.A.; SCHVEZOV, C.E. Biodegradation of Biodegradable Polymers in Mesophilic Aerobic Environments. **Internacional Journal of Molecular Sciences**, East Lansing, v. 23, n. 12165, 2022.

BOEHME, M.; CHARTON, C. Properties of ITO on PET film in dependence on the coating conditions and thermal processing. **Surface and Coatings Technology**, Dresden, v. 200, n. 1-4, p. 932–935, 2005.

BRIASSOULIS, D. Mechanical behaviour of biodegradable agricultural films under real field conditions. **Polymer Degradation and Stability**, Athens, v. 91, n. 6, p. 1256-1272, 2006.

CALLISTER, W. D.; SOARES, S. M. S. **Ciência E Engenharia de Materiais Uma Introdução**. Livros Técnicos E Científicos, Rio De Janeiro, 2008.

CAMPANALE, C.; MASSARELLI, C.; SAVINO, I.; LOCAPUTO, V.; URICCHIO, V. F. A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Bari, v. 17, n. 1212, 2020.

CAMPANARO; A. L.; SIMCIK M. F.; MAURER-JONES, M. A.; PENN, R. L. Sewage sludge induces changes in the surface chemistry and crystallinity of polylactic acid and polyethylene films. **The Science of the total environment**, v. 890, n. 164313, 2023.

CANEVAROLO JR., V. **Ciência Dos Polímeros: Um Texto Básico Para Tecnólogos E Engenheiros**. São Paulo, Artliber, 2006.

CAPORGNO, M. P.; TROBAJO, R.; CAIOLA, N.; IBÁÑEZ, C.; FABREGAT, A.; BENGIOA, C. Biogas production from sewage sludge and microalgae co-digestion under mesophilic and thermophilic conditions. **Renewable Energy**, Tarragona, v. 75, p. 374–380, 2015.

CARNIEL, A.; GOMES, A. DA C.; COELHO, M. A. Z.; DE CASTRO, A. M. Process strategies to improve biocatalytic depolymerization of post-consumer PET packages in bioreactors, and investigation on consumables cost reduction. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 507–516, 2020.

CARR, C. M.; CLARKE, D. J.; DOBSON, A. D. Microbial polyethylene terephthalate hydrolases: Current and future perspectives. **Frontiers in Microbiology**, Cork, v. 11, n. 2825, 2020.

CARVALHO, C. S.; RIBEIRINHO, V. S.; DE ANDRADE, C. A.; GRUTZMACHER, P.; PIRES, A. M. M. Composição química da matéria orgânica de lodos de esgoto. **Revista Brasileira De Ciências Agrárias**, Campinas, v. 10, n. 3, p. 413-419, 2015.

CASEY, P. S.; ROSSOUW, C. J.; BOSKOVIC, S.; LAWRENCE, K. A.; TURNEY, T. W. Incorporation of dopants into the lattice of ZnO nanoparticles to control photoactivity. **Superlattices and Microstructures**, Victoria, v. 39, n. 1-4, p. 97–106, 2006.

CHEN, Z.; HAY, J. N.; JENKINS, M. J. FTIR spectroscopic analysis of poly(ethylene terephthalate) on crystallization. **European Polymer Journal**, Birmingham, v. 48, n. 9, p. 1586–1610, 2012.

CLEARY, J. A life cycle assessment of residential waste management and prevention. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, Toronto, v. 19, n. 9, p. 1607-1622, 2014.

DE VRIEZE, J.; PINTO, A. J.; SLOAN, W. T.; IJAZ, U. Z. The active microbial community more accurately reflects the anaerobic digestion process: 16S rRNA (gene) sequencing as a predictive tool. **Microbiome**, Glasgow, v. 6, n. 1, p. 63, 2018.

DJAPOVIC, M.; MILIVOJEVIC, D.; ILIC-TOMIC, T.; LJEŠEVIĆ, M.; NIKOLAIVITS, E.; TOPAKAS, E.; MASLAK, V.; NIKODINOVIC-RUNIC, J. Synthesis and characterization of polyethylene terephthalate (PET) precursors and potential degradation products: Toxicity study and application in discovery of novel PETases. **Chemosphere**, Belgrade, v. 275, n. 130005, 2021.

