

II

(Retsakter hvis offentliggørelser ikke er obligatorisk)

RÅD

RÅDETS DIREKTIV

af 31. marts 1982

om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om kontrolmetoderne for non-ioniske overfladeaktive stoffers biologiske nedbrydelighed og om ændring af direktiv 73/404/EØF

(82/242/EØF)

RÅDET FOR DE EUROPÆISKE
FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det europæiske økonomiske Fællesskab, særlig artikel 100,

under henvisning til forslag fra Kommissionen ⁽¹⁾,

under henvisning til udtalelse fra Europa-Parlamentet ⁽²⁾,

under henvisning til udtalelse fra Det økonomiske og sociale Udvalg ⁽³⁾, og

ud fra følgende betragtninger:

selv om de kontrolmetoder, der anvendes i medlemsstaterne, tilsigter samme mål, frembyder de indbyrdes forskelle og indvirker på det fælles markeds rette funktion;

i Rådets direktiv 73/404/EØF af 22. november 1973 om harmonisering af medlemsstaternes lovgivning om vaske- og rengøringsmidler ⁽⁴⁾ foreskrives i artikel 4 vedtagelse af direktiver, der definerer kontrolmetoderne samt passende tolerancer med henblik på

konstatering af overholdelsen af direktivets krav; i Rådets direktiv 73/405/EØF af 22. november 1973 om harmonisering af medlemsstaternes lovgivning om kontrolmetoderne for de anionaktive overfladeaktive stoffers biologiske nedbrydningsevne ⁽⁵⁾ er der defineret sådanne metoder og tolerancer for de anionaktive overfladeaktive stoffer;

for at tillade medlemsstaterne at bestemme graden af de nonioniske overfladeaktive stoffers biologiske nedbrydelighed er det tilrådeligt at henvise til kontrolmetoder, som allerede bliver benyttet hertil i visse medlemsstater; i tilfælde af tvist er det på den anden side nødvendigt, at kontrollen med den biologiske nedbrydelighed bliver foretaget efter en fælles referencemethode;

for så vidt angår den indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om vaske- og rengøringsmidler bør der, som foreskrevet i artikel 4 i direktiv 73/404/EØF, fastsættes passende tolerancer for målingen af den biologiske nedbrydelighed for at sikre, at kontrolmetodernes usikkerhed ikke fører til beslutninger om kassering med betydelige økonomiske konsekvenser til følge; en beslutning om kassering bør kun tages, dersom den i artikel 2 nævnte analyse påviser en grad af biologisk nedbrydelighed på mindre end 80 %;

⁽¹⁾ EFT nr. C 104 af 28. 4. 1980, s. 112.

⁽²⁾ EFT nr. C 197 af 4. 8. 1980, s. 66.

⁽³⁾ EFT nr. C 310 af 30. 11. 1981, s. 7.

⁽⁴⁾ EFT nr. L 347 af 17. 12. 1973, s. 51.

⁽⁵⁾ EFT nr. L 347 af 17. 12. 1973, s. 53.

på grund af tekniske problemer og for at undgå andre uønskede hygiejne- og miljøvirkninger bør der for tiden anvendes små mængder nonioniske overfladeaktive stoffer med lav biologisk nedbrydelighed til visse formål; det vil imidlertid være nødvendigt på ny at få lejlighed til at undersøge anvendelsen af disse overfladeaktive stoffer med lav biologisk nedbrydelighed under hensyn til den tekniske udvikling;

teknikkens udvikling nødvendiggør en omgående tilpasning af de tekniske forskrifter, der er fastsat i direktiverne om vaske- og rengøringsmidler; for at lette iværksættelsen af de hertil nødvendige foranstaltninger bør der indføres en fremgangsmåde, der foreskriver et snævert samarbejde mellem medlemsstaterne og Kommissionen inden for rammerne af et udvalg vedrørende tilpasning til den tekniske udvikling af direktiverne om fjernelse af tekniske hindringer for samhandelen med vaske- og rengøringsmidler —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

Artikel 1

Dette direktiv omhandler metoder til kontrol med den biologiske nedbrydelighed af nonioniske overfladeaktive stoffer i vaske- og rengøringsmidler, således som disse er omhandlet i artikel 1 i direktiv 73/404/EØF.

Artikel 2

I overensstemmelse med bestemmelserne i artikel 4 i direktiv 73/404/EØF forbyder medlemsstaterne markedsføring og anvendelse på deres område af et vaske- og rengøringsmiddel, såfremt måling af graden af biologisk nedbrydelighed for de nonioniske overfladeaktive stoffer indeholdt i dette vaske- og rengøringsmiddel giver et resultat på mindre end 80 %, idet denne måling foretages efter en af følgende metoder:

- OECD-metoden, offentliggjort i OECDs tekniske rapport af 11. juni 1976 om »Proposed method for the determination of the biodegradability of surfactants used in synthetic detergents«;
- metode gældende i Forbundsrepublikken Tyskland, stadfæstet ved »Verordnung über die Abbaubarkeit anionischer und nichtionischer grenzflächenaktiver Stoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln« af 30. januar 1977, offentliggjort i »Bundesgesetzblatt«, 1977, 1. del, s. 244, som den fore-

ligger i forordningen om ændring af denne forordning af 18. juni 1980, offentliggjort i »Bundesgesetzblatt«, 1980, 1. del, s. 706;

- metode gældende i Frankrig stadfæstet ved arrêté af 28. december 1977, offentliggjort i »Journal Officiel de la République Française« af 18. januar 1978 og forsøgsnorm T 73.270, marts 1974, offentliggjort af Det franske Standardiseringsråd (AFNOR);
- metode gældende i Det forenede Kongerige, benævnt »Porous Pot Test« og beskrevet i teknisk rapport nr. 70/1978 fra »Water Research Centre«.

Artikel 3

Ved anvendelse af fremgangsmåden i artikel 5, stk. 2, i direktiv 73/404/EØF fremsættes laboratoriets erklæring med hensyn til nonioniske overfladeaktive stoffer på grundlag af den referencemethode (kontrolprøve), der er beskrevet i bilaget til dette direktiv.

Artikel 4

De ændringer, der er nødvendige for at tilpasse bilagene til den tekniske udvikling, vedtages i overensstemmelse med proceduren i artikel 7b i direktiv 73/404/EØF.

Artikel 5

I direktiv 73/404/EØF indsættes følgende artikler:

»Artikel 2a

1. Indtil den 31. marts 1986

- a) kan medlemsstaterne uanset kravene i artikel 2, stk. 1, tillade følgende produkter: lavtskummende alkenoxid-tilsætningsstoffer af alkohol, alkylfenoler, glycoler, polyoler, fedtsyrer, amider eller aminer, som anvendes i midler til opvaskemaskiner;
- b) er betingelserne i artikel 2, stk. 1, ikke gældende for baseresistente terminalt blokerede alkyl- og alkyl-aryl-polyglycol-ethere samt de under litra a) nævnte stoffer i rengøringsmidler til levnedsmiddelindustrien, drikkevareindustrien og metalindustrien.

2. Bestemmelserne i stk. 1 gælder ikke ovennævnte nonioniske overfladeaktive stoffer, som

bringes på markedet efter den 30. september 1983, for så vidt som de ikke har en højere biologisk nedbrydelighed end eksisterende produkter med samme anvendelse.

3. Anvendelse af midlertidigt undtagne nonioniske overfladeaktive stoffer, som omhandlet i stk. 1 og 2, må ikke under normale anvendelsesbetingelser være til skade for menneskers og dyrs sundhed.

