

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE  
CAMPUS DE SOROCABA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
“PLANEJAMENTO E USOS DE RECURSOS RENOVÁVEIS”

**ELISANGELA HUBER DE OLIVEIRA**

“Biodegradação de Biopolímeros: Análise Crítica das Normas e Avaliação da Possível  
Formação de Microplásticos de PLA em Diferentes Ambientes”

Sorocaba

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE  
CAMPUS DE SOROCABA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
“PLANEJAMENTO E USOS DE RECURSOS RENOVÁVEIS”

ELISANGELA HUBER DE OLIVEIRA

Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Usos de Recursos Renováveis para obtenção do título de Mestre.

Orientação: Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman

Coorientação: Dra. Joelen Osmari da Silva.

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), código: 33001014050P0

Sorocaba

2026

de Oliveira, Elisangela Huber

“Biodegradação de Biopolímeros: Análise Crítica das Normas e Avaliação da Possível Formação de Microplásticos de PLA em Diferentes Ambientes” / Elisangela Huber de Oliveira, Joelen Osmari da Silva -- 2026.  
60f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba  
Orientador (a): Walter Ruggeri Waldman  
Banca Examinadora: Anna Maria Gouvea Melero, Iolanda Cristina Silveira Duarte, Roberta Ranielle Matos de Freitas  
Bibliografia

1. Microplásticos. 2. Normas ASTM. 3. Biodegradação. I. de Oliveira, Elisangela Huber. II. da Silva, Joelen Osmari. III. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

ELISANGELA HUBER DE OLIVEIRA

Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento e Usos de Recursos Renováveis para obtenção do título de Mestre.

Sorocaba, 27 de fevereiro de 2026.

Orientador(a)

---

Dr. (a) Walter Ruggeri Waldman

Universidade Federal de São Carlos - Campus Sorocaba/SP

Coorientador(a)

---

Dr. (a) Joelen Osmari da Silva

Universidade Federal de São Carlos - Campus Sorocaba/SP

Examinador(a)

---

Dr.(a) Anna Maria Gouvea Melero

Unifacens - Campus Sorocaba/SP

Examinador(a)

---

Dr.(a) Roberta Ranielle Matos de Freitas

Universidade Federal de São Carlos - Campus Sorocaba/SP

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço primeiramente à Deus que tem sido minha fortaleza em vários momentos, depois aos meus pais que me geraram e me apoiaram em minha jornada até aqui.

Dedico esse trabalho e gratidão ao meu esposo, que tem sido uma peça fundamental na realização dos meus sonhos e anseios, sempre com sua mão forte a me guiar e cuidar.

Agradeço a todos os membros do GPPP, um grupo fantástico que tive o privilégio de conhecer e fazer parte nesses dois anos de estudos intensos e grandes descobertas, principalmente o professor Walter R. Waldman, meu orientador, pela paciência e dedicação, e a minha coorientadora Joelen Osmari pelo fundamental apoio em minha jornada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Agradeço pelo fomento essencial à pesquisa e pelo incentivo ao desenvolvimento científico nacional.

## RESUMO GERAL

Esta pesquisa investiga a biodegradação do ácido poliláctico (PLA) sob dois enfoques complementares: a análise crítica das normas vigentes e a avaliação experimental do comportamento do ácido poliláctico (PLA) em condições controladas. Em princípio, é analisada as limitações das normas ASTM de biodegradação, que se baseiam majoritariamente na mineralização do carbono e não contemplam etapas intermediárias do processo, como a fragmentação do material e o possível surgimento de microplásticos. Essa lacuna normativa pode resultar na classificação de materiais como biodegradáveis mesmo na presença de resíduos persistentes. Em seguida, a investigação experimental da biodegradação de um produto comercial (escova dental) à base de poli (ácido láctico) (PLA), realizada com *Pseudomonas aeruginosa* em diferentes meios de cultura, demonstrou que a degradação ocorre de maneira lenta e incompleta, mesmo após 180 dias de incubação. A caracterização química e morfológica indicou alterações superficiais do polímero, enquanto a análise do resíduo revelou a formação de partículas compatíveis com microplásticos ao longo dos testes. Conjuntamente, os resultados experimentais corroboram as críticas apresentadas às normas de biodegradação, demonstrando que a avaliação baseada exclusivamente na liberação de CO<sub>2</sub> é insuficiente para descrever o destino ambiental dos materiais. Consolidando a necessidade de abordagens metodológicas complementares e revisão dos critérios normativos, inserindo a identificação e quantificação de microplásticos, a fim de garantir avaliações mais realistas e ambientalmente responsáveis da biodegradação de polímeros.

Palavras-chave: biodegradação, *Pseudomonas aeruginosa*, microplásticos, normas ASTM, biopolímeros.

## ABSTRACT

This work addresses the biodegradation of polymeric materials from two complementary perspectives: a critical analysis of existing standards and an experimental evaluation of the behavior of a biopolymer under controlled conditions. Initially, the limitations of ASTM biodegradation standards are discussed, as they are predominantly based on carbon mineralization and do not consider intermediate stages of the process, such as material fragmentation and the potential formation of microplastics. This regulatory gap may result in materials being classified as biodegradable even in the presence of persistent polymeric residues. Subsequently, the experimental investigation of the biodegradation of a commercial product based on poly (lactic acid) (PLA), conducted with *Pseudomonas aeruginosa* in different culture media, demonstrated that degradation occurs slowly and incompletely, even after 180 days of incubation. Chemical and morphological characterization indicated surface alterations of the polymer, while residue analysis revealed the formation of particles compatible with microplastics throughout the process. Taken together, the experimental results corroborate the critiques raised regarding biodegradation standards, demonstrating that assessments based exclusively on CO<sub>2</sub> release are insufficient to describe the environmental fate of materials. Therefore, this work reinforces the need for complementary methodological approaches and for revising normative criteria to incorporate the identification and quantification of microplastics, ensuring more realistic and environmentally responsible evaluations of polymer biodegradation.

Keywords: biodegradation, *Pseudomonas aeruginosa*, microplastics, ASTM standards, biopolymers.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Configuração usando aparelho de captura de CO <sub>2</sub> .....	15
Figura 2: Despolimerização do PLA por microrganismos .....	30
Figura 3: Escova dental em PLA .....	31
Figura 4: Corte e padronização das amostras .....	31
Figura 5: Biômetro .....	32
Figura 6: Diferenças na tonalidade entre os meios M9 e M9 com glicose .....	33
Figura 7: Plaqueamento da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	33
Figura 8: Representação esquemática da sequência operacional .....	34
Figura 9: Esquema da titulação e quantificação do dióxido de carbono .....	35
Figura 10: Espectros de FTIR do PLA (escova dental): (A) PLA original e (B) após 180 dias de incubação em meio biótico .....	38
Figura 11: Fórmula Molecular do ácido poliláctico (PLA) .....	38
Figura 12: Recorte do espectro de FTIR das amostras degradadas .....	39
Figura 13: Boxplots das intensidades de absorbância normalizadas das principais bandas de FTIR do PLA após incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose .....	41
Figura 14: Intensidade relativa dos principais grupos funcionais do PLA após 180 dias de incubação, normalizadas pela banda C-CH <sub>3</sub> (1451 – 1452 cm <sup>-1</sup> ) .....	42
Figura 15: Largura à meia altura (FWHM) das principais bandas de FTIR do PLA original após incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose .....	43
Figura 16: Índice de cristalinidade relativa (I <sub>921</sub> /I <sub>955</sub> ) do PLA após 180 dias de incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose .....	44
Figura 17: Análise de Componente Principais (PCA) dos espectros de FTIR do PLA após incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose .....	44
Figura 18: Aspecto superficial do PLA após 180 dias de incubação: (A) meio M9 suplementado com glicose e (B) meio M9 sem suplementação .....	45
Figura 19: Análise da biodegradação por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em meio M9 suplementado com glicose .....	46
Figura 20: Eficácia da biodegradação utilizando <i>Pseudomonas</i> em meio M9 .....	48
Figura 21: Avaliação da biodegradação por <i>P. aeruginosa</i> em meio M9 suplementado com glicose e M9 sem suplementação .....	48
Figura 22: Microplásticos formados pela ação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> na degradação do PLA .....	50

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Designação ASTM e seu título .....	<b>12</b>
Tabela 2: Comparação entre as normas ASTM para avaliação da biodegradação de polímeros .....	<b>13</b>
Tabela 3: Massa e comprimento das amostras em PLA .....	<b>33</b>

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	8
<b>2 ARTIGO 1</b> .....	9
<b>2.1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2.2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
2.2.1 Normas de biodegradação ASTM .....	11
2.2.2 Avaliação dos métodos e critérios de biodegradação segundo as normas.....	12
2.2.3 Formação de microplásticos: uma lacuna conceitual .....	15
<b>2.3 METODOLOGIA</b> .....	17
<b>2.4 DISCUSSÃO</b> .....	17
2.4.1 Limitações das normas ASTM frente aos microplásticos .....	17
2.4.2 Propostas de aprimoramento normativo.....	18
2.4.3 Discussão socioambiental e política .....	19
<b>2.5 CONCLUSÃO</b> .....	19
<b>3 ARTIGO 2</b> .....	23
<b>3.1 INTRODUÇÃO</b> .....	24
<b>3.2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	25
3.2.1 Polímeros .....	25
3.2.2 Microplásticos .....	25
3.2.3 Biodegradação de Polímeros.....	27
3.2.4 Biodegradação do Ácido Polilático (PLA) .....	28
<b>3.3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	30
3.3.1 Equipamentos e Instrumentação .....	30
3.3.2 Preparação dos materiais .....	30
3.3.3 Metodologia Experimental .....	32
3.3.4 Plaqueamento da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	33
3.3.5 Biodegradação em cultura de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	34
3.3.6 Titulação e quantificação do dióxido de carbono .....	35
3.3.7 Análise da formação de microplásticos.....	36
<b>3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
3.4.1 Caracterização química do PLA por FTIR .....	37
3.4.3 Índice de cristalinidade relativa .....	43
3.4.4 Análise multivariada (FTIR-PCA) .....	44
3.4.5 Alterações Morfológicas.....	45
3.4.6 Resultados de Respirometria.....	46
3.4.7 Integração entre FTIR e respirometria.....	48

3.4.8 Eficiência da biodegradação .....	49
3.4.9 Formação de Microplásticos .....	50
<b>3.5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As normas de biodegradação são métodos padronizados utilizados para avaliar o grau e a taxa de biodegradabilidade de plásticos biodegradáveis, sendo largamente aplicadas em pesquisas acadêmicas, processos regulatórios e certificações ambientais. Entre essas, destacam-se os ensaios normativos da American Society for Testing and Materials (ASTM), que constituem uma das principais referências internacionais. No entanto, uma das limitações frequentemente associadas a esses métodos é o longo tempo necessário para a realização dos ensaios, que pode atingir até 180 dias, além do fato de serem conduzidos em condições altamente controladas e em escala laboratorial, o que pode limitar a representatividade ambiental dos resultados obtidos (Eubeler *et al.*, 2009).

No presente estudo, a avaliação da biodegradação foi conduzida por meio da técnica de respirometria, conforme as normas NBR 14283-99 e ASTM D5988-18, a partir da quantificação da evolução de dióxido de carbono em meios de cultura M9, que é considerado um meio básico para a sobrevivência da *Pseudomonas aeruginosa* e M9 suplementado com glicose. Os meios de cultura foram selecionados para efeito de comparação do perfil metabólico da *P. aeruginosa* (Shimpi *et al.*, 2012).

As normas, ainda que, largamente utilizadas apresentam limitações quando aplicadas a polímeros de base biotecnológica, como o poli (ácido lático) (PLA), polímero que pode apresentar resistência à biodegradação mesmo sob condições controladas, conforme relatado na literatura (Gu; Gu, 2005), explicando a resistência a degradação do material utilizado no ensaio.

A técnica de respirometria baseia-se na avaliação da mineralização do polímero, ou seja, na etapa final do processo de biodegradação, caracterizada pela conversão do carbono orgânico em CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e H<sub>2</sub>O. As etapas intermediárias que são altamente relevantes, como a fragmentação físico-química e enzimática do polímero em oligômeros e monômeros, bem como a assimilação microbiana, não são diretamente consideradas (Lucas *et al.*, 2008). Essa limitação metodológica é significativa, pois tais etapas podem estar associadas à formação de partículas sólidas residuais, incluindo microplásticos, que apresentam relevância ambiental e ecotoxicológica.

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo discutir criticamente as limitações das normas atuais de biodegradação, considerando que, embora amplamente utilizadas, essas metodologias nem sempre contemplam aspectos relacionados à fragmentação do material e à possível geração de resíduos secundários. No artigo 2,

busca-se avaliar o comportamento degradativo do PLA em diferentes condições experimentais, especificamente nos meios M9 e M9 suplementado com glicose, a fim de compreender como variações nutricionais podem influenciar o processo de biodegradação, utilizando *P. aeruginosa*.

Diante do exposto, foi analisado a formação de microplásticos ao longo do ensaio, campo de investigação não abordado pelas normas vigentes e que representa um desafio relevante para a avaliação dos reais impactos ambientais de materiais poliméricos classificados como biodegradáveis.

## 2 ARTIGO 1

### **Título: Limitações das normas ASTM de biodegradação na avaliação da formação de microplásticos**

#### **RESUMO**

As normas da *American Society for Testing and Materials (ASTM)* são amplamente utilizadas como referência internacional para avaliar a biodegradabilidade de materiais poliméricos em pesquisas, certificações e processos regulatórios. As normas, em síntese baseiam-se na quantificação da mineralização do carbono do polímero, principalmente por meio da liberação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e, em condições anaeróbias, também de metano (CH<sub>4</sub>). Normas ASTM simulam diferentes ambientes, incluindo solo, compostagem, ambiente marinho, aterros sanitários e digestão anaeróbia. Entretanto, o foco quase exclusivo na mineralização final desconsidera etapas intermediárias da biodegradação, como a fragmentação físico-química e biológica dos polímeros e o carbono incorporado à biomassa microbiana não é contabilizado, o que pode levar à subestimação da degradação real do material. As normas ASTM não estabelecem critérios padronizados para a identificação, quantificação ou caracterização de resíduos sólidos remanescentes, incluindo partículas menores que 5 mm, atualmente classificadas como microplásticos. Algumas normas reconhecem a possível permanência de partículas após o ensaio, essa avaliação é majoritariamente visual e qualitativa, concluindo-se que o uso isolado das normas ASTM pode resultar em interpretações otimistas, evidenciando a necessidade de abordagens complementares voltadas à caracterização de resíduos e microplásticos.

Palavras-chave: normas ASTM, fragmentos, certificações, mineralização, biodegradável

## 2.1 INTRODUÇÃO

O crescente uso de materiais poliméricos, associado ao descarte inadequado e à baixa taxa de degradação no ambiente, tem intensificado as discussões sobre alternativas consideradas ambientalmente mais sustentáveis, como os polímeros biodegradáveis. Nesse contexto, normas técnicas de biodegradação, especialmente aquelas desenvolvidas pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM), têm sido amplamente utilizadas para classificar e certificar materiais como biodegradáveis, tanto em pesquisas acadêmicas quanto em processos regulatórios e de certificação ambiental. No entanto, apesar de sua ampla adoção, essas normas vêm sendo questionadas quanto à sua capacidade de representar de forma adequada o destino ambiental real dos materiais testados (Silva *et al.*, 2023).

De modo geral, os ensaios normativos de biodegradação baseiam-se predominantemente na quantificação da mineralização do carbono, por meio da liberação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ou metano (CH<sub>4</sub>), dependendo das condições do ensaio. Embora esse parâmetro seja relevante, ele contempla apenas a etapa final do processo de biodegradação, desconsiderando etapas intermediárias fundamentais, como a fragmentação físico-química e biológica do polímero. A ausência de critérios normativos para a identificação, quantificação e caracterização de resíduos sólidos remanescentes levanta preocupações quanto à possível formação e persistência de microplásticos durante os ensaios de biodegradação (Pires *et al.*, 2022).

Os microplásticos têm sido reconhecidos como poluentes emergentes de elevado impacto ambiental, uma vez que partículas menores que 5 mm não são eficientemente retidas por sistemas convencionais de tratamento de água e esgoto, alcançando ambientes aquáticos e terrestres. Nessas matrizes, podem ser ingeridos por organismos, acumulando-se ao longo da cadeia trófica e causando potenciais efeitos adversos físicos, químicos e biológicos. Apesar da relevância do tema, a formação de microplásticos decorrente da degradação de materiais rotulados como biodegradáveis permanece pouco explorada e, em grande parte, negligenciada nos protocolos normativos atualmente vigentes (Ainali *et al.*, 2022).

