



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MICROBIANA

**Análise de bioplástico produzido a partir de plásticos:
investigação da produção de polihidroxiálcanoato por
Comamonas brasiliensis rumo à sustentabilidade na indústria
de polímeros**

BRASÍLIA-DF
ABRIL, 2025

JÉSSICA FERNANDES DE SOUSA

Análise de polihidroxialcanoato produzido a partir de plásticos: investigação microbiana de *Comamonas brasiliensis* rumo à sustentabilidade na indústria de polímeros

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Microbiana da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biologia Microbiana.

Orientador: Dr. Ricardo Henrique Krüger

JÉSSICA FERNANDES DE SOUSA

Professor Dr. Ricardo Henrique Krüger
Darcy/Universidade De Brasília

Examinadora: Dra. Simoni Campos Dias
Universidade Católica de Brasília

Examinador: Dr. Fabyano Alvares Cardoso Lopes
Universidade Federal do Tocantins

Examinadora: Dra. Eliane Ferreira Noronha
Darcy/Universidade De Brasília

Examinador Suplente: Dr. Fabrício Machado Silva
Darcy/Universidade De Brasília

BRASÍLIA, DF

2025

“Senhor,
Fazei de mim um instrumento de vossa paz.
Onde houver ódio, que eu leve o amor,
Onde houver ofensa, que eu leve o perdão.
Onde houver discórdia, que eu leve a união.
Onde houver dúvida, que eu leve a fé. Onde
houver erro, que eu leve a verdade. Onde
houver desespero, que eu leve a esperança.
Onde houver tristeza, que eu leve a alegria.
Onde houver trevas, que eu leve a luz! Ó
mestre, fazei que eu procure mais: consolar,
que ser consolado; compreender, que ser
compreendido; amar, que ser amado. pois é
dando que se recebe, perdando que se é
perdoado e é morrendo que se vive para a
vida eterna!”

Dedico este trabalho com muito amor aos meus pais, avós, irmãs, família, amigos, namorado e a todos os professores que pavimentaram meu caminho até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus mentores espirituais que me guiaram até esse momento, me permitindo continuar a caminhada mesmo quando meus pés não aguentavam mais. Trouxeram-me paz e alívio espiritual quando eu me sentia fraca, pequena e perdida. Agradeço também aos meus pais e avós que me ajudaram a fortalecer minha fé no divino e em mim mesma. Eles foram e são minha base, me educaram, seguraram minha mão, apoiaram e corrigiram. Acreditaram e acreditam em mim quando minha mente se cobre de névoa e paralisa frente às dificuldades. Cuidam-me com tanto amor e zelo que me faz sentir como se não houvesse erros nesse mundo. Ser descendente desses seres humanos é uma honra e um privilégio.

Agradeço às minhas irmãs, tias, tios e primos, deram-me e dão-me muito apoio, elevam minha energia, minha moral e trazem muita alegria para minha vida. Deleito-me com a companhia, os sorrisos, as fofocas e o carinho quando estamos juntos.

Agradeço aos professores que me educaram, me acolheram e me apoiaram, fizeram-me sentir que todos os rumos são possíveis, acreditaram em mim, forjaram minhas asas e deram-me a chance de voar em tempos turbulentos.

Agradeço às minhas irmãs de alma, Clara, Vanessa e Alynne, são meus exemplos nesses 19 anos de convívio e amor. Plantaram o sonho do mestrado e doutorado em meu coração e apoiaram durante todo este momento. Permanecem presentes mesmo quando um oceano que nos separa. Agradeço aos meus outros grandes amigos que são também amores, que fazem parte de minha vida, crescem ao meu lado, vibram, fortalecem-me e amam-me em meus bons e maus momentos. A vida sem amizades seria como uma tela em branco e comida sem sabor; não haveria música que alegrasse a alma, nem sol que iluminasse a lua.

Agradeço aos grandes amigos que a UnB me trouxe, Raul, Tayná, Rafael, Thainá, Helena, Danielle, Gabriela, Isabel, Jéssica e Karine, ensinaram-me não apenas sobre ciência, mas também sobre colaboração e comunicação honesta; provaram-me que o mundo é cheio de pessoas que se importam conosco, com nosso trabalho e que ajudam sem querer nada em troca. Ensinaram-me que melhor do que trabalhar com algo que se ama é trabalhar com pessoas que amamos e que compartilham das mesmas aspirações.

Agradeço à Universidade de Brasília por ter sido meu lar durante todos esses anos, oferecendo-me recursos para crescimento pessoal e profissional. Agradeço também

a todos os funcionários que compõe a Universidade e fazem dela este ambiente no qual me sinto aconchegada e feliz.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Krüger pela confiança, acolhimento e pelo apoio em momentos difíceis. Agradeço por ensinar-me a navegar em mares calmos e, principalmente, por ensinar-me a navegar em mares turbulentos. Agradeço também pelos amigos que me trouxe e pelo grupo unido que mantém.

Agradeço aos professores que colaboraram com meu trabalho e crescimento profissional, Prof. Dr. Fabricio Machado, Prof. Dr. Paulo Câmara, Prof. Dr. Marcelo Ramada, Prof. Dr. Fabyano Cardoso, Profa. Dra. Eliane Noronha e Profa. Dra. Lidia Pepe, me acolheram com seus laboratórios, palavras, conselhos e amizade.

Agradeço aos professores que compõe minha banca de defesa, Profa. Simoni Campos, Profa. Eliane Noronha, Prof. Fabyano Cardoso e Prof. Fabrício Machado por aceitarem participar deste trabalho com sua correção e arguição.

Tenho muitos motivos para ser grata, não há tamanho de documento que suporte meus agradecimentos, e mesmo sabendo que muitos não lerão o que está escrito aqui, alegra-me saber que posso colocar de forma pública, em um documento que significa uma das minhas maiores conquistas, meus sentimentos por essas pessoas que fazem de mim quem sou e, portanto, feliz.

Sousa, J.F. Análise de polihidroxialcanoato produzido a partir de plásticos: investigação microbiana de *Comamonas brasiliensis* rumo à sustentabilidade na indústria de polímeros [tese de doutorado]. Brasília: Instituto de Biologia, Universidade de Brasília; 2025

RESUMO

Os materiais poliméricos existem desde a antiguidade, mas sua utilização expandiu-se significativamente durante a Segunda Guerra Mundial, impulsionada por investimentos em pesquisas que reduziram custos e ampliaram suas aplicações em diversas indústrias. Os plásticos são formados por longas cadeias de macromoléculas provenientes da polimerização de monômeros, podendo ser classificados em naturais, semissintéticos e sintéticos. Em 2023, a produção global de plásticos atingiu 413,8 milhões de toneladas, com 90,4% oriundos de fontes fósseis, sendo que apenas 8,7% desses plásticos são reciclados adequadamente. Referente a este cenário, diversas medidas tramitam por organizações governamentais e não governamentais, visando transformar a situação. Desse modo, estratégias que visem convergir a substituição e a descontaminação de plásticos em um único processo apresentam alto potencial sob as perspectivas tecnológica, ecológica, econômica e social. Devido à alta biodiversidade microbiana dos solos, estudos visam identificar e analisar microrganismos capazes de realizar a biodegradação de plásticos. Com uma coleção estabelecida de bactérias isoladas do Cerrado capazes de biodegradar polietileno, observaram-se também nos genomas dessas bactérias genes responsáveis pela biossíntese do bioplástico polihidroxialcanoato. Com base nesses dados, foram realizadas caracterizações microscópicas e químicas para investigar a produção de bioplástico polihidroxialcanoato a partir do consumo de plásticos de origem petroquímica como única fonte de carbono. A microscopia de varredura e de fluorescência confirmaram a formação de biofilme bacteriano na superfície do plástico, e alterações do perfil químico dos plásticos, observadas por FTIR, ¹³C RMN e TG/DTG, indicaram que houve degradação após a formação do biofilme. A partir desse cultivo, foram realizadas a análise de produção de biopolímero por microscopia de fluorescência e a caracterização química por FTIR e DSC. As análises validam a hipótese de que a *Comamonas brasiliensis* sp. está utilizando plástico como fonte de carbono e produzindo bioplástico a partir desse substrato.

Palavras-chave: Biodegradação; Polihidroxialcanoato; *Comamonas brasiliensis* sp.; MEV; FTIR; ¹³C RMN; TG/DTG; DSC.

Sousa, J.F. Analysis of polyhydroxyalkanoate produced from plastics: microbial investigation of *Comamonas brasiliensis* towards sustainability in the polymer industry. [thesis]. Brasilia: Biology Institute, University of Brasília; 2025

ABSTRACT

Polymeric materials have existed since ancient times, but their use increased significantly during World War II, driven by investments in research that decreased costs and expanded their applications in diversified sectors. Plastics are formed by long chains of macromolecules resulting from the polymerization of several monomers. They can be classified as natural, semi-synthetic, and synthetic. In 2023, global plastic production reached 413.8 million tons, of which 90.4% originated from petrochemical sources, and only 8.7% of these plastics are properly recycled. Therefore, several measures are being articulated by governmental and non-governmental organizations to change the current situation. Thus, strategies that aim to converge the replacement and decontamination of plastics in a single process have high potential from technological, ecological, economic, and social perspectives. Due to the high microbial biodiversity of soil, studies aim to identify and analyze microorganisms capable of biodegrading plastics. With a collection of bacteria isolated from the Brazilian Savannah soil capable of biodegrading polyethylene, genes responsible for the biosynthesis of the bioplastic polyhydroxyalkanoate were also observed in the genomes of these bacteria. Microscopic and chemical analyses were performed to investigate the production of polyhydroxyalkanoate from the consumption of petrochemical plastics. Scanning and fluorescence microscopy confirmed the formation of bacterial biofilm on the surface of the plastic, and chemical profile changes were detected after colonization by FTIR, ¹³C NMR, and TG/DTG. The biopolymer yield was analyzed by fluorescence microscopy, and its chemical characterization was performed by FTIR and DSC. The analyses validate the hypothesis that *Comamonas brasiliensis* sp. uses plastic as a sole carbon source and produces bioplastics from this substrate.

Keywords: Biodegradation; Polyhydroxyalkanoate; *Comamonas brasiliensis* sp.; SEM; FTIR; ¹³C NMR; TG/DTG; DSC.

LISTA DE ABREVIATURAS

APA - Política Nacional do Meio Ambiente e Áreas de Preservação Ambiental

DCPIP - 2,6-Diclorofenol-indofenol

DSC - Calorimetria diferencial de varredura

DTG - Termogravimetria derivada

FTIR-ATR - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com refletância total atenuada

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

NB - *Nutrient Broth*

ODS - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

OECD - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

ONU - Organização das Nações Unidas

PE - Polietileno

PEAD - Polietileno de alta densidade

PEBD - Polietileno de baixa densidade

PHA - Polihidroxialcanoato

PHB - Polihidroxibutirato

PLA - Poli (ácido láctico)

PLANARES - Plano Nacional de Resíduos Sólidos

PNRS - Política Nacional de Resíduos Sólidos

PNSB - Política Nacional de Saneamento Básico

PP - Polipropileno

PPM - Parte por Milhão

PS – Poliestireno

RMN - Ressonância magnética nuclear

TGA - Análise termogravimétrica

LISTA DE SÍMBOLOS

mg - Miligrama

mL - Mililitro

Tg - Temperatura de transição vítrea

Tm - temperatura de fusão cristalina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema das estruturas lamelares dos polímeros, indicando regiões organizadas (lamelas) e suas regiões de dobramentos, e suas regiões desorganizadas (amorfas).	6
Figura 2. Formas estruturais poliméricas: (a) linear; (b) ramificada na cadeia central; (c) ramificada; (d) cadeias cruzadas; e (e) reticulada.	7
Figura 3. Estrutura química do monômero de polifenol.....	8
Figura 4. Estrutura química do monômero de epóxi	9
Figura 5. Estrutura química do monômero do policarbonato.....	9
Figura 6. Estrutura química do monômero de etileno	10
Figura 7. Estrutura química de monômero de polipropileno.....	10
Figura 8. Estrutura química de monômero de poliuretano	10
Figura 9. Estrutura química de monômero de poliestireno	11
Figura 10. Desenho esquemático das três vias metabólicas de produção de polihidroxialcanoato. A primeira via ocorre a biossíntese diretamente de fontes de carbono simples; a segunda via utiliza metabólitos de degradação da via de β -oxidação para a produção de PHA.....	25
Figura 11. Curva padrão DCPIP para indicar consumo de hidrocarbonetos.....	30
Figura 12. Curva de eficiência de biodegradação dos plásticos pela <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63.	37
Figura 13. Micrografias de controle de filme de PEAD sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PE com crescimento e formação de biofilme bacteriano nas imagens e, f, g e h.....	39
Figura 14. Micrografias de controle de filme de PEBD Biodegradável (Ecolife) sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PEBD com crescimento e formação de biofilme bacteriano nas imagens e, f, g e h.....	40
Figura 15. Micrografias de controle de filme de PP Biodegradável sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PP com crescimento e formação de biofilme bacteriano nas imagens e, f, g e h.....	41
Figura 16. Micrografias de controle de PS expandido sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, PS com crescimento bacteriano nas imagens e, f, g e h.....	42
Figura 17. Micrografias de controle de filme de PEBD comercial sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PEBD com crescimento bacteriano e formação de biofilme na superfície nas imagens e, f, g e h.....	43

Figura 18. Espectros sobrepostos de FTIR de PEBD biodegradável controle e de PEBD biodegradável submetido a biodegradação pela <i>Comamonas brasiliensis</i> brasiliensis..	46
Figura 19. Espectros sobrepostos de FTIR de PEBD comercial controle e de PEBD comercial submetido a biodegradação pela <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63	46
Figura 20. Espectros sobrepostos de FTIR de PEAD controle e de PEAD submetido a biodegradação pela <i>Comamonas brasiliensis</i> sp.PE 63.....	47
Figura 21. Espectros sobrepostos de FTIR de PP controle biodegradável e de PP biodegradável submetido a biodegradação pela <i>Comamonas brasiliensis</i> brasiliensis..	47
Figura 22. Espectros sobrepostos de FTIR de PS expandido controle e de PS expandido submetido a biodegradação pela <i>Comamonas brasiliensis</i> brasiliensis	48
Figura 23. Presença de colônias em PEBD Comercial evidenciadas pelo kit Live and Dead São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas.....	51
Figura 24. Presença de colônias em PEAD evidenciadas pelo kit Live and Dead. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas.....	52
Figura 25. Presença de colônias em PEBD biodegradável evidenciadas pelo kit Live and Dead. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas	53
Figura 26. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas. Presença de colônias em PP Biodegradável evidenciadas pelo kit Live and Dead	54
Figura 27. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas. Presença de colônias em PS expandido evidenciadas pelo kit Live and Dead.....	55
Figura 28. Espectro de RMN 13C do PEBD comercial controle e do PEBD biodegradado por <i>Comamonas brasiliensis</i>	57
Figura 29. Espectro de RMN 13C do PEAD controle e do PEAD biodegradado por <i>Comamonas brasiliensis</i>	58
Figura 30. Espectro de RMN 13C do PEBD Ecolife controle e do PEBD Ecolife biodegradado por <i>Comamonas brasiliensis</i>	59
Figura 31. Espectro de RMN 13C do PP biodegradável controle e do PP biodegradado por <i>Comamonas brasiliensis</i>	60

Figura 32. Espectro de RMN ¹³ C do PS expandido controle e do PS biodegradado por <i>Comamonas brasiliensis</i>	61
Figura 33. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PEAD controle e Biodegradado.....	65
Figura 34. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PEBD controle e Biodegradado	66
Figura 35. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PP controle e Biodegradado.....	67
Figura 36. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PS expandido controle e Biodegradado	68
Figura 37. Pseudomonas putida corado com Nile Red - controle de PHA	69
Figura 38. Micrografia com Nile Red de PEBD comercial com <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63 após 96h de cultivo.....	70
Figura 39. Micrografia com Nile Red de PEAD com <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63 após 96h de cultivo	71
Figura 40. Micrografia com Nile Red de PEBD Ecolife com <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63 após 96h de cultivo	72
Figura 41. Micrografia com Nile Red de PP com <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63 após 96h de cultivo	73
Figura 42. Micrografia com Nile Red de PS expandido com <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63 após 96h de cultivo	74
Figura 43. Micrografia com Nile Red de Óleo mineral com <i>Comamonas brasiliensis</i> sp PE 63 após 96h de cultivo	75
Figura 44. Espectros de infravermelho do PHA produzido a partir do consumo de plásticos pela <i>Comamonas brasiliensis</i>	77
Figura 45. Comparação entre os espectros de infravermelho do PHA padrão, PHA produzido a partir do consumo de glicose pelas bactérias controle P. putida e R. eutropha, e PHA produzido a partir do consumo de glicose pela <i>Comamonas brasiliensis</i>	77
Figura 46. Curvas de calorimetria com temperatura de transição vítrea do PHA produzido a partir do consumo de plásticos pelas <i>Comamonas brasiliensis</i>	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Os três tipos de polimerização possíveis e os polímeros que são originados desses processos.	4
Tabela 2. Três tipos de copolímeros e sua funcionalidade após a copolimerização.	5
Tabela 3. Marca dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável e sua finalidade. .	17
Tabela 4. Composição do meio mínimo mineral. (Fonte: <i>The Utilization of Carbon Compounds by Some Actinomycetales as an Aid for Species Determination</i>).	29
Tabela 5. Composição do fixador de Karnovsky	31
Tabela 6. Composição do Tampão Cacodilato de Sódio 0,1 M	31
Tabela 7. Composição do Tampão Fosfato Salino	32
Tabela 8. Parâmetros de ¹³ C RMN	35
Tabela 9. Picos em azul não sofreram modificação, picos em verde são novas formações e picos em rosa sofrem aumento ou atenuação de intensidade.....	49
Tabela 10. Temperatura inicial e final de cada evento térmico que os polímeros sofreram	63
Tabela 11. Picos marcados de azul foram encontrados no PHA dos controles e os picos coloridos em verde, são formações diferentes proveniente do PHA produzido pela <i>Comamonas brasiliensis</i> a partir do consumo de plásticos.	78

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Equação de transformação de escala	33
---	----

ÍNDICE

1.Introdução.....	1
2. Referencial teórico.....	3
2.1 O que são plásticos	3
2.2 Estrutura polimérica	4
2.3 Categorização dos polímeros.....	5
2.3.1 Cristalinidade de polímeros	5
2.3.3 Reação a temperatura.....	7
2.4 Exemplos de polímeros e suas aplicações	8
2.4.1 Termorrígidos	8
2.4.2 Termoplásticos	9
3. Poluição por plásticos	11
3.1 Microplásticos e impacto na saúde humana	12
3.1.1 Emissão de gases do efeito estufa.....	13
4. Medidas de controle e prevenção de poluição ambiental	14
4.1 Reciclagem	14
4.2 Economia circular.....	15
5. Pilares de desenvolvimento sustentável da onu para criação de políticas públicas....	16
5.1 Leis ambientais no brasil	18
6.Biodegradação de plásticos petroquímicos.....	18
7. Plásticos biodegradáveis.....	20
7.1 Ácido polilático (PLA)	21
7.2 Polibutileno succinato (PBS).....	21
7.3 Álcool polivinílico (PVA OU PVOH)	21
7.5 Bio-based amido	22
7.6 Bio-based celulose.....	22
8. Polihidroxialcanoato – o biopolímero do futuro.....	22
8.1 Vias metabólicas de produção de pha.....	23

9. Justificativa	25
10. Objetivos Gerais	26
12. Materiais e métodos.....	27
12.1 Fontes de carbono.....	27
12.2 Bactéria e controles	27
12.3 Vidraria e plásticos para cultura	28
12.4 Meio de cultivo e cultura	28
12.5 Extração Do Polihidroxialcanoato.....	29
12.6 Curva de eficiência de biodegradação com o teste 2,6-Diclorofenol-indofenol (2,6-DCPIP)	29
12.7 Microscopia eletrônica de VARREDURA (MEV)	30
12.8 Espectroscopia no infravermelho por transformada de fourier com reflectância total atenuada (FT-IR ATR)	32
12.9 <i>Live and dead baclight</i> TM kit de viabilidade celular.....	33
12.10 Microscopia de fluorescência utilizando <i>nile red</i> para visualização de grânulos de pha	34
12.11 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	34
12.12 Análise Termogravimétrica (TG)	35
12.13 Calorimetria Diferencial De Varredura (DSC).....	35
13. Resultados E Discussão	36
13.1 Análise De Biodegradação Dos Polímeros.....	36
13.1.1 Curva De Eficiência De Biodegradação Com O Teste 2,6-Diclorofenol-indofenol (2,6-DCPIP)	36
13.1.2 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)	37
13.1.3 Espectroscopia No Infravermelho Por Transformada De Fourier Com Reflectância Total Atenuada (FT-IR ATR).....	44
13.1.4 <i>Live And Dead Baclight</i> TM Kit De Viabilidade Celular	49
13.1.5 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	56
13.1.6 Análise Termogravimétrica (TG)	62
13.2 Análise Do Polihidroxialcanoato.....	69

13.2.1 Microscopia De Fluorescência Utilizando <i>Nile Red</i> Para Visualização De Grânulos De PHA.....	69
13.2.2 Espectroscopia No Infravermelho Por Transformada De Fourier Com Reflectância Total Atenuada (FT-IR ATR).....	76
13.2.3 Calorimetria Diferencial De Varredura (DSC).....	78
14. Conclusão.	80
15. Perspectivas	81
16. Referência	81
17. ANEXOS	90

1. Introdução

Utilizados desde a antiguidade, materiais poliméricos eram aplicados na produção de utensílios e móveis. No entanto, foi apenas após a 2ª Guerra Mundial que a produção e aplicação de polímeros se estenderam devido ao crescente financiamento em pesquisas, reduzindo os custos de produção e ampliando sua empregabilidade em diversas indústrias (Dodiuk, 2021; Miranda, 2010; Rosen, 1993).

Plásticos são estruturas orgânicas com longas cadeias de macromoléculas formadas pela polimerização de monômeros, que podem ser naturais ou sintéticos (Tournier *et al*, 2023; Chamas *et al*, 2020; Gibb, 2019; Brydson, 1999). São classificados como polímeros naturais (resinas, ceras e pastas retiradas de plantas ou animais, como cera de abelha e âmbar); polímeros semissintéticos (plásticos naturais modificados com uso de temperatura elevada ou combinados com outros materiais ou reagentes, como por exemplo o acetato de celulose, galalite e *bois durci*); enquanto polímeros sintéticos são materiais usualmente derivados de fontes fósseis como petróleo e gás (Gibb, 2019; Brydson, 1999; Rosen, 1993).

Toneladas de plásticos são produzidas por ano, totalizando, somente em 2023, uma fabricação global de 413,8 milhões de toneladas. Destes, 90,4% são de origem fóssil, 8,7% são materiais reciclados mecanicamente e 0,7% são bioplásticos. (Plastics Europe, 2024). Atualmente, a China é o maior produtor de plásticos, correspondendo a 33,3% de toda a produção mundial, seguida pelo restante da Ásia (exceto Japão) com 19,7%, América do Norte com 17,1% e Europa com 12,3%. A América Latina corresponde a apenas 3,8% da produção global de plásticos (Plastics Europe, 2024). Essa alta produção de plásticos deve-se às suas características, como alta resistência, maleabilidade, durabilidade, baixa condutividade elétrica e baixo custo de produção (Plastics Europe, 2024; Stevens, 2023; Rodrigues, 2023; Andrady & Neal, 2009; Thompson *et al*, 2009). Todavia, apenas 9% desses rejeitos são reciclados, enquanto 22% são mal gerenciados, 29% são incinerados e 57% se acumulam no meio ambiente (OECD, 2022).

Desde o aumento de sua produção, o volume de plástico sobrepôs-se ao seu gerenciamento, estimando-se que entre 9 e 23 milhões de toneladas desse material alcancem corpos d'água anualmente e entre 13 e 25 milhões se acumulem em ecossistemas terrestres (Plastics Europe, 2024; MacLeod *et al*, 2021; ICMBio, 2018; Andrady & Neal, 2009; Thompson *et al*, 2009). Essa contaminação acarreta impactos negativos aos ecossistemas, e a presença desses resíduos já foi reportada em diversos

organismos, incluindo o corpo humano (Liao *et al*, 2021; Chamas *et al*, 2020; Magalhães *et al*, 2020; Sana *et al*, 2020; Kim & An, 2020).

Referente a este cenário, diversas medidas tramitam por organizações governamentais e não governamentais, visando transformar a situação atual. A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), da qual o Brasil é parceiro-chave, divulgou dados relativos às projeções da produção e do manejo de plástico até o ano de 2060. Esses dados serviram como base para estudos e para a elaboração de políticas públicas a serem implementadas pelos países membros e parceiros, objetivando a diminuição da poluição de plástico no meio ambiente (OECD, 2022). Algumas das propostas envolvem o incentivo à economia circular, a diminuição da produção e do consumo de plástico, além de políticas apresentadas pela Agenda 2030, que é composta por 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (Agência Senado, 2022; OECD, 2022).

O Brasil já é reconhecido por ter um bom conjunto de leis em relação à preservação do meio ambiente, como, por exemplo, o Projeto de Lei 1228/20, que tem como intuito a proibição da comercialização, fabricação e utilização de plásticos de uso único que não sejam voltados para as áreas da saúde, alimentação e indústria (Agência Câmara de Notícias, 2020). Há ainda a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), que foi instituída pela Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, com posterior acréscimo do Plano Nacional de Resíduos Sólidos (PLANARES) pelo Decreto nº 11.043 de 2022, o qual determina metas como o encerramento de lixões até 2024, a reciclagem diária de 100 mil toneladas de resíduos sólidos em 2040 e o uso de resíduos orgânicos para produção de biogás (Agência Senado, 2022; Gama, 2022; DOU, 2010).

Com a finalidade de reduzir a utilização de plásticos de origem fóssil, diversas pesquisas são realizadas para o desenvolvimento e a produção de biopolímeros que apresentem empregabilidade similar à de polímeros sintéticos, consistindo em uma estratégia importante na conjuntura do desenvolvimento sustentável. Contudo, o custo de produção de biopolímeros ainda é alto, e isso também não viabiliza a descontaminação de ambientes já afetados por plástico (Tournier *et al*, 2023; Song *et al*, 2009; Thompson *et al*, 2009). Desse modo, estratégias que visem convergir a substituição e a descontaminação de plásticos em um único processo apresentam grande potencial sob as perspectivas tecnológica, ecológica, econômica e social.

Devido à alta biodiversidade microbiana dos solos, estudos identificaram e analisaram microrganismos capazes de realizar a biodegradação de plásticos. Com uma coleção formada por bactérias isoladas do Cerrado, as quais foram capazes de biodegradar polietileno, Peixoto *et al.* (2017) ainda identificaram no genoma da *Comamonas brasiliensis* sp. a presença de genes envolvidos na biossíntese de polihidroxialcanoato (PHA), uma inclusão de armazenamento de energia com propriedades mecânicas e físico-químicas similares às de plástico comum. Com análises bioquímicas, filogenéticas e *in silico*, Frederico *et al.* (2025) indicaram que essa cepa se trata de uma nova espécie, nomeando-a *Comamonas brasiliensis brasiliensis*.

Com base nos dados genômicos de *C. brasiliensis*, este trabalho identificou, extraiu, purificou e caracterizou a produção de polihidroxialcanoato, utilizando plásticos como única fonte de carbono. Indicando que essa inclusão possui características adequadas para aplicação industrial, configurando, assim, uma estratégia metabólica promissora como alternativa para a biorremediação de plásticos, aliada à produção de bioplásticos.

2. Referencial teórico

2.1 O que são plásticos

A definição de plástico é complexa, levando-se em consideração que se trata de um grupo composto por um amplo espectro de polímeros. Entretanto, ao analisar a estrutura química dos polímeros, nota-se a similaridade na presença de moléculas, chamadas de monômeros, que se repetem com constância. Esses elementos são unidades de grupos funcionais que se repetem, agrupando-se em cadeias (Tournier *et al.*, 2023; Chamas *et al.*, 2020; Roussak & Gesser, 2011; Brydson, 1999).

Na maior parte dos plásticos – com algumas exceções, como, por exemplo, betume, âmbar e goma-laca – as estruturas são homogêneas, ou seja, são compostas pelo mesmo grupo funcional. À vista disso, com as repetições dos grupos, há a formação de cadeias poliméricas, e estas se juntam, formando uma estrutura macromolecular (Chamas *et al.*, 2020; Brydson, 1999).

O tamanho das cadeias variará de acordo com o tipo de polímero, definindo as propriedades do material e sua aplicação, bem como seu peso molecular. Sendo assim, quanto maior a cadeia, maior seu peso molecular (Tournier *et al.*, 2023; Padsalgikar, 2016; Brydson, 1999; Rosen, 1993). Essa propriedade é uma das mais relevantes em um polímero, pois determina-se, assim, quais serão as características mecânicas do material,

como a flexibilidade e a solubilidade, já que polímeros com alto peso molecular tendem a resistir à dissolução (Tournier *et al*, 2023; Roussak & Gesser, 2011).

2.2 Estrutura polimérica

A estrutura química básica de um polímero é o monômero, formado pela ligação covalente de átomos. Quando ligados covalentemente a outros monômeros, cria-se a cadeia polimérica. Para a formação dessa cadeia, os monômeros podem ser conectados por meio da adição polimérica, da condensação polimérica ou do rearranjo (Manual da química, 2024; Tournier *et al*, 2023; Roussak & Gesser, 2011; Brydson, 1999).

A adição polimérica ocorre quando a ligação dupla ou tripla de um monômero é quebrada; dessa forma, uma camada de valência torna-se livre, abrindo espaço para que o monômero se conecte a outro similar, sem gerar novas formações (Tournier *et al*, 2023; Brydson, 1999). A condensação polimérica não requer a quebra de ligação entre os átomos, porém ao juntar monômeros, uma molécula é perdida, formando produtos secundários como por exemplo, a água (Manual da química, 2024; Tournier *et al*, 2023; Brydson, 1999). O rearranjo polimérico é um tipo de condensação: não ocorre quebra de ligação; porém, para que haja a ligação, a estrutura química dos monômeros sofre modificação (Tournier *et al*, 2023; Brydson, 1999). A Tabela 1 apresenta o tipo de polimerização que ocorre para a produção de três tipos de plásticos muito utilizados em diversas indústrias.

Tabela 1. Os três tipos de polimerização possíveis e os polímeros que são originados desses processos.

Polimerização	Polímero
Adição	Polietileno
Condensação	Poliamida
Rearranjo	Poliuretano

Quando polimerizados com apenas uma variedade de monômero, o material é chamado de homopolímero; porém, polímeros também podem ser produzidos com mais de uma variedade de monômero. Dessa forma, a polimerização ocorre com dois ou mais tipos de monômeros, sendo chamado de copolímero. Esse material geralmente é produzido como um plástico reforçado, pois, ao adicionar outro monômero, alteram-se características importantes, como propriedades mecânicas e químicas (Tournier *et al*, 2023; Roussak & Gesser, 2011).

A copolimerização pode ocorrer de quatro formas distintas: (i) de forma alternada, na qual os monômeros são polimerizados um sucedendo o outro gradativamente; (ii) de forma em bloco, na qual uma cadeia homogênea é polimerizada a outra cadeia também homogênea, podendo formar vários tipos de blocos; (iii) de forma estatística, na qual os monômeros são polimerizados de forma irregular; e (iv) de forma enxertada, na qual monômeros são polimerizados lateralmente às cadeias principais (Roussak & Gesser, 2011; Yokoyama, 1992). Na Tabela 2, são apresentados três tipos de copolímeros muito utilizados mundialmente e suas alterações mecânicas.

Tabela 2. Três tipos de copolímeros e sua funcionalidade após a copolimerização.

Copolímero	Função
Polietileno Tereftalato Glicol (PETG)	Aumenta a resistência à moldagem em altas temperaturas
Acrilonitrila butadieno estireno (ABS)	Aumenta a resistência à moldagem em altas temperaturas; resistência a impactos; leveza.
Polipropileno copolímero	Maior flexibilidade e resistência.

2.3 Categorização dos polímeros

Os polímeros podem ser descritos e classificados pelo prisma de diferentes características: de acordo com a cristalinidade, definida pela conformação dos possíveis arranjos no terceiro plano dimensional; pela configuração, que é a ordem na qual os átomos se ligam covalentemente (Chanda e Roy, 2016; Roussak & Gesser, 2011); e pela estrutura molecular, a qual é baseada na forma como os monômeros se conectam, formando estruturas lineares, ramificadas, reticuladas ou em rede. Os polímeros também podem ser descritos quanto ao seu comportamento em altas temperaturas, à variedade de monômero, ao tamanho de cadeia, entre outras propriedades. Esse conjunto de características atribui ao material sua natureza, como resistência mecânica e rigidez (Chanda e Roy, 2016; Roussak & Gesser, 2011).

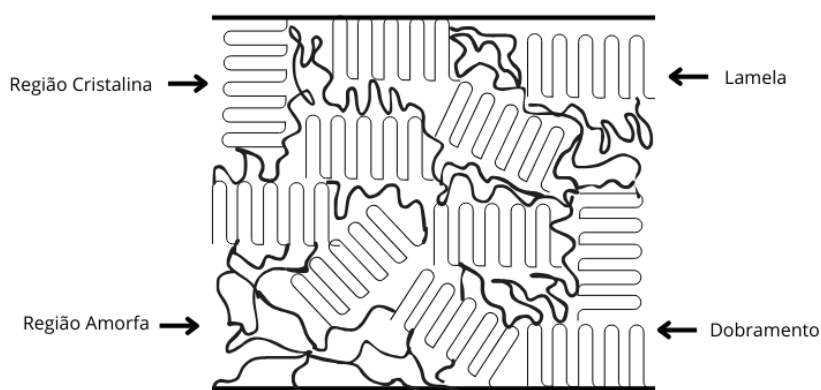
2.3.1 Cristalinidade de polímeros

A cristalinidade é a conformação espacial das cadeias poliméricas (Chanda e Roy, 2016; Padsalgikar, 2016). Quando ordenadas paralelamente através de dobras, caracteriza-se como região linear; quanto maior a presença de estruturas ordenadas no polímero, maior a cristalinidade. Já nas regiões nas quais as cadeias estão desordenadas,

caracteriza-se como região amorfa (Chanda e Roy, 2016; Padsalgikar, 2016). Há também as regiões de interfase, as quais ocorrem quando as estruturas lamelares se conectam entre si, de forma ordenada ou desordenada (Chanda e Roy, 2016). Na Figura 1, observam-se as possíveis conformações realizadas por polímeros; vale ressaltar que nenhum polímero é inteiramente cristalino, sempre há regiões amorfas (Padsalgikar, 2016).

A cristalinidade define o grau de rigidez e a propriedade óptica do polímero, ocorrendo de duas formas: (i) durante o resfriamento, após o aumento da temperatura no ponto de fusão; ou (ii) após a evaporação de um solvente (Padsalgikar, 2016).

O grau de cristalinidade de um polímero é determinado pela flexibilidade das cadeias poliméricas, por sua propensão ao empacotamento (regiões lineares e amorfas), pela presença de monômeros distintos na composição e pelas forças que envolvem as cadeias (polaridade) (Afinko polímeros, 2019; Chanda e Roy, 2016; Padsalgikar, 2016).



