



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

**LHAIRA SOUZA BARRETO**

**BIODEGRADAÇÃO: UMA ALTERNATIVA PARA MINIMIZAR OS  
IMPACTOS DECORRENTES DOS RESÍDUOS PLÁSTICOS EM  
AMBIENTE AQUÁTICO**

RECIFE  
2022

**LHAIRA SOUZA BARRETO**

**BIODEGRADAÇÃO: UMA ALTERNATIVA PARA MINIMIZAR OS  
IMPACTOS DECORRENTES DOS RESÍDUOS PLÁSTICOS EM  
AMBIENTE AQUÁTICO**

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Ciência  
de Materiais da Universidade Federal de  
Pernambuco, como parte dos requisitos  
necessários para obtenção do título de  
Doutor em Ciências de Materiais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Glória Maria Vinhas

Orientadora externa: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sara Horácio de Oliveira Maciel

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Yêda Medeiros Bastos de Almeida

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Josiane Dantas Vieira Barbosa

**RECIFE  
2022**

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Barreto, Lhaira Souza.

Biodegradação: uma alternativa para minimizar os impactos decorrentes dos resíduos plásticos em ambiente aquático / Lhaira Souza Barreto. - Recife, 2022.

95f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais, 2022.

Orientação: Glória Maria Vinhas.

Coorientação: Sara Horácio de Oliveira Maciel.

Coorientação: Yêda Medeiros Bastos de Almeida.

Coorientação: Josiane Dantas Vieira Barbosa.

1. Biodegradação; 2. PHB; 3. PBAT; 4. PET; 5. PEAD. I.  
VINHAS, Glória Maria et al. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

Recife  
2022

**LHAIRA SOUZA BARRETO**

**BIODEGRADAÇÃO: UMA ALTERNATIVA PARA MINIMIZAR OS  
IMPACTOS DECORRENTES DOS RESÍDUOS PLÁSTICOS EM  
AMBIENTE AQUÁTICO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciência de Materiais da  
Universidade Federal de Pernambuco, como parte  
dos requisitos necessários para obtenção do título  
de Doutor em Ciências de Materiais.

Aprovada em 18/01/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Profa. Dra. Rosmary Nichele Bandalise  
Universidade de Caxias do Sul

---

Profa. Dra. Dayanne Diniz de Souza  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Eduardo Padron Hernandez  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Pedro Ferreira de Souza Filho  
Universidade Federal de Pernambuco

Recife  
2022

## AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi resultado não só do meu esforço, mas também do apoio de algumas pessoas, que devem ser lembradas com carinho. Assim, apresento os meus sinceros agradecimentos:

As minhas orientadoras, Prof.<sup>a</sup> Dra. Glória Maria Vinhas e Prof.<sup>a</sup> Dra. Sara Horácio de Oliveira Maciel, pelas orientações fornecidas durante o desenvolvimento desde trabalho, ensinamentos, oportunidades, a amizade, pela paciência, apoio incondicional e permanente e por sempre ofertarem uma palavra de carinho para amenizar os momentos difíceis;

As minhas Co-orientadoras Prof.<sup>a</sup> Dra. Yêda Medeiros Bastos de Almeida e Prof.<sup>a</sup> Dra. Josiane Viana Barbosa por me acolherem e pelas enriquecedoras contribuições feitas neste trabalho;

Agradeço ao SENAI CIMATEC de Salvador pelo acolhimento e dedicação na elaboração desse trabalho, em especial Michele e Luís;

Muito obrigada a todos técnicos do Laboratório Microbiologia Industrial, e a todos do LPQ, em especial Mariana, Izarelle, Rafaella, Michele, Fernanda e Ivo;

Aos meus amigos do doutorado, Ângela, Sarah, Ewerton, Jessica, Edielen, Sanderson e Laurertan, por todo o carinho e cuidado em todas as horas, sempre com uma palavra de incentivo;

Aos meus pais, Orival Barreto e Katia Barreto, pela dedicação durante todos os anos da minha vida e por viverem todos os meus sonhos;

Aos meus irmãos, Henrique e Josuela, pelo companheirismo, carinho e por participarem efetivamente da construção dos meus sonhos, deixando sempre a certeza que nunca estarei sozinha;

Ao meu sobrinho Bernardo, por ser o amor e a minha saudade mais bonita.

Ao meu namorado Matheus pela grande parceria ao longo desses anos, pelo apoio incondicional, pela serenidade, positividade e pelas palavras de força, encorajamento e confiança em todos os momentos que precisei. Sou grata também pela família dele que sempre me acolheu com imenso carinho;

Aos membros da banca examinadora, agradeço.

Agradeço a UFPE, PGMTR, SENAI CIMATEC, UESC e FACEPE.

A natureza de Deus em todas as formas universais.

A todos vocês minha gratidão!

“Sou uma filha muito amada de Deus”

## RESUMO

A crescente produção e utilização dos polímeros convencionais em diferentes aplicações comerciais representa uma preocupação significativa, tanto por suas origens, depender de fontes não renováveis, os combustíveis fósseis, como por causar os impactos ambientais após seus descartes. O descarte desses materiais no ambiente tornou-se um problema relevante, pois tem gerado um elevado montante de lixo e comprometido diferentes ecossistemas, sendo notórios nos últimos anos, os impactos em oceanos e rios, tornando-se alvo de interesse de pesquisadores em diversas áreas. O objetivo desse estudo foi avaliar a biodegradação dos polímeros Poli(hidroxibutirato) – PHB, poli [(adipato de butileno)-co-(tereftalato de butileno)], - PBAT, poli (tereftalato de etileno)–PET e o Polietileno de alta densidade–PEAD em sistemas estáticos, utilizando como fluido a água do mar da Região Litorânea do Estado de Pernambuco. As mudanças causadas pela ação microbiana nos corpos de prova, foram analisadas por ensaios gravimétricos e análise das propriedades mecânicas dos polímeros antes e depois da exposição. A composição química foi avaliada pela espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As análises térmicas destes polímeros foram realizadas usando calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimétrica (TGA), para a determinação da temperatura de fusão e a cristalinidade de cada polímero. Os resultados dos ensaios gravimétricos mostraram que as taxas de degradação foram maiores para o PHB e PBAT, o que é corroborado pelos ensaios microbiológicos dos sistemas que demonstraram que a superfície do PEAD e do PET são menos susceptíveis à formação de biofilmes e, consequentemente, à ação enzimática dos microrganismos. Através do FTIR foi observado que a biodegradação para o PHB ocorre tanto na fase amorfa como na cristalina e para os outros polímeros não houve evidências da biodegradação. Nas análises térmicas não foi observado diferença da cristalinidade, nem diferença significativa na estabilidade térmica, após a exposição ao fluido em estudo em todos os períodos.

Palavras-chave: Biodegradação, PHB, PBAT, PET, PEAD

## ABSTRACT

The growing production and use of conventional polymers in different commercial applications represents a significant concern, both because their origins depend on non-renewable sources, fossil fuels, and because they cause environmental impacts after their disposal. The disposal of these materials in the environment has become a relevant problem, as it has generated a high amount of waste and compromised different ecosystems, the impacts on oceans and rivers being notorious in recent years, becoming a target of interest for researchers in various áreas. The aim of this study was to evaluate the biodegradation of polymers Poly(hydroxybutyrate) – PHB, poly[(butylene adipate)-co-(butylene terephthalate)],-PBAT, poly(ethylene terephthalate)-PET and high polyethylene density-HDPE in static systems, using sea water from the coastal region of the State of Pernambuco as fluid. The changes caused by microbial action in the specimens were analyzed by gravimetric tests and analysis of mechanical properties of polymers before and after exposure. The chemical composition was evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Thermal analyzes of these polymers were performed using differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric (TGA), to determine the melting temperature and crystallinity of each polymer. The results of the gravimetric tests showed that the degradation rates were higher for PHB and PBAT, which is corroborated by the microbiological tests of the systems that demonstrated that the surface of HDPE and PET are less susceptible to biofilm formation and, consequently, to biofilm formation. enzymatic action of microorganisms. Through FTIR it was observed that biodegradation for PHB occurs both in the amorphous and in the crystalline phase and for the other polymers there was no evidence of biodegradation. In the thermal analysis, no difference in crystallinity was observed, nor a significant difference in thermal stability, after exposure to the fluid under study in all periods.

Keywords: Biodegradation, PHB, PBAT, PET, HDPE

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Reação geral da degradação enzimática de PET em meio aquoso.....	17
<b>Figura 2</b> - Degradação de PET. A PETase catalisa a clivagem hidrolítica do PET para produzir BHET, MHET e TPA .....	18
<b>Figura 3</b> - Mecanismo hipotético da Degradação enzimática de PE .....	20
<b>Figura 4</b> - Vias de degradação de polímeros por microrganismos .....	21
<b>Figura 5</b> - Degradação enzimática de PHB em meio aquoso.....	25
<b>Figura 6</b> - Reação reversível catalisada pela $\beta$ –cetotiolase .....	25
<b>Figura 7</b> - Etapas de formação de um biofilme sobre superfícies: iniciando com a aproximação de bactérias planctônicas e adesão irreversível (1), crescimento com produção de EPS (2) e desprendimento (3).....	33
<b>Figura 8</b> - Biorreator montado .....	40
<b>Figura 9</b> - Fotografia dos corpos de prova do ensaio de tração de acordo com norma ISO 527 .....	44
<b>Figura 10</b> - Quantificação de bactérias planctônicas na água do mar utilizada no experimento.....	45
<b>Figura 11</b> - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 7 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e <i>Pseudomonas</i> sp .....	47
<b>Figura 12</b> - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 14 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e <i>Pseudomonas</i> sp .....	47
<b>Figura 13</b> - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 30 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e <i>Pseudomonas</i> sp .....	48
<b>Figura 14</b> - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 90 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e <i>Pseudomonas</i> sp .....	50
<b>Figura 15</b> - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 120 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e <i>Pseudomonas</i> sp .....	50
<b>Figura 16</b> - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 180 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e <i>Pseudomonas</i> sp .....	51

<b>Figura 17</b> - Perda de massa do PHB, PBAT, PET e PEAD ao decorrer de 180 dias.	52
<b>Figura 18</b> - Termogramas de decomposição do PHB (a) e (b) de zero a 180 dias.	54
<b>Figura 19</b> - Termogramas de decomposição do PBAT (a) e (b) de zero a 180 dias.	55
<b>Figura 20</b> - Termogramas de decomposição do PET (a) e (b) de zero a 180 dias....	57
<b>Figura 21</b> - Termogramas de decomposição do PEAD (a) e (b) de zero a 180 dias.	58
<b>Figura 22</b> - Curvas DSC do PHB antes e após a biodegradação .....	59
<b>Figura 23</b> - Curvas DSC do PBAT antes e após a biodegradação .....	60
<b>Figura 24</b> - Curvas DSC do PET antes e após a biodegradação .....	61
<b>Figura 25</b> - Curvas DSC do PEAD antes e após a biodegradação.....	62
<b>Figura 26</b> - Espectro de FTIR do PHB inicial, PHB 7 dias, PHB 14 dias e PHB 30 dias, PHB 60 dias, PHB 90 dias, PHB 120 dias e PHB 180 dias em água do mar. ....	64
<b>Figura 27</b> - Espectros de FTIR, na faixa de 1780 – 1680 cm <sup>-1</sup> , com ajuste Lorentziano do PHB inicial (a), PHB 7 dias (b), PHB 14 dias (c), PHB 30 dias (d), PHB 60 dias (e), PHB 90 dias (f), PHB 120 dias (g) e PHB 180 dias (h), em água do mar. Obs.: absorbância em 1 .....	65
<b>Figura 28</b> - Espectro de FTIR do PBAT inicial, PBAT7 dias, PBAT14 dias e PBAT 30 dias, PBAT 60 dias, PBAT 90 dias, PBAT 120 dias e PBAT 180 dias em água do mar. Na faixa de 4000 - 400 cm <sup>-1</sup> .....	67
<b>Figura 29</b> - Espectro de FTIR do PET inicial, PET 7 dias, PET 14 dias e PET 30 dias, PET 60 dias, PET 90 dias, PET 120 dias e PET 180 dias em água do mar. Na faixa de 4000 - 400 cm <sup>-1</sup> .....	69
<b>Figura 30</b> - Espectro de FTIR do PEAD inicial, PEAD 7 dias, PEAD14 dias e PEAD 30 dias, PEAD 60 dias, PEAD 90 dias, PEAD 120 dias e PEAD 180 dias em água do mar. Na faixa de 4000 - 400 cm <sup>-1</sup> .....	69
<b>Figura 31</b> - Espectro de FTIR expandidos para as amostras de PEAD.....	70
<b>Figura 32</b> - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PHB .....	72
<b>Figura 33</b> - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PBAT .....	75
<b>Figura 34</b> - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PET .....	77
<b>Figura 35</b> - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PEAD.....	78

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1</b> - Exemplos de literatura sobre biodegradação de polímeros .....	22
<b>Tabela 2</b> - Microrganismos tipicamente usados em testes de biodegradabilidade de polímeros.....	30
<b>Tabela 3</b> - Espécies de bactérias degradadores de polímeros.....	30
<b>Tabela 4</b> - Espécies de fungos degradadoras de polímeros.....	30
<b>Tabela 5</b> - Concentração de sais em água do mar.....	35
<b>Tabela 6</b> - Comparação das propriedades dos polímeros em estudo.....	40
<b>Tabela 7</b> - Condições de temperatura de processamento das misturas na extrusora (Vazão = 3,0 kg/h). .....	41
<b>Tabela 8</b> - Condições de injeção .....	42
<b>Tabela 9</b> - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PHB.....	54
<b>Tabela 10</b> - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PHB.....	56
<b>Tabela 11</b> - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PET .....	57
<b>Tabela 12</b> - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PEAD. ....	58
<b>Tabela 13</b> - Temperatura de fusão (Tm) e cristalização (Tc), grau de cristalinidade ( $\Delta X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para todos os polímeros obtidos através de DSC. ....	63
<b>Tabela 14</b> - Índices de Carbonilas, de fase amorfa e cristalina, calculados para o PHB. ....	66
<b>Tabela 15</b> - Índices de Carbonilas do PBAT após a biodegradação.....	68
<b>Tabela 16</b> - Propriedades mecânicas antes e depois da inoculação do PHB .....	71
<b>Tabela 17</b> - Propriedades mecânicas antes e depois da biodegradação do PBAT	74
<b>Tabela 18</b> - Propriedades mecânicas antes e depois da biodegradação do PET. 76	
<b>Tabela 19</b> - Propriedades mecânicas antes e depois da biodegradação do PEAD. 78	

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. OBJETIVOS .....	14
2.1. Objetivo Geral.....	14
2.2. Objetivos Específicos.....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
3.1 Degradação dos Polímeros .....	16
3.1.1 Degradação do Poli (tereftalato de etileno) (PET) .....	17
3.1.2 Degradação do Polietileno (PE).....	19
3.2 Biodegradação dos polímeros .....	21
3.2.1 Polímeros Biodegradáveis .....	22
3.3 Microrganismos envolvidos na biodegradação .....	27
3.3.1 Microrganismos envolvidos na biodegradação dos polímeros em meio aquoso .....	30
3.4 Biofilmes .....	32
3.4.1 Biofilmes em materiais poliméricos.....	33
3.5 Fluido do Processo .....	35
3.5.1 Água do mar .....	35
3.6 Técnicas de Caracterização de Polímeros.....	36
3.6.1 Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	36
3.6.3 Análises Térmicas .....	37
3.6.4 Ensaios Mecânicos.....	38
4. MATERIAIS E METÓDOS.....	39
4.1 Materiais .....	39
4.1.1 PHB .....	39
4.1.2 PBAT .....	39
4.1.3 PET.....	39
4.1.4 PEAD.....	39

4.2.1. Biorreatores .....	40
4.2.2. Fluido de processo .....	41
4.3. Métodos.....	41
4.3.1. Processamento em extrusora .....	41
4.3.2. Injeção .....	41
4.3. Caracterização das Amostras.....	42
4.3.1. Análise de microrganismos sésseis .....	42
4.4.2. Ensaio Gravimétrico (Perda de massa) .....	43
4.4.3. Análise Termogravimétrica (TGA).....	43
4.4.4. Calorimetria diferencial exploratória (DSC) .....	43
4.4.5. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR).....	44
4.4.6. Ensaios Mecânicos de tração .....	44
4.4.7. Análise estatística .....	45
5. RESULTADOS .....	45
5.1. Análises Microbiológicas.....	45
5.1.1. Bactérias Planctônicas da Água do Mar .....	45
5.1.2. Bactérias Sésseis nos Diferentes Sistemas.....	46
5.2. Ensaios Gravimétricos .....	52
5.3. Análise Termogravimétrica (TGA).....	53
5.4. Calorimetria Exploratório Diferencial (DSC) .....	59
5.5. FTIR.....	64
5.6. Ensaios Mecânicos .....	71
5.6.1. Tração .....	71
6. CONCLUSÕES .....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

## 1. INTRODUÇÃO

Os materiais poliméricos exercem um papel fundamental na sociedade, tendo suas origens no final do século XIX, mas que realmente vieram à tona em meados do século XX (BERGMANN, *et al.* 2015). Sendo utilizados para diversas aplicações, devido a sua alta versatilidade, baixo custo e boas propriedades mecânicas, químicas e físicas (YUAN *et al.* 2020).

No entanto, o impacto ambiental causado por sua rápida descartabilidade, associado à baixa taxa de degradação e a alta flutuabilidade, vem causando um grande acúmulo, tanto nos ecossistemas terrestres como aquáticos. Tornando-se alvo de interesse de cientistas que reconhecem a necessidade de medidas urgentes de gestão para a sustentabilidade dos serviços ecossistêmicos marinhos no futuro (ERIKSEN *et al.* 2013; ROCHMAN *et al.* 2013; VEGTER *et al.* 2014; PERKINS, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDES *et al.* 2019; BERGMANN *et al.* 2019; DANSO *et al.* 2019).

Em decorrência da atividade industrial, hábitos de consumo e principalmente da má gestão de resíduos, prevê-se que até 26 bilhões de toneladas de resíduos plásticos serão produzidos até 2050, e mais da metade será jogada fora em aterros sanitários e, finalmente, entrará em ecosferas, como oceanos e lagos, levando a uma poluição ambiental grave (JAMBECK *et al.* 2015; LÖNNSTEDT E EKLÖV, 2016; GEYER *et al.* 2017).

Estima-se que grandes quantidades de resíduos poliméricos, cerca de 70%, podem estar depositadas no fundo dos oceanos, muitos deles fragmentados em pedaços tão pequenos (pellets e fibras sintéticas) que não são captados pelas análises convencionais e podem ser transportados por longas distâncias pelos ventos e correntes predominantes (BARNES *et al.* 2009; HIRAGA *et al.* 2019; YUAN *et al.* 2020). O problema agrava-se quando se associa a questão das cadeias alimentares marinhas, onde o lixo pode ser confundido com o alimento, gerando consequências fatais (SMITH *et al.* 2018; MACHADO *et al.* 2018; JAISWAL, *et al.* 2020).

Segundo Gregory (2009), a maioria das ameaças às espécies marinhas são causadas pelo lixo polimérico que vai para o mar, onde tende a se acumular. Anualmente, a poluição do plástico é considerada responsável pela morte de cerca de 1 milhão de aves marinhas, bem como 100.000 mamíferos marinhos e tartarugas (JAISWAL, *et al.* 2020. A lista de organismos, incluindo peixes, invertebrados e

zooplânctons afetados, indica que detritos poliméricos estão prejudicando um número significativo de espécies (Nel *et al.* 2018). O problema vem sendo subestimado, já que a maioria das vítimas provavelmente não são descobertas em grande parte das áreas oceânicas.

Apesar de muitos polímeros apresentarem como característica notória resistência à degradação, eles não são isentos. A indústria e os grupos de pesquisa realizam estudos para diminuir a taxa de degradação em muitas aplicações (ANDRADY, 2011; AZEVEDO *et al.* 2016).

Recentemente estudos testaram a capacidade de degradação de diferentes polímeros. Naranci *et al.* (2018), observaram que o PLA (Poliácido láctico) não é biodegradável em compostagem ou em reatores simuladores de ambientes marinhos. A colonização de PHBV (poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) foi monitorado em um aquário em água do mar natural durante 6 semanas, mostrando que a densidade de colonização é maior nestas plásticos do que nos não biodegradáveis (Dussud *et al.* 2018) mas o perfil de colonização bacteriana dos plásticos biodegradáveis não foi descrito. Finalmente Delacuvellerie *et al.* (2021), estudaram a biodegradação no ambiente marinho natural, de polímeros compostáveis (PBAT, PLA semicristalino e amorfos) e polímeros não compostáveis (polietileno, poliestireno, tereftalato de polietileno, cloreto de polivinila) submersos *in situ* no sedimento e na coluna de água do Mar Mediterrâneo, após 82 dias de imersão, nenhuma degradação significativa dos diferentes polímeros foi observada, exceto algumas alterações abióticas de PBAT e PEBD provavelmente devido a um processo de fotooxidação.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a biodegradação dos polímeros, PHB, PBAT, PET e PEAD, em sistemas estáticos, utilizando como fluido a água do mar.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a biodegradação dos polímeros PHB, PBAT, PET e PEAD em sistemas estáticos, utilizando como fluido biológico a água do mar da Região Litorânea do Estado de Pernambuco.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar corpos de provas dos polímeros PHB, PBAT, PET e PEAD;
- Montar os biorreatores para adequar os ensaios de biodegradação;
- Caracterizar os corpos de prova poliméricos antes da biodegradação;
- Realizar os ensaios de biodegradação dos polímeros, PHB, PBAT e PET no fluido em estudo e comparar com o polímero petroquímico (PEAD);
- Quantificar a concentração das bactérias heterotróficas aeróbias (BHA) e anaeróbias (BHAn), bactérias precipitantes do ferro (BPF), *Pseudómonas* sp., bactérias redutoras de sulfato (BRS) e fungos filamentosos; na água do mar e polímeros e avaliar a influências desses microrganismos na biodegradação dos polímeros;
- Avaliar os corpos de provas após os ensaios de biodegradação por: Análise de microrganismos sésseis, Ensaio gravimétrico, Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), e Ensaio mecânico (tração).

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 DEGRADAÇÃO DOS POLÍMEROS**

Várias definições têm sido utilizadas para degradação dos polímeros, mas de maneira geral, pode ser definida como qualquer reação química que altera a qualidade de interesse do material, causada por agentes físicos e/ou por agentes químicos, acarretando uma modificação irreversível nas propriedades (PAOLI, 2008). Em geral, o processo de degradação inicia com mudanças que são geralmente indesejáveis, como a formação de fissuras, amarelamento, perdas das propriedades mecânicas e migração dos aditivos (FECHINE *et al.* 1998; AZWA *et al.* 2013).

Existem inúmeros mecanismos de degradação de polímeros. Alguns deles são expostos brevemente a seguir (ROSA, 2003):

**Fotodegradação:** Os polímeros são absorvedores de luz ultravioleta (UV), geralmente com comprimentos de onda entre 250 e 400nm, e a sua sensibilidade está relacionada com a composição química e estrutura molecular (REICH, 1971).

**Degradação térmica:** é a ruptura das ligações químicas devido ao efeito da temperatura, na ausência de oxigênio. Os processos da degradação térmica implicarão em: cisão aleatória de cadeias, cisão aleatória de grupos laterais, ruptura de ligações fracas no meio da cadeia ou em grupos laterais ou ruptura de ligações em grupos reativos na extremidade da cadeia.

**Degradação química:** quando o polímero reage com uma espécie química causando cisão da cadeia, por hidrólise ou oxidação. (ROSA, 2003)

**Degradação radioativa:** É ocasionada por radiações de alta energia como radiações eletromagnéticas ou por partículas. (FECHINE, 2001)

**Biodegradação:** É um processo que consiste na modificação física ou química, causada pela ação de microrganismos, degradando o material polimérico e formando materiais mais simples.

O polietileno (PE) e o tereftalato de polietileno (PET) são polímeros sintéticos produzidos em grande escala e cada um destes polímeros têm a sua própria característica de degradação. O polietileno é sensível à radiação UV e à oxidação, enquanto o PET é sensível à hidrólise e ataque por ácidos fortes (LAPSHIN *et al.* 2010).

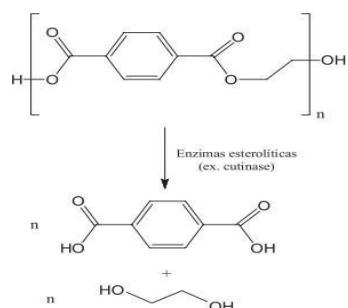
### 3.1.1 Degradação do Poli (tereftalato de etileno) (PET)

Poli (tereftalato de etileno) (PET) é composto de ácido tereftálico (TPA) ligado a éster e etileno glicol (EC) (WEBB *et al.* 2013). São amplamente utilizados por causa de sua transparência, resistência e maleabilidade. No entanto, a mobilidade de cadeia, alta cristalinidade e alta hidrofobia de superfície o torna recalcitrante à despolimerização catalítica ou biológica devido à acessibilidade limitada das ligações éster (WEBB *et al.* 2013). Em um contexto industrial, o PET pode sofrer a despolimerização por meio da quebra das ligações poliméricas por clivagem, gerando seus constituintes (FUKUSHIMA *et al.* 2011). Entretanto, as reciclagens químicas e mecânicas do PET não são consideradas vantajosas, por apresentarem altos custos de processamento e perda de propriedades. Por outro lado, a hidrólise enzimática pode apresentar algumas vantagens.

Apesar da natureza físico-química recalcitrante do PET, numerosas PET enzimas hidrolíticas (PHEs) foram identificadas e revisadas recentemente (TANIGUCHI *et al.* 2019). Segundo Donelli *et al.* (2010), a hidrólise enzimática de PET aconteceu usando a enzima cutinase, em sinergismo com a hidrólise alcalina, e como resultado foi observado modificações estruturais na superfície do PET que aumentaram sua hidroficialidade. Nos últimos anos, foram relatadas algumas enzimas (lipases, esterases, carboxilesterases e cutinases) produzidas por microrganismos capazes de degradar o PET pelo processo de clivagem de ligações éster (WEI E ZIMMERMANN 2017).

Figura 1 ilustra a reação geral de degradação enzimática completa de PET, em que são formados seus monômeros, ácido tereftálico e etileno glicol.

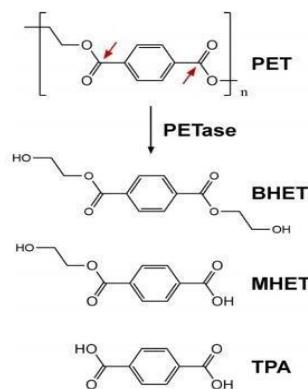
**Figura 1** - Reação geral da degradação enzimática de PET em meio aquoso.



Fonte: Costa *et al.* (2015).

Yoshida *et al.* (2016) descobriu a bactéria *Ideonella sakaiensis* 201 - F6 e por meio de análises genéticas e bioquímicas, os autores identificaram enzimas envolvidas na hidrólise extracelular do PET e na subsequente via intracelular do catabolismo do PET-hidrolítico. Foi identificado que essa bactéria secreta uma enzima única conhecida como PETase, pela sua preferência pelo PET, semelhante a cutinase provocando a hidrólise do PET em bis(2-hidroxietil) tereftalato (BHET), Monoetil-2- hidroxietiltereftalato (MHET) e Ácido tereftálico (TPA) (Fig.2).

**Figura 2** - Degradção de PET. A PETase catalisa a clivagem hidrolítica do PET para produzir BHET, MHET e TPA.



Fonte: Yoshida *et al.* (2016)

A PETase apresenta excelente desempenho na hidrólise de PET e possui um grande potencial em outras aplicações. Antes da descoberta dessa enzima, alguns trabalhos reportaram processos de degradação biológica de PET e a maioria utilizava as enzimas do gênero bacteriano *Thermobifida* (ROTH *et al.* 2014; WEI E ZIMMERMANN, 2017), porém há estudos que empregaram outros microrganismos, como fungo filamentoso *Fusarium solani* (GOMES *et al.* 2013) e a bactéria termofílica *Saccharomonospora viridis* (KAWAI *et al.* 2014). Recentemente, Costa (2018) analisou o comportamento da levedura, *Yarrowia lipolytica* frente às moléculas da cadeia de produção do PET, visando o desenvolvimento de um processo para valorização do PET pós consumo. Neste estudo foi realizada uma investigação do crescimento celular de *Yarrowia lipolytica* frente às moléculas como o ácido tereftálico (TPA), bis (2-hidroxietil) tereftalato (BHET), monoetileno glicol (MEG), oligômeros de PET, pré-polímero de PET, PET amorfó e um plástico de recicladora. Os resultados foram obtidos através de análises de crescimento celular, medidas de

pH, avaliação de consumo de glicose e das moléculas do PET por cromatografia líquida de alta eficiência, atividade de lipase, protease e outras esterases e análises microscópicas. As concentrações dos monômeros TPA e MEG, em solução, foram menores nos ensaios com o extrato de lêvedo 1% m/v e peptona 2% m/v. As células presentes nesses experimentos assimilaram estes substratos de forma mais eficiente do que os ensaios com extrato de lêvedo 1% m/v, peptona 2% m/v e glicose 2% m/v. Os experimentos com BHET apresentaram maior atividade enzimática, em 160 (118,09 U.L<sup>-1</sup>) e 250 rpm (384,9 U.L<sup>-1</sup>), demonstrando que este composto pode agir como um possível indutor no processo de produção de lipases por *Yarrowia lipolytica*. Nos processos de hidrólise enzimática, o tereftalato de Monoetil2-hidroxietiltereftalato (MHET) foi o principal intermediário liberado no processo, seguido do TPA e BHET. Além da produção de lipases, *Y. lipolytica* possui grande potencial para expressão de outras esterases, que também podem agir na hidrólise enzimática de PET. Este fato foi constatado pela detecção de atividade sobre o substrato butirato de p-nitrofenila.