Diante desse cenário, este trabalho aborda a biodegradação de materiais poliméricos sob duas perspectivas complementares. Primeiramente, é realizada uma análise crítica das normas ASTM de biodegradação, discutindo suas limitações metodológicas e conceituais frente à possível formação de microplásticos. Em seguida, avalia-se experimentalmente

a biodegradação de um produto comercial à base de poli (ácido láctico) (PLA), utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microrganismo modelo, em diferentes condições nutricionais. A integração entre análise normativa e evidências experimentais permite discutir, de forma mais abrangente, o destino ambiental de polímeros biodegradáveis e reforça a necessidade de abordagens metodológicas complementares às normas atuais, visando avaliações mais realistas e ambientalmente responsáveis (Bubpachat; Sombatsompop; Prapagdee, 2018).

## 2.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2.1 Normas de biodegradação ASTM

Algumas organizações desenvolveram normas de biodegradação e compostagem incluindo as definições, os testes e as condições necessárias para identificação dos materiais:

- Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR
- American Society for Testing and Materials ASTM
- European Standardization Committee EN
- International Standards Organization ISO
- German Institute for Standardization DIN (Harrison *et al.*, 2018a).

Essas normas são de difícil padronização, pois dependem de diversos fatores. No sentido de calcular a biodegradabilidade implementou-se variados métodos físico-químicos, nos quais não estão completamente padronizados, uma vez que, as interações entre microrganismos e a área do polímero são processos complicados (Baidurah, 2022).

Atualmente há diversas dificuldades em confirmar se alguns polímeros são biodegradáveis, para tanto são utilizados variados parâmetros de medição:

- medição do consumo de O<sub>2</sub>,
- método de análise de superfície,
- teste enzimático,
- determinação da perda de massa,
- Medição da produção de CO<sub>2</sub>, entre outros métodos (Fechine; Ambrósio; Alves, 2011).

Os métodos de ensaio e as normas de biodegradação vigentes para certos ambientes não abrangem a verificação de toxicidade de aditivos adicionados, ou mesmo levam em consideração a formação de partículas chamadas atualmente de microplásticos, questionar essas falhas é uma premissa importantíssima para se desenvolver novos

padrões de biodegradabilidade (Harrison *et al.*, 2018b). Para compreender o panorama atual desses padrões, é crucial mapear as normas existentes.

Foram identificadas 8 (oito) normas ASTM que abordam o tema biodegradação, descritas na tabela a seguir:

Tabela 1: Designação ASTM e seu título

Designação ASTM	Título
D5338	“Determinação da biodegradação aeróbica de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem, incorporando temperaturas termofílicas”.
D5511	“Norma de teste para determinar a biodegradação anaeróbica de materiais plásticos em condições de digestão anaeróbica de sólidos”.
D5988	“Norma de teste para Determinação da Biodegradação Aeróbica de Materiais Plásticos no Solo”.
D6400	“Norma de especificação para rotulagem de plásticos projetados para compostagem aeróbica em instalações municipais ou industriais”.
D6691	“Norma de teste para determinar a biodegradação aeróbia de materiais plásticos no ambiente marinho por um consórcio microbiano definido ou inóculo natural da água do mar”.
D6954	“Guia normativo para exposição e teste de plásticos que se degradam no ambiente por uma combinação de oxidação e biodegradação”.
D7475	“Norma de teste padrão para determinar a degradação aeróbica e a biodegradação anaeróbica de materiais plásticos em condições de aterro acelerado de biorreatores”.
D7991	“Norma de teste para determinar a biodegradação aeróbica de plásticos enterrados em sedimentos marinhos arenosos em condições controladas de laboratório”.

Fonte: elaboração própria

### 2.2.2 Avaliação dos métodos e critérios de biodegradação segundo as normas

Conforme sintetizado na tabela 2, as normas ASTM são empregadas para avaliar a biodegradação de materiais poliméricos em diferentes condições ambientais, variando-se os critérios de validação dos ensaios, os parâmetros de monitoramento e os tipos de meio. As metodologias aplicadas abrangem os sistemas aeróbicos e anaeróbicos, bem como em ecossistemas distintos, solo, composto, sedimento marinho e condições simuladas de aterro.

Tabela 2: Comparação entre as normas ASTM para avaliação da biodegradação de polímeros

Norma ASTM	Tipo de biodegradação	Meio / Condição	Método de quantificação	Temperatura / Tempo	Crítérios e observações
D5338-15 (R21)	Aeróbica (compostagem)	Composto ativo (termofílico)	Liberação de CO <sub>2</sub>	~45 dias (prorrogável)	≥70% celulose; aval. visual e perda de massa
D5511-18	Anaeróbica	Alta carga de sólidos	CH <sub>4</sub> e CO <sub>2</sub>	37°C ou 52°C	Uso de metanogênicos; evitar toxicidade
D5988-18 (R25)	Aeróbica (solo)	Solo	CO <sub>2</sub> ou DBO	Temperatura ambiente	Biodegradação no solo
D6400-23	Aeróbica (compostável)	Compostagem controlada	Perda de massa + biodegradação	12 sem / até 180 dias	≤10% resíduo; sem toxicidade
D6691-24	Aeróbica (marinha)	Meio marinho	CO <sub>2</sub>	30°C; 10–90 dias	Partículas ~25 µm
D6954-24	Várias Etapas	Ambiente controlado	Físico-química + biodegradação	Variável	Níveis: oxidação, bio, impacto
D7475-20	Aeróbica/Anaeróbica	Aterro simulado	CO <sub>2</sub> e CH <sub>4</sub>	Variável	Avalia fragmentação
D7991-22	Aeróbica (marinho)	Sedimento + água do mar	CO <sub>2</sub>	Até 180 dias	Validação com material referência

Fonte: autoria própria

As metodologias contidas nas normas ASTM se baseiam em métodos respirométrico, ou seja, na quantificação da evolução do dióxido de carbono ao longo do tempo em caso de ambientes aeróbicos ou metano em ambientes anaeróbicos utilizando consórcios metanogênicos, como descritos nas normas ASTM D5338 e ASTM D5988 ((ASTM INTERNATIONAL, 2015; ASTM INTERNATIONAL, 2018).

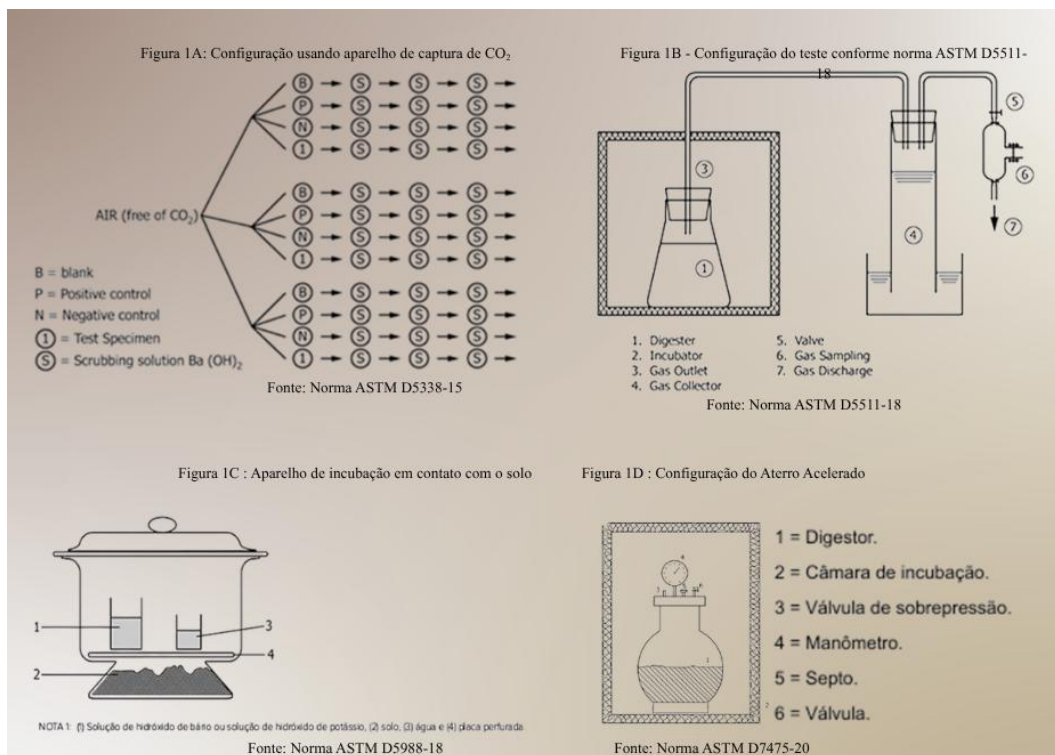
Contudo a norma ASTM D6954, é mais abrangente, propondo uma abordagem em níveis, englobando etapas de oxidação, biodegradação e avaliação de impactos ecológicos, a norma ASTM D6400 estabelece critérios específicos para materiais compostáveis, incluindo tempo de degradação, efeitos ecotoxicológicos e requisitos relacionados à fragmentação (ASTM INTERNATIONAL, 2024; ASTM INTERNATIONAL, 2023).

Aos ambientes simulados, destacam-se metodologias voltadas ao meio marinho, como as normas ASTM D6691 e ASTM D7991, que utilizam microrganismos marinhos e sedimentos como matriz experimental, enquanto a norma ASTM D7475 avalia a degradação dos materiais em condições que simulam aterros sanitários, tanto em processos aeróbicos quanto em anaeróbicos (ASTM INTERNATIONAL, 2024; ASTM INTERNATIONAL, 2022b).

Um aspecto relevante e comum para as diversas metodologias normatizadas para biodegradação, reside na quantificação do carbono mineralizado em dióxido de carbono ou metano, omitindo-se a fração de carbono incorporada como biomassa microbiana.

As configurações experimentais dos ensaios são apresentadas na Figura 1 (1A, 1B, 1C e 1D), ilustrando a diversidade de sistemas utilizados para simular diferentes condições ambientais e reforçando a complexidade envolvida na avaliação da biodegradação de materiais poliméricos.

Figura 1: Configurações experimentais dos ensaios



Fonte: autoria própria

### 2.2.3 Formação de microplásticos: uma lacuna conceitual

A discussão sobre a formação de microplásticos ainda representa uma lacuna conceitual nas normas de biodegradação de materiais poliméricos. A norma ASTM D5338-15, por exemplo, prevê que, ao final da biodegradação, a avaliação física da amostra seja feita de forma visual e qualitativa, descrevendo a decomposição do material. Apesar de permitir a análise da perda de massa, não há uma metodologia padronizada para quantificar os fragmentos oriundos da degradação, tampouco sua caracterização em relação à formação de microplásticos (Da Silva *et al.*, 2020b).

Na ASTM D 5511-18, o enfoque está na evolução da biodegradação a partir da medição dos gases metano e dióxido de carbono, excluindo-se o carbono convertido em biomassa celular. Embora calcule a porcentagem de biodegradação, a norma não discute a geração de microplásticos (Payanthoth *et al.*, 2024).

A norma ASTM D5988-18 foca na mineralização do material pela ação de microrganismos do solo, analisada pela produção de dióxido de carbono, mas não aborda os resíduos sólidos que podem permanecer após o processo. Enquanto a ASTM D6400-23 avança ao reconhecer que partículas inferiores a 2,0 mm podem permanecer ao final da biodegradação, sendo essas classificadas como microplásticos. Entretanto, limita-se a

afirmar que a amostra não deve ser visualmente perceptível, o que não garante, de forma científica, a ausência de fragmentos microscópicos (Du; Xie; Wang, 2021).

De maneira semelhante, a ASTM D 6691-24, voltada para a biodegradação em meio marinho, baseia-se na mineralização do carbono em CO<sub>2</sub> como indicador de degradação. Contudo, não estabelece critérios para avaliar a presença de fragmentos menores que 5 mm, tampouco propõe metodologias para quantificação ou caracterização dos resíduos resultantes. A ASTM D6954-24, embora represente um avanço ao considerar a fragmentação física de filmes plásticos e recomendar o peneiramento como método de avaliação, não define nem quantifica os microplásticos como uma categoria específica de resíduo e não contempla os efeitos físicos adversos típicos desses fragmentos, como a ingestão por organismos (Bacha *et al.*, 2023).

A ASTM D 7475-20 também reconhece a fragmentação ao prever, no nível 1 de degradação aeróbica, a estimativa da perda de propriedades físicas do material testado. Ainda assim, não classifica os fragmentos como microplásticos, nem estabelece requisitos para caracterizá-los ou discutir seus impactos ambientais. Na mesma linha, a ASTM D 7991-22 busca apenas mensurar a porcentagem de carbono mineralizado, desconsiderando a geração de fragmentos durante o processo de biodegradação. Essa norma também ressalta que o carbono convertido em biomassa celular não é contabilizado, reforçando o enfoque exclusivo na mineralização e deixando de lado a problemática da formação de microplásticos (Wei *et al.*, 2021).

A formação de microplásticos durante a degradação é um processo documentado na literatura, mas ainda não considerado nas normas ASTM. O enfoque exclusivo na mineralização pode mascarar a existência de resíduos persistentes. Dessa forma, um material pode ser certificado como biodegradável mesmo que gere microplásticos durante sua decomposição.

Os microplásticos tornaram-se poluentes emergentes, com potencial para gerar grandes impactos ambientais, uma vez que os filtros das estações de tratamento de água e esgoto não retêm partículas menores que 5 mm. Essas partículas acabam alcançando mares e oceanos, onde são ingeridas e acumuladas por organismos aquáticos, podendo atingir os níveis superiores da cadeia trófica (Carr; Liu; Tesoro, 2016).

No solo pode-se citar efeitos potencialmente prejudiciais: alterações físicas, impactos nas plantas devido a adição de aditivos químicos e as alterações nos ciclos biogeoquímicos. Como existem problemas críticos que necessitam de resolução, antes dos estudos sobre os impactos da poluição por microplásticos em ecossistemas aquáticos

e terrestres sejam elucidados, é necessário elaborar metodologias precisas de detecção, sensíveis, de baixo custo e harmonizadas, bem como processamento de amostras de alto rendimento (Rillig; Lehmann, 2020).

O relatório da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico), de 2021, enfatiza a relevância de se padronizar os métodos referente a gravidade das consequências negativas dos microplásticos no contexto de políticas de mitigação (“Policies to Reduce Microplastics Pollution in Water”, 2021).

## **2.3 METODOLOGIA**

Para a realização deste trabalho, foi conduzida uma pesquisa abrangente voltada à identificação e análise de atos normativos, diretrizes e recomendações nacionais e internacionais relacionados à poluição por microplásticos e à biodegradação de materiais poliméricos. O estudo incluiu uma revisão bibliográfica realizada a partir de buscas em bases de dados bibliográficos e na literatura científica, utilizando o Portal Periódico da Capes e o Google Acadêmico como plataformas de pesquisa, com foco em artigos científicos e relatórios técnicos que abordam a ausência de critérios normativos específicos para a avaliação de microplásticos gerados em processos de degradação.

Além disso, foram consultadas publicações e documentos oficiais de organizações internacionais, como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), que têm discutido estratégias globais de mitigação da poluição plástica.

Todos os materiais coletados foram examinados de forma crítica e sistematizados, buscando fornecer um panorama atualizado sobre as iniciativas regulatórias e os desafios ainda existentes para garantir a efetiva gestão e redução da poluição por microplásticos.

## **2.4 DISCUSSÃO**

### **2.4.1 Limitações das normas ASTM frente aos microplásticos**

As normas ASTM de biodegradação apresentam uma lacuna conceitual importante: elas só medem a mineralização ( $\text{CO}_2$  ou  $\text{CH}_4$ ), sem considerar o carbono que é convertido em biomassa microbiana. Esse detalhe é crucial, porque quando parte do polímero vai para a biomassa, ele deixa de aparecer na forma de gás (Cerri *et al.*, 2025),

ou seja, o resultado não reflete toda a transformação do material e, na prática, ocorre uma subestimação da taxa real de biodegradação.

É essencial incorporar técnicas complementares à respirometria, como a análise do resíduo sólido via FTIR, microscopia eletrônica de varredura, teste enzimático, permitindo identificar fragmentos microplásticos formados durante o processo (Przygoda-Kuś *et al.*, 2025). A inclusão dessas etapas traria maior robustez aos resultados e alinharia as normas com as preocupações ambientais contemporâneas.

Outro ponto crítico é que as normas não esclarecem o destino da fração não mineralizada. Essa parcela pode incluir biomassa celular, metabólitos solúveis e fragmentos poliméricos. No caso dos fragmentos, existe sim o risco de formação de microplásticos, mas isso não é avaliado nem monitorado dentro dos protocolos atuais. Essa omissão compromete a compreensão global do processo e limita a detecção de possíveis resíduos persistentes no ambiente (Barbale *et al.*, 2021).

