

BIODEGRADAÇÃO DE COPOLÍMERO ACRÍLICO-ESTIRENADO COM REDUÇÃO DE EFEITO TÓXICO EM *CUCUMIS ANGURIA* L

BIODEGRADATION OF ACRYLIC-STYRENE COPOLYMER WITH REDUCTION OF TOXIC EFFECT IN *CUCUMIS ANGURIA* L

Gabriel Ivo Lima de Almeida

Graduando em biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: gabrielivo19@gmail.com

Kaíque Yago Gervazio de Lima

Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: kaique.gervazio@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-4050-2246>

Ulrich Vasconcelos

Departamento de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: u.vasconcelos@cbiotec.ufpb.br

<https://orcid.org/0000-0001-8289-2230>

Recebido: 01/05/2025 – Aceito: 15/05/2025

Resumo

Polímeros sintéticos oferecem diversas aplicações na indústria, mas sua persistência no ambiente representa um desafio. Este trabalho avaliou a utilização de um copolímero acrílico-estirenado (CAE) como fonte de carbono por *Pseudomonas aeruginosa* TGC04 e os efeitos ecotoxicológicos dos metabólitos sobre a germinação e desenvolvimento de *Cucumis anguria* L. (maxixe-do-norte). O experimento foi realizado em frascos contendo meio mineral mínimo adicionado com CAE 1%, e incubado por 72h à 30°C. A redução do contaminante foi de 5,01%, determinada por gravimetria. Isto resultou na recuperação parcial do desenvolvimento da planta, comparada ao controle, demonstrando uma diferença significativa na massa da raiz ($p=0,041$) e tendência à significância na massa da parte aérea ($p=0,065$), i.e., caule e folhas. Como conclusão, *P. aeruginosa* TGC04 exibiu potencial para uso na biorremediação.

Palavras-chave: biorremediação; ecotoxicidade; resinas.

Abstract

Synthetic polymers offer several industrial applications, however their persistence in the environment denotes a challenge. This work assessed the use of an acrylic-styrene copolymer (ASC) as the sole of carbon by *Pseudomonas aeruginosa* TGC04 and the ecotoxicological effects of the metabolites on germination and development of *Cucumis anguria* L. (Gherkin). The experiment was carried out in flasks containing minimal mineral medium added with ASC 1% and

incubated for 72h at 30°C. The contaminant reduction was 5,01%, determined by gravimetry. Compared to the control, it resulted in a partial recovery of plant development and demonstrated a significant difference in root biomass ($p=0.041$) and a tendency to significance in the aerial part biomass ($p=0.065$), i.e., stem and leaves. In conclusion, *P. aeruginosa* TGC04 showed potential for use in bioremediation.

Keywords: bioremediation; ecotoxicity; resins.

1. Introdução

Os polímeros sintéticos são aplicados nas mais diversas áreas industriais, por exemplo, biomédica, têxtil, construção civil, cosmética e sanitizante (Aleid *et al.*, 2023). Esses compostos se caracterizam pela alta resistência e estabilidade, propriedades desejáveis em termos de aplicabilidade, contudo, representam riscos ao ambiente por serem compostos persistentes (Demirors, 2000).

As resinas acrílicas são materiais derivados dos monômeros de ácido acrílico, metacrilato ou seus ésteres. Essas moléculas possuem um grupo vinil ($\text{CH}_2\text{CH}-$), responsável pela propriedade de formar polímeros diversos ou se combinar com outros materiais, produzindo copolímeros (Aalto-korte *et al.*, 2020). Estes materiais podem apresentar baixa biodegradabilidade, atribuída à baixa biodisponibilidade em razão da alta massa molecular (Booth *et al.*, 2016).

O copolímero acrílico-estirenado (CAE) é uma emulsão aquosa empregada como agente opacificante, ou seja, adjuvante industrial para redução da transparência de um produto. A porção acrílica do copolímero atua na proteção do material contra depósitos insolúveis de sais de cálcio, enquanto a porção de estireno confere maior rigidez, estabilidade térmica e resistência química (Demirors, 2000). Em complemento, a persistência de oligômeros de estireno no ambiente representa riscos, visto que são compostos tóxicos, carcinogênicos, com tendência acumulativa em solos, bem como magnificada na cadeia trófica (Kwoon *et al.*, 2019; Rozman e Kalčíková, 2021).

