

**RELATÓRIO TÉCNICO**  
**170 250-205**  
RGJ COMERCIAL, IMPORTAÇÃO  
E EXPORTAÇÃO EIRELI

**TESTE DE BIODEGRADABILIDADE IMEDIATA,  
MEDIDA PELO DESPRENDIMENTO DE DIÓXIDO DE CARBONO  
EM SISTEMA ABERTO (OECD 301B)**

**CLIENTE**  
RGJ COMERCIAL, IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO EIRELI

**UNIDADE RESPONSÁVEL**  
BIONANOMANUFATURA - Bionano  
Laboratório de Biotecnologia Industrial - LBI

## RESUMO

Foi avaliada a biodegradabilidade de uma cola líquida, utilizando o “Teste de biodegradabilidade imediata, medida pelo desprendimento de dióxido de carbono em sistema aberto”, baseado nas especificações do guia “OECD Guideline for Testing of Chemicals (item 301B, 1992)” e no Manual de Testes para Avaliação da Ecotoxicidade de Agentes Químicos do IBAMA (1991). O material, identificado pelo cliente como “Polímero super absorvente” e cadastrado no Laboratório de Biotecnologia Industrial como LBI 145-23, atingiu o valor médio de **68,3%** de desprendimento de CO<sub>2</sub> ao final dos 28 dias de ensaio. Logo, o material avaliado foi considerado como “biodegradável”, por ter atingido o valor mínimo de 60% de desprendimento de CO<sub>2</sub> dentro do intervalo de 28 dias e sob as condições utilizadas no ensaio. Dado que na condição de controle de inibição a liberação de CO<sub>2</sub> foi superior a 25 % com 14 dias do teste, o material foi considerado como não inibitório para a microbiota utilizada no ensaio.

## PALAVRAS-CHAVE

Biodegradabilidade; OECD 301B; Desprendimento de dióxido de carbono.

## SUMÁRIO

	P.
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVO.....	2
3 MATERIAL.....	2
4 METODOLOGIA .....	2
4.1 Execução do Ensaio.....	2
4.2 Validação e interpretação do ensaio .....	4
5 RESULTADOS .....	4
6 DISCUSSÃO .....	8
7 INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES.....	9
8 CONCLUSÃO.....	9
9 EQUIPE TÉCNICA .....	10
<b>ANEXO A</b> .....	<b>11</b>

## LISTA DE FIGURAS

	P.
<b>Figura 1</b> – Desenho esquemático do sistema utilizado para avaliação da biodegradabilidade .....	3
<b>Figura 2</b> – Perfil de biodegradação, expresso em porcentagem (valores médios), observado para o material “Polímero super absorvente ” (LBI 145-23).....	7

## LISTA DE QUADROS

	P.
<b>Quadro 1</b> – Descrição do item recebido .....	2
<b>Quadro 2</b> – Condições do experimento para avaliação da biodegradabilidade no material.....	4

## LISTA DE TABELAS

	P.
<b>Tabela 1</b> – Resultado da análise de teor de carbono no material LBI 145-23.....	5
<b>Tabela 2</b> – Contagem de Inoculo preparado para o ensaio conduzido no material LBI 145-23. ....	5
<b>Tabela 3</b> – Valores de CO <sub>2</sub> acumulado (mg), despreendido ao longo do tempo de incubação para o material LBI 145-23.....	6
<b>Tabela 4</b> – Degradação observada nas diferentes condições do ensaio para o material LBI 145-23, determinada como percentual de CO <sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos.....	8
<b>Tabela 5</b> – Média dos valores obtidos para a biodegradação nas diferentes condições do ensaio, determinada como percentual de CO <sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos. Ensaio do material LBI 145-23.....	8
<b>Tabela 6</b> – Biodegradação observada nas diferentes condições do ensaio para o material LBI 145-23, determinada como percentual de CO <sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos. Resultados consolidados ao final de 28 dias (valor médio ± desvio padrão). ....	8

## RELATÓRIO TÉCNICO Nº 170 250-205

### TESTE DE BIODEGRADABILIDADE IMEDIATA PELA MEDIDA DE DIÓXIDO DE CARBONO DESPRENDIDO EM SISTEMA ABERTO (OECD 301B)

#### 1 INTRODUÇÃO

O Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, do qual faz parte o Laboratório de Biotecnologia Industrial, trabalha em conformidade com o Sistema de Gestão da Qualidade (NBR ISO 9001:2015), certificado pela Fundação Carlos Alberto Vanzolini.