Artikel 7a

1. Der nedsættes et udvalg vedrørende tilpasning til den tekniske udvikling af direktiverne om fjernelse af tekniske hindringer for samhandelen med vaske- og rengøringsmidler, herefter benævnt »Udvalget«, bestående af repræsentanter for medlemsstaterne og med en repræsentant for Kommissionen som formand.

2. Udvalget fastsætter selv sin forretningsorden.

Artikel 7b

1. Såfremt der henvises til den fremgangsmåde, der er fastsat i denne artikel, indbringer formanden sagen for Udvalget, enten på eget initiativ eller på begæring af en medlemsstats repræsentant.

2. Kommissionens repræsentant forelægger Udvalget et udkast til de foranstaltninger, der skal træffes. Udvalget afgiver en udtalelse om dette forslag inden for en frist, som formanden kan fastsætte under hensyntagen til, hvor meget det forelagte spørgsmål haster. Udtalelsen vedtages med kvalificeret flertal i henhold til traktatens artikel 148, stk. 2.

Formanden deltager ikke i afstemningen.

3. a) Kommissionen træffer de påtænkte foranstaltninger, når disse er i overensstemmelse med Udvalgets udtalelse.
- b) Er de påtænkte foranstaltninger ikke i overensstemmelse med Udvalgets udtalelse, eller i mangel af udtalelse, fremsætter Kommissionen snarest over for Rådet forslag om, hvilke foranstaltninger der bør træffes. Rådet træffer beslutning med kvalificeret flertal.

- c) Såfremt Rådet ikke inden udløbet af en frist på tre måneder efter, at henvendelse er rettet til det, har truffet nogen afgørelse, vedtages de foreslåede foranstaltninger af Kommissionen.

Artikel 7c

1. I henhold til den i artikel 7b fastsatte procedure

— skal henvisningerne til kontrolmetoderne i de i artikel 4 omhandlede direktiver om nødvendigt ajourføres eller suppleres med andre henvisninger til kontrolmetoder, der er udarbejdet i andre medlemsstater;

— skal referencemetoderne (kontrolprøverne) i bilagene til de i artikel 4 omhandlede direktiver ændres, så de tilpasses den tekniske udvikling.

2. Disse tilpasninger må ikke på negativ måde ændre de krav til overfladeaktive stoffers biologiske nedbrydelighed, som allerede er fastsat i overensstemmelse med artikel 4. a.

Artikel 6

1. Medlemsstaterne sætter de nødvendige bestemmelser i kraft for at efterkomme dette direktiv inden for en frist på atten måneder fra dets meddelelse. De underretter straks Kommissionen derom.

2. Medlemsstaterne drager omsorg for at meddele Kommissionen teksten til de nationale retsforskrifter, som de udsteder på det område, der er omfattet af dette direktiv.

Artikel 7

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 31. marts 1982.

På Rådets vegne

P. de KERSMAEKER

Formand

BILAG

BESTEMMELSE AF NONIONISKE OVERFLADEAKTIVE STOFFERS BIOLOGISKE NEDBRYDELIGHED

REFERENCEMETODE (kontrolprøve)

KAPITEL 1

1.1. Definition

Ved nonioniske overfladeaktive stoffer forstås i dette direktiv de overfladeaktive stoffer, der efter passage gennem kation- og anionbyttere kan bestemmes som bismuth-aktive stoffer (BiAS) ifølge den analytiske fremgangsmåde, der er beskrevet i kapitel 3.

1.2. Nødvendigt udstyr

Målemetoden er baseret på anvendelse af et renseanlæg med aktiveret slam, der er skematiseret i fig. 1 og nærmere beskrevet i fig. 2.

Udstyret består af en beholder A til opbevaring af det kunstige spildevand, en doseringspumpe B, en beluftsbeholder C, en sedimentationsbeholder D, en airliftpumpe E til returløb af det aktiverede slam og en beholder F til opsamling af det behandlede spildevand.

Beholderne A og F skal enten være af glas eller af et egnet plastmateriale og rumme mindst 24 liter. Pumpen B skal sikre en konstant tilførsel af kunstigt spildevand til beluftsbeholderen; under normale anvendelsesforhold skal denne beholder indeholde 3 liter blanding. Et sintret glas G, der benyttes til beluftning, er anbragt i beholderen C øverst i dennes nedre kegle. Den luftmængde, der blæses ind af beluftsanordningen, skal registreres ved hjælp af et flowmeter H.

1.3. Kunstigt spildevand

Til udførelse af denne test anvendes kunstigt spildevand. Der opløses pr. liter vandværksvand:

160 mg pepton,
110 mg kødekstrakt,
30 mg urinstof $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$,
7 mg natriumchlorid NaCl ,
4 mg calciumchlorid $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
2 mg magnesiumsulfat $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,
28 mg dikaliumhydrogenphosphat K_2HPO_4 ,
og 10 ± 1 mg bismuth-aktivt stof (BiAS).

Man ekstraherer BiAS fra det produkt, der skal undersøges, ifølge den i kapitel 2 angivne metode. Det kunstige spildevand skal fremstilles hver dag.

1.4. Tilberedning af prøver

1.4.1. Ikke-sammensatte overfladeaktive stoffer kan undersøges uden forbehandling. BiAS-indholdet må bestemmes, for at fremstillingen af det kunstige spildevand (1.3) kan finde sted.

1.4.2. Sammensatte produkter analyseres for BiAS-, MBAS- og sæbeindhold. De underkastes en alkoholisk ekstraktion og fraseparering af BiAS (se kapitel 2). Ekstraktets indhold af BiAS må kendes, for at det kunstige spildevand kan fremstilles.

1.5. Anlæggets virkemåde

Først fylder man beluftsbeholderen C og sedimentationsbeholderen D med kunstigt spildevand. Sedimentationsbeholderen D skal fastgøres i en sådan højde, at beluftsbeholderen C indeholder 3 liter. Podning foretages ved at tilsætte 3 ml sekundært afløb af en

god kvalitet, nylig opsamlet fra et rensningsanlæg, der fortrinsvis behandler husspildevand. Afløbsprøven må opbevares under aerobe betingelser i perioden fra udtagningen til anvendelsen. Derefter sætter man lufttilførselsanordningen G, airliftpumpen E og doseringspumpen B i gang. Det kunstige spildevand må passere gennem beluftningsbeholderen C med en hastighed på 1 liter pr. time svarende til en gennemsnitlig opholdstid på 3 timer.

Beluftningen justeres på en sådan måde, at indholdet i beholderen C konstant holdes opslemmet, og at koncentrationen af opløst ilt er mindst 2 mg/l. Skumdannelse forhindres med passende midler; man må dog ikke anvende skumdæmpningsmidler, der kan hæmme det aktiverede slam, eller som indeholder BiAS. Airliftpumpen E justeres på en sådan måde, at der opretholdes en kontinuerlig og regelmæssig recirkulation af aktiveret slam fra sedimentationsbeholderen D til beluftningsbeholderen C. Slam, der har samlet sig øverst i beluftningsbeholderen C, på bunden af sedimentationsbeholderen D eller i slangerne, skal igen bringes i cirkulation mindst én gang daglig ved hjælp af børstning eller en anden egnet fremgangsmåde. Såfremt slammet ikke sætter sig, kan man øge sedimentationsevnen ved at tilsætte 2 ml portioner af en 5 % ferrichloridopløsning, om nødvendigt flere gange.

