**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Biodegradação da blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado,
em diferentes granulometrias, incubada em dois solos**

Maria Elda Ferreira César

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas**

**Piracicaba
2007**

**Maria Elda Ferreira César
Engenheiro Agrônomo**

Biodegradação da blenda Poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado, em diferentes granulometrias, incubada em dois solos

**Orientador:
Profa. Dra. ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA
CARDOSO**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas**

**Piracicaba
2007**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

César, Maria Elda Ferreira

Biodegradação da blenda Poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado, em diferentes granulométrais, incubada em dois solos / Maria Elda Ferreira César. - - Piracicaba, 2007.
53 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Microbiologia do solo 2. Plásticos 3. Poluição do solo 4. Resíduos biodegradeveis
5. Toxicidade do solo I. Título

CDD 631.46

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Ao Divino Menino Jesus por estar presente na minha vida, no meu trabalho e em meu coração.

OFEREÇO

Aos meus pais Manoel e Sílvia, por abrirem mão de muitas coisas em suas vidas em nome de
minha formação pessoal e profissional.

Ao meu marido Fabricio pela compreensão, ajuda, paciência, amizade e amor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, por meio do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, pela oportunidade de realização do curso.

À Professora Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, pela orientação, paciência, conselhos e confiança.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida durante a realização deste curso.

À Professora Dra. Lucia Helena Innocentini Mei pelo fornecimento dos plásticos, pela atenção, ajuda, incentivo e confiança depositada.

À comissão de Pós-Graduação do curso de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ/ USP pela oportunidade e recursos financeiros concedidos para realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias pela colaboração na análise estatística dos dados do presente trabalho.

Ao Professor Dr. Jairo Antonio Mazza pela colaboração durante o desenvolvimento do projeto.

Ao Professor Dr. Godofredo César Vitti pelo incentivo ao Mestrado.

Aos Técnicos do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo – ESALQ/ USP Denise de Lourdes Colombo Mescolotti e Luis Fernando Baldesin, pela amizade, apoio e ajuda em todas as fases experimentais.

À Técnica do Laboratório de Sementes do Departamento de Produção Vegetal - ESALQ/ USP Helena Pescarim Chamma, pela disposição e ajuda na Etapa III do presente trabalho.

À Pilar Drummond Sampaio Corrêa Mariani pela amizade, consideração e ajuda em todas as fases deste trabalho.

Às amigas Flávia Roncato Frasson e Stella Consorte pela disposição, ajuda e conselhos no desfecho deste trabalho.

À Rafaela de Fátima Neroni, pela amizade, companheirismo, ajuda contínua e por não ter perdido a oportunidade de me mostrar o real valor da vida. Sem seu apoio tudo seria muito mais difícil.

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas – ESALQ/ USP, em especial Adilson de Oliveira Júnior e Gean Carlos Silva Matias, pela amizade, paciência, companheirismo e auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo, Alexandre, Alessandra, Daniel, Dilmar, Rafael, Fabiana, Maurício, Priscila e Victor pela ajuda, conversas, discussões e momentos de diversão.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Resíduos sólidos.....	13
2.2 O plástico.....	14
2.3 Polímeros biodegradáveis	15
2.3.1 Blenda biodegradável: poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado	16
2.3.2 Polietileno.....	16
2.4 Solos.....	17
2.5 Organismos do solo.....	19
2.5.1 Propriedades microbianas indicadoras de alterações no solo.....	20
2.5.1.1 Respiração basal.....	21
2.5.1.2 Biomassa microbiana.....	21
2.6 Planta teste.....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Etapa I: Biodegradação do plástico.....	24
3.1.1 Solo.....	24
3.1.2 Os plásticos.....	25
3.1.3 Biodegradação e respiração.....	25
3.2 Etapa II: Análises microbiológicas.....	27
3.2.1 C – biomassa.....	27
3.2.2 N – biomassa.....	28
3.3 Etapa III: Testes de toxicidade do plástico no solo na qualidade de sementes de arroz (<i>Oryza sativa</i> L.) cultivar 202 IAC.....	29
3.3.1 Teste prévio de germinação.....	30
3.3.2 Teste de germinação.....	29
3.3.3 Índice de velocidade de germinação (IVG).....	30
3.3.4 Massa seca da parte aérea e massa seca da raiz.....	31
3.4 Análise estatística.....	31

	8
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 Avaliação da degradação do plástico.....	32
4.2 Análises microbiológicas.....	40
4.3 Avaliação da toxicidade do plástico no solo em sementes e plântulas de arroz	41
5 CONCLUSÕES	45
REFERENCIAS.....	46

RESUMO

Biodegradação da blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado, em diferentes granulometrias, incubada em dois solos

A constatação do crescente acúmulo de lixo, proveniente de plásticos sintéticos que agredem o ecossistema, principalmente o solo, devido ao longo tempo de permanência no ambiente, levou à idéia de desenvolvimento de plásticos biodegradáveis para substituição parcial dos plásticos de origem petroquímica. No presente trabalho, conduzido em laboratório, analisou-se a biodegradação da blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado (PCL/A) e do polietileno. Após a etapa de biodegradação foi avaliado o impacto da adição daqueles materiais na microbiota do solo e testada a toxicidade do plástico no solo sobre a emergência e desenvolvimento de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.), cultivar 202 IAC. Foram usados dois solos: Nitossolo Vermelho eutrófico com textura argilosa e Argissolo Vermelho Amarelo distrófico com textura arenosa. Os plásticos utilizados no experimento foram incorporados em três diferentes granulometrias: 0,007, 0,196 e 19,5 cm². Para cada granulometria foram incorporadas às amostras de solo seis doses de plástico equivalentes a 0, 50, 100, 150, 200 e 250 mg C 100g⁻¹ de solo. O delineamento experimental, para cada solo, foi inteiramente casualizado, com três repetições, em fatorial: na fase de biodegradação: 6 x 2 x 3 (6 doses, 2 plásticos e 3 granulometrias), para as análises microbiológicas e para a fase de toxicidade do plástico no solo 5 x 2 x 1 (5 doses, 2 plásticos e 1 granulometria). Cada dose de plástico foi incorporada em 200g de terra dentro de frasco respirométrico hermeticamente fechado a 28°C. A mineralização do plástico foi determinada pela captura de CO₂ liberado durante um período de 120 dias. Confirmou-se mais uma vez que o polietileno é um material quase não biodegradável sendo que a dose e a granulometria não afetam sua mineralização. O PCL/A é um material biodegradável. No solo argiloso a maior porcentagem de mineralização foi de 72,47 % e para o arenoso de 60,46%, na granulometria 0,007 cm² e dose 50 mg C 100g⁻¹ de solo, em 120 dias foi observado que a textura do solo é fator que afeta a mineralização de compostos orgânicos, sendo esta maior em solo de textura argilosa. Nas maiores doses de PCL/A, independentemente do tipo de solo, a porcentagem de biodegradação diminuiu, provavelmente pelo aumento do conteúdo orgânico adicionado, que pode ter suplantado a capacidade de degradação dos microrganismos contidos nos solos. Não houve alterações no carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do solo pela adição de polietileno e PCL/A. Em teste de toxicidade do plástico no solo avaliada através da emergência e desenvolvimento de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC, o polietileno e o PCL/A mostraram-se inertes, não alterando a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação das sementes, a massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz das plântulas.

Palavras-chave: Plástico; Poli (ϵ -caprolactona) e amido; Biodegradação; Mineralização do carbono; Toxicidade do plástico no solo

ABSTRACT

Biodegradation of a poly (ϵ -caprolactone) and adipate modified corn starch blend, with different granulometries, incubated in two soil types

Evidences of the increasing amount of waste coming from synthetic plastics that damage the ecosystem, mainly the soil, due to their long permanence in the environment, suggested the idea of developing biodegradable plastics in order to partially replace plastic of petrochemical origin. The current trial, accomplished at laboratorial conditions, was firstly developed to analyse the biodegradation of poly (ϵ -caprolactone) and adipate modified corn starch blend (PCL/A) and of polyethylene. After wards e the impact of the addition of these materials on the soil microbiota was evaluated and the toxicity of plastic in the soil during the emergence and development of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) 202 IAC cultivar was tested as well. Two types of soil were used: Red Dusky Podzol with clayey texture and Paleudult (Ultisol) soil with sandy texture. The plastics used in this experiment were added in three different granulometries: 0.007; 0.196 and 19.5 cm^2 . For each granulometry, six doses were added to the soil samples, 0; 50; 100; 150; 200 and 250 $\text{mg C } 100\text{g}^{-1}$ of soil. For each soil, the experiment had a completely randomized factorial design, with three replications: for biodegradation, 6 x 2 x 3 (6 doses, 2 plastics and 3 granulometries); in the microbiological test and in the toxicity test in the soil 5 x 2 x 1 (5 doses, 2 plastics and 1 granulometry). Each plastic dose was added to 200g of soil and placed in a hermetically closed respirometric jar at 28°C. The plastic mineralization was determined by CO_2 evolution during a 120 day period. Once again it was confirmed that polyethylene is an almost non biodegradable material considering that the dosage and the granulometry do not affect the mineralization. The PCL/A is a biodegradable material. For the clayey soil the mineralization percentage was 72.47 % and for the sandy one, it was 60.46%, in 120 days, for granulometry 0.007 cm^2 and dosage 50 $\text{mg C } 100\text{g}^{-1}$ of soil. Soil texture affects the kynetics mineralization of the plastic probes, being higher for clayey soil. In the highest dosages of PCL/A, regardless the type of soil, the biodegradation percentage decreased, probably because of the increase in the organic content added, that may have surmounted the degradation capacity of soil microorganisms. There were no changes in the carbon and nitrogen of soil microbiological biomass by adding polyethylene and PCL/A. During the tests of plastic toxicity in the soil, evaluated by the emergence and development of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) 202 IAC cultivar, the polyethylene and the PCL/A showed no effect, without changes on the germination percentage, speed of seed emergence index, shoot and root dry matter mass of seedlings.

Keywords: Plastic; Poly (ϵ -caprolactone) and adipate corn starch blende; Biodegradation; Carbon mineralization; Plastic toxicity in soil

1 INTRODUÇÃO

As características dos plásticos como seu custo praticamente irrisório, baixo peso, boa resistência mecânica, impermeabilidade, transparência e capacidade de coloração mais impressionantes conferiram trunfos incomparáveis para seu uso massivo na forma de embalagens, uma aplicação extremamente importante numa sociedade voltada para o consumo. Portanto, nada mais natural que esses materiais tenham avançado irresistivelmente sobre esse mercado: do total de 3,97 milhões de toneladas (Mt) de plásticos consumidos no Brasil em 2002, nada menos do que 1,58 Mt foram usadas na forma de embalagens e 0,46 Mt como produtos descartáveis. Ou seja, só nesse ano mais de dois milhões de toneladas de artigos plásticos tiveram vida útil efêmera no Brasil. Dito em outras palavras: pelo menos 51,3% do plástico consumido no Brasil naquele ano foi para o lixo após algumas semanas de uso, se tanto. Obviamente deve-se juntar a essa quantidade o material plástico que chegou ao fim de sua vida útil em outras aplicações mais duradouras como, por exemplo, componentes para automóveis, eletrodomésticos, móveis, etc (GORNI, 2006).

