



# **Produção e Aplicação do biopolímero Poli(3-hidroxibutirato) (PHB)**

**Evelyn Serrano de Marins Capistrano**

**Projeto Final de Curso**

**Orientadoras:**

**Prof.<sup>a</sup> Cheila Gonçalves Mothé, D.Sc.**

**Prof.<sup>a</sup> Michelle Gonçalves Mothé, D.Sc.**

**Novembro, 2013**

# **PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DO BIOPOLÍMERO POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)**

*Evelyn Serrano de Marins Capistrano*

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários a obtenção do grau de Engenharia Química.

Aprovado por:

---

Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.

---

Maria Elizabeth Ferreira Garcia, D.Sc.

---

Jaqueline Souza de Freitas, M.Sc.

Orientado por:

---

Cheila Gonçalves Mothé, D.Sc.

---

Michelle Gonçalves Mothé, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Novembro de 2013

Capistrano, Evelyn Serrano de Marins.

Produção e Aplicação do biopolímero Poli(3-hidroxi-butirato) (PHB) / Evelyn Serrano de Marins Capistrano. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2013.

x, 60 p; il.

(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2013.

Orientadoras: Cheila Gonçalves Mothé e Michelle Gonçalves Mothé.

1. Poli(3-hidroxi-butirato). 2. Biopolímeros. 3. Produção. 4. Aplicação. 5. Projeto Final (Graduação – UFRJ/ EQ). 6. Cheila Gonçalves Mothé e Michelle Gonçalves Mothé. I. Título.

## *RECOMEÇAR*

*Não importa onde você parou ...  
em que momento da vida você cansou...  
o que importa é que sempre é possível e  
necessário “Recomeçar”.*

*Recomeçar é dar uma nova chance a si mesmo...  
é renovar as esperanças na vida e o mais importante...  
acreditar em você de novo.  
Sofreu muito nesse período? Foi aprendido...  
Chorou muito? Foi limpeza da alma...  
Ficou com raiva das pessoas? Foi para perdoá-las um dia...*

*Recomeçar...  
hoje é um bom dia para começar novos desafios.  
Onde você que chegar?  
Ir alto... sonhe alto...  
queira o melhor do melhor.  
Pensando assim trazemos pra nós aquilo que desejamos...  
Se pensarmos pequeno, coisas pequenas teremos ....  
já se desejarmos fortemente o melhor e principalmente lutarmos pelo melhor..  
o melhor vai se instalar em nossa vida.  
“Porque sou do tamanho daquilo que vejo, e não do tamanho da minha altura.”*

*Carlos Drummond de Andrade*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por estar presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais Marta e Darcy e irmãos Estelina e Eduardo por todo apoio e incentivo, pela confiança depositada em mim e pelos esforços realizados em meu favor.

Aos avós, Marinete e Áureo, e tia Simone por todo apoio e acolhimento nos períodos em que mais preciso.

As orientadoras Cheila Mothé e Michelle Gonçalves por todos os ensinamentos.

A Paula e Géssica por toda amizade ao longo desses anos e por fazerem momentos simples tornarem-se inesquecíveis.

Aos amigos de faculdade que tornaram os dias mais interessantes e divertidos. Em especial, a Melinda, Cris, Ana Luiza, Alessandra, Lorraine, Isis, Monique, Gullit e Rodrigo. Obrigada pelos conselhos e ajuda durante toda graduação.

Ao Professor Luís Cláudio Mendes e a Patrícia Pereira por toda dedicação, apoio e ensinamento.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação pessoal, para realização deste Projeto Final e para conclusão da graduação.

Resumo do Projeto Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Engenharia Química.

## **PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DO BIOPOLÍMERO POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)**

Evelyn Serrano de Marins Capistrano

Novembro, 2013

Orientadoras: Prof.<sup>a</sup> Cheila Gonçalves Mothé, D.Sc.

Prof.<sup>a</sup> Michelle Gonçalves Mothé, D.Sc.

O uso dos polímeros sintéticos, de origem petroquímica, tem se tornado cada vez mais frequente na sociedade. No entanto, uma das suas principais características é a elevada resistência à degradação, o que tem despertado grande preocupação em relação ao crescente descarte sem fins apropriados e ao longo tempo de degradação desses materiais no meio ambiente, contribuindo para o aumento da quantidade de lixo plástico produzido, resultando em sérios problemas ambientais. Diante disso, pesquisadores e indústrias vêm buscando alternativas para minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado desses materiais poliméricos. Uma das alternativas encontradas é a substituição do polímero sintético por biopolímeros, que apresentam grande potencial de expansão devido sua viabilidade técnica e econômica, além de serem mais compatíveis com a filosofia de preservação ambiental. Dentre os biopolímeros em desenvolvimento estão os poli(hidroxicarboxilatos) (PHAs) que, além da vantagem em serem biodegradáveis, apresentam outras características importantes tais como: serem biocompatíveis; produzidos a partir de recursos renováveis; e possuem propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes às do polipropileno, polímero derivado do petróleo. Entre os PHAs mais estudados e produzidos industrialmente está o Poli(3-hidroxibutirato), o PHB. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo a realização de um estudo sobre o biopolímero PHB, visando a exposição de suas aplicações e produção, bem como a análise do seu desenvolvimento tecnológico através de documentos de patentes encontrados em três bases: *USPTO*, *Espacenet* e *Web of Knowledge*. Algumas aplicações do PHB são em: embalagens para produtos de limpeza, higiene, cosméticos e farmacêuticos; sacos e vasilhames para fertilizantes e defensivos agrícolas; fios de sutura e próteses ósseas; e cápsulas de medicamentos. Sua produção baseia-se em duas etapas: na primeira, os micro-organismos são induzidos a crescer e se multiplicar em meio de cultura sem limitação de nutrientes; na segunda fase, ocorre a síntese do PHB com a limitação de nutrientes necessários para o crescimento do micro-organismo em um meio com excesso de carbono, levando a formação de grânulos de PHB no interior das células, sendo necessárias a extração e purificação do PHB. Como resultado da busca de patentes, foram encontrados 11 documentos na base americana *USPTO*, 4 na base européia *Espacenet* e 29 na *Web of Knowledge*. Para cada uma das bases foram realizadas análises das patentes quanto aos países depositantes, tipos de depositantes, ano do depósito e áreas de aplicação das patentes. Verificou-se a predominância de documentos depositados por universidades dos EUA, tanto na base *USPTO* quanto na *Web of Knowledge*. No entanto, na base *Espacenet*, a China é o país com maior número de patentes e grande parte delas é depositada por universidades. Observa-se que, a maioria das patentes encontradas está relacionada às áreas da medicina e da biotecnologia. Avaliando o estudo acerca do PHB, percebe-se o seu potencial de crescimento, no que se refere as suas aplicações e melhoramento de suas propriedades. Pode-se notar que existem muitos estudos envolvendo o PHB, mas poucas patentes abordando o assunto. Desta forma, torna-se interessante um monitoramento dos artigos científicos que envolvam a produção do PHB.

## LISTA DE ABREVIações

GX	<i>Goma Xantana</i>
IPT	<i>Instituto de Pesquisas Tecnológicas</i>
PA	<i>Polímeros de amido</i>
PBS	<i>Poli(succinato de butileno)</i>
PCL	<i>Policaprolactona</i>
PDO	<i>Poli(dioxanona)</i>
PEAD	<i>Polietileno de alta densidade</i>
PEBD	<i>Polietileno de baixa densidade</i>
PLA	<i>Poli(ácido láctico)</i>
PDLA	<i>Poli(D-ácido láctico)</i>
PLLA	<i>Poli(L-ácido láctico)</i>
PLGA	<i>Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)</i>
PGA	<i>Poli(ácido glicólico)</i>
PHA	<i>Poli(hidroxiálcanoato)</i>
PHB	<i>Poli(3-hidroxi-butirato) ou Poli (butirato de hidroxila)</i>
PHBHx	<i>Poli(hidroxi-butirato-co-hidroxi-hexanoato)</i>
PHBO	<i>Poli(hidroxi-butirato-co-hidroxi-octanoato)</i>
PHBOd	<i>Poli(hidroxi-butirato-co-hidroxi-decanoato)</i>
PHBV	<i>Poli(hidroxi-butirato-co-hidroxi-valerato)</i>
USPTO	<i>United States Patent and Trademark Office</i>

# ÍNDICE

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO .....	1
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS .....	3
CAPÍTULO 3 – POLÍMEROS.....	4
3.1. Biopolímeros.....	4
3.2. Polímeros biodegradáveis .....	6
3.3. Mercado brasileiro dos biopolímeros e dos polímeros biodegradáveis .....	10
CAPÍTULO 4 – POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB).....	12
4.1. Poli(hidroxiálcanoato).....	12
4.2. Propriedades e aplicações do PHB.....	18
4.3. Síntese do PHB .....	27
4.3.1. Micro-organismos produtores do PHB .....	27
4.3.2. Biossíntese do PHB.....	30
4.3.3. Extração e purificação do PHB.....	32
4.4. Produção industrial do PHB.....	33
CAPÍTULO 5 – MONITORAMENTO TECNOLÓGICO EM PATENTES DO PHB.....	43
5.1. Busca de patentes na base <i>USPTO</i> .....	43
5.2. Busca de patentes na base <i>Espacenet</i> .....	47
5.3. Busca de patentes na base <i>Web of Knowledge</i> .....	48
CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama de blocos de alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção. ....	7
<b>Figura 2.</b> Ciclo de vida dos polímeros. ....	8
<b>Figura 3.</b> Estimativa do mercado de biopolímeros, polímeros biodegradáveis. ....	11
<b>Figura 4.</b> Micrografia evidenciando os grânulos intracelulares do PHB. ....	12
<b>Figura 5.</b> Fatores que influenciam na síntese de PHA por bactérias. ....	13
<b>Figura 6.</b> Estrutura molecular geral dos poli(hidroxialcanoatos). ....	14
<b>Figura 7.</b> Microfotografias evidenciando os grânulos de PHB intracelular. ....	18
<b>Figura 8.</b> Estrutura do poli(3-hidroxibutirato). ....	18
<b>Figura 9.</b> Recipientes Potes produzidos com PHB, com pigmentação (branco) e sem pigmentação (âmbar). ....	20
<b>Figura 10.</b> Embalagens de cosméticos produzidas a partir de PHB. ....	20
<b>Figura 11.</b> Tampas de embalagens produzidas a partir de PHB. ....	20
<b>Figura 12.</b> Fibras produzidas a partir de PHB. ....	21
<b>Figura 13.</b> Chapas para termoformagem produzidas a partir de PHB. ....	21
<b>Figura 14.</b> Cartões produzidos a partir de PHB. ....	21
<b>Figura 15.</b> Amostras de recipientes produzidos com PHB. ....	22
<b>Figura 16.</b> Tubetes para reflorestamento produzidos a partir de PHB. ....	22
<b>Figura 17.</b> Prótese óssea de PHB. ....	22
<b>Figura 18.</b> Suporte poroso de PHB. ....	23
<b>Figura 19.</b> Foto da Planta Piloto de PHB. ....	23
<b>Figura 20.</b> Foto da Usina da Pedra em Serrana, SP. ....	24
<b>Figura 21.</b> Polímero PHB. ....	24
<b>Figura 22.</b> Conceito Renovável do PHB. ....	26
<b>Figura 23.</b> Estrutura da parede celular de Gram-positivos e Gram-negativos. ....	28
<b>Figura 24.</b> Via e enzimas envolvidas na biossíntese de PHB. ....	31
<b>Figura 25.</b> Esquema de Biossíntese de PHB via metabólica via metabólica de síntese a partir de carboidratos. ....	31
<b>Figura 26.</b> Mecanismo de polimerização para síntese do PHB. ....	32
<b>Figura 27.</b> Etapas do processo de obtenção do PHB. ....	34

<b>Figura 28.</b> <i>Ralstonia eutropha</i> nas fases de: (A) crescimento; e (B) produção de PHB. ....	34
<b>Figura 29.</b> Diagrama de blocos do processo de produção de PHB. ....	37
<b>Figura 30.</b> Instruções usadas para efetuar busca de patentes de PHB na base USPTO. ....	43
<b>Figura 31.</b> Resultado da busca de patentes de PHB na base USPTO. ....	44
<b>Figura 32.</b> Distribuição das patentes por países depositantes (USPTO). ....	44
<b>Figura 33.</b> Distribuição das patentes por tipo de instituição depositante (USPTO). ....	45
<b>Figura 34.</b> Evolução do número de patentes depositadas sobre PHB entre 1993 e 2012 (USPTO). ....	45
<b>Figura 35.</b> Distribuição das patentes por área de aplicação (USPTO). ....	46
<b>Figura 36.</b> Distribuição das patentes por aplicação na área de biotecnologia (USPTO). ....	46
<b>Figura 37.</b> Distribuição das patentes por aplicação na área de polímeros (USPTO). ....	46
<b>Figura 38.</b> Resultado da busca de patentes de PHB na base <i>Espacenet</i> . ....	47
<b>Figura 39.</b> Distribuição das patentes por países depositantes ( <i>Espacenet</i> ). ....	47
<b>Figura 40.</b> Distribuição das patentes por tipo de instituição depositante ( <i>Espacenet</i> ). ....	48
<b>Figura 41.</b> Evolução do número de patentes depositadas sobre PHB ( <i>Espacenet</i> ). ....	48
<b>Figura 42.</b> Instruções usadas para efetuar busca de patentes de PHB na Web of Knowledge. ....	49
<b>Figura 43.</b> Resultado da busca de patentes de PHB na base Web of Knowledge. ....	49
<b>Figura 44.</b> Distribuição das patentes por países depositantes (Web of Knowledge). ....	50
<b>Figura 45.</b> Distribuição das patentes por tipo de instituição depositante (Web of Knowledge). ....	50
<b>Figura 46.</b> Evolução do número de patentes depositadas sobre PHB (Web of Knowledge). .	51
<b>Figura 47.</b> Distribuição das patentes por área de aplicação (Web of Knowledge). ....	51
<b>Figura 48.</b> Distribuição das patentes por aplicação em biotecnologia (Web of Knowledge). .	52
<b>Figura 49.</b> Distribuição das patentes por aplicação em medicina (Web of Knowledge). ....	52

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Potencial de substituição de alguns polímeros provenientes de fontes fósseis por biopolímeros .....	5
<b>Tabela 2.</b> Capacidade de alguns micro-organismos para acumular poli(hidroxicanoato)....	15
<b>Tabela 3.</b> Empresas produtoras de PHAs .....	16
<b>Tabela 4.</b> Comparação entre as propriedades do Polipropileno e Poli(3-hidroxi-butirato) .....	19
<b>Tabela 5.</b> Produtos baseados no PHB, substituindo os polímeros convencionais .....	26
<b>Tabela 6.</b> Empresas produtoras de PHB no mundo .....	27
<b>Tabela 7.</b> Produção de PHA por diferentes bactérias .....	41
<b>Tabela 8.</b> Coeficientes técnicos para fermentação aeróbia com extração e purificação do PHB por solvente .....	41

# CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Do início do século passado aos dias atuais, o uso dos polímeros tem se tornado cada vez mais frequente na sociedade e é significativa a quantidade de artefatos que utilizam polímeros sintéticos em sua composição (COUTINHO *et al.*, 2004). Os polímeros sintéticos são uma das mais importantes classes de materiais e apresentam uma série de propriedades, como resistência ao impacto, transparência e leveza, que tornaram possível a substituição de polímeros naturais e outros materiais (metais, madeira e vidro) na indústria automotiva, eletroeletrônicos, eletrodomésticos e na construção civil (TADA, 2009).

A elevada produção dos polímeros sintéticos tem sido baseada também na sua resistência à biodegradação, ao contrário dos polímeros naturais como amido, celulose e proteínas. Os primeiros estudos relativos à biodegradação foram realizados visando retardar e prevenir o ataque dos fungos, bactérias e outros organismos vivos a esses materiais. Em particular, alguns polímeros formados por hidrocarbonetos tem certa resistência ao ataque químico e biológico, de tal modo que isso lhes assegura longevidade e outras propriedades que se mantêm por longo tempo (ROSA *et al.*, 2002).

A durabilidade e a rápida descartabilidade dos materiais poliméricos provenientes de fontes fósseis têm despertado grande preocupação em relação ao crescente número de descartes sem fins apropriados e ao longo tempo de degradação desses materiais no meio ambiente (BRITO *et al.*, 2011). Isso acaba contribuindo para o aumento da quantidade de lixo plástico produzido, principalmente nos grandes centros urbanos, resultando em problemas ambientais que podem ser desastrosos para a humanidade (ROSA *et al.*, 2002).

Neste contexto, pesquisadores e indústrias vêm buscando alternativas para minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado de produtos fabricados a partir de polímeros de origem petroquímica. Dentre as alternativas estão: o reaproveitamento e a reciclagem dos polímeros e a substituição por biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes, que apresenta grande potencial de expansão devido sua viabilidade técnica e econômica, além de serem mais compatíveis com a filosofia de preservação ambiental (BRITO *et al.*, 2011; SQUIO & AREGÃO, 2004).

Desta forma, torna-se importante diferenciar e conceituar biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. Os biopolímeros correspondem aos polímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis pela ação de micro-organismos vivos (BRITO *et al.*, 2011). Já os plásticos biodegradáveis são polímeros nos quais a degradação resulta da ação de micro-organismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas, em curto espaço de tempo, sob condições apropriadas do meio ambiente. Os polímeros biodegradáveis podem ser agrupados como naturais ou sintéticos. Eles ser provenientes de fontes naturais renováveis; serem sintetizados por bactérias a partir de pequenas moléculas, como o ácido butírico ou o ácido valérico; serem obtidos de fontes fósseis; ou da mistura entre biomassa e petróleo (BRITO *et al.*, 2011; RAY & BOUSMINA, 2005; SQUIO & AREGÃO, 2004). E, o termo polímero verde é utilizado por vários autores para fazer referência aos polímeros que durante sua síntese, processamento ou degradação produzem menor impacto ambiental comparado aos polímeros convencionais. No entanto, outros autores atribuem esse termo aos polímeros que outrora eram sintetizados a partir de matéria-prima proveniente de fontes fósseis, mas que, devido a avanços tecnológicos passaram também a ser sintetizados a partir de matéria-prima proveniente de fontes renováveis, possuindo características equivalentes as dos polímeros convencionais. No entanto, a realidade é que os polímeros verdes não são necessariamente biodegradáveis, mas, pelo fato de serem provenientes de fontes renováveis, são classificados como biopolímeros (BRITO *et al.*, 2011).

Dentre os biopolímeros em desenvolvimento estão os poli(hidroxicanoatos) (PHAs). Além da vantagem em serem biodegradáveis, ainda apresentam outras características importantes como serem biocompatíveis e produzidos a partir de recursos renováveis como açúcares e ácidos graxos e possuem propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes às do polipropileno, polímero derivado do petróleo. Entre os PHAs mais estudados e produzidos industrialmente estão o poli(3-hidroxiбутirato) e o poli(3-hidroxiбутirato-co-3-hidroxiуalerato) (SUDESH *et al.*, 2000; MADILSON & HUISMAN, 1999).

## CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal a realização do levantamento bibliográfico sobre as propriedades, processos de produção e principais aplicações do biopolímero Poli(3-hidroxiбутирато) (PHB), um dos principais biopolímeros do grupo dos poli(hidroxiálcanoatos), juntamente com o monitoramento tecnológico de documentos de patentes encontrados nas bases eletrônicas *USPTO*, *Espacenet* e *Web of Knowledge*, com ênfase nos principais países depositantes, anos de depósito e áreas de aplicação.

## CAPÍTULO 3 – POLÍMEROS

Os polímeros têm um papel importantíssimo na sociedade moderna, estando presente em praticamente todos os setores da economia como medicina, agricultura, construção civil, embalagens e eletroeletrônicos (PRADELLA, 2006). Com a diversificação das áreas de aplicação, houve um aumento considerável na produção dos polímeros nos últimos tempos. Segundo Pradella, em 2006 a produção de polímeros era da ordem de 180 milhões t/ano.

O petróleo é considerado como uma das fontes principais de matéria-prima para obtenção dos polímeros sintéticos, mas a limitação crescente de sua disponibilidade à longo prazo, o avanço do preço do barril de petróleo, a instabilidade da situação geopolítica das regiões detentoras das grandes reservas mundiais; e a crescente preocupação da sociedade com a poluição ambiental, têm motivado pesquisas para o desenvolvimento de polímeros provenientes de recursos renováveis e na sua produção em larga escala (BORSCHIVER *et al.*, 2008; SILVA & GOMEZ, 2007).

### 3.1. Biopolímeros

Os biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, tais como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina, e outras, pela ação de micro-organismos. As fontes renováveis são assim conhecidas por possuírem um ciclo de vida mais curto comparado com fontes fósseis, como o petróleo que leva milhares de anos para formar-se (BRITO *et al.*, 2011).

Alguns fatores ambientais e socioeconômicos que estão relacionados ao crescente interesse pelos biopolímeros são: os grandes impactos ambientais causados pelos processos de extração e refino utilizados para produção dos polímeros provenientes do petróleo; e a escassez do petróleo e aumento do seu preço. Outro fator preponderante é a não biodegradabilidade da grande maioria dos polímeros produzidos a partir do petróleo, pois contribui para o acúmulo de lixo plástico sem destino apropriado que levará de dezenas a centenas de anos para ser novamente assimilado pela natureza (BRITO *et al.*, 2011).

O mercado dos biopolímeros, exceto a goma xantana, era da ordem de 60.000 toneladas em 2002 com preço de comercialização de US\$ 4/kg. Este mercado tem taxa de crescimento acima de 20% ao ano e custos de produção decrescente, antevendo um consumo em 2015 da ordem 1.000.000 t/ano (BORSCHIVER *et al.*, 2008).

Diversos são os biopolímeros citados na literatura, dentre eles estão o poli(ácido láctico) (PLA), o poli(hidroxicanoato) (PHA), os polímeros de amido (PA) e a goma xantana (GX) (BORSCHIEVER *et al.*, 2008). Alguns biopolímeros apresentam grande potencial para substituição, em determinadas aplicações, de polímeros provenientes de fontes fósseis. A Tabela 1 apresenta as possibilidades de substituição de alguns polímeros, provenientes de fontes fósseis, por biopolímeros. As siglas PHB e PHBHx referem-se ao poli(3-hidroxiбутirato) e poli(hidroxiбутirato-co-hidroxihexanoato), respectivamente (BRITO *et al.*, 2011).

**Tabela 1.** Potencial de substituição de alguns polímeros provenientes de fontes fósseis por biopolímeros

Polímero	PVC	PEAD	PEBD	PP	PS	PMMA	PA	PET	PC
Amido	-	+	+	+	+	-	-	-	-
PLA	-	+	-	+	+	-	+	+	-
PHB	-	+	-	++	+	-	-	-	-
PHBHx	+	++	++	++	+	-	-	+	-

++ substituição completa; + substituição parcial; - não substitui

Fonte: Adaptado de PRADELLA, 2006.

Por serem biodegradáveis, os biopolímeros são bem vistos por ambientalistas já que são oriundos de uma fonte de carbono renovável. Apesar dessa vantagem dos biopolímeros em relação os polímeros tradicionais, a biodegradação natural anaeróbica de muitos biopolímeros pode levar a metano, que é um dos gases causadores do efeito estufa, até mais intenso que o CO<sub>2</sub> e reabsorvido pelos processos naturais de modo mais lento. O CO<sub>2</sub> resultante da queima ou da biodegradação destes materiais é renovável e entra no balanço mássico de carbono no meio ambiente, contudo o metano e outros gases formados na degradação anaeróbia podem acumular-se mais facilmente. O ideal seria uma biodegradação aeróbica, onde só há formação de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (AMANTES *et al.*, 2009).



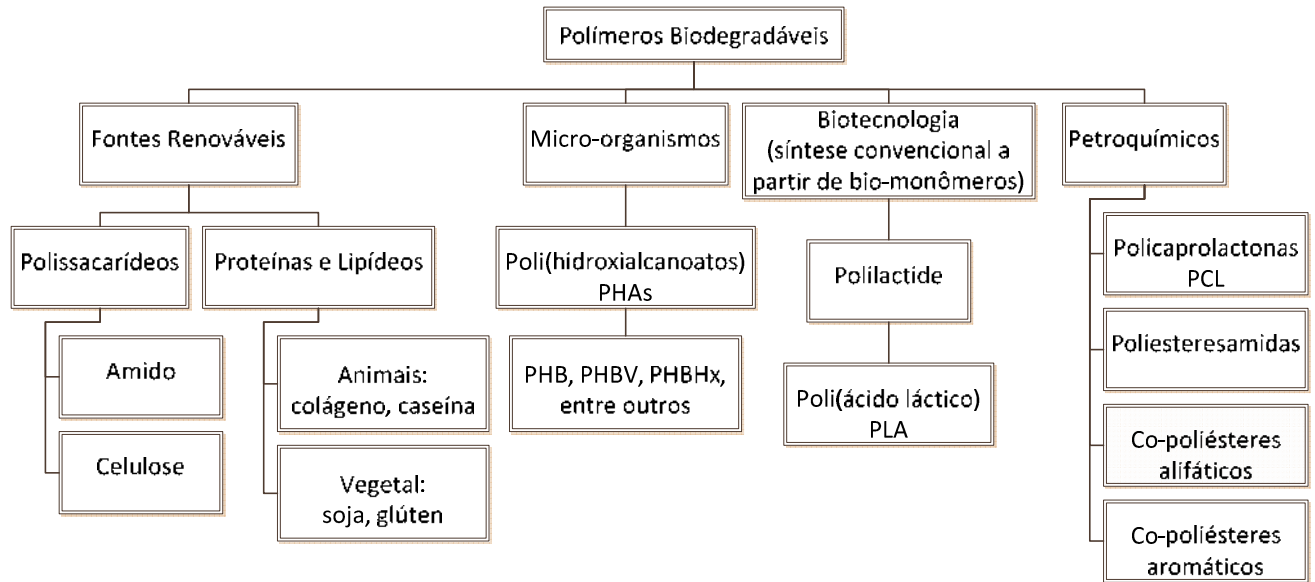
Apesar de todas as vantagens, os biopolímeros possuem algumas limitações técnicas que tornam difícil sua processabilidade e seu uso como produto final. Desta forma, muitos grupos de pesquisa vêm se dedicando ao estudo da modificação dos biopolímeros para viabilizar o processamento e sua utilização em diversas áreas (FECHINE, 2010). Blendas, compósitos e nanocompósitos têm sido estudados no intuito de melhorar determinadas propriedades, como processabilidade, resistência térmica, propriedades mecânicas, propriedades reológicas, permeabilidade a gases e taxa de degradação (BRITO *et al.*, 2011).

Em resumo, pode-se perceber que a utilização de biopolímeros apresenta vantagens e desvantagens. Dentre as vantagens estão: a biodegradabilidade; a biocompatibilidade; possibilidade de produção a partir de alguns efluentes industriais, principalmente alimentícias; ampla faixa de aplicações e propriedades; decrescente custo de produção com o atual interesse no setor ambiental e de novas tecnologias disponíveis; e aplicações específicas no setor de biomateriais e nanotecnologia que elevam muito seu valor comercial. As desvantagens estão relacionadas a algumas limitações em suas propriedades mecânicas; e ao fato da decomposição natural poder gerar metano, causando problemas ambientais quando liberados em quantidades excessivas. Além disso, alguns biopolímeros contêm plastificantes e aditivos que podem possuir algum efeito tóxico (AMANTES *et al.*, 2009).

### **3.2. Polímeros biodegradáveis**

Os polímeros biodegradáveis são polímeros nos quais a degradação resulta da ação de micro-organismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas (ASTM D833), podendo ser consumidos em semanas ou meses sob condições naturais favoráveis de biodegradação. Eles podem ser provenientes de fontes naturais renováveis, como milho, celulose, batata e cana-de-açúcar; ou serem sintetizados por bactérias a partir de pequenas moléculas, como o ácido butírico ou o ácido valérico, dando origem ao poli(3-hidroxiбутirato) (PHB) e ao poli(hidroxiбутirato-co-hidroxiуalerato) (PHBV), respectivamente; ou até mesmo serem derivados de fonte animal, como a quitina e proteínas (RAY & BOUSMINA, 2005). Outros polímeros biodegradáveis podem ser obtidos de fontes fósseis ou da mistura entre biomassa e petróleo. Os polímeros biodegradáveis provenientes do petróleo mais conhecidos são as policaprolactonas (PCL), as poliesteramidas, os copoliésteres alifáticos e os copoliésteres aromáticos (BRITO *et al.*, 2011).

A Figura 1 apresenta um diagrama de blocos classificando alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção (BRITO *et al.*, 2011).



**Figura 1.** Diagrama de blocos de alguns polímeros biodegradáveis de acordo com sua fonte de obtenção.

Fonte: Adaptado de BRITO *et al.*, 2011.

Dentre os polímeros biodegradáveis, os que têm atraído mais atenção são os obtidos a partir de fontes renováveis, devido ao menor impacto ambiental causado com relação a sua origem, o balanço positivo de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) após compostagem, e a possibilidade de formação de um ciclo de vida fechado (BRITO *et al.*, 2011).

Na Figura 2 encontra-se uma ilustração do ciclo de vida dos polímeros, tanto os provenientes de fontes petrolíferas quanto os produzidos através de fontes renováveis (DRUMMOND, 2004).

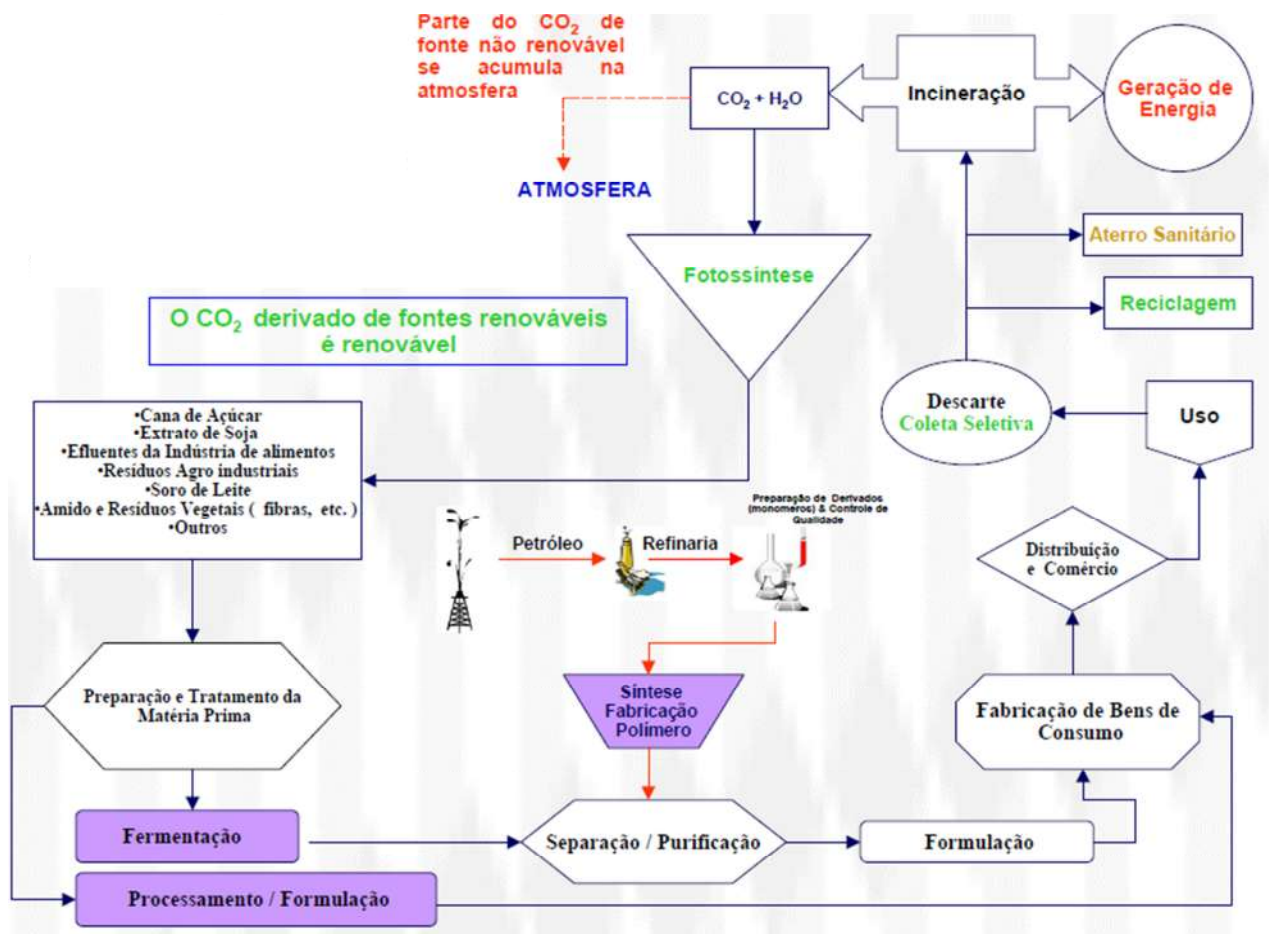


Figura 2. Ciclo de vida dos polímeros.

Fonte: DRUMMOND, 2004.

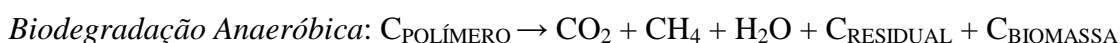
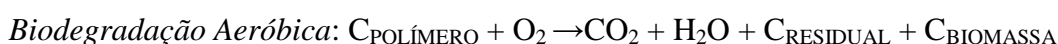
O termo biodegradável define todos os materiais capazes de sofrerem decomposição em dióxido de carbono, água, metano, compostos inorgânicos ou biomassa, sendo a ação enzimática de micro-organismos o mecanismo predominante de decomposição e necessário levar em consideração o meio onde ocorrem as reações para que a biodegradação aconteça. Desta forma, a biodegradação pode ser definida como a degradação de um material orgânico em componentes mais simples, causada por atividade biológica, principalmente pela ação enzimática de micro-organismos em meio adequado (BRITO *et al.*, 2011; LIMA & OKIMOTO, 2009).

Neste meio devem ser considerados todos os parâmetros físicos (como temperatura e pressão), a composição química da água, do ar e do solo, além dos parâmetros biológicos (ação dos animais, vegetais e micro-organismos) que se mostram interdependentes. A

degradação também pode resultar da ação de parâmetros unicamente físicos, ou ainda apenas de uma reação química (LIMA & OKIMOTO, 2009).

Assim, a biodegradação dos polímeros é um processo no qual o mesmo é usado como nutriente por um determinado conjunto de micro-organismos (como bactérias e fungos), os quais devem possuir enzimas adequadas para romper algumas das ligações químicas da cadeia principal do polímero, sendo necessárias condições favoráveis de temperatura, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio para a atuação dos micro-organismos (BASTIOLI, 2005; DE PAOLI, 2008). Estes micro-organismos consomem substâncias destes polímeros como fonte de alimento, modificando a forma original do material até seu desaparecimento.

A biodegradação pode ocorrer tanto na presença como na ausência de oxigênio, sendo denominadas biodegradação aeróbica e anaeróbica, respectivamente. Segundo Brito *et al.* (2011), os processos podem ser representados pelas reações:



Vários métodos para avaliar a biodegradação têm sido descritos na literatura. Geralmente eles se baseiam em monitorar o crescimento de micro-organismos, o consumo do substrato (polímero), a liberação de CO<sub>2</sub> e mudanças nas propriedades do polímero (BASTIOLI, 2005).

É importante reconhecer os falsos biodegradáveis. Eles são parcialmente degradáveis ou fragmentáveis e não apresentam, a não ser em raras exceções, função outra que não seja a exploração publicitária “pseudo-ecológica” (LIMA & OKIMOTO, 2009).

Descobertos há cerca de 10 anos, os plásticos biodegradáveis, ainda têm uma participação mínima no mercado internacional, mas, nos últimos anos, tem havido um interesse crescente em relação aos polímeros biodegradáveis, principalmente quando se considera o desenvolvimento de novos produtos que provoquem menor impacto ambiental. No entanto, devido o seu alto custo quando comparados com polímeros convencionais, para a maioria das empresas, a utilização de tais polímeros ainda é inviável. Como exemplo, pode-se citar o polietileno de baixa densidade (PEBD), utilizado em muitos produtos do nosso cotidiano como em embalagens, entre outros artefatos, cujo custo de produção médio é da

ordem de 0,9 a 1 US\$/Kg, ao passo que os polímeros biodegradáveis apresentam um custo médio de produção na faixa de 5 a 8 US\$/Kg. (ROSA *et al.*, 2001). Com base nisto, diversos estudos vem sendo realizados visando a solução para a questão do alto custo dos materiais biodegradáveis.

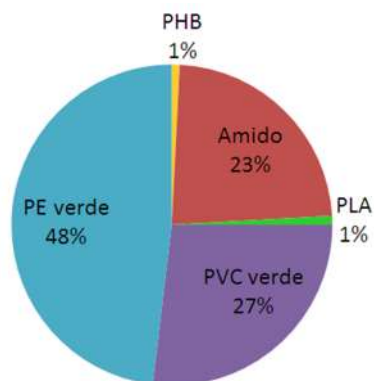
Em meados da década de 90, iniciou-se no Brasil o desenvolvimento de uma tecnologia para produção de plásticos biodegradáveis empregando como matéria-prima derivados da cana-de-açúcar, a partir de um projeto cooperativo desenvolvido pelo IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas) de São Paulo, Copersucar e Universidade de São Paulo. Desta parceria, iniciou-se um estudo, com os polímeros da família dos poli(hidroxialcanoatos) (PHAs), que podem ser produzidos por bactérias em biorreatores a partir de açúcares. Tais polímeros possuem propriedades semelhantes às dos plásticos petroquímicos, com a vantagem de poderem ser biodegradados por micro-organismos presentes no meio ambiente, em curto espaço de tempo, após o descarte. O principal representante dos PHAs é o poli(3-hidroxiбутирато) (PHB), semelhante ao polímero sintético, polipropileno (PP), em propriedades físicas e mecânicas (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006).