Por isso, torna-se essencial a identificação, monitoramento e a quantificação dos microplásticos durante e após a biodegradação, só assim será possível construir normas que realmente previnam a poluição por microplásticos.

Nesse cenário, a ASTM D6954-18 se diferencia ao propor uma abordagem em níveis — oxidação, biodegradação e avaliação ecotoxicológica. Embora não traga métodos específicos para a quantificação de microplásticos, ela abre espaço para uma análise mais completa do destino dos resíduos, representando um avanço em relação às demais normas existentes (Wei *et al.*, 2021).

#### 2.4.2 Propostas de aprimoramento normativo

Sugere-se que as normas de biodegradação incluam, de forma obrigatória, uma etapa de filtração do meio após a conclusão dos testes, utilizando filtros de 0,45 µm ou 0,22 µm, com o objetivo de reter possíveis fragmentos sólidos resultantes do processo. O material retido deverá ser caracterizado por micro espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e/ou Raman, a fim de identificar sua composição química e confirmar a presença de fragmentos poliméricos (Yang *et al.*, 2023).

Recomenda-se, ainda, a quantificação do percentual de massa residual classificado como microplástico (partículas com tamanho inferior a 5 mm) (Xu *et al.*, 2023).

As normas também deveriam prever a realização de ensaios ecotoxicológicos complementares, com organismos do solo ou aquáticos, para avaliar eventuais efeitos

adversos causados pelos resíduos formados, como por exemplo a utilização de zebrafish (Vázquez; Rahman, 2021)

Por fim, propõe-se que seja requerida a análise da composição química dos aditivos presentes nos materiais testados, de modo a avaliar sua influência na degradação e na formação de fragmentos durante o processo (Chen *et al.*, 2024).

#### 2.4.3 Discussão socioambiental e política

A ausência de critérios normativos específicos para a detecção e quantificação de microplásticos decorrentes de processos de biodegradação cria um cenário propício para práticas de *greenwashing*. Nesse contexto, empresas podem rotular produtos como “biodegradáveis” sem evidências científicas que comprovem a degradação completa do material e a ausência de resíduos microplásticos no ambiente. Tal lacuna regulatória compromete a credibilidade das alegações ambientais, enfraquece a confiança do consumidor e dificulta a efetiva transição para um modelo de produção e consumo sustentáveis. Além disso, contraria os princípios estabelecidos pelos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), especialmente o ODS 12, que trata do consumo e produção responsáveis, e o ODS 14, voltado à conservação dos ecossistemas marinhos e à redução da poluição por resíduos plásticos (MacLennan; Catelle, 2025).

## 2.5 CONCLUSÃO

As normas ASTM de biodegradação são amplamente utilizadas para avaliar materiais poliméricos, porém apresentam limitações ao focarem predominantemente na mineralização do carbono. Essa abordagem desconsidera etapas intermediárias da degradação, como a fragmentação do material e a possível formação de microplásticos. A ausência de critérios normativos para a detecção e quantificação desses resíduos pode levar a interpretações excessivamente otimistas sobre o desempenho ambiental de polímeros ditos biodegradáveis. Assim, evidencia-se a necessidade de aprimorar essas normas, incorporando metodologias complementares que permitam uma avaliação mais abrangente e ambientalmente realista da biodegradação.

## REFERÊNCIAS

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D5338-15 (R21): Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions. West Conshohocken, PA, 2015.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D5511-18: Standard Test Method for Determining Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials Under High-Solids Anaerobic-Digestion Conditions. West Conshohocken, PA, 2018.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D5988-18 (R25): Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in Soil. West Conshohocken, PA, 2018.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D6400-23: Standard Specification for Labeling of Plastics Designed to be Aerobically Composted in Municipal or Industrial Facilities. West Conshohocken, PA, 2023.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D6691-24: Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Marine Environment by a Defined Microbial Consortium or Natural Sea Water Inoculum. West Conshohocken, PA, 2024.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D6954-2024: Standard Guide for Exposing and Testing Plastics that Degrade in the Environment by a Combination of Oxidation and Biodegradation. West Conshohocken, PA, 2024.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D7475-20: Standard Test Method for Determining Biodegradability of Plastics in an Aerobic Aquatic Environment. West Conshohocken, PA, 2020.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D7991-2021: Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastics in the Marine Environment by a Defined Microbial Consortium or Natural Sea Water Inoculum. West Conshohocken, PA, 2021.

AINALI, Nina Maria *et al.* Do poly(lactic acid) microplastics instigate a threat? A perception for their dynamic towards environmental pollution and toxicity. **Science of The Total Environment**, v. 832, p. 155014, 1 ago. 2022.

BACHA, Aziz-Ur-Rahim *et al.* Biodegradation of macro- and micro-plastics in environment: A review on mechanism, toxicity, and future perspectives. **Science of The Total Environment**, v. 858, p. 160108, 1 fev. 2023.

BAIDURAH, Siti. Methods of Analyses for Biodegradable Polymers: A Review. **Polymers**, v. 14, n. 22, p. 4928, jan. 2022.

BARBALE, Marco *et al.* Hazard profiling of compostable shopping bags. Towards an ecological risk assessment of littering. **Polymer Degradation and Stability**, v. 188, p. 109592, 1 jun. 2021.

BUBPACHAT, Tiparporn; SOMBATSOMPOP, Narongrit; PRAPAGDEE, Benjaphorn. Isolation and role of polylactic acid-degrading bacteria on degrading enzymes productions and PLA biodegradability at mesophilic conditions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 152, p. 75–85, jun. 2018.

CARR, Steve A.; LIU, Jin; TESORO, Arnold G. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 91, p. 174–182, 15 mar. 2016.

CERRI, Mattia *et al.* An Analytical Workflow to Quantify Biodegradable Polyesters in Soils and Its Application to Incubation Experiments. **Environmental Science & Technology**, v. 59, n. 16, p. 8108–8118, 29 abr. 2025.

CHEN, Xiaoxin *et al.* Bisphenol A sorption on commercial polyvinyl chloride microplastics: Effects of UV-aging, biofilm colonization and additives on plastic behaviour in the environment. **Environmental Pollution**, v. 356, p. 124218, 1 set. 2024.

DA SILVA, Schana Andréia *et al.* A biostimulation-based accelerated method for evaluating the biodegradability of polymers. **Polymer Testing**, v. 91, p. 106732, 1 nov. 2020.

DU, Hao; XIE, Yuqun; WANG, Jun. Microplastic degradation methods and corresponding degradation mechanism: Research status and future perspectives. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, p. 126377, 15 set. 2021.

FECHINE, Guilhermino J. M.; AMBRÓSIO, Fernanda Bruneli; ALVES, Douglas Assis. Estudo da biodegradabilidade de polímeros por meio do Respirômetro de Bartha. **Revista Mackenzie de Engenharia e Computação**, v. 11, n. 1, 2011.

HARRISON, Jesse P. *et al.* Biodegradability standards for carrier bags and plastic films in aquatic environments: a critical review. **Royal Society Open Science**, v. 5, n. 5, p. 171792, 23 maio 2018a.

HARRISON, Jesse P. *et al.* Biodegradability standards for carrier bags and plastic films in aquatic environments: a critical review. **Royal Society Open Science**, 23 maio 2018b.

MACLENNAN, J.; CATELLE, W. De. The Revision of EU Greenwashing Laws: A New Framework of Analysis. **Business and Human Rights Journal**, p. 1–7, 28 mar. 2025.

PAYANTHOTH, Nehala Sona *et al.* A review of biodegradation and formation of biodegradable microplastics in soil and freshwater environments. **Applied Biological Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 110, 21 dez. 2024.

PIRES, João Ricardo Afonso *et al.* Methodologies to Assess the Biodegradability of Bio-Based Polymers—Current Knowledge and Existing Gaps. **Polymers**, v. 14, n. 7, p. 1359, jan. 2022.

**Policies to Reduce Microplastics Pollution in Water.** Disponível em: <[https://www.oecd.org/en/publications/policies-to-reduce-microplastics-pollution-in-water\\_7ec7e5ef-en.html](https://www.oecd.org/en/publications/policies-to-reduce-microplastics-pollution-in-water_7ec7e5ef-en.html)>. Acesso em: 28 out. 2025.

PRZYGODA-KUŚ, Paula *et al.* Current Approaches to Microplastics Detection and Plastic Biodegradation. **Molecules**, v. 30, n. 11, p. 2462, jan. 2025.

RILLIG, Matthias C.; LEHMANN, Anika. Microplastic in terrestrial ecosystems. **Science (New York, N.Y.)**, v. 368, n. 6498, p. 1430–1431, 26 jun. 2020.

SILVA, Rafael Resende Assis *et al.* Biodegradation of Polymers: Stages, Measurement, Standards and Prospects. **Macromol**, v. 3, n. 2, p. 371–399, jun. 2023.

VÁZQUEZ, Omar A.; RAHMAN, Md Saydur. An ecotoxicological approach to microplastics on terrestrial and aquatic organisms: A systematic review in assessment, monitoring and biological impact. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 84, p. 103615, 1 maio 2021.

WEI, Xin-Feng *et al.* Microplastics generated from a biodegradable plastic in freshwater and seawater. **Water Research**, v. 198, p. 117123, 15 jun. 2021.

XU, Yanghui *et al.* Assessing the Mass Concentration of Microplastics and Nanoplastics in Wastewater Treatment Plants by Pyrolysis Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v. 57, n. 8, p. 3114–3123, 28 fev. 2023.

YANG, J. *et al.* Microplastics in different water samples (seawater, freshwater, and wastewater): Methodology approach for characterization using micro-FTIR spectroscopy. **Water Research**, v. 232, p. 119711, 1 abr. 2023.

### 3 ARTIGO 2

#### **Título: Estudo da biodegradação do PLA em sistemas com *Pseudomonas aeruginosa*: influência do meio de cultura e potencial geração de microplásticos**

#### **RESUMO**

O uso de polímeros biodegradáveis tem sido amplamente difundido como alternativa aos plásticos convencionais, sendo o poli (ácido lático) (PLA) um dos materiais mais utilizados em produtos comerciais. Neste estudo, avaliou-se a biodegradação de um produto comercial à base de PLA, bem como a possível formação de microplásticos ao longo do processo, em condições laboratoriais controladas. A biodegradação foi conduzida utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microrganismo modelo, em dois sistemas distintos: meio mínimo M9, com o intuito de analisar o metabolismo da *P. aeruginosa* utilizando apenas o polímero como fonte de carbono e meio M9 suplementado com glicose. O acompanhamento do processo foi realizado por respirometria, com quantificação da liberação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ao longo de 180 dias. A caracterização química do material foi efetuada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), permitindo avaliar alterações estruturais do polímero antes e após a incubação. Para a investigação da formação de microplásticos, alíquotas periódicas dos meios de cultura foram filtradas em membranas de 0,22 µm e analisadas por estereomicroscópio. Os resultados indicaram que a biodegradação do PLA ocorreu de forma lenta em ambos os meios de cultivo, com maior atividade metabólica observada nos sistemas suplementados com glicose. As análises por FTIR evidenciaram alterações químicas localizadas na superfície do polímero, compatíveis com processos de hidrólise e fragmentação parcial das cadeias poliméricas, sem completa mineralização do material. Além disso, a presença de partículas sólidas compatíveis com microplásticos foi observada nas amostras filtradas ao longo do experimento. Os resultados demonstram que, mesmo em condições controladas, a biodegradação do PLA pode resultar na formação de fragmentos poliméricos persistentes, ressaltando a importância de avaliar o comportamento desses materiais em diferentes sistemas biológicos.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*, FTIR, microplásticos, biopolímeros, meio de cultivo

### 3.1 INTRODUÇÃO

A crescente utilização de polímeros biodegradáveis tem sido amplamente associada à redução dos impactos ambientais causados pelos plásticos convencionais. Entre esses materiais, o poli (ácido lático) (PLA) destaca-se por sua origem renovável, ampla aplicação comercial e recorrente classificação como alternativa ambientalmente sustentável. No entanto, a biodegradação efetiva do PLA ainda apresenta resultados inconsistentes, especialmente quando avaliada sob condições laboratoriais padronizadas (Shalem; Yehezkeli; Fishman, 2024).

A biodegradação do PLA ocorre por meio de uma sequência de etapas que inclui a fragmentação físico-química e fragmentação por hidrólise por catalização enzimática das cadeias poliméricas, a formação de oligômeros e monômeros, a assimilação microbiana e, por fim, a mineralização. Evidências experimentais indicam que o PLA pode apresentar elevada resistência à degradação completa, mesmo sob condições controladas, favorecendo processos de fragmentação sem conversão total em CO<sub>2</sub> dentro do período experimental estabelecido pelas normas, alguns autores citam que o PLA leva de seis meses a dois anos para degradar, dependendo das condições (Ali *et al.*, 2023).

Nesse contexto, fatores como a atividade microbiana e a disponibilidade de nutrientes no meio de cultivo exercem influência direta sobre o comportamento degradativo do PLA. Microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa* destacam-se pela versatilidade metabólica, podendo atuar de forma diferenciada na degradação do material conforme as condições experimentais. Além disso, a fragmentação do PLA pode resultar na formação de partículas de microplásticos, cuja geração não é sistematicamente considerada nos critérios normativos de avaliação da biodegradação (Boonluksiri; Prapagdee; Sombatsompop, 2021).

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar a biodegradação de um produto comercial em PLA em sistemas laboratoriais contendo *Pseudomonas aeruginosa*, utilizando meios de cultura M9 e M9 suplementado com glicose, com base nas normas NBR 14283-1999 e ASTM D5988-18 (com adaptações). A partir da análise da liberação de CO<sub>2</sub> e da caracterização do material ao longo do ensaio, busca-se compreender a influência das condições nutricionais no processo de biodegradação e discutir as limitações das metodologias normativas frente à fragmentação do PLA.

## 3.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.2.1 Polímeros

A palavra “polímero” vem do grego *poli* (muitos) e *mero* (unidade de repetição), ou seja, um polímero é uma macromolécula formada por dezenas ou até milhares de unidades repetidas — os chamados *meros* — ligados entre si por ligações covalentes. A matéria-prima usada para produzir um polímero é o *monômero*, que é uma molécula com apenas uma dessas unidades. Dependendo da estrutura química do monômero, do tamanho médio das cadeias e do tipo de ligação covalente, os polímeros podem ser classificados em três grandes grupos: plásticos, borrachas e fibras (Canevarolo, 2002).

Desde as décadas de 1930 e 1940, a comercialização dos plásticos vem aumentando gradativamente, devido ao seu valor acessível e grande disponibilidade, os polímeros vêm sendo introduzidos em nosso cotidiano. No entanto, ainda que a utilização do plástico traga benefícios, a manutenção ineficaz dos resíduos sólidos, após sua utilização, tem provocado o descarte irregular, observado em todo o planeta Terra. Aproximadamente de 4,8 a 12,7 milhões de toneladas de lixo contendo plásticos foram despejados em oceanos, acarretando impactos ambientais de proporções gigantescas (Silva *et al.* 2021 *apud* Jambeck *et al.* 2015).

O descarte inadequado de grandes volumes de materiais poliméricos fez a sociedade repensar o impacto ambiental causado por esses resíduos que não se degradam facilmente. Apesar de a reciclagem ter se consolidado como uma importante indústria, ainda existem limitações, principalmente quando se trata de tecnologias economicamente viáveis e sustentáveis para certos tipos de polímeros (Tiago *et al.*, 2023).

Uma preocupação que vem crescendo no mundo todo é o descarte incorreto de grandes quantidades de polímeros não biodegradáveis. Com o tempo, esses materiais acabam sofrendo ação do intemperismo e da luz solar, se fragmentando em pequenas partículas conhecidas como microplásticos (Yang *et al.*, 2024).

### 3.2.2 Microplásticos

A primeira abordagem científica sobre a presença de resíduos de tamanho ínfimo em ambientes marinhos ocorreu na década de 1970. Os plásticos descartados no meio ambiente sofrem diversos processos de degradação física, química e biológica, fragmentando-se em partículas menores ao longo do tempo. Em 2004, os resíduos

plásticos de dimensões reduzidas passaram a ser denominados microplásticos, termo aceito pela comunidade científica até os dias atuais (P. Olivatto *et al.*, 2018).

Os microplásticos são classificados em primários, produzidos intencionalmente pela indústria, como pellets e microesferas, e secundários, originados da fragmentação de materiais plásticos maiores, sendo geralmente definidos como partículas com tamanho inferior a 5 mm, conforme recomendação estabelecida em workshop internacional promovido pela NOAA (Oberbeckmann; Labrenz, 2020).