### **3.1.2 Degradação do Polietileno (PE)**

O polietileno (PE) é um dos polímeros comerciais mais versáteis, sua natureza semicristalina permite seu processamento em uma longa faixa de temperatura, onde a fase amorfa promove a flexibilidade e a fase cristalina a resistência (CHENG, 2008). Em decorrência da sua baixa biodegradabilidade, eles persistem no meio ambiente por muitas décadas, porque a cinética de degradação biológica do PE é limitada por sua alta hidrofobicidade, estabilidade na estrutura química, ausência de grupos funcionais, alta massa molar e alto grau de cristalinidade (YANG *et al.* 2014). A degradação microbiana do PE pode ser facilitado por vários pré-tratamentos, como foto-oxidação, tratamentos térmicos, ou tratamentos químicos. Esses pré-tratamentos geralmente promovem uma deterioração parcial do polímero, gerando grupos hidrolisáveis e moléculas com menor massa molecular, o que facilita e propicia o ataque microbiano (RESTREPO-FLÓREZ, 2014; DANSO *et al.* 2019).

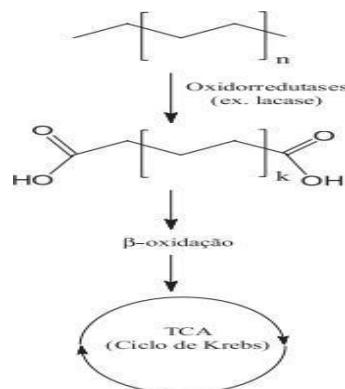
A literatura vem reportando espécies de microrganismos com atividade de degradação do PE, entre estes estão às espécies: *P. simplicissimum* YK, *Acinetobacter baumannii*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Bacillus brevies*,

*Bacillus circulans*, *Bacillus sphaericus*, *Brevibacillus parabrevis*, *Fusarium solani*, *Pseudomonas citronellolis*, *Rhodococcus rubere* *Staphylococcus epidermis*, *Alcanivorax*, *Ideonella*, *Marinobacter*, *Arenibacter*, *Aneurinibacillus* (YAMADA-ONODERA *et al.* 2001; XIAO *et al.* 2008; PRAMILA *et al.* 2012; YANG *et al.* 2014; MUHONJA *et al.* 2018; DELACUVELLERIE *et al.* 2019; RADDADI *et al.* 2019). Volke-Sepúlveda *et al.* (2001) observaram a ação da cepa *P. pinophilum* e das *A. niger*, na biodegradação do polietileno de baixa densidade (PEBD). Inicialmente o material polimérico foi oxidado termicamente, e depois incubado com tais fungos em meio com etanol e na ausência de etanol. Como resultado foi observado que o fungo *P. pinophilum* foi mais eficiente no processo de biodegradação do PEBD em relação ao fungo *A. niger*, provavelmente porque o primeiro possui maior grau de inespecificidade em seu sistema enzimático, capaz de despolimerizar materiais ligninolíticos.

A maioria dos estudos anteriores foi feita para avaliar a biodegradação de PEs pré-tratados. Observa-se também que a biodegradação do PEAD ocorre de forma muito lenta mesmo após o pré-tratamento.

A Figura 3 representa um mecanismo hipotético da degradação enzimática do PÉ já que esse mecanismo ainda não é bem elucidado.

**Figura 3** - Mecanismo hipotético da Degradação enzimática de PE.



Fonte: Restrepo-Florez *et al.* (2014).

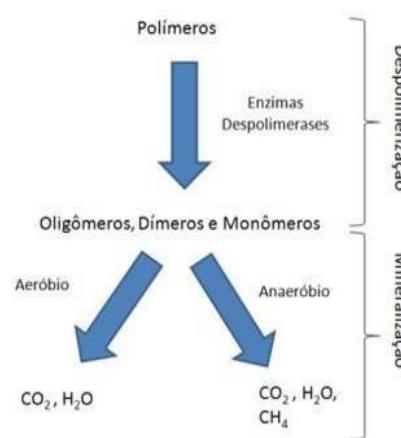
Os fatores abióticos podem atuar de forma sinérgica com o mecanismo biótico e dessa forma podem iniciar a oxidação das cadeias do PE. As enzimas oxidorredutase desempenham uma função importante, ocasionando o aumento da

hidrofícidade das cadeias alifáticas por meio de reações radicalares, formando agrupamentos carboxila que podem ser metabolizados pelas vias de  $\beta$ -oxidação e pelo ciclo de Krebs (RESTREPO-FLOREZ *et al.* 2014).

### 3.2 BIODEGRADAÇÃO DOS POLÍMEROS

Na biodegradação, o polímero e o microrganismo coabitam em um mesmo sistema em equilíbrio. Quando o mecanismo de sinalização do microrganismo identifica que a macromolécula encontra-se no entorno, e que precisa de enzimas específicas para a sua degradação, elas são produzidas e excretadas para o meio, com a finalidade de disponibilizar os monômeros, que podem atuar como fonte de carbono para o crescimento do microrganismo, sendo essa etapa a despolimerização (MÜLLER, 2003). Por outro lado, ocorre à segunda etapa do processo chamada de mineralização, quando os fragmentos oligoméricos são suficientemente pequenos para serem transportados pelo interior dos organismos onde eles são transformados em biomassa microbiana, água e dióxido de carbono na presença de microrganismos aeróbios, e metano, gás carbônico e água em condições anaeróbias. (FIG. 4) (PREMRAJ *et al.* 2004; INNOCENTINI-MEI, 2005; GHAFFARI, 2014).

**Figura 4** - Vias de degradação de polímeros por microrganismos.



Fonte: PREMRAJ *et al.* 2004

O processo é considerado lento, onde a fase de adaptação, conhecida também como fase lag, tem duração de aproximadamente 5 dias e a diminuição da massa

molar numérica média da macromolécula, pode levar mais de 120 dias para apresentar mudanças expressivas (ZHAO, 2005).

Várias metodologias são usadas para caracterização da biodegradação, nesses métodos, diferentes parâmetros de medição são utilizados, como: medição do consumo de oxigênio, método de análise de superfície, avaliação das propriedades (por exemplo, mecânicas, químicas, termodinâmicas), teste enzimático, extensão de crescimento dos microrganismos sobre o polímero (CONATO & SUMERA 2012), perda de massa e medição de dióxido de carbono produzido (ROSA *et al.* 2003; ZHAO, 2005; GHAFFARI, 2014).

### 3.2.1 Polímeros Biodegradáveis

Os polímeros biodegradáveis podem oferecer soluções ideais para muitas aplicações. São encontrados em diversos segmentos de mercado: embalagem, horticultura, agricultura, automotivo, bens de consumo, entre outros, diminuindo os impactos ambientais. Segundo os dados apresentados pela European Bioplastics, o maior segmento dentro da indústria de biopolímeros é destinado ao mercado de embalagens. Além de promover a preservação do meio ambiente, os polímeros biodegradáveis podem diminuir a dependência do petróleo que a indústria dos polímeros sintéticos apresenta, uma vez que os polímeros biodegradáveis podem ser obtidos a partir de biopolímeros. A Tabela 1 apresenta alguns resultados encontrados na literatura sobre a biodegradação de polímeros.

**Tabela 1** - Exemplos de literatura sobre biodegradação de polímeros.

Polímero	Microrganismo	Resultados observados	Meio	Referência
Policaprolactona (PCL)	<i>Penicillium oxalicum</i> (OGM)	100% de perda de massa do filme polimérico inicial.	Solo	LI <i>et al.</i> 2012
Poliuretano (PU)	<i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>C. pseudocladosporioides</i> , <i>C. tenuissimum</i> , <i>C. asperulatum</i> , <i>C. montecillanum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Penicillium chrysogenum</i>	Perda de peso de um poliuretano de mais de 60%, após a incubação com isolados fúngicos	Mineral	ÁLVAREZ - BARRAGÁN <i>et al.</i> 2016
Poliuretano (PU)	<i>Aspergillus tubingensis</i>	Resultados indicaram que esta cepa de <i>A. tubingensis</i> foi capaz de degradar o PU após dois meses em meio líquido, o filme foi	Solo	KHAN <i>et al.</i> 2017.

		totalmente degradado em pedaços menores.	
Poliácido láctico (PLA)/ poli (etileno tereftalato) (PET)	<i>Arthrobacter sulfonivorans</i> , <i>Serratia plymuthica</i> , <i>Clitocybe sp.</i> , <i>Laccaria laccata</i>	A biodegradação foi mais rápida no PLA na presença das linhagens de <i>S. plymuthica</i> e <i>L. laccata</i> .	Solo JANCZAK <i>et al.</i> 2018
Policaprolactona (PCL)/ polihidroxialcanoatos (PHA)	Pseudomonas e Streptomyces	Ambos os materiais Óleo de apresentaram erosão cozinha superficial após 4 usado semanas de exposição a preparações proteicas totais de ambas as linhagens.	MANDIC <i>et al.</i> 2019.

Fonte: Autor, 2022

Estudos sobre a biodegradação dos polímeros têm sido intensamente conduzidos e estão bem documentados por vários pesquisadores há alguns anos, principalmente no processo de biodegradação dos polímeros em solo. Li *et al.* (2012) isolaram fungos do solo selecionados quanto à capacidade de formar zonas claras em placas de ágar com poli(caprolactona) emulsionada (PCL). A cepa mais ativa, designada como DSYD05, foi identificada como *Penicillium oxalicum* com base em características morfológicas e análise filogenética. O mutante DSYD05-1, obtido por mutagênese na luz ultravioleta da cepa DSYD05, foi mais efetivo na degradação do PCL. Os produtos de degradação de PCL foram analisados por espectrometria de massa; os resultados indicaram que o ácido 6-hidroxihexanóico foi produzido e assimilado durante o cultivo. A degradação do filme PCL pelo DSYD05-1 foi observada por microscopia eletrônica de varredura e foi indicativa de um processo de degradação em três estágios. A degradação de partes amorfas do filme precedeu a do centro cristalino e depois as regiões cristalinas periféricas.

Álvarez-Barragán *et al.* (2016) isolaram linhagens fúngicas capazes de crescer em meio mineral com um poliéster (PU) como única fonte de carbono. As seis melhores degradadores pertencia ao *Cladosporium cladosporioides* complexo, incluindo a espécie *C. pseudocladosporioides*, *C. tenuissimum*, *C. asperulatum*, e *C. montecillanum* os outros dois foram identificados como *Aspergillus fumigatus* e *Penicillium chrysogenum*. O melhor degradador de *Impranil*, *C.*

*pseudocladosporioides* cepa T1.PL.1, degradou até 87% após 14 dias de incubação.

Já Khan *et al.* (2017) avaliaram a capacidade de degradação de PU do fungo na presença de 2% de glicose após enterramento no solo. Os resultados indicaram que esta cepa de *A. tubingensis* foi capaz de degradar o PU. Notavelmente, após dois meses em meio líquido, o filme de PU foi totalmente degradado em pedaços menores. Com base em uma pesquisa bibliográfica, pode-se afirmar que este é o primeiro relato mostrando *A. tubingensis* capaz de degradar o PU. Este trabalho fornece uma visão sobre o papel de *A. tubingensis* na solução do dilema dos resíduos de PU através da biodegradação.

*Janczak et al. (2018) tiveram como objetivo selecionar bactérias rizosféricas e fungos para acelerar a biodegradação de PLA e PET no solo onde espécies vegetais selecionadas eram cultivadas. A biodegradação das folhas analisadas foi mais rápida na presença das linhagens de *S. plymuthica* e *L. laccata*. A presença de PLA no solo inoculado reduziu o pH do solo e aumentou seu potencial redox, bem como aumentou a abundância de fungos e bactérias no solo. O estudo confirmou o efeito estimulante do *S. plymuthica* e Cepas de *L. laccata* na biomassa vegetal.*

*Os poliésteres oriundos dos ácidos hidrocarbonados têm sido alvo de atenção dos pesquisadores pelas suas propriedades mecânicas e potencial de biodegradabilidade. Dentre estes se destacam: PHB (poliéster alifático de origem microbiana) e o PBAT (poliéster aromático de origem petroquímica), cujos grupos ésteres sofrem ação microbiana, ou seja, hidrólise enzimática e degradação oxidativa (TSUJI, 2002).*

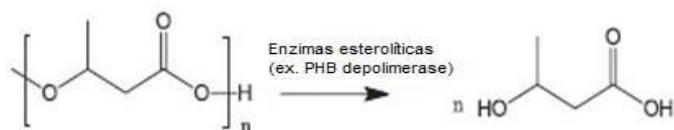
### *3.2.1.1 Biodegradação do poli-hidroxibutirato (PHB)*

Os polímeros a base de PHAs têm como uma das propriedades originais a sua biodegradabilidade em vários ambientes, por esse motivo tem recebido interesse industrial devido à sua utilização como plásticos biodegradáveis e também biocompatíveis. O PHB é o principal representante da família de PHAs e vem sendo estudado por apresentar características interessantes, que se assemelham às do polipropileno (PP), polímero derivado do petróleo e de grande consumo (CHANDRA, 1998; FRANCHETTI & MARCONATO, 2006). O PHB pode ser degradado por ação de enzimas esterolíticas, como esterases, lipases e proteases. Na literatura é

encontrado o uso de enzimas específicas, chamadas de PHB depolimerase (EC 3.1.1.75), e sua origem pode ser extracelular ou intracelular (LI *et al.* 2012). Além disso, os resultados indicam que a taxa de degradação depende de fatores relacionados ao ambiente, como temperatura, umidade, pH e nutrientes disponíveis (MERGAERT *et al.* 1995).

Os microrganismos capazes de degradar o PHB possuem a enzima PHB depolimerase, que é capaz de transformar a cadeia polimérica novamente em monômero de ácido 4-hidroxibutírico, que podem ser utilizados novamente como fonte de carbono. A Figura 5 ilustra a reação da degradação enzimática do PHB gerando o monômero (ácidos 4-hidroxibutírico).

**Figura 5** - Degradação enzimática de PHB em meio aquoso.



Fonte: Costa *et al.* 2015.

As tiolases, proteínas envolvidas na degradação do PHB, são conhecidas por acetil-CoA aciltransferase ou tiolase  $\beta$ -cetoacil-CoA (E.C. 2.3.1.9), possuem características que atuam em substratos de cadeias longas, e fazem parte do processo de oxidação dos ácidos graxos. Em geral, as tiolases catalisam a quebra reversível de 3-cetoacilCoA em acil-CoA e acetil-CoA (FIG. 6).

**Figura 6** - Reação reversível catalisada pela  $\beta$  –cetotiolase.



Volova *et al.* (2011) estudaram a biodegradação de poli-hidroxialcanoatos (PHAs) em águas costeiras tropicais e a identificação de bactérias degradadoras de PHA. As amostras de polímeros incubadas em água do mar por 160 dias ficaram cobertas com biofilmes microbianos. Um total de 58 bactérias heterotróficas foram isoladas em culturas puras. Os microrganismos formadores de biofilme foram representados por diversos tipos morfológicos. As bactérias isoladas foram representadas pelos gêneros *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Planococcus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus* e *Gracilibacillus*. Já os fungos foram representados por

*Aspergillus, Pinecillium, Trichoderma, Verticillium, Mucor e Malbranchea*. As taxas de biodegradação dos filmes de PHAs na água do mar foram maiores do que as dos aglomerados compactados.

Estudos têm demonstrado que a degradação, tanto extra como intracelular do PHB é um mecanismo complexo, onde várias despolimerases e outras enzimas, ainda não foram caracterizadas.

### 3.2.1.2 Biodegradação do poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT)

O poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) é um copoliéster alifático-aromático, termoplástico, sintético e apresenta um processo de degradação acelerado, podendo se degradar em algumas semanas em contato com o meio ambiente através da ação de enzimas naturais. Isso porque sua estrutura química é composta por uma fração alifática (butadieno adipato), responsável pela sua biodegradabilidade, e uma parte aromática (tereftalato), que fornece boas propriedades mecânicas, podendo ter um alongamento máximo de 700 % (SHAHARI *et al.* 2012).

A sua principal característica, degradabilidade, deve-se à presença de enzimas que fazem com que o PBAT se degrade completamente em poucas semanas. Esse processo vem sendo estudado há alguns anos, e os estudos são focados na degradação em condições ambientais variáveis. Kijchavengkul *et al.* (2010) relataram as atividades microbianas no PBAT em ambiente de compostagem a altas temperaturas e pH. Já Witt *et al.* (2001) observaram que uma bactéria termofílica, *Thermomonospora fusca*, poderia monomerizar o PBAT a alta temperatura dentro de 3-4 semanas.

Alguns microrganismos já foram identificados como degradadores do PBAT, Kasuya *et al.* (2009) testou a ação de microrganismos do solo de três diferentes regiões do Japão. Corpos de provas de PBAT na forma de tiras do filme foram colocados em meio líquido e adicionadas amostras de microrganismos do solo. A cultura foi avaliada por 150 dias, com intervalos de 5 em 5 dias. Os produtos da degradação do PBAT foram avaliados no sobrenadante das culturas por cromatografia líquida, seguida de espectrometria de massa por ionização eletrospray. Os resultados mostraram que após 124 dias 95% do conteúdo de PBAT havia sido mineralizado em dióxido de carbono e que durante os períodos iniciais as

tiras de PBAT que estavam em contato com os microrganismos do solo ficaram cobertas com biofilmes microbianos.

### 3.3 MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS NA BIODEGRADAÇÃO

A presença de uma população contendo muitos tipos de microrganismos aumenta a biodegradação, onde as propriedades mecânicas, químicas e físicas são modificadas (LUCAS *et al.* 2008). Os principais tipos de microrganismos associados ao processo biodegradativo em habitats aquáticos ou terrestres correspondem às bactérias, fungos, protozoários e algas. Sendo responsáveis pela excreção de enzimas capazes de degradar até complexas moléculas poliméricas (VIDELA, 2003). Na literatura foram encontrados estudos de espécies de bactérias e fungos responsáveis pela biodegradação dos polímeros (VINHAS *et al.* 2007; GONÇALVES, 2009).

Vários grupos de microrganismos são envolvidos nos processos de biodegradação, em menor ou maior grau. A seguir serão descritos os estudados nesse trabalho:

#### Bactérias aeróbias e Bactérias anaeróbicas

Nos ambientes naturais, a maioria da matéria orgânica é mineralizada aerobiamente, mas este processo pode ocorrer também de forma anaeróbica (SMITH, 1990; HOPPER, 1991). Nas bactérias aeróbicas, o oxigênio funciona como acceptor terminal de elétrons para a conservação da energia respiratória e como reagente indispensável no mecanismo de ativação (Widdel & Rabus, 2001). Além disso, são responsáveis por proporcionar as condições ideais para as bactérias anaeróbias, reduzindo o oxigênio ao longo do processo metabólico (OLIVEIRA, 2010) e produzem quantidades significativas de material polimérico extracelular (EPS) e outras substâncias que influenciam diretamente no processo de biodegradação.

Segundo Foght (2008), a biodegradação, através das bactérias anaeróbias, difere daqueles utilizados no metabolismo aeróbico, pois envolvem microrganismos versáteis e singulares bioquimicamente. A biodegradação ocorre utilizando acceptores de elétrons como o nitrato, sulfato redutores, redutores de Fe<sup>3+</sup>, CO<sub>2</sub>, ou outros acceptores (Mn, Cr, U).

### Bactérias precipitantes de ferro (BPF)

As *bactérias* precipitantes de ferro, também conhecidas como ferrobactérias, compreendem as bactérias redutoras e oxidantes do ferro, esses microrganismos são classificados como aeróbicos quimioheterotróficos que obtêm a energia necessária ao seu metabolismo a partir da oxidação ou redução do ferro (VIDELA, 2003).

Segundo Madigan (2010), as espécies frequentemente relacionadas com o processo de biodegradação, são as espécies *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Gallionella ferruginea* e *Leptospirillum ferrooxidans*, e os gêneros *Crenothrix*, *Leptothrix*, *Sideromonas* e *Siderocaspa*. Estas bactérias se desenvolvem em temperaturas na faixa de 0 a 40°C e em valores de pH entre 5,5 e 8,2 (GENTIL, 2007).

A taxa de degradação provocada pelas BPF é acelerada quando esta bactéria é encontrada em consórcios com as bactérias redutoras de sulfatos (BRS), tal fato pode ser justificado pelo efeito sinérgico entre essas duas bactérias, pois a biomassa depositada pelas BPF provoca a formação de micro nichos anaeróbicos essenciais para o crescimento das BRS.

### Bactérias redutoras de sulfato (BRS)

Essas bactérias heterotróficas apresentam a capacidade de realizar o processo de respiração anaeróbica, utilizando uma fonte de carbono orgânico, com a finalidade de obter a energia necessária para reduzir o íon sulfato a sulfeto. Como resultado dessa redução, ocorre a produção de sulfetos, bissulfetos e hidrogênio sulfetado, assim como produtos metabólicos intermediários, que possuem um papel importante no processo de biodegradação (VIDELA, 2003).

Atualmente, existem mais de 20 gêneros bem conhecidos, tais como *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum*, *Desulfolobus*, *Desulfovibacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina* e *Desulfonema*. A temperatura ótima para o seu desenvolvimento é de 25°C e 44°C e pH na faixa de 5,5 a 9,0. (POSTGATE, 1984, VIDELA, 2003, MADIGAN *et al.* 2003).

As BRS alteram o pH através do consumo de sulfato e da produção de sulfeto, o que aumenta a alcalinidade, ou seja, a concentração de carbono durante a decomposição da matéria orgânica. Além disso, esses microrganismos são particularmente relevantes em habitats marinhos devido à alta concentração de

sulfato na água do mar. Segundo Baumgartner (2006), as BRS podem ser responsáveis por até 80 % da oxidação do carbono no ambiente marinho.

#### *Pseudomonas* sp.

*Pseudomonas* são bastonetes gram-negativos ubíquos de vida livre encontrados em ambientes úmidos, como água, solo, plantas e detritos (BORENSTEIN, 1996). São consideradas responsáveis pela formação inicial do biofilme através da produção de exopolissacarídeos (EPS), o que facilita a aderência de outros microrganismos na superfície do material. A sua relação de sinergismo com as BRS, tem um papel importante por criar um ambiente livre de oxigênio, favorecendo o processo de aeração diferencial.

#### Fungos filamentosos

Os fungos são organismos eucarióticos, formadores de esporos, não clorofilados, com ambas as reproduções, sexuada e assexuada. Conhecidos pela sua função decompositora no meio ambiente e encontrado em todos os nichos ecológicos. Segundo Chandra (1998), a importância dessa função é resultado da produção de enzimas que quebram substratos “não vivos” a fim de obter nutrientes que estão presentes na composição do polímero. Como exemplos dessas enzimas pode-se citar as lipases, esterases, proteinases, lactases, fosfatases, amilases, ligninases e celulases. Também chamadas de despolimerases, devido ao seu comportamento de despolimerização quando agem sobre os materiais poliméricos (NEVES & PIRES, 2011).

Condições como temperatura, umidade e nutrientes são essenciais para o desenvolvimento e atividade degradadora. Segundo Videla (2003), a temperatura ótima de crescimento dos fungos é de 30°C, sendo aceitável entre 15 e 37°C.

Diante dos problemas ambientais provocados pelo descarte dos polímeros realizado de forma incorreta, os fungos exercem uma atividade importante, por serem biodegradadores naturais de uma grande variedade de compostos (SOARES *et al.* 2011).

Segundo Paoli (2008), tipicamente o teste de biodegradabilidade é feito observando-se o crescimento da colônia de microrganismos em um meio de agar-agar. O meio contém todos os nutrientes necessários para a reprodução do

microrganismo, exceto uma fonte de carbono (que deverá ser o polímero). A mistura típica de microrganismos usada nos testes é mostrada na Tabela 2.

**Tabela 2 - Microrganismos tipicamente usados em testes de biodegradabilidade de polímeros.**

Microrganismos	
Fungos	<i>Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Chaetomium globosum, Penicillium funiculosum, Pullularia pullulana</i>
Bactérias	<i>Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Coryneformes bacterium, Bacillus sp.</i>
Actinomicetas	<i>Streptomycetaceae</i>

Fonte: Paoli (2008)

Recentemente na literatura alguns autores já identificaram e estudaram espécies de bactérias e fungos que realizam a biodegradação de polímeros como apresentado nas Tabelas 3 e 4.

**Tabela 3 - Espécies de bactérias degradadores de polímeros.**

Bactérias	Autor
<i>Bacillus subtilis</i>	VIMALA <i>et al.</i> 2016
<i>Bacillus sp. Rhodococcus sp.</i>	AUTA <i>et al.</i> 2018
<i>Pseudomonas</i>	MANDIC <i>et al.</i> 2019
<i>Bacillus megaterium</i>	SONG <i>et al.</i> 2019

Fonte: Autor, 2022

**Tabela 4 - Espécies de fungos degradadores de polímeros.**

Fungos	Autor
<i>Penicillium funiculosum</i>	VERGARA-PORRAS <i>et al.</i> 2016.
<i>Zalerion maritimum</i>	PAÇO <i>et al.</i> 2017
<i>Aspergillus tubingensis</i>	KHAN <i>et al.</i> 2017
<i>Aspergillus niger</i>	MUSTAPHA <i>et al.</i> 2019

Fonte: Autor, 2022

### **3.3.1 Microrganismos envolvidos na biodegradação dos polímeros em meio aquoso**

A utilização dos microrganismos para o processo de biodegradação dos polímeros em meio aquoso será exemplificada, a partir de pesquisas que relataram esse processo em diversos ambientes.

Ohura *et al.* (1999) avaliaram a biodegradação das fibras de poli(ácido 3-hidroxialcanóico) por microrganismos degradadores em ambientes aquáticos,

observaram, através dos ensaios de perda de massa, que em 28 dias o polímero foi 100% biodegradado, tanto nas águas doces como nas águas do mar. O número de microrganismos nas águas do mar da baía de Tóquio, das águas doces do lago e do rio foi de  $1,5 \times 10^3$  / ml  $3,0 \times 10^3$  / ml e  $5,9 \times 10^5$  / ml, respectivamente. Assim, as biodegradabilidades do polímero em águas naturais diminuíram na seguinte ordem: água doce do rio > água doce do lago > água do mar e os autores concluíram que taxa de biodegradação pode ser dependente do número total de microrganismos em uma água natural.

Carashi *et al.* (2002) testaram a biodegradabilidade do poli (3-hidroxibutirato) (PHB) puro e misturado com farinha de madeira nas porcentagens de 10 a 40% em água de córrego, que recebia o esgoto municipal por 300 dias. Em 180 dias as amostras de PHB/Madeira 40% foram totalmente consumidas. Concluiu-se que a biodegradação do material, está totalmente ligada ao tipo de enzima e microrganismo.

Os estudos sob condições controladas usando técnicas de caracterização padrão são necessários para entender o comportamento de degradação e fornece uma base comparativa. Tsuji e Suzuryoshi (2002) realizaram degradação comparativa de PCL, PLA (amorfo e cristalino) e PHB a 25 ° C por períodos predeterminados em água do mar do Oceano Pacífico. O PCL foi 25% degradado em 10 semanas enquanto PHB apenas em 9%.

Sudhakar *et al.* (2007) comprovaram a eficiência de microrganismos marinhos, especificamente *Bacillus sp.* e *Bacillus cereus*, na degradação do polietileno (PE), o experimento teve duração de 1 ano, pH 7,5 e temperatura 30 °C com o polímero como a única fonte de carbono. As perdas de massa das amostras termicamente tratadas foram de 19% para o polietileno de baixa densidade (PEBD) e 9% para o polietileno de alta densidade (PEAD).

Faria e Martins-Franchetti (2010) observaram em seu experimento de biodegradação da blenda de PHB/PP, utilizando água do Rio Atibaia, que o PHB sofreu maior perda de massa (aproximadamente 100%) em relação à blenda de PHB/PP, enquanto que o PP não sofreu perda de massa significativa. Foi observada também uma diminuição nos índices de carbonila da fase cristalina do PHB. Como esse experimento foi realizado antes e após o descarte do efluente bruto de refinaria

de petróleo, foi possível observar a presença de grande quantidade de *actinobacteria* *Gordonia polyisoprenivorans* após o descarte.