EBERL, A.; HEUMANN, S.; BRÜCKNER, T.; ARAUJO, R.; CAVACO-PAULO, A.; KAUFMANN, F.; KROUTIL, W.; GUEBITZ, G. M. Enzymatic surface hydrolysis of poly(ethylene terephthalate) and bis(benzoyloxyethyl) terephthalate by lipase and cutinase in the presence of surface active molecules. **Journal of Biotechnology**, Graz, v. 143, n. 3, p. 207–212, 2009.

EL-TOUFAILI, F. **Catalytic and Mechanistic Studies of Polyethylene Terephthalate Synthesis**. Universidade de Berlim, Tese (Doutorado em Ciências Naturais) – Universidade Técnica de Berlin, Berlin, 2006.

EMADIAN, S. M.; ONAY, T. T.; DEMIREL, B. Biodegradation of bioplastics in natural environments. **Waste Management**, Istanbul, v. 59, p. 526–536, 2017.

FAÏ, F.; LINOSSIER, I.; PERON, J. J.; LANGLOIS, V.; VALLÉE-REHEL, K. Antifouling activity of marine paints: Study of erosion. **Progress in Organic Coatings**, Lorient Cedex, v. 60, n. 3, p. 194–206, 2007.

FELDMAN, D. Polymer Weathering: Photo-Oxidation. **Journal of Polymers and the Environment**, Quebec, v. 10, n. 4, p. 163–173, 2002.

FOUNTOULAKIS, M. S.; PETOUSHI, I.; MANIOS, T. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. **Waste Management**, Heraklion, v. 30, n. 10, p. 1849–1853, 2010.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. A importância das propriedades físicas dos polímeros na reciclagem. **Química Nova**, Minas Gerais, n. 18, 2003.

GAMERITH, C.; ZARTL, B.; PELLIS, A.; GUILLAMOT, F.; MARTY, A.; ACERO, E. H.; GUEBITZ, G. M. Enzymatic recovery of polyester building blocks from polymer blends. **Process Biochemistry**, Tulln, v. 59, p. 58–64, 2017.

GAO, R.; PAN, H.; LIAN, J. Recent advances in the discovery, characterization, and engineering of poly (ethylene terephthalate)(PET) hydrolases. **Enzyme and Microbial Technology**, Hangzhou, v. 150, p. 109868, 2021.

GAONKAR, A. A.; MURUDKAR, V. V.; DESHPANDE, V. D. Comparison of crystallization kinetics of polyethylene terephthalate (PET) and reorganized PET. **Thermochimica Acta**, Mumbai, v. 683, n. 178472, 2020.

GIOLITO, M. I. **Fundamentos da Termogravimetria: Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial**. Editora Giz, São Paulo, 2004.

GOK, A.; FAGERHOLM, C. L.; GORDON, D. A.; BRUCKMAN, L. S.; FRENCH, R. H. Degradation of poly(ethylene-terephthalate) under accelerated weathering exposures. **2015 IEEE 42nd Photovoltaic Specialist Conference (PVSC)**, Cleveland, 2015.

GOMEZ, C. C. E.; RUGGERI, B. Syntrophic microorganisms interactions in anaerobic digestion (ad): A critical review in the light of increase energy production. **Chemical Engineering Transactions**, Torino, v. 64, p. 391–396, 2018.

GUTIERREZ-WING, M. T.; STEVENS, B. E.; THEEGALA, C. S.; NEGULESCU, I. I.; RUSCH, K. A. Anaerobic Biodegradation of Polyhydroxybutyrate in Municipal Sewage Sludge. **Journal of Environmental Engineering**, v. 136, n. 7, p. 709–718, 2010.

HARDING, M.W.; MARQUES, L.L.R.; HOWARD, R.J.; OLSON, M.E. Can Filamentous Fungi Form Biofilms? **Trends in Microbiology**, Alberta, v. 17, p. 475–480, 2009.

