



GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS EM LABORATÓRIOS DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS: ESTUDO DE CASO NO NÚCLEO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DA UERJ

Thiago José de Souza Barboza - thiagojsbarboza@gmail.com

Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes,
Laboratório de Biotecnologia de Plantas.

Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, sala 509.

CEP 20551-030 - Rio de Janeiro/RJ.

Siomara Dias da Costa Lemos - sidicole@gmail.com

Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes,
Laboratório de Biotecnologia de Plantas.

Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, sala 509.

CEP 20551-030 - Rio de Janeiro/RJ.

Tatiana Carvalho de Castro - tatianacastro17@gmail.com Universidade do Estado do Rio de
Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Laboratório de Biotecnologia de Plantas.

Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, sala 509.

CEP 20551-030 - Rio de Janeiro/RJ.

Norma Albarello - albarello@gmail.com

Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes,
Laboratório de Biotecnologia de Plantas.

Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, sala 509.

CEP 20551-030 - Rio de Janeiro/RJ.

Resumo: As técnicas de cultura de tecidos vegetais têm sido reconhecidas como importantes ferramentas para a produção e conservação in vitro de plantas e substâncias de importância econômica, ambiental, medicinal, entre outras. O trabalho realizado num laboratório de cultura de tecidos vegetais (LCTV) envolve a geração de diferentes tipos de resíduos, entre eles, solventes químicos, agentes de descontaminação, restos vegetais e de meios de cultura. Os resíduos de meios de cultura podem conter quantidades significativas de contaminantes, como fitorreguladores, que, em altas concentrações, possuem ação deletéria ao meio ambiente. Deste modo, é de grande importância adotar medidas adequadas de armazenamento e descarte de resíduos em LCTVs. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um Sistema de Gestão de Resíduos (SGR) e Procedimento Operacional Padrão (POP) para um LCTV. Foi utilizado como modelo para busca de dados o Laboratório de



Biotecnologia de Plantas (Labplan), primeiro laboratório a integrar o Núcleo de Biotecnologia Vegetal da UERJ, constituído de seis laboratórios que atuam na pesquisa em Biotecnologia Vegetal. Foram coletados dados qualitativos e quantitativos da geração de resíduos que foram classificados nos Grupos A, B, D e E. O SGR proposto estabeleceu os critérios de segregação, condições de armazenamento, ações de gerenciamento e a disposição final para os tipos de resíduos gerados. Considerando o porte e as atividades realizadas num LCTV, a implementação de um SGR mostra-se viável para melhor controle do fluxo de resíduos e redução na geração de produtos tóxicos e desperdício de materiais, com vistas ao estabelecimento de metas institucionais.

Palavras-chave: Geração de resíduos, biotecnologia vegetal, meio de cultura, solventes.

WASTE MANAGEMENT IN PLANT TISSUE CULTURE LABORATORIES: A CASE STUDY IN THE PLANT BIOTECHNOLOGY CENTER OF THE STATE UNIVERSITY OF RIO DE JANEIRO

Abstract: Plant tissue culture techniques have been recognized as important tool for *in vitro* production and conservation of plants and metabolites of economic, environmental and medical importance, and others aspects. The procedures on plant tissue culture laboratory (PTCL) involves the generation of different types of waste, including, chemical solvents, decontamination agents, plant debris and culture media. The residues of culture media contain significant amounts of contaminants such as growth regulators, which in high concentrations have harmful action to the environment. Thus, it is of great importance to adopt appropriate measures for storage and disposal of waste PTCLs. The aim of this study was to develop a Waste Management System (WMS) and Standard Operating Procedure (SOP) for a PTCL. It was used as a model for providing data the Biotechnology Laboratory of Plants (Labplan), the first laboratory to integrate the Center for Plant Biotechnology of UERJ, that consisting of six laboratories working in research in plant biotechnology. We collected qualitative and quantitative data waste generation which were classified in Groups A, B, D and E. The proposed WMS established the segregation criteria, storage conditions, management actions and the final disposition for the types of waste generated. Considering the size and the activities carried out in PTCL, the implementation of a WMS proves feasible for better control of the flow of waste and reduction in the generation of toxic products and waste materials, with a view to establishing institutional goals.

Key words: Waste generation, plant biotechnology, culture medium, solvents.

1. INTRODUÇÃO

Técnicas biotecnológicas, envolvendo a cultura de tecidos vegetais, têm viabilizado a produção vegetal *in vitro* em larga escala e sob condições controladas, permitindo a conservação de germoplasma e a obtenção de produtos essenciais, de importância em diversos setores, tais como medicinal, têxtil, madeireiro, alimentício, entre outros.

A cultura de tecidos vegetais promove a produção de material vegetal e metabólitos secundários *in vitro* em larga escala, reduzindo a necessidade de acesso ao material estabelecido *in*



situ (Delcheh *et al.*, 2014). As necessidades de plantas cultivadas *in vitro* são as mesmas daquelas estabelecidas no ambiente natural. Enquanto as plantas no meio ambiente suprem sua demanda energética pela fotossíntese, em condições *in vitro* as demandas nutricionais são atendidas por meio da adição de suplementos ao meio de cultura. A composição do meio é específica para cada espécie, sendo o ponto chave para o estabelecimento e sucesso do cultivo de células e tecidos vegetais (Molnár *et al.*, 2011).

O cultivo vegetal *in vitro*, realizado num Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), resulta em diferentes respostas morfogênicas (Castro, 2016), de acordo com os objetivos propostos, como a produção de massas celulares denominadas calos (Barboza *et al.*, 2014), suspensões celulares (Lage *et al.*, 2015), culturas de raízes (Simões *et al.*, 2009), embriões somáticos (Simões *et al.*, 2010), além da produção massal de plantas que podem ser usadas com fins medicinais (Albarello *et al.*, 2006; 2013). Materiais produzidos *in vitro* podem ser conservados a longo prazo por métodos de criopreservação, envolvendo o uso de nitrogênio líquido (Cordeiro *et al.*, 2015a,b). O cultivo *in vitro* também tem sido empregado no monitoramento de contaminantes ambientais e na avaliação de seus efeitos sobre o desenvolvimento vegetal (Lemos *et al.*, 2016).