Fonte: Elaborado pela autora.

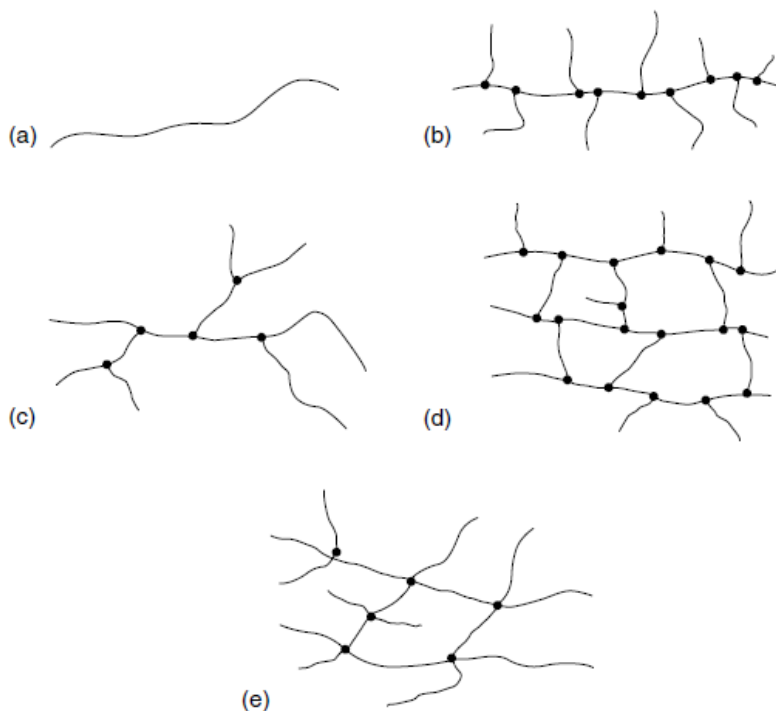
Figura 1. Esquema das estruturas lamelares dos polímeros, indicando regiões organizadas (lamelas) e suas regiões de dobramentos, e suas regiões desorganizadas (amorfas).

2.3.2 Forma estrutural dos polímeros

A classificação estrutural dos polímeros dá-se pela conformação do esqueleto do polímero. Como se pode observar na Figura 2, cadeias ligadas continuamente resultam em uma estrutura linear; cadeias laterais conectadas à cadeia central formam uma estrutura ramificada; a ligação entre cadeias centrais através de cadeias laterais forma uma estrutura reticulada ou cruzada; e múltiplas ligações entre as cadeias centrais formam uma estrutura em rede (Chanda e Roy, 2016; Padsalgikar, 2016). Essa propriedade é importante na definição do grau de cristalinidade do polímero, já que o tipo e a quantidade de ramificações nas cadeias alteram o nível de empacotamento para a formação dos

cristais. Sendo assim, cadeias lineares tendem a apresentar maior empacotamento, formando mais regiões lineares do que cadeias ramificadas (Padsalgikar, 2016).

A conformação da estrutura também atribui ao polímero sua capacidade de reação a mudanças de temperatura. Estruturas com cadeias lineares e ramificadas são moldáveis à ação de alta temperatura por mais de uma vez, enquanto cadeias cruzadas ou em rede não permitem novas moldagens em alta temperatura (Deanins & Mead, 2011).



Fonte: *Polymer Chemistry And Environmentally Degradable Polymers*.

Figura 2. Formas estruturais poliméricas: (a) linear; (b) ramificada na cadeia central; (c) ramificada; (d) cadeias cruzadas; e (e) reticulada.

2.3.3 Reação a temperatura

Os polímeros são expostos a altas temperaturas para sua moldagem, havendo duas temperaturas básicas para a análise desses materiais: a temperatura de fusão cristalina (T_m) e a temperatura de transição vítrea (T_g) (Padsalgikar, 2016). A T_m é a temperatura na qual uma região cristalina torna-se desorganizada e passa para um estado líquido, enquanto a T_g é a temperatura na qual o material passa de rígido para mais maleável (Padsalgikar, 2016).

Polímeros sintéticos podem ser descritos de acordo com seu comportamento a mudanças de temperatura, sendo classificados como termoplásticos ou termofixos

(Chanda e Roy, 2016). Os polímeros termoplásticos, por possuírem estrutura linear e ramificada, podem passar repetidas vezes por processo de aquecimento, o que permite sua modelagem e aplicação de forma mais ampla. Já os polímeros termorrígidos, por possuírem estrutura cruzada, permanecem rígidos com o aumento da temperatura (Chanda e Roy, 2016; Padsalgikar, 2016).

2.4 Exemplos de polímeros e suas aplicações

2.4.1 Termorrígidos

A baquelite (resina formol-formaldeído) foi o primeiro polímero sintético produzido no mundo. O copolímero baquelite é produzido a partir da condensação de fenol e formaldeído, como visto na Figura 3. Esse material tem baixa condutividade elétrica, baixo custo de produção e boa resistência mecânica, sendo muito utilizado pelas indústrias bélica, automotiva e de móveis e eletrodomésticos (Roussak & Gesser, 2011).

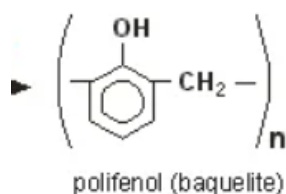


Figura 3. Estrutura química do monômero de polifenol

Fiberglass trata-se de qualquer matriz polimérica reforçada com fibra de vidro. Geralmente, esse compósito é formado com polímeros termorrígidos, como resinas epóxi; porém, a fibra de vidro pode ser adicionada a alguns polímeros termoplásticos. É leve, não sofre deterioração com intempéries e é muito utilizada na indústria náutica (Steve, 1999). O epóxi é uma resina produzida a partir da polimerização de epícloridrina com o bisfenol A, como demonstrado na Figura 4. Tem alta resistência química e térmica, alta aderência e fácil aplicação em diversas superfícies, sendo muito utilizado nas indústrias de eletrônicos, construção civil e aeronáutica (Deanins & Mead, 2011).

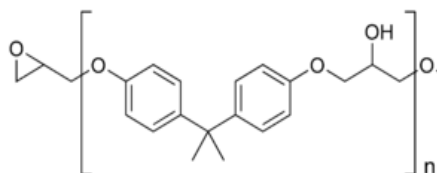


Figura 4. Estrutura química do monômero de epóxi

2.4.2 Termoplásticos

O policarbonato é um poliéster aromático, copolímero formado pela presença dos monômeros fosgênio e bisfenol A, como visto na Figura 5. Possui baixa massa molar (25.000 g/mol), é incolor, resistente ao calor, à ação mecânica e a raios ultravioleta, bem como é um bom isolante térmico. É aplicado na produção de materiais de proteção coletiva e individual, como vidros de capela de fluxo laminar e óculos de proteção, além de ser empregado em carcaças de eletrônicos que aquecem facilmente (Gorni, 2003; Blank, 1990).

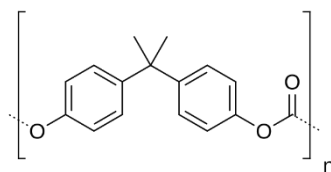


Figura 5. Estrutura química do monômero do policarbonato

O polietileno é um produto da polimerização de etileno; esse polímero tem alta massa molar, variando de 28.000 g/mol a 600.000 g/mol. Sua estrutura comum apresenta cadeias longas de ligações covalentes entre carbonos e hidrogênio nas cadeias laterais, demonstrado na Figura 6. É um material resistente mecânica e quimicamente, de baixa condutividade elétrica, flexível, incolor, impermeável à água e de baixo custo de produção (Gorni, 2003; Blank, 1990). Pode ser classificado como material de baixa densidade, de baixa densidade linear, de alta densidade ou de ultra-alto peso molecular. É aplicado em diversas indústrias, como a de alimentos, a de brinquedos e a de isolamento elétrico, sendo o plástico mais utilizado em nível global (Gorni, 2003; Blank, 1990).

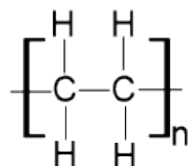


Figura 6. Estrutura química do monômero de etileno

Produto da polimerização de monômero de propileno, como demonstrado na Figura 7, o polipropileno é um material com características físico-químicas similares às do polietileno; porém, é menos resistente (Gorni, 2003; Blank, 1990). Possui alta massa molar, em média 1.000.000 g/mol. É resistente a altas temperaturas e a substâncias químicas, possui baixa condutividade elétrica, é de fácil moldagem e de baixo custo de produção (Gorni, 2003). É aplicado na produção de fibras, eletrodomésticos e na indústria automotiva.

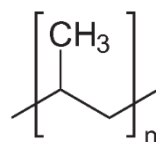


Figura 7. Estrutura química de monômero de polipropileno

Poliuretano, um polímero formado por monômeros de uretano, demonstrado na Figura 8, é amplamente utilizado na produção de vernizes, tintas e espumas. Um de seus produtos comerciais mais conhecidos mundialmente é a Lycra®. É resistente mecanicamente e de baixo custo de produção (PSLC, 2024; Reteprene, 2024; Blank, 1990).

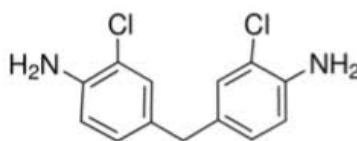


Figura 8. Estrutura química de monômero de poliuretano

Mais conhecido pelo nome Isopor®, esse material é resultante da polimerização do estireno, demonstrado na Figura 9. O peso de massa molar varia de acordo com o tipo de poliestireno (PS). Ele é categorizado em PS cristal (um homopolímero vítreo); PS resistente ao calor (possuindo maior massa molar); PS de alto impacto (por possuir adição

de elastômero); e PS expandido (tornando-se uma espuma semirrígida). É aplicado nas indústrias automobilística, de construção civil e na produção de eletrodomésticos (Gorni, 2003).

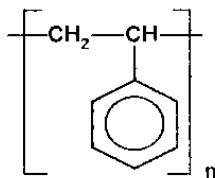


Figura 9. Estrutura química de monômero de poliestireno

3. Poluição por plásticos

Devido à sua durabilidade e baixo custo de produção, o plástico tornou-se um dos materiais mais utilizados no mundo (Govind & K, 2023). Anualmente, milhões de toneladas de plástico são produzidas (Plastics Europe, 2024); contudo, práticas improdutivas de gerenciamento de resíduos plásticos e a baixa taxa de biodegradabilidade dos polímeros sintéticos resultam em acúmulo desse material no meio ambiente, gerando contaminação que provoca consequências importantes aos ecossistemas e à saúde pública (Ali *et al*, 2021; ICMBio, 2018; Andrady & Neal, 2009; Thompson *et al*, 2009).

Sua presença persistente na natureza, sob condições climáticas variáveis, altera suas propriedades mecânicas e físico-químicas, permitindo a fragmentação do plástico até tamanhos microscópicos (Li *et al*, 2020; Barnes *et al*, 2009). Esses fragmentos já foram encontrados em diversos ecossistemas, inclusive em localizações remotas da Terra, como o Ártico e a Antártica (Bergmann *et al*, 2022). Há ainda diversos estudos que indicam a presença de fragmentos plásticos no ar, no solo, em organismos aquáticos e terrestres, incluindo humanos (Liao *et al*, 2021; Magalhães *et al*, 2020; Sana *et al*, 2020; Kim & An, 2020).

No Brasil, um estudo atual realizado em parceria pela organização não governamental *Sea Shepherd Conservation Society* e o Instituto de Oceanografia da Universidade de São Paulo reportou a presença de lixo em 306 praias da costa brasileira. Ao todo, foram coletadas 2,3 toneladas de resíduos de todas as praias, dos quais 91% foram identificados como plástico, e, destes, foram obtidos 16 mil fragmentos de microplásticos (Sea Sheperd, 2024). Em outro estudo, com relação à presença de microplásticos em organismos, peixes foram analisados quanto ao aparecimento de danos

cerebrais, e essas lesões ocorreram em decorrência do acúmulo de microplástico. Foram reportados comportamentos inusitados nos animais e diminuição de sua expectativa de vida, provocados pela ingestão direta de fragmentos plásticos e através de sua cadeia alimentar. Já com relação a disfunções metabólicas, lesões teciduais ou desordem sistêmica, poucos são os estudos que associam doenças que podem ser acarretadas pela presença de polímeros; porém, visto que esse material já foi encontrado inclusive em placenta humana, um alerta é acionado sobre a gravidade do cenário (Liao *et al*, 2021; Ragusa *et al*, 2021; Magalhães *et al*, 2020; O'Brien *et al*, 2020; Barnes *et al*, 2009; Thompson *et al*, 2009).

Apesar de quimicamente inerte, a presença de plástico no meio ambiente e em organismos vivos implica uma grande ameaça à saúde. Além do impacto ocasionado pela ingestão de fragmentos, há ainda problemas relacionados às limitações físicas que podem ocorrer em animais que podem ficar presos em macroplásticos (Liao *et al*, 2021; Magalhães *et al*, 2020; O'Brien *et al*, 2020; Barnes *et al*, 2009; Thompson *et al*, 2009).

3.1 Microplásticos e impacto na saúde humana

Devido a fatores bióticos e abióticos, como enzimas liberadas por microrganismos, radiação ultravioleta e oxidação, plásticos presentes no meio ambiente sofrem fragmentação. A maior parte desses plásticos é muito pequena, abaixo de 100 mm, sendo classificada pelo seu tamanho em megaplásticos (>100 mm), macroplásticos (100 mm – 20 mm), mesoplásticos (20 mm – 5 mm) e microplásticos (<5 mm) (Li *et al*, 2020; O'Brien *et al*, 2020; Barnes *et al*, 2009; Thompson *et al*, 2009).

Para estudá-los em diferentes materiais, como solo e água, alguns métodos são empregados para sua separação e identificação (Maes *et al*, 2017). Algumas técnicas empregam flutuação, diferença de densidade e membranas de filtração como métodos de separação; corantes fluorescentes, microscópios de fluorescência, Espectroscopia de Infravermelho e Espectroscopia de Raman para identificação e análise química (Maes *et al*, 2017). Em organismos vivos, também são empregados métodos como biópsia de tecidos e coleta de fluidos biológicos para identificação (Abbasi & Turner, 2021; Prata *et al*, 2021; Sturm *et al*, 2021; Zhang *et al*, 2021).

Sabe-se que aditivos acrescentados à composição do plástico, como o bisfenol A, podem ser liberados sob altas temperaturas e em processo de degradação, o que, em grandes quantidades em organismos vivos, provoca disfunção endócrina, podendo causar

a presença de tumores e infertilidade (Govind & K, 2023). Também foi relatado que fragmentos de microplásticos podem formar biofilmes microbianos e de microalgas, o que aumenta a adsorção de metais pesados e poluentes orgânicos presentes em corpos d'água e ambientes terrestres, e também podem produzir toxinas, possibilitando reações adversas ao organismo, tornando-o ainda mais nocivo para a saúde ambiental e pública (Govind & K, 2023; Li, *et al*, 2021; Liu *et al*, 2021).

Em 2022, a Organização Mundial da Saúde lançou a publicação *Exposição Alimentar e por Inalação de Partículas Nano e Microplásticas e Suas Potenciais Implicações para a Saúde Humana*, na qual discorre sobre a exposição humana a fragmentos plásticos em água, alimentos, atmosfera e pele (OMS, 2022). Devido à continuidade da exposição ao plástico, foram elencados alguns possíveis efeitos tóxicos ao organismo humano. A presença de material exógeno pode aumentar o estresse oxidativo, o qual decorre do desequilíbrio homeostático. Fisiologicamente, o corpo humano produz radicais livres que atuam em processos metabólicos como transferência de elétrons por meio da cadeia transportadora de elétrons, ativação de genes e fertilização de óvulo; entretanto, quando o corpo não produz antioxidantes suficientes para a neutralização ou remoção dos radicais livres, as células sofrem danos irreversíveis, perdendo sua função e comprometendo processos biológicos, provocando doenças crônicas não transmissíveis, como transtornos neurológicos, cardiovasculares e carcinogênicos (do Nascimento e de Almeida, 2022; Barbosa *et al*, 2010; Ritter, 2007).

O acúmulo de plástico também pode desencadear respostas inflamatórias crônicas, provocando destruição tecidual e promovendo distúrbios imunes e metabólicos (Kumar *et al*, 2020). Entre outros possíveis distúrbios metabólicos, sua presença no intestino pode provocar disbiose, um dos fatores-chave para disrupção metabólica (OMS, 2022; Kumar *et al*, 2020).

Há ainda muitas lacunas a serem compreendidas, pois o impacto provocado pela presença de plástico na natureza e no organismo animal é amplo, acionando muitos alertas.

3.1.1 Emissão de gases do efeito estufa

A presença de plásticos no meio ambiente provoca múltiplas adversidades, incluindo a emissão de gases do efeito estufa, que são liberados por todo o ciclo de vida do plástico (Walker & Fequet, 2023; Ford *et al*, 2022).

Plásticos sintéticos geralmente são de origem fóssil, o que exige a extração de petróleo de camadas mais profundas da Terra, liberando, assim, gases como metano e dióxido de carbono. Em seguida, o óleo bruto passa por um processamento em que ocorre a separação de gás, óleo e água, para, em seguida, ser enviado para o processo de refinamento (Petrobrás, 2024). É então que são separados todos os derivados que serão utilizados como matéria-prima de diversas indústrias, como a nafta para a produção de olefinas, como o etileno, monômero utilizado para a produção de polietileno (Petrobrás, 2024).

A partir desse ponto, os plásticos são sintetizados e escoados para o mercado e, após seu uso, vão para o gerenciamento de resíduos. Nesta etapa, os resíduos plásticos podem passar por processo de incineração, reciclagem ou deposição em aterro; entretanto, estatisticamente, uma grande parte desses resíduos encontra-se acumulada na natureza (Walker & Fequet, 2023, Ford *et al*, 2022; Li, *et al*, 2021; Liu *et al*, 2021). De todo o ciclo de produção de plástico, as etapas de escoamento para o mercado e de deposição e acúmulo no meio ambiente são as que mais carecem de dados relativos à emissão de gases de efeito estufa (Walker & Fequet, 2023; Ford *et al*, 2022; OMS, 2022).

4. Medidas de controle e prevenção de poluição ambiental

Medidas de controle e prevenção envolvem todas as esferas da sociedade. Iniciam-se com trabalho de base, assegurando que todos receberão educação ambiental desde a infância, até setores governamentais, delineando leis, tributos e garantindo sua execução (Holanda, 2022; Da cruz *et al*, 2020).

4.1 Reciclagem

A implementação do processo de reciclagem de resíduos plásticos teve como ápice no Brasil a criação da Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS - 2010); contudo, nem todos os municípios do Estado brasileiro possuem coleta seletiva para que essa demanda seja efetivada em todo o território nacional (Garbin *et al*, 2020). Para que haja esse processo, uma das maiores questões enfrentadas é a logística reversa de resíduos. Isso porque a maior parte do material é coletada por profissionais informais, conhecidos como catadores (Garbin *et al*, 2020; Lar Plásticos, 2020). Devido à informalidade, muitas são as barreiras para a coleta e separação desse material.

Existem três tipos de reciclagem: a química, na qual o plástico passa por um processo transformando-o em matéria-prima novamente; a energética, que transforma a energia térmica da incineração do material em energia elétrica; e a mecânica, que é o processo mais utilizado. Nesse método, primeiro o material é coletado de forma seletiva; os resíduos plásticos passíveis de reciclagem devem ser separados de outros tipos de resíduos pelos consumidores. Após a coleta, o plástico é separado e agrupado por composição e limpo para remover sujidades; após a secagem, o plástico é granulado para que então seja reprocessado (Lar Plásticos, 2020).

O Brasil, enquanto grande consumidor mundial de plástico, recicla em menor percentual, comparado a outros grandes consumidores membros, parceiros-chave e signatários da OECD (Univasf, 2019). A reciclagem é um dos processos elencados como fundamental para a economia circular e citado como novo movimento pela Agenda 2030 da Organização Mundial da Saúde para diminuir e remover resíduos da natureza e reutilizá-los para a produção de novos produtos.

4.2 Economia circular

Desde a Revolução Industrial, a produção de bens de consumo cresceu exponencialmente, e com esse crescimento estabeleceu-se o atual modelo econômico conhecido como capitalismo. Nesse modelo, a produção ocorre em sistema linear, no qual há a extração da matéria-prima, produção, consumo e descarte, gerando alto volume de resíduos que não são gerenciáveis, além de emitir gases de efeito estufa em todas as fases do processo (Holanda, 2022; Foster *et al*, 2016). Devido às mudanças climáticas decorrentes do processo industrial, pesquisas na área de gestão ambiental foram realizadas para minimizar os impactos e preservar o desenvolvimento econômico. Nesse contexto, a economia circular surgiu como um modelo que reintegra os materiais utilizados na fabricação de bens ao ciclo de produção de novos produtos (Holanda, 2022; Foster *et al*, 2016; Leitão, 2015).

Na economia circular, três pilares norteiam a cadeia de consumo: (i) a diminuição da extração de matéria-prima e, portanto, a diminuição da deposição de resíduos na natureza; (ii) a valorização de materiais já circulantes, aplicando ações referenciadas como os 4 Rs da reciclagem (reduzir, reutilizar, reciclar e repensar); e (iii) a regeneração da natureza, diminuindo o impacto ambiental causado pela extração de matéria-prima e deposição de lixo no meio ambiente com planos de reflorestamento,

limpeza de lagos e rios, recuperação de mata nativa e incentivo ao consumo consciente, principalmente de empresas locais (Bispo *et al*, 2020).

Esse modelo econômico foi citado pela primeira vez em um estudo publicado em 1989, descrito por David Pearce e Kerry Turner; porém, apenas em 2015, após a criação dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), estabelecidos pela Assembleia Geral das Nações Unidas, tornou-se popular (Garbin *et al*, 2020).

5. Pilares de desenvolvimento sustentável da onu para criação de políticas públicas

A Assembleia Geral das Nações Unidas é um órgão da Organização das Nações Unidas, constituído por representação de todos os Estados pertencentes ao quadro da ONU, que delibera ações em relação a assuntos globais. Entre as resoluções, uma de grande destaque refere-se à criação dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), um acordo intergovernamental que abrange 17 metas globais a serem alcançadas até o ano de 2030. Esses objetivos, descritos na Tabela 3, possuem como pilar cinco fatores para o desenvolvimento sustentável. São eles: as pessoas, o planeta Terra, a prosperidade, a paz e o fomento a parcerias, interseccionando Economia, Ambiente e Sociedade (Nações Unidas, 2024; SERINTER GDF, 2021). A concepção desses objetivos fomenta o desenvolvimento de políticas públicas e fortalece a promulgação e execução de leis para a proteção das pessoas, dos animais e da natureza.

Tabela 3. Marca dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável e sua finalidade.

Marca	Objetivo
	Erradicação da Pobreza
	Fome Zero e Agricultura Sustentável
	Saúde e Bem-Estar
	Educação de qualidade
	Igualdade de gênero
	Água Potável e Saneamento
	Energia Limpa e Acessível
	Trabalho Decente e Crescimento Econômico
	Indústria, Inovação e Infraestrutura
	Redução das Desigualdades
	Cidades e Comunidades Sustentáveis
	Consumo e Produção Responsáveis
	Ação Contra a Mudança Global do Clima
	Vida na Água
	Vida Terrestre
	Paz, Justiça e Instituições Eficazes

5.1 Leis ambientais no Brasil

A legislação ambiental brasileira é uma das mais bem estabelecidas do mundo. Desde a criação da primeira Constituição, quando se tornou República, há diretivas que preservam o meio ambiente. Com a atual relevância do tema em nível mundial, principalmente devido aos 17 ODS, o legislativo brasileiro aprova e promulga leis anualmente para a preservação, recuperação e manejo do meio ambiente. Algumas das leis mais importantes da nossa Constituição estabelecem mudanças desde a base da sociedade, instaurando de forma permanente a educação ambiental em todo o território nacional e em todos os níveis de escolaridade, desde a promulgação e execução da Lei 9.795, de 27 de abril de 1999. Outras duas leis que tornaram os biomas brasileiros mais preservados são a Lei 6.938/1981 e a Lei 6.902/81, criando a Política Nacional do Meio Ambiente e Áreas de Preservação Ambiental (APA) e Estações Ecológicas, constituindo diretrizes para as atividades que exploram recursos naturais e áreas de total proteção, respectivamente (IBF, 2024; InBS, 2024).

Para o delineamento de diretrizes referentes a saneamento e reciclagem, o Brasil também criou a Política Nacional de Saneamento Básico (PNSB) pela promulgação da Lei 11.445/2007 e a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), instituída pela Lei 12.305 (IBF, 2024; InBS, 2024).

A legislação brasileira referente ao meio ambiente se apoia em políticas de desenvolvimento sustentável e, portanto, possui como conceito a responsabilidade, a mitigação, a adaptação e a integração da sociedade e do meio ambiente.

6. Biodegradação de plásticos petroquímicos

A biodegradação é um processo que ocorre com a associação de dois mecanismos: o abiótico e o biótico (Dusselier & Lange, 2022). Dessa forma, polímeros são deteriorados a moléculas de baixa massa molar por ação de intempéries e enzimas microbianas, sendo então utilizados como fonte de carbono por microrganismos (Zhang *et al*, 2022; Lucas *et al*, 2008). A biodegradação ocorre concomitantemente em quatro estágios.

Biodeterioração: os polímeros sofrem deterioração mecânica, física e química. Durante esse estágio, os microrganismos formam um biofilme na superfície do polímero, estruturando uma matriz na qual são liberadas moléculas extracelulares. A matriz polimérica facilita a aderência da comunidade à superfície, o que também acarreta modificações superficiais, como alteração da umidade do material, enquanto as substâncias extracelulares, como proteases, lipases e espécies reativas de oxigênio, atuam na deterioração e fragmentação do polímero. Nesse processo, há também a incidência de condições abióticas, como radiação solar, temperatura, umidade, pH e oxigênio (Ali *et al*, 2022; Ali *et al*, 2021; Zhang *et al*, 2022; Lucas *et al*, 2008), o que permite a penetração de água, aumento dos poros da superfície polimérica e mudanças mecânicas, gerando alterações estruturais e enfraquecendo a resistência do plástico (Ali *et al*, 2022; Ali *et al*, 2021; Zhang *et al*, 2022; Lucas *et al*, 2008), o qual permite a penetração de água, aumento dos poros da superfície polimérica e mudanças mecânicas, gerando alterações estruturais e enfraquecendo a resistência do plástico (Amobonye *et al*, 2021). A presença de alguns aditivos nos plásticos facilita sua biodeterioração, provocando alterações estruturais mais rapidamente e facilitando a bioassimilação e o metabolismo do plástico pelos microrganismos (Ali *et al*, 2021; Amobonye *et al*, 2021).

Nessa etapa do processo de biodegradação, o polímero é fragmentado em pequenas partes que são facilmente assimiláveis pelos microrganismos. Após a biodeterioração, que ocasiona o enfraquecimento da estrutura polimérica, os microrganismos são induzidos a produzir e secretar enzimas como oxirredutases, hidrolases, peroxidases e espécies reativas de oxigênio, favorecendo a quebra de ligações químicas das cadeias poliméricas e liberando oligômeros e monômeros que são então utilizados como fonte de carbono (Ali *et al*, 2022; Zhang *et al*, 2022; Lucas *et al*, 2008).

Após a biofragmentação, o microrganismo utiliza as moléculas fragmentadas do polímero como fonte de carbono, nitrogênio e hidrogênio ou para o funcionamento da cadeia transportadora de elétrons. Invariavelmente, ao utilizar as moléculas da biodegradação, o microrganismo irá crescer (Lucas *et al*, 2008). Essa assimilação pode ocorrer por meio de proteínas transmembrana ou porinas que permitem a entrada de moléculas específicas no interior da célula. Algumas moléculas são de difícil bioassimilação e, portanto, podem não ser assimiladas; entretanto, pode ocorrer biotransformação em alguns casos. Quando dentro das células, essas moléculas podem participar de respiração aeróbica, anaeróbica ou fermentação (Madigan *et al*, 2016; Lucas

et al, 2008). Aqui ocorre a produção de biomassa, composta por moléculas orgânicas e inorgânicas, das quais são formados minerais (Zhang *et al*, 2022; Madigan *et al*, 2016). São produzidos metabólitos compostos por elementos presentes em monômeros e oligômeros que são liberados durante o processo de biodegradação, como, por exemplo, a água (H₂O), dióxido de carbono (CO₂) e aldeídos. Nesse ciclo, ocorre a reciclagem de elementos como o carbono, cálcio, silício, nitrogênio e ferro (Shilpa *et al*, 2022; Zhang *et al*, 2022; Yang *et al*, 2015; Lucas *et al*, 2008), processo que faz parte dos ciclos biogeoquímicos da Terra (Madigan *et al*, 2016). Essa mineralização pode ocorrer com a produção de inclusões intracelulares ou extracelulares, podem ser formados completamente por algum tipo de mineral ou atuar como uma camada mais robusta em torno de alguma molécula orgânica para sua proteção o (Zhang *et al*, 2022; Yang *et al*, 2015).

7. Plásticos biodegradáveis

Bioplásticos são materiais poliméricos de origem renovável ou produzidos a partir de recursos biodegradáveis. Habitualmente são produzidos a partir de matéria orgânica e polímeros naturais, como carboidratos, gorduras e proteínas, e são descritos em três classes: (i) produzidos a partir da modificação de polímeros naturais, como amido; (ii) produtos da síntese de monômeros de base biológica, como sacolas à base de verduras e legumes; e (iii) produzidos a partir de lixo (Fredri e Dorigato, 2021; Ibrahim *et al*, 2021; Cinar *et al*, 2020; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020).

Atualmente, o bioplástico é eleito como uma das alternativas ao consumo do plástico comum, já que seu gerenciamento requer recursos mais simples do que os de origem fóssil, o que reduz o impacto ambiental da deposição e do acúmulo de plástico (Fredri e Dorigato, 2021; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020).

Apesar da perspectiva positiva com relação à produção de bioplástico, ele abrange apenas 0,6% da produção global de plásticos, de acordo com a Associação Europeia de Bioplásticos. Entre os bioplásticos mais produzidos estão o ácido polilático, o polihidroxialcanoato e plásticos feitos à base de amidos ou celulose (Fredri e Dorigato, 2021).

7.1 Ácido polilático (PLA)

O PLA é um dos bioplásticos mais conhecidos e utilizados atualmente. Foi descoberto em 1932 pela empresa Dupont; porém, sua produção só aumentou de forma significativa no início da década de 90 (Fredri e Dorigato, 2021). Esse bioplástico é produzido a partir da substância lactida, derivada do ácido láctico, podendo ser produzida a partir da fermentação de glicose de qualquer fonte natural de carboidrato, como verduras (Cunha *et al*, 2022; Fredri e Dorigato, 2021). Pode ser produzida em duas formas quirais, havendo similaridade entre suas funções; suas diferenças variam em tamanho, tempo de biodegradabilidade na natureza e características reológicas (Cunha *et al*, 2022; Fredri e Dorigato, 2021). Tem aplicação em diversas indústrias: é utilizada para a produção de utensílios descartáveis, para a produção de bioestimulador de colágeno para a área estética e para a produção têxtil (Fredri e Dorigato, 2021).

7.2 Polibutileno succinato (PBS)

PBS é um bioplástico de poliéster alifático produzido a partir da polimerização por condensação de ácido succínico e de 1,4-butanodiol (Oliveira, 2018). Faz parte da classe de polialquilenos alcanoato; apesar de poder ser produzido a partir de fontes renováveis, é comumente produzido a partir de fontes fósseis (Fredri e Dorigato, 2021). Quando produzido a partir de fontes limpas, é biocompatível e biodegradável e, portanto, pode ser aplicado no setor biomédico como carreador de fármacos e para a produção de fios de sutura (Fredri e Dorigato, 2021; Oliveira, 2018).

7.3 Álcool polivinílico (PVA OU PVOH)

Esse bioplástico é produzido a partir da hidrólise do plástico sintético acetato de polivinila com metilato de sódio anidro ou hidróxido de sódio aquoso (Fredri e Dorigato, 2021; Nagarkar e Patel, 2019). Esse material, além de biodegradável, é biocompatível, sendo aplicado em embalagens de alimentos e na produção de fibras (Fredri e Dorigato, 2021). Esse material é solúvel em água e insolúvel na maior parte dos solventes orgânicos (Nagarkar e Patel, 2019).

7.4 Policaprolactona (PCL)

Esse material é um poliéster alifático pertencente à classe de polihidroxicanoatos. Ele é produzido a partir da polimerização da caprolactona,

possuindo boas características reológicas, como alta flexibilidade (Fredri e Dorigato, 2021). Como esse bioplástico é biocompatível, possui grande aplicabilidade no setor biomédico (Fredri e Dorigato, 2021; Dwivedi *et al*, 2020).

7.5 Bio-based amido

Como o amido é o segundo carboidrato mais abundante presente na Terra, ficando atrás somente da celulose, é considerado um bom candidato como polímero natural para a produção de bioplásticos (Fredri e Dorigato, 2021). Pode ser obtido a partir de cereais, legumes e verduras, já que abrange de 60% a 90% de sua composição. Porém, muitos estudos descrevem algas e bactérias como boas biofábricas para sua produção (Cinar *et al*, 2020). Como sua taxa de biodegradabilidade é alta, é utilizado em setores que requerem materiais de uso único, sendo, portanto, rapidamente descartáveis consiste em uma boa estratégia para a diminuição do consumo de produtos, como sacolas plásticas, talheres e copos (Fredri e Dorigato, 2021; Cinar *et al*, 2020).

7.6 Bio-based celulose

Celulose é o carboidrato mais abundante na Terra. Além de ser encontrado em plantas, também pode ser produzido por bactérias (Fredri e Dorigato, 2021; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020).). Como é um polímero natural complexo, formado por hemiceluloses, lignina e pectina, sua manipulação requer etapas importantes, como a hidrólise, tornando seu custo um pouco mais alto para a produção de bioplásticos (Fredri e Dorigato, 2021; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020). Um dos bioplásticos mais conhecidos produzidos a partir de celulose é o papel celofane, um material resistente à umidade, muito aplicado em embalagens de presentes e alimentos (Venkatachalam e Palaniswamy, 2020).

8. Polihidroxialcanoato – o biopolímero do futuro

O PHA é uma inclusão alifática de armazenamento de energia produzida por bactérias. Essa inclusão é formada quando há excesso de fonte de carbono e ausência de nitrogênio, fósforo ou oxigênio, sendo produzida em alta disponibilidade de energia química (Fredri e Dorigato, 2021; Cardoso, 2017; Tan *et al*, 2014; Tan *et al*, 2014; Coutinho *et al*, 2004). Pode ser obtido a partir da polimerização de ácido hidroxidecanóico, que é produzido a partir da fermentação de carboidratos e gorduras

(Fredri e Dorigato, 2021). Apresenta características variáveis, de acordo com a espécie bacteriana, a fonte de carbono utilizada e as condições de cultivo, permitindo inúmeras combinações entre homopolímeros e copolímeros. São estruturas poliméricas com propriedades reológicas, mecânicas e físico-químicas similares às dos termoplásticos (Fredri e Dorigato, 2021; USP, 2018; Cardoso, 2017).

