



AVALIAÇÃO DA DEGRADABILIDADE ENZIMÁTICA E MICROBIANA DE POLÍMERO OBTIDO DE FONTES RENOVÁVEIS

Joceane Azolim¹, Bernard Schmidt Kremer Feldberg¹, Vanessa Meneghini¹, Camila Michels¹, Cristiane da Costa^{1,2*}

1 - Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC.

2 - Departamento de Engenharia Têxtil (DET), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Rua João Pessoa, 2514, Blumenau, CEP 89036004, SC. cristiane.costa@ufsc.br

RESUMO

Os polímeros biodegradáveis são alternativas promissoras na questão acerca do acúmulo de resíduos sólidos que, em sua maioria, são materiais não biodegradáveis. Para alcançar tal característica, há necessidade da condução de diferentes estudos, além da aplicação de metodologias eminentes de avaliação. Neste trabalho, a degradação enzimática e o sistema Oxitop foram utilizados para avaliar a perda de massa, DBO e percentual de biodegradação de um poli (tioéter-éster) oriundo de fonte renovável. Os ensaios foram realizados isoladamente e combinados: degradação enzimática seguida de biodegradação. A unificação destas metodologias teve como propósito acentuar a taxa de degradação. Os resultados deste estudo mostraram uma alta perda de massa de 32% em apenas 10 dias de degradação enzimática, e uma biodegradabilidade em lodo ativado de 30%, classificada como intermediária em relação ao controle do procedimento que atingiu 60%. Tais resultados revelam a necessidade de aplicação de metodologias de avaliação após o desenvolvimento de materiais, uma vez, que a taxa de degradação depende das características inerentes do material.

Palavras-chave: Polímero; Biodegradabilidade; degradabilidade enzimática; fonte renovável; Oxitop;

INTRODUÇÃO

Os polímeros biodegradáveis são alternativas promissoras para solução do problema global de acúmulo de resíduos sólidos que são materiais não biodegradáveis. Os materiais poliméricos duradouros e de alta persistência no meio ambiente são essenciais em algumas aplicações, como em obras hidráulicas e tubulações. No entanto, a grande maioria dos polímeros produzidos são utilizados num curto prazo, sendo descartados de forma descontrolada e acumulando-se na natureza por longos períodos de tempo. O impacto dos resíduos sólidos no meio ambiente tornou-se pauta de questões públicas, além de razão para condução de estudos e ensaios de biodegradação⁽⁵⁾.

Existem muitas metodologias para testar a biodegradabilidade de materiais poliméricos, que podem ser encontradas em organizações de padronização e na literatura. Os testes de laboratório são alternativas eficientes para medir a biodegradabilidade, visto que permitem o ajuste e controle de parâmetros⁽⁷⁾. Destaca-se que o processo de biodegradação do

material está diretamente relacionado com a estrutura química, hidrofobicidade, cristalinidade, morfologia, peso molecular, entre outras características. Estes ensaios auxiliam na análise dos fatores determinantes do processo⁽³⁾.

Neste trabalho, um poli (tioéter-éster) de forma sólida, sintetizado a partir de monômeros de origem renovável (óleo de mamona e amido), foi estudado para analisar a perda de massa, DBO e percentual de biodegradação. Estes monômeros foram empregados pelo fato de apresentarem disponibilidade em abundância, capacidade de renovação e potencial de biodegradação⁽¹⁾. Sabe-se que filmes deste material não são degradáveis em meio enzimático e não existem informações na literatura sobre biodegradação em lodo ativado⁽⁴⁾. Nesse contexto, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar a biodegradabilidade do poli (tioéter-éster) utilizando degradação enzimática seguida de biodegradação em lodo ativado, para verificar se a junção destas metodologias será eficiente na taxa de biodegradação.