Para iniciar um estudo utilizando as técnicas de cultura de tecidos vegetais, pequenos fragmentos de plantas, denominados explantes, são isolados de um vegetal previamente selecionado (planta matriz), recebendo um tratamento de limpeza com um ou vários agentes de descontaminação (hipoclorito de sódio, cloreto de mercúrio, formaldeído, antibióticos, antifúngicos etc) e cultivados assepticamente em meio de cultura apropriado. Os meios são constituídos por água, uma fonte de carbono (frequentemente é sacarose), nutrientes minerais, vitaminas, mio-inositol e reguladores de crescimento ou fitorreguladores (Souza & Junghans, 2006). Os fitorreguladores são substâncias sintéticas que mimetizam a ação dos hormônios vegetais, promovendo o crescimento e o desenvolvimento do material cultivado *in vitro* (Caldas *et al.*, 1998).

Devido às suas características de pesquisa e rotina de trabalho, os LCTVs geram diferentes tipos de resíduos, dentre os quais, podemos destacar os resíduos orgânicos, os restos de material biotecnológico vegetal cultivado, os solventes orgânicos e inorgânicos, e, principalmente, os resíduos de meios de cultura inutilizados. Estes resíduos podem conter quantidades significativas de contaminantes, como por exemplo, resquícios de fitorreguladores. Em larga escala, estas substâncias possuem potencial deletério ao meio ambiente como poluentes de água e solo, alterando as propriedades naturais destes ambientes, sendo prejudiciais à saúde, à segurança ou ao bem-estar da população sujeita aos seus efeitos (Mano *et al.*, 2010). Além disso, sendo substâncias reguladoras dos padrões de crescimento e desenvolvimento de plantas, quando expostos no meio ambiente, podem causar graves consequências à flora natural. Estas substâncias também têm sido relacionadas ao aumento da frequência de tumores malignos em seres humanos quando expostos a elas (Sinski *et al.*, 2012).

Milhares de toneladas de resíduos são gerados diariamente no Brasil, sendo o manejo negligenciado até o ponto em que acarreta ameaça e conflitos ambientais severos. O gerenciamento de resíduos passou a ser discutido em universidades e centros de pesquisas em todo o mundo na década de 70. No entanto, no Brasil, estas discussões só ganharam espaço na década de 90, com esforços das Universidades em gerenciar seus resíduos de modo a diminuir o impacto ambiental utilizando estratégias como banco de reagentes, assessorias laboratoriais e tratamento de resíduos (Silva *et al.*, 2015). Até meados da década de 90, o descarte de solventes clorados e não clorados, além de outros resíduos líquidos, era feito diretamente na pia dos laboratórios. Esta prática levava à corrosão da tubulação e contaminação local, resultando na contaminação do lençol freático e corpos hídricos adjacentes. Arelada às limitações financeiras para um manejo e armazenamentos eficientes, atitudes como esta ainda podem ser observadas em alguns laboratórios, quando não há a implementação de um programa adequado para coleta e descarte (Pacheco *et al.*, 2003).

Garcia & Zanetti-Ramos (2004) alertam para a precariedade do tratamento e disposição final dos resíduos de serviços de saúde em nosso país, onde apenas uma pequena parte seria



depositada em aterros sanitários controlados, não se podendo desprezar a contaminação ambiental provocada por esses resíduos. Este quadro não apresentou alteração ao longo dos últimos anos e nem tem recebido o devido apoio das políticas ambientais. A situação pode ser agravada com a disposição final inadequada dos resíduos laboratoriais, especialmente no que se refere ao descarte de substâncias com potencial carcinogênico.

Neste contexto, destaca-se a importância de se intensificar as ações para as condições de armazenamento e de práticas adequadas de descarte de resíduos, principalmente meios de cultura, quando se tratando de LCTVs. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um Sistema de Gestão de Resíduos (SGR) e Procedimento Operacional Padrão (POP) experimentais para um Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais.

1.1. Legislação Ambiental sobre resíduos sólidos vinculados a laboratórios de pesquisa

Com o aumento da degradação dos recursos naturais nas últimas décadas, constata-se uma preocupação crescente dos diversos segmentos com a preservação do ambiente e dos seus recursos. As atitudes consideradas sustentáveis têm como objetivo a manutenção da qualidade de vida através do equilíbrio entre o ambiente natural, o seu uso econômico e a redução das desigualdades sociais. Desta forma, a normatização e a implementação de políticas públicas precisam reconhecer e internalizar a questão ambiental sob uma perspectiva de longo prazo, em respeito ao direito das futuras gerações à qualidade de vida (Machado *et al.*, 2013).

No Brasil, a gestão inadequada de resíduos é considerada crime ambiental, podendo acarretar em multas ou a reclusão do responsável. No âmbito empresarial, este ato pode desvalorizar um negócio, ou até mesmo inviabilizá-lo, sendo, em contraponto, as boas práticas no gerenciamento de resíduos altamente rentáveis para o empresário (Maroun, 2006). A necessidade de se pensar em ações que levem a um ambiente equilibrado, com reflexos na vida saudável da população, está prevista na Constituição Federal de 1988, que em seu artigo 255, define:

“Todos têm o direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações.” (Brasil, 2015)

Originada do Projeto de Lei nº 203/1991, a Lei nº 12.305 de 2 de agosto de 2010 “*Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências.*”. Assim, os resíduos exigem um plano de gerenciamento que confere a responsabilidade ao gerador. Além disso, essa política estabelece punições no caso de serem cometidas infrações envolvendo resíduos sólidos perigosos.