As áreas destinadas a receber toneladas de resíduos sem, contudo, terem uma infraestrutura capaz de evitar os problemas oriundos desta deposição, terão o uso futuro comprometido. Dentre os problemas oriundos da disposição inadequada de grandes quantidades de resíduos sólidos urbanos e industriais, pode ser destacada a poluição do ar, das águas superficiais e subterrâneas, poluição do solo, desequilíbrio ecológico, etc. (SISSINO; OLIVEIRA, 2000). Embora a poluição do solo geralmente não seja tão visível ou imediatamente perceptível, seus efeitos podem ser muito nocivos, uma vez que o solo é compartimento ambiental que não se move e não se renova rapidamente, ao contrário do ar e da água (BRASIL, 1983). Alguns autores consideravam o solo como um meio filtrante que acabava por ‘tratar’ os resíduos sólidos e os efluentes líquidos. Atualmente, já se sabe que o solo é um reservatório de produtos químicos, interferindo diretamente com os outros compartimentos ambientais (CARVALHO, 1980).

A constatação do crescente acúmulo de lixo, proveniente de plásticos sintéticos que agredem o ecossistema, principalmente o solo, devido ao longo tempo de permanência no ambiente, levou à idéia de desenvolvimento de plásticos biodegradáveis. Da família dos polímeros sintéticos biodegradáveis, o poli (ϵ -caprolactona) tem despertado especial interesse na

substituição de polímeros não biodegradáveis devido às suas características físicas, compatibilidade com outros materiais e disponibilidade comercial (MARIANI, 2005).

Os polímeros biodegradáveis, sintéticos ou naturais podem ser decompostos por meio de processos naturais, nos quais os produtos de degradação são reaproveitados no ambiente através dos ciclos elementares como: ciclo do carbono, nitrogênio e enxofre (MARIANI, 2005).

A blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado, quando descartada em locais denominados ambientes microbiologicamente ativos (solos, aterros sanitários, lodos ativados, etc.), terão maior facilidade de se decompor, podendo, hipoteticamente, melhorar as condições físicas, químicas e biológicas do solo, quando aquele for o ambiente de descarte.

Normalmente, os microrganismos são os agentes da biodegradação e decompõem substâncias orgânicas totalmente até CO_2 e H_2O , ou parcialmente, em moléculas intermediárias menores. Em alguns casos, estas podem ser mais persistentes e/ou mais tóxicas que o poluente original. Por isso, no caso de o local de depósito para decomposição deste novo material ser o solo, devem ser feitos testes de toxicidade com o uso de espécies vegetais que poderão ter seu crescimento e desenvolvimento prejudicados.

A crescente demanda por materiais biodegradáveis tem tornado indispensável o conhecimento completo do processo de biodegradação. Por si só, este termo não garante que este material será degradado em qualquer ambiente e em qualquer quantidade, uma vez que os ambientes biologicamente ativos abrangem diferentes organismos e, por sua vez, diferentes sistemas enzimáticos (MARIANI, 2005).

Dentro do contexto apresentado, este trabalho teve como objetivo avaliar a biodegradação da blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado, comparando-se com o polietileno (polímero reconhecidamente pouco biodegradável), nas mesmas condições:

- Em dois solos que diferem em textura e em parâmetros nutricionais;
- Três granulometrias distintas das provas plásticas;
- Para cada granulometria, foram incorporadas às amostras de solos seis doses de plástico equivalentes a 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg de C 100g^{-1} de solo;
- Após a biodegradação, a toxicidade do material no solo foi avaliada através da emergência de sementes e desenvolvimento de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos sólidos

A norma brasileira NBR-10.004 define resíduos sólidos como: resíduos no estado sólido e semi-sólido que resultam da atividade da comunidade, de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição (ABNT, 1987 a:1). Na mesma norma, a periculosidade de um resíduo é definida como: a característica apresentada por um resíduo que, em função de propriedades físicas e químicas ou infecto-contagiosas, pode apresentar risco à saúde pública, provocando ou acentuando, de forma significativa, um aumento de mortalidade ou incidência de doenças e/ou riscos ao ambiente, quando o resíduo é manuseado ou destinado de forma inadequada (ABNT, 1987 a:2).

A forma de viver atual do homem significa a manutenção do padrão de produção crescente de resíduos, tanto qualitativa como quantitativamente (BRUCE, 1995). No Brasil, a quantidade diária de lixo coletado segundo as Regiões Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste, é de 228.413 toneladas (IBGE, 16/01/2007). Deste montante, 35 a 45% vão para aterros sanitários e lixões a céu aberto e são compostos por materiais de degradação lenta que podem ser reaproveitados. São resíduos que ocupam grandes espaços, enquanto que as áreas destinadas a aterros estão cada vez mais escassas. Os resíduos sólidos apresentam riscos à saúde e ao ambiente; saber das dimensões destes riscos e seus impactos depende de um maior conhecimento sobre os resíduos, dos seus componentes, das estimativas de produção, da trajetória da geração ao destino final e das formas de manuseio e tratamento ao longo da trajetória (SISSINO; OLIVEIRA; 2000).

A tendência atual, como já existe em alguns países mais desenvolvidos, é desenvolver ações para minimizar a geração de resíduos sólidos; como exemplo o desenvolvimento de produtos de consumo que, após o uso, no final da cadeia, gerem menos resíduos e/ou resíduos menos agressivos ao ambiente. O novo conceito de “ciclo de vida” dos produtos – em que o produtor tem responsabilidades desde a captação da matéria-prima até a disposição final dos resíduos gerados – poderá ser um importante instrumento de proteção ao ambiente.

Portanto, é fundamental, tanto dos pontos de vista político e econômico como do ponto de vista ambiental que na formulação do modelo de gerenciamento de resíduos sólidos, em países como o Brasil, se considerem as condições de sua realidade para que se projetem sistemas e

produtos adequados capazes de gerar efetiva evolução no tratamento dos resíduos e seus impactos ambientais (SISSINO; OLIVEIRA; 2000).

2.2 O Plástico

Plástico é todo composto sintético ou natural que tem como ingrediente principal uma substância orgânica de elevado peso molecular, seu nome vem do grego plastikos que quer dizer "maleável". Em geral, os plásticos são materiais sintéticos obtidos por meio de fenômenos de polimerização ou multiplicação artificial dos átomos de carbono nas grandes correntes moleculares dos compostos orgânicos, derivados do petróleo ou de outras substâncias naturais. Os polímeros, moléculas básicas dos plásticos, estão presentes em estado natural em algumas substâncias vegetais e animais como a borracha, o amido, a madeira e o couro (CAFEBANDEIRA, 21/11/2006).

Substâncias elásticas extraídas de resinas naturais, como a da seringueira, já eram conhecidas em certas regiões da América, Oceania e Ásia em épocas primitivas. Das crônicas de viajantes europeus medievais, como Marco Polo, constam relatos sobre a existência dessas substâncias, que foram introduzidas na Europa durante o Renascimento (CAFEBANDEIRA, 21/11/2006).

Até o século XIX o aproveitamento desses materiais foi muito pequeno, mas o desenvolvimento da química permitiu seu aperfeiçoamento e o melhor aproveitamento de suas propriedades. Em 1862 o inglês Alexander Parkes criou a parquesina, o primeiro plástico propriamente dito. Sete anos mais tarde John Wesley Hyatt descobriu um elemento de capital importância para o desenvolvimento da indústria dos plásticos: a celulóide. Tratava-se de um material fabricado a partir da celulose natural tratada com ácido nítrico e cânfora, substância cujos efeitos de plastificação foram muito usados em épocas posteriores (CAFEBANDEIRA, 21/11/2006).

A fabricação dos plásticos sintéticos teve início com a produção da baquelita, no início do século XX, e registrou um desenvolvimento acelerado a partir da década de 1920. O progresso da indústria acompanhou a evolução da química orgânica que, principalmente na Alemanha, permitiu o descobrimento de muitas substâncias novas. Hermann Staudinger comprovou em 1922 que a borracha se compunha de unidades moleculares repetidas, de grande tamanho, que passaram a ser chamadas de macromoléculas. Essa comprovação abriu caminho para a

descoberta, antes da metade do século, dos poliestirenos, do vinil, das borrachas sintéticas e das poliuretanas e silicones, todos de amplo uso e obtidos a partir de matérias-primas vegetais e minerais (CAFEBANDEIRA, 21/11/2006).

Aproximadamente 140 milhões de toneladas de plásticos derivados do petróleo são produzidos anualmente em todo o mundo (SHIMAO, 2001). Estes polímeros são extremamente estáveis e não entrarão de imediato no ciclo de degradação da biosfera e podem permanecer intactos por longo tempo (SANEKOVA, 2000; SHIMAO, 2001). Outro aspecto negativo destes polímeros é que eles formam uma camada impermeabilizante que dificulta a circulação de gases e líquidos nos lixões, necessários para acelerar a decomposição do lixo.

A grande quantidade de lixo plástico descartado todos os anos, que conduz a um sério problema ambiental, estimulou o desenvolvimento de tecnologias para reciclagem e levanta a possibilidade de substituição de materiais plásticos convencionais por biodegradáveis. Esta troca passa a ser uma solução para diminuir o volume de resíduos plásticos porque eles podem ser degradados em ambientes úmidos pela ação de microrganismos (DENG et al. 2006; BUCCI, 2003). Recentemente, a pesquisa e o desenvolvimento de materiais biodegradáveis com uso de fontes renováveis como a celulose, amido e proteína, têm chamado a atenção (DENG et al. 2006). Porém, o preço dos polímeros biodegradáveis em comparação aos plásticos convencionais tem sido um dos obstáculos a ser vencido. O polietileno apresenta um preço de produção médio de 0,9 a 1,0 US\$ kg⁻¹ enquanto os polímeros biodegradáveis 5,0 a 8,0 US\$ kg⁻¹ (ROSA et al., 2002). Segundo Mariani (2005), o alto custo dos polímeros sintéticos biodegradáveis pode ser reduzido significativamente com a adição de polímeros naturais.

2.3 Polímeros biodegradáveis

Segundo a ASTM D 6954-04, polímero biodegradável é um polímero que passa por alterações significativas em sua estrutura química como resultado da ação de microrganismos de ocorrência natural, como bactérias, fungos e algas.

Existem hoje várias definições para estes polímeros, as quais são elaboradas pelos grupos de pesquisa ligados ao desenvolvimento de normas para acompanhamento padronizado da biodegradação e cabe ao usuário definir qual delas irá usar para desenvolver seus testes (MARIANI, 2005).

2.3.1 Blenda biodegradável: poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado

Poli (ϵ -caprolactona), ou PCL, é um polímero sintético, de caráter hidrofóbico, muito conhecido pela sua biodegradabilidade e habilidade em formar blendas com outros polímeros (MARIANI, 2005; DENG et al., 2006). Sua biodegradabilidade é devida ao grupo funcional éster presente na estrutura de sua molécula, a qual pode ser hidrolizado pela ação de enzimas microbianas (OHTAKI et al., 1998).

Amido é um polímero natural sintetizado em estruturas vegetais denominadas plastídeos a partir da polimerização da glicose, resultante da fotossíntese. Sua utilização na síntese de plásticos é limitada por apresentar baixa propriedade mecânica e pouca estabilidade térmica (MARIANI, 2005).

Blenda é a mistura de materiais de diferentes origens que juntos compõem uma substância com propriedades que nenhum outro material puro possui. A poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado é uma blenda de um polímero natural misturado a um polímero sintético biodegradável. A produção da blenda é interessante, pois, o novo produto apresenta boas propriedades físicas e aumento da taxa de biodegradação (KLOSS et. al, 2005; MARIANI, 2005; VOGELSAGER et al., 2004).

Doravante, a blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido de milho adipatado será simplesmente denominada “blenda PCL/A” neste trabalho.

2.3.2 Polietileno

Polietileno é um polímero parcialmente cristalino, flexível, cujas propriedades são acentuadamente influenciadas pela quantidade relativa da fase amorfa e cristalina. Os polietilenos são lentamente biodegradáveis e inertes à maioria dos produtos químicos comuns devido à sua natureza parafínica, seu alto peso molecular e sua estrutura parcialmente cristalina. Em temperaturas abaixo de 60 °C são parcialmente solúveis em todos os solventes (COUTINHO, 2003), mas não em água.

