

UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA  
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSAMENTO DE  
MATERIAIS

JONATAS ALVES FERREIRA NETO

**Estudo de biodegradabilidade, fitotoxicidade e toxicidade do polímero superabsorvente (SAP-  
Hidrosilo)**

São José dos Campos  
2022

Jonatas Alves Ferreira Neto

**Estudo de biodegradabilidade, fitotoxicidade e toxicidade do polímero superabsorvente (SAP-Hidrosilo)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba como requisito parcial para a obtenção do grau Mestre em Processamento de Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Vieira

São José dos Campos  
2022

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA****Ficha catalográfica**

Ferreira Neto , Jonatas Alves  
Estudo de biodegradabilidade, fitotoxicidade e toxicidade do  
Poli (Acrilato de Potássio-co-Acrilamida) Hidrosilo / Jonatas  
Alves Ferreira Neto ; orientadora, Profa. Dra. Lucia Vieira. -  
São José dos Campos, SP, 2022.  
67 p.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Universidade do Vale do  
Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em  
Processamento de Materiais.

Inclui referências

1. Processamento de Materiais. 2. Toxicidade. 3. Polímeros.  
I. Vieira, Profa. Dra. Lucia, orient. II. Universidade do Vale do  
Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Processamento de Materiais.  
III. Título.

Eu, Jonatas Alves Ferreira Neto , autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em  
outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o  
usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado  
respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de  
propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e  
profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 4 de Abril de 2023.



Autor(a) da Obra

Data da defesa: 27, 10, 2022

---

**JÔNATAS ALVES FERREIRA NETO**

**“ESTUDO DE BIODEGRADABILIDADE, FITOTOXICIDADE E TOXICIDADE DO  
POLÍMERO SUPERABSORVENTE (SAP-HIDROSILO).”**

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Processamento de Materiais, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Erika Peterson Gonçalves	<i>Erika Peterson Gonçalves</i>
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Lúcia Vieira	<i>Lucia Vieira</i>
Prof. Dr. Fernando dos Santos Ortega	<i>Fernando S. Ortega</i>
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Marylene de Brito Arduino	<i>Marylene de Brito Arduino</i>
Prof. Dr. Adjaci Uchôa Fernandes	<i>Adjaci Uchôa Fernandes</i>

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia Vieira

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 27 de outubro de 2022.

## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho a toda minha família que me apoiou e me deu forças sempre que precisei para não desistir, mas principalmente a minha madrinha Adriana Elvira Ferreira Madeira, que foi minha mãe, madrinha e tia, além do meu maior exemplo, que depois de muita batalha hoje descansa em paz.*

## **Agradecimentos**

Agradeço à toda minha família, em especial minha avó Maria Doroteia e meu avô Jônatas por terem me criado e me educado, nunca deixando de me amparar e me dar forças quando precisei.

Um agradecimento muito especial a minha madrinha Adriana que sempre me inspirou e me motivou a seguir meus sonhos acima de qualquer coisa, me transmitindo sempre os conhecimentos que ela tinha além de esperança e alegria.

Agradeço à minha mãe Cristiane que além de mãe é minha amiga estando sempre ao meu lado para me ouvir, junto com meu padrasto Denis.

Agradeço ao meu tio Jônatas, minha tia Sandra, meu tio Wladimir e meu padrinho Antônio Sergio pois todos sempre estiveram ao meu lado, nunca deixando de me amparar e me consolar.

Agradeço ao Nilton que adjunto ao IGTPAN me proporcionaram a possibilidade de realizar as pesquisas, tanto por meio de bolsa de estudos, como pelos materiais doados para o mesmo.

Agradeço à Professora Lucia que teve toda paciência em me orientar e me apoiar em todo este processo.

Agradeço à Helena que me ajudou por todo este processo e muitos outros, me dando forças sempre para não desistir.

## RESUMO

Trazer soluções para mitigar os efeitos das mudanças climáticas é um desafio para diversas áreas da ciência e tecnologia. Uma das consequências dessas mudanças climáticas são alterações nas chuvas, que assola muitas regiões do Brasil e do mundo. Em associação ao crescimento populacional, a demanda hídrica sofre pressões jamais vistas. O setor agrícola, que sustenta a sobrevivência básica da população, é o principal afetado pelas alterações nas chuvas. Por isso, para evitar perda de produtividade, depende fortemente em condicionar o solo e aumentar a irrigação. Os polímeros superabsorventes vêm sendo estudados para diversos tipos de aplicação, inclusive na agricultura para retenção de água no solo e diminuição da irrigação. O polímero superabsorvente submetido aos testes foi concedido pela empresa HIDROSILO, que é a base de poliacrilato de potássio. Sendo um produto utilizado na terra para plantio, ele interage com animais, plantas e microorganismos e se faz necessário a compreensão destas interações. Portanto, os estudos realizados neste projeto têm foco na análise da biodegradabilidade do HIDROSILO e suas interações com plantas, minhocas e tenébrios – estudo de toxicidade e fitotoxicidade. Foi empregado o teste de biodegradabilidade imediata de substâncias orgânicas hidrossolúveis ou pouco hidrossolúveis, porém não voláteis, pela medida do dióxido de carbono desprendido em sistema aberto (evolução de CO<sub>2</sub>) para a análise da biodegradabilidade do polímero; o estudo de fitotoxicidade foi baseado na taxa de germinação de sementes de *Lactuca sativa*; já o estudo de toxicidade baseou-se na análise do ciclo de vida de três espécies: *Tenebrio molitor*, *Eisenia fétida* e *Drosophila melanogaster*. Os estudos concluíram que o polímero superabsorvente HIDROSILO não é considerado prontamente biodegradável (valor médio de 36,0 ± 13,8 % de desprendimento de CO<sub>2</sub> ao final de 28 dias de ensaio) e ele não apresentou toxicidade para animais e plantas.

Palavras-chave: SAP, toxicidade, fitotoxicidade, polímero superabsorvente

# STUDY OF BIODEGRADABILITY, PHYTOTOXICITY AND TOXICITY OF POLY (POTASSIUM ACRYLATE-CO-ACRYLAMIDE) HIDROSILO

## ABSTRACT

Bringing solutions to mitigate the effects of climate change is a challenge for several areas of science and technology. One of the consequences of these climate changes are changes in rainfall, which affects many regions of Brazil and the world. In association with population growth, water demand suffers unprecedented pressures. The agricultural sector, which sustains the basic survival of the population, is especially affected by rainfall changes. Therefore, to avoid loss of productivity, it depends heavily on conditioning the soil and increasing irrigation. Superabsorbent polymers have been studied for different types of application, including agriculture to retain water in the soil and reduce irrigation. The superabsorbent polymer submitted to the tests was granted by the company HIDROSILO, which is potassium polyacrylate-based. Being a product used on land for planting, it interacts with animals, plants and microorganisms and it is necessary to understand these interactions. Therefore, the studies carried out in this project focus on the analysis of the biodegradability of HIDROSILO and its interactions with plants, earthworms and warworms – its toxicity and phytotoxicity. The immediate biodegradability test of water-soluble or poorly water-soluble organic substances, but not volatile, was used, by measuring the carbon dioxide released in an open system (CO<sub>2</sub> evolution) for the analysis of the biodegradability of the polymer; the phytotoxicity study was based on the germination rate of *Lactuca sativa* seeds; the toxicity study was based on the analysis of the life cycle of three species: *Tenebrio molitor*, *Eisenia fetida* and *Drosophila melanogaster*. The studies concluded that the superabsorbent polymer HIDROSILO is not considered to be readily biodegradable (average value of  $36.0 \pm 13.8\%$  of CO<sub>2</sub> evolution at the end of 28 days of testing) and that it does not present toxicity or phytotoxicity, since the statistical analyzes of the groups treated with and without HIDROSILO (control group) were similar.

Keywords: SAP, toxicity, phytotoxicity, superabsorbent polymer



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fórmula Estrutural (SAP de PAN): .....	17
Figura 2 – Desenho esquemático do sistema do Respirômetro de Bartha.....	22
Figura 3 – Fluxograma das concentrações de HIDROSILO. ....	30
Figura 4 – Fluxograma representativo do ciclo de vida da espécie <i>T. molitor</i> .....	33
Figura 6 – Fluxograma do ciclo de vida da espécie <i>Drosophila melanogaster</i> . ....	36
Figura 7 – Análise FTIR do HIDROSILO. ....	39
Figura 8 – Perfil de biodegradação, expresso em porcentagem (valores médios), observado para o HIDROSILO. ....	45
Figura 9: Gráfico de comparação da germinação de <i>L. sativa</i> em diferentes concentrações do experimento 1, apontando para as diferenças estatísticas (KW-H= 13,734; p= 0,008).....	48
Figura 10: Gráfico de comparação da germinação de <i>L. sativa</i> do experimento 2, apontando não haver diferenças estatísticas entre as concentrações e o controle (KW-H= 8,397; p= 0,008. ....	48
Figura 11: Gráfico de comparação da germinação de <i>L. sativa</i> do experimento 3, apontando não haver diferenças estatísticas entre as concentrações e o controle (KW-H 1,108; p= 0,0893). ....	49
Figura 12: Gráfico de comparação da germinação de <i>L. sativa</i> do experimento 4, apontando não haver diferenças estatísticas entre as concentrações e o controle (KW-H= 3,725 p= 0,0444). ....	49
Figura 13: Gráfico de comparação do comprimento mediano do caule de alface germinada na terra diatomácea e diferentes concentrações de SAP. ....	53
Figura 14: Gráfico de comparação do comprimento mediano da folha de alface germinada na terra diatomácea e diferentes concentrações de SAP .....	54

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Condições dos materiais para análise via FTIR e as cores representantes no espectro.....	27
Quadro 2 - Condições do experimento para avaliar a biodegradabilidade do material.....	28
Quadro 3 – Concentrações de HIDROSILO utilizadas nos testes com <i>T. molitor</i> .....	32
Quadro 4 – Concentrações de HIDROSILO utilizada nos testes com <i>E. fetida</i> .....	34
Quadro 6 – Resultado da análise de teor de carbono do HIDROSILO. ....	41
Quadro 7 – Contagem de inóculo preparado para o ensaio com HIDROSILO. ....	42
Quadro 8 – Valores de CO <sub>2</sub> acumulado (mg), em incubação por HIDROSILO. ....	42
Quadro 9 – Degradação observada para o HIDROSILO em diferentes condições de ensaio. ....	43
Quadro 10 – Média dos valores de biodegradação do HIDROSILO em diferentes condições.....	44
Quadro 11 – Valor da biodegradação do HIDROSILO após 28 dias.....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atribuição aproximada das Faixas de componentes orgânicos e inorgânicos avaliados .....	40
Tabela 2: Número de experimentos, nº e percentual de sementes de <i>L. sativa</i> germinadas nas diferentes concentrações de SAP e testes de comparação de medianas (Kruskall-Wallis – H e valores de p).....	47
Tabela 3: Percentual de germinação de <i>L. sativa</i> em diferentes concentrações de HIDROSILO e terra diatomácea .....	51
Tabela 4: Comprimento mediano do caule e da folha de <i>L. sativa</i> desenvolvida na terra diatomácea em diferentes concentrações de HIDROSILO.....	52
Tabela 5: Testes de desenvolvimento de <i>T. molitor</i> a partir de larvas da geração parental (F <sub>0</sub> ) até adultos da geração F <sub>1</sub> em diferentes concentrações de SAP .....	55
Tabela 6: Percentual e tempo de desenvolvimento de <i>D. melanogaster</i> em tratamento com SAP + glicose em comparação com controle (banana, aveia/trigo e água) .....	57

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1	OBJETIVO GERAL.....	14
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
2.1	HIDROGEL E POLÍMEROS SUPERABSORVENTE (SAP).....	16
2.2	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	17
2.3	BIODEGRADABILIDADE.....	21
2.4	FITOTOXICIDADE EM <i>LACTUCA SATIVA</i> .....	23
2.5	TOXICIDADE.....	24
2.5.2	Toxicidade em minhocas ( <i>Eisenia fétida</i> ).....	24
2.5.3	Toxicidade em moscas-da-fruta ( <i>Drosophila melanogaster</i> ).....	25
2.5.4	Análise estatística Kruskall-Wallis.....	26
3.2	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	27
3.3	BIODEGRADABILIDADE.....	28
3.4	FITOTOXICIDADE.....	29
3.5	TOXICIDADE.....	31
3.5.1	<i>Tenebrio molitor</i> .....	31
3.5.2	<i>Eisenia fetida</i> .....	33
3.5.3	<i>Drosophila melanogaster</i> .....	35
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
4.1	FTIR .....	38
4.2	BIODEGRADABILIDADE.....	41
4.3	FITOTOXICIDADE.....	46
4.4	TOXICIDADE.....	54
4.4.1	<i>Tenebrio molitor</i> .....	54
4.4.2	<i>Drosophila melanogaster</i> .....	56
4.4.3	<i>Eisenia fetida</i> .....	59
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O século XX foi marcado por diversas inovações no setor econômico e industrial, mudando completamente o relacionamento social entre humanos e deles com a natureza. Com a Revolução Técnico-científica, processos e produtos diferentes de tudo que já foram criados começaram a fazer parte do dia a dia das pessoas. As consequências só seriam presenciadas e estudadas com mais afinco no século XXI: mudanças climáticas, lixo, poluição atmosférica, desmatamento, entre muitos outros (ORFALI *et al.*, 2016). Sustentabilidade tornou-se uma questão de sobrevivência do planeta e das gerações futuras. Com o objetivo de reduzir os impactos antrópicos, soluções como reciclagem, otimização dos recursos, utilização de energia limpa, *smart grids* p. ex., estão se tornando mais importantes e visados (HOSSAIN *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2018; LU *et al.*, 2021). Os polímeros sintéticos, como os plásticos e fibras, criaram um problema ambiental significativo tanto na terra, quanto no mar, por não se degradarem facilmente, podem permanecer no ambiente natural, contaminar o solo, rios e oceanos por centenas de anos e assim prejudicar a vida animal por diversos ciclos de vida (TOKIWA *et al.*, 2009).

A indústria da moda rápida (*fast-fashion*) é uma das mais poluidoras do mundo. Segundo o European Environment Agency (2019), meio milhão de tonelada de microfibras sintéticas de roupas é despejado no oceano por ano - o que equivale a 35% dos microplásticos totais que são descartados neste ambiente. A fibra acrílica é uma das muitas fibras sintéticas utilizadas para a confecção destas roupas e outros materiais que também não possuem solução efetiva de reciclagem mecânica e são descartadas em aterros. No entanto, a reciclagem química destas fibras não só mostrou ser uma boa solução para o descarte destas fibras como para a escassez hídrica no setor agrícola (BOCKEN *et al.*, 2016).

Sintetizado pela primeira vez em 1938 por meio da polimerização de ácido acrílico com divinilbenzeno em meio aquoso, os polímeros superabsorventes (SAP) são uma opção de reciclagem para fibras acrílicas. Os SAPs são compostos por uma rede de polímeros hidrofílicos com alta capacidade de retenção de água o que permite ser utilizado em diversas áreas: para descarte de resíduos contaminantes (p. ex. de hospitais), uso em fraldas, absorventes e condicionamento de solo como retentor de água (DANG *et al.*, 2020).

Apesar de ter diversas aplicabilidades, ainda são escassos os estudos que verifiquem fatores como a toxicidade e biodegradabilidade destes SAPs. É mais pertinente ainda verificá-los para SAPs de uso agrícola, como o SAP da marca HIDROSILO, cuja base é poliacrilato de potássio. Para avaliar a toxicidade, foi conduzido testes com espécies de invertebrados como

*Tenebrio molitor*, *Eisenia fetida* e *Drosophila melanogaster*. Com relação à análise de fitotoxicidade, sementes de *Lactuca sativa* (alface) foram avaliadas desde o estágio inicial - da quebra de dormência - até o desenvolvimento pós radiculares. Já para o teste de biodegradabilidade do HIDROSILO, foi empregado o teste de biodegradabilidade imediata pela medida do dióxido de carbono desprendido em sistema aberto (evolução de CO<sub>2</sub>), além da análise de grupos funcionais presentes na estrutura via espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – FTIR no modo ATR “*Attenuated Transmittance*”. Com a espectroscopia de FTIR no modo ATR é possível analisar a variação da estrutura química do polímero em diferentes condições e períodos, assim como a identificação dos compostos.

O objetivo da pesquisa é estudar a composição química do SAP via FTIR e correlacionar com o potencial de biodegradação na terra, assim como sua fitotoxicidade via *Lactuca sativa* e toxicidade via *Tenebrio molitor*, *Eisenia fetida* e *Drosophila melanogaster*.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o HIDROSILO via FTIR, assim como o potencial de biodegradação, sua fitotoxicidade via *Lactuca sativa* e toxicidade via *Tenebrio molitor*, *Eisenia fetida* e *Drosophila melanogaster*.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o HIDROSILO via FTIR, analisando a espectro de transmitância para determinação das características do polímero;
- Avaliar a biodegradação do HIDROSILO via de respirometria, por meio de desprendimento de dióxido de carbono;
- Avaliar a fitotoxicidade do HIDROSILO via espécie *Lactuca sativa* por meio da quebra de dormência das sementes, assim como desenvolvimento da planta relacionado a mensuração de raízes e folhas;
- Avaliar a toxicidade do HIDROSILO via desenvolvimento larval e processo reprodutivo do *Tenebrio molitor*;
- Avaliar a toxicidade do HIDROSILO via desenvolvimento e reprodução da espécie *Eisenia fetida*;
- Avaliar toxicidade do HIDROSILO via desenvolvimento de pupas e larvas de

*Drosophila melanogaster.*

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este tópico discute os principais artigos e respectivos autores referentes aos temas estudados no projeto e cria uma linha de base para a compreensão dos procedimentos metodológicos e da importância da realização do projeto. É pertinente, portanto, definir o material a ser testado – Hidrogel e SAP – e discorrer sobre cada procedimento e o motivo deles serem usados nesta pesquisa para obter dados sobre biodegradabilidade, fitotoxicidade e toxicidade.