MATERIAIS E MÉTODOS

A avaliação da biodegradabilidade do poli (tioéter-éster) foi realizada por meio da degradação enzimática e sistema Oxitop, por perda de massa e determinação indireta de O₂ consumido utilizando lodo ativado, respectivamente. O polímero avaliado foi o poli (DGU-BDT) produzido via polimerização tiol-eno. Ele foi sintetizado por Machado *et al.*, (2017) a partir de um monômero α,ω -dieno diéster, diundec-10-enoato de dianidro-D-glucitila (DGU). O DGU foi copolimerizado com 1,4-butanoditiol (Bu(SH)₂) através da polimerização tiol-eno em massa para produção deste material.

A degradação enzimática é um método de teste baseado na catalização de enzimas e perda de massa, conforme proposto por Hoelscher *et al.* (2018). Para isso, foram utilizados tubos de eppendorf de 2 ml para testar dois meios de degradação: solução tampão PBS (pH 7,4; 0,01 M) e solução enzimática de *Lipase B (Calb)*. As amostras foram preparadas na forma sólida. Estes tubos foram inseridos na estufa bacteriológica a 37° C durante 10 dias. Posto isto, a perda de massa foi obtida através da pesagem das amostras em balança analítica, após sua lavagem e secagem. Após este ensaio, as amostras foram submetidas ao processo de biodegradação no sistema Oxitop.

O método de teste sistema Oxitop foi baseado nas diretrizes da OECD 301 F para substâncias químicas/teste de respirometria manométrica. Para isso, o Oxitop IS 6 foi utilizado para monitorar a pressão e medir a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)⁽⁸⁾. O Oxitop IS 6 é um dispositivo composto por seis sensores de pressão acoplados a garrafas de vidro fechadas dispostos numa bandeja agitadora. A amostra é inserida em um meio contendo nutrientes essenciais para a ocorrência da degradação biológica⁽⁹⁾.

Experimentalmente, foram preparados 4 frascos para o Oxitop, sendo dois contendo solução mineral com lodo e amostra, um contendo solução mineral com lodo e amido (controle positivo), e um contendo apenas solução mineral com lodo (branco). O inóculo de lodo ativado foi coletado na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN) de Florianópolis. O Oxitop foi inserido na estufa incubadora DBO a 20° C durante 28 dias. Realizou-se leituras diárias de teor de oxigênio consumido.

Por fim, a DBO e o percentual de biodegradação foi calculado de acordo com a OECD, 1992. A DBO, em mg O₂/mg da substância química, foi calculada a cada 24 horas, dividindo o consumo de oxigênio (mg) da substância em teste, corrigido pelo controle do inóculo (branco), pela massa do produto químico em estudo (Equação 1). Já a porcentagem de biodegradação foi calculada, dividindo a DBO específica pela ThOD específico (Equação 2). O ThOD representa a demanda teórica de oxigênio que foi calculada a partir da fórmula química conhecida da substância⁽⁸⁾.

$$DBO = \frac{mg\ O_2\ da\ substância\ de\ teste - mg\ O_2\ do\ branco}{mg\ de\ substância\ de\ teste\ no\ recipiente} \quad (\text{Equação 1})$$

$$\% \text{ degradação} = \frac{DBO\ (mg\ O_2/mg\ substância\ de\ teste)}{ThOD\ (mg\ O_2/mg\ substância\ de\ teste)} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudou-se a biodegradabilidade de polímero poli (tioéter-éster), em meio enzimático e em lodo ativado proveniente da ETE da CASAN, através do ensaio enzimático e de respirometria manométrica, respectivamente. Determinou-se a perda de massa, o consumo de oxigênio e a porcentagem de biodegradação do polímero poli (tioéter-éster), em um ambiente enzimático e outro que simula o tratamento de águas residuais.

A Demanda Teórica de Oxigênio (ThOD) do poli (tioéter-éster) foi calculada, através da observação da sua unidade de repetição, que é $C_{33}H_{58}O_8S_2$, e sua massa molar, cujo valor é de 646 g/mol. O resultado do ThOD foi de 2,3034 mg O_2 /mg polímero. Também, foi calculado o ThOD do controle do teste (amido), onde sua unidade de repetição é representada por $C_6H_{10}O_5$ e sua massa molar corresponde a 162 g/mol. O resultado do ThOD foi de 1,1851 mg O_2 /mg amido.

