

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

BIODEGRADAÇÃO DE POLIPROPILENO E POLITEREFTALATO DE ETILENO PELA AÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS DE INTERESSE AMBIENTAL

ANA JULIA NASCIMENTO SANTOS¹; JOSÉ FÁBIO FRANÇA ORLANDA²

AFILIAÇÃO

¹Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL) – Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas (CCENT) - Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas - Rua Godofredo Viana, 1300, Centro, 65901-48, Imperatriz, Maranhão.

RESUMO

A poluição plástica é atualmente um problema de grande relevância do ponto de vista ambiental e socioeconômico. A grande problemática está relacionada há exacerbada produção de polímeros plásticos em escala global e má gestão dos resíduos sólidos gerados. Ademais, os plásticos quando descartados de forma inadequada no ambiente podem sofrer alterações físicas, químicas e biológicas que levam a sua fragmentação e formação de microplásticos. Esses pequenos fragmentos plásticos podem causar uma série de riscos ambientais aos ecossistemas, são considerados indicadores de maior preocupação do antropoceno. Assim, medidas fazem-se necessárias para contornar esse cenário, visto que a reciclagem sozinha e a produção de bioplásticos apresentam-se como soluções ainda insuficientes. Dentre as biotecnologias existentes tem-se a biorremediação, uma tecnologia que utiliza o metabolismo de microrganismos para eliminação ou redução, a níveis aceitáveis, de poluentes presentes no ambiente. O seguinte trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade de fungos filamentosos rizosféricos de biodegradar filmes poliméricos de polipropileno (PP) provenientes de garrafas plásticas coletadas. Essa capacidade foi avaliada por meio do isolamento, identificação e ensaios de seleção de linhagens capazes de crescer em meios suplementados com PP como fonte única de carbono. Foram isoladas cinco linhagens fúngicas que foram identificadas como pertencentes ao gênero *Aspergillus* spp, *Penicillium* sp e *Paecilomyces* sp. Essas linhagens isoladas demonstraram-se aptas ao processo de biodegradação pois houve formação de

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

biofilmes, o que indica a liberação de enzimas extracelulares e colonização dos polímeros por parte dos fungos, nos ensaios de seleção em meio líquido e em meio sólido. Ademais, a atividade microbiana em microcosmo na presença de PP foi demonstrada pelo método respiratório por meio da liberação de CO₂. Logo, a biorremediação com os fungos filamentosos do solo, aqui isolados, mostra-se como uma alternativa viável para mitigar a problemática da poluição plástica, pois esses apresentam um grande potencial de biodegradação.

PALAVRAS-CHAVE: Degradação biológica; Polímeros plásticos; Microrganismos.

INTRODUÇÃO

A poluição plástica é atualmente um problema de grande relevância do ponto de vista ambiental e socioeconômico, consequência principalmente da má gestão dos resíduos sólidos, dentre outros fatores. Estima-se que 8,3 bilhões de toneladas de plásticos tenham sido fabricadas até o momento, sendo que cerca de 60% desse total teriam se acumulado de forma direta ou indireta no ambiente, causando uma série de danos aos ecossistemas (ZHU et al., 2022). Entre os polímeros sintéticos, o polipropileno está entre os mais importantes termoplásticos utilizados comercialmente. Devido ao constante aumento da produção anualmente, à natureza descartável dada aos produtos plásticos e à sua longevidade no ambiente, o destino desse material é um problema emergente e os seus impactos para o ecossistema vêm sendo estudados pela comunidade científica. Entre esses impactos tem-se surgimento de microplásticos, poluentes emergentes de maior impacto ambiental (FAN et al., 2022; JULIENNE et al., 2019; RICHARDSON et al., 2019).