Conforme solicitação do cliente de 22/05/2023, atendida mediante emissão do orçamento FIPT 4639/23 (24/05/2023), com aprovação via pedido de compra nº 31669 enviado em 25/05/2023 (atualizado em 15/06/2023), o Laboratório de Biotecnologia Industrial avaliou uma amostra de polímero absorvente quanto à sua biodegradabilidade imediata.

Biodegradabilidade imediata é a propriedade de uma substância orgânica ser metabolizada, isto é, consumida por microrganismos naturais do meio ambiente, e avaliada sob condições que sejam similares, tanto quanto possível, às do ambiente. Neste meio, as oportunidades de ocorrer seleção e adaptação microbiana devem ser limitadas. As substâncias poderão apresentar resultados classificados em “prontamente biodegradável”, “biodegradável” ou somente “não prontamente biodegradável”, segundo as especificações do Guia OECD 301, Teste B (1992). As substâncias classificadas em prontamente biodegradáveis ou biodegradáveis frente a este teste serão degradadas de maneira mais rápida e mais completa no ambiente.

## 2 OBJETIVO

Avaliar a biodegradabilidade imediata apresentada pelo material do cliente submetido à condição pré-estabelecida pela metodologia orientada pelo Guia OECD 301, considerando a medida do desprendimento de Gás Carbônico em sistema aberto com aeração (Teste B).

## 3 MATERIAL

O material recebido no Laboratório de Biotecnologia Industrial (LBI) foi designado pelo cliente, descrito e identificado conforme apresentado no **Quadro 1**.

Designação do item pelo cliente	Descrição do item recebido	Data de recebimento	Identificação do item no LBI Nº
Polímero superabsorvente (Lote 9223)	1 frasco com 200g de material granulado de cor bege	30/05/2023	145-23

**Quadro 1** - Descrição do item recebido.

Uma amostra do material foi encaminhada para realização de análise de teor de carbono no Laboratório de Bioenergia e Eficiência Energética (LBE) do IPT, com a emissão de um laudo analítico com o resultado obtido, informando a porcentagem do elemento Carbono presente no material (conforme Anexo A). Com este resultado disponível, iniciou-se a avaliação de biodegradabilidade no material.

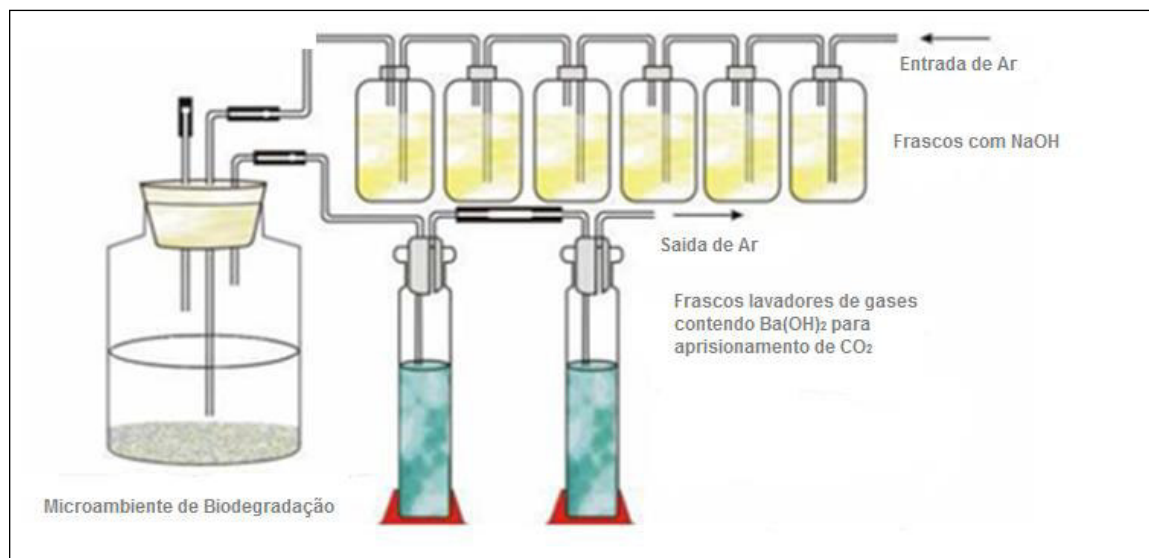
## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Execução do Ensaio