Nesse trabalho, foi investigado o comportamento de degradação de cinco polímeros a partir da classe de polímeros biodegradáveis (poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), PCL, PLA, PHB, e PBAT, e o PET comercialmente útil para fins de comparação) sob condições controladas no laboratório. Curiosamente, observou-se 100% de degradação apenas para o PLGA, enquanto o PCL, o PLA e o PET não se degradaram totalmente (BAGHERI *et al.* 2017).

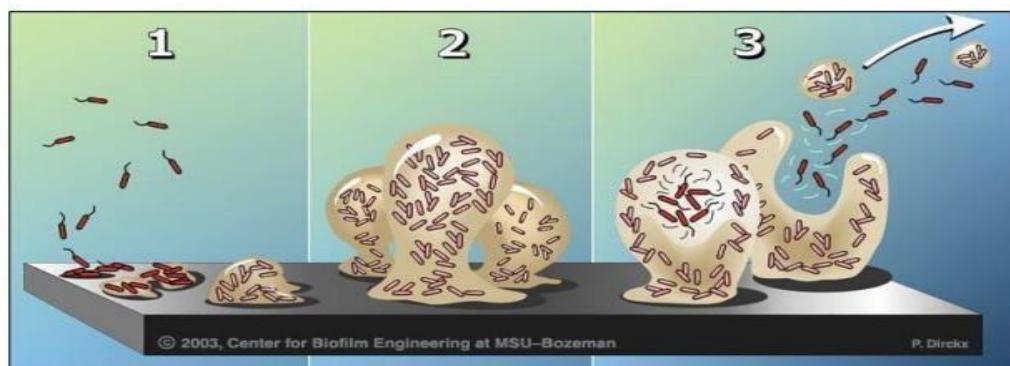
Recentemente, Dilkes-Hoffman *et al.* (2019) estudaram a taxa de biodegradação do PHA no ambiente marinho com o intuito de calcular o ciclo de vida do polímero. Foi determinado que a taxa média de biodegradação de PHA no ambiente marinho é de 0,04-0,09 mg·dia e que, por exemplo, uma garrafa de água de PHA demoraria entre 1,5 e 3,5 anos para ser completamente biodegradado.

### 3.4 BIOFILMES

Os biofilmes são uma mistura de microrganismos, água, polissacarídeos e proteínas (Substâncias Poliméricas Extracelular, EPS), ácidos nucleicos e resíduos do ambiente colonizado, embebidos na matriz polimérica e aderidos a uma superfície sólida, formando uma estrutura porosa e altamente hidratada contendo pequenos canais, abertos por entre as microcolônias (CAPELLETTI, 2006; AZEVEDO *et al.* 2016).

Os processos biológicos ocorrem de acordo com uma sequência de eventos, que têm início no contato entre o meio líquido e o material, como está esquematizado na Figura 7.

**Figura 7** - Etapas de formação de um biofilme sobre superfícies: iniciando com a aproximação de bactérias planctônicas e adesão irreversível (1), crescimento com produção de EPS (2) e desprendimento (3).



Fonte: Capelletti (2006)

Na primeira etapa células orgânicas são adsorvidas à superfície, seguindo por uma imobilização de células de microrganismos planctônicos. Onde os exopolissacarídeos (EPS) são produzidos, formando o biofilme. Ocorre então a expansão e maturação do biofilme com estrutura tridimensional. Na última etapa, à medida que a espessura do biofilme aumenta e supera a camada limite de fluxo laminar, acontece o início do desprendimento das camadas mais externas. Então é estabelecido um processo de renovação do biofilme que é dinâmico e dependente da espessura do depósito, da velocidade do fluxo de líquido e da velocidade de crescimento dos microrganismos (VIDELA, 2003; OLIVEIRA, 2010).

### 3.4.1 Biofilmes em materiais poliméricos

Segundo Flemming (1998), a biodeterioração de materiais poliméricos é causada por microrganismos que colonizam sua superfície, formando biofilmes, que em contato com os polímeros, causam mudanças estruturais e/ou morfológicas. Todas as superfícies, sob condições naturais ou artificiais, podem ser colonizadas por microrganismos, com formação de biofilme e deposição de material celular. Polímeros orgânicos são suscetíveis à formação de biofilmes microbianos, sob condições úmidas, particularmente em climas tropicais (GU, 2003).

Tratando-se de biodeterioração de polímeros, Maddever (1989) sugeriu a existência de três fatores principais envolvidos na ação microbiana:

Efeito biofísico, no qual o crescimento celular causa danos ao polímero;

Efeito bioquímico, no qual as substâncias produzidas (exopolissacarídeos) pelos microrganismos agem sobre o polímero, e;

Efeito enzimático direto, no qual as enzimas microbianas atacam os componentes do plástico, provocando quebras oxidativas da cadeia polimérica.

Destes, o efeito mais comum dos microrganismos sobre o material polimérico é o biofísico, isto é, a ação biológica provocando mudanças nas propriedades físicas e mecânicas do polímero (YABANNAVAR e BARTHA, 1994; MELO, 2008).

A biodeterioração é então um processo muito complexo, que depende das condições do meio, dos tipos de microrganismos e da estrutura do polímero propriamente dito. Se o polímero for potencialmente biodegradável, isto é, com estrutura de cadeias alifáticas e grupos funcionais hidrolisáveis, o processo pode ocorrer sob certas condições do meio (pH, umidade, oxigênio etc.), de maneira mais direta por ação de enzimas: hidrólise e subsequente oxidação. Se o polímero não tiver grupos funcionais (apenas cadeias carbônicas) pode haver deterioração, mas não chegando a mineralização do polímero até os produtos finais: água e dióxido de carbono e metano. A superfície polimérica pode, ainda, ser inerte ao ataque microbiano, sendo apenas um suporte para o crescimento bacteriano (GU, 2003; MELO, 2008).

Os microrganismos podem, então, agir de diferentes maneiras sobre a superfície polimérica: por deposição de material extracelular, excretado por eles (*biofouling*); por degradação de compostos extraídos (lixiviados) do polímero, tais como aditivos e monômeros, os quais servem de alimento e manutenção para o biofilme, como exemplo, podem-se citar as cortinas de PVC usadas em boxes de banheiros, que perdem a flexibilidade pela perda de aditivos; por biocorrosão, isto é pela ação do biofilme e de seu gradiente de pH e potencial de óxido-redução, que ajudam na deterioração do polímero. Esse tipo de corrosão ocorre em isolantes elétricos e poliuretanos usados em vários equipamentos, podendo ser completamente deteriorados pela colonização e penetração de fungos nos equipamentos; por hidratação e penetração, devido à composição do biofilme (95% de água), ele se constitui um eletrólito e aumenta a condutividade na superfície do polímero, levando às falhas no funcionamento de equipamentos elétricos, por exemplo, crescimento de fungos em circuitos impressos, o que pode afetar a condutividade e causar curto-circuito. As hifas de fungos podem penetrar no material

polimérico e provocar diminuição de sua estabilidade mecânica; podem colorir o filme polimérico, isto é, o biofilme pode conter microrganismos que produzem pigmentos lipofílicos que difundem-se na superfície da matriz polimérica (FLEMMING, 1998; MELO, 2008).

### 3.5 FLUIDO DO PROCESSO

#### 3.5.1 Água do mar

A água do mar é constituída de 96,5% de água pura e 3,5% de sais. Apresenta também uma pequena quantidade de organismos vivos e material inorgânico particulado e orgânico dissolvido (BAPTISTA, 2004). A salinidade da água do mar sofre variações com o aumento ou diminuição da maré. Os principais sais encontrados na água do mar são os citados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Concentração de sais em água do mar.

SAL	%
NaCl	77,8
MgCl <sub>2</sub>	10,9
MgSO <sub>4</sub>	4,7
CaSO <sub>4</sub>	3,6
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,5
CaCO <sub>3</sub>	0,3
MgBr <sub>2</sub>	0,2

Fonte: Oliveira, 2010

As áreas marinhas representam um complexo ambiente biológico, uma vez que um grande número de microrganismos de diferentes espécies e gêneros estão presentes nesse ambiente. Segundo Harper (1995), o mar é o ambiente de maior *habitat* contíguo na terra que abriga ecossistemas singulares e riquíssimos em biodiversidade.

Videla (2003) afirmou que as características físico-químicas e microbiológicas da água do mar permitem encontrar um ambiente favorável para a degradação. Logo é provável encontrar os mais diversos mecanismos de degradação microbiológica.

As características do fluido do processo são importantes porque a biodegradação está diretamente ligada com o tipo de ambiente e da microbiota envolvida, uma vez que as interações interfaciais polímero/meio/microrganismos são relevantes para que a biodegradação do polímero ocorra.

### 3.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMEROS

Há várias técnicas utilizadas para avaliar as alterações nos polímeros, dentre elas as mais empregadas são: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e Análises termogravimétricas (TGA) (STUART, 2002).

#### 3.6.1 Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica de caracterização útil para a análise da presença de grupos químicos em diversos tipos de materiais. É uma técnica de grande importância no diagnóstico orgânico, sendo amplamente utilizada nas áreas de química e ciência dos materiais.

Essa técnica sofreu grandes avanços, principalmente porque os espectrômetros de infravermelho são facilmente encontrados na maioria dos laboratórios de pesquisa, pela facilidade em usar amostras em estado sólido, amorfos ou cristalinos, solventes orgânicos, soluções aquosas, filmes e membranas. (MANTSCH, 1995). O infravermelho é um recurso eficiente para a identificação e caracterização estrutural de substâncias orgânicas. O FTIR tem sido amplamente utilizado em linhas de produção, no controle de processos industriais. (FORATO, 2004).

Segundo Bruice (2006), para a obtenção de um espectro do infravermelho é necessária uma passagem de radiação através de uma amostra, então um detector gera um gráfico de porcentagens de transmissão de radiação versus o número de onda da radiação transmitida. Esse instrumento utilizado para obter um espectro do infravermelho é chamado de espectroscopia de infravermelho (IV).

A radiação infravermelha corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e das micro-ondas. A porção de maior utilidade para a química orgânica está situada entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  e  $400\text{ cm}^{-1}$ . (SILVERSTEIN, 2007).

Hollande (1997) usou a técnica de FTIR para detectar produtos de oxidação em filmes de poliolefinas e em PVC fototratado por UV. Essa técnica também tem sido largamente utilizada para estudar a estrutura cristalina e amorfos dos polímeros

por permitir a exploração da estrutura e interação molecular em relação aos grupos funcionais (FURUKAWA *et al.* 2007).

A espectroscopia no infravermelho é uma das técnicas de caracterização química que vem sendo utilizada por diversos autores e que também será utilizada neste trabalho.

### **3.6.3 Análises Térmicas**

Descreve um número de técnicas que envolvem a medição de uma propriedade física de um material em função da temperatura. DSC e TGA são dois métodos térmicos que podem ser usados para comparar e avaliar amostras de polímeros.

#### **3.6.3.1 DSC**

Em decorrência da versatilidade, a calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica frequentemente utilizada para análises térmicas. É possível medir a diferença de energia entre uma amostra e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento sob atmosfera controlada (STUART, 2012). Geralmente é utilizada para determinar a temperatura de fusão e cristalização; entalpias de fusão e de cristalização, bem como na determinação da temperatura de transição vítreia.

Odusanya *et al.* (2013) observaram as deformidades superficiais do plástico quando tratadas com *S. marcescens*; a degradação adicional foi avaliada pela redução da temperatura de transição vítreia ( $T_g$ ) e redução da cristalinidade, via análise DSC. Já Renstand (1999) analisou a blenda de PHB/PHV na presença de *Phanerochaete chrysosporium*, *Penicillium simplicissimum* e *Aspergillus fumigatus*, usando a técnica DSC foi possível observar uma diminuição em 10% da cristalinidade do material, após 44 dias de degradação.

A precisão dos dados obtidos depende da otimização do desempenho do instrumento e na seleção ideal das condições para excursão do experimento.

#### **3.6.3.2 TGA**

A análise térmica é aplicada em uma grande variedade de materiais e para o desenvolvimento de uma enorme variabilidade de estudos. A termogravimétrica (TGA) é uma técnica na qual a variação da massa da amostra é determinada em

função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura (CANEVAROLO, 2007).

Segundo Stuart (2002), essa técnica pode ser usada para quantificar a mudança de massa em um polímero associado a transições ou processos de degradação. Os dados obtidos fornecem curvas características para um determinado polímero.

No meio acadêmico, a TGA é muito utilizada no desenvolvimento de vários tipos de estudos para avaliação das características químicas e físicas, quando estão relacionadas com a variação da massa em função do tempo.

No estudo realizado por Kuchnier (2014), as análises de TGA mostraram o efeito do aumento na estabilidade térmica gerada pelo extensor de cadeia e o aumento da degradação térmica no processamento por injeção do PLA e PBAT. Já no estudo da degradação PEVD realizado por Bhatia (2014) a reprodutibilidade da degradação foi examinada por TGA, MEV e FTIR, e o crescimento bacteriano foi analisado pela formação do biofilme da superfície.

#### **3.6.4 Ensaios Mecânicos**

As propriedades mecânicas dos materiais poliméricos são de grande importância e interesse científico e tecnológico, devido aos requisitos e exigências que os diversos polímeros existentes devem atender na maior parte de suas aplicações. Existem várias técnicas fundamentais utilizadas para caracterizar as propriedades mecânicas, isso inclui os ensaios de tração, flexão, resistência ao impacto e dureza. Para muitos materiais poliméricos, um simples ensaio de tensão-deformação é empregado para caracterizar o material (CALLISTER, 2016).

Os ensaios de tração e flexão são realizados através da aplicação de uma solicitação ao material sob condições controladas, geralmente deformação a velocidade constante, até a ruptura do material ou até que a tensão ou deformação alcance um valor pré-estabelecido (CANEVAROLO, 2007). Por exemplo, nos ensaios de resistência à tração, a solicitação é feita através de uma deformação sob tração e a resposta obtida é uma tensão de tração. De forma análoga, para os ensaios de flexão, são obtidas curvas do tipo tensão sob flexão e deformação sob flexão.

## **4. MATERIAIS E METÓDOS**

### **4.1 MATERIAIS**

A investigação foi realizada com o PHB – poli (hidroxibutirato), PBAT – poli[(adipato de butileno)-co-(tereftalato de butileno)], o PET (poli(tereftalato de etileno)) e o PEAD – poli (etileno) de alta densidade, o último foi utilizado como polímero de referência. O fluido de análise utilizado no experimento foi água do mar localizada no marco zero, Recife-PE.

#### **4.1.1 PHB**

O PHB é naturalmente produzido por um processo fermentativo de algumas bactérias, esse foi produzido pela bactéria *Burkholderia sacchari*, essa característica pode influenciar na variação das propriedades de um lote para outro. O material foi fornecido em forma de pó pela PHB Industrial S/A (Serrana, SP). Algumas das principais características desse material estão mostradas na Tabela 6.

#### **4.1.2 PBAT**

O PBAT (butileno-adipato-tereftalato) é um copolímero do tereftalato de butanodiol e adipato de butanodiol, termoplástico semicristalino com razão molar 1:1 dos comonômeros, é comercializado pela BASF com o nome de Ecoflex®. O material é identificado indistintamente como Ecoflex® ou PBAT. Algumas propriedades do PBAT estão apresentadas na Tabela 6.

#### **4.1.3 PET**

O poli(tereftalato de etileno) reciclado (PET) na forma de pellets com densidade de 1,39-1,41 g/cm<sup>3</sup> e temperatura de fusão de 245 °C (dados do fabricante), fornecido pela empresa Bahia Pet®. Algumas das principais propriedades do PET podem ser visualizadas na Tabela 6.

#### **4.1.4 PEAD**

O polietileno de alta densidade (PEAD), na forma de pequenos grãos (pellets), foi fornecido pela empresa de Termoplástico do Nordeste Eteno LTDA. A Tabela 6 apresenta as principais propriedades deste polímero.

**Tabela 6** - Comparação das propriedades dos polímeros em estudo.

Propriedades	PHB (a)	PBAT (b)	PET (a)	PEAD (a)
Massa molecular (g.mol <sup>-1</sup> )	600.000	-	192	5 x 10 <sup>5</sup> – 5 x 10 <sup>6</sup>
Densidade(ASTM D 1238, 190 °C / 2.160g) (g/cm <sup>3</sup> )	1,23	1,26	1,41	0,968
Temperatura de fusão (°C)	140-180	106-120	245-265	245-265
Módulo Elástico (MPa)	4000	90	1700	2800-4100
Resistência a tração (MPa)	25-40	15	24	48-72
Alongamento a ruptura (%)	6	580-820	30-300	300-600
T <sub>g</sub> (°C)	0	-30	-100	73-80
Índice de fluidez (MFI) (g/10 min)	40,0	2,5-4,5	6	0,35

(a) AGARWAL (2012)

(b) Yamamoto (2002)

#### 4.2.1. Biorreatores

Os experimentos foram conduzidos em sistemas estáticos, utilizando biorreatores construídos em vidro. Os corpos de prova foram suspensos por fios de Nylon e presos às tampas dos biorreatores (Figura 8), de forma a ficarem expostos na mesma profundidade no fluido, por um período de até 180 dias.

**Figura 8** - Biorreator montado.

Fonte: Autor, 2022

Para avaliar a biodegradação dos polímeros, foram montados quatro diferentes sistemas. Cada sistema conta com 7 biorreatores com 10 corpos de prova, totalizando 70 cupons de cada material testado.

A cada 7, 14, 30, 60, 120 e 180 dias de experimentos, contados a partir da data de montagem do biorreator, dez corpos de prova, previamente enumerados e pesados, foram retirados para análise.

#### **4.2.2 Fluido de processo**

A coleta da água foi realizada em um ponto da região do Marco Zero, Recife-PE, especificamente em latitude 8°3'15" e longitude 34°52'53".

### **4.3 MÉTODOS**

#### **4.3.1 Processamento em extrusora**

Os polímeros foram processados no SENAI – CIMATEC, em extrusora IMACON modular, de dupla rosca, co-rotativa, com razão L/D = 30 e velocidade da rosca igual a 250 RPM. Estes materiais foram processados em forma de filetes que passaram por uma cuba de aço inoxidável, contendo água a uma temperatura ambiente, com o objetivo de reduzir o gradiente de temperatura. Na Tabela 7, são apresentadas as condições de temperatura de processamento para os polímeros processados na extrusora.

**Tabela 7** - Condições de temperatura de processamento das misturas na extrusora (Vazão = 3,0 kg/h).

Amostras	Z1 (°C)	Z2 (°C)	Z3 (°C)	Z4 (°C)	Z5 (°C)	Z6 (°C)	Z7 (°C)	Cabeçote (°C)	Fundido (°C)
PHB	145	145	145	150	155	155	155	160	165
PBAT	130	135	135	140	150	160	170	170	175
PET	185	190	190	200	210	215	225	235	245
PEAD	165	165	170	170	175	175	180	185	185

Fonte: Autor, 2022

O próximo passo foi a pré-secagem por um jato colimador de ar comprimido e na sequência a formação dos palettes no equipamento SAGEC, modelo SG70, 220 v, com navalhas rotativas, em uma velocidade ajustada com a produção dos filetes.

#### **4.3.2 Injeção**

Após a granulação e formação de pellets, os materiais foram colocados em bandejas de uma estufa marca PALLEY a uma temperatura de 100 °C e mantidos por um período de 4 horas, afim de melhorar a secagem e assim amenizar a degradação eletrolítica destes materiais durante o processamento (PACHEKOSKI, 2001).

Os corpos de prova foram moldados por injeção no SENAI - CIMATEC, segundo as normas ISO 527 para ensaio de tração, ISO 178 para flexão e ISO 180 para ensaio de impacto. Para esta etapa utilizou-se uma injetora com capacidade de 100 toneladas de força de fechamento, marca ROMI, modelo Primax. A Tabela 8 mostra as condições de injeção dos polímeros em estudo.

**Tabela 8** - Condições de injeção.

Amostras	Z1 (°C)	Z2 (°C)	Z3 (°C)	Bico
PHB	155	150	160	170
PBAT	160	150	155	150
PET	200	240	250	260
PEAD	170	180	190	200

Fonte: Autor, 2022

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As matérias-primas foram submetidas às seguintes técnicas de caracterização: Análise da concentração de microrganismos sésseis, Ensaios gravimétricos, Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Ensaio mecânico (tração).

##### 4.3.1 ANÁLISE DE MICRORGANISMOS SÉSSEIS

As concentrações celulares dos grupos microbianos presentes nos biofilmes foram determinadas de acordo com os períodos de retirada dos corpos de prova para avaliação da biodegradação. As águas dos biorreatores foram trocadas a cada quatorze dias, que é o tempo de exaustão dos nutrientes para os microrganismos presentes nos fluidos (FRANÇA *et al.* 2000). Para quantificar os microrganismos sésseis, os corpos de prova retirados foram colocados em recipientes com 30 ml de solução fisiológica e/ou 30 ml da solução redutora para as análises dos microrganismos heterotróficos aeróbios e anaeróbios, respectivamente. Em seguida, essas amostras foram submetidas ao banho ultrassônico durante 15 segundos para assegurar a remoção e dispersão de microrganismos sésseis. Os biofilmes formados na superfície dos cupons poliméricos foram removidos por raspagem da superfície com uma espátula estéril nas soluções adequadas. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com técnicas assépticas.

Os microrganismos foram quantificados usando os seguintes métodos: a) bactérias heterotróficas aeróbias (BHA) e *Pseudomonas sp*: de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* 2005; b) bactérias precipitantes do ferro (BPF): de acordo com a metodologia descrita por CETESB, 1992; c) bactérias heterotróficas anaeróbias (BHAn): de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* 2005 e Vieira *et al.* 2008; d) Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS): de acordo a metodologia descrita por Postgate, 1984; e) Fungos filamentosos: de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* 2005.

#### **4.4.2 Ensaio Gravimétrico (Perda de massa)**

Nos ensaios de perda de massa, os corpos de prova foram pesados antes do início do processo e ao final desse. A perda de massa foi quantificada subtraindo-se do seu peso original, o peso após o ensaio. Para o cálculo da taxa de biodegradação dos polímeros, considerou-se a média de 5 corpos de prova. Ao serem retirados dos sistemas, os biofilmes foram removidos dos corpos de prova, em seguida, foram lavadas com água destilada, álcool etílico e acetona e posteriormente foram secas com ar quente.

#### **4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)**

A análise termogravimétrica foi realizada no equipamento METTLER TOLETO TGA 2 Star System, o ensaio foi realizado no Laboratório Petroquímico (LPQ) na Universidade Federal de Pernambuco. A rampa de aquecimento foi de 30 a 600 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min, atmosfera de nitrogênio com vazão do gás de 50 ml/min. Utilizou-se aproximadamente 5 mg do material em cadrinho de alumina de 70 µL.

#### **4.4.4 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)**

A calorimetria exploratória diferencial foi realizada em equipamento METTLER TOLETO DSC 1 Star System, no Laboratório Petroquímico (LPQ) na Universidade Federal de Pernambuco. Os testes foram realizados com amostras de 5 a 10 mg, em três estágios: aquecimento – resfriamento – reaquecimento. Todas as rampas aconteceram sob atmosfera de N<sub>2</sub> com vazão de 50 mL/min.

#### 4.4.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

A caracterização química dos polímeros foi obtida por espectroscopia no infravermelho (FTIR), utilizando um Thermo Scientific Nicolet modelo 32 espectrômetro IS10, realizado na Universidade Estadual de Santa Cruz- Ilhéus-BA. Os espectros foram registrados à temperatura ambiente no intervalo de números de onda 4000-400 cm<sup>-1</sup>, com uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. Após a aquisição dos espectros, estes foram tratados utilizando-se o software Origin 8.5, passando pelo processo de ajuste da linha base, normalização e deconvolução. Calculou-se o Índice de Carbonila (IC) de acordo com a Equação 1.

$$IC = \frac{Absc=0}{Absc-H}$$

Sendo IC o índice de Carbonila, Absc=0 a absorbância da banda da carbonila e Absc-H da banda C-H escolhida como referência.

#### 4.4.6 Ensaios Mecânicos de tração

Os ensaios de tração, antes e após o processo de biodegradação, foram realizados no SENAI – CIMATEC, em máquina universal EMIC, modelo DL 2000 com célula de carga de 20 kN. Cada ensaio utilizou 5 corpos de provas (Figura 9), com procedimentos e dimensões especificados pela Norma ISO 527. Os dados do ensaio mecânico foram analisados por meio do estudo da variância (ANOVA) usando o software Statistic, versão 10.0.228.8.

**Figura 9** - Fotografia dos corpos de prova do ensaio de tração de acordo com norma ISO 527.



Fonte: Autor, 2022

#### 4.4.7 Análise estatística

Os dados do ensaio mecânico foram analisados por meio do estudo da variância (ANOVA) usando o software Statistic, versão 10.0.228.8.

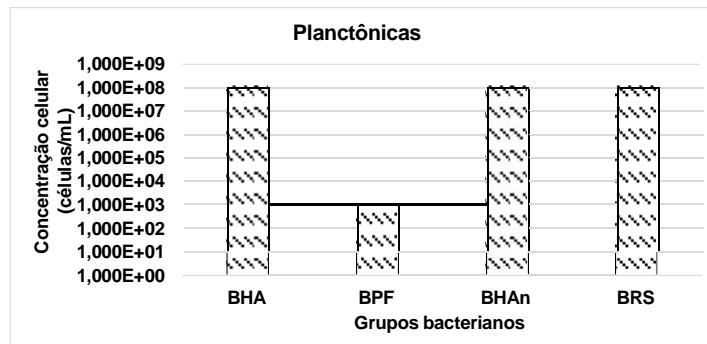
### 5. RESULTADOS

#### 5.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

##### 5.1.1 Bactérias Planctônicas da Água do Mar

As concentrações celulares das bactérias planctônicas heterotróficas aeróbias (BHA), precipitantes do ferro (BPF), heterotróficas anaeróbias (BHAn) e redutoras de sulfato (BRS) quantificadas na água do mar, estudadas neste trabalho, estão demonstradas na Figura 10.

**Figura 10** - Quantificação de bactérias planctônicas na água do mar utilizada no experimento.



Fonte: Autor, 2022

As maiores concentrações encontradas foram das BHA, BHAn e BRS, todas na ordem de  $10^8$  células/ml. Em menor quantidade, estão as BPF, com concentração de ordem de  $10^3$  células/ml. Na literatura, foram encontrados outros estudos onde a concentração de microrganismos na água do mar do porto de Recife-PE. Argolo *et al.* (2015) quantificaram os mesmos grupos microbianos e obtiveram valores da ordem de  $10^6$  células/ml para as BHA e BPF e  $10^5$  células/ml para BHAn e  $10^3$  células/ml para BRS. Já Medeiros *et al.* (2016) encontraram valores da ordem de  $10^5$  células/mL para BHA e BHAn,  $10^4$  células/mL para BPF e  $10^2$  células/mL para BRS. Nos estudos citados, as concentrações obtidas foram inferiores àquelas encontradas no presente trabalho para todos os grupos planctônicos com exceção para as BPF que apresentaram concentrações inferiores.

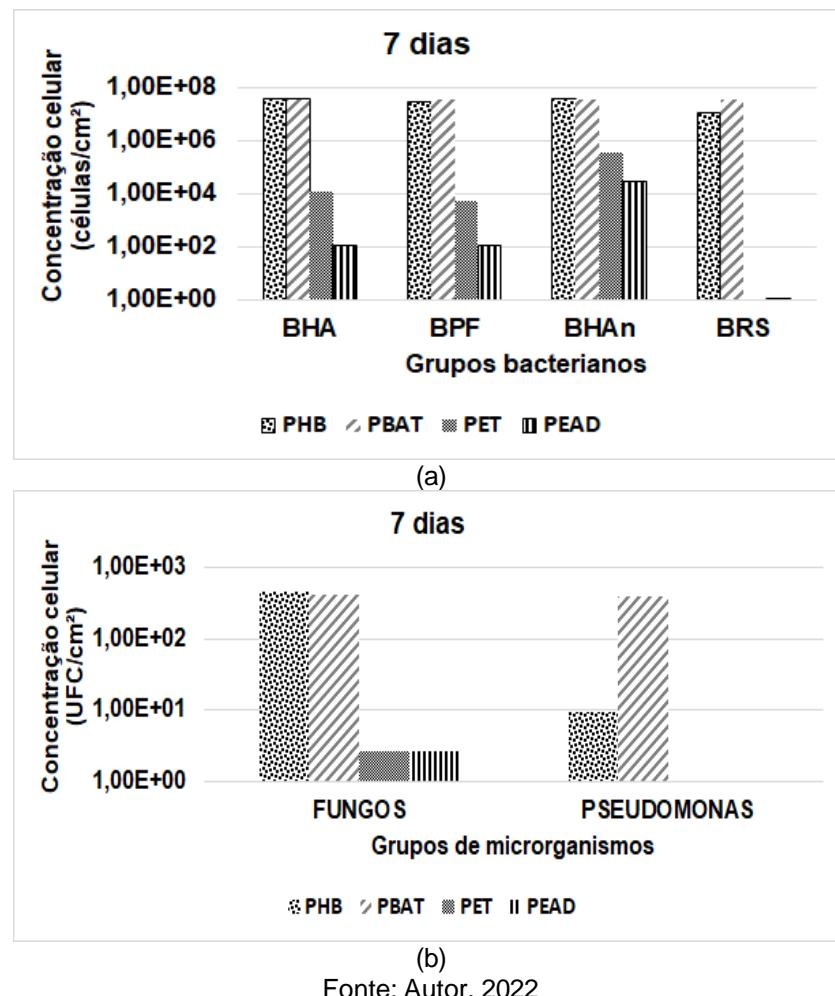
A presença dessas bactérias na água do mar evidencia um meio com potencial para a ocorrência da biodegradação. Essas análises podem gerar resultados distintos, pois sofre influência do local, época, condições climáticas e outros fatores. (VIDELA, 2003).