Esse polímero é biodegradável, produzindo apenas dióxido de carbono e água quando degradado em condições aeróbicas; e metano, quando em condição anaeróbia. A taxa de biodegradabilidade depende do nível de cristalinidade do polímero e de sua configuração; nesse caso, copolímeros têm maior taxa de biodegradabilidade do que homopolímeros. Desse modo, esse bioplástico apresenta alto valor biotecnológico como alternativa ao uso de polímeros sintéticos convencionais (Fredri e Dorigato, 2021; Cardoso, 2017; Coutinho *et al*, 2004).

Sua produção ainda requer alto investimento, pois o processo envolve muitas etapas, tornando sua aplicabilidade ainda limitada. Porém, esse material apresenta vantagens, como a utilização na produção de embalagens de produtos químicos, embalagens de alimentos, produtos médico-hospitalares e produtos agrícolas (Khamkong *et al*, 2022; Fredri e Dorigato, 2021; Cardoso, 2017; Coutinho *et al*, 2004).

Atualmente, os tipos de PHA mais conhecidos são o polihidroxibutirato (PHB) e o polihidroxivalerato (PHBV); entretanto, são inúmeros os tipos de PHA devido à variedade de monômeros que são utilizados para sua síntese (Fredri e Dorigato, 2021).

8.1 Vias metabólicas de produção de pha

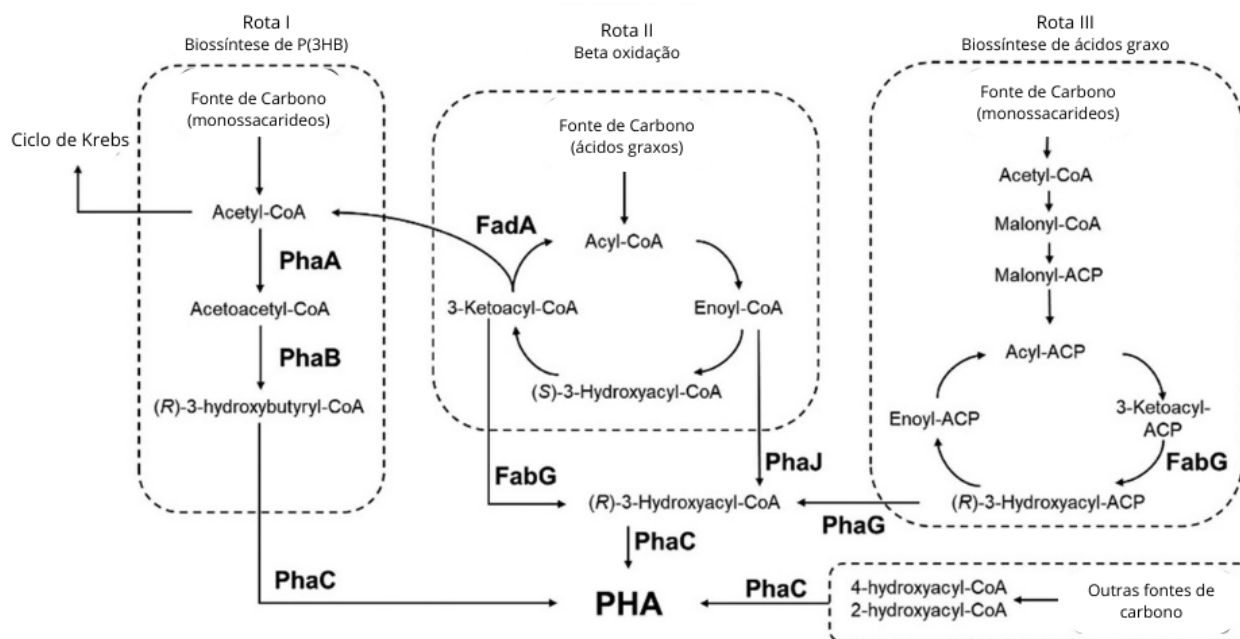
Diversos microrganismos produzem PHA naturalmente como reserva de energia, havendo uma grande variedade desse polímero (Venkatachalam e Palaniswamy, 2020). O tamanho da cadeia de PHA pode variar de 600 a 35 mil monômeros, sendo classificado de acordo com a quantidade de carbonos presentes em cada unidade de monômero. De 3 a 5 carbonos, enquadra-se como PHA de cadeia curta (*scl*-PHA); de 6 a 15 carbonos, enquadra-se como PHA de cadeia média (*mcl*-PHA); e atualmente também há a descrição da presença de mais de 15 carbonos, classificando-o como PHA de cadeia longa (*lcl*-PHA) (Choonut *et al*, 2021; Jaffur *et al*, 2021; Kumar *et al*, 2020; Tan *et al*, 2014; Grage *et al*, 2009).

Diversos genes e enzimas estão presentes na polimerização de PHA; entretanto, uma enzima muito descrita e presente em todos os microrganismos produtores é a PHA-

sintase (Kumar *et al*, 2020; Prieto *et al*, 2016; Grage *et al*, 2009). Entre os diversos estudos envolvendo a clonagem e análise de PHA-sintase em várias bactérias, três vias de síntese em bactérias são amplamente estudadas e descritas, como demonstrado na Figura 10. A primeira via metabólica e a mais conhecida é a de biossíntese de ácido 3-hidroxi butirato (3HB). Nessa rota, carboidratos são usados como fonte de carbono para a síntese. Aqui, o gene *phaA* codifica a 3-cetotiolase, uma enzima que atua condensando duas moléculas de acetil-CoA, formando uma de acetoacetil-CoA, que é reduzido a (R)-3-hidroxi butiril-CoA pela enzima acetoacetil-CoA redutase dependente de NADPH, codificada pelo gene *phaB*. Nessa etapa, a (R)-3-hidroxi butiril-CoA é polimerizada a PHA pela enzima PHA sintase, que é codificada pelo gene *phaC*. Essa rota é descrita por produzir *scl*-PHA (Kumar *et al*, 2020; Mitra *et al*, 2022; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020; Grage *et al*, 2009).

A segunda rota de produção de PHA é a partir dos produtos de degradação de ácidos graxos (β -oxidação). Aqui, o acil-CoA, resultante da ativação de ácidos graxos, é oxidado a enoil-CoA pela acil-CoA desidrogenase. Esse é convertido a (R)-3-hidroxi acil-CoA pela enoil-CoA hidratase, uma enzima codificada pelo gene *PhaJ*, sendo posteriormente convertido a PHA pela PHA sintase. Porém, caso o acil-CoA seja catalisado pela 3-cetotiolase, ele pode ser encaminhado para a rota clássica ou convertido a (R)-3-hidroxi acil-CoA pela enzima PhaG (3-hidroxi decanoil-ACP-CoA transacilase) ou pela β -cetoacil-ACP redutase, que é codificado pelo FabG (o qual atua similarmente ao gene *phaB*). Geralmente essa rota produz polímeros *mcl*-PHA (Kumar *et al*, 2020; Mitra *et al*, 2022; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020; Zhang *et al*, 2017; Grage *et al*, 2009).

A outra via é a partir dos produtos da rota de biossíntese de ácidos graxos, que são convertidos a acetil-CoA, sendo posteriormente convertidos a malonil-CoA por intermédio da enzima acetil-CoA carboxilase. Logo após, o grupo CoA é convertido a ACP pela enzima malonil-CoA-ACP transferase. Em seguida, o malonil-ACP se converte a acetil-ACP e, em seguida, é convertido a cetoacil-ACP. O cetoacil é então reduzido pela β -cetoacil-ACP redutase, codificado pelo FabG, a (R)-hidroxi acil-ACP, que será catalisado pela enzima PhaG a (R)-3-hidroxi acil-CoA e então sintetizado a PHA pela PHA sintase (Kumar *et al*, 2020; Mitra *et al*, 2022; Venkatachalam e Palaniswamy, 2020; Zhang *et al*, 2017; Grage *et al*, 2009).



Fonte: Modificado de *Efficient (R)-3-hydroxybutyrate production using acetyl CoA-regenerating pathway catalyzed by coenzyme A transferase*.

Figura 10. Desenho esquemático das três vias metabólicas de produção de polihidroxialcanoato. A primeira via ocorre a biossíntese diretamente de fontes de carbono simples; a segunda via utiliza metabólitos de degradação da via de β -oxidação para a produção de PHA.

9. Justificativa

Desde a crescente produção em escala industrial do plástico, seu descarte inadequado e a baixa taxa de reciclagem levaram ao seu acúmulo no meio ambiente. Embora esse material desempenhe papel fundamental em diversas indústrias, notadamente sua contaminação gerou consequências a ecossistemas aquáticos e terrestres, induzindo possíveis danos a animais, incluindo os seres humanos. Estudos também demonstram que a presença de microplásticos pode intensificar o processo de efeito estufa (Govind & K, 2023; Plastics Europe, 2023; Liao *et al*, 2021; Magalhães *et al*, 2020; Sana *et al*, 2020; Kim & An, 2020).

Hoje, um dos maiores desafios é a redução da deposição de resíduos plásticos e a restauração dos ecossistemas já atingidos, trazendo soluções para a mitigação desse impacto. O desenvolvimento de biopolímeros que apresentem a mesma aplicabilidade de polímeros sintéticos consiste em um movimento importante no cenário de sustentabilidade. Nesse sentido, estratégias que visem convergir a degradação de polímeros e sua substituição por opções mais sustentáveis em um único processo

apresentam grande potencial sob as perspectivas biotecnológica, socioeconômica e socioambiental.

Sendo a utilização de microrganismos uma peça central nesse novo cenário, compreender bem os mecanismos de biodegradação e realizar uma adaptação industrial de bactérias para a produção de PHA utilizando plásticos petroquímicos como fonte de carbono poderá explorar a possibilidade de maior taxa de reciclagem, fortalecer a economia circular, reduzir a utilização de plásticos de uso único e fomentar o mercado de materiais biodegradáveis, oferecendo, assim, uma solução sustentável e concreta para a mitigação de plástico na Terra.

10. Objetivos Gerais

O presente trabalho tem por finalidade analisar o polihidroxialcanoato produzido por *Comamonas brasiliensis*, bactéria capaz de biodegradar plásticos de origem petroquímica, utilizando-os como provável fonte de carbono. Para este estudo, foi produzido PHA a partir do consumo de glicose e plástico pela bactéria. O PHA foi então extraído, purificado e caracterizado por análise química e mecânica.

11. Objetivos específicos

- Avaliar a aderência, a formação de biofilme e os danos à superfície nos plásticos por meio de microscopia de varredura, causados pela *Comamonas brasiliensis*.
- Avaliar a viabilidade celular da *Comamonas brasiliensis* aderida ao plástico utilizando microscopia de fluorescência.
- Analisar qualitativamente a presença intracelular de polihidroxialcanoato em *Comamonas brasiliensis* por microscopia de fluorescência.
- Caracterizar o perfil químico do polihidroxialcanoato produzido pela *Comamonas brasiliensis* e controle positivo por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).
- Caracterizar o perfil químico dos plásticos após a biodegradação provocada pelo consumo bacteriano por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (FT-IR ATR) e por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

- Identificar a temperatura de fusão, transição vítrea, estabilidade térmica e estabilidade oxidativa do polihidroxicanoato produzido pela *Comamonas brasiliensis brasiliensis* e controle positivo por calorimetria exploratória diferencial (DSC).
- Identificar a variação de massa em relação ao tempo em função da temperatura dos plásticos após a biodegradação por termogravimetria derivada (DTG).

12. Materiais e métodos

12.1 Fontes de carbono

Nos cultivos foram utilizados cinco tipos de filmes de plástico. São eles: polietileno de alta densidade (PEAD) (191.000 g/mol; 0,92 g.cm⁻³) (Ipethene®111, Carmel Olefinas, Haifa, Israel), sem aditivos e sem pigmentos; polietileno de baixa densidade de uso comercial (PEBD); polietileno biodegradável com aditivo Ecolife (PEBD Ecolife); poliestireno expandido (PS expandido) (ultraterm); e polipropileno (PP) biodegradável com aditivo (Copobrás). Também foram utilizados glicose a 1,5% como controle de consumo de fonte de carbono e óleo mineral a 1% para estudo de respiração celular.

12.2 Bactéria e controles

A bactéria estudada é a linhagem de *Comamonas brasiliensis*. sp. PE 63, já validada como biodegradadora de plástico polietileno e identificada como nova espécie *Comamonas brasiliensis brasiliensis* nov. (Frederico *et al*, 2025; Peixoto, 2013).

As bactérias *Pseudomonas putida* cepa KT2440 e *Ralstonia eutropha* cepa DSM545, utilizadas como controle positivo para a produção de PHA, foram gentilmente cedidas pelo Professor José Gregório do Laboratório de Bioprodutos da Universidade de São Paulo - USP.". Como controle negativo para a produção de PHA, foi utilizada a *Escherichia coli*. Para análise de PHA, foi utilizado o padrão laboratorial PHA Goodfellow®.

12.3 Vidraria e plásticos para cultura

Os polímeros foram cortados em fragmentos de 1 cm² e imersos em solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 2% por 4 h, enxaguados com água milliQ® e imersos em álcool a 70% por 1 h (Peixoto, 2013). Após o processo de desinfecção, os fragmentos secam em placa de Petri estéril em temperatura ambiente.

As vidrarias utilizadas foram lavadas com solução de SDS a 5%, enxaguadas com água milliQ® e imersas em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 M por 2 h. Após a remoção da solução, as vidrarias foram enxaguadas com água milliQ® e autoclavadas a 121 °C por 15 minutos (Peixoto, 2013).

As soluções de SDS e NaOH são utilizadas para remover resíduos orgânicos, desnaturar proteínas, romper membrana celular e remover lipídeos dos filmes e vidrarias, assegurando a ausência de fontes de carbono, com exceção dos filmes de plástico.

12.4 Meio de cultivo e cultura

As bactérias foram semeadas em NB (*Nutrient Broth*) ágar a 1,5% e posteriormente cultivadas em NB para o preparo de 30 mL de pré-inóculo em tubos falcon de 50 mL, incubadas a 30 °C (± 2 °C) a 150 RPM. Para o cultivo no meio mínimo com os fragmentos de plástico e glicose, o pré-inóculo foi centrifugado a 5000 x g por 10 min, desprezando o sobrenadante e ressuspensando o *pellet* em volume de 30 mL de solução salina (NaCl a 0,9%), centrifugando novamente a 5000 x g por 10 min. Essa etapa foi executada duas vezes para remover todo o resíduo de meio nutriente e solução salina. Por fim, o *pellet* foi ressuspensado em 10 mL de meio mínimo para posterior inóculo de 1 mL de cultivo em 249 mL de meio mínimo mineral em Erlenmeyer de 500 mL.

A *Comamonas brasiliensis* sp. foi inoculada em meio mínimo contendo um fragmento de cada tipo de plástico e em meio com glicose a 1,5%. Os cultivos em meio mínimo foram incubados e analisados em 96 h, 7 dias e 15 dias. Todos os cultivos foram feitos em triplicata. O controle negativo foi *E. coli* com meio mínimo com glicose a 1,5%; os controles positivos foram *Pseudomonas putida* cepa KT2440 e *Ralstonia eutropha* cepa DSM545, cultivados com glicose. O controle negativo foi meio mínimo com plásticos sem adição de microrganismo. Os cultivos cresceram nos parâmetros de temperatura e rotação de 30 °C (± 2 °C) a 150 RPM. Com exceção do meio mínimo com glicose e solução de elementos traço, que foram filtrados em membrana de 0,22 µM, todos os meios foram autoclavados a 121 °C por 15 minutos.

Tabela 4. Composição do meio mínimo mineral. (Fonte: *The Utilization of Carbon Compounds by Some Actinomycetales as an Aid for Species Determination*).

Composição	Concentração por L
Sulfato de Amônia	2,64g
Fosfato Monopotássico	2,38g
Fosfato Dipotássico	5,65g
Sulfato de Magnésio	1g
Soluções Traço	
Sulfato de Cobre	0,00644g
Sulfato de Ferro III	0,0011g
Cloreto de Manganês	0,0079g
Sulfato de Zinco	0,0015g

12.5 Extração Do Polihidroxialcanoato

Os cultivos foram centrifugados a 5000 x g por 10 min para remover o sobrenadante com resíduos de meio de cultivo e o *pellet* foi congelado a -80 °C por 24 h para posterior liofilização e armazenamento a -20 °C. O *pellet* seco foi ressuscitado com 10 mL de hipoclorito de sódio (NaClO) a 5% e incubado por 1 h 30 min a 37 °C em banho-maria. Após a incubação, foi adicionado o volume de 1:1 de clorofórmio (CHCl₃) à solução e homogeneizado em agitador do tipo vórtex por 1 minuto. Os tubos foram centrifugados a 12000 RPM por 10 min, formando três fases: *debris* não-PHA e células não-lisadas na primeira fase com NaClO; uma fase intermediária aquosa; e a última fase com polihidroxialcanoato solubilizado em CHCl₃. A primeira e a segunda fase foram removidas com auxílio de pipeta, deixando somente a fase com solvente e PHA, que foi precipitado com metanol (CH₃OH) gelado em quantidade 2:1 de volume de clorofórmio. O CH₃OH foi adicionado lentamente no solvente. A solução foi colocada em placa de Petri de vidro e deixada para evaporar *overnight* em capela de exaustão.

12.6 Curva de eficiência de biodegradação com o teste 2,6-Diclorofenol-indofenol (2,6-DCPIP)

Essa técnica é utilizada como um indicador de biodegradação. O DCPIP (2,6-diclorofenol indofenol), um indicador redox, atua como um receptor de elétron, revelando

a oxidação de NADH para NAD⁺ (Peixoto *et al*, 2018; Kubota *et al*, 2008). Em ensaios utilizando microrganismos e fontes de carbono, o DCPIP ganha o NAD⁺ após o processo de oxidação, permanecendo na cor azul; já em processo de redução, fica incolor. O teste foi feito em microplaca estéril de 96 poços em duplicata, coletando amostras nos tempos de 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h e 168 h. O cultivo foi realizado em meio mineral (Tabela 4) com glicose, óleo mineral, PEBD Ecolife, PEAD, PS expandido, PP biodegradável e apenas com meio como controle negativo. Foi adicionado 1 g/L de DCPIP por tubo falcon de 50 mL, sendo coletados 500 µL para leitura de absorbância a 600 nm em espectrofotômetro SpectraMax® M3 com *software* SoftMax Pro 6.0. O ensaio quantitativo foi feito com a leitura de absorbância convertida a mg utilizando uma curva padrão (R^2 : 0,9427) (Figura 11) com os padrões: 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL e 50 mg/mL, de acordo com a equação: $[DCPIP] = (Abs.600 + 0,0625) / 0,0415$.

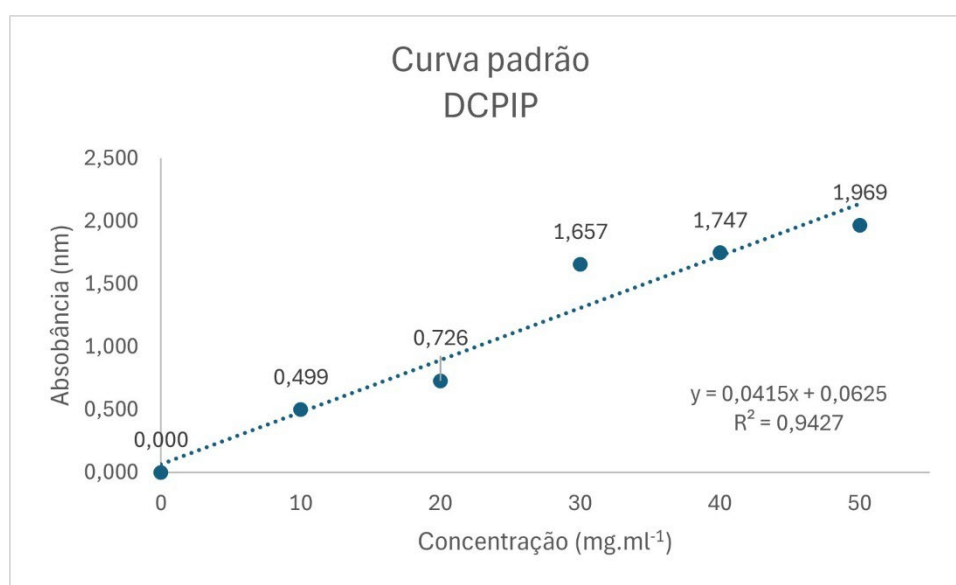


Figura 11. Curva padrão DCPIP para indicar consumo de hidrocarbonetos

12.7 Microscopia eletrônica de VARREDURA (MEV)

O MEV é uma técnica de microscopia que permite a visualização em plano tridimensional, revelando, assim, a morfologia das amostras. Esse equipamento utiliza feixe de elétrons para ter alta capacidade de resolução, sendo capaz de aumentar a imagem em até 300.000 vezes em alguns equipamentos (Bedavid *et al*, 2007). Dessa forma, o MEV foi empregado para a visualização de fragmentos de plástico com formação de

biofilme e danos causados à superfície do filme devido ao consumo bacteriano. Como controle, foram utilizados plásticos limpos e sem bactérias aderidas.

Os fragmentos plásticos de controle e com *Comamonas brasiliensis brasiliensis* aderidas foram removidos do meio de cultura e adicionados ao tampão fosfato salino (PBS) descrito na Tabela 11 para remoção de resíduos de meio. Em seguida, os plásticos foram incubados *overnight* em fixador de Karnovsky, descrito na Tabela 9, para estabilizar e preservar as estruturas celulares, sendo lavados três vezes após a incubação com tampão CaCO₃ (Cacodilato de Sódio) 0,1 M, descrito na Tabela 10. Após a remoção do fixador, as bactérias foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio (OsO₄) por 30 min para preservar e contrastar a membrana plasmática, atuando nos ácidos graxos dos fosfolípidios, formando óxidos de ósmio. Posteriormente, os fragmentos passaram pela etapa de desidratação com etanol (C_nH_{2n+1}OH), para que a água seja removida de dentro das células. Os plásticos foram incubados por 10 min em concentrações de 15%, 30%, 50%, 70%, 90% e 100% de álcool. Logo após, as amostras foram submetidas à secagem por ponto crítico em CO₂ líquido, utilizando o equipamento *Critical Point Drying* - CPD 030, Balzers. Após essa etapa, as amostras foram aderidas a *stubs* para serem metalizadas a vácuo com ouro de 20 µM com o equipamento Leica EM SCD500. As amostras foram visualizadas em Microscópio Eletrônico de Varredura da marca Jeol JSM-7000F (JEOL Ltd., Tóquio, Japão), vácuo E-4 Pa, alto contraste, variável unidimensional de posição (Z) operando com um feixe de elétrons de 15 keV.

Tabela 5. Composição do fixador de Karnovsky

Composição	Concentração por L
Glutaraldeído	2%
Formaldeído	2%
Sacarose	3%
Cloreto de Cálcio	0,005M
Cacodilato de Sódio	0,1M

Tabela 6. Composição do Tampão Cacodilato de Sódio 0,1 M

Composição	Concentração por L
Cacodilato de Sódio	21,4g

Tabela 7. Composição do Tampão Fosfato Salino

Composição	Concentração por L
Cloreto de sódio	9g
Cloreto de potássio	0,2g
Fosfato dissódico	1,44
Fosfato monopotássico	0,245g

12.8 Espectroscopia no infravermelho por transformada de fourier com reflectância total atenuada (FT-IR ATR)

Na análise de FT-IR ATR, ondas de comprimento infravermelho são emitidas, atravessando as amostras, as quais absorvem a energia correspondente à sua frequência vibracional natural, excitando suas moléculas, ampliando seus movimentos vibracionais naturais de estiramento ou desdobramento das ligações, permitindo sua identificação estrutural química. Isso porque cada molécula tem a capacidade de absorver radiação eletromagnética em frequências únicas, devido à presença de ligações covalentes, as quais são capazes de absorver essa radiação. Nem todas as moléculas que possuem esse tipo de ligação química são capazes de absorver a energia de mesma vibração, devido à necessidade de um momento dipolar que permita que a energia vibracional emitida seja a mesma de saída, ou seja, apenas moléculas polares são identificadas (Pavia *et al*, 2015).

Apesar de o IV ser lido na faixa de μM , transformamos a medida, de acordo com a Equação 1, e expressamos o sinal dos compostos com números de onda (cm^{-1}) para facilitar a leitura no espectro. Já que o número de onda é diretamente proporcional à energia, indicando, assim, a quantidade de energia que foi absorvida e o nível de excitação da molécula. (Pavia *et al*, 2015).

O espectro infravermelho exibido pelo equipamento mostra um gráfico com picos de transmitância no eixo Y por comprimento de onda e frequência no eixo X. Esses picos também são avaliados em intensidade e formato, podendo indicar diferenças entre funções orgânicas que podem se sobrepor em pico de absorbância, como é o caso de C=O e C=C (Pavia *et al*, 2015). Esse equipamento é capaz de realizar uma leitura minuciosa de amostras químicas, caracterizando *fingerprints* que atuam como a identidade do composto.

Para a análise dos filmes de plástico, os analitos foram desinfetados com SDS a 2% e álcool a 70%. As análises foram feitas com cristal de seleneto de zinco (ZnSe), usando comprimentos de onda de infravermelho médio entre 400 e 4.000 cm^{-1} por transmitância (%) com resolução de 4 cm^{-1} e 32 *scans* em equipamento espectrômetro FT-IR Varian 640. Os plásticos que foram empregados como fonte de carbono foram comparados com plásticos-controle para identificação de alteração em seu perfil químico.

Para a análise do PHA, foi utilizada a amostra extraída da *Comamonas brasiliensis* brasiliensis, como descrito no tópico 12.3, e controle de PHA (Goodfellow®) a 1% em pastilha de brometo de potássio (KBr). Para a preparação da pastilha, o sal e a amostra foram macerados até a obtenção de pó fino, homogêneo e seco, e colocados em pastilhador e prensados até a formação de um disco fino e translúcido. As amostras tiveram seus espectros comparados aos dos controles para identificação de similaridades. Para a realização do *background* do aparelho, uma pastilha de KBr puro foi preparada e lida.

Para a análise de biodegradação dos plásticos, alguns fragmentos sem acréscimo de bactéria foram limpos e submetidos a dez leituras de ambos os lados para identificação de foco de degradação. Após plotagem e tratamento dos espectros, os picos principais do polímero-controle foram selecionados, e todos os picos nos fragmentos biodegradados foram analisados. Os resultados foram representados em gráficos elaborados a partir do *software* Origin 9 Pro®.

Equação 1. *Equação de transformação de escala*

$$\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1}) = \frac{1}{\lambda_{\text{cm}}}$$

12.9 *Live and dead bacLight*™ kit de viabilidade celular

Trata-se de análise de viabilidade celular, em que dois corantes fluorescentes excitam e emitem sinais em comprimento de onda distintos, permitindo a identificação de células vivas e mortas. O kit é composto pelo corante verde fluorescente SYTO™ 9 e pelo corante vermelho fluorescente iodeto de propídio; ambos possuem afinidade por ácidos nucleicos; entretanto, o iodeto de propídio cora apenas bactérias que tenham danos em suas membranas, sobrepondo-se ao SYTO™ 9. Sendo assim, células vivas emitirão a cor verde, enquanto as células mortas emitirão vermelho.

O corante SYTO™ 9 excita e emite a fluorescência numa frequência de 480/500 nm, enquanto o iodeto de propídio excita e emite em 490/635 nm, e as imagens de fundo permanecem com pouca ou nenhuma fluorescência.

Para o preparo das amostras, ambos os corantes foram misturados em proporção de 1:1; o plástico foi removido da cultura e corado com 300 µM de solução. Para a visualização da viabilidade celular, foi utilizado o microscópio de Fluorescência Zeiss Axio Observer A1 com câmera AxioCam MRc. As imagens foram capturadas e mescladas pelo *software* ZEN – Zeiss e tratadas pelo *software* Image J.

12.10 Microscopia de fluorescência utilizando *nile red* para visualização de grânulos de pha

Nile Red (Sigma®) é um fluoróforo lipofílico que cora lipídeos polares e neutros, emitindo colorações entre o espectro vermelho e o amarelo. Esse corante excita e emite a fluorescência numa frequência de 550/650 nm a 450/600 nm, respectivamente. É utilizado para corar membranas ou inclusões celulares, devendo ser solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO), etanol ou acetona para facilitar a penetração na célula. Sendo assim, a célula apresentará uma coloração avermelhada opaca, enquanto a inclusão apresentará uma cor alaranjada ou amarelada fluorescente (Zuriani *et al*, 2013; Spiekermann *et al*, 1999).

Para a análise da presença de PHA, 2 mg de corante foram solubilizados em 1 mL de acetona para solução estoque; enquanto para a coloração, 60 µL da solução estoque foram solubilizados em 2 mL de acetona. Para a visualização, 1 mL do cultivo foi transferido para um tubo de 2 mL e centrifugado a 12000 RPM por 5 min. O sobrenadante foi descartado e 10 µL de pellet foram colocados em lâmina com 10 µL de *Nile Red*, aguardando 10 min para visualização. Já o fragmento de plástico foi removido da cultura e, posteriormente, seguiu os mesmos passos da coloração do *pellet*. A análise foi realizada em microscópio de fluorescência Zeiss Axio Observer A1 com câmera AxioCam MRc. As imagens foram capturadas pelo *software* ZEN – Zeiss e tratadas pelo *software* Image J.

12.11 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia por RMN, diferentemente do FT-IR, analisa átomos. No FT-IR obtêm-se os sinais de grupos funcionais, enquanto no RMN obtêm-se os sinais de

elementos abundantes em moléculas, como o hidrogênio (H) e o carbono (C). Nessa análise, é possível distinguir o tipo de átomo e, quando combinado, pode-se determinar a fórmula da estrutura química. O espectro é exibido em gráfico, mostrando a intensidade do sinal no eixo y e a função da frequência no eixo x (Pavia *et al*, 2015).

Para essa análise, 10 mg de plástico-controle e 10 mg de plástico após biodegradação foram colocados em tubos para análise em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (Bruker) operando em campo magnético de 14 T, a 600 MHz, analisando ^{13}C . Os resultados foram representados em gráficos elaborados a partir do *software* MestreNova®.

Tabela 8. Parâmetros de ^{13}C RMN

Núcleo	Abundância Natural (%)	Frequência de RMN (MHz)	Pulso $\pi 2$ (μs)
^{13}C	1,108	100,52	4,3

12.12 Análise Termogravimétrica (TG)

Na termogravimetria, a massa da amostra é acompanhada em relação ao tempo e à temperatura. A análise ocorre em uma balança de alta precisão que avalia as variações de massa em função da temperatura, conectada a um forno programável e supervisionado por um *software* de computador. Para a avaliação da estabilidade térmica dos plásticos-controle e dos plásticos biodegradados, foi utilizado o equipamento da Shimadzu, modelo Tg-60H. As amostras foram pesadas em cadinhos de platina, contendo aproximadamente 8,0 mg de amostra. As análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio, com vazão de 30 mL/min, com aquecimento de 25 °C a 800 °C e taxa de aquecimento de 10 °C·min⁻¹. Os resultados foram representados em gráficos elaborados a partir do *software* Origin 9 Pro®.

12.13 Calorimetria Diferencial De Varredura (DSC)

O DSC é uma técnica utilizada para análise de transição térmica. Atua monitorando a variação do calor durante o processo de aquecimento da amostra a uma taxa constante, medindo a diferença de calor entre a amostra e o controle, mostrando as temperaturas de transição (Tg) e de fusão cristalina (Tm), revelando modificações físicas e químicas.

As temperaturas de transição dos PHA's foram determinadas pelo calorímetro Shimadzu DSC-60, em atmosfera de hélio com vazão de 30 mL/min. Foram utilizadas placas de alumínio com 7 mg de amostra, e taxas de aquecimento constantes de 10 °C/min com duas rampas de aquecimento de -10 °C a 250 °C. Os dados obtidos a partir da primeira rampa de aquecimento foram utilizados para determinar a temperatura de transição vítrea. Os resultados foram representados em gráficos elaborados a partir do *software* Origin 9 Pro®.

13. Resultados E Discussão

13.1 Análise De Biodegradação Dos Polímeros

13.1.1 Curva De Eficiência De Biodegradação Com O Teste 2,6-Diclorofenol-indofenol (2,6-DCPIP)

O teste de biodegradação de hidrocarboneto, avalia de forma sensível a oxirredução dos plásticos quando utilizado como fonte de carbono pela *Comamonas brasiliensis* sp PE 63, demonstrando variações de concentração do DCPIP que indica atividade metabólica da bactéria. Para esse teste, a glicose e o óleo mineral foram utilizados como controle positivo e meio com DCPIP sem bactéria como controle negativo (Kubota *et al*, 2008).

A curva do controle negativo não apresentou variação até 120ª hora, momento o qual aumentou a concentração do marcador no meio, podendo indicar que houve um processo de oxidação, já que o processo de mudança de cor do DCPIP é reversível.

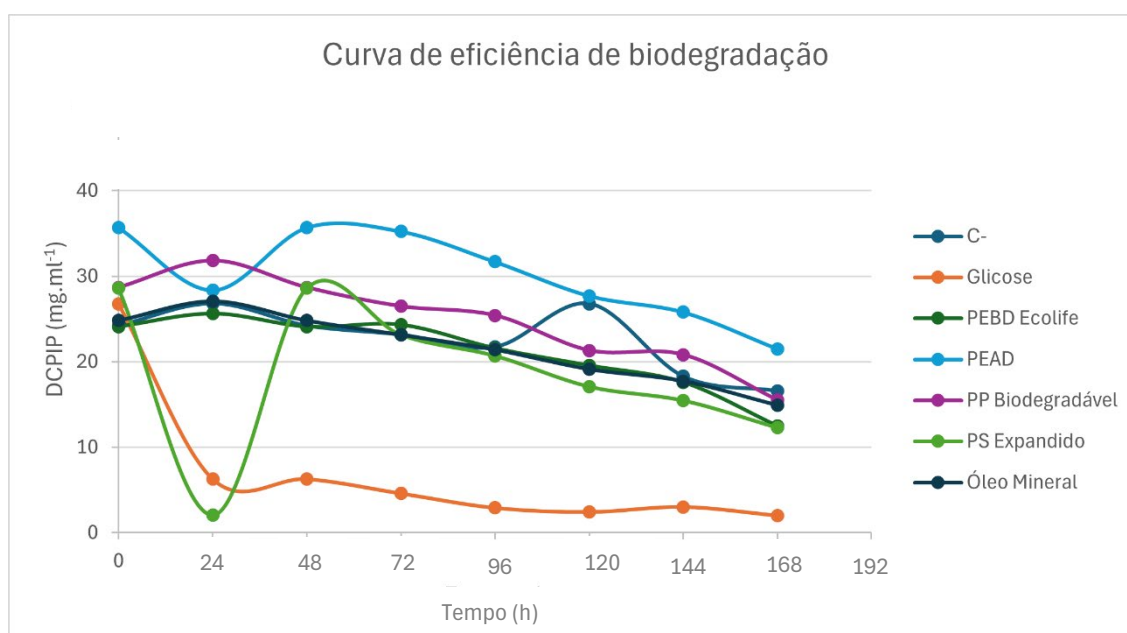
Nas primeiras 24h observa-se uma queda brusca na concentração do marcador no meio com glicose como controle positivo, sendo o resultado com glicose esperado, já que é um carboidrato de simples assimilação. Enquanto o óleo mineral, apresentou uma queda modesta na concentração do DCPIP na 48ª hora e manteve um padrão comedido de diminuição de concentração até a 168ª hora.

