

Biodegradabilidade de Substâncias Tensoativas

PORTARIA SVS 120, DE 24 DE NOVEMBRO DE 1995

O Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, no uso de suas atribuições legais e considerando a necessidade de complementar a Portaria 112, de 14 de maio de 1982, que determina que as substâncias tensoativas aniônicas, utilizadas na composição de saneantes de qualquer natureza, devam ser BIODEGRADÁVEIS, resolve:

Art. 1o. Estabelecer o "Método para determinação da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos", com validade em todo Território Nacional, conforme os Anexos I, II e III da presente Portaria.

Art. 2o. Esta Portaria entrará em vigor na data de sua publicação, ficando revogadas as disposições em contrário.

ELISALDO L. A. CARLINI

ANEXO I

MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE

1. OBJETIVO

Esta norma estabelece a metodologia a ser adotada para determinação da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos utilizados na composição de saneantes ou tensoativos aniônicos puros.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Esta norma aplica-se à análise de todos os produtos que contenham tensoativos aniônicos comercializados no Brasil (4.2).

3. SIGLAS

São usadas no texto desta norma as seguintes siglas:

n-DBSS - n-Dodecil benzeno sulfonato de sódio

TPBSS - Tetrapropileno benzeno sulfonato de sódio

SAAM - Substância ativa ao azul de metileno

MAM - Método do azul de metileno

EPI - Equipamento de proteção individual

EPC - Equipamento de proteção coletiva

4. REFERÊNCIAS

4.1. AMERICAN Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**/ prepared and published jointly by American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. 18 ed Washington, D. C., C 1992. p. 5-36 a 5-38; 9-35 a 9-36.

4.2. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 112, de 14 de junho de 1982. Ref. substâncias tensoativas aniônicas, utilizadas na composição de saneantes de qualquer natureza, devem ser BIODEGRADÁVEIS. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, jun. 1982, p. 10904, Seção 1, pt.1.

4.3. ORGANISATION for Economic Co-operation and Development (OECD). Pollution by Detergents Determination of the biodegradability of anionic synthetic surface active agents Report submitted by the Expert Group on Biodegradability of Synthetic detergents. Paris, 1971.

5. DEFINIÇÕES

Para efeito desta norma são adotadas as seguintes definições:

5.1. Tensoativo biodegradável - é uma substância química com propriedades tensoativas, susceptível de decomposição e degradação por microorganismos 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.

5.2. Grau de biodegradabilidade - é a percentagem de substâncias ativas ao azul de metileno que desaparecem sob as condições do teste.

5.3. Substâncias ativas ao azul de metileno - referem-se aos compostos aniônicos capazes de reagir com o azul de metileno.

6. CONDIÇÕES GERAIS

6.1. Este método consiste na medida de biodegradação dos tensoativos presentes no produto em teste, sob condições específicas, tendo como referências o n-DBSS e TPBSS, testados em paralelo com critério de verificação da validade do teste.

Substâncias químicas, em especial, álcalis fortes, metais tóxicos, bactericidas e solventes orgânicos, em solução ou no ar, que impeçam a atividade dos microorganismos, podem retardar o processo de degradação ou influenciar no resultado final.

Compostos alcalinos e outras substâncias presentes em alguns produtos detergentes podem interferir no valor do pH. Por esta razão, o teste deve ser desenvolvido em soluções tampão utilizando o tensoativo obtido por extração alcóolica a partir do produto comercial.

7. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS

7.1. Preparo das amostras

7.1.1. Agentes tensoativos puros podem ser testados em seu estado original. Deve ser determinado o teor de SAAM pelo método do azul de metileno descrito no Anexo II, para o preparo das soluções teste.

7.1.2. Extração dos agentes tensoativos presentes no produto comercial.

Produtos formulados devem sofrer uma extração alcóolica de acordo com as seguintes condições:

- Extração alcóolica: se a amostra contém menos sabão do que SAAM.
- Extração alcóolica e remoção do sabão: se a amostra contém mais sabão do que SAAM.

Deve ser determinado o conteúdo de SAAM de ambos os extratos para o preparo das soluções teste, bem como, no produto comercial em análise, segundo o procedimento contido no Anexo II.

A extração é realizada com a finalidade de se eliminar os componentes inorgânicos e/ou insolúveis do produto em teste que poderiam interferir no teste de biodegradabilidade. A eliminação quantitativa destes componentes não é necessária, assim como não é necessária a extração quantitativa dos tensoativos. Entretanto, o extrato deve conter, pelo menos, 90% das substâncias que respondem ao azul de metileno, contidas no produto comercial a ser testado.

