

ANÁLISE DA BIODEGRADAÇÃO DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) EM SOLO CULTIVADO COM AS FORRAGEIRAS *LOLIUM MULTIFLORUM* (AZÉVEM) E *LOTUS CORNICULATUS* (CORNICHÃO)

CAMILA RIOS PIECHA¹; MATHEUS MARQUES TORRES²; KARINE LASTE MACAGNAN², MARIANE IGANSI ALVES², PATRÍCIA DIZ DE OLIVEIRA², ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA³

¹Universidade Federal de Pelotas – camilapiecha@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – matheus_mmt@hotmail.com; karinemacagnan@hotmail.com; marianeigansialves@hotmail.com; bilicadiaz@yahoo.com.br;

³Universidade Federal de Pelotas- angelitadasilveiramoreira@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os plásticos petroquímicos como o polipropileno possuem uma ampla utilização na indústria em geral, no entanto, podem demorar mais de um século para se decompor no ambiente, desencadeando diversos problemas ambientais. (PHILP et al., 2013). Devido a isso, expandiu-se consideravelmente o número de pesquisas na área de produção de bioplásticos que sejam biodegradáveis, não afetando de forma drástica o ecossistema (MEKONNEN et al., 2013).

As principais classes de biopolímeros estudadas são os poliácidos lácticos (PLA) e os polihidroxialcanoatos (PHA); dentro destes o poli(3-hidroxibutirato) [P(3HB)] é o mais produzido em escala industrial devido as suas grandes semelhanças com o plástico petroquímico polipropileno, permitindo que seja usado como substituto biodegradável (CHANPRATEEP, S. 2010).

Apesar dos PHA se degradarem de forma mais rápida que os plásticos convencionais, é importante que sejam biodegradáveis em diversas condições ambientais. Diversos trabalhos relatam métodos de tornar ainda mais rápido esse processo através de testes em solo como em manguezais e florestas tropicais (LIM et al., 2004) e solo natural (WENG et al., 2013).

Objetivou-se avaliar a biodegradação do P(3HB) RS, e do P(3HB) comercial em solo cultivado com as forrageiras *Lolium multiflorum* (azévem) e *Lotus corniculatus* (cornichão).

2. METODOLOGIA

O P(3HB) RS foi sintetizado pela cepa *Ralstonia solanacearum* RS, por processo de fermentação submersa, e extraído com clorofórmio conforme MACAGNAN et al. (2017) e obtido na forma de filme. O P(3HB) comercial foi cedido na forma de pó pela empresa PHB Industrial (Serrana, SP, Brasil) e ressolubilizado em clorofórmio; a obtenção de filmes foi por evaporação lenta em placa de Petry. Os corpos de prova de 3,5 cm² cm² foram cortados, individualizados e acondicionados em sementeiras plásticas com células individualizadas de 6,5 x 6,5 x 6,0 cm e com 130 g de solo durante 100 dias em casa de vegetação. Os tratamentos estudados foram: (T1) solo cultivado com azevém e cornichão; (T2) solo cultivado com azevém; (T3) solo cultivado com cornichão; (T4) solo sem cultivo (controle); a temperatura e umidade do solo foram monitorados. Os corpos de prova foram retirados a cada 20 dias, lavados e secos a 56°C por 24h para análise macroscópica (visual) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O percentual de perda de massa foi analisado por gravimetria aos 100 dias, e a análise estatística desses resultados foi realizada no programa Statistix8 utilizando teste de Tukey (p<0.05) e os gráficos gerados no programa GraphPad Prism 7.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual de perda de massa aos 100 dias de experimento pode ser observado na figura 1. As maiores biodegradações ocorreram para o P(3HB) RS no solo sem cultivo (T4) e com azevém (T2), sem diferença estatística entre eles, seguida do P(3HB) comercial em solo com cultivo combinado de azevém e cornichão (T1). Em relação aos tratamentos com plantas forrageiras, em relação ao controle sem plantas (T4), para o P(3HB) RS, a presença do cornichão, sozinho (T3) ou combinado ao azevém (T1), foi prejudicial; já o azevém sozinho (T2) não prejudicou nem estimulou. Para o P(3HB) comercial, a combinação das forrageiras foi positiva (T1), cornichão sozinho foi indiferente e azevém sozinho (T2) foi prejudicial.

A literatura relata que algumas plantas conseguem modular o crescimento da microbiota através da liberação de metabólitos e nutrientes no solo (SANTOS et al., 2009). Mas neste trabalho, verificamos que apenas as espécies forrageiras combinadas foram eficazes em fitoestimular um aumento na degradação unicamente do polímero comercial. Efeitos diferentes relacionados à presença das forrageira foram observados nos diferentes polímeros.