### **3.3. Mercado brasileiro dos biopolímeros e dos polímeros biodegradáveis**

O mercado dos biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes é ainda incipiente no Brasil, no entanto uma produção em larga escala no país é esperada. Os elementos competitivos para o desenvolvimento do mercado desses polímeros estão fortemente ligados à demanda do produto, pesquisa e desenvolvimento, produção competitiva, infraestrutura local, incentivos governamentais e legislação. Segundo Brito *et al.* (2011), algumas dificuldades a serem superadas são o nível de consciência de utilização destes polímeros, que no Brasil é ainda muito baixo, e o seu custo e desempenho comparado aos polímeros convencionais.

O mercado brasileiro atual dos biopolímeros e dos polímeros biodegradáveis são representados pelos fornecedores: Cargill (PLA); Biomater (amido); PHB Industrial (PHB, PHBV); Basf (Ecoflex<sup>®</sup>, blenda de Ecoflex<sup>®</sup>/Amido – Ecobras<sup>®</sup> e blenda de Ecoflex<sup>®</sup>/PLA – Ecovio<sup>®</sup>); Corn Products (amido e Ecobras<sup>®</sup>); e, Perstorp (PCL). O Brasil é líder mundial na produção de cana-de-açúcar, possuindo o menor custo de produção dessa matéria-prima,

favorecendo o país na produção de polímeros verdes à base de etanol (BRITO *et al.*, 2011). A Figura 3 ilustra uma estimativa para o ano de 2015 do mercado dos biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes no Brasil.



**Figura 3.** Estimativa do mercado de biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes para o ano de 2015 no Brasil.  
Fonte: BRITO *et al.*, 2011.

Em 2009, segundo Lancellotti (2010), as principais aplicações dos biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes no Brasil eram nos segmentos de embalagens de alimentos (20% para embalagens rígidas e 23% para flexíveis), sacolas (14%), filmes para produtos agrícolas (31%) e bens de consumo (12%).

Espera-se que os plásticos petroquímicos e os bioplásticos coexistirão no mercado, porém, a curto e médio prazo, os biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes não são considerados uma ameaça para aos petroquímicos, pelo fato do volume corresponder a menos de 5% da demanda total de plásticos. No entanto, se por um outro lado, essas três classes de polímeros estão focados em produtos diferenciados, onde a biodegradabilidade e a compostabilidade agregam um valor adicional; por outro lado, os polímeros convencionais focam em aplicações onde baixo preço é requerido ou quando melhor desempenho técnico (propriedades mecânicas e térmicas) é crucial (BRITO *et al.*, 2011).

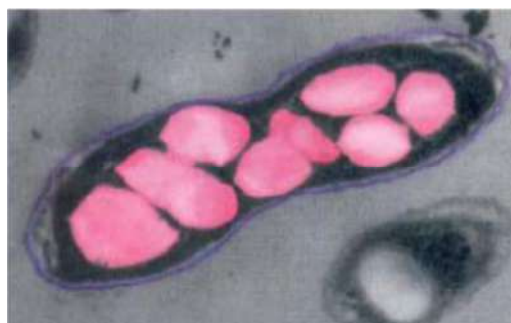
Segundo Lancellotti (2010), espera-se que os preços dessas três classes de polímeros reduzam de 20 a 25% nos próximos cinco anos, enquanto que, o preço dos polímeros provenientes do petróleo aumente, seguindo o aumento da demanda mundial e consequente aumento do preço do petróleo.

# CAPÍTULO 4 – POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)

## 4.1. Poli(hidroxicanoato)

Dentre os biopolímeros em crescente desenvolvimento estão os poli(hidroxicanoatos) (PHAs), que são poliésteres estruturalmente simples, sintetizados por micro-organismos como substâncias naturais de reserva de carbono e energia (SQUIO & ARAGÃO, 2004). Os PHAs vêm despertando grande interesse, pois são termoplásticos, biodegradáveis e biocompatíveis e podem ser sintetizados a partir de matérias-primas renováveis. Além disso, suas propriedades permitem que sejam utilizados como substitutos dos plásticos convencionais, de origem petroquímica, em algumas aplicações (SILVA & GOMEZ, 2007).

Uma ampla variedade de micro-organismos acumula PHA em condições de excesso da fonte de carbono e da limitação de pelo menos um nutriente necessário ao crescimento e à multiplicação das células, tais como nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio e ferro. As fontes de carbono assimiladas são transformadas em unidades de hidroxicanoatos, polimerizadas e armazenadas na forma de inclusões insolúveis em água no citoplasma da célula (Figura 4), sendo que estes grânulos podem chegar até 90% em peso seco da biomassa bacteriana (SQUIO & ARAGÃO, 2004; BASTIOLI, 2005; FINKLER, 2006).

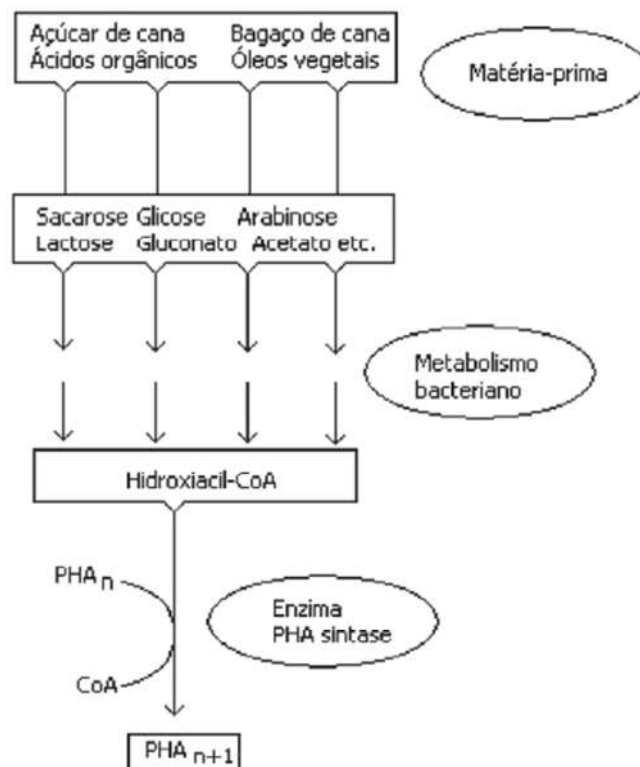


**Figura 4.** Micrografia evidenciando os grânulos intracelulares do PHB.

Fonte: DRUMMOND, 2004.

A produção de PHA depende da natureza química da matéria-prima oferecida como fonte de carbono à bactéria, bem como das vias metabólicas que esta possui. A capacidade de realizar este processo de polimerização é dependente da presença de uma enzima conhecida como PHA sintase. Em diversas etapas do metabolismo, a partir da fonte de carbono, a bactéria pode gerar intermediários na forma de hidroxiacil-CoA, os quais serão reconhecidos

e polimerizados pela enzima PHA sintase, presente nas bactérias capazes de acumular estes materiais (Figura 5). O produto da PHA sintase é um poliéster cristalino de alta massa molar, que é mantido intrigantemente em estado amorfo *in vivo*, no entanto, após isolamento, ele é um termoplástico cristalino com propriedades comparáveis as do polipropileno (BASTIOLI, 2005; FINKLER, 2006; SILVA & GOMEZ, 2007).



**Figura 5.** Fatores que influenciam na síntese de PHA por bactérias.  
Fonte: SILVA & GOMEZ, 2007.

Assim, o termo poli(hidroxiacanoato) é dado aos poliésteres produzidos por bactérias através de biossíntese direta a partir de várias fontes de carbono renováveis, tais como: açúcar da cana, um dos insumos nacionais mais significativos e tradicionais; material amiláceo e óleos vegetais (extraídos principalmente de soja e palma); ou até mesmo efluentes da indústria de alimentos (DRUMMOND, 2004; PRADELLA, 2006). Além disso, o PHA é completamente biodegradável em ambientes microbiologicamente ativos (AMANTES *et al.*, 2009).

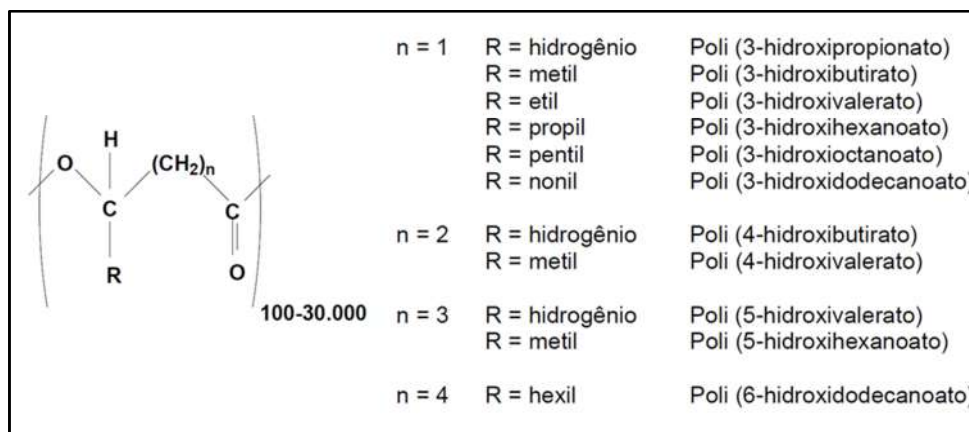
O uso do PHA possui várias vantagens, tais como rápida biodegradabilidade em ambiente natural, redução do impacto ambiental, substituição a plásticos convencionais, uso de novos materiais em campos como o da medicina, são biocompatíveis e produzidos a partir



de recursos renováveis. Além disso, possuem propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes às de polímeros convencionais, tais como alta resistência à pressão, alta resistência ao alongamento antes da ruptura e forte resistência ao impacto, podendo ser laminados, injetados e moldados com facilidade. Em contrapartida há a desvantagem de que a produção envolve altos custos (MADISON & HUISMAN, 1999; SUDESH *et al.*, 2000; AMANTES *et al.*, 2009).

Dependendo do substrato de carbono e do metabolismo do micro-organismo, diferentes polímeros e copolímeros podem ser obtidos. Suas propriedades e degradabilidade oferecem potencial para substituição de polímeros não degradáveis, além disso, seus grupos funcionais provêm oportunidades para modificações adicionais (CHEN & WANG, 2005). Sendo assim, a composição de PHA e sua massa molar dependem da natureza química da matéria-prima oferecida como fonte de carbono, das condições ambientais de operação do biorreator e do tipo da bactéria empregada. Logo, as características do polímero podem ser racionalmente moduladas no bioprocessamento (DRUMMOND, 2004).

A Figura 6 ilustra a estrutura molecular geral dos PHAs, com  $n = 1, 2, 3$  e  $4$ , sendo mais comum  $n=1$ , R variável e o grau de polimerização variando de 100 a milhares de unidades (LEE, 1999). Na estrutura geral apresentada, quando  $n = 1$  e  $R = CH_3$ , tem-se a estrutura do Poli(3-hidroxiбутирато) (PHB). O PHB é o principal polímero da família dos PHAs, porém outros poliésteres existem como, poli(hidroxiбутирато-co-hidroxiуалерато) (PHBV), poli(hidroxiбутирато-co-hidroxiгексаноато) (PHBHx), poli(hidroxiбутирато-co-hidroxiоктаноато) (PHBO) e o poli (hidroxiбутирато-co-hidroxiоктадеcanoato) (PHBod) (BRITO *et al.*, 2011).



**Figura 6.** Estrutura molecular geral dos poli(hidroxiálcanoatos).

Fonte: LEE, 1999.

Há muitos micro-organismos capazes de produzir PHAs. A Tabela 2 apresenta dados a respeito da capacidade de algumas bactérias para acumular poli(hidroxialcanoato). Bactérias da espécie *Ralstonia eutropha*, anteriormente denominada *Alcaligenes eutrophus*, têm sido muito utilizadas na produção industrial por apresentar altas taxas de produção de polímero e proporcionar altos rendimentos (TELLES *et al.*, 2011).

**Tabela 2.** Capacidade de alguns micro-organismos para acumular poli(hidroxialcanoato)

Micro-organismo	% de acúmulo
<i>R.eutropha</i>	96
<i>Azospirillum</i>	75
<i>Azotobacter</i>	73
<i>Baggiatoa</i>	57
<i>Leptothrix</i>	67
<i>Methylocystis</i>	70
<i>Pseudomonas</i>	67
<i>Rhizobium</i>	57
<i>Rhodobacter</i>	80

Fonte: TELLES *et al.*, 2011.

Os PHAs possuem um amplo campo de aplicações, no entanto, duas áreas são destacadas: embalagens e aplicações médicas, uma vez que são biocompatíveis. A principal desvantagem do PHA na sua utilização como commodity biodegradável é seu custo de produção elevado comparado aos polímeros provenientes do petróleo. Mesmo assim, seu mercado potencial inclui embalagens, itens de uso descartáveis, como aparelhos de barbear e fraldas; utilidades domésticas, eletrodomésticos, eletroeletrônicos, bolsas, filmes, recipientes, adesivos, tintas, vernizes e revestimentos. Na agricultura, os PHAs estão sendo usados em produtos de liberação controlada de reguladores de fertilizantes, pesticidas e herbicidas (DRUMMOND, 2004; SQUIO & ARAGÃO, 2004; BRITO *et al.*, 2011).

Embora muitas possibilidades venham sendo exploradas para baixar seu custo de produção, o PHA ainda não está em condições econômicas de concorrer com plásticos convencionais, tais como polipropileno e poliestireno. O sucesso de plantas geneticamente modificadas que produzem grandes quantidades de PHA podem eventualmente tornar esse preço comparável com o dos plásticos convencionais. Por outro lado, o uso do PHA no campo da medicina não é prejudicado pelo custo de produção por ser considerada uma aplicação de ponta, gerando produtos com valor agregado mais elevado. A produção deste material apresenta alto custo devido a necessidade das etapas de rompimento celular e purificação do

biopolímero. Os PHAs, por serem biocompatíveis, são empregados na fabricação de fios de sutura e pinos, próteses ósseas, suportes de culturas de tecidos para implantes (suportes porosos para o cultivo de condrócitos – células ósseas), encapsulação de fármacos para liberação controlada e são ainda polímeros com potencial para aplicações terapêuticas. Além disso, o PHA também é aplicado na indústria de cosméticos, tanto na embalagem quanto no produto (SQUIO & ARAGÃO, 2004; BASTIOLI, 2005; CHEN & WANG, 2005; BRITO *et al.*, 2011).

A aplicação de PHA como matriz para liberação controlada de medicamentos baseia-se no fato de que o medicamento, uma vez encapsulado em uma matriz de PHA, pode ser liberado no organismo em uma concentração ideal somente no local onde é desejado durante um determinado período de tratamento. O medicamento encapsulado será liberado somente na presença de um ambiente favorável, se não encontrar este ambiente será eliminado do organismo naturalmente. Isto evita intensos efeitos colaterais e utilização de doses menores com maior eficiência (DRUMMOND, 2004).

Apesar desta grande possibilidade de aplicações, os plásticos biodegradáveis ainda têm participação mínima no mercado internacional, em virtude de seu alto custo em relação aos plásticos petroquímicos e às dificuldades de processamento. A redução dos custos de produção depende da obtenção de linhagens altamente eficientes na conversão dos substratos no produto desejado, da utilização de substratos de baixo custo, do desenvolvimento de processos que permitam explorar ao máximo o potencial dessas linhagens e do desenvolvimento de processos de extração e purificação, de forma a tornar os custos de recuperação do produto os menores possíveis (SQUIO & ARAGÃO, 2004)

A Tabela 3 mostra algumas empresas produtoras de PHAs, bem como seus nomes comerciais.

**Tabela 3.** Empresas produtoras de PHAs

Nome Comercial	Fornecedor	Origem
Biopol	Monsanto-Metabolix	EUA
Mirel	Metabolix/ADM	EUA
Biocycle	PHB Industrial S/A	Brasil
Enmat	Tianan	China
Biomer L	Biomer	Alemanha
Nodax	Procter & Gamble	EUA

Fonte: AVÉROUS, 2008; BORDES, 2009.

Mais de 100 monômeros diferentes já foram identificados como constituintes de PHAs sintetizados por organismos naturais ou recombinantes, o que demonstra a grande diversidade de PHAs que podem ser produzidos (SQUIO & ARAGÃO, 2004). Um número cada vez maior de espécimes de bactérias que têm mostrado habilidades incomuns de sintetizar vários PHAs tem sido isolado. Algumas espécies têm produtividade mais elevada e podem produzir estruturas não convencionais de PHA a partir de substratos simples como glicose e sacarose. Ao utilizar precursores não convencionais, com grupos funcionais específicos, pode-se produzir PHA contendo estes grupos funcionais o qual apresenta propriedades desejáveis como piezeletricidade reforçada, atividade óptica não-linear, biodegradabilidade e biocompatibilidade, proporcionando ao PHA potencial para concorrer com polímeros funcionais sintetizados quimicamente (CHEN & WANG, 2005).

O PHA pode ser produzido a partir de fontes renováveis, usando micro-organismos selvagens e recombinantes, plantas transgênicas, e por processo *in vitro*. Nenhuma dessas opções é predominante sobre as demais, pois cada uma tem seus pontos fortes. As características do PHA produzido por estes sistemas serão diferentes. Por exemplo, pode não ser possível produzir com eficiência PHA possuindo grupos funcionais especiais a partir de plantas transgênicas. Por outro lado, a pureza do PHA produzido por sistemas *in vitro* é de importância para aplicações médicas (BASTIOLI, 2005).

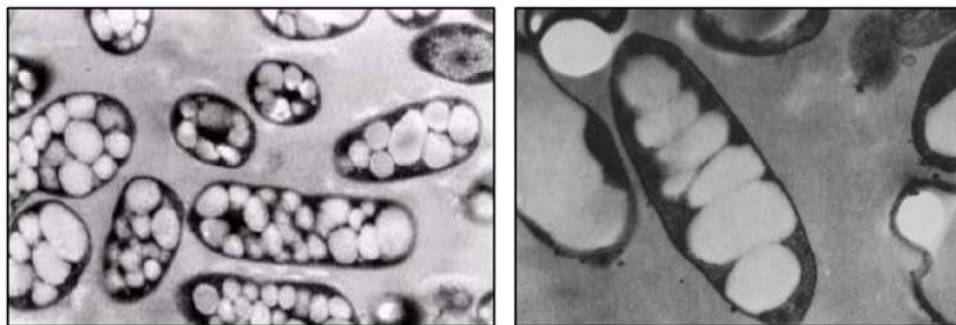
A degradação dos PHAs se dá pela ação de enzimas excretadas naturalmente por certo número de fungos e bactérias no meio ambiente (solo, água fresca, lodo, água do mar, composto, ar). Durante a degradação, oligômeros e monômeros do PHA são produzidos e estes são assimilados pelos micro-organismos como nutrientes. Além dos fatores ambientais, a microestrutura e propriedades do PHA podem afetar significativamente a taxa de degradação. Isto inclui fatores como composição, cristalinidade, aditivos e área superficial (DRUMMOND, 2004; BASTIOLI, 2005).