7.1.2.1. Materiais e equipamentos

7.1.2.1.1 - Reagentes e soluções

- Água deionizada
- Isopropanol P.A.
- Carbonato de potássio P.A.
- Hidróxido de sódio P.A.
- Solução de ácido clorídrico 2N
- Solução de hidróxido de sódio a 10%
- n-Hexano
- Metanol P.A.

7.1.2.1.2 - Vidraria

- Filtros buchner
- Kitasatos de 250ml
- Funis de separação de 250ml
- Bechers
- Balões volumétricos de 250 e 1000ml
- Pipetas volumétricos de 1,5 e 10ml
- Erlenmeyer de 250ml com tampa esmerilhada

7.1.2.1.3 - Equipamentos

- Banho-maria
- Agitador magnético

7.1.2.2. Procedimentos para produtos em pó

- Determinar a concentração do tensoativo no produto em teste, conforme descrito no Anexo II.
- Pesar aproximadamente 10g do produto, pulverizar bem e transferir para erlenmeyer de 250ml com rolha esmerilhada.
- Adicionar 20ml de solução saturada de K_2CO_3 (duas vezes em volume a massa do produto).
- Adicionar 30ml de isopropanol (3 vezes em volume a massa do produto).
- Agitar em agitador magnético por 30 minutos.
- Filtrar em buchner, lavando o resíduo com 10ml de isopropanol.
- Transferir as duas fases do filtrado para um funil de separação.
- Recolher a fase do isopropanol em um becher.

- Extrair a fase aquosa com 10ml de isopropanol, agitando por 1 minuto.
- Juntar os extratos alcoólicos desprezando a fase aquosa.
- Filtrar os extratos em cadinho filtrante com placa porosa no 4.
- Evaporar o extrato alcoólico em banho-maria, sem secar completamente.
- Redissolver em água e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1 litro completando o volume com água deionizada.
- Pipetar 1ml para balão de 250ml completar o volume com água deionizada.
- Pipetar 10ml desta solução e proceder à análise do teor de tensoativos aniônicos pelo método descrito no Anexo II, calculando a quantidade de tensoativo existente na amostra.
- Com base na concentração de tensoativo no produto original, determinada no primeiro item, calcular a quantidade de tensoativo na amostra tomada no segundo item.
- Calcular a porcentagem de tensoativo extraído e só prosseguir caso este valor seja maior ou igual a 90%.

7.1.2.3. Procedimentos para produtos líquidos

Caso o produto apresente caráter ácido deve ser neutralizado com KOH 10% até pH entre 6.0 e 8.0 antes da adição do K₂CO₃.

Contendo o produto cloro ativo, o mesmo deve ser inativado com sulfito de sódio antes de neutralização. Verificar a completa inativação do cloro.

- Pesar 20g do líquido para erlenmeyer de 250ml com rolha esmerilhada.
- Adicionar 8 a 10g de K₂CO₃ para saturar a água presente no líquido.
- Adicionar 30ml de isopropanol.
- Agitar em agitador magnético por 30 minutos.
- Repetir o procedimento descrito para produtos em pó a partir da filtração em buchner.

7.1.2.4. Procedimentos para produtos em que a quantidade de tensoativos aniônicos é inferior à quantidade de sabão no produto.

- Pesar 10g do sabão e transferir para erlenmeyer com rolha esmerilha.
- Adicionar 10ml de solução saturada de K₂CO₃ e 5g de K₂CO₃ sólido.
- Adicionar 30ml de isopropanol.
- Agitar em agitador magnético por 30 minutos.
- Filtrar em buchner e transferir para funil de separação as duas fases do filtrado, lavando antes o resíduo com 10ml do isopropanol, em um becher.
- Recolher a fase do isopropanol e lavar a fase aquosa com 10ml de isopropanol.
- Juntar os extratos alcoólicos e descartar a fase aquosa.
- Caso a solução não seja perfeitamente límpida, filtrar os extratos em cadinho filtrante com placa porosa no 4.

- Evaporar o isopropanol em banho-maria.
- Redissolver o resíduo em 60ml de metanol.
- Adicionar com HCl 2 N até pH próximo de 3.
- Adicional 20ml de água para cada 30ml de metanol.
- Transferir para funil de separação.
- Extrair com duas porções de 30ml de n-hexano, desprezando as mesmas.
- Transferir a fase metanol / água para um becher (ou outro recipiente), neutralizar com NaOH a 10%, evaporar o metanol em banho-maria, dissolver o resíduo com água destilada e levar a 1000ml em balão volumétrico.
- Repetir o procedimento descrito para produto em pó a partir da diluição para balão de 250ml.