### 2.1 HIDROGEL E POLÍMEROS SUPERABSORVENTE (SAP)

No início dos anos 1960, Wichterle e Lim introduziram um tipo de gel hidrofílico para uso biológico e, desde então, esforços constantes têm sido empreendidos para gerar mais conhecimento sobre os potenciais usos dos hidrogéis, gerando avanços muito significativos na área médica e farmacêutica (FLEMING *et al.*, 2021). Os SAPs, são definidos como cadeias poliméricas de configuração tridimensional que possuem a capacidade de absorção de líquidos – p. ex. água e fluidos biológicos –, tendo esta característica atribuída pela presença de grupos hidrofílicos como – OH, – CONH–, – CONH<sub>2</sub>– e – SO<sub>3</sub>H (LIU; NISISAKO, 2020).

Os SAPs têm a capacidade de absorver, intumescer e reter soluções aquosas para até centenas de vezes o próprio peso. Três características principais dos SAPs são: alta capacidade de absorção de líquidos; alta taxa de absorção de líquidos; e resistência desejada do gel intumescido. Estas características fazem com que possam ter diversas aplicabilidades, sendo as mais usuais na área da higiene e agricultura. À parte dos usos mencionados, algumas de suas outras aplicações são: desidratação de carvão; sistema de liberação controlada de fármacos; e aditivos para concreto (MONTESANO *et al.*, 2015) Aplicações potenciais como em órgãos artificiais, engenharia de tecidos, dispositivos biomédicos e robótica mole subaquática estão sendo também explorados pelos cientistas contemporâneos (SANDOVAL *et al.*, 2017).

O SAP de PAN é produzido a partir da reciclagem de fibras acrílicas. A PAN não é reaproveitada para a produção de novas fibras, mas sim para produzir sais do ácido poli(acrílico-co-acrilamida) reticulado - como o sal de potássio - que é empregado em agricultura e permite elevado grau de intumescimento - superior a 300 g de água por grama do polímero (MONTESANO *et al.*, 2015; SANDOVAL *et al.*, 2017). Os SAPs agrícolas derivados do ácido acrílico já são usados há muitos anos e seu uso cresce na agricultura conforme mais regiões do



mundo enfrentam a seca e o uso racional da água se torna mais importante (RUDZINSKI *et al.*, 2002).

O HIDROSILO de poliacrilonitrila apresenta as seguintes características:

Nome químico: Poli (Acrilato de Potássio-co-Acrilamida) reticulado

Características: granular, de amarelo a laranja

Teor de potássio: 26% a 28%

Grau de intumescimento: 300 a 500 g H<sub>2</sub>O/g

Teor de ácido acrílico residual: < 10 ppm

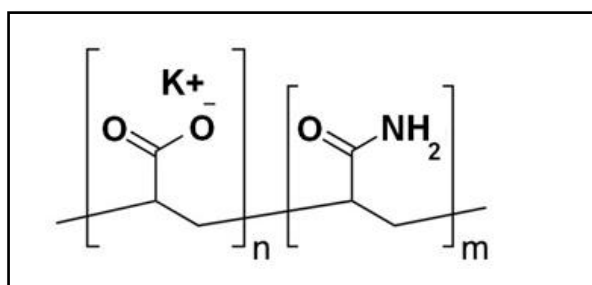
Teor de fração solúvel: < 5%

Teor de umidade: < 8%

pH na concentração de 1 g/L: 7-9

A Figura 1 contém a fórmula estrutural do SAP de PAN.

Figura 1- Fórmula Estrutural (SAP de PAN):



Fonte: adaptado de Fleming *et al.* (2021)

## 2.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A radiação no infravermelho é uma radiação eletromagnética que apresenta frequência menor que a da luz vermelha e, por isso, não está dentro do espectro eletromagnético visível. Por esse motivo, essa radiação não pode ser percebida pelo olho humano. O infravermelho possui comprimento de onda entre 1  $\mu\text{m}$  ( $1 \times 10^{-6}\text{m}$ ) e 1 mm ( $1 \times 10^{-3}\text{m}$ ) não é uma radiação ionizante, e causa alterações nos modos vibracionais e rotacionais de uma molécula (SZYMANSKI; ERICKSON, 1970). Essas vibrações correspondem à energia de fótons

infravermelhos, que são absorvidos e ou transmitidos pelas moléculas, originando assim os espectros no Infravermelho (NANDIYANTO; OKTIANI; RAGADHITA, 2019).

A espectroscopia molecular no infravermelho possibilita a análise das bandas espectrais de absorção e de transmissão, que fornecem informações a respeito de vibrações moleculares, de uma amostra posicionada entre um suporte e um cristal de diamante utilizado para pressionar a amostra, tornando possível a investigação das forças de interação entre os átomos constituintes das moléculas (COATES, 2006). Há dois métodos importantes que podem ser utilizados para a obtenção dos espectros na espectroscopia ATR (NANDIYANTO *et al.*, 2019): Espectroscopia de Transmissão e de Reflexão, quando o material é colocado em contato com um cristal a radiação que passa através do cristal, irá penetrar alguns nanômetros na superfície da amostra e a energia irá interagir com a energia do comprimento de onda da vibração da ligação química dessa superfície. Nesta interação, o material absorve ou reflete a luz infravermelha na superfície interna e a radiação incidida tem sua intensidade atenuada. A técnica FT-IR de Reflexão (UATR) é considerada de última geração e gera espectros de boa qualidade para a maior parte das substâncias (DEVOS *et al.*, 2009)

Uma molécula com  $N$  átomos possui  $3N$  graus de liberdade sendo: (i) movimentos de translação; (ii) movimento de rotação em torno de um referencial com origem no centro de massa da molécula; e (iii) vibrações dos átomos que constituem a molécula (SALA, 1996). Considerando  $3N$  graus de liberdade de uma molécula, três correspondem à translação da molécula como um todo e três correspondem a rotações, restando assim  $(3N-6)$  graus de liberdade, correspondentes a vibrações dos átomos nas moléculas.

No caso de moléculas lineares, não se consideram rotações em torno do eixo que contém todos os átomos das moléculas, pois os núcleos dos átomos são considerados puntiformes. Sendo assim, há apenas dois graus de liberdade que correspondem a rotações, fazendo com que as moléculas lineares tenham o número de graus de liberdade correspondente a vibrações  $(3N-5)$ . Uma vibração normal da molécula corresponde a uma frequência, denominada *frequência fundamental* ou *normal*. Estes modos normais vibracionais das moléculas apresentam propriedades de simetria que vão depender da simetria da própria molécula (NANDIYANTO *et al.*, 2019).

O cálculo das frequências pode ser realizado pelas massas dos átomos, geometria da molécula e pelas constantes de força de interação entre os átomos. No caso da molécula de água ( $H_2O$ ), que é considerada uma molécula simples, o cálculo das frequências para todos os modos normais de vibração é relativamente simples, mas no caso de moléculas mais complexas estes

cálculos podem ser bem mais trabalhosos, tornando-se necessário o uso de considerações empíricas. Observa-se que certos grupos de átomos que podem fazer parte de diferentes moléculas apresentam bandas espectrais em uma região característica do espectro. As frequências que correspondem a essas bandas caracterizam o grupo de átomos, fazendo-se necessário uma boa interpretação dos espectros para identificação destas bandas (JERÔNIMO *et al.*, 2012). Como exemplo, pode-se usar uma molécula plana do tipo  $X_2C=CH_2$ , onde “X” é considerado um átomo diferente do hidrogênio. Nas moléculas orgânicas as ligações mais comuns estão entre os átomos de carbono e hidrogênio e a movimentação da ligação ocorre, em fase, fora do plano do grupo. Isso acontece pela variação do ângulo entre o plano  $CH_2$  e a ligação dupla  $C=C$ , sendo que o restante da molécula praticamente não se move. Este modo de vibração é chamado de “wagging” ( $\rho w$ ) (de to wag, abanar) (NANDIYANTO *et al.*, 2019).

Os modos de vibrações de todos os átomos vibram em sincronia, atingindo ao mesmo tempo o afastamento máximo à sua posição de equilíbrio e há outros tipos de modos de vibração semelhantes aos da molécula da água, como por exemplo, o grupo  $=CH_2$  apresenta modo de vibração que envolve a deformação do ângulo HCH, denominado “scissoring”, onde é indicado por  $\delta scis$ , sendo que o índice “scis” corresponde a palavra “scissors” (tesoura, em inglês). Além disso, ainda há outros tipos de modos de vibração, pois o grupo  $CH_2$  está ligado a outros átomos para a formação de moléculas, como a “twisting” ( $\rho tw$ ) e “rocking” ( $\delta r$ ) (COATES, 2006; JERÔNIMO *et al.*, 2012; STUART, 2004).

Nas biomoléculas, a maior absorção espectral situa-se nas bandas referentes às ligações N-H, C=O, C-O, C-H e P=O, que são encontrados em lipídios, proteínas, açúcares e ácidos nucleicos. Assim, arranjos biológicos tais como proteínas, lipídios, biomembranas, carboidratos, e tecidos têm sido caracterizados com sucesso através da Espectroscopia no Infravermelho (STUART, 2004). Uma molécula com N átomos possui 3N graus de liberdade: (i) movimentos de translação da molécula como um todo; (ii) movimento de rotação em torno de um referencial com origem no centro de massa da molécula; e (iii) vibrações dos átomos que constituem a molécula (STUART, 2004).

Considerando 3N graus de liberdade de uma molécula, três correspondem à translação da molécula como um todo e três correspondem a rotações, restando assim (3N-6) graus de liberdade, correspondentes a vibrações dos átomos nas moléculas. Não se consideram rotações em torno do eixo que contém todos os átomos das moléculas, no caso de moléculas lineares, pois os núcleos dos átomos são considerados puntiformes. Sendo assim, há apenas dois graus de liberdade que correspondem a rotações, fazendo com que as moléculas lineares tenham o

número de graus de liberdade correspondente a vibrações ( $3N-5$ ) nas moléculas. Não se consideram rotações em torno do eixo que contém todos os átomos das moléculas, no caso de moléculas lineares, pois os núcleos dos átomos são considerados puntiformes. Sendo assim, há apenas dois graus de liberdade que correspondem a rotações, fazendo com que as moléculas lineares tenham o número de graus de liberdade correspondente a vibrações ( $3N-5$ ) (BARTH, 2007). Em um modo normal de vibração, todos os átomos vibram em sincronia, atingindo ao mesmo tempo o afastamento máximo à sua posição de equilíbrio, passando também ao mesmo tempo por sua respectiva posição de equilíbrio e vão depender da simetria de cada molécula (BARTH, 2007).

Espectroscopia por FTIR é uma técnica de caracterização que revela informações sobre a estrutura molecular de compostos químicos e pode ser utilizada na caracterização de sólidos, líquidos ou gases através de seu espectro infravermelho de absorção ou emissão (LAWRIE *et al.*, 2007). Originalmente, testes e registros dos espectros de absorção de radiação infravermelha de amostras eram feitos por meio de espectrômetros de difração de dois feixes. Soluções técnicas mais modernas de espectrômetros consistem em trocar os monocromadores por interferômetros, fazendo possível encurtar o registro do espectro e obter boa definição. Além disso, lá ocorre a transformação e o arranjo do interferograma obtido ao domínio da frequência pelo uso da Transformada de Fourier. Assim, é possível registrar espectros complexos de materiais, combinação de espectros, a distinção de bandas derivadas de áreas cristalinas e não-cristalinas e realizar testes estatísticos e dinâmicos (DÁVILA *et al.*, 2012).

Segundo Dávila (2012), a técnica de espectroscopia pode ser usada em duas versões: transmissão e reflexão. A versão da transmissão é usada para testar os efeitos da absorção de radiação infravermelha na amostra e não pode ser usada para materiais que absorvem muita radiação infravermelha: é para testar amostras locais, como a superfície do material. Já a versão de reflexão foi desenvolvida nos anos 60, chamada de Reflexão Total Atenuada – ATR –, que possibilita testar versões específicas de amostras. A variação infravermelha no campo eletromagnético corresponde à energia vibracional das moléculas, que podem avaliar as vibrações atômicas de moléculas que interagem com a radiação infravermelha ( $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  m) dependendo de sua estrutura molécula (EL OUDIANI; MSAHLI; SAKLI, 2017).

Caracterização por FTIR bastante útil para caracterizar de polímeros e pode ser usada para avaliar desde o interior até a superfície do material, portanto é comum se utilizar essa técnica de caracterização em pesquisas do gênero e apresenta excelentes resultados (LAWRIE *et al.*, 2007; DANG *et al.*, 2020).

### 2.3 BIODERADABILIDADE

Os avanços tecnológicos podem facilitar a vida atual, porém acabam por acarretar diversos impactos socio-ambientais. Pode ser citado, como exemplo, a alta produção de plásticos presentes em diversas aplicações cotidianas e industriais. A maioria destes plásticos são feitos de polímeros sintéticos como o polietileno, o polipropileno, o PVC (policloreto de vinila) e o PET (polietileno tereftalato), que demoram centenas de anos para se degradar (TOKIWA; CALABIA, 2007). Estima-se que 8,9 bilhões de toneladas de plásticos primários e secundários (produzidos através de material reciclável) já foram fabricados desde meados do século passado e cerca de dois terços deste total, ou seja 6,3 bilhões de toneladas, viraram lixo. Enquanto isso, apenas 2,6 bilhões de toneladas ainda estão em uso (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). O uso exacerbado destes polímeros gera dois grandes problemas: primeiro, a maior parte da matéria prima destes plásticos é obtida do petróleo, fonte não renovável (AMBROSIO; ALVES; FECHINE, 2012). E segundo, os problemas causados pela não-degradação destes polímeros ocasionam a contaminação de solo, rios e oceanos, afetando a biodiversidade e a saúde humana (EKEBAFE; OGBEIFUN; OKIEMEN, 2011).

Os problemas derivados pela baixa taxa de degradação desses materiais levaram então ao desenvolvimento de plásticos biodegradáveis, tendo como vantagem a sua compostagem e sua transformação em matéria orgânica novamente. Além da diminuição dos impactos associados ao meio ambiente em geral, há também a redução do volume de lixo em aterros, que podem ser reciclados em monômeros e oligômeros úteis por meio, inclusive, de tratamento microbiano e enzimático (TOKIWA *et al.*, 2009; TOKIWA; CALABIA, 2007).

Os polímeros superabsorventes (SAPs) são uma alternativa para reciclagem de polímeros sintéticos, tendo ainda como vantagem funções mitigadoras em déficit hídrico pós-plantio. Devido a sua alta capacidade de retenção de água, além hidratar o solo, ainda auxilia na descompactação melhorando o desenvolvimento das raízes (TOKIWA; CALABIA, 2007; BELLATO *et al.*, 2015).

Para a determinação da biodegradabilidade de poluentes no solo é comumente utilizado no Brasil o método respirométrico de Bartha, cujo ensaio de respirometria é baseado na medição do CO<sub>2</sub> que é gerado no processo de degradação dos resíduos orgânicos presentes no meio. Adicionalmente, sua aplicação vem sendo utilizada para estudos de interação entre diversos fatores intervenientes no processo de degradação de resíduos orgânicos no solo, baseando-se no fato de que a geração de CO<sub>2</sub> aumenta com o incremento da taxa de aplicação do polímero de estudo (MELLO *et al.*, 2007; COSTA, 2009). Os SAPs derivados de ácido

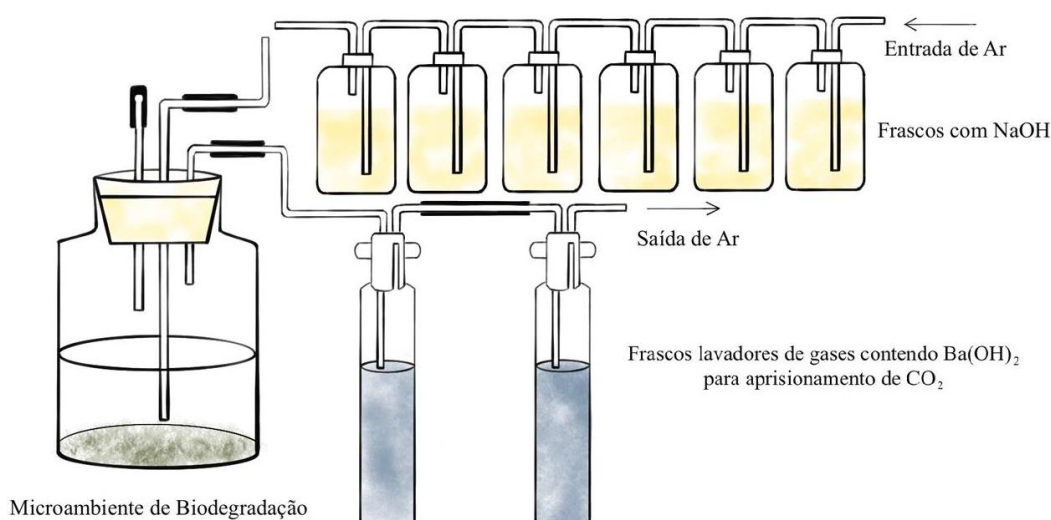
acrílico, por serem largamente utilizados no mundo em fraldas e absorvente higiênicos, possuem uma vasta quantidade de trabalhos publicados sobre suas biodegradabilidades (AMBROSIO; ALVES; FECHINE, 2012).

Portanto, a pesquisa e o desenvolvimento de processos de reciclagem de plásticos e também a produção de plásticos biodegradáveis, compostáveis e passíveis de serem transformados em matéria orgânica novamente, atacam estes dois grandes problemas da sua utilização indiscriminada atual.

A avaliação da biodegradabilidade está baseada no método de Mello (2007) utilizando o respirômetro de Bartha representado esquematicamente na Figura 2 adaptada (MELLO *et al.*, 2007). O respirômetro de Bartha consiste em um sistema fechado contendo dois frascos onde, no frasco maior (Erlenmeyer) ocorre a biodegradação dos compostos orgânicos por microrganismos nativos ou introduzidos. Assim, neste frasco será introduzido o SAP hidratado com água destilada. Ao longo do processo, o gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) produzido pela biodegradação é transferido para segundo frasco, o qual conterá uma solução de hidróxido de potássio (KOH) (PITOMBO *et al.*, 2018).

A Figura 2 contém um desenho esquemático do sistema do Respirômetro de Bartha, utilizado para medição da biodegradabilidade de compostos. Nele se observa o sistema fechado sendo o maior frasco onde ocorre biodegradação, a saída de ar contém o  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  que capta o  $\text{CO}_2$  para quantificação.

Figura 2 – Desenho esquemático do sistema do Respirômetro de Bartha.



Fonte: o autor, 2022, adaptado de Mello *et al.* (2007).