### **5.1.2 Bactérias Sésseis nos Diferentes Sistemas**

As Figuras 11, 12, 13, 14, 15 e 16 mostram, respectivamente, os resultados das análises microbiológicas nos períodos de 7, 14, 30, 90, 120 e 180 dias para o PHB PBAT, PET e PEAD.

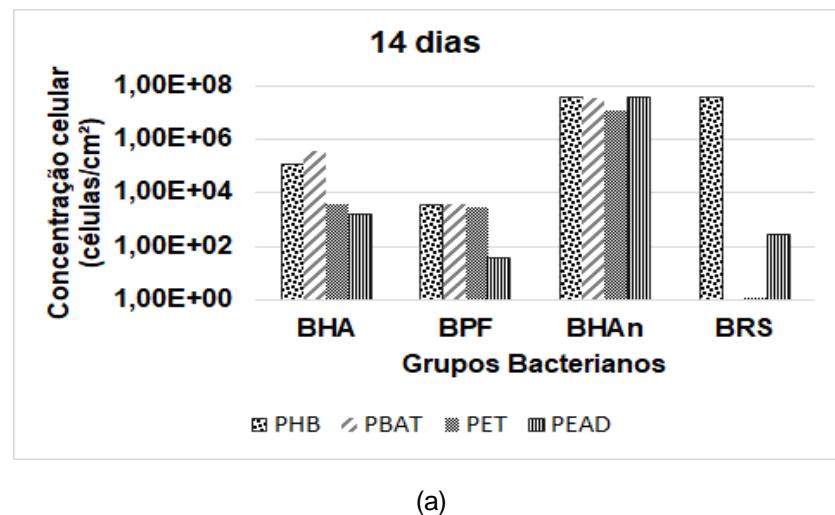
Uma análise nos gráficos permite observar que, aos 7, 14 e 30 dias de experimento (Figuras 11, 12 e 13) a microbiota aeróbia (BHA, BPF e fungos filamentosos) teve concentrações sésseis mais elevadas para os polímeros PHB e PBAT. Com exceção para o PET, após 14 e 30 dias, que apresentou uma concentração do BPF semelhante aos polímeros PHB e PBAT, aos 30 dias os fungos filamentosos tiveram concentrações sésseis semelhantes para os quatro polímeros. As *Pseudomonas sp.* tiveram concentrações mais elevadas para o PBAT e não foi quantificada para o PEAD. As concentrações sésseis de microrganismos anaeróbios (BHA<sub>n</sub> e BRS) também tiveram crescimentos beneficiados nas superfícies dos polímeros PHB e PBAT nesses tempos de experimento, com 14 dias as BHA<sub>n</sub> tiveram concentrações semelhantes para os quatro polímeros. Essas concentrações mais elevadas da microbiota para os polímeros considerados biodegradáveis demonstram que esses polímeros são mais susceptíveis à adesão dos microrganismos, com biodegradação iniciada com menos dias que o PET e PEAD, como demostrado no gráfico da Figura 13.

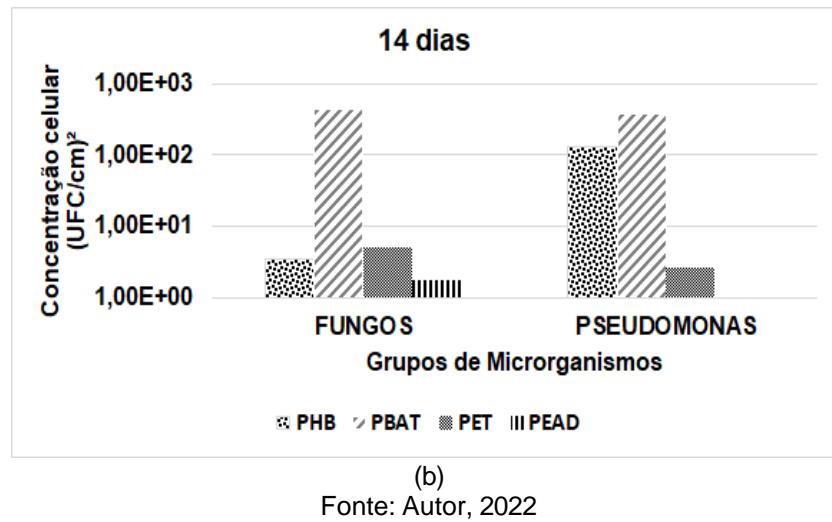
**Figura 11** - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 7 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e Pseudomonas sp.



Fonte: Autor, 2022

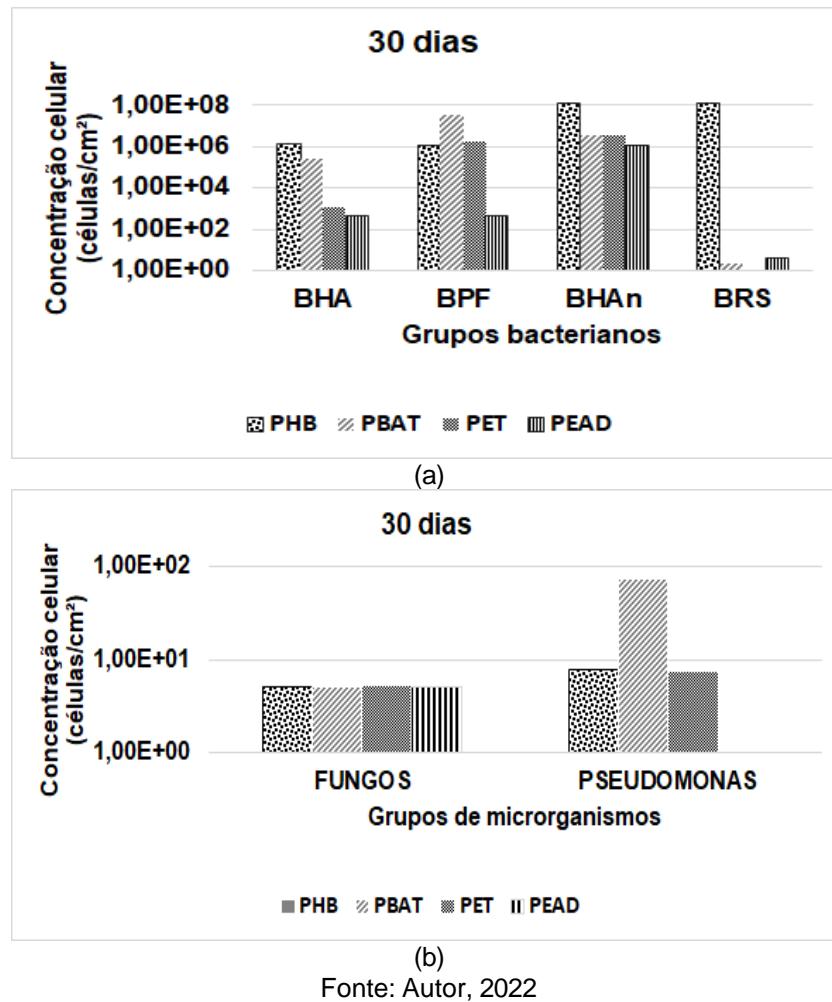
**Figura 12** - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 14 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e Pseudomonas sp.





(b)  
Fonte: Autor, 2022

**Figura 13** - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 30 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e Pseudomonas sp.



Fonte: Autor, 2022

Importante ressaltar também que as bactérias aeróbias (BHA e BPF) mostraram uma redução nos seus crescimentos de 7 para 14 dias, devido,

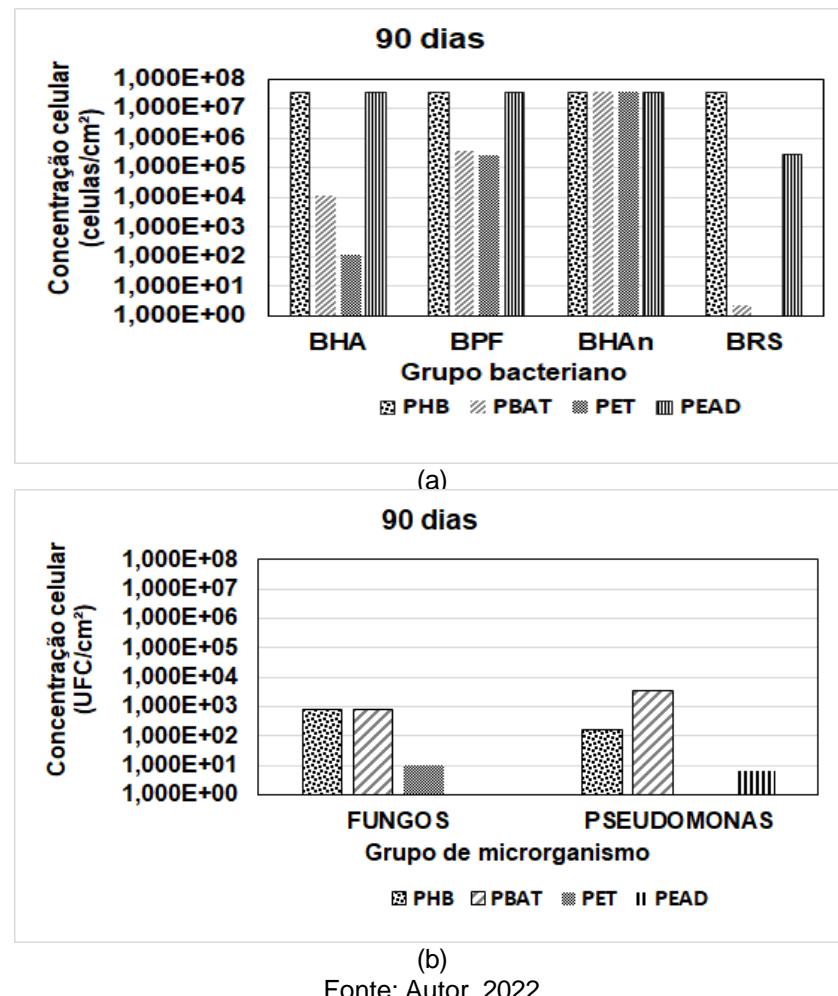
provavelmente, a deficiência de nutrientes e/ou oxigenação do meio. Essa redução na concentração desses grupos microbianos também pode ter relação com o aumento dos exopolissacarídeos (EPS) sésseis, pois as BPF agregam diversos precipitados de ferro no biofilme, diminuindo a oxigenação neste e acarretando o crescimento das bactérias anaeróbias heterotróficas, como demonstram as Figuras 11, 12 e 13 (BOARI, 2009). A partir de 30 dias de experimento as concentrações dos microrganismos anaeróbios cresceram continuadamente até 180 dias, com exceção das BRS, que se manteve inconstante nas concentrações sésseis nos quatro polímeros até 180 dias de experimento (Figuras 16). Nos tempos analisados, 90, 120 e 180 dias, a microbiota aeróbia (BHA, BPF) também tiveram concentrações elevadas, as *Pseudomonas sp.* voltaram a ser quantificadas nos sistemas e os fungos filamentos mantiveram quantificações nos quatro polímeros (Figuras 14, 15 e 16).

O PHB é um poliéster natural, ou seja, é produzido por bactérias como reserva de energia intracelular. Dessa forma, esse material é compatível com os mecanismos de bioassimilação de cadeias menores, geradas a partir da hidrólise e oxidação biológica promovidos por enzimas produzidas pelas bactérias e fungos (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006).

O PBAT é um copoliéster alifático-aromático, de estrutura aleatória. A sua susceptibilidade à adesão de microrganismos pode ser explicada pela existência de grupos adipato de butíleno passíveis de serem atacados por enzimas e microrganismos como bactérias e fungos (OLIVEIRA, 2017).

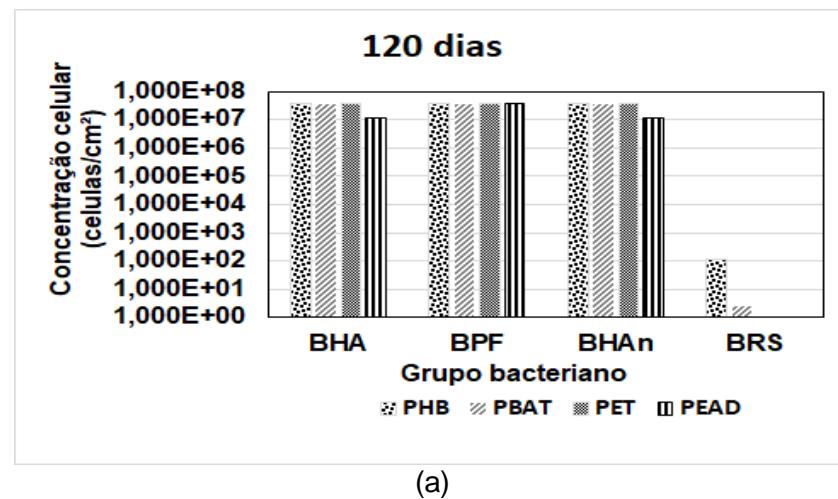
Já o PEAD e PET, apresentam hidrofobicidade, o que limita a interação entre o polímero e as enzimas, dificultando o ataque das mesmas e, consequentemente, a biodegradação (ARCANA, 2006). Por isso, a contagem nos períodos iniciais, 7, 14 e 30 dias do experimento foram menores para o PET e PEAD, uma vez que estes polímeros não serviram como fonte de carbono aos microrganismos. Com o tempo, os microrganismos passam a desenvolver novas enzimas, que facilitam a biodegradação e a população microbiana aumenta concentração (Faria e Martins-Franchetti 2010).

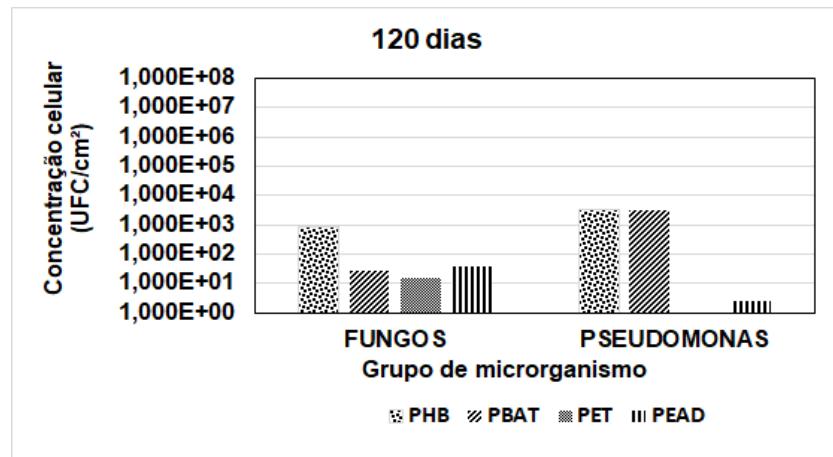
**Figura 14** - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 90 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e Pseudomonas sp.



Fonte: Autor, 2022

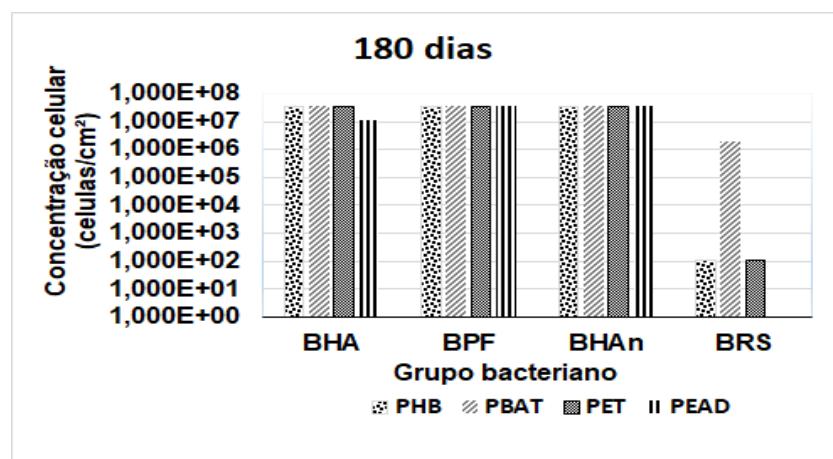
**Figura 15** - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 120 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e Pseudomonas sp.



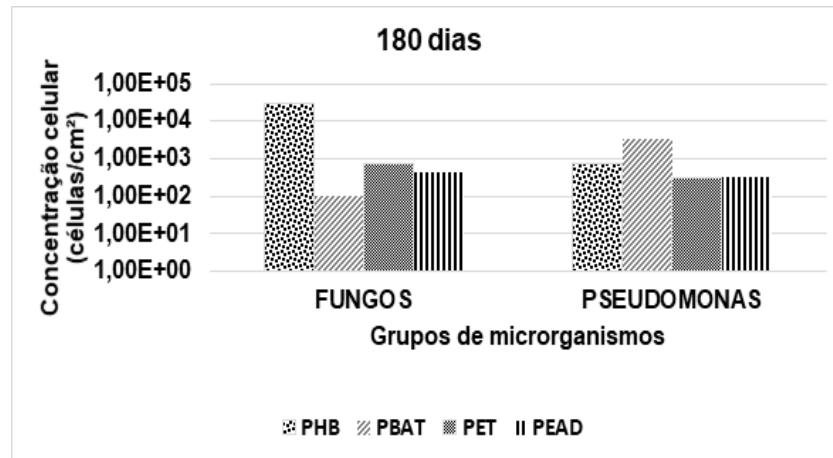


(b)  
Fonte: Autor, 2022

**Figura 16** - Quantificação microbiana séssil dos corpos de prova dos quatro sistemas em 180 dias de experimento: a) BHA, BPF, BHAn e BRS e b) Fungos filamentosos e *Pseudomonas* sp.



(a)



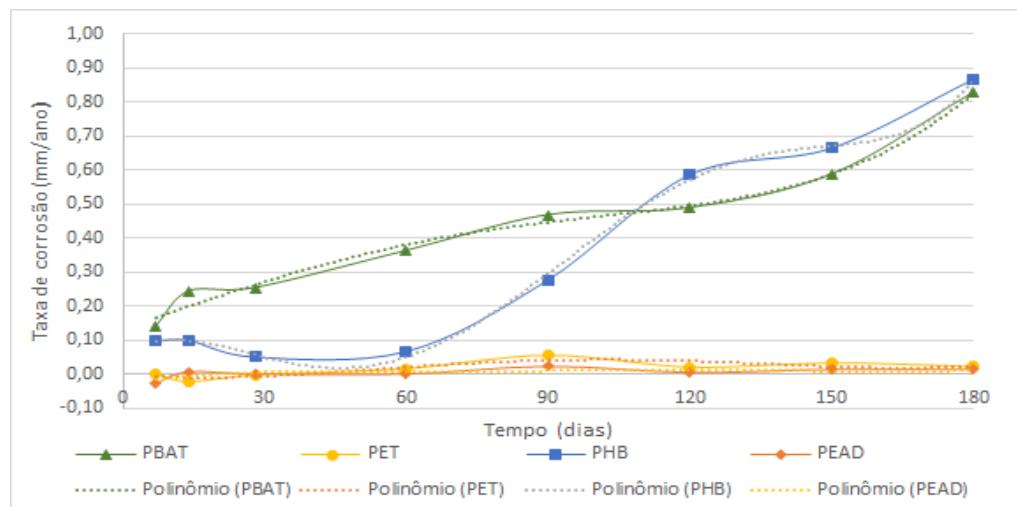
(b)  
Fonte: Autor, 2022

## 5.2 ENSAIOS GRAVIMÉTRICOS

O ensaio gravimétrico é o método mais comumente aplicado e relativamente sensível para determinar mudanças causadas pelo ataque microbiano nos polímeros (FLEMMING, 1998).

A Figura 17 mostra o perfil da taxa de biodegradação do PHB, PBAT, PET e PEAD ao decorrer de 180 dias de experimento.

**Figura 17** - Perda de massa do PHB, PBAT, PET e PEAD ao decorrer de 180 dias.



Fonte: Autor, 2022

São observados quatro diferentes perfis de degradação, PHB, PBAT, PET e PEAD, todos ajustados a polinômios do 4<sup>a</sup> grau ( $R^2= 0,9894$ ,  $R^2= 0,9987$ ,  $R^2= 0,6239$  e  $R^2= 0,7643$ , respectivamente).

Comparando os polímeros, são mostradas taxas de biodegradação maiores para o PHB e PBAT, no entanto após 120 dias houve uma diminuição da taxa de biodegradação para o polímero PHB, essa característica pode ser justificada pelos os microrganismos que cresceram sobre e entre as camadas do PHB, levando a um aumento de massa devido à acumulação nessas áreas (SUDHAKAR *et al.* 2007). Esse decréscimo é corroborado pela microbiota dos sistemas, apresentada nas Figuras 11 a 16. Os polímeros PET e PEAD são menos susceptíveis à formação de biofilmes e, consequentemente, à ação enzimática de microrganismos. Esses fatos podem ser explicados pela composição química dos polímeros, o PHB contém em sua estrutura grupos carboxílicos, que são hidrofílicos, o PBAT apresenta grupos adipato de butileno passíveis de serem atacados por enzimas e microrganismos como bactérias e fungos. Já o PET e PEAD, por serem formados por grupos

químicos hidrofóbicos, dificulta a ação enzimática dos microrganismos nas superfícies dos polímeros (COSTA *et al.* 2015).

Entretanto, estudos realizados por Sudhakar *et al.* (2007) evidenciaram o oposto, obtendo resultados em que um polímero mais hidrofóbico foi melhor colonizado do que um menos hidrofóbico, quando biotratados em ambiente marinho. Isto reflete a especificidade do tipo de organismo que coloniza a superfície, ou seja, há microrganismos que preferem superfícies hidrofílicas e outros que se desenvolvem melhor em superfícies hidrofóbicas.

Ainda analisando a Figura 17, vê-se um leve aumento da taxa de degradação do PEAD, no período entre 60 e 90 dias de experimento, que se deve ao aumento da população microbiana na superfície, observada no gráfico da Figuras 14, em que a quantificação microbiana já está na ordem de  $10^7$  para BHA, BPF e BHAn,  $10^5$  para BRS e  $10^1$  para *Pseudomonas*, concentrações maiores se comparadas à quantificação de 30 dias (Figura 13). A biodeterioração de materiais plásticos está bem referenciada em relação aos grupos microbianos, *Pseudomonas* e BRS (VIDELA, 2003) que foram quantificados em maior concentração nesse tempo para o polímero PEAD.

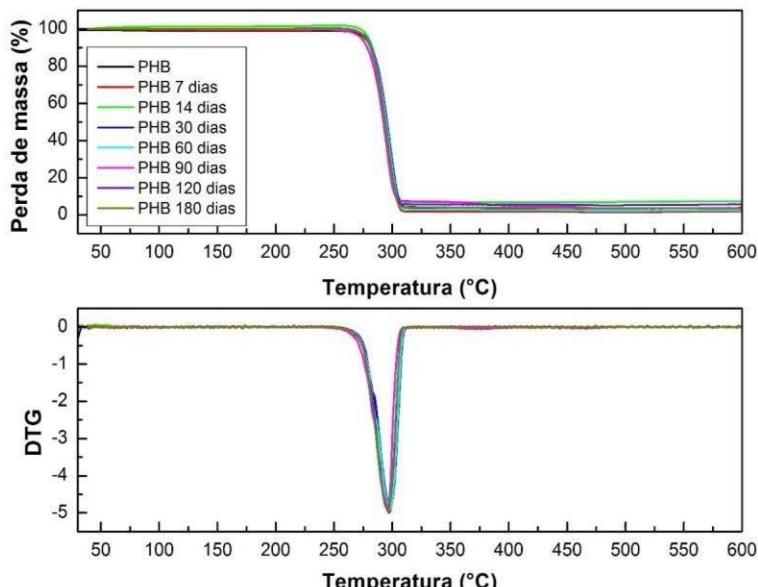
Através das análises de perda de massa, observou-se que a biodegradação pode ser favorecida, dependendo da microbiota do fluido, da exposição aos agentes abióticos e da estrutura dos polímeros.

### 5.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

Os gráficos da análise termogravimétrica (TGA) e a sua derivada (dTGA) podem ser vistos nas Figuras 18, 19, 20 e 21 para os polímeros em estudo durante 180 dias de exposição à água do mar.

A Figura 18(a) apresenta a curva de decomposição térmicas do polímero PHB durante 180 dias. Através das curvas pode-se observar que em todos os tempos os perfis são semelhantes em relação a perda de massa que ocorre em três fases: perda de água, degradação polimérica e resíduos.

**Figura 18** - Termogramas de decomposição do PHB (a) e (b) de zero a 180 dias.



Fonte: Autor, 2022

A degradação aconteceu em apenas um estágio para todos os tempos e a degradação mostrou-se abrupta nas condições estudadas. O tempo que as amostras do PHB passaram imersas na água do mar não alterou a temperatura de degradação, pois todos eles se comportam similarmente, dada a Figura 18(a) e 18(b).

A Tabela 9 mostra dados sobre a degradação térmica que foram obtidos a partir das curvas termogravimétricas (Fig. 18).

**Tabela 9** - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PHB.

Amostras	T <sub>ONSET</sub> (°C)	T <sub>ENDSET</sub> (°C)	Tmáx (°C)	Massa residual (%)
<b>PHB</b>	<b>276,2</b>	<b>306,7</b>	<b>296,3</b>	<b>3,82</b>
PHB - 7 dias	274,4	306,7	296,3	2,00
PHB - 14 dias	274,8	306,4	296,3	7,4
PHB - 30 dias	277,6	306,5	297,7	3,56
PHB - 60 dias	276,8	306,7	297,7	2,52
PHB - 90 dias	276,3	305,2	295	3,69
PHB - 120 dias	277,3	304,4	296,3	5,72
PHB - 180 dias	276,3	305,2	293,8	3,43

Fonte: Autor, 2022

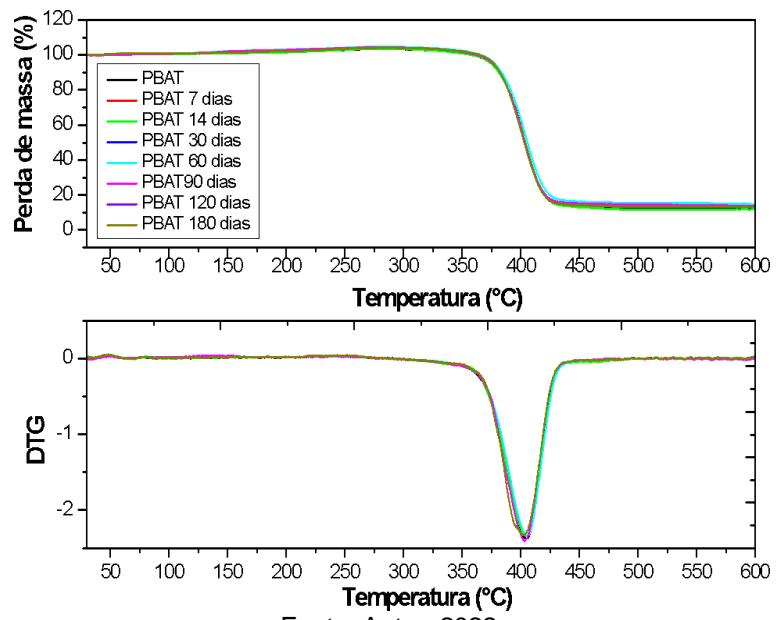
A amostra de controle de PHB apresentou uma faixa de degradação entre 276 a 306 °C (IULIANELLI *et al.* 2018). As demais amostras após 7, 14, 30, 60, 90, 120

e 180 dias não apresentaram diferenças significativas em suas temperaturas iniciais de decomposição térmica. No final da análise foi observada uma massa residual que variou de 2,0 a 7,4% a qual corresponde aos produtos carbonáceos formados com a degradação térmica.

A preservação de uma estabilidade térmica alta é uma característica importante, pois vários processos de biodegradação ocorrem em temperaturas elevadas (RECH et al. 2020; ARRIETA et al. 2020; MUNIYASAMY et al. 2019).

Similarmente ao que foi observado para o PHB, a degradação do PBAT, como mostra a Figura 19(a) aconteceu com uma etapa principal de degradação. O tempo de 180 dias de exposição na água do mar não alterou a tendência das curvas: todos eles tiveram temperatura de máxima degradação próximas.

