

31982L0242

22.4.1982

EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA

L 109/1

**NÕUKOGU DIREKTIIV,****31. märts 1982,****mis käsitleb mitteioonsete pindaktiivsete ainete biolagunduvuse katsemeetodeid puudutavate liikmesriikide õigusaktide ühtlustamist ja millega muudetakse direktiivi 73/404/EMÜ****(82/242/EMÜ)**

EUROOPA ÜHENDUSTE NÕUKOGU,

ainete biolagunduvuse katsemeetodeid käsitlevate liikmesriikide õigusaktide ühtlustamise kohta <sup>(1)</sup> määrati nimetatud meetodid ja lubatavad hälbed anioonsete pindaktiivsete ainete jaoks kindlaks;

võttes arvesse Euroopa Majandusühenduse asutamislepingut, eriti selle artiklit 100,

võttes arvesse komisjoni ettepanekut, <sup>(1)</sup>võttes arvesse Euroopa Parlamendi arvamust, <sup>(2)</sup>võttes arvesse majandus- ja sotsiaalkomitee arvamust <sup>(3)</sup>

liikmesriikidel mitteioonsete pindaktiivsete ainete biolagunduvuse taseme kindlaksmääramise võimaldamiseks on soovitatav rakendada katsemeetodeid, mis on teatud liikmesriikides sel otstarbel juba kasutusel; samas tuleb vaidluste korral biolagunduvust kontrollida ühist standardmeetodit kasutades;

ning arvestades, et:

liikmesriikides kehtivad katsemeetodid püüdleval küll sama eesmärgi poole, ent erinevad üksteisest teatud aspektide poolest ning kahjustavad seega ühisturu nõuetekohast toimimist;

pesuaineid puudutavate liikmesriikide õigusaktide ühtlustamist käsitleva nõukogu 22. novembri 1973. aasta direktiivi 73/404/EMÜ <sup>(4)</sup> artikliga 4 nähakse ette niisuguste direktiivide vastuvõtmine, millega määratakse kindlaks nii katsemeetodid kui asjakohased lubatavad hälbed, et võimaldada tuvastada vastavust nimetatud direktiivi nõuetele; nõukogu 22. novembri 1973. aasta direktiiviga 73/405/EMÜ anioonsete pindaktiivsete

seoses pesuaineid puudutavate liikmesriikide õigusaktide ühtlustamisega on vaja kehtestada biolagunduvuse mõõtmiseks sobivad lubatavad hälbed, nagu see on ette nähtud nõukogu direktiivi 73/404/EMÜ artikliga 4, et tagada kaitse katsemeetodite ebausaldusväarsuse vastu, mis võib viia märkimisväärsete majanduslike tagajärgedega tagasilükkamisotsusteni; tagasilükkamisotsus tuleb võtta vastu ainult juhul, kui artiklis 2 nimetatud analüütilist meetodit rakendades saadud tulemuste kohaselt on biolagunduvuse tase alla 80 %;

<sup>(1)</sup> EÜT C 104, 28.4.1980, lk 112.<sup>(2)</sup> EÜT C 197, 4.8.1980, lk 66.<sup>(3)</sup> EÜT C 310, 30.11.1981, lk 7.<sup>(4)</sup> EÜT L 347, 17.12.1973, lk 51.<sup>(5)</sup> EÜT L 347, 17.12.1973, lk 53.

tehniliste probleemide tõttu on teatud otstarvetel vaja teatud madala biolagunduvusega mitteioonseid pindaktiivseid aineid ajutiselt kasutada väikses koguses, et hoida ära muid soovimatuid mõjusid tervisele ja keskkonnale; sellele vaatamata on vaja, et oleks olemas nimetatud madala biolagunduvuse tasemega pindaktiivsete ainete kasutamise uuesti ülevaatamise võimalus tehnika arengut arvesse võttes;

tehnikat areng muudab hädavajalikuks pesuaineid käsitlevate direktiividega kindlaksmääratud tehniliste nõuete kiire kohandamise; selle saavutamiseks vajalike meetmete rakendamise hõlbustamiseks tuleb sätestada menetlus, millega nähakse ette tihedat koostöö liikmesriikide ja komisjoni vahel komitee vormis, et kohandada pesuainete kaubavahetust takistavate tehniliste tõkete kõrvaldamist käsitlevad direktiivid tehnikat arenguga,

ON VÕTNUD VASTU KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

#### Artikkel 1

Käesolev direktiiv käsitleb direktiivi 73/404/EMÜ artiklis 1 määratletud pesuainetes leiduvate mitteioonsete pindaktiivsete ainete biolagunduvuse kontrollimise meetodeid.

#### Artikkel 2

Liikmesriigid keelavad vastavalt direktiivi 73/404/EMÜ artikli 4 sätetele pesuaine turule toomise ja kasutamise oma territooriumil, kui selles sisalduvate mitteioonsete pindaktiivsete ainete biolagunduvuse tase on alla 80 % ning see on tehtud kindlaks vastavalt ühele alltoodud meetodile:

— OECD meetod, mis on avaldatud OECD 11. juuni 1976. aasta tehnilises teatises "Proposed Method for the Determination of the Biodegradability of Surfactants used in Synthetic Detergents" (Kavandatav meetod sünteetilistes pesuainetes kasutatavate pindaktiivsete ainete biolagunduvuse kindlaksmääramiseks),

— Saksamaal kasutatav meetod, mis on kehtestatud 30. jaanuari 1977. aasta määrusega "Verordnung über die Abbaubarkeit anionischer und nichtionischer grenzflächenaktiver Stoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln", mis on avaldatud 1977. aastal väljaande "Bundesgesetzblatt" I osa 244. leheküljel ja nagu seda on muudetud nimetatud määrust muutuva 18. juuni 1980. aasta määrusega, mis on avaldatud 1980. aastal väljaande "Bundesgesetzblatt" I osa 706. leheküljel,

— Prantsusmaal kasutatav meetod, mis on heaks kiidetud 28. detsembri 1977. aasta määrusega ning avaldatud 18. jaanuaril 1978 väljaandes "Journal officiel de la République française", ja katsestandard T 73-270 märtsist 1974, mis on avaldatud organisatsiooni Association française de normalisation (AFNOR) poolt,

— Ühendkuningriigis kasutatav meetod "Porous Pot Test", nagu seda on kirjeldatud organisatsiooni Water Research Centre väljaandes "Technical Report" nr 70/1978.

#### Artikkel 3

Direktiivi 73/404/EMÜ artikli 5 lõikega 2 kehtestatud menetluse alusel põhineb labori arvamus mitteioonsete pindaktiivsete ainete kohta käesoleva direktiivi lisas kirjeldatud standardmeetodil (kinnitaval katseprotseduuril).

