

31982L0242

22.4.1982

URADNI LIST EVROPSKIH SKUPNOSTI

L 109/1

**DIREKTIVA SVETA****z dne 31. marca 1982****o približevanju zakonodaje držav članic v zvezi z metodami preskušanja biološke razgradljivosti neionskih površinsko aktivnih snovi in o spremembi Direktive 73/404/EGS**

(82/242/EGS)

SVET EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

zvezi z metodami preskušanja biološke razgradljivosti anionskih površinsko aktivnih snovi<sup>(2)</sup> določene takšne metode in odstopanja za anionske površinsko aktivne snovi;

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske gospodarske skupnosti in zlasti člena 100 Pogodbe,

ob upoštevanju predloga Komisije<sup>(1)</sup>,ob upoštevanju mnenja Evropskega parlamenta<sup>(2)</sup>,

ker je zato, da se omogoči državam članicam določitev stopnje biološke razgradljivosti neionskih površinsko aktivnih snovi, priporočljivo uporabiti preskusne metode, ki se v ta namen že uporabljajo v nekaterih državah članicah; ker bi bilo treba v primeru spora biološko razgradljivost preskusiti po skupni referenčni metodi;

ob upoštevanju mnenja Ekonomsko-socialnega odbora<sup>(3)</sup>,

ker se veljavne metode preskušanja v državah članicah, medtem ko imajo isti cilj, razlikujejo v nekaterih pogledih in zato škodijo pravilnemu delovanju skupnega trga;

ker je v členu 4 Direktive Sveta 73/404/EGS z dne 22. novembra 1973 o približevanju zakonodaje držav članic v zvezi z detergenti<sup>(4)</sup> predvideno sprejetje direktiv, v katerih bodo določene preskusne metode kakor tudi ustrezna odstopanja, da se omogoči začetek izpolnjevanja zahtev navedene direktive; ker so bile v Direktivi Sveta 73/405/EGS z dne 22. novembra 1973 o približevanju zakonodaje držav članic v

ker bi bilo treba v zvezi s približevanjem zakonodaje držav članic, ki se nanaša na detergente, določiti primerna odstopanja za merjenje biološke razgradljivosti, kakor je predvideno v členu 4 Direktive Sveta 73/404/EGS, da se prepreči nezanesljivost preskusnih metod, ki bi lahko pripeljala do odločitev o zavrnitvi, kar bi imelo resne gospodarske posledice; ker se odločitev o zavrnitvi lahko sprejme samo, če rezultati, dobljeni po analitski metodi, navedeni v členu 2, kažejo stopnjo biološke razgradljivosti, ki je nižja od 80 %;

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

ker je zaradi tehničnih težav in preprečevanja drugih nezaželenih vplivov na zdravje in okolje za zdaj treba uporabljati v nekatere namene majhne količine nekaterih neionskih površinsko aktivnih snovi z nizko biološko razgradljivostjo; ker bo z vidika tehničnega napredka vseeno treba imeti možnost za pregled uporabe teh površinsko aktivnih snovi z nizko biološko razgradljivostjo;

ker tehnični napredek zahteva hitro prilagajanje tehničnih zahtev, določenih v direktivah o detergentih; ker bi bilo treba zaradi lažjega izvajanja potrebnih ukrepov, oblikovanih za uresničitev tega, sprejeti postopek, ki bi zagotovil tesno sodelovanje med državami članicami in Komisijo v okviru Odbora za prilagajanje tehničnemu napredku direktiv o odstranjevanju tehničnih ovir v trgovini z detergenti,

SPREJEL NASLEDNJO DIREKTIVO:

#### Člen 1

Ta direktiva se nanaša na metode preskušanja biološke razgradljivosti neionskih površinsko aktivnih snovi v detergentih, opredeljenih v členu 1 Direktive 73/404/EGS.

#### Člen 2

V skladu z določbami člena 4 Direktive 73/404/EGS države članice prepovejo dajanje detergenta v promet in njegovo uporabo na svojem ozemlju, če je stopnja biološke razgradljivosti neionskih površinsko aktivnih snovi, ki jih vsebuje takšen detergent, nižja od 80 %, določenih v skladu z eno od naslednjih metod:

- metodo OECD, objavljeno v tehničnem poročilu OECD z dne 11. junija 1976 o „Predlagani metodi za določanje biološke razgradljivosti površinsko aktivnih snovi, ki se uporabljajo v sintetičnih detergentih“,
- metodo, ki se uporablja v Nemčiji in jo je vpeljal „Verordnung über die Abbaubarkeit anionischer und nichtionischer grenzflächenaktiver Stoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln“ z dne 30. januarja 1977, objavljena pa je bila v *Bundesgesetzblatt*, 1977, Del I, str. 244, kot je opisana v uredbi, ki spreminja uredbo z dne 18. junija 1980, objavljeno v *Bundesgesetzblatt*, 1980, Del I, str. 706,