7.2. Teste de biodegradabilidade

7.2.1. Obtenção e tratamento do inóculo

7.2.1.1. Material

- Frascos de vidro âmbar de 1000ml
- Funil de vidro
- Proveta de 250ml
- Bastão de vidro

7.2.1.2. Procedimento

- Coletar uma amostra de esgoto de aproximadamente 1000ml, em frasco de vidro âmbar, da saída do filtro biológico de uma estação de tratamento de esgoto doméstico. A estação deve estar em funcionamento regular. Evitar coleta em dias chuvosos, assim como após lavagem de tanques e remoção do conteúdo.
- Filtrar a amostra coletada em papel de filtro ou gaze e algodão, sendo os primeiros 200ml, aproximadamente, descartados e o restante guardado em condições aeróbicas até o momento do teste. O inóculo deve ser utilizado no dia da coleta.
- Alternativamente poderá ser utilizado, como inóculo, solo de jardim, procedendo-se da seguinte maneira:
 - Pesar 100g de solo fértil de jardim (com baixo teor de argila, areia e matéria orgânica) e suspender em água destilada ou da torneira, desde que seja isenta de cloro, para obter 1000ml. Deixar em repouso por 30 minutos.
 - Filtrar o sobrenadante através de papel de filtro grosso, desprezando os primeiros 200ml. Manter o restante do filtrado em condições aeróbicas até o momento do teste. O inóculo deve ser utilizado no dia do preparo.
- As amostras de inóculo devem apresentar, no mínimo, 100.000 unidade formadoras de colônias (u.f.c) / ml. A contagem deve ser feita pelo Método de "pour-plate" para contagem de microorganismo heterófilos em placas (4.1.).

7.2.1.3. Quantidade de inóculo

Determinar a quantidade apropriada de inóculo, experimentalmente, quando o método for utilizado pela primeira vez e quando ocorrer mudança na natureza do mesmo, da seguinte maneira:

Realizar ensaios preliminares (item 7.2.3) com as duas referências (item 7.2.2.1) de forma a determinar a quantidade de inóculo necessária para causar a biodegradação das mesmas, de acordo com as suas especificações. Geralmente, a quantidade de 0,5 a 1,0ml / I é adequada. É recomendado checar a quantidade de inóculo periodicamente e especialmente quando são observadas mudança no grau de biodegradabilidade das referências.

7.2.2. Material e equipamentos

7.2.2.1. Referências de biodegradabilidade

7.2.2.1.1. Referência n-DBSS - grau de biodegradabilidade mínima - 90%. Procedência Carlo Erba ou similar desde que quando ensaiada forneça os mesmos resultados.

7.2.2.1.2. Referência n-TPBSS - grau de biodegradabilidade máxima - 35%. Procedência Carlo Erba ou similar desde que quando ensaiada forneça os mesmos resultados.

7.2.2.2. Reagentes e soluções

- Água destilada ou deionizada livre de metais tóxicos (especialmente cobre).

- Solução de cloreto de mercúrio a 1%.

7.2.2.3. Meio mineral

Para um litro de água destilada ou deionizada, adicionar 1ml de cada uma das seguintes soluções:

a) Fosfato monopotássico P.A. 8,50g

Fosfato dipotássico P.A 21,75g

Fosfato monossódico dihidratado P.A. 33,40g

Cloreto de amônio P.A. 1,70g

Água destilada ou deionizada 1000,00ml

O valor do pH desta solução deve ser 7,2

b) Sulfato de magnésio heptahidratado P.A. 22,50g

Água destilada ou deionizada 1000,00ml

c) Cloreto de cálcio P.A. 27,50g

Água destilada ou deionizada 1000,00ml

d) Cloreto férrico hexahidratado P.A. 0,25g

Água destilada ou deionizada 1000,00ml

Distribuir em porções de 500ml em erlenmeyer de 1000ml.

Autoclavar a 121 oC durante 15 minutos.

7.2.2.4. Equipamentos específicos

Aparelho agitador com capacidade para erlenmeyers de 1000ml.

7.2.2.5. Preparo das soluções de referência n-DBSS e TPBSS

Preparar soluções estoque contendo 1g/l de SAAM.