Foi empregado o “Teste de biodegradabilidade imediata de substâncias orgânicas hidrossolúveis ou pouco hidrossolúveis, porém não voláteis, pela medida do dióxido de carbono desprendido em sistema aberto (evolução de CO<sub>2</sub>)”, baseado nas



especificações do guia “OECD Guideline for Testing of Chemicals (item 301, teste B, 1992)” e no Manual de Testes para Avaliação da Ecotoxicidade de Agentes Químicos do IBAMA (1991). A **Figura 1** apresenta um desenho esquemático do sistema utilizado para avaliação da biodegradabilidade.



**Figura 1** – Desenho esquemático do sistema utilizado para avaliação da biodegradabilidade.

De acordo com o método proposto, foram preparadas 4 condições de ensaio, em duas réplicas. Massas conhecidas da amostra e/ou do padrão biodegradável, a depender da condição, foram colocadas em frascos com solução nutriente. Inoculou-se cada frasco com uma concentração padronizada de microrganismos oriundos da mistura de solo e água. Todos os frascos foram incubados a  $23\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ . A qualidade do ar utilizado para aeração do processo foi controlada para eliminar a presença de  $\text{CO}_2$ . Na saída de ar do sistema, foram instalados frascos lavadores de gases contendo solução de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  para o aprisionamento do  $\text{CO}_2$  produzido e desprendido ao longo do tempo.

O  $\text{CO}_2$  reage com a base resultando em carbonato de bário e água. As determinações de  $\text{CO}_2$  foram realizadas indiretamente, por titulometria da base restante. O **Quadro 2** apresenta as condições utilizadas no ensaio.

Condição	Conteúdo
1 - Branco (controle negativo)	Solução de sais e inóculo microbiano.
2 - Padrão biodegradável (controle positivo)	Solução de sais, glicose e inóculo microbiano.
<b>3 - Teste</b>	<b>Material Teste, solução de sais e inóculo microbiano.</b>
4 - Controle de inibição (Material teste + padrão biodegradável)	Material teste, solução de sais, glicose e inóculo microbiano.

**Quadro 2** - Condições do experimento para avaliação da biodegradabilidade no material.

## 4.2 Validação e interpretação do ensaio

O material em teste será classificado como “prontamente biodegradável” quando atingir **60%** de biodegradação (baseado no total de dióxido de carbono teórico - ThCO<sub>2</sub>) em um intervalo de **10 dias**, contados a partir do dia em que se observar 10% de biodegradação. No entanto, se o critério da janela de 10 dias não for alcançado, mas houver degradação maior que 60% em até 28 dias, o material poderá ser considerado apenas como “biodegradável”. Para valores de degradação abaixo de 60%, o material será considerado “não prontamente biodegradável”.

Adicionalmente, o material em teste será considerado inibitório quando a porcentagem de biodegradação obtida em 14 dias de teste for menor que 25% no controle de inibição.