HU, Y.; WANG, Y.; ZHANG, X.; QIAN, J.; XING, X.; WANG, X. Synthesis of poly(ethylene terephthalate) based on glycolysis of waste PET fiber. **Journal of Macromolecular Science**, Ningbo, Part A, p. 1–9, 2020.

International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, Tamil Nadu, n. 36, p. 204-209, 2015.

ITICESCU, C.; GEORGESCU, L. P.; MURARIU, G.; CIRCIUMARU, A.; TIMOFTI, M. The characteristics of sewage sludge used on agricultural lands, **AIP Conference Proceedings**, 020001, 2018.

JANCZAK, K.; DĄBROWSKA, G. B.; RASZKOWSKA-KACZOR, A.; KACZOR, D.; HRYNKIEWICZ, K.; RICHERT, A. Biodegradation of the plastics PLA and PET in cultivated soil with the participation of microorganisms and plants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Torun, v. 155, n. 105087, 2020.

JANKAUSKAITE, V.; MACIJIAUSKAS, G.; LYGAITIS, R. Polyethylene Terephthalate waste recycling and application possibilities: a review. **Materials Science**, Kaunas, v. 14, n. 2, 2008.

Jl, L. N. Study on Preparation Process and Properties of Polyethylene Terephthalate (PET). **Applied Mechanics and Materials**. Beijing, v. 312, p. 406-410, 2013.

JOO, S.; CHO, I. J.; SEO, H.; SON, H. F.; SAGONG, H. -Y.; SHIN, T. J.; CHOI, S. Y.; LEE, S. Y.; KIM, K. -J. Structural insight into molecular mechanism of poly (ethylene terephthalate) degradation. **Nature Communications**, Daegu, v. 9, n. 382, 2018.

JOSEPH, T. M.; AZAT, S.; AHMADI, Z.; JAZANI, O. M.; ESMAEILI, A.; KIANFAR, E.; HAPONIUK, J.; THOMAS, S. Polyethylene terephthalate (PET) recycling: A review. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, Gdansk, v. 9, p. 100673, 2024.

KARIMPOUR-MOTLAGH, N.; KHONAKDAR, H. A.; JAFARI, S. M. A.; MAHJUB, A.; PANAHI-SARMAD, M.; KASBI, S.F.; SHOJAEI, S.; GOODARZIH, V.; ARJMAND, M. Influence of polypropylene and nanoclay on thermal and thermo-oxidative degradation of poly(lactide acid): TG-FTIR, TG-DSC studies and kinetic analysis. **Thermochimica Acta**, 2020.

KAVITHA, S.; PREETHI, J.; BANU, J. R.; YEOM, I. T. Low temperature thermochemical mediated energy and economically efficient biological disintegration of sludge: simulation and prediction studies for anaerobic biodegradation. **Chemical Engineering Journal**, n. 317, p. 481–492, 2017.

KAWAI, F.; KAWABATA, T.; ODA, M. Current knowledge on enzymatic PET degradation and its possible application to waste stream management and other fields. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Kyoto, 2019.

KAWAI, F.; ODA, M.; TAMASHIRO, T.; WAKU, T.; TANAKA, N.; YAMAMOTO, M.; MIZUSHIMA, H.; MIYAKAWA, T.; TANOKURA, M. A novel Ca^{2+} -activated, thermostabilized polyesterase capable of hydrolyzing polyethylene terephthalate from *Saccharomonospora viridis* AHK190. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Sakyo-ku, v. 98, p. 10053–10064, 2014.

KUSHWAHA, A.; GOSWAMI, L.; SINGHVI, M.; KIM B. S. Biodegradation of poly(ethylene terephthalate): Mechanistic insights, advances, and future innovative strategies, **Chemical Engineering Journal**, v. 457, n. 141230, 2023.

LAKE J. A.; ADAMS S. D. **Chemical additives to make polymeric materials biodegradable**. Depositante: BIO-TEC Environmental LLC. Pat. US2008103232. Depósito: 2008.