O polietileno possui o etileno (C_2H_4) polimerizado e suas propriedades dependem da técnica usada na polimerização. Em condições normais, os polímeros etilênicos são inertes e não

são tóxicos, podendo inclusive ser usados em contato com produtos alimentícios, farmacêuticos, embalagens industriais e agrícolas (COUTINHO, 2003).

Há casos em que os plásticos são os únicos materiais adequados para um determinado fim. Isso porque eles reúnem um número de propriedades dificilmente encontradas em outros materiais: são ótimos isolantes térmico-acústicos, maus condutores de eletricidade, resistentes ao calor, quimicamente inertes, leves, resistentes e flexíveis, além de representarem excelente relação custo/benefício (PLASTIVIDA 23/11/2006). O mercado brasileiro de polietileno cresce em um ritmo duas vezes maior que o Produto Interno Bruto (PIB). Entre 1999 e 2000, as vendas aumentaram em mais de 150 mil toneladas (cerca de 10% da produção nacional) (COUTINHO, 2003).

2.4 Solo

Buckman; Brady (1983) definem solo como sendo “um conjunto de corpos naturais, sintetizado em forma de perfil, composto de uma mistura variável de minerais espedaçados e desintegrados e de matéria orgânica em decomposição, que cobre a terra com uma camada fina e que fornece, desde que contenha as quantidades necessárias de ar e de água, amparo mecânico e subsistência para os vegetais”.

O tamanho das partículas de um solo mineral não está sujeito a mudanças rápidas. Por este motivo, a proporção de diversos grupos por tamanho, num determinado solo (textura), assume importância adicional. Não pode ser alterada, sendo considerada como qualidade inerente ao solo (BUCKMAN; BRADY, 1983).

Os grupos texturais são classificados em:

AREIAS: o grupo areia inclui todos os solos em que o peso da areia separada totaliza ou excede 70% do material. As propriedades de tais solos são, portanto, caracteristicamente arenosas, em contraste com maior viscosidade e natureza mais argilosa de grupos de solos mais pesados. São identificadas duas classes específicas: *areia e areia barrenta* (BUCKMAN; BRADY, 1983).

Desagregação, aeração e drenagens boas, assim como fácil subsolagem são características de solos arenosos. Por outro lado, tais solos são em geral muito desagregados e abertos, não possuindo capacidade adequada de adsorção e de manutenção de umidade e de nutrientes. Portanto são insuficientemente férteis e carentes de granulação (BUCKMAN; BRADY, 1983).

ARGILAS: um solo para ser designado como argila deverá conter pelo menos 35% da fração granulométrica de argila e, na maioria dos casos, nunca menos que 40%. Em tais solos, as características da fração granulométrica da argila são eminentemente dominantes e a designação da classe é: *argila arenosa*, *argila siltica* ou a mais comum, simplesmente *argila* (BUCKMAN; BRADY, 1983)

As minúsculas partículas coloidais de argila silicatada possuem, em geral, carga negativa. Portanto, milhares de íons positivamente carregados, ou cátions, são atraídos para cada cristal do colóide. A camada iônica exterior é formada por um enxame de cátions frouxamente retidos que circundam e, em alguns casos, penetram a partícula. Assim, uma partícula de argila é acompanhada por um número espantoso de cátions adsorvidos (BUCKMAN; BRADY, 1983).

Segundo Cardoso (1992), o solo pode ser encarado como um *hábitat* microbiano por excelência, local de vida de inúmeras e variadas populações de todos os tipos de microrganismos e mesmo como o reservatório final da grande diversidade genética de quase todos eles. Entretanto, o solo não pode ser visto como um único *hábitat* de grande extensão geográfica. Pelo contrário, ele se constitui de inúmeros microssítios, caracterizados não apenas pelas condições edafoclimáticas, mas ainda por fatores peculiares, como a presença de matéria orgânica, de menor ou maior facilidade de troca gasosas, etc. E tais características podem variar muito entre locais que distam entre si não mais que alguns milímetros. Conclui-se, portanto, que, mesmo quando se considera um terreno de dimensões restritas, constituído pelo mesmo tipo de solo, lida-se com grande número de *microhábitats* microbianos diferentes entre si.

A matéria orgânica do solo resulta da deposição de resíduos vegetais e animais naquele meio, capazes de sofrer decomposição e liberar nutrientes, o que é fundamental para a ciclagem dos elementos essenciais dentro do ecossistema. A matéria orgânica do solo desempenha funções fundamentais para o adequado funcionamento do solo, estando envolvidos em processos físicos, químicos e biológicos (ROSCOE, 2006).

O solo não é um ser ou entidade viva, mas no contexto da bioquímica comporta-se como tal, atuando como um grande reator onde ocorrem inúmeras reações químicas complexas, sendo as principais conduzidas ou mediadas pelas diversas formas de vida nele existentes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). A disposição sobre o solo de materiais orgânicos e/ou inorgânicos, bem como a passagem sobre esse solo de massa fluida, que provoque alterações na sua constituição básica, modificando suas propriedades originais benéficas ao uso das espécies que dele dependem ou

com ele se contatem, inclusive, influenciando a qualidade das águas sobre esse solo, caracteriza a poluição do solo (PORTUGAL, 2006).

2.5 Organismos do Solo

Húmus é produto de degradação e de síntese. Os agentes responsáveis são organismos vivos do solo, tanto micro como macrorganismos. Estes organismos produzem uma miríade de mudanças bioquímicas, à medida que se processa a decomposição; igualmente reviram fisicamente o solo, auxiliando a estabilizar sua estrutura. A preocupação com estes organismos concentra-se na sua atividade, ao invés da sua classificação científica. Porém, reduções na sua diversidade ou abundância podem afetar a ciclagem de nutrientes (GILLER et al., 1998).

A biomassa microbiana do solo é definida como a parte da matéria orgânica constituída pelos organismos vivos com volume celular menor que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estes organismos são definidos como a parte viva da matéria orgânica do solo. Todos os sistemas vivos requerem um suprimento de nutrientes e energia em quantidade e forma adequadas. Organismos que utilizam substâncias orgânicas como fonte de carbono e doadoras de elétrons e fonte de energia química, são classificados como quimiorganotróficos (animais, protozoários, fungos, maioria das bactérias) (NEVES, 1992).

Diversos tipos de substratos orgânicos estão presentes no solo. A variedade destes pode ser tão grande quanto a das espécies microbianas. A taxa de degradação pelos microrganismos dependerá do tipo de substrato, da relação espacial (acessível ou não) entre estes e as células e/ou enzimas e das condições físico-químicas do *microhabitat*. Nem toda substância orgânica é passível de degradação por microrganismos. A idéia de que o solo é um poderoso incinerador que degrada toneladas de substâncias deve ser revista para evitar a poluição ambiental crescente, pois mesmo as mais adaptadas comunidades microbianas são incapazes de degradar algumas moléculas recalcitrantes tanto de produtos naturais como de substâncias feitas pelo homem (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

A decomposição, quebra do material orgânico particulado, é um processo biocatalítico complexo que envolve a ação de enzimas que produzem monômeros específicos em função da composição do substrato ou resíduo. Substratos prontamente decomponíveis se transformam rapidamente em CO_2 e biomassa, em seguida são transformados os componentes químicos mais resistentes e a própria fração da nova massa morta de microrganismos. Como resultado da

proliferação microbiana, o carbono e os nutrientes do material são transformados em novas moléculas, como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos, quitina e outros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

A mineralização da matéria orgânica procede da decomposição, os monômeros (substâncias de baixo peso molecular) são absorvidos e metabolizados pelas células microbianas que as transformam em formas inorgânicas. Este processo é de grande interesse para a fertilidade do solo e a nutrição vegetal, pois as formas orgânicas são convertidas em CO_2 , NH_3 , NO_3^- , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} e SO_4^{2-} , os quais podem ser imobilizados na biomassa. Desse modo, os materiais orgânicos depositados, assim como as frações orgânicas nativas do solo, que são húmus, representam importante reservatório de C, N, P, S e outros nutrientes que ocorrem em diferentes formas orgânicas.

2.5.1 Propriedades microbianas indicadoras de alterações no solo

Doran; Parkin (1994) definem qualidade do solo como sendo a capacidade deste de funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde das plantas e animais. Quando o homem, por sua intervenção, modifica o funcionamento de um ecossistema, a dinâmica da matéria orgânica do solo é profundamente alterada (LONGO, 1999). O manejo inadequado de um solo pode ocasionar um estado de degradação que, caso seja reversível, requer muito mais tempo e recurso para sua recuperação. As populações de organismos do solo revelam natureza dinâmica e são facilmente afetadas por distúrbios físicos, causados pelo cultivo, ou químicos, resultantes da aplicação de fertilizantes, pesticidas, resíduos, etc. (D'ANDRÉA et al, 2002). Assim faz-se necessário o monitoramento dos solos manejados com vista à preservação de sua qualidade para que os mesmos possam proporcionar uma produção continuada (FIALHO, 2005).

Critérios básicos para a utilização das propriedades microbianas no monitoramento da qualidade do solo foram propostos por Brookes, (1995):

- 1- Essas propriedades devem ser exatas e precisamente avaliadas para se obter êxito em uma ampla escala de tipos e condições de solo;
- 2- Devido ao alto número de amostras analisadas normalmente, as propriedades microbianas devem ser de avaliação fácil e econômica.

- 3- As propriedades microbianas devem ser sensíveis a estresses, mas também suficientemente estáveis para não fornecer alarmes falsos;
- 4- Devem ter validação científica, com base na realidade e conhecimento atual;
- 5- Duas ou mais propriedades, independentes, devem ser utilizadas. Nesse caso, suas inter-relações no ambiente devem ser reconhecidas;

Assim, indicadores microbiológicos sensíveis a variações ambientais, como Respiração Basal, Carbono da Biomassa Microbiana e Nitrogênio da Biomassa Microbiana foram selecionados para avaliar o efeito da incorporação da blenda PCL/A em dois solos distintos.

2.5.1.1 Respiração Basal

A atividade microbiana é utilizada como uma maneira de melhor compreender os processos de mineralização e visualizar mais profundamente a intensidade dos fluxos de energia do solo. A respiração de organismos do solo pode ser definida como o consumo de oxigênio ou liberação de gás carbônico decorrentes da atividade de bactérias, fungos, algas, actinomicetos e protozoários, compreendendo todas as trocas gasosas do metabolismo dos mesmos (ANDERSON, 1982). Tal processo é resultado da degradação de substâncias orgânicas, como a que ocorre durante a mineralização do lodo de esgoto, do lodo de curtume, bem como diversos outros processos metabólicos que têm na produção de CO_2 o estágio final da mineralização dos compostos de carbono (PONTES, 2002).

A respiração é um dos mais antigos parâmetros para quantificar as atividades da microbiota do solo. Ela representa a oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbios do solo até CO_2 , que, portanto, utilizam O_2 como receptor final de elétrons. Assim, ela pode ser avaliada tanto pelo consumo de O_2 como pela produção de CO_2 . Os testes respirométricos também têm sido adotados na determinação da mineralização, pois são baseados na medida da respiração dos microrganismos durante o processo de biodegradação (MARIANI, 2005).

2.5.1.2 Biomassa Microbiana

A biomassa microbiana constitui a maior fração ativa da matéria orgânica do solo e, por isso é sensível em inferir mudanças causadas pelo manejo do solo. Além de sua função catalisadora das transformações bioquímicas do solo, a biomassa microbiana representa um

compartimento lábil de muitos nutrientes, que são reciclados rapidamente, com tempo de residência em torno de três meses (BARETTA et al., 2005).