Perda de massa, Demanda Bioquímica de Oxigênio e porcentagem de biodegradação

A Tabela 1 mostra os resultados de perda de massa do polímero proveniente do processo de degradação enzimática. Destaca-se que dois cenários foram avaliados: meio enzimático contendo enzima mais solução PBS e meio aquoso contendo apenas solução PBS. As amostras foram inseridas no meio em triplicata e o resultado foi a média da perda massa após o período de lavagem e secagem dos materiais no último (10º) dia de degradação.

Tabela 1 – Média da perda de massa.

	Meio	Perda de Massa (g)	Percentual (%)	Média (%)
1	Com enzima	0,0094	43,9252	32 ± 10,53
2	Com enzima	0,0057	23,9496	
3	Com enzima	0,0067	28,1513	
4	Sem enzima	0,0033	12,8405	12 ± 0,691
5	Sem enzima	0,0030	11,5385	
6	Sem enzima	0,0034	12,5926	

A média da perda de massa do polímero em meio enzimático foi de 32% enquanto que a perda de massa em meio PBS sem enzima foi de 12% no 10º dia de exposição. Através destes resultados é possível observar que houve alta perda de massa, cujo percentual de degradação enzimática alcançou mais que o dobro do que o meio sem enzima. No final do período de experimento e após sua pesagem, uma das amostras da triplicata foi inserida no sistema Oxitop.

Em um estudo de degradação *in vitro* realizado por Hoelscher *et al.*, (2018) foram testados três diferentes meios para avaliar a perda de massa de filmes de poli (DGU-BDT). O teste foi realizado a 37º C, em solução ácida contendo ácido clorídrico (HCl) (0,01 M, pH 2,8), solução tampão fosfato (PBS) (0,2 M, pH 7,4) e solução enzimática contendo enzima

Lipase B (CalB). As amostras foram retiradas em diferentes tempos de incubação durante 3 meses. Os resultados mostraram que não houve perda de massa dos filmes nos três diferentes meios durante o período de exposição.

Se compararmos o resultado apresentado por Hoelscher *et al.*, (2018) e o deste estudo, podemos observar uma desigualdade entre ambos. Isto pode estar relacionado com o formato da amostra e a especificidade, lote e/ou preparação da enzima, uma vez, que o mesmo material poli (DGU-BDT) foi submetido as mesmas condições em degradação enzimática e o material na forma sólida obteve melhores resultados após a exposição.

As Figuras 1 e 2 mostram a DBO e a porcentagem de biodegradação do polímero e os controles do procedimento, respectivamente.

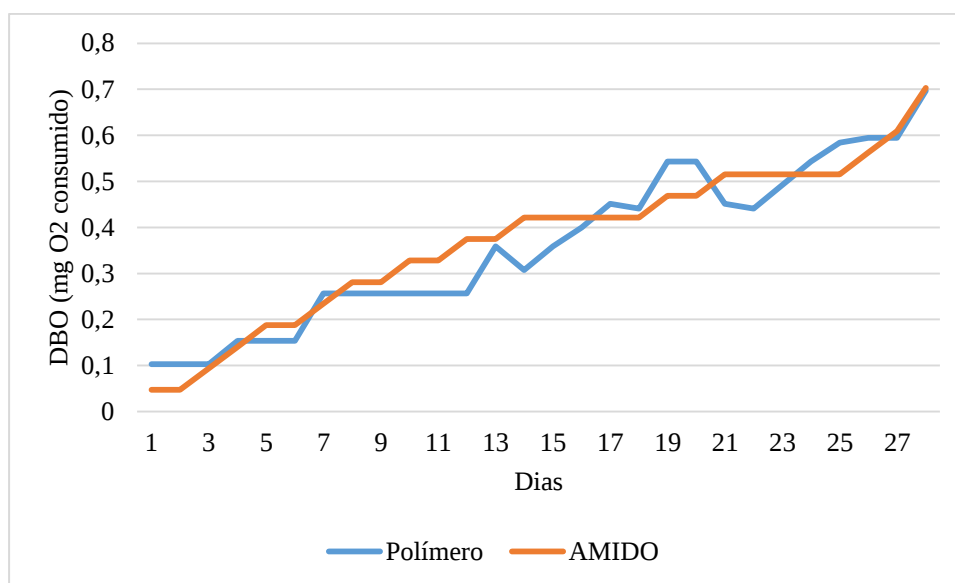


Figura 1: Demanda Bioquímica de Oxigênio do polímero e os controles.