Dentre as biotecnologias disponíveis para acelerar a diminuição da contaminação ambiental com plásticos e microplásticos, destaca-se a biorremediação com fungos filamentosos, por adaptação rápida do seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia, fator essencial para sua sobrevivência. Essa flexibilidade se deve a produção abundante de enzimas intra e extracelulares, capazes de degradar compostos polímeros complexos (KATEMBO et al., 2019). Neste método, os fungos secretam enzimas, que ao entrarem em contato com os contaminantes, desencadeiam uma série de reações químicas (LIRA;

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

ORLANDA,2020). Avaliar a biodegradação dos polímeros polipropileno (PP) e politereftalato de etileno (PET) por fungos filamentosos rizosféricos

METODOLOGIA

O estudo foi realizado por meio da coleta de amostras de solos rizosféricos no município de Imperatriz - MA, segundo metodologia de Moreira et al. (2010). O isolamento dos fungos foi realizado utilizando a metodologia proposta por Lira e Orlanda (2020). A identificação fúngica ao nível de gênero ou espécie foi feita segundo Barnett e Hunter (2005), técnica de microcultivo em lâmina (RIDDELL, 1950). A coleta e preparação de amostras de polipropileno foi realizada por meio da recolha de garrafas plásticas nas ruas do município de Imperatriz – MA. As garrafas foram esterilizadas com álcool 70%, trituradas em filmes e pesadas nas diferentes concentrações a serem usadas nos ensaios, 500 e 1000 mg (BALBELA, 2022; KOSCHEVIC, 2015).

O ensaio de biodegradação foi realizado em meio líquido e sólido, em ambos os fungos foram cultivados em três etapas sequenciais distintas. (1) Inoculação em meio rico em nutrientes, para meio líquido foi utilizado caldo BHI - Brain Heart Infusion e meio sólido, agar BHI. (2) Em Meio Mínimo Mineral - MMM modificado com objetivo de testar a tolerância das espécies em meio escasso de nutrientes (PRIDHAM, GOTTLIEB, 1948). (3) Em MMM suplementado com duas concentrações de polipropileno - PP (500 e 1000 mg) no ensaio líquido e apenas 1000 mg em sólido. A capacidade de crescimento das linhagens foi avaliada em sete e quatorze dias, conforme o crescimento e a formação de biofilme aderido à superfície dos filmes poliméricos, em um meio cujo polipropileno apresenta-se como única fonte de carbono (SAMAT et al., 2023; SHEIK et al., 2015; MAGNIN, 2019).

Em meio sólido, além da colonização do polímero por meio do biofilme, o Índice de Crescimento Micelial (IVCM) fúngico foi medido a cada 24 horas durante cinco dias, registrando-se o diâmetro em milímetros (mm) das colônias (LIRA, ORLANDA, 2020).