#### Artikkel 4

Lisa tehnikat arenguga kohandamiseks vajalikud muudatused võetakse vastu vastavalt direktiivi 73/404/EMÜ artikliga 7b sätestatud menetlusele.

#### Artikkel 5

Direktiivi 73/404/EMÜ lisatakse järgmised artiklid:

##### "Artikkel 2a

1. Kuni 31. märtsini 1986:

a) võivad liikmesriigid vabastada artikli 2 lõike 1 nõuetest järgmised tooted: vähese vahutavusega alkeenoksiidlisandid ainetes, nagu alkoholid, alküül-fenoolid, glükoolid, polüoolid, rasvhapped, amiidid ja amiinid, mida kasutatakse nõudepesutoodetes;

b) ei kohaldata artikli 2 lõike 1 nõudeid leeliskindlate lõplikult blokeeritud alküül- ja alküül-arüülpolüglükool-eetrite ja punktis a viidatud tüüpi ainete suhtes, mida kasutatakse toidu-, joogi- ja metallitööstuse jaoks mõeldud puhastusvahendites.

2. Lõiget 1 kohaldatakse pärast 30. septembrit 1983 turule toodavate eespool nimetatud mitteioonsete pindaktiivsete ainete suhtes ainult juhul, kui nende biolagunduvuse tase on kõrgem sama kasutusotstarbega olemasolevate toodete biolagunduvuse tasemest.

3. Lõigetes 1 ja 2 nimetatud ajutise erandi alla kuuluvate mitteioonsete pindaktiivsete ainete kasutamine ei tohi normaalsete kasutustingimuste korral olla kahjulik inimeste või loomade tervisele.

#### Artikkel 7a

1. Pesuainete sektoris kaubavahetust takistavate tehniliste tõkete kõrvaldamist käsitlevate direktiivide tehnika arenguga kohandamiseks moodustatakse komitee (edaspidi nimetatud "komitee"), mis koosneb liikmesriikide esindajatest ja mille eesistujaks on komisjoni esindaja.

2. Komitee kehtestab oma töökorra.

#### Artikkel 7b

1. Kui tuginetakse käesolevas artiklis sätestatud korrale, suunab komitee eesistuja kõnealuse küsimuse omal algatusel või liikmesriigi esindaja taotlusel komiteele.

2. Komisjoni esindaja esitab komiteele võetavate meetmete eelnõu. Komitee esitab eelnõu kohta oma arvamuse eesistuja poolt küsimuse kiireloomulisusest lähtudes määratud tähtaja jooksul. Vastavalt asutamislepingu artikli 148 lõikega 2 sätestatule saab komitee esitada oma arvamuse kvalifitseeritud hääleteenamusega.

Eesistuja ei hääleta.

- 3.
- Kui kavandatavad meetmed on komitee arvamusega kooskõlas, võtab komisjon need vastu.
  - Kui kavandatavad meetmed ei ole komitee arvamusega kooskõlas või kui komitee ei esita oma arvamust, esitab komisjon võetavate meetmete kohta viivitamatult ettepaneku nõukogule. Nõukogu võtab otsuse vastu kvalifitseeritud hääleteenamusega.
  - Kui nõukogu ei ole otsust teinud kolme kuu jooksul alates ettepaneku tegemisest, võtab komisjon ettepanud meetmed vastu.

#### Artikkel 7c

1. Vastavalt artikliga 7b kehtestatud menetlusele:

- viited katsemeetoditele artiklis 4 nimetatud direktiivides ajakohastatakse vajadusel või täiendatakse muude viidete muudes liikmesriikides kehtestatud katsemeetoditele,
- standardmeetodeid (kinnitavaid katseid) artiklis 4 nimetatud direktiivide lisades muudetakse nende tehnika arenguga kohandamiseks.

2. Nimetatud kohandamised ei või muuta negatiivselt pindaktiivsetele ainetele esitatavaid biolagunduvusnõudeid, mis on juba kehtestatud kooskõlas artikliga 4."

#### Artikkel 6

1. Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud sätted 18 kuu jooksul selle teatavakstegemisest. Liikmesriigid teatavad neist viivitamatult komisjonile.

2. Liikmesriigid edastavad komisjonile käesoleva direktiiviga reguleeritavas valdkonnas nende poolt vastuvõetud siseriiklike õigusnormide teksti.

#### Artikkel 7

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 31. märts 1982

Nõukogu nimel  
eesistuja

P. de KEERSMAEKER

## LISA

## MITTEIOONSETE PINDAKTIIVSETE AINETE BIOLAGUNDUVUSE KINDLAKSMÄÄRAMINE

## Standardmeetod (kinnitav katse)

## 1. PEATÜKK

## 1.1. Määratlus

Käesoleva direktiivi tähenduses on mitteioonised pindaktiivsed ained niisugused pindaktiivsed ained, mis pärast katioonse ja anioonse ioonivaheti läbimist määratakse vastavalt 3. peatükis kirjeldatud analüütilisele protseduurile kindlaks vismutiga reageerivate ainetena (BiAS).

## 1.2. Mõõtmiseks vajalikud seadmed

Mõõtmismeetodi käigus rakendatakse joonisel 1 kujutatud väikest aktiivmudaseadet, mida on veelgi täpsemalt kujutatud joonisel 2. Seade koosneb hoiuanumast A sünteetilise reovee jaoks, doseerimispumbast B, õhustusanumast C, sadestusanumast D, suruõhkpumbast E aktiivmuda retsirkuleerimiseks ja anumast F töödeldud heitvee kogumiseks.

Anumad A ja F peavad olema klaasist või sobivast plastikust ning mahutama vähemalt 24 liitrit. Pump B peab tagama sünteetilise reovee pideva voolu õhustusanumasse, milles on normaalkäituse korral kolm liitrit segatud vedelikku. Paagutatud õhustuskuupi G heljutatakse anumast C, koonuse tipus. Läbi õhusti puhutava õhu kogust tuleb kontrollida voolumõõtuuri H abil.

## 1.3. Sünteetiline reovesi

Katse tegemisel kasutatakse sünteetilist reovett. Lahustage igas kraanivee liitris:

- 160 mg peptooni,
- 110 mg lihaekstrakti,
- 30 mg uread  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ,
- 7 mg naatriumkloriidi NaCl,
- 4 mg kaltsiumkloriidi,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,
- 2 mg magneesiumsulfaati,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,
- 28 mg dikaaliumvesinikfosfaati  $\text{K}_2\text{HPO}_4$

ja  $10 \pm 1$  mg BiAS-i.

BiAS ekstraheeritakse katsealusest tootest 2. peatükis antud meetodil. Sünteetilist reovett valmistatakse iga päev värskelt.

