

**Fundação Escola Técnica Liberato Salzano
Vieira da Cunha
Curso Técnico em Química**

**Marina Duarte Martins
Pedro Henrique Stecanella**

**USO DA BIOAUMENTAÇÃO PARA A
ANÁLISE DA BIODEGRADABILIDADE
DE POLÍMEROS**

**NOVO HAMBURGO
2023**

**Marina Duarte Martins
Pedro Henrique Stecanella**

**USO DA BIOAUMENTAÇÃO PARA A
ANÁLISE DA BIODEGRADABILIDADE
DE POLÍMEROS**

Relatório de Pesquisa apresentado no
Curso Técnico de Química da Fundação
Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da
Cunha

Orientador(a): Schana Andréia da Silva
Coorientador(a): Maria Angélica Thiele
Fracassi

NOVO HAMBURGO
2023

RESUMO

A crescente utilização de polímeros derivados do petróleo corrobora a preocupação global quanto ao descarte de lixo, justamente pelo fato de que grande parte desses materiais demoram centenas de anos para se degradar na natureza. A gravidade de tamanha poluição plástica no mundo pode ser evidenciada, por exemplo, por estudos acerca do Antropoceno, visto que se observa a presença e persistência desses resíduos em lugares e condições até então nunca vistas, como rochas, lençóis freáticos e tecido humano. Os polímeros biodegradáveis representam uma forma promissora de reduzir a quantidade de resíduos plásticos descartados, no entanto, o longo tempo de duração e os altos custos para os testes de biodegradabilidade existentes são empecilhos determinantes no desenvolvimento de novos polímeros biodegradáveis. A importância destes testes se deve não só a urgência de desenvolvimento de novos polímeros biodegradáveis, como também pela fiscalização de polímeros comercializados como biodegradáveis. Este trabalho propõe um novo método acelerado para este fim, baseado no uso da bioaumentação em solo com extrato de levedura. A investigação de métodos que sejam menos demorados engloba empenhos direcionados tanto ao aperfeiçoamento do método, quanto à aceleração do próprio processo de biodegradação de polímeros. Inicialmente, realizou-se análises microbiológicas a fim de quantificar os microrganismos presentes no solo, após, verificou-se três métodos de bioaumentação com diferentes fontes de nutrientes: sulfato de amônio e dihidrogenofosfato de potássio, extrato de levedura e caldo nutriente. Após analisar a curva de crescimento microbiológico, bactérias e fungos do meio, foi possível definir extrato de levedura e caldo nutriente como as de melhores desempenhos, com isto, estas fontes de nutrientes foram testadas quanto à produção de CO₂, utilizando o respirômetro de Bartha, uma vidraria de baixo custo e fácil manuseio. Examinou-se a curva de CO₂ deste teste e a fonte de nutriente escolhida para realizar o bioaumento em solo foi o extrato de levedura. Sendo assim, este foi empregado em uma bateria de teste de 28 dias, para avaliar o desempenho de diferentes níveis de bioaumento do solo na degradação de celulose microcristalina (CMC). Com isto, reduziu-se o período de teste de 45-180 dias, conforme ASTM D5338 e ISO 14855, para 28 dias. Pelos resultados obtidos, conclui-se que o método desenvolvido tem se mostrado promissor para a realização de testes acelerados, uma vez que a biodegradação da celulose microcristalina (padrão positivo) foi de 69,95% com o Solo 50% bioaumentado e 42,28% com o Solo Natural. A partir deste resultado, iniciou-se uma nova bateria para teste de CMC, Polihidroxibutirato (PHB) e Polipropileno (PP). A CMC, para 21 dias deste teste, apresentou degradação de 67,44%, já o polipropileno apresentou degradação de 7,52%, a baixa taxa de biodegradabilidade do controle negativo é um fator fundamental que corrobora com a validação do método proposto, tendo em vista que sua degradação está condizente com os dados obtidos na literatura para as normas de biodegradação. Após esta importante validação do método, iniciou-se outra bateria, a fim de testar a biodegradabilidade de plásticos comercializados como biodegradáveis no mercado: sacolas, copos e canudos plásticos. Este trabalho realiza todos os seus testes com Respirômetros de Bartha, visando diminuição dos custos do método proposto. Além disso, todo o resíduo formado é de fácil tratamento, uma vez que o método proposto, diferentemente das normas, não utiliza bário nas análises, pois têm-se em vista que o Bário, mesmo em pequenas concentrações, é nocivo à saúde e ao meio ambiente.

Bioaumentação; Biodegradabilidade; Polímeros;

ABSTRACT

The increasing use of petroleum-derived polymers corroborates the global concern regarding waste disposal, precisely because most of these materials take hundreds of years to degrade in nature. The severity of such plastic pollution in the world can be demonstrated, for example, by studies on the Anthropocene, as the presence and persistence of this waste is observed in places and conditions never seen before, such as rocks, groundwater and human tissue. Biodegradable polymers represent a promising way to reduce the amount of discarded plastic waste, however, the long duration and high costs of existing biodegradability tests are decisive obstacles in the development of new biodegradable polymers. The importance of these tests is due not only to the urgency of developing new biodegradable polymers, but also to the inspection of polymers marketed as biodegradable. This work proposes a new accelerated method for this purpose, based on the use of bioaugmentation in soil with yeast extract. The investigation of methods that are less time-consuming involves efforts aimed at both improving the method and accelerating the polymer biodegradation process itself. Initially, microbiological analyzes were carried out in order to quantify the microorganisms present in the soil, after which three bioaugmentation methods were verified with different sources of nutrients: ammonium sulfate and potassium dihydrogen phosphate, yeast extract and nutrient broth. After analyzing the microbiological growth curve, bacteria and fungi in the medium, it was possible to define yeast extract and nutrient broth as the best performers. Therefore, these nutrient sources were tested for CO₂ production, using the Bartha respirometer, low-cost and easy-to-use glassware. The CO₂ curve of this test was examined and the nutrient source chosen to carry out bioaugmentation in soil was yeast extract. Therefore, it was used in a 28-day test battery to evaluate the performance of different levels of soil bioaugmentation in the degradation of microcrystalline cellulose (CMC). This reduced the testing period from 45-180 days, in accordance with ASTM D5338 and ISO 14855, to 28 days. From the results obtained, it is concluded that the method developed has shown promise for carrying out accelerated tests, since the biodegradation of microcrystalline cellulose (positive standard) was 69.95% with 50% bioaugmented soil and 42.28% with Natural Soil. Based on this result, a new battery was started to test CMC, Polyhydroxybutyrate (PHB) and Polypropylene (PP). The CMC, for 21 days of this test, showed a degradation of 67.44%, while the polypropylene showed a degradation of 7.52%, the low biodegradability rate of the negative control is a fundamental factor that corroborates the validation of the proposed method, having considering that its degradation is consistent with data obtained in the literature for biodegradation standards. After this important validation of the method, another battery began to test the biodegradability of plastics sold as biodegradable on the market: plastic bags, cups and straws. This work carries out all its tests with Bartha respirometers, aiming to reduce the costs of the proposed method. Furthermore, all the residue formed is easy to treat, since the proposed method, unlike the standards, does not use barium in the analyses, as it is considered that barium, even in small concentrations, is harmful to health and safety. environment.

Bioaugmentation; Biodegradability; Polymers;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Respirômetro de Bartha	16
Figura 2: Distribuição Respirométrica para Análise de Métodos de Bioaumentação.	17
Figura 3: Distribuição Respirométrica para Análise da Biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Níveis de Bioaumentação	18
Figura 4: Tabela de Composição Provável da Alcalinidade	19
Figura 5: Distribuição Respirométrica para Análise da Biodegradabilidade dos polímeros CMC, PP E PHB	20
Figura 6: Distribuição Respirométrica para Análise da Biodegradabilidade de Polímeros Comercializados como biodegradáveis	22
Figura 7: Curva de Crescimento bacteriano	24
Figura 8: Curva de Crescimento fúngico.....	24
Figura 9: Gráfico da degradação de CMC em função do período de teste	25
Figura 10: Gráfico da degradação de CMC, PP e PHB em função do período de teste	26
Figura 11- Correlação de vibrações de grupos funcionais e frequência de bandas da espectroscopia por infravermelho	27
Figura 12: Espectroscopia de Infravermelho Para Análise de Sacola Plástica de Amido Termoplástico	28
Figura 13: Espectroscopia de Infravermelho Para Análise de Copo Descartável de Poliestireno	29
Figura 14: Espectroscopia de Infravermelho Para Análise de Canudo Plástico de Polipropileno	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
1.1 Justificativa	08
1.2 Problema	09
1.3 Hipóteses	09
1.4 Objetivos	09
1.4.1 Geral	09
1.4.2 Específicos	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	10
3 MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1 Análises Prévias	13
3.1.1 Análises do solo	13
3.1.2 Análises microbiológicas (Contagem Padrão por Placas)	14
3.2 Métodos de Bioaumentação do Solo	14
3.2.1 Método de cultivo em solo com caldo nutriente	15
3.2.2 Método de cultivo em solo com extrato de levedura	15
3.2.3 Método de cultivo em solo com fonte nutriente inorgânica	15
3.3 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Curva de Crescimento Microbiológico	16
3.4 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Respirimetria de Bartha	16
3.5 Análise da Biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Níveis de Bioaumentação	18
3.5.1 Comprovação do Bioaumento em Solo	18
3.5.2 Distribuição Respirométrica	18
3.5.3 Curva de CO ₂	19
3.5.4 Repetição da Análise da biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Solo 100% Bioaumentado	20
3.6 Uso Do Nível Ideal De Bioaumentação Para Análise Da Biodegradabilidade Dos Polímeros CMC, PP E PHB	20
3.6.1 Distribuição Respirométrica	20
3.6.2 Curva de CO ₂	21
3.6.3 Teste de Ecotoxicidade Segundo Norma ASTM D 5951: 2002	21
3.7 Uso Da Bioaumentação Para Análise Da Biodegradabilidade De Polímeros Comercializados Como Biodegradáveis	22
3.7.1 Distribuição Respirométrica	22
3.7.2 Curva de CO ₂	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
4.1 Análises Prévias	23
4.2 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Curva de Crescimento Microbiológico	23
4.3 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Respirimetria de Bartha	24
4.4 Análise da Biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Níveis de Bioaumentação	25
4.5 Uso Do Nível Ideal De Bioaumentação Para Análise Da Biodegradabilidade Dos Polímeros CMC, PP E PHB	26
4.6 Uso Da Bioaumentação Para Análise Da Biodegradabilidade De Polímeros Comercializados Como Biodegradáveis	26