## 5 RESULTADOS

O resultado da análise de teor de carbono está apresentado na **Tabela 1**, sendo a porcentagem de carbono considerada para os cálculos do teste de biodegradabilidade.

**Tabela 1** – Resultado da análise de teor de carbono no material LBI 145-23.

Componente	Composição (%)
Carbono	37,0

**Fonte:** Relatório de Ensaio nº 1 140 771-203, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 13/06/2023.

O inóculo microbiano utilizado no ensaio foi avaliado quanto à respectiva concentração de microrganismos, sendo os resultados de contagem apresentados na **Tabela 2**.

**Tabela 2** – Contagem de Inoculo preparado para o ensaio conduzido no material LBI 145-23.

Contagem do inoculo (Valor médio - triplicata)			
Ordem de grandeza da Diluição Decimal Seriada	UFC/ml (24h)	UFC/ml (48h)	UFC/ml (72h)
100x	Incontáveis	Incontáveis	Incontáveis
1000x	1,2 x 10 <sup>5</sup>	Incontáveis	Incontáveis
10000x	1,6 x 10 <sup>5</sup>	Incontáveis	Incontáveis

Os valores em miligramas de CO<sub>2</sub>, desprendidos de cada ambiente de teste ao longo do tempo de incubação, são apresentados na **Tabela 3**.

**Tabela 3** – Valores de CO<sub>2</sub> acumulado (mg), desprendido ao longo do tempo de incubação para o material LBI 145-23 (continua).

Tempo (dias)	Condição 2 Padrão biodegradável (mg CO <sub>2</sub> )		Condição 3 Teste (mg CO <sub>2</sub> )		Condição 4 Controle de inibição (mg CO <sub>2</sub> )	
	A	B	A	B	A	B
1	23,4	10,7	0,0	0,5	18,3	32,7
2	82,5	79,0	2,6	5,0	87,2	98,4
3	95,1	96,1	7,9	14,3	103,7	113,2
6	108,7	119,4	15,3	22,8	125,9	134,0
8	127,5	139,6	26,9	44,2	133,3	174,5
10	161,4	178,4	60,9	99,4	144,2	195,0
13	172,0	192,0	74,9	103,5	160,7	211,5
16	181,0	203,7	86,5	116,4	176,8	52,9

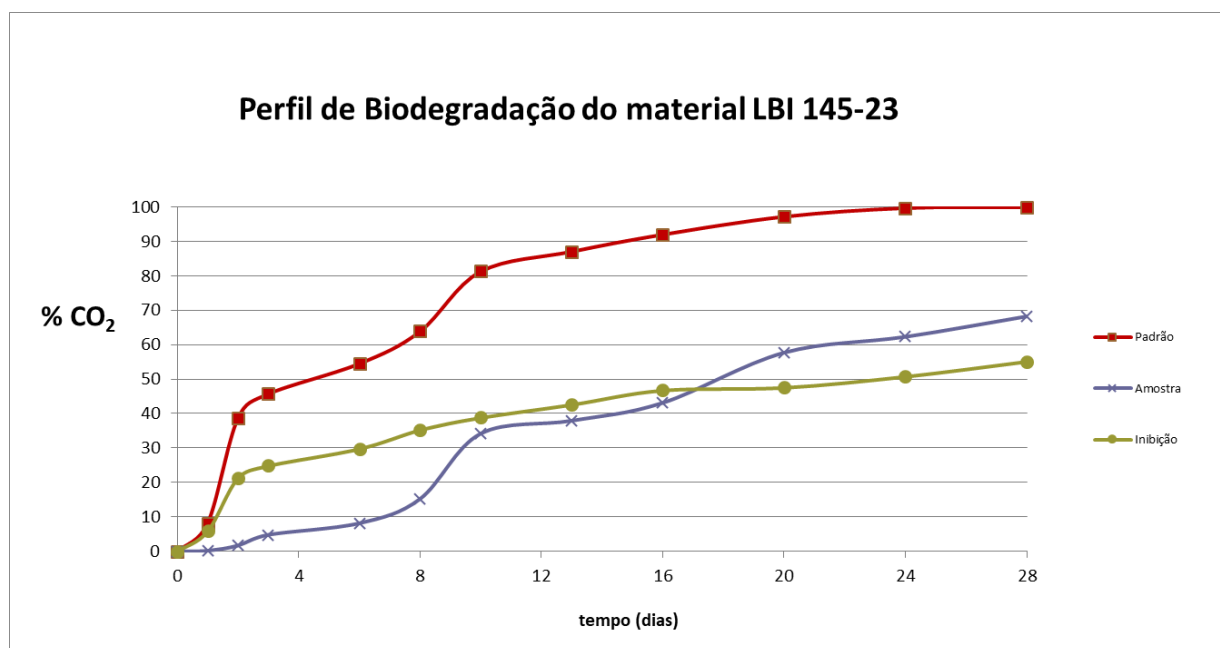
**Tabela 4** – Valores de CO<sub>2</sub> acumulado (mg), desprendido ao longo do tempo de incubação para o material LBI 145-23.