Determinar precisamente a concentração destas soluções pelo Método descrito no Anexo II, preparando, a partir de cada uma, diluições contendo 5mg/l. Utilizar o valor encontrado nos demais cálculos que envolvam estas soluções.

7.2.3. Procedimento

Testar as amostras e referências em duplicata Empregar técnicas assépticas.

Para cada 500ml do meio mineral, colocado em um erlenmeyer de 1000ml, adicionar 2,5ml da solução estoque de n-DBSS, a fim de se obter uma concentração final de 5mg/l. A seguir, adicionar uma quantidade de inóculo determinada de acordo com o item 7.2.1.2. Proceder da mesma maneira para a referência TPBSS e para as amostras. Os sistemas teste devem estar livres de espuma.

Retirar, então, de cada sistema teste, 10ml e determinar em duplicata o teor de SAAM pelo Método descrito no Anexo III.

O valor médio das concentrações deve estar entre 4,5 e 5,5mg/l de SAAM, com precisão mínima de 0,1mg/l.

Caso as determinações não sejam realizadas dentro de três horas, adicionar uma quantidade da solução de cloreto de mercúrio, de forma a obter uma concentração final de 50mg/l.

Colocar os erlenmeyer no aparelho agitador e manter sob agitação constante de 80 a 110 rpm, a uma temperatura de 25 + 1 oC Celsius, ao abrigo da luz. O ar deve estar livre de produtos e materiais tóxicos, especialmente solventes clorados, fenóis e benzeno.

Retirar alíquotas de aproximadamente 20ml no 5o dia de incubação e em dias alternados a partir do 8o dia, progressivamente, para determinar o conteúdo de SAAM.

Aumentar a quantidade retirada em cada alíquota à medida que a biodegradação vai se processando, sendo no início de 10 a 20ml, aumentando para 100ml nas últimas amostras.

7.2.4. Critério para o encerramento do teste

Encerrar o teste quando a diferença entre dois valores num período de 4 dias seja inferior a 0,15mg/l. De qualquer forma, a duração do teste não deve exceder 19 dias.

7.2.5. Cálculo dos resultados

Traçar uma curva de % biodegradação utilizando a concentração da substância tensoativa em mg/l versus o tempo em dias.

Calcular a percentagem de biodegradação da amostra.

A percentagem de biodegradação das amostras e referências é calculada através da seguinte fórmula:

$$AT = CO - CT \times 100\%$$

CO

Onde: AT = percentagem 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).

O grau de biodegradabilidade de uma amostra (AE) é o valor de AT quando o valor de CT chega ao patamar definido em 7.2.4. Considerar a segunda amostra que apresenta estas condições para fins de cálculos.

A média aritmética dos valores correspondentes à AE das duas réplicas ensaiadas é o grau de biodegradabilidade da amostra.

Para amostras cujas curvas de biodegradação não apresentam as condições do item 7.2.4., o grau de biodegradabilidade é calculado com os valores obtidos no 19o dia.

7.2.6. Validade dos resultados:

Os resultados são válidos sob as seguintes condições:

- A referência n-DBSS deve apresentar um grau de biodegradabilidade superior a 90%, no período de 14 dias, sendo normalmente necessários 7 a 10 dias.
- A referência TPBSS deve biodegradar não mais do que 35%.

7.2.7. Interpretação dos resultados:

O produto é considerado satisfatório quando o grau de biodegradabilidade do tensoativo testado for igual ou superior ao grau de biodegradabilidade definido para o n-DBSS no item 7.2.2.1.1., considerado como referência de biodegradabilidade para este teste.

Nota: Ao manipular o metanol, clorofórmio e cloreto de mercúrio usar EPI (avental, luvas, óculos de proteção) e EPC (capelas), tendo em vista a toxicidade de tais substâncias.