4.6.1 Análise por Espectroscopia de Infravermelho de Sacola Plástica (TPS)	27
4.6.2 Análise por Espectroscopia de Infravermelho de Copo Descartável (PS)	29
4.6.3 Análise por Espectroscopia de Infravermelho de Canudo Plástico (PP)	30
4.6.4 Avaliação da Espectroscopia de Infravermelho das Amostras de Polímeros ..	31
5 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Todos os anos são produzidas 400 milhões de toneladas de plástico, das quais menos de 10% são recicladas (World Wide Fund, 2019; Atlas do Plástico, 2020). A poluição plástica é um dos grandes desafios do Antropoceno, ao chegar ao ambiente marinho ou em contato com solo, os detritos plásticos ficam sujeitos a condições antrópicas e ambientais que resultam em novos materiais. (DE-LA-TORRE et al., 2021). A persistência e onipresença do plástico levaram os pesquisadores a considerarem esse material o principal indicador para o Antropoceno, tendo como ponto de partida o ano de 1950 (OLIVATTO et al., 2018).

Os resíduos plásticos não trouxeram problemas irreversíveis somente ao meio ambiente, trouxeram também dificuldades a sociedades emergentes, que hoje são vítimas de um novo mercado de resíduos plásticos. Segundo Delmas e Burbano (2011, p. 65), o *greenwashing* é “a interseção de dois comportamentos da empresa: mau desempenho ambiental e comunicação positiva sobre o desempenho ambiental”. Grandes empresas e países desenvolvidos encaminham seus resíduos plásticos a países subdesenvolvidos para serem, em teoria, reciclados, porém estes resíduos não são reaproveitados e acabam prejudicando essas populações. Ao encontro disto, um dos 17 objetivos das Nações Unidas no Brasil até 2030 é estabelecer consumo e produção sustentáveis, reduzindo substancialmente a geração de resíduos de materiais de origem fóssil.

1.1 Justificativa

Os polímeros biodegradáveis representam uma forma promissora de reduzir a quantidade de resíduos plásticos descartados em aterros sanitários, sendo a compostagem a alternativa preferida para seu descarte (E. CASTRO-AGUIRRE et al., 2017). Porém, o longo tempo de duração e os altos custos para os testes de biodegradabilidade existentes são empecilhos determinantes no desenvolvimento de novos polímeros biodegradáveis, comprometendo algumas etapas deste processo.

Os equipamentos requisitados pelas normas de biodegradabilidade demandam, além de alto investimento financeiro, uma infraestrutura para laboratórios de testes muitas vezes inviável. Tendo em vista que a biodegradabilidade e os atributos mecânicos que demonstram o potencial do material final são características que precisam, muitas vezes, serem revisadas ao longo do desenvolvimento de novos polímeros, fica evidente a necessidade de estudos acerca do desenvolvimento de métodos que diminuam os custos e o tempo para avaliação da biodegradabilidade de polímeros.

A busca por métodos menos demorados para a medição da biodegradabilidade envolve esforços tanto para reduzir o tempo gasto na caracterização dos produtos de degradação quanto para acelerar o próprio processo de biodegradação (S.A. da SILVA et al., 2020).

1.2 Problema

É possível, a partir da bioaugmentação em solo, reduzir o tempo e os custos para a realização dos testes de biodegradabilidade de polímeros?

1.3 Hipóteses

O método de bioaugmentação se mostra favorável à utilização em testes que visam analisar a biodegradabilidade de polímeros. É possível utilizá-lo em conjunto com técnicas analíticas, para que assim se determine o teor de degradação dos polímeros em teste.

A utilização do Respirômetro de Bartha, conciliado ao bioaumento e a técnicas titulométricas para determinação de CO₂, são capazes de gerar resultados condizentes com os obtidos nas normas existentes, mas com demanda de tempo e investimento financeiro inferiores a estas.

1.4 Objetivos

1.4.1 Geral

Desenvolver um método acelerado de análise da biodegradabilidade de polímeros utilizando a técnica de bioaugmentação.

1.4.2 Específicos

- Testar três diferentes métodos de bioaumentação do solo.
- Definir um método de bioaumentação do solo para teste de biodegradação de polímeros.
- Testar diferentes níveis de bioaumentação do solo.
- Definir um nível de bioaumentação ideal para teste de biodegradação de polímeros.
- Testar biodegradabilidade solo normal e bioaumentado;
- Substituir os métodos de captura de CO₂ recomendados pelas normas, utilizando no lugar destes o Respirômetro de Bartha em conjunto com a solução de captura para CO₂.
- Reduzir de 45 dias, como recomendado pela ASTM D5338:2015 e ISO-14588:2019, para 28 dias o período de aplicação de teste de biodegradabilidade de polímeros, visando uma redução nos custos gerados pelo teste.
- Testar biodegradabilidade de polímeros comercializados como biodegradáveis com o método acelerado.
- Realizar teste de ecotoxicidade nos solos após processos de biodegradação, conforme norma ASTM D5951:2002.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O desenvolvimento de novos polímeros biodegradáveis como forma de criar materiais sustentáveis tem exigido o desenvolvimento de metodologias para avaliar e entender sua biodegradação (E. CASTRO-AGUIRRE et al., 2017). Do ponto de vista da constituição química do polímero, a principal característica que torna o polímero biodegradável está relacionada à sua estrutura polimérica e não à sua origem (PATHAK, CLR, BLESSY, 2014).

Segundo Castro-Aguirre et al. (2017), embora técnicas como observações visuais, medidas de perda de peso, mudanças nas propriedades mecânicas e mudanças no peso molecular possam fornecer informações sobre o processo de degradação de um polímero, elas não demonstram necessariamente a biodegradação; assim, os métodos respirométricos, nos quais se mede o consumo de

oxigênio e/ou a evolução de dióxido de carbono (CO₂), tornaram-se a técnica preferida para tais avaliações. Bher, Cho e Auras (2023) relatam que para polímeros de fontes naturais, como celulose e amido, a fase de biodegradação começa quase imediatamente, e a taxa de biodegradação é alta, pois a despolimerização por enzimas e a bioassimilação ocorrem rapidamente sem requisito para uma fase de atraso de condicionamento.

O objetivo da biodegradação de polímeros é a quebra total de sua estrutura molecular e sua completa assimilação de volta ao meio ambiente pela ação de microorganismos naturais como bactérias, fungos e algas em um período de tempo razoável, meses a alguns anos (E. CASTRO-AGUIRRE et al., 2017). Quanto a isso, as bactérias são consideradas o principal domínio microbiano responsável pelo processo de biodegradação (APINYA; SOMBATSOMPOP; PRAPAFDEE, 2015).

Na maioria dos casos, ao investigar um material plástico, uma referência ou substância de controle conhecida por biodegradar é necessária para verificar a atividade do inóculo. Se não for observada biodegradação suficiente (mínimo de 70% para a celulose em 45 dias) com a referência positiva, o teste deve ser considerado inválido e deve ser repetido, usando novo inóculo. (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION).

A bioaugmentação, é a adição de microrganismos nativos ou comerciais para aumentar a comunidade microbiana existente, potencializando a biodegradação (ADAMS et al., 2015). Porém, Aikaterini et al. (2017) demonstra que o uso de cepas microbianas locais é preferido pois essas cepas são bem adaptadas, aclimatadas e adequadas para se propagar em processos de biorremediação. Fatores abióticos (tipo e textura do solo, teor de oxigênio, umidade, temperatura, pH, entre outros) também influenciam o sucesso da biorremediação (DINDAR et al., 2013). Ainda segundo Adams et al. (2015), este tipo de biorremediação envolve a produção de energia em uma reação redox dentro das células microbianas, dentre essas reações, incluem a respiração e outras funções biológicas necessárias para a manutenção e reprodução celular.

Durante a biodegradação aeróbica, os microrganismos usam o polímero como fonte de carbono para crescimento e seus processos metabólicos produzem CO₂. Nos métodos respirométricos de avaliação da biodegradabilidade, o CO₂ evoluído pode ser medido de forma discreta ou contínua usando diferentes técnicas. Na respirometria de medida cumulativa (CMR), o O CO₂ é aprisionado em uma solução, por exemplo, hidróxido de sódio (NaOH), durante todo o teste e então quantificado por titulação (E. CASTRO-AGUIRRE et al., 2017).

A norma ASTM D5338:15 instrui que a determinação da quantidade de CO₂ gerada no processo seja feita a partir da reação de precipitação do cloreto de bário BaCl₂ com o CO₂, gerando-se carbonato de bário (BaCO₃) e então assim se determina a quantidade de hidroxilas restante na solução por titulação de ponto final com HCl usando fenolftaleína como indicador. Porém, como demonstra GRAÇA et al., (2022), o bário em apenas pequenas concentrações é nocivo à saúde e ao meio ambiente, tornando-se um desafio para os processos de tratamento de águas e efluentes, devido à sua complexidade de remoção e potencial de contaminação. Em relação a esta emissão de CO₂, com a utilização do respirômetro de Bartha faz-se a medição sem a necessidade de um grande espaço e nem da alimentação constante de oxigênio (FECHINE; AMBRÓSIO; ALVES; 2012).

Na determinação da biodegradabilidade de polímeros, a compostagem tem sido aceita mundialmente como uma das tecnologias mais promissoras devido à alta diversidade microbiana de composto que demonstra boa capacidade de degradação potencial para materiais poliméricos (JH Zhao et al., 2005). O procedimento, descrito na norma ASTM D5338:15 foi desenvolvido para permitir a determinação da taxa e grau de biodegradabilidade aeróbia de produtos plásticos quando colocados em um processo de compostagem controlada. Ainda segundo a mesma norma, a temperatura é mantida a 58°C, sendo esta constante durante o ensaio, além disso, toda mudança de temperatura deve ser justificada e claramente indicada no relatório do teste.