- metodo, ki se uporablja v Franciji in je bila odobrena z odlokom z dne 28. decembra 1977 ter objavljena v *Journal officiel de la République française* z dne 18. januarja 1978, in eksperimentalnim standardom T 73-270 iz marca 1974, ki ga je objavila Association française de normalisation (AFNOR),

- metodo, ki se uporablja v Združenem kraljestvu in se imenuje „Porous Pot Test“ ter je opisana v Tehničnem poročilu št. 70/1978 Centra za raziskavo voda.

#### Člen 3

Po postopku, določenem v členu 5(2) Direktive 73/404/EGS, laboratorijsko mnenje o neionskih površinsko aktivnih snoveh temelji na referenčni metodi (dokazni preskusni postopek), opisani v Prilogi k tej direktivi.

#### Člen 4

Spremembe, ki so potrebne za prilagajanje Priloge tehničnemu napredku, se sprejmejo v skladu s postopkom, določenim v členu 7b Direktive 73/404/EGS.

#### Člen 5

V Direktivo 73/404/EGS se vstavijo naslednji členi:

##### „Člen 2a

1. Do 31. marca 1986:
  - (a) Države članice lahko izločijo iz zahtev odstavka 1 člena 2 naslednje proizvode: nizkopeneče alkenoksidne dodatke takšnim snovem, kot so alkoholi, alkilfenoli, glikoli, poliolja, maščobne kisline, amidi ali amini, ki se uporabljajo v proizvodih za pomivanje posode;
  - (b) zahteve iz odstavka 1 člena 2 ne veljajo za alkalijsko odporne terminalno zaščitene alkil in alkil-aril poliglikol etre in takšne snovi, kakršne so navedene v odstavku (a), ki se uporabljajo v čistilih za živilsko industrijo, industrijo pijač in kovinskopredelovalno industrijo.
2. Odstavek 1 velja za zgoraj navedene neionske površinsko aktivne snovi, ki so prišle v promet po 30. septembru 1983, samo če imajo višjo stopnjo biološke razgradljivosti kot obstoječi proizvodi za enako uporabo.

3. Uporaba neionskih površinsko aktivnih snovi, navedenih v odstavkih 1 in 2, za katero velja začasno izvzetje, v običajnih okoliščinah uporabe ne sme biti škodljiva za zdravje ljudi ali živali.

#### Člen 7a

1. Ustanovi se Odbor za prilagajanje tehničnemu napredku direktiv o odstranjevanju tehničnih ovir v trgovini z detergentski, v nadaljevanju 'odbor', ki je sestavljen iz predstavnikov držav članic, predseduje pa mu predstavnik Komisije.

2. Odbor sprejme svoj poslovnik.

#### Člen 7b

1. Kadar se uporabi postopek, določen v tem členu, predsednik na svojo pobudo ali na zahtevo predstavnika države članice zadevo predloži odboru.

2. Predstavniki Komisije predloži odboru osnutek ukrepov, ki jih je treba sprejeti. Odbor da svoje mnenje o osnutku v roku, ki ga lahko določi predsednik glede na nujnost zadeve. Da lahko to stori, je potrebna kvalificirana večina glasov, kakor je določena v členu 148(2) Pogodbe.

Predsednik ne glasuje.

3. (a) Komisija sprejme predlagane ukrepe, če so v skladu z mnenjem odbora.
- (b) Če predlagani ukrepi niso v skladu z mnenjem odbora ali če mnenje ni bilo dano, Komisija brez odlašanja predloži Svetu predlog ukrepov, ki naj se sprejmejo. Svet odloča s kvalificirano večino.
- (c) Če Svet ne odloči v treh mesecih po predložitvi predloga, sprejme predlagane ukrepe Komisija.

#### Člen 7c

1. V skladu s postopkom, določenim v členu 7b,

— se sklicevanja na preskusne metode v direktivah, navedenih v členu 4, po potrebi sproti dopolnijo ali dopolnijo z drugimi sklicevanji na preskusne metode, ki so sprejete v drugih državah članicah,

— se referenčne metode (dokazni preskus) v prilogah k direktivam iz člena 4 spremenijo, da se prilagodijo tehničnemu napredku.

2. Te prilagoditve ne smejo negativno učinkovati na zahteve v zvezi s površinsko aktivnimi snovmi glede njihove biološke razgradljivosti, ki so že določene v skladu s členom 4.“

#### Člen 6

1. Države članice sprejmejo predpise, potrebne za usklajitev s to direktivo, v osemnajstih mesecih po njeni notifikaciji. O tem takoj obvestijo Komisijo.

