

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		1 de 13



Patrocinador do Estudo: SPARTAN DO BRASIL PROD. QUÍM. LTDA.
Rua Dr. Fernão Pompeu de Camargo, 1704/52
Campinas – SP CEP: 13040-010

Executado por: Laboratórios Ecolyzer Ltda.
Rua Romão Puiggari, 898 – Vl. das Mercês
CEP: 04164-001 – São Paulo - SP
Fone/Fax: (0XX11) 6969-5020
E-mail: ecolyzer@uol.com.br

Diretor de Estudo: Bianca Uehara
Técnica Química
Rua Ana Russo Vestri, 173 – Riacho Grande
São Bernardo do Campo – SP CEP: 09830-200

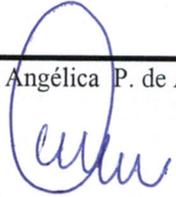
Data de Início do Estudo: 15/09/04

Data de Início do Teste: 15/09/04

Data de Término do Teste: 04/10/04

Data de Término do Estudo: 29/10/04

Data de Conclusão do Relatório Final: 29/10/04

Nível de Documento IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
--------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		2 de 13



ÍNDICE

	página
Folha Rosto	1
Índice	2
Declaração do Acompanhamento do Estudo	3
Declaração da Unidade de garantia de Qualidade	4
Informações Gerais	5
Resumo	6
1. Introdução	6
2. Objetivo	7
3. Materiais	7
4. Procedimentos	8 - 10
5. Resultados	11
6. Conclusão	11
7. Referências	11
Tabelas 1 e 2	12
Gráfico 1. – Curva de Biodegradação	13

<u>Nível de Documento</u> IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo
---------------------------------	----------------------------------	--

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		3 de 13

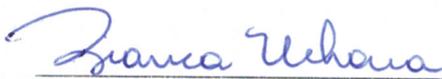


Declaração de Acompanhamento do Estudo

Nós abaixo assinado, declaramos que o estudo identificado como B1 – 6719/04.2, de título "Determinação da Biodegradabilidade de Tensoativos Aniônicos do produto **YELLOW PINE**", foi executado sob a nossa supervisão, conforme os procedimentos nele descritos.

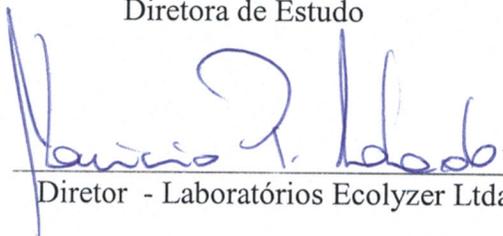
Este relatório representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos. Todos os dados brutos e observações referentes a este estudo foram registrados e estão arquivados nos Laboratórios Ecolyzer Ltda. O relatório final, foi enviado para **SPARTAN DO BRASIL PRODUTOS QUÍMICOS LTDA.**

O presente laudo foi emitido em uma via original e refere-se somente a amostra analisada.



Bianca Uehara
Diretora de Estudo

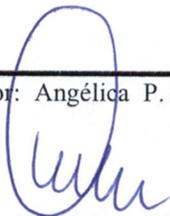
09/11/04
Data


Diretor - Laboratórios Ecolyzer Ltda

10/11/04
Data

Representante - Patrocinador

/ /
Data

Nível de Documento IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
--------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		4 de 13



Declaração da Unidade de Garantia de Qualidade

Através da realização de inspeções durante a fase experimental e do Relatório Final, certificamos que o estudo foi conduzido dentro das datas, métodos e procedimentos estabelecidos conforme o Protocolo de Estudo.

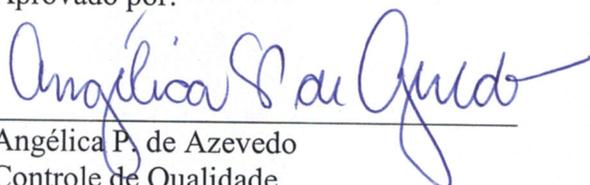
Preparado por:



Bianca Uehara
Diretora de Estudo – Técnica Química
CRQ 04456620 – 4ª região
Ecolyzer

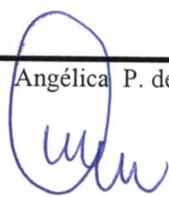
09/11/04
Data

Aprovado por:



Angélica P. de Azevedo
Controle de Qualidade
Ecolyzer

10/11/04
Data

Nível de Documento IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
--------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		5 de 13



INFORMAÇÕES GERAIS

Substância teste: YELLOW PINE

Número do lote declarado: 04/1323

Número do registro: (ECOLYZER): 6719/04

Apresentação: Líquido homogêneo opaco amarelo

Quantidade de amostra: 250mL

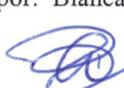
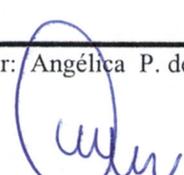
Datas:

Recebimento da amostra: 19/08/04

Estudo: Início: 15/09/04
Conclusão: 29/10/04

Teste: Início: 15/09/04
Conclusão: 04/10/04

Laudos: Conclusão: 29/10/04

<u>Nível de Documento</u> IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
---------------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		6 de 13



RESUMO

O teste de biodegradabilidade do tensoativo utilizado na composição do produto **YELLOW PINE**, foi realizado em duplicata, acompanhadas das referências n-DBSS e TPBSS, em frascos e sob agitação constante de 90 a 100 rpm. Os tratamentos foram incubados durante 19 dias e periodicamente foram avaliadas as taxas de biodegradação, através do método espectrofotométrico do azul de metileno que determina a concentração de tensoativos aniônicos. Através dos resultados obtidos, nas condições do ensaio, o produto **YELLOW PINE**, apresentou uma biodegradação de 90,1%. A porcentagem de biodegradação da referência n-DBSS foi de 94,2% e da referência TPBSS foi de 29,0%.

1. INTRODUÇÃO

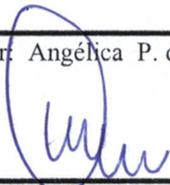
Este estudo consiste na medida da biodegradação dos tensoativos presentes na amostra, sob condições específicas, tendo como referências o n-DBSS e o TPBSS, testados em paralelo como critério de verificação da validade do ensaio.

A metodologia adotada está fundamentada na reação do azul de metileno com os tensoativos aniônicos, e tem como característica principal a formação de um sal solúvel em clorofórmio, que sofre posterior quantificação de concentração por espectrofotometria. Conforme o aumento da biodegradação dos tensoativos aniônicos ocorre uma diminuição de resposta ao método do azul de metileno.

A amostra é considerada satisfatória quando o grau de biodegradabilidade do tensoativo testado for igual ou superior ao grau de biodegradabilidade do n-DBSS (mínimo de 90 %).

1.1. Definições:

- **Tensoativo biodegradável** - é uma substância química com propriedades tensoativas susceptível de decomposição e degradação por microrganismos e que, em decorrência desses processos, não dê origem a substâncias consideradas nocivas ao meio ambiente ou que possuam grau de toxicidade superior ao da substância tensoativa original.
- **Grau de Biodegradabilidade** - é expresso em porcentagem e refere-se a substâncias ativas ao azul de metileno que desaparecem sob as condições de ensaio.
- **Substâncias Ativas ao Azul de Metileno (SAAM)** - referem-se aos compostos aniônicos capazes de reagir com o azul de metileno.
- **n-DBSS** - n-dodecil benzeno sulfonato de sódio, padrão biodegradável, com porcentagem de biodegradação mínima de 90%.

<u>Nível de Documento</u> IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
---------------------------------	---	---



LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		7 de 13

- **TPBSS** – Tetrapropileno benzeno sulfonato de sódio, padrão bioresistente, com biodegração máxima de 35%.

2. OBJETIVO

Este ensaio tem como objetivo a determinação da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos utilizados na composição de saneantes ou tensoativos aniônicos puros comercializados no Brasil. Utiliza-se o Método da Portaria N° 393, da Secretaria de Vigilância Sanitária, M.S., de 15 de Maio de 1998.

3. MATERIAIS

3.1. Substância Teste:

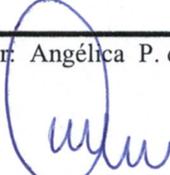
A substância teste foi o produto **YELLOW PINE** de protocolo ECOLYZER N° 6719/04.