O nitrogênio retido na biomassa microbiana é liberado, na medida em que os microrganismos morrem e são mineralizados pela população restante, razão porque, em solos submetidos a estresses ambientais, a maior parte do N mineralizado pode ser de origem microbiana. Portanto, a biomassa microbiana atua como um tampão do nitrogênio do solo, uma vez que controla a disponibilidade desse nutriente por meio dos processos de mineralização e imobilização (VARGAS; SCHOLLES, 1998).

2.6 Planta Teste

Para o teste de toxicidade do solo, foi escolhido o arroz (*Oryza sativa* L.) como planta teste.

O arroz é um dos alimentos mais antigos produzidos pelo homem, sendo impossível determinar com exatidão a época em que começou a ser cultivado. Registros desde 3000 a.C. já mencionavam a cerimônia de semeadura do arroz na China. Cultivado em todos os continentes é a terceira cultura agrícola em importância mundial, perdendo apenas em produção para o milho e o trigo. Porém esses dois últimos grãos são largamente utilizados para outros fins além da nutrição humana (SILVA, 2004).

O arroz é o principal componente da dieta básica da população mundial. Segundo a FAO o arroz é responsável por 20% da fonte de energia alimentar da população mundial enquanto o trigo fornece 19% e o milho 5%. Somente nos países asiáticos mais de dois bilhões de habitantes têm o arroz e seus derivados como fonte de 60 a 70% das calorias ingeridas diariamente. Este cereal é, portanto, um alimento de extrema importância para a segurança alimentar da população mundial e, em função disso, aspectos relacionados à sua produção e consumo devem ser continuamente monitorados e avaliados em profundidade para que seu suprimento seja garantido (BARATA, 2005).

A contaminação de áreas com poluentes pode ocasionar estresse na maioria das plantas agricultáveis. Esta contaminação pode ocorrer de maneira natural, com depósitos superficiais de minerais ou produzidos pelo homem com extração ou mineralização, aplicações de fertilizantes na agricultura, como consequência da disposição de lixo orgânico e contaminantes oriundos do petróleo (MORAES et al., 2002).

A produtividade das culturas depende de vários fatores que interagem no meio ambiente. Os fatores biológicos sofrem grandes influências dos compostos químicos lançados no ambiente na forma de resíduos da atividade industrial (MORAES et al., 2002). As plantas como organismos sedentários e sensíveis a determinadas substâncias podem ser utilizadas como bioindicadores, no estudo do impacto da poluição ambiental. Segundo Moraes et al. (2002), até o momento poucos estudos foram realizados no sentido de conhecer o papel da toxicidade de poluentes na capacidade de germinação das sementes.

Devido à importância como principal componente da dieta básica da população mundial e, também, por atender à norma ASTM E 1963 – 02 (“Standart guide for conducting terrestrial plant toxicity tests”) o arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC foi escolhido como planta teste e, após a biodegradação da blenda PCL/A, a toxicidade do solo foi avaliada através da porcentagem de plântulas germinadas, pelo índice de velocidade de germinação e matéria seca da raiz e da parte aérea das plântulas, de acordo com Brasil (1992) e ASTM E 1963 – 02.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em condições de laboratório, nas dependências da Universidade de São Paulo, na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", no município de Piracicaba-SP.

As análises física, química e microbiológica do solo, etapas I e II deste trabalho, foram realizadas nos laboratórios de Física do Solo, de Fertilidade do Solo e Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo. As análises de germinação da planta teste para avaliação toxicológica do solo, etapa III deste trabalho, foram realizadas no laboratório de Sementes do Departamento de Produção Vegetal.

3.1. Etapa I: Biodegradação do plástico

3.1.1. Solo

No mês de abril do ano de 2006, foram coletadas (na camada de 0-10 cm de profundidade) amostras de dois solos, ambos sob grama batatais (*Paspalum notatum* sp.), em duas áreas distintas do município de Piracicaba-SP, a primeira nas dependências da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e a segunda, localizada em Anhembí. As amostras foram classificadas de acordo com EMBRAPA, (1999) em: Nitossolo Vermelho eutrófico com textura argilosa e Argissolo Vermelho Amarelo distrófico com textura arenosa.

Após a coleta das amostras de solos, estas foram secas ao ar, peneiradas em malha 2 mm, homogeneizadas e submetidas a análises para determinação de pH, matéria orgânica (M. O.), P, S, K, Ca, Mg, Al, H+Al, B, Cu, Fe, Mn e Zn, de acordo com a metodologia preconizada por Raij et. al. (2001) (Tabela 01). A determinação granulométrica das frações areia, silte e argila seguiu a metodologia do densímetro (EMBRAPA, 1997). (Tabela 02)

Tabela 1 - Características químicas dos solos utilizados no experimento

Solo	pH	M.O.	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m
	CaCl ₂	g dm ⁻³	--mg dm ⁻³ --					-----mmol _c dm ⁻³ -----				-----%-----	
Argiloso	5,2	11	5	8	0,8	28	11	0	34	39,8	73,8	54	0
Arenoso	4,0	2	1	1	0,5	3	2	9	22	5,5	27,5	20	62

Tabela 2 - Composição granulométrica dos solos utilizados no experimento

Solo	Argila	Silte	Areia
	-----%-----		
Argiloso	43	14	43
Arenoso	6	6	88

3.1.2 Os plásticos

Os plásticos utilizados neste trabalho foram fornecidos pelo laboratório de Processamento de Polímeros do Departamento de Tecnologia de Polímeros/ FEQ/ UNICAMP. Neste mesmo departamento, foram feitos o prensamento em corpos de prova (granulometria 19,5 cm²) com moldes vazados padronizados ASTM D 412 e, para que fosse conhecida a porcentagem de carbono foi feita a análise elementar dos materiais a partir de amostras de 2,0 mg de PCL/A e do polietileno (Tabela 3). A composição de PCL/A utilizada é apresentada na tabela 4.

Tabela 3 - Resultado da análise elementar do polietileno e da blenda PCL/A

Plástico	Composição (%)		
	C	N	H
PCL/A	56,66	0,06	8,84
Polietileno	86,18	0,04	13,76

Tabela 4 - Composição da blenda PCL/A em peso

Composição	Quantidade (%)
Poli (ε-caprolactona)	50
Amido de milho adipatado	35
Plastificante Edenol*	15

*Derivado de óleo de soja

No Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência do Solo/ ESALQ/ USP os corpos de prova foram cortados em círculos com diâmetro de 0,5 cm, utilizando um furador de papel (granulometria 0,196 cm²). Para obtenção das amostras moídas (granulometria 0,007 cm²), estes foram picados manualmente com o uso de uma tesoura e os fragmentos passados em peneira de malha 1,0 mm.

3.1.3 Biodegradação e respiração

A determinação de CO₂ pode ser feita por titulação ou condutividade elétrica (quando é capturada por NaOH ou KOH). Pode-se medir a respiração basal da amostra (com matéria

orgânica pré-existente) ou com indução por substrato, adicionando-se uma fonte orgânica específica, e.g. glicose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Para este trabalho, a biodegradação foi baseada no teste de respirometria (ANDERSON, 1982) e segundo a norma ASTM D 5988-96 ("Standard test method for determining aerobic biodegradation in soil of plastic materials or residual plastic materials after composting").

As doses de plástico em mg de C 100g^{-1} de solo, utilizadas no experimento, baseiam-se na norma ASTM D 5988-96 e é recomendado o uso de doses que se encontram dentro do intervalo de 0 a 200 mg de C 100g^{-1} de solo. Para este trabalho, as doses escolhidas foram: 0, 50, 100, 150, 200 e 250 mg de C 100g^{-1} de solo.

O equivalente a 200g de terra de cada solo foi pesado e a umidade da amostra de solo foi corrigida para 60% da capacidade de retenção máxima de água. O plástico foi pesado, referente aos valores (Tabela 5) que equivalem a cada dose já citada. A maior granulometria ($19,5\text{ cm}^2$), em alguns casos foi cortada até atingir a massa referente á dose em questão. O plástico foi enterrado nas porções de terra em frascos de vidro de volume 2,0 L, vedados hermeticamente e incubados em ambiente à temperatura de 28°C . Para cada tipo de material, para cada dose e para cada granulometria foram feitas três repetições.

Sobre a superfície de cada solo, em cada frasco de vidro, foi colocado um frasco contendo 10 mL de solução de NaOH $0,5\text{ mol L}^{-1}$, para absorver o CO_2 liberado do solo. Após o período de incubação, para determinar a quantidade de CO_2 liberado, adicionou-se 1,0 mL de BaCl_2 $0,5\text{ mol L}^{-1}$ para precipitar o carbonato, três gotas de indicador fenolftaleína 1,0% ao frasco com NaOH e titulou-se o excedente de NaOH com solução de HCl $0,5\text{ mol L}^{-1}$. Os resultados foram expressos em mg de C- CO_2 100 g^{-1} solo seco. A leitura da quantidade de CO_2 liberada foi realizada de três em três dias, durante 120 dias.

Tabela 5 - Peso do plástico incorporado no solo referente às doses 50, 100, 150, 200 e 250 (mg C 100g^{-1} solo)

Plástico (mg 100g^{-1} solo)	Dose de plástico (mg C 100g^{-1} solo)				
	50	100	150	200	250
PCL/A	88,245**	176,500	264,735	353,000	441,245
Polietileno	58,018	116,036	174,054	232,072	290,090

2,0 mg de plástico é o peso da amostra daquele material utilizado na análise elementar

**mg C no plástico = (%C no plástico x 2,0 mg do plástico)/ 100; mg do plástico = (C adicionado via plástico x 2,0 mg do plástico)/ mg de C no plástico

O cálculo da quantidade, em peso, de CO₂ real produzido foi feito através da equação 1 (Mariani, 2005):

$$M \text{ CO}_2 \text{ (mg)} = (V_{cn} - V_{am}) \times 22 \times 0,5 \quad (1)$$

Sendo:

M CO₂ = massa de dióxido de carbono produzido (mg);

V_{cn} = Volume de HCl 0,5 mol L⁻¹ utilizado na titulação do frasco controle negativo;

V_{am} = Volume de HCl 0,5 mol L⁻¹ utilizado na titulação do frasco contendo a amostra;

22 = equivalente grama CO₂;

0,5 = normalidade do HCl;

3.2 Etapa II: Análises microbiológicas

Após 120 dias de incubação do plástico no solo, as provas de PCL/A com a menor granulometria (0,007 cm²) produziram os maiores valores de liberação de CO₂. Sendo assim, somente o solo que havia recebido material com esta granulometria foi submetido às análises microbiológicas e a de toxicidade em plantas (Etapa III deste trabalho).

Para obtenção de resultados com o mínimo possível de erro experimental, todas as unidades experimentais foram colocadas, ao mesmo tempo, dentro de dois dessecadores onde foi feita a fumigação das parcelas experimentais. Para que isso fosse possível, somente os tratamentos 0, 50, 100, 200 e 250 mg de C 100g⁻¹ solo foram submetidos as análises de C e N da biomassa microbiana.

3.2.1 C-biomassa

O método empregado para avaliar o carbono da biomassa microbiana foi o da fumigação e extração (VANCE et al., 1987). Neste método a microbiota do solo é fumigada pelo uso do clorofórmio e o carbono da biomassa é extraído pelo uso de uma solução de K₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹.