Podemos destacar nesta Lei, no artigo 3, inciso XVI:

“Resíduos sólidos: material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, a cuja destinação final se procede, se propõem proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d’água, ou exijam para isso soluções técnica ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível.” (Brasil, 2015)



A implantação de um sistema ou plano de gestão de resíduos deve estar pautada na legislação vigente, em âmbito nacional, estadual e municipal, de modo a garantir a execução das atividades em conformidade com normas e padrões estabelecidos. Deste modo, a Lei nº 12.305/2010 que estabelece a Política Nacional de Resíduos Sólidos, tem por objetivo, em cooperação com Estados, o Distrito federal e Municípios, a gestão integrada e o gerenciamento ambientalmente adequado dos resíduos sólidos.

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), em sua Resolução nº 05 de 1993, anexo I, define os tipos de resíduos e o sistema de gestão de resíduos sólidos, sendo classificados em quatro grupos (A, B, C e D). Porém, devemos destacar que os resíduos de LCTVs podem estar presentes em três dos quatro grupos citados no anexo desta resolução:

*“GRUPO A: resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente devido a presença de agentes biológicos.
[...] meios de cultura;*

*GRUPO B: resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente devido às suas características químicas.
[...] Enquadram-se neste grupo, dentre outros:
[...] c) demais produtos considerados perigosos, conforme classificação da NBR 10004 da ABNT (tóxicos, corrosivos, inflamáveis e reativos).*

[..] GRUPO D: resíduos comuns são todos os demais que não se enquadram nos grupos descritos anteriormente.”

No estado do Rio de Janeiro, segundo site do Instituto Nacional do Meio Ambiente (Inea) a partir da promulgação da Lei nº 12.305/2010, o governo deu início a um processo de articulação política, técnica, institucional, legal e educacional para a reversão do cenário da gestão de resíduos sólidos urbanos dos municípios. Em 2013 foi iniciado um Sistema de Gestão e Controle de Resíduos de Serviço de Saúde (RSS) no Estado para a consolidação de um banco de dados que contenha as necessárias informações qualitativas e quantitativas relacionadas à geração, transporte, tratamento e destino final deste tipo de resíduo.

Levando em consideração todos os agentes envolvidos, desde a sua geração até o seu destino final (Figura 1), o sistema tem como objetivo propor o estudo de tecnologias de rastreabilidade.

Figura 1 – Fluxograma demonstrando as etapas do Sistema de Gestão e Controle de Resíduos de Serviço de Saúde (RSS) no Estado do Rio de Janeiro.



Fonte: <http://www.inea.rj.gov.br/Portal/MegaDropDown/Licenciamento/Residuos/index.htm&lang=>

No município do Rio de Janeiro, a determinação do Plano Municipal de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos (PMGIRS) surgiu com a edição da Lei Municipal nº 4.969/2008, que dispõe sobre



objetivos, instrumentos, princípios e diretrizes para a Gestão Integrada de Resíduos Sólidos no âmbito da cidade do Rio de Janeiro. A exigência de elaboração do PMGIRS foi efetivada pela Lei nº 12.305/2010, que determina que o gerenciamento de resíduos contempla o conjunto de ações exercidas nas etapas de coleta, transporte, transbordo, tratamento, destinação e disposição final dos resíduos e deve estar de acordo com o PMGIRS (PMGIRS, 2016).

Este plano deverá ser implementado, pelos diferentes órgãos envolvidos, de forma a proteger a saúde pública e a qualidade do meio ambiente, incentivar a coleta seletiva, a reutilização e a reciclagem, garantindo a redução da geração de resíduos sólidos; garantir a adequada disposição final dos resíduos mediante utilização de técnicas ambientalmente sustentáveis e propiciadoras do aproveitamento de energia; incentivar as parcerias do governo com organizações que permitam otimizar a gestão integrada de resíduos sólidos; dentre outras funcionalidades (PMGIRS, 2016).

Desta forma, no Rio de Janeiro, tanto o Inea quanto a Secretaria Municipal do Meio Ambiente (SMAC) definem quais os instrumentos, princípios e diretrizes para o estabelecimento de um sistema de gestão ambiental. Oferecem também o inventário dos resíduos sólidos, em conformidade com a Resolução CONAMA nº 313 de 2002, que “*Dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais*”, e pode ser utilizado como base para a caracterização de resíduos e formulação de sistemas e planos de gestão de resíduos.

1.2. Laboratórios de pesquisa como geradores de resíduos

Além da indústria, as instituições de ensino, pesquisa e prestação de serviços são também geradoras de resíduos e devem atender às exigências legais e técnicas. Nestas instituições, considerando suas práticas laboratoriais, são gerados resíduos diversos que apresentam periculosidade. Para Teixeira e colaboradores (2012), os fatores que apoiam positivamente a implantação de SGR em laboratórios de pesquisa são a pressão da sociedade pela conscientização ambiental (“ecofriendly”), que não isenta estas instituições, e a própria consciência de seus profissionais, principalmente envolvidos em pesquisas sobre as questões ambientais, que pressionam na direção da implantação de sistemas de gerenciamento de resíduos. Da mesma forma, segundo Mano e colaboradores (2010) é importante o comprometimento do equilíbrio entre a tecnologia, o meio ambiente e a justiça social para ser garantido o desenvolvimento sustentável.

Um SGR experimental para um laboratório de pesquisa pode ser estruturado a partir da identificação e o cadastro do rejeito, coleta adequada, pré-tratamento do resíduo, armazenamento e disposição final. Sendo importante considerar a logística e os custos envolvidos neste processo. Entretanto este sistema pode se dar em parceria com empresas privadas, através de serviço terceirizado, o que pode muitas vezes tornar o projeto mais econômico financeiramente (Barbosa *et al.*, 2003).

As próprias instituições de ensino podem estabelecer seu Plano de Gestão, que será a ferramenta base para o gerenciamento de resíduos, além dos sistemas de gestão criados pelos laboratórios ou unidades acadêmicas. Desta forma, serão definidos normas e procedimentos de maneira a garantir que as atividades desenvolvidas não ocasionem a degradação ou danos ao meio ambiente, resultantes da emissão indevida de resíduos poluentes e/ou contaminantes, nem impactem a saúde dos seus profissionais envolvidos, assim como sobre as comunidades que circunvizinham as instalações da instituição (PGGR, 2008).