O principal polímero e o primeiro a ser estudado da família dos PHA foi o homopolímero poli(3-hidroxi-butirato), o (PHB). A partir de um projeto conjunto entre um instituto de pesquisa, a universidade e o setor privado, em 1991, houve um estímulo ao estudo da produção de diversos plásticos biodegradáveis no país, com enfoques diversificados. Um grande esforço foi realizado e resultou no desenvolvimento de processo de produção de PHB e PHBV a partir de sacarose como fonte de carbono principal, que foi transferido para a

empresa PHB Industrial S/A. Dentro deste quadro, nos últimos anos houve um esforço, no Brasil, realizado por diversos grupos de pesquisa para viabilizar a produção de PHA (SILVA & GOMEZ, 2007).

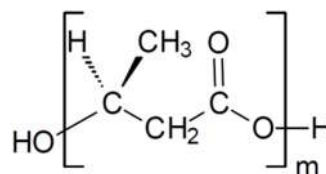
#### 4.2. Propriedades e aplicações do PHB

O Poli(3-hidroxi-bu-tirato) (PHB) é um polímero totalmente biodegradável, pertencente a classe dos polímeros termoplásticos chamados poli(hidroxi-alcanoatos). Alguns micro-organismos, como as bactérias da espécie *Ralstonia eutropha*, alimentam-se de açúcar e os transformam em grânulos intracelulares que são, na verdade, poliésteres (Figura 7). (COUTINHO *et al.*, 2004). Para as bactérias, esses grânulos servem como reserva para obtenção de carbono e fonte de energia para o caso de ausência de um dos dois. O PHB é um material que em aterros sanitários chega a atingir 50% de degradação em 280 dias, transformando-se em gás carbônico e água, sem liberação de resíduos tóxicos (ROSA *et al.*, 2002). Sua estrutura molecular está demonstrada na Figura 8.



**Figura 7.** Microfotografias evidenciando os grânulos de PHB intracelular.

Fonte: DRUMMOND, 2004; SILVA & GOMEZ, 2007.



**Figura 8.** Estrutura do poli(3-hidroxi-bu-tirato).

Fonte: TADA, 2009.

O PHB apresenta algumas propriedades mecânicas similares às do polipropileno (Tabela 4), tais como elevada cristalinidade, resistência à mistura, resistência à água, pureza óptica, boa estabilidade a radiação ultravioleta, barreira à permeabilidade de gases, biocompatibilidade, alta regularidade da cadeia carbônica e elevada massa molecular, embora tenha duas características que o limitam a certas aplicações, que são a sua característica quebradiça e a reduzida faixa de condições de processamento. Outras propriedades do PHB são interessantes, como a já citada biodegradabilidade, a biocompatibilidade e a possibilidade de ser produzido a partir de fontes renováveis ou mesmo de subprodutos e efluentes industriais. (RODRIGUES, 2005). Baseado na massa molar do PHB, ele pode ser classificado em três grupos distintos, de baixo, alto e elevado peso molecular (BRITO *et al.*, 2011).

**Tabela 4.** Comparação entre as propriedades do Polipropileno e Poli(3-hidroxibutirato)

Propriedades	PP	PHB
Ponto de Fusão (°C)	176	178
Cristalinidade (%)	70	80
Transição Vítreia - Tg (°C)	-10	5 – 10
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,905	1,25
Tensão de Ruptura (Mpa)	38	40
Deformação de Ruptura (%)	400	6

Fonte: JUNIOR, 2008.

O PHB pode ser usado na fabricação de embalagens para produtos de limpeza, higiene, cosméticos e produtos farmacêuticos. Também serve para produzir sacos e vasilhames para fertilizantes e defensivos agrícolas, vasos para mudas e produtos injetáveis. Além disso, por ser biocompatível e facilmente absorvido pelo organismo humano, pode ser empregado na área médico-farmacêutica, prestando-se à fabricação de fios de sutura, próteses ósseas e cápsulas que liberam gradualmente medicamentos na corrente sanguínea, entre outras aplicações. O PHB pode ser usado na produção de artefatos mais flexíveis, como, por exemplo, frascos de xampu ou materiais que necessitam do processo de extrusão por sopro, como é o caso dos sacos plásticos. (BOHMERT *et al.*, 2002; COUTINHO *et al.*, 2004; SUZUKI, 2010; COUTINHO *et al.*, 2004; TELLES *et al.*, 2011). Alguns exemplos de aplicações do PHB estão ilustrados na Figura 9 a Figura 16.



**Figura 9.** Recipientes Potes produzidos com PHB, com pigmentação (branco) e sem pigmentação (âmbar).

Fonte: DRUMMOND, 2004.



**Figura 10.** Embalagens de cosméticos produzidas a partir de PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 11.** Tampas de embalagens produzidas a partir de PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 12.** Fibras produzidas a partir de PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 13.** Chapas para termoformagem produzidas a partir de PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 14.** Cartões produzidos a partir de PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.





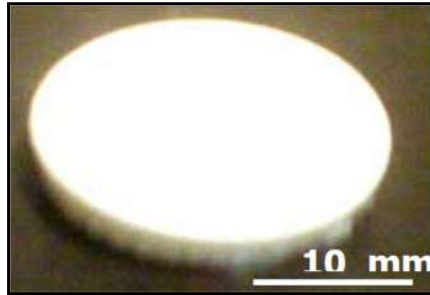
**Figura 15.** Amostras de recipientes produzidos com PHB.  
Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 16.** Tubetes para reflorestamento produzidos a partir de PHB.  
Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 17.** Prótese óssea de PHB  
Fonte: SILVA, 2009.



**Figura 18.** Suporte poroso de PHB.

Fonte: MENDONÇA, 2008.

Em 1992, a Cooperativa de Produtores de cana-de-açúcar e álcool do estado de São Paulo (COPERSUCAR – SP) estabeleceu um projeto de cooperação técnica com o Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo (IPT – SP) e o Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da USP a fim de desenvolver pesquisas para a produção de PHB. Em 1993, a COPERSUCAR começou a construir uma unidade piloto para a produção de PHB que entrou em funcionamento em 1995, por meio de tecnologia desenvolvida em uma planta piloto na Usina de Pedra, localizada em Serrana – SP (Figura 19 e Figura 20) (DRUMMOND, 2004). Nesta fase foram feitos os primeiros testes para a produção do plástico biodegradável PHB e o seu copolímero poli(hidroxibutirato-co-hidroxoalderato) (PHBV). A capacidade nominal da planta era da ordem de 5 t/ano, sendo que o importante era testar com equipamentos industriais e a rota de produção desenvolvida laboratorialmente. Em 2000, com a criação da empresa PHB Industrial S/A, a planta piloto foi remodelada e adequada, operando capacidade de 50 a 60 toneladas por ano (ORTEGA FILHO, 2003).



**Figura 19.** Foto da Planta Piloto de PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.



**Figura 20.** Foto da Usina da Pedra em Serrana, SP.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.

Atualmente, o PHB é comercialmente conhecido no Brasil como BIOCYCLE<sup>®</sup> (Figura 21) e continua sendo fabricado pela Usina da Pedra (usina sucroalcooleira), com a parceria do Instituto de Pesquisas Tecnológicas, da COPERSUCAR e da Universidade de São Paulo. Nessa planta piloto, o PHB é produzido pela bactéria *Ralstonia eutropha*, geneticamente modificada para o consumo de sacarose. As linhagens não modificadas de *Ralstonia eutropha* são capazes de metabolizar apenas açúcar invertido e não sacarose. O foco da PHB Industrial no Brasil está mais voltado para a produção de *commodities*, como embalagens descartáveis (AZEVEDO, 2011).



**Figura 21.** Polímero PHB.

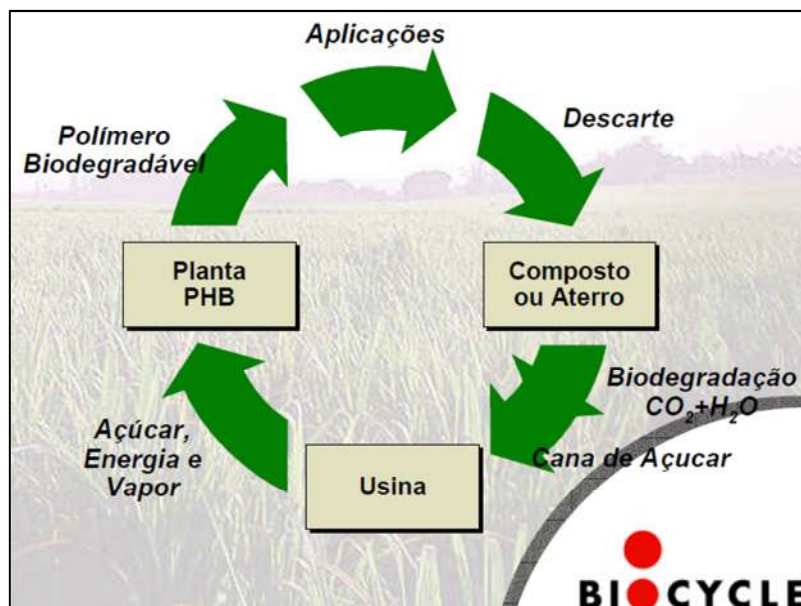
Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.

A produção nacional desse polímero tem duas grandes vantagens competitivas: a abundância de uma fonte barata de carbono – o açúcar de cana – e a existência de grande biodiversidade – há um número enorme de possibilidades de bactérias a serem pesquisadas.

No exterior, como a matéria-prima é mais cara e não há grande diversidade de micro-organismos, as pesquisas têm se direcionado às especialidades, em particular na área médica, para contornar a questão de preço da matéria-prima. No entanto, o custo da produção do PHB ainda é muito elevado devido à complexidade do processo produtivo, que ocorre em várias etapas (AZEVEDO, 2011).

Segundo Molinari (2006), foram investidos R\$ 30 milhões na planta piloto da PHB Industrial para produção de 60 toneladas por ano, trabalhando 24 horas por dia e tendo 18 funcionários. Praticamente toda a produção inicial era exportada para empresas nos Estados Unidos, Japão e Alemanha — com as quais há contratos de sigilo firmados que impedem a identificação. Jefer Fernandes do Nascimento — engenheiro de materiais que coordena o projeto de pesquisa e desenvolvimento para melhoria do processo de obtenção do PHB — afirma que uma nova planta industrial vai permitir colocar no mercado 10 mil toneladas de PHB por ano e que a partir desta escala de produção será possível começar a ter retorno do investimento e a mudar o perfil do mercado (MOLINARI, 2006).

A produção de PHB é considerada, pela empresa produtora, como uma “Tecnologia Limpa e Fonte Renovável”, uma vez que o PHB é obtido a partir da cana-de-açúcar através de um conceito completamente renovável e sustentável. Segundo ela, a produção de PHB consome somente 10% da energia não renovável utilizada no processo de produção do PP. As fontes de energia renováveis utilizadas no processo de produção do PHB incluem a cana-de-açúcar, o açúcar, o solvente e todas as utilidades. Além disso, durante quase todo processo de produção (Ciclo de Vida – Produção, Uso, Descarte) o PHB utiliza somente fontes de energia renováveis (Figura 22) (ORTEGA FILHO, 2009).



**Figura 22.** Conceito Renovável do PHB.

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.

Como resultados em investimentos e estudos tecnológicos, a empresa PHB Industrial produziu, em escala pré-comercial, diversos produtos baseados no PHB, como demonstra a Tabela 5. Tais produtos foram obtidos através de esforços conjuntos com os potenciais clientes da empresa PHB Industrial, a saber, empresas automobilísticas, indústrias de papel e celulose, de embalagens, entre outras (ORTEGA FILHO, 2009).

**Tabela 5.** Produtos baseados no PHB, substituindo os polímeros convencionais

Substituição do Polímero Tradicional	Processos	Produtos
Polipropileno	Extrusão Termoformagem Injeção	Tubetes Peças automotivas Peças para crescimento monitorado Brinquedos Embalagens
Poliestireno	Termoformagem	Bandejas para plantas Talheres descartáveis
Poliuretano	Injeção Extrusão	Elastômeros e Espumas: Isolantes (construção) Calçados Peças Automotivas
ABS	Extrusão Termoformagem	Cartões (Crédito, Comercial, Telefônico, etc)

Fonte: ORTEGA FILHO, 2009.

Atualmente, existem diversas empresas produtoras de PHB no mundo, como demonstrado na Tabela 6.

**Tabela 6.** Empresas produtoras de PHB no mundo

Nome comercial	Empresa	Origem	Capacidade de produção (t/ano)
Biopol	Monsanto-Metabolix	EUA	1.100
Mirel	Metabolix/ADM	EUA	120
Enmat	Tianan	China	n.i.
Biocycle	Copersucar	Brasil	60
Biomer L	Biomer	Alemanha	n.i.
Nodax	Procter & Gamble	EUA	n.i.
Biogreen	Mitsubishi	Japão	piloto

Fontes: DRUMMOND, 2004; PRADELLA, 2006; BOMTEMPO & OROSKI, 2013.

### 4.3. Síntese do PHB

O PHB pode ser obtido por três vias: a polimerização por abertura de anel da  $\beta$ -butirolactona racêmica ou quiral (via sintética); a fermentação de fontes renováveis e não renováveis por micro-organismos; a produção por plantas geneticamente modificadas (TADA, 2009). No entanto, o meio de obtenção do PHB mais utilizado para fins industriais e em pesquisas é a síntese por micro-organismos.

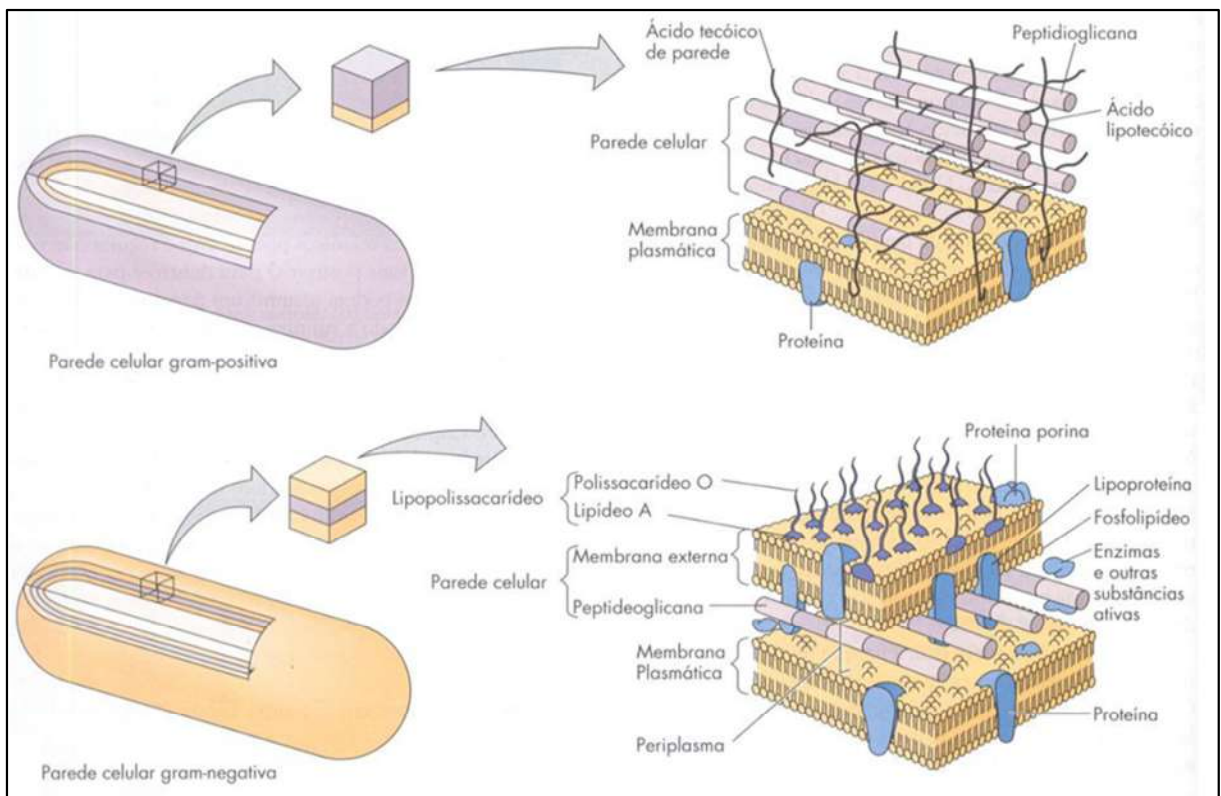
#### 4.3.1. Micro-organismos produtores do PHB

Atualmente existem pelo menos 75 gêneros diferentes de micro-organismos produtores de poli(3-hidroxibutiratos) (MADISON & HUISMAN, 1999; REDDY, 2003). Os micro-organismos capazes de acumular PHB são normalmente bactérias do tipo Gram-positivas e Gram-negativas e, estas são encontradas no solo, no mar e em efluentes (CARMINATTI *et al.*, 2006).

As bactérias Gram-positivas e Gram-negativas diferenciam-se pelas características estruturas da parede celular. Na maioria das bactérias Gram-positivas, a parede celular consiste em muitas camadas de peptidoglicana, formando uma estrutura rígida e espessa (Figura 23). A peptidoglicana, também chamada de mureína, consiste em um dissacarídeo repetitivo ligado por peptídeos para formar uma rede que circunda e protege toda a célula. Além disso, as paredes celulares das bactérias Gram-positivas contêm ácidos teicóicos, que



consistem principalmente de um álcool (como o glicerol ou ribitol) e fosfato. Já as paredes celulares das bactérias Gram-negativas consistem em uma ou poucas camadas de peptidoglicana e uma membrana externa. A peptidoglicana está ligada a lipoproteínas na membrana externa e está no periplasma, um fluido semelhante a um gel, entre a membrana externa e a membrana plasmática. A membrana externa da célula Gram-negativa consiste em lipopolissacarídeos (LPS), lipoproteínas e fosfolipídeos. O lipopolissacarídeo (LPS) da membrana externa é uma molécula grande e complexa que contém lipídeos e carboidratos, consistindo de três componentes: lipídeo A, um cerne polissacarídeo e um polissacarídeo O. O lipídeo A é a porção lipídica do LPS localizado na parte superior da membrana externa. Quando as bactérias morrem, o lipídeo A é liberado, funcionando como uma endotoxina, sendo responsável pelos sinais clínicos como febre, dilatação venosa, formação de coágulos e choque. O cerne polissacarídico fornece estabilidade estrutural e o polissacarídeo O funciona como um antígeno, sendo útil para diferenciar espécies de bactérias Gram-negativas. (STAINKI, 2010)



**Figura 23.** Estrutura da parede celular de Gram-positivos e Gram-negativos.  
 Fonte: COELHO & LEITE, 2011.

Os custos para a produção do polímero estão diretamente relacionados ao tipo de micro-organismo e aos substratos empregados. É desejável que as cepas produtoras tenham velocidade específica de crescimento e de produção de PHA elevadas, bem como devem ser capazes de utilizar com bom rendimento substratos de baixo custo ou efluentes, tais como os de indústrias de alimentos. O fator de conversão substrato/PHA deve ser elevado e a relação entre a massa de PHA acumulado e a massa total de biomassa seca deve ser a maior possível (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006).