Para cada solo que havia recebido material na granulometria 0,007 cm², foram retiradas duas alíquotas correspondentes a 10g de terra para determinação do C-biomassa pelo método da fumigação-extração (VANCE et al., 1987). A primeira alíquota foi fumigada em dessecador contendo um becker com pérolas de vidro e clorofórmio. O clorofórmio foi evaporado sob vácuo. Após 24 horas procedeu-se a retirada do resíduo de clorofórmio do dessecador. A segunda alíquota serviu de controle (não-fumigada). Ambas as alíquotas receberam, então, 40 mL de

K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, sendo agitadas por 30 minutos. A suspensão resultante foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1. O carbono orgânico dos extratos foi determinado pela digestão de 10 mL do filtrado com 1 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e 10 mL de uma mistura de H_2SO_4 e H_3PO_4 concentrado (1:1), em erlenmeyer de 50 mL. Esta solução permaneceu em banho-maria a 90°C durante uma hora. Após resfriadas as misturas receberam 10 mL de H_2O deionizada. O excesso de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ foi determinado por titulação com sulfato ferroso de amônio, utilizando-se difenilamina sulfonato de bário como indicador.

O carbono da biomassa microbiana é calculado pela equação 2:

$$\text{CBM } (\mu\text{g de C g}^{-1} \text{ solo}) = \frac{(\text{C microbiano}_{\text{Amostra Fumigada}} - \text{C microbiano}_{\text{Amostra não Fumigada}})}{k} \quad (2)$$

CBM = carbono da biomassa microbiana

k = constante, representando a proporção do total de carbono da biomassa microbiana extraído após a fumigação. O valor utilizado de k, no presente trabalho, foi de 0,33.

3.2.2 N-biomassa

A determinação do nitrogênio da biomassa microbiana foi realizada mediante ao emprego do método da ninidrina (JOERGENSEN et al., 1990). Neste método a ninidrina forma um complexo púrpura com as moléculas contendo N em grupamentos α -aminos, tais como aminoácidos, peptídeos e proteínas. A diferença entre a quantidade de compostos reativos à ninidrina extraídos por K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de amostras de terra fumigadas com clorofórmio e a quantidade de amostras não fumigadas é derivada da biomassa microbiana do solo.

Inicialmente, foram preparadas as soluções padrão de leucina, em K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, nas seguintes concentrações: 25, 50, 75, 100, 150, 250, 500, 1000 μM .

As suspensões em K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de cada amostra foram obtidas conforme descrito no item anterior e alíquotas das mesmas foram utilizadas para determinação do N da biomassa microbiana.

Com o auxílio de uma pipeta automática retirou-se uma alíquota de 600 μL de cada extrato de amostra de solução padrão, a qual foi transferida para tubos de ensaio. Em seguida, acrescentaram-se a cada tubo de ensaio 1400 μL de tampão de ácido cítrico ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 5,0)

e, então, utilizou-se a capela, acrescentaram-se, lentamente 1000 μL de reagente de ninidrina, os quais foram totalmente misturados com o auxílio de um vortex.

Os tubos foram aquecidos até perto de 100°C em banho-maria, durante 20 minutos. Depois que os tubos com as soluções padrão e amostras foram resfriados até a temperatura ambiente, acrescentaram-se 4000 μL de etanol (95%), diluído em água 1:1 e procedeu-se a leitura da absorbância, no comprimento de onda 550 nm, em espectrofotômetro de microplacas.

Todos os resultados foram expressos em relação à massa de terra seca em estufa a 105°C durante 24 horas.

A concentração de nitrogênio da biomassa microbiana foi calculada por meio da equação da reta, através da regressão linear dos dados referentes à curva analítica padrão para amostras fumigadas e não fumigadas (Joergensen & Brookes, 1990). Os dados foram expressos em μg de N g^{-1} de terra seca.

3.3 Etapa III: Testes de toxicidade do plástico no solo sobre a qualidade de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC

Por apresentar maior liberação de CO_2 num período de 120 dias, somente o tratamento granulometria $0,007\text{ cm}^2$ foi submetido a análises de toxicidade.

As sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC foram fornecidas ao Laboratório de Sementes do Departamento de Produção Vegetal/ ESALQ/USP pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e foram cedidas para realização deste trabalho.

Para obtenção de resultados com o mínimo possível de erro experimental, todas as unidades experimentais foram colocadas dentro de um mesmo germinador. Para que isso fosse possível, somente os tratamentos 0, 50, 100, 200 e 250 mg de C 100g^{-1} solo foram submetidos aos testes de toxicidade. As análises que seguem foram baseadas na norma ASTM E 1963 – 02 (“Standart guide for conducting terrestrial plant toxicity tests”) e nas regras para análises de sementes (BRASIL, 1992).

3.3.1 Teste prévio de germinação

Esta análise foi realizada no intuito de verificar a viabilidade da semente de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC que seria utilizada para análises de toxicidade.

O teste foi conduzido com 200 sementes (quatro sub-amostras de 50 sementes) utilizando-se como substrato rolo de papel germitest, previamente umedecido com água destilada (na proporção 2,5 vezes o seu peso inicial). A temperatura do germinador foi de 25°C, com contagem no 7º e 14º dia após a instalação do teste, e os resultados foram expressos em porcentagem de germinação. O índice de velocidade de germinação (IVG) das plantas foi feito simultaneamente ao teste de germinação. Observações diárias foram realizadas a partir do dia em que a primeira plântula emergiu, contando-se diariamente o número de plântulas até que o número permanecesse constante. O IVG foi calculado pela fórmula 3 proposta por MAGUIRE (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{G_3}{N_3} + \dots + \frac{G_n}{N_n} \quad (3)$$

Sendo:

IVG = índice de velocidade de germinação;

G_1 , G_2 e G_n = número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem;

N_1 , N_2 e N_n = número de dias após a implantação do teste;

3.3.2 Teste de germinação

As sementes foram colocadas para germinar em caixa de acrílico nas dimensões 11,0 x 11,0 x 3,5 cm, contendo 150g de solo que havia recebido material com granulometria 0,007 cm² há 120 dias. Em cada caixa foram semeadas manualmente, 50 sementes. Após a semeadura o substrato foi umedecido com quantidade de água equivalente a 60% da capacidade de retenção do substrato. Para cada plástico, para cada dose e para cada amostra de solo, foram feitas três repetições.

A temperatura do germinador foi de 25°C, com contagem no 7º e 14º dia após a instalação do teste, e os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

3.3.3 Índice de velocidade de germinação (IVG)

O índice de velocidade de germinação das plantas foi feito simultaneamente ao teste de germinação. Observações diárias foram realizadas a partir do dia em que a primeira plântula

emergiu, contando-se diariamente o número de plântulas até que o número permanecesse constante. O IVG foi calculado pela fórmula 2 proposta por Maguire (1962).

3.3.4 Massa seca da parte aérea e massa seca da raiz

A coleta das plântulas ocorreu no 14º dia após a semeadura. O material colhido foi lavado e separado em: parte aérea, raízes e restos de sementes que foram descartados. A parte aérea e a raiz foram colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 70°C até peso constante, determinado-se a matéria seca e os resultados expressos em g planta⁻¹.

3.4 Análises Estatísticas

O delineamento experimental adotado neste trabalho foi do tipo inteiramente casualizado. Para a Etapa I o esquema fatorial foi (2 x 6 x 3 x 2), sendo dois plásticos distintos, seis doses, três granulometrias diferentes e duas amostras distintas de solo. Já, para a Etapas II e III o esquema fatorial apresentado foi (2 x 5 x 2), sendo dois plásticos distintos, cinco doses e duas amostras distintas de solo.

Na Etapa I deste trabalho, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey ajustado ao nível de significância, probabilidade 5%, utilizando o pacote estatístico SAS (SAS, 2003) verificando para cada solo o efeito de plástico, superfície e dose. Para as Etapas II e III, a análise da variância foi feita pelo mesmo teste e pacote estatístico da ETAPA I, porém, verificou-se, apenas, o efeito do plástico e dose. Modelos matemáticos de regressão foram testados também pelo pacote estatístico SAS (SAS, 2003), sendo escolhido aquele com maior coeficiente de determinação (R^2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da degradação do plástico

Através do ensaio de respirometria (Etapa I), conduzido durante 120 dias de incubação a 28 °C obteve-se a porcentagem de carbono dos plásticos convertido em CO₂ (Figuras 1 e 2) (Tabelas 6 e 7). Independentemente do tipo de solo e da dose de plástico incorporada, a mineralização da blenda PCL/A foi significativamente maior que a mineralização do polietileno que foi próxima a 0%. Mesmo quando se variava a dose ou a granulometria tanto no solo arenoso como no argiloso, a porcentagem de mineralização do carbono do polietileno não apresentou variação (Tukey $p < 0,05\%$).

Os valores máximos da porcentagem de mineralização do carbono contido no PCL/A observados foram de 57,98% e 52,04% em solo argiloso e arenoso respectivamente, em 90 dias (Figuras 1 e 2). Estes valores são menores do que os encontrados por Mariani (2005), (70,76% em 90 dias), e por Bastioli (1998), (97% em 60 dias), através de testes respirométricos. Porém, o valor da porcentagem de mineralização encontrado por Solaro et al (1998), citados por Franco et al (2004), em teste de PCL/A incorporado em solo, foi de 18% em 120 dias. Com exceção de Mariani (2005), os demais autores não apresentaram as condições gerais de temperatura de incubação, tipos de solo ou umidade. Portanto, fica difícil de comparar com resultados obtidos no presente trabalho.

Segundo Franco et al. (2004), Wu (2003) e Bastioli (1998), o amido é a substância responsável pelo início do processo de decomposição da blenda PCL/A e após sua biodegradação o processo de decomposição da blenda fica mais lento. Calmon et al. (1999) afirmam que a alta densidade do polietileno faz com que este material seja pouco biodegradável. Estes autores, em pesquisa semelhante à deste trabalho, testaram a biodegradabilidade do PCL/A e do polietileno em quatro diferentes solos, na França. Após dois anos de estudo a blenda PCL/A apresentou total biodegradação enquanto o polietileno não apresentou nenhum sinal de degradação.

Segundo a norma ASTM D6400, um material só pode ser considerado biodegradável quando atinge uma razão satisfatória de conversão do C em CO₂, em um período de 180 dias. Produtos compostos por mais de um polímero, como a blenda PCL/A, devem alcançar 90% de mineralização. Embora não tenha sido estendido o período de incubação até 180 dias, se fizermos uma extrapolação teórica (usando a equação de regressão da Figura 1) para este período, encontraremos um valor de até 90,23% na dose 50 mg C 100g⁻¹ solo e granulometria 0,007 cm².

Dentro deste raciocínio é possível afirmar que, neste estudo, foi confirmada a biodegradabilidade do PCL/A, assim como já havia sido verificado por Mariani (2005).

De fato, a maior parte dos trabalhos que estudam a biodegradação de PCL/A enterrado no solo avalia a biodegradação do plástico por perda de massa do material. Porém, Franco et al. (2004), Mariani (2005) e Calmon et al (1999) enfatizam que a análise por perda de peso não é a melhor metodologia para avaliar a biodegradação de um plástico, principalmente nos estádios mais tardios de decomposição, nos quais fragmentos dos filmes são perdidos no solo e no momento da lavagem. Além disso, microrganismos e sujeiras podem não ser removidos na etapa de limpeza do polímero. Estas dificuldades envolvidas na metodologia alteram o verdadeiro resultado, o que poderia talvez justificar a amplitude de resultados observados na literatura: 16% - 100% (KIM et al, 2000 e CALMON et al, 1999).

A quantidade de C-CO₂ acumulado até 120 dias aumentou em função da quantidade de PCL/A incorporada e da diminuição da granulometria, independentemente do tipo de solo, não prejudicando o processo respiratório em nenhuma das doses utilizadas (Tabelas 6 e 7), o que indica a contribuição da blenda na atividade microbiana.

A respirometria é considerada um dos melhores parâmetros para medir a atividade dos microrganismos no solo. Portanto, o aumento da liberação de C-CO₂ está refletindo o aumento da atividade e, provavelmente, o aumento da comunidade microbiana, à medida que se aumenta a dose de plástico.