Tempo (dias)	Condição 2 Padrão biodegradável (mg CO <sub>2</sub> )		Condição 3 Teste (mg CO <sub>2</sub> )		Condição 4 Controle de inibição (mg CO <sub>2</sub> )	
	A	B	A	B	A	B
20	197,4	222,1	110,0	161,2	176,8	54,4
24	207,9	222,1	121,3	171,8	188,9	58,1
28	216,3	222,1	134,6	186,5	201,6	63,9

A **Tabela 5** na página seguinte apresenta os resultados da biodegradação medida pelo percentual de CO<sub>2</sub> que efetivamente foi detectado como desprendido, em relação ao total de CO<sub>2</sub> que poderia ser formado pela degradação completa da quantidade de carbono adicionada a cada frasco do ensaio nas diferentes condições. Estes resultados estão também representados graficamente na **Figura 2**.

**Tabela 5** – Degradação observada nas diferentes condições do ensaio para o material LBI 145-23, determinada como percentual de CO<sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos.

Tempo (dias)	Condição 2 Padrão biodegradável (% CO <sub>2</sub> )		Condição 3 Teste (% CO <sub>2</sub> )		Condição 4 Inibição (% CO <sub>2</sub> )	
	A	B	A	B	A	B
1	11,2	5,1	0,0	0,2	4,2	7,5
2	39,5	37,8	1,1	2,2	20,0	22,4
3	45,5	46,0	3,2	6,3	23,8	25,8
6	52,0	57,1	6,3	10,0	28,9	30,6
8	61,0	66,8	11,0	19,3	30,6	39,8
10	77,2	85,4	24,9	43,5	33,2	44,5
13	82,3	91,9	30,7	45,3	36,9	48,2
16	86,6	97,5	35,4	50,9	40,6	52,9
20	94,5	100,0	45,0	70,5	40,6	54,4
24	99,5	100,0	49,6	75,2	43,4	58,1
28	100,0	100,0	55,1	81,6	46,3	63,9



**Figura 2** – Perfil de biodegradação, expresso em porcentagem (valores médios), observado para o material “Polímero superabsorvente” (LBI 145-23).

A **Tabela 6** apresenta os valores médios obtidos da biodegradação medida pelo percentual de CO<sub>2</sub> que efetivamente foi detectado como desprendido, em relação ao total de CO<sub>2</sub> que poderia ser formado pela biodegradação completa da quantidade de carbono adicionada a cada frasco do ensaio nas diferentes condições.

**Tabela 6** – Média dos valores obtidos para a biodegradação nas diferentes condições do ensaio, determinada como percentual de CO<sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos. Ensaio do material LBI 145-23 (continua).