Através da Resolução do CONAMA nº 05, pode-se realizar a classificação dos resíduos dos LCTVs para a triagem e a identificação dos tipos de resíduos gerados de maneira adequada, sendo este o primeiro momento relevante para a composição de um sistema de gestão nestes locais.



2. DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO DE CASO

2.1. Laboratório de Biotecnologia de Plantas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

O presente estudo foi realizado nas dependências do Laboratório de Biotecnologia de Plantas (Labplan), que integra o Núcleo de Biotecnologia Vegetal (NBV) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG), da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). O NBV é constituído de seis laboratórios que caracterizam um grupo de pesquisa de natureza interdepartamental e que atuam na produção e conservação *in vitro* de plantas e metabólitos vegetais de interesse, em análises fitoquímicas e moleculares. Fazem parte do NBV os seguintes laboratórios: Laboratório de Biotecnologia de Plantas (Labplan); Laboratório de Micropropagação e Transformação de Plantas (Labmit); Laboratório de Análises Moleculares (LAMP); Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN), Laboratório de Marcadores Moleculares de Plantas (LMMP) e Laboratório de Cromatografia (Cromatolab).

O Labplan possui uma equipe em atividade diária de 8 horas de bancada, com cerca de 20 pessoas, englobando alunos de graduação, pós-graduação e corpo técnico. Para a avaliação da produção de resíduos gerados, este estudo foi realizado por meio de anotações diárias durante os meses de abril e maio de 2014, período de intensa atividade no laboratório, avaliando-se a caracterização e a quantificação de resíduos gerados.

2.2. Classificação dos tipos de resíduos gerados pelos laboratórios

A classificação dos resíduos gerados foi realizada conforme a resolução CONAMA nº 05 de 1993, sendo estes classificados de acordo com os grupos de resíduos A, B, C e D.

Para os meios de cultura, foi realizada a quantificação da produção semanal deste resíduo, após ser descartado. O material foi esterilizado e posteriormente filtrado para a separação do meio de cultura e dos restos de tecidos vegetais oriundos do cultivo *in vitro*. O resíduo de meio de cultura, em forma líquida após a autoclavagem teve seu volume aferido em litros (L), com o auxílio de provetas graduadas. Para o material biológico residual, foi aferida a massa fresca em gramas (g), utilizando-se balança digital de duas casas decimais.

Para os solventes descartados, foi realizada análise qualitativa e quantitativa. Para análise quantitativa, os solventes foram armazenados em frasco de um litro LPPN/NBV.

3. ANÁLISE DOS RESÍDUOS GERADOS

3.1. Sistema de Gestão de resíduos para o Laboratório de Biotecnologia de Plantas

O sistema de gestão para resíduos gerados no laboratório foi proposto após o inventário de cada tipo de resíduo gerado, de acordo com as normas e resoluções estabelecidas nos âmbitos nacional (CONAMA), estadual (Inea) e municipal (SMAC) do estado do Rio de Janeiro. Sendo que para cada tipo de resíduo foram definidos: os critérios de segregação; as condições de armazenamento; as ações de gerenciamento (reutilização, reciclagem, tratamento); e a disposição final.

Foi elaborado o Procedimento Operacional Padrão (POP-Labplan/UERJ) para as atividades do laboratório, contribuindo assim para a padronização das tarefas realizadas (Quadros 1 e 2).

Quadro 1 - Objetivos do Procedimento Operacional Padrão para o Laboratório de Biotecnologia de Plantas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (POP Labplan/UERJ) para descarte de material vegetal cultivado *in vitro*.



Procedimento	Descrição
Princípio	O descarte de meios de cultura deve ser realizado de maneira cautelosa para evitar contato direto do manipulador com o rejeito e minimizar os impactos ambientais do descarte, devido à natureza do material.
Descrição	Esterilizar o material biotecnológico e meios de cultura em autoclave a 120°C com pressão igual ou superior a 1 atm, neutralizar quimicamente os rejeitos pela adição de NaOH 5% e ajuste de pH com HCL 5N e, por fim, transferir os resíduos para recipientes apropriados para armazenamento e disposição final.

Quadro 2 – Descrição do Procedimento Operacional Padrão para o Laboratório de Biotecnologia de Plantas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (POP Labplan/UERJ) para descarte de material vegetal cultivado *in vitro*.

Descrição dos procedimentos do POP Labplan/UERJ
1. Vestir EPI adequado – jaleco, máscara e touca descartáveis, luvas e óculos de proteção (quando necessários)
2. Levar os frascos com culturas <i>in vitro</i> (potes de vidro, erlenmeyers, placas de petri, etc), ainda vedados para autoclavagem;
3. Realizar a esterilização de todo o material em autoclave vertical a 120°C com pressão igual ou ligeiramente superior a 1 atm por pelo menos 40 minutos;
4. Após a autoclavagem, os frascos devem ser encaminhados para sala de lavagem para triagem do material;
5. Abrir os frascos e com o auxílio de uma peneira realizar a separação do meio de cultura (em estado líquido) do resíduo de material vegetal produzido biotecnologicamente (sólido);
6. Armazenar o material biotecnológico residual (sólido) em sacos plásticos reforçados, sendo vedados e acondicionados em local seco e fresco até sua disposição final, que não poderá exceder 48 horas de armazenamento;
7. Verter todo o resíduo de meio de cultura em estado líquido em recipiente com tampa e levar para câmara de exaustão;
8. Adicionar cuidadosamente NaOH com o auxílio de uma espátula na concentração de 5% (p/v) sobre este resíduo. O uso de proveta graduada irá auxiliar na aferição do volume de meio de cultura para o cálculo da quantidade de NaOH necessária para a reação, aferido em balança de precisão;
9. Vedar o recipiente e manter a reação em local seco e fresco por pelo menos 16 horas, visando à completa remoção de resíduos de fitorreguladores;
10. Em câmara de exaustão, abrir o recipiente após o período de reação e aferir o pH com aparelho específico;
11. Adicionar, aos poucos, solução de HCL 5N com o auxílio de pipetas graduadas e pipetador automático para redução do pH até 7, neutralizando desta forma o rejeito para descarte seguro;
12. Transferir o resíduo de meios de cultura, já esterilizados e neutralizados para tambores plásticos vedados com tampa, armazenando-os em local seco e fresco para posterior destinação final.