Figura 1 - Média da % de carbono convertida em CO₂ para cada granulometria de plástico incorporada nas doses 50, 100, 150, 200 e 250 mg C do plástico 100g⁻¹ solo argiloso. Granulometria A = 0,007 cm²; granulometria B = 0,196 cm²; granulometria C = 19,5 cm². R² = coeficiente de determinação. *Significativo (p<0,05)

Figura 2 - Média da % de carbono convertida em CO₂ para cada granulometria de plástico incorporada nas doses 50, 100, 150, 200 e 250 mg C do plástico 100g⁻¹ solo arenoso. Granulometria A = 0,007 cm²; granulometria B = 0,196 cm²; granulometria C = 19,5 cm². R² = coeficiente de determinação. *Significativo (p<0,05)

Tabela 6 - Total de carbono adicionado via plástico, média de C-CO₂ liberado em 120 dias de incubação, média da fração mineralizada, segundo as granulometrias estudadas em solo argiloso

Plástico	Granulometria (cm ²)	C adicionado (mg C 100g ⁻¹ solo)	Média de C liberado (mg C-CO ₂ 100g ⁻¹ solo)	Média da Fração de Mineralização (%)
PCL/A	0,007	50	36,23 (±1,94)	72,47 (±3,89)
		100	45,36 (±3,12)	45,36 (±3,12)
		150	60,24 (±3,58)	40,16 (±2,39)
		200	79,81 (±1,12)	39,90 (±0,56)
		250	85,14 (±1,10)	34,05 (±0,44)
PCL/A	0,196	50	33,07 (±0,98)	66,14 (±1,96)
		100	39,53 (±0,61)	39,53 (±0,61)
		150	43,28 (±4,95)	28,85 (±3,30)
		200	58,61 (±5,80)	29,30 (±2,93)
		250	61,97 (±0,81)	24,78 (±0,32)
PCL/A	19,5	50	30,94 (±2,59)	61,89 (±5,19)
		100	33,81 (±3,64)	33,81 (±3,64)
		150	38,20 (±2,22)	25,47 (±1,48)
		200	46,19 (±3,73)	23,09 (±1,86)
		250	46,64 (±3,51)	18,65 (±1,40)
Polietileno	0,007	50	2,49 (±0,93)	4,99 (±1,86)
		100	4,98 (±0,19)	4,98 (±0,19)
		150	4,84 (±1,28)	3,23 (±0,85)
		200	3,71 (±1,90)	1,85 (±0,95)
		250	4,21 (±1,35)	1,68 (±0,54)
Polietileno	0,196	50	1,65 (±1,02)	3,31 (±2,05)
		100	2,62 (±1,45)	2,62 (±1,45)
		150	3,77 (±0,43)	2,51 (±0,28)
		200	3,19 (±1,98)	1,59 (±0,99)
		250	3,73 (±1,79)	1,49 (±0,71)
Polietileno	19,5	50	2,62 (±1,02)	5,25 (±2,04)
		100	1,58 (±0,66)	1,58 (±0,66)
		150	2,63 (±0,70)	1,75 (±0,47)
		200	3,56 (±0,27)	1,78 (±0,13)
		250	4,07 (±0,46)	1,63 (±0,18)

(±desvio padrão); *Fração de mineralização (%) = (C-liberado x 100)/C adicionado via plástico

Tabela 7 - Total de carbono adicionado via plástico, média de C-CO₂ liberado em 120 dias de incubação, média da fração mineralizada, segundo as granulometrias estudadas em solo arenoso

Plástico	Granulometria (cm ²)	C adicionado (mg C 100g ⁻¹ solo)	Média de C liberado (mg C-CO ₂ 100g ⁻¹ solo)	Média da Fração de Mineralização* (%)
PCL/A	0,007	50	30,23 (±2,16)	60,46 (±4,33)
		100	37,53 (±2,66)	37,53 (±2,66)
		150	49,55 (±3,59)	33,03 (±2,39)
		200	58,55 (±4,08)	29,27 (±2,04)
		250	60,80 (±3,18)	24,32 (±1,27)
PCL/A	0,196	50	28,42 (±2,28)	56,84 (±4,57)
		100	40,67 (±1,60)	40,67 (±1,60)
		150	44,68 (±0,94)	29,78 (±0,63)
		200	52,84 (±2,93)	22,53 (±1,46)
		250	56,33 (±5,48)	26,42 (±2,19)
PCL/A	19,5	50	25,89 (±1,19)	51,78 (±2,39)
		100	31,09 (±2,86)	31,09 (±2,86)
		150	33,12 (±2,36)	22,08 (±1,57)
		200	32,65 (±2,33)	16,32 (±1,16)
		250	32,83 (±1,64)	13,13 (±0,65)
Polietileno	0,007	50	0,97 (±0,86)	1,94 (±1,73)
		100	0,81 (±0,63)	0,81 (±0,63)
		150	0,39 (±0,60)	0,26 (±0,40)
		200	0,90 (±0,70)	0,45 (±0,35)
		250	2,04 (±0,42)	0,81 (±0,17)
Polietileno	0,196	50	1,57 (±0,81)	3,14 (±1,63)
		100	0,48 (±0,10)	0,48 (±0,10)
		150	0,64 (±0,29)	0,42 (±0,19)
		200	1,94 (±0,23)	0,97 (±0,11)
		250	1,02 (±0,68)	0,41 (±0,27)
Polietileno	19,5	50	1,16 (±0,55)	2,32 (±1,11)
		100	1,56 (±0,87)	1,56 (±0,87)
		150	1,10 (±0,19)	0,73 (±0,12)
		200	1,25 (±0,23)	0,62 (±0,11)
		250	1,58 (±0,10)	0,63 (±0,04)

(±desvio padrão); *Fração de mineralização (%) = (C-liberado x100)/C adicionado via plástico

As Figuras 1 e 2 e as Tabelas 6 e 7 apresentam a influência de diferentes granulometrias na degradação da blenda PCL/A. Independentemente do tipo de solo, a menor granulometria ($0,007 \text{ cm}^2$), ou seja, a maior superfície de contato plástico-solo, foi a que apresentou maior porcentagem de mineralização do carbono da blenda. Em solo arenoso a porcentagem de mineralização para as granulometrias $0,007$ e $0,196 \text{ cm}^2$ não diferiu (Tukey $p < 0,05$). Porém, ambas diferem da mineralização observada na maior granulometria ($19,5 \text{ cm}^2$).

Krazan et al (2006) relatam que o processo de biodegradação é influenciado por condições ambientais como temperatura, pH, teores de oxigênio do meio, além da relação C/N do material e da forma como este plástico é lançado ao ambiente. A decomposição pelos microrganismos do solo de um resíduo é determinada, também, pela quantidade do resíduo e a forma granulométrica como este está disposto no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002; ROSCOE et al., 2006).

Os microrganismos decompõem materiais de alto peso molecular, como a maioria dos polímeros, através da liberação de enzimas no ambiente e através da absorção direta e digestão intracelular dos monômeros produzidos. Sendo assim, quanto mais exposto (maior superfície de contato) estiver o material a ser biodegradado, mais rápida será a degradação pela ação da microbiota (KRAZAN et al, 2006).

Nos dois solos estudados o valor da porcentagem de biodegradação diminuiu com o aumento da dose. A diminuição na taxa percentual de degradação pode estar relacionada com o aumento do conteúdo orgânico adicionado, suplantando a capacidade de degradação dos microrganismos do solo. O mesmo comportamento foi observado em trabalhos da literatura com o uso de resíduos orgânicos em doses crescentes incorporados ao solo (MARTINES et al, 2006; PIRES et. al, 2002).

O material incorporado em solo argiloso apresentou a maior mineralização do C ($72,47\%$) do PCL/A para a dose $50 \text{ (mg C } 100\text{g}^{-1} \text{ solo)}$, em 120 dias. O mesmo ocorreu em solo arenoso ($60,46\%$), porém, neste solo o valor foi menor quando comparado ao primeiro. Grize et al (2005), Bechtold; Naiman (2006) correlacionam textura do solo e atividade microbiana. Segundo aqueles autores, solos com textura mais fina permitem que a biomassa microbiana prolifere pela proteção física, maior umidade e maior matéria orgânica.

A norma D5988–96 que determina a metodologia para análise da biodegradação aeróbica de plástico no solo, não especifica a textura do solo a escolher para teste de biodegradação

aeróbica do material plástico. O presente trabalho mostra que as frações minerais do solo interferem na porcentagem de mineralização do plástico em condições de laboratório. A maior parte dos trabalhos que estudam biodegradação do PCL/A em solo não especifica a textura do solo usado no experimento. Alguns autores nem mesmo falam em qual temperatura e umidade o plástico ficou incubado. Estas falhas percebidas no descrever das pesquisas feitas pode ser a causa da grande amplitude entre os resultados encontrados.

Discutindo a relação C/N, Oliveira et al. (1999) afirmam que os resíduos que apresentam teor de nitrogênio menor que 18 g kg^{-1} e relação C/N maior que 20, têm pequena taxa de mineralização. Kuzyakov et al. (2000) e Nascimento et al (2004) citam que a adição de N, principalmente na forma amoniacal, bem como de substâncias orgânicas facilmente biodegradáveis, aceleram a mineralização da matéria orgânica do solo (MOS), em função da redução da relação C/N da MOS. Nesse sentido, o PCL/A utilizado no presente estudo, por apresentar alta relação C/N (944,44/1,00), teve sua biodegradação limitada, provavelmente pela quantidade insuficiente de N, necessária para manutenção do metabolismo microbiano e continuação do consumo do resíduo orgânico pelos microrganismos do solo. Isto provavelmente é mais acentuado em solo arenoso.

Os resultados de Khalil et. al. (2005) indicam que os baixos teores de C e N do solo estudado influenciaram na mineralização do C adicionado via resíduo orgânico, reduzindo-a. A adição de diferentes substâncias orgânicas no solo não causa somente a aceleração da mineralização, mas também a redução ou a imobilização do N adicionado devido à incorporação de materiais orgânicos em solo deficiente em N (KUZYAKOV et al, 2000).

Como o objetivo da incorporação do PCL/A no solo é a degradação deste material orgânico no meio, todos os fatores que otimizam esta situação devem ser observados e corrigidos para que tal objetivo seja alcançado. A ação microbiana é fundamental para a decomposição de resíduos como o PCL/A. Portanto, para que esta decomposição ocorra em menor intervalo de tempo, a presença de condições adequadas à ação microbiana é imprescindível. Fica óbvio, então, que o adequado suprimento de N e P, além de acelerar o processo de transformação do material, poderá reduzir a competição pelo N.

4.2 Análises microbiológicas

Após 120 dias de incubação do plástico no solo, os resultados de liberação de C-CO₂ para o tratamento granulometria do plástico 0,007 cm² foram os maiores, devido à grande superfície de contato disponível ao ataque das enzimas microbianas. Sendo assim, somente aquele tratamento foi submetido às análises microbiológicas (Etapa II) e a de toxicidade em sementes e plântulas de arroz.