## 2.4 FITOTOXICIDADE EM *LACTUCA SATIVA*

Dentre as diferentes fontes de poluição, um dos problemas ambientais mais comuns gerados pelas indústrias e pela mineração é a contaminação dos solos por metais pesados. Já a atividade agrícola de larga escala, como a monocultura, depende pesadamente de agrotóxicos, fertilizantes e outras substâncias com potencial contaminante, que geram perda de qualidade da água, degradação dos mananciais e a crescente degradação do solo, trazendo diversas consequências negativas para o meio ambiente e a população local (RODRIGUES *et al.*, 2013). Por conseguinte, esforços governamentais estão sendo empreendidos para enrijecer a legislação de produtos condicionadores de solo, exigindo testes complementares para garantir a segurança de longo prazo do meio ambiente. No Brasil, o Ministério da Agricultura e a Secretaria de Defesa Agropecuária regulam a utilização desses produtos e, portanto, produtores devem cumprir com as especificações e restrições do Decreto Nº 4.954 de 14 de Janeiro de 2004. Para cumprir a legislação e não prejudicar o ecossistema a longo prazo, bioensaios – e.g. testes de toxicidade e fitotoxicidade em organismos – permitem avaliar o risco e compreender melhor os impactos que agentes químicos podem ter na integridade ambiental (PEREIRA *et al.*, 2013).

Dada a importância do uso de SAPs na agricultura como condicionador de solo para retenção de água, seu potencial fitotóxico precisa ser mínimo ou inexistente. Testes com plantações de milho (MONTESANO *et al.*, 2015), açafrão (FALLAHI *et al.*, 2016) e germinação de sementes de cevada e alface (WOODHOUSE; JOHNSON, 1991) já foram conduzidos com outros SAPs e os estudos revelaram resultados positivos para as plantas – como a diminuição do estresse hídrico. Como o HIDROSILO é um SAP de uso exclusivamente agrícola, se faz pertinente avaliar sua segurança para plantas e animais. Para isso, o teste de fitotoxicidade visou estudar se existe alguma interação prejudicial entre HIDROSILO e as plantas que estiver em contato. A alface (*Lactuca sativa*) é uma planta amplamente utilizada por ser bastante sensível a substâncias tóxicas, podendo ser utilizada como organismo teste de avaliação de contaminantes ambientais. Seu uso é reforçado devido ao fato de ser uma espécie extensivamente cultivada no mundo todo (DING *et al.*, 2012; SCHREITER *et al.*, 2014).

## 2.5 TOXICIDADE

### 2.5.1 Toxicidade em *Tenebrio molitor*

Produtos sintéticos têm o potencial de causar efeitos desfavoráveis em geral sobre a vida de animais terrestres e aquáticos, incluindo o ser humano, que acaba por ingerir micro plásticos, inconscientemente, pelo uso de uma variedade de polímeros (COX *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2017; LIM *et al.*, 2021; PRATA, 2018). Os impactos gerados no ecossistema e na sociedade pelo uso de uma variedade de polímeros são surpreendentes: apesar desses produtos serem vendidos com a premissa de revolucionar de forma positiva, acarretam um problema mundial devido ao acúmulo e descarte indevido destes polímeros no meio ambiente, contaminando a água, solo e ar (PRATA, 2018). Por isso, muitos estudos visam trazer soluções para a poluição por polímeros, como os plásticos, seja por reciclagem otimizada, sua substituição por bioplásticos, reciclagem química ou até mesmo incluindo o material em algum ciclo de vida, como bem apresentado no artigo de revisão dos bioplásticos e sua adoção na economia circular (DI BARTOLO; INFURNA; DINTCHEVA, 2021). Por exemplo, os SAPs de ácido acrílico são empregados na produção de ração para criação de minhocas, larvas e insetos – como grilos e baratas – destinados a alimentação de animais de estimação como pássaros, lagartos, galinhas, entre outros. Além destas aplicações, outro uso do polímero é como aditivo nas rações para vermes e insetos como controlador de umidade e com isso aumentar seu tempo de vida (TRIPATHI; BHARDWAJ, 2004).

Observou-se que alguns membros da família Tenebrionidae tem a capacidade de se alimentar de polímeros (TSOCHATZIS *et al.*, 2021; JIMENEZ *et al.*, 2019). Mais especificamente, foi visto que o *Tenebrio molitor*, em seu estágio larvário, tem a capacidade de consumir e degradar estes polímeros (TSOCHATZIS *et al.*, 2021). Portanto, o inseto foi escolhido como candidato de teste para analisar de que modo o consumo de HIDROSILO pelo organismo por afetar outras gerações e assim avaliar o potencial risco de contaminação animal.

### 2.5.2 Toxicidade em minhocas (*Eisenia fétida*)

O uso de insumos agrícolas, condicionadores de solo e agrotóxicos podem ocasionar contaminação do solo e da água, afetando o equilíbrio natural do ecossistema e comprometendo-o a longo prazo. Apesar de muitos destes compostos apresentarem



classificação baixa de toxidez para a saúde humana, estudos mostram efeitos tóxicos de herbicidas a base de Glifosato (SAMADI KALKHORAN *et al.*, 2022). Bioensaios com organismos terrestres – e.g. mortalidade de minhocas – indicam o risco potencial destes compostos químicos quando aplicados ao solo, mostrando a viabilidade do uso de minhocas para experimentação com toxicidade (TRIPATHI; BHARDWAJ, 2004; GAYLOR; HARVEY; HALE, 2013)

Com a maior incidência e intensidade de seca, torna-se essencial usar SAPs como condicionadores de solo na agricultura. Sua aplicação é cada vez mais comum, já que eles aumentam a produtividade agrícola, ajudam na armazenagem de água no solo – seja proveniente de irrigação ou de chuva – e diminuem a frequência de rega (SANDOVAL *et al.*, 2017). Uma vez que o HIDROSILO será utilizado para esta mesma aplicação, é de grande importância neste projeto conhecer a sua toxicidade com vermes do solo, como minhocas.

### 2.5.3 Toxicidade em moscas-da-fruta (*Drosophila melanogaster*)

Os ensaios biológicos para uso em método de triagem constituem um dos recursos mais adequados para detectar presença de resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentos e de componentes abióticos (HIRATA; DIAS; ROSA, 2002). Segundo Hirata e colaboradores (2002), a realização de bioensaios com moscas-da-fruta *Drosophila melanogaster* é comumente utilizado como método de triagem para avaliar a presença desses resíduos.

Esta espécie é utilizada em diversas áreas de estudo, desde experimentação com análise genética até a níveis de investigação de ponta associado a agrotóxicos, dietas e outros fatores, como modelo base para ensinar os princípios da hereditariedade (SOUZA; MITTMANN, 2014). Portanto, as moscas-da-fruta são um grupo facilmente utilizável para experimentação com toxicidade principalmente se associado à hereditariedade.

Durante estudos preliminares que antecederam este projeto, observou-se que as moscas-da-fruta são fortemente atraídas por um meio nutritivo contendo SAP de PAN, água e açúcar, principalmente servindo como veículo de postura de ovos e desenvolvimento de suas larvas. Por se tratar de uma espécie cujo ciclo de vida até o inseto adulto é bastante rápido, torna-se um animal importante para se estudar o HIDROSILO e seus efeitos em diversas gerações deste inseto.

#### 2.5.4 Análise estatística Kruskal-Wallis

A análise estatística de Kruskal-Wallis é um teste não-paramétrico utilizado para avaliar se há diferenças significativas entre três ou mais grupos independentes. Ele é usado quando a distribuição dos dados não segue uma distribuição normal ou quando há valores discrepantes (outliers) que podem afetar a validade dos testes paramétricos. Essa análise é comumente utilizada em estudos biológicos para comparar diferentes grupos de espécies em relação a uma variável quantitativa (CHAN; WALMSLEY, 1997).

Para realizar a análise, primeiramente é necessário coletar os dados das espécies para a variável de interesse. Em seguida, é necessário separar as espécies em grupos independentes e realizar o teste de normalidade para avaliar se os dados de cada grupo seguem uma distribuição normal. Caso os dados não sigam uma distribuição normal, é necessário utilizar a análise de Kruskal-Wallis, já que este teste não exige a normalidade dos dados (CHAN; WALMSLEY, 1997).

O teste de Kruskal-Wallis compara as medianas dos diferentes grupos de espécies e avalia se há diferenças significativas entre elas. Caso o teste seja estatisticamente significativo, é possível utilizar testes de comparação múltipla, como o teste de Dunn, para determinar quais grupos apresentam diferenças significativas (CHAN; WALMSLEY, 1997).

O teste de Kruskal-Wallis é realizado em quatro etapas: 1- As amostras são combinadas em uma única amostra ordenada, com base em seus valores; 2- As classificações são atribuídas a cada valor, indicando a posição do valor dentro da amostra ordenada. 3- É calculada a soma das classificações para cada grupo. 4- É calculada a estatística de teste H, que é baseada nas somas das classificações (CHAN; WALMSLEY, 1997).

A estatística de teste H segue uma distribuição qui-quadrado com  $k-1$  graus de liberdade, onde  $k$  é o número de grupos. Um valor  $p$  é calculado a partir da distribuição qui-quadrado para testar a hipótese nula de que as medianas são iguais entre os grupos (CHAN; WALMSLEY, 1997).

Em resumo, a análise estatística de Kruskal-Wallis é uma ferramenta importante para avaliar a variação entre grupos de espécies em estudos biológicos, especialmente quando os dados não seguem uma distribuição normal (CHAN; WALMSLEY, 1997).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste tópico serão abordados os métodos e os materiais relacionados no desenvolvimento deste projeto. É oferecida uma descrição detalhada do que foi realizado e as possíveis adaptações de campo para a obtenção de resultados passíveis de discussão. Os experimentos foram realizados no Instituto Granado de Tecnologia da Poliacrilonitrila (IGTPAN), localizado em Jacareí, SP e no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), localizado na Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), em São José dos Campos, SP.

#### 3.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os espectros foram obtidos via análise do material em espectrofotômetro *Spectrum Two* com transformada de Fourier (FTIR) e tecnologia de refletância atenuada (ATR) da *PerkinElmer*, modelo *Spectrum 400*, no intervalo de  $4000\text{-}550\text{cm}^{-1}$  com resolução de  $4\text{cm}^{-1}$  e ajuste com 10 varreduras. A análise foi realizada no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), localizado na Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), em São José dos Campos, SP. Os espectros obtidos foram processados com o *software Spectrum 5.3 (ParkinElmer)*, com correções de linha de base, suavização espectral com o algoritmo *Savitsky Golay* (9 pontos), normalização e plotagem em refletância pelo programa *Origin 2021*. Os picos encontrados foram comparados com a literatura.

Os materiais testados foram todos cedidos pelo IGTPAN, sendo analisado então o HIDROSILO da forma como foi recebido, um HIDROSILO que foi hidratado e logo em seguida desidratado em um sistema de desidratação marca *Marshall Scientific* modelo Eppendorf 5301 “*vacufuge concentrator*”, uma amostra de HIDROSILO que ficou exposto ao ambiente, e uma quarta amostra que ficou em contato do solo por 2 anos, sendo coletada, lavada em água destilada para remoção de qualquer resíduo de solo e então desidratada.

Quadro 1 - Condições dos materiais para análise via FTIR e as cores representantes no espectro.

Condições	Cores
HIDROSILO conforme foi recebido	Azul
HIDROSILO hidratado e posteriormente desidratado	Vermelho
HIDROSILO exposto ao ambiente	Preto
HIDROSILO no solo por 2 anos	Verde

Fonte: o autor, 2022.

### 3.3 BIODERADABILIDADE

Neste teste foi empregado o “Teste de biodegradabilidade imediata de substâncias orgânicas hidrossolúveis ou pouco hidrossolúveis, porém não voláteis, pela medida do dióxido de carbono desprendido em sistema aberto (evolução de CO<sub>2</sub>)”, com base nas especificações do guia “OECD Guideline for Testing of Chemicals (item 301, teste B, 1992)” e no “Manual de Testes para Avaliação da Ecotoxicidade de Agentes Químicos do IBAMA (1991).

Este teste foi realizado pelo “Instituto de Pesquisas Tecnológicas”.

De acordo com o método proposto, foram preparadas 4 condições de ensaio, em duas réplicas. Massas conhecidas da amostra e/ou do padrão biodegradável, a depender da condição, foram colocadas em frascos com solução nutriente. Inoculou-se cada frasco com uma concentração padronizada de microrganismos oriundos da mistura de solo e água. Todos os frascos foram incubados a 23 °C ± 2 °C. A qualidade do ar utilizado para aeração do processo foi controlada para eliminar a presença de CO<sub>2</sub>. Na saída de ar do sistema, foram instalados frascos lavadores de gases contendo solução de Ba (OH)<sub>2</sub> para o aprisionamento do CO<sub>2</sub> produzido e desprendido ao longo do tempo.

O CO<sub>2</sub> reage com a base resultando em carbonato de bário e água. As determinações de CO<sub>2</sub> foram realizadas indiretamente, por titulometria da base restante. A Quadro 1 apresenta as condições utilizadas no ensaio.

Quadro 2 - Condições do experimento para avaliar a biodegradabilidade do material.

Condições		Conteúdo
1	Branco (controle negativo)	Solução de sais e inóculo microbiano.
2	Padrão biodegradável (controle positivo)	Solução de sais, glicose e inóculo microbiano
3	Teste (HIDROSILO)	HIDROSILO, solução de sais e inóculo microbiano
4	Controle de inibição (HIDROSILO + padrão biodegradável)	HIDROSILO, solução de sais, glicose e inóculo microbiano

Fonte: o autor, 2022.

Segundo OECD (1992), o material teste é classificado como “facilmente biodegradável” quando atingir 60% de biodegradação (com base no total de dióxido de carbono teórico – ThCO<sub>2</sub>) em um intervalo de 10 dias, contados a partir do dia em que for observado 10% de biodegradação. Entretanto, se o critério da janela de 10 dias não for alcançado, mas houver degradação maior que 60% em até 28 dias, o material poderá ser considerado apenas como “biodegradável”. Já para valores de degradação abaixo de 60%, o material será considerado “não prontamente biodegradável”. Adicionalmente, o material em tese será considerado inibitório quando a porcentagem de biodegradação obtida em 14 dias de teste for menor que 25% no controle de inibição.

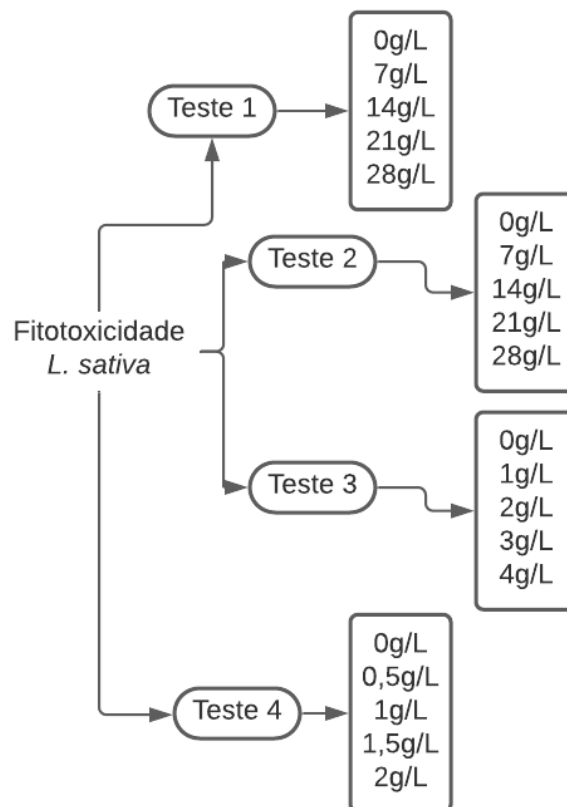
### 3.4 FITOTOXICIDADE

No ensaio de fitotoxicidade foi utilizado como organismo-teste a alface (*Lactuca sativa*), tendo os procedimentos metodológicos realizados com base em Ribeiro (2012) com adaptações, onde os grupos testes foram dispostos em uma placa de petri com 9 cm de diâmetro, com diferentes concentrações do HIDROSILO nas concentrações de 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6; 7; 14; 21; e 28 g/L, hidratados com água destilada. Foram selecionadas 20 sementes para cada grupo e cada grupo tendo 10 repetições cada, totalizando 200 sementes para cada concentração, as sementes foram dispostas na superfície do HIDROSILO hidratado, com auxílio de uma pinça, levando em consideração o espaçamento necessário para o desenvolvimento das radículas e raízes, para o grupo controle foi usado papel filtro (RODRIGUES *et al.*, 2013). Os diferentes tratamentos foram incubados durante 5 dias (120 h) em uma estufa no IGTPAN, mantendo a temperatura dentro de 20 °C a 30 °C. Após o período de exposição, foi quantificada a taxa quantidade de sementes que tiveram a quebra de dormência, com desenvolvimento do

sistema radicular.

O valor da concentração de HIDROSILO foi reduzido conforme os testes foram sendo realizados, sendo realizado 4 testes no total, sempre com grupo controle e concentrações variadas de HIDROSILO sendo representado pela Figura 3. No Teste 1 a concentração variou de 0 à 28g ocorrendo a repetição da mesma no teste 2 a fim de constatar eficácia do teste. Devido aos resultados obtidos no teste 1 e 2 se viu necessário à redução da concentração de HIDROSILO, onde o teste 3 teve a concentração variando de 0 à 4g e no teste 4 a concentração foi de 0 à 2g. A redução na concentração se deu em função dos resultados obtidos e pelo fato de que a quantidade usada excede em muito a quantidade indicada pela empresa produtora para seu uso. A Figura 3 contém um fluxograma relacionado aos 4 testes realizados, com suas respectivas concentrações de HIDROSILO.

Figura 3 – Fluxograma das concentrações de HIDROSILO.



Fonte: o autor, 2022.

As sementes só foram consideradas germinadas quando houve germinação visivelmente aparente, assim como presença de radícula.