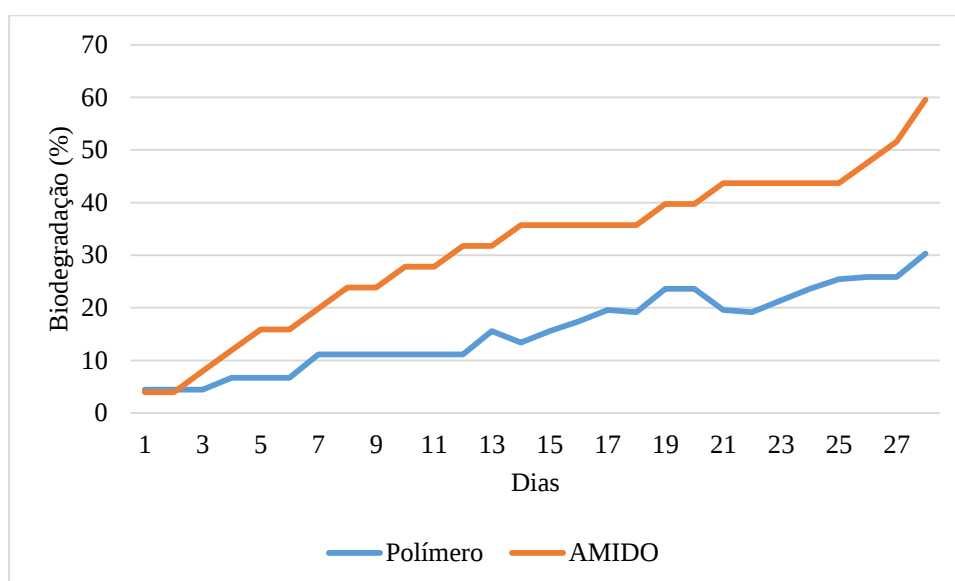


Figura 2: Percentual de biodegradação do polímero e os controles.

Os resultados mostraram uma biodegradabilidade intermediária do poli (tioéter-éster) em lodo ativado, uma vez que, biodegradou 30% em relação ao controle (amido) do

procedimento que atingiu 60% de biodegradação, após 28 dias de experimento. O frasco contendo solução mineral com lodo e amostra alcançou metade do percentual do frasco contendo solução mineral com lodo e amido. Este resultado pode estar relacionado ao experimento prévio de degradação enzimática realizado antes das amostras serem inseridas no Oxitop. Também, é possível observar que quando maior o valor de DBO, mais elevado é o percentual de biodegradação.

Os autores Tachibana *et al.*, (2017) realizaram um estudo de avaliação da biodegradabilidade de quatro diferentes polioxabicyclatos (POBC) de base biológica, utilizando um reator que mede DBO e o método de formação de zona clara que determina a perda de massa. O teste foi baseado na normativa ISO 14.851. No teste de DBO, os resultados mostraram que os POBC (1,3-propanodiol e 1,4-butanodiol) atingiram percentuais altos de biodegradação, 86% e 89%, respectivamente, enquanto que o 1,2-etanodiol e o 1,6-hexadiol atingiram 12% e 19%, respectivamente. No segundo teste, duas bactérias formaram zona clara no meio POBC com 1,4-butanodiol.