## 1.4. Proovide ettevalmistamine

1.4.1. Ühest aimest koosnevaid pindaktiivseid aineid võib uurida nende esialgses olekus. Sünteetilise reovee (1.3) ettevalmistamiseks tuleb kindlaks määrata BiAS-sisaldus.

1.4.2. Retsepti järgi valmistatud tooteid analüüsitakse BiAS-, MBAS- ja seebisisalduse suhtes. Need tuleb allutada alkoholisele ekstraheerimisele ja neist tuleb eraldada BiAS (vt 2. peatükki). Sünteetilise reovee ettevalmistamiseks peab olema teada ekstrakti BiAS-sisaldus.

## 1.5. Seadme kasutamine

Täitke esmalt õhustusanum C ja sadestusanum D sünteetilise reoveega. Anuma D kõrgus peab olema kindlaks määratud selliselt, et õhustusanuma C mahutavuseks oleks kolm liitrit. Teostatakse inokulatsioon, sisestades 3 ml hea kvaliteediga teisest heitvett, mis on värskelt kogutud peamiselt olmereoveest töötlevast seadmest. Heitvett tuleb proovivõtu ja aplitseerimise vahelisel ajal hoida aeroobsetel tingimustel. Seejärel rakendage tööle õhusti G, suruõhkpump E ja doseerimiseseade B. Sünteetiline reovesi peab liikuma läbi õhustusanuma C kiirusega üks liiter tunnis, mis tähendab kolmetunnist keskmist retentsiooniaega.

Õhustamiskiirust tuleb reguleerida selliselt, et anuma C sisu heljub pidevalt ning lahustunud hapniku sisaldus on vähemalt 2 mg/l. Vahutamine tuleb sobivate vahenditega ära hoida. Kasutada ei tohi aktiivmuda inhibeerivaid või BiAS-i sisaldavaid vahutamistaseid aineid. Suruõhkupump E tuleb seada selliselt, et sadestusanumas olevat aktiivmuda retsirkuleeritaks pidevalt ja korrapäraselt õhustusanumasse C. Ümber õhustusanuma C ülaosa, sadestusanuma D põhja või retsirkuleerimisahelasse kogunenud muda tuleb pühkides või mõnd muud sobivat meetodit rakendades vähemalt üks kord iga päev ringlusesse tagasi suunata. Kui muda ei sadestu, võib selle sadestuvust suurendada, lisades 2 ml raudtrikloriidi 5 % lahuse annuseid (vajadusel korduvalt).

Heitvett kogutakse sadestusanumast D anumasse F 24 tundi ning seejärel võetakse pärast põhjalikku segamist proov. Anum F tuleb seejärel hoolikalt puhastada.

#### 1.6. Mõõteseadmete kontrollimine

Süntheetilise reovee BiAS-sisaldus (mg/l) tuleb määrata kindlaks vahetult enne kasutamist.

24 tunni jooksul anumasse F kogutud heitvee BiAS-sisaldus (mg/l) tuleb analüütiliselt kindlaks määrata vahetult pärast kogumist sama meetodit kasutades; vastasel korral tuleb proovid preservida, eelistatavalt külmutades. Kontsentratsioonid tuleb määrata kindlaks täpsusega 0,1 mg BiAS-i liitri kohta.

Protsessi efektiivsuse kontrollimiseks mõõdetakse läbi klaaskiu filtritud anumasse F kogunenud heitvee ja anumast A oleva filtritud süntheetilise reovee keemilist hapnikutarvet (COD) või lahustunud orgaanilist süsinikku (DOC) vähemalt kaks korda nädalas.

COD-i või DOC-i vähenemine peaks lakkama, kui joonisel 3 kujutatud käivitusaja lõpus saavutatakse umbkaudselt korrapärane igapäevane BiAS-i lagunemine.

Õhustusanumas sisalduva aktiivmuda kuivaine sisu tuleb määrata kindlaks kaks korda nädalas (g/l). Kui see on üle 2,5 g/l, siis tuleb liigne aktiivmuda eemaldada.

Lagunemiskatse teostatakse toatemperatuuril, temperatuur peab olema püsiv ning seda tuleb hoida vahemikus 292–297 K (19–24 °C).

#### 1.7. Biolagunduvuse arvutamine

BiAS-i lagunemisprotsenti tuleb süntheetilise reovee BiAS-sisalduse (mg/l) ja vastava anumasse F kogunenud heitvee põhjal arvutada iga päev.

Niiviisi saadud andmed lagunevuse kohta tuleb esitada graafiliselt, nagu seda on kujutatud joonisel 3.

BiAS-i lagunevus tuleb arvutada niisuguste andmete aritmeetilise keskmisena, mis on saadud käivitusajale järgneva 21 päeva jooksul, mil lagunemine oli korrapärane ning seade toimis laitmatult. Käivitusperioodi pikkus ei tohi mingil juhul ületada kuut nädalat.

Igapäevased lagunemistäpsused arvutatakse 0,1 % täpsusega, ent lõpptulemus antakse lähima täisarvuna.

Teatud juhtudel võib olla lubatav proovivõtmise sageduse alandamine, ent keskmise arvutamiseks tuleb kasutada vähemalt 14 käivitamisajale järgneva 21 päeva jooksul kogutud tulemust.

## 2. PEATÜKK

## KATSEALUSTE TOODETE EELTÖÖTLUS

2.1. **Eelmärkused**2.1.1. *Proovide töötlus*

Mitteioonseid pindaktiivseid aineid ja retsepti järgi valmistatud pesuaineid töödeldakse enne kinnitava katse käigus nende biolagunduvuse kindlaks määramist järgmiselt:

Tooted	Töötlus
Mitteioonseid pindaktiivseid aineid	Puudub
Retsepti järgi valmistatud pesuained	Alkohoolne ekstraheerimine, millele järgneb mitteioonsete pindaktiivsete ainete eraldamine ioonivahetuse teel

Alkohoolse ekstraheerimise eesmärgiks on kõrvaldada kommertstootest lahustumatud ja anorgaanilised osised, mis võivad teatud tingimustel biolagunduvuse katset häirida.

2.1.2. *Ioonivahetusprotseduur*

Biolagunduvuse katsete laitmatuks teostamiseks on nõutav mitteioonsete pindaktiivsete ainete eraldamine seebist, anioonaktiivsetest ja katioonaktiivsetest ainetest.

See saavutatakse ioonivahetustehnika abil, kasutades makropoorset vahetusvaiku ja fraktsioonivaks elutsiooniks sobivaid eluente. Seega on seepi, anioonaktiivseid aineid ja mitteioonseid pindaktiivseid aineid võimalik eraldada ühe protseduuri raames.

2.1.3. *Analüütiline kontroll*

Pärast homogeneerimist määratakse anioonaktiivsete ainete ja mitteioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioon pesuaines kindlaks vastavalt MBAS- ja BiAS-analüütilisele protseduurile. Seebisisaldus määratakse kindlaks sobiva analüütilise meetodiga.