Normalmente a produção de PHB em escala industrial utiliza bactérias Gram negativas, tais como *Cupriavidus necator*, *Alcaligenes latus* e *Escherichia coli recombinante*, por apresentarem um rendimento muito bom e fácil crescimento com utilização de substratos de baixo custo. Porém, o PHB produzido por bactérias Gram-negativas envolve custos adicionais nas etapas de purificação, porque os seus grânulos de biopolímeros estão envolvidos em membranas de lipopolissacarídeos e podem conter endotoxinas, que inviabilizariam o uso biomédico deste material por apresentar reações imunológicas intensas no organismo. Estes custos adicionais relativos às etapas de separação e purificação do PHB podem ser evitados trabalhando-se com organismos Gram positivos (DRUMMOND, 2004).

O processo de extração do polímero representa a maior parte do custo de produção dos PHAs e para que este processo seja economicamente viável, é necessário que a cepa produtora consiga acumular no mínimo 60% de sua massa celular em polímero. Isto faz com que as bactérias Gram-positivas e aquelas que não são capazes de acumular porcentagens elevadas de polímeros sejam excluídas do critério de seleção. Mas, no caso da aplicação na área médica, PHB será sintetizado por uma Gram-positiva. (CARMINATTI *et al.*, 2006). De modo geral, pode-se usar a *Ralstonia eutropha*, *Ralstonia eutropha recombinante*, *Escherichia coli recombinante*, *Klebsiella aerogenes recombinante*, *Burkholderia sacchari*, *Burkholderia cepacia*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas olearans*; *Methylobacterium organophilum* e *Bacillus cereus* (DRUMMOND, 2004).

Bactérias da espécie *Ralstonia eutropha* (anteriormente denominada *Alcaligenes eutrophus*) têm sido utilizadas na produção industrial, por apresentar altas taxas de produção de polímero e proporcionar altos rendimentos. Entretanto, a cepa original (*Alcaligenes eutrophus* H16) só utiliza alguns tipos de açúcares, e, embora espécies mutantes (*Ralstonia eutropha* DSM 545, *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599) possam crescer em glicose, não



podem hidrolisar sacarose. Outro micro-organismo com grande potencial para a produção industrial é *Burkholderia sacchari* (anteriormente denominada *Burkholderia* sp. IPT 101), isolado de solo de canavial brasileiro. A *Ralstonia eutropha* cresce em meio mineral contendo glicose, como única fonte de carbono, e fosfato suficiente para o crescimento celular, até atingir uma determinada biomassa desejada (SQUIO & ARAGÃO, 2004; TELLES *et al.*, 2011).

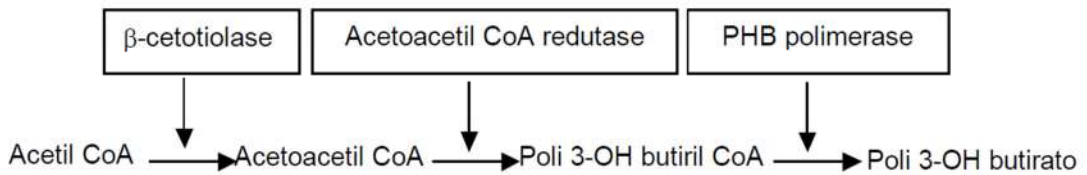
A seleção de culturas mistas com elevada capacidade de acumulação de PHAs ocorre naturalmente em resultado das condições de operação do reator e, conseqüentemente, não há necessidade de esterilização do sistema. Por outro lado, a utilização de culturas mistas facilita o uso de substratos complexos obtidos a partir de resíduos orgânicos tais como efluentes de indústrias de alimentos, dado que a população microbiana se adapta continuamente à mudança de substrato, assim é possível minimizar custos pela utilização de culturas mistas e substratos selecionados. O preço dos PHAs produzidos por culturas mistas pode, de fato, baixar para cerca de metade do preço dos produzidos por culturas puras, devido essencialmente à redução do custo dos substratos e dos custos de investimento (DRUMMOND, 2004).

Na planta piloto em Serrana, o PHB é produzido pela bactéria *Ralstonia eutropha*, geneticamente modificada para o consumo de sacarose. Linhagens não modificadas de *Ralstonia eutropha* são capazes de metabolizar apenas açúcar invertido e não sacarose. (SQUIO & ARAGÃO, 2004; TADA, 2009).

#### **4.3.2. Biossíntese do PHB**

Na via de produção dos grânulos intracelulares de PHB, há excesso de fontes de carbono e limitação em oxigênio, nitrogênio, fósforo, enxofre, magnésio, potássio e outros. Com fartura de nutrientes os níveis de acetil-CoA estarão altos, porém com limitação de nutrientes, os níveis de CoA se reduzem e desencadeiam a síntese de PHB, que é um material de reserva energética para a célula bacteriana. (DRUMMOND, 2004).

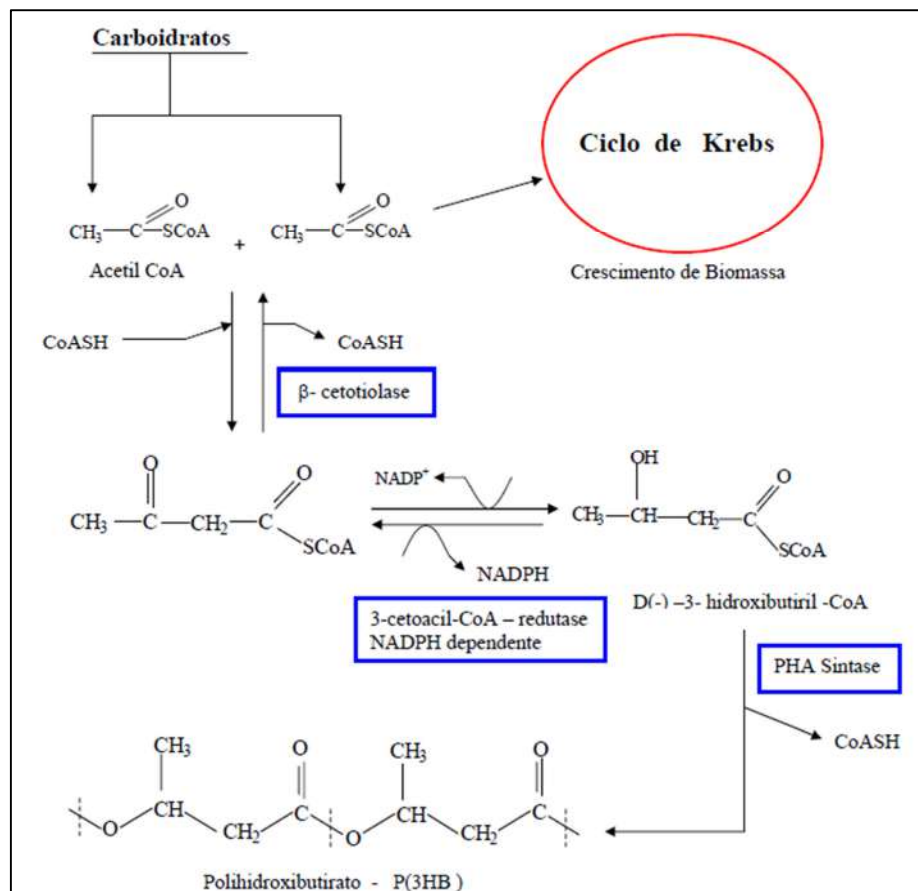
O mecanismo da síntese do PHB descrito a seguir é o proposto para a bactéria *Ralstonia eutrofa* (antigamente conhecida como *Alcaligenes eutrofus*) e envolve três etapas, isto é, três reações enzimáticas catalisadas por três enzimas diferentes, como mostra a Figura 24 (REDDY *et al.*, 2003; TADA, 2009).



**Figura 24.** Via e enzimas envolvidas na biossíntese de PHB.

Fonte: REDDY *et al.*, 2003.

Segundo Finkler (2006) e Tada (2009), na primeira reação, a enzima  $\beta$  cetotilase condensa reversivelmente duas moléculas de acetil coenzima A (acetil-CoA) em acetoacetil-CoA. Na segunda etapa, a enzima PHA redutase, também conhecida como acetoacetil-CoA redutase ou 3-cetoacil-CoA redutase NADPH dependente, catalisa a hidrogenação da acetoacetil-CoA, formando o monômero D(-)-3-hidroxi-butiril-CoA (também denominado (R)-3-hidroxi-butiril-CoA). A terceira etapa corresponde à etapa de polimerização, ou seja, os monômeros D(-)-3-hidroxi-butiril-CoA são incorporados na cadeia polimérica, pela ação da enzima PHB polimerase, formando o biopolímero PHB. As etapas da biossíntese do PHB estão representadas na Figura 25.

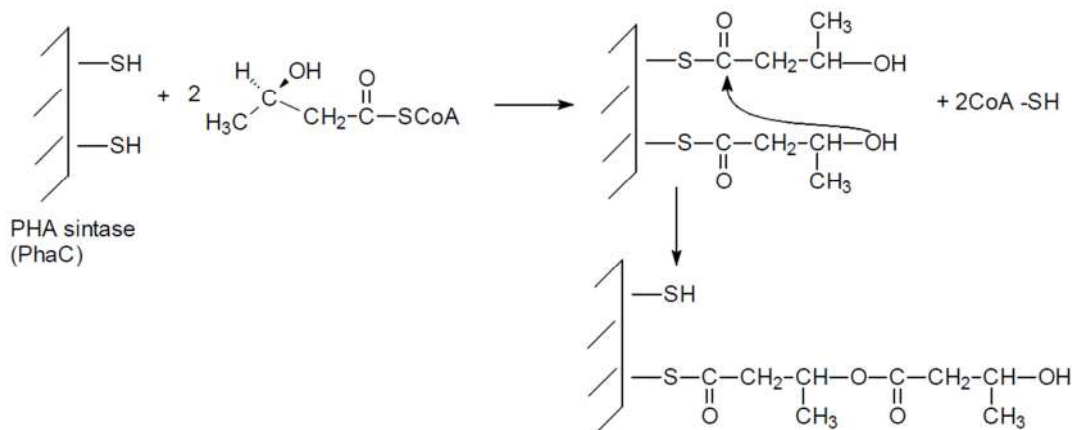


**Figura 25.** Esquema de Biossíntese de PHB via metabólica de síntese a partir de carboidratos

Fonte: DRUMMOND, 2004.

A etapa de iniciação da polimerização de D(-)-3-hidroxi-butiliril-CoA envolve a ligação de duas moléculas desse monômero a dois grupos tíóis (Figura 26). Esses grupos tíóis pertencem aos aminoácidos cisteína que constituem o sítio ativo da enzima PHB polimerase. Segue-se a condensação de dois monômeros, deixando um dos dois grupos tíóis livre. A etapa de propagação da polimerização envolve a ligação de outro monômero ao grupo tiol livre, seguida de outra condensação, levando ao crescimento da cadeia de PHB. (TADA, 2009).

A atividade estereoespecífica da enzima PHA sintase permite que apenas os monômeros de configuração R sejam polimerizados para a formação do PHB; isso explica porque todas as unidades monoméricas do PHB estão na configuração R, conferindo total isotaticidade a esse poliéster (TADA, 2009). A enzima PHA sintase é a chave para a produção destes biopolímeros, uma vez que sua especificidade pelo substrato define a natureza estrutural do polímero obtido. A sua quantidade é função importante no controle do peso molecular do polímero e a sua dosagem fornece uma indicação do peso molecular do polímero presente nos grânulos (DRUMMOND, 2004).



**Figura 26.** Mecanismo de polimerização para síntese do PHB.

Fonte: TADA, 2009.

### 4.3.3. Extração e purificação do PHB

Após a síntese do PHB no interior da célula, ele é extraído e purificado. A extração do biopolímero pode ser realizada de diferentes maneiras: utilizando solventes como clorofórmio, cloreto de metileno, carbonato de propileno, dicloroetano; utilizando uma solução aquosa de surfactante e quelato, respectivamente, betaína e EDTA disódico; fazendo-

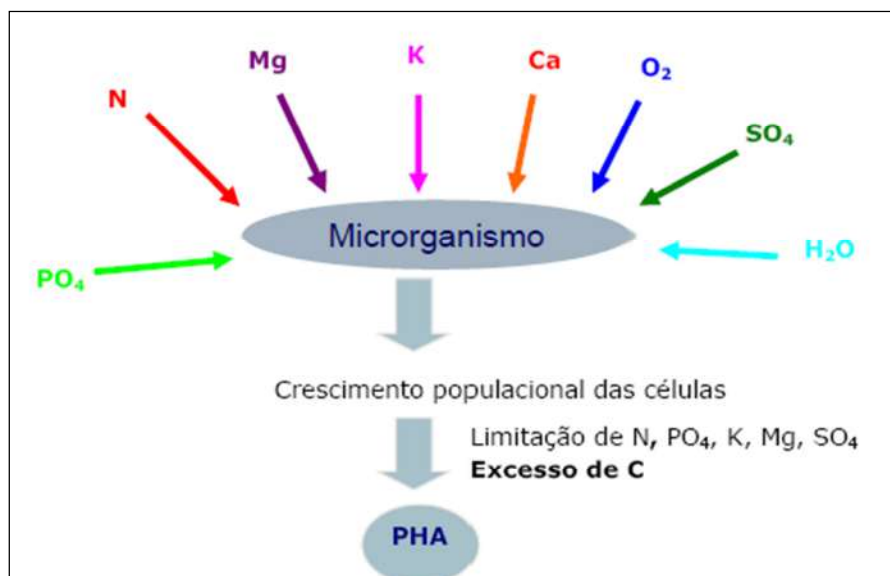
se extração com hipoclorito de sódio ou hipoclorito de sódio junto com clorofórmio; realizando-se a digestão enzimática (FINKLER, 2006).

Diversos métodos químicos e físicos podem ser empregados para a extração do PHB, no entanto, geralmente emprega-se um solvente orgânico que rompe a parede celular do micro-organismo, possibilitando a liberação dos grânulos de poliéster. Ao se romper, a bactéria libera para o meio o seu material citoplasmático, suas organelas, água, sais minerais, proteínas e os grãos de biopolímero. A eficiência do rompimento celular varia com a carga e com o tamanho das esferas dentro e uma faixa limitada, com o tipo e composição da membrana celular. Quanto mais concentrada for a suspensão de células, mais intenso será este efeito. (DRUMMOND, 2004). O que sobra da biomassa no final do processo retorna à lavoura como adubo orgânico (ORTEGA FILHO, 2003).

A fase de extração também é uma fase crítica do processo, por causa do longo tempo de extração e da possível degradação do material polimérico (FINKLER, 2006).

#### **4.4. Produção industrial do PHB**

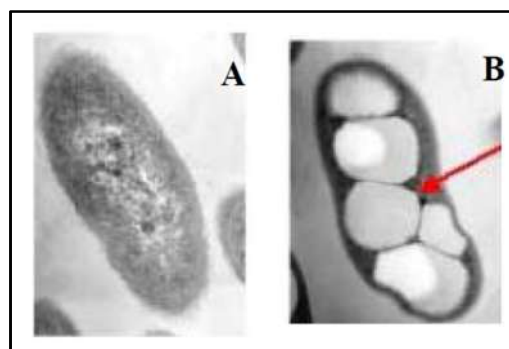
O processo de obtenção do PHB envolve duas fases nos fermentadores. Na primeira fase, as bactérias são induzidas a crescer, em meio de cultura sem limitação de nutrientes necessários ao crescimento, até que seja atingida a concentração celular desejada de bactérias. Nesta etapa não há acúmulo de PHB. Na segunda fase, ocorre a síntese do PHB com a limitação de nutrientes necessários para a bactéria. Em um meio com excesso de carbono, os micro-organismos se alimentam desses açúcares, e em seu interior são formados grânulos de poliésteres que, para as bactérias, funcionam como reserva de energia. (Figura 27). (TADA, 2009; TELLES *et al.*, 2011).



**Figura 27.** Etapas do processo de obtenção do PHB.

Fonte: ALVES & RODRIGUES, 2010.

Nessas etapas, as células apresentam uma composição diferenciada que pode ser observado a partir de técnicas microscópicas, como apresentado na Figura 28 para *Ralstonia eutropha*. Na Figura 28(A) está apresentada a célula na fase de crescimento, quando os grânulos do biopolímero não aparecem diferenciados no meio intracelular; e na fase de produção do biopolímero (Figura 28B), os grânulos aparecem em dimensões maiores, permitindo a nítida diferenciação no meio intracelular (FINKLER, 2006).



**Figura 28.** *Ralstonia eutropha* nas fases de: (A) crescimento; e (B) produção de PHB.

Fonte: FINKLER, 2006.

#### 4.4.1. Metodologia de Produção do PHB

A produção industrial do PHB, empregada no projeto Copersucar-IPT-ICB (Cooperativa dos Produtores de Cana-de-açúcar do Estado de São Paulo - Instituto de Pesquisas Tecnológicas - Instituto de Ciências Biomédicas da USP), envolve a bactéria

*Ralstonia eutropha* e corresponde a um processo fermentativo em batelada alimentada, onde cada ciclo fermentativo é independente do outro, iniciando a partir de um tubo com cultura pré-selecionada (DRUMMOND, 2004; SQUIO & ARAGÃO, 2004; TELLES *et al.*, 2011; TADA, 2009). A limitação em nitrogênio é a estratégia mais adotada para a produção de PHB por várias bactérias, inclusive *Ralstonia eutropha* (*Alcaligenes eutrophus*) (CARMINATTI *et al.*, 2006).

A primeira etapa do processo consiste na ativação e adaptação das células em meio nutriente complexo, feito em frascos agitados. As células em crescimento passam para um segundo frasco de maior volume com uma composição próxima às condições de fermentação (baixa concentração de açúcar em meio tamponado). As etapas seguintes visam aumentar o volume do inóculo, realizadas em fermentadores com tamanhos sucessivamente maiores em condições otimizadas para o crescimento e multiplicação de biomassa, usando xarope de açúcar como fonte de carbono. Todo o biorreator é esterilizado previamente com vapor e o xarope de açúcar é previamente esterilizado em autoclave (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006; SILVA & GOMEZ, 2007).

Para o primeiro fermentador de crescimento de biomassa, o xarope de açúcar é utilizado como fonte de carbono. Todo reator é esterilizado com vapor sob pressão através de um esterilizador contínuo, onde se eleva a temperatura para 130°C por 8 minutos e, a seguir, abaixa-se a temperatura rapidamente para cerca de 30°C (choque térmico). Já o xarope de açúcar, assim como o meio de cultivo, é esterilizado em autoclave. O ar pode ser esterilizado por filtração em placas microporosas ou filtros tipo vela com porosidade de 0,2 a 0,45 µm, porém em escala industrial torna-se mais vantajoso utilizar os filtros de camada fibrosa compactada (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006).