Overløbet fra sedimentationsbeholderen D opsamles i beholderen F i løbet af 24 timer; derefter udtages en prøve efter en omhyggelig opblanding. Beholderen F renses herefter omhyggeligt.

1.6. Kontrol af måleudstyr

Det kunstige spildevands indhold af BiAS (udtrykt i mg/l) bestemmes umiddelbart før anvendelsen.

Indholdet af BiAS (udtrykt i mg/l) i overløbet, der er opsamlet i løbet af 24 timer i beholderen F, skal analyseres efter samme metode umiddelbart efter opsamlingen; hvis dette ikke er muligt, må prøverne opbevares, så de ikke nedbrydes, helst ved frysning. Koncentrationen skal måles med en nøjagtighed på 0,1 mg BiAS pr. l.

For at kontrollere, at processen forløber tilfredsstillende, måler man mindst to gange om ugen det kemiske iltforbrug (COD) eller koncentrationen af opløst organisk kulstof (DOC) i det gennem glasfiber filtrerede overløb, der er opsamlet i beholderen F og i det filtrerede kunstige spildevand i beholderen A.

Produktionen af COD og DOC vil blive konstant, når en nogenlunde regelmæssig nedbrydning af BiAS opnås, det vil sige ved slutningen af indkøringsfasen angivet i fig. 3.

Indholdet af uorganisk tørstof i det aktiverede slam i beluftningstanken skal bestemmes to gange om ugen (udtrykt i g/l). Hvis dette er mere end 2,5 g/l, må den overskydende mængde aktiveret slam fjernes.

Bionedbrydnings testen udføres ved stuetemperatur, der skal være nogenlunde konstant og holdes mellem 292 og 297 K (19-24° C).

1.7. Beregning af den biologiske nedbrydelighed

Nedbrydningsgraden af BiAS udtrykt i procent skal beregnes dagligt på grundlag af BiAS-indholdet i det kunstige spildevand (udtrykt i mg/l) og i det tilsvarende overløb opsamlet i beholderen F.

De nedbrydningsstal man får, skal fremstilles grafisk som vist i fig. 3.

BiAS' biologiske nedbrydelighed skal beregnes som det aritmetiske gennemsnit af de tal, der er opnået i løbet af de 21 dage, som følger efter indkøringsfasen. Inden for de 21 dage skal nedbrydningen have været regelmæssig, og anlægget skal have virket problemfrit. Indkøringsfasen må under ingen omstændigheder overstige 6 uger.

De daglige værdier for nedbrydeligheden beregnes med en nøjagtighed på 0,1 %, men det endelige resultat afrundes til nærmeste hele procenttal.

I visse tilfælde kan prøveudtagningshyppigheden reduceres, men til beregning af gennemsnittet skal dog benyttes mindst 14 resultater, opnået i løbet af de 21 dage, der følger efter indkøringsfasen.

KAPITEL 2

FORBEHANDLING AF DE PRODUKTER, DER SKAL UNDERSØGES

2.1. Indledende bemærkninger

2.1.1. *Behandling af prøverne*

Nonioniske overfladeaktive stoffer og sammensatte vaske- og rengøringsmidler behandles forud for bestemmelsen af den biologiske nedbrydelighed ved kontroltesten, som følger.

Produkt	Behandling
Nonioniske overfladeaktive stoffer	Ingen
Sammensatte vaske- og rengøringsmidler	Alkoholisk ekstraktion efterfulgt af fraseparering af de nonioniske overfladeaktive stoffer ved ionbytning

Formålet med den alkoholiske ekstraktion er at fjerne de uopløselige og uorganiske bestanddele af handelsprodukter, da de under visse omstændigheder kan virke forstyrrende på nedbrydningstesten.

2.1.2. *Ionbytningsproceduren*

Isolering og fraseparering af nonioniske overfladeaktive stoffer fra sæbe, anioniske og kationiske overfladeaktive stoffer er nødvendig for at sikre en nøjagtig bestemmelse af den biologiske nedbrydelighed.

Dette opnås ved en ionbytningsteknik, hvor der anvendes et makroporøst ionbyttermateriale og elueringsvæsker egnede til fraktioneringseluering. Man kan således isolere sæbe, anioniske og nonioniske overfladeaktive stoffer ved én proces.

2.1.3. *Analytisk kontrol*

Efter homogenisering bestemmes koncentrationen af anioniske og nonioniske overfladeaktive stoffer i vaske- eller rengøringsmidlet i overensstemmelse med analysemetoderne til bestemmelse af MBAS og BiAS. Sæbeindholdet bestemmes ved en passende analytisk metode. Disse analyser af produktet er nødvendige for at beregne, hvor store mængder det er nødvendigt at anvende for at fremstille fraktionerne til prøvning af den biologiske nedbrydelighed.

En kvantitativ ekstraktion er ikke nødvendig; man bør imidlertid tilsigte at få mindst 80 % af de nonioniske overfladeaktive stoffer ekstraheret. Normalt opnås 90 % eller mere.

2.2. Princip

Fra en homogen prøve (pulver, pasta eller tørret væske) fremstilles et ethanolekstrakt, der vil indeholde de overfladeaktive stoffer, sæbe og andre alkoholopløselige bestanddele af prøven af vaske- eller rengøringsmidlet.

Ethanolekstraktet inddampes til tørhed, opløses i en isopropanol/vand-blanding, og den opnåede opløsning sendes gennem en kombineret stærkt sur kationbytter/makroporøs anionbytter, der er opvarmet til 323 K (50° C). Denne temperatur er nødvendig for at undgå udfældning af fede syrer i det sure miljø.

De nonioniske overfladeaktive stoffer fås fra eluatet efter inddampning. Kationiske overfladeaktive stoffer, der kan forstyrre nedbrydningstesten og de analytiske procedurer, fjernes af kationbytteren, der er placeret oven på anionbytteren.