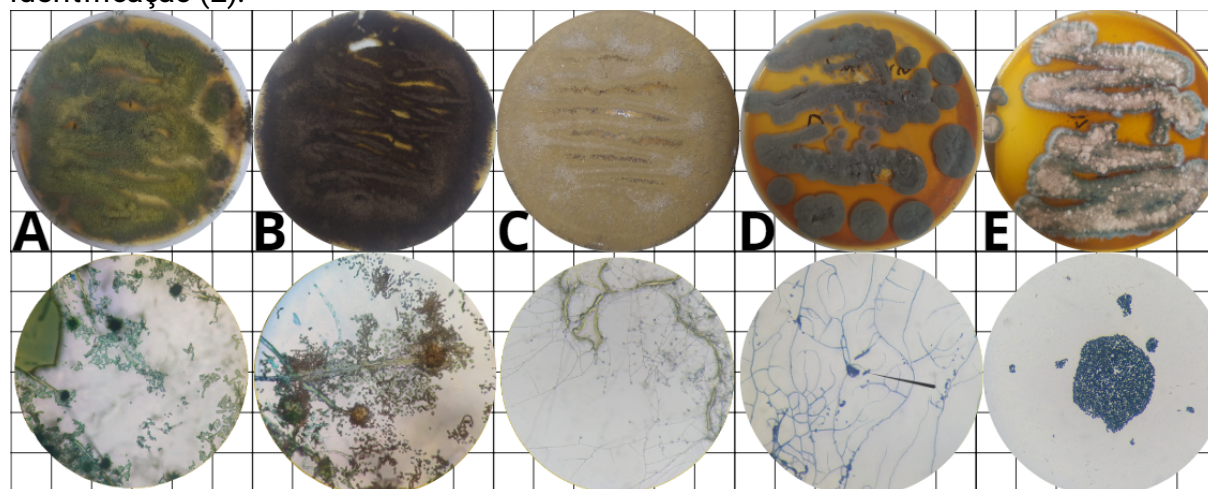
RESULTADOS E DISCUSSÃO

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Neste estudo foram isolados cinco linhagens fúngicas com características diferentes, rotuladas de A a E. Desses foi possível identificar quatro espécies distintas, inseridas em três gêneros: A e B como pertencentes do gênero *Aspergillus* spp, provável *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*, respectivamente. C pertence ao gênero *Paecilomyces* sp e a linhagem D, provavelmente é um representante do gênero *Penicillium* sp. Não foi possível identificar a espécie E (Figura 1).

Todas as linhagens apresentaram crescimento na presença de PP nas duas concentrações avaliadas em 7 e 14 dias, o que demonstra o potencial desses organismos na biodegradação do polímero. Os resultados do ensaio de seleção em meio líquido de fungos capazes de biodegradar PP são expressos na Tabela 1, juntamente com a representação de *Aspergillus flavus* nas três etapas de cultivo.

Figura 4. Morfologia e microscopia das colônias fúngicas (40X). *Aspergillus flavus* (A); *Aspergillus niger* (B); *Paecilomyces* sp (C); provável *Penicillium* sp (D) e sem identificação (E).



Fonte: elaboração do autor, 2023.

Tabela 1. Avaliação do crescimento fúngico durante quatorze (14) dias.

Colônias Fúngicas	Quantidade de polipropileno (PP)			
	500 mg	1.000 mg	500 mg	1.000 mg
	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
A	(++)	(++)	(++)	(++)
B	(-)	(-)	(-+)	(+)
C	(-)	(+)	(-)	(+)
D	(+)	(+)	(+)	(+)
E	(+)	(+)	(+)	(++)

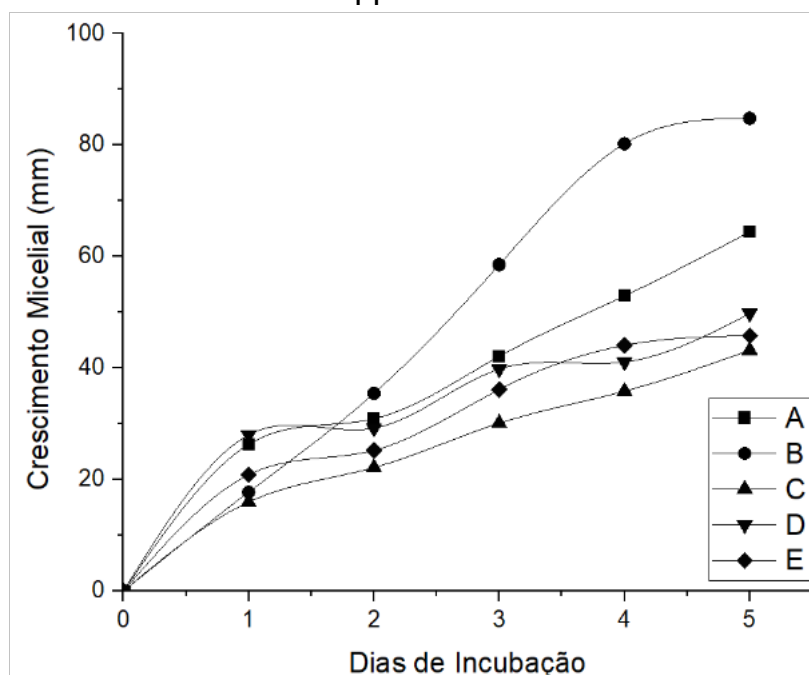
VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

(-) sem crescimento, (-+) crescimento mediano, (+) crescimento razoável, (++) crescimento satisfatório.