3.2. Produção de resíduos

Considerando o porte do laboratório e o corpo técnico presente no Labplan/UERJ, determinou-se que o trabalho de cultura de tecidos vegetais produz resíduos de diferentes classes em relação à Resolução CONAMA nº 05 de 1993 (Tabela 1), com exceção do Grupo C, que engloba

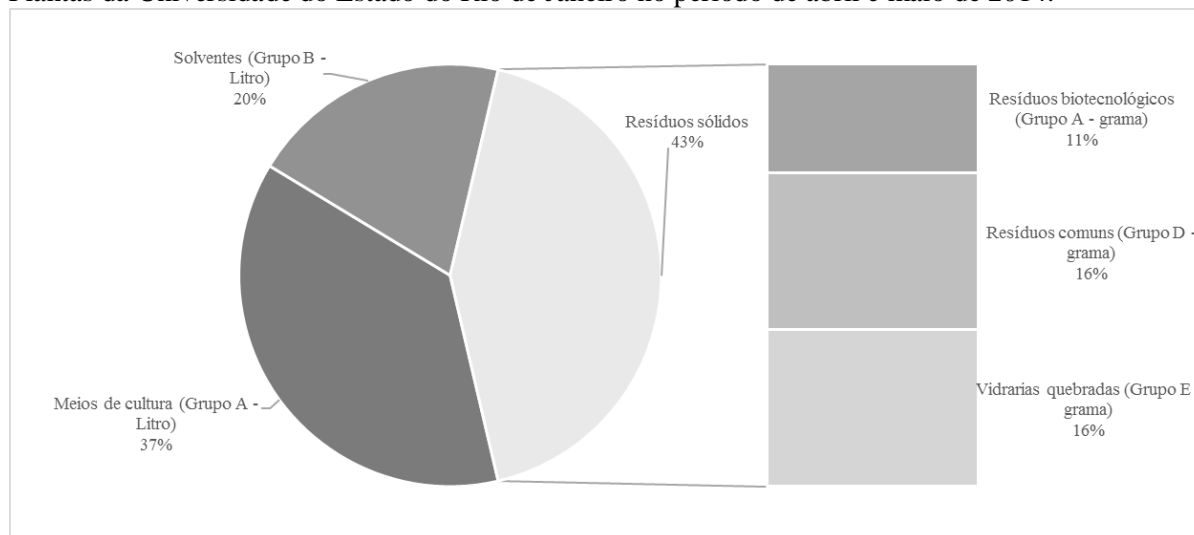
resíduos de características específicas da área de saúde/hospitalar e radioativos. Por outro lado, foi criado um novo grupo denominado grupo E, no qual foram classificados resíduos perfuro-cortantes.

Tabela 1 - Classificação e Composição dos resíduos gerados no Laboratório de Biotecnologia de Plantas da UERJ no período entre abril e maio de 2014.

Grupo	Composição do resíduo
A	Meios de cultura e resíduo de material biotecnológico estéril ou contaminado
B	Solventes orgânicos e inorgânicos utilizados para extração de metabólitos
C	-----
D	Sacolas de plástico, luvas, caixa de papelão, caneta, papel alumínio, papel filme, papel toalha, papel ofício, frascos de álcool e hipoclorito de sódio, serra de lápis, embalagem plástica de alimentos e resíduos de alimentos.
E	Vidrarias quebradas: potes de vidro, placas de petri, erlenmeyer, bécher, proveta, tubos de ensaio, balões volumétricos, funis de vidro e lâminas de bisturis.

A produção mensal de resíduos sólidos em geral é de aproximadamente 12 quilos (Figura 2), gerando tanto materiais inertes quanto materiais que podem oferecer riscos à saúde humana e ao meio ambiente, que pertencem ao Grupo A (Tabela 1). A produção mensal de resíduos líquidos é de aproximadamente 22 litros, compreendendo resíduos de meio de cultura e solventes. Semanalmente, em média, são descartados três litros de resíduos do Grupo A (meios de cultura), dois litros de resíduos do Grupo B (solventes), um quilograma de resíduos do Grupo A (resíduos biotecnológicos) e mais de um quilograma de resíduos dos Grupos D (resíduos comuns) e E (perfuro-cortantes).

Figura 2 - Porcentagem de resíduos produzidos mensalmente no Laboratório de Biotecnologia de Plantas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro no período de abril e maio de 2014.