2.3. **Kemikalier og udstyr**

2.3.1. Deioniseret vand.

2.3.2. Ethanol, 95 % (v/v) C₂H₅OH
(tilladt denatureringsmiddel: methylethylketon eller methanol).

- 2.3.3. Isopropanol/vand blanding (50/50 v/v):
50 rumfangsdele isopropanol ($\text{CH}_3\text{CHOH-CH}_3$) og
50 rumfangsdele vand (2.3.1).
- 2.3.4. Ammoniumbicarbonatopløsning (60/40 v/v):
0,3 mol NH_4HCO_3 i 1 000 ml af en isopropanol/vand-blanding, der består af 60 rumfangsdele isopropanol og 40 rumfangsdele vand (2.3.1).
- 2.3.5. Kationbytter (KAT), stærkt sur, resistent mod alkohol (50-100 mesh).
- 2.3.6. Anionbytter (AAT), makroporøs, Merck Lewatit molekylvægt 7080 (70-150 mesh) eller tilsvarende.
- 2.3.7. Saltsyre, 10 % HCl w/w.
- 2.3.8. 2 000 ml rundbundet kolbe med slib og tilbagesvaler.
- 2.3.9. 90 mm (diameter) sugefilterholder (som kan opvarmes) til papirfiltre.
- 2.3.10. 2 000 ml sugekolbe.
- 2.3.11. Ionbytterkolonne med varmekappe og hane:
Indre diameter 60 mm og indre højde 450 mm (fig. 4).
- 2.3.12. Vandbad.
- 2.3.13. Vacuumtørreovn.
- 2.3.14. Termostat.
- 2.3.15. Rotationsfordamper.
- 2.4. **Fremstilling af ekstrakt og fraseparering af nonioniske overfladeaktive stoffer**
- 2.4.1. *Fremstilling af ekstrakt*
Den mængde overfladeaktive stoffer, der er nødvendig til nedbrydningstesten, er ca. 25 g BiAS.
Ved fremstilling af ekstrakter til nedbrydningstesten bør mængden af produktet, der tages i anvendelse, begrænses til højst 2 000 g. Det kan derfor være nødvendigt at gentage operationen flere gange for at opnå en mængde, der er tilstrækkelig til nedbrydningstesten.
Erfaringen har vist, at det er en fordel at foretage et antal mindre ekstraktioner fremfor en større ekstraktion.
- 2.4.2. *Isolering af alkoholopløselige bestanddele*
Til 1 250 ml ethanol sættes 250 g af det vaske- eller rengøringsmiddel, der skal analyseres. Blandingen opvarmes til kogning, og der koges med omrøring og tilbagesvaling i 1 time. Den varme alkoholopløsning hældes over på et i forvejen til 323 K (50° C) opvarmet groft porøst sugefilter, mens der suges kraftigt. Kolben og sugefiltret vaskes med ca. 200 ml varm ethanol. Filtratet og vaskevæsken opsamles i en sugekolbe.
I tilfælde af, at det er en pasta eller et flydende produkt, der skal analyseres, sikres det, at der ikke er mere end 25 g anioniske overfladeaktive stoffer og 35 g sæbe i prøven. Denne vejede prøve inddampes til tørhed. Remanensen opløses i 500 ml ethanol og behandles som beskrevet ovenfor.
I tilfælde af pulvere med lav rumvægt (<300 g/l) anbefales det at øge ethanolmængden til forholdet 20 : 1.
Det ethanoliske filtrat inddampes til tørhed, helst ved hjælp af en rotationsfordamper. Denne operation gentages, hvis en større mængde ekstrakt kræves. Remanensen opløses i 5 000 ml isopropanol/vand-blanding.

2.4.3. *Fremstilling af ionbytterkolonner*

Kationbytterkolonne

600 ml kationbytter (2.3.5) hældes op i et 3 000 ml bægerglas og dækkes ved tilsætning af 2 000 ml saltsyre (2.3.7). Blandingen henstår i 2 timer under lejlighedsvis omrøring. Syren fradekanteres, og ionbyttematerialet overføres til kolonnen (2.3.11) ved hjælp af deioniseret vand. Kolonnen bør være forsynet med en prop af glasuld. Kolonnen udvaskes med deioniseret vand med en vækehastighed på 10-30 ml/min., indtil eluatet er chloridfrit. Vandet fortrænges ved hjælp af 2 000 ml isopropanol/vand-blanding (2.3.3), der tilsættes med en hastighed på 10-30 ml/min. Ionbytterkolonnen er nu klar.

Anionbytterkolonne

600 ml anionbytter (2.3.6) hældes op i et bægerglas og dækkes ved tilsætning af 2 000 ml deioniseret vand. Ionbytteren henstår til kvældning i mindst 2 timer. Ionbyttermaterialet overføres til kolonnen ved hjælp af deioniseret vand. Kolonnen bør være forsynet med en prop af glasuld.

Kolonnen udvaskes med 0,3 M ammoniumhydrogencarbonatopløsning (2.3.4), indtil eluatet er chloridfrit. Dette kræver ca. 5 000 ml opløsning. Der udvaskes igen med 2 000 ml deioniseret vand. Vandet fortrænges med 2 000 ml isopropanol/vandblanding (2.3.3) med en hastighed på 10-30 ml/min. Ionbytterkolonnen er nu på OH-form og klar.

2.4.4. *Ionbytningsproceduren*

Ionbytterkolonnerne forbindes således, at kationbytterkolonnen er anbragt oven på anionbytterkolonnen. Kolonnerne opvarmes til 323 K (50° C) ved hjælp af en termostat. 5 000 ml af opløsningen, der er fremstillet under (2.4.2), opvarmes til 333 K (60° C) og sendes gennem ionbytterkolonnerne med en hastighed på 20 ml/min. Kolonnerne udvaskes med 1 000 ml varm isopropanol/vand-blanding (2.3.3).

For at isolere de nonioniske overfladeaktive stoffer opsamles eluatet og vaskevæsken, som inddampes til tørhed, helst ved hjælp af en rotationsfordamper. Remanensen indeholder det ønskede BiAS. Der tilsættes deioniseret vand, indtil et defineret volumen er opnået, og BiAS-indholdet bestemmes ifølge (3.3) i en prøve. Opløsningen anvendes som en standardopløsning af nonioniske overfladeaktive stoffer til nedbrydningstesten. Opløsningen skal opbevares ved en temperatur på under 278 K (5° C).

2.4.5. *Regenerering af ionbyttematerialet*

Kationbytteren bortkastes efter brug.

Anionbyttematerialet kan regenereres ved at sende 5 000-6 000 ml ammoniumbicarbonatopløsning (2.3.4) gennem kolonnen med en vækehastighed på ca. 10 ml/min., indtil eluatet er fri for anioniske overfladeaktive stoffer (methylenblåt test). For at vaske sendes derefter 2 000 ml isopropanol/vand-blanding (2.3.3) gennem anionbytteren. Anionbytteren er herefter igen klar til brug.

KAPITEL 3

BESTEMMELSE AF NONIONISKE OVERFLADEAKTIVE STOFFER I FORBINDELSE MED BIONEDBRYDELIGHEDSUNDERSØGELSE

3.1. *Princip*

De overfladeaktive stoffer koncentrerer og isoleres ved hjælp af gasstripping. I den anvendte prøve skal mængden af det nonioniske overfladeaktive stof være mellem 250 og 800 µg.

Det afstrippede overfladeaktive stof opløses i ethylacetat.

Efter faseadskillelse og fordampning af opløsningsmidlet, fældes det nonioniske overfladeaktive stof i en vandig opløsning med et modificeret Dragendorff-reagens (KBiI₄ + BaCl₂ + iseddike).

Bundfaldet frafiltreres og vaskes med iseddike, og det opløses i en ammoniumtartratopløsning. Det i opløsningen værende bismuth titreres potentiometrisk med en pyrrolidindithiocarbamatopløsning ved pH 4-5 under anvendelse af en poleret platinelektrode og med en kalomel- eller en sølv/sølvchloridelektrode som referenceelektrode.

Metoden er anvendelig for nonioniske overfladeaktive stoffer, der indeholder 6-30 alkyleneoxidgrupper.

Resultatet for titreringen multipliceres med den empiriske faktor 54 for at omforme resultatet til at udtrykke mængden af referencestoffet: nonylphenol, der er kondenseret med 10 mol ethylenoxid (NP 10).

3.2. Kemikalier og udstyr

Reagenser skal fremstilles med ioniseret vand.

3.2.1. Ren ethylacetat, frisk destilleret.

3.2.2. Natriumhydrogencarbonat NaHCO_3 , P.A.

3.2.3. Fortyndet saltsyre (HCl) (20 ml konc. saltsyre P.A. fortyndet op til 1 000 ml med vand).

3.2.4. Methanol P.A., frisk destilleret, opbevares i glasflaske.

3.2.5. Bromcresolrødt, 0,1 g i 100 ml methanol.

3.2.6. Fædningsreagens: fædningsreagenset er en blanding af 2 rumfang af opløsning A og 1 rumfang af opløsning B. Blandingen opbevares i en brun flaske og kan anvendes op til en uge efter sammenblandingen.