Com base nos resultados obtidos foi realizado outros testes com um substrato neutro como base para todos os testes, sendo então selecionado a terra diatomácea, por ser um sedimento amorfo, de natureza sílica, podendo ser originado de organismos unicelulares vegetais. O primeiro teste para avaliação da viabilidade do substrato foi composto de 9 concentrações de HIDROSILO, sendo: 0; 1; 2; 3; 4; 7; 14; 21 e 28 g/L. Comprovada a eficácia do substrato foi realizado um segundo teste, com maior variação de concentrações, sendo 0; 1; 2; 3; 4; 7; 8; 9; 10; 20; 30; 40 e 50 g/L de HIDROSILO. O HIDROSILO em suas respectivas concentrações foi previamente hidratado com água destilada e misturada na terra diatomácea, para o grupo controle houve apenas a hidratação da terra diatomácea, com 20ml de água destilada, sendo a mistura disposta em placas de petri de 9 cm de diâmetro, dispondo 20 sementes de *L. sativa* sobre ela.

As placas foram então foram incubadas durante 5 dias (120 h) em uma estufa no IGTPAN, mantendo a temperatura dentro de 20 °C a 30 °C. Após o período de exposição, foi quantificada a taxa quantidade de sementes que tiveram a quebra de dormência, com desenvolvimento do sistema radicular.

### 3.5 TOXICIDADE

#### 3.5.1 *Tenebrio molitor*

A metodologia adotada foi baseada em Menezes (2014), porém com alterações. As larvas da espécie *Tenebrio molitor* foram adquiridas no comercio, em casas de aves, sendo alimentadas com mistura de farinha de trigo integral (50%) farelo de trigo integral (25%) e aveia (25%), fornecendo assim os nutrientes para desenvolvimento das larvas a fim de gerar larvas recém eclodidas para início do projeto. Das larvas recém eclodidas foram separadas 100 larvas para cada um dos diferentes tratamentos, totalizando um total de 400 larvas (Geração parental-P).

Foi realizado um total de 4 tratamentos diferentes, mantendo o valor de hidratação do substrato em 20% da massa total, variando na quantidade de HIDROSILO nas proporções de 0 g/L, 20 g/L, 35 g/L e 50 g/L. O HIDROSILO foi previamente hidratado com água destilada para ser então misturada ao substrato, para o grupo controle foi acrescentado apenas água destilada com valor de 20% do peso total do substrato. O substrato era composto de uma mistura de aveia (50%), farelo de trigo integral (25%) e farinha de trigo integral (25%). A Quadro 2 apresenta as condições de HIDROSILO utilizadas no projeto.

Quadro 3 – Concentrações de HIDROSILO utilizadas nos testes com *T. molitor*.

Condições		Conteúdo	
T1	Controle		Farinha de trigo, farelo de trigo integral, aveia e água destilada
T2	Concentração HIDROSILO	20 g/L	Farinha de trigo, farelo de trigo integral, aveia e HIDROSILO 20 g/L
T3	Concentração HIDROSILO	35 g/L	Farinha de trigo, farelo de trigo integral, aveia e HIDROSILO 35 g/L
T4	Concentração HIDROSILO	50 g/L	Farinha de trigo, farelo de trigo integral, aveia e HIDROSILO 50 g/L

Fonte: o autor, 2022.

Após a preparação dos substratos com as respectivas concentrações o substrato era então alocado as 100 larvas para cada concentração, sendo observado diariamente o desenvolvimento delas, sendo quantificada as larvas que chegaram a fase adulta.

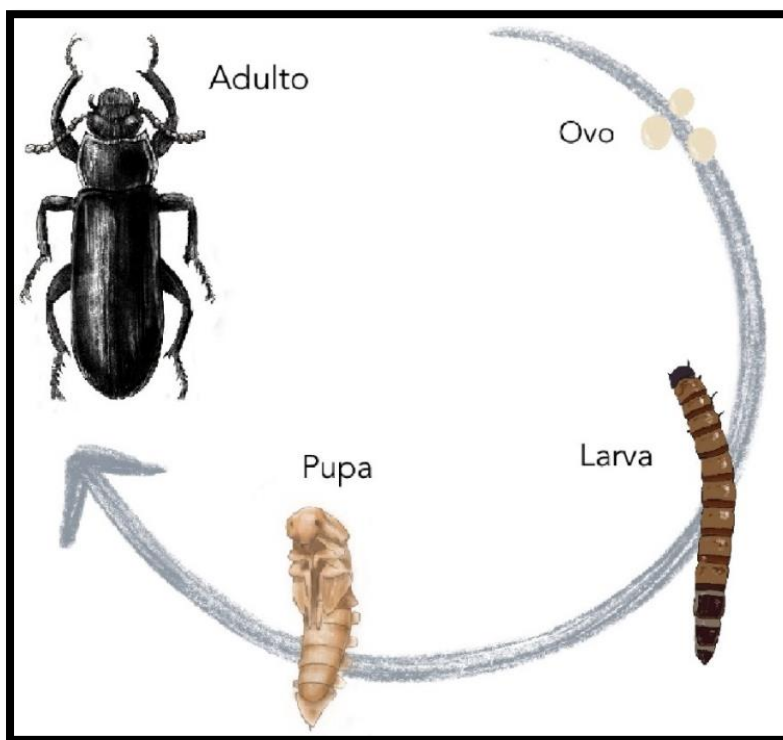
Após a metamorfose total destas larvas foram separados 10 adultos recém metamorfoseado de cada um dos diferentes testes totalizando um total de 40 besouros ( $F_0$ ), a fim de dar continuação ao projeto. Um novo preparo dos substratos com as mesmas concentrações foi realizado a fim de não haver influências de outros fatores no resultado do teste, sendo então alocados os 40 adultos, onde os besouros mantiveram na concentração em que ocorreu seu desenvolvimento.

Após o período de 14 dias, foi quantificado as larvas geradas para fim comparativo entre as diferentes concentrações, das larvas geradas foram separadas 100 larvas recém eclodidos de cada concentração, totalizando um total de 400 larvas (Geração  $F_1$ ), a fim de dar prosseguimento ao experimento. Todos os substratos foram uma vez mais refeitos, mantendo as mesmas concentrações de HIDROSILO iniciais, para que se tivesse certeza que não haveria mais ovos ou pequenas larvas que pudessem alterar o resultado final. As larvas 400 foram então dispostas nas mesmas concentrações em que eclodiram.

Assim completando todo o seu ciclo de vida conforme pode ser visto na Figura 4. A Figura 4 contém um fluxograma do ciclo de vida da espécie *Tenebrio molitor*, que apresenta 4 fases distintas: (1) a fase inicial, o ovo; (2) larva que se transforma em (3) pupa; (4) após eclosão, um jovem adulto denominado imago; (5) e, por fim, o adulto completa todo o ciclo, com duração aproximada de quatro a cinco meses. O fluxograma foi adaptado de (ONG *et al.*, 2018).



Figura 4 – Fluxograma representativo do ciclo de vida da espécie *T. molitor*.



Fonte: Adaptado de Ong *et al.*, (2018)

### 3.5.2 *Eisenia fetida*

Para o estudo de toxicidade do HIDROSILO com a espécie de minhoca *E. fetida* foi tido como referência Sisinnio (2006), havendo adaptações no modelo experimental.

Os espécimes para o experimento foram adquiridos e doados pelo IGTPAN, onde estas foram mantidas em uma caixa de 45L, com terra vegetal por 15 dias e alimentadas com esterco seco bovino a fim desenvolver os espécimes para se dar início ao experimento.

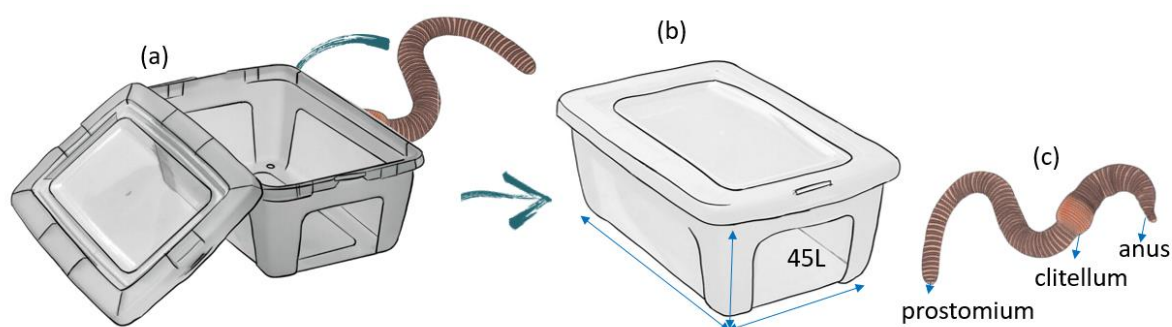
Para este projeto o HIDROSILO foi previamente hidratado com água destilada com uma concentração fixa de 10 g/L. Foram então selecionadas 160 minhocas adultas – das quais possuíam clitelo desenvolvido e pesavam entre 300 e 600 mg – para serem dispostas em bandejas plásticas com diferentes tratamentos: T1 – substrato + água destilada (controle); T2 - substrato com 10% do HIDROSILO contendo 10 g/L de HIDROSILO; T3 - substrato com 15% do HIDROSILO contendo 10 g/L de HIDROSILO; T4 - substrato com 20% do HIDROSILO contendo 10 g/L de HIDROSILO, o substrato tinha peso final de 2 kg, tendo peso fixo do esterco de vaca seco em 1 kg, o restante variava entre terra preta e HIDROSILO. Para comparação todos os experimentos tiveram quatro réplicas. A Quadro 3 representa as 4 diferentes condições

utilizadas para o projeto com o uso do HIDROSILO em forma de hidrogel.

A Figura 5 mostra um desenho representativo sobre a caixa de minhoca. Na Figura 5(a) há uma caixa representativa usada para preparar o teste de ecotoxicidade conforme mostrado na Quadro 3, cada teste foi executado quatro vezes. As minhocas foram mantidas na caixa por 28 dias. A evasão foi contabilizada no final dos experimentos.

O peso total do substrato foi de 2 kg, com peso fixo de 1 kg de esterco seco, o restante variou entre solo e HIDROSILO previamente hidratado com água destilada e concentração fixa de 10 g/L. Para comparação, todos os experimentos tiveram quatro repetições. Foi utilizado um total de 10 minhocas em cada caixa recipiente.

Figura 5 - Desenho representativo de contêiner de minhoca para teste de ecotoxicidade usando *Eisenia fetida*- minhoca.



Fonte: o autor, 2022.

Quadro 4 – Concentrações de HIDROSILO utilizada nos testes com *E. fetida*.

Condições		Conteúdo
1	Controle	1 kg de esterco, 600 g de terra preta e 400 g água destilada (20%) = Total 2 kg de substrato
2	Concentração 10 g/L HIDROSILO sendo 10% do substrato total	1 kg de esterco, 800 g de terra preta e 200 g HIDROSILO 10 g/L (10%) = Total 2 kg de substrato
3	Concentração 10 g/L HIDROSILO sendo 15% do substrato total	1 kg de esterco, 700 g de terra preta e 300 g HIDROSILO 10 g/L (15%) = Total 2 kg de substrato
4	Concentração 10 g/L HIDROSILO sendo 20% do substrato total	1 kg de esterco, 600 g de terra preta e 400 g HIDROSILO 10 g/L (20%) = Total 2 kg de substrato

Fonte: o autor, 2022.

Para cada ensaio foi feita uma média de tamanho e peso destes espécimes para comparação com o final do projeto. A pesagem dos espécimes foi realizada com auxílio de uma balança digital de alta precisão, a mensuração foi realizada com auxílio de uma régua, buscando menor tempo de manuseio dos espécimes a fim da redução de possíveis estresses.

Para ensaio com letalidade, os indivíduos foram quantificados no início do projeto e a cada 7 dias, até o 28º dia após o início do projeto. A cada quantificação dos espécimes era também realizado a pesagem e mensuração dos mesmos, sendo retirados os organismos mortos e mantendo os sobreviventes. Ao final do 28º dia, as minhocas foram retiradas, quantificadas, mensuradas e pesadas uma última vez. As bandejas foram mantidas até o 56º dia para observar se ocorreria a eclosão de algum possível ovo. Após este período, foi quantificado o número de jovens e comparados com o grupo controle para se fazer a análise estatística no método convencional e análise estatística método *Anova*.

### 3.5.3 *Drosophila melanogaster*

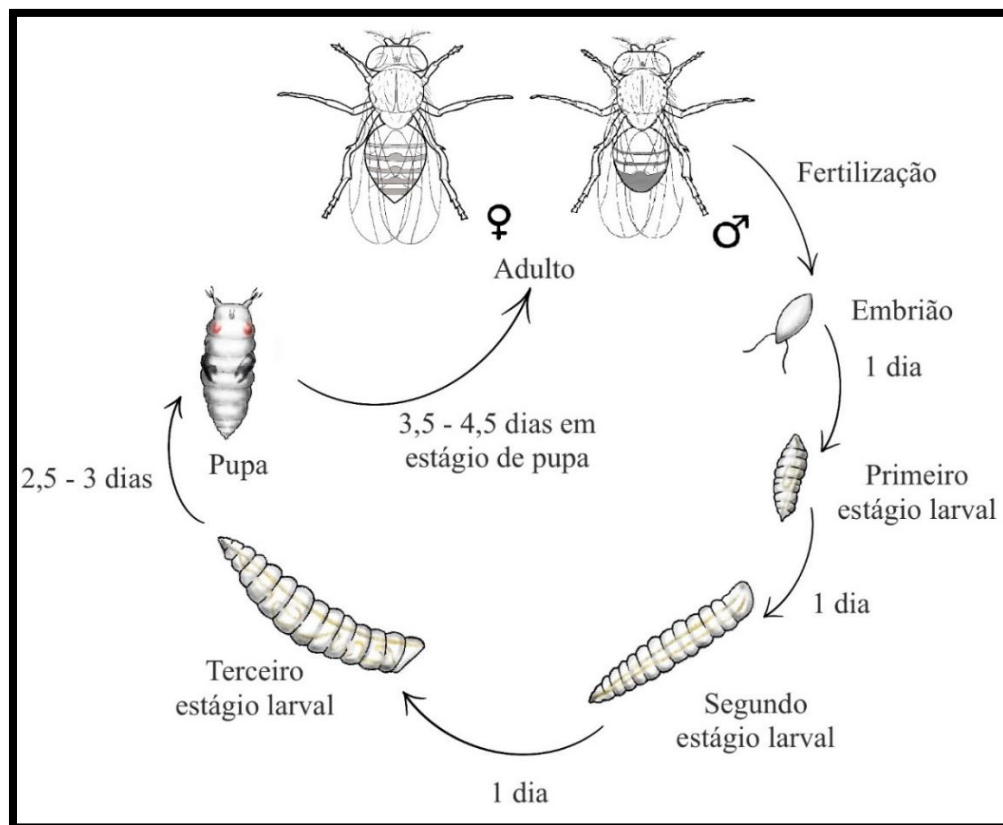
Para o experimento com a espécie *D. melanogaster* buscou avaliar a possível toxicidade do HIDROSILO no ciclo da espécie, sendo utilizado inicialmente as pupas da espécie, onde as pupas foram obtidas por meio da coleta em meio natural, usando duas soluções, sendo o grupo controle uma mistura de 50% banana e 50% água destilada mais 1 g de aveia/trigo, para o grupo com HIDROSILO foi preparada uma solução de hidrogel contendo 10 g/L de HIDROSILO hidratada com água destilada, 50 g/L de sacarose e 1 g de aveia/trigo. As soluções foram dispostas em 6 placas de petri de 9cm de diâmetro sendo 3 placas para cada um dos testes. A mistura de aveia/trigo (50% aveia, 50% trigo) e disposta no centro da placa, sobre a solução, para acelerar o processo fermentativo. As placas de petri recebiam 20 ml a 50 ml de água destilada a cada 2 dias variando de acordo com a taxa de evaporação das mesmas.

As placas foram expostas em ambiente natural, onde através do odor da fermentação se obteve a atração das moscas adultas de *D. melanogaster*, as moscas por sua vez depositaram os ovos nas soluções, os mesmos eclodiam, se alimentavam das soluções para se desenvolver e então indo ao estágio de pupa. Neste método, assim que se tornaram pupas, foram coletadas e colocadas em um Erlenmeyer de 200 ml com uma rolha de algodão. Com a observação da eclosão das pupas, elas foram quantificadas e então a espécie *D. melanogaster* terá realizado todo o seu ciclo de vida conforme representado no fluxograma da Figura 6.

A Figura 6 contém um fluxograma ciclo de vida da espécie *Drosophila melanogaster*. Podendo ser visto seu ciclo de vida, o qual passa pela primeira fase, fase de ovo (0,5 mm.),

eclode na forma larval, sua segunda fase, ao fim de um dia, muda de cutícula denominada exúvia, aumentando seu tamanho. Decorrido mais um dia a larva realiza mais uma exúvia, aumentando significativamente de tamanho (4 mm). Nesta altura, a larva tem tendência a fugir da umidade, deslocando-se para zonas mais secas, começando a ficar imóvel para criação do casulo, sua terceira fase, denominada pupa (3 mm). Após cinco dias ocorre então a metamorfose, eclodindo o indivíduo adulto (2 mm) a quarta e última fase, que atinge a maturidade sexual ao fim de 12 horas e que tem uma expectativa média de vida de 60 dias (SANZ MUÑOZ; SANCHEZ, 2011). O fluxograma foi adaptado de (TORRES *et al.*, 2011).

Figura 6 – Fluxograma do ciclo de vida da espécie *Drosophila melanogaster*.



Fonte: Adaptado de Torres *et al.*, (2011).

Foi quantificada a taxa de mortalidade e taxa de eclosão destas pupas e estes dados foram analisados usando o método estatístico convencional.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o software Statistica© 12 e

software R, o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar o número de sementes que teve quebra de dormência assim como as variáveis de comprimento de caule e folha dos espécimes, sendo aplicado também em comparação do peso dos espécimes de *Eisenia fetida*.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seleção das amostras para FTIR foi feita para entender as modificações dos grupos funcionais do HIDROSILO nas situações descritas a seguir: Um HIDROSILO envelhecido após dois anos de exposição ao solo para comparação com uma amostra nova comercial; O efeito da água utilizando amostra processada com hidratação e depois seca, e amostra de HIDROSILO exposto a um ambiente com 40% de umidade. Para testes de biodegradabilidade, fitotoxicidade e ecotoxicidade foi utilizado HIDROSILO recebido em embalagem comercial.

### 4.1 FTIR

A Figura 7 contém três gráficos de porcentagem de transmitância analisado via ATR das amostras de HIDROSILO. Os espectros foram plotados em cores distintas, conforme descrito a seguir: O espectro do HIDROSILO comercial em linha azul; HIDROSILO hidratado e posteriormente seco em linha vermelha, HIDROSILO em contato com a terra após um período de 2 anos foi plotado em linha verde e o HIDROSILO em pó exposto ao ambiente em linha preta. O gráfico na Figura 7 (c) foi plotado para melhor visualização das bandas.