Tabela 8 - Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, avaliados após 120 dias de incubação do plástico, granulometria 0,007 cm², em solo argiloso

Plástico	Dose (mg C 100g-1 solo)	C-Biomassa (μg g ⁻¹ solo)	N - Biomassa (μg g ⁻¹ solo)
PCL/A	0	117,0 (±36,0)	7,54 (±1,17)
	50	124,0 (±42,0)	7,93 (±2,05)
	100	112,0 (±28,00)	8,92 (±1,21)
	200	120,0 (±41,0)	10,42 (±1,75)
	250	95,0 (±33,0)	9,62 (±0,70)
Polietileno	0	117,0 (±36,0)	7,54 (±1,17)
	50	73,0 (±54,0)	7,89 (±1,25)
	100	75,0 (±48,0)	8,14 (±0,67)
	200	68,0 (±15,0)	8,22 (±1,26)
	250	78,0 (±6,0)	8,43 (±1,55)

Tabela 9 - Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, avaliados após 120 dias de incubação do plástico, granulometria 0,007 cm², em solo arenoso

Plástico	Dose (mg C 100g-1 solo)	C-Biomassa (μg g ⁻¹ solo)	N - Biomassa (μg g ⁻¹ solo)
PCL/A	0	118,0 (±68,0)	0,96 (±0,05)
	50	74,0 (±33,0)	1,83 (±1,45)
	100	58,0 (±16,0)	2,02 (±1,86)
	200	112,0 (±39,0)	1,46 (±0,30)
	250	43,0 (±34,0)	1,11 (±0,55)
Polietileno	0	118,0 (±68,0)	0,95 (±0,05)
	50	79,0 (±53,0)	0,99 (±0,76)
	100	63,0 (±38,0)	1,51 (±1,40)
	200	64,0 (±29,0)	1,63 (±0,03)
	250	28,0 (±24,0)	2,27 (±1,98)

Partiu-se da hipótese que a presença de maior quantidade de material orgânico biodegradável estimularia o aumento e a atividade da microbiota do solo. Segundo Mercante (2004), diversos estudos demonstram que a quantidade e a qualidade dos resíduos no solo provocam alterações na composição da comunidade microbiana influenciando a sua taxa de decomposição. Aumento na atividade já foi demonstrado durante a biodegradação dos

compostos. Entretanto, não foi possível observar crescimento numérico no carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (Tabelas 8 e 9), talvez pelo fato de que a blenda PCL/A, embora podendo ser considerada biodegradável, é de decomposição extremamente lenta, quando se compara a sua cinética de mineralização com a de compostos simples de origem biótica, por exemplo, açúcares e proteínas.

4.3 Avaliação da toxicidade do plástico no solo em sementes e plântulas de arroz

Assim como no item anterior, somente o plástico de 0,007 cm² foi usado para análise de toxicidade do plástico, em sementes e plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC (Etapa III). Os testes de toxicidade do plástico no solo em sementes e plântulas foram conduzidos de acordo com a norma E 1963–02.

No intuito de verificar a viabilidade da semente de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC que seria usado na análise de toxicidade foi feito o teste prévio de germinação e, como resultado deste teste obteve-se 96,666% de germinação e IVG de 9,923 para (*Oryza sativa* L.) cultivar 202 IAC. As sementes foram consideradas sadias e normais segundo Brasil (1992) e foram, então, utilizadas para os demais testes.

A norma E 1963–02 considera os resultados de porcentagem de germinação para o arroz (*Oryza sativa* L.) aceitáveis, se as plântulas do tratamento testemunha não apresentarem anormalidades e apresentarem, no mínimo, 80% de germinação. Segundo a mesma norma, se a diferença percentual entre o número de plântulas emergidas do tratamento e do controle for menor que 10%, então o efeito do tratamento não é considerado biologicamente relevante.

Independentemente do tipo de solo, plástico e dose deste material, a porcentagem de plântulas de arroz emergidas não foi afetada quando se compara os tratamentos com o controle (dose 0 mg C 100g⁻¹ solo) (Tabelas 10 e 11). A diferença percentual em relação às plântulas do tratamento controle e as plântulas que cresceram em substrato contendo plástico foi menor que 10%, tanto para o solo arenoso quanto para o solo argiloso e independente da dose de plástico utilizada. Isto prova, segundo a norma E 1963 – 02 que a emergência das plântulas de arroz não foi afetada pela adição de plástico ao substrato.

Tabela 10 - Média da porcentagem de germinação de plântulas de arroz em solo argiloso e porcentagem média do efeito de tratamento em relação a testemunha

Plástico	C adicionado (mg C 100g ⁻¹ solo)	Média da % Germinação	% média do efeito de tratamento em relação à controle
Controle	0	96,00 (±5,29)	-----
	50	94,66 (±2,30)	-1,38 (±2,40)
	100	93,33 (±1,15)	-2,77 (±1,20)
PCL/A	200	96,00 (±4,00)	0,00 (±4,16)
	250	93,33 (±4,61)	-2,77 (±4,81)
Polietileno	0	96,00 (±5,29)	-----
	50	99,33 (±1,15)	3,47 (±1,20)
	100	98,00 (±2,00)	2,08 (±2,08)
	200	97,33 (±2,30)	1,38 (±2,40)
	250	93,33 (±3,05)	- 2,77 (±3,18)

Média (±desvio padrão). *% efeito=(n°. de plântulas controle - n°. de plântulas tratamento) x 100/ n°. de plântulas controle

Tabela 11 - Média da porcentagem de germinação de plântulas de arroz em solo arenoso e porcentagem média do efeito de tratamento em relação a testemunha

Plástico	C adicionado (mg C 100g ⁻¹ solo)	Média da % Germinação	% média do efeito de tratamento em relação à controle*
Controle	0	95,33 (±1,15)	-----
	50	94,66 (±1,15)	- 0,69 (±1,21)
	100	97,33 (±4,61)	2,09 (±4,84)
PCL/A	200	96,00 (±4,00)	0,69 (±4,19)
	250	95,33 (±3,05)	0,00 (±3,20)
Controle	0	95,33 (±1,15)	-----
	50	97,33 (±4,61)	2,09 (±4,84)
	100	98,00 (±0,00)	2,79 (±0,00)
Polietileno	200	98,00 (±3,46)	2,79 (±3,63)
	250	95,33 (±4,16)	0,00 (±4,36)

Média (±desvio padrão). *% efeito=(n°. de plântulas controle - n°. de plântulas tratamento) x 100/ n°. de plântulas controle.

A massa seca da parte aérea e da raiz (coletadas aos 14 dias após instalação do experimento), assim como o índice de velocidade de germinação (IVG) não foram afetados pelo tipo e doses de plástico incorporado, independentemente do tipo de solo (Tabelas 12 e 13).

Tabela 12 Índice de velocidade de germinação e massa seca da parte aérea e da raiz coletadas aos 14 dias após instalação do experimento em solo argiloso

Plástico	Dose (mg C 100g ⁻¹ solo)	Massa Seca Parte Aérea (g ⁻¹ planta)	Massa Seca raiz (g ⁻¹ planta)	IVG
PCL/A	0	0,0060(±0,0006)	0,0126 (±0,0006)	11,69 (±0,64)
	50	0,0058(±0,0004)	0,0124 (±0,0002)	11,35 (±0,21)
	100	0,0056(±0,0003)	0,0121 (±0,0003)	10,98 (±0,11)
	200	0,0054(±0,0001)	0,0124 (±0,0002)	11,53 (±0,66)
	250	0,0053(±0,0001)	0,0123 (±0,0002)	11,00 (±0,85)
Polietileno	0	0,0060(±0,0006)	0,0126 (±0,0006)	11,69 (±0,64)
	50	0,0053(±0,0005)	0,0123 (±0,0001)	11,54 (±0,83)
	100	0,0059(±0,0002)	0,0121 (±0,0001)	11,51 (±0,29)
	200	0,0058(±0,0001)	0,0126 (±0,0004)	11,79 (±0,40)
	250	0,0060(±0,0009)	0,0125 (±0,0003)	10,35 (±1,43)

Tabela - 13 Índice de velocidade de germinação e massa seca da parte aérea e da raiz coletadas aos 14 dias após instalação do experimento em solo arenoso

Plástico	Dose (mg C 100g ⁻¹ solo)	Massa Seca Parte Aérea (g ⁻¹ planta)	Massa Seca raiz (g ⁻¹ planta)	IVG
PCL/A	0	0,0055 (±0,0000)	0,0128 (±0,0001)	10,90 (±0,07)
	50	0,0053 (±0,0005)	0,0130 (±0,0001)	11,29 (±0,26)
	100	0,0049 (±0,0019)	0,0129 (±0,0001)	11,17 (±0,39)
	200	0,0049 (±0,0011)	0,0130 (±0,0012)	11,20 (±0,31)
	250	0,0052 (±0,0015)	0,0131 (±0,0002)	11,24 (±0,48)
Polietileno	0	0,0055 (±0,0000)	0,0128 (±0,0001)	10,90(±0,07)
	50	0,0049 (±0,0002)	0,0128 (±0,0003)	10,90 (±0,70)
	100	0,0056 (±0,0019)	0,0131 (±0,0002)	11,42 (±0,31)
	200	0,0054 (±0,0011)	0,0130 (±0,0001)	10,76 (±1,40)
	250	0,0052 (±0,0002)	0,0129 (±0,0004)	11,13 (±0,75)

Segundo Marcos Filho (2005) e Lucena et. al (2005), a plântula germina utilizando reservas contidas no endosperma ou no tecido cotiledonar. Embora ocorra absorção de nutrientes do solo após a emissão da raiz primária, a utilização de nutrientes embrionários pode perdurar até a fase em que a planta adquire eficiência fotossintética para se tornar autotrófica. Isto, geralmente, ocorre após vinte ou trinta dias após a emergência das plântulas.

Lucena et. al (2005) confirmaram a hipótese de que até o estágio plântula o substrato serve exclusivamente para o suporte. Partindo desta afirmação, estudos para o teste da toxicidade do plástico no solo em plantas deverão ir além do estágio plântula. O vegetal fotossinteticamente

ativo e com sistema radicular desenvolvido irá absorver as substâncias que se encontram na solução do solo. Sendo assim, se houver algum elemento tóxico à planta esta poderá apresentar os sintomas de toxicidade ao elemento.

5 CONCLUSÕES

1. A blenda PCL/A pode ser considerada um material biodegradável segundo a norma ASTM D6400.
2. Confirmou-se mais uma vez que o polietileno é um material quase não biodegradável sendo que as doses de disposição no solo e suas granulometrias não afetam a mineralização.
3. O aumento do C incorporado ao solo na forma de blenda PCL/A leva a um aumento na liberação de CO₂.
4. Doses crescentes de PCL/A incorporadas ao solo resultam na redução da porcentagem de carbono mineralizado.
5. O tamanho das partículas é fator importante na cinética de degradação, quanto maior a superfície de contato da blenda, maior a velocidade de degradação.
6. A textura do solo é um fator que afeta a mineralização de plásticos: a degradação é acelerada em solos argilosos, quando comparada com a de solos arenosos.
7. A adição do PCL/A e do polietileno no solo não provocou alterações no carbono e nitrogênio da biomassa microbiana.
8. Não existe efeito de toxicidade do plástico em sementes e plântulas de arroz, quando incorporado no solo, segundo norma E-1963-02.
9. Foi demonstrado que todas as normas utilizadas neste trabalho deveriam ser revistas, a fim de torná-las mais completas, fixando as condições edafo-climáticas e períodos de exposição (para testes de ecotoxicologia), assim permitindo a confiabilidade e repetibilidade dos resultados obtidos.
10. A substituição do polietileno por PCL/A, ao menos para plásticos utilizados como embalagens, contribuirá muito para a diminuição da poluição do solo causada por estes materiais.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. Methods of soil analyses – p.2^{pt2} - **Chemical and microbiological properties**, Wisconsin: Madison, 1982.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Standard Guide for Conducting Terrestrial Plant Toxicity Tests**, E 1663 - 02, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Standard Specification for Compostable Plastics**, D 6400 - 99^{e1}, 2002

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting**, D 5988-96, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Resíduos Sólidos - Classificação**. Rio de Janeiro: ABNT, 1987 a. (NBR – 10004)

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Amostragem de resíduos - Procedimento**. Rio de Janeiro: ABNT, 1987 a. (NBR – 10007)

BASTIOLLI, C. Properties and applications of Mater-Bi starch-based materials. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 59, p 263 – 272, 1998

BARATA, T. S. **Caracterização do consumo de arroz no Brasil**: um estudo na região metropolitana de Porto Alegre. 2005. 93p. Dissertação(Mestrado em Agronegócios) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

BARETTA, D.; SANTOS, J. C. P.; FIGUEIREDO, S. R.; KLAUBERG-FILHO, O. Efeito do monocultivo de pinus e da queima no campo nativo em atributos biológicos do solo no planalto sul catarinense. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Viçosa, v.29, p.715-724, 2005.