LE DIGABEL, F.; AVÉROUS, L. Effects of lignin content on the properties of lignocellulose-based biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, Reims Cedex, v. 66, n. 4, p. 537-545, 2006.

LEWIN, K. **Problemas de dinâmica de grupo**. São Paulo: Cultrix, 1978.

LI, B.; CHEN, G.; ZHANG, H.; SHENG, C. Development of non-isothermal TGA–DSC for kinetics analysis of low temperature coal oxidation prior to ignition. **Fuel**, Nanjing, v. 118, p. 385–391, 2014.

LIMA, J. C.; RAFFAELA, A.; SOUSA, J. C.; ARRUDA, S. A.; ALMEIDA, Y. M. B. Thermal behavior of polyethylene terephthalate/organoclay nanocomposites: investigating copolymers as matrices. **Polymer Composites**. Pernambuco, v. 4, n. 2, p. 849-864, 2020.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J. E. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. **Chemosphere**, Amiens Cedex, v. 73, n. 4, p. 429-442, 2008.

LUO, L.; MENG, H.; GU, J.-D. Microbial Extracellular Enzymes in Biogeochemical Cycling of Ecosystems. **Journal of Environmental Management, Chengdu**, v. 197, p. 539–549, 2017.

MAHESWARAN, B.; AL-ANSARI, M.; AL-HUMAID, L.; RAJ, J. S.; KIM, W.; KARMEGAM, N.; RAFI, K. M. In vivo degradation of polyethylene terephthalate using microbial isolates from plastic polluted environment. **Chemosphere**, Nadu, v. 310, n. 136757, 2023.

MALAFATTI-PICCA, L.; BUCIOLI, E. C.; DE BARROS, C. M. R.; DE CASTRO, A.M.; VALONI, É.; DE OLIVEIRA, V. M.; MARSAIOLI, A. J.; GOVONE, J. S.; DE FRANCESCHI DE ANGELIS, D.; BRIENZO, M.; ATTILI-ANGELIS, D. Fungal Screening for Potential PET Depolymerization. **Polymers**, São Paulo, v. 15, n. 1581, 2023.

MARIA, R.; RABELLO, M.S. Redução da velocidade de cristalização a frio do PET na presença de poliestireno. **Polímeros**. João Pessoa, v. 17, n. 2, p. 113-122, 2007.

MATEO, C.; PALOMO, J. M.; FERNANDEZ-LORENTE, G.; GUIBAN, J. M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. **Enzyme and Microbial Technology**, Madrid, v. 40, n. 6, p. 1451–1463, 2017.

MAURYA, A.; BHATTACHARYA, A.; KHARE, S. K. Enzymatic remediation of polyethylene terephthalate (PET)—Based polymers for effective management of plastic wastes: An overview. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, New Delhi, v. 8, n. 1332, 2020.

MECOZZI, M.; NISINI, L. The differentiation of biodegradable and non-biodegradable polyethylene terephthalate (PET) samples by FTIR spectroscopy: A potential support for the structural differentiation of PET in environmental analysis. **Infrared Physics & Technology**, Roma, v. 101, p. 119-126, 2019.

MOUSSARD, C. **Biochimie Structurale et Métabolique**, Ed. 3. De Boeck & Larcier, Bruxelles, 2006.

MRÓZ, P.; BIAŁAS, S.; MUCHA, M.; KACZMAREK, H. Thermogravimetric and DSC testing of poly(lactic acid) nanocomposites. **Thermochimica Acta**, Lodz, v. 573, p. 186–192, 2013.

MUELLER, R.-J. Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. **Process Biochemistry**, Braunschweig, v. 41, n. 10, p. 2124–2128, 2016.

MULAT, D. G.; HORN, S. J. Biogas production from lignin via anaerobic digestion. **Lignin Valorization: Emerging Approaches**, As, p. 391–412, 2018.

