

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DOS PRODUTOS DE BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS DE EMBALAGENS PLÁSTICAS APÓS DEGRADAÇÃO EM SOLOS DE COMPOSTAGEM

Giovanna Moura Silva¹,
Silvia Pierre Irazusta²

¹ Aluna de Graduação em Tecnologia em Sistemas Biomédicos; email:
silvam.giovanna29@gmail.com;

² Professora da FATEC Sorocaba; email: silvia.pierre@hotmail.com

Área do Conhecimento: Sustentabilidade dos Sistemas Produtivos

Palavras-chave: biopolímero; biodegradabilidade; *Allium cepa*; ecotoxicidade

INTRODUÇÃO

Existem grandes impactos ambientais causados pelos processos de extração e refino utilizados para produção dos polímeros provenientes do petróleo, a escassez do petróleo e o aumento do seu preço são alguns fatores que estão diretamente relacionados ao crescente interesse pelos biopolímeros. Os biopolímeros ou bioplásticos têm a estrutura similar à de plástico extraído de combustível fóssil, entretanto ele tem a base biológica ou biodegradável, podendo, também, apresentar as duas características, como o PLA (poliácido láctico), PHA (Polihidroxialcanoatos), e polissacarídeos que são biobaseados e biodegradáveis. Materiais de base biológica são totais ou parcialmente derivados de fontes renováveis; a biodegradabilidade de um material depende da sua estrutura química, e, sendo assim, um material de base totalmente biológica não necessariamente é biodegradável, alguns polímeros biodegradáveis são o PBAT (Poli adipato-co-tereftalato de butíleno), PBS (Poli butíleno succinato) e o PCL (Policaprolactona). Então, existem possíveis benefícios da substituição de produtos fósseis por produtos de base biológica com relação a sustentabilidade e sua matriz, porém, ainda deve ser analisado os possíveis efeitos destes produtos em relação ao meio ambiente. A obtenção dos biopolímeros e dos polímeros biodegradáveis (natural e sintético) surge como uma opção para ampliar a solução dos problemas decorrentes da poluição ambiental, devido à quantidade significativa gerada de materiais poliméricos que não são biodegradáveis. Portanto, a aplicação dos polímeros biodegradáveis vem como uma tendência para o desenvolvimento socioeconômico e preservação ambiental. Os biopolímeros capazes de substituir os polímeros sintéticos, possuem viabilidade econômica e reais possibilidade de implementação no mercado e na sociedade atual. Atualmente está sendo dada muita ênfase à preservação e conservação do meio ambiente como forma de garantir um desenvolvimento sustentável. Entre os diversos danos causados ao meio ambiente, um está relacionado com os resíduos plásticos. Embora a indústria de embalagem seja a maior produtora de resíduos poliméricos encontrados dentro dos resíduos sólidos urbanos a construção civil vem encontrando espaços para reutilização de materiais poliméricos provenientes de outras indústrias (BRITO *et al.*, 2011; HIPOLITO; HIPOLITO; LOPES, 2013; FORTUNA, 2020; MEDEIROS; LIMA, 2020).

O bioensaio utilizando sementes de cebola (*Allium cepa*) é amplamente utilizado como método de avaliação ecotoxicológico dos impactos ambientais de substâncias puras ou misturas complexas, como é o caso de grande parte das amostras ambientais, sendo muito efetiva em inseticidas, herbicidas, metais pesados, derivados de petróleo, corantes e aditivos alimentares. Este ensaio tem baixo custo de execução e utiliza um modelo que é suficientemente sensível para detectar inúmeras alterações cromossômicas provocadas por substâncias ou mistura delas, nas células em divisão (VENTURA *et al.*, 2004; MATSUMOTO *et al.*, 2006; TÜRKOGLU, 2006; BIANCHI, 2008; LEME; MARIN-MORLES, 2008; COSTA, 2010). O teste de fitotoxicidade serve para determinar se uma amostra contém elementos que possam inibir a germinação de sementes, o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Já o teste de genotoxicidade, possibilita avaliar os efeitos genotóxicos, ou danos ao DNA, por meio da contagem de alterações nos cromossomos nas várias fases do ciclo celular, chamadas de aberrações

cromossômicas, que também é utilizado para a investigação dos mecanismos de ação dos agentes testados, sejam testes com substâncias puras ou misturas complexas, ele é largamente usado para o monitoramento ocupacional e ambiental como um biomarcador de efeitos induzidos por carcinógenos (HAGMAR *et al*, 2004; OLESZCZUK *et al*, 2011; VALENTE *et al*, 2017).