Vale ressaltar que, embora os testes padrão de biodegradação utilizem a temperatura de 58 °C, existem vários trabalhos que propõem o uso do respirômetro de Bartha a 20 ou 28 °C, sem uma explicação detalhada de tal escolha (S.A. da SILVA et al., 2020). Nesse contexto, ainda segundo S.A. da Silva et al. (2020), seus resultados de que houve aumento significativo na taxa de emissão de dióxido de carbono indicando maior atividade microbiana, comprovam que 58 °C é a condição adequada para testes com o respirômetro de Bartha.

Segundo SOARES DO NASCIMENTO, J. (2012, p. 286) isto se atribuí ao fato de que a temperaturas próximas aos 60°C ocorre preferencialmente o desenvolvimento de microrganismos termofílicos, que apresentam maior atividade de biodegradação quando comparado aos demais microrganismos. Além de proporcionar maior taxa de biodegradação, segundo Valente et al. (2009), a utilização de

temperaturas acima de 50°C proporcionam condições desfavoráveis para a sobrevivência e para o desenvolvimento dos microrganismos patogênicos, que geralmente são mesofílicos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho se caracteriza como uma pesquisa científica aplicada quantitativa exploratória experimental de laboratório. A pesquisa está dividida em 5 etapas:

- i. “Curva de Crescimento Microbiológico”;
- ii. “Análise de Métodos de Bioaumentação do Solo”;
- iii. “Análise de Níveis de Bioaumentação”;
- iv. “Uso da Bioaumentação para Análise da Biodegradabilidade dos Polímeros CMC, PP e PHB”;
- v. “Uso da Bioaumentação para Análise da Biodegradabilidade de Polímeros Comercializados como Biodegradáveis”.

3.1 Análises Prévias

3.1.1 Análises do solo

O solo utilizado na bioaumentação foi adquirido como “solo de jardinagem”, este serviu de base para todos os testes sem que houvesse a substituição por outro durante as análises. O solo foi peneirado (2 mm) e, posteriormente, passou por medições de pH, teor de carbono orgânico (TOC) e umidade. Para as medições desejadas, exceto o TOC, foi utilizado como base o Manual de Métodos de Análise de Solo (EMBRAPA, 2017, p. 199, 360). A determinação do teor de carbono orgânico foi realizada nas dependências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em um analisador de carbono orgânico total próprio para esta análise.

3.1.2 Análises microbiológicas (Contagem Padrão por Placas)

Após as análises físicas e químicas do meio, foi realizada a contagem inicial dos microrganismos presentes no solo. Para isto, foi utilizado o método da Contagem

Padrão em Placas (CPP) que permite realizar a análise microbiológica de maneira quantitativa. Esta técnica consiste na diluição decimal seriada da solução inicial de amostra, onde são adicionadas às placas de petri alíquotas de cada diluição feita.

As alíquotas foram adicionadas a meios de crescimento específicos, sendo o meio PCA para bactérias e o ágar batata acidificado para fungos. O período de incubação e as temperaturas utilizadas para o crescimento foi de 35°C e 48 horas para bactérias e 20°C e 120 horas para fungos, como indicado na Instrução Normativa SDA n° 62 de 26/08/2003.

Em termos laboratoriais, a execução desta técnica é bem simples, consistindo no plaqueamento de alíquotas da amostra, homogeneizada e diluída, em meio de cultura padrão como o "*Plate Count Agar*" (PCA). As placas são então, incubadas em condições de tempo e temperaturas adequados, para que haja o desenvolvimento das colônias que serão enumeradas. (A. SOUZA SANT'ANA et al., 2002).

3.2 Métodos de Bioaumentação do Solo

Para que se obtivesse um melhor resultado com a técnica de bioaumentação em solo, foram testadas 3 diferentes fontes nutrientes para o cultivo de microrganismos: caldo nutriente, extrato de levedura e compostos inorgânicos (di-hidrogenofosfato de potássio e sulfato de amônio).

O método de cultivo de microrganismos feito diretamente no solo foi considerado, pois interpretou-se que há melhor adaptação dos fungos e bactérias ao meio. Os microrganismos podem ser muito sensíveis à mudanças de meio, isso se dá por alguns fatores, como a umidade, o pH e também a disponibilidade de nutrientes. A fim de proporcionar maior abrangência ao estudo dos métodos, o método de cultivo em solo foi testado com duas diferentes fontes de nutrientes, sendo uma de origem orgânica e outra inorgânica.

3.2.1 Método de cultivo em solo com caldo nutriente

O método de cultivo de microrganismos com caldo nutriente é indicado para que se obtenha um crescimento em massa. Nesta técnica uma alíquota do caldo nutriente, estéril, foi posta em 100g de solo e permaneceu em estufa a 35°C durante 2 dias. Depois deste período o solo com acréscimo de caldo foi misturado com outros 100g de solo natural, resultando em um novo solo com 50% de bioaumento.

Não foi utilizado solo com 100% de bioaumentação devido ao fato de o caldo nutriente ser preparado com água, com isso a umidade do solo ficaria fora dos padrões recomendados pelo Manual de Métodos de Análise de Solo (EMBRAPA, 2017, p. 199, 360).

3.2.2 Método de cultivo em solo com extrato de levedura

A bioaumentação em solo com extrato de levedura tornou-se objeto de estudo, pois este é um composto orgânico que apresenta bons níveis de carbono e nitrogênio, necessários para o desenvolvimento microbiano. Nesta etapa foram postos 0,25 gramas de extrato de levedura para cada 50 de solo natural.

3.2.3 Método de cultivo em solo com fonte nutriente inorgânica

A bioaumentação em solo com composto inorgânico (sulfato de amônio em conjunto com o dihidrogenofosfato de potássio) tornou-se objeto de estudo, pois estes proporcionam ao meio nitrogênio, enxofre e fósforo. O carbono utilizado pelos fungos e bactérias, neste método, é proveniente do CO₂ produzido no próprio meio. Por conter substâncias inorgânicas, há um crescimento majoritário de microrganismos que realizam quimiossíntese, sendo estes os quimiolitotróficos.

Para o acréscimo das substâncias inorgânicas foram feitos cálculos que levam em consideração a relação carbono/nitrogênio e carbono/fósforo, a partir dos resultados obtidos com a análise de Teor de Carbono Orgânico Total.

3.3 Análise de Métodos de Bioaumentação com Curva de Crescimento Microbiológico

Realizou-se os três métodos de bioaumentação, descritos nos itens anteriores, e analisou-se a curva de crescimento microbiológico de cada um. Para isso, fez-se a incubação dos solos pelo mesmo período (7 dias) a 35°C e a cada dia fazia-se o plaqueamento de cada solo, utilizando meio PCA para bactérias e ágar batata acidificado para fungos, nas temperaturas de 35°C e 20°C, respectivamente.

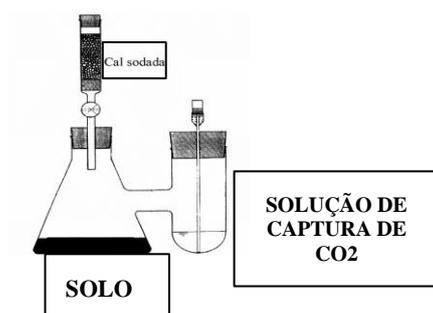
3.4 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Respirometria de Bartha

A partir desta etapa, adotou-se o respirômetro de Bartha como forma de quantificar o CO₂ produzido pelo solo. Esta vidraria possui algumas vantagens quando comparada ao método proposto pelas normas, sendo as principais o baixo custo operacional e o fácil manuseio.

A respirometria de Bartha consiste em um sistema fechado, onde o solo serve como meio aeróbico para avaliar a biodegradabilidade das amostras testadas, o hidróxido de potássio serve como solução de captura para o CO₂ produzido pelo solo e a cal sodada serve como filtro para que o ar entre livre de CO₂ no sistema. A solução de captura é retirada pela cânula presente no braço lateral do respirômetro, para que seja analisada, posteriormente, por técnicas titulométricas utilizando HCl como titulante.

A *Figura 1* representa o esquema de funcionamento do respirômetro de Bartha.

Figura 1- Respirômetro de Bartha

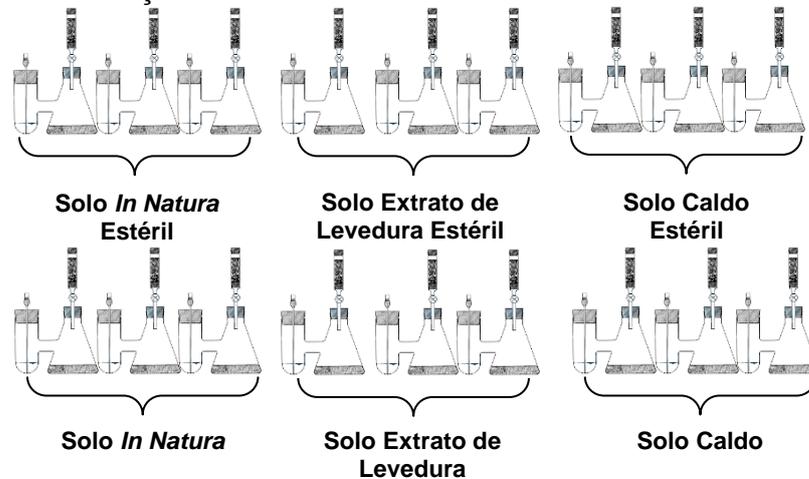


Fonte: os autores (2023)

Os métodos que demonstraram melhor desempenho ao analisar a Curva de Crescimento Microbiológico, extrato de levedura e caldo nutriente, após os 6 dias de estufa, foram distribuídos entre 18 respirômetros de Bartha, como indicado na *Figura 2*, a fim de avaliar atividade microbológica a partir da produção de CO₂. Estes foram divididos entre: Solo estéril, solo *in natura*, solo acrescido de caldo e solo com extrato de levedura. Cada respirômetro foi pesado com 50 gramas de solo, procedimento que se dará em todos os próximos testes com os respirômetros de Bartha. Os

respirômetros ficaram em estufa a $58^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 dias, o CO_2 produzido foi determinado por retrotitulação a cada 2 dias.