Adicionam-se nutrientes em concentração ótima para o crescimento e multiplicação celular, sendo eles sais minerais de Fe, B, Mo, Ni, Cu, Mn, Co, Zn, Mg, K, Na e Ca. Adiciona-se ainda fosfato de potássio/cálcio como fonte de fósforo e hidróxido de amônio como fonte de nitrogênio e para controle de pH. Esta primeira etapa de fermentação ocorre em pH 6,5 e temperatura de 34°C, durante cerca de 16 horas, levando a uma concentração celular de 12g/L em base seca. Após a transferência do mosto aos fermentadores previamente esterilizados, completa-se a fonte de fósforo com ácido fosfórico e utiliza-se amônia gasosa como fonte de nitrogênio (substituindo o hidróxido de amônio) e para o controle do pH

evitando-se alterar o volume do mosto. As etapas subsequentes duram cerca de 10 horas e são conduzidas em mesmo pH e temperatura, produzindo mesma concentração celular, até se atingir o volume para etapa final de fermentação (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006; TADA, 2009).

Para a etapa final de crescimento de biomassa, o fermentador já apresenta volume útil bem superior ao volume do biorreator utilizado para a propagação. Nesta primeira fase de crescimento bacteriano chegamos a cerca de 12g/L para a concentração de biomassa, porém esta concentração necessita ser aumentada ainda mais para melhor aproveitamento das instalações e maior produtividade, facilitando o processo nas etapas de “down stream”. Desta forma, após 12 horas de fermentação, o açúcar do mosto é esgotado e, a partir desse ponto, o xarope de açúcar é continuamente adicionado, procurando manter a concentração de açúcar na faixa de 3g/L a 5 g/L (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006).

Nesta etapa, a concentração de oxigênio dissolvido é aumentada, aumentando-se a aeração/ agitação do fermentador até um nível ótimo que não provoque dano por tensão cisalhante aos micro-organismos nem envenenamento por oxigênio. Usa-se um sensor de oxigênio e um controle automático para a vazão de ar e substrato. Este processo continua até serem esgotados alguns nutrientes do meio, principalmente as fontes de fósforo e nitrogênio, em uma etapa que dura 14 horas e eleva a concentração celular a 35-40g/L. (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006).

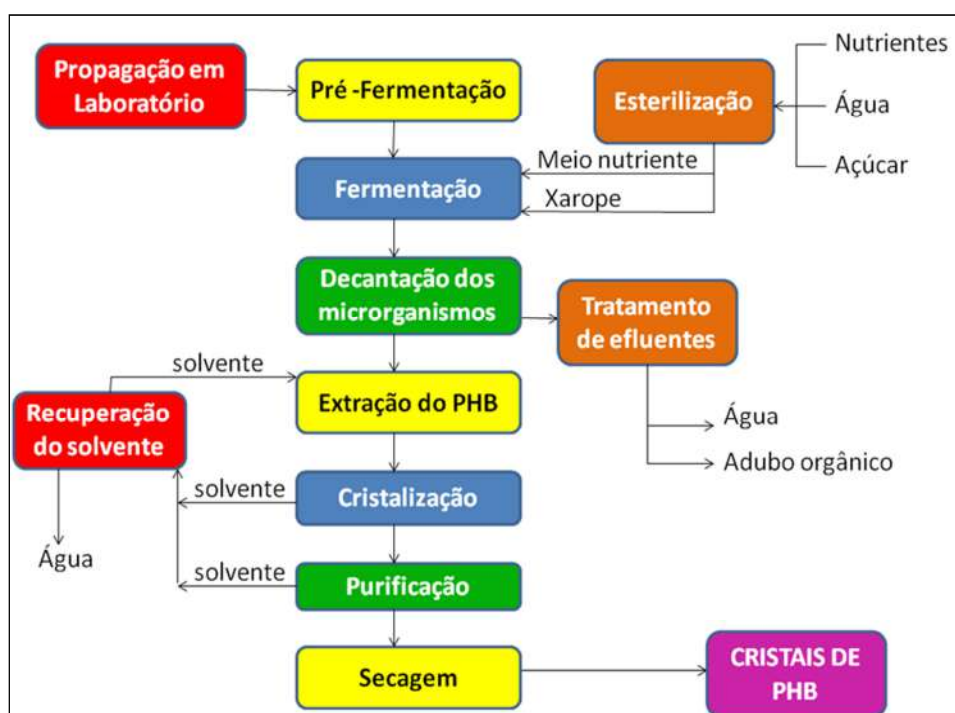
Após o esgotamento dos nutrientes, as bactérias são levadas a condição de *stress nutricional*, quando então se adiciona apenas carboidratos como fonte de carbono. Nesta etapa as bactérias param de se multiplicar e entram em fase final de fermentação, que é o acúmulo de biopolímero como reserva de carbono e energia. (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006; SILVA & GOMEZ, 2007).

Inicialmente as bactérias contêm cerca de 20% de seu peso em PHB, na etapa de acúmulo este teor de polímero intracelular eleva-se para cerca de 75-80%. E a concentração celular se eleva de 35-40 g/L para 150g/L em base seca, pois as bactérias aumentam sua massa celular, embora a sua produção nesta etapa seja praticamente nula (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006; SILVA & GOMEZ, 2007).

Durante esta fase final, o fermentador atinge seu volume útil total, praticamente o dobro do volume inicial. A partir daí, o meio fermentado pode ser conduzido às etapas de “down stream” para rompimento celular, extração, purificação e secagem do biopolímero (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006).

O processo COPERSUCAR utiliza rompimento celular e extração em uma única etapa via solvente orgânico e vapor d’água em um processo contínuo em contra corrente (DRUMMOND, 2004).

A Figura 29 ilustra o diagrama de blocos simplificado do processo de obtenção do PHB.



**Figura 29.** Diagrama de blocos do processo de produção de PHB.

Fonte: Adaptado de ORTEGA FILHO, 2003.

#### 4.4.2. Metodologia de Extração e Purificação do PHB

Após a interrupção do processo fermentativo e a inativação térmica da massa celular em um trocador de calor, procede-se à etapa de recuperação do PHB da massa celular. O material fermentado é submetido a um tratamento químico, onde é diluído na proporção de 1 parte de fermentado para 2 partes de água, recebendo adição de ácido fosfórico e, em seguida, hidróxido de cálcio. O material é então floculado mediante a adição de um polieletrólito aniônico, preferencialmente poliacrilamida homogeneizada (poliacrilamida1), e



encaminhando a um separador centrífugo tipo decantador. O lodo obtido é então alimentado em um sistema de extração por solvente a múltiplos estágios em contracorrente com solvente retificado (DRUMMOND, 2004; TADA, 2009).

O sistema de extração opera a 110-120 °C sendo constituído de três reatores agitados. O lodo é alimentado no primeiro estágio do sistema em série, misturado ao extrato efluente do reator subsequente e ao vapor de solvente retificado. O extrato bruto deve passar por um processo de remoção completa dos sólidos insolúveis, utilizando-se um filtro pré-carga, a temperatura de extração. O material filtrado, isento de sólidos insolúveis, passa então por um processo de pré-resfriamento regenerativo até a faixa de 50 a 60°C, sendo encaminhado aos cristalizadores (DRUMMOND, 2004).

O processo de precipitação e acúmulo de PHB inicia-se com a introdução de uma quantidade de “sementes” (germens de cristalização) seguida de resfriamento. Ao final da cristalização, o material contendo duas fases, uma sólida (PHB) e outra líquida (solvente) podem ser separadas por centrifugação em uma ou mais etapas (DRUMMOND, 2004).

O sistema de remoção de solvente passa por um processo de centrifugação em separador, obtendo-se um clarificado límpido (isento de sólidos) e uma pasta rica em PHB, caracterizada por conter de 3 a 5 % de PHB precipitado. Essa lama é novamente filtrada, desta vez em filtro tangencial de membrana para remoção completa do solvente residual, trabalhando em esquema de múltiplos estágios a vácuo e em contra corrente. A pasta é alimentada no primeiro estágio e o vapor d'água no estágio de recuperação de solvente, sendo o sistema de solvente utilizado imiscível com água e estando na fase orgânica, o PHB é solúvel no solvente e insolúvel na água, precipitando continuamente na interface dos dois líquidos (DRUMMOND, 2004). No primeiro estágio, a pasta de PHB é agitada e granulada continuamente ao mesmo tempo em que o solvente é removido e injeta-se vapor d'água a uma pressão de 1,5 a 6 Kgf/cm<sup>2</sup> e água potável. No último estágio, o material completamente granulado e com teor de solvente inferior a 7ppm é removido e encaminhado a uma peneira vibratória. Neste estágio, o PHB granulado é separado do líquido e enviado para a secagem a vácuo (DRUMMOND, 2004; CARMINATTI *et al.*, 2006).

No Brasil, foi desenvolvido um método de recuperação de PHB utilizando álcoois superiores com cadeia superior a três carbonos e seus ésteres, como álcool isoamílico, acetato de amila, acetato de isoamila e óleo fúsel, resíduo do processo de produção de etanol. A

biomassa era submetida a estes solventes a alta temperatura, solubilizando o polímero na fase orgânica, seguindo-se a remoção dos restos celulares por filtração e precipitação do polímero na massa de solvente por resfriamento da solução, com remoção do solvente e secagem. Esta tecnologia está sendo utilizada atualmente em escala industrial. Este processo foi recentemente modificado por inserir, após a precipitação do polímero, uma etapa de concentração da suspensão polímero/solvente através de sua passagem por um equipamento de microfiltração. Um processo de recuperação do polímero através do tratamento da biomassa com uma mistura composta de um solvente e um não-solvente do PHA também está descrito na literatura. A recuperação do material polimérico se fazia através da precipitação do polímero na fase não-solvente quando o solvente era removido da solução (SILVA & GOMEZ, 2007).

#### **4.4.3. Dificuldade encontrada na produção do PHB**

A principal dificuldade da produção de PHB está em reduzir o seu custo, que é muito alto, quando comparado ao dos plásticos sintéticos não biodegradáveis. Os baixos custos de produção de plásticos petroquímicos explicam os hábitos de consumo e o desenvolvimento generalizado de produtos de conveniência, que têm exigido maiores áreas para a disposição de resíduos/rejeitos. O grande custo com aterros poderia ser amenizado com o emprego de biopolímeros. Produtos que não exigem um tempo de prateleira muito grande e que tendem a ser misturados com o material residual orgânico poderiam ser produzidos com biopolímeros, reduzindo o impacto sobre os aterros (FINKLER 2006).

O custo de produção do PHB possui três componentes principais: materiais; o processo de fermentação, incluindo a extração e purificação do polímero; e o custo de capital (ativos fixos e variáveis) (CARMINATTI *et al.*, 2006). A estratégia para diminuir o custo é maximizar as variáveis de processo, como a *produtividade* (massa de PHB produzido por unidade de volume, por unidade de tempo), o *conteúdo de PHB* acumulado pela bactéria (em % de PHB da massa celular seca), o *rendimento* de PHB (quantidade de PHB produzido por quantidade de substrato fornecido à bactéria) e a *quantidade de PHB* obtido no processo de recuperação (TADA, 2009).

Na realidade, a redução dos custos está associada a obtenção de linhagens altamente eficientes na conversão dos substratos no produto desejado, de utilização de substratos de baixo custo, do desenvolvimento de processos que permitam explorar ao máximo o potencial dessas linhagens e do desenvolvimento de processos de extração-purificação de forma a tornar os custos de recuperação do produto os menores possíveis (CARMINATTI *et al.*, 2006).

A avaliação econômica do processo de produção indica que o custo do substrato tem uma contribuição importante no custo global de produção, podendo representar mais de 38%. O alto custo de produção pode ser minimizado usando resíduos orgânicos de baixo custo provenientes de plantas e de processamento de alimentos, tais como amido hidrolisado, gorduras e óleos de animais e vegetais, soro de leite, melação, resíduos da suinocultura, resíduos da indústria sucroalcooleira e caseína hidrolisada (CARMINATTI *et al.*, 2006).

Além disso, segundo Hänggi (1995), os poliésteres bacterianos precisam atender as seguintes exigências para serem aceitos em larga escala:

- atender a um mercado específico de aplicação;
- possuir sistemas eficientes de compostagem instalados em áreas urbanas;
- possuir qualidade e desempenho de processamento compatíveis com os plásticos petroquímicos atuais;
- satisfazer os requerimentos para o registro como embalagens de alimentos;
- possuir um preço competitivo.

A viabilidade econômica da produção de PHB é determinada pela eficiência e velocidade de crescimento, formação do produto e conteúdo intracelular do biopolímero. Dessa forma, para melhorar a viabilidade econômica e reduzir o preço do produto é preciso maximizar a conversão de carbono e a produtividade em todo o processo, encontrando fontes alternativas de carbono, além de reduzir os custos da etapa de extração e purificação do produto (FINKLER 2006).

#### **4.4.4. Estimativas na produção do PHB**

A eficiência e a velocidade de obtenção do produto em um bioprocessamento são parâmetros normalmente relacionados ao genótipo do microrganismo e ao substrato. O coeficiente de rendimento teórico do substrato em produto depende do substrato usado, mas também das

condições de operação do sistema de biorreação. Alguns dados típicos de produção de PHB por diferentes bactérias a partir de substratos distintos são apresentados na Tabela 7, onde X representa a concentração de células em g/L (FINKLER 2006).

**Tabela 7.** Produção de PHA por diferentes bactérias

Bactéria	Fonte de carbono	Tempo (h)	X (g.L <sup>-1</sup> )	PHB (g.L <sup>-1</sup> )	PHB (%)	Produtividade (g.L <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Glicose	50	164	121	76	2,42
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	CO <sub>2</sub>	40	106	61,9	57,5	1,03
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Hidrolisado de tapioca	59	106	61,9	57,5	1,03
<i>Alcaligenes latus</i>	Sacarose	18	143	71,4	50	3,97
<i>Azotobacter vinelandii</i>	Glicose	47	40,1	32	79,8	0,68
<i>Methylobacterium organophilum</i>	Metanol	70	250	130	52	1,86
<i>Protomonas extorques</i>	Metanol	170	233	149	64	0,88
<i>Escherichia coli</i> recombinante	Glicose	39	101,4	81,2	80,1	2,08
<i>Klebsiella aerogenes</i> recombinante	Melaço	32	37	24	65	0,75

Fonte: Adaptado de LEE *et al.*, 1999.

Segundo Drummond (2004), o processo de biossíntese por fermentação aeróbia com extração e purificação do PHB por solvente (CHCl<sub>3</sub>) apresenta alguns coeficientes técnicos importantes, ilustrados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Coeficientes técnicos para fermentação aeróbia com extração e purificação do PHB por solvente

Consumo de açúcar	3Kg/Kg PHB
Massa de micro-organismos obtido	100 Kg de biomassa seca/ m <sup>3</sup> xarope
Fração de polímero biodegradável	70-75%
Tempo de fermentação	45 horas
Rendimento na separação	Próximo a 95%
Consumo de energia	2,9 kWh/Kg PHB
Consumo de vapor	40 Kg/Kg PHB
Produção	60 t/ano

Fonte: DRUMMOND, 2004.

A economia de escala tem auxiliado na competitividade do processo nacional, estando agora grande parte do custo associado ao processo de separação/purificação. O processo de obtenção no Brasil é bastante competitivo, uma vez que a produção é verticalizada por meio da produção de açúcar e álcool das destilarias da Cooperativa. Os insumos energéticos (energia e vapor) são obtidos através da queima do bagaço da cana-de-açúcar em sistemas de caldeiras, permitindo uma grande economia em custos variáveis. O sistema de extração também utiliza solvente fabricado pelo próprio produtor, algo que gera maior competitividade ainda. Deste modo, a produção do polímero torna-se economicamente viável com unidade de produção funcionando junto com uma usina sucroalcooleira que fornece todos os insumos necessários como, açúcar, o solvente a base de etanol e a energia elétrica gerada através do bagaço da cana (CARMINATTI *et al.*, 2006).

O valor médio do PHB produzido no Brasil é de US\$ 5 dólares o Kg, a partir da cana-de-açúcar, enquanto os concorrentes extraídos de outros produtos como, por exemplo, a batata e a beterraba, são vendidas ao preço de US\$ 14 dólares o Kg. Essa diferença de custos faz com que a PHB Industrial exporte quase 100% de sua produção (JUNIOR, 2008).

# CAPÍTULO 5 – MONITORAMENTO TECNOLÓGICO EM PATENTES DO PHB

O presente projeto aborda um estudo de monitoramento tecnológico envolvendo o poli(3-hidroxi-butarato), utilizando as patentes como fonte de informações. Para tanto, foram realizadas buscas de documentos nas bases *USPTO* (base americana), *Espacenet* (base europeia) e *Web of Knowledge*. Para cada uma dessas foram realizadas análises das patentes quanto aos países depositantes, tipos de depositantes, ano do depósito e áreas de aplicação.

## 5.1. Busca de patentes na base *USPTO*

A busca de documentos de patentes na base americana *USPTO* (*United States Patent and Trademark Office*) foi realizada através do endereço <<http://patft.uspto.gov/netahtml/PTO/search-bool.html>>. As palavras-chave “polyhydroxybutyrate” e “PHB” foram empregadas fazendo uma busca restrita ao título (title) e resumo (abstract), do ano de 1976 até o presente (Figura 30).

**Figura 30.** Instruções usadas para efetuar busca de patentes de PHB na base USPTO.

A Figura 31 ilustra o resultado da busca de patentes. Foram encontrados um total de 21 patentes, mas apenas 11 documentos envolvendo o PHB foram analisados, sendo os outros 10 descartados por estarem repetidos.

patft.uspto.gov/metacj/nph-Parser?Sect1=PTO2&Sect2=HITOFF&p=1&u=%2Fnetatml%2FPTO%2Fsearch-bool.html&r=0&f=S&l=50&TERM1=polyhydroxybutyrate

**USPTO PATENT FULL-TEXT AND IMAGE DATABASE**

[Home](#)
[Quick](#)
[Advanced](#)
[Pat Num](#)
[Help](#)  
[Bottom](#)
[View Cart](#)

Searching US Patent Collection...

**Results of Search in US Patent Collection db for:**  
**ABST/"polyhydroxybutyrate (PHB)"; 21 patents.**  
 Hits 1 through 21 out of 21

Jump To:

Refine Search:

PAT. NO.	Title
1 8.198.064	Mutant bacterial strains of the genus sphingomonas deficient in production of polyhydroxybutyrate and a process of clarification of sphingans and compositions thereof
2 8.049.065	Transgenic systems for the manufacture of poly(2-hydroxy-butyrate-co-3-hydroxyhexanoate)
3 7.887.866	Clarification of sphingans and compositions thereof
4 7.829.697	Mutant bacterial strains of the genus Sphingomonas deficient in production of polyhydroxybutyrate and a process of clarification of sphingans and compositions thereof
5 7.619.025	Biodegradable polymeric nanocomposite compositions particularly for packaging
6 7.504.556	Transgenic systems for the manufacture of poly(2-hydroxy-butyrate-co-3-hydroxyhexanoate)
7 7.455.999	Transgenic systems for the manufacture of poly(3-hydroxy-butyrate-co-3-hydroxyhexanoate)
8 7.109.007	Polyhydroxybutyrate polymerase
9 7.070.966	Method for obtaining polyhydroxyalkanoates (PHA) and the copolymers thereof
10 6.881.560	Polyhydroxybutyrate polymerase

**Figura 31.** Resultado da busca de patentes de PHB na base USPTO.

Uma análise inicial foi realizada de modo a determinar os países depositantes, os tipos de depositantes e o ano do depósito. A Figura 32 apresenta a distribuição das patentes por país depositante e pode-se observar que os Estados Unidos foram responsáveis por 82% das patentes selecionadas, seguidos por Alemanha e Brasil, ambos com 9%.