MUTHUKUMAR, A.; VEERAPPAPILLAI, S.; Biodegradation of plastics – A brief review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, Tamil Nadu, n. 36, p. 204-209, 2015.

NACHOD, B.; KELLER, E.; HASSANEIN, A.; LANSING, S. Assessment of Petroleum-Based Plastic and Bioplastics Degradation Using Anaerobic Digestion. **Sustainability**, Maryland, v. 13, n. 13295, 2021.

NAKAMURA, H.; NAKAMURA, T.; NOGUCHI, T.; IMAGAWA, K. Photodegradation of PEEK sheets under tensile stress. **Polymer degradation and stability**, Sapporo, v. 91, n. 4, p. 740-746, 2006.

NISTICÒ, R. Polyethylene terephthalate (PET) in the packaging industry. **Polymer Testing**, Torino, v. 90, n. 106707, 2020.

NOWAK, B.; PAJAK, J.; LABUZEK, S.; RYMARZ, G.; TALIK, E. Biodegradation of poly(ethylene terephthalate) modified with polyester “Bionolle ®” by *Penicillium funiculosum*. **Polimery**, Katowice, v. 56, n. 1, 2011.

PELMONT, J. **Biodégradations et métabolismes. Les bactéries pour les technologies de l'environnement**. EDP Sciences, Les Ulis, 2005

PEPIC, D.; ZAGAR, E.; ZIGON, M.; KRZAN, A.; KUNAVAR, M.; DJONLAGIC, J. Synthesis and characterization of biodegradable aliphatic copolyesters with poly(ethylene oxide) soft segments. **European Polymer Journal**, Belgrade, v. 44, n. 3, p. 904–917, 2008.

PINTO, A. V.; FERREIRA, P.; NEVES, R. P.; FERNANDES, P. A.; RAMOS, M. J.; MAGALHAES, A. L. Reaction Mechanism of MHETase, a PET Degrading Enzyme. **ACS Catalysis**, Porto, v. 11, p. 10416–10428, 2021.

PRATA, J. C.; DA COSTA, J. P.; LOPES, I.; DUARTE, A. C.; ROCHA-SANTOS, T. Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. **Science of the Total Environment**, Aveiro, v. 702, n. 134455, 2020.

RABELLO, M. **Aditivação de Polímeros**, Artliber, Ed.; São Paulo, 2000.

RABELLO, M. S.; WELLEN R. M. R. Estudo da cristalização a frio do poli (tereftalato de etileno) (PET) para produção de embalagens. **Revista eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 3, n. 2, p. 01-09, 2008.

REHMAN, L. U. M.; IQBAL, A.; CHANG, C.; LI, W.; JU, M. Anaerobic Digestion. **Water Environment Research**, Tiajin, 2019.

RICHERT, A.; DĄBROWSKA, G. B. Enzymatic degradation and biofilm formation during biodegradation of polylactide and polycaprolactone polymers in various environments. **International Journal of Biological Macromolecules**, Torun, v. 176, p. 226–232, 2021.

ROHSTOFFE, F. N.; PATERSON, M.; KUHN, W. **Guia prático do biogás**. 5ª Ed., Gülzow, 2010.

ROMÃO, W.; SPINACÉ, M. A. S.; PAOLI, M.-A. D. Poli(tereftalato de etileno), PET: uma revisão sobre os processos de síntese, mecanismos de degradação e sua reciclagem. **Polímeros**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 121–132, 2009.

RUGGERO, F.; GORI, R.; LUBELLO, C. Methodologies to assess biodegradation of bioplastics during aerobic composting and anaerobic digestion: A review. **Waste Management & Research**, v. 37, n.10, p. 959-975, 2019.

SALAM, M. D.; VARMA, A.; PRASHAR, R.; CHOUDHARY, D. Review on Efficacy of Microbial Degradation of Polyethylene Terephthalate and Bio-upcycling as a Part of Plastic Waste Management. **Applied Ecology and Environmental Sciences**, Uttar Pradesh, v. 9, p. 695-703, 2021.