Niisugune toote analüüsimine on vajalik biolagunduvuse katsete jaoks fraktsioonide ettevalmistamiseks vajalike koguste arvutamiseks.

Kvantitatiivne ekstraheerimine ei ole vajalik, ent ekstraheerida tuleb siiski vähemalt 80 % mitteioonseid pindaktiivseid aineid. Tavaliselt saavutatakse 90 %-line või kõrgem tulemus.

2.2. **Põhimõte**

Homogeensest proovist (pulbrid, kuivatatud pastad ja kuivatatud vedelikud) saadakse etanooliekstrakt, mis sisaldab pesuaineproovi pindaktiivseid aineid, seepi ja muid alkoholis lahustuvaid osiseid.

Etanooliekstrakt aurustatakse kuivaks, lahustatakse isopropanooli ja vee segus ning saadud lahus juhitakse läbi temperatuurile 323 K (50 °C) kuumutatud tugevalt happelise katioonivahetuse/makropoorse anioonivahetuse kombinatsioonini. Niisugune kõrge temperatuur on vajalik happelises keskkonnas esineda võivate rasvhapete sadestumise vältimiseks.

Mitteioonseid pindaktiivseid aineid saadakse heitveest aurustamise teel.

Lagunemiskatseid ja analüütilist protseduuri häirida võivad katioonaktiivsed ained kõrvaldatakse anioniidi kohale asetatud kationiidi abil.

2.3. **Kemikaalid ja seadmed**

## 2.3.1. Deioniseeritud vesi

2.3.2. Etanool, 95 % (mahuprotsenti) C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

(lubatav denaturant: metüületüülketoon või metanool)

- 2.3.3. Isopropanooli ja vee segu (50/50 mahuprotsenti):
- 50 mahuosa isopropanooli ( $\text{CH}_3\text{CHOH} \cdot \text{CH}_3$ ) ja
- 50 mahuosa vett (2.3.1)
- 2.3.4. Ammooniumvesinikkarbonaadi lahus (60/40 mahuprotsenti):
- 0,3 mooli  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , 1 000 ml isopropanooli ja vee segus, mis koosneb 60 mahuosast isopropanoolist ja 40 mahuosast veest (2.3.1)
- 2.3.5. Kationiit (KAT), tugevalt happeline, vastupidav alkoholile (sõelaava 50–100)
- 2.3.6. Anioniit (AAT), makroporne, Merck Lewatit MP 7080 (sõelaava 70–150) või sellega võrdväärne
- 2.3.7. Vesinikkloriidhape, 10 % HCl (massiprotsent)
- 2.3.8. 2 000 ml ümarkolb koos lihvkorgi ja püstjahutiga
- 2.3.9. 90 mm läbimõõduga vaakumfilter (kuumutatav) filterpaberite jaoks
- 2.3.10. 2 000 ml filtrimiskolb
- 2.3.11. Vahetuskolonnid koos kuumutussärgi ja kraaniga: sisemine toru läbimõõduga 60 mm ja kõrgusega 450 mm (joonis 4)
- 2.3.12. Veevann
- 2.3.13. Vaakumkuivatusahi
- 2.3.14. Termostaat
- 2.3.15. Rotaatoraurusti

#### 2.4. Ekstrakti ettevalmistamine ja mitteioonsete aktiivainete eraldamine

##### 2.4.1. Ekstrakti ettevalmistamine

Lagunemiskatse jaoks vajalik pindaktiivsete ainete kogus on umbes 25 g BiAS-i.

Ekstraktide ettevalmistamisel lagunemiskatsete jaoks võib toote maksimaalseks kasutatavaks koguseks olla 2 000 g. Seetõttu võib olla vaja lagunemiskatsete jaoks piisava koguse saamiseks teostada protseduuri kaks või kolm korda. Kogemus on näidanud, et ühe suure ekstraheerimise asemel on kasulikum kasutada mitut väikest.

##### 2.4.2. Alkoholis lahustuvate osiste eraldamine

Lisage 1 250 ml etanoolile 250 g analüüsitavat sünteetilist pesuainet, kuumutage segu keemispunktini ja keetke segades püstjahutiga tund aega. Juhtige kuum alkoholilahus läbi temperatuurini 323 K (50 °C) kuumutatud jämedaporse vaakumfiltri ja filtrige kiiresti. Peske kolb ja vaakumfilter umbes 200 ml kuuma etanooliga. Koguge filtraat ja pesulahus filtrimiskolbi.

Kui analüüsitavaks tooteks on pasta või vedel toode, siis tuleb jälgida, et proovis ei sisalduks üle 25 g anioonaktiivseid aineid ja 35 g seepi. Aurustage see kaalutud proov kuivaks. Lahustage jääk 500 ml etanoolis ja toimige vastavalt ülalkirjeldatule.

Madala näivtihedusega (< 300 g/l) pulbrite korral on soovitatav suurendada etanoolisuhe vahekorras tasemele 20:1.

Aurustage etanoolifiltraat täiesti kuivaks, kasutades eelistatavalt rotaatoraurustit. Kui on vaja suuremat kogust ekstrakti, korrake protseduuri. Lahustage jääk 5 000 ml isopropanooli ja vee segus.

#### 2.4.3. Ioonivahetuskolonnide ettevalmistamine

##### Katioonivahetuskolonn

Asetage 3 000 ml keeduklaasi 600 ml katioonivahetusvaiku (2.3.5) ja katke see, lisades 2 000 ml vesinikklooriidhapet (2.3.7). Jätke vähemalt kaheks tunniks seisma ja segage aeg-ajalt. Dekanteerige hape ja viige vaik deioniseeritud vee abil üle kolonni (2.3.11). Kolonnil peab olema klaasvatist kork. Peske kolonni deioniseeritud veega kiirusega 10–30 ml/min, kuni eluaat on kloriidivaba. Asendage vesi kiirusel 10–30 ml/min 2 000 ml isopropanooli ja vee seguga (2.3.3). Vahetuskolonn on nüüd kasutamiseks valmis.

##### Anioonivahetuskolonn

Asetage keeduklaasi 600 ml anioonivahetusvaiku (2.3.6) ja katke see, lisades 2 000 ml deioniseeritud vett. Laske vaigul vähemalt kaks tundi punduda. Viige vaik deioniseeritud vee abil üle kolonni. Kolonnil peab olema klaasvatist kork.

Peske kolonni 0,3 M ammooniumvesinikkarbonaadi lahusega (2.3.4), kuni selles ei ole enam kloriidi. Selleks kulub umbes 5 000 ml lahust. Peske veel 2 000 ml deioniseeritud veega. Asendage vesi kiirusega 10–30 ml/min 2 000 ml isopropanooli ja vee seguga (2.3.3). Vahetuskolonn on nüüd OH-vormis ning kasutamiseks valmis.