A literatura contém informações sobre a presença de aminas secundárias ( $R_2NH$ ) características da estrutura química da PAN e que apresentam uma única banda fraca na região  $3350 - 3310 \text{ cm}^{-1}$  pode ser observado que a formação de ligação hidrogênio desloca estas bandas de absorção para comprimentos de onda maiores (STUART, 2004) e propicia a convolução com a banda de absorção do O-H ocorre na região  $3000 - 3700 \text{ cm}^{-1}$ . Já a região intermediária apresentada na Figura 7 (b), que compreende a faixa de  $1100 - 1700 \text{ cm}^{-1}$  é conhecida como região de impressão digital por ser muito importante para a determinação da estrutura (FLEMING *et al.*, 2021). As ligações carbono-hidrogênio do anel são responsáveis por três bandas de transmissão angular fora do plano de -CH, na região  $900 - 690 \text{ cm}^{-1}$  (STUART, 2004). A ligação C-O é de grupamento de radicais de álcool Ex. C-C-OH identificada em torno de  $1000 \text{ cm}^{-1}$  (DANG *et al.*, 2020). A deformação angular simétrica de  $-CH_2$  e  $-CH_3$  pode ser encontrada entre  $1390 - 1450 \text{ (cm}^{-1})$  (GHORPADE; YADAV; DIAS, 2017). Há também evidências de silício ligado a um anel benzênico: bandas próximas a  $1430 \text{ cm}^{-1}$  e  $1110 \text{ cm}^{-1}$  são relacionadas ao estiramento Si-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> existente em polímeros os grupos fenil e metil ligados ao silício. Nas amostras analisadas estas bandas aparecem em todas as amostras analisadas com centro em  $1448 \text{ cm}^{-1}$  e  $1114 \text{ cm}^{-1}$ . Por outro lado, segundo Barbara Stuart na pag. 195 a presença de uma banda larga centrada perto de  $1450 \text{ cm}^{-1}$  e também a presença de uma banda nítida perto

de  $800\text{ cm}^{-1}$  revela a presença do ânion  $\text{CO}_3^{2-}$  (STUART, 2004, p.196).

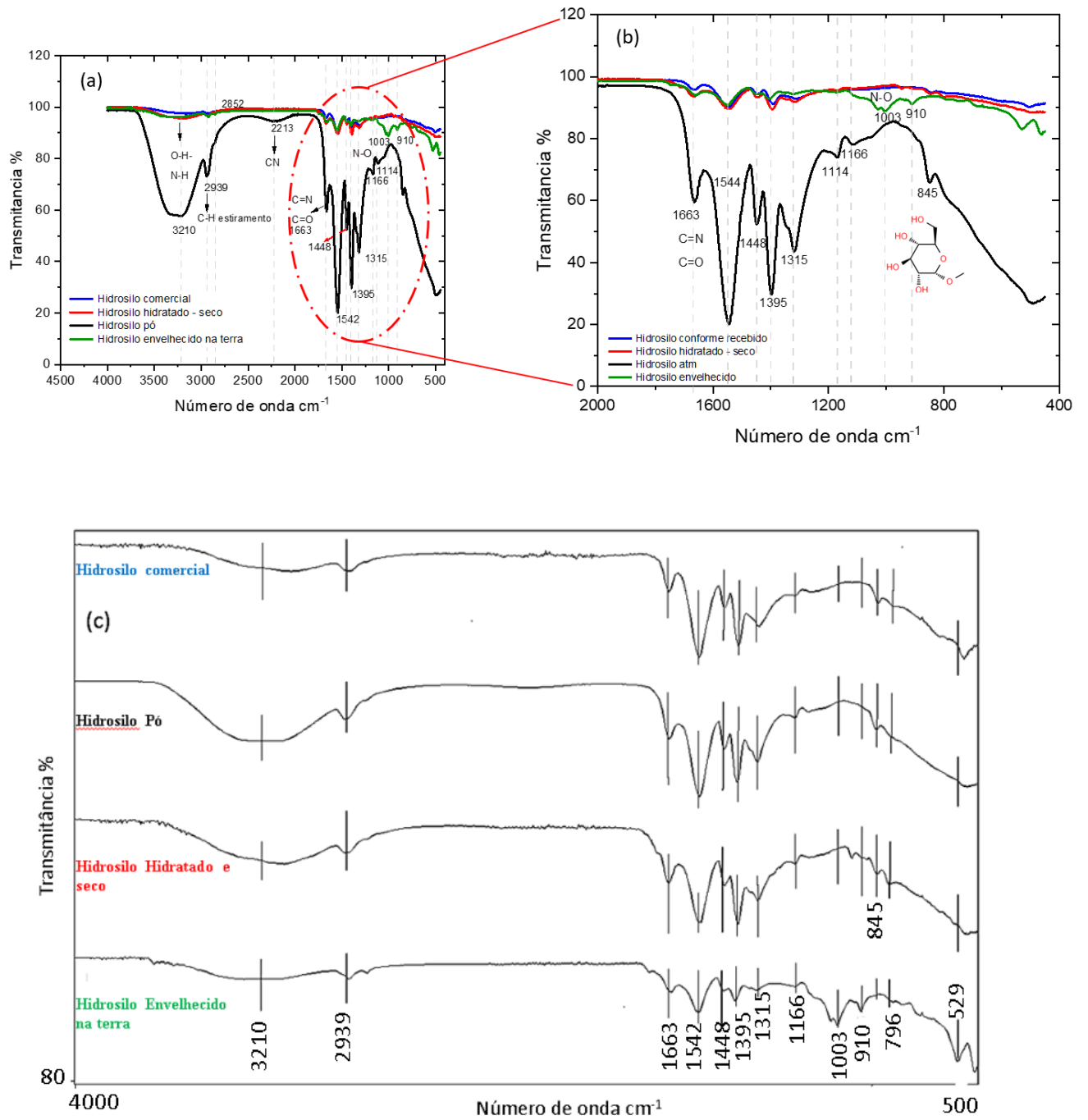
Na análise de FTIR o HIDROSILO envelhecido apresentou também evidências de silício ligado oxigênio em  $910\text{ cm}^{-1}$ , e também a presença da ligação N-O em  $1003\text{ cm}^{-1}$  podendo ser utilizada para avaliar um início de biodegradabilidade do produto após 2 anos em contato com o solo. Pode-se observar também a presença do ânion  $\text{CO}_3^{2-}$  em  $1448\text{ cm}^{-1}$  esta ligação ficou mais evidente na amostra de HIDROSILO hidratado e está presente em todas as amostras. Esta interação entre carbono e oxigênio é comum em moléculas poliméricas.

As bandas centradas entre  $796\text{ cm}^{-1}$  e  $705\text{ cm}^{-1}$  ocorrem devido ao momento de flexão da ligação CH do anel de benzeno mono-substituído e di-substituído . são atribuídos aos grupos CH de formação nas posições orto e meta em anéis aromáticos, respectivamente.

A banda centrada em  $529\text{-}530\text{ cm}^{-1}$  corresponde a moléculas inorgânicas de quatro átomos conforme indicado pela (STUART, 2004) Pag.100.O composto  $\text{SO}_3$  pode ser resíduo do processo de produção do HIDROSILO.

A Tabela 4 contém um resumo do comprimento de onda, a descrição e o radical orgânico relacionado.


Figura 7 – Análise FTIR do HIDROSILO.



Fonte: o autor, 2022.



Tabela 1 – Atribuição aproximada das Faixas de componentes orgânicos e inorgânicos avaliados

Faixa (Cm <sup>-1</sup> )		Atribuição aproximada	Componentes	Referência
Exp. cm <sup>-1</sup>	Lit. cm <sup>-1</sup>			
3210	3700-3000	v da ligação O-H	-OH	(Stuart, 2004, p. 84)
2939	2970-2950	δ <sub>ass</sub> da ligação C-H no grupo -CH <sub>3</sub>	Metil C-H estiramento sim./assim.	(Nandiyanto; Oktiani; Ragadhita, 2019)
1663	1729–1590	Composto de ligação dupla múltipla e cumulada de nitrogênio	Cadeia aberta imino (-C=N-) (C=O)	(Nandiyanto; Oktiani; Ragadhita, 2019)
1542	1560–1530	Amida secundária	N–H dobra, C–N estiramento	(Stuart, 2004, p. 86)
1448	1450–1410	Estiramento C-Hv	C–H CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	(John, 2000; Nandiyanto et al., 2019)(Stuart, 2004, p. 196)
1395	1420–1370	Composto oxi-enxofre	C-SO <sub>4</sub>	(Nandiyanto et al., 2019)
1315	1350–1250	Composto oxi-fósforo	Fosfatos orgânicos (P=O estiramento)	(Nandiyanto et al., 2019)
1166	1166	v da ligação C-O		(Stuart, 2004, p. 76)
1003	1100–1000	Amina primária	N-O	(Nandiyanto et al., 2019)
910	1100–900	Si-O-Si	silicatos com vs (C-O-C); (Si-O-Si)	(Nandiyanto et al., 2019)
845	900-845	Metil α-D-glucosídeo		(Stuart, 2004, p. 164)
796	796-705	CH δ	=C-H torção angular	(Stuart, 2004, p. 72)
529-530		SO <sub>3</sub>	Moléculas inorgânicas	(Stuart, 2004, p. 100)

**Legenda:** v: Estiramento. vs: Estiramento simétrico. v<sub>ass</sub>: Estiramento assimétrico. δ: Deformação angular. δ<sub>s</sub>: Deformação angular simétrica. δ<sub>ass</sub>: Deformação angular assimétrica.

Fonte: o autor, 2022.

## 4.2 BIODEGRADABILIDADE

Para o teste de biodegradabilidade do HIDROSILO, o resultado da análise do teor de carbono foi de 34,3%, sendo a porcentagem de carbono considerada para os cálculos do teste de biodegradabilidade. O inóculo microbiano utilizado no ensaio é avaliado quanto à concentração de microorganismos, sendo os resultados de contagem descritos no Quadro 6.

Quadro 6 – Resultado da análise de teor de carbono do HIDROSILO.

Componente	Composição (%)
Carbono	34,3

Fonte: o autor, 2022.

O Quadro 7 mostra os valores em miligramas de CO<sub>2</sub>, desprendidos de cada ambiente de teste ao longo do tempo de incubação.

Quadro 7 – Contagem de inóculo preparado para o ensaio com HIDROSILO.

Contagem do inóculo (Valor médio – duplicata)			
Ordem de grandeza da Diluição Decimal Seriada	UFC/ml (24h)	UFC/ml (48h)	UFC/ml (72h)
100x	Incontáveis	Incontáveis	Incontáveis
1000x	6,0 x 10 <sup>4</sup>	1,9 x 10 <sup>5</sup>	Incontáveis
10000x	5,0 x 10 <sup>4</sup>	3,0 x 10 <sup>5</sup>	Incontáveis

Fonte: o autor, 2022.

A Quadro 8 apresenta os resultados da biodegradação medida pelo porcentual de CO<sub>2</sub> que efetivamente foi detectado como desprendido, em relação ao total de CO<sub>2</sub> que poderia ser formado pela degradação completa da quantidade de carbono adicionada a cada frasco do ensaio nas diferentes condições.

Quadro 8 – Valores de CO<sub>2</sub> acumulado (mg), em incubação por HIDROSILO.

Tempo (dias)	Condição 1 Branco (controle negativo)		Condição 2 Padrão biodegradável (mg CO <sub>2</sub> )		Condição 3 Teste (mg CO <sub>2</sub> )		Condição 4 Controle de inibição (mg CO <sub>2</sub> )	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	3,8	1,2	1,4	2,7	1,1	1,4
2	0	0	33,6	56,9	3,9	7,2	28,5	31,8
3	0	0	61,7	76,7	6,0	11,8	57,8	79,9
6	0	0	100,9	100,4	10,5	21,0	101,6	103,4
8	0	0	106,7	116,6	14,0	30,2	110,9	119,2
10	0	0	110,2	133,4	18,4	40,1	119,9	129,5

13	0	0	117,1	142,8	25,6	51,2	131,9	143,1
16	0	0	123,0	154,9	39,5	70,1	149,0	161,7
20	0	0	127,4	166,6	46,3	82,8	162,2	171,2
24	0	0	130,1	171,7	51,3	90,6	162,2	177,5
28	0	0	132,6	176,7	59,0	102,1	175,9	186,1

Fonte: o autor, 2022.

No Quadro 9, observa-se a média dos resultados da biodegradação medida pelo percentual de CO<sub>2</sub> que efetivamente foi detectado como desprendido, em relação ao total de CO<sub>2</sub> que poderia ser formado pela degradação completa da quantidade de carbono adicionada a cada frasco do ensaio nas diferentes condições. Estes resultados também são representados no gráfico da Figura 8.

Ao 28º dia uma média total de 74% de CO<sub>2</sub>, em comparação o teste com HIDROSILO houve um total de 36%, já na amostra de inibição se obteve o total de 42%, como mostrado na Quadro 10.

Quadro 9 – Degradação observada para o HIDROSILO em diferentes condições de ensaio.

Tempo (dias)	Condição 1 Branco (controle negativo)		Condição 2 Padrão biodegradável (% CO <sub>2</sub> )		Condição 3 Teste (% CO <sub>2</sub> )		Condição 4 Controle de inibição (% CO <sub>2</sub> )	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	1,8	0,6	0,6	1,2	0,2	0,3
2	0	0	16,1	27,2	1,7	3,2	6,6	7,4
3	0	0	29,5	36,7	2,7	5,3	13,4	18,5
6	0	0	48,3	48,0	4,7	9,4	23,6	24,0
8	0	0	51,0	55,8	6,2	13,5	25,7	27,6
10	0	0	52,7	63,8	8,2	17,9	27,8	30,0
13	0	0	56,0	68,3	11,3	22,9	30,6	33,2
16	0	0	58,8	74,1	17,5	31,4	34,6	37,5
20	0	0	60,9	79,7	20,5	37,1	37,6	39,7
24	0	0	62,2	82,1	22,7	40,6	39,2	41,2
28	0	0	63,4	84,5	26,2	45,7	40,8	43,2

Fonte: o autor, 2022.

Quadro 10 – Média dos valores de biodegradação do HIDROSILO em diferentes condições.

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Condição 1 (Branco)</b>	<b>Condição 2 Média Padrão</b>	<b>Condição 3 Média Amostra</b>	<b>Condição 4 Média Inibição</b>
0	0	0	0	0
1	0	1,2	0,9	0,3
2	0	21,6	2,5	0,7
3	0	33,1	4,0	16,0
6	0	48,1	7,0	23,8
8	0	53,4	9,9	26,7
10	0	58,3	13,1	28,9
13	0	62,2	17,1	31,9
16	0	66,4	24,5	36,0
20	0	70,3	28,8	38,6
24	0	72,2	31,7	40,2
28	0	74,0	36,0	42,0

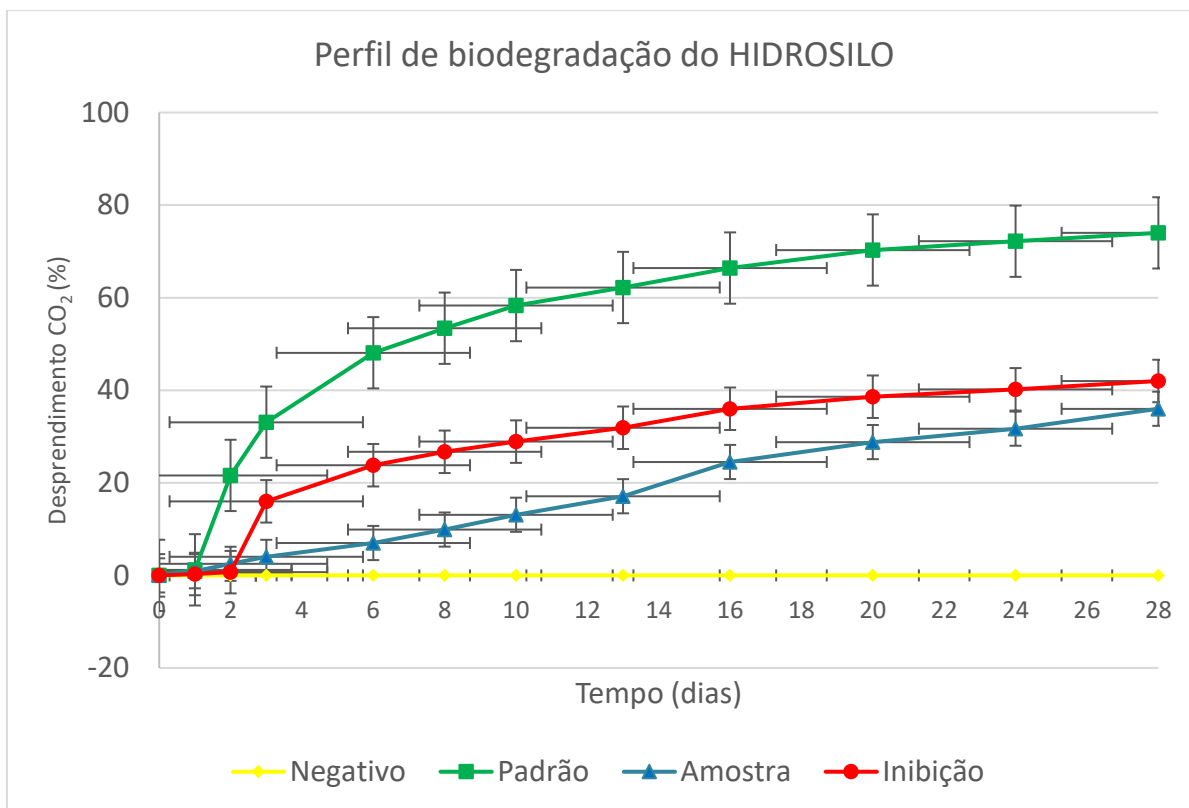
Fonte: o autor, 2022.

Quadro 11 – Valor da biodegradação do HIDROSILO após 28 dias.

<b>Condição do Ensaio</b>	<b>Biodegradação em 28 dias</b>
<b>Padrão Biodegradável</b>	74,0 ± 14,9
<b>Teste (HIDROSILO)</b>	36,0 ± 13,8
<b>Inibição (HIDROSILO + Padrão)</b>	42,0 ± 1,7

Fonte: o autor, 2022.

