

RELATÓRIO DE ENSAIO

PEROXY PROTEIN REMOVEDOR

Ensaio de Biodegradabilidade Imediata

MÉTODO DE REFERÊNCIA: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Ready Biodegradability. Closed Bottle Test. 301 D, 1992.

IDENTIFICAÇÃO: Número do Relatório: **RL1904264BDI**

SOLICITANTE: Spartan Do Brasil Produtos Químicos Ltda.
Rodovia Adauto Campó Dall'Orto, Km 1,9 – SP
110/330,
Sumaré/SP – CEP: 13178-440.



ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	3
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	3
2.1	Dados da amostra	3
2.2	Dados dos organismos-teste	3
2.3	Condições de teste	4
2.4	Preparo das soluções-estoque	4
2.5	Preparo das soluções	4
2.6	Procedimentos	5
2.7	Determinação da Demanda Química de Oxigênio da amostra.....	5
2.8	Cálculo da Demanda Teórica de Oxigênio (DTO) da substância de referência.....	6
2.9	Tratamento dos resultados	6
2.10	Critérios de validação.....	7
3.	RESULTADOS.....	7
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
	TABELAS	8
	FIGURA	9



1. INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a biodegradabilidade imediata da amostra **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR**. O método consiste na diluição de uma concentração pré-estabelecida da amostra, seguida de exposição a um meio mineral contendo um inóculo de microrganismos em condições aeróbicas e na ausência de luz. A solução é mantida em frascos hermeticamente fechados (frascos de DBO), sob temperatura constante e a degradação é acompanhada por análises da concentração de oxigênio dissolvido durante um período de 28 dias. Tal procedimento permite determinar a porcentagem de biodegradação da amostra após 28 dias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia adotada segue a norma *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (Ready Biodegradability. Closed Bottle Test. 301 D, 1992)*.

2.1 Dados da amostra

Identificação da amostra: **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR**.

Número da amostra: 1904264.

Data de entrada: 29/01/2019.

Data de fabricação: 03/12/2018.

Data de validade: 03/12/2020.

Nº do Lote: 18/2131.

Acondicionamento: frasco plástico.

Estado Físico: Líquido.

Amostragem: sob responsabilidade do solicitante.

Demanda Química de Oxigênio (DQO)¹: 169044 mg/kg.

¹ Determinação realizada na amostra pura.

2.2 Dados dos organismos-teste

Espécie: microrganismos presentes em lodos ativados de estação de tratamento biológico de esgotos.

Procedência: ETE Barueri (Sabesp).

Concentração testada do lodo: 0,02 mg/L de sólidos suspensos.



2.3 Condições de teste

Data de início: 21/02/2019.

Data de término: 21/03/2019.

Temperatura da água: 20,4 a 25,9°C.

Fotoperíodo: escuro.

Duração: 28 dias.

2.4 Preparo das soluções-estoque

A solução-estoque da amostra (1000 mg/L) foi preparada pesando-se 0,1000 g em uma balança analítica e diluindo-se para um volume de 100,0 mL com água deionizada.

A solução-estoque da substância de referência (1000 mg/L) foi preparada pesando-se 0,1000 g de Benzoato de sódio em uma balança e diluindo-se para um volume de 100,0 mL com água deionizada.

2.5 Preparo das soluções

As soluções estoque foram constantemente homogeneizadas durante o preparo das soluções-teste. As soluções-teste foram preparadas em meio mineral sintético.

Para verificar a biodegradabilidade imediata da amostra foi preparada uma solução de 2,00 mg/L da amostra.

Para avaliar a atividade dos microrganismos presentes na água, foi preparada uma solução 2,00 mg/L com a substância de referência, benzoato de sódio.

Para avaliar se a amostra apresenta potencial de toxicidade para os microrganismos, foi preparado um controle de toxicidade (CT) composto por 2,00 mg/L da amostra e 2,00 mg/L substância de referência.

Um controle branco, somente com meio mineral sintético e inóculo de microrganismos, foi incluído no teste para eliminar o consumo de oxigênio de possíveis interferentes.

A tabela a seguir descreve o procedimento para o preparo das soluções-teste e controle branco:

Tratamento	Volume do recipiente (mL)	Volume da solução estoque – substância de referência (mL)	Volume da solução estoque – amostra (mL)	Volume de inóculo (μL)
Controle branco	3000	-	-	57,00
Substância de referência (2,00 mg/L)	3000	6,00	-	57,00
Amostra (2,00 mg/L)	3000	-	6,00	57,00
Controle de toxicidade	3000	6,00	6,00	57,00

Para todos os tratamentos foram preparados dez frascos de incubação, sendo utilizados dois frascos para cada dia de leitura.