Pesquisas têm demonstrado que microplásticos podem ser ingeridos por peixes, invertebrados e microrganismos, favorecendo sua transferência ao longo das cadeias tróficas. Em organismos aquáticos, esses materiais podem se acumular em tecidos e provocar efeitos tóxicos. Evidências recentes também indicam a presença de microplásticos em amostras humanas, embora os impactos à saúde ainda estejam em investigação (Rochman *et al.*, 2013).

A ingestão de partículas plásticas por organismos marinhos, incluindo tartarugas, peixes, mamíferos marinhos e aves, tem sido associada a efeitos adversos como redução da ingestão alimentar, estresse fisiológico e, em casos mais graves, mortalidade, sendo que para microplásticos esses efeitos ocorrem predominantemente de forma indireta (Browne *et al.*, 2008).

Além dos oceanos, microplásticos são encontrados em ambientes agrícolas, urbanos e em sistemas de água doce, como rios e lagos, devido à sua ampla utilização e facilidade de dispersão. O pequeno tamanho dessas partículas favorece sua ingestão por organismos terrestres e aquáticos, podendo causar efeitos adversos à saúde ao longo do tempo. A transferência ao longo da cadeia alimentar sugere uma potencial via de exposição humana, tema que tem sido amplamente discutido na literatura científica (Horton *et al.*, 2017).

Estudos sugerem que a exposição humana a microplásticos, por ingestão ou inalação, pode estar associada a efeitos adversos à saúde, especialmente no sistema respiratório, embora as evidências disponíveis ainda não permitam estabelecer relações causais diretas (Prata, 2018).

Enquanto os efeitos adversos dos microplásticos em ambientes marinhos são amplamente estudados, o ecossistema terrestre permanece menos explorado, havendo lacunas significativas quanto aos impactos da contaminação do solo por essas partículas (De Souza Machado *et al.*, 2018). Microplásticos podem persistir, acumular-se e alterar

propriedades físicas e biológicas do solo, potencialmente afetando o desempenho e a diversidade biológica dos ecossistemas terrestres (Rillig, 2012).

### 3.2.3 Biodegradação de Polímeros

O plástico tem sido utilizado de forma crescente em diversos setores, devido ao seu baixo custo, versatilidade de aplicação e propriedades físico-químicas favoráveis. Como consequência desse uso intensivo, houve um aumento significativo no descarte de resíduos plásticos no meio ambiente. Com o objetivo de reduzir a persistência desses materiais, diferentes processos de tratamento têm sido investigados, dentre eles a biodegradação (Franchetti; Marconato, 2006).

A biodegradação envolve diferentes microrganismos, como bactérias e fungos, sendo um processo complexo que depende de vários fatores. Uma das etapas é a formação de biofilmes, onde os microrganismos colonizam a superfície dos materiais de origem polimérica, esses microrganismos secretam enzimas que agem como catalisadores, promovendo a hidrólise e rompendo as ligações químicas das cadeias poliméricas, fragmentando o material em moléculas menores. Somente então esses fragmentos podem ser absorvidos e utilizados como fonte de energia e nutrientes (Tauk, 1990).

Para que esse processo ocorra de maneira eficiente, é fundamental que as condições ambientais sejam favoráveis, incluindo temperatura, pH, umidade e disponibilidade de oxigênio, dependendo se a biodegradação ocorre em ambiente aeróbio ou anaeróbio (Tauk, 1990).

A biodegradabilidade dos polímeros também é influenciada por características intrínsecas do material, como o caráter hidrofílico e o grau de cristalinidade. Polímeros semicristalinos tendem a restringir a acessibilidade dos microrganismos às cadeias poliméricas, fazendo com que a degradação ocorra preferencialmente nas regiões amorfas (Bastiole, 2005).

A velocidade de fragmentação de um polímero biodegradável no ambiente está diretamente relacionada a fatores como a temperatura. Alguns polímeros classificados como biodegradáveis não apresentam degradação significativa em ambientes naturais, como a água do mar, exigindo condições específicas, como temperaturas elevadas, em torno de 50 °C, ou ambientes controlados de compostagem para que o processo ocorra de forma eficiente (Wang *et al.*, 2021).

Estudos demonstram, por exemplo, que sacolas plásticas biodegradáveis podem manter suas propriedades mecânicas mesmo após longos períodos de exposição às intempéries, permanecendo funcionalmente intactas após até três anos em ambientes marinhos ou terrestres, o que evidencia as limitações da biodegradação em condições ambientais naturais (Napper; Thompson, 2019).

### 3.2.4 Biodegradação do Ácido Polilático (PLA)

O ácido polilático (PLA) é um biopolímero obtido a partir de fontes renováveis, como milho, trigo e arroz, amplamente utilizado devido às suas propriedades mecânicas, biocompatibilidade e potencial de compostabilidade. O PLA é classificado como um material compostável e biodegradável sob condições específicas, além de ser amplamente empregado em aplicações biomédicas por apresentar boa compatibilidade com tecidos humanos em contextos controlados (Rajeshkumar *et al.*, 2021). Em função dessas características, o PLA tem sido considerado uma alternativa ambientalmente mais favorável aos polímeros de origem petroquímica, o que tem impulsionado seu consumo (Ali *et al.*, 2023a).

Apesar de ser classificado como biodegradável, o PLA requer condições específicas de compostagem industrial para que sua degradação ocorra de forma eficiente, incluindo temperaturas elevadas (aproximadamente 58–80 °C), elevada umidade e a presença de microrganismos termofílicos. Em ambientes naturais ou quando misturado a outros resíduos, sua biodegradação é significativamente limitada, o que torna esse processo controverso do ponto de vista ambiental (Ainali *et al.*, 2022).

Em condições controladas de compostagem industrial, o PLA pode ser completamente mineralizado, sendo por isso considerado biodegradável. No entanto, quando comparado a outros polímeros biodegradáveis, como PHA, PCL, PBS, PBAT e a celulose, o PLA apresenta taxas de degradação substancialmente mais lentas em condições ambientais naturais (McKeown; Jones, 2020). Fora do ambiente ideal de compostagem, sua biodegradação é bastante restrita, estimando-se que, em aterros sanitários, apenas cerca de 1% do PLA seja degradado após um período de cem anos, evidenciando sua persistência ambiental (Mistry *et al.*, 2022).

Além disso, estudos recentes têm mostrado que microplásticos de PLA podem causar efeitos negativos em níveis biológicos, como por exemplo estudos realizados com *Daphnia Magna* observando-se redução na reprodução em comparação ao controle,

reforçando a importância de avaliar não apenas sua biodegradabilidade, mas também seu comportamento e impacto real em ambientes naturais (Mistry *et al.*, 2022).

A biodegradação do PLA por microrganismos ocorre em etapas sequenciais, envolvendo inicialmente processos abióticos, como hidrólise, seguidos pela ação biológica mediada por enzimas extracelulares capazes de fragmentar o polímero em unidades menores assimiláveis pelas células (Shalem; Yehezkeli; Fishman, 2024).

Devido à elevada massa molecular e à baixa solubilidade do PLA, essa degradação ocorre predominantemente na superfície do material, após a colonização microbiana e formação de biofilme. As principais enzimas envolvidas na degradação do PLA pertencem ao grupo das hidrolases, com destaque para esterases, lipases e cutinases, que catalisam a hidrólise das ligações éster da cadeia polimérica, resultando na liberação de oligômeros e monômeros de ácido lático (Shalem; Yehezkeli; Fishman, 2024).

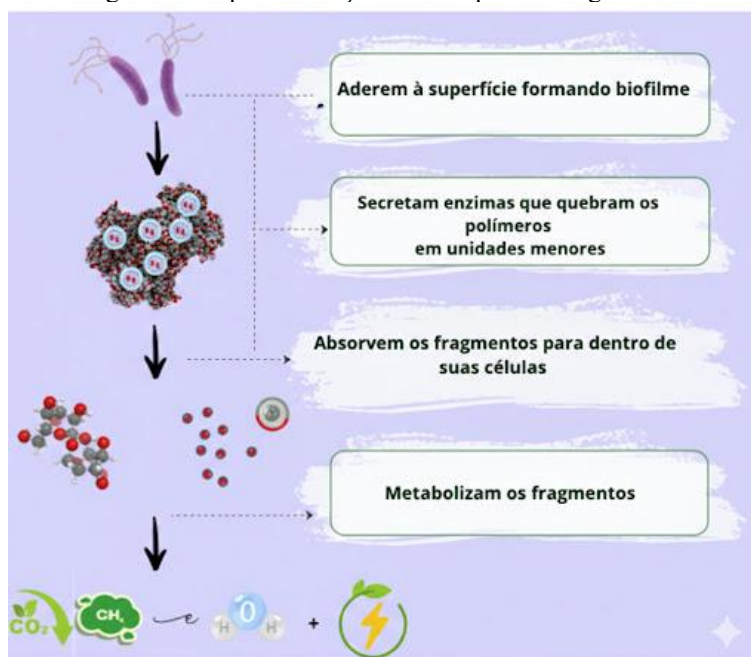
Esses produtos de menor massa molar podem ser transportados para o interior das células microbianas, onde são metabolizados e convertidos em biomassa celular, dióxido de carbono, água e, em condições anaeróbias, metano (Shalem; Yehezkeli; Fishman, 2024).

No ambiente natural, a decomposição do PLA pode ser influenciada por processos como oxidação, fotólise, degradação térmica, hidrólise e ação biológica ou enzimática, embora essas vias sejam geralmente lentas e pouco eficientes fora de condições controladas (Madhavan Nampoothiri; Nair; John, 2010). Estudos em ambientes aquáticos demonstraram a baixa biodegradabilidade do PLA ao longo de períodos prolongados, como observado em experimentos conduzidos durante 365 dias (Bagheri *et al.*, 2017).

Avanços recentes na compreensão dos mecanismos bioquímicos da biodegradação do PLA têm identificado microrganismos capazes de promover sua degradação parcial, especialmente espécies bacterianas como *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Rhodopseudomonas palustris* (Qi; Ren; Wang, 2017).

Cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, em particular, demonstraram capacidade de formar biofilmes densos na superfície do polímero e produzir enzimas do tipo esterase, favorecendo a hidrólise das ligações éster do PLA e promovendo sua degradação superficial em condições ambientais (Shalem; Yehezkeli; Fishman, 2024). A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* produz a enzima esterase, como representado na figura 2 (Noor *et al.*, 2020).

Figura 2: Despolimerização do PLA por microrganismos



Fonte: Autoria própria

### 3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.3.1 Equipamentos e Instrumentação

Os experimentos foram conduzidos utilizando balança de precisão (Gehaka, AG200, Brasil), incubadora bacteriológica (Ethik Technology, Incubadora Shaker 430, Brasil), espectrofotômetro UV-Vis (Hach, DR 5000, USA), espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier – FTIR (Cary 630 (Agilent), EUA), estereomicroscópio (LEICA S8 APO, Alemanha), capela de fluxo laminar (AmbiKontrol – TOPFLOW 1000, Brasil) e centrífuga (Eppendorf, Centrifuge 5430 R, Alemanha).

#### 3.3.2 Preparação dos materiais

Conforme a Figura 3, foi adquirida uma escova de dentes de cor amarela em uma drogaria localizada na cidade de Sorocaba/SP. De acordo com as informações do rótulo, a parte polimérica do produto é composta por 100% de ácido polilático (PLA), além de conter óleo de mamona, arame de latão e pigmento atóxico em sua formulação.

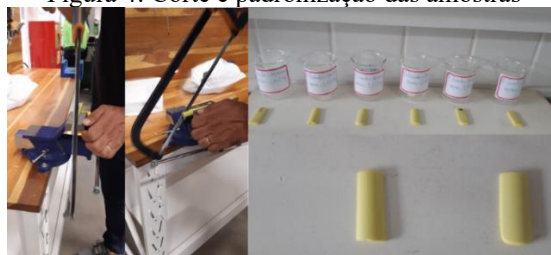
Figura 3: Escova dental em PLA



Fonte: Autoria própria

Antes do início do experimento, foi realizada espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) em uma amostra da escova dental. Para a preparação da amostra, a escova odontológica foi cortada no sentido longitudinal com o auxílio de um arco de serra manual e de uma morsa para melhor fixação. Após o corte, a amostra foi lixada para a remoção de resíduos plásticos e, em seguida, cortada em fragmentos menores. O tamanho das amostras foi padronizado com o uso de um paquímetro, seguido de nova etapa de lixamento, conforme ilustrado na Figura 4. Por fim, as amostras foram pesadas em balança de precisão e submetidas à limpeza com álcool etílico.

Figura 4: Corte e padronização das amostras



Fonte: Autoria própria

Os valores de massa, comprimento e biômetros das amostras encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Massa e comprimento das amostras em PLA

Amostra	Massa (g)	Comprimento (mm)	Biômetro
1	1,3627	29,98	G1
2	1,2126	28,95	M2
3	1,5734	30,27	M3
4	1,4502	29,88	G3
5	1,3843	31,16	M1
6	1,3672	29,49	G2
Total	8,3504	179,73	-

Fonte: Autoria própria

Os biômetros foram montados utilizando-se doze Erlenmeyers de 250 mL e doze tubos Falcon de 50 mL, destinados à coleta do CO<sub>2</sub>. Para a captura do dióxido de carbono, foram realizados orifícios e vedada a conexão entre o Erlenmeyer e o tubo Falcon com fita de politetrafluoretileno (PTFE), conforme representado na Figura 5.

Figura 5: Biômetro



Fonte: autoria própria

### 3.3.3 Metodologia Experimental

Preparou-se dois meios de cultura líquidos, M9 (meio de cultura mínimo) e M9 suplementado com glicose, esse meio é considerado um dos mais utilizados para o crescimento de bactérias (Soma *et al.*, 2023, Satti *et al.*, 2017).

O teste tem duração teórica de seis meses (180 dias), em razão disso, os meios foram preparados em concentrações cinco vezes maiores e, posteriormente, diluídos até a concentração de uso (1x). Foram separados 500 ml para o meio M9 com adição de glicose e 500 ml para o meio sem glicose, pesando-se os seguintes reagentes:

Foram dissolvidos os sais fosfato dissódico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O) 85,4827g, Fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 15,0002g, Cloreto de sódio (NaCl) 2,5221 g e Cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl) 5,0015g em 800 ml de água destilada, mediu-se o pH = 7,0 e ajustou-se o volume para 1L; após a dissolução dos sais, autoclavou-se a solução por 15 minutos em temperatura igual a 120° C e pressão de 1 atm., guardando-as em temperatura ambiente até resfriamento. Os sais Sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) 24,6000g e Cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) 14,7504g, foram diluídos em 100 ml de água destilada, autoclavados e guardados em temperatura ambiente (Soma *et al.*, 2023).

Para a preparação do meio M9 (1x), a solução concentrada (5x) foi dividida em dois frascos reagentes de 500 ml. No primeiro, adicionaram-se glicose, cloreto de cálcio di-hidratado e sulfato de magnésio penta-hidratado. No segundo frasco volumétrico, repetiu-se o mesmo procedimento, adicionando a glicose, observar a figura 6 contendo os

meios e a diferença na tonalidade, provavelmente devido a oxidação da glicose (Shimpi *et al.*, 2012).

Figura 6: Diferenças na tonalidade entre os meios M9 e M9 com glicose



Fonte: Autoria própria

### 3.3.4 Plaqueamento da *Pseudomonas aeruginosa*

Foi realizado o plaqueamento do microrganismo *Pseudomonas aeruginosa*, a partir da cepa de referência ATCC 9027. Para isso, foram utilizadas cinco placas de Petri contendo meio de cultura ágar nutriente, as quais foram semeadas com a cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, conforme ilustrado na Figura 7 (Shimpi *et al.*, 2012b).

Após a semeadura, as placas foram fechadas e seladas parcialmente com fita adesiva, a fim de evitar contaminação externa, permitindo, entretanto, a adequada troca gasosa. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica, na posição invertida, para evitar a condensação de água sobre o meio de cultura, a uma temperatura de 35,2 °C, por um período de 24 horas (Blankinship, 2022).