Figura 8 – Perfil de biodegradação, expresso em porcentagem (valores médios), observado para o HIDROSILO.



Fonte: o autor, 2022.

Conforme valores apresentados no Quadro 6, o inóculo preparado para o ensaio apresentou contagem adequada para permitir o prosseguimento do ensaio. Os testes com o padrão biodegradável (Quadro 9, condição 2) apresentou porcentagem de biodegradação que atendem aos requisitos do Guia “OECD Guideline for Testing of Chemicals (item 301B, 1992)”, com biodegradação superior a 60%, permitindo considerar o ensaio válido.

Os resultados do teste de inibição (Quadro 9, condição 4) demonstram que o HIDROSILO não exerceu efeito inibitório sobre a microbiota utilizada no ensaio, pois em oito dias esta condição já apresentava o valor médio de 26,7% de desprendimento de CO<sub>2</sub>.

A condição 3 (Quadro 9) consistiu no ensaio de biodegradação propriamente dito do HIDROSILO, que apresentou resultado de  $36,0 \pm 13,8$  % de biodegradação em 28 dias. Sob as condições do ensaio, o resultado não permite classificar o material como “prontamente biodegradável”, segundo as especificações do Guia OECD 301B (1992), pois não foi atingido o valor mínimo de 60% de liberação de CO<sub>2</sub>. Este resultado não significa, necessariamente que o material não possa ser considerado como “biodegradável” em outras condições ou períodos. Este resultado atende as necessidades do produto onde se espera que não seja degradado tão

rapidamente para que possa agir por um maior período.

### 4.3 FITOTOXICIDADE

Pode-se observar que nos diferentes tratamentos a taxa de germinação das sementes de *L. sativa* foram todas acima de 70%, sendo que o menor percentual de sementes germinadas foi no primeiro teste, realizado na concentração de 21g/L, com 72,5% (145 sementes). Já maior percentual foi no teste com a concentração de 1,5g/L, alcançando 90% (180 sementes). Ainda ressalta-se que todos os testes tiveram percentuais maiores que seus controles (Tabela 2). Estes resultados se assemelham com os resultados observados por Montesano (2015), onde em seu estudo as espécies com hidrogel tiveram o índice de germinação muito superior ao grupo controle, sendo possível notar que todos ficaram acima de 60% de germinação, o que é dado como um parâmetro para determinação de ausência de fitotoxicidade

É possível observar ainda que o grupo controle obteve diferentes resultados nas quatro replicações concordando também com os resultados de Montesano (2015). O menor resultado de germinação ocorreu com 77,5% (155 sementes) na segunda replicação do experimento e, o maior resultado foi de 87,5% (173 sementes), no primeiro teste (Tabela 2).

Os resultados apresentados atendem ao parâmetro de germinação acima de 60%, para determinação de ausência de fitotoxicidade (MAZLOOM *et al.*, 2019), demonstrando que o HIDROSILO não apresentou fitotoxicidade para a espécie *L. sativa*.

Uma das possíveis explicações para o resultado observado, é o fato de que o HIDROSILO atem por base o potássio, conforme o HIDROSILO vai degradando mesmo em um período curto, ocorre a liberação do potássio, como o potássio é comumente utilizado para tratamento químico a fim de auxiliar a quebra de dormência em sementes de diversas espécies de plantas, inclusive hortaliças ele deve estar contribuindo para a germinação das sementes do experimento (LOPES; NASCIMENTO, 2012).

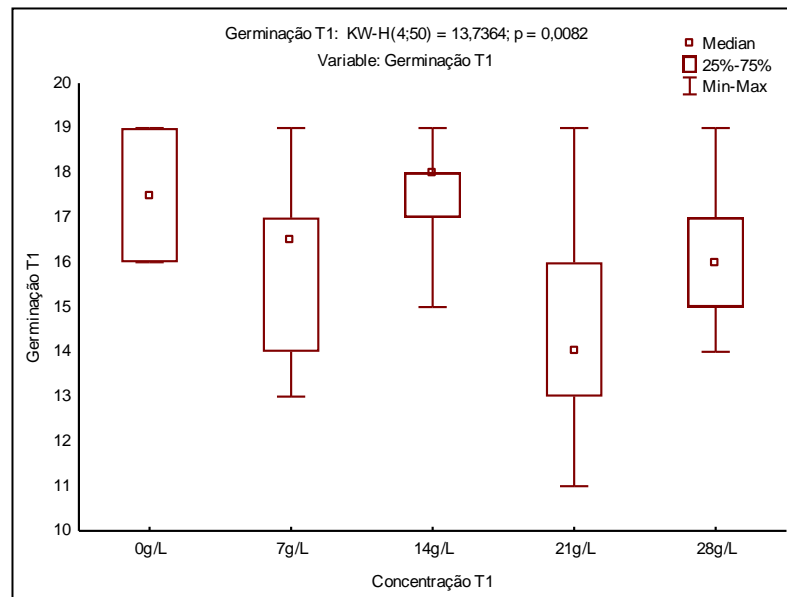
Outro fator que pode ter influenciado é a característica do HIDROSILO em reter água e, posteriormente, liberar a água de forma lenta para a semente, favorecendo assim a quebra de dormência (AKHTER *et al.*, 2004; SHAHID *et al.*, 2012).

Tabela 2 – Número de experimentos, nº e percentual de sementes de *L. sativa* germinadas nas diferentes concentrações de SAP e testes de comparação de medianas (Kruskall-Wallis – H e valores de p).

Experimento	Concentração		%	H	p
	SAP/L	Nº sementes			
1	0g/L	175	87,5	13,74	0,008
	7g/L	161	80,5		
	14g/L	175	87,5		
	21g/L	145	72,5		
	28g/L	163	81,5		
2	0g/L	155	77,5	8,4	0,078
	7g/L	174	87,0		
	14g/L	171	85,5		
	21g/L	157	78,5		
	28g/L	157	78,5		
3	0g/L	171	85,5	1,11	0,892
	1g/L	169	84,5		
	2g/L	167	83,5		
	3g/L	175	87,5		
	4g/L	173	86,5		
4	0g/L	173	86,5	3,73	0,444
	0,5g/L	182	91,0		
	1g/L	175	87,5		
	1,5g/L	180	90,0		
	2g/L	172	86,0		

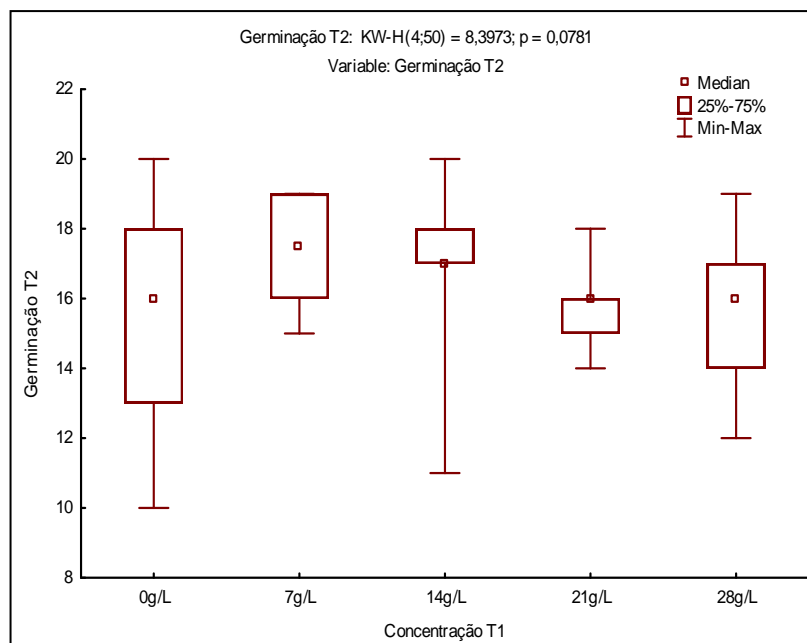
Fonte: o autor, 2022.

Figura 9: Gráfico de comparação da germinação de *L. sativa* em diferentes concentrações do experimento 1, apontando para as diferenças estatísticas (KW-H= 13,734; p= 0,008).



Fonte: o autor, 2022.

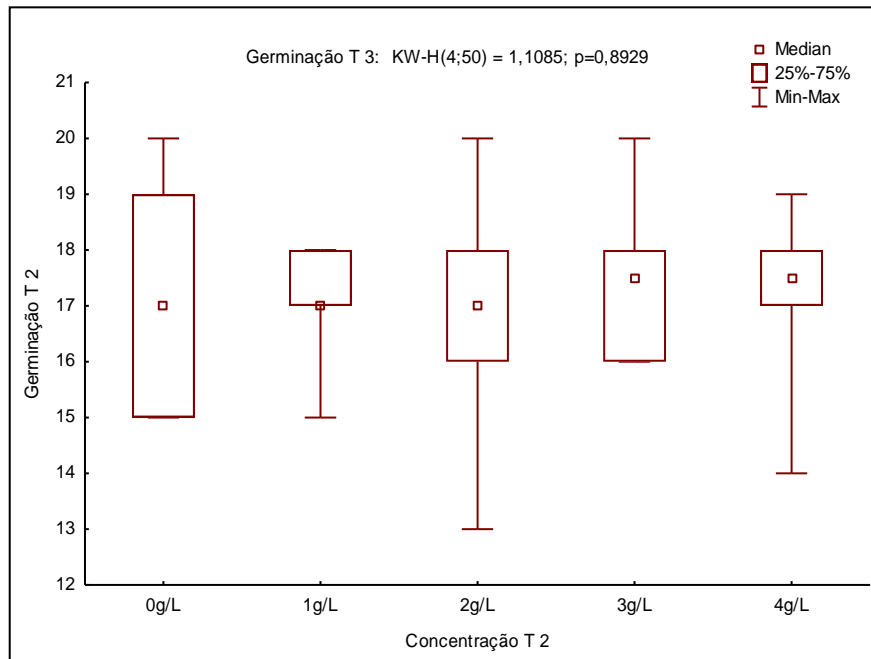
Figura 10: Gráfico de comparação da germinação de *L. sativa* do experimento 2, apontando não haver diferenças estatísticas entre as concentrações e o controle (KW-H= 8,397; p= 0,008).



Fonte: o autor, 2022.

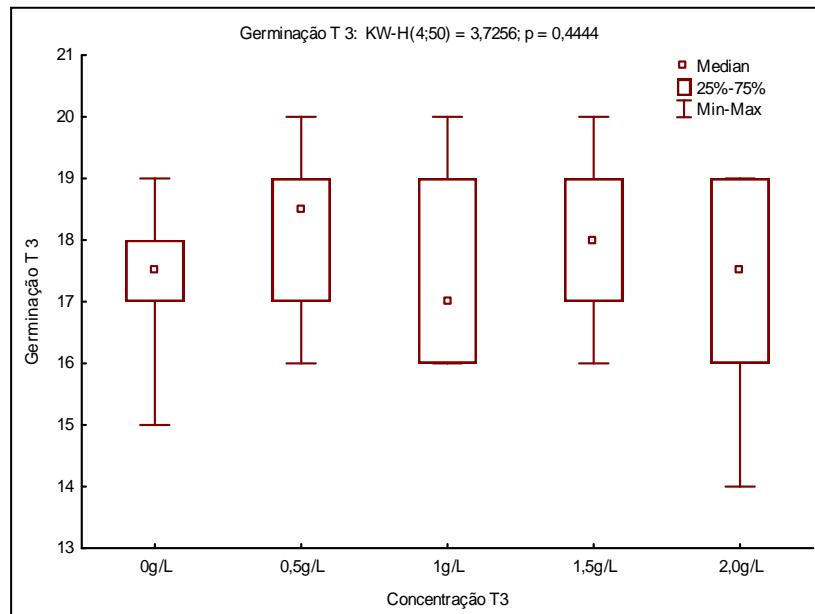


Figura 11: Gráfico de comparação da germinação de *L. sativa* do experimento 3, apontando não haver diferenças estatísticas entre as concentrações e o controle (KW-H 1,108;  $p=0,0893$ ).



Fonte: o autor, 2022.

Figura 12: Gráfico de comparação da germinação de *L. sativa* do experimento 4, apontando não haver diferenças estatísticas entre as concentrações e o controle (KW-H= 3,725  $p=0,0444$ ).



Fonte: o autor, 2022.

Foi possível observar que nos diferentes tratamentos a taxa de germinação das sementes de *L. sativa*, tanto para o controle quanto para as concentrações de SAP, foram todas

acima de 70% em todos os experimentos, sendo que o menor percentual de sementes germinadas foi no primeiro experimento, realizado na concentração de 21g/L, com 72,5% (145 sementes). Já o maior percentual foi na concentração de 1,5g/L, alcançando 90% (180 sementes) no quarto experimento. Vale ressaltar que em todos os experimentos os controles tiveram menor percentual de germinação em comparação ao SAP. Os testes demonstram que houve diferença estatística apenas no primeiro experimento, sugerindo que a germinação não foi afetada pela presença do SAP em nenhuma concentração. A diferença significativa, segundo testes de comparações múltiplas, foi apenas entre as concentrações 21g/L e o controle com valor de  $p=0,021$  e entre 21g/L e 14g/L com  $p=0,018$  no primeiro experimento. Entretanto, esses resultados não parecem indicar interferência do SAP, pois tanto o controle quanto 14g/L tiveram o mesmo resultado, bem como outras concentrações tiveram maior taxa de germinação que o controle nos demais experimentos (Tabela 1 e Figuras 9-12)

Estes resultados corroboram com os resultados observados por Montesano (2015), as espécies com hidrogel tiveram o índice de germinação muito superior ao grupo controle, sendo possível notar que todos ficaram acima de 60% de germinação, o que é dado como um parâmetro para determinação de ausência de fitotoxicidade.

É possível observar ainda, que o grupo controle obteve diferentes resultados nos quatro experimentos concordando com os resultados de Montesano (2015). O menor resultado de germinação ocorreu com 77,5% (155 sementes) na segunda replicação do experimento e, o maior resultado foi de 87,5% (173 sementes), no primeiro experimento. Esses resultados são mais um indicativo de que a variação do percentual de germinação em todas as concentrações e, também no controle, não parece ser em razão da presença do SAP (Tabela 1).

Os resultados apresentados atendem ao parâmetro de germinação acima de 60%, para determinação de ausência de fitotoxicidade (MAZLOOM *et al.*, 2019), demonstrando que o HIDROSILO não apresentou fitotoxicidade para a espécie *L. sativa*.

Uma das possíveis explicações para o resultado observado, é o fato de que o HIDROSILO tem por base o potássio, conforme vai ocorrendo a degradação do produto, mesmo em um período curto, ocorre a liberação do potássio. Como o potássio é comumente utilizado para auxiliar a quebra de dormência em sementes de diversas espécies de plantas, inclusive hortaliças, ele deve estar contribuindo para a germinação das sementes do experimento (LOPES; NASCIMENTO, 2012).

Outro fator que pode ter influenciado é a característica do HIDROSILO em reter água e, posteriormente, liberar a água de forma lenta para a semente, favorecendo assim, a quebra de

dormência (AKHTER *et al.*, 2004; SHAHID *et al.*, 2012).

Portando, nossos resultados indicam que sementes da espécie *L. sativa* quando semeadas nas diversas concentrações de SAP, além de não ter a germinação inibida, em geral, teve maior percentual de germinação que as sementes semeadas no controle, sugerindo que o SAP não foi tóxico para esta espécie de planta.

Tabela 3: Percentual de germinação de *L. sativa* em diferentes concentrações de HIDROSILO e terra diatomácea

Teste	Concentração HIDROSILO/L	Nº sementes	% germinação
1	0g/L	16	80,0
	1g/L	15	75,0
	2g/L	17	85,0
	3g/L	20	100,0
	4g/L	17	85,0
	7g/L	18	90,0
	14g/L	20	100,0
	21g/L	18	90,0
	28g/L	19	95,0
2	0g/L	19	95,0
	1g/L	18	90,0
	2g/L	19	95,0
	3g/L	19	95,0
	4g/L	18	90,0
	8g/L	19	95,0
	10g/L	18	90,0
	20g/L	19	95,0
	30g/L	18	90,0

Fonte: o autor, 2022.

A fim de ter um substrato neutro para comparação em diferentes concentrações foram realizados experimentos para avaliar a germinação de *L. sativa* utilizando terra diatomácea

adicionada às concentrações de SAP. A taxa de germinação foi acima de 70% em todas as concentrações usadas, bem como nos controles. Sugerindo mais uma vez que a adição do SAP não está interferindo na germinação das sementes (Tabela 03).

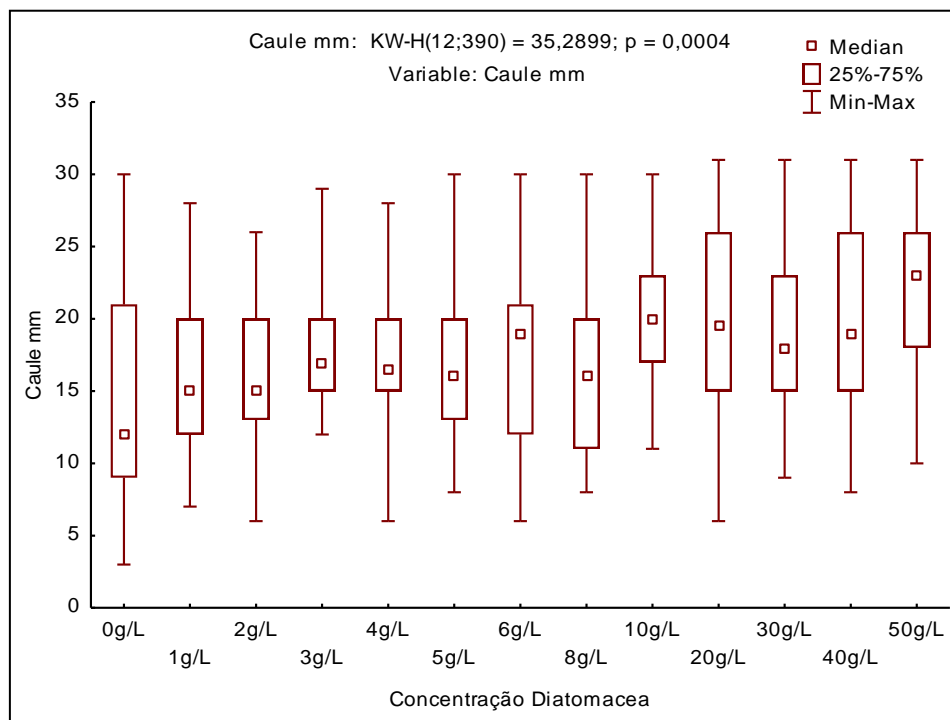
Em relação ao desenvolvimento destas plantas, podemos observar que os tratamentos com maior concentração de HIDROSILO apresentaram maior comprimento mediano do caule nas concentrações 10 g/L com 20,0 cm e 50 g/L com 23 cm. O controle obteve o menor comprimento com 12 cm de comprimento. O crescimento das folhas de *L. sativa* também apresentou pouca diferença entre as concentrações de HIDROSILO com adição da terra diatomácea. As concentrações com maior comprimento de folha foram a de 50g/L, 20g/L e de 10g/L com 20cm cada (Tabela 4).