3.2.6.1. Opløsning A

1,7 g basisk bismuth nitrat P.A. ($\text{BiO} \cdot \text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) opløses i 20 ml iseddike, og rumfanget justeres til 100 ml med vand. Derefter opløses 65 g kaliumiodid P.A. i 200 ml vand. De to opløsninger blandes i en 1 000 ml målekolbe, der tilsættes 200 ml iseddike (3.2.7), og der fyldes op til 1 000 ml med vand.

3.2.6.2. Opløsning B

290 g bariumchlorid ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) P.A. opløses i 1 000 ml vand.

3.2.7. Iseddike, 99-100 % (lavere koncentrationer kan ikke anvendes).

3.2.8. Ammoniumtartratopløsning: 12,4 g vinsyre P.A. og 12,4 ml ammoniakopløsning P.A. ($d = 0,910 \text{ g/ml}$) blandes, og der fyldes op til 1 000 ml med vand (eller der kan anvendes en ækvivalent mængde ammoniumtartrat P.A.).

3.2.9. Fortyndet ammoniakopløsning: 40 ml ammoniakopløsning P.A. ($d = 0,910 \text{ g/ml}$) fortyndes til 1 000 ml med vand.

3.2.10. Acetatbuffer: 40 g natriumhydroxid P.A. opløses i 500 ml vand i et bægerglas, og der afkøles. Der tilsættes 120 ml iseddike (3.2.7). Der blandes omhyggeligt, afkøles og overføres til en 1 000 ml målekolbe, hvorefter der fyldes op til mærket med vand.

3.2.11. Pyrrolidindithiocarbamatopløsning (i det følgende benævnt »carbatopløsning«): 103 mg natriumpyrrolidindithiocarbamat ($\text{C}_4\text{H}_8\text{NNaS}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) opløses i ca. 500 ml vand, der tilsættes 10 ml n-amyl-alkohol (pentan-1-ol) P.A. og 0,5 g NaHCO_3 P.A. og fyldes op til 1 000 ml med vand.

3.2.12. Kobbersulfatopløsning (til standardisering af 3.2.11).

Stamopløsning

1,249 g kobbersulfat P.A. ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) blandes med 50 ml 0,5 M svovlsyre, og der fyldes op til 1000 ml med vand.

Standardopløsning

50 ml stamopløsning blandes med 10 ml 0,5 M H_2SO_4 , og der fyldes op til 1 000 ml med vand.

3.2.13. Natriumchlorid P.A.

3.2.14. Gasstripningsapparat (se fig. 5).

Den sintrede plades diameter skal være den samme som rørets indre diameter.

3.2.15. Skilletragt, 250 ml.

3.2.16. Magnetomrører med 25-30 mm magnetpind.

3.2.17. Gooch-filtertragt, diameter af den perforerede bundplade 25 mm, type G 4.

3.2.18. Cirkulært glasfiberfilterpapir, 27 mm i diameter og med fiberdiameter på 0,5-1,5 μm .

3.2.19. 2 sugekolber med adaptorer og gummiringe på henholdsvis 500 ml og 250 ml.

3.2.20. Potentiometer med skriver og med en poleret platinelektrode og en kalomel- eller en sølv/sølvchloridelektrode som referenceelektrode med et 250 mV-område, med en automatburette på 20-25 ml eller et tilsvarende udstyr til manuel betjening.

3.3 **Fremgangsmåde**3.3.1. *Koncentrering og fraseparering af det overfladeaktive stof*

Den vandige prøve filtreres gennem et groft filterpapir. De første 100 ml af filtratet bortkastes.

I stripningsapparatet, der i forvejen er skyllet med ethylacetat, anbringes en afmålt mængde af prøven, således at den indeholder 250-800 μg nonionisk overfladeaktivt stof.

For at opnå bedre separation tilsættes 100 g natriumchlorid og 5 g natriumhydrogencarbonat.

Hvis rumfanget af prøven er mere end 500 ml, tilsættes disse salte i fast form, og de opløses ved gennemblæsning med nitrogen eller luft i apparatet.

Hvis der er anvendt et mindre rumfang prøve, opløses saltene i 400 ml vand og hældes derefter i stripningsapparatet.

Der tilsættes vand, til overfladen når den øverste stophane.

100 ml ethylacetat hældes forsigtigt oven på den vandige fase. Vaskeflasken i lufttillingen (nitrogen eller luft) fyldes to tredjedele op med ethylacetat.

Der sendes en luftstrøm på 30-60 l/h gennem apparatet; det anbefales at anvende et flowmeter. Lufthastigheden må øges gradvis i begyndelsen. Lufthastigheden må justeres på en sådan måde, at de to faser tydeligt forbliver adskilte, således at en blanding af faserne og en opløsning af ethylacetat i vand undgås mest muligt. Luftstrømmen standses efter 5 minutter.

Hvis rumfanget af den organiske fase er reduceret med mere end 20 % ved opløsning i vandfasen, må operationen gentages med formindsket lufthastighed.

Den organiske fase hældes fra i en skilletragt. Alt vand i skilletragten — det må højst dreje sig om nogle få ml — fra vandfasen hældes tilbage i stripningsapparatet. Ethylacetatfasen filtreres gennem et tørt, groft filterpapir over i et 250 ml bægerglas.

Der hældes yderligere 100 ml ethylacetat i stripningsapparatet, og der sendes igen nitrogen eller luft igennem i 5 minutter. Den organiske fase hældes fra i den samme skilletragt, som anvendtes ved den første separation, den vandige fase bortkastes, og den organiske fase filtreres gennem det samme filterpapir, som den første portion ethylacetat filtreredes igennem. Både skilletragten og filterpapiret skylles med 20 ml ethylacetat. Ethylacetat-ekstraktet inddampes til tørhed på et vandbad (stinkskab). En svag luftstrøm blæses hen over overfladen for at accelerere fordampningen.

3.3.2. *Fældning og filtrering*

Den tørre remanens fra (3.3.1) opløses i 5 ml methanol, der tilsættes 40 ml vand og 0,5 ml fortyndet HCl (3.2.3), og blandingen omrøres med en magnetomrører.

Til denne blanding sættes 30 ml af fældningsreagenset (3.2.6) fra et måleglas. Bundfaldet fremkommer ved fortsat omrøring. Efter omrøring i 10 minutter henstår blandingen i mindst 5 minutter.

Blandingen filtreres gennem en Gooch-filtertragt, hvor bunden er dækket af et glasfiberfilterpapir. Dernæst vaskes filterpapiret under svag sugning med 2 ml iseddike. Derefter vaskes bægerglasset, magnetpinden og filtertragten omhyggeligt med iseddike (ca. 40-50 ml). Det er ikke nødvendigt at overføre bundfaldet kvantitativt fra bægerglassets sider til filterpapiret, idet opløsningen af bundfaldet til titreringen føres tilbage til bægerglasset, der anvendtes ved fældningen, og det tilbageblevne bundfald vil da blive opløst.

3.3.3. *Opløsning af bundfaldet*

Bundfaldet i filtertragten opløses ved tilsætning af varm (ca. 353 K, 80° C) ammoniumtartratopløsning (3.2.8) i 3 portioner, hver på 10 ml. Hver portion henstår nogle minutter i filtertragten, før den suges ned i kolben.