Já o meio com PS expandido, reconhecido como um material utilizado como fonte de carbono por alguns micro-organismos e insetos, era esperado uma maior concentração de DCPIP durante as primeiras 24h para adaptação da *Comamonas brasiliensis* sp PE 63 ao meio, entretanto, apresentou um parâmetro incomum ao manifestar uma queda importante na concentração do marcador no primeiro dia (Zhang *et al*, 2022). Levando em consideração que o PS apresenta fonte de carbono de difícil assimilação, essa mudança pode ter ocorrido devido a ação de agentes redutores no meio

de cultura. Logo após essa queda da concentração do DCPIP no meio com o PS expandido, observa-se uma mudança na curva, apresentando aumento significativo, podendo indicar a presença de um agente oxidante como oxigênio difundido no meio.

As curvas de PEBD *Ecolife*, PP biodegradável, demonstraram um padrão modesto de alteração nas primeiras 72h, entretanto, a curva indicou processo metabólico contínuo de redução nas horas seguintes, evidenciando o processo de biodegradação. O PEAD demonstrou na coleta do primeiro ponto, uma variação em concentração inicial diferente das outras amostras, indicando imprecisão da solução, no entanto, a partir da 72ª hora apresentou padrão de diminuição de concentração do marcador DCPIP similar ao dos outros plásticos.

Figura 12. Curva de eficiência de biodegradação dos plásticos pela *Comamonas* sp PE 63.



13.1.2 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)

As micrografias dos plásticos obtidas por MEV permitiram a análise qualitativa da superfície polimérica através da comparação de e sua morfologia antes e após a cultura com a bactéria *Comamonas brasiliensis brasiliensis*. Foram realizadas micrografias dos plásticos controle, sem a presença de bactéria, e plástico em meio com bactéria. As imagens seguiram o padrão realizado por Sivan *et al*, 2006 e Bonhomme *et al*, 2003, com imagens nos aumentos de 100x, 500x, 1500x e 5000x quando possível.

Os resultados obtidos para os plásticos controles, exibem superfícies sem presença celular. Percebe-se a extensão regular da superfície dos plásticos de PEBD, PE e PP nas figuras 10, 11 e 13 respectivamente, com a presença de algumas rugosidades inerentes ao processo de manufatura do material como pequenas ranhuras, e debris de meio de cultura com alguns poucos fragmentos não identificados. Já no controle do plástico PEBD com adição de aditivo biodegradável, observa-se uma estrutura com algumas regiões irregulares como formação de bolsões que se destacam em cor cinza claro, além da presença de alguns debris com morfologia de cristal, provavelmente de meio de cultura. Por último, pode-se ver o controle do PS expandido, que apresenta uma estrutura formada por uma matriz indicando a passagem de ar, deixando cicatrizes circulares que se sobrepõe na constituição do material. Nas áreas lisas, a superfície é regular, sem a presença de ranhuras ou células.

Quando comparados aos dados dos plásticos controle, onde foi observada uma superfície sem partículas celulares, o material acrescido de *Comamonas brasiliensis brasiliensis* evidencia a colonização bacteriana dos plásticos e formação de biofilme, indicando estágios mais maduros de adesão após 15 dias de cultivo como nas figuras 10, 11, 12 e 13 nas quais verificam-se matrizes poliméricas com distribuição ainda heterogênea, porém, com regiões de alta densidade celular. A formação heterogênea do biofilme possivelmente ocorre devido ao tipo de superfície do plástico, e à sua composição química, dificultando o consumo bacteriano de carbono. A morfologia celular sugere a presença de bactérias em diversos estágios de crescimento, e ausência de outras espécies.

A micrografia é eficiente para demonstrar a formação de biofilme nos plásticos e indicar consumo de carbono por parte das bactérias, afirmação essa com base na literatura, o qual reporta que micro-organismos crescem e progridem em ambientes que favorecem a organização físico-química do biofilme (Sauer *et al*, 2022; Renner e Weibel, 2011; Stoodley *et al*, 1999). O biofilme é composto pela junção de material extracelular produzido por micro-organismos, assim como também envolve a presença de água e de ácidos nucleicos de bactérias mortas (Toyofuku *et al*, 2016). Essa matriz permite a passagem de nutrientes que fortalecem a população e viabiliza seu crescimento.

Figura 13. Micrografias de controle de filme de PEAD sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PE com crescimento e formação de biofilme bacteriano nas imagens e, f, g e h

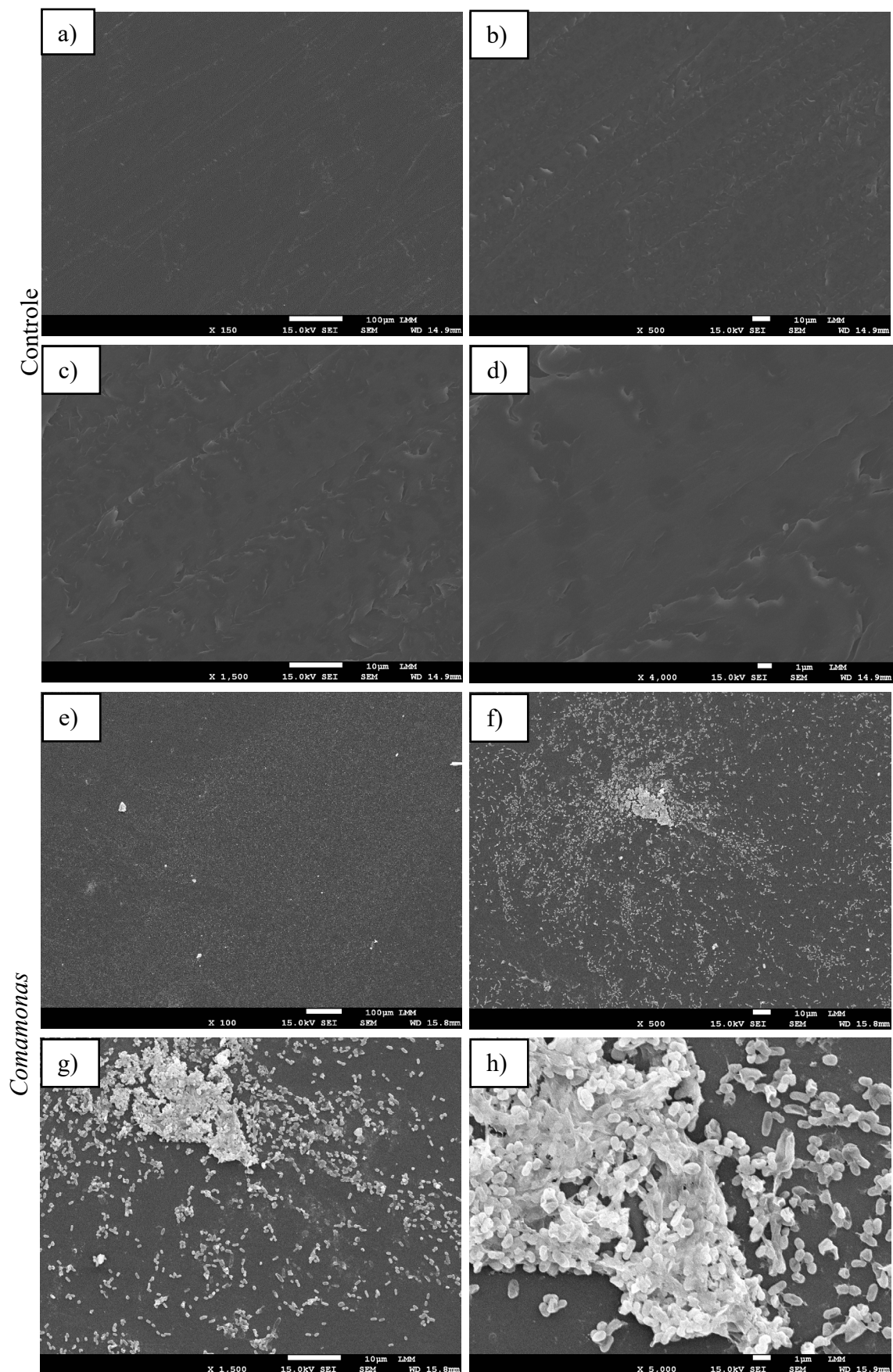


Figura 14. Micrografias de controle de filme de PEBD Biodegradável (Ecolife) sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PEBD com crescimento e formação de biofilme bacteriano nas imagens e, f, g e h

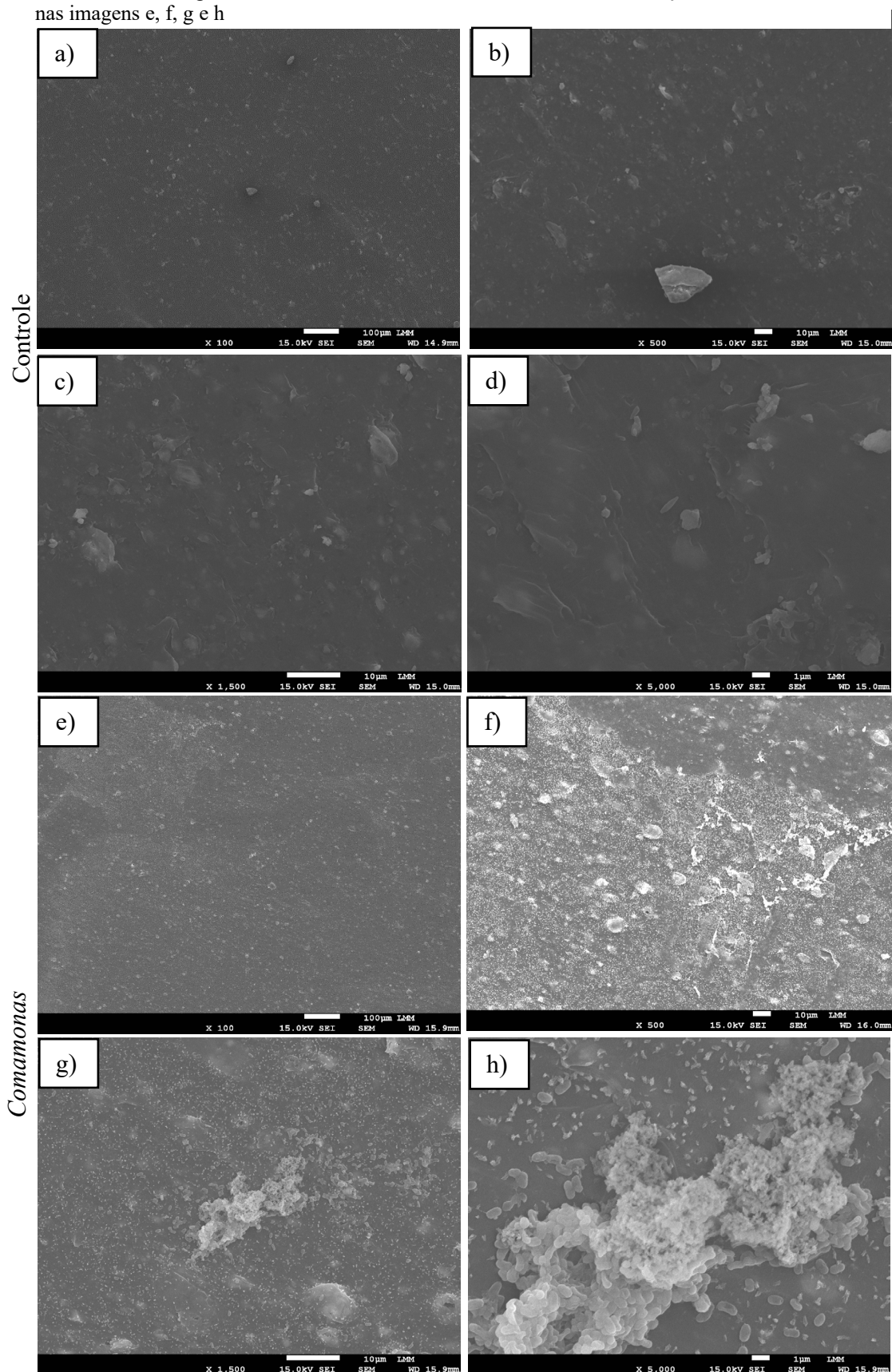


Figura 15. Micrografias de controle de filme de PP Biodegradável sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PP com crescimento e formação de biofilme bacteriano nas imagens e, f, g e h

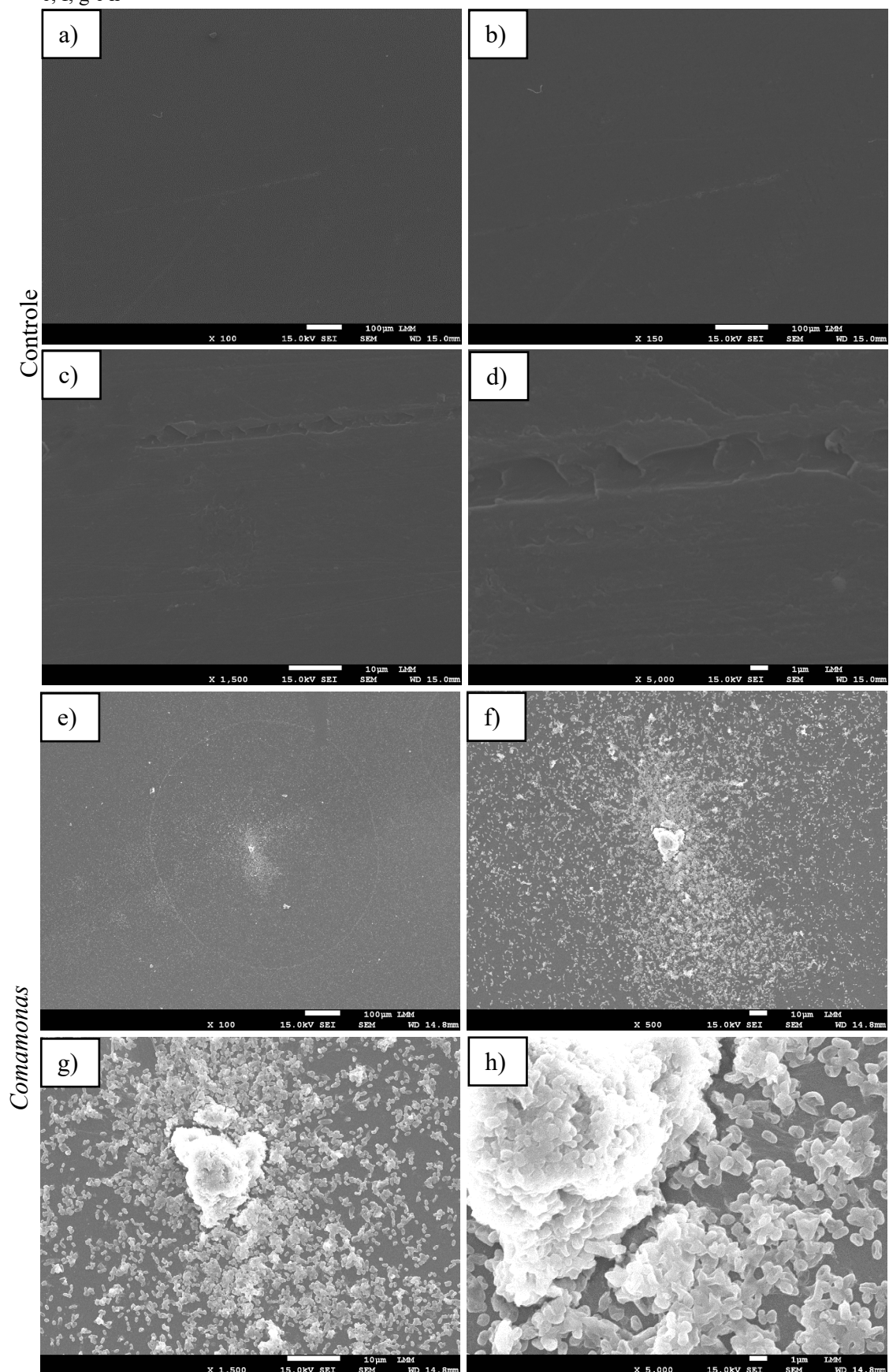


Figura 16. Micrografias de controle de PS expandido sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, PS com crescimento bacteriano nas imagens e, f, g e h

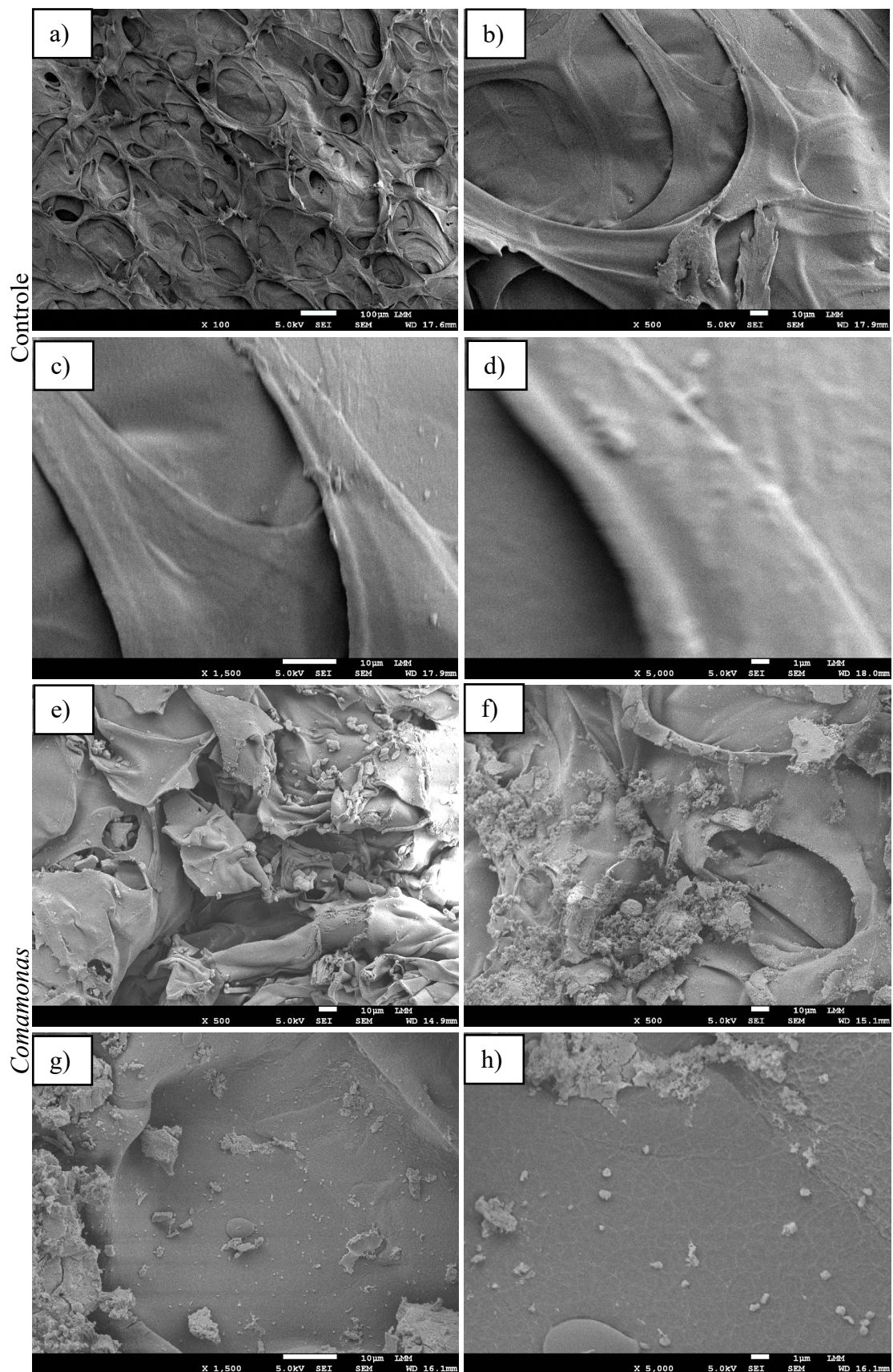
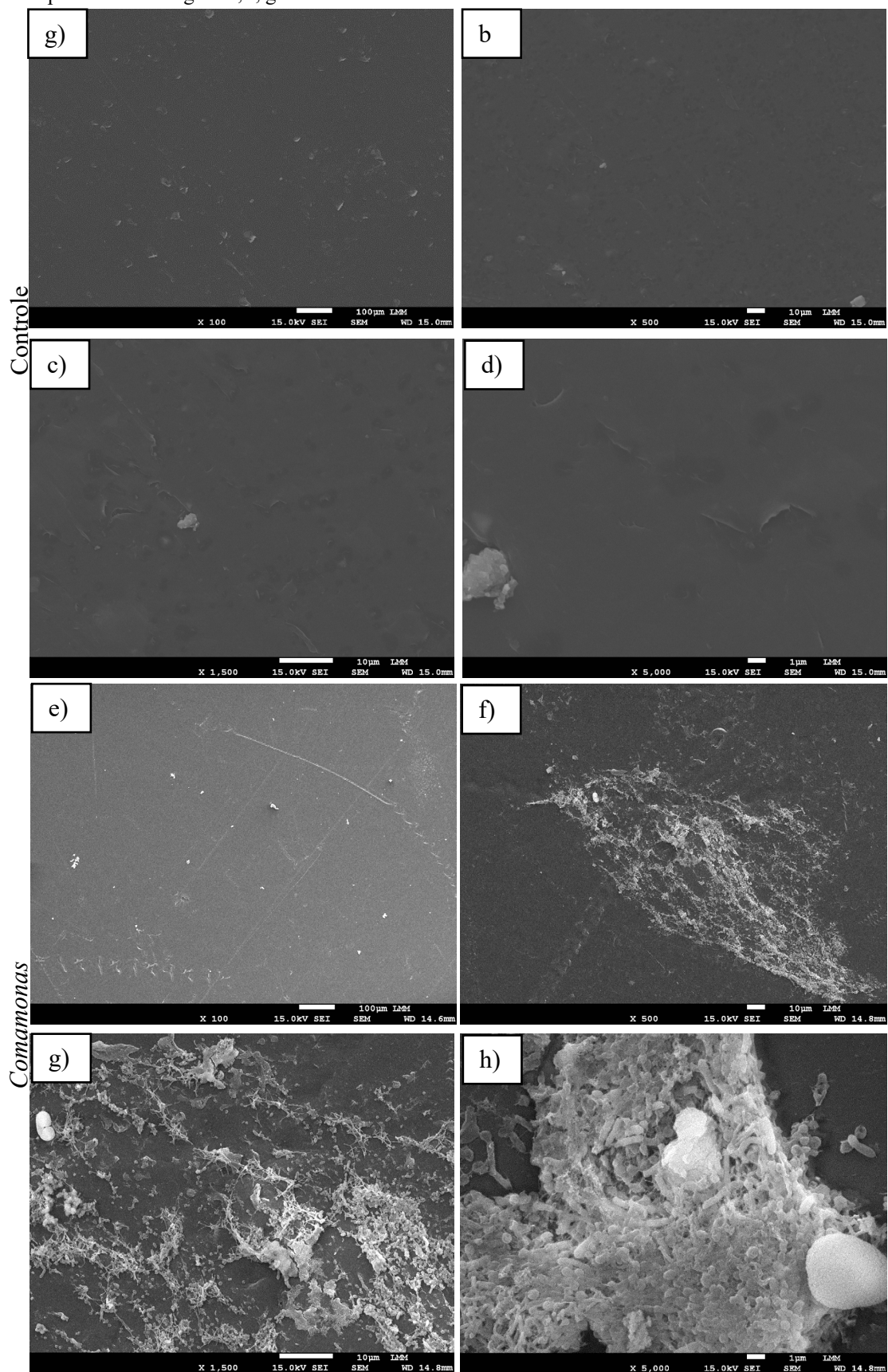


Figura 17. Micrografias de controle de filme de PEBD comercial sem adição de bactéria nas imagens a, b, c e d, filme de PEBD com crescimento bacteriano e formação de biofilme na superfície nas imagens e, f, g e h



13.1.3 Espectroscopia No Infravermelho Por Transformada De Fourier Com Reflectância Total Atenuada (FT-IR ATR)

Foi realizada a Espectroscopia na região IV para a análise do perfil químico dos plásticos que foram submetidos a biodegradação pela *Comamonas brasiliensis* devido a sua aplicabilidade para identificar alterações químicas decorrentes do consumo bacteriano; seguindo os parâmetros de Peixoto, 2018 após 15 dias.

Como o processo de biodegradação ocorre em 4 etapas, os compostos orgânicos que surgem da degradação dos plásticos serão resultantes da ação de fatores abióticos e bióticos. A presença de oxigênio e água facilitam a formação de compostos que irão causar deterioração na superfície polimérica, que por sua vez facilita a quebra de cadeias e a posterior utilização como fonte de nutriente (Das, 2014).

Ao utilizarmos um PE de uso comercial, encontrado facilmente no mercado, um com adição de aditivo iniciador de biodegradação e um oriundo da indústria israelense, foi possível estabelecer correlação e diferenças no processo de degradação a partir da observação de produtos resultantes desse mecanismo. O polietileno a princípio sofre degradação superficial devido a fatores abióticos, sendo que na natureza, um dos primeiros fatores a atuar nesse processo é a radiação UV, promovendo fotodegradação. Nessa etapa, também ocorre degradação devido a alteração de temperatura e degradação mecânica, o qual abrem espaço para a biodegradação *per se*. Nas figuras 15, 16 e 17, observamos os espectros obtidos a partir do controle e da biodegradação de um dos plásticos mais utilizados e recalcitrantes do mundo, o polietileno. Ao observamos a presença de picos intensos nas regiões 2920 cm^{-1} , 2852 cm^{-1} no PEBD comercial e no PE, e pico fraco no PEBD biodegradável, o qual correspondem a alcanos em estiramento (C-H), os quais formam ligações muito estáveis. Sabemos logo que todo esse ciclo de reação ao processo de degradação irá originar a formação dos produtos CO_2 e H_2O , os quais são comuns em biodegradação aeróbica (Peacock, 2000).

Um dos estágios mais importantes da formação de biofilme bacteriano, é quando a superfície do plástico sofre com oxigenação, aumentando sua hidrofilicidade, permitindo maior aderência de bactérias à superfície polimérica. Esse processo é chamado de auto oxidação, e ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Devido à presença abundante de átomos de oxigênio no meio de cultura, os átomos reagem formando radical peroxila ($\text{ROO}\cdot$), que logo reage com átomos de H das cadeias laterais do PE, produzindo hidroperóxidos ($-\text{O}-\text{OH}$). Esse radical, devido a sua alta instabilidade,

se decompõe, e dá origem a outros radicais livres como O_2 e grupo hidroxila ($O-H$). Sendo este último formado durante a degradação do PEBD comercial, o qual surgiu como novo pico na posição 3271 cm^{-1} visto na Figura 15 (Chanda & Roy, 2006). A abundância dessa molécula indica proporcionalmente o nível de degradação, já que é um forte oxidante (Selonk *et al*, 2009). Radicais livres presentes como a hidroxila e a peroxila, atuam removendo outros átomos de H da cadeia lateral do C saturado do alceno, formando radicais alquila. Essa etapa se retroalimenta, já que o radical alquila reage com O , depois com H e forma hidroperóxidos, os quais se degradam a hidroxila e peroxila, e logo formam o radical alquila novamente (Chanda & Roy, 2006).

Outro radical formado durante esse processo é o peróxido ($ROOR$), o qual a partir de processo de oxidação, cliva a cadeia de PE liberando aldeídos, cetonas e álcoois, observados na Figura 15 e 16 com a presença dos picos 1113 cm^{-1} e 1062 cm^{-1} , diminuindo o peso molecular do polímero (Ali *et al*, 2021; Chanda & Roy, 2006). Esse mesmo processo, ao formar compostos que são vulneráveis a reações com água, como cetonas, amidas e éster, os quais são facilmente hidrolisáveis, tornam o polímero ainda menos resistente (Chanda & Roy, 2006).

A presença de uma dupla ligação $C=C$, presente no pico 1622 cm^{-1} , refere-se ao processo de cisão homolítica de cadeias, levando ao rompimento de um átomo de carbono do esqueleto principal com um radical, seguida de um rompimento de um átomo de carbono com um de hidrogênio, o que acaba por gerar a formação de uma ligação dupla (Peixoto, 2018). A formação de ligações simples entre os átomos de carbono e oxigênio podem ocorrer devido a dissociação dos hidroperóxidos, que deixam um átomo de oxigênio livre (Selonk *et al*, 2009). A formação de novas ligações $C-H$, são em decorrência da retirada de um átomo de hidrogênio da cadeia lateral, provocando uma desidrogenação de um alceno, formando alceno ($C-H$ com dobramento), visto nas figuras 17, 18 e 19, ocorrendo a formação dos picos 986 cm^{-1} , 990 cm^{-1} e 871 cm^{-1} , e alceno ($C-H$) no pico 1622 cm^{-1} e 1639 cm^{-1} observados nas figuras 15 e 17.

Albertsson e Karlsson (1988) demonstraram os mecanismos de degradação do PE, em 3 etapas. Na primeira, CO_2 e O_2 são liberados e capturados respectivamente, em decorrência do processo de formação de radicais livres. Em seguida, a degradação passa por um momento *plateau*, quando não ocorre modificações no polímero, porém, é a transição para um momento que ocorre aumento significativo da degradação, expondo mudanças vistas macroscopicamente.

Figura 19. Espectros sobrepostos de FTIR de PEBD comercial controle e de PEBD comercial submetido a biodegradação pela *Comamonas* sp PE 63

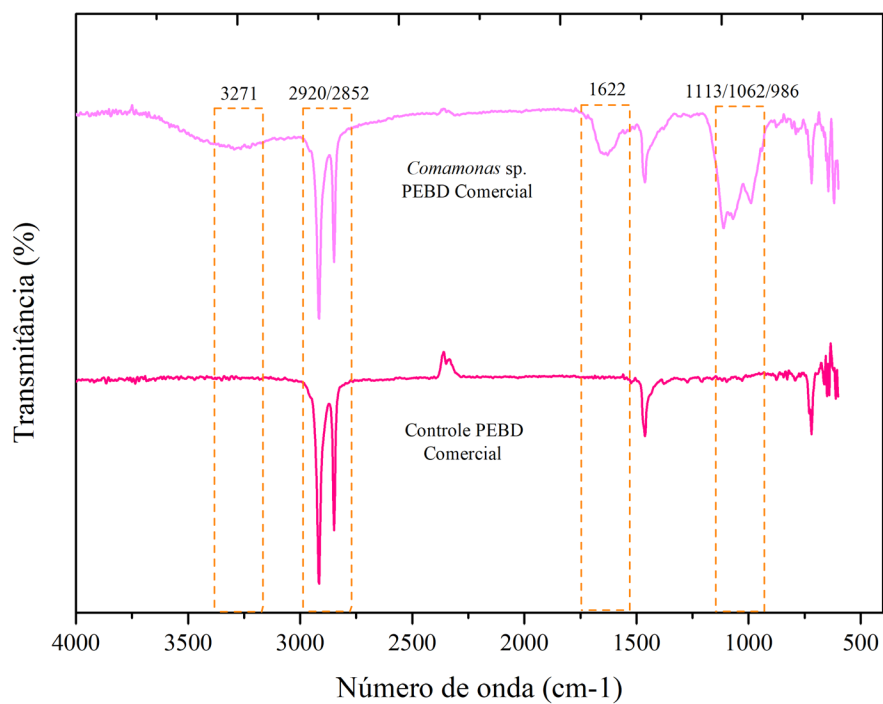


Figura 18. Espectros sobrepostos de FTIR de PEBD biodegradável controle e de PEBD biodegradável submetido a biodegradação pela *Comamonas brasiliensis*

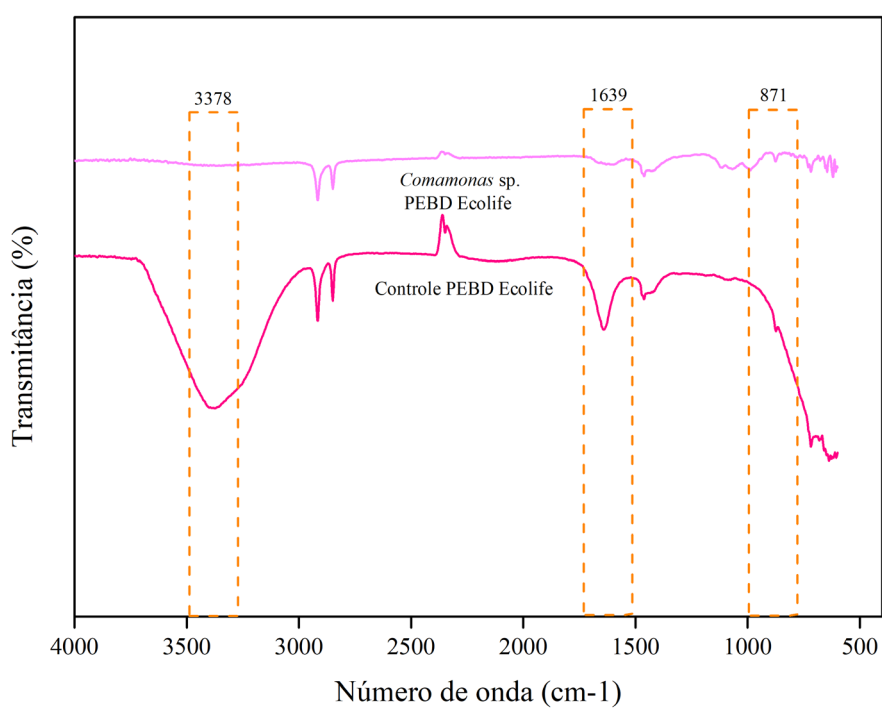


Figura 20. Espectros sobrepostos de FTIR de PEAD controle e de PEAD submetido a biodegradação pela *Comamonas sp.* PE 63