Tabela 4: Comprimento mediano do caule e da folha de *L. sativa* desenvolvida na terra diatomácea em diferentes concentrações de HIDROSILO.

<b>Concentração</b>	<b>Caule (cm)</b>	<b>Folha (cm)</b>
0g/L	12,0	15,0
1g/L	15,0	17,5
2g/L	15,0	17,0
3g/L	17,0	16,5
4g/L	16,5	17,5
5g/L	16,0	14,5
6g/L	19,0	16,0
8g/L	16,0	17,0
10g/L	20,0	20,0
20g/L	19,5	20,0
30g/L	18,0	19,0
40g/L	19,0	19,0
50g/L	23,0	20,0

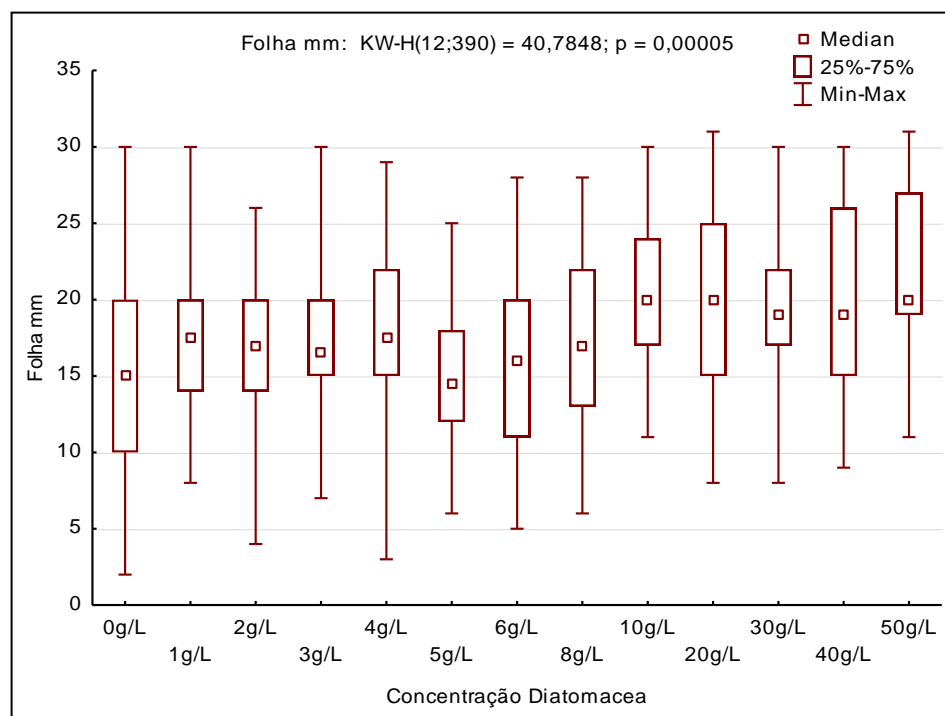
Houve diferença estatisticamente significativa no tamanho mediano do caule (KW-H = 35,28 –  $p=0,000$ ), as diferenças significativas foram entre a concentração 50g/L com as concentrações 1g/L ( $p=0,038$ ), 2g/L ( $p=0,046$ ) e com o controle ( $p=0,005$ ) (Figura 13). Na comparação do tamanho da folha também foi verificada diferença entre as concentrações (KW-H = 40,78) e as diferenças significativas foram entre as concentrações 10g/L x 5g/L (0,012), e a concentração 50g/L com as concentrações 5g/L ( $p=0,000$ ) e 6g/L ( $p=0,031$ ) e com o controle ( $p=0,015$ ) (Figura 14).

Figura 13: Gráfico de comparação do comprimento mediano do caule de alface germinada na terra diatomácea e diferentes concentrações de SAP.



Fonte: o autor, 2022.

Figura 14: Gráfico de comparação do comprimento mediano da folha de alface germinada na terra diatomácea e diferentes concentrações de SAP



Fonte: o autor, 2022.

## 4.4 TOXICIDADE

### 4.4.1 *Tenebrio molitor*

O experimento teve início com 400 larvas da espécie *T. molitor* (Geração parental-P)– sendo 100 larvas para cada tratamento (20g/L, 35g/L, 50g/L e o controle 0g/L). Foram separados 10 adultos (Geração parental) de cada concentração e colocados na mesma concentração que se encontravam esperando gerar novas larvas, posteriormente foram separadas mais 400 larvas (Geração F<sub>1</sub>), sendo 100 para cada tratamento, que geraram novos adultos (Geração F<sub>1</sub>).

O experimento com a espécie *T. molitor*, após o período de 64 dias do início do projeto todas as larvas dos diferentes tratamentos haviam completado o ciclo gerando indivíduos adultos. Foi então realizada a quantificação dos adultos, observou-se que para a geração parental (F<sub>0</sub>), os tratamentos com HIDROSILO obtiveram maior taxa de adultos (F<sub>0</sub>). O tratamento com 35 g/L HIDROSILO apresentou o maior percentual (62%), seguido pelo tratamento 50 g/L HIDROSILO (60%). Já o controle teve a menor taxa (48%). É possível observar que todos os tratamentos obtiveram acima de 20% emergência de adultos a mais que o controle (Tabela 5).

Em cada tratamento foram deixados 10 adultos ( $F_0$ ) e após 14 dias foram as larvas geradas quantificadas (Geração  $F_1$ ). Foi possível observar que com exceção da concentração 50 g/L (1175 larvas), as concentrações obtiveram número de larvas semelhante: o controle foram 379 larvas; a concentração 20 g/L, 437 larvas; a de 35 g/L, 429 larvas. Todavia, foram acima de 10% maior que o controle e o de 50g/L 210% a mais de reprodução (Tabela 5).

Na geração  $F_1$  das larvas de *T. molitor*, foi possível observar que a maior taxa adultos foi no tratamento 50 g/L, com um total de 72 adultos e, com o menor número, o grupo controle com 55 adultos. Novamente, observou-se que os tratamentos tiveram maior percentual de desenvolvimento chegando a 31% na concentração 50g/L maior o controle (Tabela 4). Observou-se um aumento de larvas e adultos com o aumento da concentração de SAP na dieta nas duas gerações, sugerindo que o SAP contribuiu para o sucesso da reprodução do *T. molitor*.

Tabela 5: Testes de desenvolvimento de *T. molitor* a partir de larvas da geração parental ( $F_0$ ) até adultos da geração  $F_1$  em diferentes concentrações de SAP

<b>Geração</b>	<b>0g/L</b>	<b>20g/L</b>	<b>35g/L</b>	<b>50g/L</b>
Larvas - $F_0$	100	100	100	100
% Adultos $F_0$	48	59	62	60
% Maior que controle	---	23	29	25
Adultos $F_0$	10	10	10	10
Larvas eclodidas $F_1$	379	437	429	1175
% Maior que controle	---	15	13	210
Larvas $F_1$	100	100	100	100
% Adultos $F_1$	55	60	66	72
% Maior que controle	---	9	20	31

Fonte: o autor, 2022.

Não foram encontrados na literatura estudos utilizando hidrogéis para alimentação de *Tenebrio sp.* como referência, foi utilizado a alimentação com outros polímeros, poliestireno e poliuretano. A taxa de sobrevivência dos indivíduos foi bem diferente em comparação a trabalhos que utilizaram Poliestireno ou Poliuretano. Wang (2022) observou que as larvas de tenébrio alimentadas com estes polímeros tiveram menor taxa de sobrevivência e desenvolvimento em comparação ao grupo controle alimentado com farelo de aveia. Brandon

(2020) observou que dentre os grupos testados, aqueles alimentados apenas com poliestireno tiveram sobrevivência muito inferior ao grupo com farelo de aveia. No entanto, nos grupos com aveia mais poliestireno foi observada uma maior taxa de consumo do polímero em comparação com o grupo contendo apenas poliestireno. A associação do farelo de trigo ou farelo de aveia contribuiu aumentar significativamente o consumo de um polímero (BRANDON *et al.*, 2018; MATYJA *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2018). Uma outra possível explicação para isto pode ser a adaptabilidade destes animais observada por Yang (2018), as larvas alimentadas com apenas poliestireno começaram a ter um desenvolvimento melhor gradualmente após um período de 16 a 24 dias sendo alimentado com este material.

Em nossos experimentos foram observados melhor desenvolvimento em exemplares alimentados com alimento e adição do SAP em todas as concentrações do que na dieta sem SAP. Esses resultados indicam que a adição do SAP na alimentação de larvas de *T. molitor*, não foi fator limitante para seu desenvolvimento até adulto nas duas gerações sugerindo que não houve toxicidade para esta espécie. (Tabela 4)

Outro fator muito observado para avaliação de toxicidade é a taxa de pupação das larvas, influências tóxicas diminuem significativamente a taxa de pupação, assim como o desenvolvimento da pupa para um adulto (BRANDON *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2022). Brandon (2020) cita que o aumento da taxa de pupação se impulsiona por inclusão de farelo na dieta da larva.

Podemos deduzir que possivelmente o HIDROSILO é um auxiliador no processo de desenvolvimento e pupação destes animais, pois, além de não apresentar toxicidade para estes animais, pode também ser facilmente degradado e absorvido por eles, contribuindo para seu desenvolvimento.

#### 4.4.2 *Drosophila melanogaster*

No experimento das *Drosophilas melanogaster* o grupo controle (banana, aveia/trigo e água) teve uma baixa taxa de eclosão das pupas em comparação aos tratamentos realizados, tendo seu maior percentual observado em 38% e seu menor percentual observado em 12%. Já o grupo com HIDROSILO açucarado o maior percentual foi de 96%, e o menor em 16% (Tabela 6). Não foi realizada análise estatística, em razão do tamanho da amostra e reduzido número de réplicas. Ambos os grupos sofreram consequências na taxa de eclosão no início do experimento devido ao processo de coleta utilizado inicialmente, que acarretava danos às pupas e resultavam em menor taxa de eclosão. No entanto, foi observada uma preferência de sítio de oviposição



das moscas ao meio que continha HIDROSILO + sacarose, é possível que textura gelatinosa e umidade constante do SAP tenha exercido influência na preferência para oviposição. Liu, 2017 afirma, as *D. melanogaster* prefere meios úmidos e com proliferação de agentes fermentadores, o que pode ter sido acentuado no tratamento por usar açúcar e o SAP favorecer a fermentação devido a umidade e presença de glicose. Isto pode ter estimulado o desenvolvimento das larvas, e o sucesso na pupação e eclosão dos adultos do teste. O percentual de eclosão nos controles foi menor que nos tratamentos nos dois primeiros testes, no entanto terceiro teste aumentou, vale ressaltar que o tempo de observação foi maior neste tratamento (Tabela 6).

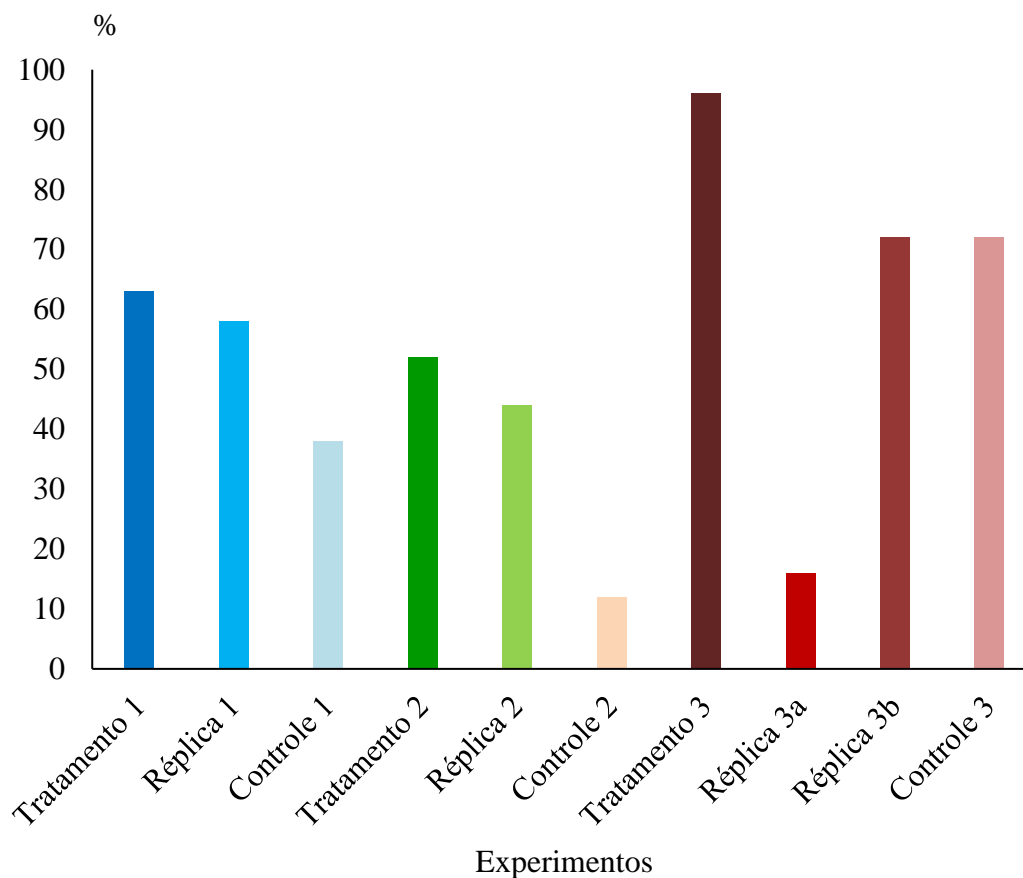
Foi possível verificar que tanto os controles quanto os testes obtiveram sucesso na postura e desenvolvimento do ciclo até o final, sugerindo que a presença do SAP não foi repelente para as fêmeas fazerem a postura e não impediu o desenvolvimento até adulto, sendo, mais produtivo que o controle, na maior parte das amostras.

Tabela 6: Percentual e tempo de desenvolvimento de *D. melanogaster* em tratamento com SAP + glicose em comparação com controle (banana, aveia/trigo e água)

Teste		Pupas	Moscas	%	Nº dias
1	Tratamento	8	5	63	3
	Réplica	19	11	58	5
	Controle	8	3	38	4
2	Tratamento	25	13	52	3
	Réplica	25	11	44	12
	Controle	25	3	12	12
3	Tratamento	25	24	96	16
	Réplica A	25	4	16	6
	Réplica B	75	54	72	6
	Controle	25	18	72	10

Fonte: o autor, 2022.

Figura 14: Gráfico do percentual de desenvolvimento de *D. melanogaster* nos tratamentos com SAP em comparação a dieta sem SAP (controle).



Fonte: o autor, 2022.

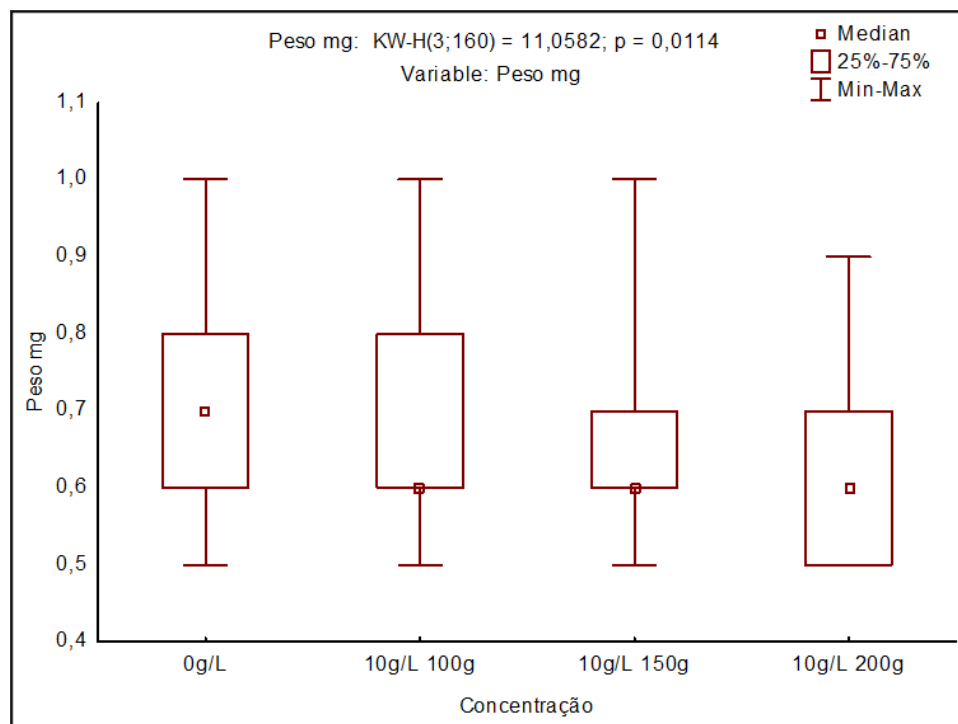
Grande parte dos bioensaios com o organismo buscam avaliar a eficiência de componentes pesticidas – onde a baixa eclosão de pupas é um fator positivo para os resultados do teste. Farias (2016) verificou que apesar do extrato de sisal ser atrativo como sítio de oviposição, não houve eclosão de pupas no tratamento com extrato aquoso seco, o que caracteriza como tóxico para o organismo. Miranda, Paixão e Corte (2018) analisou a toxicidade do herbicida Roundup em diferentes concentrações do agente, resultando em atraso no desenvolvimento e diminuição de eclosão de pupas. Em contraste, o estudo com HIDROSILO revelou alta taxa de eclosão das pupas em relação ao controle e à literatura, o que possivelmente indica que o polímero não tem potencial tóxico para este inseto, já que a larva concluiu todo o seu ciclo dentro do meio de teste sem alterações em seu desenvolvimento.