Fonte: elaboração do autor, 2023.

Em meio sólido todas as linhagens testadas também apresentaram crescimento micelial e os resultados da média dos tratamentos feitos em duplicata são expressos no Gráfico 01, juntamente com a representação do crescimento de *Aspergillus niger*. As linhagens A e B (*A. flavus* e *A. niger*) apresentaram um maior crescimento micelial, porém as demais linhagens também apresentaram um ótimo crescimento exponencial. Algumas das cepas isoladas já foram descritas como potenciais na biodegradação de diversos polímeros, incluindo, em alguns casos, o polipropileno. *Aspergillus niger* e *Paecilomyces* sp. são microorganismos descritos potencialmente capazes de biodegradar PP (STROMBERG; KARLSSON, 2009). *Aspergillus flavus* e *Penicillium* sp. também foram relatados com capacidade decrescimento quando na presença do PP como única fonte de carbono, o que dá indícios de capacidade de degradação, assim como nesse estudo (WRÓBEL et al., 2023).

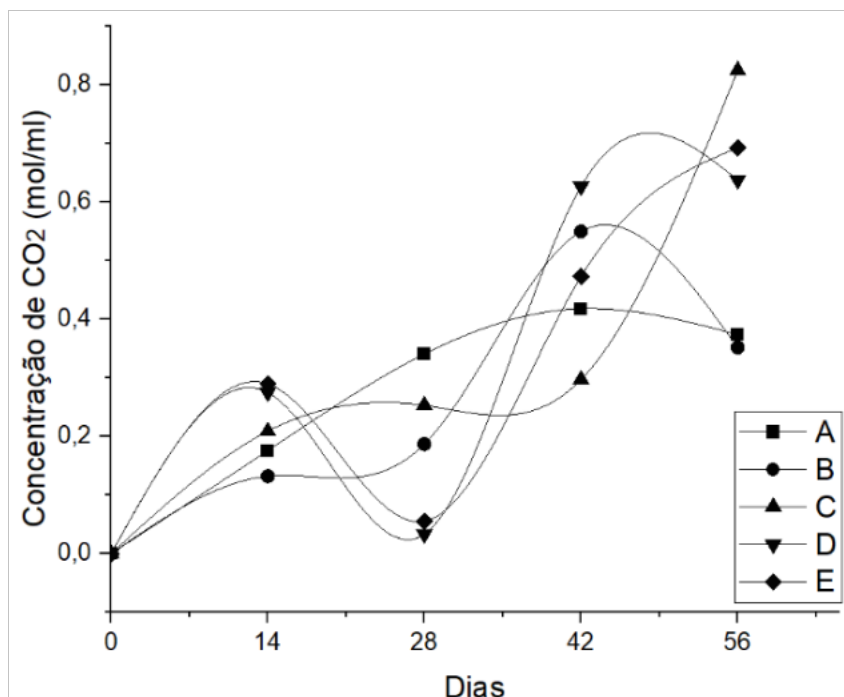
Gráfico 1. Curva de crescimento micelial (mm) das linhagens isoladas cultivadas com PP



VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

A análise da quantidade de CO₂ liberada é uma forma eficiente e de baixo custo para analisar a biodegradação (CORREIA; LANGENBACH, 2006). Assim, os resultados da concentração de CO₂ medido durante o experimento podem ser expressos pelo Gráfico 2, demonstrado em 14, 28, 42 e 56 dias. É possível perceber que houve liberação de CO₂, em determinados momentos por parte das cinco linhagens fúngicas testadas. Dessa forma, o potencial de degradação dos fungos sobre o polipropileno pode ser evidenciado, pois essa liberação indica que houve a provável metabolização e a degradação do polímero (BARTHA, PRAMER, 1965). Porém, análises acerca de alterações na morfologia e perda de massa do polímero fazem-se necessárias para confirmação da ocorrência do processo de biodegradação.

Gráfico 2. Concentração de CO₂ liberado em microcosmo com solo contaminado com 1000 mg de PP.