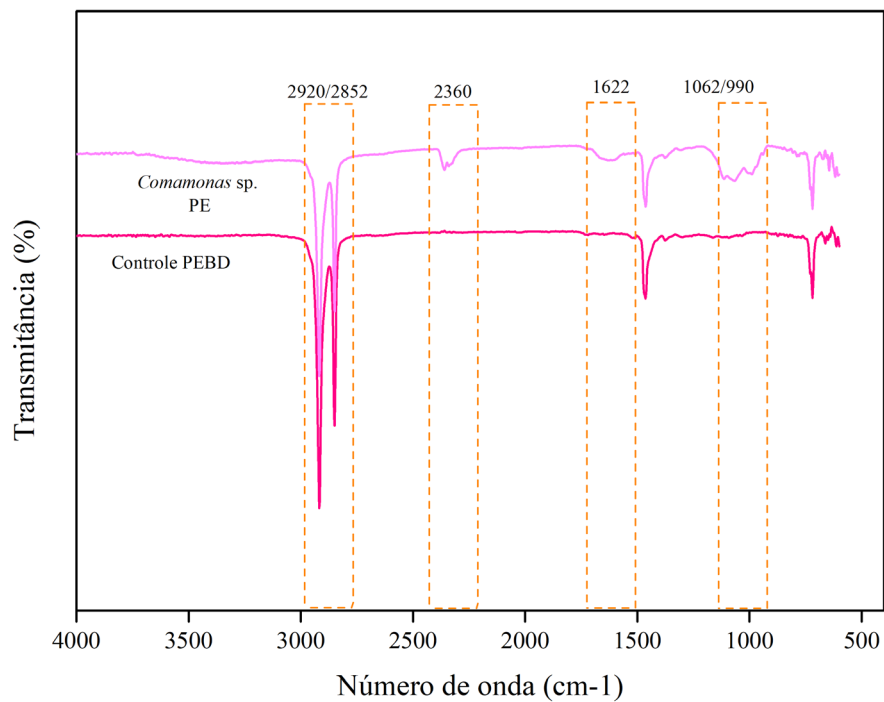


Figura 21. Espectros sobrepostos de FTIR de PP controle biodegradável e de PP biodegradável submetido a biodegradação pela *Comamonas brasiliensis*

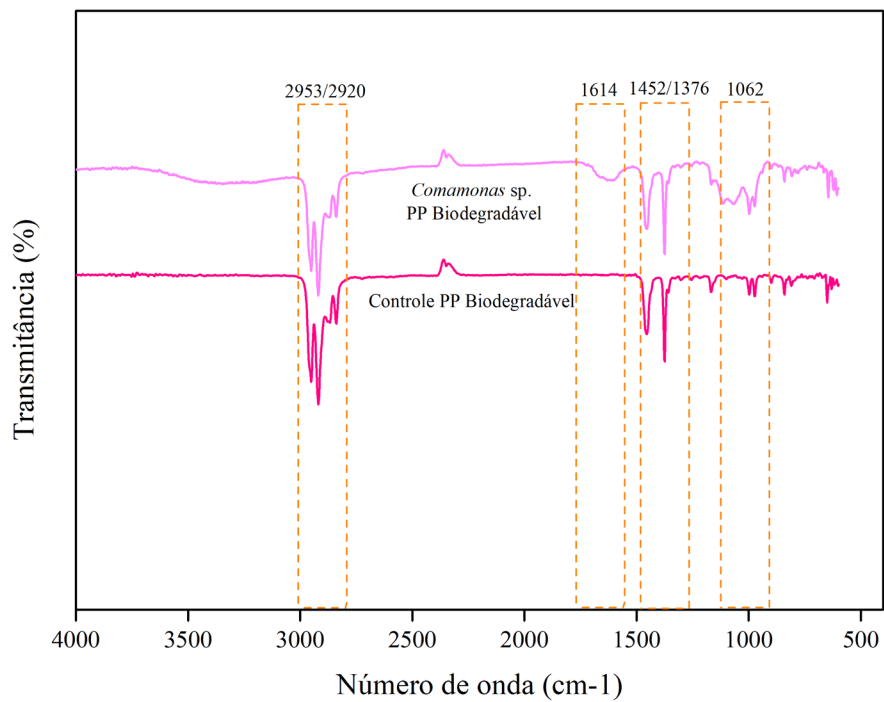
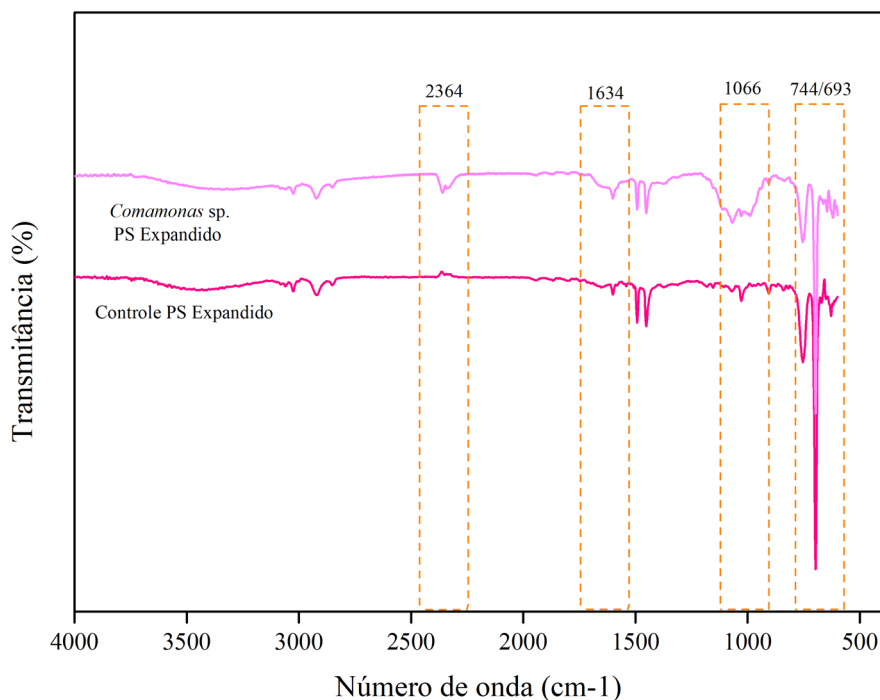


Figura 22. Espectros sobrepostos de FTIR de PS expandido controle e de PS expandido submetido a biodegradação pela *Comamonas brasiliensis*



Nos plásticos PP biodegradável e PS expandido observou-se com maior frequência a mudança na intensidade de picos, o qual também se refere a modificações no polímero devido a uma mudança na resposta excitatória da molécula (Gupta & Devi, 2020). Dentre os picos novos, vemos há apenas uma ligação dupla C=C no PP biodegradado, presente no pico 1614 cm^{-1} , exposto na Figura 18, e uma ligação tripla C≡C no PS expandido; a ligação C≡C é presente em alcinos, um hidrocarboneto resultante da desidrogenação de um alceno, presente quando há uma quebra de ligação de um átomo C com um hidrogênio, deixando-o livre.

Todas as alterações químicas, inclusive perda e aumento da intensidade do pico refletem em degradação dos polímeros. Esse resultado suporta a hipótese levantada a partir das micrografias de biofilme nos plásticos, indicando que os micro-organismos estão utilizando-os como fonte de carbono.

Tabela 9. Picos em azul não sofreram modificação, picos em verde são novas formações e picos em rosa sofrem aumento ou atenuação de intensidade

Polímero	Picos (cm ⁻¹)					
Controle PEBD Comercial	2920 C-H estiramento	2852 C-H estiramento				
PEBD Comercial Degradado	3271 O-H	2920 C-H estiramento	2852 C-H estiramento	1622 C=C	1113 C-O	986 C-H dobramento
Controle PEAD	2920 C-H estiramento	2852 C-H estiramento				
PEAD Biodegradado	2920 C-H estiramento	2852 C-H estiramento	2360 C≡C	1622 C=C	1062 C-O	990 C-H dobramento
Controle PEBD <i>Ecolife</i>	3378 O-H	1639 C=C				
PEBD <i>Ecolife</i> Biodegradado	3378 O-H	1639 C=C	871 C-H dobramento			
Controle PP	2953 C-H estiramento	2920 C-H estiramento	1452 CH ₃	1376 CH ₃	1062 C-O	
PP biodegradado	2953 C-H estiramento	2920 C-H estiramento	1614 C=C	1376 CH ₃	1062 C-O	
Controle PS expandido	1634 C=C	1066 C-O	744 C-H dobramento	693 C-H dobramento		
PS expandido	2364 C≡C	1634 C=C	1066 C-O	744 C-H dobramento	693 C-H dobramento	

13.1.4 *Live And Dead BacLight*TM Kit De Viabilidade Celular

A viabilidade celular de *Comamonas brasiliensis brasiliensis* foi analisada de acordo com o fabricante, sendo visualizados micro-organismos corados com fluoresceína verde, o qual evidencia células vivas, e micro-organismos corados com fluoresceína vermelha, o qual evidencia células mortas. A análise foi feita com plástico após 15 dias de cultivo, sendo dispostas na primeira linha os filmes corados pelo *dead*, na segunda linha, os filmes corados pelo *live*, e na terceira linha, a sobreposição de ambas. As

imagens de controle e filme com *Comamonas brasiliensis brasiliensis* estão paralelas nas figuras 21, 22, 23, 24 e 25.

A presença de colônias em disposição heterogênea na superfície dos filmes corresponde ao que foi exposto pela MEV, regiões focais com alta densidade celular as quais correspondem a células vivas e mortas e regiões sem células. Devido a recalcitrância da matéria, o crescimento bacteriano se mantém discreto e relativamente limitado durante esse período de cultivo, entretanto, podemos perceber uma maior proporção de bactérias metabolicamente ativas em comparação com bactérias mortas.

Apesar da limitação de nutrientes como N e P, a alta concentração de C permite o crescimento e manutenção do biofilme.

Figura 23. Presença de colônias em PEBD Comercial evidenciadas pelo kit Live and Dead São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas

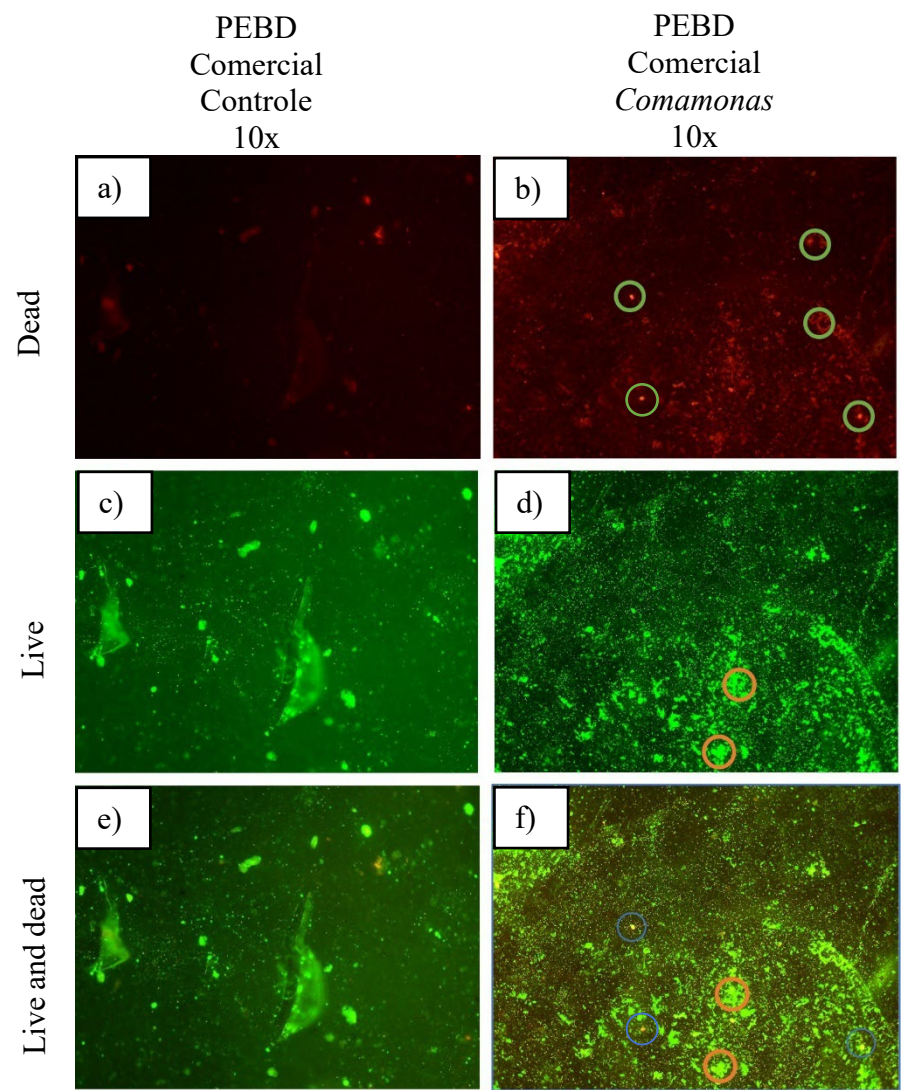


Figura 24. Presença de colônias em PEAD evidenciadas pelo kit Live and Dead. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas.

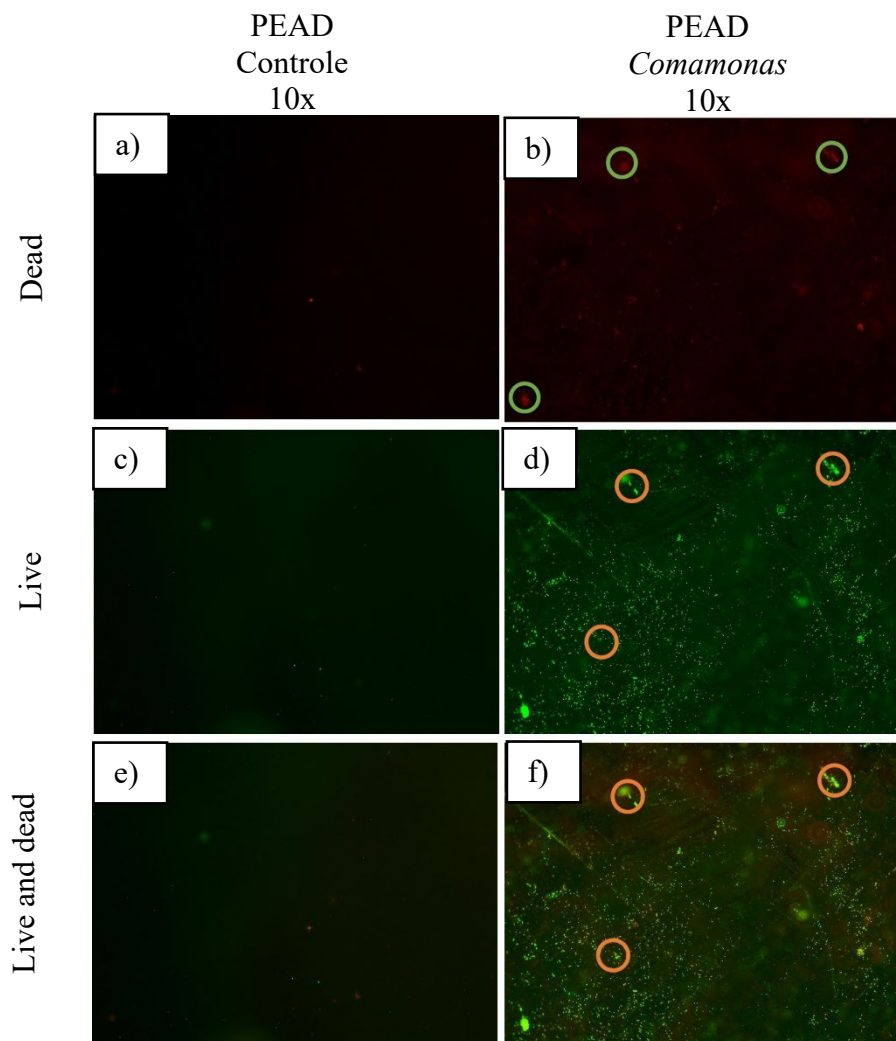


Figura 25. Presença de colônias em PEBD biodegradável evidenciadas pelo kit Live and Dead. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas

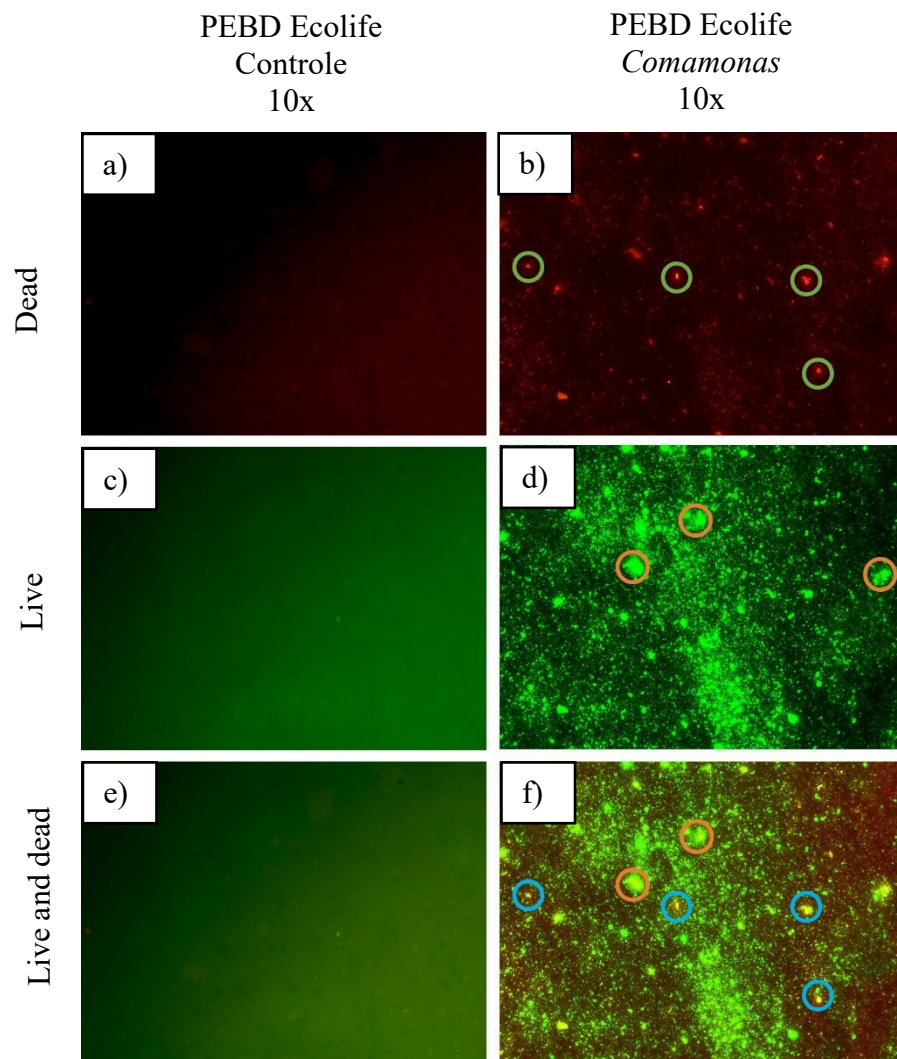


Figura 26. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas. Presença de colônias em PP Biodegradável evidenciadas pelo kit Live and Dead

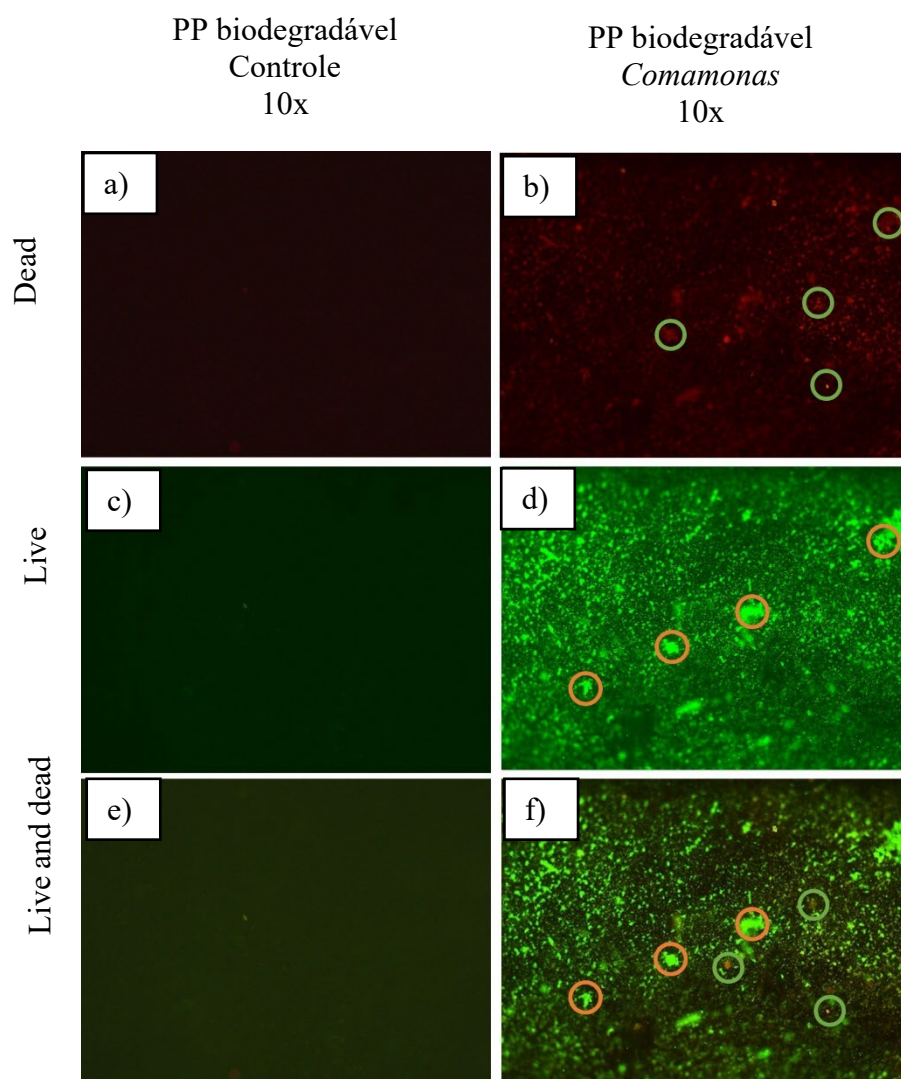
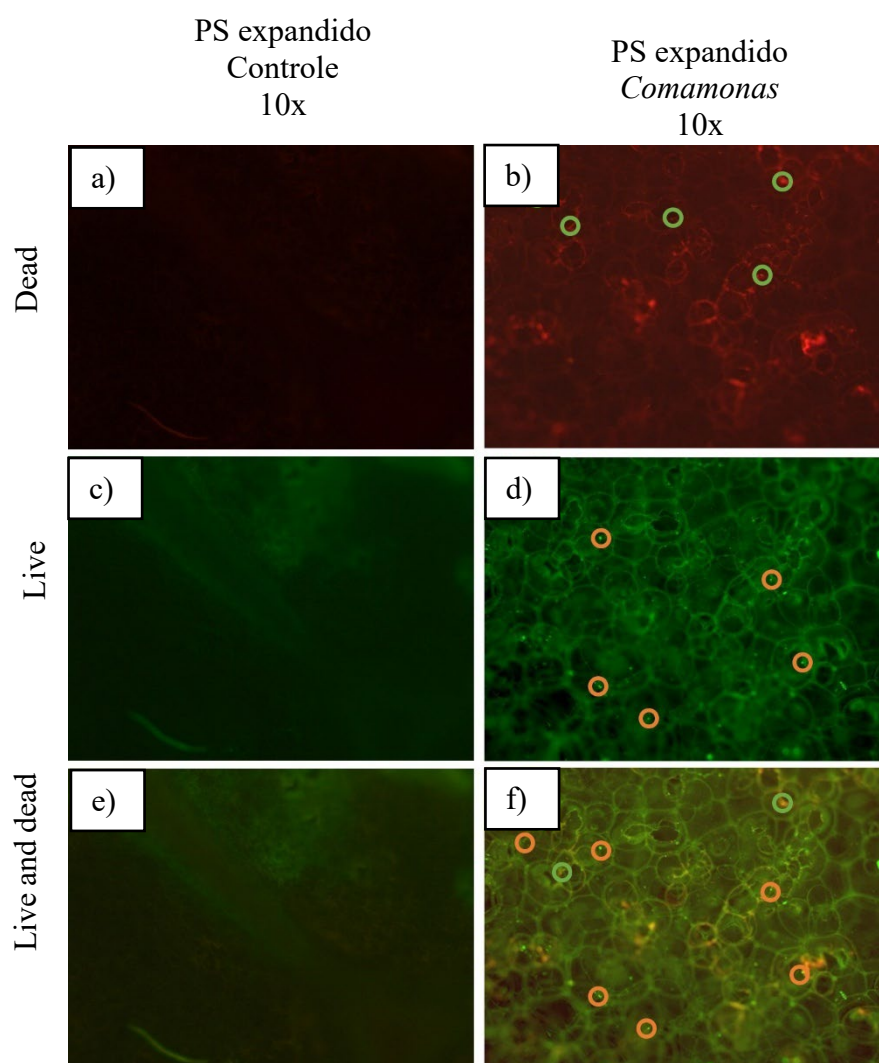


Figura 27. São evidenciadas algumas colônias através de círculos verdes, que indicam bactérias mortas e círculos azuis para indicar as bactérias vivas. Presença de colônias em PS expandido evidenciadas pelo kit Live and Dead



13.1.5 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A RMN ^{13}C de sólidos foi escolhida pela facilidade de preparo de amostra e análise, levando-se em consideração que todos os picos são singletos devido ao não-acoplamento entre eles. Cada pico representa a ressonância produzida por moléculas, as quais ressonam apenas um átomo de diferentes carbonos presentes na amostra, ou seja, a área do pico não representa a quantidade de átomos de carbono, não sendo necessário realizar cálculo de integral da área do espectro (Pavia *et al*, 2015).

A técnica permite a identificação dos átomos de acordo com seu deslocamento químico em ppm, exibindo sua localização na estrutura, o qual indica os possíveis grupos funcionais presentes. Porém, para identificação de quantas ligações ocorre do carbono com o hidrogênio, a RMN deveria ser ajustada a técnica de DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), o qual permite identificar carbonos quaternários, grupo metil ou metileno. A possível identificação dos átomos de carbono é realizada com base na tabela de correlação de deslocamento químico, o qual é construída com base no deslocamento da TMS (tetrametilsilano), o controle interno do equipamento (Pavia *et al*, 2015). Aqui utilizou-se valores aproximados, já que sem o DEPT não é possível identificar as ligações.

Nas figuras 21, 22 e 23 observa-se picos característicos de PE não biodegradado na região de 30 ppm, o qual corresponde a carbonos saturados ou grupo metileno ($\text{R-CH}_2\text{-R}$), estrutura principal da cadeia. Também observamos a presença de picos de intensidade mais fraca na região entre 10 e 15 ppm, correspondendo a grupo metil (CH_3). Nas figuras 21, 22, 23, 24 e 25 observa-se a ausência dos picos 14 ppm, 21 ppm, 10 ppm, 32 ppm, 79 ppm e 20 ppm respectivamente, o que indica que as moléculas correspondentes a essa ressonância sofreram modificação. Essas modificações podem ocorrer como consequência de reações químicas como hidrólise ou oxidação, reações presentes durante a degradação microbiana. O aumento da cristalinidade dos polímeros também pode afetar a presença desses sinais, e isso ocorre devido aos movimentos moleculares serem mais restritos do que em polímeros com menor cristalinidade.

Apesar do processo de biodegradação gerar novas moléculas, para que haja a ressonância, se faz necessário a presença de ^{13}C na estrutura. Como esse átomo é menos escasso do que o ^{12}C , que está presente em todos os compostos orgânicos, a presença de picos ocorre em menor quantidade.

Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C do PEBD comercial controle e do PEBD biodegradado por Comamonas

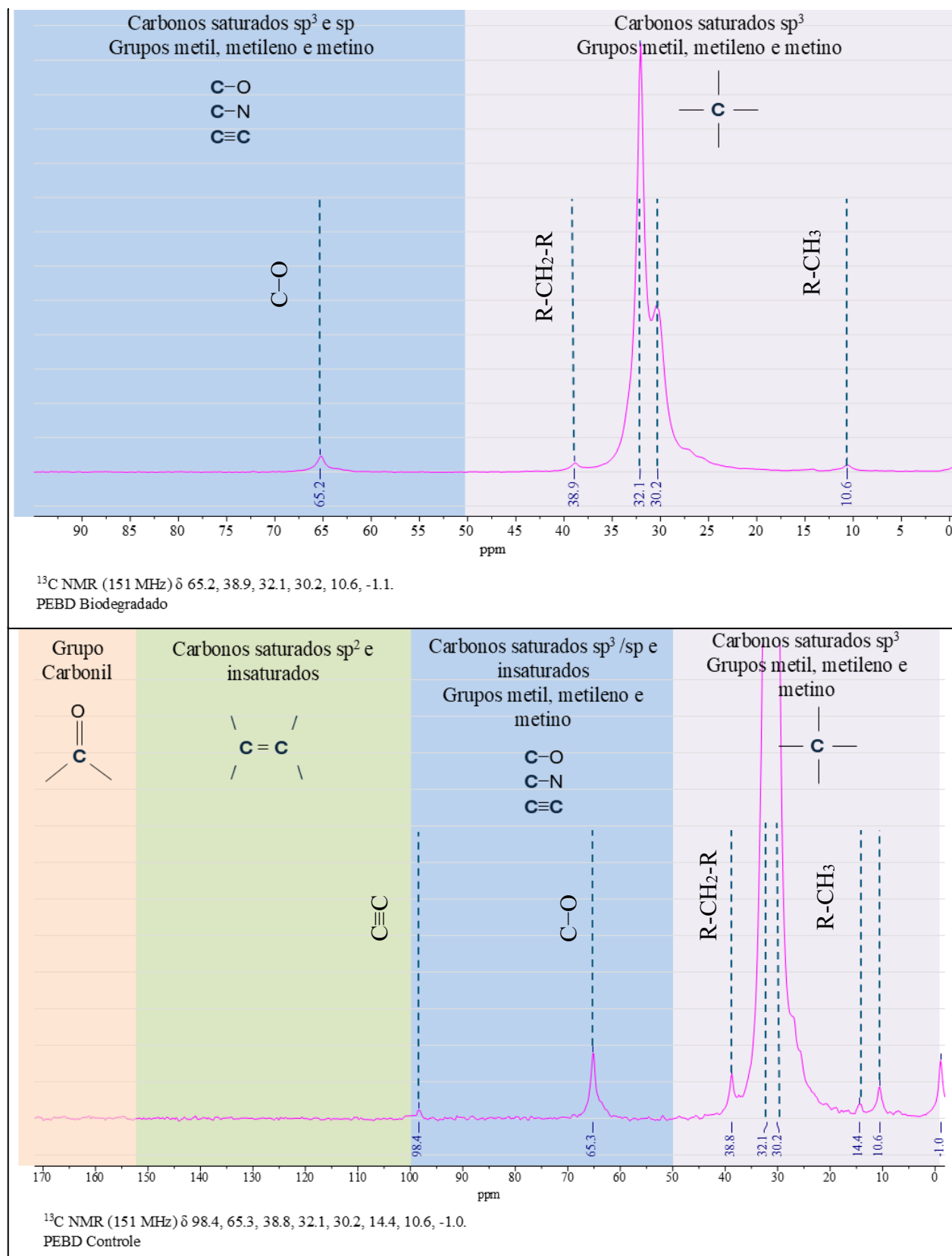


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C do PEAD controle e do PEAD biodegradado por Comamonas

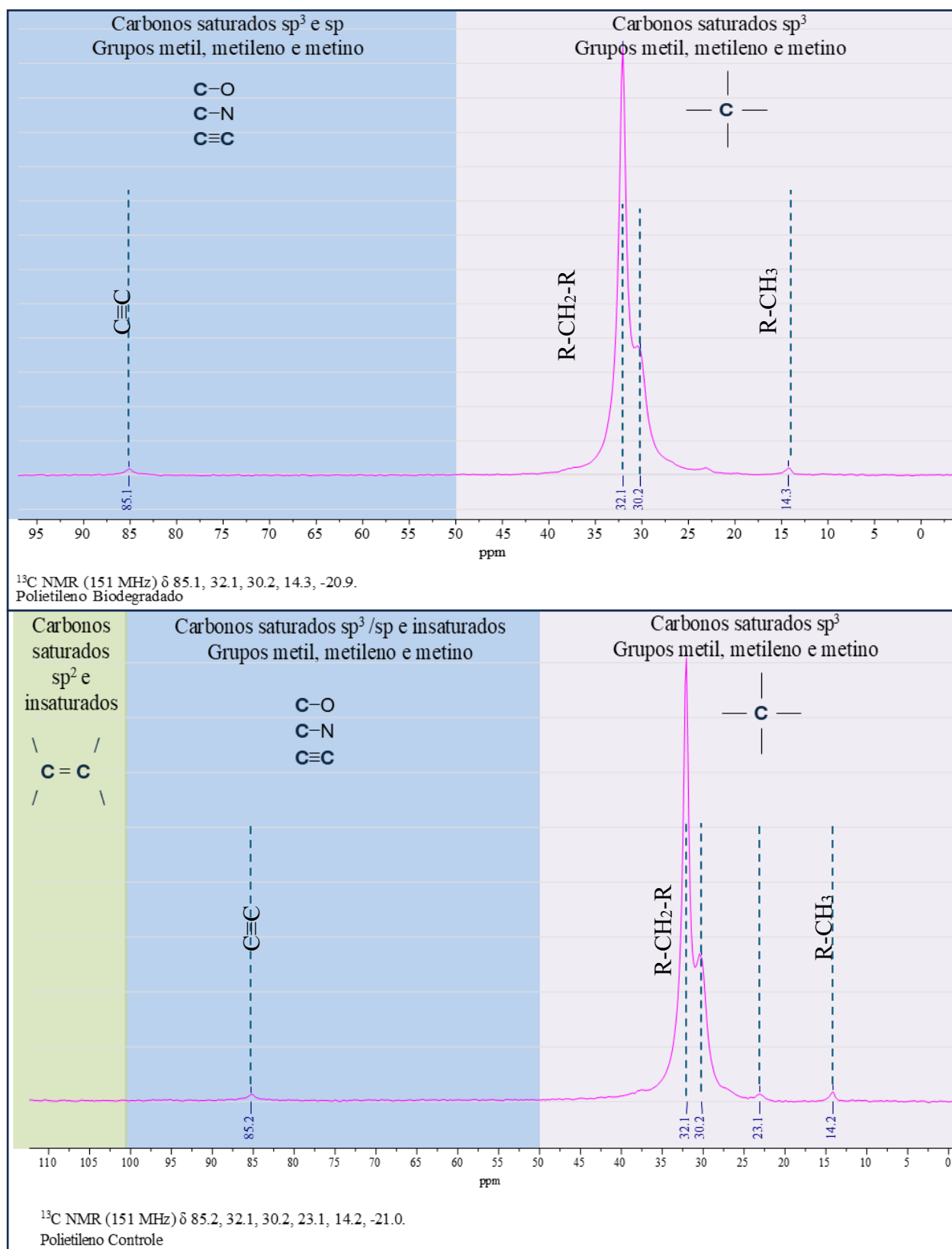


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C do PEBD Ecolife controle e do PEBD Ecolife biodegradado por Comamonas