SAMAK, N. A.; JIA, Y.; SHARSHAR, M. M.; MU, T.; YANG, M.; PEH, S.; XING, J. Recent advances in biocatalysts engineering for polyethylene terephthalate plastic waste green recycling. **Environment International**, Beijing, v. 145, n. 106144, 2020.

SANG, T.; WALLIS, C. J.; HILL, G.; BRITOVSEK, J. P. G. Polyethylene Terephthalate Degradation under Natural and Accelerated Weathering Conditions. **European Polymer Journal**, Londres, n. 109873, 2020.

SATO, W. **Effect of a biodegradation promoting additive on polyethylene terephthalate in anaerobic digestion**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Michigan State University, Michigan, 2015.

SCHIMEL, J.P.; SCHAEFFER, S.M. Microbial Control over Carbon Cycling in Soil. **Frontiers in Microbiology**, Santa Barbara, v. 3, n. 348, 2012.

SCHMIDT, J.; WEI, R.; OESER, T.; BELISÁRIO-FERRARI, M. R.; BARTH, M.; THEN, J.; ZIMMERMANN, W. Effect of Tris, MOPS, and phosphate buffers on the hydrolysis of polyethylene terephthalate films by polyester hydrolases. **FEBS Open Bio**, Leipzig, v. 6, n. 9, p. 919–927, 2016.

SCHUPP, D. A.; BURDSALL, A. C.; SILVA, R.G.; HECKMAN, J.L.; KRISHNAN, E.R.; SZABO, J.G.; MAGNUSON, M. Persistence of surrogates for high consequence viral and bacterial pathogens in a pilot-scale activated sludge treatment system. **Plos One**, Fuzhou, v. 17, n. 10, e0275482, 2022.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, Islamabad, v. 26, n. 3, p. 246–265, 2008.

SHAMURAD, B.; SALLIS, P.; PETROPOULOS, E.; TABRAIZ, S.; OSPINA, C.; LEARY, P.; DOLFING, J.; GRAY, N. Stable biogas production from single-stage anaerobic digestion of food waste. **Applied Energy**, Newcastle, v. 263, n. 114609, 2020.

SILVA, G. A. da. **Produção de biogás a partir de resíduos orgânicos e lodo de esgoto**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SINGH, A. K.; BEDI, R.; KAITH, B. S. Composite materials based on recycled polyethylene terephthalate and their properties – A comprehensive review. **Composites Part B: Engineering**, Punjab, v. 219, p. 108928, 2021.

SINGH, R. K.; RUJ, B.; SADHUKHAN, A. K.; GUPTA, P. A TG-FTIR investigation on the co-pyrolysis of the waste HDPE, PP, PS and PET under high heating conditions. **Journal of the Energy Institute**, West Bengal, 2019.

SIRACUSA, V.; BLANCO, I. Bio-Polyethylene (Bio-PE), Bio-Polypropylene (Bio-PP) and Bio-Poly(ethylene terephthalate) (Bio-PET): Recent Developments in Bio-Based Polymers Analogous to Petroleum-Derived Ones for Packaging and Engineering Applications. **Polymers**, Catânia, v. 12, n. 8, 2020.

SIVAN, A. New perspectives in plastic biodegradation. **Current Opinion in Biotechnology**, Beer Sheva, v. 22, n. 3, p. 422–426, 2011.

SOOD, S.; SHARMA, A.; SHARMA, N.; KANWAR, S. Carboxylesterases: Sources, characterization and broader applications. **Insights in Enzyme Research**, ShimLa, v. 1, p. 1–10, 2016.

SOONG, Y. -H. V.; SOBKOWICZ, M. J.; XIE, D. Recent Advances in Biological Recycling of Polyethylene Terephthalate (PET) Plastic Wastes. **Bioengineering**, Lowell, v. 9, n. 98, 2022.

TANIGUCHI, I.; YOSHIDA, S.; HIRAGA, K.; MIYAMOTO, K.; KIMURA, Y.; ODA, K. Biodegradation of PET: Current status and application aspects. **ACS Catalysis**, Kyoto, v. 9, p. 4089–4105, 2019.