Figura 7: Plaqueamento da *Pseudomonas aeruginosa*



Fonte: Autoria própria

Para a confecção dos inóculos os microrganismos cultivados nas placas de Petri foram transferidos para frascos Erlenmeyer contendo 40 mL de caldo nutriente

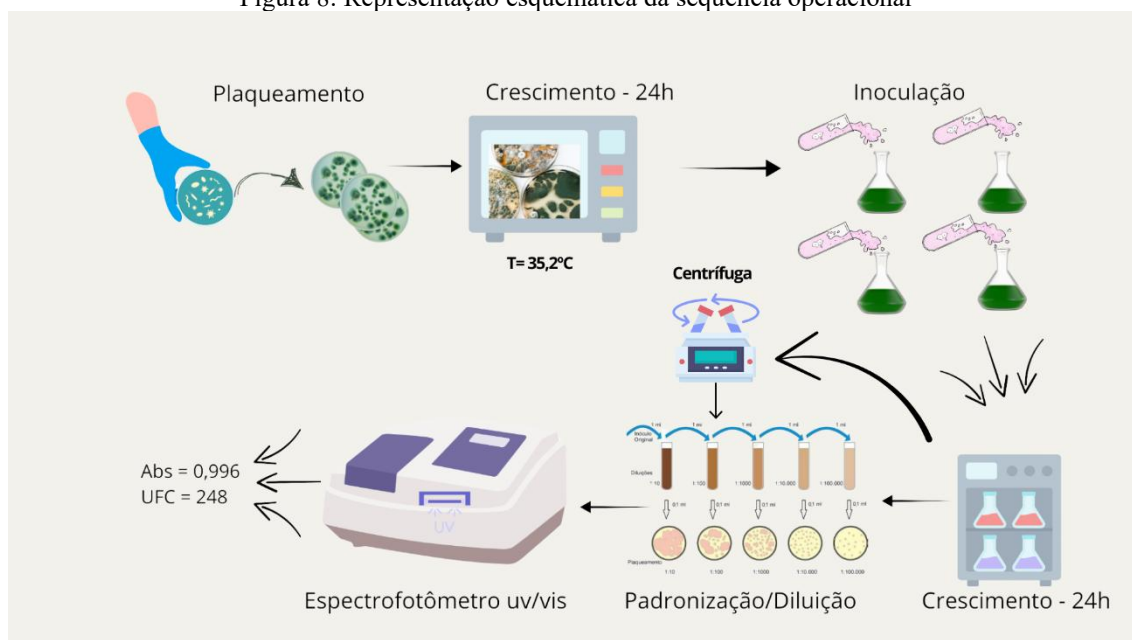
previamente preparado, sendo então incubados em estufa bacteriológica por 24 horas, a fim de promover a multiplicação bacteriana (Jo *et al.*, 2025).

Após esse período, o meio de cultura foi transferido para tubos Falcon de 50 mL e submetido à centrifugação, à temperatura ambiente, a 7.280 rpm por 10 minutos, para a separação do pellet microbiano (Zhang *et al.*, 2018; Norouzy; Zabihhesari; Rezai, 2024).

O sedimento microbiano obtido foi ressuspenso em solução salina estéril contendo 9 g/L de cloreto de sódio (0,9% m/v). A padronização da suspensão bacteriana foi realizada por meio da aferição da absorbância em espectrofotômetro UV-Vis, a 600 nm, obtendo-se valor de 0,996. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  e  $10^{-9}$ , sendo a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) realizada pelo método Pour Plate (Da Silva *et al.*, 2020a).

Na diluição  $10^{-9}$ , as colônias foram contadas após 48 horas de incubação, resultando em 248 UFC. A sequência operacional do procedimento experimental encontra-se esquematizada na Figura 8 (Pedersen *et al.*, 2021).

Figura 8: Representação esquemática da sequência operacional



Fonte: Autoria própria

### 3.3.5 Biodegradação em cultura de *Pseudomonas aeruginosa*

Baseou-se nas normas NBR 14283-99 e ASTM D5988-18, para analisar a biodegradação do ácido polilático (PLA) e aferir a evolução do dióxido de carbono, com a finalidade de investigar a formação de microplásticos a partir de produtos vendidos em estabelecimentos comerciais, para tal foram utilizados biômetros (figura 5), em

alternativa aos respirômetros de Bartha, indicados na norma NBR 14283-99 (Li; Frey; Browning, 2010).

Foram adicionados 27,5 ml de meio M9 com e sem glicose (meio mínimo) em cada biômetro, os quais foram autoclavados para esterilização do meio. Foi adicionado inóculo previamente padronizado na proporção de 10%.

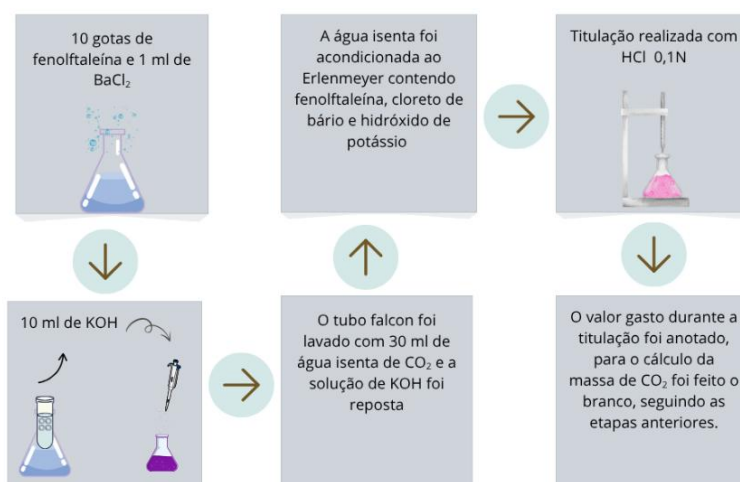
Aos biômetros foram adicionados pedaços da amostra da escova dental, previamente pesados e esterilizados por radiação ultravioleta (UV) em cabine de fluxo laminar, com o objetivo de evitar contaminações. Foi acondicionado em cada biômetro um tubo falcon de 50 ml, adicionando-se a cada um 10 ml de hidróxido de potássio de concentração 0,2N, vedando cada biômetro com politetrafluoretileno e mantidos em estufa a uma temperatura de 35°C, até a liberação do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) dos biômetros que contêm as amostras se igualarem ao controle, encerando o teste (Mello *et al.*, 2007).

Quando a quantidade liberada de dióxido de carbono da amostra e do controle se igualam, sinaliza que houve degradação integral da amostra ou inativação completa dos microrganismo (Rose *et al.*, 2020).

### 3.3.6 Titulação e quantificação do dióxido de carbono

A titulação foi realizada de acordo com o procedimento ilustrado na Figura 9, que apresenta, de forma esquemática, as etapas do processo, facilitando a compreensão da metodologia adotada.

Figura 9: Esquema da titulação e quantificação do dióxido de carbono



Fonte: autoria própria

O volume de ácido clorídrico gasto na titulação foi utilizado para realizar o cálculo da massa de CO<sub>2</sub>(g), para tal fim foi utilizada a equação 1 que consta na Norma NBR 14283-99.

$$CO_2 \text{ emitido} = (A - B) \times 50 \times f_{HCl} \times 0,044 \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

A: volume de HCl gasto para titular o branco (ml)

B: volume de HCl gasto para titular o tratamento ou controle (ml)

f<sub>HCl</sub>: fator de correção da solução HCl

A quantidade de CO<sub>2</sub>(g) emitida, expressa em mol, foi determinada conforme a Equação 2, considerando-se a massa molar do CO<sub>2</sub>(g) igual a 44 g·mol<sup>-1</sup>, obtida a partir das massas atômicas dos elementos constituintes.

$$CO_2 \text{ emitido(mol)} = m/MM \quad \text{Equação 2}$$

Em que:

m: massa de CO<sub>2</sub> emitida (g)

MM: massa molar do CO<sub>2</sub>

Para o cálculo de CO<sub>2</sub> (g) líquido da biodegradação do material, foi utilizada a equação 3:

$$CO_2 \text{ biodegradação} = CO_2 \text{ experimento} - CO_2 \text{ controle} \quad \text{Equação 3}$$

O valor é corrigido para representar apenas o dióxido de carbono proveniente da degradação do material, retirando-se o CO<sub>2</sub>(g) gerado da respiração natural da *Pseudomonas aeruginosa*, conforme recomendado nas normas ASTM D5988-18 (Rose *et al.*, 2020).

Estatisticamente calculou-se o desvio-padrão conforme a equação 4.

$$SD_{\text{líquido}} = \sqrt{(SD_{\text{experimento}})^2 - (SD_{\text{controle}})^2}$$

Equação 4

### 3.3.7 Análise da formação de microplásticos

Após o início da biodegradação, retirou-se alíquotas de quinze em quinze dias dos dois meios, acondicionando-as em tubos falcon de 50 ml, antes da filtração acrescentou-se 3 ml de água sanitária para inativação dos microrganismos (Bruguera-Casamada *et al.*, 2017).

Os tubos foram colocados no shaker a 150 rpm a uma temperatura de 37°C por 24h, com a finalidade de dissolver os sais que precipitaram no meio M9, como verificado nas imagens obtidas pelo estereomicroscópio.

Em seguida, os meios de cultura foram filtrados em membrana filtro de 0,22  $\mu\text{m}$ , utilizando-se água milli-Q filtrada três vezes, em uma capela de fluxo laminar para evitar contaminação, em seguida as membranas foram analisados no estereomicroscópio, para a detecção dos microplásticos (Zhao *et al.*, 2014, Mohamed Nor; Obbard, 2014).

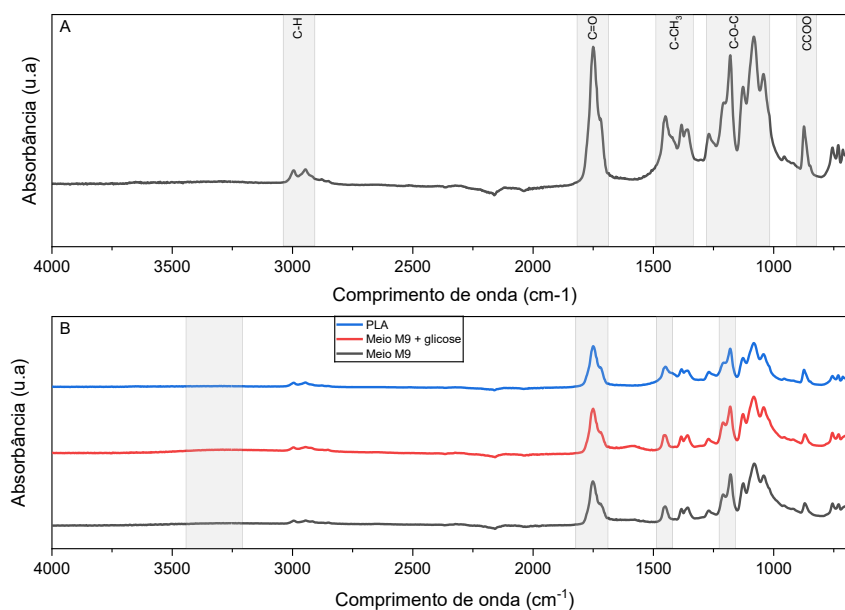
### **3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.4.1 Caracterização química do PLA por FTIR**

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi empregada para confirmar a identidade química do material estudado e avaliar alterações estruturais do poliácido láctico (PLA) após 180 dias de incubação em diferentes meios bióticos, os quais apresentam atividade biológica devido à presença de microrganismos capazes de interagir com o material polimérico.

A identidade química do material foi confirmada por FTIR, cujo espectro do PLA original é apresentado na Figura 10A, enquanto o espectro após 180 dias de incubação é mostrado na Figura 10B.

Figura 10: Espectros de FTIR do PLA (escova dental): (A) PLA original e (B) PLA após 180 dias de incubação em meio biótico.

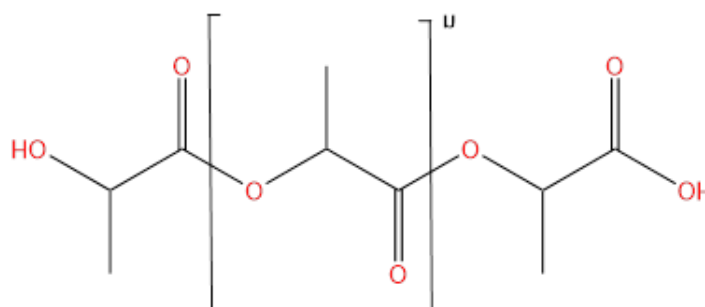


Fonte: Autoria própria

O espectro do PLA original (Figura 10A) apresentou bandas características do polímero, incluindo estiramentos C–H<sub>3</sub> em ~2993–2994 cm<sup>-1</sup>, a banda intensa de carbonila (C=O) em ~1748 cm<sup>-1</sup>, deformações dos grupos metila entre 1356–1449 cm<sup>-1</sup> e estiramentos C–O e C–O–C entre 1271–1039 cm<sup>-1</sup>, confirmando a composição do material conforme descrito na literatura (SILVERSTEIN *et al*, 2005).

A Figura 11 foi incluída com o objetivo de permitir a comparação entre as funções orgânicas identificadas por meio da técnica de FTIR, oferecendo uma visualização mais clara das diferenças e semelhanças observadas.

Figura 11: Fórmula molecular do ácido poliláctico (PLA)

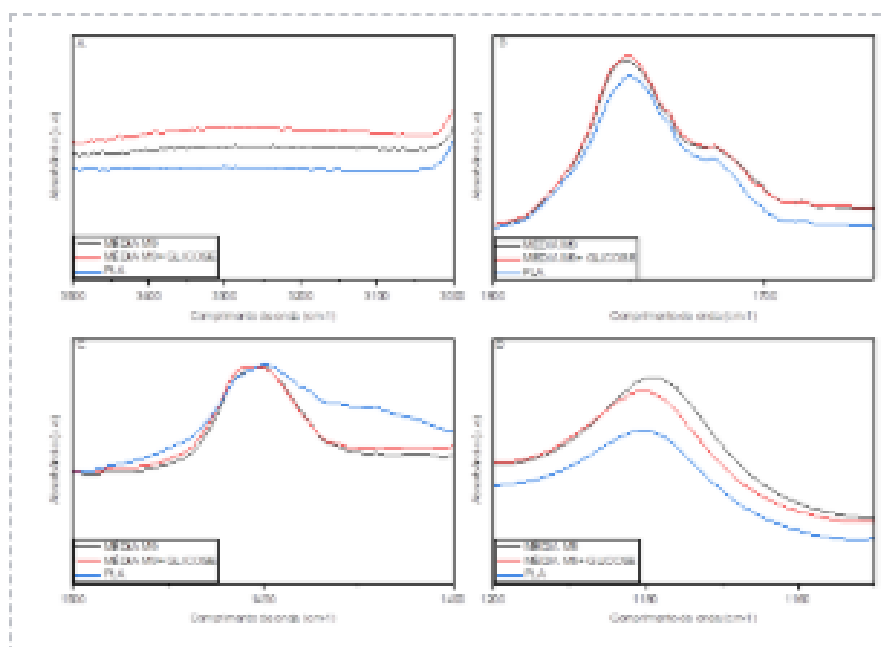


Fonte: Autoria própria

Após o período de biodegradação (Figura 10B), os espectros de FTIR mantiveram os grupos químicos típicos do PLA, indicando preservação da identidade química do polímero. Entretanto, alterações sutis na intensidade e no perfil de bandas específicas sugerem a ocorrência de processos degradativos localizados. Para melhor visualização

dessas modificações, recortes ampliados do espectro degradado são apresentados na Figura 12, antes da análise as amostras foram secas em estufa a uma temperatura de 45°C por 24h. (Koperska *et al.*, 2014).

Figura 12: Recorte do espectro de FTIR das amostras degradadas



Fonte: autoria própria

O aumento da absorbância na região entre 3500–3000  $\text{cm}^{-1}$ , associada ao estiramento O–H, foi observado nas amostras incubadas em ambos os meios, indicando a ocorrência de alterações químicas superficiais dependentes das condições de incubação. Esse comportamento é compatível com a possível formação de grupos hidroxila terminais decorrentes de clivagem parcial das ligações éster do PLA, bem como com a adsorção de água na superfície do material. Esses achados sugerem a ocorrência de processos de hidrólise, que podem estar relacionados às condições de incubação e, potencialmente, à atividade microbiana (Farah; Anderson; Langer, 2016).

A banda de carbonila (C=O), situada entre 1750–1700  $\text{cm}^{-1}$ , apresentou aumento de absorbância após a incubação. Essa região é característica das ligações éster presentes na estrutura do PLA. A literatura descreve que, nos estágios iniciais e intermediários da degradação, podem ocorrer processos de clivagem de cadeia, com formação de grupos terminais, como ácidos carboxílicos e hidroxilas, que alteram o ambiente químico das carbonilas remanescentes (Farah; Anderson; Langer, 2016). A intensificação observada pode estar relacionada a modificações estruturais superficiais decorrentes da degradação,

incluindo mudanças no estado químico das carbonilas e possíveis reorganizações moleculares. Entretanto, com base exclusivamente na análise de FTIR, não é possível confirmar o mecanismo responsável por essas alterações.