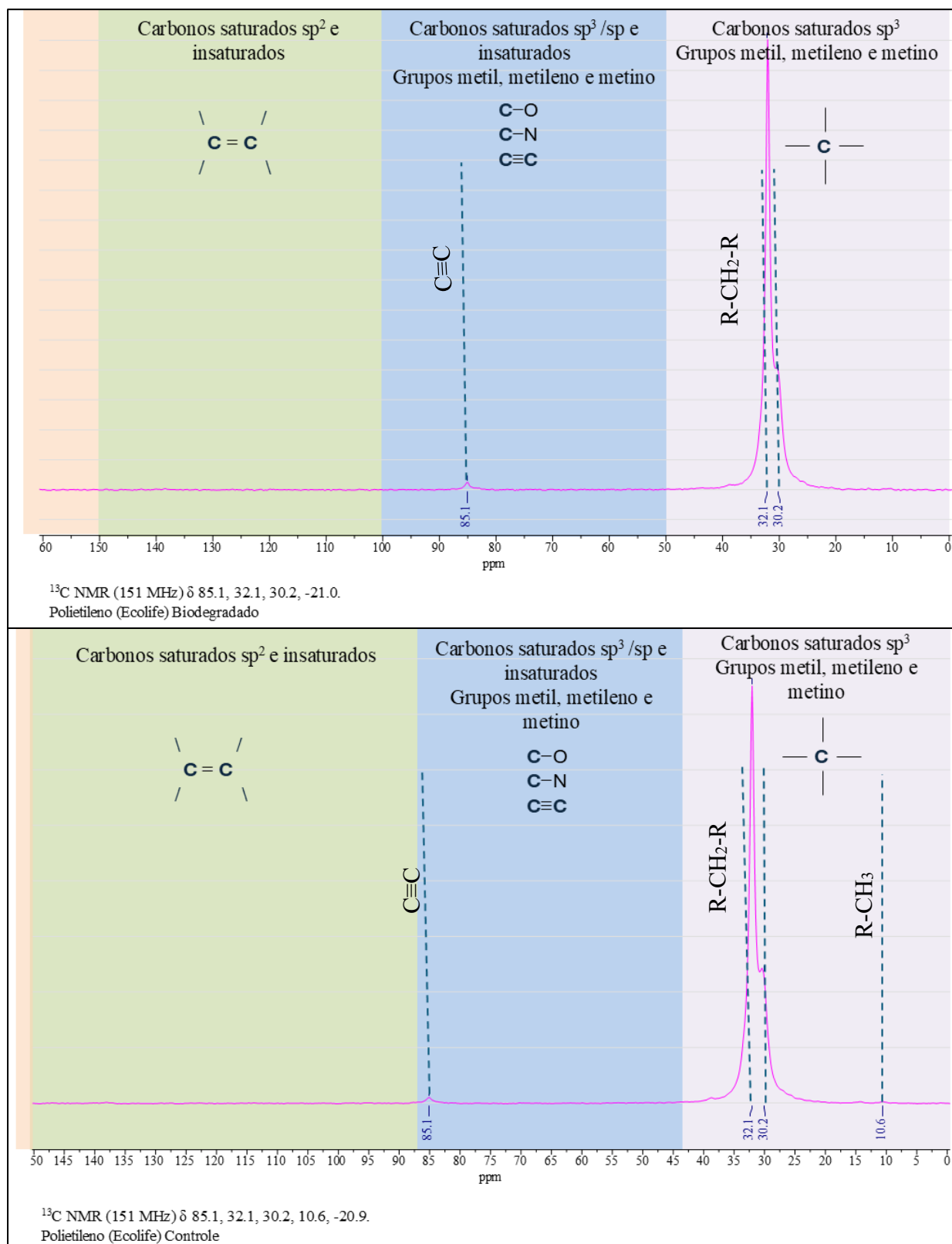


Figura 31. Espectro de RMN 13C do PP biodegradável controle e do PP biodegradado por Comamonas

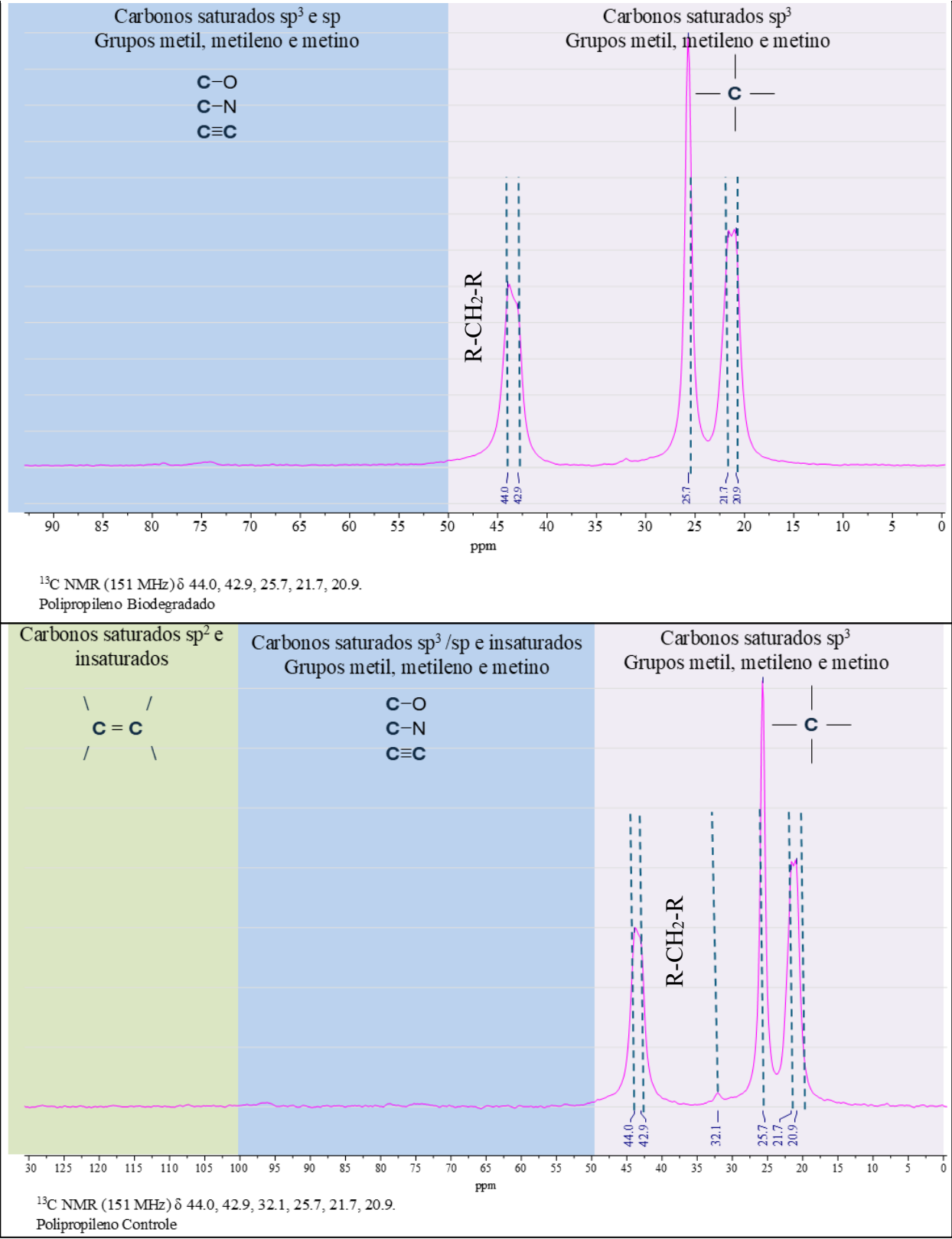
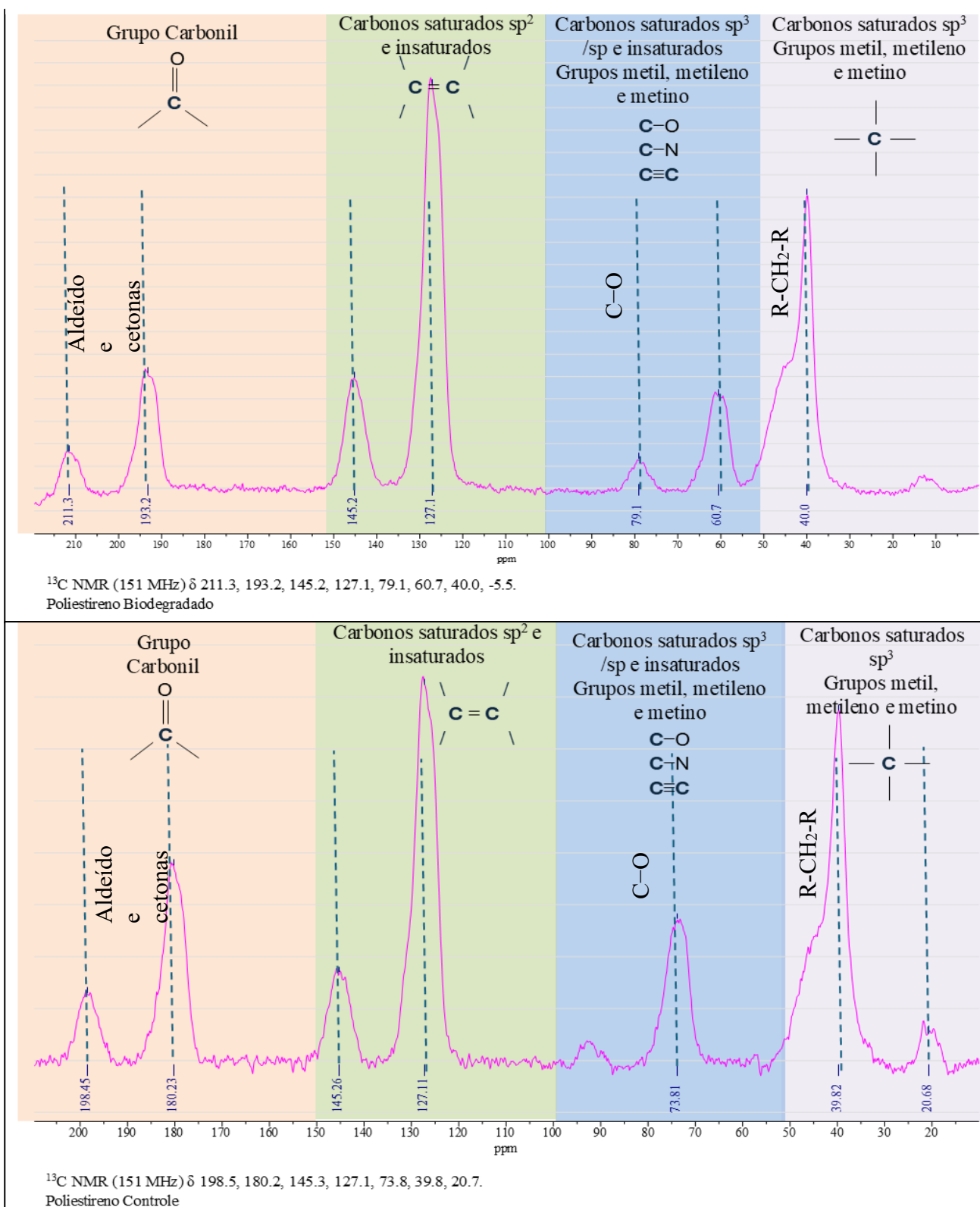


Figura 32. Espectro de RMN ^{13}C do PS expandido controle e do PS biodegradado por Comamonas



13.1.6 Análise Termogravimétrica (TG)

A TG analisa a estabilidade térmica e variação de massa em decorrência de eventos térmicos, sendo a Derivada Termogravimétrica (DTG) uma curva endotérmica que permite a análise de temperatura específica de cada um desses eventos, início e fim da reação, respondendo com maior precisão qual a temperatura exata o qual ocorre a perda de massa pela degradação térmica.

Essa técnica permite verificar se houve modificação físico-química dos plásticos sintéticos após o consumo bacteriano. Para análise de polietileno, foi feita uma média das curvas do material PEBD comercial e PE para se obter o resultado, o PEBD biodegradável foi feito separadamente por conter aditivo em sua composição. Na Figura 29, observa-se o gráfico de TGA do PE, o qual demonstra a ocorrência de um evento térmico no controle e dois eventos térmicos no plástico biodegradado. Esses eventos ficam expressos no gráfico de DTG que demonstra que o PE controle teve sua reação máxima na temperatura de 473°C, o qual perdeu 98,8% de massa, já no PE biodegradado, ocorreu uma alteração físico-química que mudou a reação térmica do plástico a altas temperaturas. No primeiro evento a massa perdida foi de 75,38%, sugerindo que houve presença de resquícios, o qual foi degradado no segundo evento, perdendo mais 8,55% de massa. No achatamento de curva do PE controle, observou-se 1,2% de resíduo e no PE biodegradado 16,07% de resíduo, isso pode ocorrer devido a produção de resíduos estáveis como cinza, gases ou grupos aromáticos, como também pode ocorrer em substâncias altamente reticuladas, e, portanto, de difícil degradação. A Figura 30, demonstra a DTG do PEBD biodegradado, a presença de quatro eventos térmicos é característica de polímero com aditivos, o primeiro pico, modesto, tem reação máxima a 307°C, o que exclui H₂O e inúmeros solventes leves que volatizam em temperatura de até 100°C, podendo ser um contaminante. O segundo pico, de degradação térmica, tem reação máxima a 474°C, sendo semelhante ao visto na Figura X, ocorrendo 75,93% de perda de massa. Já no segundo evento, a reação máxima ocorreu a 619°C, com perda de massa de 8%. Ambos os polímeros, controle e biodegradado apresentaram perda de massa percentualmente semelhante. Neste pico vemos uma diferença de área de pico e intensidade entre o PEBD controle e biodegradado, sugestivo de que o aditivo *Ecolife* favorece a degradação térmica, necessitando de menos minutos por massa de alta temperatura.

O polipropileno, representando na Figura 31, apresentou acentuada perda de massa em ambos os polímeros, com reação máxima na temperatura de 455°C e perda de

quase 100%, a diferença fica por conta do surgimento de um evento a mais na amostra biodegradada, sendo sugestivo para a presença de aditivo de aceleração de degradação, assim como o PEBD. A diferença de temperatura de reação máxima entre ambos é de apenas 70°C. Na Figura 32, observa-se o gráfico do poliestireno, material conhecido por sua estabilidade térmica, devido a presença de ar em sua estrutura que remete a uma matriz reticular. Em atmosfera de nitrogênio, o PS sofreu degradação térmica em temperatura de 417°C, necessitando de poucos minutos nessa temperatura para a perda de 97,41% de massa, enquanto o PS biodegradado, apresentou dois pequenos eventos antes do pico de degradação.

Dentre as quatro curvas, o plástico que depositou mais resíduos foi o PE, sinalizando uma maior produção de resíduos estáveis durante a degradação térmica, apresentando apenas dois eventos térmicos, organizados na tabela 13.

Tabela 10. Temperatura inicial e final de cada evento térmico que os polímeros sofreram

Polímeros	1º evento térmico		2º evento térmico		3º evento térmico		4º evento térmico	
	T _{onset}	T _{endset}	T _{onset}	T _{endset}	T _{onset}	T _{endset}	T _{onset}	T _{endset}
PEAD controle	428 °C	508 °C						
PEAD biodegradado	432 °C	506 °C	627 °C	704 °C				
Polietileno <i>Ecolife</i> controle	441 °C	507 °C						
Polietileno <i>Ecolife</i> biodegradado	280 °C	330 °C	405 °C	507 °C	593 °C	640 °C	648 °C	692 °C
PP Biodegradável controle	396 °C	487 °C						
Polipropileno Biodegradável biodegradado	351 °C	402 °C	408 °C	489 °C				
Poliestireno expandido controle	385 °C	448 °C						

Poliestireno expandido biodegradado	275 °C	319 °C	337 °C	375 °C	385 °C	450 °C
---	--------	--------	--------	--------	--------	--------

Figura 33. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PEAD controle e Biodegradado

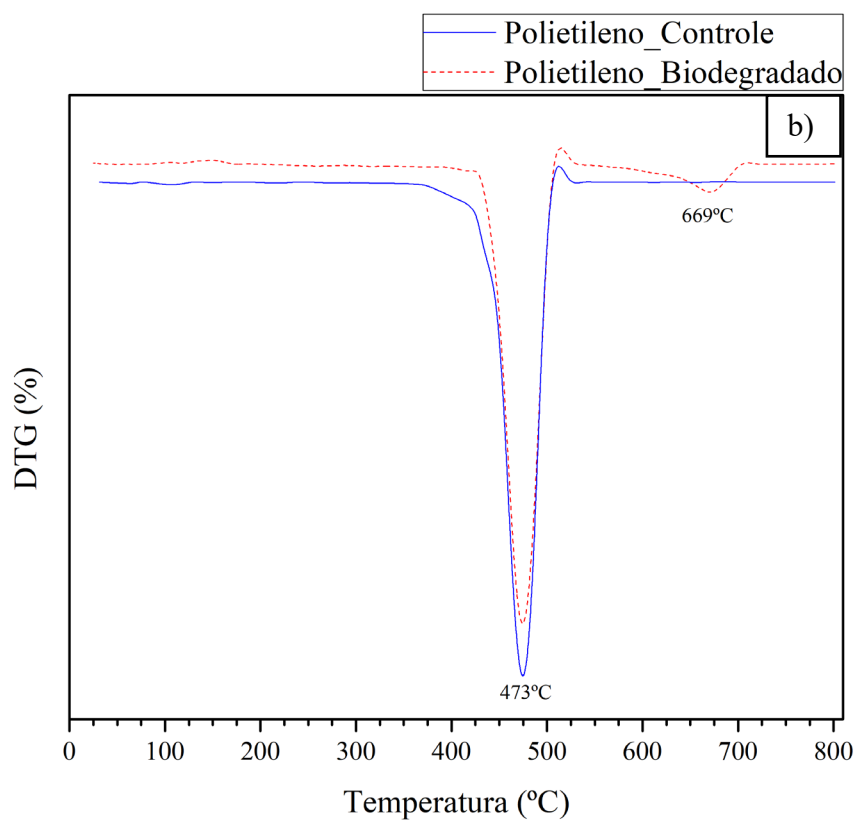
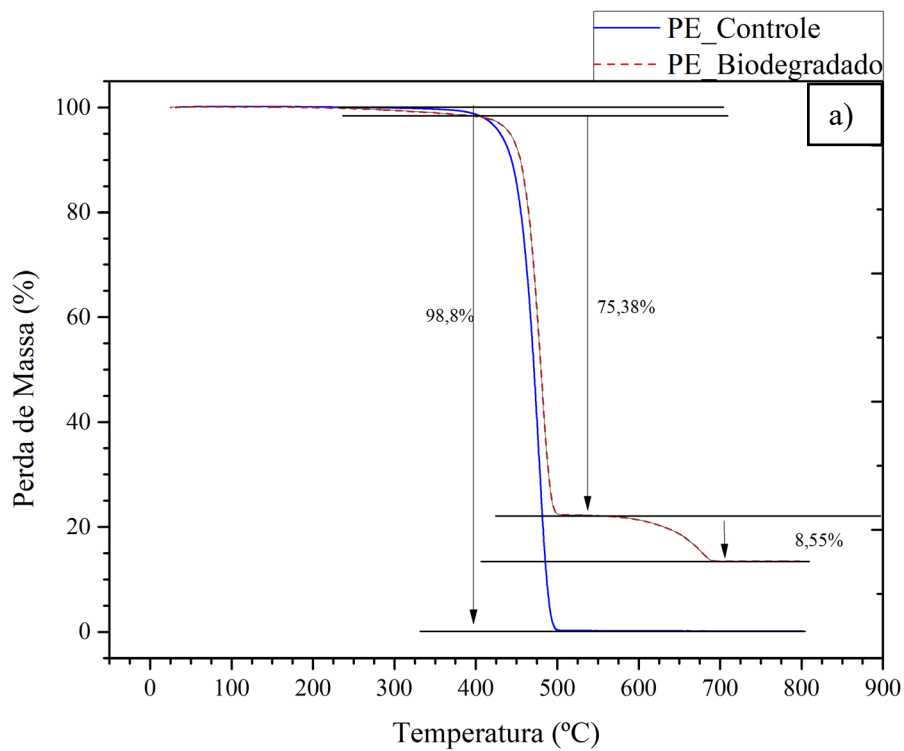


Figura 34. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PEBD controle e Biodegradado

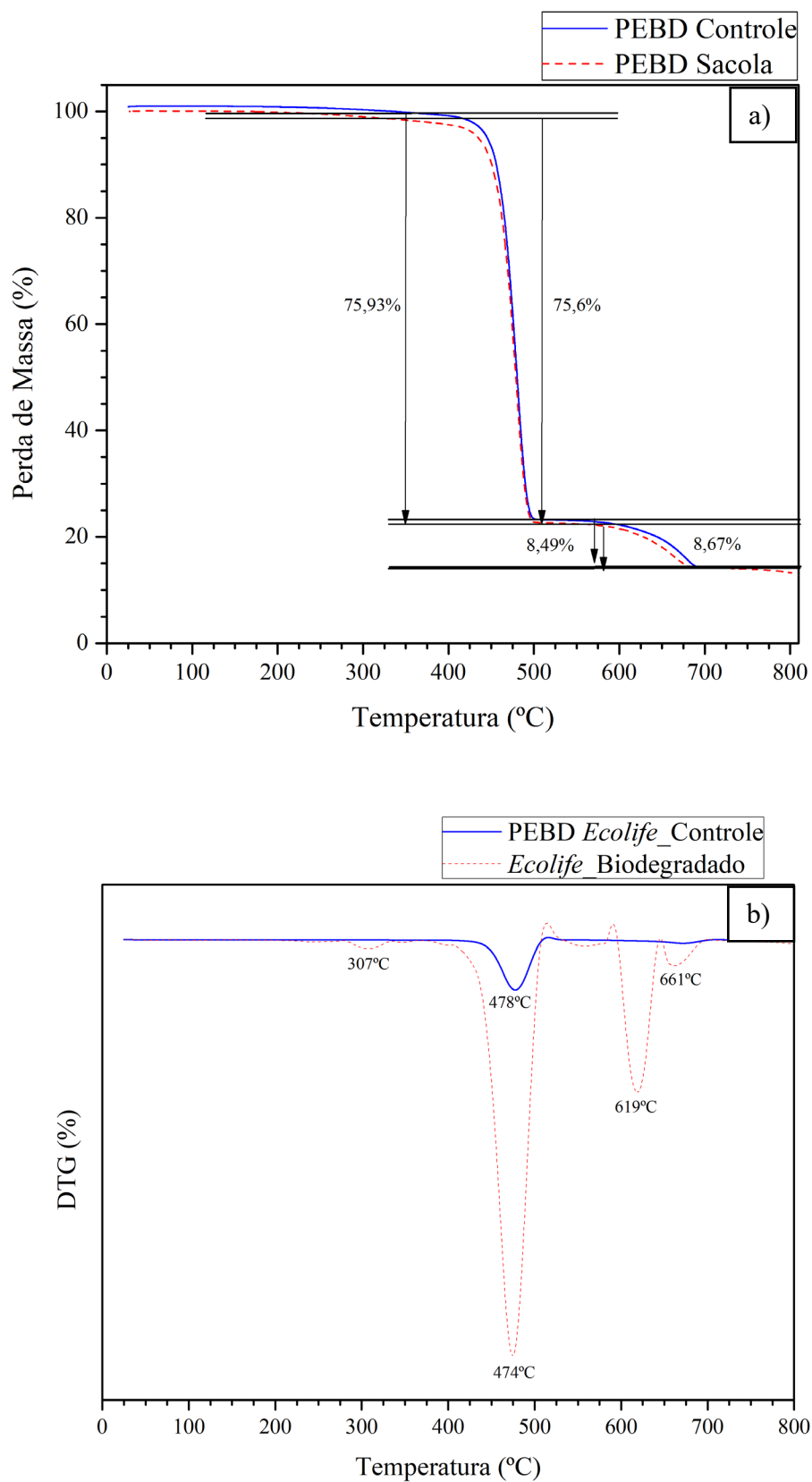


Figura 35. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PP controle e Biodegradado

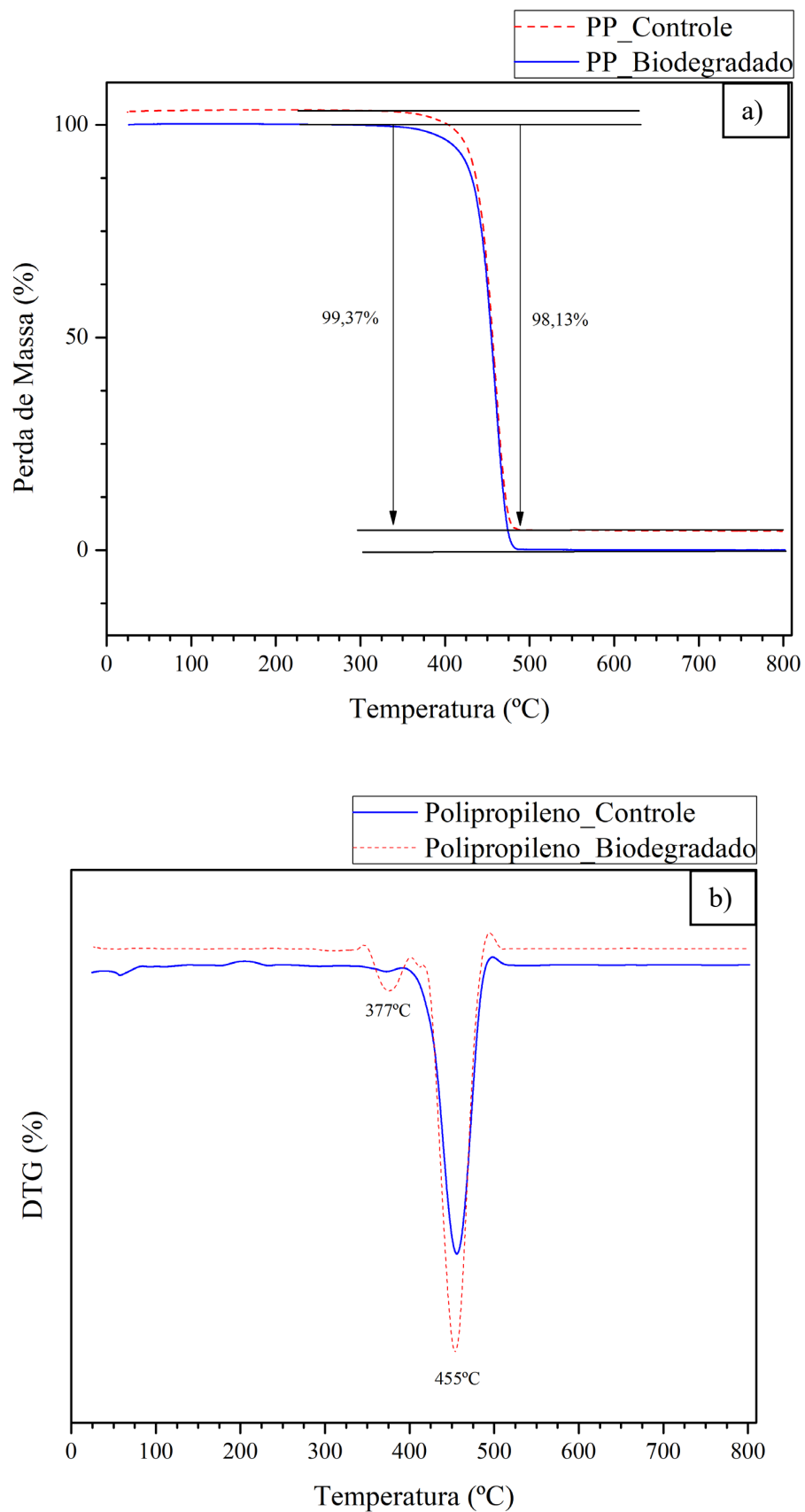
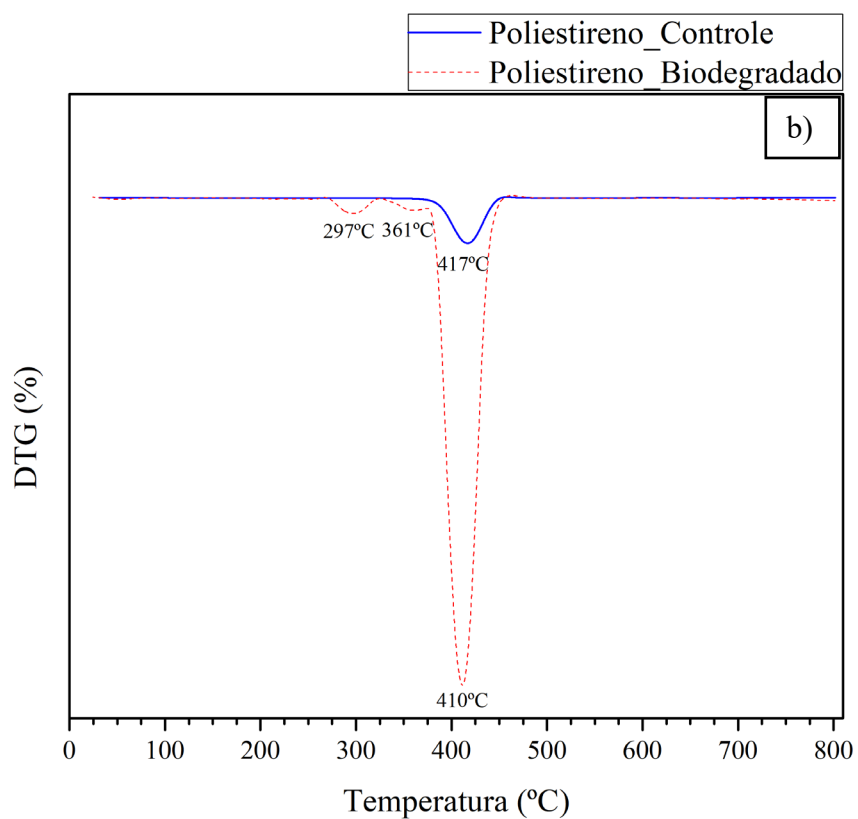
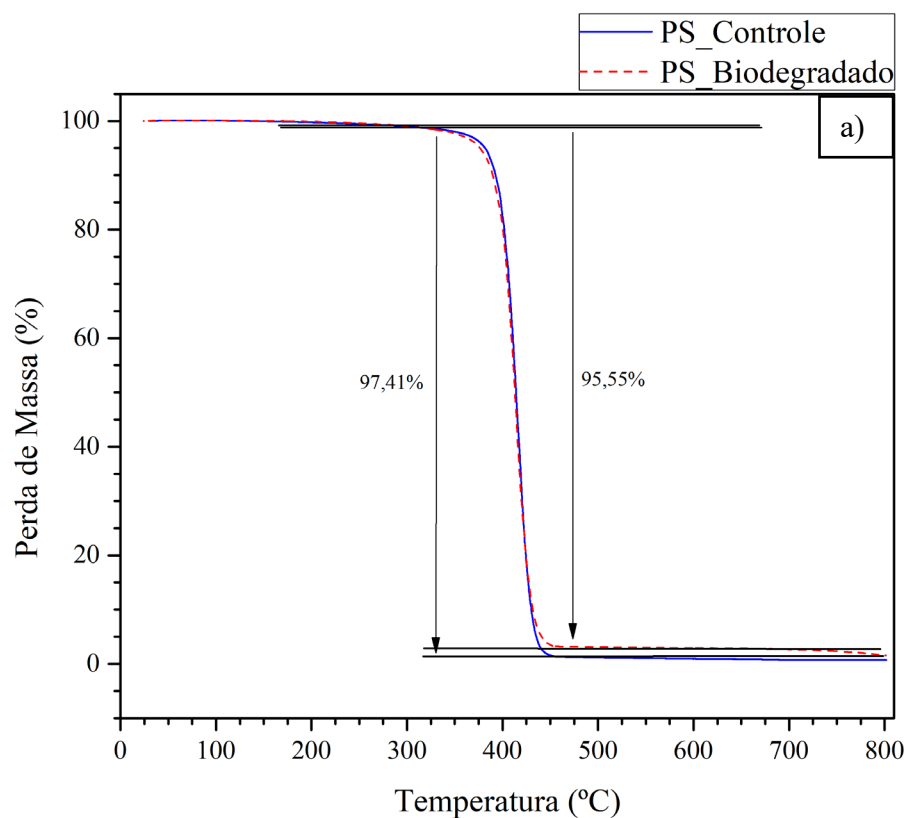


Figura 36. Curva de TG e DTG demonstra a temperatura máxima ao qual ocorre a degradação térmica do plástico PS expandido controle e Biodegradado



13.2 Análise Do Polihidroxialcanoato

13.2.1 Microscopia De Fluorescência Utilizando *Nile Red* Para Visualização De Grânulos De PHA

Foram realizadas micrografias de *Pseudomonas putida* corada com *Nile Red* após o período de 96h de cultivo com glicose (Figura 29), como controle positivo da presença de grânulos de PHA no interior celular. Trata-se de uma espécie conhecida por acumular PHA na fase de crescimento (Vidal-Mas *et al*, 2001). A marcação expôs a morfologia das inclusões, podendo corresponder a quase totalidade da célula ou pequenas esferas distribuídas pelo citoplasma. A coloração também variou, mostrando-se vermelho em objetiva de 20x e amarelo em objetiva de 10x.

As micrografias de *Comamonas brasiliensis* sp PE 63 coradas com *Nile Red*, evidenciaram distribuição heterogênea e tamanhos multiformes dos grânulos intracelulares, sinalizando variação metabólica entre as bactérias. Houve também variação na intensidade de fluorescência, sugerindo diferentes estágios do armazenamento do PHA. Essa técnica oferece rapidez e sensibilidade para a detecção de grânulos *in situ* em micro-organismo, permitindo o rastreo de produção de PHA e demonstrando a habilidade dessa linhagem para a produção de bioplástico.

Essa técnica, apesar de permitir a marcação de PHA com propriedades físicas diferentes, não distingue homopolímeros ou copolímeros, assim como também não distingue entre cadeias curtas, médias ou longas (Tan, G *et al*, 2014; Spiekermann *et al*, 1999).