Figura 2- Distribuição Respirométrica para Análise de Métodos de Bioaumentação.



Fonte: os autores (2023)

O propósito do solo estéril foi para fins de controle quanto a produção de CO_2 do meio sem a presença de microrganismos, o “branco” do teste. O solo *in natura* foi o controle da produção de CO_2 dos microrganismos iniciais, possibilitando calcular, nos solos bioaumentados, a taxa de aumento da produção de CO_2 a partir das técnicas aplicadas de bioaumentação.

Tendo em vista a curva de produção de CO_2 nos respiômetros com extrato de levedura, este foi escolhido como a fonte de nutriente de melhor desempenho. Além disso, levaram-se em consideração fatores negativos do método com caldo nutriente, como seu desempenho modesto como fonte de nutriente, maior dificuldade de preparo do solo bioaumentado, mau cheiro, empolamento do solo causando má distribuição de massa e complicações na pesagem.

3.5 Análise da Biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Níveis de Bioaumentação

Após a escolha da fonte de nutriente ideal, extrato de levedura, realizou-se uma bateria de testes para avaliar qual nível desta seria o adequado para a biodegradação de polímeros. Para isto, utilizou-se níveis de 50% e 100% de solo bioaumentado, a amostra testada nesta primeira etapa foi a Celulose Microcristalina (CMC). Em cada

respirômetro foram colocados 50 gramas de solo e aqueles que estão realizando teste com CMC, acrescidos de 0,25 gramas deste composto. O solo 50% bioaumentado é resultante de uma mistura 1:1 entre solo 100% bioaumentado e o solo natural.

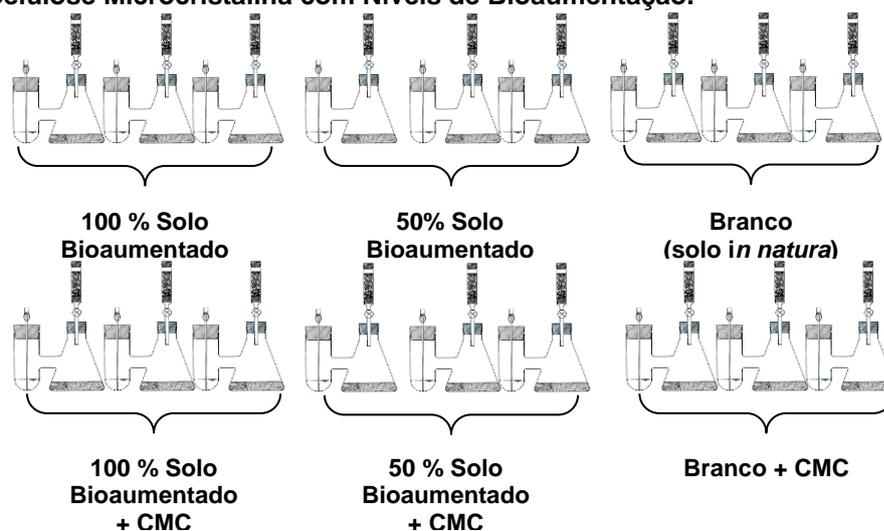
3.5.1 Comprovação do Bioaumento em Solo

Para comprovar que os solos aplicados nesta bateria estavam bioaumentados, antes de realizar a distribuição respirométrica dos solos 50%, 100% e *in natura*, fez-se uma Contagem Padrão em Placas para fungos e bactérias, a fim de quantificar as UFC's presentes em cada um dos solos utilizados.

3.5.2 Distribuição Respirométrica

Utilizou-se de 18 respirômetros de Bartha, configurados conforme *Figura 3*, para esta bateria. Devido ao tempo de duração do teste, aerou-se o meio com perlita, adicionando-se 5 gramas de perlita em cada respirômetro, ou seja, a cada 50 gramas de solo.

Figura 3- Distribuição Respirométrica para Análise da Biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Níveis de Bioaumentação.



Fonte: Elaborado pelos Autores (2023)

3.5.3 Curva de CO₂

A produção de CO₂ foi mensurada a partir da técnica de retrotitulação, as

massas obtidas de dióxido de carbono podem ser convertidas em porcentagem de degradação de CMC. Tendo em vista o equilíbrio químico que ocorre entre carbonato e bicarbonato, foi usada como referência para os cálculos a tabela de Composição Provável da Alcalinidade, que pode ser observada na *Figura 4*, conforme Norma NBR 13736:96, Determinação de Alcalinidade, Métodos Potenciométricos e Titulométricos. A partir da tabela é possível saber a concentração provável de OH^- , HCO_3^- e CO_3^{2-} .

Figura 4- Tabela de Composição Provável da Alcalinidade

Relação entre f & m	OH^- (ppm CaCO_3)	CO_3^{2-} (ppm CaCO_3)	HCO_3^- (ppm CaCO_3)
$f = m$	f	zero	zero
$2f = m$	zero	m	zero
$2f > m$	$2f - m$	$2(m - f)$	zero
$2f < m$	zero	$2f$	$m - 2f$
$f = \text{zero}$	zero	zero	m

Fonte: Norma NBR 13736:96.

Onde: “f” é o valor encontrado na alcalinidade parcial, “m” é o valor encontrado na alcalinidade total e “2f” é a alcalinidade parcial multiplicada 2 vezes. Os valores de “f” e “m” são correspondentes ao volume de HCl necessário para reagir com OH^- , HCO_3^- e CO_3^{2-} presentes no meio reacional.

3.5.4 Repetição da análise da biodegradabilidade da celulose microcristalina com solo 100% bioaumentado

Ao final das análises descritas no item 3.5, foi possível observar que o solo 100% bioaumentado apresentou umidade inferior aos demais solos testados. A água é fundamental para a atividade microbiana do solo, a fim de minimizar os efeitos da falta de umidade do solo, foi realizado o acréscimo de água em todos os respirômetros. Esta bateria de testes com o solo 100% bioaumentado teve duração total de 21 dias.

3.6 Uso do Nível Ideal de Bioaumentação para Análise da Biodegradabilidade dos Polímeros CMC, PP E PHB.

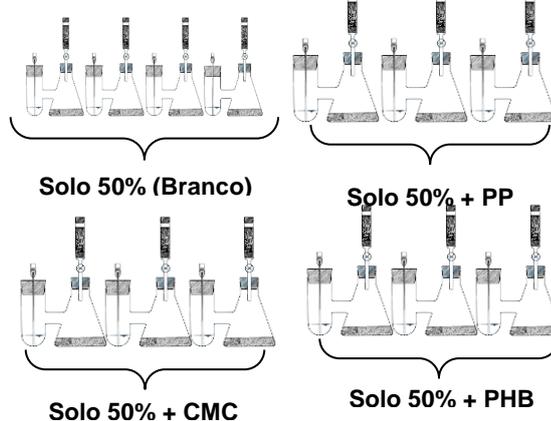
Após observar que o solo de melhor desempenho na Análise de Níveis de Bioaumentação foi o Solo 50% bioaumentado, este foi aplicado em uma nova bateria

de testes para avaliar o uso da bioaugmentação na biodegradação de CMC (controle positivo), PP (controle negativo) e PHB (polímero de teste). Os controles servem como parâmetro para avaliar a eficiência do método, sendo assim o controle positivo, ao final dos testes, deve ter alta taxa de degradação e o controle negativo deve apresentar baixa taxa de degradação.

3.6.1 Distribuição Respirométrica

Foram utilizados 13 respiômetros de Bartha, configurados conforme *Figura 5*, para esta bateria.

Figura 5- Distribuição Respiométrica para Análise da Biodegradabilidade dos polímeros CMC, PP e PHB.



Fonte: os autores (2023)

3.6.2 Curva de CO₂

A produção de CO₂ nesta bateria foi mensurada pelo mesmo método descrito no item 3.5.3, a partir da técnica de retrotitulação, as massas obtidas de dióxido de carbono são convertidas em porcentagem de degradação dos polímeros.

3.6.3 Teste de Ecotoxicidade segundo norma ASTM D5951:2002

Ao final desta bateria de testes, foi realizado o teste de ecotoxicidade do solo, a fim de avaliar a interferência tanto do bioaumento com extrato de levedura quanto da degradação dos polímeros testados. Para a realização deste teste, foi feito um

extrato concentrado e um extrato diluído para cada um dos solos utilizados na bateria de análises. Está sendo utilizado como controle de ecotoxicidade sementes de *Nasturtium Officinale*, comumente conhecido como agrião.

Ao final do teste de ecotoxicidade será feita uma comparação entre os solos testados e um padrão, assim será comprovado que o método proposto, visto que se utiliza apenas extrato de levedura, não tem potencial de contaminar o solo. Os resultados obtidos serão apresentados em taxa de sementes germinadas e sementes não germinadas, a obtenção dos resultados está prevista para o dia 24/10/2023.

3.7 Uso da Bioaugmentação Para Análise da Biodegradabilidade de Polímeros Comercializados Como Biodegradáveis.

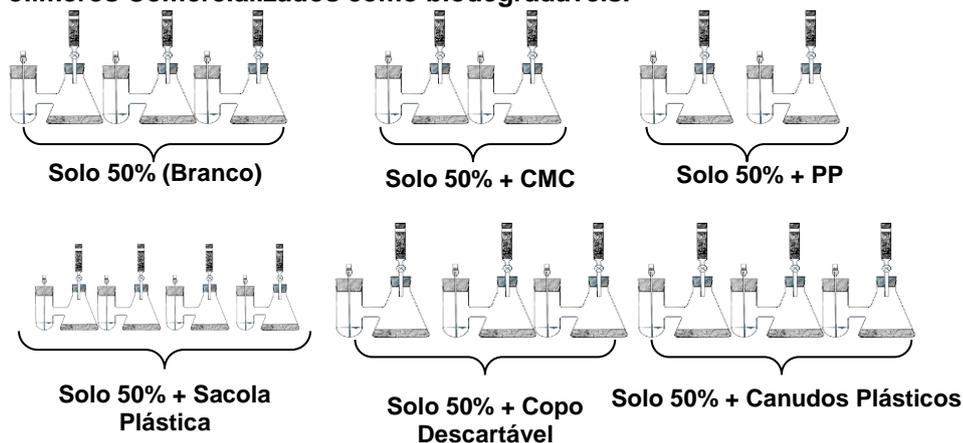
Nesta etapa, está sendo testada a biodegradabilidade de polímeros encontrados no mercado, comercializados como biodegradáveis. Para esta análise, utiliza-se sacola plástica, canudos plásticos e copos plásticos descartáveis. Esta bateria de testes tem seu término previsto para o dia 06/11/2023, porém é possível realizar uma estimativa antes mesmo do término, tendo em vista as duas outras curvas de biodegradação construídas com o método proposto.