Este trabalho fez parte de um projeto mais amplo para desenvolvimento de embalagem laminada a partir de bioplásticos, conduzido pela empresa Oeko Biopolímeros, que em parceria com a empresa Plascon, produziu os filmes de PBS e de PBAT/PHBH, os quais foram, posteriormente, utilizados pela empresa Peeqflex para produzir as amostras laminadas com os filmes NatureFlexTM transparente e NatureFlexTM metalizado, estes últimos produzidos e fornecidos pela empresa Futamura. O produto deste trabalho vem de encontro à crescente demanda do mercado de embalagens, aliando boas características de conservação de alimentos com propriedades ambientalmente amigáveis. Contudo, ainda é necessário um estudo amplo e abrangente sobre os biopolímeros, suas propriedades e aplicações, para que a partir deles possamos diminuir os resíduos gerados de plásticos. Assim o impacto ambiental seria reduzido de forma ampla, e os riscos de contaminação ou geração de patologias em animais e seres humanos com plásticos, microplásticos, e seus derivados tóxicos, dos quais ainda não se sabe as consequências possíveis e futuras, poderiam ser evitados em larga escala.

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo como ensaio com o organismo *Allium cepa* (cebola) avaliar a fitotoxicidade e mutagenicidade dos concentrados de solo obtidos após o ensaio de desintegração segundo as normas DIN EN 14045.

METODOLOGIA

As amostras do biorresíduo resultantes da desintegração dos materiais no solo foram solubilizadas, seguindo a proporção de 200 g de massa – base seca – de biorresíduo para 800 mL de água, com base na norma NBR ABNT 10006:2004. A extração foi feita em agitação por 5 minutos em agitador mecânico de haste, modelo (NI-1137 da marca Nova Instruments) de hélice e mantidas em repouso por sete dias à temperatura ambiente, após este tempo, foram filtradas a vácuo por membrana filtrante MCE com porosidade de 0,45 μ m e diâmetro de 47 mm (da marca Laborclin), e acondicionadas em uma geladeira até o uso.

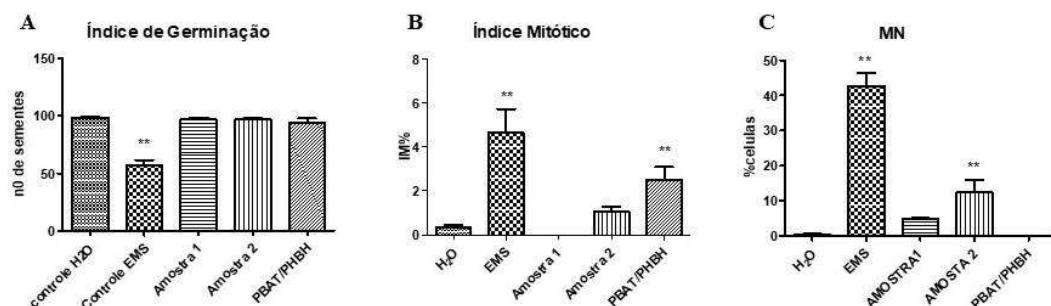
Cem sementes de cebola baia periforme (marca Feltrin Sementes) foram colocadas em placas de Petri com papel filtro, embebido com 4 mL de cada uma das diluições dos três concentrados de solos. Os controles foram: água destilada como controle negativo e o Etilmetanosulfonato (EMS) 4.10⁻⁴M, como controle positivo, realizando-se os ensaios sempre em triplicata. As raízes agora com aproximadamente 2 cm de comprimento foram coletadas, contadas e fixadas no fixador Carnoy (Etanol:Ácido Acético 3:1) e após 24 horas, foram transferidas para tubos falcon contendo álcool 70% até o momento de da hidrólise das raízes, que foi feita em HCl 1N a 60°C em banho-maria, por 10 minutos. Após a hidrólise as raízes foram colocadas em frascos, com reativo de Schiff, por duas horas. Sobre uma lâmina, coloca-se uma raiz com meristema intacto e com auxílio de um bisturi corta-se apenas a porção meristemática de 1 mm, sobre a qual é adicionada uma gota de corante Carmim e coberto com uma lamínula. Pressiona-se sobre o material com auxílio de um lápis com o lado da borracha de apagar, até que as células sejam completamente esmagadas ficando assim separadas. Para leitura, as células são observadas em microscópio óptico comum, com objetiva de 40x. São contadas 500 células por lâmina e cinco lâminas por tratamento (2500 células) avaliando-se a presença de aberrações cromossômicas (AC) e/ou micronúcleos (MN), mitoses e morte celular.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de fitotoxicidade dos concentrados obtidos das amostras Laminadas A1 e A2, e dos componentes individuais estão apresentados na Figura 3. A análise estatística, comparando os grupos não mostrou diferenças significativas em relação ao controle negativo. Portanto, não houve efeito fitotóxico dos concentrados sobre as sementes de *Allium cepa*. Os resultados das análises após as