2. Države članice sporočijo Komisiji besedila določb nacionalne zakonodaje, sprejetih na področju, ki ga ureja ta direktiva.

#### Člen 7

Ta direktiva je naslovljena na države članice.

V Bruslju, 31. marca 1982

Za Svet

Predsednik

P. DE KEERSMAEKER

## PRILOGA

## DOLOČANJE BIOLOŠKE RAZGRADLJIVOSTI NEIJSKIH POVRŠINSKO AKTIVNIH SNOVI

## Referenčna metoda (dokazni preskus)

## POGLAVJE 1

1.1 **Opredelitev**

Po tej direktivi so neionske površinsko aktivne snovi tiste površinske snovi, ki so po prehodu skozi kationske in anionske ionske izmenjevalce določene kot bizmut aktivne snovi (BiAS) po analitskem postopku, opisanem v poglavju 3.

1.2 **Oprema, potrebna za meritve**

Meritvena metoda vključuje majhno čistilno napravo z aktivnim blatom, ki je prikazana na sliki 1 in podrobneje na sliki 2. Oprema sestoji iz posode A za shranjevanje sintetičnih odplak, odmerjevalne črpalke B, posode C za prezračevanje, posode D za usedanje, zračne črpalke E za recikliranje aktivnega blata in posode F za zbiranje odplak.

Posodi A in F morata biti stekleni ali iz primerne plastike in s prostornino vsaj 24 litrov. Črpalka B mora vzdrževati konstanten pretok sintetičnih odplak v posodo za prezračevanje; ta posoda med normalnim delovanjem vsebuje tri litre mešanih tekočin. Sintran ventil za zrak G je nameščen na najnižji točki stožčastega vratu posode C. Količina zraka, vpihanega skozi prezračevalnik, naj bo nadzorovana z merilnikom pretoka H.

1.3 **Sintetične odplake**

Sintetične odplake se uporabljajo za preskus. V litru vode iz pipe raztopi:

- 160 mg peptona,
- 110 mg mesnega ekstrakta,
- 30 mg sečnine  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ,
- 7 mg natrijevega klorida NaCl,
- 4 mg kalcijevega klorida dihidrata  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,
- 2 mg magnezijevega sulfata heptahidrata  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,
- 28 mg dikalijevega hidrogenfosfata  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,

in  $10 \pm 1$  mg BiAS.

BiAS je ekstrahiran iz produkta za preskušanje po metodi, opisani v poglavju 2. Sintetične odplake se pripravljajo vsak dan sveže.

1.4 **Priprava vzorcev**

1.4.1 Nesestavljene površinsko aktivne snovi se lahko analizirajo v prvotnem stanju. Vsebnost BiAS mora biti določena, da se pripravijo ustrezne sintetične odplake (1.3).

1.4.2 Sestavljeni produkti se analizirajo na vsebnost BiAS, MBAS in mila. Treba je opraviti alkoholno ekstrakcijo in separacijo BiAS (glej poglavje 2). Vsebnost BiAS v ekstraktu naj bo določena zaradi priprave primerne sintetične odplake.

1.5 **Delovanje aparature**

Na začetku napolnimo posodo C za prezračevanje in posodo D za usedanje s sintetičnimi odplakami. Višina posode D naj bo nastavljena tako, da je prostornina tekočine v posodi C za prezračevanje tri litre. Cepljenje se doseže z dodatkom 3 ml sekundarnih odplak dobre kakovosti, sveže zbranih iz priprave za obdelavo večinoma gospodinjskih odplak. Vzorec odplake je treba med odvzemom in uporabo hraniti v aerobnih razmerah. Potem vklopimo prezračevalnik G, zračni pretok E in odmerjevalno pripravo B v delovanje. Sintetične odplake morajo iti skozi posodo za prezračevanje C s pretokom enega litra na uro; tako dobimo srednji retenzijski čas tri ure.

Stopnja prezračevanja naj bo naravnana tako, da je vsebina posode C vedno v suspenziji, vsebnost raztopljenega kisika pa vsaj 2 mg/l. S primernimi sredstvi preprečimo penjenje. Ne smemo uporabljati sredstev proti penjenju, ki inhibirajo aktivno blato ali vsebujejo BiAS. Zračna črpalka E mora biti nastavljena tako, da se aktivno blato iz posode za usedanje stalno reciklira v posodo C za prezračevanje. Blato, ki se nabere na vrhu posode C za prezračevanje, na dnu posode D za usedanje ali kjerkoli v procesu kroženja, naj se vrne v obtok vsaj enkrat na dan s krtačenjem ali ustreznimi sredstvi. Ko se blato neha usedati, se po potrebi lahko poveča stopnja usedanja z dodatkom 2 ml odmerkov 5 % raztopine železovega klorida.