Diante desse panorama, é importante implementar estratégias complementares aos tratamentos convencionais de copolímeros, incineração ou

despejo em aterros sanitários, o que põe a biorremediação como alternativa ecológica de destaque (Enerijiofi, 2021) e *Pseudomonas aeruginosa* como o microrganismo de interesse no processo (Filloux e Ramos, 2022). *P. aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa, muito versátil, do ponto de vista metabólico (Wood *et al.*, 2023), podendo ser aplicada na degradação de diferentes contaminantes por ser capaz de utilizar um grande espectro de moléculas orgânicas como fonte de carbono e energia (Hu *et al.*, 2023).

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial da linhagem *P. aeruginosa* TGC04 em degradar o CAE e verificar a toxicidade dos subprodutos da degradação na germinação e desenvolvimento de *Cucumis anguria* L., vegetal sensível à presença de contaminantes (Cavalcanti *et al.*, 2016).

2. Metodologia

2.1 Resina acrílica (CAE)

Foi utilizado resina acrílica-estirenada (Brancol®, Sheron, João Pessoa), que se apresentava como substância de coloração branca opaca, com odor característico, pH entre 3,5 e 5 à 25°C e densidade 1,04 g.mL⁻¹.

2.1 Linhagem e aclimação

Foi utilizada a linhagem *P. aeruginosa* TGC04, isolada de solo (cadastro SisGen # A404D65). A linhagem foi aclimatada ao CAE em frascos de 500 mL contendo 100 mL de caldo mineral mínimo, com composição (g/L): K₂HPO₄ (0,5); (NH₄)₂SO₄ (0,5); MgSO₄ (0,5), FeCl₂ (0,01); CaCl₂ (0,01); MnCl₂ (0,0001) e ZnSO₄ (0,00001), pH 7.2±0.2, suplementado com 0.1 g/L de extrato de levedura e adicionado com concentrações crescentes do CAE, iniciando por 0,1%. Após a inoculação, as amostras eram mantidas em incubadora microbiológica à 29±1°C por 72 h. Após o período de incubação, uma amostra era coletada com alça

bacteriológica e semeada em ágar nutriente para verificação da viabilidade da cultura (França *et al.*, 2014).

2.3 Ensaio de biodegradação

O ensaio foi conduzido em frascos de 500 mL contendo 100 mL de caldo mineral mínimo, o inóculo (5 mL) e 1% do CAE. A incubação foi realizada durante 72h à 29±1°C, quando alíquotas de 10 mL eram tomadas e transferidas para cadinhos de porcelana, com capacidade para 25 mL, previamente pesados, e em seguida levados para secagem à 105°C por 24h. Após, os cadinhos resfriados foram pesados a fim de quantificar a massa seca do polímero residual por gravimetria (Tejera-Garcia, 2012). O controle do teste não usou adição do CAE. Para determinar o percentual da degradação do CAE foi aplicada a Equação 1:

$$\%Degradação = \left(\frac{Massa\ controle - Massa\ residual\ do\ tratamento}{Massa\ controle} \right) \times 100 \quad Eq. (1)$$

2.4 Ensaios de ecotoxicidade

O teste foi realizado segundo metodologia descrita por Durval *et al.* (2019), utilizando sementes de *Cucumis anguria* L. (Feltrin, Farroupilha, Brasil). O experimento consistiu na semeadura de três sementes dispostas de maneira equidistante para cada unidade experimental (frascos com capacidade para 80mL, preenchidos com 54g de areia) preenchendo $\frac{2}{3}$ de sua capacidade total com terra de jardim, caracterizada quanto os seguintes parâmetros: carbono orgânico total, nitrogênio total e fósforo total.