preparações das lâminas mostraram que a Amostra 2 apresentou um índice de MN significativamente maior que o controle negativo e foi, portanto, a única amostra a apresentar efeito mutagênico. Os resultados de IM deste trabalho mostraram que apenas a blenda PBAT/PHBH alterou o índice mitótico das raízes de *A. cepa*. A amostra 1 não diferiu do controle e, a amostra 2, apesar de ter a blenda em sua laminação, também não diferiu do controle. Os resultados das análises das lâminas das Amostra 1 e Amostra 2 para o parâmetro de morte celular não mostraram diferenças entre índices das amostras e o controle, indicando, ausência de efeito citotóxico dos concentrados de solo obtidos após degradação das laminações.

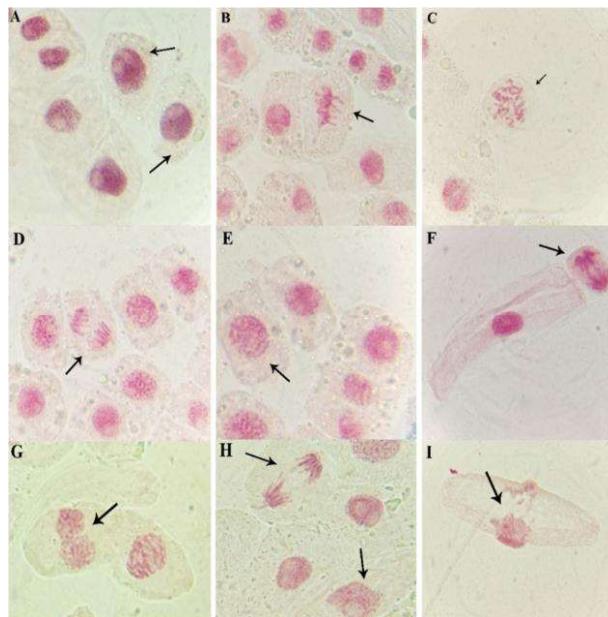
Figura 1. Representação gráfica da comparação estatística da germinação das sementes expostas às amostras de concentrados (A). ** $p<0,05$; Índice Mitótico (IM) das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* exposta às amostras de laminações A1 e A2 e a blenda PBAT/PHBH (B); Produção de MN nas células meristemáticas de raízes de *A. cepa* onde só a A2 dentre as amostras demonstrou alterações (C)



Fonte: Autora

Quando analisadas as lâminas da amostra PBAT/PHBH, não foram constados morte celular ou micronúcleo, porém, foi possível observar algumas aberrações cromossômicas em A existem núcleos interfásicos regulares; em B uma metáfase com perda cromossômica; uma C – Metáfase no detalhe em C; na imagem D uma Anáfase com perda cromossomica; em E uma Prófase regular; e na imagem F há é possível observar uma Anáfase com duas pontes cromossômicas. Sendo assim, conclui-se que houve ação genotóxica, pois houve aberrações onde o material genético foi alterado, mas, é inconclusivo quanto a ação mutagênica, e seriam necessários mais pesquisas e testes para poder afirmar a mutagenicidade do composto. O controle positivo EMS também apresentou aberrações cromossômicas, como era esperado; o detalhe G mostra uma Prófase binucleada; em H existe na indicação no canto superior uma Anáfase com perda cromossômica e no canto inferior um núcleo vacuolizado; e em I há o que poderia ser a formação de um micrócito na interfase.