**Figura 19** - Termogramas de decomposição do PBAT (a) e (b) de zero a 180 dias.



Fonte: Autor, 2022

A Tabela 10 mostra dados sobre a degradação térmica que podem ser obtidos a partir das curvas na Figura 19. Temperatura de início ( $T_{ONSET}$ ) e fim ( $T_{ENDSET}$ ) de degradação foram obtidas pela interseção das tangentes às curvas na respectiva região de interesse (Fig. 19a). A temperatura de máxima degradação foi obtida lendo o pico obtido na Figura 19b.

**Tabela 10** - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PHB.

Amostras	T <sub>ONSET</sub> (°C)	Tendset (°C)	Tmáx (°C)	Massa residual (%)
PBAT	381,81	419,94	406,67	12,44
PBAT - 7 dias	382,19	418,16	406,17	11,65
PBAT - 14 dias	383,58	419,61	406,17	11,6
PBAT - 30 dias	384,12	420,68	406,33	15,39
PBAT - 60 dias	381,7	419,83	405,67	12,78
PBAT - 90 dias	384,2	419,09	406	9,03
PBAT - 120 dias	381,97	418,12	406	14,17
PBAT - 180 dias	381,79	417,47	406,67	12,28

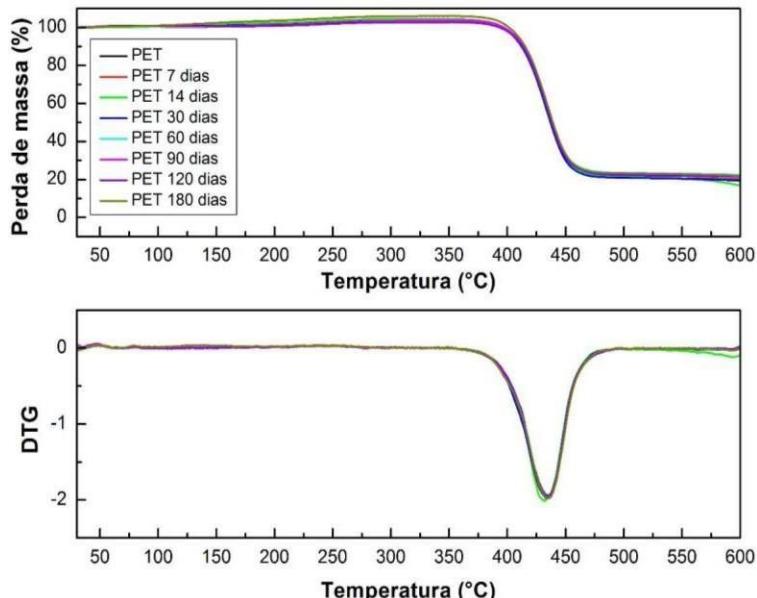
Fonte: Autor, 2022

Pode ser dito que a degradação começou em torno de 382 °C e terminou em torno de 419 °C, para a maior parte das amostras. A máxima taxa de degradação foi obtida em torno de 406 °C e o resíduo variou de 9 a 15%.

Zehetmeyer *et al* (2016) encontraram dois estágios de degradação térmica. O primeiro, que coincide com o encontrado neste trabalho, que pode ser devido à decomposição máxima do copoliéster alifático ácido adípico e 1,4-butanodiol, e o outro estágio em torno de 600 °C com a decomposição do copoliéster aromático tereftalato. No entanto, outros autores encontraram apenas um estágio de degradação, de 350 a 430 °C (COBO *et al*, 2021; ANDRADE, *et al*, 2020; ANDRADE *et al*. 2018; TEAMSINSUNGVON, *et al*. 2013). Segundo Moraes (2020), a quantidade de estágio na degradação pode estar ligada à quantidade de cada monômero no polímero, sendo aqueles com mais unidades alifáticas degradadas em um único estágio.

As curvas TGA para as amostras do PET antes e depois do ensaio de biodegradação (Fig. 20) não evidenciam variação de massa até 350 °C (CASADO, 2009). Quando se inicia uma perda de massa entre 412 e 452°C (Tabela 11) na maioria das amostras, apresentando uma temperatura do pico de degradação máxima em torno de 435°C na curva DTG (Figura 20b) e o resíduo variou de 20 a 23 %.

**Figura 20** - Termogramas de decomposição do PET (a) e (b) de zero a 180 dias.



Fonte: Autor, 2022

Pode-se observar que não acontecem mudanças no PET após ser exposto em água do mar por 180 dias, as curvas TGA e DTG destas amostras são bem similares às do PET inicial.

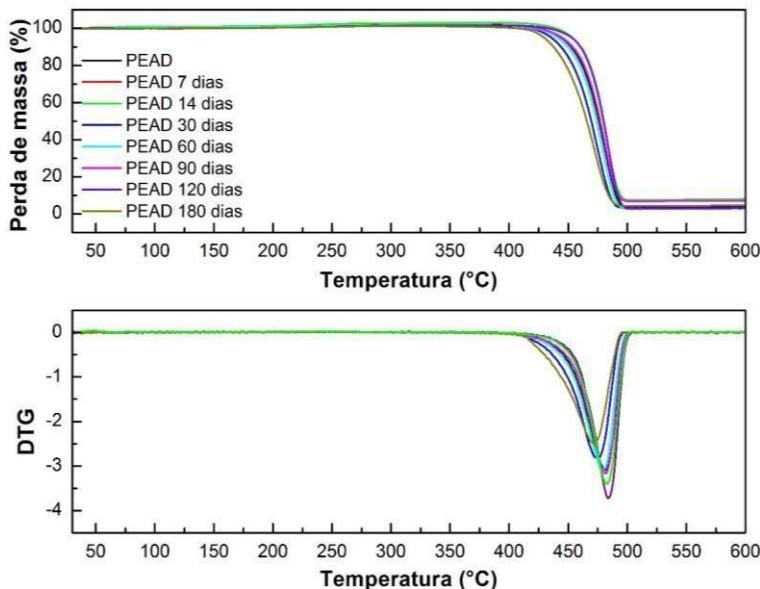
**Tabela 11** - Valores de Tonset, Tendset e Tmáx do estágio principal de degradação térmica do PET.

Amostras	Tonset	Tendset	Tmáx	Massa residual (%)
PET	<b>412,44</b>	<b>451,55</b>	<b>435,83</b>	<b>23</b>
PET 7 dias	412,07	451,42	435,83	20,78
PET 14 dias	410,45	450,8	431,5	21,38
PET 30 dias	410,58	451,23	432,83	20,55
PET 60 dias	412,1	452,24	436,24	23,16
PET 90 dias	412,09	452,08	436,33	21,97
PET 120 dias	412,25	451,62	432,67	22,03
PET 180 dias	411,31	452,63	432,67	23,03

Fonte: Autor, 2022

A Figura 21 mostra as curvas TGA e DTG das amostras de PEAD em função do tempo de biodegradação em água do mar e a tabela 12 relaciona os dados determinados a partir dessas curvas.

**Figura 21** - Termogramas de decomposição do PEAD (a) e (b) de zero a 180 dias.



Fonte: Autor, 2022

Para a amostra sem degradação, observa-se apenas um estágio de perda de massa com temperatura de início de degradação extrapolada ( $T_{onset}$ ) igual a 441 °C e 3,92 de massa residual. Para as amostras degradadas por 7, 14, 60 e 120 dias, ocorreram pequenas variações não significativas na  $T_{onset}$  e  $T_{máx}$ , enquanto para a amostra por 30 e 180 dias houve decréscimo de 6,2 e 13,4 °C respectivamente na  $T_{onset}$ . A entalpia de fusão manteve-se praticamente constante e consequentemente o grau de cristalinidade também se manteve constante.

**Tabela 12** - Valores de  $T_{onset}$ ,  $T_{endset}$  e  $T_{máx}$  do estágio principal de degradação térmica do PEAD.

Amostras	$T_{onset}$	$T_{endset}$	$T_{máx}$	Massa residual (%)
<b>PEAD</b>	<b>441,9</b>	<b>493,2</b>	<b>481,6</b>	<b>3,92</b>
PEAD 7 dias	443,8	482,1	473,6	3,70
PEAD 14 dias	433,3	482,7	483,7	2,51
PEAD 30 dias	435,7	489,3	475,1	3,49
PEAD 60 dias	442,8	492,8	479	3,06
PEAD 90 dias	441,5	492,9	482,9	7,01
PEAD 120 dias	452,4	496	482,9	3,1
PEAD 180 dias	428,5	488,6	471,3	4,62

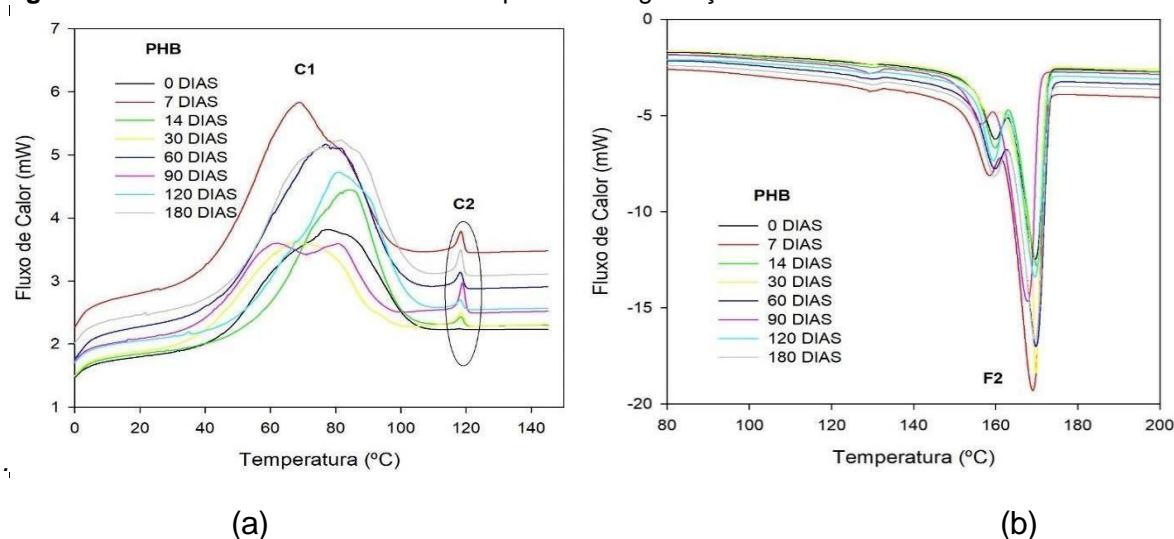
Fonte: Autor, 2022

#### 5.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIO DIFERENCIAL (DSC)

As análises de DSC foram utilizadas para investigar os eventos de cristalização e fusão do PHB, PBAT, PET e PEAD antes e depois da exposição ao ambiente marinho pelos períodos de 7, 14, 30, 60, 90, 120, 180 dias. As amostras foram inicialmente aquecidas para apagar a história térmica, e em seguida foram resfriadas rapidamente e aquecidas novamente. A Tabela 13 apresentam os parâmetros de temperatura de cristalização ( $T_c$ ), de fusão (m), o calor endotérmico ( $\Delta H$ ) e a cristalinidade ( $\Delta X$ ).

Para a amostra de PHB (Figura 22a), durante o resfriamento, foi detectado um pico a cristalização a frio (C1) para o PHB/0dias, a partir de 7 dias de exposição ao ambiente marinho aparece um pico bem sutil em torno de 49°C e permanece com tempos de exposição mais avançados, decorrente de um possível reordenamento da estrutura cristalina do PHB devido ao ataque dos microrganismos. Alguns autores levantam a hipótese de segregação interesferulítica (COSTA, 2019).

**Figura 22** - Curvas DSC do PHB antes e após a biodegradação.



Fonte: Autor, 2022

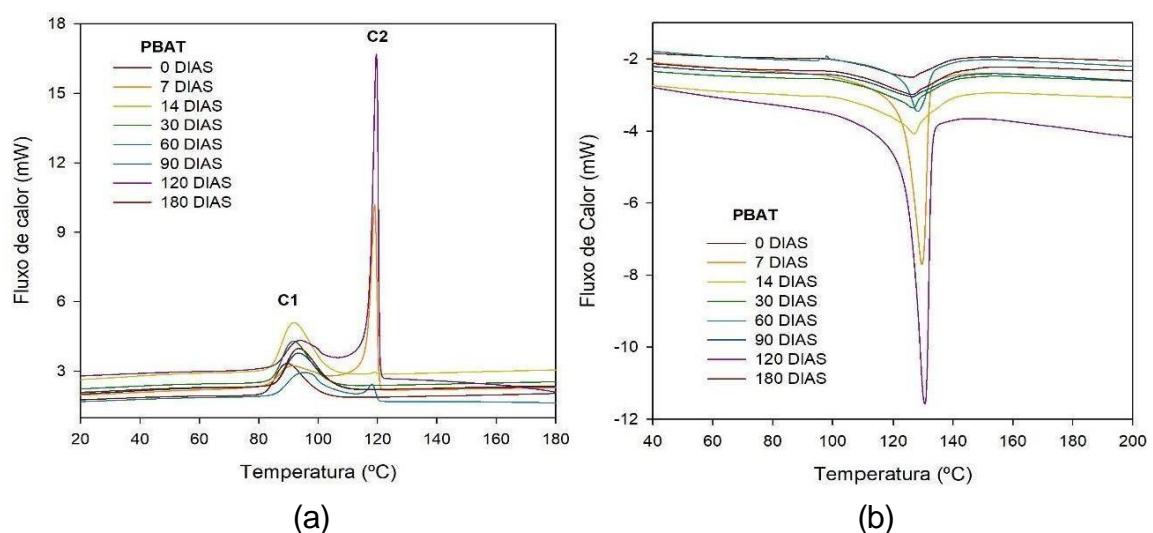
Em seguida, durante o segundo aquecimento do filme de PHB/0dias, observa-se dois eventos térmicos: (1) um pico exotérmico associado a um reordenamento cristalino do PHB ou cristalização secundária (C2) (COSTA, 2019); e, (2) a fusão dos cristais, que ocorre na faixa de (159 °C). A fusão (Figura 22b) dessas estruturas é caracterizada por pico duplo, que poderia ser explicado em termos dos processos de fusão/recristalização (COSTA, 2019): pico I é caracterizado por um ombro em torno

de 159°C, corresponde a fusão de cristais imperfeitos, enquanto o pico II, pico propriamente dito, em torno de 166,3°C, corresponde a fusão de cristais perfeitos produzidos pela cristalização durante o resfriamento.

Observa-se uma sutil diminuição na cristalinidade nos primeiros 60 dias, e um aumento da cristalinidade das amostras a partir de 90 dias. Devido às cisões hidrolíticas dos segmentos das cadeias, os aumentos do grau de cristalinidade e da temperatura de fusão indicam reorganização das cadeias poliméricas remanescentes após o consumo da fase amorfã e aumento de espessura das lamelas.

Já o PBAT (Fig. 23) cristaliza em torno de 89,5°C e se funde aproximadamente em 126,08°C e é possível visualizar um pico largo. Segundo Kuwabara *et al.* (2002), os picos largos de fusão podem indicar que as regiões cristalinas do PBAT não são ordenadas nem rígidas, como confirmadas em seus estudos de microscopia de força atômica, ressonância magnética nuclear de carbono em estado sólido e DRX. Pode ser visualizado a ampliação de picos de fusão após a exposição ao ambiente marinho, em alguns casos, é provavelmente causada pela alteração da distribuição de tamanho do cristalito.

**Figura 23** - Curvas DSC do PBAT antes e após a biodegradação.



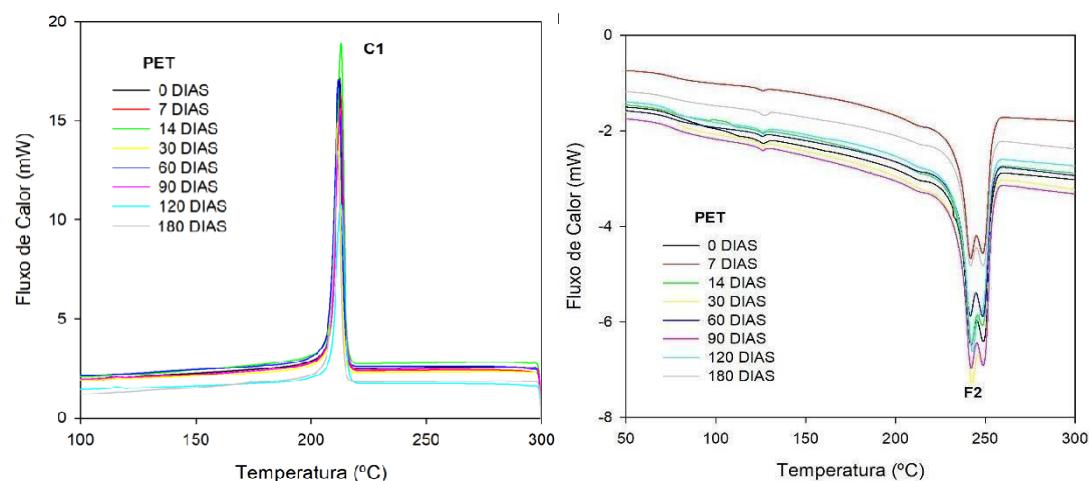
Fonte: Autor, 2022

De acordo com Wang *et al.* (2015), o ataque microbiano nas unidades de butileno adipato do PBAT faz com que os cristais presentes no polímero sejam mais ordenados, visto que o PBAT forma estruturas cristalinas mistas de unidades butileno

adipato de butileno tereftalato. A oscilação do grau de cristalinidade pode indicar que as regiões cristalinas também foram atacadas pelos microrganismos.

Para o PET (Figura 24 e Tabela 13) é observado na fusão um pico duplo endotérmico a 242,2/248,9°C, e isso sugere duas zonas cristalinas distintas para esse polímero, o que pode ser atribuído aos diferentes graus de ordenação ou ao tamanho dos cristalitos. A temperatura de fusão ( $T_m$ ) não mudou muito em relação às amostras que foram expostas ao ambiente marinho, mas  $\Delta H_m$  e  $X_c$  (Tabela 13) se viram muito afetadas, os valores de  $\Delta H_m$  tiveram uma importante diferença em relação ao PET puro, o que influencia diretamente na cristalinidade  $\Delta X_c$ .

**Figura 24** - Curvas DSC do PET antes e após a biodegradação.



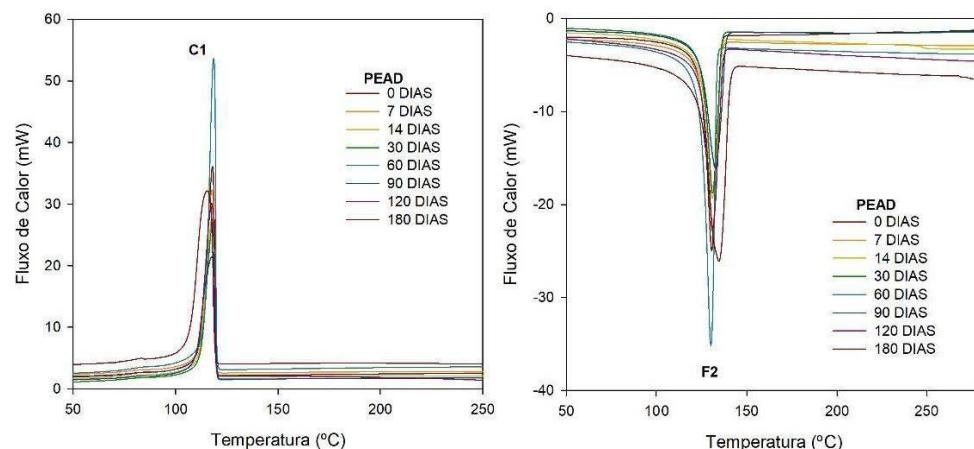
Fonte: Autor, 2022

Na comparação feita entre o PET/0 dias e o PET exposto ao ambiente marinho por 14 dias, o PET apresenta uma diminuição no  $\Delta H_m$  e na  $X_c$  deve-se à degradação pela exposição que causa o rompimento das ligações na cadeia polimérica principal, facilitada pela presença de água é por isto a energia aplicada para fundir o material é menor.

Foi verificado um aumento da cristalinidade em 30 dias de exposição, confirmado as informações da preferência pela parte amorfa. Mas após 90 dias de biodegradação no ambiente marinho, ocorreu uma diminuição na cristalinidade. Consta-se que os microrganismos consomem preferencialmente a fase amorfa do polímero, ocasionando o aumento da cristalinidade após a exposição ao ambiente marinho, mas também é capaz de consumir a fase cristalina e outros compostos gerados pelas modificações estruturais ocasionadas no PET pela presença da água.

Com relação a cristalização no resfriamento, pode se verificar na Figura 25 que o PEAD apresenta um pico estreito e bem definido em torno de 118 °C, característica de formação de cristais bem uniformes. Nesta Tabela 13, as temperaturas de cristalização não sofreram notável alteração com o aumento da exposição ao ambiente marinho, pode ser visto apenas um deslocamento discreto da T<sub>c</sub> após 180 dias de exposição.

**Figura 25** - Curvas DSC do PEAD antes e após a biodegradação.



Fonte: Autor, 2022

No reaquecimento é detectado apenas um único pico endotérmico, próximo a 130 °C, as temperaturas de fusão dos polímeros após a exposição mantiveram-se praticamente iguais às temperaturas de fusão do PEAD sem exposição. Para o PEAD, constatou-se um aumento na sua cristalinidade de 81,6%, com 60 dias de exposição ao ambiente marinho. A cristalinidade dos materiais poliméricos é, muitas vezes, um dos fatores que dificulta o acesso dos microrganismos para a biodegradação, ou seja, partes amorfas são preferencialmente atacadas, por consequência a cristalinidade do PEAD aumenta pela cisão de suas cadeias, seguida de subsequente recristalização de cadeias menores.

Pode-se observar também uma diminuição da cristalinidade após 60 dias de exposição ao ambiente marinho, a razão para isso poderia estar na falta de homogeneidade introduzidas a partir da formação do biofilme durante a exposição que podem atuar como obstáculos durante o crescimento das lamelas cristalinas. As lamelas cristalinas têm que contornar o obstáculo que retarda o processo geral de cristalização (MUSUC *et al.* 2013).

**Tabela 13** - Temperatura de fusão (T<sub>m</sub>) e cristalização (T<sub>c</sub>), grau de cristalinidade (ΔX<sub>c</sub>) e entalpia de fusão (ΔH<sub>m</sub>) e cristalização (ΔH<sub>c</sub>) para todos os polímeros obtidos através de DSC.

	Dias	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>c</sub> (J/g)	T <sub>m</sub> (°C)	ΔH <sub>m</sub> (J/g)	ΔX <sub>c</sub> (%)
<b>PHB</b>	0	77,09	62,18	159/166,3	97,69	66,9
	7	68,65/118,44	60,35	165,94	98,69	67,59
	14	81,59/118,38	66,68	166,70	92,71	63,50
	30	74,45/118,48	47,89	158,87/166,83	91,85	62,91
	60	81,30/118,21	60,21	158,5/166,44	94,02	63,40
	90	80,67/118,87	48,21	156,91/164,80	103,38	70,81
	120	80,93/118,26	70,81	166,20	97,49	66,78
	180	81,08/118,26	64,21	166,23	96,92	66,39
<b>PBAT</b>	0	89,56	17,43	126,1	12,52	10,99
	7	118,99/91,6	46,07	129,5	41,54	36,44
	14	118,7/91,91	18,04	127,0	13,17	11,55
	30	91,80	18,66	126,6	13,30	11,67
	60	118,10/95,6	22,69	128,2	17,29	15,16
	90	93,45	18,34	126,5	12,85	11,27
	120	119,6/94,1	55,17	130,5	46,69	40,96
	180	93,54	17,39	126,2/141,8	12,56	11,02
<b>PET</b>	0	212,4	54,52	242,2/248,9	60,8	43,4
	7	212,7	56,23	242,2/248,9	58,6	41,8
	14	213,0	57,68	242,3/248,5	49,86	35,6
	30	211,8	55,68	242,6/248,6	78,15	55,82
	60	211,7	55,29	214,9/248,8	49,11	35,08
	90	212,7	50,01	185,7/248,8	63,55	45,40
	120	212,9	55,75	242,8	82,3	58,83
	180	211,5	53,38	241,9	47,81	47,81
<b>PEAD</b>	0	118,0	197,8	130,5	205,6	70,1
	7	117,7/89,0	201,3	130,7	203,7	69,5
	14	117,7/72,8	211,7	130,8	202,9	69,3
	30	118,0	211,2	130,9	199,6	68,1
	60	118,5	221,9	129,7	237,4	81,3
	90	117,6	202,2	132,4	198,8	67,9
	120	117,6	209,5	130,9	202,7	69,2
	180	115,4	202,5	134,4	192,5	65,7

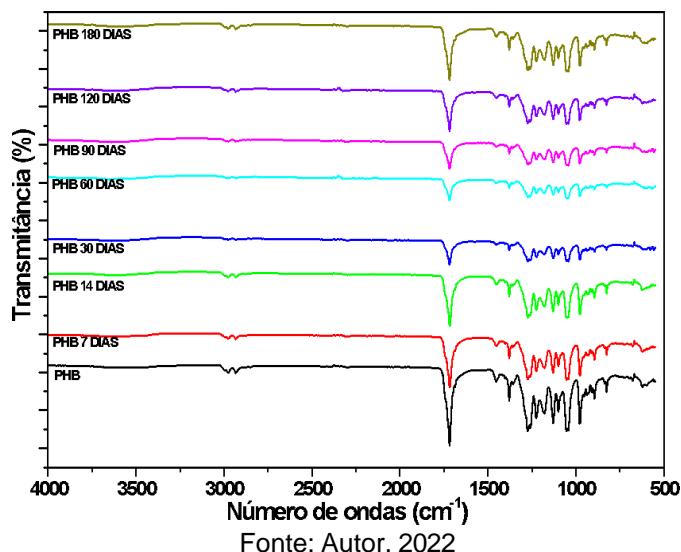
Fonte: Autor, 2022

## 5.5 FTIR

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier foi usada para avaliar as modificações químicas que ocorrem na superfície dos polímeros. Os espectros do PHB (Fig. 26 e 27), PBAT (Fig. 28), PET (Fig. 20), PEAD (Fig. 30 e 31) indicam as medidas de FTIR dos polímeros antes da biodegradação em comparação com os biodegradados.

A Figura 26 mostra os espectros no infravermelho das amostras do PHB no início e após o período de biodegradação.

**Figura 26** - Espectro de FTIR do PHB inicial, PHB 7 dias, PHB 14 dias e PHB 30 dias, PHB 60 dias, PHB 90 dias, PHB 120 dias e PHB 180 dias em água do mar.



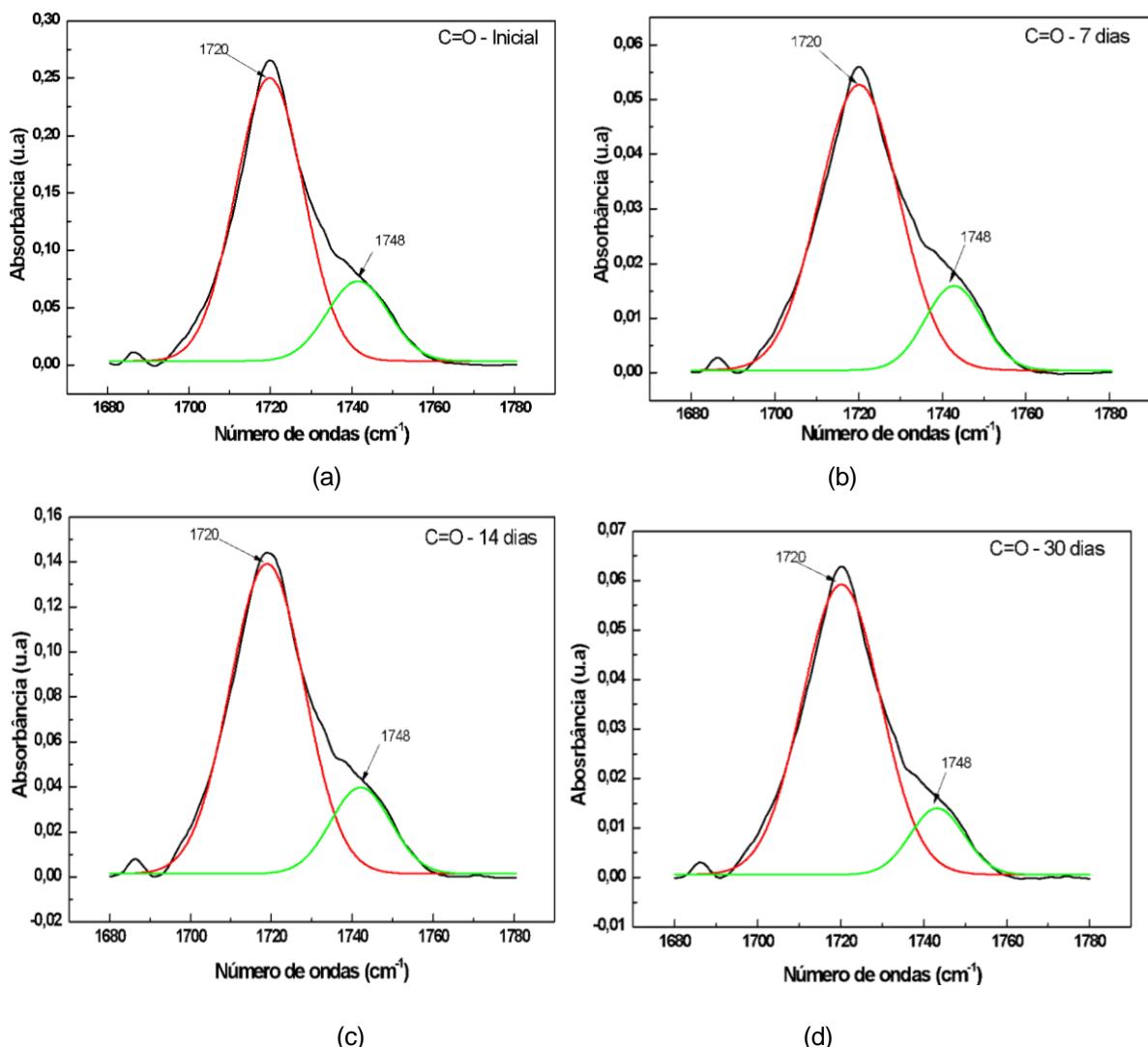
Os espectros encontrados são semelhantes e não apresentaram deslocamento de bandas características ou formação de novas bandas, conforme citado por Tanase *et al.* (2015). O espectro do PHB (Fig. 26) apresentou uma banda a 1720  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento do grupo C=O da fase cristalina e em torno de 1748  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento do grupo C=O da fase amorfica. Já a banda em 1380  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à deformação de grupos CH<sub>3</sub> (FARIA e MARTINS-FRANCHETTI, 2010).