Sugekolbens indhold hældes over i bægerglasset, der anvendtes ved fældningen. Bægerglassets sider skylles med yderligere 20 ml tartratopløsning for at opløse den sidste mængde bundfald.

Filtertragten, overdelen og sugokolben vaskes omhyggeligt med 150-200 ml vand, der føres over i bægerglasset, der anvendtes ved fældningen.

3.3.4. *Titring*

Opløsningen omrøres med en magnetomrører (3.2.16), der tilsættes nogle få dråber bromcresolrødt (3.2.5), og der tilsættes fortyndet ammoniakopløsning (3.2.9), indtil farven bliver violet (opløsningen er svagt sur fra rester af eddikesyren, der anvendtes ved skyllingen).

Derefter tilsættes 10 ml acetatbuffer (3.2.10), elektroderne dyppes ned i opløsningen, og der titreres med standard »carbatopløsningen« (3.2.11), idet burettespidsen netop er neddyppet i opløsningen. Titreringshastigheden bør ikke overstige 2 ml/min.

Ækvivalenspunktet er det sted, hvor der er vendetangent til titreringskurven. Det vil observeres, at krumningen for titreringskurven nogle gange flader ud; dette kan undgås ved omhyggeligt at rense platinelektroden (ved at polere med slibepapir).

3.3.5. *Kontrolprøve*

Samtidig udføres en blindværdibestemmelse gennem hele proceduren, idet der anvendes 5 ml methanol og 40 ml vand, svarende til instruktionen i (3.3.2). Blindværdititreringen bør ikke være over 1 ml, idet det modsatte viser, at reagenserne (3.2.3) — (3.2.7) — (3.2.8) — (3.2.9) — (3.2.10) ikke er tilstrækkeligt rene, f.eks. på grund af for stort indhold af tungmetaller, og de må erstattes af nye. Der skal tages hensyn til blindværdien ved beregning af resultaterne.

3.3.6. *Kontrol af faktoren for »carbatopløsningen«*

Faktoren for carbatopløsningen bestemmes hver dag inden brugen. For at gøre dette titreres 10 ml kobbersulfatopløsning (3.2.12) med »carbatopløsningen« efter tilsætning af 100 ml vand og 10 ml acetatbuffer (3.2.10). Hvis mængden, der anvendes, er a ml, bliver faktoren f bestemt ved:

$$f = \frac{10}{a}$$

og alle resultater for titreringen multipliceres med denne faktor.

3.4. *Beregning af resultater*

Eftersom ethvert nonionisk overfladeaktivt stof har sin egen faktor, der afhænger af dets opbygning, især længden af ethylenoxiddkæden, henføres beregningerne til et standardstof. Til dette anvendes en nonylphenol med 10 ethylenoxidenheder (NP 10), der har en konverteringsfaktor på 0,054.

Ved at anvende denne faktor beregnes mængden af overfladeaktivt stof, der findes i en prøve, udtrykt som mg NP 10-ækvivalenter, som følger:

$$(b-c) \times f \times 0,054 = \text{mg nonionisk overfladeaktivt stof, beregnet i form af NP 10}$$

hvor b = volumen af »carbatopløsning«, der er anvendt til prøven (ml),

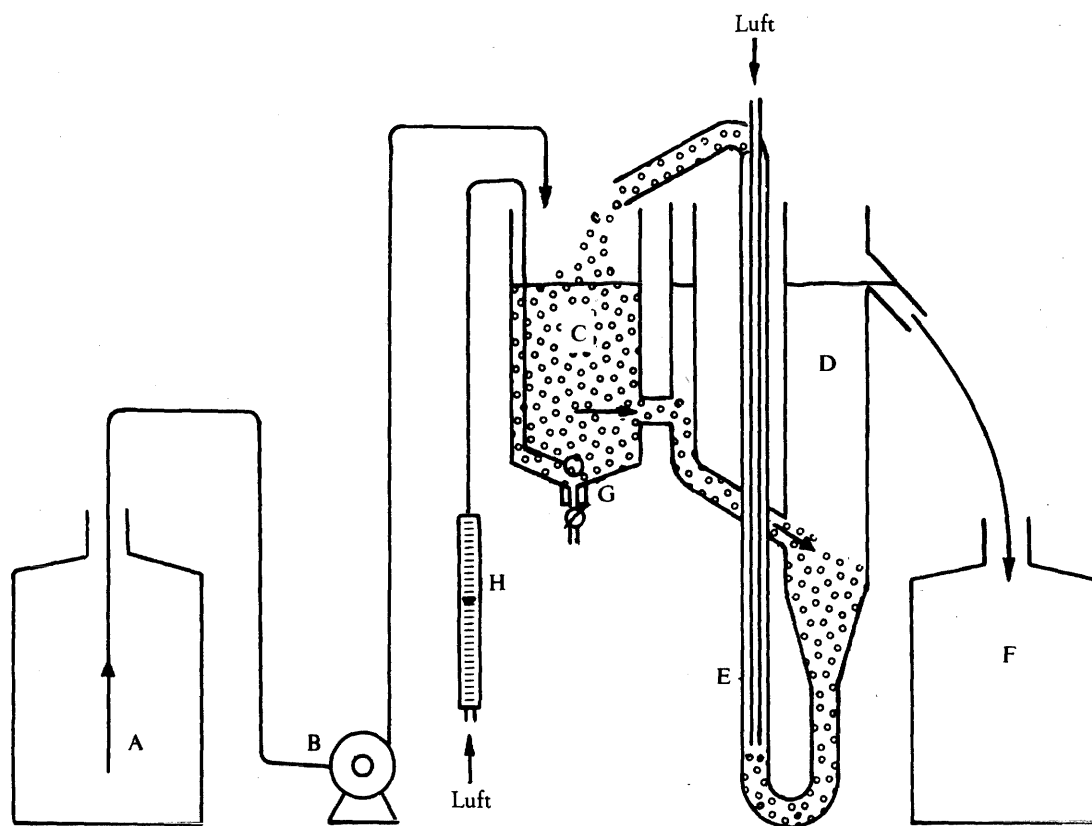
c = volumen af »carbatopløsning«, der er anvendt til blindværdien (ml), og

f = faktoren for »carbatopløsningen«.

3.5. Angivelse af resultaterne

Resultaterne angives i mg beregnet i form af NP 10 med en nøjagtighed på 0,1.

