



RELATÓRIO DE ENSAIO

Sabonete Mimmo em Spray

Ensaio de Biodegradabilidade Imediata

MÉTODO:

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

IDENTIFICAÇÃO:

Número do Relatório: **RL2400691BDI**
Versão 2

DATA DE EMISSÃO:

05/07/2024

DADOS CADASTRAIS DO SOLICITANTE:

Cia. Suzano de Papel e Celulose S.A.
End: Estrado Lageado, s/n, Sala SBS,
CEP: 13486-199
Limeira / São Paulo.



ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	3
1.1 Materiais e Métodos	3
1.2 Dados dos organismos-teste.....	3
2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	3
2.1 Dados da amostra	3
2.2 Dados gerais	3
2.3 Condições de ensaio.....	3
3. PROCEDIMENTOS	4
3.1 Preparo das soluções-estoque	4
3.2 Preparo das soluções	4
3.3 Determinação da Demanda Química de Oxigênio da amostra	5
3.4 Cálculo da Demanda Teórica de Oxigênio (DTO) da substância de referência.....	5
3.5 Tratamento dos resultados	5
3.6 Critérios de validação	6
4. RESULTADOS	6
5. CONCLUSÃO.....	6
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
TABELAS E FIGURAS	7



1. INTRODUÇÃO

O objetivo deste ensaio foi avaliar a biodegradabilidade imediata da amostra **Sabonete Mimmo em Spray**. 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.

1.1 Materiais e Métodos

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

1.2 Dados dos organismos-teste

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

Procedência: ETE Genesis (Estação de tratamento de esgoto Santana de Parnaíba).

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

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 Dados da amostra

Identificação da amostra: **Sabonete Mimmo em Spray**.

Data de fabricação: 25/01/2024.

Data de vencimento: 25/01/2026.

Nº do Lote: E-9531.

Amostragem sob responsabilidade do solicitante.

2.2 Dados gerais

Número da amostra: 2400691.

Data de entrada: 01/04/2024.

Acondicionamento: Frasco plástico.

Estado Físico: Líquido.

Demandânia Química de Oxigênio (DQO)¹: 203180 mg/kg.

Ingrediente Ativo (IA): Lauril éter sulfato de sódio

Composição Declarada: Lauril éter sulfato de sódio - 8,4%

¹ Determinação realizada na amostra pura.

2.3 Condições de ensaio

Data de início: 25/04/2024 às 09h35.

Data de término: 23/05/2024 às 07h34.

Temperatura da água: 19,0 a 21,3°C.



Fotoperíodo: Escuro.

Duração: 28 dias.

3. PROCEDIMENTOS

3.1 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.

3.2 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 10,00 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 10,00 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)	Solução estoque: Substância de referência (mL)	Solução-estoque: Substância-teste (mL)	Volume de inóculo (µL)
Controle branco	3000	-	-	56,00
Substância de referência (2,00 mg/L)	3000	6,00	-	56,00
Amostra (10,00 mg/L)	3000	-	30,00	56,00
Controle de toxicidade	3000	6,00	30,00	56,00

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

A concentração de oxigênio dissolvido (mg O₂/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).

A temperatura da água foi verificada diariamente registradas automaticamente através de um sistema de medição contínua.



3.3 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 duplicita 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 absorbância das soluções presentes nos tubos para que fosse determinada a DQO da amostra.

3.4 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.

3.5 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:

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

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.

3.6 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%, em 14 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.

4. 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 **Sabonete Mimmo em Spray** (10,00 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 0,38 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 100%, 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 3,60 mgO₂/L. Todos os critérios de validação do teste foram atendidos (OECD, 1992).

5. CONCLUSÃO

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 100%, 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 **Sabonete Mimmo em Spray** foi considerada prontamente biodegradável após 28 dias.

6. 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 E FIGURAS

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), **Sabonete Mimmo em Spray** e controle de toxicidade.