Tempo (dias)	Condição 2 Média Padrão	Condição 3 Média Amostra	Condição 4 Média Inibição
0	0	0	0
1	8,1	0,1	5,8
2	38,6	1,6	21,2
3	45,7	4,7	24,8
6	54,5	8,1	29,7
8	63,9	15,2	35,2
10	81,3	34,2	38,8

**Tabela 7** – Média dos valores obtidos para a biodegradação nas diferentes condições do ensaio, determinada como percentual de CO<sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos. Ensaio do material LBI 145-23.

Tempo (dias)	Condição 2 Média Padrão	Condição 3 Média Amostra	Condição 4 Média Inibição
13	87,1	38,0	42,6
17	92,0	43,2	46,8
20	97,2	57,8	47,5
24	99,7	62,4	50,8
28	100,0	68,3	55,1

A **Tabela 8** apresenta o resultado final com tratamento estatístico (desvio padrão) considerado para os dados obtidos.

**Tabela 8** – Biodegradação observada nas diferentes condições do ensaio para o material LBI 145-23, determinada como percentual de CO<sub>2</sub> detectado em relação ao total de carbono adicionado aos frascos. Resultados consolidados ao final de 28 dias (valor médio ± desvio padrão).

Condição do Ensaio	Biodegradação em 28 dias
Padrão Biodegradável	100%
Teste (LBI 145-23)	68,3% ± 18,8%
Inibição (LBI 145-23 + Padrão)	55,1% ± 12,4%

## 6 DISCUSSÃO

Pelos valores apresentados na tabela 2, o inóculo preparado para este ensaio apresentou contagem adequada para permitir o prosseguimento do ensaio. Os testes com o padrão biodegradável (Tabela 5, condição 2) apresentaram resultados de porcentagem de biodegradação que atendem aos requisitos do Guia “OECD Guideline for Testing of Chemicals (item 301B, 1992)”, com biodegradação superior a 60%, permitindo considerar o ensaio válido. Os resultados do teste de inibição (Tabela 5, condição 4) demonstram que o material avaliado não exerceu efeito inibitório sobre a microbiota utilizada no ensaio, pois em 6 (seis) dias esta condição já apresentava o valor médio de **29,7%** de desprendimento de CO<sub>2</sub>.

A condição 3 (Tabela 5) consistiu no ensaio de biodegradação propriamente dito do material “Polímero superabsorvente” (LBI 145-23), que apresentou resultado de **68,8% ± 18,3%** de biodegradação em 28 dias. Sob as condições do ensaio, o resultado não permite classificar o material como “prontamente biodegradável”, segundo as especificações do Guia OECD 301B (1992), pois não foi atingido o valor mínimo de 60% de liberação de CO<sub>2</sub> dentro do intervalo de 10 dias a partir do momento em que foi detectado 10% de liberação de CO<sub>2</sub>. Por ter atingido o valor mínimo de 60% dentro do intervalo de 28 dias, foi possível considerar o material somente como “biodegradável”.

Este resultado não significa, necessariamente, que o material não possa ser considerado como “prontamente biodegradável” sob outras condições ou períodos de tempo.

## 7 INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Caso o presente Relatório venha a ser utilizado em processo judicial, solicita-se comunicação ao IPT, por meio do e-mail [atendimentosjudiciais@ipt.br](mailto:atendimentosjudiciais@ipt.br).

## 8 CONCLUSÃO

O material identificado como “Polímero superabsorvente”, cadastrado no Laboratório de Biotecnologia Industrial como LBI 145-23, foi avaliado quanto a biodegradabilidade (baseado em OECD 301B) e atingiu o valor médio de **68,3%** de desprendimento de CO<sub>2</sub> ao final de 28 dias de ensaio. Portanto, foi considerado como “biodegradável”, uma vez que atingiu o valor mínimo de 60% de desprendimento de CO<sub>2</sub> somente ao final de 28 dias, sob as condições utilizadas no ensaio. O material não foi considerado como inibitório para a microbiota utilizada no ensaio, uma vez que na condição de controle de inibição a liberação de CO<sub>2</sub> foi superior a 25% após 14 dias do teste.