3.2. Materiais e Equipamentos

- Mesa Agitadora Orbital;
- Espectrofotômetro

3.3. Reagentes e Soluções

- 3.3.1. Solução Traços;
- 3.3.2. Solução Padrão de Cloreto de Benzalcôneo 0.004M;
- 3.3.3. Solução padrão de n-DBSS 0,004M;
- 3.3.4. Solução de Azul de Metileno;
- 3.3.5. Solução Ácida de Azul de Metileno;
- 3.3.9. Clorofórmio P.A.;
- 3.3.10. Solução Padrão de n-DBSS;
- 3.3.11. Solução de Ácido Sulfúrico 6N;
- 3.3.12. Solução de Lavagem.

<u>Nível de Documento</u> IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
---------------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		8 de 13



4. PROCEDIMENTOS

4.1. Determinação da porcentagem de Tensoativos Aniônicos

Determinou-se o teor de tensoativos aniônicos no produto em teste pelo Método do Azul de Metileno (4.3.).

4.2. Determinação da % de tensoativos aniônicos pelo Método Titulométrico do Azul de Metileno.

Pesou-se analiticamente uma massa de 1,0 g da amostra em para balão volumétrico de 100 mL.

Transferiu-se 10 mL da solução para uma proveta de 100 mL com tampa e adicionou-se 25 mL da Solução Ácida de Azul de Metileno e 15 mL de Clorofórmio. Titulou-se com Solução de Cloreto de Benzalcôneo, até a igualdade de tom de azul entre a fase orgânica e a fase aquosa. A cada adição de Solução de Cloreto de Benzalcôneo agitou-se a proveta intensamente.

A concentração de tensoativos (%) foi calculada pela seguinte equação:

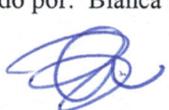
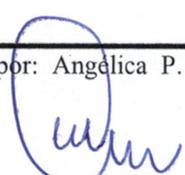
$$\% = \frac{0,02 \times V \times F \times MM}{m \times 5}$$

onde: MM – Massa molar do tensoativo presente;
F – Fator de correção do titulante;
V – Volume gasto em mL;
m – Massa da amostra.

4.3. Método Espectrofotométrico do Azul de Metileno

Preparou-se uma curva padrão de calibração. Tomou-se 5 funis de separação de 250 mL e adicionou-se a cada um 0, 1, 3, 5 e 7 mL da solução padrão de 10 mg/L de n-DBSS e água suficiente para completar o volume de 100 mL. Adicionou-se gotas de NaOH 1N tendo fenolftaleína como indicador, até obtenção de coloração rosa pálida e descorou-se com H₂SO₄ 1N. Adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 25 mL de azul de metileno I, agitando-se vigorosamente por 30 segundos. Separou-se a fase orgânica para outro funil de separação e repetiu-se por duas vezes o processo de extração com 10 mL de clorofórmio, juntando-se as fases orgânicas. Adicionou-se à fase orgânica 50 mL da Solução de Lavagem agitando-se vigorosamente por 30 segundos. Transferiu-se a fase orgânica para um balão volumétrico de 100 mL e completa-se o volume com clorofórmio.

A absorbância é determinada em espectrofotômetro a 652 nm usando o clorofórmio como branco. Traçou-se o gráfico Concentração de Tensoativo (ppm) X Absorbância.

<u>Nível de Documento</u> IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
---------------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		9 de 13



4.4. Obtenção e tratamento do inóculo

Pesou-se 100 g de solo fértil de jardim (com baixo teor de argila, areia e matéria orgânica) e suspendeu-se em água deionizada para se obter 1000 mL. Deixou-se em repouso por 30 minutos. Filtrou-se o sobrenadante através de papel de filtro, desprezando os primeiros 200 mL. Manteve-se o filtrado em condições aeróbicas até o momento do ensaio. O número de microrganismos inoculados foi de $5,0 \times 10^5$ células viáveis/mL. A contagem foi feita pelo Método de “pour-plate” para contagem de microrganismos heterófilos em placas.

4.5. Meio Mineral

Para cada 1000 mL de água deionizada, adicionou-se 1 mL das soluções A, B, C e D.