CONCLUSÕES

O poli (tioéter-éster) avaliado em meio enzimático e lodo ativado (Oxitop), em termos de perda de massa, DBO e percentual de biodegradação, apresentou alta perda de massa, em torno de 32% e biodegradabilidade intermediária em lodo ativado de 30%, em relação ao controle do procedimento que atingiu 60%. Este estudo foi de imprescindível importância, uma vez que, o material na forma sólida alcançou uma alta taxa de perda de massa em relação a um estudo semelhante realizado anteriormente. Além disso, o resultado da biodegradação que foi intermediário em relação ao controle, pode estar paralelamente relacionado ao emprego do ensaio inicial utilizando a enzima CalB. Estes resultados contribuem com a literatura e forçam a necessidade de realizar testes para avaliar a biodegradabilidade de outros materiais. O poli (DGU-BDT) na forma sólida é um material promissor para uso e posterior exposição ao processo de degradação enzimática e biológica.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

1. BIRAJDAR, M. S.; JOO, H.; KOH, W. G.; PARK, H. Natural bio-based monomers for biomedical applications: a review. **Biomaterials Research**, v. 25, n. 1, p. 1–14, 2021.
2. TACHIBANA, Y.; YAMAHATA, M.; ICHIHARA, H.; KASUYA, K. ICHI. Biodegradability of polyesters comprising a bio-based monomer derived from furfural. **Polymer Degradation and Stability**, v. 146, n. September, p. 121–125, 2017.
3. DEVI, R. S.; KANNAN, V. R.; NATARAJAN, K.; NIVAS, D.; KANNAN, K.; CHANDRU, S.; ANTONY, A. R. **The Role of Microbes in Plastic Degradation**. [s.l: s.n.].
4. HOELSCHER, F.; MACHADO, T. O.; DE OLIVEIRA, D.; HERMES DE ARAÚJO, P. H.; SAYER, C. Enzymatically catalyzed degradation of poly (thioether-ester) nanoparticles. **Polymer Degradation and Stability**, v. 156, p. 211–217, 2018.
5. LAYCOCK, B.; NIKOLIĆ, M.; COLWELL, J. M.; GAUTHIER, E.; HALLEY, P.; BOTTLE, S.; GEORGE, G. Lifetime prediction of biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 71, p. 144–189, 2017.

6. MACHADO, T. O.; CARDOSO, P. B.; FEUSER, P. E.; SAYER, C.; ARAÚJO, P. H. H. Thiol-ene miniemulsion polymerization of a biobased monomer for biomedical applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 159, p. 509–517, 2017.
7. MAHALAKSHMI, V. Evaluation of Biodegradation of Plastics. **International Journal of Innovative Research & Development**, v. 3, n. 7, p. 185–190, 2014.
8. OECD. OECD 301 - Ready Biodegradability. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, v. 301, n. July, p. 1–62, 1992.
9. SILVEIRA, A.; MORENO, J. R.; CORREIA, M. J.; FERRO, V. A method for the rapid evaluation of leather biodegradability during the production phase. **Waste Management**, v. 87, p. 661–671, 2019.

EVALUATION OF ENZYMATIC AND MICROBIAL DEGRADABILITY OF POLYMER OBTAINED FROM RENEWABLE RESOURCES

ABSTRACT

Biodegradable polymers are promising alternatives in the matter of the accumulation of solid waste, which, for the most part, are non-biodegradable materials. To achieve this characteristic, it is necessary to conduct different studies, in addition to the application of eminent assessment methodologies. In this work, enzymatic degradation and the Oxitop system were used to evaluate the mass loss, BOD and percentage of biodegradation of a poly(thioether-ester) from a renewable resource. The assays were performed separately and in combination: enzymatic degradation followed by biodegradation. The unification of these methodologies aimed to accentuate the rate of degradation. The results of this study showed a high mass loss of 32% in just 10 days of enzymatic degradation, and a biodegradability in activated sludge of 30%, classified as intermediate in relation to the control of the procedure, which reached 60%. Such results reveal the need to apply evaluation methodologies after the development of materials, since the rate of degradation depends on the inherent characteristics of the material.

Keywords: Polymer; Biodegradability; enzymatic degradability; renewable resources; Oxytop;