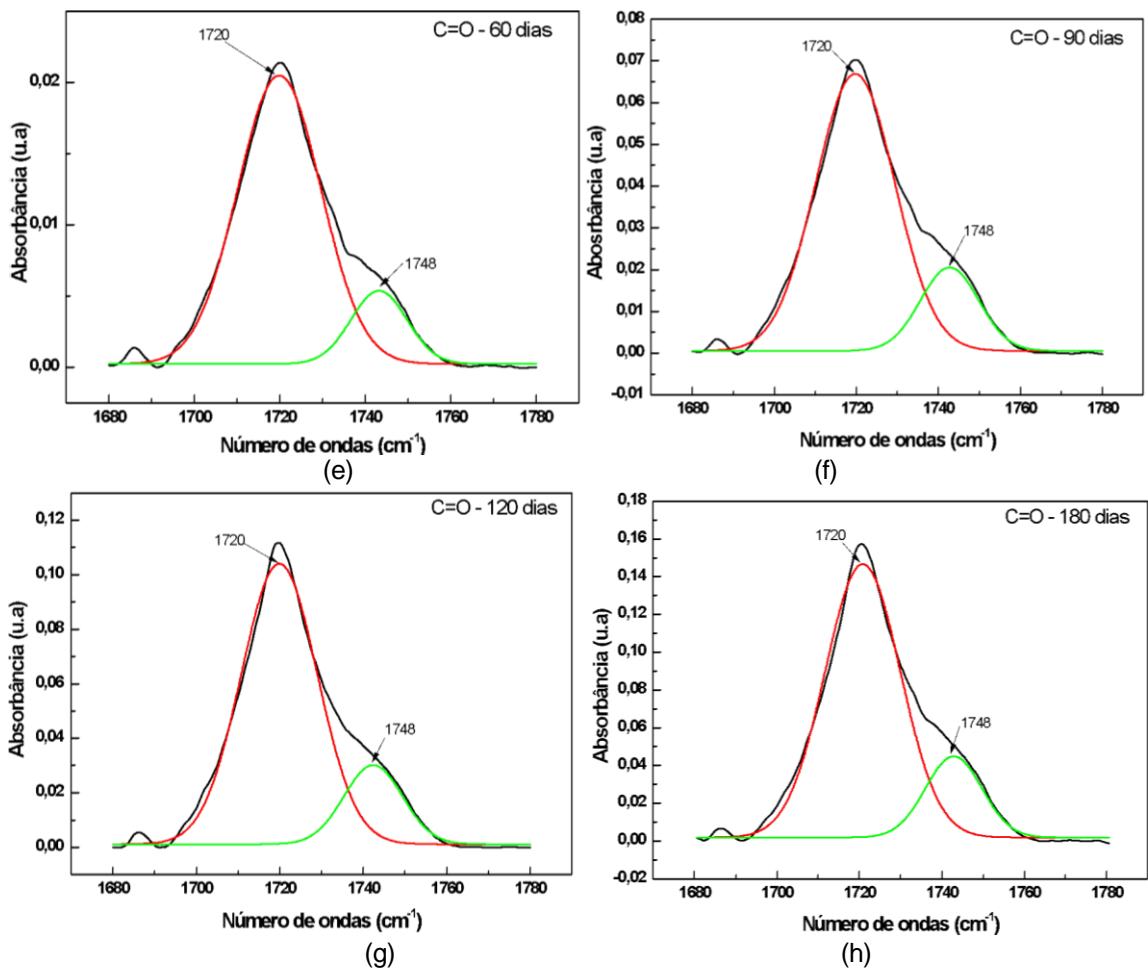
Na intensidade da absorbância a 1748  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente ao grupo carbonila (C=O), houve diferença quando os corpos de prova foram submetidos na água do mar, semelhante ao ocorrido na literatura (FARIA E MARTINS-FRANCHETTI, 2010),

que relata a diminuição da intensidade da banda da carbonila com o tempo de ensaio na água do rio Atibaia.

Uma forma empregada para quantificar a degradação de poliésteres é a determinação da presença de grupos carboxílicos terminais no polímero, uma vez que a formação desses grupos é decorrente da degradação do poliéster pelo microrganismo. Para uma melhor resolução das bandas foi realizado uma deconvolução, através da função Lorentziana, dos espectros do PHB (Fig. 19) para a normalização da intensidade de absorbância de uma banda considerada como padrão interno em  $1380\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação de grupos CH (XU, 2002; FURUKAWA, 2007).

**Figura 27** - Espectros de FTIR, na faixa de  $1780 - 1680\text{ cm}^{-1}$ , com ajuste Lorentziano do PHB inicial (a), PHB 7 dias (b), PHB 14 dias (c), PHB 30 dias (d), PHB 60 dias (e), PHB 90 dias (f), PHB 120 dias (g) e PHB 180 dias (h), em água do mar. Obs.: absorbância em 1





Fonte: Autor, 2022

A partir dos valores obtidos com a deconvolução, extraídos dos gráficos da Figura 26, foi possível calcular (Equação 1), analisar e comparar os índices de carbonila da fase amorfã e da fase cristalina do PHB inicial e dos biodegradados (Tabela 14).

**Tabela 14** - Índices de Carbonilas, de fase amorfã e cristalina, calculados para o PHB.

Amostra	C=O (1720)	C=O (1749)	C-H (1380)	IC (1720)	IC (1749)
PHB	0,251	0,869	0,086	2,920	1,010
PHB 7 dias	0,070	0,020	0,027	2,547	0,752
PHB 14 dias	0,139	0,040	0,055	2,512	0,724
PHB 30 dias	0,059	0,017	0,023	2,537	0,732
PHB 60 dias	0,053	0,016	0,021	2,477	0,754
PHB 90 dias	0,067	0,020	0,027	2,448	0,743
PHB 120 dias	0,104	0,030	0,039	2,648	0,763
PHB 180 dias	0,251	0,869	0,086	2,920	1,010

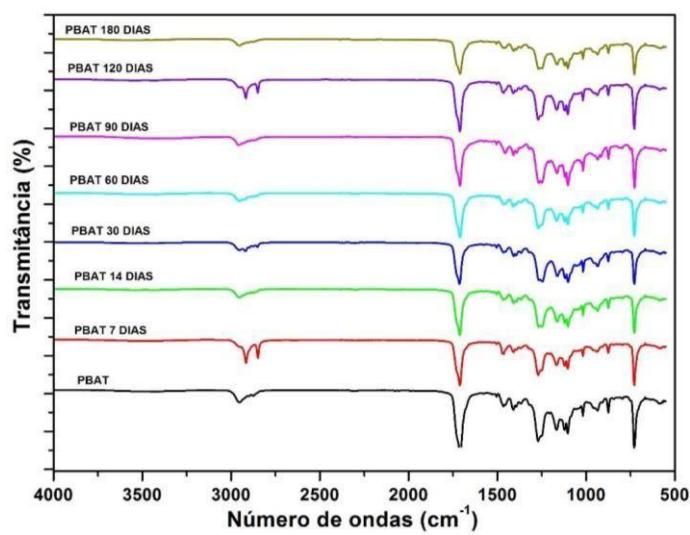
Fonte: Autor, 2022

Observar-se que os índices de grupos carboxílicos terminais para todas as amostras, apresentaram diminuição desse grupo funcional no decorrer do tempo de degradação. Houve uma diminuição de 23,22% no índice de carbonila para a fase cristalina e 32,30% na fase amorfica após 180 dias. A diminuição das bandas refletidas nos índices de carbonilas tanto na fase amorfica como na cristalina, evidencia o efeito da biodegradação presente, através do ataque das enzimas que provavelmente ocorreu no carbono da carbonila da ligação éster.

Desta maneira, as amostras de PHB submetidas ao tratamento microbiano na água do mar foram biodegradadas pela ação dos microrganismos, ocorrendo reações hidrolíticas de grupos ésteres e quebras oxidativas da cadeia polimérica.

No espectro de infravermelho do PBAT (Figura 28), nota-se a presença dos estiramentos vibracionais em  $2954\text{ cm}^{-1}$ , a qual é atribuída à deformação axial da ligação C-H de carbono alifático. A banda característica do grupo C-O na ligação éster em  $1270\text{ cm}^{-1}$ , além disso, é possível observar bandas características de estiramento C=O em  $1710\text{ cm}^{-1}$  e do grupo CH<sub>2</sub> em  $728\text{ cm}^{-1}$ , conforme reportado previamente (YANMING *et al.* 2012; SHANKAR E RHIM 2016; PALSIKOWSKI *et al.* 2018; NIKOLIC *et al.* 2017; VENKATESAN E RAJESWARI, 2017; JIANG, *et al.* 2020).

**Figura 28** - Espectro de FTIR do PBAT inicial, PBAT7 dias, PBAT14 dias e PBAT 30 dias, PBAT 60 dias, PBAT 90 dias, PBAT 120 dias e PBAT 180 dias em água do mar. Na faixa de  $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ .



Fonte: Autor, 2022

Comparando os espectros do PBAT antes e depois do processo biodegradativo, observa-se, a partir da Figura 28, que não ocorre o aparecimento de

nenhuma nova banda, nem deslocamento, uma vez que as vibrações das ligações covalentes dos grupos estão presentes independente da biodegradação. Em estudo similar e, Palsikowski *et al.* (2018) e Moraes (2020) também não detectaram alteração na banda de absorção do PBAT.

Sendo assim, para caracterizar a mudança na estrutura molecular, calculou-se os índices de carbonila, através da equação 1 e os resultados estão apresentados na tabela 15.

**Tabela 15 - Índices de Carbonilas do PBAT após a biodegradação.**

Amostra	C=O (1710)	C-H (1410)	IC
<b>PBAT</b>	6,096	6,296	0,968
<b>PBAT 7 dias</b>	6,243	6,543	0,954
<b>PBAT 14 dias</b>	6,247	6,535	0,956
<b>PBAT 30 dias</b>	6,295	6,536	0,963
<b>PBAT 60 dias</b>	6,264	6,536	0,958
<b>PBAT 90 dias</b>	6,171	6,489	0,951
<b>PBAT 120 dias</b>	6,151	6,538	0,941
<b>PBAT 180 dias</b>	6,375	6,551	0,973

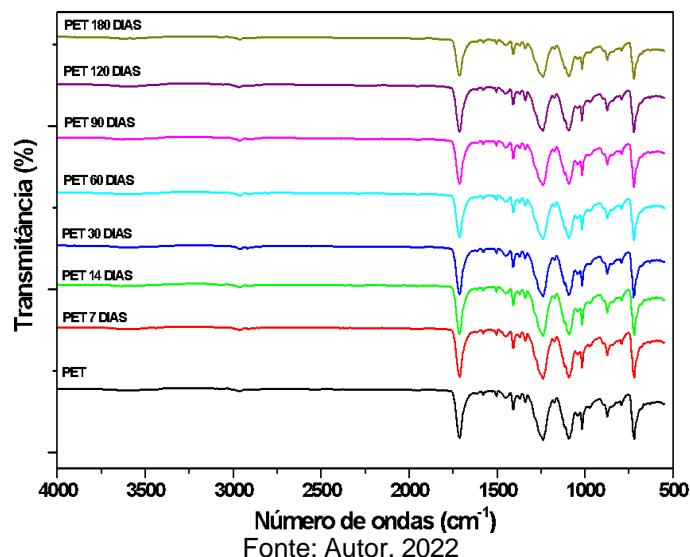
Fonte: Autor, 2022

Analisando a evolução do índice de carbonila, nota-se que não houve alteração significativa no material em estudo. Como o PBAT apresenta carbonila na sua cadeia principal, se o ataque microbiológico hidrolisar as ligações do tipo éster, o número total de carbonila não mudará, no entanto haverá a produção de álcool pela hidrólise. Mas, se a hidrólise ocorrer em uma outra ligação, haverá formação de novas carbonilas. Além disso, pode haver formação dos ácidos carboxílicos na hidrólise, que podem ser assimilados pelos microrganismos, resultando na diminuição do índice de carbonila (MORAES, 2020). Dado o exposto, o aumento ou diminuição do índice de carbonila, estão relacionados com o ambiente químico, o estágio de degradação do material e da biota da água do mar que o polímero foi exposto.

Na Figura 29 são apresentados os espectros do PET em função do tempo de biodegradação na água do mar. Na região de  $1720\text{ cm}^{-1}$  observa-se a presença de banda característica da carbonila (C=O) (SILVERSTEIN, 2006). Próximo a  $1260\text{ cm}^{-1}$  corresponde à deformação axial de C-O do ácido carboxílico. Na banda de  $1088\text{ cm}^{-1}$  encontrou-se uma banda característica da presença de C-O referente ao éster

da cadeia. Em  $726\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda que caracteriza a presença de anel aromático (DUTTA et al. 2005).

**Figura 29** - Espectro de FTIR do PET inicial, PET 7 dias, PET 14 dias e PET 30 dias, PET 60 dias, PET 90 dias, PET 120 dias e PET 180 dias em água do mar. Na faixa de  $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ .

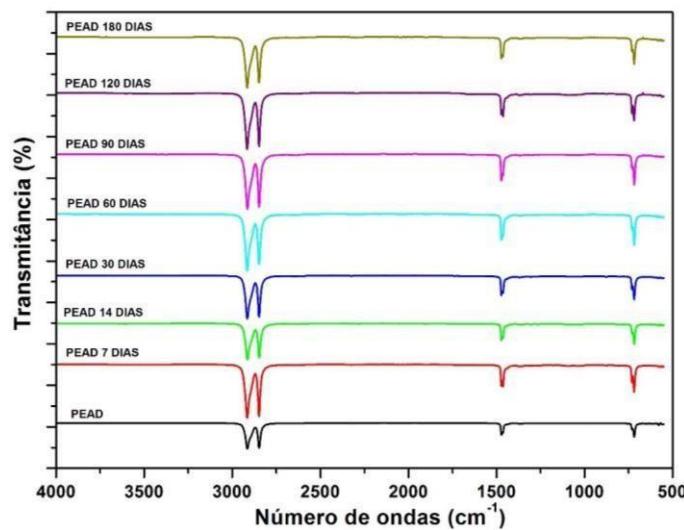


Fonte: Autor, 2022

Com a biodegradação na água do mar não foi observado nenhum deslocamento das bandas, nem aumento ou diminuição na intensidade, indicando que não houve cisão da cadeia polimérica, concordando com as análises de TGA.

Observando a Figura 30, nota-se a presença de três bandas de absorção no PEAD, essas três bandas são referentes às diferentes vibrações da ligação C-H.

**Figura 30** - Espectro de FTIR do PEAD inicial, PEAD 7 dias, PEAD 14 dias e PEAD 30 dias, PEAD 60 dias, PEAD 90 dias, PEAD 120 dias e PEAD 180 dias em água do mar. Na faixa de  $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ .

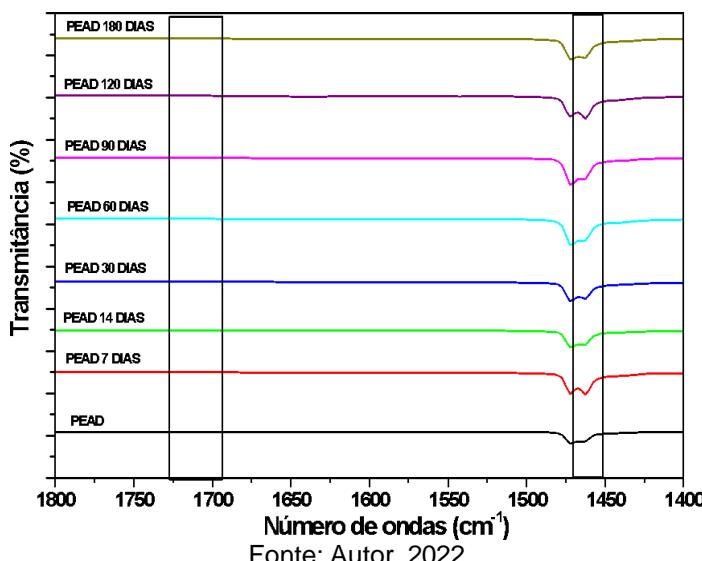


Fonte: Autor, 2022

Observou-se uma banda em  $1464\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação angular fora do plano do  $\text{CH}_2$ , que não varia em função do tempo de degradação. A Figura 13 mostra os espectros de FTIR expandidos na região de  $1800$  a  $1400\text{ cm}^{-1}$ , que é a região de interesse.

A Figura 31 mostra o espectro de FTIR expandidos para as amostras de PEAD.

**Figura 31** - Espectro de FTIR expandidos para as amostras de PEAD.



Fonte: Autor, 2022

Observando as Figuras 30 e 31, os períodos de imersão na água do mar não causaram alterações na formação de grupos carbonilas ou de duplas ligações que indiquem o processo de biodegradação do PEAD (HADAD *et al.* 2005). Os grupos carbonila são encontrados na maioria dos produtos de degradação do polietileno, podendo ser utilizados para monitorar o avanço da degradação do material. Com isso, as determinações do Índice de Carbonila foram usadas para determinar a degradação das amostras. Porém como não houve aparecimento da banca em  $1716\text{ cm}^{-1}$ , o índice de carbonila manteve-se em zero para todos os tempos.

Uma das características desse polímero é a hidrofobicidade, o que pode dificultar o ataque enzimático, evidenciando uma grande resistência à biodegradação com os microrganismos presentes no fluido estudado. Porém Liyoshi *et. al.* (1998) submeteu três espécies de fungos degradadores de lignina, incluindo o *P. chrysosporium*, a testes de degradação com o PEAD e concluiu que as enzimas manganês peroxidase causaram significante degradação deste polímero, sugerindo que esse complexo enzimático possa ser a chave para a degradação do polietileno.

Isso porque a biodegradação do material, está totalmente ligada ao tipo de enzima, microrganismo e ao tempo de exposição.

## 5.6 ENSAIOS MECÂNICOS

### 5.6.1 Tração

O ensaio de tração, pode ser utilizado para avaliar as propriedades mecânicas dos polímeros, este permite a determinação do módulo de elasticidade, medida que indica o nível de rigidez da amostra, além de indicar a tensão de estiramento que o polímero suporta.

A partir dos dados adquiridos, foi possível calcular os resultados como a média das medidas e desvio padrão correspondentes. Verifica-se na Tabela 16, que após os períodos de inoculação em todos os tempos estudados houve mudanças em todas as propriedades mecânicas analisadas. Porém, do tempo de exposição de 30 dias até os 90 dias, a tensão de ruptura, o módulo elástico e a deformação específica não sofreram alterações significativas nos seus valores. Durante o processo de biodegradação a superfície e o interior dos corpos de prova ficam repletos de vazios, facilitando a propagação de trincas e diminuindo as propriedades mecânicas (LUO et al 2003). Inviabilizando os testes de tração dos corpos de prova de 120 e 180 dias.

**Tabela 16** - Propriedades mecânicas antes e depois da inoculação do PHB.

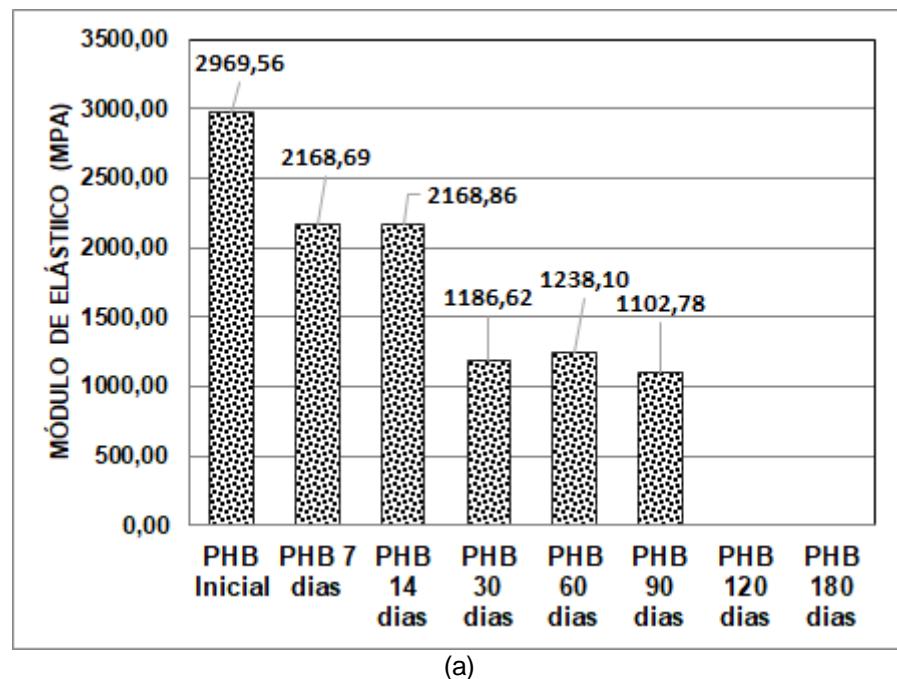
Amostras	Tensão na ruptura (MPa)	Módulo elástico (N/m <sup>2</sup> )	Deformação específica (u.a)
PHB	5,43 <sup>a</sup> ± 0,55	2966,3 <sup>a</sup> ± 46,07	0,68 <sup>a</sup> ± 0,166
PHB 7 dias	3,70 <sup>B</sup> ± 1,96	2168,7 <sup>b</sup> ± 187,25	0,24 <sup>b</sup> ± 0,18
PHB 14 dias	3,08 <sup>b</sup> ± 0,95	2145,7 <sup>b</sup> ± 49,70	0,32 <sup>c</sup> ± 0,32
PHB 30 dias	2,02 <sup>c</sup> ± 0,44	1186,6 <sup>c</sup> ± 199,32	0,39 <sup>a</sup> ± 0,12
PHB 60 dias	1,82 <sup>c</sup> ± 0,38	1238,1 <sup>c</sup> ± 130,85	0,85 <sup>a</sup> ± 0,06
PHB 90 dias	1,52 <sup>c</sup> ± 0,51	1102,8 <sup>c</sup> ± 140,02	0,86 <sup>a</sup> ± 0,18
PHB 120 dias	-	-	-
PHB 180 dias	-	-	-

<sup>a,b,c</sup> mostra que são significativamente diferentes com um p<0,05. Fonte: Autor, 2022

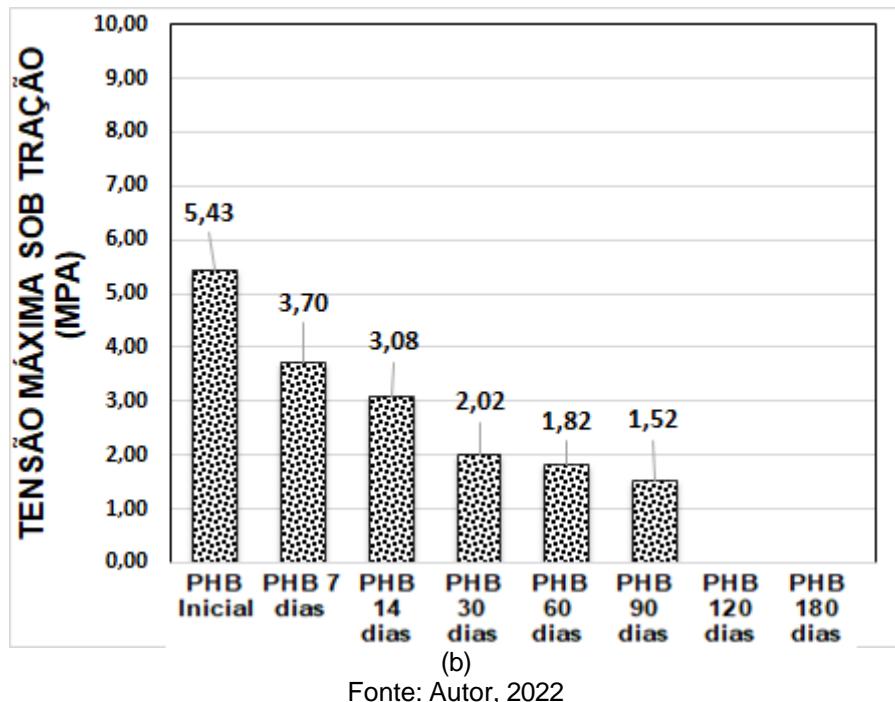
O PHB é um material bastante duro e frágil, tem uma baixa viscosidade e é um polímero com um módulo de elasticidade alto (ABDELWAHAB, 2012). Avaliando o módulo de elasticidade em tração do PHB inicial e após o processo de biodegradação, observa-se, no geral, que com o decorrer do tempo essa propriedade é diminuída. O módulo de elasticidade é uma medida da rigidez do material, ou seja, está diretamente relacionado à capacidade do material de resistir a deformações (CALLISTER,2016).

Para uma melhor visualização do comportamento das amostras foram plotados os gráficos do Módulo elástico (Figura 32a) e Tensão na ruptura (Figura 32b):

**Figura 32** - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PHB.



(a)



Fonte: Autor, 2022

Analisando o módulo de elasticidade (Figura 32a), houve uma diminuição de 26,9% após 7 dias. No período de 14 dias, o módulo de elasticidade não apresentou diferença significativa em relação ao ponto anterior. Comportamento que corrobora com os resultados de perda de massa (Figura 17) e contagem dos microrganismos (Figura 12). Nos pontos de 30, 60 e 90 dias os módulos de elasticidade apresentaram diminuições não significativas com o decorrer do tempo.

A Figura 32b indica o comportamento da tensão máxima sob tração encontrada para os tempos estudados. Pode ser observado que os valores de tensão máxima sob tração diminuíram gradativamente com o decorrer do tempo. Esse ponto corresponde a maior tensão que o material pode resistir, se esta tensão for aplicada e mantida, o resultado será a fratura.

Através dos dados obtidos nos ensaios de tração, verifica-se que o PHB apresenta comportamento frágil. A deformação elástica no polímero ocorre devido à sua porção cristalina, que proporciona resistência ao material e ainda proporciona elasticidade devido à relativa mobilidade das cadeias cristalinas (CANEVAROLO, 2010). Como a maior parte da estrutura do PHB é amorfá, essa se rompe antes da porção cristalina do material, ocasionando deformações irreversíveis que levam à diminuição de resistência do material e por consequência a ruptura das cadeias poliméricas.

Nota-se que as propriedades mecânicas das amostras de PHB foram influenciadas pelas condições dos ensaios de biodegradação. Pode ser explicado por uma possível diminuição da massa molecular do PHB. Segundo Montoro (2010), a massa molar é um fator de extrema importância, pois afeta diretamente a resistência mecânica do polímero, a capacidade de intumescimento, a capacidade de sofrer hidrólise e, consequentemente, a taxa de biodegradação, a qual está relacionada com a sua cristalinidade.

A Tabela 17 apresenta os resultados da tensão na ruptura, módulo de elasticidade e deformação específica para o PBAT antes e após o processo de inoculação.