#### 2.4.4. Ioonivahetusprotseduur

Ühendage vahetuskolonnid selliselt, et katioonivahetuskolonn oleks asetatud anioonivahetuskolonna peale. Kuumutage vahetuskolonnid termostaati kasutades temperatuurile 323 K (50 °C). Kuumutage 5 000 ml punktis 2.4.2 saadud lahust temperatuurile 333 K (60 °C) ja juhtige lahus läbi ioonivahetikombinatsiooni kiirusega 20 ml/min. Peske kolonne 1 000 ml kuuma isopropanooli ja vee seguga (2.3.3).

Koguge filtraat ja pesulahus mitteioonsete pindaktiivsete ainete saamiseks kokku ning aurustage kuivaks, kasutades eelistatavalt rotaatoraurustit. Jääk sisaldab BiAS-i. Lisage deioniseeritud vett, kuni saavutate määratletud mahu, ja määrake vastavalt punktile 3.3 kindlaks BiAS-sisaldus alikvoodis. Lahust kasutatakse lagunemiskatsete jaoks mitteioonsete pindaktiivsete ainete standardlahusena. Lahust tuleb hoida temperatuuril alla 278 K (5 °C).

#### 2.4.5. Ioonivahetusvaikude regenererimine

Kationiit visatakse pärast kasutamist ära.

Anioonivahetusvaik regenereritakse, juhtides umbes 5 000 – 6 000 ml ammooniumvesinikkarbonaadi lahust (2.3.4) läbi kolonni voolukiirusega umbes 10 ml/min, kuni eluaat on anioonaktiivsete ainete vaba (metüleensinise katse). Seejärel juhtige pesemiseks anioniidist läbi 2 000 ml isopropanooli ja vee segu (2.3.3). Anioniit on nüüd jälle kasutamiseks valmis.

### 3. PEATÜKK

#### MITTEIOONSE PINDAKTIIVSE AINE KINDLAKSMÄÄRAMINE BIOLAGUNEMISKATSE KÄIGUS

##### 3.1. Põhimõte

Pindaktiivsed ained kontsentritakse ja eraldatakse gaasivoolu abil. Kasutatud proovis peab mitteioonse pindaktiivse aine koguseks olema 250–800 µg.

Gaasi abil eraldatud pindaktiivne aine lahustatakse etüülatsetaadis.

Kui faasid on eraldunud ja lahusti aurustunud, sadestatakse mitteioonne pindaktiivne aine vesilahuses modifitseeritud Dragendorffi reaktiiviga ( $\text{KBiJ}_4 + \text{BaCl}_2 + \text{jää-äädikas}$ ).



Sade filtritakse, seda pestakse jää-äädikaga ning see lahustatakse ammooniumtartraadi lahuses. Lahuses olev vismut tiitritakse potentsiomeetriliselt pürrolidiinditiokarbamaadi lahusega (pH 4–5), kasutades indikaatorina heledat plaatinaelektroodi ja kalomel- või hõbe-hõbekloriidvõrdluselektroodi.

Meetod on rakendatav 6–30 alküleenoksiidirühma sisaldavate mitteioonsete pindaktiivsete ainete puhul.

Tiitrimistulemus korrutatakse empiirilise teguriga 54, muundades selle võrdlusaineks nonüülfenooliks, mida on kondenseeritud 10 mooli etüleenoksiidiga (NP 10).

### 3.2. Reaktiivid ja seadmed

Reaktiivid tuleb valmistada deioniseeritud vees.

3.2.1. Puhas etüülatsetaat, värskest destilleeritud.

3.2.2. Naatriumvesinikkarbonaat ( $\text{NaHCO}_3$ , analüüsipuhas reaktiiv).

3.2.3. Lahjendatud vesinikkloriidhape (20 ml kontsentritud hapet (HCl) lahjendatud veega mahuni 1 000 ml).

3.2.4. Metanool (analüüsipuhas reaktiiv), värskest destilleeritud, hoitud klaaspudelis.

3.2.5. Broomkresoolpurpur, 0,1 g 100 ml metanoolis.

3.2.6. Sadestav aine: sadestavaks aineks on segu kahest lahuse A mahuosast ja ühest lahuse B mahuosast. Segu hoitakse pruunis pudelis ja seda võib pärast kokkusegamist kasutada ühe nädala jooksul.

#### 3.2.6.1. Lahus A

Lahustage 1,7 g vismutnitraati ( $\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , analüüsipuhas reaktiiv) 20 ml jää-äädikas ja lahjendage veega mahuni 100 ml. Seejärel lahustage 65 g kaaliumjodiidi (analüüsipuhas reaktiiv) 200 ml vees. Segage need kaks lahust 1 000 ml mõõtekolvis kokku, lisage 200 ml jää-äädikat (3.2.7) ja lahjendage veega mahuni 1 000 ml.

#### 3.2.6.2. Lahus B

Lahustage 290 g baariumkloriidi ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , analüüsipuhas reaktiiv) 1 000 ml vees.

3.2.7. 99–100 % jää-äädikas (madalamad kontsentratsioonid on sobimatud).

3.2.8. Ammooniumtartraadi lahus: segage 12,4 g viinhapet (analüüsipuhas reaktiiv) ja 12,4 ml ammoniaagilahust (analüüsipuhas reaktiiv,  $d = 0,910 \text{ g/ml}$ ) ning lahjendage veega mahuni 1 000 ml (või kasutage samaväärses koguses ammooniumtartraati (analüüsipuhas reaktiiv)).

3.2.9. Lahjendatud ammoniaagilahus: 40 ml ammoniaagilahust (analüüsipuhas reaktiiv,  $d = 0,910 \text{ g/ml}$ ) lahjendatud veega mahuni 1 000 ml.

3.2.10. Standardne atsetaatpuhver: lahustage 40 g tahket naatriumhüdrosiidi (analüüsipuhas reaktiiv) keeduklaasis 500 ml veega ja laske jahtuda. Lisage 120 ml jää-äädikat (3.2.7). Segage põhjalikult, jahutage ja viige üle 1 000 ml mõõtekolbi. Täitke mõõtekolb mahumärgini veega.

3.2.11. Pürrolidiinditiokarbamaadi lahus (tuntud kui "karbaadilahus"): lahustage 103 mg naatriumpürrolidiinditiokarbamaati ( $\text{C}_5\text{H}_7\text{NNaS}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) umbes 500 ml vees, lisage 10 ml n-amüülalkoholi (analüüsipuhas reaktiiv) ja 0,5 g  $\text{NaHCO}_3$  (analüüsipuhas reaktiiv) ja lahjendage veega mahuni 1 000 ml.