O teste foi realizado em triplicata e consistiu em três grupos experimentais: o grupo I (pré-tratamento), contendo 5 mL da solução em meio mineral do CAE 1%; o grupo II (pós-tratamento) e o grupo controle (III), recebendo 5 mL de água de torneira. As amostras foram armazenadas em local alto com luz natural e

irrigadas com água de torneira a cada 24 h pelo período de 11 dias. No décimo segundo dia, as plantas foram coletadas e analisados quanto os seguintes parâmetros: número de radículas, massa da raiz, massa da parte aérea, número de folhas e altura da parte aérea. O número de radículas e de folhas foram contados, a massa da raiz e da região aérea foram determinadas por pesagem em base sólida; e a determinação da altura foi por medição com paquímetro. Esses dados foram comparados ao grupo controle, utilizando a equação geral 2:

$$\%Redução = \left(\frac{P_{controle} - P_{tratamento}}{P_{controle}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que, P corresponde no valor em unidade, grama ou centímetro, de cada parâmetro avaliado individualmente: número de radículas e de folhas (unidade); massa da raiz e da região aérea (g); e altura da região aérea(cm).

4.5 Análise estatística

Para cada parâmetro foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de um fator, para verificar se existiram diferenças significativas entre as médias dos grupos avaliados (controle, pré e pós-tratamento), comparando a variabilidade intragrupos (dentro de cada grupo) e intergrupos (entre os grupos) gerando um F estatístico.

3. Resultados e Discussão

O presente trabalho avaliou a capacidade de *P. aeruginosa* TGC04 em degradar o CAE. Em 72h de tratamento, a linhagem reduziu o contaminante em 5,01%, comparado ao grupo controle. Mesmo que uma fração considerada pequena tenha sido degradada, nas condições experimentais testadas, representou a redução da toxicidade do contaminante. Para certificar a toxicidade

dos metabólitos, realizou-se o ensaio com *C. anguria* L. Os dados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros ecotoxicológicos da *Cucumis anguria* L.

Grupo	Média radículas	Média massa raiz	Média massa aérea	Média folhas	Média Altura
I	3,67±0,94	0,01±0,01	0,06±0,02	2,33±0,58	5,10±1,04
II	3,67±0,58	0,01±0,01	0,11±0,01	3,00±0,01	6,53±0,64
III	6,33±1,89	0,01±0,01	0,08±0,02	2,33±0,58	5,87±0,50

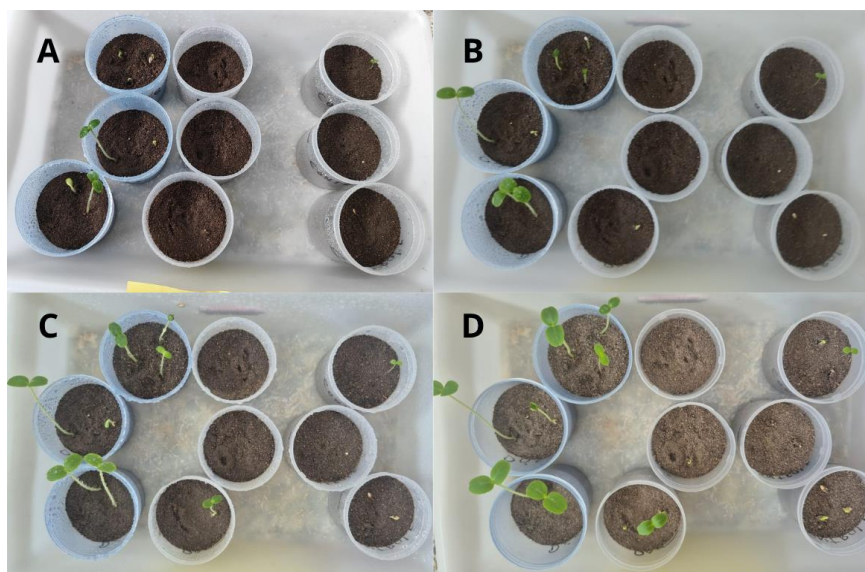
Nota: grupo I (pré-tratamento); grupo II (pós-tratamento); grupo III (controle). Fonte: os autores

O grupo controle apresentou o maior número de radículas, seguido pelo grupo pós-tratamento e o pré-tratamento, já tanto a massa das raízes como a massa da parte aérea foram superiores no grupo pós-tratamento, em relação ao grupo pré-tratamento. O número de folhas aumentou no grupo pós-tratamento contrastando com o controle e o pré-tratamento.