Alterações adicionais foram observadas na região de  $1450\text{ cm}^{-1}$  (C-CH<sub>3</sub>) e entre  $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$  (C-O-C), sugerindo modificações na organização molecular e na distribuição dos ambientes químicos dessas ligações. A hidrólise das ligações éster do PLA ocorre preferencialmente nas regiões amorfas do polímero, onde as cadeias apresentam maior acessibilidade à água e aos microrganismos, enquanto as regiões cristalinas tendem a permanecer relativamente preservadas. Considerando que a análise por FTIR, especialmente no modo ATR, é predominantemente superficial, as alterações observadas refletem modificações nas cadeias presentes na interface material-meio.

Embora parte das ligações éster possa ser clivada durante o processo de degradação, uma fração significativa da estrutura polimérica permanece intacta, o que justifica a manutenção das bandas associadas ao grupo C-O-C, também integrante da função éster. A intensificação dessas bandas após a incubação pode estar relacionada não necessariamente ao aumento da quantidade desses grupos químicos, mas a mudanças na mobilidade e no arranjo das cadeias superficiais remanescentes, que, ao se tornarem menos compactadas, podem apresentar variações na intensidade ou no alargamento das bandas espectrais (Aldhafeeri; Alotaibi; Barry, 2022). Esses resultados sugerem que a biodegradação do PLA não ocorre de forma homogênea, mas envolve processos localizados de clivagem em regiões mais suscetíveis, acompanhados de reorganização estrutural do material remanescente.

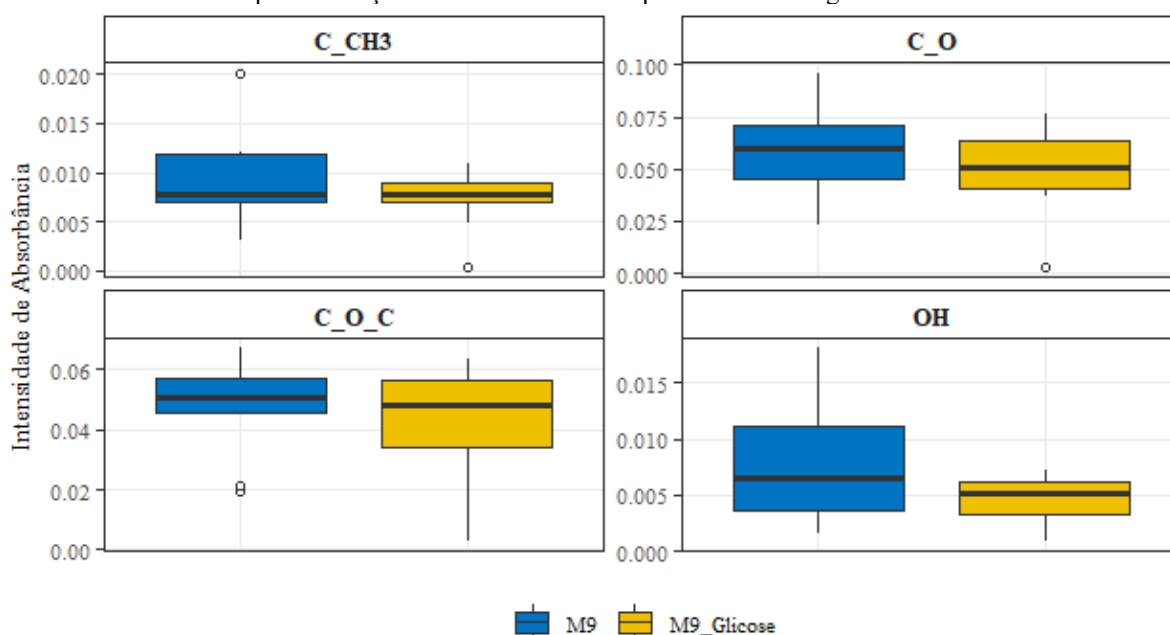
Na região de  $1420\text{ cm}^{-1}$  que correspondem as vibrações de deformação simétricas e assimétricas dos grupos metila C-CH<sub>3</sub>, observa-se que a amostra inicial apresenta bandas bem definidas (figura 10A), enquanto nas amostras degradadas nota-se diminuição da intensidade nessa região (figura 12 C). Para o PLA degradado em meio M9, verifica-se intensidade maior do que em meio M9 com glicose e leve alargamento da banda, associado à cisão de cadeias. Já a amostra degradada em M9 com glicose apresenta menor intensificação, o que sugere que a presença de glicose pode ter favorecido interações adicionais, seja pelo estímulo da atividade microbiana, seja pela competição de suas hidroxilas com fragmentos de PLA degradado (Braun; Dorgan; Dec, 2006).

#### 3.4.2 Análise quantitativa dos espectros de FTIR

Para avaliar quantitativamente as alterações espectrais, as intensidades das principais bandas de FTIR foram normalizadas pela banda de referência em  $1451\text{ cm}^{-1}$  (C-CH<sub>3</sub>), e a largura à meia altura (FWHM) foi calculada como indicativo de homogeneidade estrutural, os resultados são apresentados nas Figuras 13 a 17.

As intensidades normalizadas das principais bandas de FTIR são apresentadas na Figura 13, permitindo a comparação quantitativa entre os meios de incubação.

Figura 13: Boxplots das intensidades de absorvância normalizadas das principais bandas de FTIR do PLA após incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose.



Fonte: autoria própria

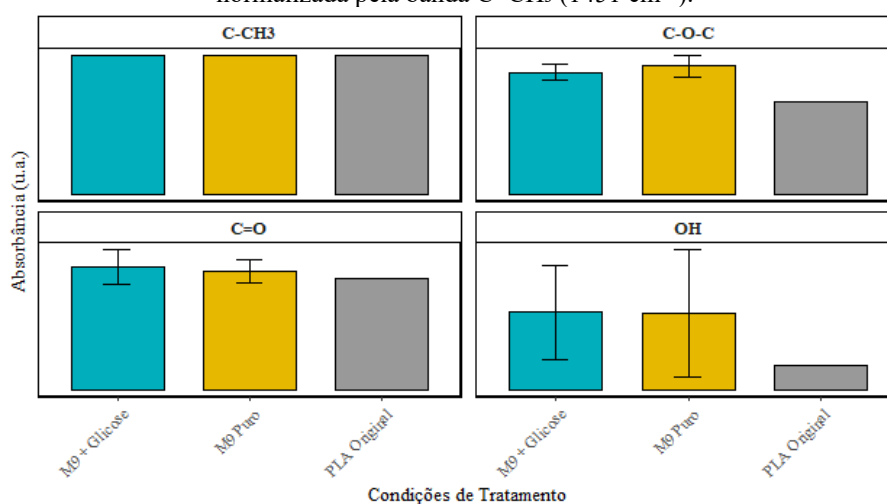
A análise do boxplot indicou variações na intensidade (figura 13) dos principais grupos funcionais do PLA em função do meio de cultivo bacteriano. De modo geral, as amostras incubadas em meio M9 apresentaram maior dispersão e tendência a intensidades mais elevadas nas bandas associadas aos grupos C-CH<sub>3</sub>, C=O e OH, enquanto o meio M9 suplementado com glicose apresentou valores mais baixos e homogêneos. Essas diferenças sugerem maior exposição ou modificação de grupos funcionais do polímero na ausência de uma fonte externa de carbono facilmente assimilável, possivelmente associada a processos de hidrólise e alterações superficiais da estrutura do PLA (Oliveira *et al.*, 2022).

As bandas referentes às ligações éster (C-O-C) apresentaram comportamento mais uniforme no meio M9 e maior variabilidade no meio suplementado com glicose, indicando que a disponibilidade de glicose pode influenciar o modo de interação microbiana com o polímero. Em conjunto, os resultados sugerem que a suplementação

do meio pode reduzir as alterações químicas detectáveis no PLA ao longo do ensaio. Uma possível explicação para esse comportamento é que a glicose, por constituir uma fonte de carbono mais facilmente assimilável que o PLA, possa ter direcionado o metabolismo microbiano preferencialmente para seu consumo, reduzindo a necessidade de produção de enzimas envolvidas na degradação do polímero. Esse efeito, amplamente descrito como repressão catabólica, pode resultar em menor intensidade de processos degradativos sobre o PLA na presença de glicose (Lors; Leleux; Park, 2025).

A intensidade relativa dos grupos funcionais, normalizada pela banda de referência em  $1451\text{ cm}^{-1}$ , é apresentada na Figura 14.

Figura 14. Intensidade relativa dos principais grupos funcionais do PLA após 180 dias de incubação, normalizada pela banda  $\text{C-CH}_3$  ( $1451\text{ cm}^{-1}$ ).

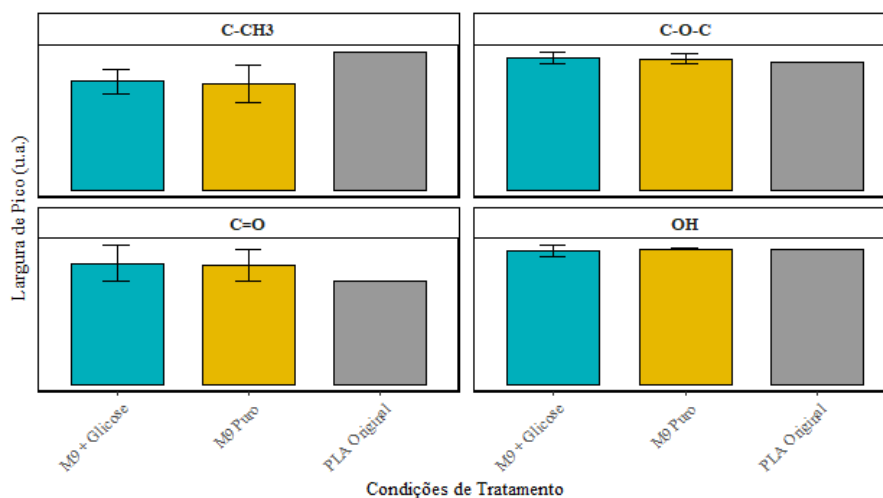


Fonte: autoria própria

A análise estatística das intensidades normalizadas não indicou diferenças estatisticamente significativas entre os meios M9 e M9 suplementado com glicose para as bandas associadas aos grupos  $\text{C=O}$  e  $\text{C-O-C}$  ( $p > 0,05$ ). Esse resultado sugere a ausência de degradação química extensiva e uniforme do polímero ao longo do período experimental. Em contraste, a banda associada aos grupos hidroxila ( $\text{O-H}$ ) apresentou maior dispersão no meio M9, refletida por heterogeneidade significativa das variâncias, indicando alterações químicas localizadas na superfície do material (Ghazali; Azhar, 2023).

A largura à meia altura (FWHM) das principais bandas de FTIR é apresentada na Figura 15, como indicativo da homogeneidade estrutural do polímero.

Figura 15: Largura à meia altura (FWHM) das principais bandas de FTIR do PLA original e após incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose.



Fonte: autoria própria

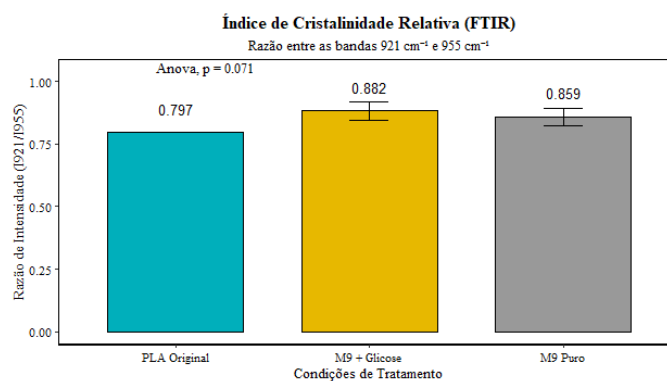
*Legenda: As intensidades e larguras à meia altura foram expressas em unidades arbitrárias (u.a.), uma vez que os valores foram utilizados exclusivamente para comparação relativa entre os tratamentos, após normalização dos espectros*

A análise da FWHM corroborou esses achados, uma vez que as bandas associadas às ligações éster e aos grupos metila apresentaram valores médios semelhantes entre os tratamentos, enquanto a região de O–H exibiu larguras elevadas, compatíveis com a sobreposição de interações por ligações de hidrogênio. Esses resultados indicam que a biodegradação do PLA, nas condições avaliadas, promove modificações estruturais pontuais, sem induzir desordem química generalizada na matriz polimérica (Ghazali; Azhar, 2023).

### 3.4.3 Índice de cristalinidade relativa

O índice de cristalinidade relativa ( $I_{921}/I_{955}$ ), (figura 16) foi utilizado para investigar possíveis alterações na organização estrutural do PLA após a incubação biótica.

Figura 16: Índice de cristalinidade relativa ( $I_{921}/I_{955}$ ) do PLA original e após 180 dias de incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose.



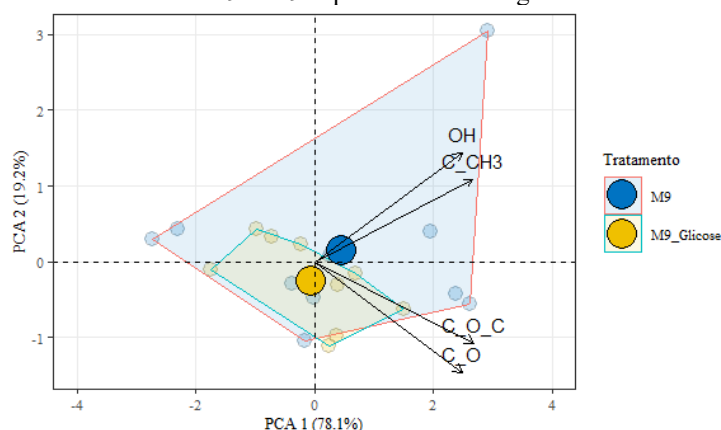
Fonte: autoria própria

As amostras incubadas nos meios M9 e M9 suplementado com glicose apresentaram valores médios numericamente elevados ao do PLA original, sugerindo uma tendência de aumento da cristalinidade relativa. Esse comportamento é consistente com a degradação preferencial da fase amorfa do polímero, que pode favorecer a reorganização das cadeias remanescentes em domínios mais ordenados. No entanto, a análise estatística (ANOVA,  $p > 0,05$ ) indicou que essas diferenças não foram significativas, evidenciando que as alterações na cristalinidade ocorreram de forma limitada e heterogênea (Yan *et al.*, 2023).

#### 3.4.4 Análise multivariada (FTIR-PCA)

A análise multivariada por PCA dos espectros de FTIR é apresentada na Figura 17, evidenciando padrões globais de alteração química do PLA.

Figura 17: Análise de Componentes Principais (PCA) dos espectros de FTIR do PLA após incubação em meio M9 e M9 suplementado com glicose.



Fonte: autoria própria

A Análise de Componentes Principais (PCA) aplicada aos dados de FTIR permitiu integrar as informações espectrais e avaliar padrões globais de alteração química do PLA.

Os dois primeiros componentes principais explicaram conjuntamente 97,3% da variância total dos dados (PC1 = 78,1%; PC2 = 19,2%), indicando elevada representatividade do modelo.

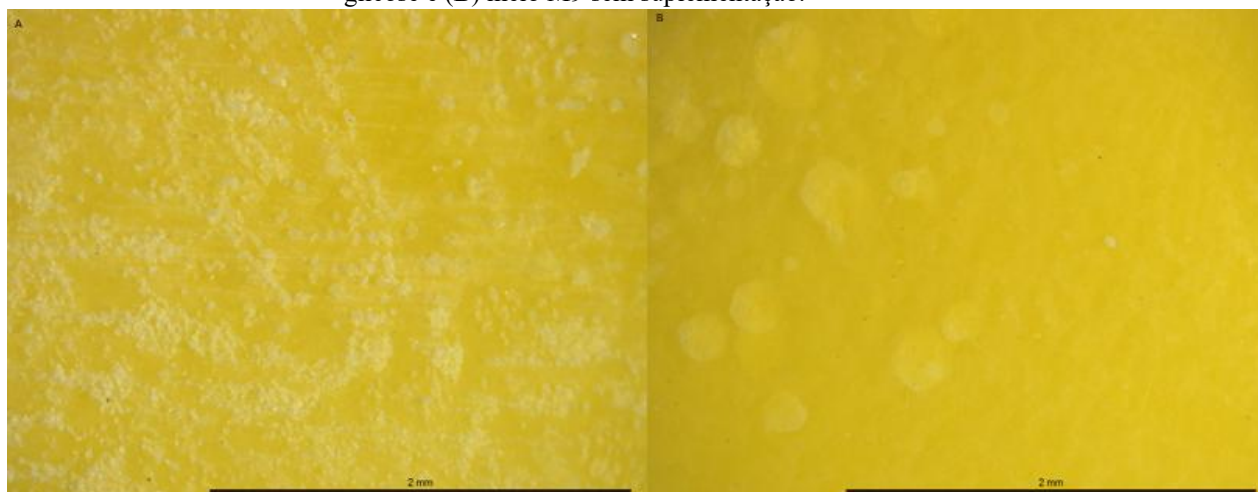
O gráfico de escores revelou uma separação clara entre as amostras incubadas em meio M9 e aquelas incubadas em meio M9 suplementado com glicose. As amostras do meio M9 apresentaram maior dispersão no espaço multivariado, refletindo uma resposta química mais heterogênea, enquanto as amostras suplementadas com glicose formaram um cluster mais coeso. A projeção dos vetores de carga indicou que essa diferenciação foi fortemente influenciada pelas bandas associadas aos grupos O–H, C=O e C–O–C (Leroy *et al.*, 2017).