4.6. Procedimentos de Montagem

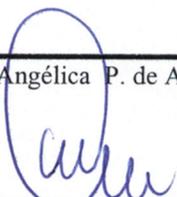
Preparou-se as soluções de referência n-DBSS e TPBSS contendo 1 g/L de SAAM e determinou-se a concentração dessas soluções pelo Método descrito no item (4.3.). Para cada 500 mL de Meio Mineral, colocado em frascos âmbar de 1000 mL adicionou-se 2,5 mL da solução 1g/L da amostra após extração alcóolica, afim de se obter uma concentração final de 5 mg/L. Procedeu-se da mesma forma para as substâncias de referência. O ensaio foi conduzido em duplicata tanto para amostra como para os padrões de referência durante 14 dias a uma temperatura de 25 ± 1 °C sob agitação de 90 a 100 rpm.

Retirou-se alíquotas nos 0°, 5°, 10°, 14° e 19° dias de incubação para determinação do conteúdo de SAAM. Determina-se a concentração a partir do método descrito no item (4.4.) e pela fórmula obtida através da curva de calibração obtida, descrita abaixo:

$$X = \frac{Y-A}{b} \times Fd$$

Onde:

- X = concentração em ppm;
- Y = Absorbância da amostra;
- A = Intercepção da curva padrão;
- B = Inclinação da curva padrão;
- Fd = Fator de diluição.

Nível de Documento IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
--------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		10 de 13



4.7. Cálculo dos Resultados em (%) de Tensoativos Aniônicos no produto em teste

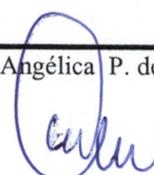
Para cada frasco teste determinou-se a concentração de tensoativos aniônicos pelo método descrito no item (4.4.).

Traçou-se uma curva de biodegradação utilizando a concentração da substância ativa das amostras e referências em mg/L versus o tempo em dias. Calculou-se a porcentagem de biodegradação das amostras e das referências através da seguinte fórmula:

$$AT = \frac{CO - CT}{CO} \times 100 \%$$

Onde:

- AT = Porcentagem de biodegradação no tempo t;
- CO = concentração inicial média da solução (em mg SAAM/L);
- CT = concentração de solução no tempo t (em mg SAAM/L).

<u>Nível de Documento</u> IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
---------------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		11 de 13



5. RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os teores em mg/L de tensoativos aniônicos encontrados no produto em teste e nas referências nos dias de coleta (0, 5, 10, 14 e 19).

A tabela 2 apresenta as porcentagens de biodegradação dos tensoativos aniônicos encontrados no produto em teste e nas referências nos dias de coleta (0, 5, 10, 14 e 19)

O gráfico 1 apresenta a curva de biodegradação do produto em teste e das referências n-DBSS e TPBSS.

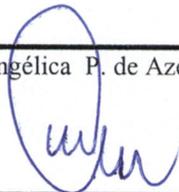
6. CONCLUSÃO

O produto **YELLOW PINE** apresentou um grau de biodegradabilidade de 90,1%, e foi considerado satisfatório, pois apresentou um grau de biodegradabilidade maior que 90%. O ensaio foi considerado válido pois as referências padrão apresentaram as seguintes condições: a referência n-DBSS apresentou um grau de biodegradabilidade superior a 90% e a referência TPBSS não biodegradou mais que 35 %, no período de 19 dias.

7. REFERÊNCIAS:

INCQS, Fundação Oswaldo Cruz. Manual da Qualidade. Método para Determinação da Biodegradabilidade de Tensoativos Aniônicos. 1998.

MS / SVS. Portaria N° 393, de 15 de Maio de 1998. Método para determinação da Biodegradabilidade de Tensoativos Aniônicos.

Nível de Documento IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo 
--------------------------	---	---

LABORATÓRIOS ECOLYZER LTDA	YELLOW PINE: DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS	B1- 6719/04.2
		12 de 13



Tabela 1. Teores em mg/L de Tensoativos Aniônicos encontrados no produto em teste e nas referências nos dias de coleta.

Dias	Teor (mg/L)		
	AMOSTRA	n-DBSS	TPBSS
0 ^o .	4,2	4,9	5,1
5 ^o .	1,8	0,9	4,3
10 ^o .	1,1	0,6	3,8
14 ^o .	0,5	0,3	3,6
19 ^o .	0,4	0,3	3,6