O monitoramento diário revelou diferenças notáveis na germinação e desenvolvimento das plântulas. O pós-tratamento e controle apresentaram crescimento a partir do dia 5 (Figura 1A), no entanto o grupo tratado demonstrou melhor desenvolvimento em relação ao grupo controle. Já o pré-tratamento, apresentou início do crescimento a partir do dia 7 (Figura 1C).

Portanto, ao longo dos 11 dias de análise, foi possível observar que o grupo tratado se sobressaiu em relação ao grupo não tratado, indicando que o efeito tóxico do contaminante foi reduzido após a ação do inóculo. Além disso, a terra de jardim apresentava características compatíveis para germinação e desenvolvimento da planta. A relação C:N:P era de 10:0,4:0,4.

Figura 1. Crescimento de *Cucumis anguria* L. nos dias 5, 6, 7 e 8



Nota: A: representa crescimento no do dia 5; B: crescimento a partir no dia 6; C: crescimento no dia 7; e D: crescimento no dia 8. O grupo alinhado ao lado esquerdo de A-D representa o grupo tratado com *P. aeruginosa* TGC04, o grupo alinhado ao meio de A-D representa o grupo não tratado e o grupo alinhado ao lado direito de A-D representa o grupo controle. Fonte: os autores

A análise de variância foi realizada nos grupos avaliados. Observou-se que apenas a métrica “massa da raiz”, cujo valor de F (5,69) foi superior ao F crítico (5,14) e o p-valor inferior a 0,05, indicando que houve diferença significativa entre os grupos. Ademais, o parâmetro “massa da parte aérea” apresentou um F de 4,45, que é próximo ao F crítico 5,14, com p-valor de 0,065 sugerindo uma tendência a significância, ainda que não estatisticamente conclusiva. No entanto, os demais parâmetros apresentaram valores de F inferiores ao F crítico e p valores acima de 0,05, não indicando diferenças estatísticas relevantes entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2. Teste ANOVA para os parâmetros morfológicos de *Cucumis anguria* L.

Parâmetros	F	p-value	F crit
Nº de radículas	3,047	0,122	5,143
massa da raiz (g)	5,692	0,041	5,143
massa da parte aérea(g)	4,458	0,065	5,143
Nº de folhas	2,000	0,216	5,143
Altura (cm)	3,291	0,108	5,143

Nota: A ANOVA de um fator testa a hipótese nula (H_0) de que todas as médias são iguais contra a hipótese alternativa (H_1) de que pelo menos uma média difere de maneira significativa. F: Determina a razão entre a variabilidade entre os grupos e a variabilidade dentro dos grupos. P-valor: Indica a probabilidade de receber resultados observados caso a hipótese nula seja verdadeira quando $p < 0,05$ rejeita-se H_0 , sugerindo diferenças estatísticas significativas entre os grupos. F crítico: valor de referência utilizado para determinar a significância estatística. Fonte: os autores.

Os ensaios ecotoxicológicos revelaram padrões distintos nos três grupos estudados, entretanto não apresentaram variações significativas entre eles. Os resultados sugerem um período experimental curto ou que as estruturas reprodutivas e foliares em *C. anguria* L. podem ser mais resistentes a estresses químicos (Xu *et al.*, 2024). No entanto a massa da raiz mostrou diferença significativa ($p=0,041$) e a massa da parte aérea apresentou tendência à significância ($p=0,065$), o que indicou a presença de metabólitos produzidos por *P. aeruginosa* TGC04, como ácido indolacético (Waghunde e Sabalpara, 2021), estimulante de crescimento das raízes em *C. anguria* L. (Ghadamgahi *et al.*, 2022).

A degradação efetiva de copolímeros depende de aspectos como comprimento da cadeia carbônica, grupos laterais, carbonos quaternários e organização molecular (Aleid *et al.*, 2023). O microrganismo também precisa expressar esterases para hidrolisar as ligações éster presentes em meio de aerobiose (Gaytán *et al.* 2021). Adicionalmente, *P. aeruginosa* utiliza genes

estruturais StyABCD para degradar a porção estireno de copolímeros, via oxidação (Kotova *et al.*, 2021).