ANEXO II

DETERMINAÇÃO DE TENSOATIVOS ANIÔNICOS EM

PRODUTOS COMERCIAIS E EXTRATOS

1. Material e equipamentos

- Filtros de Buchner
- Kitassatos de 250ml
- Becheres
- Balões volumétricos de 250 e 1000ml
- Erlenmeyer de 250ml com tampa
- Pipetas volumétricas de 3, 10 e 20ml
- Provetas de 100ml com tampa
- Banho-maria
- Agitador magnético

2. Reagentes

- Isopropanol P.A.
- Carbonato de potássio
- Hidróxido de potássio

- Ácido clorídrico
- Hidróxido de sódio
- n-Hexano
- Clorofórmio
- Metanol
- Lauril sulfato de sódio
- Cloreto de benzetônio
- Azul de metileno
- Ácido sulfúrico
- 3,8 - diamino - 5 - metil - 6 - fenilfenantridium brometo de (Dimidium bromide)
- Azul de bisulfina vn - 150

3. Procedimento

3.1. Preparo das soluções

- Indicador misto

Solução estoque - pesar exatamente cerca de 0,25g de azul de bisulfina vn - 150 em um becher de 50ml e 0,5g de brometo de 3,8 - diamino - 5 - metil - 6 - fenilfenantridium (Dimidium bromide) em outro beche de 50ml. Adicionar a cada becher, 25ml de solução de metanol a 10% (aquecida). Transferir as soluções para um balão de 250ml e completar o volume com solução de metanol a 10%.

Solução indicadora - misturar em balão volumétrico de 500ml, 20ml de solução estoque, 20ml de H₂SO₄ 2,4 M ou 3ml de H₂SO₄ concentrado e levar ao volume com água destilada.

- Solução padrão de cloreto de benzetônio 0,004 M.

Secar aproximadamente 2g de cloreto de benzetônio em estufa a 100 oC por 1 hora, esfriar em dessecador até temperatura ambiente e pesar com precisão cerca de 1,80g de cloreto de benzetônio, dissolver em água, acrescentar 0,4ml de NaOH 50% e transferir para um balão volumétrico de 1000ml, completando o volume com água destilada.

Padronizar esta solução com lauril sulfato de sódio padrão de 0,004 M.

Solução padrão de lauril sulfato de sódio 0,004 M.

Pesar com precisão cerca de 1,15g de lauril sulfato de sódio seco a 100 oC por 1 hora e dissolver em água e completar para 1000ml. Calcular a concentração utilizando a concentração (% p/p) determinada no item.

Padronização do lauril sulfato de sódio (A.3.2.).

- Solução de azul de metileno

Dissolver 0,5g de azul de metileno em água destilada e completar para 100ml.

- Solução ácida de azul de metileno

Adicionar 120ml de ácido sulfúrico 2 N, 50g de sulfato de sódio anidro e 6ml de solução de azul de metileno e completar com água destilada para 1000ml.

- Ácido sulfúrico 2 N

Diluir 54ml de ácido sulfúrico (densidade 1,84) em 200ml de água destilada e completar o volume para 1000ml.

3.2. Padronização do lauril sulfato de sódio

Pesar com precisão $5 + 0,2$ g de lauril sulfato de sódio em um balão de fundo redondo de 250ml com junta esmerilhada e adicionar 25ml de ácido sulfúrico 1N, através de um bureta de 50ml, adaptar condensador e manter em refluxo. Durante os primeiros 5 a 10 minutos a solução irá espumar. Quando cessar a espuma, ferver levemente durante 2 horas. Parar o aquecimento e esfriar a solução. Lavar o condensador com 30ml de água destilada e remover o frasco do condensador, adicionando algumas gotas de fenolftaleína e titular com hidróxido de sódio 1N até o aparecimento do primeiro tom de rosa. Processar um branco da mesma maneira como descrito para a solução padrão de lauril sulfato de sódio.

CÁLCULO:

$$\% \text{ p/p} = 28,84 (a - b)$$

P

onde:

a = volume em ml de hidróxido de sódio 1N, utilizado na titulação de lauril sulfato de sódio;

b = volume em ml de hidróxido de sódio 1N, utilizado na titulação do branco;

P = peso em grama de lauril sulfato de sódio.

3.3. Determinação do tensoativo aniônico - Titulação

3.3.1. Indicador Misto

Transferir uma quantidade de amostra que contenha, aproximadamente, 1 miliequivalente grama de tensoativo aniônico e diluir em H₂O destilada para 250ml. Adicionar 3 gotas de fenolftaleína e ajustar o pH da solução com hidróxido de sódio ou ácido sulfúrico diluído até a coloração rosa pálido. Completar o volume com H₂O e transferir um volume conveniente desta solução para uma proveta de 100ml com tampa e adicionar 10ml de solução indicadora mista e 10ml de clorofórmio. Titular com solução de cloreto de benzetônio. Ponto final fase orgânica passa de rosa para o primeiro tom de azul.

3.3.2. Azul de Metileno

Transferir uma quantidade de amostra que contenha, aproximadamente 1 miliequivalente grama de tensoativo aniônico e diluir em água destilada para 250ml.