#### 4.4.3 *Eisenia fetida*

Com a espécie *Eisenia fetida* para o número de espécimes, todos os tratamentos iniciaram com total de 40 espécimes, 10 em cada caixa. Na segunda semana do experimento o grupo T3 (10g/L 150g) apresentou um total de 42 espécimes, ocorrendo um decaimento do número total de espécimes nos demais tratamentos, T4 (10g/L 200 g) apresentou um total de 38 espécimes, seguido pelo grupo controle (0g/L) com 35 espécimes e T2 (10g/L100g) com 34 espécimes. Ao final do experimento na quarta semana, todos os experimentos apresentavam poucos exemplares, o T4 foi o tratamento com maior número, 16 espécimes, seguido por 10 espécimes no T3, 2 espécimes no T2 e não foi encontrado nenhum espécime no grupo controle.

Verificou-se diferença no peso médio das minhocas entre os tratamentos (KW-H= 11,05; p=0,011). A diferença significativa foi observada apenas entre o controle (0g/L) e a concentração 10g/L 200g (p=0,010).

Figura 15: Gráfico de comparação do peso médio de *E. fétida* entre as concentrações de SAP



Fonte: o autor, 2022.

O peso médio inicial dos espécimes de todos os tratamentos estava entre 0,60 e 0,70 gramas, na segunda semana de teste houve aumento do peso em todos os tratamentos. No controle (T1) teve menor aumento, indo de 0,70 g para 0,86 g. O maior foi no T3, com peso inicial de 0,65 g indo para 1,02 g, seguido pelo T4 indo de 0,62 g para 1,0 g. Na terceira semana todos os testes apresentaram perda de peso, sendo o T4 com menor queda, com peso médio em 0,99 g, seguido por T3 com peso médio em 0,90g, o T2 com 0,76 g e o menor peso médio foi no T1 com 0,58g. Ao final do experimento, na quarta semana, o teste com maior peso médio foi o T4 com 0,71 g, e o menor foi no T2 com 0,50 g. Já o controle (T1), não foi possível aferir devido a ausência de espécimes vivos, como apresentado no (Gráfico 08).

O que foi visto na literatura sobre toxicidade de *E. fetida* com microplásticos e outros compostos como efluentes e pesticidas, é comum observar a queda significativa do número de espécimes no decorrer do experimento, assim como no peso médio dos mesmos em comparação com grupo controle quando a toxicidade é comprovada (CHEN *et al.*, 2022; HOLZINGER *et al.*, 2022; ZHOU; LIU; WANG, 2020), o que difere do resultado observado no presente experimento, pois houve aumento de peso em todas as concentrações e mortalidade total dos exemplares do controle no final das quatro semanas, ou seja, a presença do SAP não impediu o crescimento e, houve maior peso em todas as concentrações testadas. A umidade do solo influencia na sobrevivência e adaptabilidade dos indivíduos desta espécie. Portanto, a característica de retenção de água do HIDROSILO manteve o solo mais úmido, além de fornecer mais nutrientes, isto pode ter favorecido o melhor crescimento dos exemplares dos experimentos. (SISINNO *et al.*, 2006). Esses resultados, embora preliminares, nos levam a sugerir que o SAP não foi fator limitante para o crescimento de *E. fetida*, portanto sugerindo não haver toxicidade não tóxico.

## 5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que os resultados referentes as análises de FTIR, na faixa de 1100-1700  $\text{cm}^{-1}$  conhecida como região de impressão digital se observou ligações carbono-hidrogênio, ligação C-O é de grupamento de radicais de álcool radicais característicos do hidrogel de SAP nas amostras de HIDROSILO. Na análise de FTIR do HIDROSILO envelhecido apresentou também evidências de silício ligado oxigênio em 910  $\text{cm}^{-1}$ , e também a presença da ligação N-O em 1003  $\text{cm}^{-1}$  podendo ser utilizada para avaliar um início de biodegradabilidade do produto após 2 anos em contato com o solo. Pode-se observar também a presença do ânion  $\text{CO}_3^{2-}$  em 1448 $\text{cm}^{-1}$  esta ligação ficou mais evidente na amostra de HIDROSILO hidratado e está presente em todas as amostras. Esta interação entre carbono e oxigênio é comum em moléculas poliméricas.

Com relação ao teste de biodegradabilidade, o HIDROSILO atingiu um valor médio de  $36,0 \pm 13,8$  % de desprendimento de  $\text{CO}_2$  ao final do 28 dia, o que não possibilita classificar ele como “prontamente biodegradável”, por não ter atingindo o valor mínimo de 60% de desprendimento de  $\text{CO}_2$  sob as condições utilizadas no ensaio. Este resultado não significa, necessariamente, que o material não possa ser considerado “biodegradável” sob outras condições ou períodos de tempo, o que se faz necessário mais estudos com diferentes condições e períodos de tempo para melhor conclusão. O material também não foi considerado inibitório, dado que no ensaio de inibição a liberação de  $\text{CO}_2$  foi superior a 25% ao 14 dia de teste. Este resultado atende as necessidades do produto onde se espera que não seja degradado tão rapidamente para que possa agir por um maior período.

Os testes de fitotoxicidade com *L. sativa*, demonstrou quebra de dormência em todas as concentrações testadas, variação no percentual de germinação também no controle e maiores taxas de germinação nos testes, sugerindo que o SAP não impediu a quebra de dormência e pareceu favorecer a germinação devido a sua composição a base de potássio. Portanto, sugerindo que o SAP não foi tóxico para *L. sativa*, pois, as taxas ficaram acima de 60% de germinação, parâmetro para determinação de ausência de fitotoxicidade. O ensaio com terra diatomácea, permitiu observar que houve desenvolvimento do caule e da folha em exemplares de *L. sativa* que foram retiradas das maiores concentrações de SAP, indicando que o SAP não parece interferir no desenvolvimento da planta. Os dados apresentados são resultados de testes preliminares, havendo necessidade de mais estudos.

No experimento de toxicidade com a espécie *T. molitor* foram observados melhor desenvolvimento em exemplares alimentados com alimento e adição do SAP em todas as

concentrações do que na dieta sem SAP (controle), estes resultados sugerem que o SAP não foi tóxico para esta espécie e, pareceu ser fator que contribuiu para melhor desenvolvimento.

No experimento das *D. melanogaster* foi possível verificar que tanto os controles quanto os testes obtiveram sucesso na postura e desenvolvimento do ciclo até o final, sugerindo que a presença do SAP não foi repelente para as fêmeas e não impediu o desenvolvimento até adulto, sendo até mais produtivo que o controle, na maior parte das amostras.

No teste com a espécie *E. fetida*, a presença do SAP não impediu o crescimento em todas as concentrações testadas. A retenção de água do SAP manteve o solo mais úmido e a presença de nutriente, pode ter favorecido o melhor crescimento dos exemplares dos testes. Esses resultados, nos levam a sugerir que o SAP não foi fator limitante para o crescimento de *E. fetida*, portanto não parece ser tóxico para esta espécie, embora são necessários estudos mais aprofundados para confirmar as conclusões aqui expostas.

## REFERÊNCIAS

- AKHTER, J. *et al.* Effects of hydrogel amendment on water storage of sandy loam and loam soils and seedling growth of barley, wheat and chickpea. **Plant Soil Environ**, v. 50, n. 10, p. 463–469, 2004.
- AMBROSIO, F. B.; ALVES, D. A.; FECHINE, G. J. M. Estudo Da Biodegradabilidade De Polímeros Por Meio Do Respirômetro De Bartha. **Revista Mackenzie De Engenharia E Computação**, v. 11, p. 46–55, 2012.
- BARTH, A. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1767, n. 9, p. 1073–1101, 2007.
- BELLATO, F. C. *et al.* Avaliação Da Fitotoxicidade De Efluente Têxtil Contendo Corante Ci Reactive Blue 222 Após O Tratamento Por *Pleurotus Ostreatus* Em Biorreator. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11., 2015, Campinas–SP. **Anais Eletrônico** [...]. 2015.p. 288–294. Disponível em: <http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeqic2015/287-33169-263967.pdf>
- BOCKEN, N. M. P. *et al.* Product design and business model strategies for a circular economy. **Journal of industrial and Production Engineering**, v. 33, n. 5, p. 308–320, 2016.
- LOPES, A. Câmara A.; NASCIMENTO, W. M. **Dormência em sementes de hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2012. (Embrapa Hortaliças. Documentos, 136). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/72481/1/doc-1361.pdf>
- CHAN, Yvonne; WALMSLEY, Roy P. Learning and understanding the Kruskal-Wallis one-way analysis-of-variance-by-ranks test for differences among three or more independent groups. **Physical therapy**, v. 77, n. 12, p. 1755-1761, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ptj/article/77/12/1755/2633123>>.
- COATES, J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In: MEYERS, Robert A. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. Hoboken, Nova Jersey, EUA: John Wiley & Sons, 2006. p. 10815–10837.
- COSTA, Melissa Riani. **Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia de lixo de resíduos sólidos urbanos em latossolo vermelho-escuro**. Orientadora: Ariuska Karla Barbosa Amorim; Coorientador: Ricardo Silveira Bernardes. 2009. 108 f., il. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos)-Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- COX, K. D. *et al.* Human Consumption of Microplastics. **Environmental Science and Technology**, v. 53, n. 12, p. 7068–7074, 2019.
- DANG, W. *et al.* Structural transformation of polyacrylonitrile (PAN) fibers during rapid thermal pretreatment in nitrogen atmosphere. **Polymers**, v. 12, n. 1, p. 1–12, 2020.
- DÁVILA, J. R. *et al.* **Advanced Aspects of Spectroscopy**. [s.l.]: InTech, 2012.

DENG, Yongfeng et al. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 46687, 2017.

DEVOS, O. *et al.* Support vector machines (SVM) in near infrared (NIR) spectroscopy: Focus on parameters optimization and model interpretation. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 96, n. 1, p. 27–33, 2009.

DI BARTOLO, A.; INFURNA, G.; DINTCHEVA, N. T. A review of bioplastics and their adoption in the circular economy. **Polymers**, v. 13, n. 8, 2021.

DING, G. *et al.* Toxicity of polyfluorinated and perfluorinated compounds to lettuce (*Lactuca sativa*) and green algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 62, n. 1, p. 49–55, 2012.

EKEBAFE, L. O.; OGBEIFUN, D. E.; OKIEIMEN, F. E. Polymer Applications in Agriculture. **Biokemistri**, v. 23, n. 2, p. 81–89, 2011.

EL OUDIANI, A.; MSAHLI, S.; SAKLI, F. In-depth study of agave fiber structure using Fourier transform infrared spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 242–248, 2017.

FALLAHI, H. R. *et al.* Influence of superabsorbent polymer rates on growth of saffron replacement corms. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 77–84, 2016.

FARIAS, A. L. R. **Resposta comportamental de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae) em dietas contendo extratos dos resíduos de *Agave sisalana*.** Orientadora: Flávia Silva Barbosa. 2019. 38f. TCC (Graduação) – Curso de Tecnologia em Agroecologia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Centro de Ciências Agrárias, Cruz das Almas, 2016.

FLEMING, R. *et al.* Melt spinning of poly(acrylonitrile)-co-styrene copolymer. **Polymer Degradation and Stability**, v. 192, p. 109702, 2021.

GAYLOR, M. O.; HARVEY, E.; HALE, R. C. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) accumulation by earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to biosolids-, polyurethane foam microparticle-, and penta-BDE-amended soils. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 23, p. 13831–13839, 2013.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, n. 7, p. 25–29, 2017.

GHORPADE, V. S.; YADAV, A. V.; DIAS, R. J. Citric acid crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin/carboxymethylcellulose hydrogel films for controlled delivery of poorly soluble drugs. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 339–348, 2017.

HIRATA, R.; DIAS, S. S.; ROSA, A. R. Detecção de inseticidas por bioensaio com *Drosophila melanogaster*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 97–102, 2002.



HOSSAIN, M. S. *et al.* Role of smart grid in renewable energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 60, p. 1168–1184, 2016.

JERÔNIMO, D. P. *et al.* Detection of creatine in rat muscle by FTIR spectroscopy. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 40, n. 9, p. 2069–2077, 2012.

JIMENEZ, A. *et al.* Caracterización morfológica de tenebrio molitor alimentado con poliestireno. **Jovenes en la ciencia**, v. 5, n. 2395–9797, p. 5–7, 2019.

LAWRIE, G. *et al.* Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 8, p. 2533–2541, 2007.

LIM, Dongyoung *et al.* Inhalation toxicity of polystyrene micro (nano) plastics using modified OECD TG 412. **Chemosphere**, v. 262, p. 128330, 2021.

LIU, W. *et al.* Enterococci Mediate the Oviposition Preference of *Drosophila melanogaster* through Sucrose Catabolism. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.

LIU, Y.; NISISAKO, T. Microfluidic Encapsulation of Hydrophobic Antifouling Biocides in Calcium Alginate Hydrogels for Controllable Release. **ACS Omega**, v. 5, n. 40, p. 25695–25703, 2020.

LU, M. *et al.* Stabilization of polyacrylonitrile fibers with carbon nanotubes. **Polymer Degradation and Stability**, v. 188, p. 109567, 2021.

MAZLOOM, N. *et al.* Development and Characterization of Lignin-Based Hydrogel for Use in Agricultural Soils: Preliminary Evidence. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 47, n. 11, 1 nov. 2019.

MELLO, G. S. L. *et al.* Feasibility of Application of B Artha ' S Spirometric Method To. **Eng. sanit. ambient.**, v. 12, p. 71–78, 2007.

MIRANDA, G.; PAIXÃO, G. M. X ; CORTE, C. L. D.. Avaliação dos efeitos do herbicida roundup sobre o desenvolvimento de *drosophila melanogaster*, **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 2, 2018. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/100152>

MONTESANO, F. F. *et al.* Biodegradable Superabsorbent Hydrogel Increases Water Retention Properties of Growing Media and Plant Growth. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 4, p. 451–458, 2015.

NANDIYANTO, A. B. D.; OKTIANI, R.; RAGADHITA, R. How to read and interpret ftir spectroscopy of organic material. **Indonesian Journal of Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 97–118, 2019.

ONG, S. Y. *et al.* A novel biological recovery approach for PHA employing selective digestion of bacterial biomass in animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 5, p. 2117–2127, 2018.

ORFALI, G. DI C. *et al.* Review of anticancer mechanisms of isoquercetin. **World Journal of**

**Clinical Oncology**, v. 7, n. 2, p. 189, 2016.


PEREIRA, M. P. *et al.* Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. **Revista Agro@Mambiente on-Line**, v. 7, n. 1, p. 36, 2013.

PITOMBO, L. M. *et al.* Methodology for soil respirometric assays: Step by step and guidelines to measure fluxes of trace gases using microcosms. **MethodsX**, v. 5, p. 656–668, 2018.

PRATA, J. C. Airborne microplastics: Consequences to human health? **Environmental Pollution**, v. 234, p. 115–126, 2018.

RODRIGUES, L. C. DE A. *et al.* Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.

RUDZINSKI, W. E. *et al.* Hydrogels as controlled release devices in agriculture. **Designed Monomers and Polymers**, v. 5, n. 1, p. 39–65, 2002.

SAMADI KALKHORAN, Elham *et al.* The Survival Response of Earthworm (*Eisenia fetida* L.) to Individual and Binary Mixtures of Herbicides. **Toxics**, v. 10, n. 6, p. 320, 2022. 

SANDOVAL, A. P. *et al.* Hydrogel, biocompost and its effect on photosynthetic activity and production of forage maize plants (*Zea mays* L.). **Acta Agronomica**, v. 66, n. 1, p. 63–68, 2017.

SANZ MUÑOZ, S.; SANCHEZ, D. Construction of an NLaz:Gal4 driver for controlled gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Revista clinica*, (Espanha.), 2011. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/319057398>>.

SCHREITER, S. *et al.* Effect of the soil type on the microbiome in the rhizosphere of field-grown lettuce. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. APR, p. 1–13, 2014.

SHAHID, S. A. *et al.* Improvement in the water retention characteristics of sandy loam soil using a newly synthesized poly(acrylamide-co-acrylic acid)/AlZnFe 2O<sub>4</sub> superabsorbent hydrogel nanocomposite material. **Molecules**, v. 17, n. 8, p. 9397–9412, ago. 2012.

SOUZA, C.; MITTMANN, J. EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA B NA REPRODUÇÃO DE *Drosophila melanogaster*, Meigen, 1830. **XVII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XIII Encontro Latino Americano de Pós- Graduação e III Encontro de Iniciação à Docência**, n. December, 2014.

STUART, B. H. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2004.

SZYMANSKI, H. A.; ERICKSON, R. E. **Infrared Band Handbook**. Boston, MA: Springer US, 1970.

TOKIWA, Y. *et al.* Biodegradability of plastics. **International Journal of Molecular**

**Sciences**, v. 10, n. 9, p. 3722–3742, 2009a.

TOKIWA, Y.; CALABIA, B. P. Biodegradability and biodegradation of polyesters. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 15, n. 4, p. 259–267, 2007.

TORRES, D. *et al.* Construction of an NLaz:Gal4 driver for controlled gene expression in *Drosophila melanogaster*. **Revista Clínica**, v. 4, p. 45–47, 2011.

TRIPATHI, G.; BHARDWAJ, P. Comparative studies on biomass production, life cycles and composting efficiency of *Eisenia fetida* (Savigny) and *Lampito mauritii* (Kinberg). **Bioresource Technology**, v. 92, n. 3, p. 275–283, 2004.

TSOCHATZIS, E. *et al.* Polystyrene biodegradation by *tenebrio molitor* larvae: Identification of generated substances using a gc-ms untargeted screening method. **Polymers**, v. 23, n. 1, p. 1–12, 2021a.

WANG, X. *et al.* A Nexus Approach for Sustainable Urban Energy-Water-Waste Systems Planning and Operation. **Environmental Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 3257–3266, 2018.

WOODHOUSE, J.; JOHNSON, M. S. Effect of superabsorbent polymers on survival and growth of crop seedlings. **Agricultural Water Management**, v. 20, n. 1, p. 63–70, 1991.