Segundo Oelschlägel *et al.* (2015), linhagens de *P. fluorescens* foram capazes de metabolizar com eficiência o estireno presente em lixiviados a fim de produzir as enzimas StyA e StyD, bem como, ácido fenilacético como metabólito majoritário. Embora não tenha sido detectada o subproduto principal do metabolismo, a taxa de redução diária do CAE no presente estudo foi de 1,67%. Ali *et al.* (2021) observaram uma degradação diária de poliestireno, cerca de 0,70%, porém os autores avaliaram o processo por 30 dias, sugerindo que a linhagem *P. aeruginosa* TGC04 é superior metabolicamente a *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. empregados no estudo. Isto pode ser corroborado ao trabalho de Lee *et al.* (2020) que observaram igualmente uma taxa diária de 0,098%, por *P. aeruginosa* em 60 dias. É importante salientar que o baixo percentual de redução pode sugerir algumas limitações no processo de degradação, contudo atingir 5% em 72h evidencia e encoraja o uso de *P. aeruginosa* TGC04 em futuras investigações frente copolímeros acrílicos.

4. Conclusão

Nas condições experimentais do presente estudo, foi demonstrado o potencial da linhagem *P. aeruginosa* TGC04 na utilização do CAE como fonte única de carbono, bem como os metabólitos produzidos numa pequena fração degradada em 72h, reduziu o efeito negativo de parâmetros morfológicos de *C. anguria* L. embora a redução do crescimento da planta tenha sido pouco, entre os tratamentos, as massas da raiz e da parte aérea foram menos impactadas, indicando que *P. aeruginosa* TGC04 é um bom candidato como agente de biorremediação de locais contaminados por CAE.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal da Paraíba pela estrutura, no desenvolvimento deste trabalho.

Referências

- AALTO-KORTE, K. Acrylic resins. In: MAIBACH, H.I. (ed.). **Kanerva's occupational dermatology**. Cham: Springer, 2019. p. 737-756.
- ALEID, G.M.; ALSHAMMARI, A.S.; TRIPATHY, D.B.; GUPTA, A.; AHMAD, S. Polymeric surfactants: recent advancement in their synthesis, properties, and industrial applications. *Macromolec Chem Physics*. v. 224, n. 17, p. 2300107, 2023. <https://doi.org/10.1002/macp.202300107>
- ALI, S.S.; ELSAMAHY, T.; AL-TOHAMY, R.; ZHU, D.; MAHMOUD, Y.A.G.; ABDELKAREEM, M.A.; SUN, J. Plastic wastes biodegradation: mechanisms, challenges and future prospects. *Sci Total Environ*. v. 780, p. 146590, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146590>
- BOOTH, A.M.; HERNANDEZ, L.M.; RODRIGUEZ, D.M.; WATSON, S.A.; SMITH, J.D.; THOMPSON, R.C. Uptake and toxicity of methylmethacrylate-based nanoplastic particles in aquatic organisms. *Environ Toxicol Chem*. v. 35, n. 7, p. 1641-1649, 2015. <https://doi.org/10.1002/etc.3076>
- CAVALCANTI, T.G.; VIANA, A.A.G.; GUEDES, T.P.; FREIRE, A.S.; TRAVASSOS, R.A.; VASCONCELOS, U. Seed options for toxicity tests in soils contaminated with oil. *Can J Pure Appl Sci*. v. 10, n. 3, p. 4039-4045, 2016.
- DEMIRORS, M. Styrene polymers and copolymers. In: KROSCWITZ, J.I. (ed.). **Applied Polymer Science: 21st century**. New York: Wiley, 2000. p. 93-106.
- DURVAL, I.; RUFINO, R.; SARUBBO, L. Biosurfactant as an environmental remediation agent: toxicity, formulation, and application in the removal of petroderivate in sand and rock walls. *Biosci Res Agric Chem*. v. 12, n. 1, p. 34-48, 2022. <https://doi.org/10.10.33263/BRIAC121.034048>
- ENERIJIOFI, K.E. Bioremediation of environmental contaminants: a sustainable alternative to environmental management. In: SINGH, S. N. (ed.). **Bioremediation for environmental sustainability**. London: Elsevier, 2021. p. 461-480.
- FILLOUX, A.; RAMOS, J-L. **Pseudomonas aeruginosa: biology, pathogenesis and control strategies**. Cham: Springer Nature, 2022.
- FRANÇA, F.P.; MUTECA, F.F.L.; OLIVEIRA, F.J.S. Biorremediation of fluvial sediment contaminated by Angolan crude oil. *Braz J Petrol Gas*. v. 8, p. 139-149, 2014. <https://doi.org/10.5419/bjjpg2014-0013>