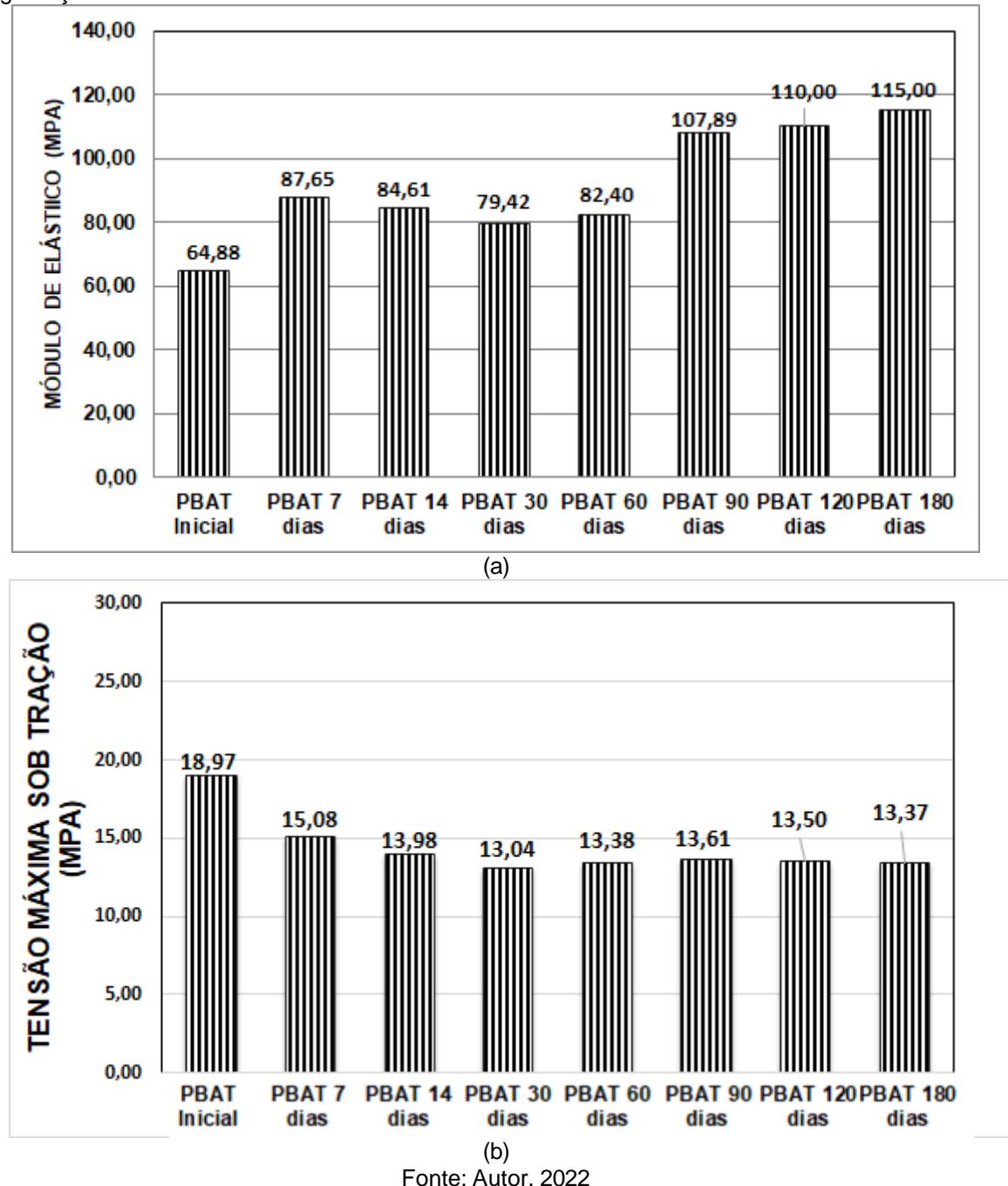
Os corpos de prova do PBAT após o processo de inoculação apresentaram um aumento no módulo de elasticidade quando comparados com o PBAT inicial. Em 7 dias de exposição houve um aumento de 35,45 %, chegando a de 77,25% no final de 180 dias de inoculação em água do mar.

**Tabela 17** - Propriedades mecânicas antes e depois da biodegradação do PBAT.

Amostras	Tensão na ruptura (MPa)	Módulo elástico (N/m <sup>2</sup> )	Deformação específica (u.a)
PBAT	18,97 <sup>a</sup> ± 1,19	64,88 <sup>a</sup> ± 1,71	670,12 <sup>a</sup> ±61,87
PBAT 7 dias	15,08 <sup>b</sup> ± 1,18	87,65 <sup>b</sup> ± 2,74	540,65 <sup>b</sup> ± 9,18
PBAT 14 dias	13,98 <sup>c</sup> ± 0,95	84,61 <sup>b</sup> ± 1,50	539,23 <sup>b</sup> ± 10,32
PBAT 30 dias	13,04 <sup>c</sup> ± 0,65	83,42 <sup>b</sup> ± 5,02	523,72 <sup>b</sup> ± 2,25
PBAT 60 dias	13,38 <sup>c</sup> ± 0,38	82,40 <sup>b</sup> ± 7,19	533,29 <sup>b</sup> ± 28,97
PBAT 90 dias	13,61 <sup>c</sup> ± 0,91	107,89 <sup>c</sup> ± 1,98	573,75 <sup>b</sup> ± 92,38
PBAT 120 dias	13,50 <sup>c</sup> ± 0,61	110,00 <sup>c</sup> ± 1,04	519,61 <sup>b</sup> ± 76,91
PBAT 180 dias	13,37 <sup>c</sup> ± 0,31	115,00 <sup>c</sup> ± 340,02	532,27 <sup>b</sup> ± 18,97

Fonte: Autor, 2022

**Figura 33** - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PBAT.



Fonte: Autor, 2022

Os resultados do ensaio de tração mecânica para as amostras de PET, podem ser observados na Tabela 18. Na Figura 34 pode-se observar um declínio no módulo de elasticidade para o PET 180 dias, em relação ao PET inicial de 33,75 %.

Nos polímeros semicristalinos as interações intermoleculares da fase cristalina fazem com estes sejam mais rígidos e resistentes, e apresentam um maior módulo

de elasticidade, nesse sentido, indica-se que houve a reticulação das cadeias poliméricas.

**Tabela 18** - Propriedades mecânicas antes e depois da biodegradação do PET.

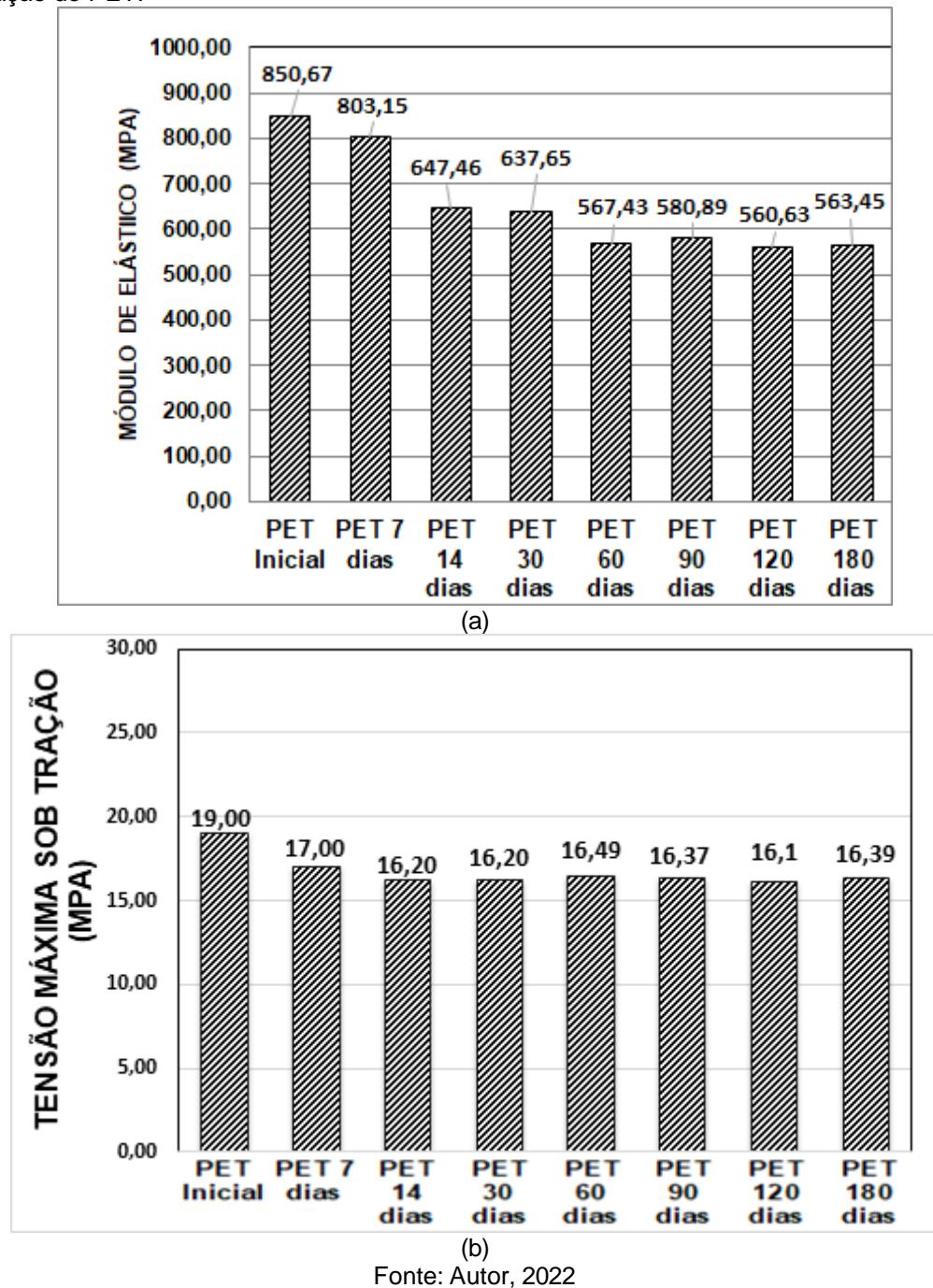
Amostras	Tensão na ruptura (Mpa)	Módulo elástico (Nm <sup>2</sup> )	Deformação específica (u.a)
PET	19,00 <sup>a</sup> ± 0,89	850,67 <sup>a</sup> ± 39,52	3,64 <sup>a</sup> ± 0,28
PET 7 dias	17,00 <sup>b</sup> ± 1,51	803,15 <sup>a</sup> ± 45,53	3,27 <sup>a</sup> ± 1,27
PET 14 dias	16,20 <sup>c</sup> ± 2,49	647,46 <sup>b</sup> ± 38,34	3,03 <sup>a</sup> ± 0,53
PET 30 dias	16,20 <sup>c</sup> ± 1,60	637,65 <sup>b</sup> ± 9,84	3,03 <sup>a</sup> ± 0,53
PET 60 dias	16,49 <sup>c</sup> ± 1,87	567,43 <sup>c</sup> ± 5,97	3,31 <sup>a</sup> ± 1,48
PET 90 dias	16,37 <sup>c</sup> ± 1,73	580,89 <sup>c</sup> ± 8,53	3,04 <sup>a</sup> ± 1,00
PET 120 dias	16,1 <sup>c</sup> ± 1,33	560,63 <sup>c</sup> ± 8,72	3,45 <sup>a</sup> ± 0,53
PET 180 dias	16,39 <sup>c</sup> ± 1,23	563,45 <sup>c</sup> ± 8,14	3,48 <sup>a</sup> ± 0,73

<sup>a,b,c</sup> mostra que são significativamente diferentes com um  $p < 0,05$

Fonte: Autor, 2022

O PET/0dias apresentou um módulo de elasticidade de 850,67 Nm<sup>2</sup>, posteriormente os períodos de biodegradação, constatou-se que o PET/120 dias teve seu valor reduzido para 560,63 Nm<sup>2</sup>, o menor índice entre as amostras, esse resultado é condizente com os dados do DSC, pois pressupõe-se que nesse período ocorreu à degradação pela exposição que causa o rompimento das ligações na cadeia polimérica principal, facilitada pela presença de água. A fase amorfa possui uma menor organização molecular, com menores forças entre as ligações atômicas, consequentemente menor rigidez.

**Figura 34** - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PET.



Fonte: Autor, 2022

Na Tabela 19 e Figura 35 estão apresentados os resultados da tensão na ruptura, módulo de elasticidade e deformação específica, obtidos para o PEAD antes de após o processo de biodegradação.

**Tabela 19** - Propriedades mecânicas antes e depois da biodegradação do PEAD.

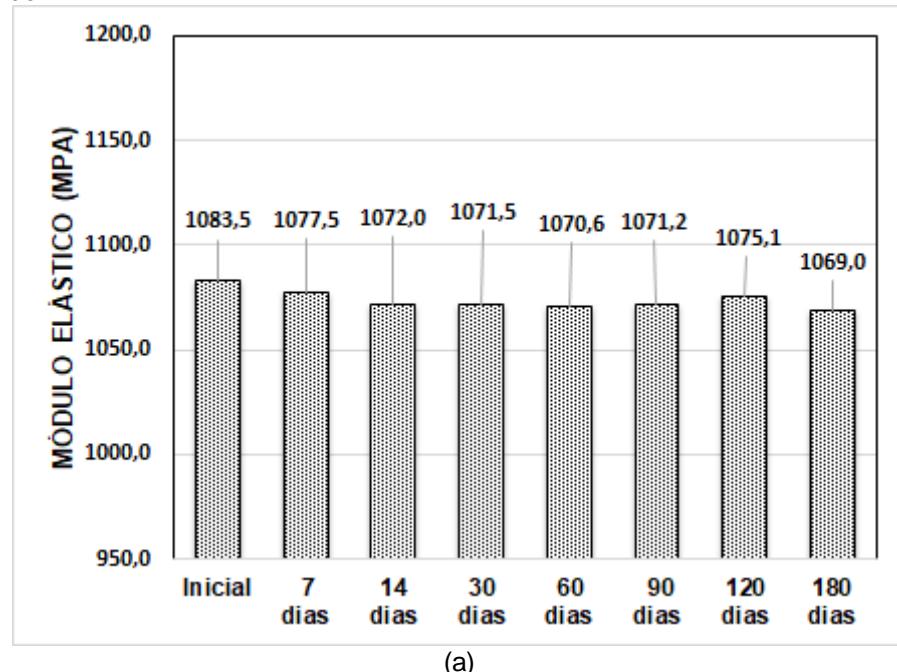
Amostras	Tensão na ruptura (Mpa)	Módulo elástico (Nm <sup>2</sup> )	Deformação específica (u.a)
PEAD	17,36 <sup>a</sup> ± 0,88	1083,53 <sup>a</sup> ± 29,62	525,83 <sup>a</sup> ± 21,42
PEAD 7 dias	17,30 <sup>a</sup> ± 1,21	1077,50 <sup>a</sup> ± 65,23	635,27 <sup>a,b</sup> ± 8,79
PEAD 14 dias	15,57 <sup>b</sup> ± 2,29	1072,03 <sup>a</sup> ± 48,04	684,09 <sup>b</sup> ± 2,66
PEAD 30 dias	15,12 <sup>b</sup> ± 1,20	1071,50 <sup>a</sup> ± 8,94	567,81 <sup>a,b</sup> ± 54,66
PEAD 60 dias	14,85 <sup>c</sup> ± 1,17	1070,62 <sup>a</sup> ± 7,64	337,36 <sup>c</sup> ± 127,36
PEAD 90 dias	14,82 <sup>c</sup> ± 1,83	1071,00 <sup>a</sup> ± 8,03	361,88 <sup>c</sup> ± 92,67
PEAD 120 dias	14,39 <sup>c</sup> ± 1,63	1075,1 <sup>a</sup> ± 6,63	343,45 <sup>c</sup> ± 8,03
PEAD 180 dias	14,25 <sup>c</sup> ± 1,23	1069,00 <sup>a</sup> ± 7,04	565,95 <sup>a,b</sup> ± 8,73

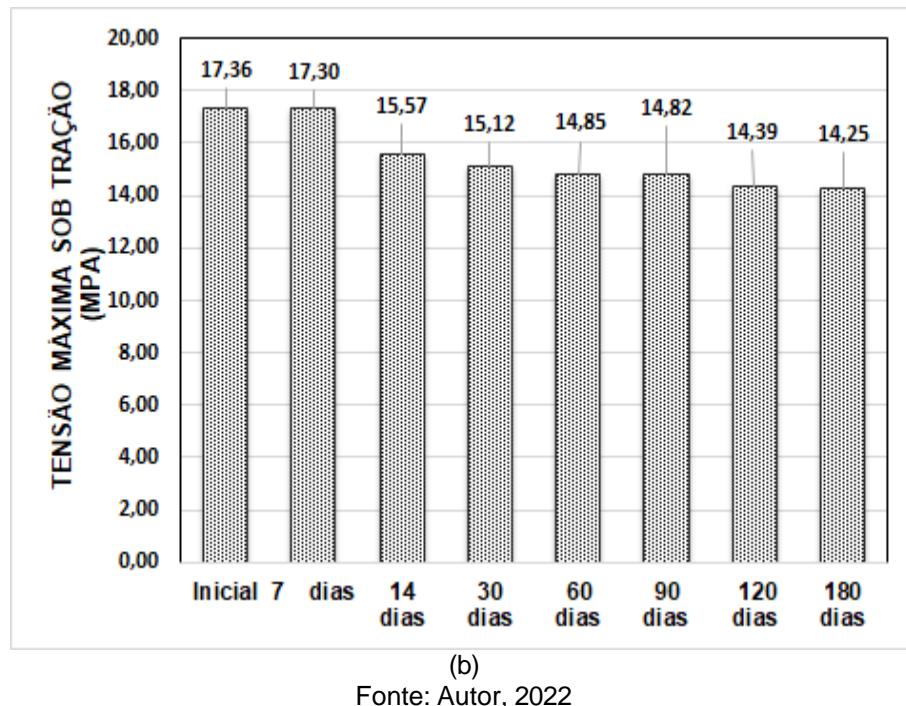
<sup>a,b,c</sup> mostra que são significativamente diferentes com um  $p < 0,05$

Fonte: Autor, 2022

Observa-se que o PEAD é altamente tenaz, ou seja, é capaz de sofrer um alto grau de deformação antes de romper, e apresenta baixa resistência à tração e baixo módulo de elasticidade (Fig. 35a).

**Figura 35** - Valores para módulo elástico (a) e tensão na ruptura (b) obtidos antes e após a biodegradação do PEAD.





(b)  
Fonte: Autor, 2022

As variações apresentadas na tensão máxima suportada e alongamento na ruptura foram pequenas e, considerando o desvio padrão, podem ser consideradas não significativas. O aumento de densidade populacional dos microrganismos presentes na superfície do material não influenciou nas propriedades mecânicas do PEAD, já que as composições são praticamente similares à do material puro, conforme os resultados do ensaio de FTIR (Fig.30). Os resultados mostram que o PEAD apresentou comportamento similar àqueles reportados na literatura por Elleuch e Taktak (2005).

## 6. CONCLUSÕES

Durante o período estudado, a biodegradação do PHB ocorreu proporcionalmente nas fases amorfa e cristalina. Para o PBAT, não ocorreu o aparecimento de nenhuma nova banda, nem deslocamento, uma vez que as vibrações das ligações covalentes dos grupos estão presentes independente da biodegradação. Para os polímeros PET e PEAD não houve alterações das bandas que indiquem o processo de biodegradação. Os microrganismos presentes na água coletada na região do Marco Zero em Recife-PE mostraram-se capazes de biodegradar o PHB. Já os outros polímeros permaneceram resistentes à ação microbiana. O PHB e PBAT apresentaram maiores taxas de degradação em relação ao PET e PEAD, demonstrando que a superfície do PHB e PBAT são mais

susceptíveis a formação de biofilmes e, consequentemente, a ações enzimáticas de microrganismos. Analisando os resultados obtidos e comparando com o PEAD, observou-se que após os períodos de inoculação ocorreram mudanças em todas as propriedades mecânicas analisadas para o PHB, PBAT e PET. Já o PEAD não sofreu mudanças significativas. Ambientes impactados como a região do Marco Zero de Recife-PE são significativos na prospecção de microrganismos capazes de biodegradar polímeros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELWAHAB, M. A.; FLYNN, A.; CHIOU, B. S.; IMAM, S.; ORTS, W.; CHIELLINI, E. Thermal, mechanical and morphological characterization of plasticized PLA-PHB blends. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, p. 1822-1828, 2012.
- AGARWAL, S. Biodegradable Polyesters. **Polymer Science: A Comprehensive Reference**, v. 5, 333–361, 2012.
- ÁLVAREZ-BARRAGÁN, J.; DOMÍNGUEZ-MALFAVÓN L.; VARGAS-SUÁREZ, M.; GONZÁLEZHERNÁNDEZ, R.; AGUILAR-OSORIO, G.; LOZA-TAVERA, H. Biodegradative activities of selected environmental fungi on a polyester polyurethane varnish and polyether polyurethane foams. **Appl Environ Microbiol.** v.82, p.5225–5235, 2016.
- ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, C.; CAIRÓS, C.; LÓPEZ-DARIAS, J.; MAZZETTI, E.; HERNÁNDEZ- SÁNCHEZ, C.; GONZÁLEZ-SÁLAMO, J.; et al. Microplastic debris in beaches of Tenerife (Canary Islands, Spain). **Mar. Pollut. Bull.** 146, 26–32. 2019. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.05.064.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D 883: Terminology Relating to Plastic. **Annual Book of ASTM Standards**, v. 08.01, 1992.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D996-10a**: Standard Terminology of Pachaging and Distribution Environments, v.15.10 (West Conshohochen, PA: **American Society for Testing and Materials**, 2010.
- ANDRADE, M. F.; GOIS, G. S.; GARCIA, S. M. S, DA SILVA, I. D. L. CAETANO, V. F.; DE ALMEIDA, Y. M. B.; DE MELO, T. J. A.; VINHAS, G. M. Active Packaging Using Orange Oil Incorporated into PBAT. **Biodegradable Films. Materials Science Forum**, v. 930, p. 283–289, 2018.
- ANDRADE, M. F.; FILHO, L. E. P. T. DE M.; SILVA, I. D. DE L.; LIMA, J. C. DA C.; CARVALHO, L. H.; ALMEIDA, Y. M. B.; VINHAS, G. M. Influence of Gamma Radiation on the Properties of Biodegradable PBAT – Poly (butylene Adipate co-terephthalate) Active Films with Orange Essential Oil. **Macromolecular Symposia**, 394(1), 2000057. 2020. doi:10.1002/masy.202000057
- ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, 62, 1596–1605, 2011.
- ARCANA, I. M.; SULAEAMAN, A.; PADIANGAN, K. D.; HANDOKO, A.; LEDYASTUTI, M. Synthesis of polyblends from polypropylene na poly(R,S)-β-hydroxybutyrate, and their characterization. **Polym. Interact.**, v. 55, p. 435-440, 2006.
- ARGOLO, E.; FRANÇA, F.; OLIVEIRA, S.; SILVA, R.; CRUZ, T.; QUEIROZ, V.; URTIGA FILHO, S.; LIMA, M. Biocorrosão em cupons de aço carbono AISI 1020 expostos à água do mar e óleo diesel S10/Biodiesel B6. In: **Conferência sobre**

**Tecnologia dos Equipamentos**, 13, Cabo de Santo Agostinho, Anais. São Paulo: Abendi, 2015.

ARRIETA, M. P.; PERDIGUERO, M.; FIORI, S.; KENNY, J. M.; PEPONI, L. Biodegradable electrospun PLA-PHB fibers plasticized with oligomeric lactic acid. **Polym.Degrad.Stab.** 179:109226, 2020.

AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; JAYANTHI, B.; FAUZIAH, S. H. Growth kinetics and biodeterioration of polypropylene microplastics by *Bacillus* sp. And *Rhodococcus* sp. isolated from mangrove sediment. **Marine Pollution Bulletin**, 127, p. 15-21, 2018.

AZEVEDO, J. B.; VIANA, J. D.; CARVALHO, L. H.; CANEDO, L. E. Caracterização de compósitos obtidos a partir de polímero biodegradável e casca de arroz utilizando duas técnicas de processamento. **Revista Matéria**, 391-406, 2016

AZWA, Z.N.; YOUSIF, B.F.; MANALO, A. C.; KARUNASENA, W. A review on the degradability of polymeric composites based on natural fibres, **Materials & Design**, Volume 47, 2013, Pages 424-442, ISSN 0261-3069, <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2012.11.025>.

BAGHERI, A. R.; LAFORSCH,C.; GREINER,A.; AGARWAL, S. Fate of So-Called Biodegradable Polymers in Seawater and Freshwater. **Global Challenges**. 1700048, 2017. DOI: 10.1002/ gch2.201700048.

BAPTISTA NETO, J. A.; PONZI, V. R. A.; SICHEL, S. E. **Introdução a Geologia Marinha**. Rio de Janeiro: Editora Interciênciac, 2004.

BARNES, K. A.; GALGARI, F.; THOMPSON, R. C.; BARLAZ, M. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philos trsn Royal Soc Lond B: Biol Sci**, v.264, p. 1985-1998, 2009.

BAUMGARTNER, L. K.; REID, R. P.; DUPRAZ, C.; DECHO, A.; BUCKLEY, D. H.; SPEAR, J. R.; PRZEKOP, K. M.; VISSCHER, P. T. Sulfate reducing bacteria in microbial mats: Changing paradigms, new discoveries. **Sedimentary Geology** 185(3-4): 131-145, 2006.

BERGMANN, M.; GUTOW, L.; KLAGES, M. **Marine Anthropogenic Litter**. 1st ed. London, Springer, 2015.

BERGMANN, M.; MÜTZEL, S.; PRIMPKE, S.; TEKMAN, M. B.; TRACHSEL, J.; GERDTS, G. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. **Sci. Adv.** 5:eaax1157, 2019. doi: 10.1126/sciadv.aax1157.

BHATIA, S.; BHARTI, A.; Evaluating the antimicrobial activity of Nisin, Lysozyme and Ethylenediaminetetraacetate incorporated in starch based active food packaging film. **J. Food Sci. Tech**, 2014.

BOARI, C. A.; ALVES, M. P.; TEBALDI, V. M.R.; SAVIAN, T. V.; PICCOLI, R. H. Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila* e

*Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo. **Ciência e Tecnologia. Alimentos.** Campinas, v. 29(4), p. 886-895, 2009.

BORENSTEIN, S. W. Microbiologically influenced corrosion handbook. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited. 113-160p, 1996.

BRUICE, P. Y. Química Orgânica. 4 ed. São Paulo: Pearson/Prentice Hall, 2006.  
BURMAN, L.; ALBERTSSON, A.C. Chromatographic fingerprinting-a tool for classification and for predicting the degradation state of degradable polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v.89, p.50-63,2005.

CALLISTER Jr., W. D., **Ciência e engenharia de materiais: Uma introdução**, LTC; 705 p, 2016.

CANEVAROLO Jr., S. V., **Ciência dos polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**, Artliber; 280 p, 2010.

CANEVAROLO, S.V. **Técnicas de Caracterização de polímeros**. São Carlos: Artliber Editora Ltda. 448p. 2007.

CAPELLETTI, R.I V. Avaliação da atividade de biocidas em biofilmes formados a partir de fluido de corte utilizado na usinagem de metais. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

CASADO, E. B. Desenvolvimento e caracterização de blendas de poliéster sintético biodegradável com proteína de soja e estuda de biodegradação em solo / Eliana Botaro Casado. --Campinas, SP: [s.n.], Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2009.

CETESB, Contagens de colônias de bactérias que precipitam o ferro. **Norma L5.207**, p. 1-11, 1992.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Progress polym. sci., Elmsford**, v. 23, n.7, 1998.

CHENG, J. J. **Mechanical and Chemical Properties of High Density Polyethylene: Effects of Microstructure on Creep Characteristics**, University of Waterloo, Canada, 2008.

COBO, F.N.; SANTANA, H.; CARVALHO, G.M. Estudo da miscibilidade de blendas de poli (ácido láctico)/ poli (butileno adipato-co-tereftalato) preparadas pelo método de evaporação de solvente. **Revista Matéria**, v.26, n.2, 1517-7076, 2021.

CONATO, M.; SUMERA, F. J. Biodegradable polyesters and polyamides fromm difunctionalized lauric and coconut fatty acids. **Journal of Polymers and the Environment**. v.20, p.217, 2012.

COSTA AR, SANTOS RM, ITO, EN, CARVALHO, LH, CANEDO, EL. Melt and cold crystallization in a poly(3-hydroxybutyrate) poly(butylene adipato-co-terephthalate) blend. **J Therm Anal Calorim** 137:1341-1346, 2019.

COSTA, A. M. Investigação do consumo de moléculas da cadeia de produção do poli(tereftalato de etileno) (PET) por *Yarrowia lipolytica*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

COSTA, C. Z.; DE ALBUQUERQUE, M. DE C. C.; BRUMB, M. C.; DE CASTRO, A. M. Degradação Microbiológica e Enzimática de Polímeros: Uma Revisão. **Química. Nova**, v. 38. 2, 259-267, 2015.

DANSO D, CHOW J, STREIT WR. Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. **Appl Environ Microbiol** 85:e01095-19, 2019. <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>.