3.2.12. Vasksulfaadi lahus (3.2.11 standardimiseks)

Põhilahus

Segage 1,249 g vasksulfaati ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , analüüsipuhas lahus) 50 ml 0,5 M väävelhappega ja lahjendage veega mahuni 1 000 ml.

Standardlahus

Segage 50 ml põhilahust 10 ml 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -ga ja lahjendage veega mahuni 1 000 ml.

3.2.13. Naatriumkloriid (analüüsipuhas reaktiiv).

- 3.2.14. Gaasieraldusseade (vt joonist 5).  
Paagutatud plaadi läbimõõt peab võrduma ballooni siseläbimõõduga.
- 3.2.15. Jaotuslehter, 250 ml.
- 3.2.16. Magnetsegur 25–30 mm magnetiga.
- 3.2.17. Goochi tiigel, sõelpõhja läbimõõt = 25 mm, tüüp G 4.
- 3.2.18. Ringikujulised klaaskiudfilterpaberid, diameeter 27 mm, kiu läbimõõt 0,5–1,5 µm.
- 3.2.19. Kaks filtrimiskolbi koos adapterite ja kummikraedega, vastavalt 500 ja 250 ml.
- 3.2.20. Isekirjutav potentsiomeeter, mis on varustatud heleda plaatinaindikaatorelektroodiga ja kalomel- või hõbe-hõbekloriidvõrdluselektroodiga (250 mV vahemikuga) ning 20–25 ml mahutavusega automaatsüüri või alternatiivne manuaalne seade.

### 3.3. Meetod

#### 3.3.1. Pindaktiivse aine kontsentrimine ja eraldamine

Filtri veeproov läbi kvalitatiivse filterpaberi. Visake filtraadi esimesed 100 ml ära.

Asetage eelnevalt etüülatsetaadiga loputatud eraldusseadmesse 250–800 µg mitteioonset pindaktiivset ainet sisaldav mõõdetud proovi kogus.

Lisage eraldumise parendamiseks 100 g naatriumkloriidi ja 5 g naatriumvesinikkarbonaati.

Kui proovi maht ületab 500 ml, siis lisage nimetatud soolad eraldusseadmesse tahkes olekus ja lahustage need läbi lämmastiku või õhu juhtides.

Väiksema suurusega proovi kasutamisel lahustage soolad 400 ml vees ning lisage siis eraldusseadmesse.

Lisage vett, tõstes taseme ülemise kraanini.

Lisage vee peale ettevaatlikult 100 ml etüülatsetaati.

Täitke gaasiliinil (lämmastik või õhk) paiknev pesupudel kahe kolmandiku ulatuses etüülatsetaadiga.

Juhtige 30–60 l/h gaasivool läbi seadme, soovitatav on kasutada kulumõõturit. Alguses tuleb õhustamiskiirust vähehaaval suurendada. Gaasivoolu kiirust tuleb reguleerida selliselt, et faasid jääksid märgatavalt eraldi, viies faaside segunemise ja etüülatsetaadi vees lahustumise miinimumini. Katkestage gaasivool viie minuti pärast.

Kui orgaanilise faasi maht on vees lahustumise tõttu vähenenud üle 20 %, siis tuleb sublatsioon korrata, pöörates erilist tähelepanu gaasivoolu kiirusele.

Viige orgaaniline faas üle jaotuslehterisse. Kui jaotuslehterisse on jäänud veefaasist vett (seda peaks olema vaid mõni ml), siis juhtige see tagasi eraldusseadmesse. Filtri etüülatsetaatafaas läbi kuiva kvalitatiivse filterpaberi 250 ml keeduklaasi.

Asetage veel 100 ml etüülatsetaati eraldusseadmesse ja juhtige sellest jälle viie minuti jooksul läbi lämmastikku või õhku. Juhtige orgaaniline faas ära esimese eraldamise jaoks kasutatud jaotuslehterisse, visake veefaas ära ja juhtige orgaaniline faas läbi esimese etüülatsetaadi jaoks kasutatud filtri. Loputage nii jaotuslehterit kui filtrit umbes 20 ml etüülatsetaadiga.

Aurustage etüülatsetaadi ekstrakt veevannil (tõmbekapis) kuivaks. Juhtige aurustumise kiirendamiseks üle lahuse pinna õrn õhuvool.

#### 3.3.2. Sadestamine ja filtrimine

Lahustage punktis 3.3.1 saadud kuivjääk 5 ml metanoolis, lisage 40 ml vett ja 0,5 ml lahjendatud HCl (3.2.3) ning segage segu magnetseguriga.

Lisage saadud lahusele mõõtesilindrist 30 ml sadestavat ainet (3.2.6). Sade tekib pärast korduvat segamist. Jätke segu pärast 10minutilist segamist vähemalt viieks minutiks seisma.

Filtrige segu läbi Goochi tiigli, mille põhi on kaetud klaaskiudfilterpaberiga. Peske filtrit esmalt vaakumis 2 ml jää-äädikaga. Seejärel peske jää-äädikaga (seda on vaja umbes 40–50 ml) põhjalikult keeduklaasi, magnetit ja tiiglit. Keeduklaasi seintele kleepunud sadet ei ole kvantitatiivselt vaja filtrile üle viia, kuna tiitrimiseks vajalik sademelahus viiakse tagasi sadestamiskeeduklaasi ning siis lahustub järelejääv sade.

### 3.3.3. Sademe lahustamine

Lahustage sade filtritiiglis, lisades kuuma ammoniumtartraadi lahuse (umbes 80 °C, 353 K) (3.2.8) kolmes osas, igaüks neist 10 ml. Laske igal osal enne selle läbi filtri kolbi imemist mõned minutid tiiglis seista.

Pange filtrimiskolbi sisu sadestamiseks kasutatud keeduklaasi. Ülejäänud sademe lahustamiseks loputage keeduklaasi seinu veel 20 ml tartraadilahusega.

Peske tiiglit, adapterit ja filtrimiskolbi ettevaatlikult 150–200 ml veega ja viige loputusvesi tagasi sadestamiseks kasutatud keeduklaasi.

### 3.3.4. Tiitrimine

Segage lahust magnetseguriga (3.2.16), lisage mõned tilgad broomkresoolpurpuri (3.2.5) ning lisage lahjendatud ammoniaagilahust (3.2.9), kuni värv muutub violetseks (lahus on loputamiseks kasutatud äädikhappe jäägist kergelt happeline).

Lisage seejärel 10 ml standardset atsetaatpuhvrit (3.2.10), kastke elektroodid lahusesse ning tiitrite potentsioomeetriselt standardse "karbaadilahusega" (3.2.11), büretiots lahusesse kastetud.

Tiitrimiskiirus ei tohi ületada 2 ml/min.