A fim de verificar a provável composição de cada material, visto que esta informação não é encontrada nos rótulos das amostras de polímeros, fez-se análise de espectroscopia de infravermelho em cada uma das amostras, como observado nas *Figuras 12, 13 e 14*.

3.7.1 Distribuição Respirométrica

As amostras de polímeros, bem como os controles do teste (CMC e PP), foram distribuídos em Respirômetros de Bartha conforme *Figura 6*.

Figura 6- Distribuição Respirométrica para Análise da Biodegradabilidade de Polímeros Comercializados como biodegradáveis.



Fonte: os autores (2023)

3.7.2 Curva de CO₂

A produção de CO₂ nesta bateria está sendo mensurada pelo mesmo método descrito no item 3.5.3, a partir da técnica de retrotitulação, as massas obtidas de dióxido de carbono são convertidas em porcentagem de degradação dos polímeros.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análises Prévias

Para as análises prévias realizadas, foram obtidos os seguintes valores: pH= 7,82; umidade= 55,89%; TOC= 11,72%. Os resultados foram avaliados e se mostraram dentro do ideal quando comparados com os valores base utilizados do Manual de Métodos de Análise de Solo (EMBRAPA, 2017, p. 199, 360).

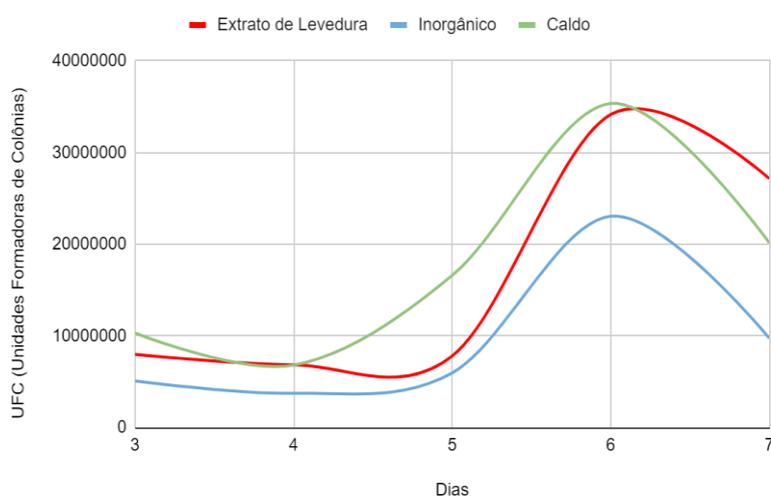
4.2 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Curva de Crescimento Microbiológico

Em relação a etapa de Curva de Crescimento Microbiológico, as *Fig.7 e Fig.8* a seguir demonstram que a fonte de nutriente de compostos inorgânicos inibiu o crescimento fúngico e teve um baixo desempenho para as bactérias, com isto, decidiu-

se eliminar este método e considerar os outros dois, caldo nutriente e extrato de levedura, para a próxima etapa de análise.

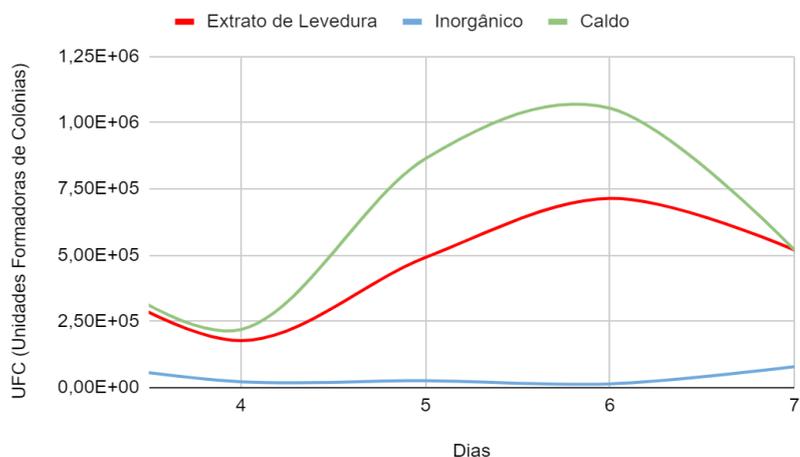
A partir destes dados foi possível definir o melhor tempo de incubação dos solos bioaumentados, 6 dias. Para isto, levou-se em consideração o dia em que houve os picos das curvas de crescimento microbiológico. Outra informação importante analisada foi o formato da curva do extrato de levedura, que mais se aproximou com o ideal para curva de crescimento microbiológico descrito na literatura. Analisando é possível perceber a fase de latência e também a fase exponencial seguida da morte das células.

Figura 7- Curva de Crescimento Bacteriano.



Fonte: os autores (2023)

Figura 8- Curva de Crescimento Fúngico.



Fonte: os autores (2023)

4.3 Análise de Métodos de Bioaumentação em Solo por Respirometria de Bartha

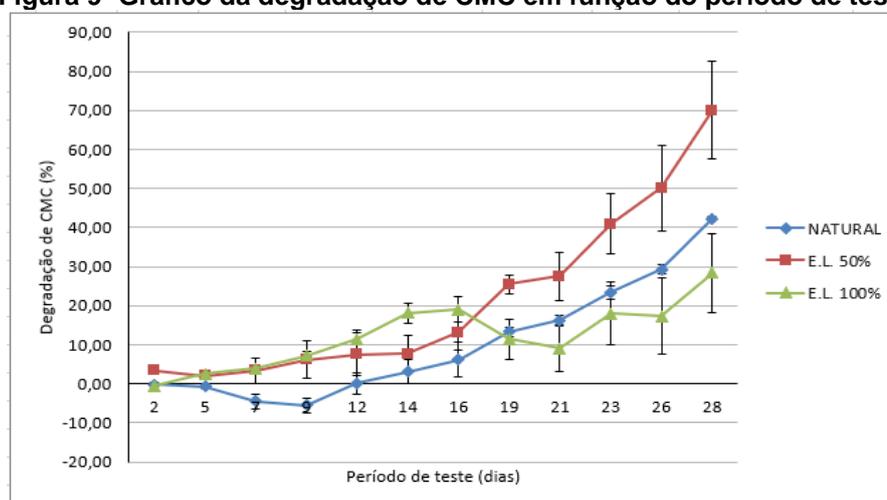
Quanto à Análise de Métodos de Bioaumentação, os solos estéreis demonstraram produção de CO₂ maior que os solo *in natura* e bioaumentados. Usando-se da busca na literatura, conjecturou-se que esta produção de CO₂ se trataria de produção química e não biológica, provinda da oxidação de matéria orgânica remanescente que a alta temperatura da autoclave proporcionou no momento da esterilização. Pensando nisso, foram considerados os resultados apenas dos solos não esterilizados.

Além da baixa produção de CO₂, o solo acrescido de caldo nutriente apresentou empolamento e mau cheiro, fatores que caracterizam o crescimento de microrganismos anaeróbios, fato que não se repetiu com o solo acrescido de extrato de levedura. Por esse motivo, o extrato de levedura como fonte nutriente se mostrou mais vantajoso, passando assim para a próxima etapa de testes.

Após a escolha da fonte nutriente ideal, realizou-se o teste de 28 dias para analisar o nível de bioaumentação ideal, e para isso, utilizou-se a Celulose Microcristalina como amostra.

4.4 Análise da Biodegradabilidade da Celulose Microcristalina com Níveis de Bioaumentação

Figura 9- Gráfico da degradação de CMC em função do período de teste.



Fonte: os autores (2023)

Visto que a biodegradação da celulose microcristalina foi de 69,95% com o Solo 50% bioaumentado, enquanto o solo *in natura* apresentou biodegradação de 42,28%, realizou-se as próximas etapas com o solo 50%.

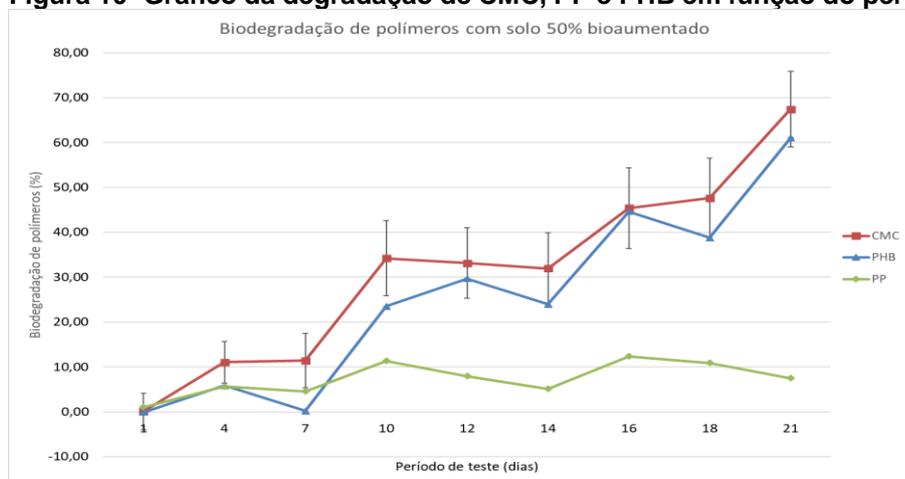
Houve a repetição dos testes com o solo 100%, como descrito no item 3.5.4, no entanto os resultados se mantiveram. Revisando a literatura e observando os resultados dos plaqueamento para este solo, é possível conjecturar que a quantidade de microrganismos presentes no solo 100% eram insustentáveis para o sistema, pois a demanda de água para a quantidade de UFC's presentes foi muito elevada, ocorrendo a inativação das bactérias.