GAYTÁN, I.; BURELO, M.; LOZA-TAVERA, H. Current status on the biodegradability of acrylic polymers: microorganisms, enzymes and metabolic pathways involved. *Appl Microbiol Biotechnol.* v. 105, n. 3, p. 991-1006, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-11073-1>

GHADAMGAHI, F.; TARIGHI, S.; TAHERI, P.; SARIPELLA, G.V.; ANZALONE, A.; KALYANDURG, P.B.; CATARA, V.; ORTIZ, R.; VETUKURI, R.R. Plant growth-promoting activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and its ability to act as a biocontrol agent against potato, tomato and taro pathogens. *Biology*, v. 11, n. 1, p. 140, 2022. <https://doi.org/10.3390/biology11010140>

HU, F.; WANG, P.; LI, Y.; LING, J.; RUAN, Y.; YU, J.; ZHANG, L. Bioremediation of environmental organic pollutants by *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms, methods and challenges. *Environ Res.* v. 239, n. 1, p. 117211, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117211>

KOTOVA, I.B.; TAKTAROVA, Y.V.; TSAVKELOVA, E.A.; EGOROVA, M.A.; BUBNOV, I.A.; MALAKHOVA, D.V.; SHIRINKINA, L.I.; SOKOLOVA, T.G.; BONCH-OSMOLOVSKAYA, E.A. Microbial degradation of plastics and approaches to make it more efficient. *Microbiology.* v. 90, p. 671-701, 2021. <https://doi.org/10.1134/S0026261721060084>

KWON, B.G.; MOON, K. Physicochemical properties of styrene oligomers in the environment. *Sci Total Environ.* v. 683, p. 216–220, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.301>

LEE, H.M.; KIM, H.R.; JEON, E.; YU, H.C.; LEE, S.; LI, J.; KIM, D-H. Evaluation of the biodegradation efficiency of four various types of plastics by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the gut extract of superworms. *Microorganisms*, v. 8, n. 9, p. 1341, 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091341>

OELSCHLÄGEL, M.; KASCHABEK, S.R.; ZIMMERLING, J.; SCHLÖMANN, M.; TISCHLER, D. Co-metabolic formation of substituted phenylacetic acids by styrene-degrading bacteria. *Biotechnol Rep.* v. 6, p. 20-26, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.01.003>

ROZMAN, U.; KALČÍKOVÁ, G. The first comprehensive study evaluating the ecotoxicity and biodegradability of water-soluble polymers used in personal care products and cosmetics. *Ecotoxicol Environ Saf.* v. 228, p. 113016, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113016>

TEJERA-GARCIA, R.; CONNELL, L.; SHAW, W.A.; KINNUNEN, P.K.J. Gravimetric determination of phospholipid concentration. *Chem Physics Lip.* v. 165, n. 6, p. 689-695, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2012.06.005>

WAGHUNDE, R.R.; SABALPARA, A.N. Impact of *Pseudomonas* spp. on plant growth, lytic enzymes and secondary metabolites production. *Front Agron.* v. 3, p. 752196, 2021. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.752196>

WOOD, S. J.; KUZEL, T.M.; SHAFIKHANI, S H. *Pseudomonas aeruginosa*: infections, animal modeling, and therapeutics. *Cells*, v. 12, n. 1, p. 199, 2023. <https://doi.org/10.3390/cells12010199>

XU, H.; CHEN, C.; PANG, Z.; ZHANG, G.; ZHANG, W.; KAN, H. Effects of microplastics concentration on plant root traits and biomass: experiment and meta-analysis. *Ecotoxicol Environ Saf.* v. 285, p. 117038, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.117038>