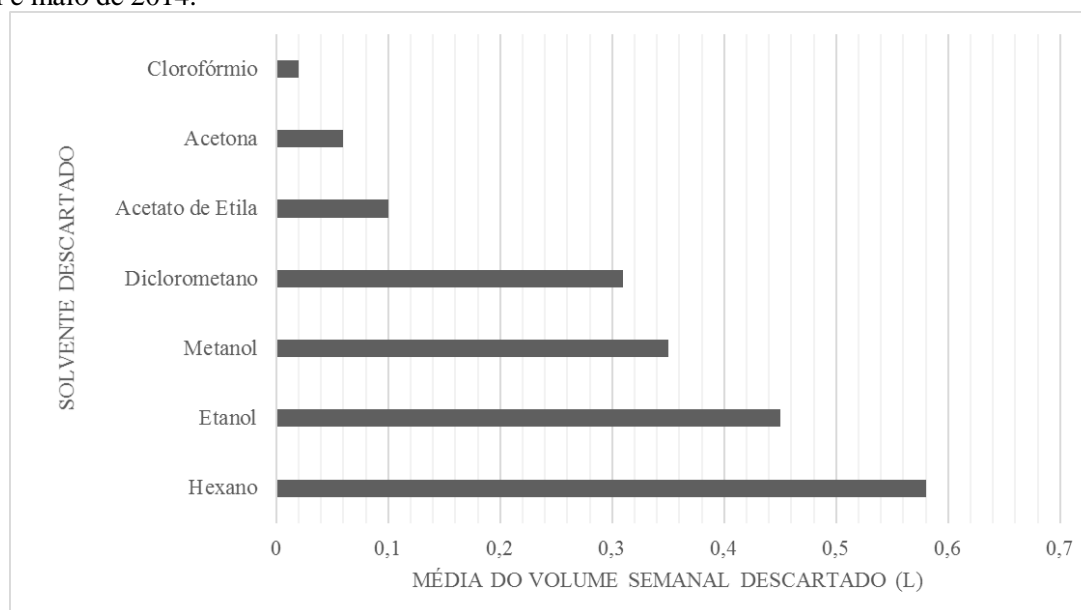


Para facilitar o descarte destes resíduos, os meios de cultura desprezados devem ser previamente esterilizados antes de seu descarte final, devido à possível presença de contaminantes biológicos, como fungos e bactérias, que podem surgir pela manipulação e tempo de exposição às condições ambientais. No caso de meios de cultura já contaminadas pela manipulação, é indispensável a esterilização destes em seus respectivos frascos, que ocorre por meio de processo de autoclavação à temperatura de 120°C.

Além da esterilização do material de descarte, é aconselhável a neutralização química dos rejeitos deste tipo. De acordo com Sinski e colaboradores (2012), os meios de cultura, mesmo após autoclavagem, ainda possuem concentrações significativas de hormônios vegetais sintéticos (fitorreguladores) que ao serem lançados no meio ambiente podem causar distúrbios na fauna e flora, bem como serem substâncias carcinogênicas para humanos. Desta forma, é aconselhável a neutralização do pH destes resíduos após a autoclavagem para minimização dos impactos quando ocorrer o seu descarte definitivo.

Foi observada a produção de rejeitos químicos constituídos por sete tipos de solventes, sendo estes com propriedades químicas distintas (Tabela 2). Os solventes são utilizados na extração de metabólitos vegetais, tanto de material cultivado em condições naturais (*in situ* ou *in vivo*), quanto pela cultura de tecidos (*in vitro*). O hexano foi o solvente mais utilizado para as extrações de metabólitos vegetais durante o período, seguido pelo etanol, sendo usados em menor proporção, acetona e clorofórmio. O armazenamento de solventes no NBV/UERJ se dá em garrafas de coloração âmbar de 1L, sendo dispostos individualmente em prateleiras e acondicionados em sala de análise química usualmente climatizada durante a semana de atividades acadêmicas.

Tabela 2 - Resíduos de solventes (líquido do Grupo A) descartados semanalmente, em litros, no Laboratório de Biotecnologia de Plantas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro no período de abril e maio de 2014.



4. PROPOSTA DE SISTEMA DE GESTÃO DE RESÍDUOS EM LCTV

4.1. Critérios de segregação

A partir de sua geração, cada rejeito deve ser identificado com informações que serão adicionadas a uma ficha indicativa, específica para cada grupo de resíduo. Nesta ficha deverá conter informações relativas ao tipo e natureza do resíduo, a data do depósito, a quantidade depositada, o responsável pelo depósito e algumas observações adicionais pertinentes para permitir a sua separação adequada e colocação no local de Grupo a que pertence.

Caso haja mistura de rejeitos, inevitável ou acidental, deve ser considerado para a rotulação e manejo do rejeito. Esta medida visa atender principalmente ao depósito de solventes,



aonde pode ocorrer o depósito acidental de mais de um solvente por recipiente. No entanto, na área de observações da ficha deve ser sinalizada a natureza da mistura.

4.2. Condições de armazenamento

Resíduos biotecnológicos, do Grupo A, devem ser depositados em sacos plásticos pretos reforçados e lacrados, sendo armazenados em local seco e fresco, à temperatura ambiente. Para este tipo de resíduo, não é indicado o armazenamento por mais de 48 horas, sendo necessário o encaminhamento para a disposição final. Resíduos líquidos de meios de cultura devem ser armazenados em tambores plásticos, com tampa, vedados e armazenados em local fresco ao abrigo de insolação e temperaturas elevadas.

Resíduos do Grupo B, solventes orgânicos e inorgânicos devem ser depositados em garrafas de vidro, de coloração âmbar, sendo respeitada a natureza de cada substância, evitando-se misturas. O material deve ser armazenado em local seco, fresco e ao abrigo de iluminação.

Para os resíduos de Grupo D, considerados resíduos comuns, é importante que se faça a separação correta e armazenamento para posterior coleta seletiva em recipientes apropriados, sendo utilizados os de coloração azul para papel, vermelho para plástico, amarelo para metais, marrom para orgânicos e cinza para material não reciclável.

Os resíduos de Grupo E, materiais perfuro-cortantes, também podem seguir para a coleta seletiva, armazenando-se vidros em recipiente de coloração verde e metais em recipientes de coloração amarela. Se não for possível a aquisição de recipientes específicos, estes devem ser acondicionados em caixas de papelão, devidamente identificados.

4.3. Ações de gerenciamento – reutilização, reciclagem, tratamento

Resíduos orgânicos classificados como sendo de Grupo A devem receber um pré-tratamento antes de seu descarte. Sendo este grupo o de maior geração de resíduos nos trabalhos de culturas de tecidos vegetais, foi proposto um POP a fim de minimizar a ocorrência de desvios na execução das tarefas fundamentais, visando ao procedimento correto de tratamento.

Com o intuito de impedir a possível proliferação de contaminantes biológicos, deve ser realizada a esterilização do material por processo de autoclavagem, a 120°C por pelo menos 40 minutos. Após a esterilização, a porção residual sólida, compreendendo material biotecnológico, pode ser adequadamente armazenada e posteriormente encaminhada para seu destino final.