Figura 2. Resultados obtidos do teste de genotoxicidade, em A existem núcleos interfásicos regulares; em B uma metáfase com perda cromossômica; C – Metáfase no detalhe em C; na imagem D uma Anáfase com perda cromossômica; E mostra uma Prófase regular; e na imagem F há é possível observar uma Anáfase com duas pontes cromossômicas. G observa-se uma prófase binucleada; em H uma Anáfase com perda cromossômica; e em I uma célula em interfase com a formação de micrócito.



Fonte: Autora

CONCLUSÕES

Em conjunto, os dados apresentados permitem afirmar que os produtos de degradação das amostras laminadas A1 e A2 não apresentam efeito citotóxico nas raízes de sementes de *Allium cepa* expostas aos concentrados de solo obtido após a desintegração dos biopolímeros. A amostra 2 resultou em efeito mutagênico, muito provavelmente atribuído a blenda PBAT/PHBH, uma vez que esta última, isoladamente também alterou o Índice Mitótico, apontando que houve estímulo na divisão celular, que pode ser prejudicial às células, pois pode levar a uma proliferação desequilibrada. Em favor desta hipótese foi demonstrado, em trabalho anterior que as amostras A1 e A2 também não apresentaram efeito fitotóxico em *Lactuca Sativa* (Alface), porém, a amostra 2 inibiu o crescimento da raiz e o hipóclito, em relação ao controle (WITTMAN, 2020). Este dado mais uma vez aponta para um efeito da blenda de PBAT/PHBH, uma vez que sua presença na laminação é a única diferença entre as amostras A1 e A2.

REFERÊNCIAS

BRITO, G. F. *et al.* A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **REMAP**, v. 6., n. 2, p. 127-139, 2011.

COSTA, T. C. **Atividade mutagênica em bacia hidrográfica influenciada por sítio de contaminação de solos.** Dissertação de Mestrado, 2010. Curso de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

FORTUNA, A.L.L. **Impactos ambientais dos plásticos: biopolímeros como alternativa para a redução do acúmulo de embalagens flexíveis de Polipropileno no meio ambiente.** Monografia em Engenharia Química, 2020. Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

HAGMAR, L. *et al.* Impact of types lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: result from Nordic and Italian cohorts. **Cancer Research**. V. 64, 2258 – 2263. 2004.

HIPOLITO, I. S.; HIPOLITO, R. S.; LOPES, G. A. **Polímeros na Construção Civil.** In: Anais do X Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia – SEGeT, Resende - RJ, 2013.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study. **Mutation Research. Genetic Toxicity and Environmental Mutagenesis**, v. 650, p. 80 – 86. 2008.

MATSUMOTO, S.T. *et al.* Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tanner effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 148 – 158, 2006.

MEDEIROS, K.M.; LIMA, C.A.P. **Novas tendências sustentáveis: os biopolímeros e os polímeros biodegradáveis.** p. 4. 2020.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Impacto das embalagens no meio ambiente. Disponível em: http://www.mma.gov.br/responsabilidade-socioambiental/producao-e-consumo_sustentavel/consumoconsciente-de-embalagem/impacto-das-embalagens-no-meio-ambiente.html. Acesso em: 17 jul. 2021.

OLESZCZUK, P.; HOLLERT, H. Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. **Chemosphere**, vol. 83, n. 4, p. 502- 509, 2011.

TÜRKOGLU, S. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. **Mutation Research**, v. 626, p. 4 – 14. 2007.

VALENTE, D. *et al.* Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Rev. Bras. Sa. Ocup.** vol. 42, n. 1, p. 1-21, 2017.

VENTURA, B.C. *et al.* Evidences of mutagenic and genotoxic action of the atrazine herbicide using *Oreochromis niloticus* as test system. **Pesticide Biomchemistry and Physiology**, v. 90, p. 42 – 51. 2008.

WITTMANN, G.C.P. **Estudo de Estruturas Laminadas com Bioplásticos para o Sistema Produtivo de Embalagens: Desintegração e Ecotoxicidade em Condições de Compostagem.** Dissertação (Mestrado Profissional em Gestão e Tecnologia em Sistemas Produtivos). – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, 2020.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa cedida para a pesquisa.