## 9 EQUIPE TÉCNICA

### **IPT - Laboratório de Biotecnologia Industrial (LBI)**

**Coordenador do trabalho:** Farm<sup>º</sup>. Me. Henrique Moreira Simon – Pesquisador Assistente

Oderlei Rocha dos Santos – Técnico especializado

### **Apoio Administrativo**

Tatiana Pereira da Silva (FIPT)

São Paulo, 01 de Setembro de 2023.

**BIONANOMANUFATURA**  
Laboratório de Biotecnologia Industrial  
**Assinado digitalmente**  
Farm<sup>º</sup> Me. Henrique Moreira Simon  
Pesquisador Assistente  
CRF-SP 56972 – RE Nº 8976

**BIONANOMANUFATURA**  
Laboratório de Biotecnologia Industrial  
**Assinado digitalmente**  
Biol<sup>º</sup> Dra. Patrícia Leo  
Gerente Técnica do Laboratório  
CRBio-SP N.º 10987/01 – RE Nº 8502

**BIONANOMANUFATURA**  
**Assinado digitalmente**  
Farm<sup>ª</sup> Dra. Natália Neto Pereira Cerize  
Diretora Técnica  
CRF-SP Nº 48790 – RE Nº 8721



## **ANEXO A**

(Determinação de Carbono - Relatório de Ensaio 1 140 771-203)

3 páginas



Laboratório de Bioenergia e Eficiência Energética / Energia

## RELATÓRIO DE ENSAIO N° 1 140 771-203

**CLIENTE:** Laboratório de Biotecnologia Industrial/BIONANO.

**NATUREZA DO TRABALHO:** Determinação do teor de carbono.

**REFERÊNCIA:** Orçamento N° 4831/23.  
Aprovação de orçamento de 31/05/2023.

### 1 DESCRIÇÃO DO MATERIAL

Fornecido pelo cliente com a seguinte designação: "LBI 145-23", recebido em 02/06/2023 e identificado no laboratório como LBE 373/23.

### 2 MÉTODO UTILIZADO

Baseado na ASTM D5373-21 – Método A.

Equipamentos:

Analisador de carbono, hidrogênio e nitrogênio, cód.: 018793, verificado com material de referência antes do ensaio.

Balança analítica, cód.: LCL-433. Validade da calibração: mar/2024.

O ensaio foi executado em 13/06/2023.

### 3 RESULTADO

Carbono – % massa ..... 37,0

Os resultados apresentados neste documento se aplicam somente ao item ensalado ou calibrado.  
Este documento não dá direito ao uso do nome ou da marca IPT, para quaisquer fins, sob pena de indenização.  
A reprodução deste documento só poderá ser feita integralmente, sem nenhuma alteração.



Laboratório de Bioenergia e Eficiência Energética / Energia

## EQUIPE TÉCNICA

Técnica Fabiana Oliveira Alexandre.

São Paulo, 13 de junho de 2023.

**ENERGIA**  
Laboratório de Bioenergia e Eficiência Energética

Assinado digitalmente

Eng. Química Mestre Ligia A. A. Alves de Souza  
Pesquisadora  
CREA nº 0601053176 - NRE 06840

**ENERGIA**  
Laboratório de Bioenergia e Eficiência Energética

Assinado digitalmente

Química Mestre Heloisa Burkhardt Antonoff  
Supervisora de Ensaio  
CRQ nº 04118212 – NRE 07641



Documento assinado digitalmente.  
Sua validade legal e autenticidade são vinculadas às assinaturas digitais do(s) responsável(is) técnico(s) e à assinatura digital certificada do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT.

Os resultados apresentados neste documento se aplicam somente ao item ensalado ou calibrado.  
Este documento não dá direito ao uso do nome ou da marca IPT, para quaisquer fins, sob pena de indenização.  
A reprodução deste documento só poderá ser feita integralmente, sem nenhuma alteração.