DELACUVELLERIE, A.; BENALI, S.; CYRIAQUE, V.; MOINS, S.; RAQUEZ, J. M.; GOBERT, S.; WATTIEZ, R. Composição do biofilme microbiano e degradação do polímero de plásticos compostáveis e não compostáveis imersos no meio marinho. **Journal of Hazardous Materials** 419: 126526, 2021.

DELACUVELLERIE, A., CYRIAQUE, V., GOBERT, S., BENALI, S., AND WATTIEZ, R. The plasticsphere in marine ecosystem hosts potential specific microbial degraders including *Alcanivorax borkumensis* as a key player for the low-density polyethylene degradation. **J. Hazard. Mater.** 380:120899, 2019. doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.120899

DIAS, M. V *et al.* development of low-density polyethylene film with lemon aroma. **LWT – Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 167-171, 2013.

DILKES-HOFFMAN, L., S. LANT, P. A., LAYCOCK, B., PRATT, S. The rate of biodegradation of PHA bioplastics in the marine environment: A meta-study. **Marine Pollution Bulletin**. v. 142, p.15-24, 2019.

DONELLI, I.; FREDDI, G.; NIERSTRASZ, V. A.; TADDEI, P. Surface structure and properties of poly-(ethylene terephthalate) hydrolyzed by alkali and cutinase. **Polym. Deg. Stab.** v.95, p.1542, 2010.

DUSSUD, C.; HUDEC, C.; GEORGE, M.; FABRE, P.; HIGGS, P.; BRUZAUD, S.; GHIGLIONE, J.-F. Colonization of Non-biodegradable and Biodegradable Plastics by Marine Microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, 9, 2018. doi:10.3389/fmicb.2018.01571

DUTTA, N.; KARAK, N.; DOLUI, S. K. Synthesis and characterization of polyester resins based on Nahar seed oil. **Prog Org Coat.** v. 49, p. 146, 2004.

ELLEUCH, R.; TAKTAK, W. Viscoelastic Behavior of HDPE Polymer using Tensile and Compressive Loading, **Journal of Materials and Engineering Performance**, 2005.

ERIKSEN, M., MASON, S., WILSON, S., BOX, C., ZELLERS, A., EDWARDS, W., FARLEY, H., AMATO, S. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. **Mar. Pollut. Bull.** 77 (1-2):177-182, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>.

FARIA, A. U.; FRANCHETTI, S. M. M. Biodegradação de Filmes de Polipropileno (PP), Poli(3- hidroxibutirato) (PHB) e Blenda de PP/PHB por Micro-organismos das Algas do Rio Atibaia. **Polímeros**, v. 20, nº 2, p.141-147, 2010.

FECHINE, G. J. M. Fotodegradação de termoplásticos semicristalinos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1998.

FECHINE, G. J. M. Fotodegradação e fotoestabilização do poli(tereftalato de etileno). Tese de doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

FLEMMING, H. C. Relevance of Biofilms for the biodeterioration of Surfaces of Polymeric Materials. **Polym. Degrad, Stab.** v. 59, 309. 1998.

FOGHT, J. Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects. **Journal of Molecular and Microbiology and Biotechnology**, 15: 93-120, 2008.

FORATO, L. A.; DORIGUETTO, A. C.; FISCHER, H.; MASCARENHAS, Y. P.; CRIAEVICH, A.; COLNAGO, L. A. Conformation of Z19 Prolamin by FTIR, NMR and SAXS. **J. Agric. Food Chem.**, Easton, v. 52, n. 8, p. 2382-2384, 2004.

FRANÇA, F. P.; FERREIRA, C. A.; LUTTERBACH, M. T. S. Effect of different salinities of a dynamic water system on biofilm formation. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.25, p.45-48, 2000.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros Biodegradáveis - Uma solução parcial para diminuir a quantidade de resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FUKUSHIMA, K.; COULEMBIER, O.; LECUYER, J. M.; ALMEGREN, H. A.; ALABDULRAHMAN, A. M.; ALSEWAILEM, F. D.; MCNEIL, M. A.; DUBOIS, F.; WAYMOUTH, R.M.; HORN, H. W.; RICE, J. E.; HEDRICK, J. L. Organocatalytic depolymerization of poly(ethylene terephthalate). **J Polym Sci A**. v.49, p.1273-1281, 2011.

FURUKAWA, T.; SATO, H.; MURAKAMI, R.; ZHANG, J.; NODA, I.; OCHIAI, S. & OZAKI, Y. – **Polymer**, 48, p.1749, 2007.

GENTIL, V. Corrosão (5º ed.). Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos S.A, 2007.

GEYER, R.; JAMBECK, J.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci Adv* 3(7):e1700782, 2017.

GHAFFARI, M. S.; NAGUIB, H. E.; PARK, C. B.; ATALLA, N.; J. Effect of Biopolymer Blends on Physical and Acoustical Properties of Biocomposite Foams. *Polym. Sci. Part B: Polym. Sci.*, v.52, p.1002, 2014.

GOMES, D. S.; MATAMÁ, T.; CAVACO-PAULO, A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; SALGUEIRO, A. A.; **Electron. J. Biotechnol.** 2013. DOI: 10.2225/ vol16issue5-fulltext 12

GONÇALVES, S. P. C. Biodegradação de filmes de PHBV, PCL, PP e blendas pela ação de micro-organismos de solo. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2009.

GREGORY, M. R. Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, 364, 2013–2025, 2009.

GU, J.D. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recente research advances. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 52, 69-91, 2003.

HADAD, D.; GERESH, S.; SIVAN, A. Biodegradation of polyethylene by the termophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. **J. App. Microbiol.**, n. 98, p. 1093-1100, 2005.

HARPER, J. L.; HAWKSWORTH, D. L. Biodiversity, Measurement and Estimation. **London: Chapman & Hall**, v. 5 p.12. 1995.

HIRAGA, K.; TANIGUCHI, I.; YOSHIDA, S.; KIMURA, Y.; ODA, K. Biodegradation of waste PET. **EMBO Rep.** 20:e49365, 2019.

HOLLANDE, S.; LAURENT, J.-L. Study of discolouring change in PVC, plasticizer and plasticized PVC films. **Pol. Degrad. Stab.**, v. 55, p.141-145, 1997.

HOPPER, D.J. Aspects of the Degradation of Aromatics by Microrganisms. Biodegradation: Natural and Synthetic Materials. London. **Spring-Verlang Limited.** p. 69-89, 1991.

INNOCENTINI-MEI, L. H.; MARIANI, P. D. S. C. Visão Geral sobre Polímeros ou Plásticos Ambientalmente Degradáveis. Campinas-SP, 2005, 41p.

IULIANELLI, G. C. V.; DAVID, G. S.; SANTOS, T. N.; SEBASTIAO, P. J. O.; TAVARES, M. I. B. Influence of TiO<sub>2</sub> Nanoparticle on the Thermal, Morphological and Molecular Characteristics of PHB Matrix. **Polymer Testing**, 65, 156-162, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.051>.

JAISWAL, S.; SHARMA, B.; SHUKLA, P. Integrated approaches in microbial degradation of plastics. **Environ. Technol. Innovat.** 17:100567, 2020. doi: 10.1016/j.eti.2019.100567.

JAMBECK, J. R.; GEYER, R.; WILCOX, C.; SIEGLER, T. R.; PERRYMAN, M.; ANDRADY, A.; NARAYAN, R.; LAW, K. L. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, 347, 768– 771, 2015.

JANCZAK, K.; HRYNKIEWICZ, K.; ZNAJEWASKA, Z.; DABROWSKA, G. Use of rhizosphere microorganisms in the biodegradation of PLA and PETpolymers in compost soil. **International Biodeterioration e Biodegradation**. v.130, p. 65-75, 2018.

JIANG, G.; WANG, F.; ZHANG, S.; HUANG, H. Structure and improved properties of PPC/PBAT blends via controlling phase morphology based on melt viscosity. **Journal of Applied Polymer Science**. 2020

KASUYA, K.; ISHII, N.; INOUE, Y. YASAWA, K.; TAGAYA, Y.; YOUTSUMOTO, Y.; KAZAHAYA, J.; NAGAI, D. Characterization of a mesophilic aliphatic-aromatic copolyester-degrading fungus. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1190-1196. 2009.

KAWAI, F.; ODA, M.; TAMASHIRO, T.; WAKU, T.; TANAKA, N.; YAMAMOTO, M.; MIZUSHIMA, H.; MIYAKAWA, T.; TANOKURA, M. A novel  $\text{Ca}^{2+}$ -activated, thermostabilized polyesterase capable of hydrolyzing polyethylene terephthalate from *saccharomonospora viridis* AHK190. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v.98(24), p.10053-64, 2014. doi: 10.1007/s00253-014-5860-y.

KHAN, S.; NADIR, S.; SHAN, Z. U.; SHAH, A. A. KARUNARATHNA, S. C.; XU, J. KHAN, A. MUNIR, S.; HASAN, F. Biodegradation of Polyester Polyurethane by *Aspergillus Tubingensis*. **Environmental Pollution**. v. 225, P. 469-480, 2017.

KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; RUBINO, M.; SELKE, S.; NGOUAJIO, M.; FERNANDEZ, T. Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, p. 2641-2647, 2010.

KUCHNIER, C. N. Estudo do efeito de aditivo extensor de cadeia multifuncional em blends de PLA/PBAT. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. Campinas, SP. 2014.

KUWABARA K.; GAN Z. H.; NAKAMURA, T.; ABE, H.; DOI, Y. Crystalline/amorphous phase structure and molecular mobility of biodegradable poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate) and related polyesters. **Biomacromolecules**, 3(2): 390-396, 2002.

LAPSHIN, R. V.; ALEKHIN A. P.; A. KIRILENKO, G.; ODINTSOV, S. L.; KROTKOV, V. A. Vacuum ultraviolet smoothing of nanometer-scale asperities of poly(methyl

methacrylate) surface. **Journal of Surface Investigation. X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques.** v.4 (1): p. 1–11, 2010. doi:10.1134/S1027451010010015. ISSN 1027-4510.

LI, F.; YU, D.; LIN, X.; LIU, D.; XIA, H.; CHEN, S.; WORLD J. Biodegradation of poly(-caprolactone) (PCL) by a new *Penicillium oxalicum* strain DSYD05-1. **Microbiol. Biotechnol.** v.28, p.2929, 2012.

IIYOSHI, Y.; TSUTSUMI, Y.; NISHIDA, T. Polyethylene degradation by lignin-degrading fungi and manganese peroxidase. **Journal of Wood Science**, v. 44, n. 3, p. 222-229, 1998.

LÖNNSTEDT, O. M.; EKLÖV, P. Environmentally relevant concentrations of microplastic particles influence larval fish ecology, ecotoxicology. **Science** 352(6290): 1213-1216, 2016.

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

LUO, S.; NETRAVALI, A. N. A study of physical and mechanical properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) during composting. **Polymer degradation and stability**, v. 80, p. 59-66, 2003.

MACHADO, A. A. S.; KLOAS, W.; ZARFL, C.; HEMPEL, S.; RILLIG, M. C. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. **Glob Chang Biol** 24:1405–1416, 2018. <https://doi.org/10.1111/gcb.12.14020>.

MADDEVER, W. J.; CHAPMAN, G. M. Additives: modified starch-based biodegradable plastics. **Plastics Engineering**, v. 45, p. 31-34, 1989.

MADIGAN T. M.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiología de Brock.** 12.<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed: 2010.

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M. & PARKER, J. **Brock's Biología de los Microorganismos.** Madrid: Pearson-Prentice Hall, v. 10, 2003.

MANDIC, M.; SPASIC, J.; PONJAVIC, M.; NIKOLIC, M. S.; COSOVIC, V. R.; O'CONNOR K. E.; NIKODINOVIC-RUNIC, J.; DJOKIC, L.; JEREMIC, S. Biodegradation of poly(-caprolactone) (PCL) and medium chain length polyhydroxyalkanoate (mcl-PHA) using whole cells and cell free protein preparations of *Pseudomonas* and *Streptomyces* strains grown on waste cooking oil. **Polymer Degradation and Stability.** v.62, p.160-168, 2019.

MANTSCH, H. H.; CHAPMAN, D. **Infrared Spectroscopy of Biomolecules.** New York: John Wiley & Sons, 1995.

MEDEIROS, L. B. S.; ARGOLO, E. de J.; DA SILVA, R. G. C.; MACIEL, S. H. O.; DE FRANÇA, F. P.; LIMA, M. A. G. A. Processo de Corrosão Microbiológica do Aço Carbono AISI 1020 imerso em Óleo Diesel B30 com Água do Mar. In: ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2016.

MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L de. Microbiologia ambiental. 2.ed. **rev. ampl.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.647, 2008.

MERGAERT, J.; WOUTERS, A.; ANDERSON, C.; SWINGS, J. In-situ degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and poly (3-hydroxybutyrate-Co-3-hydroxyvalerate) in natural waters. **Can. J. Microbiol.** v.41, p.154-159, 1995.

MONTORO, S. R. - "Redução da Massa Molar do Poli (3-Hidroxibutirato-co-3-Hidroxivalerato) (PHBV) para sua Posterior Utilização no Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada", Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil (2005).

MORAES FILHO, L. E. P. T. Desenvolvimento de filmes ativos de poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) e investigação da biodegradação em solo. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife- PE, 2020.

MUHONJA CN, MAKONDE H, MAGOMA G, IMBUGA M. Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. **Plos One.** 6;13(7):e0198446, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0198446. PMID: 29979708; PMCID: PMC6034791.

MÜLLER, R. J. Biodegradability of Polymers: Regulations and Methods for Testing. In: **Steinbüchel A. Biopolymers**, v. 10. p.516, 2003.

MUNIYASAMY, S.; OFOSU, O.; THULASINATHAN, B.; RAJAN, A. S. T.; RAMU, S. M.; SOORANGKATTAN, S.; MUTHURAMALINGAM, J. B.; ALAGARSAMY, A. Thermal-chemical and biodegradation behaviour of alginic acid treated flax fibres/ poly(hydroxybutyrate-co-valerate) PHBV green composites in compost medium, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, 101394, ISSN 1878-8181, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101394>.

MUSTAPHA, F.A.; JAI J.; NIK RAIKHAN, N. H.; SHARIF, Z.I. M.; YUSOF, N.M. Response surface methodology analysis towards biodegradability and antimicrobial activity of biopolymer film containing turmeric oil against aspergillus niger. **Food Control.** v. 99, p. 106-113, 2019.

MUSUC, A. M., BADEA-DONI, M., JECU, L., RUSU, A., & POPA, V. T. FTIR, XRD, and DSC analysis of the rosemary extract effect on polyethylene structure and biodegradability. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 114(1), 169–177, 2013. doi:10.1007/s10973-012-2909-y.

NARANCI T, VERSTICHEL S, CHAGANTI SR, MORALES-GAMEZ L, KENNY ST, WILDE B, PADAMATI RB, O'CONNOR KE. Biodegradable plastic blends create

new possibilities for end-of-life management of plastics but they are not a Panacea for plastic pollution. **Environ. Sci. Technol** 52 (18): 10441–10452, 2018.

NEVES, A. A.; PIRES, C. F. Biodegradação de materiais poliméricos por fungos filamentosos - Presidente Prudente : [s.n], 87 f. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2011.

NIKOLIĆ, M. A. L.; GAUTHIER, E.; COLWELL, J. M.; HALLEY, P.; BOTTLE, S. E.; LAYCOCK, B.; TRUSS, R. The challenges in lifetime prediction of oxodegradable polyolefin and biodegradable polymer films. **Polymer Degradation and Stability**, 145, 102–119, 2017.

ODUSANYA, S.A., NKWOGU, J.V., ALU, N., ETUK UDO, G.A., AJAO, J.A., OSINKOLU, G.A.. UZOMAH, A.C. Preliminary Studies on Microbial Degradation of Plastics Used in Packaging Potable Water in Nigeria. **Nigerian Food Journal**. V. 31 (2), p. 63 – 72, 2013.

OHURA, T. AOYAGI, Y. TAKAGI, K. YOSHIDA, Y. KASUYA, DOI, Y. Biodegradation of poly(3- hydroxyalkanoic acids) fibers and isolation of poly(3-hydroxybutyric acid)-degrading microorganisms under aquatic environments. **Polymer Degradation and Stability**. v.63, p. 23-29, 1999.

OLIVEIRA, S. H. Estudo da utilização da xantana e hipoclorito de sódio como estratégia para controle da biocorrosão. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Mecânica, Recife, 2010.

OLIVEIRA, T. D. S.; BARCELLOS, R. L.; SCHETTINI, C. A. F.; CAMARGO, P. B. Processo sedimentar atual e distribuição da matéria orgânica em um complexo estuarino tropical, Recife, PE, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 14, n. 3, 399–411, 2017.

PACHEKOSKI, W.M, Desenvolvimento de blendas poliméricas do polímero biodegradável poli(hidroxibutirato) (PHB) com Polipropileno (PP), São Carlos, SP. 134 p., Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciências e Engenharia de Materiais (PPG-CEM), Universidade de São Carlos, 2001.

PAÇO, A.; DUARTE, K.; DA COSTA, J .P.; SANTOS, P. S. M.; PEREIRA, R.; PEREIRA, M. E. Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*. **Science of the Total Environment**, 586, 10-17, 2017.

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

PAOLI, M. A. Degradação e Estabilização de Polímeros. São Paulo: Editora Artliber, 2008.

PERKINS, S. Nearly every seabird may be eating plastic by 2050. **Retrieved** from, <http://www.sciencemag.org/news/2015/08/nearly-every-seabird-may-beeatingplastic> 2050, 2015.

POSTGATE, J.R. The Sulphate-reducing bacteria. 2nd ed. London: Cambridge University Press, 1984.

PREMRAJ, R.; DOBLE, M. Biodegradation of Polymers. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 4, p 186- 193, 2004.

RADDADI, N.; FAVA, F. Biodegradation of oil-based plastics in the environment: existing knowledge and needs of research and innovation. **Sci. Total Environ.** 679, 148–158, 2019. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.419

RECH, C. R.; BRABES, K. C. DA S.; SILVA, B. E. B. E S.; BITTENCOURT, P. R. S.; KOSCHEVIC, M. T.; DA SILVEIRA, T. F. S.; MARTINES, M. A. U.; CAON, T.; MARTELLI, S. M. Biodegradation of eugenol-loaded polyhydroxybutyrate films in different soil types, **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, 100014, ISSN 2666-0164, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100014>.

REICH, L.; STIVALA, S. S. Elements of polymer degradation, McGraw-Hill, New York (1971).

RESTREPO-FLÓREZ, J.-M.; BASSI, A.; THOMPSON, M. R. Microbial degradation and deterioration of polyethylene – a review. **Int Biodeterior Biodegradation** 88: 83– 90, 2014.

ROCHMAN, C.; BROWNE, M.; HALPERN, B.; HENTSCHEL, B.; HOH, E. Classify plastic waste as hazardous. **Nature** 494:169–171, 2013.

ROSA, D. S.; PANTANO FILHO, R. P. Biodegradação: um ensaio com polímeros. Itatiba, SP: Moara Editora, 2003. 112 p.

ROTH, C.; WEI, R.; OESER, T.; THEN, J.; FÖLLNER, C.; ZIMMERMANN, W.; STRÄTER, N. Structural and functional studies on a thermostable polyethylene terephthalate degrading hydrolase from *Thermobifida fusca*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 98(18):7815-23, 2014. doi: 10.1007/s00253-014-5672-0.

SHAHLARI, M.; LEE, S. Mechanical and morphological properties of poly(butylene adipate-coterephthalate) and poly(lactic acid) blended with organically modified silicate layers. **Polymer Engineer Science**, v. 52, n. 7, p. 1420-1428, 2012.

SHANKAR, S.; RHIM, J. Tocopherol-mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial PBAT/silver nanoparticles composite films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 149-156, 2016.

SILVA, N.; NETO, R. C; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica da água. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 164 p., 2005.

SILVERSTEIN, R. M. *et al.* Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SMITH, M.; LOVE, D. C.; ROCHMAN, C. M.; NEFF, R. A. Microplastics in sea-food and the implications for human health. **Curr Environ Health Rep** 5:375–386, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40572-018-0206-z>.

SMITH, M. R. The biodegradation of aromatics hydrocarbons by bacteria. **Biodegradation**, 1: 191-206, 1990.

SOARES, I. A.; FLORES, A. C.; MENDONÇA, M. M.; BARCELOS, R. P. BARONI, S. Fungos na Biorremediação de Áreas Degradadas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 2, p. 341-350, abr./jun. 2011.

SONG, T., LI, S., LU, Y., YAN, D., SUN, P., BAO, M., LI, Y., Biodegradation of hydrolyzed polyacrylamide by a *Bacillus megaterium* strain SZK-5: Functional enzymes and antioxidant defense mechanism, **Chemosphere**, v. 231, 184-193, (2019), doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.143>.

STUART, B. H. **Polymer Analysis**. New York: Wiley, 2002.

SUDHAKAR, M.; DOBLE, M.; MURTHY, P. S.; VENKATESAN, R. Marine microtemediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 2007

TANASE, E. E.; POPA, M. E.; RAPA, M.; OVIDIU, P. **Agric. Agric. Sci. Procedia**, 6, p. 608, 2015.

TANIGUCHI, I., YOSHIDA, S., HIRAGA, K., MIYAMOTO, K., KIMURA, Y., & ODA, K. (2019). Biodegradation of PET: Current status and application aspects. **ACS Catalysis**, 9, 2019.

TEAMSINSUNGVON, A.; RUAKULPIWAT, Y.; JARUKUMJORN, K. Preparation and Characterization of Poly(lactic acid)/Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Blends and Their Composite, **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, 52:13, 1362-1367, 2013. doi: 10.1080/03602559.2013.820746.

TSUJI, H.; SUZURYOSHI, K. Environmental degradation of biodegradable polyesters Poly( - caprolactone), poly[(R)-3-hydroxybutyrate], and poly(L-lactide) films in controlled static seawater. **Polymer Degradation and Stability**, Inglaterra, v. 75, p. 347-355, 2002.

TSUJI, H. Autocatalytic hydrolysis of amorphous -made polylactides: effects of Llactide content, tacticity and enantiomeric polymer blending, **Polymer**, Londres, v. 43, p.1789-1796, 2002.

VEGTER, A. C.; BARLETTA, M.; BECK, C.; BORRERO, J.; BURTON, H.; CAMPBELL, M.L.; COSTA, M.F.; ERIKSEN, M.; ERIKSSON, C.; ESTRADES, G. A. Global research priorities to mitigate plastic pollution impacts on marine wildlife. **Endanger. Species Res.** 25: 225–247, 2014. <http://dx.doi.org/10.3354/esr00623>.

VENKATESAN, R.; RAJESWARI, N. TiO<sub>2</sub> nanoparticles/poly(butylene adipate-coterephthalate) bionanocompositefilms for packaging applications. **Polymers for advanced technologies**, v. 28, n. 12, p. 1699-1706, 2017.

VERGARA-PORRAS, B.; PÉREZ-GUEVARA, F.; RODRÍGUEZ, J. N. Using morphological structure of *Penicillium* funiculoso-*sumas* a bioavailability index during the biodegradation of PHB, PCL and their blends. **New Biotechnology**. v. 33, p.3, 2016.

VIDELA, H. A. Biocorrosão, biofouling e biodegradação de materiais. 1 ed. São Paulo: Editra Eggard Blucher Ltda, 2003. 148p.

VIEIRA, D. M.; DE FRANÇA, F. P. **Corrosion Review**, v.26, 2008.

VIMALA P. P.; LEA, M. Biodegradation of Polyethylene using *Bacillus subtilis*. **Procedia Technology**. v. 24, p.232 – 239, 2016.

VINHAS, G. M.; ALMEIDA, Y. M. B.; LIMA, M. A. G. A. Estudo das propriedades e biodegradabilidade de blendas de poliéster/amido submetidas ao ataque microbiano. **Química Nova**, Vol. 30, No. 7, 1584-1588, 2007.

VOLKE-SEPÚLVEDA, T.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; MANZUR, A.; FAVELA-TORRES, E. Thermally Treated Low Density Polyethylene Biodegradation by *Penicillium pinophilum* and *Aspergillus niger*. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 83, p. 305-314, 2001.

VOLOVA, T. G.; BOYANDIN, A. N.; VASILEV, A. D.; KARPOV, V. A.; KOZHEVNIKOV, S. V.; PRUDNIKOVA, V. P.; RUDNEV, B.; XUAN, V. DUNG, I. I. Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in the South China Sea and identification of PHAdegrading bacteria. **Microbiology**, v. 80, p.252, 2011.

WANG X., J. SHI, Y. CHEN, Y. SHI, Z, FU, Nonisothermal crystallization behavior of biodegradable poly(butylene terephthalate-co-butylene adipate-co-ethylene terephthalate-co-ethylene adipate) copolyester. **Polym. Eng. Sci.** 51, 2535-2541 2015.

WEBB, H. K.; ARNOTT, J.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly(ethylene terephthalate). **Polymers**, 5, 1–18, 2013.

WEI, R.; ZIMMERMANN, W. Microbial enzymes for the recycling of recalcitrant petroleum-based plastics: how far are we? **Microb Biotechnol.** v.10, p.1308–1322, 2017.

WIDDEL, F. & RABUS, R. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. **Current Opinion in Biotechnology**, 12: 259-276, 2001.

WITT, U.; EINIG, T.; YAMAMOTO, M.; KLEEBERG, I.; DECKWER, W.-D.; MÜLLER, R.-J. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolymers: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. **Chemosphere**, v. 44, p. 289-299, 2001.

XU, J.; GOU, B. H.; YANG, R., WU, Q.; CHEN, G.Q; ZANG, Z. M. **Polymer**, 43, p.6893, 2002.

YABANNAVAR, A. V.; BARTHA, R. Methods for Assessment of Biodegradability of Plastic Films in Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v.60, n.10, p.3608-3614, 1994.

YAMADA-ONODERA, K.; MUKUMOTO, H.; KATSUYAYA, Y.; SAIGANJI, A.; TANI, Y. Degradation of Polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* Yk. **Polymer Degradation and Stability**. v.72, p. 323-327, 2001.

YAMAMOTO, M.; WITT, G. U.; SKUPIN, D.; BEIMBORN, R.J. MÜLLER, Biodegradable Aliphatic-Aromatic polyesters: "Ecoflex®, p. 299. New York, 2002.

YAMAMOTO, M.; WITT, U.; SKUPIN, G.; BEIMBORN, D. & MULLER, R. J. Biodegradable Aliphatic-aromatic Polyesters: ECOFLEX®, **Biopolymers Online**, p. 299-305, 2005.

YANG, J.; YANG, Y.; WU, W. M.; ZHAO, J.; JIANG, L. Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms. **Environ. Sci. Technol.** 48, 13776–13784, 2014. doi: 10.1021/es504038a.

YANMING, C.; JUNGANG, L.; JIMIN, F.; YOUNG, L.; ZHAOHNG, W.; MENG, Z.; RONGGUNANG, S. "Discrimination of Poly(butylene adipate-co-terephthalate) and Poly(ethylene terephthalate) with Fourier Transform Infrared Microscope and Raman Spectroscope", **Spectroscopy letters: An International Journal for rapid Communication**, p.280-284, 2012.

YOSHIDA, S.; HIRAGA, K.; TAKEHANA, T.; TANIGUCHI, I.; YAMAJI, H.; MAEDA, Y.; TOYOHARA, K.; MIYAMOTO, K.; KIMURA, K.; ODA, K. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). **Science**, v.351 p. 1196-1199, 2016. doi: 10.1126/science.aad6359.

YUAN, J.; MA, J.; SUN, Y.; ZHOU, T.; ZHAO, Y.; YU, F. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics. **Sci. Total Environ.** 715:136968, 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136968

ZANELA, T. M. P.; MUNIZ, E. C.; ALMEIDA, C. A. P. Chemical Recycling of Poly(ethylene terephthalate) (PET) by Alkaline Hydrolysis and Catalyzed

Glycolysis. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v.10 (3 SI), p.226(8), 2018.

ZEHETMEYER, G.; MEIRA, S. M. M.; SCHEIBEL, J. M.; DE OLIVEIRA, R. V. B.; BRANDELLI, A.; SOARES, R. M. D.; Influence of melt processing on biodegradable nisinPBAT films intended for active food packaging applications. **J. Appl. Polym. Sci.** 133(13), 1, 2016.

ZHAO, J-H.; WANG, X-Q.; ZENG, J.; YANG, G.; SHI, F-H.; YAN, Q.; J. Influencing Factors and Process on in Situ Degradation of Poly(Butylene Succinate) Film by Strain *Biolecteria ochroleuca* BFM-X1 in Soil. **Appl. Polym. Sci.**, 97, 2273, 2005.

ZUMSTEIN, M. T.; SCHINTLMEISTER, A.; NELSON, T F.; BAUMGARTNER, R.; WOEBKEN, D.; WAGNER, M.; KOHLER, H. E.; MCNEILL, K.; SANDER, M. Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO<sub>2</sub> and microbial biomass. **Science Advances**, 2018.