CONCLUSÕES

Este estudo destaca o elevado potencial de fungos filamentosos na biodegradação de pp pois todas linhagens isoladas apresentaram-se favoráveis à esse processo, algumas de formas mais expressivas e outras menos. Logo, a biorremediação com microorganismos mostra-se como uma solução viável para mitigar a grande problemática da poluição plástica e recorrência dos microplásticos.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Para trabalhos futuros, recomenda-se a identificação molecular destes microrganismos testados para confirmação da identidade e assim possível utilização na biorremediação de polímeros tais como o polipropileno.

APOIO FINANCEIRO

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALBELA, Caroline Carneiro. **Influência da acidificação dos oceanos no processo de fotodegradação de microplásticos**: uma abordagem experimental. 2022. Tese (Doutorado em Oceanologia) – Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, 2022.

BARNETT, Horace Leslie; HUNTER, Barry B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 1.ed. Minnessota: Burgess Publishing Company, 1998.

BARTHA, R.; PRAMER, D. Features of flask and method for measurement of the persistence and biological effects of pesticides in soil. **Soil Science**, United States, v. 100, n. 1, p. 68-70, 1965.

CORREIA, F. V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em argissolo vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 183-192, 2006.

KATEMBO, Naweji; WITKOWSKI, Ed T.F.; BYRNE, Marcus J. Effects of carbofuran on *Lantana camara* and its biocontrol agent, *Teleonemia scrupulosa*. **Biocontrol Science and Technology**, United Kingdom, v. 29, n. 8, p. 746-756, 2019.

KOSCHEVIC, Marivane Turim. **Degradação biótica do politereftalato de etileno irradiado por ultravioleta com a utilização do fungo ligninolítico *Lentinula edodes***. 2015. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.

LIRA, Regiane Kessias Sousa; ORLANDA, José Fábio França. Biodegradação do inseticida carbofuran por *Syncephalastrum racemosum*. **Research, Society and Development**, São Paulo, v. 9, n. 7, p. 1-13, 2020.

MAGNIN, Audrey; HOORNAERT, Lucie, POLLET, Eric; LAURICHESSE, Stéphanie; PHALIP, Vincent; AVÉROUS, Luc. Isolation and characterization of different promising fungi for biological waste management of polyurethanes. **Microbial Biotechnology**, United Kingdom, v. 12, n. 3, p. 544-555, 2019.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

PRIDHAM, T. G.; GOTTLIEB, David. The utilization of carbon compounds by some Actinomycetales as an aid for species determination. **Journal of bacteriology**, United States, v. 56, n. 1, p. 107-114, 1948.

RIDDELL, Roland W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, United Kingdom, v. 42, n. 2, p. 265-270, 1950.

SAMAT, Amira Farzana; CARTER, Dee; ABBAS, Ali. Biodeterioration of pre-treated polypropylene by *Aspergillus terreus* and *Engyodontium album*. **npj Materials Degradation**, United Kingdom, v. 7, n. 1, p. 28, 2023.

SHEIK, Sana; CHANDRASHEKAR, K. R.; SWAROOP, K.; SOMASHEKARAPPA, H. M. Biodegradation of gamma irradiated low density polyethylene and polypropylene by endophytic fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, United Kingdom, v. 105, p. 21-29, 2015.

WRÓBEL, Mariusz; SZYMAŃSKA, Sonia; KOWALKOWSKI, Tomasz; HRYNKIEWICZ, Katarzyna. Selection of microorganisms capable of polyethylene (PE) and polypropylene (PP) degradation. **Microbiological Research**, Germany, v. 267, p. 127251, 2023.

ZHU, Jiahui; LIU, Shiqi; WANG, Huiqian; WANG, Dongru; ZHU, Yuting; WANG, Jiawei, HE, Yuan; ZHENG, Qiuping; ZHAN, Xinhua. Microplastic particles alter wheat rhizosphere soil microbial community composition and function. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 436, n. 1, p. 1-8, 2022.