BECHTOLD, J. S.; NAIMAN, R. J. Soil texture and nitrogen mineralization potential across a riparian toposequence in a semi-arid savanna. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 38, p.1325 – 1333, 2006.

BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.360.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/ DNDV/ CLAV, 1992. 365p.

BRASIL MINISTÉRIO DO INTERIOR. **Diretrizes Nacionais de Limpeza Urbana: 1ª Fase – Formulação do Programa**. Rio de Janeiro: Sema/ CNDU/ Abes, 1983. 808 p.

BROOKES, P. C. The use microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metal. **Biology and fertility of Soils**, Oxford, v. 19, p. 269 – 279, 1995.

BRUCE, J. H. Urban waste management: past, present and future perspectives. In: ISWA (Ed.) International Directory of Solid Waste Management - 1994/5. The ISWA Yearbook. London: James & James Science Publishers, 1995.

BUCCI, D. Z. **Avaliação de embalagens de PHB (poli (ácido 3 - hidróxibutírico)) para alimentos**. 2003. 146 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Santa Catarina, 2003.

BUCKMAN, H.O.; BRADY, N.C. **Natureza e propriedades do solo**, 6 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1983. 647p.

CAFEBANDEIRA. **História do Plástico** . [on line]. Disponível em <<http://www.cafebandeira.com.br/histplast.htm>> Acesso em: 21 nov. 2006.

CALMON, A.; GUILLAUME, S.; BELLON-MAUREL, V.; FEUILLOLEY, P. SILVESTRE, F. Evalution of material biodegradability in real conditions-development of burial test and an analysis methodology based on numerical vision. **Journal of Environmental Polymer Degradation**, Heidelberg, v.7, n.3, p. 157 – 166, 1999.

CARDOSO, E. J. B. N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 360.

CARVALHO, B. A. **Ecologia aplicada ao saneamento ambiental**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1980. p. 266.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; MARIA, L. C. de S. Polietileno: Principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 13, n.1, p.1-13, 2003.

D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do Estado de Goiás. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Viçosa, n.26, p. 913-923, 2002.

DICK, R. P.; BREAKWELL, D.P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J., (Ed.) **Methods for assesseng soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 247-272. (SSSA Special Publication, 49)

DENG, R.; CHEN, Y.; CHEN, P.; ZHANG, L.; LIAO, B. Properties and biodegradability of water-resistant soy protein/ poly (ϵ - caprolactone)/ toluene - 2,4 - diisocyanate composites. **Polymer Degradation and Stability**. Oxford, n.91, p.2189-2197, 2006.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A., (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p 3-21. (SSSA Special Publication, 35)

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília; Rio de Janeiro, 1999. 412 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos e análise de solo**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisas de Solos, 1997. 212 p. (EMBRAPA - CNPS. Documento, 1).

FIALHO, J. S.; GOMES, V. F. F.; SILVA JUNIOR, J. M. T. da. Biomassa microbiana em solo sob cultivo de rotação na Chapada do Apodi - CE. **CAATINGA**, Mossoró, v.18, p.251-260, out./dez. 2005

FRANCO, C. R. di; CYRAS, V. P.; BUSALMEN, J. P.; RUSECKAITE, R. A.; VÁZQUEZ, A. Degradation of polycaprolactone/ starch blends and composites with sisal fibre. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 86, p. 95 – 103, 2004.

GILLER, K. E.; WITTER, E.; McGRATH, S.P. Toxicity of Heavy Metals to Microorganisms and Microbial Process in Agriculture Soils: A Review. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.30, p. 1389 – 1414, 1998.

GORNI, A. A. Aproveitamento de plástico pós-consumo na forma de combustível para altos-fornos e coquearias. **Revista Plástico Industrial**, São Paulo, v.8, n.89, p.84 – 100, 2006.

GRYZE, S. de; SIX, J.; BRITS, C.; MERCKX, R. A quantification of short-term macro aggregate dynamics: influences of wheat residue input and texture. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p.55 – 56, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa nacional de saneamento básico 2000. [on line]. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 16 jan. 2007.

JOERGENSEN, R. G.; BROOKS, P. C.; JENKINSON, D. S. Survival of the microbial biomass at elevated temperatures. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v.22, n.8, p.1129-1136, 1990.

KHALIL, M. I.; HOSSAIN, M. B.; SCHMIDHALTER, U.; Carbon and nitrogen mineralization in different upland soils of tropics treated with organic materials. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 1507 – 1518, 2005

KIM, M. – N.; LEE, A. – R.; YOON, J. – S.; CHIN, I. – J. Biodegradation of poly (3 – hydroxybutyrate), Sky-Green[®] and Mater-Bi[®] by fungi isolated from soils. **European Polymer Journal**, Oxford, v.36, p. 1677 – 1685, 2000.

KLOSS, J.; BUGAY, C.; AKCELRUD, L.; ZAWADZKI, S. F. Correlação entre propriedades mecânicas e parâmetros estruturais de polímeros à base de poli (ε – caprolactona). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. São Carlos, v. 15, n.1, p.1-5, 2005.

KRAZAN, A.; HEMJINDA, S.; MIERTUS, S.; CORTI, A.; CHIELLINI, E. Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 91, p. 2819 – 2833, 2006.

KUZYAKOV, Y.; FRIEDEL, J. K.; STAHR, K.; Review of mechanisms and quantification of priming effects. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.32, p. 1485 – 1498, 2000.

LONGO, R. M.; **Modificações em parâmetros físicos e químicos de Latossolo argilosos decorrentes da substituição da floresta amazônica e do cerrado por pastagem**. 1999. 100p. Tese (Doutorado em Água e Solo), - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

LUCENA, A. M. A. de; ALMEIDA, F. de A. C.; COSTA, F. X.; GUERRA, H. O. C. Emprego de substratos irrigados com água de abastecimento e residuária na propagação do *flamboyant*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.6, n1, p.115 – 121. 2006.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2 p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARIANI, P. D. S. C. **Estudo da biodegradação da blenda poli (ϵ - caprolactona) e amido de milho modificado em meios sólidos e líquido**. 2005. 77p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Polímeros) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.

MARTINES, M. A.; ANDRADE, C. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; Mineralização do carbono orgânico em solos tratados com lodo de curtiúme. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.7, p.1149 – 1155, jul. 2006.

MERCANTE, M. F. **Alterações na biomassa microbiana do solo em cultivos de mandioca sob diferentes coberturas vegetais**. Dourados: EMBRAPA Agropecuária oeste, 2004. 25p.

MORAES, D. M. de; ABREU, C. M; MELO, P. T. B. S; LIMA, A. A.; RODRIGUES, R. R.; DUARTE, G. L. Sensibilidade de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a poluentes químicos originários da atividade humana. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.24, n.2, p.38-42, 2002.

MOREIRA, F. M. de S; SIQUEIRA, O. J. **Microbiologia e bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, O. J. **Microbiologia e bioquímica do Solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626 p.

NASCIMENTO, C. W. A., BARROS, D. A. S., MELO, E. E. C. Soil chemical alterations and growth of maize and bean plants after sewage sludge application. **Revista Brasileira Ciência Solo**. Viçosa, v.28, n.2, p.385-392, 2004

NEVES, M. C. P. Como os microrganismos do solo obtêm energia e nutrientes. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. 360 p.

OHTAKI, A.; SATO, N.; NAKASAKI, K. Biodegradation of poly – ϵ – caprolactone under controlled composting conditions. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 61, p.499-505, 1998.

OLIVEIRA, M. W, de, TRIVELIN, P. C. O., GAVA, G. J. de C. Sugarcane trash degradation. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v.56, n.4, p. 803 – 809, 1999.

PIRES, A. M. M.; ANDRADE, C. A.; MATTIAZZO, M. E. Degradação da carga orgânica, condutividade elétrica e pH de um Latossolo tratado com biossólido incorporado ou em superfície. In **FERTBIO2002**, 2002, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro:UFRRJ, 2002.

PLASTIVIDA. **Vantagens de uso do plástico**. [on line]. Disponível em <http://www.plastivida.org.br/os_plasticos/vantagensdeuso.htm> Acesso em: 23 nov. 2006.

PONTES, W. L. **Mineralização de um biossólido industrial no solo e efeito desse na biomassa e a atividade microbiana**. 2002. 74p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

PORTUGAL, G. **Poluição do solo**. [on line]. Disponível em <<http://www.gpca.com.br/poluicao3.htm>> Acesso em: 21 nov. 2006.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C. de; CANTARELLA, H.; QUAGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

RICE, C. W.; MOORMAN, T. B.; BEARE, M. Role of microbial biomass carbon and nitrogen in soil quality. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J., (Ed.) Methods for assessing soil quality. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.203-215. (SSSA Special Publication, 49)

ROSA, D. S.; CHUI, Q. S. H.; FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da biodegradação de poli – β – (hidroxibutirato), poli – β – (hidroxibutirato – co-valerato) e poli – ϵ – (caprolactona) em solo compostado. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v.12, n.4, p. 311 – 317, 2002.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; MENDES, L. de C.; JÚNIOR, F. B. dos R.; SANTOS, J. C. F. dos; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; SALTON, J. C. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas** - Modelagem matemática e métodos auxiliares. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. 304p.

SAVENKOVA, L.; GERBERGA, Z.; NIKOLAEVA, V.; DZENE, A.; BIBERS, I.; KALNIN, M. Mechanical properties and biodegradation characteristics of PHB-based films. **Process Biochemistry**, Letônia, n.35, p.573-579, 2000.

SILVA, F. L. da. **Análise competitiva do segmento de produção de arroz irrigado da cadeia agroindustrial do arroz no Rio Grande do Sul**. 2004. 101 p. Juiz de Fora., Monografia (MBA) - Universidade Federal de Juiz de Fora, 2004.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA, R. M. de. **Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde: uma visão multidisciplinar: Impacto Ambiental dos Grandes Depósitos de Resíduos Urbanos e Industriais**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. 142p.

SHIMAO, M. Biodegradation of plastics. **Current Opinion in Biotechnology**. Tottori, n.12, p.242-247, 2001.

SOFTWARE STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. Procedures guides. Version 6. Cary [Estados Unidos]: SAS by SAS INSTITUTE –Inc. Cary, NC, USA. 2002/ 2003.

SOMANI, L. L. Nitrogen mineralization under the influence of decomposing organic materials in some soils of Rajasthan. **Agronomia Lusitana**, Lisboa, v, 43, p. 39-48, 1988.

VANCE, E. D.; BROOKS, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, p. 703-707, 1987.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por métodos de fumigação. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, n.22, p.411-417, 1998.

VOGELSAGER JR, N.; FURLAN, S.A.; SCHNEIDER, A. L. S.; PIRES; A. T. N; PEZZIN, S.H.; PEZZIN, A.P.T. Filmes de P(3HB) e PCL: acompanhamento da biodegradação em solo por propriedades térmicas e morfológicas. **Revista Matéria**, Ilha do Fundão, v.9, n.4, 370 – 377, 2004.

WU, C.-S. Physical properties and biodegradability of maleated-polycaprolactone/ starch composite. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 80, p. 127 – 134, 2003.