THEN, J.; WEI, R.; OESER, T.; BARTH, M.; BELISÁRIO-FERRARI, M. R.; SCHMIDT, J.; ZIMMERMANN, W. Ca^{2+} and Mg^{2+} binding site engineering increases the degradation of polyethylene terephthalate films by polyester hydrolases from *Thermobifida fusca*. **Biotechnology Journal**, v. 10, n. 4, p. 592–598, 2015.

TORENA, P.; ALVAREZ-CUENCA, M.; REZA, M. Biodegradation of polyethylene terephthalate microplastics by bacterial communities from activated sludge. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Toronto, p. 1-14, 2021.

TORRES, A.; PADRINO, S.; BRITO, A.; DÍAZ, L. Biogas production from anaerobic digestion of solid microalgae residues generated on different processes of microalgae-to-biofuel production. **Biomass Conversion and Biorefinery**, La Laguna, v. 13, p. 4659–4672, 2023.

TRINH TAN, F.; COOPER, D. G.; MARIC, M.; NICELL, J. A. Biodegradation of a synthetic co-polyester by aerobic mesophilic microorganisms. **Polymer Degradation and Stability**, Québec, v. 93, n. 8, p. 1479–1485, 2008.

TUFFI, R.; D'ABRAMO, S.; CAFIERO, L. M.; TRINCA, E.; VECCHIO CIPRIOTI, S. Thermal behavior and pyrolytic degradation kinetics of polymeric mixtures from waste packaging plastics. **Express Polymer Letters**, Roma, v. 12, n. 1, p. 82–99, 2018.

VÁCLAVÍK, V.; ONDRAŠIKOVÁ, I.; DVORSKÝ, T.; CERNOCHOVÁ, K. Leachate from municipal waste landfill and its natural degradation—A case study of zubří, Zlín region. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Ostrava, n. 13, v. 873, 2016.

VAGUE, M.; CHAN, G.; ROBERTS, C.; SWARTZ, N.A; MELLIES, J. L.; Pseudomonas isolates degrade and form biofilms on polyethylene terephthalate (PET) plastic. **Biorxiv**, Portland, n. 647321, 2019.

VAN DEN BRAND, T. P. H.; ROEST, K.; CHEN, G. H.; BRDJANOVIC, D.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Occurrence and activity of sulphate reducing bacteria in aerobic activated sludge systems. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Delft, v. 31, n. 3, p. 507–516, 2015.

VOHLÍDAL, J. Polymer degradation: a short review. **Chemistry Teacher International**, Praha, v. 3, n. 2, p. 213-220, 2020.

WALLSTRÖM, S.; STRÖMBERG, E.; KARLSSON, S. Microbiological growth testing of polymeric materials: an evaluation of new methods. **Polymer Testing**, Stockholm, v. 24, n. 5, p. 557–563, 2005.

WANG, M.; LIU, K.; DAI, L.; ZHANG, J.; FANG, X. The structural and biochemical basis for cellulose biodegradation. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, Shandong, v. 88, n. 4, p. 491–500, 2012.

WEI, R.; HAUGWITZ, G.; PFAFF, L.; MICAN, J.; BADENHORST, C. P. S.; LIU WEBER,

WEI, R.; OESER, T.; BARTH, M.; WEIGL, N.; LÜBS, A.; SCHULZ-SIEGMUND, M.; HACKER, M. C.; ZIMMERMANN, W. Turbidimetric analysis of the enzymatic hydrolysis of polyethylene terephthalate nanoparticles. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Leipzig, 103, 72–78, 2014.

YEW, G. H.; MOHD YUSOF, A. M.; MOHD ISHAK, Z. A.; ISHIAKU, U. S. Water absorption and enzymatic degradation of poly(lactic acid)/rice starch composites. **Polymer Degradation and Stability**, Penang, v. 90, n. 3, p. 488-500, 2005.