Pipetar 10ml desta solução para uma proveta de 100ml, adicionar 25ml da solução ácida de azul de metileno e 15ml de clorofórmio.

Titular com solução padrão de cloreto de benzetônio, até a igualdade de tom de azul entre a fase orgânica e a aquosa.

3.4. Cálculo

$$\% = \text{FD} \times \text{PM} \times \text{M} \times \text{V} \times 0,1$$

P

Onde:

FD = Fator de diluição

PM = Peso molecular do tensoativo presente na amostra

M = Molaridade do titulante

V = Volume gasto em ml

P = Peso da amostra

ANEXO III

DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS AO AZUL DE METILENO PARA TESTE DE BIODEGRADABILIDADE

1. Material e equipamentos:

- Espectrofotômetro UV visível
- Funil de separação de 250ml
- Pipetas de 1, 3, 5, 10, 15, 20 e 25ml
- Provetas de 10,50 e 100ml

2. Reagentes

- Alquil benzeno sulfonato de sódio linear P.A. (LAS)
- Fenolftaleína P.A.
- Hidróxido de sódio P.A.
- Ácido sulfúrico concentrado
- Azul de metileno P.A.
- Clorofórmio P.A.
- Peróxido de hidrogênio 10 V
- Fosfato de sódio monobásico P.A.

3. Procedimento

3.1. Preparo das Soluções

- Solução estoque de LAS

Dissolver 1g de LAS em 1000ml de água destilada

Concentração: 1mg: 1ml de solução = 100 ppm.

- Solução padrão de LAS

Diluir 1ml da solução estoque em 100ml de água destilada

Concentração: 1mg: 1ml de solução = 10 ppm.

- Solução de fenolftaleína em meio alcoólico

Dissolver 1g de fenolftaleína em 60ml de álcool e diluir água destilada até 1000ml

- Solução de hidróxido de sódio 1 N

Dissolver 40g de hidróxido de sódio em água e completar para 1000ml

- Solução de ácido sulfúrico 1 N

Diluir 30ml de ácido sulfúrico concentrado em água e levar a 1000ml

- Solução de ácido sulfúrico 6 N

Diluir 167ml de ácido sulfúrico concentrado em água e levar a 1000ml

- Solução de azul de metileno

Dissolver 100g de azul de metileno em 100ml de água. Transferir 30ml para um balão de 1000ml, adicionar 500ml de água, mais 41ml de ácido sulfúrico 6 N e 50g de fosfato de sódio monobásico. Agitar até dissolver e completar o volume com água.

- Solução de lavagem

Adicionar 41ml de ácido sulfúrico 6 N em balão volumétrico de 1000ml mais 50g de fosfato de sódio monobásico. Agitar até dissolver e completar o volume com água.

3.2. Preparo da curva de calibração:

Tomar 10 funis de separação de 250ml e adicionar 0, 1, 3, 5, 7ml da solução padrão, mais água suficiente para completar o volume de 100ml. Adicionar gotas de NaOH 1 N tendo fenolftaleína como indicador, até obter coloração rosa pálido e descorar em seguida com H₂SO₂ 1 N. Adicionar 10ml de clorofórmio, e 25ml de azul de metileno, agitando vigorosamente por 30 segundos.

Caso haja formação de emulsão adicionar 10ml ou menos álcool isopropílico que deverá ser usado em todos os padrões e amostras.

Separar a fase orgânica para outro funil de separação e repetir por duas vezes o processo de extração com 10ml de clorofórmio, juntando as fases orgânicas.

Adicionar à fase orgânica 50ml da solução de lavagem agitando vigorosamente por 30 segundos (não deve formar emulsão). Filtrar a fase orgânica para um balão volumétrico de 50ml (com lã de vidro) e completar o volume.

Determinar a absorvância a 652 nm usando o clorofórmio como branco.

Traça o gráfico concentração de tensoativo (ppm) x absorvância.

3.3. Determinação da concentração de tensoativos na amostra

Tomar uma alíquota da amostra para obter uma concentração entre 0,2 ppm e 2,0 ppm e proceder o tratamento da amostra como descrito para o preparo do padrão, determinando a concentração a partir da curva de calibração obtida no item anterior (3.2.).

3.4. Cálculos

$$x = y - a \times F. d$$

b

Onde:

x = concentração em ppm

y = absorvância da amostra

a = intercepto

b = coeficiente angular da reta

F.d = fator de diluição