Lõpp-punktiks on potentsiaalikävera kahe haru tangensitega lõikumise punkt. Mõnikord võib täheldada potentsiaalikävera pöördepunkti lamendumist, ent seda on võimalik kõrvaldada plaatinaelektroodi hoolika puhastamisega (poleerides seda smirgelpaberiga).

### 3.3.5. Pimekatsed

Sooritage samal ajal läbi kogu protseduuri pimekatse 5 ml metanooli ja 40 ml veega vastavalt punktis 3.3.2 antud juhistele. Pimetitrimine peab jääma alla 1 ml, sest vastasel korral ei saa olla kindel reaktiivide (3.2.3 – 3.2.7 – 3.2.8 – 3.2.9 – 3.2.10) puhtuses (eriti nende raskmetallide sisalduses) ja need tuleb asendada. Tulemuste arvutamisel tuleb arvestada pimemääramisega.

### 3.3.6. "Karbaadilahuse" teguri kontrollimine

Määrake karbaadilahuse tegur kindlaks kasutamispäeval. Selleks tiitrite 10 ml vasksulfaadi lahust pärast 100 ml vee ja 10 ml standardse atsetaatpuhvri (3.2.10) lisamist (3.2.12) karbaadilahusega. Kui kasutatud koguseks on "a" milliliitrit, siis on teguriks f:

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

ja kõik tiitrimistulemused korrutatakse selle teguriga.

## 3.4. Tulemuste arvutamine

Igal mitteioonsel pindaktiivsel ainel on oma tegur sõltuvalt selle koostisest ning eriti alkeenoksiidiahela pikkusest. Mitteioonse pindaktiivse aine kontsentratsiooni väljendatakse standardaine suhtes, milleks on 10 etüleenoksiidiühikuga nonüülfenool (NP 10), mille jaoks on muundusteguriks 0,054.

Nimetatud tegurit kasutades leitakse proovis leiduva pindaktiivse aine kogus väljendatuna mg-i NP 10 ekvivalendina:

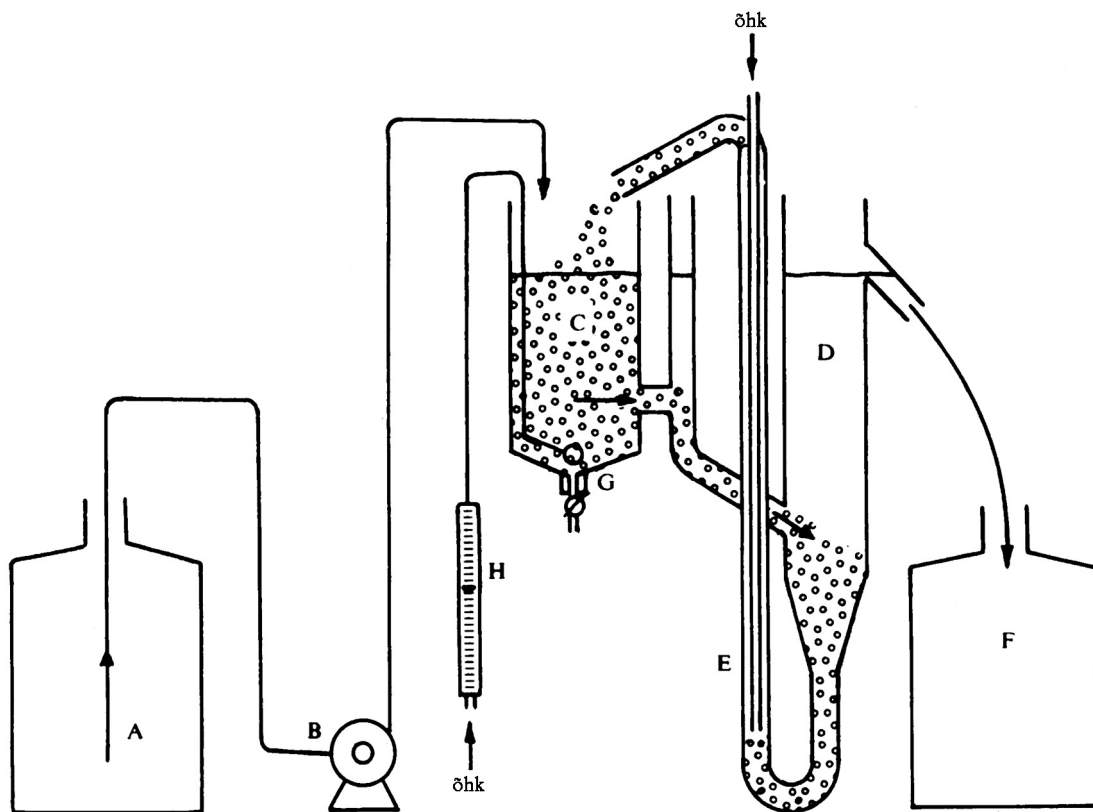
$$(b - c) \cdot f \cdot 0,054 = \text{mg mitteioonset pindaktiivset ainet NP 10-na}$$

kus: b = proovi käigus kulunud "karbaadilahuse" maht (ml),  
c = pimekatses kulunud "karbaadilahuse" maht (ml),  
f = "karbaadilahuse" tegur.

### 3.5. Tulemuste esitamine

Esitage tulemused täpsusega 0,1 mg/l NP 10-na.