A maior dispersão observada no meio M9 está de acordo com os resultados da análise univariada, que indicaram heterogeneidade significativa na banda O–H. Esses achados sugerem que, na ausência de uma fonte de carbono prontamente assimilável, a interação microbiana com o PLA ocorre de forma menos uniforme, promovendo alterações químicas localizadas na superfície do polímero (Leroy *et al.*, 2017).

#### 3.4.5 Alterações Morfológicas

Alterações morfológicas na superfície do PLA após o período de incubação são ilustradas na Figura 18.

Figura 18. Aspecto superficial do PLA após 180 dias de incubação: (A) meio M9 suplementado com glicose e (B) meio M9 sem suplementação.



Fonte: autoria própria

A morfologia apresentada na Figura (22A e 22B) contribui para demonstrar que, mesmo em condições controladas, o PLA pode passar por um processo de degradação

que envolve descontinuidade superficial, potenciais microfaturas e regiões de fragilidade estrutural, elementos relevantes para a compreensão da dinâmica da biodegradação e suas implicações ambientais.

As manchas esbranquiçadas observadas, de formato circular e distribuídas de maneira irregular, apontam para um processo de degradação superficial caracterizado por microerosões localizadas. Esse padrão é consistente com o ataque inicial promovido pela hidrólise do PLA, seguida da atuação de microrganismos presentes no meio M9, especialmente em condições em que a disponibilidade de carbono impulsiona a atividade metabólica.

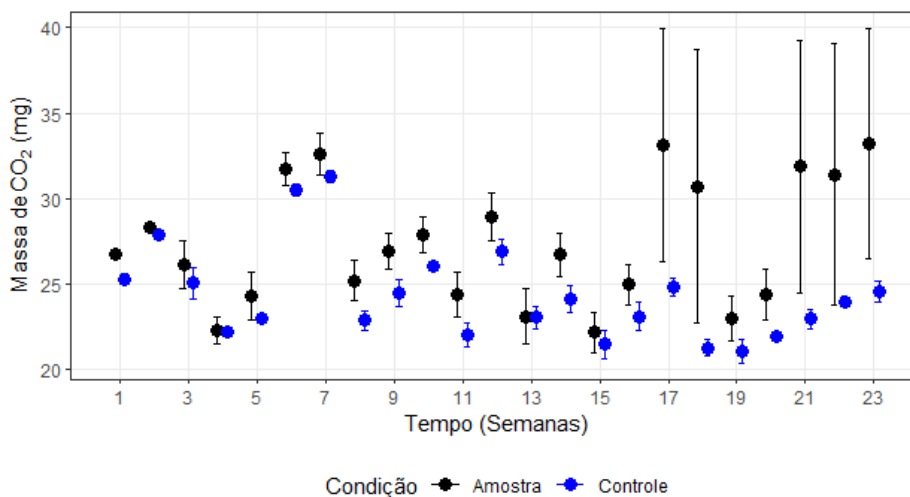
Heterogeneidade da superfície — marcada por variações de opacidade e perda de uniformidade — sugere que o polímero não está sofrendo uma degradação homogênea, mas sim um processo segmentado, concentrado em pontos mais suscetíveis. Essa característica reforça a discussão apresentada neste trabalho sobre a natureza realista da biodegradação: ao contrário do que pressupõem algumas normas, o processo não ocorre de forma contínua e perfeitamente distribuída, e sim através de falhas locais que podem evoluir para destacamento de fragmentos (Wang *et al.*, 2023).

#### 3.4.6 Resultados de Respirometria

Os resultados de respirometria referem-se à degradação do PLA por *Pseudomonas aeruginosa* em meio M9 e em meio M9 suplementado com glicose.

A Figura 19 apresenta o comportamento da biodegradação no sistema suplementado.

Figura 19: Análise da biodegradação por *Pseudomonas aeruginosa* em meio M9 suplementado com glicose

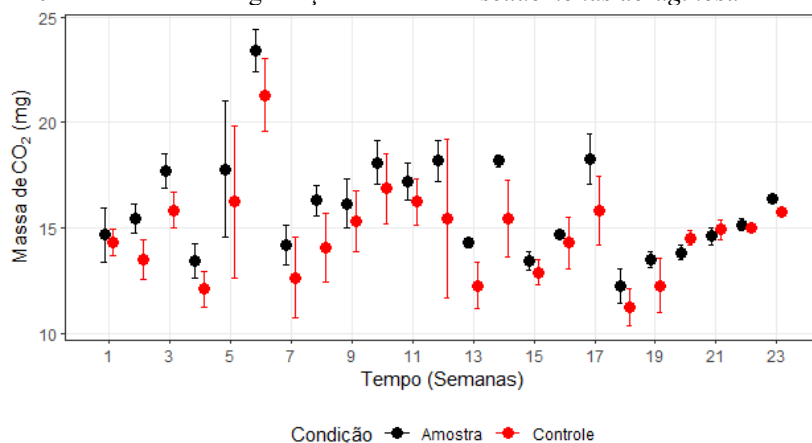


Fonte: autoria própria

Evidenciando que o processo tem início já na primeira semana do experimento, conforme indicado pela diferença entre a massa de dióxido de carbono liberada no controle e aquela proveniente da amostra. O  $\text{CO}_2(\text{g})$  líquido foi calculado a partir da Equação 3 (Koperska *et al.*, 2014).

A figura 20, demonstra como a *Pseudomonas aeruginosa* se comporta em relação a degradação do PLA em um meio restrito em termos de nutrientes.

Figura 20: Eficácia da biodegradação utilizando *Pseudomonas aeruginosa* em meio M9

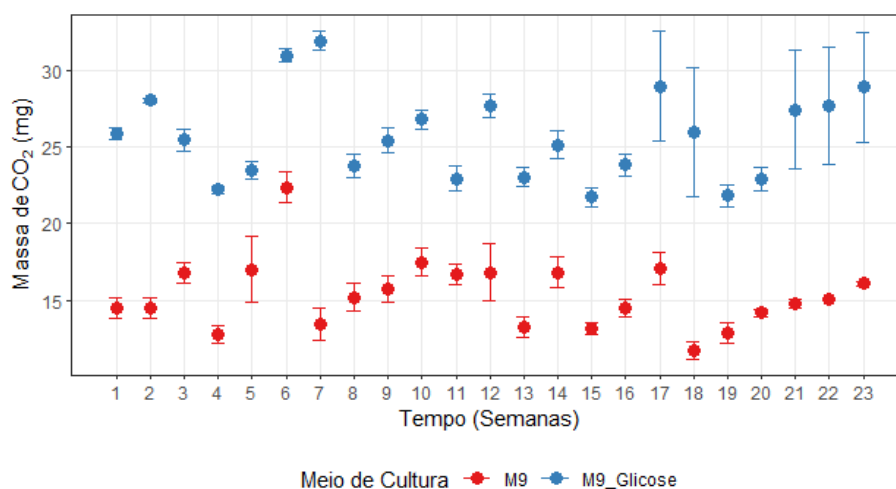


Fonte: autoria própria

Nesse caso, a produção diferenciada de  $\text{CO}_2(\text{g})$  entre controle e amostra tornou-se evidente a partir da segunda semana de incubação, indicando um período inicial de adaptação microbiana ao uso do PLA como fonte de carbono. Esse comportamento está de acordo com dados descritos na literatura, que indicam que, em meios mínimos, a degradação do PLA ocorre de forma progressiva e depende do tempo necessário para o estabelecimento do crescimento microbiano e da despolimerização inicial do material (Shimpi *et al.*, 2012). É esperado que *Pseudomonas aeruginosa* apresente uma resposta metabólica mais lenta em meio M9, em função da ausência de fontes de carbono prontamente assimiláveis.

A Figura 21 apresenta a comparação da eficiência da biodegradação nos diferentes meios analisados, evidenciando o comportamento de *Pseudomonas aeruginosa*.

Figura 21: Avaliação da biodegradação por *P. aeruginosa* em meio M9 suplementado com glicose e M9 sem suplementação



Fonte: autoria própria

O monitoramento da produção de dióxido de carbono ao longo de 23 semanas evidenciou que a suplementação com glicose elevou significativamente a produção acumulada de CO<sub>2</sub>, resultando em valores 9,59 mg superiores aos observados no meio mineral puro ( $p < 0,001$ ). A análise de variância (Two-Way ANOVA) indicou que o tipo de sistema, o tempo de incubação e a interação entre ambos exerceram efeitos significativos sobre a mineralização do carbono ( $p < 0,001$ ). O teste de Tukey revelou que, no meio mineral (M9), a diferença entre Amostra e Controle não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,257$ ). Em contraste, nos sistemas suplementados com glicose, a presença do PLA promoveu um incremento adicional significativo de 3,62 mg de dióxido de carbono em relação ao respectivo controle ( $p < 0,001$ ). Esse padrão é compatível com um possível mecanismo de co-metabolismo, no qual a disponibilidade de uma fonte de carbono facilmente assimilável pode fornecer a energia necessária para sustentar a colonização microbiana e a subsequente clivagem das cadeias poliméricas do PLA pela *P. aeruginosa* (White *et al.*, 2021).

#### 3.4.7 Integração entre FTIR e respirometria

Os resultados de respirometria indicaram maior produção total de CO<sub>2</sub> nos sistemas suplementados com glicose, refletindo aumento da atividade metabólica microbiana. No entanto, essa maior mineralização global do carbono não se traduziu em alterações químicas mais intensas no PLA detectadas por FTIR. Essa aparente dissociação entre os resultados de respirometria e FTIR evidencia que a produção de CO<sub>2</sub> está majoritariamente associada ao metabolismo da fonte de carbono facilmente assimilável, no caso a glicose, e não necessariamente à degradação direta do polímero.

Enquanto a respirometria fornece informações sobre a atividade metabólica global do sistema, o FTIR permite avaliar especificamente a integridade química do PLA. A combinação dessas técnicas indica que, nas condições avaliadas, a biodegradação do PLA ocorre de forma lenta e localizada, promovendo fragmentação superficial e formação de espécies intermediárias, sem mineralização significativa do polímero.

Esses resultados reforçam a hipótese de que processos de biodegradação do PLA podem resultar na formação de microfragmentos com manutenção parcial da identidade química do material, destacando a importância de abordagens complementares para a avaliação ambiental de polímeros biodegradáveis.

#### 3.4.8 Eficiência da biodegradação

A temperatura durante os ensaios de biodegradação foi mantida em  $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ , conforme estabelecido nas normas NBR 14283-99 e ASTM D5988-18, sendo considerada adequada para preservar a atividade enzimática da *P. aeruginosa* (Noor *et al.*, 2020).

Alguns autores destacam que a temperatura pode atuar como fator limitante na degradação do PLA, uma vez que o processo é significativamente acelerado sob condições termofílicas, frequentemente encontradas em sistemas de compostagem industrial. No entanto, o polímero não depende exclusivamente dessas condições para degradar, mas apresenta maior suscetibilidade à hidrólise quando submetido a temperaturas próximas ou superiores à sua temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), geralmente situada entre  $55\text{--}65\text{ °C}$ . Acima da  $T_g$ , o aumento da mobilidade das cadeias poliméricas favorece a difusão de água e a clivagem das ligações éster, intensificando o processo degradativo. Por esse motivo, emprega-se frequentemente a denominação “biodegradável e compostável”, indicando que sua degradação ocorre de forma mais eficiente em ambientes controlados de compostagem (Satti *et al.*, 2017).

Durante o período de degradação da escova dental, confeccionada com ácido polilático (PLA), os gráficos evidenciam uma biodegradação lenta e pouco expressiva, provavelmente em função das condições de temperatura do experimento e do fato de se tratar de um material comercial que contém aditivos em sua composição. Estudos recentes demonstram que polímeros com a adição de aditivos apresentam maior resistência ao processo de degradação (Ali *et al.*, 2023).

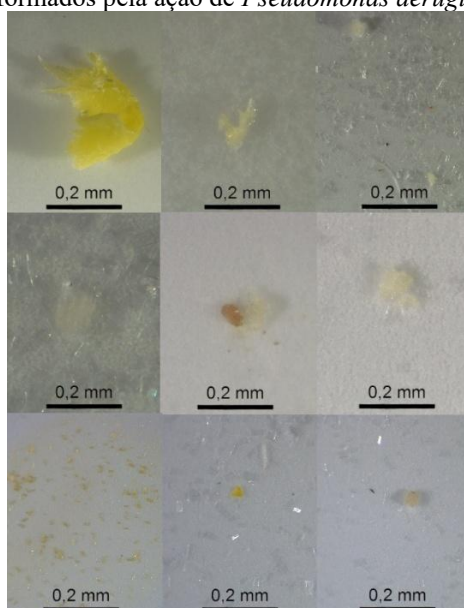
### 3.4.9 Formação de Microplásticos

Analisou-se a formação de microplásticos durante a degradação do ácido polilático por meio da coleta de alíquotas do meio de cultura a cada quinze dias. As primeiras amostras foram avaliadas sob estereomicroscópio para varredura visual. Observou-se a presença de pequenos fragmentos sólidos, de coloração amarela semelhante à da escova dental utilizada como substrato, com morfologia irregular e dimensões compatíveis com a faixa de microplásticos. Esses fragmentos foram detectados nas amostras incubadas com PLA, sugerindo a ocorrência de fragmentação física do material ao longo do ensaio (König Kardgar *et al.*, 2023).

A Figura 22 apresenta partículas retidas nas membranas após 180 dias de biodegradação, observados em estereomicroscópio. As partículas identificadas exibem morfologias e colorações variadas, incluindo fragmentos irregulares, partículas opacas e translúcidas, predominantemente nas tonalidades amarela e esbranquiçada, com dimensões inferiores a 0,2 mm, conforme indicado pela barra de escala. A heterogeneidade de forma e tamanho sugere processos de fragmentação do material polimérico ao longo do ensaio, evidenciando que, embora tenha ocorrido degradação, houve a formação de partículas microscópicas remanescentes (Weinstein *et al.*, 2020).

Esses resultados reforçam a importância de considerar a geração de microplásticos como um parâmetro relevante na avaliação da biodegradação de polímeros, especialmente em ensaios de longa duração.

Figura 22: Microplásticos formados pela ação de *Pseudomonas aeruginosa* na degradação do PLA



Fonte: autoria própria

### 3.5 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a biodegradação do PLA ocorreu de forma lenta nas condições avaliadas, mesmo em meio suplementado, e que a adição de glicose aumentou a produção de CO<sub>2</sub>, sem, contudo, promover diferenças significativas na formação de partículas com características compatíveis com microplásticos. Esses achados indicam que a mineralização do carbono não implica necessariamente degradação completa do material, evidenciando a persistência de fragmentos poliméricos ao longo do ensaio.

Nesse contexto, destaca-se a necessidade de ampliar os critérios de avaliação da biodegradabilidade, uma vez que normas como a ASTM D5988 priorizam a quantificação de CO<sub>2</sub> como indicador principal, sem contemplar de forma sistemática a investigação da formação e permanência de microplásticos.