4.5 Uso do Nível Ideal de Bioaumentação para Análise da Biodegradabilidade dos Polímeros CMC, PP E PHB.

A partir da *Figura 10*, pode-se observar que o método apresentou taxa de biodegradabilidade 67,44% para a celulose microcristalina, 61,02% para o poli(hidroxiбутирато) e 7,52% para o polipropileno.

Tendo em vista que os controles utilizados foram eficientes, é possível considerar os resultados da degradação obtida para o PHB em 21 dias de teste. Esta bateria de testes teve duração reduzida por conta de um problema de aquecimento excessivo apresentado pela estufa, devido a isso os microrganismos termófilos do solo entraram em fase latente e tiveram sua atividade reduzida.

Figura 10- Gráfico da degradação de CMC, PP e PHB em função do período de teste.



Fonte: os Autores

4.6 Uso da Bioaugmentação para Análise da Biodegradabilidade de Polímeros Comercializados como biodegradáveis

A fim de conhecer a composição das amostras submetidas ao teste de biodegradação, analisou-se cada amostra por espectroscopia de infravermelho, FT-IR. O espectrômetro utilizado para estas análises foi o “*Spectrum Two Infravermelho*” da marca *PerkinElmer*.

Espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria. A radiação eletromagnética é composta de um vetor campo elétrico e um vetor campo magnético, mutuamente ortogonal, que se propagam em uma dada direção. A radiação eletromagnética apresenta a dualidade onda-partícula. A natureza ondulatória manifesta-se por meio da interferência, dispersão, polarização e coerência da radiação eletromagnética. A natureza corpuscular manifesta-se por meio do efeito Compton e do efeito fotoelétrico. (CANEVAROLO et al., 2003)

As deformações axiais, ou estiramento, são oscilações radiais das distâncias entre os núcleos; enquanto as deformações angulares envolvem mudanças dos ângulos entre as ligações ou, como no modo de deformação assimétrica fora do plano, alterações do ângulo entre o plano que contém as ligações e um plano de referência. (UNESP, 2012).

A gama espectral mais importante para a análise de polímeros encontra-se nos comprimentos de onda de IV médio, correspondente aos números de onda, em cm^{-1} , entre 4000 e 400 cm^{-1} . (SANTOS, 2009).

Figura 11- Correlação de vibrações de grupos funcionais e frequência de bandas da espectroscopia por infravermelho.

TABLE 2.3 A SIMPLIFIED CORRELATION CHART			
Type of Vibration	Frequency (cm^{-1})	Intensity	Page Reference
C-H	Alkanes (stretch)	3000-2850	s 31
	-CH ₃ (bend)	1450 and 1375	m
	-CH ₂ - (bend)	1465	m
	Alkenes (stretch)	3100-3000	m 33
	(out-of-plane bend)	1000-650	s
	Aromatics (stretch)	3150-3050	s 43
(out-of-plane bend)	900-690	s	
Alkyne (stretch)	ca. 3300	s 35	
Aldehyde	2900-2800	w 56	
	2800-2700	w	
C-C	Alkane	Not interpretatively useful	
	Alkene	1680-1600	m-w 33
C=C	Aromatic	1600 and 1475	m-w 43
	Alkyne	2250-2100	m-w 35
C=O	Aldehyde	1740-1720	s 56
	Ketone	1725-1705	s 58
Carboxylic acid		1725-1700	s 62
	Ester	1730-1730	s 64
Amide	1680-1630	s 70	
Anhydride	1810 and 1760	s 73	
Acid chloride	1800	s 72	
C-O	Alcohols, ethers, esters, carboxylic acids, anhydrides	1300-1000	s 47, 50, 62, 64, and 73
	O-H	Alcohols, phenols	
Free		3650-3600	m 47
H-bonded		3400-3200	m 47
	Carboxylic acids	3400-2400	m 62
N-H	Primary and secondary amines and amides		
	(stretch)	3500-3100	m 74
(bend)	1640-1550	m-w 74	
C-N	Amines	1350-1000	m-w 74
	Imines and oximes		1690-1640
Nitriles			2260-2240
	X=C-Y	Alkenes, ketenes, isocyanates, isothiocyanates	2270-1940
N=O		Nitro (R-NO ₂)	1550 and 1350
	S-H	Mercaptans	2550
S-O		Sulfoxides	1050
	Sulfones, sulfonyl chlorides, sulfates, sulfonamides	1375-1300 and 1350-1140	s 82
C-X	Fluoride	1400-1000	s 85
	Chloride	785-540	s 85
	Bromide, iodide	< 667	s 85

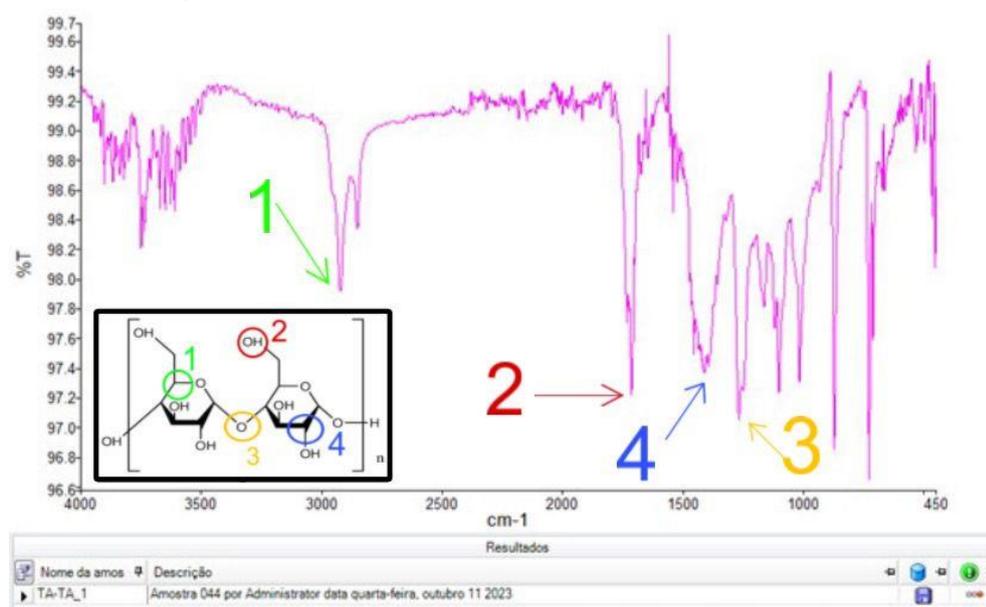
Fonte: *Introduction to Spectroscopy, Fourth Edition, page 46.*

4.6.1 Análise por Espectroscopia de Infravermelho de Sacola Plástica (TPS)

Segundo (MENDES, 2009) as principais absorções características observadas no espectro do TPS são: deformação axial de C-H (2930-1920 cm^{-1}), deformação

angular de O-H ($1700-1650\text{ cm}^{-1}$), deformação angular de C-H ($1414-1336\text{ cm}^{-1}$) e deformação axial da ligação éter ($1270-991\text{ cm}^{-1}$). Essas características podem ser comprovadas ao observar a “TABLE 2.3 A SIMPLIFIED CORRELATION CHART” contida no livro “Introduction to Spectroscopy, Fourth Edition”, exemplificada anteriormente na Figura 11.

Figura 12- Espectroscopia de Infravermelho para Análise de Sacola Plástica de Amido Termoplástico



Fonte: os Autores

Embasando-se na literatura, pode-se identificar bandas características do Amido Termoplástico, tais como:

- 1) Observa-se deformação axial de C-H no comprimento de onda $2923,25\text{ cm}^{-1}$;
- 2) Observa-se deformação angular de O-H (H₂O) no comprimento de onda $1714,59\text{ cm}^{-1}$;
- 3) Observa-se deformação axial da ligação éter no comprimento de onda $1268,08\text{ cm}^{-1}$;
- 4) Observa-se deformação angular de C-H no comprimento de onda $1409,21\text{ cm}^{-1}$.

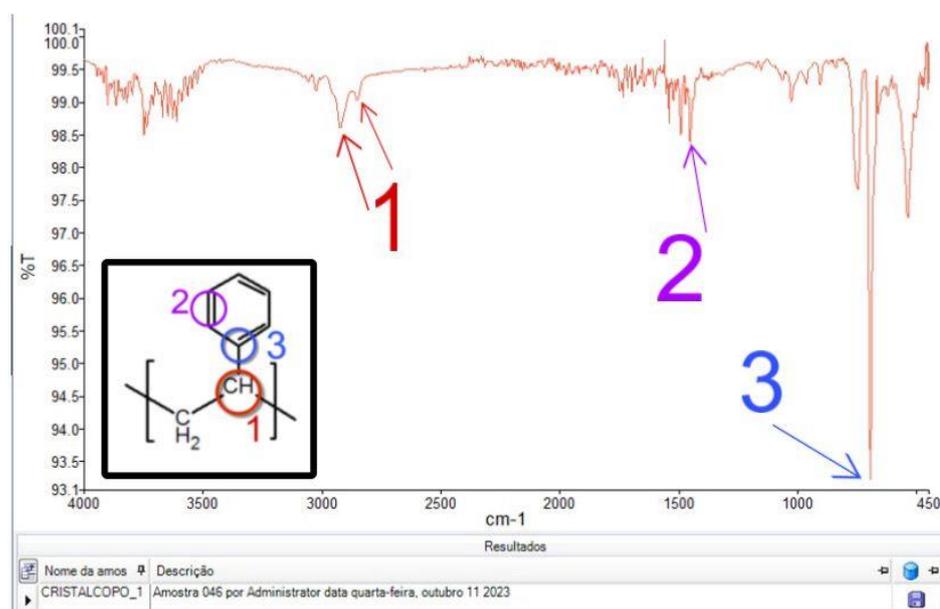
Identifica-se ruídos nos comprimentos de onda $3600-3650\text{ cm}^{-1}$, revisando a literatura (DONALD L. et al.; 2009), entende-se que esses comprimentos de onda são

característicos de deformação de grupos álcoois, possivelmente indicando adição de glicerina na composição deste material polimérico.