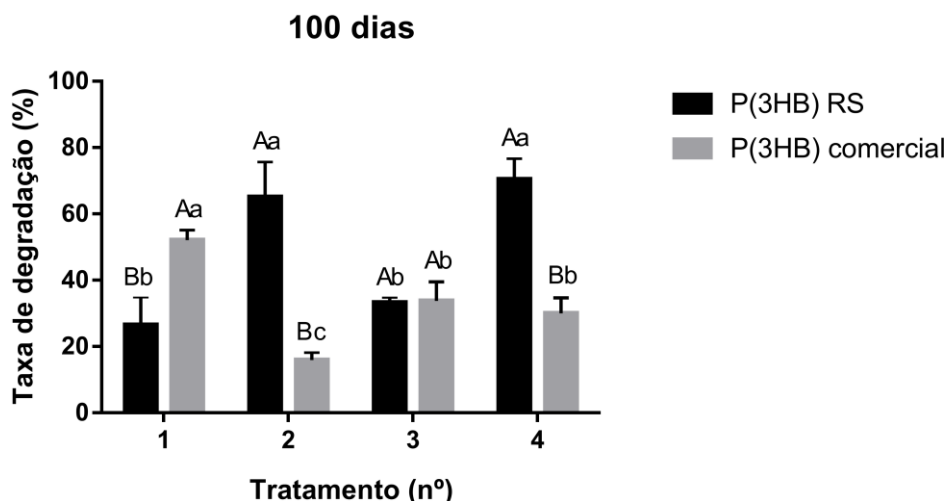


Figura 1. Percentual de perda de massa dos polímeros ao final de 100 dias de experimento. Letras maiúsculas referem-se aos dois polímeros em cada tratamento. Letras minúsculas referem-se a cada polímero em todos os tratamentos.

Macroscopicamente, evidenciou-se que o P(3HB) RS apresentou uma fragmentação física muito maior que o P(3HB) comercial em todos os tempos e tratamentos analisados; ainda, o T4, que não continha as forrageiras, apresentou a menor fragmentação entre eles, conforme figura 2.

Diversos fatores estão envolvidos na biodegradação de um polímero tais como: a estrutura química e física, a umidade do solo, o nível de radiação solar recebida e a morfologia do polímero (MERGAERT et al., 1993). No entanto, esta desintegração observada na figura 2, pode estar relacionada ao cultivo das forrageiras, conforme descrito por GRIGULL et al. (2015) para blendas de PHBV/PLA em solo, que não constataram perda de massa, apenas fragmentação, corroborando com a hipótese de que as raízes atuaram nesta quebra mecânica.

Além disso, é visível a diferença de coloração dos polímeros que se intensifica ao longo do tempo. Tal evento pode ser o resultado da formação de biofilme microbiano, deposição de material extracelular ou excreção de pigmentos lipofílicos, como já relatado também por PELICIANO et al. (2009), que detectou a presença de um pigmento de coloração escura e vermelha.

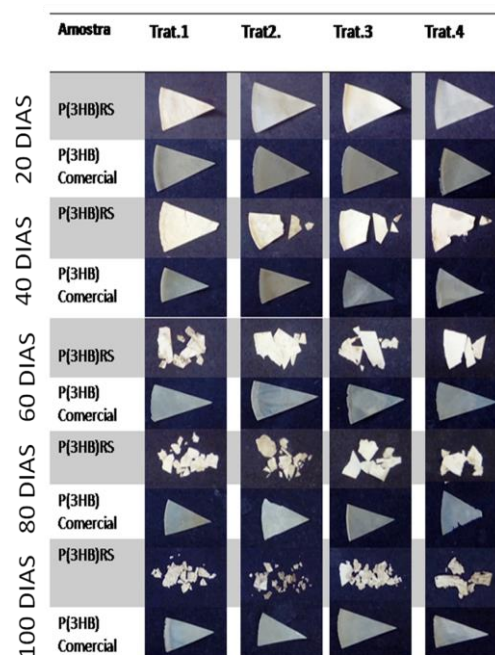


Figura 2. Macroscopia dos corpos de prova submetidas a biodegradação por 100 dias.

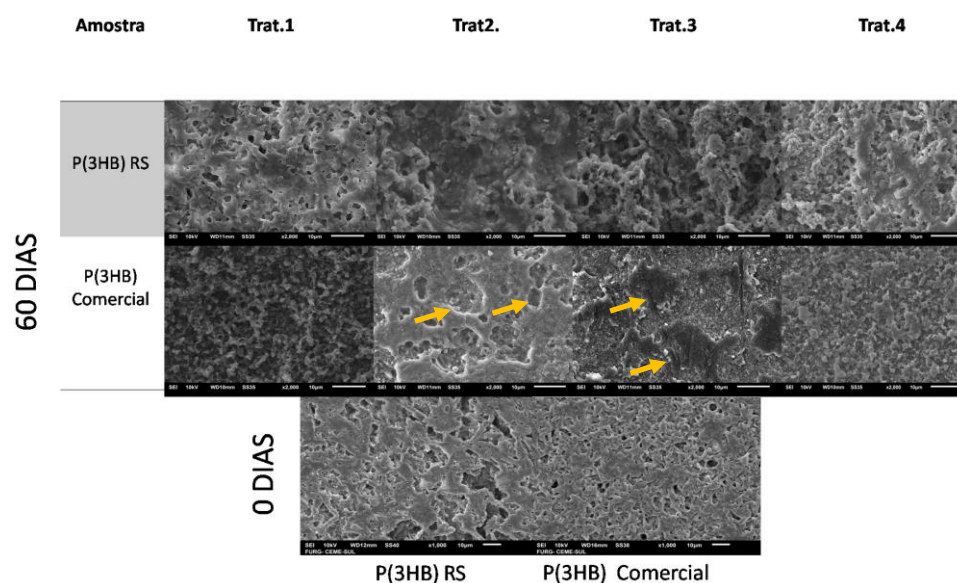


Figura 3. Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) das amostras em 60 dias de experimento.