2.6 Procedimentos

A concentração de oxigênio dissolvido ($\text{mg O}_2/\text{L}$) e o pH de todas as soluções-teste foram determinados no início do teste (dia 0). Nos dias 7, 14, 21 e 28, dois frascos de cada solução-teste foram removidos para a análise da concentração de oxigênio dissolvido de forma a determinar a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

2.7 Determinação da Demanda Química de Oxigênio da amostra

A demanda química de oxigênio (DQO) é a quantidade de oxigênio consumida durante a oxidação de uma substância quando aquecida com um agente oxidante forte (dicromato de potássio). Fornece a medida da quantidade de matéria oxidável presente e é expressa em mg de oxigênio consumido por mg de substância.

A análise da DQO da amostra foi realizada pelo método do refluxo fechado seguido de determinação colorimétrica, de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA *et al.*, 2005) e especificações do fabricante do equipamento (HACH, 1993).

A amostra foi homogeneizada e uma alíquota foi diluída em água deionizada, fornecendo uma solução estoque com concentração adequada para a análise. Este preparo foi realizado em duplicata e de cada solução preparada foi retirada uma alíquota para ser adicionada ao frasco



contendo os reagentes para a digestão ácida. Os tubos foram colocados em um bloco digestor a 150°C durante 2 horas. Um controle branco com água deionizada foi tratado da mesma forma. Após o resfriamento, através de um espectrofotômetro, foi verificada absorvância das soluções presentes nos tubos para que fosse determinada a DQO da amostra.

2.8 Cálculo da Demanda Teórica de Oxigênio (DTO) da substância de referência

Quando a fórmula molecular de uma substância química é conhecida, pode-se calcular a Demanda Teórica de Oxigênio, que é a quantidade total de oxigênio requerido para oxidar a substância completamente. A DTO é calculada a partir da fórmula molecular e peso molecular (PM) da substância, sendo expressa em mg de oxigênio requerido por mg de amostra, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$DTO = \frac{16[2c + 1/2(h - cl - 3n) + 3s + 5/2p + 1/2na - o]}{PM} \text{ mg/mg}$$

Onde,

c, h, cl, n, s, p, na, o: referem-se ao número de átomos de C, H, Cl, N, S, P, Na e O, respectivamente, presentes na molécula da substância.

A DTO do Benzoato de Sódio, calculada foi calculada em 1665394 mg/kg.

2.9 Tratamento dos resultados

Para cada dia de análise foi calculado o consumo líquido de oxigênio como a diferença no consumo de oxigênio do controle branco e das soluções-teste, nas condições de teste, e o resultado foi expresso em mg O₂/mg da substância testada:

$$DBO = \frac{(\text{mg O}_2 \text{ da amostra} - \text{mg O}_2 \text{ do branco})}{\text{mg de amostra}}$$

A biodegradabilidade (%D) foi calculada como a razão entre este consumo líquido de oxigênio (DBO) e a Demanda Química de Oxigênio (DQO) da amostra, expressa em porcentagem:

$$\% D = \frac{DBO (\text{mg O}_2 / \text{mg amostra})}{DQO (\text{mg O}_2 / \text{mg amostra})} * 100$$

A porcentagem de degradação (%D) da substância de referência foi calculada dividindo-se a DBO pela DTO.

Para que a amostra seja caracterizada como prontamente biodegradável esta deve apresentar um mínimo de 60% de biodegradação em até 14 dias após obtenção de 10% (janela de 14 dias), sendo que esta janela de 14 dias não deve ultrapassar os 28 dias de ensaio.

2.10 Critérios de validação

- O consumo de O₂ no controle branco não deve exceder 1,5 mg de oxigênio dissolvido/L após 28 dias.
- A porcentagem de biodegradação da substância de referência deve ser igual ou superior a 60%, ao final de 28 dias de incubação.
- A concentração residual de oxigênio nos tratamentos (amostra e de referência) deve estar acima de 0,5 mg/L, em qualquer tempo.

3. RESULTADOS

Os valores medidos de oxigênio dissolvido (mg/L) nas duas réplicas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 do controle branco, substância de referência, amostra **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR** (2,00 mg/L) e controle de toxicidade estão apresentados na Tabela 1.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de consumo líquido de oxigênio dissolvido (mg/L) após 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Os valores de consumo líquido de oxigênio dissolvido da amostra, do controle de toxicidade e da substância de referência durante os 28 dias de teste estão representados na Figura 1.

Foi verificado que houve consumo de 0,67 mg/L de oxigênio no controle branco, valor inferior ao limite de 1,50 mgO₂/L. A porcentagem de biodegradabilidade obtida para a substância de referência foi de 65%, valor este superior ao limite de 60% estabelecido pela norma de teste. A concentração residual de oxigênio nos tratamentos (amostra e de referência) ficou acima de 4,67 mgO₂/L. Todos os critérios de validação do teste foram atendidos (OECD, 1992).