ZAFIU, C.; BINNER, E.; HÖCK, ; SWIECHOWSKI, K.; HUBER-HUMER, M. Study on the degradability of plastics with prodegradant additives during anaerobic and aerobic biological waste treatment processes. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, Vienna, v. 25, p. 3545–3556, 2023.

ZHANG, Z.; HOU, Z.; YANG, C.; MA, C.; TAO, F.; XU, P. Degradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum by a newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* DQ8. **Bioresource Technology**, Jinan, v. 102, n. 5, p. 4111–4116, 2011.

ANEXO A – VALORES DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE MICRORGANISMOS AERÓBIOS

Figura 31 – Valores de número mais provável de microrganismos aeróbios.

Técnicas básicas de contagem de microrganismos pelo número mais provável (NMP) □ 59

Anexo 4.1. Tabelas de NMP

Tabela NMP-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. Quantidade inoculada da amostra: 0,1 - 0,01 e 0,001g ou ml.

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).

Fonte: Biodgett, 2010.

ANEXO B – VALORES DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE MICRORGANISMOS ANAERÓBIOS

Figura 32 – Valores de número mais provável de microrganismos anaeróbios.

Tabela NMP

VALUES OF THE MPN FOR 3 TUBES WITH
THREE SUCCESSIVE 10 FOLD DILUTION

SEA WATER COOLING CIRCUITS

- Cu/Ni when stagnant: sulphate-reducing bacteria
- Loss of heat transfer by microfouling: general and sulphate-reducing bacteria
- After prolonged shut-downs: sulphate-reducing bacteria

SEA WATER BALLASTED FUEL

- Fungi in kerosene
- Oil degraders, sulphate-reducing bacteria in diesel
- Fouling on CP anodes
- Filter blockages

HYDRAULIC FLUIDS

- General oil degraders, heterotrophs, sulphate-reducing bacteria

FIRE MAINS

- Sulphate-reducing bacteria in stagnant or low flow mains
- Sprinkler pipe feeds (clogging of jets)
- Pressure pump castings: damage to non-ferrous metals

SEA WATER FILLED CAISSONS AND LEGS

- Sulphate-reducing bacteria: safety hazard from H₂S

APPENDIX B

Most Probable Number Tables

Full details of estimation of the MPN in a sample and estimation of confidence limits, see Harrigan, W.F. & McCance, (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press.

Successive dilutions should be used to cover a suitable range of positive and negative vials. The MPN can be estimated by multiplying the MPN derived from the table by the dilution factor of the first dilution.

Example: if the first three dilutions (1/10, 1/100 & 1/1000) are used, an MPN from the table of 15 indicates numbers of $15 \times 10 = 150$ per ml of sample.

Example: if 1/100, 1/1000 and 1/10000 dilutions are used, an MPN of 15 indicates numbers of $15 \times 100 = 1500$ per ml of sample.

1500 col/ml AMOSTER

Number of positive tubes observed at each dilution	MPN of micro-organisms per ml of the dilution		
1st dilution	2nd dilution	3rd dilution	
0	0	0	0
0	0	1	0.3
0	1	0	0.3
0	1	1	0.6
0	2	0	0.6
1	0	0	0.4
1	0	1	0.7
1	0	2	1.1
1	1	0	0.7
1	1	1	1.1
1	2	0	1.1
1	2	1	1.5
1	2	2	1.3
2	0	0	0.9
2	0	1	1.4
2	0	2	2.0
2	1	0	1.5
2	1	1	2.0
2	1	2	3.0
2	2	0	2.0
2	2	1	3.0
2	2	2	3.5
2	2	3	4.0
2	3	0	3.0
2	3	1	3.5
2	3	2	4.0
3	0	0	2.5
3	0	1	4.0
3	0	2	6.5
3	1	0	4.5
3	1	1	7.5
3	1	2	11.5
3	1	3	16.0
3	2	0	9.5
13	2	1	15.0
3	2	2	20.0
3	2	3	30.0
3	3	0	25.0
3	3	1	45.0
3	3	2	110.0
3	3	3	140.0

Fonte: Biodgett, 2010.