Fig. 1



A. En beholder til opvarmning af det kunstige spildevand

B. Doseringspumpe

C. Udluftningsbeholder (3 l indhold)

D. Sedimentationsbeholder

E. Air-liftpumpe

F. Beholder til opsamling af overløb

G. Sintret glas til beluftning

H. Flowmeter

Fig. 2

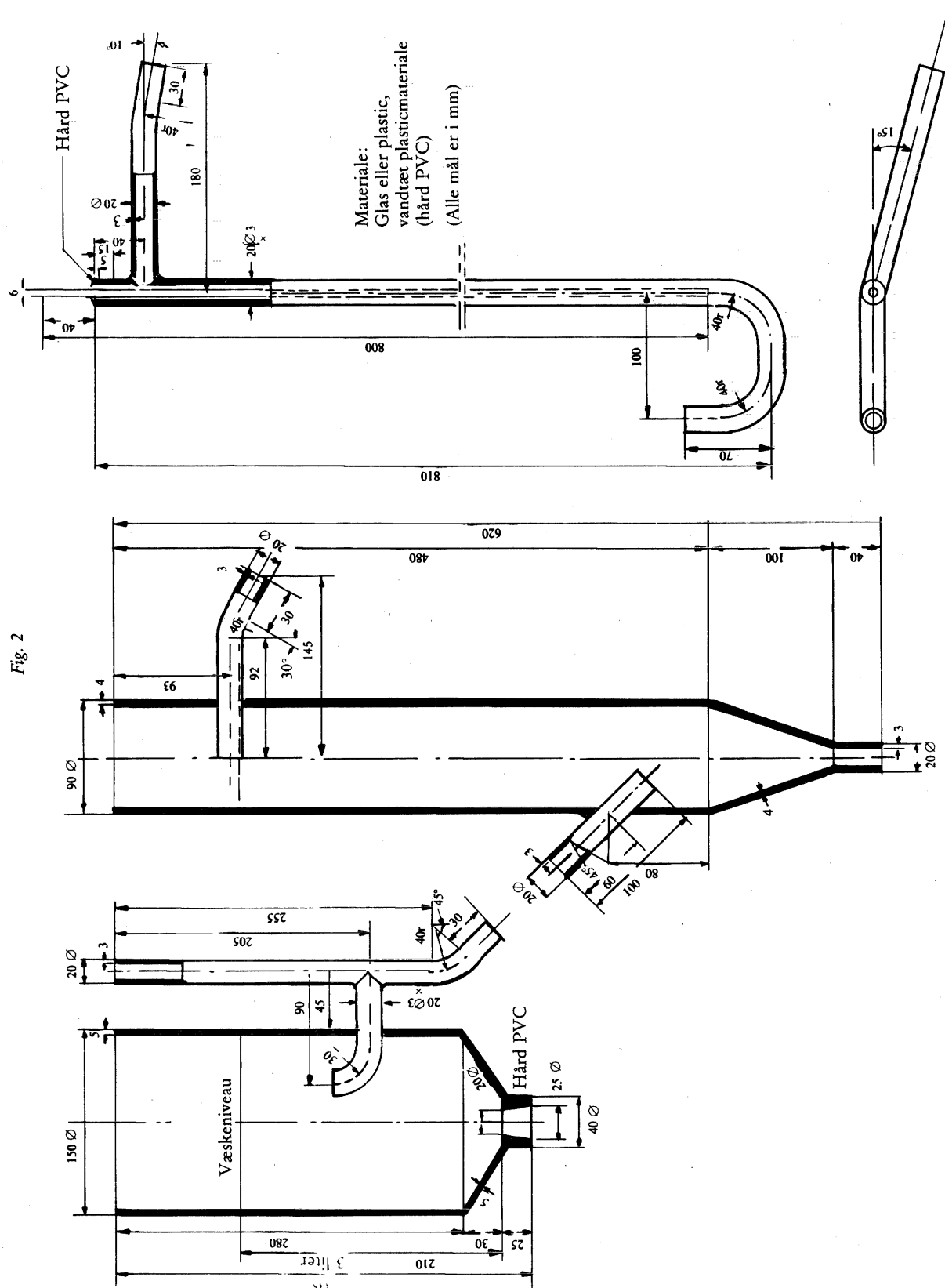


Fig. 3

Beregning af den biologiske nedbrydelig-
hed — Kontrolprøve

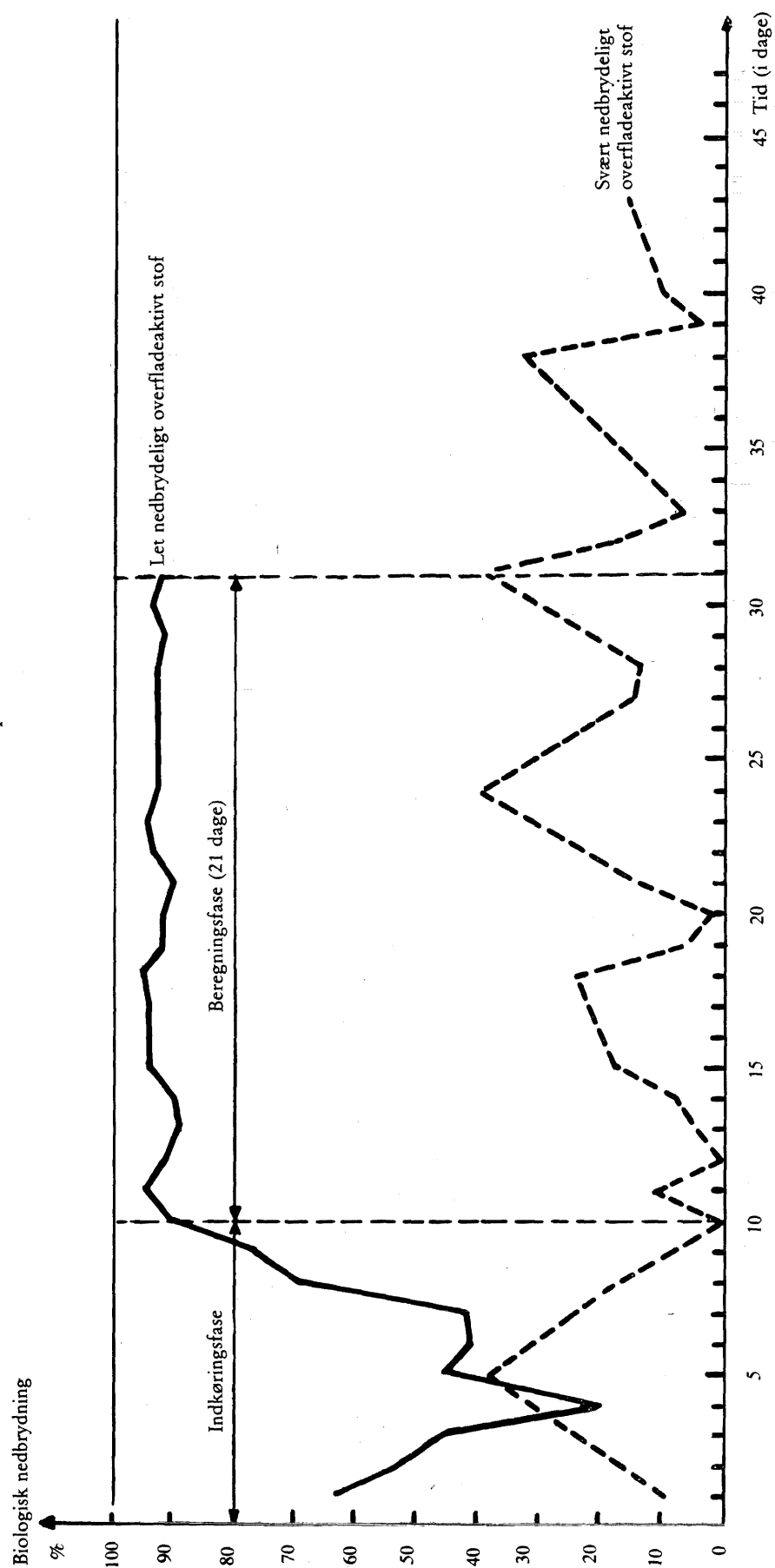


Fig. 4

Ionbytterkolonne med varmekappe

Bemærk: Alle mål er i mm.