Figura 37. *Pseudomonas putida* corado com *Nile Red* - controle de PHA

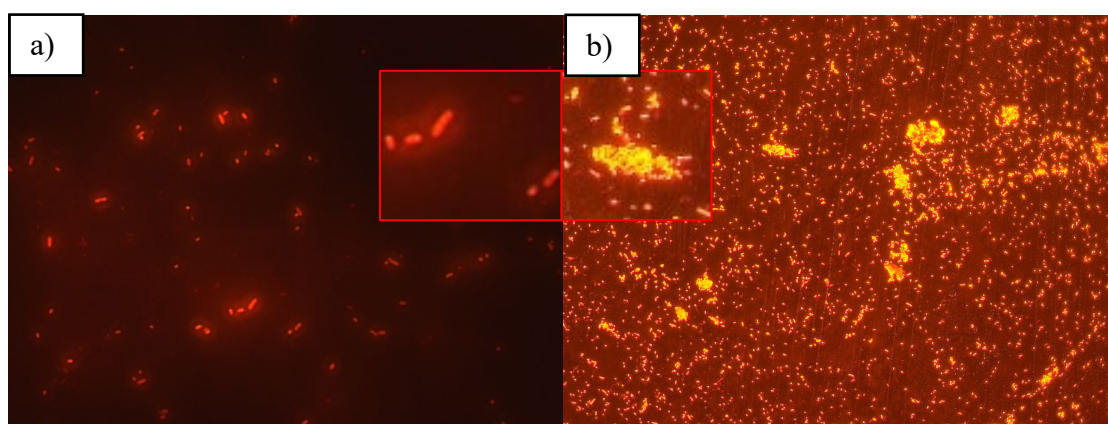


Figura 38. Micrografia com Nile Red de PEBD comercial com *Comamonas* sp PE 63 após 96h de cultivo

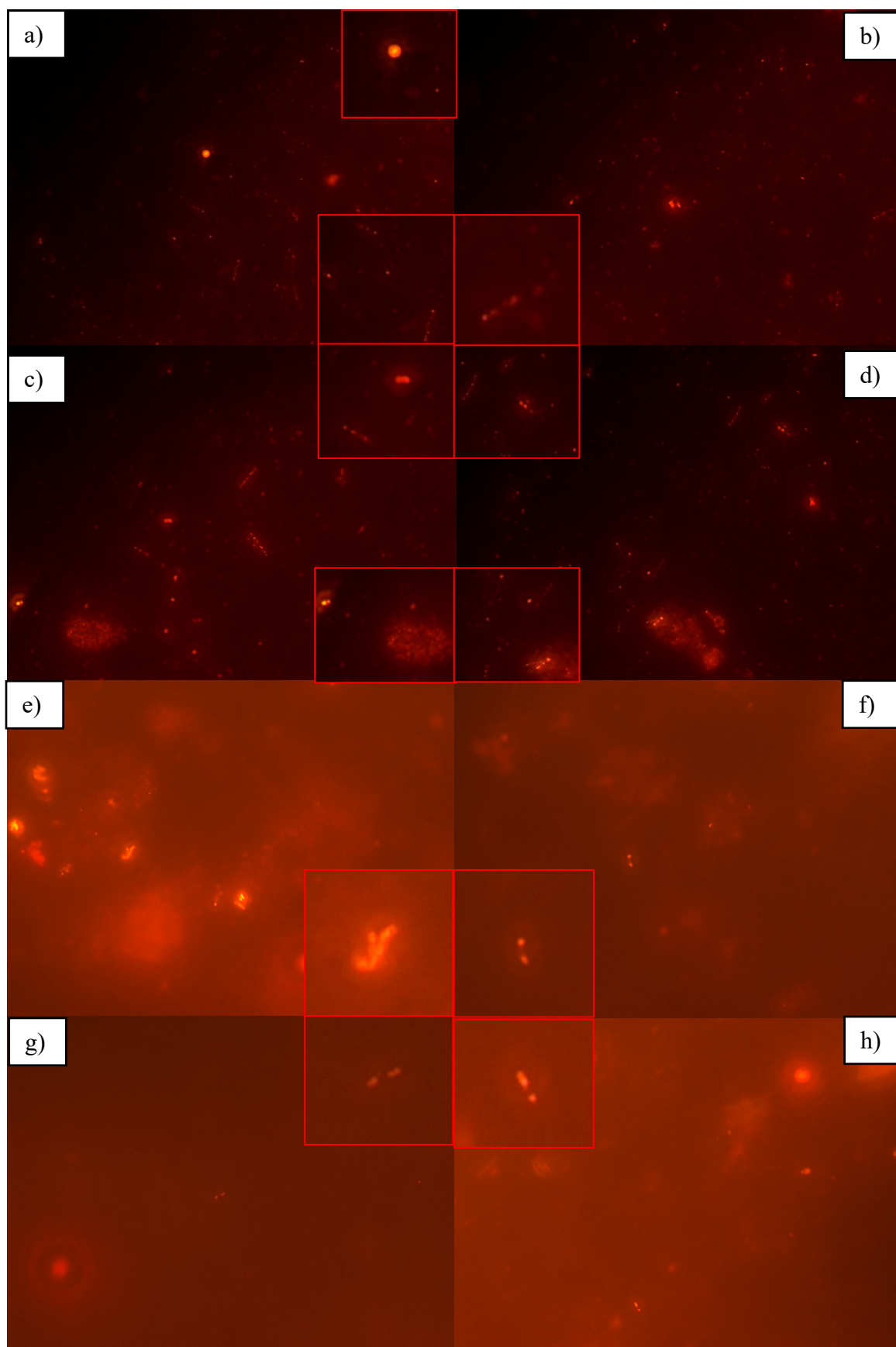


Figura 39. Micrografia com Nile Red de PEAD com *Comamonas* sp PE 63 após 96h de cultivo

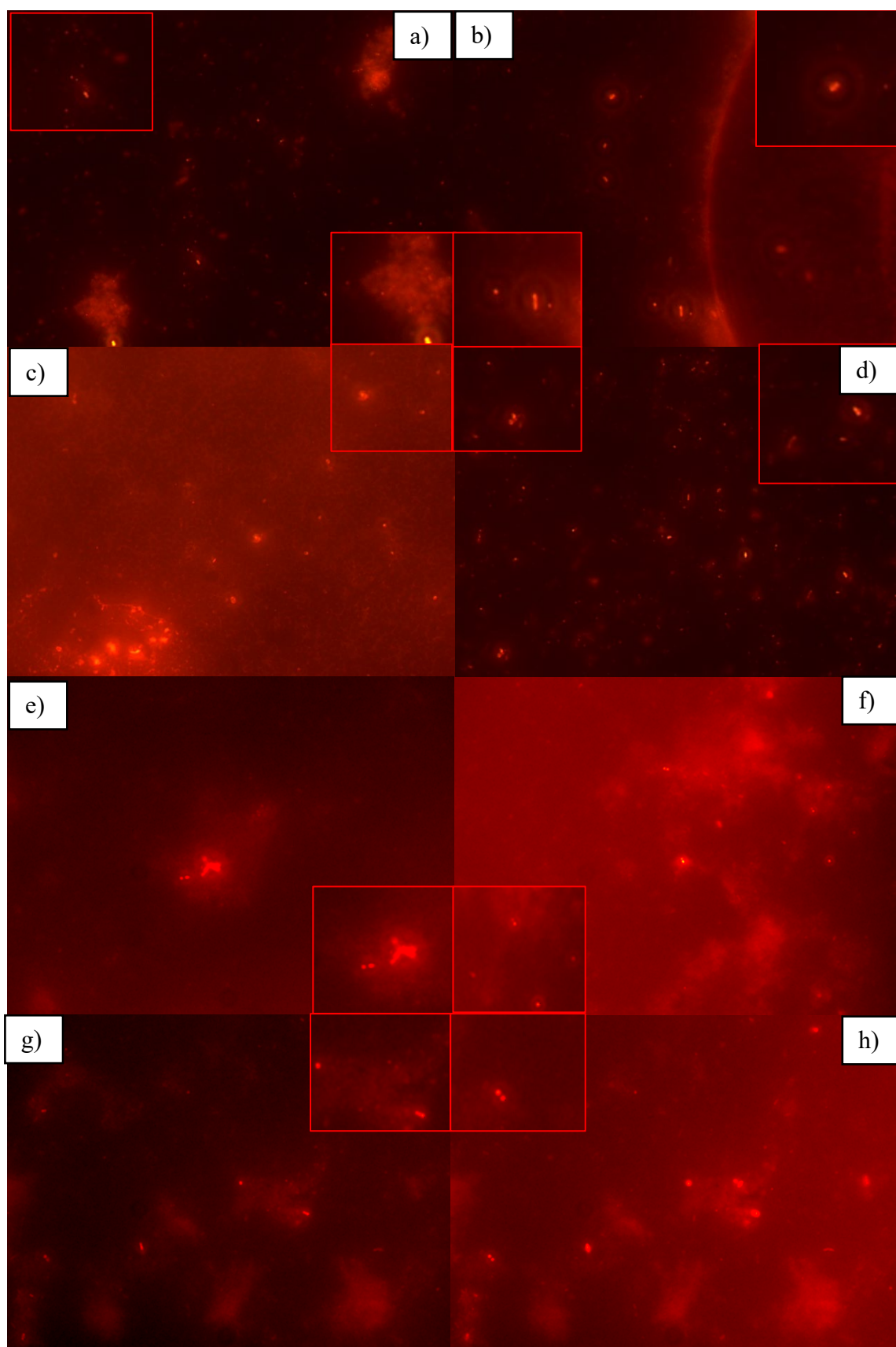


Figura 40. Micrografia com Nile Red de PEBD Ecolife com *Comamonas* sp PE 63 após 96h de cultivo

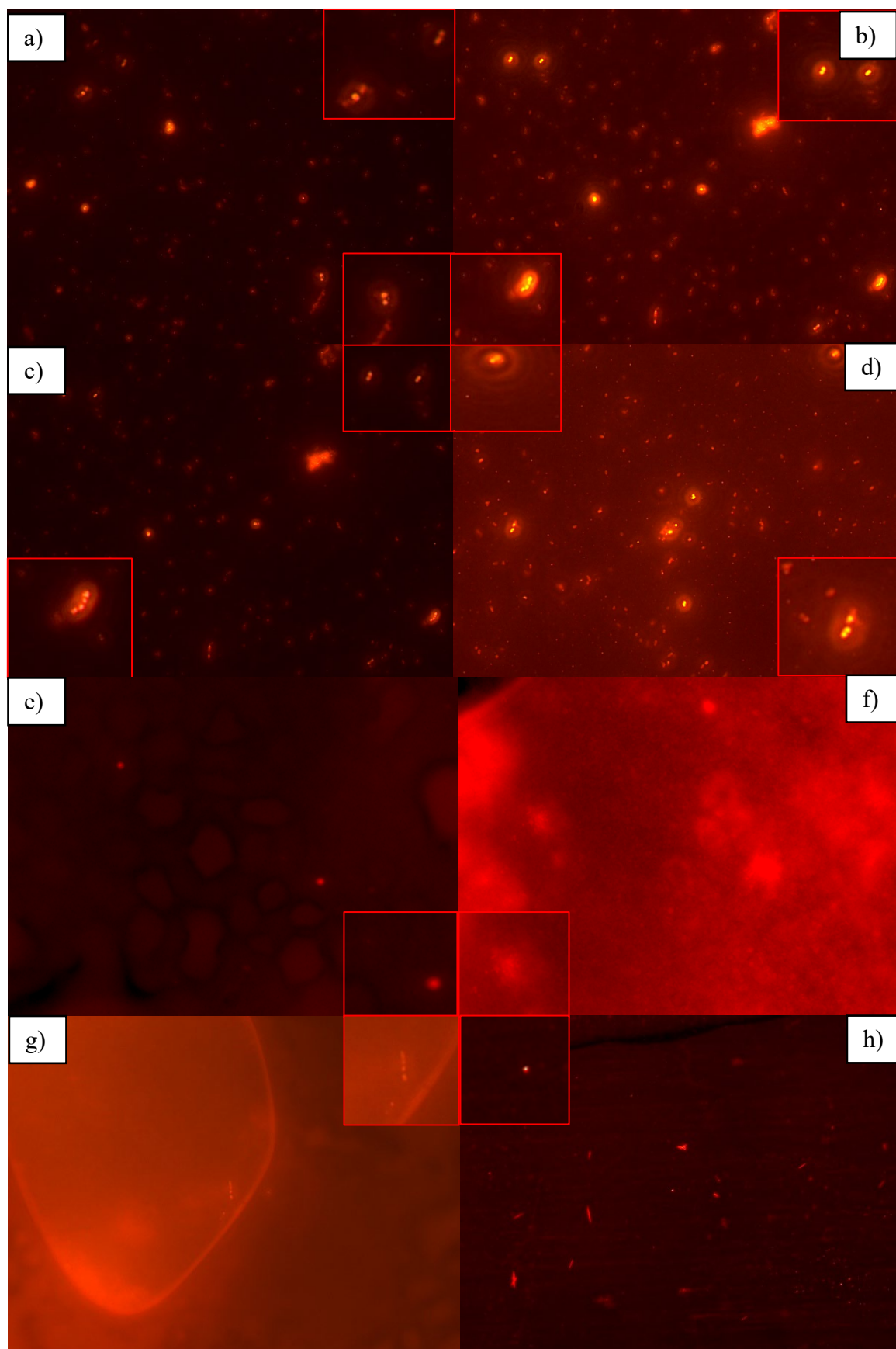


Figura 41. Micrografia com Nile Red de PP com *Comamonas* sp PE 63 após 96h de cultivo

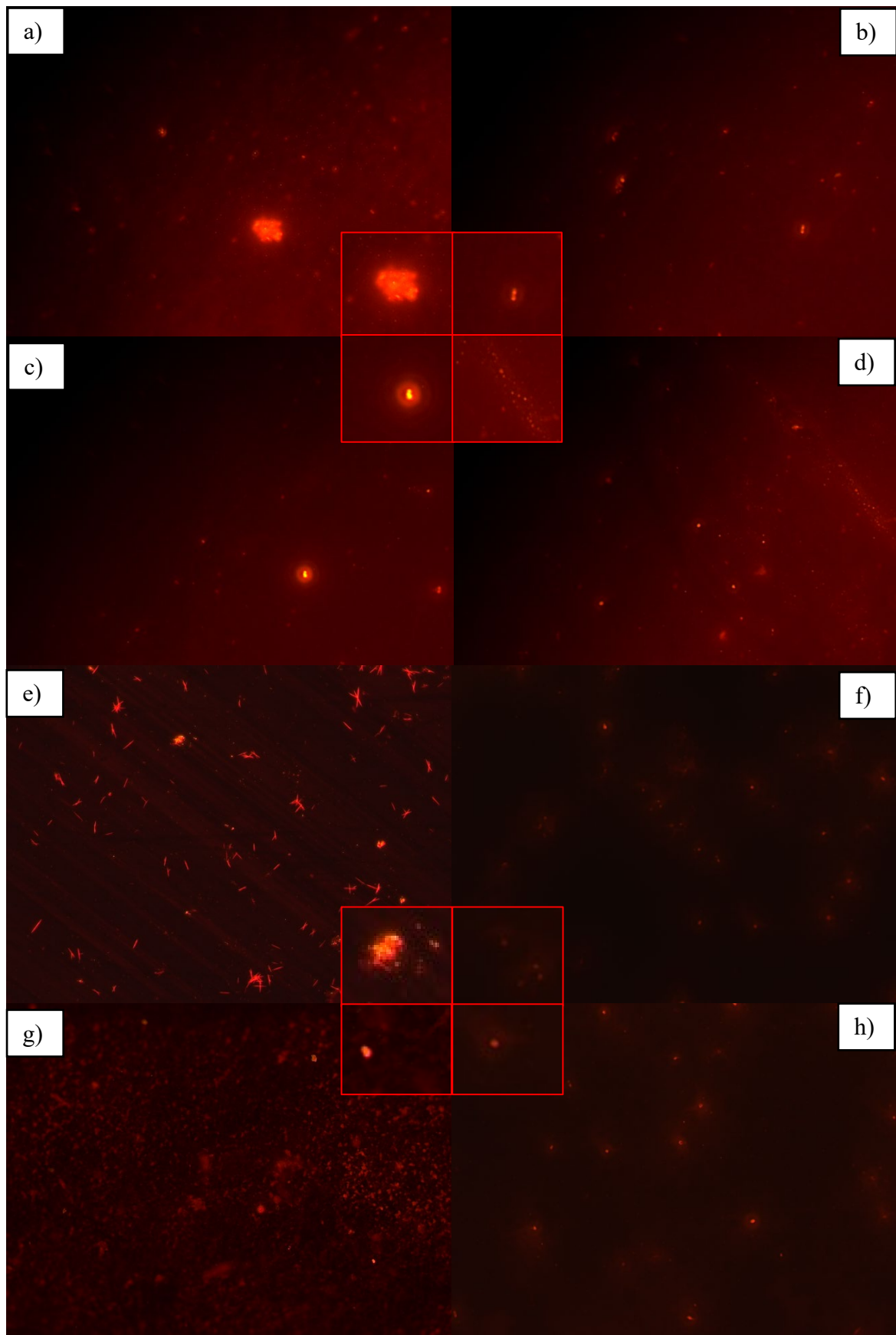


Figura 42. Micrografia com Nile Red de PS expandido com *Comamonas* sp PE 63 após 96h de cultivo

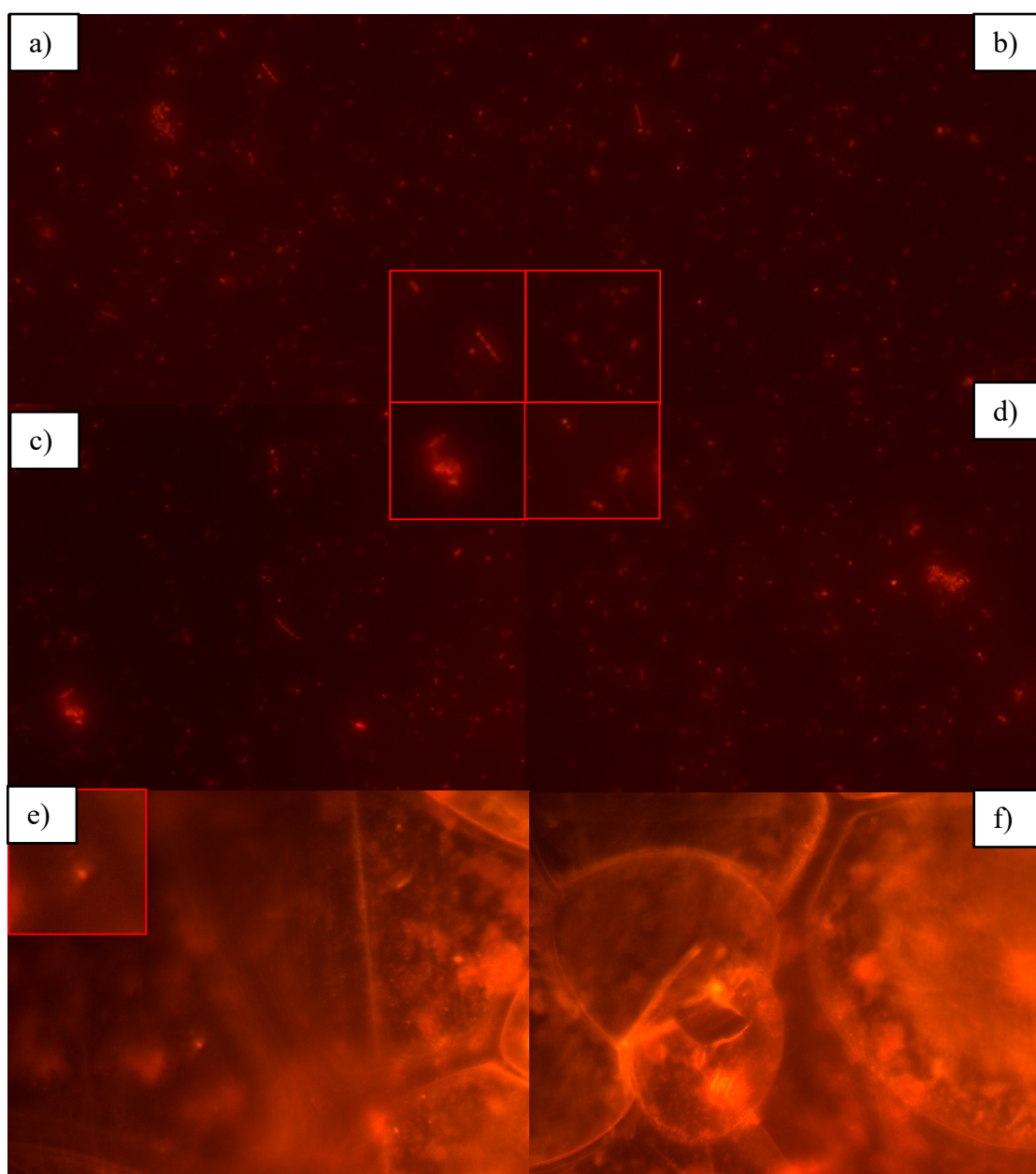
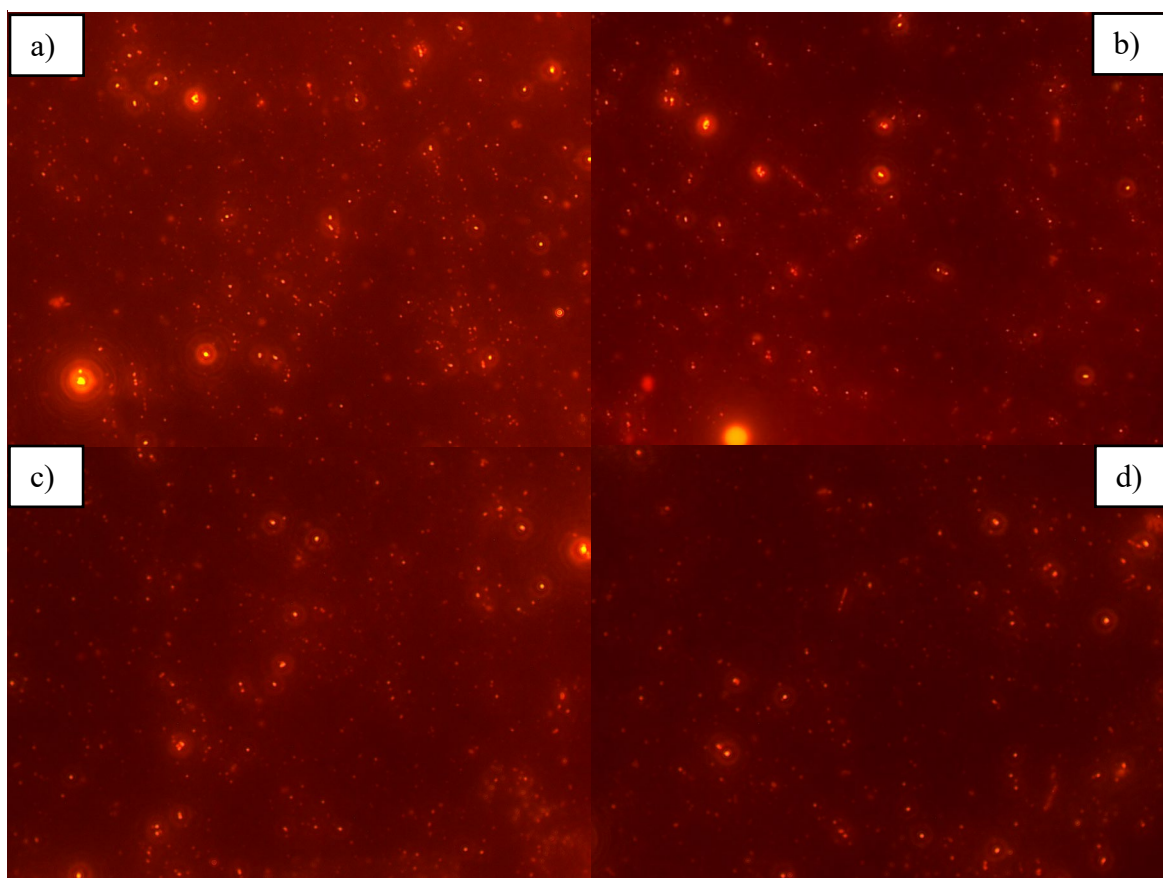


Figura 43. Micrografia com Nile Red de Óleo mineral com *Comamonas* sp PE 63 após 96h de cultivo



13.2.2 Espectroscopia No Infravermelho Por Transformada De Fourier Com Reflectância Total Atenuada (FT-IR ATR)

O FTIR foi utilizado para identificar grupos funcionais presentes no PHA produzido pela *Comamonas brasiliensis brasiliensis*, confirmando a produção do biopolímero utilizando diferentes fontes de carbono, comparando-os ao PHA produzido pelas bactérias controle e pelo PHA de padrão laboratorial (que é produzido a partir de glicose ou ácido graxo). Foi observado no espectro de comparação entre o PHA produzido pelas bactérias controle e PHA padrão, bandas e intensidade semelhantes, sugerindo que o protocolo de extração realizado é eficaz para a extração e purificação do biopolímero. Ao comparar os espectros do PHA produzido pela *Comamonas brasiliensis brasiliensis* a partir de glicose e dos plásticos PEBD, PE, PP e PS expandido, houve moderada influência da fonte de carbono na composição do PHA, entretanto, a técnica não identifica os monômeros que compõe o PHA e nem a sua proporção na cadeia.

Notou-se bandas bem características de PHA nos espectros, o qual foi observada a presença de éster carbonil ($C=O$) na região $1737\text{ cm}^{-1}/1644\text{ cm}^{-1}$. Também foi verificada a presença das bandas 1041 cm^{-1} e 1039 cm^{-1} ($C-O$ estiramento), presente nos espectros com variação de intensidade, enquanto no PHA padrão a intensidade é fraca e a banda é relativamente larga (Koller & Rodríguez-Contreras, 2015). Essa variação pode significar diferença na pureza ou homogeneidade do biopolímero. O espectro também demonstra a presença de uma banda corriqueiramente encontrada em PHA produzido a partir de ácido graxo, uma ligação dupla em 1644 cm^{-1} ($C=C$) (Koller & Rodríguez-Contreras, 2015).

A correspondência dos espectros sugere que a *Comamonas brasiliensis brasiliensis* produz PHA, corroborada pela sua presença através da marcação por *Nile Red*. Nota-se diferenças moderadas entre os biopolímeros produzidos a partir do consumo de plástico, enquanto o PHA produzido a partir do consumo de glicose é um pouco mais similar ao produzido pelas bactérias controle.

Figura 45. Comparação entre os espectros de infravermelho do PHA padrão, PHA produzido a partir do consumo de glicose pelas bactérias controle *P. putida* e *R. eutropha*, e PHA produzido a partir do consumo de glicose pela *Comamonas*

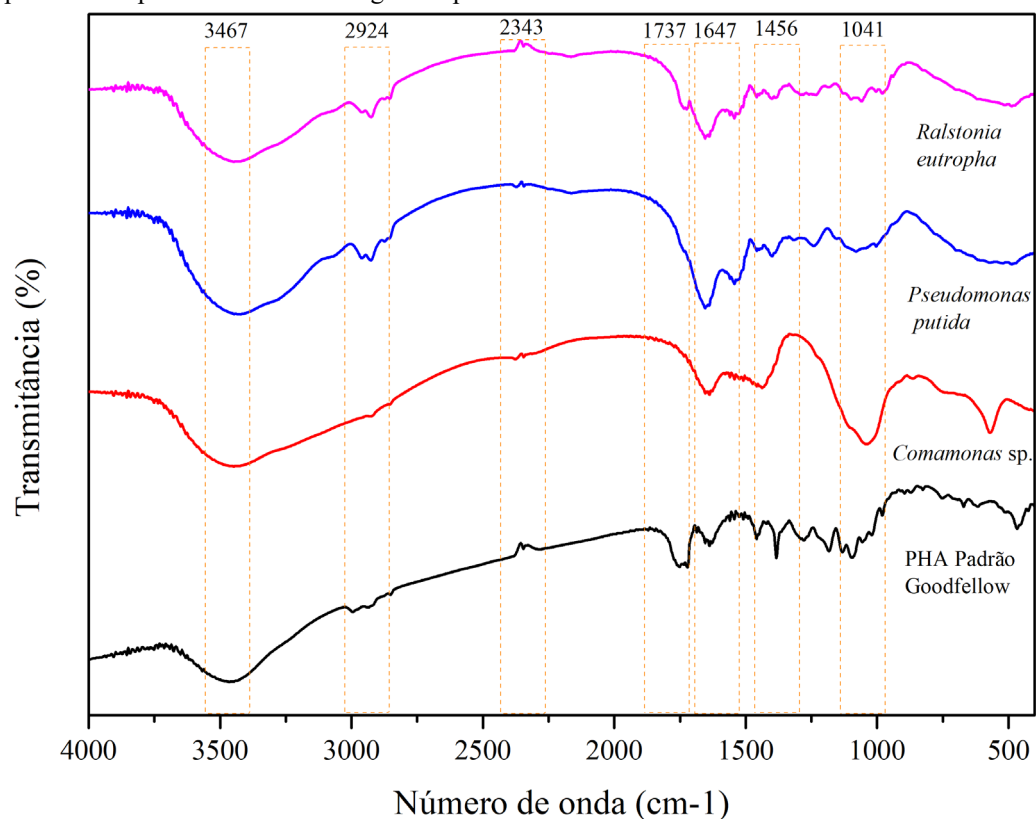


Figura 44. Espectros de infravermelho do PHA produzido a partir do consumo de plásticos pela *Comamonas*

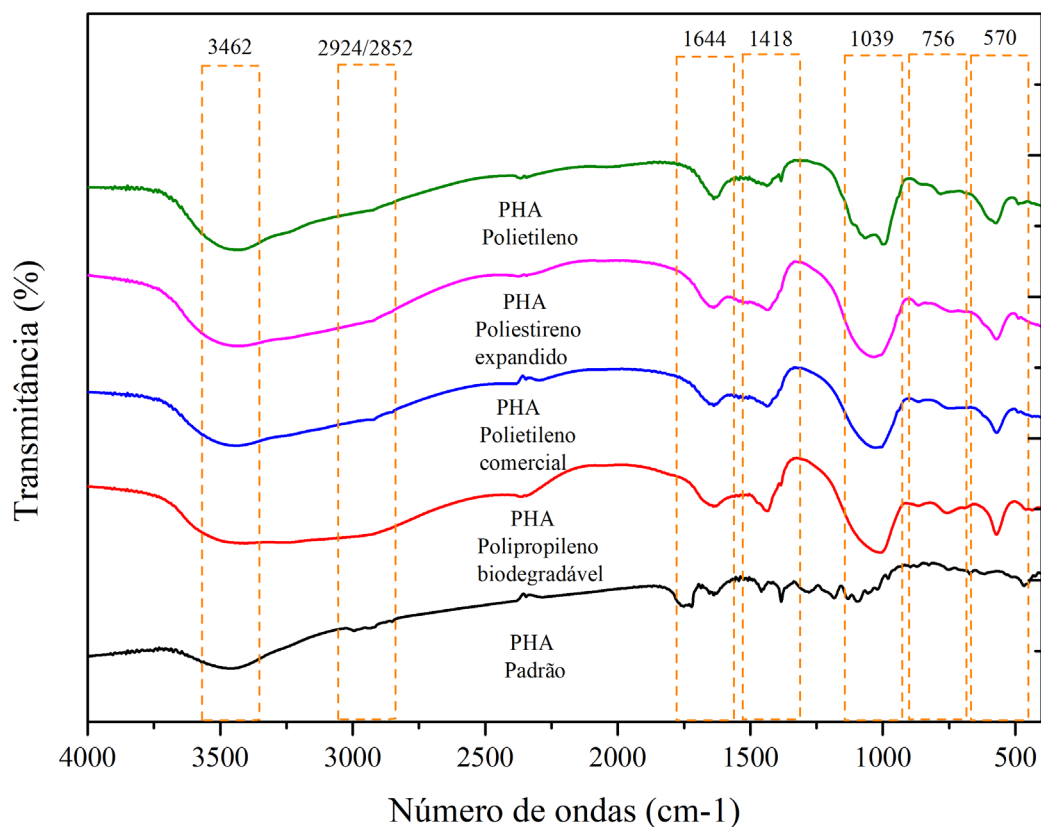


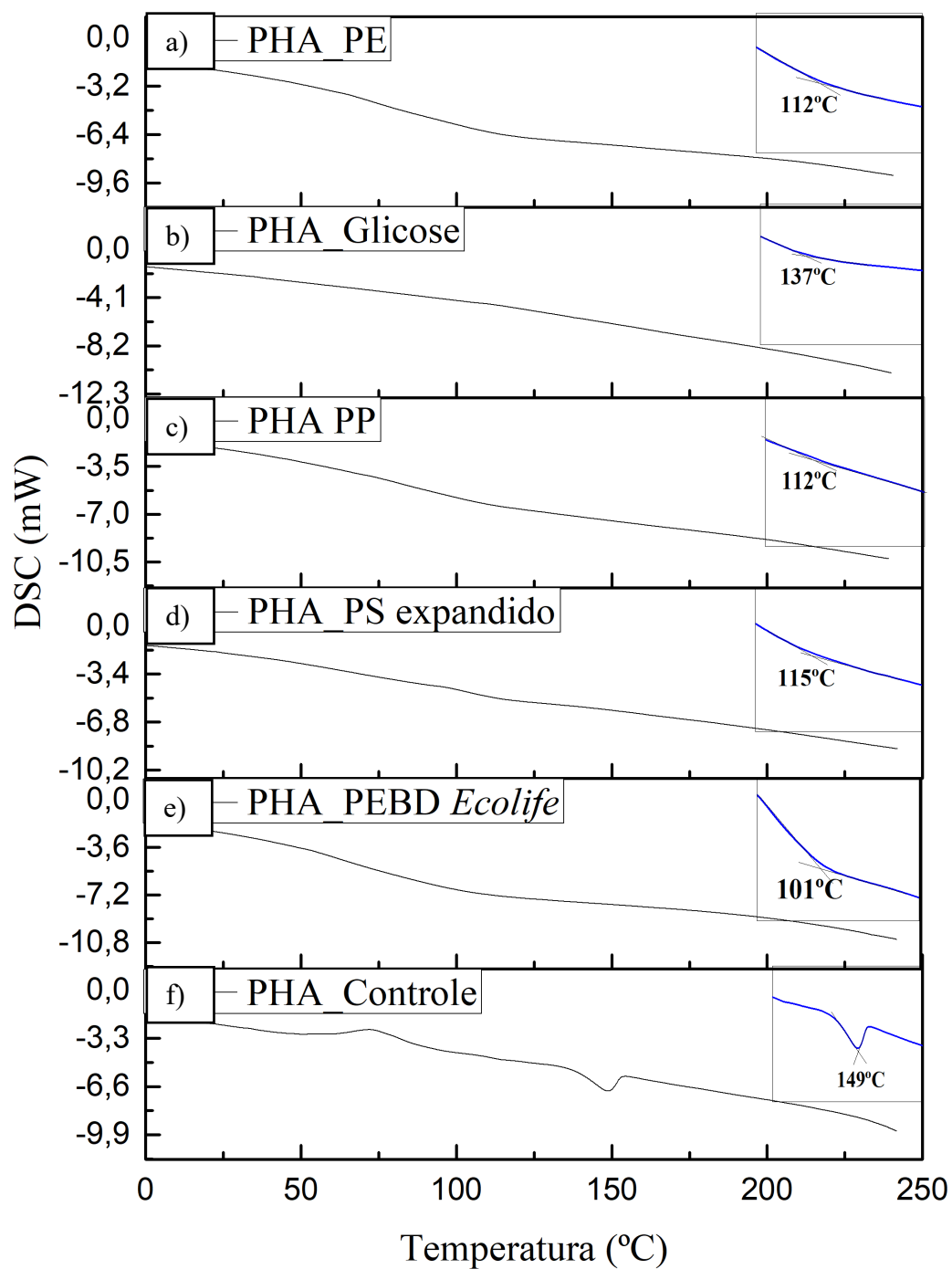
Tabela 11. Picos marcados de azul foram encontrados no PHA dos controles e os picos coloridos em verde, são formações diferentes proveniente do PHA produzido pela *Comamonas brasiliensis* a partir do consumo de plásticos.