4.6.2 Análise por Espectroscopia de Infravermelho de Copo Descartável (PS)

A parte aromática é facilmente identificável pela deformação C=C do anel pela banda 1600-1450 cm^{-1} e pela banda em 697 cm^{-1} , que sugere um anel monossustituído, conforme é o Poliestireno (SANTOS, 2009). Essas características podem ser comprovadas ao observar a “TABLE 2.3 A SIMPLIFIED CORRELATION CHART” contida no livro “Introduction to Spectroscopy, Fourth Edition”, exemplificada anteriormente na Figura 11.

Figura 13- Espectroscopia de Infravermelho para Análise de Copo Descartável de Poliestireno



Fonte: os Autores

Embasando-se na literatura, pode-se identificar bandas características do Poliestireno, tais como:

1) Observa-se as bandas de vibração em 2.920 cm^{-1} e 2.850 cm^{-1} que pertencem ao estiramento do C-H de sp^3 .

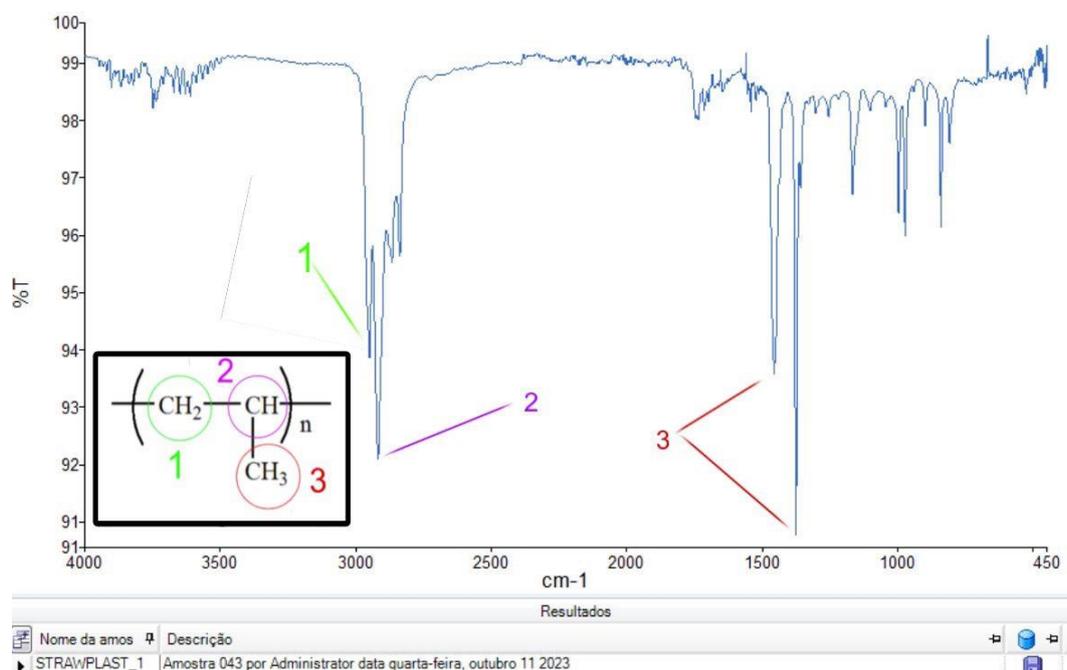
2) Observa-se deformação axial de C=C do anel aromático no comprimento de onda $1456,77 \text{ cm}^{-1}$;

3) Sugere-se anel monossustituído, conforme é o PS no comprimento de onda $694,81 \text{ cm}^{-1}$;

4.6.3 Análise por Espectroscopia de Infravermelho de Canudo Plástico (PP)

Segundo (HAACK, 2010) as principais absorções características observadas no espectro do Polipropileno são: deformação axial C-H de compostos saturados ($3000-2800 \text{ cm}^{-1}$), deformação angular de C-H ($1462-1304 \text{ cm}^{-1}$). Outras literaturas consultadas que exemplificam estas mesmas absorções características do Polipropileno são (PEREIRA, 2016) e (PITARELLI et al., 2001).

Figura 14- Espectroscopia de Infravermelho para Análise de Canudo Plástico de Polipropileno



Fonte: os Autores.

Embasando-se na literatura, pode-se identificar bandas características do Polipropileno, tais como:

1) Observa-se deformação axial assimétrica de C—H do grupamento metila no comprimento de onda $2949,43 \text{ cm}^{-1}$;

2) Observa-se deformação axial assimétrica de C-H2 do grupamento metileno no comprimento de onda $2917,81 \text{ cm}^{-1}$;

3) Observa-se deformação angular simétrica C—H3 do grupamento metila no comprimento de onda de $1456,77 \text{ cm}^{-1}$ e deformação angular simétrica em $1375,61$.

4.6.4 Avaliação da Espectroscopia de Infravermelho das Amostras

Os resíduos de amostras de PS aditivado mineralizam apenas cerca de 2 a 5% do carbono original em 2-3 meses (em meio de composto/perlita ou em meio mineral aquoso inoculado com composto), após posição a UV por 75-125 h a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ (OJEDA, 2008). Ainda segundo dados de OJEDA a análise cinética demonstrou que o amido, ainda mais do que que glicose e poli(3-hidroxi-butirato), pode ser mineralizado completamente se a degradação continuar a um valor médio para esses polímeros de 2,4% dia para o coeficiente da taxa de mineralização.

Conjectura-se, a partir de dados revisados na literatura, que a mineralização das amostras de Polipropileno e Poliestireno não ocorrerá durante o teste de biodegradação, visto que esses polímeros consistem em poliolefinas acrescidas de aditivos pró degradantes. Acredita-se que, quanto à amostra da sacola de Amido Termoplástico, haverá taxa de biodegradação considerável.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos na “Análise da Biodegradabilidade com Níveis de Bioaugmentação”, o método desenvolvido se mostrou promissor para a realização de testes acelerados, uma vez que a biodegradação da celulose microcristalina foi de 69,95% com o Solo 50% bioaugmentado, enquanto o solo *in natura* apresentou biodegradação de 42,28%.

Os resultados obtidos na “Análise da Biodegradabilidade dos Polímeros CMC, PP e PHB” foram fundamentais, pois estes serviram para validar o método como alternativa acelerada para a análise da biodegradabilidade de polímeros. A Celulose Microcristalina, para 21 dias de teste, apresentou degradação de 67,44%, valor matematicamente semelhante à degradação vista no item 4.3. O polipropileno

apresentou degradação de 7,52%, a baixa taxa de biodegradabilidade do controle negativo é outro fator fundamental que corrobora com a validação do método proposto, tendo em vista que sua degradação está condizente com os dados obtidos na literatura para as normas ISO-14855 e ASTM-D5338.

Os resultados que serão obtidos na “Análise da Biodegradabilidade de Polímeros Comercializados como Biodegradáveis” demonstrarão que o método desenvolvido, além de facilitar o processo de desenvolvimento de polímeros biodegradáveis pelo baixo custo e curto período de aplicação, também pode ser aplicado para fins de fiscalização de biodegradação de materiais poliméricos comercializados como biodegradáveis.

REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas: NBR 13894. Rio de Janeiro, 1997

ADAMS, G. O.; FUFYIN, P. T.; OKORO, S. E; EHINOMEN, I. **Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A review.** International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation, 2015, v. 3, n. 1, p. 28-39, 2015. Disponível em: https://soilhealth.ucdavis.edu/application/files/1215/4208/1811/Bioremediation_Biostimulation_and_Bioaugmentation_A_Review.pdf . Acesso em: 8 fev. 2023.

AIKATERINI, Zeneli; KASTANAKI, Eleni; SIMANTIRAKI, Fotini; GIDARAKOS, Evangelos. **Monitoring the biodegradation of TPH and PAHs in refinery solid waste by biostimulation and bioaugmentation,** Journal of Environmental Chemical Engineering, Volume 7, Issue 3, 2019, 103054, ISSN 2213-3437. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103054>. Acesso em: 20 mar. 2023.

APINYA, Thippayarat; SOMBATSOMPOP, Narongrit; PRAPAFDEE, Benjaphorn. **Selection of a Pseudonocardia sp. RM423 that accelerates the biodegradation of poly(lactic) acid in submerged cultures and in soil microcosms.** International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 99,2015,Pages 23-30,ISSN 0964-8305. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.001>. Acesso em: 20 mar. 2023.

As Nações Unidas no Brasil- **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável.** Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs> . Acesso em: 22 out. 2023.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D5338-15: **Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions, Incorporating Thermophilic Temperatures.**

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D 5951-2002: **Prática padrão para preparação de sólidos residuais obtidos após biodegradabilidade Métodos padrão para plásticos em resíduos sólidos para testes de toxicidade e qualidade de composto.**

BENTO, Fatima M.; CAMARGO, Flávio A.O.; BENEDICT C. Okeke; FRANKENBERGER, William T.. **Comparative bioremediation of soils**

contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, Volume 96, Issue 9, 2005, Pages 1049-1055, ISSN 0960-8524. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.008>. Acesso em: 5 fev. 2023.

BHER, A.; CHO, Y.; AURAS, R. **Boosting Degradation of Biodegradable Polymers.** *Macromol. Rapid Commun.* 2023, 44, 2200769. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/marc.202200769> Acesso em: 2 abr. 2023.

CANEVAROLO, Sebastião V; et al.. **Técnicas de Caracterização de Polímero.** Artliber Editora. São Paulo, 2003. Disponível em: https://www.artliber.com.br/amostra/tecnicas_de_caracterizacao_de_polimeros.pdf . Acesso em: 11 de out. 2023.

CASTRO-AGUIRRE, E.; AURAS, R.; SELKE, S.; RUBINO, M.; MARSH, T. . **Insights on the aerobic biodegradation of polymers by analysis of evolved carbon dioxide in simulated composting conditions.** *Polymer Degradation and Stability*, Volume 137, 2017, Pages 251-271. ISSN 0141-3910. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.01.017>. Acesso em: 3 mar. 2023.