Joonis 1

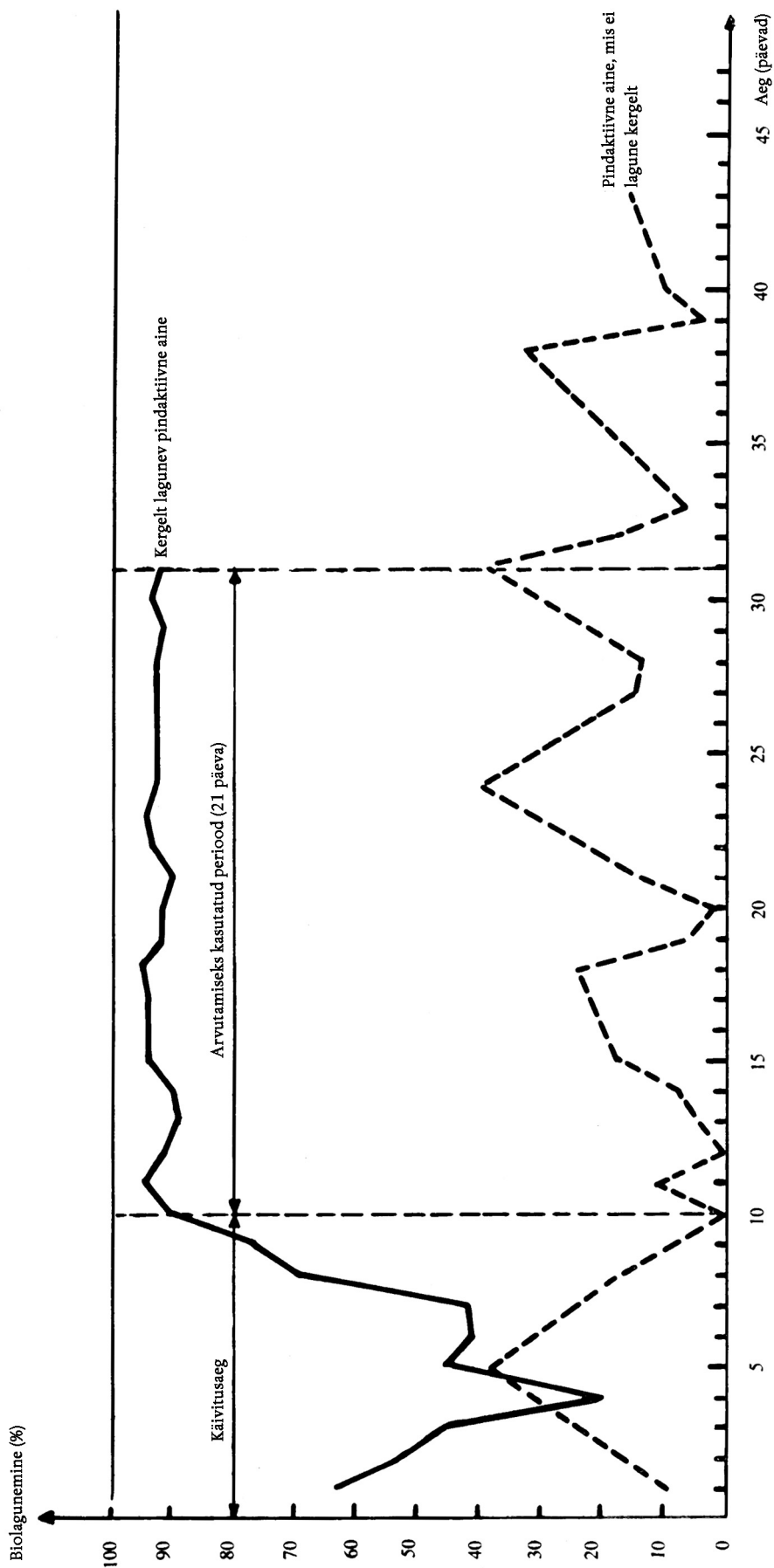


- |   |                      |
|---|----------------------|
| A. Hoiuanum                                 | E. Suruõhkpump       |
| B. Doseerimisaseade                         | F. Kollektor         |
| C. Õhustamiskamber (mahutavus kolm liitrit) | G. Paagutatud õhusti |
| D. Sadestamisanum                           | H. Õhukulumõõtur     |



Joonis 3

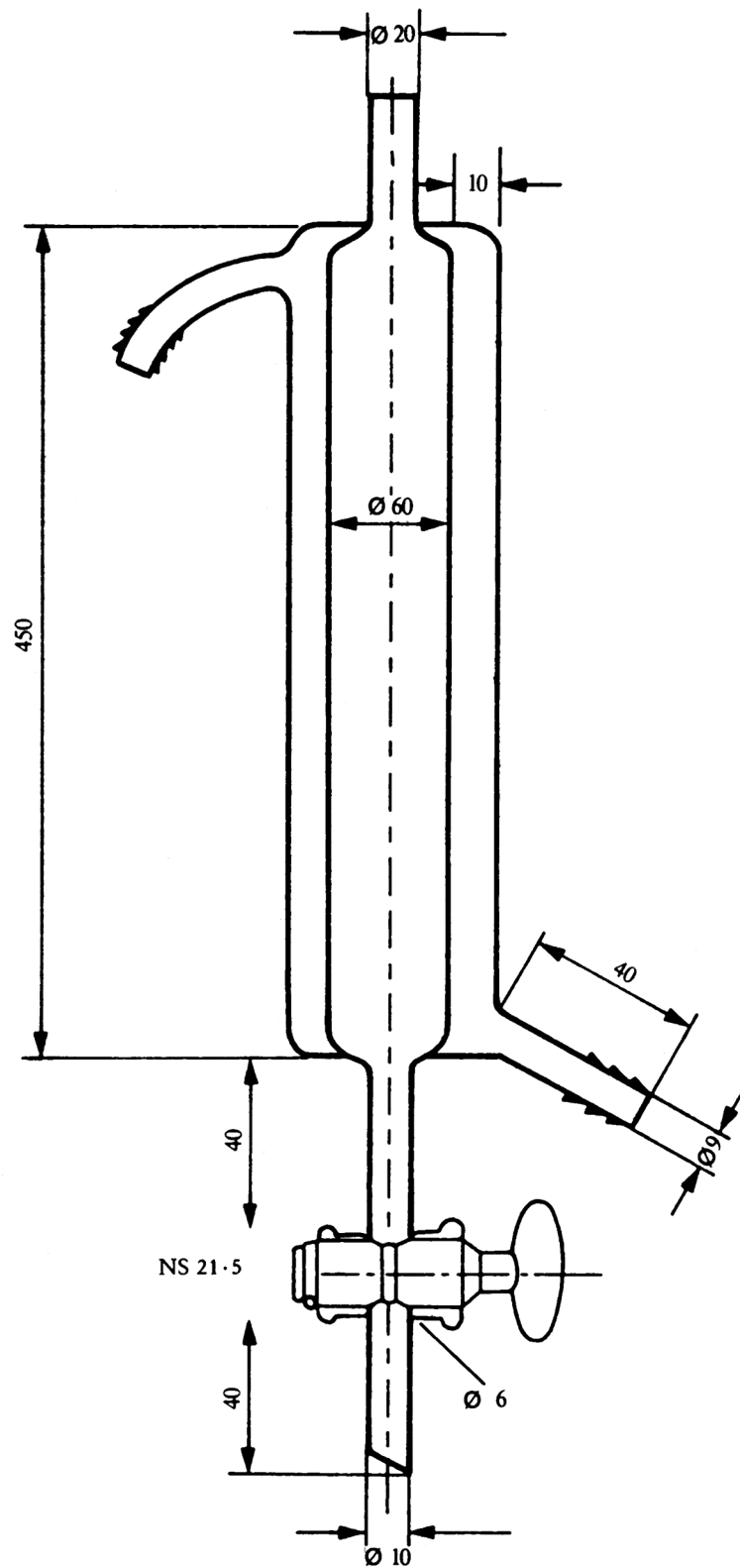
## Bioloogilise arvutamise – kinnitav katse



Joonis 4

## Kuumutatav vahetuskolonn

(Mõõtmed millimeetrites)





Joonis 5

## Gaasialdusseade

(Mõõtmed millimeetrites)