Polímero	Picos (cm ⁻¹)						
<i>Ralstonia eutropha</i> <i>Pseudomonas putida</i> Glicose <i>Comamonas brasiliensis</i> Controle PHA	3467 C=O	2924 CH ₂ ou CH ₃ estiramento	2343	1737 C=O estiramento	1456 CH ₃ dobramento	1041 C-O Estiramento	
Plásticos	3467 C=O	2924 CH ₂ ou CH ₃ estiramento	1644 C=C	1418 CH ₃ dobramento	1039 C-O estiramento	756 C-H	570 C-H

13.2.3 Calorimetria Diferencial De Varredura (DSC)

O DSC permite a identificação de materiais, caracterização de temperaturas em eventos térmicos e caracterização de cristalização, apresentando uma curva padrão de acordo com seu grau de cristalização. Materiais amorfos formam curva diferente de materiais semicristalinos, não apresentando temperaturas de ponto de fusão ou cristalização, apenas fornecendo o dado de temperatura vítrea (T_g). A T_g pode ser afetada por qualquer evento que altere a capacidade térmica como a taxa de calor emitida pelo equipamento, a presença de cadeias laterais e monômeros distintos na composição do biopolímero. O PHA produzido a partir dos plásticos, visto na Figura 44, demonstrou T_g próxima a do PHA controle, exibindo padrão de polímero amorfo com curva modesta. A DSC expressa a característica físico-química dos polímeros com transição gradual da *baseline*, não apresentando absorção ou liberação de calor, definindo apenas a mobilidade molecular do material. A linha azul representa a curva de T_g, sinalizando a mudança do estado vítreo para o flexível. No PHA controle observa-se também um pequeno pico em 72°C, antes do T_g, o qual pode indicar uma relaxação da tensão entre as ligações ou liberação de umidade.

Figura 46. Curvas de calorimetria com temperatura de transição vítrea do PHA produzido a partir do consumo de plásticos pelas Comamonas



14. Conclusão

A aderência, formação de biofilme bacteriano com atividade metabólica ativa e sinais microscópicos de degradação foram evidenciados por meio da Microscopia de varredura e ensaio de viabilidade celular (*LiveandDead*). Complementarmente, o ensaio de DCPIP reforçou a capacidade de metabolização do plástico pela bactéria, indicando estado de oxirredução, presentes durante a cadeia transportadora de elétrons.

A análise de FTIR, confirmou a hipótese de utilização do plástico, apresentando alterações físico-químicas significativas nos plásticos biodegradados, como o surgimento de grupos funcionais carbonila (C=O), aldeídos e ésteres (C-O); também houve alteração do TG/DTG, indicando que a massa do plástico biodegradado diferencia-se da massa do plástico controle; já no RMN^{13C} a supressão de picos representativos de átomos de carbono presentes nas moléculas do plástico, sinalizam provável perda ou uma possível assimilação de carbono após a quebra de cadeias poliméricas do plástico pela *Comamonas brasiliensis brasiliensis*. Para a confirmação da assimilação do carbono, seria necessário a análise de material marcado por meio de isótopos, dessa forma o ciclo do consumo do resíduo plástico seria melhor estabelecido, sendo então uma limitação encontrada nesse trabalho.

A produção de PHAs foi analisada por meio da técnica de coloração com *Nile Red*, confirmando a presença de grânulos de poliéster no meio intracelular bacteriano. A caracterização físico-química dos PHAs, feitas com FTIR e DSC demonstraram que o biopolímero produzido pela *Comamonas brasiliensis brasiliensis* apresenta propriedades semelhantes às dos PHAs produzidos pelas bactérias controle e ao PHA de referência, indicando potencial para aplicações comerciais.

Em um cenário global que tem como necessidade soluções para a crise de resíduos plásticos na natureza, este trabalho contribui para o desenvolvimento sustentável demonstrando o papel promissor de bactérias como a *Comamonas brasiliensis brasiliensis*, atuarem como para o desenvolvimento de processo biotecnológico integrado, convergindo a ação remediadora da biodegradação com a transformação de resíduos plásticos em bioplásticos. Esse trabalho se alinha com a atual estratégia científica e comercial de incorporar princípios da economia circular, promovendo o crescimento econômico sustentável, a recuperação de ecossistemas e a valorização de resíduos descartáveis. Além disso, os resultados obtidos contribuem para o avanço no campo da

microbiologia ambiental, destacando o potencial de microrganismos na mitigação de impactos ambientais causados pela poluição.

15. Perspectivas

As evidências apresentadas nesse trabalho, abrem um campo para estudos que visem otimizar e escalar o processo biotecnológico de biorremediação e produção de produto com alto valor agregado. Análise de aceleração de degradação abiótica a baixo custo, reduz o tempo total do processo e acelera a produção do bioplástico, assim como modificações genéticas para aumento de produção de enzimas, podem acelerar o processo de assimilação do nutriente pelo microrganismo.

Uma caracterização mais aprofundada permite compreender se as propriedades do bioplástico atendem às demandas industriais, e se o processo de degradação é passível de transposição da bancada para escalabilidade industrial.

16. Referência

ABBASI, S.; TURNER, A. Human exposure to microplastics: a study in Iran. *Journal of Hazardous Materials*, v. 403, 2021.

AFINKO POLÍMEROS. Fatores que afetam a cristalização de polímeros. Disponível em: <https://afinkopolimeros.com.br/fatores-que-afetam-a-cristalizacao-de-polimeros/>. Acesso em: 2024.

AGÊNCIA CÂMARA DE NOTÍCIAS. Projeto proíbe o uso de plástico descartável a partir de 2022. *Meio Ambiente e Energia*, 2023. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/noticias/686665-projeto-proibe-o-uso-de-plastico-descartavel-a-partir-de-2022>. Acesso em: 16 jan. 2023.

AGÊNCIA SENADO. Projeto incentiva reuso e reciclagem de plástico por meio de economia circular. 2022. Disponível em: <https://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2022/10/10/projeto-incentiva-reuso-e-reciclagem-de-plastico-por-meio-de-economia-circular>. Acesso em: 16 jan. 2023.

ALI, S. S. *et al.* Degradation of conventional plastic wastes in the environment: a review on current status of knowledge and future perspectives of disposal. *Science of The Total Environment*, v. 771, 2021.

ALI, S. S. *et al.* Plastic wastes biodegradation: mechanisms, challenges and future prospects. *Science of The Total Environment*, v. 780, 2021.

CHAMAS, A. *et al.* Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 8, n. 9, p. 3494-3511, 2020.

DODIUK, Hanna (Ed.). *Handbook of thermoset plastics*. William Andrew, 2021.

FOGAÇA, J. R. V. Polímeros de condensação. Disponível em: <https://www.manualdaquimica.com/quimica-organica/polimeros-condensacao.htm>. Acesso em: 2024.

FORD, H. V. *et al.* The fundamental links between climate change and marine plastic pollution. *Science*, 2022.

FOSTER, A.; ROBERTO, S. S.; IGARI, A. T. Economia circular e resíduos sólidos: uma revisão sistemática sobre a eficiência ambiental e econômica. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE GESTÃO EMPRESARIAL E MEIO AMBIENTE, 2016, São Paulo. Anais [...]. São Paulo, 2016.

FREDERICO, T. D. *et al.* Genomic and taxonomic characterization of the *Comamonas brasiliensis* sp. nov., a bacterium isolated from Brazilian Cerrado soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 56, n. 1, p. 137-154, 2025.

FREDI, G.; DORIGATO, A. Recycling of bioplastic waste: a review. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, v. 4, n. 3, p. 159-177, 2021.

GAMA, M. Meta de reciclagem e incineração no Brasil. Disponível em: <https://www.uol.com.br/ecoa/colunas/mara-gama/2022/04/28/meta-de-reciclagem-e-incineracao-no-brasil.htm>. Acesso em: 16 jan. 2023.

GARBIN, F. Q.; DITOMASO, R.; JUNIOR, N. B. Reciclagem do plástico: o caminho para a implementação da economia circular – reeducação do setor produtivo e dos hábitos de consumo. São Paulo: Comissão Econômica para a América Latina e o Caribe, 2020.

GENT, A. N. *et al.* Major industrial polymers. *Encyclopedia Britannica*. Disponível em: <https://www.britannica.com/topic/industrial-polymers-468698>. Acesso em: 19 jan. 2023.

GIBB, Bruce C. Plastics are forever. *Nature Chemistry*, v. 11, n. 5, p. 394-395, 2019.

GORNI, A. A. Introdução aos plásticos. *Revista Plástico Industrial*, v. 10, n. 9, 2003.

GRAGE, K. *et al.* Bacterial polyhydroxyalkanoate granules: biogenesis, structure, and potential use as nano-/micro-beads in biotechnological and biomedical applications. *Biomacromolecules*, v. 10, n. 4, p. 660-669, 2009.

GUPTA, K. K.; DEVI, D. Characteristics investigation on biofilm formation and biodegradation activities of *Pseudomonas aeruginosa* strain ISJ14 colonizing low-density polyethylene (LDPE) surface. *Heliyon*, v. 6, n. 7, 2020.

GUZIK, M. W. *et al.* Conversion of post-consumer polyethylene to the biodegradable polymer polyhydroxyalkanoate. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 98, n. 9, p. 4223-4232, 2014.

HAWAS, J. M. *et al.* Production of bioplastic from some selected bacterial strains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 5, n. 1, p. 10-22, 2016.

HEINRICH, D. *et al.* Large scale extraction of poly(3-hydroxybutyrate) from *Ralstonia eutropha* H16 using sodium hypochlorite. *AMB Express*, v. 2, n. 59, 2012.

HOLANDA, L. N. A tributação ambiental em um contexto de reciclagem de plástico no Brasil. 2022.

HOSLER, D.; BURKETT, S. L.; TARKANIAN, M. J. Prehistoric polymers: rubber processing in ancient Mesoamerica. *Science*, v. 284, p. 1988-1991, 1999.

IBRAHIM, N. I. *et al.* Overview of bioplastic introduction and its applications in product packaging. *Coatings*, v. 11, n. 11, p. 1423, 2021.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). Mobilização global contra o lixo no mar. Brasil, set. 2018. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/9981-mobilizacao-global-contra-o-lixo-no-mar>. Acesso em: 30 dez. 2018.

INBS. Principais leis ambientais brasileiras. Disponível em: <https://inbs.com.br/principais-leis-ambientais-brasileiras-024/>. Acesso em: 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS (IBF). As principais leis ambientais do Brasil. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/conteudo/leis-ambientais>. Acesso em: 2024.

JAFFUR, N.; JEETAH, P.; KUMAR, G. A review on enzymes and pathways for manufacturing polyhydroxybutyrate from lignocellulosic materials. *3 Biotech*, v. 11, p. 1-24, 2021.

JOSEPH, E. *et al.* Fundamentals of polymer biodegradation mechanisms. In: DUSSELIÉ, M.; LANGE, J-P. (Org.). *Polymer Biodegradation*. 2022.

JUMAAH, O. S. Screening of plastic degrading bacteria from dumped soil area. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, v. 11, n. 5, p. 93-98, 2017.

KHAMKONG, T.; PENKHRUE, W.; LUMYONG, S. Optimization of production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from newly isolated *Ensifer* sp. strain HD34 by response surface methodology. *Processes*, v. 10, p. 1632, 2022.

KIM, S. W.; AN, Y-J. Edible size of polyethylene microplastics and their effects on springtail behavior. *Environmental Pollution*, v. 266, 2020.

KOLLER, M.; RODRÍGUEZ-CONTRERAS, A. Techniques for tracing PHA-producing organisms and for qualitative and quantitative analysis of intra- and extracellular PHA. *Engineering in Life Sciences*, v. 15, n. 6, p. 558-581, 2015.

KOOLER, M. The handbook of polyhydroxyalkanoates: microbial biosynthesis and feedstocks. 1. ed. EUA: CRC Press, 2021.

KUBOTA, K. *et al.* Phylogenetic analysis of long-chain hydrocarbon-degrading bacteria and evaluation of their hydrocarbon degradation by the 2,6-DCPIP assay. *Biodegradation*, v. 19, p. 749-757, 2008.

KUMAR, M. *et al.* Bacterial polyhydroxyalkanoates: opportunities, challenges, and prospects. *Journal of Cleaner Production*, v. 263, p. 121500, 2020.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. 10. ed. Philadelphia: Elsevier, 2020.

KYAW, B. M. *et al.* Biodegradation of low-density polythene (LDPE) by *Pseudomonas* species. *Indian Journal of Microbiology*, v. 52, n. 3, p. 411-419, 2012.

LAR PLÁSTICOS. Como se dá a reciclagem dos plásticos? Disponível em: <https://www.larplasticos.com.br/ultimas-noticias/como-se-da-a-reciclagem-de-plasticos/>. Acesso em: 2020.

LEICA MICROSYSTEMS. Short Introduction to Ultramicrotomy. Ultramicrotomy of Sample Preparation for TEM. Disponível em: https://www.leica-microsystems.com/fileadmin/academy/2013/Short_Introduction_to_Ultramicrotomy.pdf. Acesso em: 19 jan. 2023.

LEITÃO, A. Economia circular: uma nova filosofia de gestão para o séc. XXI. *Portuguese Journal of Finance, Management and Accounting*, v. 1, n. 2, p. 149-171, 2015.

LI, M. *et al.* Impacts of polyethylene microplastics on bioavailability and toxicity of metals in soil. *Science of The Total Environment*, v. 760, 2021.

LI, Z. *et al.* Biodegradation of low-density polyethylene by *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31. *Journal of Environmental Management*, v. 263, p. 110402, 2020.

LIAO, Z. *et al.* Airborne microplastics in indoor and outdoor environments of a coastal city in Eastern China. *Journal of Hazardous Materials*, v. 417, 2021.

LUCAS, N. *et al.* Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques – a review. *Chemosphere*, v. 73, n. 4, p. 429-442, 2008.

MACLEOD, M. *et al.* The global threat from plastic pollution. *Science*, v. 373, n. 6550, p. 61-65, 2021.

MADIGAN, M. T. *et al.* Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016.

MAES, T.; JESSOP, R.; WELLNER, N. *et al.* A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, v. 7, p. 44501, 2017.

MIRANDA, Juliana Gomes. Era do plástico. 2010. Monografia (Bacharelado em Comunicação Social - Publicidade e Propaganda) — Faculdades Integradas Hélio Alonso, Rio de Janeiro, 2010.

MITCHELL, S. The birth of fiberglass boats. *The Good Ole Boat*, nov. 1999.

MITRA, R. *et al.* An updated overview on the regulatory circuits of polyhydroxyalkanoates synthesis. *Microbial Biotechnology*, v. 15, n. 5, p. 1446-1470, 2022.

MONTAZER, Z.; HABIBI NAJAFI, M. B.; LEVIN, D. B. Microbial degradation of low-density polyethylene and synthesis of polyhydroxyalkanoate polymers. *Canadian Journal of Microbiology*, 2021.

NAÇÕES UNIDAS. Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. 2024. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 2024.

NAGARKAR, R.; PATEL, J. Polyvinyl alcohol: a comprehensive study. *Acta Scientiarum. Pharmaceutical Sciences*, v. 3, n. 4, p. 34-44, 2019.

O'BRIEN, S. *et al.* Airborne emissions of microplastic fibres from domestic laundry dryers. *Science of the Total Environment*, v. 747, p. 141175, 2020.

OECD ENVIRONMENT STATISTICS. Global Plastics Outlook. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/data/global-plastic-outlook/plastics-use-in-2019_efff24eb-en. Acesso em: 19 jan. 2023.

OECD. Global plastic outlook. Disponível em: <https://www.oecd.org/environment/plastics/>. Acesso em: 16 jan. 2023.

OECD. Plastic pollution is growing relentlessly as waste management and recycling fall short, says OECD. Disponível em: <https://www.oecd.org/environment/plastic-pollution-is-growing-relentlessly-as-waste-management-and-recycling-fall-short.htm>. Acesso em: 19 jan. 2023.

OLIVEIRA, L. M. S. S. Efeito da irradiação gama em misturas de poli (succinato de butileno) e polietilenoglicol. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

ONEN CINAR, S. *et al.* Bioplastic production from microalgae: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 11, p. 3842, 2020.

OUR WORLD IN DATA. Global Plastics Production. Disponível em: <https://ourworldindata.org/grapher/global-plastics-production>. Acesso em: 16 jan. 2023.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. *Introduction to Spectroscopy*. 5. ed. EUA: Cengage Learning, 2015.

PEACOCK, A. *Handbook of Polyethylene: structures, properties, and applications*. EUA, 2000.

PEIXOTO, F. B. S. *et al.* Assessment of petroleum biodegradation for *Bacillus toyonensis* by the using redox indicator 2,6 dichlorophenol indophenol. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 40, 2018.

PEIXOTO, J. B.; SILVA, L. P.; KRÜGER, R. H. Brazilian Cerrado soil reveals an untapped microbial potential for unpretreated polyethylene biodegradation. *Journal of Hazardous Materials*, v. 324, pt. B, p. 634-644, fev. 2017.

PEIXOTO, J. T. Estudo do metabolismo de polietileno: desvendando as estratégias metabólicas microbianas envolvidas na biodegradação de plásticos. 2018. 202 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

PETROBRAS. Refino: tecnologia que cria várias soluções com uma única matéria-prima. Disponível em: <https://petrobras.com.br/quem-somos/refino>. Acesso em: 2024.

PLASTICS EUROPE. Plastics – The facts 2022. Disponível em: <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/>. Acesso em: 16 jan. 2023.

PLASTICS EUROPE. The compelling facts about plastics: analysis of plastics production, demand and recovery for 2006 in Europe. Jan. 2008. Disponível em: https://www.plasticseurope.org/application/files/2815/1689/9283/2006compelling_fact_PubJan2008.pdf. Acesso em: 30 dez. 2018.

POLYMER SCIENCE LEARNING CENTER. Disponível em: <https://www.pslc.ws/macrog/urethane.htm>. Acesso em: 2024.

PRATA, J. C. *et al.* Selection of microplastics by Nile Red staining increases environmental sample throughput by micro-Raman spectroscopy. *Science of The Total Environment*, v. 783, 2021.

PRIETO, A. *et al.* A holistic view of polyhydroxyalkanoate metabolism in *Pseudomonas putida*. *Environmental Microbiology*, v. 18, n. 2, p. 341-357, 2016.

RAGUSA, A. *et al.* Plasticenta: first evidence of microplastics in human placenta. *Environment International*, v. 146, p. 106274, 2021.

RAIO-X DOS RESÍDUOS NA COSTA BRASILEIRA: descobertas da 1ª Expedição Ondas Limpas na Estrada. São Paulo, SP, Brasil, 2024. Disponível em: https://seashepherd.org.br/files/relatorio_olne.pdf. Acesso em: 2024.

RAJA, V. *et al.* Novel approach in biodegradation of synthetic thermoplastic polymers: an overview. *Polymers*, v. 14, n. 20, p. 4271, 2022. DOI: 10.3390/polym14204271.

RENNER, L. D.; WEIBEL, D. B. Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS Bulletin*, v. 36, n. 5, p. 347-355, 2011.

RETAPRENE. Poliuretano. Disponível em: <https://www.retaprene.com.br/poliuretano/>. Acesso em: 2024.

RHODES, C. J. Plastic pollution and potential solutions. *Science Progress*, v. 101, n. 3, p. 207-260, 2018.

RITCHIE, H.; ROSER, M. Plastic pollution. *Our World in Data*, 2018.

RITTER, C. Estresse oxidativo e desenvolvimento de doenças inflamatórias agudas: possível papel terapêutico de antioxidantes. 2007.

RODRIGUEZ, F. Plastic. *Encyclopedia Britannica*. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/plastic>. Acesso em: 19 jan. 2023.

ROESSLE, M. Luebeck University of Applied Science - EMBO Course 2012. Disponível em: <https://www.embl-hamburg.de/biosaxs/courses/embo2012/slides/x-ray-scattering-basics-roessle.pdf>. Acesso em: 2024.

ROUSSAK, O. V.; HYMAN, D.; GESSER, H. Polymers and plastics. In: _____. *Advanced Materials*. p. 191-217, 2011. DOI: 10.1007/978-1-4614-4262-2_1.

RUDOLPH, D.; DEANIN, J.; MEAD, J. Synthetic resins and plastics. In: _____. *Advanced Materials*. p. 623-688, 2011. DOI: 10.1007/978-0-387-27843-8_15.

SANTOS, I. R. Plásticos na dieta da vida marinha. *Ciência Hoje*, v. 39, n. 230, p. 50-51, set. 2006.

SAUER, K. *et al.* The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*, v. 20, n. 10, p. 608-620, 2022.

SECRETARIA DE RELAÇÕES INTERNACIONAIS DO GDF. Agenda 2030: Objetivos do Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: <https://www.internacional.df.gov.br/agenda-2030-objetivos-do-desenvolvimento-sustentavel/>. Acesso em: 2021.

SELONKE, M. M. *et al.* Estudo da termo-oxidação do polietileno de baixa densidade reprocessado por extrusão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 10., 2009, Foz do Iguaçu. *Anais [...]*. Foz do Iguaçu, PE, 2009. Disponível em: <https://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2009/PDF/840.pdf>. Acesso em: jul. 2024.

SHILPA, B. N.; MEENA, S. S. Microbial biodegradation of plastics: challenges, opportunities, and a critical perspective. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, v. 16, n. 12, p. 161, 2022.

SIVAN, A.; SZANTO, M.; PAVLOV, V. Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 72, p. 346-352, 2006.

SONG, J. H.; MURPHY, R. J.; NARAYAN, R.; DAVIES, G. B. H. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, v. 364, n. 1526, p. 2127-2139, jul. 2009.

SPIEKERMANN, P.; REHM, B. H.; KALSCHEUER, R.; BAUMEISTER, D.; STEINBÜCHEL, A. A sensitive, viable-colony staining method using Nile red for direct screening of bacteria that accumulate polyhydroxyalkanoic acids and other lipid storage compounds. *Archives of Microbiology*, v. 171, p. 73-80, 1999.

STEVENS, M. P. Chemistry of industrial polymers. *Encyclopedia Britannica*. Disponível em: <https://www.britannica.com/topic/industrial-polymer-chemistry-468716>. Acesso em: 19 jan. 2023.

STOODLEY, P.; BOYLE, J. D.; DEBEER, D.; LAPPIN-SCOTT, H. M. Evolving perspectives of biofilm structure. *Biofouling*, v. 14, n. 1, p. 75-90, 1999.

STURM, M. T.; HORN, H.; SCHUHEN, K. The potential of fluorescent dyes—comparative study of Nile red and three derivatives for the detection of microplastics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 413, p. 1059-1071, 2021.

TAN, G. Y. A.; CHEN, C. L.; LI, L.; GE, L.; WANG, L.; RAZAAD, I. M. N. *et al.* Start a research on biopolymer polyhydroxyalkanoate (PHA): a review. *Polymers*, v. 6, n. 3, p. 706-754, 2014.

THOMPSON, R. C.; MOORE, C. J.; VOM SAAL, F. S.; SWAN, S. H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, v. 364, n. 1526, p. 2153-2166, jul. 2009.

THUSHARI, G. G. N.; SENEVIRATHNA, J. D. M. Plastic pollution in the marine environment. *Heliyon*, v. 6, n. 8, 2020.

TOURNIER, V. *et al.* Enzymes' power for plastics degradation. *Chemical Reviews*, v. 123, n. 9, p. 5612-5701, 2023.

TOYOFUKU, M.; INABA, T.; KIYOKAWA, T.; OBANA, N.; YAWATA, Y.; NOMURA, N. Environmental factors that shape biofilm formation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 80, n. 1, p. 7-12, 2016.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO. 4º maior produtor de lixo plástico do mundo, Brasil é o que menos recicla. Disponível em: <https://portais.univasf.edu.br/sustentabilidade/noticias-sustentaveis/4o-maior-produtor-de-lixo-plastico-do-mundo-brasil-e-o-que-menos-recicla>. Acesso em: 19 jan. 2023.

URBANEK, A. K.; RYMOWICZ, W.; MIRONCZUK, A. M. Degradation of plastics and plastic-degrading bacteria in cold marine habitats. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 102, n. 18, p. 7669-7678, jul. 2018.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP). Departamento de Microbiologia. Polihidroxialcanoatos, o plástico verde e suas propriedades moldáveis. Disponível em: <http://microbiologia.icb.usp.br/cultura-e-extensao/textos-de-divulgacao/biotecnologia-e-inovacao/bioprodutos/pha-plastico-biodegradavel/polihidroxialcanoatos-o-plastico-verde-e-suas-propriedades-moldaveis/>. Acesso em: 5 jan. 2018.

VENKATACHALAM, H.; PALANISWAMY, R. Bioplastic world: a review. *Journal of Advanced Scientific Research*, v. 11, n. 3, p. 43-53, 2020.

VIDAL-MAS, J.; RESINA-PELFORT, O.; HABA, E.; COMAS, J.; MANRESA, A.; VIVES-REGO, J. Rapid flow cytometry–Nile red assessment of PHA cellular content and heterogeneity in cultures of *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 (NCIB 40044) grown in waste frying oil. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 80, p. 57-63, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dietary and inhalation exposure to nano-and microplastic particles and potential implications for human health. World Health Organization, 2022.

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. *Environmental Science and Technology*, v. 48, n. 23, p. 13776-13784, 2014.

YANG, Y.; YANG, J.; WU, W. M.; ZHAO, J.; SONG, Y.; GAO, L. *et al.* Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: Part 1. Chemical and physical characterization and isotopic tests. *Environmental Science & Technology*, v. 49, n. 20, p. 12080-12086, 2015.

ZHANG, H.; LIU, Y.; YAO, C.; CAO, X.; TIAN, J.; XUE, S. FabG can function as PhaB for poly-3-hydroxybutyrate biosynthesis in photosynthetic cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Bioengineered*, v. 8, n. 6, p. 707-715, 2017.

ZHANG, N. *et al.* You are what you eat: microplastics in the feces of young men living in Beijing. *Science of The Total Environment*, v. 767, 2021.

ZHANG, Y.; PEDERSEN, J. N.; ESER, B. E.; GUO, Z. Biodegradation of polyethylene and polystyrene: from microbial deterioration to enzyme discovery. *Biotechnology Advances*, v. 60, p. 107991, 2022.

ZURIANI, R.; VIGNESWARI, S.; AZIZAN, M. N. M.; MAJID, M. I. A.; AMIRUL, A. A. A high throughput Nile red fluorescence method for rapid quantification of intracellular bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, v. 18, p. 472-478, 2013.



GENOME SEQUENCES



Draft Genome Sequence of *Stenotrophomonas maltophilia* Strain PE591, a Polyethylene-Degrading Bacterium Isolated from Savanna Soil

Tayná Diniz Frederico,^a Julianna Peixoto,^a Jéssica Fernandes de Sousa,^a Carla Simone Vizzotto,^{a,b} Andrei Stecca Steindorff,^c Otávio Henrique Bezerra Pinto,^a Ricardo Henrique Krüger^a

^aEnzymology Laboratory, Department of Cell Biology, University of Brasília, Brasília, Brazil

^bDepartment of Civil and Environmental Engineering, University of Brasília, Brasília, Brazil

^cU.S. Department of Energy Joint Genome Institute, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, California, USA

Tayná Diniz Frederico and Julianna Peixoto contributed equally to this work. Author order was determined by equal contribution on the DNA sequencing efforts and final data analysis.

ABSTRACT We report the genome sequence of a polyethylene-degrading bacterial strain identified as *Stenotrophomonas maltophilia* strain PE591, which was isolated from plastic debris found in savanna soil. The genome was assembled in 16 scaffolds with a length of 4,751,236 bp, a GC content of 66.5%, and 4,432 predicted genes.

Stenotrophomonas maltophilia strain PE591 was isolated from plastic debris found in the soil of the Brazilian Cerrado biome (1). The strain showed both metabolic activity and cellular viability after incubation with unpretreated polyethylene (PE) (molecular weight, 191,000) films as the sole carbon source for periods of up to 90 days (1). Moreover, *S. maltophilia* PE591 was capable of inducing significant physicochemical changes in PE after a 90-day incubation, revealing its great potential for plastic biodegradation processes (1). The *Stenotrophomonas* genus currently comprises 20 species, and its first species, *S. maltophilia*, was described in 1993 (2–4). *S. maltophilia* is a Gram-negative, obligate aerobic, rod-shaped, and motile bacterium that is considered to be an important human pathogen (5). *Stenotrophomonas* species are ubiquitous microorganisms that colonize multiple natural (e.g., soils and plants) and clinical environments (6, 7). In addition, *Stenotrophomonas* spp. may have resistance to different metals and antibiotics; therefore, they qualify as promising microorganisms for bioremediation applications (6).

S. maltophilia strain PE591 was grown in 5 ml of nutrient broth medium (Difco, Holland) and incubated for 24 h at 28°C with agitation (150 × g). Subsequently, cells were harvested by centrifugation at 5,500 × g for 5 min at 4°C. Bacterial DNA was purified using the GenElute bacterial genomic DNA kit (Sigma-Aldrich, USA). A sequencing library was created using the MiSeq reagent kit (Illumina, San Diego, CA) according to the manufacturer's instructions, the MiSeq system user guide, revision L (part number 15027617; Illumina), was used in the sequencing protocol, and genome sequencing was performed with the Illumina MiSeq system (2 × 300-bp paired-end reads) (Macrogen, Seoul, South Korea). The resultant reads were subjected to quality analysis using FastQC software v. 0.11.3 (8). Sequence reads were *de novo* assembled following the A5-miseq pipeline, which includes Trimmomatic v. 0.35 to trim low-quality sequences (Phred scores of <20) and IDBA-UD v. 1.1.1 to assemble contigs (9–11). The package Stats from BBmap v. 38.76 was used to generate assembly statistics (12). The genome was annotated with Prokka v. 1.14.6 using the UniProt database (13). The completeness and contamination of genomic data were estimated by CheckM v. 1.0.13 (14). Coverage was assessed with SAMtools v. 1.9, Bowtie2 v. 2.3.4.1, and the package Pileup from BBmap v. 38.76 (12, 15, 16). Default parameters were used for all software unless otherwise noted. Finally, the

Citation Frederico TD, Peixoto J, de Sousa JF, Vizzotto CS, Steindorff AS, Pinto OHB, Krüger RH. 2021. Draft genome sequence of *Stenotrophomonas maltophilia* strain PE591, a polyethylene-degrading bacterium isolated from savanna soil. Microbiol Resour Announc 10:e00490-21. <https://doi.org/10.1128/MRA.00490-21>.

Editor Frank J. Stewart, Montana State University

Copyright © 2021 Frederico et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

Address correspondence to Ricardo Henrique Krüger, kruger@unb.br.

Received 19 May 2021

Accepted 9 July 2021

Published 12 August 2021

Eco-friendly Development of New Biodegradable and Renewable Polymers Based on Di(meth)Acrylated and Acrylamidated Monomers Derived from Limonene Dioxide

Original Paper | Published: 19 September 2024

Volume 32, pages 6576–6602, (2024) [Cite this article](#)

Thainá Araruna, Jéssica F. Sousa, Ricardo H. Kruger, Angelo H. L. Machado & Fabricio Machado 

 284 Accesses  3 Altmetric [Explore all metrics](#) →

Abstract

In this work, new biobased polymeric materials were synthesized using interesting limonene-based multifunctional monomers as building blocks: the tetrafunctional 2,8-dihydroxy-1,9-diacrylate and 2,8-dihydroxy-1,9-dimethacrylate, and the trifunctional 2-hydroxy-1-acrylamide. These monomers were prepared by the addition reaction between the diepoxidized limonene and (meth)acrylic acid or *N*-hydroxyethyl acrylamide. The complete conversion of unsaturations of limonene into epoxides, as well as the formation of monomers, were confirmed by Nuclear Magnetic Resonance analysis of proton and carbon (^1H and ^{13}C NMR), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Mass Spectrometry (ESI-MS). The monomeric products were polymerized via miniemulsion polymerization with different initiators and co-stabilizers, resulting in new poly(meth)acrylates and polyamide polymers, which is a hydrogel. The polymers showed a high degree of crosslinking, porosity and good thermal properties characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), FTIR, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA). In addition, the polymeric materials were tested to evaluate the formation of biofilm by the action of *Comomanoas* sp, whose results indicated that the synthesized new biobased polymers are susceptible to biodegradation.

Genomic and taxonomic characterization of the *Comamonas* sp. nov., a bacterium isolated from Brazilian Cerrado soil

Environment and Biodiversity – Research Paper | Published: 22 November 2024

(2024) [Cite this article](#)

T. D. Frederico, I. C. Cunha-Ferreira, C. S. Vizzotto, J. F. de Sousa, M. M. Portugal, M. R. Tótola, R. H. Krüger

✉ & J. Peixoto ✉

 161 Accesses  1 Altmetric [Explore all metrics](#) →

Abstract

A novel strain identified as *Comamonas* sp. was isolated from the soil of the Brazilian savanna-like Cerrado biome, a global hotspot for biodiversity. Phylogenetic analysis based on 16 S rRNA gene sequences showed that this strain is classified as *Betaproteobacteria* from the family *Comamonadaceae*. The digital DNA–DNA hybridization (dDDH) and Average Nucleotide Identity (ANI) results, of respectively 48.6% and < 93%, indicated that *Comamonas* sp. consists in a new species with *Comamonas testosteroni* as its closest strain. *Comamonas* sp. is a Gram-negative, rod-shaped, and non-spore-forming bacterium. Its colonies typically exhibit a round, convex, and irregular shape with a clear color and spotted edges. It is characterized as non-fermenting, aerobic, and motile, presenting both oxidase and catalase activities. The optimal growth parameters for this bacterial strain are 30 °C, a pH range of 5–8, and 0% NaCl. In addition, its fatty acid profile included palmitic acid (C_{16:0}) at 26.94%, 13-Methyltetradecanoic Acid (iso-C_{15:0}) at 10.94%, myristic acid (C_{14:0}) at 8.94%, and a summed feature comprising 16:1 ω7c, 16:1 ω6c, or 16:1 at 15.8%. Genomic analysis of *Comamonas* sp. revealed a GC content of 62.1% across its 5.6 Mb genome. Phylogenomic and pangenome analyses, along with *in silico* phenotypic characterization indicate that this strain represents a novel species within the *Comamonas* genus, which we propose to name *Comamonas brasiliensis* nov.



INTERPRETAÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS EM ENFERMAGEM



LUIS FUCHIA DA SILVA

Formado em Biomedicina (bacharelado) pelo Centro Universitário de Brasília em 2015. Tem experiência na área de análises clínicas, com ênfase em consultoria laboratorial e também em de pesquisa na área de oncologia molecular com experiência em cultivo de células humanas. Também possui especialização em Biologia Molecular. Concluiu o mestrado pelo Programa de Pós-Graduação Ciências Genômicas e Biotecnologia em 2018. Atualmente, é analista em um laboratório particular e professor do curso Técnico de Análises Clínicas pela Secretaria de Educação do GDF e da Faculdade Unyleya.

Jéssica Fernandes Sousa

Formada em Biomedicina (bacharelado) pelo Centro Universitário de Brasília em 2016. Durante o período acadêmico realizou iniciações científicas em Biologia Molecular e Biotecnologia, o que a tornou apaixonada por essa área. Também atuou em laboratório de análises clínicas. Concluiu mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana da Universidade de Brasília em 2018 e especialização em Biomedicina Estética em 2019. Atualmente, é aluna de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana da Universidade de Brasília e leciona esporadicamente na Escola de Saúde Unyleya.

Produção

Equipe Técnica de Avaliação, Revisão Linguística e
Editoração