## REFERÊNCIAS

- AINALI, Nina Maria *et al.* Do poly(lactic acid) microplastics instigate a threat? A perception for their dynamic towards environmental pollution and toxicity. **Science of The Total Environment**, v. 832, p. 155014, 1 ago. 2022.
- ALDHAFEERI, Thamer; ALOTAIBI, Mansour; BARRY, Carol Forance. Impact of Melt Processing Conditions on the Degradation of Polylactic Acid. **Polymers**, v. 14, n. 14, p. 2790, jan. 2022.
- ALI, Wajid *et al.* Polylactic acid synthesis, biodegradability, conversion to microplastics and toxicity: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 21, n. 3, p. 1761–1786, 1 jun. 2023.
- BAGHERI, Amir Reza *et al.* Fate of So-Called Biodegradable Polymers in Seawater and Freshwater. **Global Challenges**, v. 1, n. 4, p. 1700048, 2017.
- BLANKINSHIP, Dr Lisa Ann. Lab 1: Aseptic Technique. 12 set. 2022.
- BOONLUKSIRI, Yeiangchart; PRAPAGDEE, Benjaphorn; SOMBATSOMPOP, Narongrit. Promotion of polylactic acid biodegradation by a combined addition of PLA-degrading bacterium and nitrogen source under submerged and soil burial conditions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 188, p. 109562, jun. 2021.
- BRAUN, Birgit; DORGAN, John R.; DEC, Steven F. Infrared Spectroscopic Determination of Lactide Concentration in Polylactide: An Improved Methodology. **Macromolecules**, v. 39, n. 26, p. 9302–9310, 1 dez. 2006.
- BROWNE, Mark A. *et al.* **Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, *Mytilus edulis* (L.)**. research-article. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es800249a>>. Acesso em: 16 set. 2025.
- BRUGUERA-CASAMADA, Carmina *et al.* Efeito de radicais hidroxila eletrogerados, cloro ativo e matéria orgânica na inativação eletroquímica de *Pseudomonas aeruginosa* usando BDD e ânodos dimensionalmente estáveis. **Separation and Purification Technology**, v. 178, p. 224–231, 7 maio 2017.
- DA SILVA, Schana Andréia *et al.* A biostimulation-based accelerated method for evaluating the biodegradability of polymers. **Polymer Testing**, v. 91, p. 106732, nov. 2020.
- DE SOUZA MACHADO, Anderson Abel *et al.* Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. **Global Change Biology**, v. 24, n. 4, p. 1405–1416, abr. 2018.
- FARAH, Shady; ANDERSON, Daniel G.; LANGER, Robert. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, PLA biodegradable polymers. v. 107, p. 367–392, 15 dez. 2016.

FRANCHETTI, Sandra Mara Martins; MARCONATO, José Carlos. Polímeros biodegradáveis - uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811–816, jul. 2006.

GHAZALI, Arniza; AZHAR, Nur Haffizah. Inscribing the Compositional Changes of Heterogeneous Bio-system through FTIR Spectroscopy – Demonstration of Guideline to Sound Interpretation. **Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology**, v. 29, n. 2, p. 276–290, 20 jan. 2023.

HORTON, Alice A. *et al.* Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. **Science of The Total Environment**, v. 586, p. 127–141, maio 2017.

JO, Su Jin *et al.* Standardization of the Agar Plate Method for Bacteriophage Production. **Antibiotics**, v. 14, n. 1, p. 2, jan. 2025.

KÖNIG KARDGAR, Azora *et al.* Chronic poly(l-lactide) (PLA)- microplastic ingestion affects social behavior of juvenile European perch (*Perca fluviatilis*). **Science of The Total Environment**, v. 881, p. 163425, jul. 2023.

KOPERSKA, M. A. *et al.* Degradation markers of fibroin in silk through infrared spectroscopy. **Polymer Degradation and Stability**, v. 105, p. 185–196, 1 jul. 2014.

LEROY, Adrien *et al.* FTIR microscopy contribution for comprehension of degradation mechanisms in PLA-based implantable medical devices. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 28, n. 6, p. 87, 3 maio 2017.

LI, Lili; FREY, Margaret; BROWNING, Kristie J. Biodegradability Study on Cotton and Polyester Fabrics. **Journal of Engineered Fibers and Fabrics**, v. 5, n. 4, dez. 2010.

LORS, Christine; LELEUX, Pauline; PARK, Chung Hae. State of the art on biodegradability of bio-based plastics containing polylactic acid. **Frontiers in Materials**, v. 11, 7 jan. 2025.

MADHAVAN NAMPOOTHIRI, K.; NAIR, Nimisha Rajendran; JOHN, Rojan Pappy. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8493–8501, 1 nov. 2010.

MCKEOWN, Paul; JONES, Matthew D. The Chemical Recycling of PLA: A Review. **Sustainable Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 1–22, jun. 2020.

MELLO, Gabriela Sá Leitão de *et al.* Viabilidade da aplicação do método respirométrico de Bartha para determinação da biodegradação de poluentes ou resíduos em latossolos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 12, p. 71–78, mar. 2007.

MISTRY, Avnish Nitin *et al.* Rapid biodegradation of high molecular weight semi-crystalline polylactic acid at ambient temperature via enzymatic and alkaline hydrolysis by a defined bacterial consortium. **Polymer Degradation and Stability**, v. 202, p. 110051, 1 ago. 2022.

MOHAMED NOR, Nur Hazimah; OBBARD, Jeffrey Philip. Microplastics in Singapore's coastal mangrove ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**, v. 79, n. 1, p. 278–283, 15 fev. 2014.

NAPPER, Imogen E.; THOMPSON, Richard C. Environmental Deterioration of Biodegradable, Oxo-biodegradable, Compostable, and Conventional Plastic Carrier Bags in the Sea, Soil, and Open-Air Over a 3-Year Period. **Environmental Science & Technology**, v. 53, n. 9, p. 4775–4783, 7 maio 2019.

NOOR, Hazrat *et al.* Visão geral da esterase da cepa S3 de *Pseudomonas aeruginosa* que despolimeriza poli(ácido láctico) (PLA) à temperatura ambiente. **Polymer Degradation and Stability**, v. 174, p. 109096, 1 abr. 2020.

NOROUZY, Nima; ZABIHIHESARI, Alireza; REZAI, Pouya. Simultaneous high-throughput particle-bacteria separation and solution exchange via in-plane and out-of-plane parallelization of microfluidic centrifuges. **Biomicrofluidics**, v. 18, n. 5, p. 054107, 23 set. 2024.

OBERBECKMANN, Sonja; LABRENZ, Matthias. Marine Microbial Assemblages on Microplastics: Diversity, Adaptation, and Role in Degradation. **Annual Review of Marine Science**, v. 12, n. Volume 12, 2020, p. 209–232, 3 jan. 2020.

OLIVEIRA, Juliana *et al.* Marine-Derived Actinomycetes: Biodegradation of Plastics and Formation of PHA Bioplastics—A Circular Bioeconomy Approach. **Marine Drugs**, v. 20, n. 12, p. 760, dez. 2022.

P. OLIVATTO, Glauca *et al.* Microplastics: Contaminants of Global Concern in the Anthropocene. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 6, p. 1968–1989, 2018.

PEDERSEN, Bjarke H. *et al.* High-throughput dilution-based growth method enables time-resolved exo-metabolomics of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas aeruginosa*. [*S.d.*].

PRATA, Joana Correia. Airborne microplastics: Consequences to human health? **Environmental Pollution**, v. 234, p. 115–126, 1 mar. 2018.

QI, Xiang; REN, Yiwei; WANG, Xingzu. New advances in the biodegradation of Poly(lactic acid). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 117, p. 215–223, 1 fev. 2017.

RAJESHKUMAR, G. *et al.* Environment friendly, renewable and sustainable poly lactic acid (PLA) based natural fiber reinforced composites – A comprehensive review. **Journal of Cleaner Production**, v. 310, p. 127483, 10 ago. 2021.

RILLIG, Matthias C. Microplastic in Terrestrial Ecosystems and the Soil? **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 12, p. 6453–6454, 19 jun. 2012.

ROCHMAN, Chelsea M. *et al.* Classify plastic waste as hazardous. **Nature**, v. 494, n. 7436, p. 169–171, fev. 2013.

ROSE, Ruth-Sarah *et al.* Microbial Degradation of Plastic in Aqueous Solutions Demonstrated by CO<sub>2</sub> Evolution and Quantification. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1176, jan. 2020.

SATTI, Sadia Mehmood *et al.* Isolation and characterization of bacteria capable of degrading poly(lactic acid) at ambient temperature. **Polymer Degradation and Stability**, v. 144, p. 392–400, 1 out. 2017.

SHALEM, Adi; YEHEZKELI, Omer; FISHMAN, Ayelet. Enzymatic degradation of polylactic acid (PLA). **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 108, n. 1, p. 1–20, 1 dez. 2024.

SHIMPI, Navinchandra *et al.* Biodegradation of polystyrene (PS)-poly(lactic acid) (PLA) nanocomposites using *Pseudomonas aeruginosa*. **Macromolecular Research**, v. 20, n. 2, p. 181–187, 1 fev. 2012.

SOMA, Yuki *et al.* Trace impurities in sodium phosphate influences the physiological activity of *Escherichia coli* in M9 minimal medium. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 17396, 13 out. 2023.

TAUK, Sâ Mia Maria. BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS NO SOLO. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 20, n. 1, p. 299–301, 1 dez. 1990.

TIAGO, Gonçalo A. O. *et al.* The problem of polyethylene waste – recent attempts for its mitigation. **Science of The Total Environment**, v. 892, p. 164629, 20 set. 2023.

WANG, Ge-Xia *et al.* Seawater-Degradable Polymers—Fighting the Marine Plastic Pollution. **Advanced Science**, v. 8, n. 1, p. 2001121, 2021.

WANG, Yujun *et al.* Biodegradação do ácido polilático por uma bactéria mesofílica *Bacillus safensis*. **Chemosphere**, v. 318, p. 137991, 1 mar. 2023.

WEINSTEIN, John E. *et al.* Degradation of bio-based and biodegradable plastics in a salt marsh habitat: Another potential source of microplastics in coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111518, 1 nov. 2020.

WHITE, Evan M. *et al.* Comparative Study of the Biological Degradation of Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyhexanoate) Microbeads in Municipal Wastewater in Environmental and Controlled Laboratory Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 55, n. 17, p. 11646–11656, 7 set. 2021.

YAN, Jingyue *et al.* Aplicação da espectroscopia infravermelha na caracterização da estrutura multiescala do poli(ácido l-láctico). **Polymer**, v. 278, p. 125985, 13 jun. 2023.

YANG, Yulu *et al.* Plastic wastes (PWs) and microplastics (MPs) formation: Management, migration, and environmental impact. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 3, p. 112926, 1 jun. 2024.

ZHANG, Jun *et al.* Tunable particle separation in a hybrid dielectrophoresis (DEP)-inertial microfluidic device. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 267, p. 14–25, 15 ago. 2018.

ZHAO, Shiye *et al.* Suspended microplastics in the surface water of the Yangtze Estuary System, China: First observations on occurrence, distribution. **Marine Pollution Bulletin**, v. 86, n. 1, p. 562–568, 15 set. 2014.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela 1.** Comparação de médias (Teste t) e homogeneidade de variância (Teste de Levene) das bandas de absorção de infravermelho (FTIR) do PLA após 180 dias de biodegradação.

Grupo	M9_média_DP	M9_Glicose_média_DP	p_Levene	p_Teste_t
OH	0.008 ± 0.009	0.005 ± 0.007	0.0178	0.11565
C_O	0.005 ± 0.005	0.002 ± 0.003	0.8586	0.39577
C_CH3	0.059 ± 0.048	0.05 ± 0.044	0.2331	0.32226
C_O_C	0.024 ± 0.016	0.021 ± 0.018	0.7040	0.61789

Os dados foram normalizados pelo método Min-Max (0 a 1). As médias foram comparadas pelo Teste t de Student ou Teste de Welch, dependendo da homogeneidade das variâncias (Teste de Levene,  $\alpha = 0,05$ ).

Tabela 2: Índice de Cristalinidade Relativa do PLA (I<sub>921</sub>/I<sub>955</sub>)

Tratamento	Média	Desvio Padrão (±)	n
PLA Original	0,797	-	1
M9 Puro	0,859	0,034	10
M9 + Glicose	0,882	0,041	10

**Tabela 3.** Intensidade relativa e largura à meia altura (FWHM) dos principais grupos funcionais do PLA original e após tratamentos bióticos.

Banda	Grupo	Média Intensidade	SD Intensidade	Média FWHM	SD FWHM
C-CH <sub>3</sub>	M9 + Glicose	1	0	29,26	3,293
	M9 Puro	1	0	28,514	4,974
	PLA Original	1	NA	37,273	NA
C-O-C	M9 + Glicose	2,766	0,179	202,208	8,708
	M9 Puro	2,907	0,251	200,158	8,157
	PLA Original	2,1	NA	193,822	NA
C=O	M9 + Glicose	2,172	0,303	47,896	6,92
	M9 Puro	2,109	0,204	47,151	6,277
	PLA Original	1,96	NA	41,001	NA
OH	M9 + Glicose	0,315	0,189	489,027	20,267
	M9 Puro	0,312	0,257	496,481	3,536
	PLA Original	0,103	NA	497,6	NA

**Nota:** Valores médios de intensidade normalizada e largura à meia altura (FWHM) para os principais grupos funcionais do PLA original e submetido aos meios M9 e M9 com Glicose. Valores expressos como média ± desvio padrão (n=10). As intensidades foram normalizadas pela banda em 1452 cm<sup>-1</sup>(C-CH<sub>3</sub>) em. u.a. = unidades arbitrárias.

Tabela 4: Produção média acumulada de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) expressa em miligramas (mg) ao longo de 23 semanas de monitoramento.

Semana	Glicose Amostra	Glicose Controle	M9 Puro Amostra	M9 Puro Controle
1	26.7± 0.14	25.3± 0.52	14.7± 2.21	14.3± 1.04
2	28.35±0.21	27.87±0.12	15.5± 1.18	13.57± 1.62
3	26.1±1.98	25.03± 1.58	17.73± 1.42	15.83± 1.46
4	22.3±1.13	22.17± 0.25	13.47± 1.38	12.13± 1.46
5	24.3±1.98	22.97± 0.12	17.8± 5.55	16.27± 6.2
6	31.75± 1.34	30.5± 0.56	23.4± 1.75	21.33± 3
7	32.6± 2.11	31.27± 0.59	14.27± 1.62	12.69± 3.37
8	25.2± 1.7	22.87± 0.99	16.33± 1.27	14.07± 2.75
9	26.95± 1.48	24.43± 1.34	16.2± 2.03	15.33± 2.5
10	27.85± 1.48	26.07± 0.47	18.13± 1.79	16.87± 2.92
11	24.4± 1.84	22± 1.25	17.2± 1.55	16.27± 1.92
12	28.9± 1.98	26.9± 1.25	18.2± 1.71	15.48± 6.54
13	23.1± 2.26	23.03± 1.16	14.3± 0.36	12.27± 1.86
14	26.7± 1.84	24.1±1.41	18.2± 0.5	15.47± 3.12
15	22.15± 1.63	21.47± 1.46	13.47± 0.76	15.47± 3.12
16	24.95± 1.63	23.1± 1.39	14.7± 0	14.3± 2.08
17	26.35± 1.63	24.83± 0.92	18.27± 2.01	15.87± 2.83
18	22.75± 1.77	21.23± 0.83	12.3±1.41	11.25± 1.47
19	23± 1.84	21.1± 1.18	13.53± 0.59	12.3± 2.21
20	24.4± 2.12	21.93± 0.45	13.87± 0.6	14.2± 0.26
21	24.5± 1.27	22.93± 0.96	14.6± 0.69	14.57± 0.12
22	23.8±0.71	23.97± 0.58	15.17± 0.45	15.13± 0.21
23	26.45± 1.48	24.6± 1.05	16.43± 0.29	15.73± 0.15

**Legenda:** Os valores representam a média aritmética acompanhada do respectivo desvio-padrão ( $\pm DP$ ) das triplicatas experimentais.

- **Glicose Amostra:** Meio mineral M9 suplementado com glicose e inoculado com a microbiota teste.
- **Glicose Controle:** Meio mineral M9 suplementado com glicose, sem inóculo (controle abiótico).
- **M9 Puro Amostra:** Meio mineral M9 (sem fonte de carbono externa) inoculado.
- **M9 Puro Controle:** Meio mineral M9 sem inóculo.

*Nota: Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As observações ausentes no grupo G1 (Glicose) foram tratadas via exclusão listwise na análise de variância.*

## Metodologia Estatística

Os dados de produção de CO<sub>2</sub> foram submetidos à Análise de Variância bifatorial (Two-Way ANOVA) para avaliar a influência dos fatores *Sistema* (M9 puro e M9 suplementado com glicose) e *Tempo* (23 semanas de incubação), bem como a interação entre esses fatores. A normalidade dos resíduos foi verificada por meio do teste de

Shapiro–Wilk. A comparação múltipla das médias entre os grupos experimentais foi realizada utilizando o teste post-hoc de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises estatísticas e a elaboração dos gráficos foram conduzidas no ambiente computacional R (versão 4.x), com o auxílio dos pacotes *tidyverse* e *stats*.