CÉSAR, P. [et al.], editores técnicos. **Manual de métodos de análise de solo** – 3. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181717/1/Manual-de-Metodos-de-Analise-de-Solo-2017.pdf> . Acesso em: 22 mar. 2023.

DA SILVA, S.A.; HINKEL, Eduarda; LISBOA, Thainá; SELISTRE, Victória; DA SILVA, Ana Julia; DA SILVA, Luiza Oliveira; FACCIN, Débora Jung Luvizetto; CARDOZO, Nilo Sérgio Medeiros. **A biostimulation-based accelerated method for evaluating the biodegradability of polymers.** *Polymer Testing*, Volume 91, 2020, p. 106732, ISSN 0142-9418. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106732>. Acesso em: 20 jan. 2023.

DE-LA-TORRE, Gabriel Enrique; DIOSES-SALINAS, Diana Carolina; PIZARRO-ORTEG, Carlos Ivan; SANTILLÁN, Luis. **New plastic formations in the Anthropocene.** *Science of The Total Environment*, Volume 754, 2021, 142216, ISSN 0048-9697. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142216>. Acesso em: 1 out. 2023.

DELMAS, M. A.; BURBANO, V. C. (2011). **The drivers of greenwashing.** *California Management Review*, 54(1), 64-87. DeVellis, R. F. (2016). Disponível em: <https://doi.org/10.1525/cmr.2011.54.1.64>. Acesso em: 1 out. 2023.

DINDAR, E.; SAGBAN, F.O.T.; BASKAYA, H.S. **Bioremediation of petroleum-contaminated soil.** *J. Biol. Environ. Sci.* V. 7, n. 19, p. 39-47. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/am/pii/S0045653519301146> . Acesso em: 5 fev. 2023.

Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz, and James R. Vyvyan. **Introduction to Spectroscopy, Fourth Edition.** Pages 20-30. Department of Chemistry Western Washington University Bellingham, Washington. 2009. Disponível em: https://moodle.ufsc.br/pluginfile.php/901784/mod_resource/content/1/ebooksclub.org__Introduction_to_Spectroscopy__4_edition.pdf . Acesso em: 11 out. 2023.

FECHINE, G.J. M.; AMBRÓSIO, F. B.; ALVES, D. A. **Estudo da biodegradabilidade de polímeros por meio do Respirômetro de Bartha.** *Revista Mackenzie de Engenharia e Computação, [S. l.]*, v. 11, n. 1, 2012. Disponível em: <http://editorarevistas.mackenzie.br/index.php/rmec/article/view/3682>. Acesso em: 22 mar. 2023.

Ficha de informação de segurança de produto químico – FISPQ. Hidróxido de sódio. Disponível em: https://www.farmacia.ufmg.br/wp-content/uploads/2018/10/FISPQ-Hidroxido-de-Sodio_LABSYNTH-6.pdf . Acesso em 13. abr. 2023.

Ficha de informação de segurança de produto químico – FISPQ. Ácido clorídrico. Disponível em: <https://www.unipar.com/Download/AcidoCloridrico/32/FISPQ-Acido-Cloridrico-rev-un18-15062020-PT.pdf> . Acesso em 13. abr. 2023.

GRAÇA, J. K. .; HATAISHI, L. A.; GRAÇA, J. K. .; TESSAROTTO, A.; BATISTELA, V. R. . **Traditional and emerging barium removal techniques for water and wastewater treatment .** *Research, Society and Development, [S. l.]*, v. 11, n. 2, p. e 45811225809, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.25809. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/25809>. Acesso em: 8 abr. 2023.

HAACK, Micheli de Souza. **Análise de Materiais por Espectroscopia no Infravermelho dentro do Sistema de Gestão de Qualidade Conforme ABNT NBR/ ISO/ IEQ 17025**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/28602/000771298.pdf> . Acesso em: 11 out. 2023.

HEINRICH, Böll Stiftung. **Atlas do Plástico** -Rio de Janeiro Office. Disponível em: <https://br.boell.org/pt-br/atlas-do-plastico>. Acesso em: 1 out. 2023.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. Acesso em: 11 out. 2023.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO-14588: Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions- Method by analysis of evolved carbon dioxide**. 2019.

Instituto de Ciência e Tecnologia UNESP. **Espectroscopia de Absorção no Infravermelho: Caracterização de Materiais**. 2012. Disponível em: <https://www.sorocaba.unesp.br/#!/pesquisa/laptec/linhas-de-pesquisa/caracterizacao-de-materiais/ftir/> . Acesso em: 11 out. 2023.

Instrução Normativa SDA nº 62 de 26/08/2003 - Federal . Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=75773>>. Acesso em: 3 abr. 2023.

IOVINO, R.; ZULLO, R.; RAO, M.A.; CASSAR, L.; GIANFREDA, L.; **Biodegradation of poly(lactic acid)/starch/coir biocomposites under controlled composting conditions**. Polymer Degradation and Stability, Volume 93, Issue 1,2008, Pages 147-157, ISSN 0141-3910. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polyimdegradstab.2007.10.011>. Acesso em: 5 abr. 2023.

MANUAL I.- **Orientações Gerais Para Central de Esterilização**. Ministério da Saúde, Divisão de Controle de Infecção Hospitalar. II. Título. III. Série.I. ISBN: 85-334-0345-3 (Série A. Normas e Manuais Técnicos; n. 108), 2001.

NBR 13736-96: Determinação de Alcalinidade, Métodos Potenciométricos e Titulométricos.

OJEDA, Telmo. **Biodegradabilidade de Materiais Poliméricos. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.** Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/17265/000669077.pdf?sequence=1> . Acesso em: 11 out. 2023.

OLIVATTO, G. P.; CARREIRA, R.; TORNISIELO, V. L.; MONTAGNER, C. C. **Microplásticos: Contaminantes de Preocupação Global no Antropoceno.** Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (6), 1968-1989. Data de publicação na Web: 17 de dezembro de 2018. Disponível em: <http://rvq.s bq.org.br/>. Acesso em: 1 out. 2023.

PAGGA, U.; BEIMBORN, D.B.; BOELEN, J.; DE WILDE, B. . **Determination of the aerobic biodegradability of polymeric material in a laboratory controlled composting test.** Chemosphere, Volume 31, Issues 11–12, 1995, Pages 4475-4487, ISSN 0045-6535,. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00326-4](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00326-4). Acesso em: 26 jan. 2023.

PEREIRA, Marcilene Silva. **Estudo do Processo de Craqueamento Termocatalítico de Polímeros (Polietileno, Polipropileno e Poliestireno) para Produção de Combustível.** Belém: UFPA/PRODERNA, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/303913961_ESTUDO_DO_PROCESO_DE_CRAQUEAMENTO_TERMOCATALITICO_DE_POLIMEROS_POLIETILENO_POLIPROPILENO_E_POLIESTIRENO_PARA_PRODUCAO_DE_COMBUSTIVEL . Acesso em: 11 out. 2023.

PITARELI, G. et al. **IDENTIFICAÇÃO DE BLENDA POLIETILENO/POLIPROPILENO POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://repositorio.ipen.br/bitstream/handle/123456789/16330/08919.pdf?sequence=1&isAllowed>. Acesso em: 11 out. 2023.

SANT'ANA, Anderson de Souza; DA CONCEIÇÃO, Caetano; AZEREDO, Denise Rosane Perdomo. **Comparação entre os métodos rápidos SimplateR TPC- CI e PetrifilmR AC e os métodos convencionais de contagem em placas para a enumeração de aeróbios mesófilos em sorvetes.** Scientific Electronic Library Online, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612002000100011>. Acesso em: 27 mar. 2023.

SANTOS, Liana R.. **Avaliação da eficiência da separação de plásticos de resíduos sólidos urbanos por métodos de dissolução selectiva**.2009. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1822/10739> .Acesso em: 11 out. 2023.

SELKE, S.; AURAS R.; NGUYEN TA; CASTRO-AGUIRRE, E.; CHERUVATHUR, R.; LIU, Y. **Evaluation of Biodegradation-Promoting Additives for Plastics**, Environ. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es504258u> . Acesso em: 4 fev. 2023.

SOARES DO NASCIMENTO, J. **Biologia de Microrganismos Biologia de Microrganismos**. UNIDADE 1 INTRODUÇÃO À MICROBIOLOGIA. [s.l: s.n.], 2012. Disponível em: http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf. Acesso em: 1 abr. 2023.

SWATI, Pathak; CLR, Sneha; BLESSY, Baby Mathew. **Bioplastics: Its Timeline Based Scenario & Challenges**. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*. 2014; 2(4):84-90. Disponível em: <http://pubs.sciepub.com/jpbpc/2/4/5/> . Acesso em: 5 abr. 2023.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. Embrapa Solos, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1085209/manual-de-metodos-de-analise-de-solo>. Acesso em: 1 de abr. 2023.

TORTORA, G.J; FUNKE, B.R; CASE, C.L (2005) Microbiologia. 8ed. Disponível em: https://tga.blv.ifmt.edu.br/media/filer_public/6c/09/6c09bd4b-f1ff-405c-8536-79faf088f655/microbiologia-tortora.pdf . Acesso em: 10 de abr. 2023.

VALENTE, B.S.; XAVIER, E.G.; MORSELLI, T.B.G.A.; JAHNKE, D.S.; BRUM JR. B. de S.; CABRERA, B.R.; MORAES P. de O.; LOPES, D.C.N.. **Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos**. Archivos de zootecnia vol. 58(R), p. 71. Disponível em: <https://docplayer.com.br/5188155-Fatores-que-afetam-o-desenvolvimento-da-compostagem-de-residuos-organicos.html>. Acesso em: 11 abr. 2023.

ZHAO, JH; WANG, XQ; ZENG, J.; YANG, G.; SHI, FH; YAN, Q.; **Biodegradation of poly(butylene succinate) in compost**.J. Appl. Polim. (2005)2273-2278. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.22009> . Acesso em: 24 mar. 2023.