O controle de toxicidade contendo a amostra e a substância de referência apresentou um consumo de oxigênio similar ao observado na substância de referência (benzoato de sódio), indicando que a amostra não apresentou toxicidade aos microrganismos.

Ao final do período de 28 dias de incubação, o consumo de oxigênio na solução da amostra foi superior ao do controle branco, indicando que a amostra sofreu degradação microbiana. A biodegradabilidade da amostra foi estimada em 99%, sendo que o mínimo de 60% de biodegradação durante a janela de 14 dias foi atingido, conforme estabelecido pela norma OECD (1992). Face aos resultados obtidos, a amostra **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR** foi considerada prontamente biodegradável após 28 dias.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Ready Biodegradability. Closed Bottle Test. 301 D, 1992.

APHA, AWWA; **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21st Edition, p. 4-118, 2005.

HACH **Spectrophotometer HACH DR/2000 Handbook: Procedures Manual**. Method 8000 - Oxygen Demand, Chemical, p. 387 - 392, 1993.

TABELAS

Tabela 1 - Determinação do oxigênio dissolvido (mg/L) nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 do controle branco, substância de referência (benzoato de sódio), **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR** e controle de toxicidade.

Tratamentos	Réplica	Oxigênio dissolvido (mg/L)				
		Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Controle branco	1	7,72	7,16	7,40	7,19	7,00
	2	7,74	7,28	7,28	7,12	7,13
	Média	7,73	7,22	7,34	7,16	7,07
Substância de referência	1	7,74	5,51	5,16	5,24	-
	2	7,73	5,35	5,23	4,67	4,95
	Média	7,74	5,43	5,20	4,96	4,95
Amostra	1	7,83	7,04	7,03	6,91	6,82
	2	7,84	7,12	7,07	6,93	6,85
	Média	7,84	7,08	7,05	6,92	6,84
Controle de toxicidade	1	7,80	5,17	4,91	4,95	4,66
	2	7,85	4,95	4,61	4,60	4,64
	Média	7,83	5,06	4,76	4,78	4,65

Tabela 2 - Consumo líquido de oxigênio dissolvido (mg/L) após 0, 7, 14, 21 e 28 dias para substância de referência (benzoato de sódio), **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR** e para o Controle de Toxicidade.

Solução	Consumo de oxigênio (mg O ₂ /mg amostra)			
	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Substância de referência	0,90	1,08	1,10	1,06
Amostra	0,12	0,20	0,17	0,17
Controle de toxicidade	0,56	0,67	0,62	0,63

FIGURA

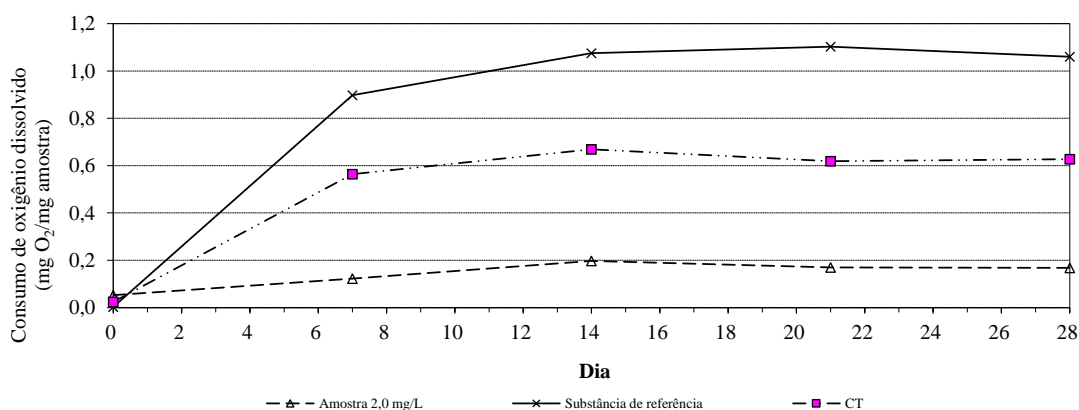


Figura 1 - Consumo líquido de oxigênio dissolvido das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade Imediata para a amostra **PEROXY PROTEIN REMOVEDOR**.

Notas:

A temperatura apresentou um desvio com relação a faixa recomendada, porém esse desvio não foi impactante para o resultado do ensaio, uma vez que o critério de validação foi atingido.

Os resultados apresentados referem-se exclusivamente à amostra analisada.

A reprodução parcial deste relatório de ensaio requer autorização formal por parte do TECAM Laboratórios.

São Paulo, 05 de Abril de 2019.

Aline Mrotzeck Masquetto
Bióloga (BSc)
CRBio 89054/01-D