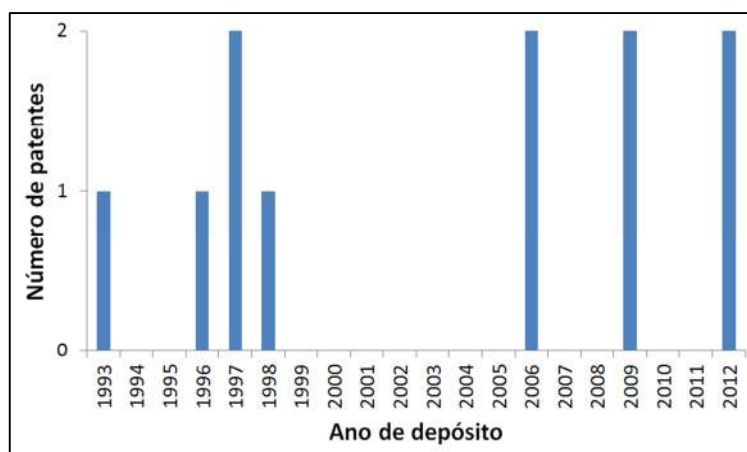
**Figura 32.** Distribuição das patentes por países depositantes (USPTO).

Constatou-se que as universidades foram responsáveis pelo depósito de 64% das patentes analisadas, sendo a porcentagem restante representada pelas indústrias e empresas (Figura 33).



**Figura 33.** Distribuição das patentes por tipo de instituição depositante (USPTO).

A Figura 34 relaciona o número de patentes encontradas na base USPTO com o ano de depósito. É possível constatar que o número de patentes por ano é muito pequeno, atingindo um máximo de 2 documentos depositados. Além disso, observa-se que no período de 2006 a 2012 foram depositados documentos a cada 2 anos.



**Figura 34.** Evolução do número de patentes depositadas sobre PHB entre 1993 e 2012 (USPTO).

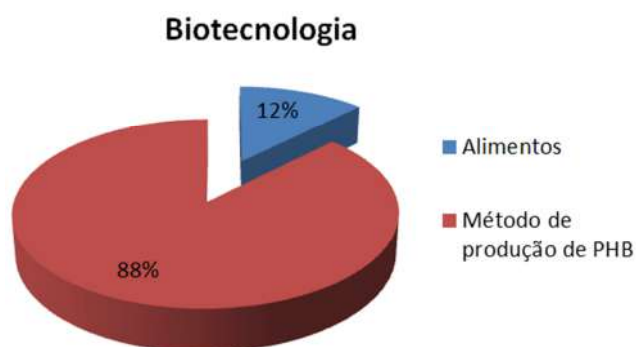
Em seguida, as patentes foram classificadas basicamente de acordo com a sua área de aplicação, conforme ilustra a Figura 35. Observa-se que a grande maioria dos documentos, 73%, relaciona o biopolímero com a área da biotecnologia e o restante das patentes, 27%, aborda o PHB como polímero, propriamente dito.





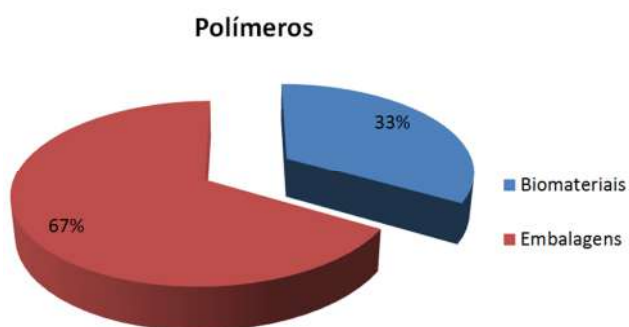
**Figura 35.** Distribuição das patentes por área de aplicação (USPTO).

Em uma análise mais detalhada das aplicações das patentes (Figura 36 e Figura 37), observa-se que na área de biotecnologia, 88% das patentes estão relacionadas com os métodos de produção do PHB, ou seja, envolvem estudos a cerca de linhagens e fontes de carbono para a produção e condições de operação. Os 12 % restantes encontram-se relacionados com a área de alimentos, tendo em vista que o PHB. Estes resultados podem ser visualizados através da Figura 36.



**Figura 36.** Distribuição das patentes por aplicação na área de biotecnologia (USPTO).

Já na análise detalhada das aplicações na área de polímeros (Figura 37), observa-se que 67% das patentes estão relacionadas com o setor de embalagens e 33% estão voltados para os biomateriais.



**Figura 37.** Distribuição das patentes por aplicação na área de polímeros (USPTO).

## 5.2. Busca de patentes na base *Espacenet*

A busca de documentos de patentes na base europeia *Espacenet* foi realizada através do endereço < <http://worldwide.espacenet.com/>>, empregando *Advanced Search* no modo *Worldwide*. As palavras-chave usadas foram “polyhydroxybutyrate” e “PHB”, fazendo uma busca restrita ao título ou resumo.

A Figura 38 ilustra o resultado da busca de patentes. Foram encontrados apenas 4 documentos envolvendo o PHB.

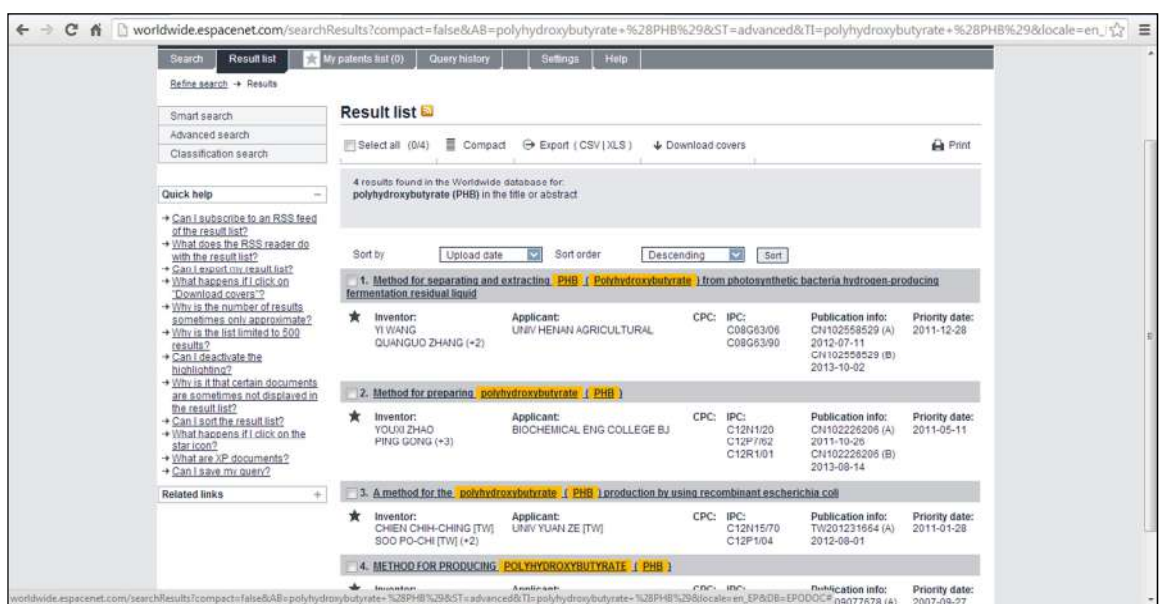


Figura 38. Resultado da busca de patentes de PHB na base *Espacenet*.

Uma análise inicial foi realizada de modo a determinar os países depositantes, os tipos de depositantes e o ano do depósito. A Figura 39 apresenta a distribuição das patentes por país depositante e pode-se observar que a China foi responsável por 50% das patentes selecionadas, seguida por Japão e Taiwan, ambos com 25%.

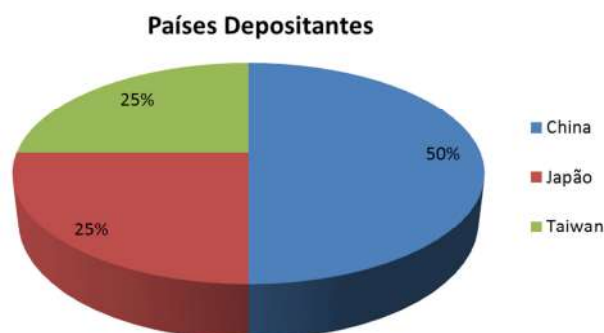
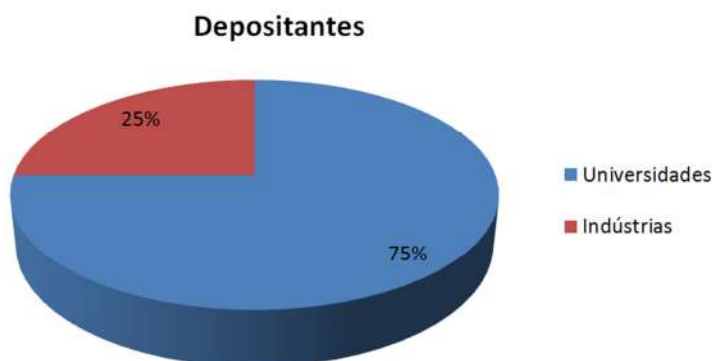


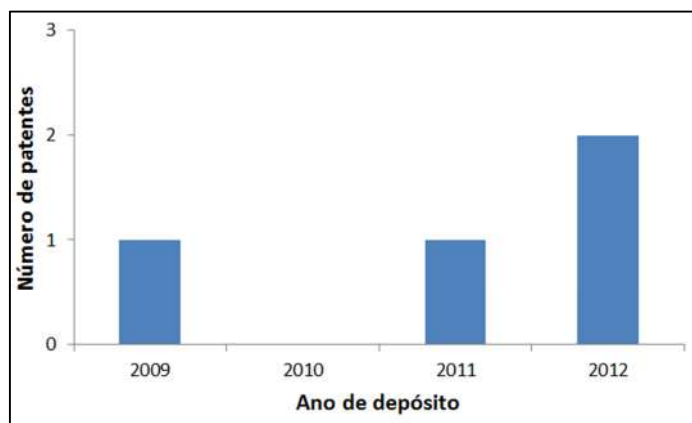
Figura 39. Distribuição das patentes por países depositantes (Espacenet).

Constatou-se que as universidades foram responsáveis pelo depósito de 75% das patentes analisadas, sendo a porcentagem restante representada pela indústria (Figura 40).



**Figura 40.** Distribuição das patentes por tipo de instituição depositante (Espacenet).

A Figura 41 relaciona o número de patentes encontradas na base *Espacenet* com o ano de depósito. É possível constatar que as patentes encontradas foram depositadas a menos de 5 anos, tendo um número máximo de 2 patentes por ano em 2012.



**Figura 41.** Evolução do número de patentes depositadas sobre PHB (Espacenet).

Em seguida, as patentes foram analisadas basicamente de acordo com a sua área de aplicação e observou-se que todas estavam relacionadas com a área de biotecnologia e estavam voltadas para a produção do PHB.

### 5.3. Busca de patentes na base *Web of Knowledge*

A busca de documentos de patentes na base *Web of Knowledge* foi realizada através do endereço <http://wokinfo.com/>, utilizando o modo *Derwent Innovations Index*® e empregando a palavra-chave “polyhydroxybutyrate” e “PHB” (Figura 42).

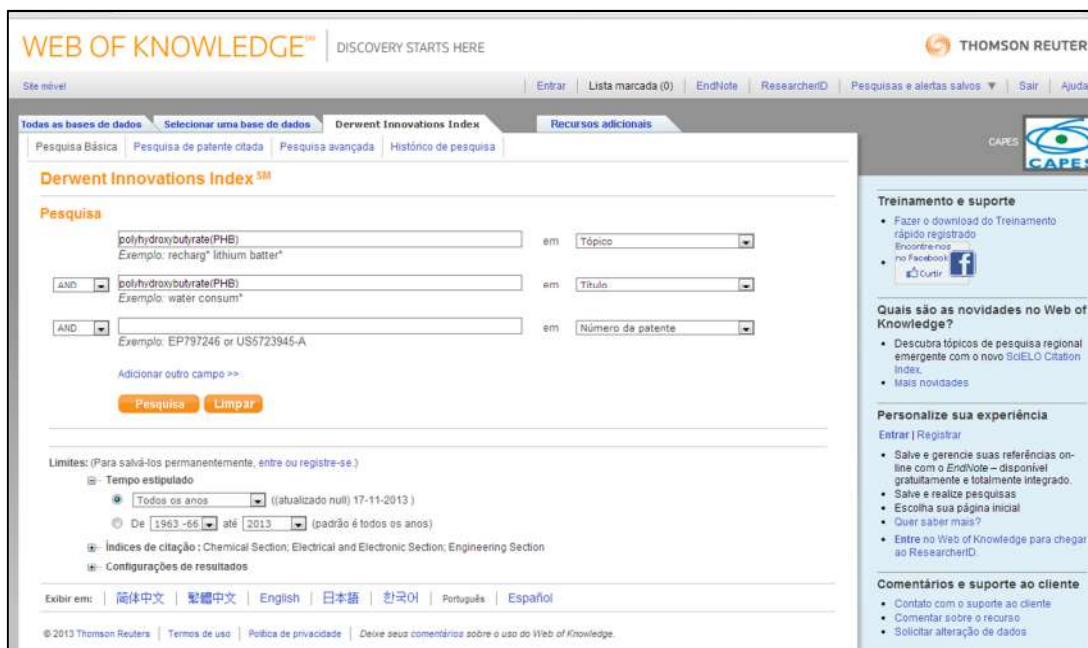


Figura 42. Instruções usadas para efetuar busca de patentes de PHB na Web of Knowledge.

A Figura 43 ilustra o resultado da busca de patentes. Foram encontrados 29 documentos envolvendo o PHB. Uma análise inicial foi realizada de modo a determinar os países depositantes, os tipos de depositantes e o ano do depósito.

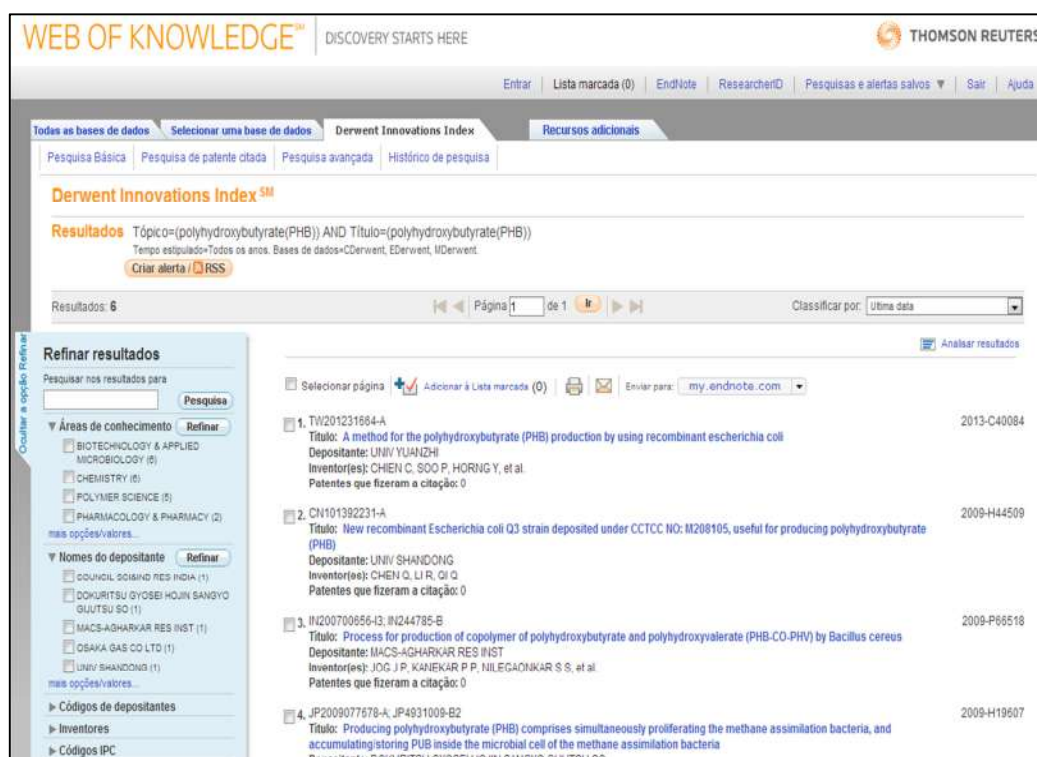
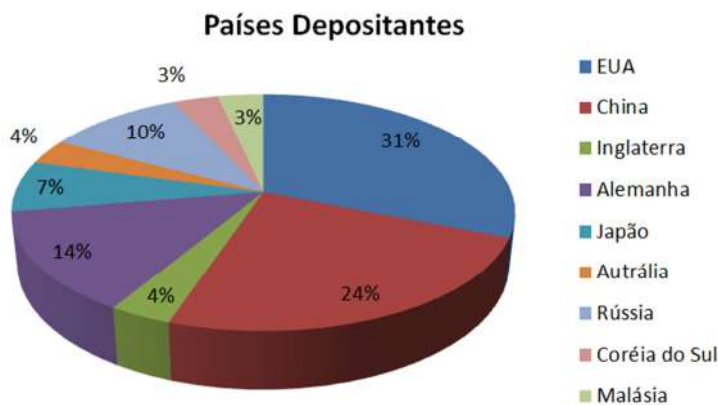


Figura 43. Resultado da busca de patentes de PHB na base Web of Knowledge.

A Figura 44 apresenta a distribuição das patentes por país depositante. Observa-se que os Estados Unidos foram responsáveis por 31% das patentes selecionadas, seguidos por China (24%), Alemanha (14%), Rússia (10%) e Japão (7%). A Inglaterra, Austrália, Coreia do Sul e Malásia correspondem, cada um, a 3-4% das patentes, mas que somadas resultam em 14%.