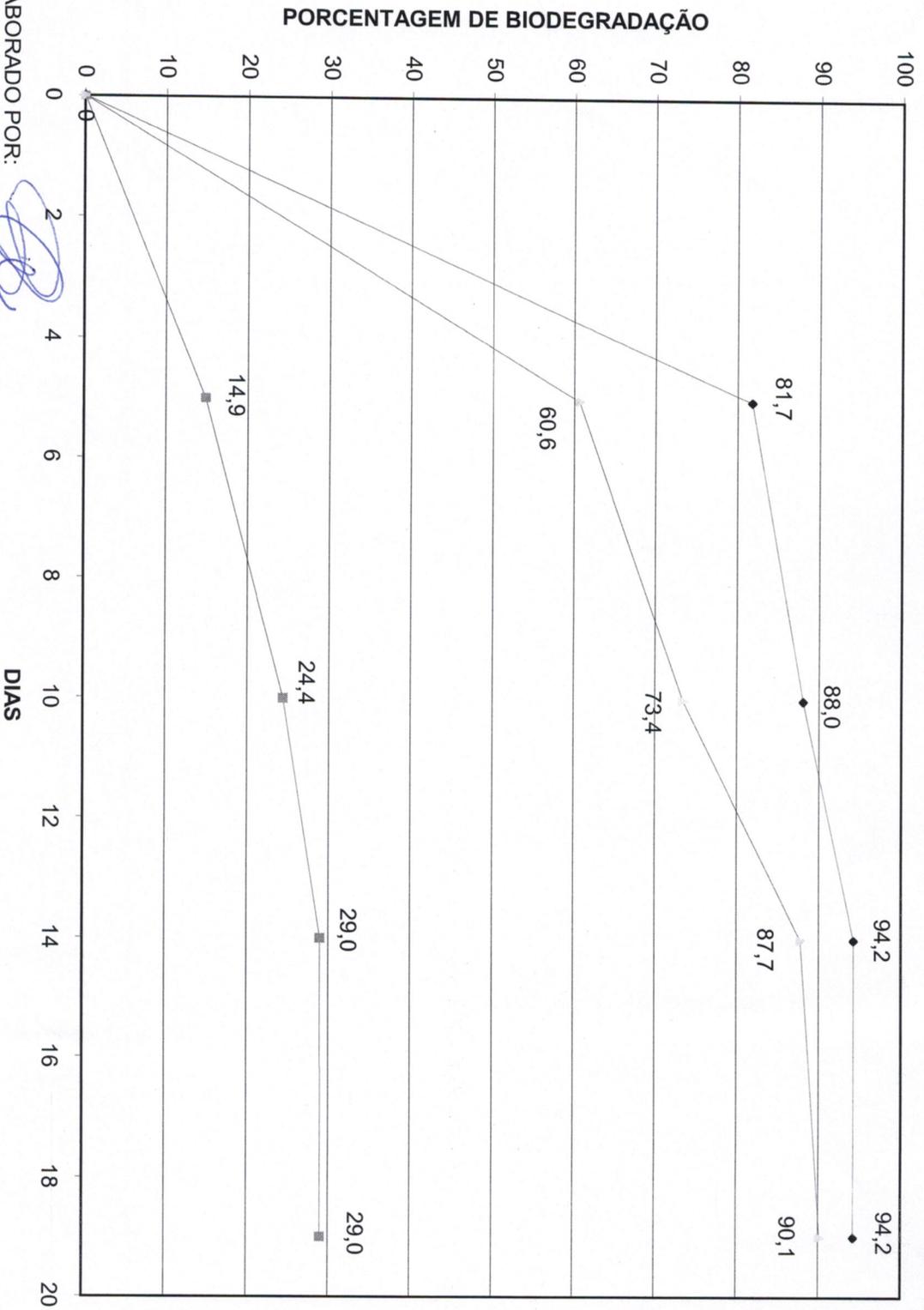
Tabela 2. Porcentagem de biodegradação dos Tensoativos Aniônicos encontrados no produto em teste e nas referências nos dias de coleta.

Dias	% de Biodegradação		
	AMOSTRA	n-DBSS	TPBSS
0 ^o .	0	0	0
5 ^o .	58,0	81,7	14,9
10 ^o .	73,4	88,0	24,4
14 ^o .	87,7	94,2	29,0
19 ^o .	90,1	94,2	29,0

Nível de Documento IV	Elaborado por: Bianca Uehara 	Aprovado por: Angélica P. de Azevedo
--------------------------	----------------------------------	--



CURVA DE BIODEGRADABILIDADE



ELABORADO POR:

VERIFICADO POR:

◆ n-DBSS
■ TPBSS
○ 6719/04.2