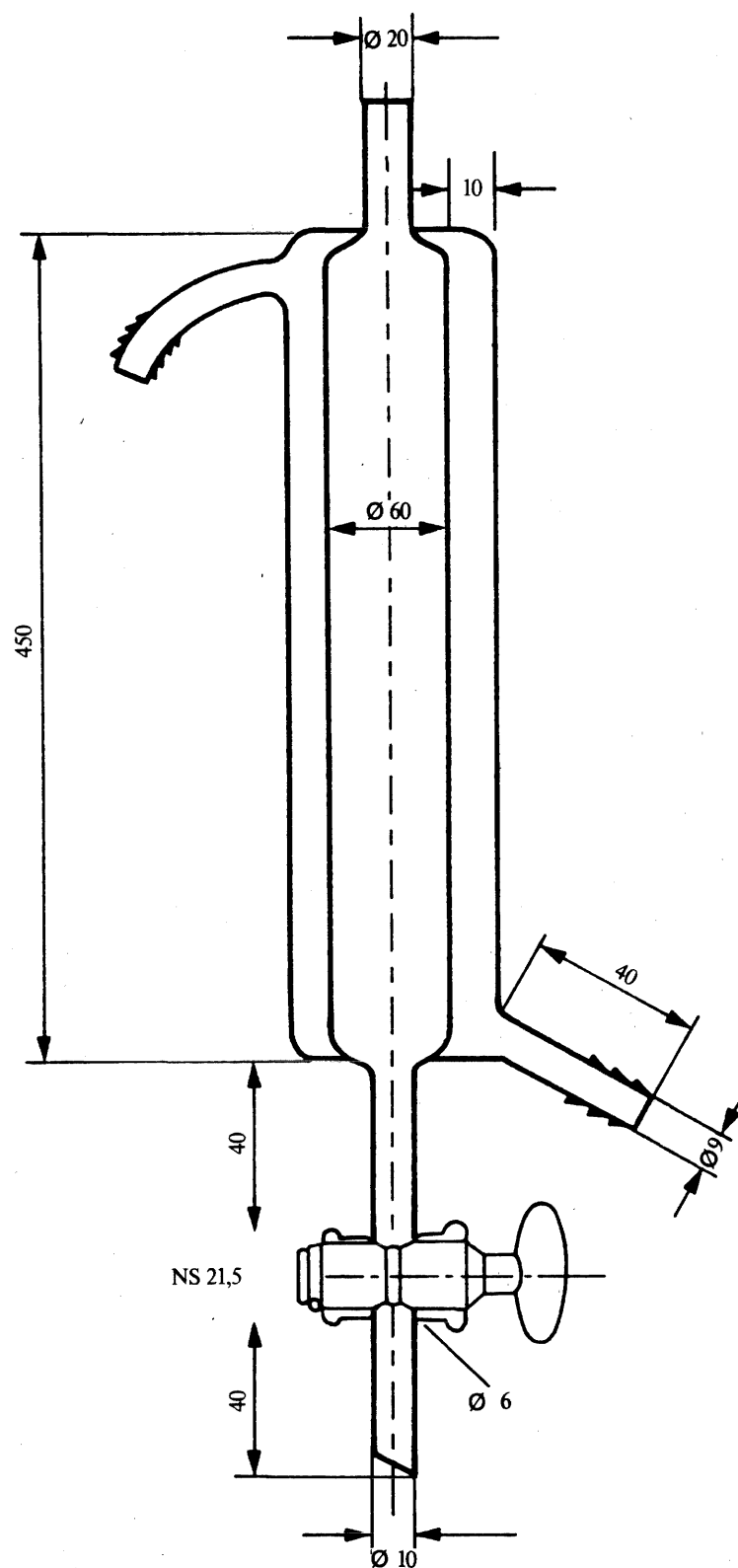
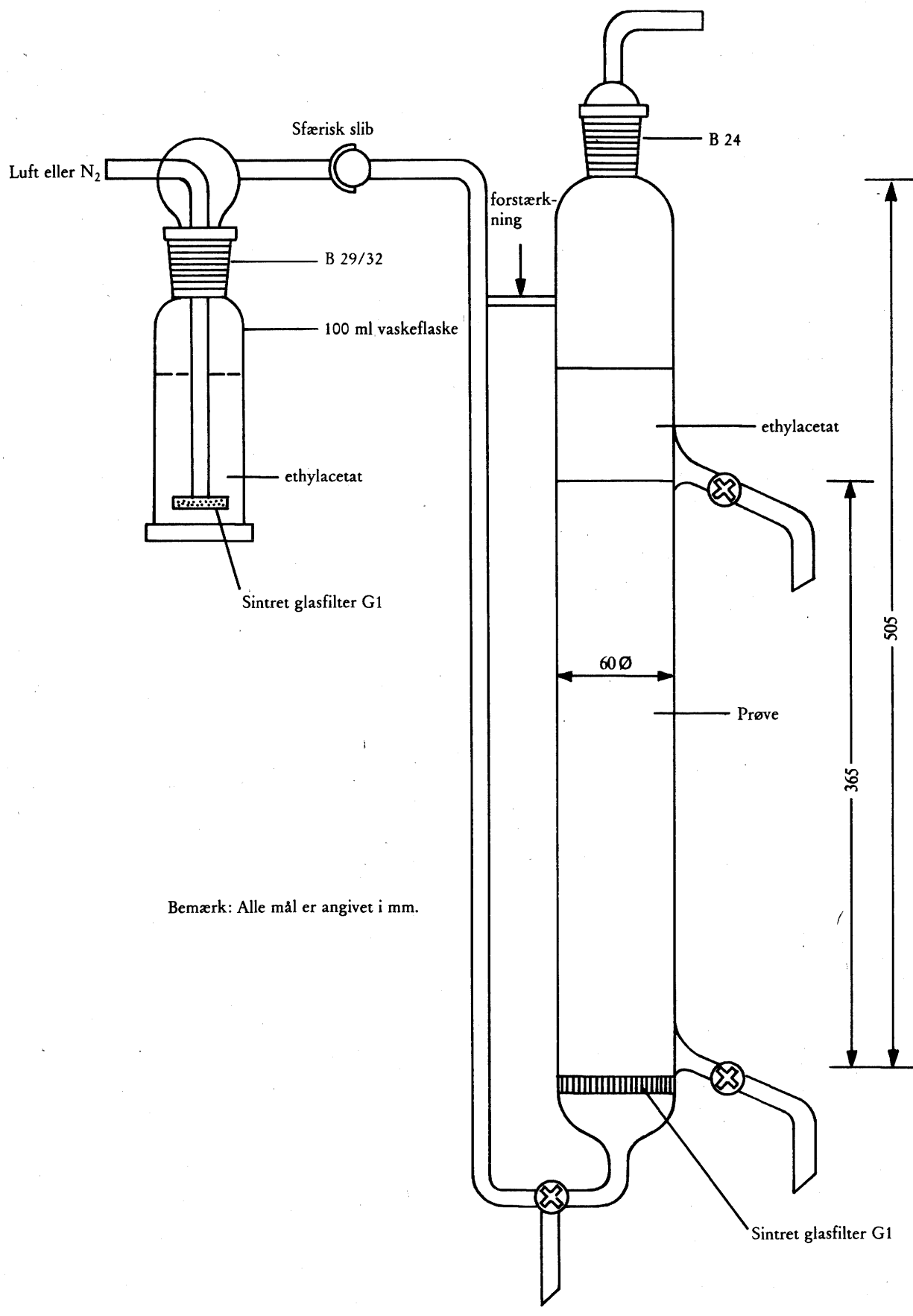


Fig. 5

Gasstripningsapparat



Bemærk: Alle mål er angivet i mm.