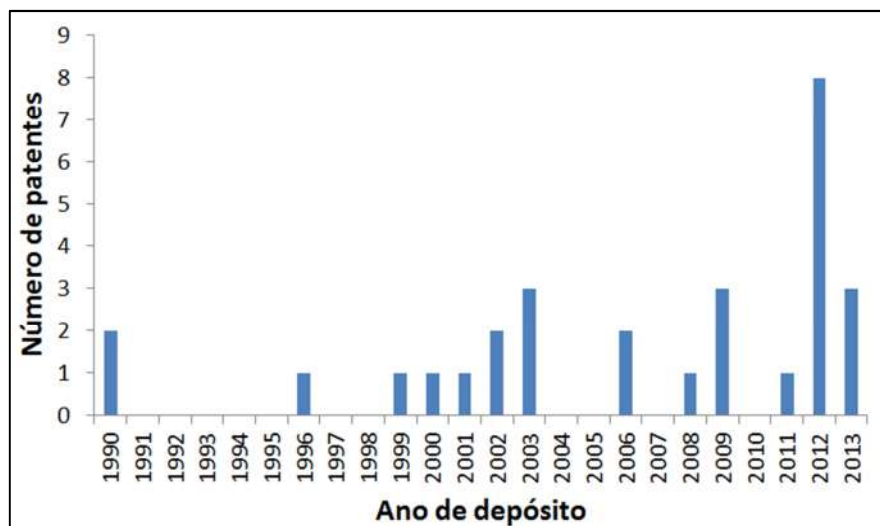
**Figura 44.** Distribuição das patentes por países depositantes (Web of Knowledge).

Constatou-se que as universidades foram responsáveis pelo depósito de 52% das patentes analisadas e as indústrias/empresas ficaram com 48% (Figura 45). Desta forma, pode-se afirmar que as patentes encontradas nesta base estão bem distribuídas no que se refere à instituição depositante.



**Figura 45.** Distribuição das patentes por tipo de instituição depositante (Web of Knowledge).

A Figura 46 relaciona o número de patentes encontrada na base *Web of Knowledge* com o ano de depósito. É possível constatar que entre 1990 e 2002 foram depositadas de uma a duas patentes por ano, mas a partir de 2003 o número de patentes por ano aumentou, atingindo um máximo de 8 documentos depositados em 2012.



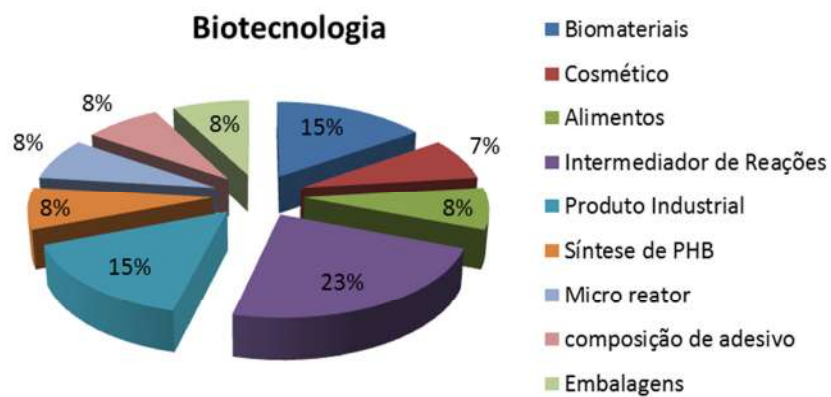
**Figura 46.** Evolução do número de patentes depositadas sobre PHB (Web of Knowledge).

Em seguida, as patentes foram classificadas basicamente de acordo com a sua área de aplicação, conforme ilustra a Figura 47. Observa-se que 41% das patentes relacionam o PHB à medicina, 38% à biotecnologia e 21% à fármacos.

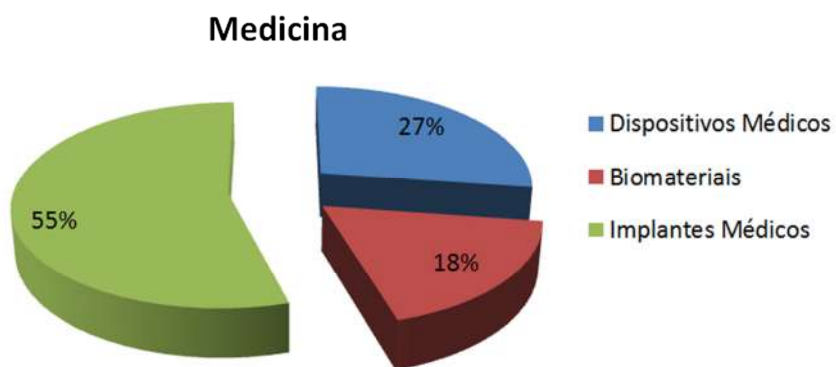


**Figura 47.** Distribuição das patentes por área de aplicação (Web of Knowledge).

Em seguida, foi realizada uma análise mais detalhada das aplicações das patentes. Através da Figura 48, observa-se que na área de biotecnologia, 23% das patentes estão relacionadas à intermediador de reações, 15% à biomateriais e 15% ao produto industrial, propriamente dito. Já na área da medicina (Figura 49), constata-se que a maioria das patentes estão voltadas para implantes médicos (55%), seguidos de 27% referentes a implantes médicos e 18% a biomateriais.



**Figura 48.** Distribuição das patentes por aplicação em biotecnologia (Web of Knowledge).



**Figura 49.** Distribuição das patentes por aplicação em medicina (Web of Knowledge).



## CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado sobre o biopolímero poli(3-hidroxi-butarato), o PHB, apresentou suas propriedades e aplicações, bem como abordou aspectos sobre sua produção e micro-organismos produtores. Adicionalmente, foi realizado um monitoramento tecnológico de patentes envolvendo este biopolímero através da busca em três bases distintas: *USPTO*, *Espacenet* e *Web of Knowledge*.

Observou-se que as aplicações dos biopolímero, especialmente do PHB, são muito amplas e estão em constante desenvolvimento, principalmente nas áreas da medicina e biotecnologia. Em relação ao processo de produção do PHB, pode-se destacar a síntese por bactérias como um dos principais métodos para obtenção desse biopolímero. As principais matérias-primas utilizadas no processo de produção são sacarose e glicose, com destaque também para outras fontes de carbono, como melão e açúcar invertido. Apesar da diversificação de fontes de carbono, linhagens e condições de processo, a obtenção do PHB baseia-se sempre em duas etapas: na primeira, os micro-organismos são induzidos a crescer e se multiplicar em meio de cultura sem limitação de nutrientes; na segunda fase, ocorre a síntese do PHB com a limitação de nutrientes necessários para o crescimento do micro-organismo em um meio com excesso de carbono, levando a formação de grânulos de PHB no interior das células. Em seguida, o PHB formado é enviado para as etapas de extração e purificação.

Analisando patentes encontradas nas três bases mencionadas anteriormente, pode-se verificar que as universidades tiveram o maior número de depósitos. Em relação aos países, observa-se que os Estados Unidos aparecem em destaque nas bases *USPTO* e *Web of Knowledge*, mas na base *Espacenet* houve predomínio da China com o maior número de patentes do referido assunto. O ano que apresentou o maior número de depósitos foi 2012, com 8 documentos na base *Web of Knowledge* e 2 documentos em cada uma das bases restantes (*USPTO* e *Espacenet*). Pode-se perceber que existem muitos estudos envolvendo o PHB, porém poucas patentes abordando o assunto.

A substituição dos plásticos petroquímicos por biopolímeros é uma possível solução para os problemas ambientais no que se refere ao descarte de plásticos convencionais no lixo urbano, uma vez que são biodegradáveis. Apesar desta vantagem no critério ambiental, os



biopolímeros, especialmente o PHB, são mais caros e deve-se levar em conta a diminuição de custos para o seu desenvolvimento no mercado.

A estratégia para diminuir o custo é maximizar as variáveis de processo, como a *produtividade* (massa de PHB produzido por unidade de volume, por unidade de tempo), o *conteúdo de PHB* acumulado pela bactéria (em % de PHB da massa celular seca), o *rendimento* de PHB (quantidade de PHB produzido por quantidade de substrato fornecido à bactéria) e a *quantidade de PHB* obtido no processo de recuperação. E, essas variáveis de processo podem ser otimizadas, visando o baixo custo, através de diferentes fatores, sendo eles:

- obtenção de linhagens altamente eficientes na conversão dos substratos no produto desejado;
- desenvolvimento de processos que permitam explorar ao máximo o potencial dessas linhagens;
- utilização de substratos de baixo custo; e
- desenvolvimento de processos de extração-purificação de forma a tornar os custos de recuperação do produto os menores possíveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F.G.; RODRIGUES, A.A. *Biopolímeros*. Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia Microbiana II, 2010.

AMANTES, A.A.; BARROS, G.V.; YAMANISHI, V.F. *Biopolímeros*. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Universidades Federal de Santa Catarina, 2009.

ARAÚJO, D.G. *Produção de Poli[3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato] por Escherichia coli recombinante a partir de Glicose e Ácido Propiônico*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, 2005.

AVÉROUS, L. *Polylactic Acid: Synthesis, Properties and Applications*. Oxford: Elsevier Science, p. 2006-2008, 2008.

AZEVEDO, E.M. Plástico na Medicina – Commodities e especialidades dão vida a novas aplicações. Plástico Moderno, nº 383, 2011. Disponível em [http://www.nossofuturoroubado.com.br/arquivos/julho\\_11/3.html](http://www.nossofuturoroubado.com.br/arquivos/julho_11/3.html). Acesso em 11 de agosto de 2013.

BASTIOLI, C. *Handbook of Biodegradable Polymers*. Shawbury: Rapra Technology Limited, 2005.

BIOCYCLE. <http://www.biocycle.com.br/site.htm>. Acesso em 25 de abril de 2012.

BOHMERT, K.; BALBO, I.; STEINBÜCHEL, A.; TISCHENDORF, G.; WILLMITZER, L. *Constitutive Expression of the  $\beta$ -Ketothiolase Gene in Transgenic Plants. A Major Obstacle for Obtaining Polyhydroxybutyrate-Producing Plants*. *Plant Physiology*, v. 128, p.1282-1290, 2002.

BOMTEMPO, J.V.; OROSKI, F. *O futuro dos biocombustíveis XV: A difícil transição em 2012 e o caso da Metabolix*. 2013.

BORDES, P.; POLLET, E.; AVÉROUS, L. *Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems*. *Progress in Polymer Science*, v. 34, nº 2, 2009.

BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L.F.M.; ROITMAN, T. *Monitoramento Tecnológico e Mercadológico de Biopolímeros*. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 18, nº 3, p. 256-261, 2008.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. *Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes*. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.6.2, p. 127-139, 2011.

CALVÃO, P.S. *Obtenção e caracterização de misturas do polímero biodegradável P[3HB] e seu copolímero P[3HB-co-3HV] com elastômeros*. Tese de mestrado, Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, 2009.

CARMINATTI, C.; MESSANE, F.E.; BRANDÃO, M.C.Z.; PINHEIRO, V.R. *Produção de Polihidroxialcanoatos (PHAs)*. Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, 2006.

CHEN, L. J.; WANG, M. *Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB-PHV copolymer*. Biomaterials, v. 23, nº 13, 2002.

CHOI, J.; LEE, S.Y. *Factors affecting the economics of polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation*. Applied Microbiology and Biotechnology, v.51, p.13-20, 1999.

COELHO, M.A.Z.; LEITE, S.G.F. *Bactérias*. Notas de aula da disciplina de Microbiologia Industrial. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2011.

COUTINHO, B.C.; MIRANDA, G.B.; SAMPAIO, G.R.; DE SOUZA, L.B.S.; SANTANA, W.J.; COUTINHO, H.D.M. *A importância e as vantagens do Polihidroxibutirato (Plástico Biodegradável)*. Holos Enviroment, 2004.

DE PAOLI, M. A. *Degradação e Estabilização de Polímeros*. São Paulo: Editora Artliber, 2008.

DRUMMOND, A.A.R. *Produção de Biopolímeros e suas aplicações tecnológicas*. Fundamentos de Engenharia Bioquímica – UFRJ, 2004.

FALCONE, D.M.B.; AGNELLI, J.A.M. *Panorama Setorial e Perspectivas na área de polímeros biodegradáveis*. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.17, nº 1, p. 6-9, 2007.

FECHINE, G.J.M. *A Era dos Polímeros Biodegradáveis*. *Plástico Moderno*, v. 423, p.28-38, 2010.

FINKLER, L. *Produção de Polihidroxialcanoatos por Cupriavidus Necator usando ácido acrílico como fonte de carbono*. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006.

FRANCHETTI, S.M.M.; MARCONATO, J.C. *Polímeros Biodegradáveis – Uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos*. *Química Nova*, v.29, nº 4, p.811-816, 2006.

HÄNGGI, U.G. *Requirements on bacterial polyesters as future substitute for conventional plastics for consumer goods*. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 16, p. 213-220, 1995.

JOHN, M.E; KELLER, G. *Metabolic pathway engineering in cotton: Biosynthesis of polyhydroxybutyrate in fiber cells*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 93, p. 12768–12773, 1996.

JUNG, Y. M.; PARK, J.S.; LEE, Y.H. *Metabolic engineering of Alcaligenes eutrophus through the transformation of cloned phbCAB genes for the investigation of the regulatory mechanism of polyhydroxyalkanoate biosynthesis*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 26, p. 201-208, 2000.

JUNIOR, G.C.F. *Obtenção e caracterização de filmes de PHB e de blendas de PHB com borracha natural*. Dissertação de mestrado em Ciências dos Materiais, Universidade Estadual Paulista, 2008.

LANCELLOTTI, A. *Bioplastics in Brazil: Beyond the Green Speech*. Frost & Sullivan, 2010.

LEE, S.Y.; CHOI, J.; HAN, K.; SONG, J.Y. *Removal of Endotoxin during Purification of Poly(3-Hydroxybutyrate) from Gram-Negative Bacteria*. *Applied and environmental microbiology*, v. 65, nº 6, p. 2762-2764, 1999.

LIMA, E.G.; OKIMOTO, M.L.L.R. *Revisão da aplicação de produtos biopolímeros obtidos pela reciclagem de plásticos em design*. Revista Iberoamericana de Polímeros, v.10, p. 244-259, 2009.

MADISON, L.L.; HUISMAN, G.W. *Metabolic Engineering of Poly(3-Hydroxyalkanoates): From DNA to Plastic*. Microbiology and molecular biology reviews, v. 63, nº 1, p.21-53, 1999.

MENDONÇA, R.H. *Imobilização de fibronectina na superfície de suportes porosos de PHB para aplicação em engenharia óssea*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

MOLINARI, D. *PHB Industrial: Em 2008, empresa começa a operar nova fábrica para produzir 10 mil toneladas de plástico biodegradável derivado de açúcar*. Reportagem publicada em <http://www.inovacao.unicamp.br/pipe/report/061030-phb.shtml>, 2006. Acesso em 12 de dezembro de 2012.

ORTEGA FILHO, S. *O Potencial da Agroindústria Canavieira do Brasil*. FBT\_Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, 2003.

ORTEGA FILHO, S. *Tecnologia de Produção de Plástico Biodegradável a partir de cana-de-açúcar*. III Semana do Meio Ambiente (AEAARP), PHB Industrial S/A, 2009.

PRADELLA, J. G. C. *Biopolímeros e Intermediários Químicos*. Relatório técnico nº. 84396-205. Centro de Tecnologia de Processos e Produtos. Laboratório de Biotecnologia Industrial – LBI/CTPP. São Paulo, 2006.

RAY, S. S.; BOUSMINA, M. *Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world*. Progress in Materials Science, v. 50, nº 8, 2005.

REDDY, C.S.K.; RASHMI, R.G.; KALIA, V.C. *Polyhydroxyalkanoates: an overview*. Bioresource Technology, v. 87, p. 137-146, 2003.

RODRIGUES, A.D. *Estudo da Produção de Polihidroxibutirato por Cupriavidus necator em fermentação no estado sólido*. Dissertação de Mestrado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

ROSA, D.S.; FRANCO, B.L.M.; CALIL, M.R. 2001. *Biodegradabilidade e Propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas*. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 11, nº 2, p. 82-88, 2001.

ROSA, D.S.; CHUI, Q. S. H.; PANTANO, R. F.; AGNELLI, J.A.M. *Avaliação da Biodegradação de Poli- $\beta$ -(Hidroxibutirato), Poli- $\beta$ -(Hidroxibutirato-covalerato) e Poli- $\epsilon$ -(caprolactona) em Solo Compostado*. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 12, nº 4, p. 311-317, 2002.

SAEGUSA, H.; SHIRAKI, M.; KANAI, C.; SAITO, T. *Cloning of an Intracellular Poly[D(-)-3-Hydroxybutyrate] Depolymerase Gene from Ralstonia eutropha H16 and Characterization of the Gene Product*. *Journal Bacteriology*, v. 183, nº 1, p. 94-100, 2001.

SARUUL, P.; SRIENC, F.; SOMERS, D.A.; SAMAC, D.A. *Production of a Biodegradable Plastic Polymer, Poly- $\beta$ -Hydroxybutyrate, in Transgenic Alfalfa*. *Crop Science*, v. 42, p.919-927, 2002.

SILVA, J.V.L. *Demandas e habilidades da biofabricação de tecidos para cirurgias reconstrutivas*. I Workshop INCT Biofabricação, 2009.

SILVA, L.F.; GOMEZ, J.G.C. *Produção biotecnológica de poli-hidroxialacanoatos para a geração de polímeros biodegradáveis no Brasil*. *Química Nova*, v. 30, nº 7, p. 1732-1743, 2007.

SQUIO, C. R.; ARAGÃO, G. M. F. *Estratégias de cultivo para produção dos plásticos biodegradáveis poli(3-Hidroxibutirato) e poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) por bactérias*. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, nº 4, 2004.

STAINKI, D.R. *Citologia e Morfologia bacteriana*. Notas de aula da disciplina de Microbiologia Geral. Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, 2010.

SUDESH, K.; ABE, H.; DOI, Y. *Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters*. *Progress in Polymer Science*, v. 25, p. 1503-1555, 2000.

SUN, J.; DOMMELEN, A.V.; IMPE, J.V.; VANDERLEYDEN, J. *Involvement of glnB, glnZ, and glnD Genes in the Regulation of Poly-3-Hydroxybutyrate Biosynthesis by Ammonia in Azospirillum brasilense Sp7*. Applied and environmental microbiology, v. 68, p. 2985-988, 2002.

SUZUKI, S.; IKADA, Y. *Medical Applications*. In: AURAS, R.; LIM, L.; SELKE, S.E.M.; TSUJI, H. *Poly (lactic acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2010.

TADA, E.S. *Blendas com Poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e copolímeros aleatórios: Comportamento de fases e cinética de cristalização*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2009.

TECHMEDICAL. <http://www.techmedical.com.br/novo/produtos/index/11>. Acesso em 20 de abril de 2012.

TELLES, M.R.; SARAN, L.M. UNÉIA-TREVISOLLI, S.H.U. *Produção, propriedades e aplicações de bioplástico obtido a partir da cana-de-açúcar*. Ciência & Tecnologia, v. 2, nº 1, p. 52-63, 2011.

YORK, G.M.; JUNKER, B.H.; STUBBE, J.; SINSKEY, A.J. *Accumulation of the PhaP Phasin of Ralstonia eutropha Is Dependent on Production of Polyhydroxybutyrate in Cells*. Journal Bacteriology, v. 183, nº 14, p. 4217-4226, 2001a.

ZORTÉA, M.E.B. *Estratégias de cultivo utilizando resíduos das indústrias processadoras de alimentos e óleo de soja para a produção de Poli(3-hidroxibutirato)*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, 2012.