O resíduo de meios de cultura, na forma líquida após a autoclavagem, deve ser tratado quimicamente de modo a garantir a neutralização dos resíduos de fitorreguladores presentes. Para isto, Sinski e colaboradores (2012) indicam a utilização de 5% (p/v) de hidróxido de sódio (NaOH) nos resíduos, seguindo para incubação em recipiente fechado por 16 horas para a descontaminação. Após este período, o material alcalinizado deve ser neutralizado até atingir pH 7 a partir da adição cuidadosa de ácido clorídrico (HCL) em concentração 5N.

Para a realização destes procedimentos faz-se imprescindível a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) e coletivos (EPC). Como EPIs para este trabalho são indicados luvas, jaleco e óculos de proteção. Como principal EPC, todo o procedimento deve ser realizado em capela de exaustão, para evitar a inalação do vapor tóxico gerado. Após a descontaminação e neutralização dos meios de cultura, estes podem ser considerados resíduos orgânicos inertes, seguindo para o armazenamento adequado e posterior destinação final.

Para os resíduos enquadrados no Grupo B, notadamente, os resíduos de solventes orgânicos e inorgânicos utilizados no processo de extração de metabólitos vegetais, é indicada a reutilização, quando possível. O processo de extração de metabólitos envolve o uso de aparelhagem específica como o rotaevaporador, que é utilizado para concentração dos extratos e remoção dos solventes da solução.



Bons procedimentos de manuseio do aparelho, o uso de um balão volumétrico específico para cada tipo de solvente e a limpeza regular do aparelho garantem a pureza do resíduo de solvente evaporado durante a extração. Este solvente removido da solução pode ser então reutilizado para outras análises, reduzindo assim os custos com a aquisição de material e também a produção de resíduos desta natureza.

Resíduos de Grupos D e E podem ser triados e encaminhados para a reciclagem. Devido à natureza inorgânica inerte dos materiais destes grupos, a reciclagem por empresa específica pode ser considerada uma atitude amigável ao meio ambiente, além de facilitar no controle do material descartado.

4.4. Disposição final dos resíduos

Apresentando diversas vantagens, como a redução imediata do volume, anulação dos riscos de contaminação biológica e menor custo, a incineração pode ser considerada uma alternativa de disposição final segura. O tratamento térmico em altíssimas temperaturas garante a esterilidade do material, que pode ser encaminhado a um aterro especializado ao final do processo.

O processo de incineração deve atender às especificações estabelecidas pela Resolução CONAMA n° 316 de 2002, que “*Dispõe sobre procedimentos e critérios para o funcionamento de sistemas de tratamento térmico de resíduos*”, sendo que tais resíduos se enquadram no segundo artigo desta Resolução:

“Art. 2º Considera-se, para os fins desta Resolução:

I - Resíduos: os materiais ou substâncias, que sejam inservíveis ou não passíveis de aproveitamento econômico, resultantes de atividades de origem industrial, urbana, serviços de saúde, agrícola e comercial dentre os quais incluem-se aqueles provenientes de portos, aeroportos e fronteiras, e outras, além dos contaminados por agrotóxicos;”

Deste modo serão garantidos a esterilização do material bem como o controle da emissão de gases poluentes oriundos do processo. No entanto, para este procedimento deve ser contratada uma empresa especializada que realize tal processo, podendo o laboratório firmar parcerias para a disposição final de seus resíduos orgânicos não recicláveis ou reutilizáveis.

Os resíduos inorgânicos inertes de Grupos D e E podem ser encaminhados para disposição final em aterros sanitários administrados pelo Estado, a partir do agrupamento em resíduos sólidos comuns e transportados por empresa prestadora de serviços da prefeitura.

5. CONCLUSÕES

Considerando-se o porte do Labplan/UERJ e a quantidade de resíduo mensal produzida, a implantação de um SGR mostra-se completamente viável. Esta implementação pode garantir melhor controle de fluxo de resíduos, conscientização por parte dos usuários do laboratório e minimização de desperdícios de materiais. A identificação e quantificação dos tipos de rejeitos do laboratório ajuda na logística do processo de descarte, fornecendo alternativas como a minimização, o reaproveitamento e a reciclagem de alguns resíduos.

Propõe-se, por fim, que os laboratórios que realizam, ou que pretendam realizar trabalhos na área de Cultura de Tecidos Vegetais, firmem parcerias com empresas especializadas na remoção e



incineração dos resíduos orgânicos, garantindo assim uma melhor alternativa de disposição final dos rejeitos deste tipo de trabalho.

Agradecimentos

À equipe técnica do Laboratório de Biotecnologia de Plantas da UERJ (Labplan) pelo auxílio no fornecimento de informações à pesquisa realizada; à Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo auxílio financeiro e bolsas.

6. REFERÊNCIAS

ALBARELLO, N.; SIMÕES, C.; ROSAS, P. F. G.; CASTRO, T. C.; GIANFALDONI, M. G.; CALLADO, C. H.; MANSUR, E. **In vitro propagation of *Cleome spinosa* (Capparaceae) using explants from nursery-grown seedlings and axenic plants.** *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*, v. 43, p. 601-606, 2006.

ALBARELLO, N.; SIMÕES, C.; CASTRO, T.; GAYER, C. R.; COELHO, M. G. P.; MOURA, R.; MANSUR, E. **Anti-inflammatory and antinociceptive activity of field-growth plants and tissue culture of *Cleome spinosa* (Jacq.) in mice.** *Journal of Medicinal Plant Research*, v. 7, p. 1043-1049, 2013.

BARBOSA, D. P.; OIGMAN, S. S.; COSTA, M. A. S.; PACHECO, E. B. **Gerenciamento de resíduos dos laboratórios do instituto de química da universidade do estado do Rio de Janeiro como um projeto educacional e ambiental.** *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 8, n. 3, p. 114 - 119, 2003.

BARBOZA, T. J. S.; LAGE, D. A.; MOSS, V. B.; SOUZA, C. A.; ALBARELLO, N. **Efeito de diferentes meios nutritivos e fitoreguladores visando à otimização da calogênese de *Annona mucosa* (Jacq.).** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Campinas*, v. 16, n. 4, p. 905-911, 2014.