Na análise microscópica (Fig. 3) dos polímeros no tempo inicial, o P(3HB) RS aparenta superfície mais irregular, que parece ser favorável à biodegradação. Aos 60 dias, todas amostras de P(3HB) RS apresentaram poros, os quais podem estar relacionados à biodegradação através da erosão ocasionada pelos microrganismos presentes no solo, que provocam a remoção de camadas do polímero conforme descrito por FARIA, 2010 em filmes de PHB degradados em solo. No P(3HB) comercial verificou-se, apenas em T2 e T3, o que parecem ser resquícios de uma camada superior que foi erodida (indicados por flechas amarelas), sobre outra camada ainda homogênea, enquanto em T1 e T4 é possível verificar uma menor ou não aparente quantidade de poros na superfície do bioplástico; como T1 resultou na maior degradação para o P(3HB) comercial, podemos inferir que a homogeneidade resulta de uma completa erosão da camada superior. Superfície homogênea também foi verificada por WENG, 2013



em filmes de PLA/P(3HB) e P(4HB) expostos ao solo natural após 4 meses (120 dias). Mas este autor considerou que o período foi insuficiente para que se observa-se uma corrosão e formação de poros de forma efetiva devido ao tipo de degradação realizada pelos micro-organismos (hidrolítica ou enzimática), entre outras variantes, como a estrutura do polímero e tratamento realizado.

4. CONCLUSÕES

O P(3HB) RS teve a maior biodegradação. A presença das forrageiras teve diferentes efeitos para os diferentes polímeros, indo do efeito negativo ao positivo. Apenas para o P(3HB) comercial em presença do cultivo combinado de azevém e cornichão observou-se fitoestimulação da biodegradação. Apesar disto, as forrageiras auxiliaram na fragmentação e no aumento da superfície de contato do P(3HB) RS com os microrganismos presentes no solo. Em todas amostras de P(3HB) RS foi observada superfície mais irregular, com presença de poros; já no P(3HB) comercial, as irregularidades foram observadas justamente em amostras com menor degradação, que podem indicar erosão parcial da camada externa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MEKONNEN, T; MUSSONE, P; KHALIL, H; BRESSLER, D. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. **J. Mater. Chem**, n. 43, p. 13379-13398, 2013.

WENG, Y.X; WANG, L; ZHANG, M; WANG, X.L; WANG, Y.Z. Biodegradation Behavior of P(3HB,4HB)/PLA blends in real soil. **Polymer Testing**, n. 32, p. 60-70, 2013.

MERGAERT, J.; WEBB, A.; ANDERSON, C.; WOUTERS A; SWINGS, J. Microbial degradation of P(3HB) e P(3HB)-co-3HV in soils. **Applied and Environmental Microbiology**, p.3233-3238, 1993.

GRIGULL, V.H; MAZUR, L.P; GARCIA, M. C. F; SCHNEIDER, A. L. S; PEZZIN, A. P. T. Estudo da degradação de blendas de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)/poli(l-ácido láctico) em diferentes condições ambientais. **Engvista**, v. 17, n. 4, p. 444-462, 2015.

CHANPRATEEP, S.; J. Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates. **Biosci. Bioeng**, v. 110, n. 6, p. 621-632, 2010.

LIM, S.P; GAN, S. N; TAN, I. K. P. Degradation of Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates in Tropical Forest and Mangrove Soils. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.126, n. 23, 2004.

FARIA, A.U; FRANCHETTI, S.M.M. Biodegradação de Filmes de Polipropileno (PP), Poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e Blenda de PP/PHB por Microrganismos das Águas do Rio Atibaia. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p.141-147, 2010.

MACAGNAN, K. L; RODRIGUES, A. A; ALVES, M. I; FURLAN, L; KESSERLINGHC, S. M; MOURA, A. B; OLIVEIRA, P. D; MCBRIDE, A. J. A; MOREIRA, A. S; VENDRUSCOLO, C. T. Simplified Recovery Process Of *Ralstonia Solanacearum*-Synthesized Polyhydroxyalkanoates Via Chemical Extraction Complemented By Liquid-Liquid Phase Separation. **Química Nova**, v. 40, n. 2, p. 125-130, 2017.

PELICIANO, M.; PACHEKOSKI, W.; AGNELLI, J. M. A. Influência da Adição de Amido de Mandioca na Biodegradação da Blenda Polimérica PHBV/Ecoflex®. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 19, n. 3, p. 212-217, 2009.