Tratamentos	Réplica	Oxigênio dissolvido (mg/L)				
		Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Controle branco	1	8,60	8,49	8,40	8,31	8,20
	2	8,58	8,51	8,44	8,33	8,22
	Média	8,59	8,50	8,42	8,32	8,21
Substância de referência	1	8,61	6,90	6,12	4,69	3,96
	2	8,53	6,76	6,20	4,71	3,90
	Média	8,57	6,83	6,16	4,70	3,93
Amostra	1	8,67	6,94	5,66	4,90	3,81
	2	8,58	6,90	5,72	5,01	4,00
	Média	8,63	6,92	5,69	4,96	3,91
Controle de toxicidade	1	8,80	6,99	5,91	4,40	3,60
	2	8,72	6,81	5,88	4,44	3,71
	Média	8,76	6,90	5,90	4,42	3,66

Tabela 2 – Consumo líquido de oxigênio dissolvido (mg/L) após 0, 7, 14, 21 e 28 dias para substância de referência (benzoato de sódio), **Sabonete Mimmo em Spray** 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	0,83	1,12	1,80	2,13
Amostra	0,16	0,28	0,34	0,43
Controle de toxicidade	0,44	0,67	1,02	1,18



FIGURAS

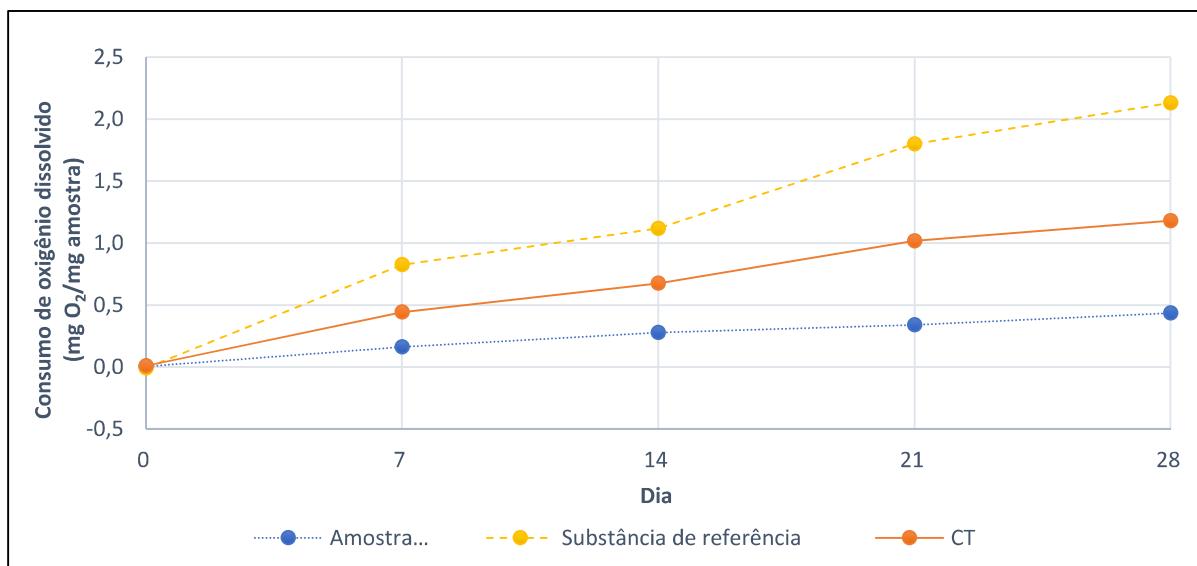


Figura 1 - Consumo líquido de oxigênio dissolvido das soluções preparadas para o Teste de Biodegradabilidade Imediata para a amostra **Sabonete Mimmo em Spray**.



Laboratório de ensaio acreditado pela Cgcre de acordo
com a ABNT NBR/IEC 17025, sob número CRL 0395

Notas:

Os resultados apresentados referem-se exclusivamente à(s) amostra(s) analisada(s).
A reprodução parcial deste relatório de ensaio requer autorização formal por parte da ALS.
O(s) resultado(s) obtido(s) se aplica(m) à amostra conforme recebida.
As informações cadastrais e da amostra foram fornecidas pelo solicitante.
A temperatura apresentou um desvio com relação a faixa recomendada (20,0 – 24,0°C), porém esse desvio não foi impactante para o resultado do ensaio, uma vez que o critério de validação foi atingido.

Histórico de alterações:

Versão 2 – Correção do nome da amostra e inclusão do anexo 1 por solicitação do cliente.

Revisores

Silvio Luiz Scalco Junior

SILVIO LUIZ SCALCO
JUNIOR:422173898
74

Silvio Luiz Scalco Junior
Biólogo (BSC) – CRBio 135116/01-D