BRASIL. **Legislação de Direito Ambiental.** São Paulo: Saraiva, 2015. 1136 p.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. **Meios nutritivos.** In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética em plantas.** Brasília: Ed. da Embrapa, v.1, p.87-132, 1998.

CASTRO, T. C.; DE PAULA, A.; SIMOES-GURGEL, C.; ALBARELLO, N. **Micropropagação de plantas medicinais: treinamento e capacitação de alunos de Ciências Biológicas na área de Biotecnologia Vegetal.** *Revista Aproximando*, v. 2, p. 1-9, 2016.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 05, de 05 de agosto de 1993. Dispõe sobre o gerenciamento de resíduos sólidos gerados nos portos, aeroportos, terminais ferroviários e rodoviários. Disponível: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res93/res0593.html>. Acesso em: 07 jul. 2016.



CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 313, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais. Disponível: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=335>. Acesso em: 07 jul. 2016.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 316, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre procedimentos e critérios para o funcionamento de sistemas de tratamento térmico de resíduos. Disponível: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res02/res31602.html>. Acesso em: 07 jul. 2016.

CORDEIRO, L. S.; SIMÕES-GURGEL, C.; ALBARELLO, N.; ENGELMANN, F. **Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of *Cleome rosea* Vahl (Cleomaceae) using the V cryo-plate technique.** *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*, v. 51, p. 688-695, 2015a.

CORDEIRO, L. S.; SIMÕES-GURGEL, C.; ALBARELLO, N. **Multiplication and cryopreservation of adventitious roots of *Cleome rosea* Vahl.** *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, v. 51, p. 249-257, 2015b.

DELICHEH, K. S.; KASHEFI, B.; MOHAMMADHASSAN, R. **A review optimization of tissue culture medium medicinal plant: Thyme.** *International Journal of Farming and Allied Sciences*, v. 3, n. 9, p. 1015-1019, 2014.

GARCIA, L. P.; ZANETTI-RAMOS, B. G. **Gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde: uma questão de biossegurança.** *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 20 (3): 744 - 752, mai-jun, 2004.

LAGE, D. A.; TIRADO, M. S.; VANICORE, S. R.; SABINO, K. C. C.; ALBARELLO, N. **Production of betalains from callus and cell suspension cultures of *Pereskia aculeata* Miller, an unconventional leafy vegetable.** *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 122, p. 341-350, 2015.

LEMONS, S. D. C.; LYRA, J.; REBELLO, T. J. J.; MARQUES, M.; ALBARELLO, N. **Germinação *in vitro* e desenvolvimento pós-seminal de arruda sob influência de fenantreno e benzo[a]pireno.** *Revista Ciência Agronômica*, v. 47, p. 737-743, 2016.

MACHADO, C. J. S.; VILANI, R. M.; FRANCO, M. G.; LEMOS, S. D. C. **Legislação ambiental e degradação ambiental do solo pela atividade petrolífera no Brasil.** *Desenvolvimento e Meio Ambiente (UFPR)*, v. 28, p. 41-55, 2013.

MANO, Eloisa Biasotto; PACHECO, Élen B. A. V.; BONELLI, Cláudia M. C. **Meio ambiente, poluição e reciclagem.** São Paulo: Blucher, 2010. 182 p.

MAROUN, Christianne Arraes. **Manual de gerenciamento de resíduos: guia de procedimentos passo a passo.** Rio de Janeiro: GMA, 2006. 16 p.

PACHECO, E. V.; HMAIS, C. A.; FONTOURA, G. A. T.; RODRIGUES, F. A. **Tratamento de resíduos gerados em laboratórios de polímeros: um caso bem sucedido de parceria universidade-empresa.** *Ciência e tecnologia*, v.13, n.1, p.14-21, 2003.

PMGIRS - PLANO MUNICIPAL DE GESTÃO INTEGRADA DE RESÍDUOS SÓLIDOS DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO, 2016 Disponível:



http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/3035089/DLFE247507.pdf/Plano_Gestao_Integrada_Residuos.pdf. Acesso em: 07 jul. 2016

PGGR - PLANO GERAL DE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DA UFPA, 2008. Disponível: <http://www.ufpa.br/prefeitura/relatorios/PGRSS.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2016.

SILVA, J. M.; ROGRIGUES, A. B.; SAMPAIO, F. S. O.; OLIVEIRA, E. M. S.; TORRES, G. R.; BORGES, S. S. S. **Gerenciamento de resíduos laboratoriais: a experiência do PROGERE-UFC**. Extensão em ação, v.1, n.8, p.99-107, 2015.

SIMÕES, C.; ALBARELLO, N.; CALLADO, C. H.; CASTRO, T. C.; MANSUR, E. **New approaches for shoot production and establishment of *in vitro* root cultures of *Cleome rosea* Vahl**. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, v. 98, p. 79-86, 2009.

SIMÕES, C.; ALBARELLO, N.; CALLADO, C. H.; CASTRO, T. C.; MANSUR, E. **Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus cultures of *Cleome rosea* Vahl**. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 53, p. 679-686, 2010.

SINSKI, I.; BOSCO, D. D.; QUECINI, V. Resíduo de ácido 2,4-diclorofenóxi-acético em vidrarias de cultura de tecidos: efeitos sobre o cultivo de plantas *in vitro* e desenvolvimento de um protocolo para descontaminação. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento 17 - Embrapa Uva e Vinho**, Bento Gonçalves, RS, 2012. 24 p.

SOUZA, Antônio da Silva; JUNGHANS, Tatiana Góes. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 152 p.

TEIXEIRA, C. E.; MORAES, S. L.; MOTTA, F. G.; SHIBATA, A. P. **Concepção de um sistema de gestão de resíduos de laboratório: estudo de caso de um instituto de pesquisa**. Revista Eletrônica Sistemas & Gestão, v. 7, n. 4, p. 554-568, 2012.