Odplake iz posode za usedanje D se zberejo v posodi F za 24 ur, potem se po močnem mešanju odvzame vzorec. Nato se mora posoda F temeljito očistiti.

## 1.6 Preverjanje merilne opreme

Vsebnost BiAS (v mg/l) sintetičnih odplak je določena takoj pred uporabo.

Vsebnost BiAS (v mg/l) odplak, zbranih v 24 urah v posodi F, naj bo določena analitično po isti metodi takoj potem, ko se zberejo, sicer je vzorec treba ohraniti, najbolje z zamrznitvijo. Koncentracija se mora določiti z natančnostjo 0,1 mg/l BiAS.

Za preverjanje učinkovitosti procesa se najmanj dvakrat tedensko izmeri kemijska potreba po kisiku (COD) ali raztopljen organski ogljik (DOC) zbrane odplake v posodi F, prefiltrirane skozi steklena vlakna, in filtrirane sintetične odplake v posodi A.

Zmanjševanje COD ali DOC bi moralo prenehati, ko je dobljena približno redna dnevna razgradnja BiAS na koncu uvajalnega obdobja, kakor je prikazano na sliki 3.

Vsebnost suhe snovi v aktivnem blatu v posodi za prezračevanje naj bo določena v g/l dvakrat na teden. Če preseže 2,5 g/l, naj se prebitek aktivnega blata odstrani.

Preskus razgradnje poteka pri sobni temperaturi; ta naj bo stalna in v mejah med 292 in 297 K (19–24 °C).

## 1.7 Izračun biološke razgradljivosti

Odstotek razgradnje BiAS mora biti izračunan vsak dan na podlagi vsebnosti BiAS v mg/l v sintetičnih odplakah in odplakah, zbranih v posodi F.

Tako dobljene vrednosti razgradnje naj se predstavijo grafično, kakor je prikazano na sliki 3.

Razgradljivost BiAS naj bo izračunana kot aritmetična sredina podatkov, dobljenih v 21 dneh, ki sledijo obdobju uvajanja, med katerim je bilo delovanje naprave nemoteno in razgradljivost stalna. Sicer pa obdobje uvajanja naj ne bo daljše od šestih tednov.

Dnevne vrednosti razgradljivosti se izračunajo na 0,1 % natančno, končni rezultat pa se zaokroži na celo število.

V nekaterih primerih je dovoljeno zmanjševanje vzorčenja, vendar je za verodostojen povprečni rezultat potrebnih vsaj 14 meritev v 21 dneh, ki sledijo obdobju uvajanja.

## POGLAVJE 2

## PREDHODNA OBDELAVA PRODUKTOV, NAMENJENIH PRESKUŠANJU

2.1 **Uvode opombe**2.1.1 *Obdelava vzorcev*

Obdelava neionskih površinsko aktivnih dejavnikov in sestavljenih detergentov za poznejše določanje biološke razgradljivosti v dokaznem preskusu je:

Produkti	Obdelava
Neionske površinsko aktivne snovi	Ni obdelave
Sestavljeni detergenti	Ekstrakciji z alkoholom sledi separacija neionskih površinsko aktivnih snovi z ionsko izmenjavo

Namen ekstrakcije z alkoholom je odstranitev netopnih in anorganskih sestavin v tržnem proizvodu, ki lahko v nekaterih okoliščinah motijo preskus biorazgradljivosti.

2.1.2 *Postopek ionske izmenjave*

Izolacija in separacija neionskih površinsko aktivnih snovi iz mila, anionskih in kationskih površinsko aktivnih snovi sta potrebni za pravilnost preskusov biološke razgradljivosti.

To dosežemo s tehniko ionske izmenjave z makroporoznimi izmenjevalnimi geli in ustreznimi eluenti za frakcionirno izpiranje. Tako so lahko milo, anionske in neionske površinsko aktivne snovi izolirane v enem postopku.

2.1.3 *Analitska kontrola*

Po homogenizaciji se koncentracija anionskih in neionskih površinsko aktivnih snovi v detergentih določi po analitskem postopku MBAS in BiAS. Vsebnost mila se določi po ustrezni analitski metodi.

Ta analiza produkta je nujna za izračun količin, potrebnih za pripravo frakcij za preskus biološke razgradljivosti.

Kvantitativna ekstrakcija ni potrebna, vendar naj bo ekstrahiranih vsaj 80 % neionskih površinsko aktivnih snovi. Običajno dobimo 90 % ali več.

2.2 **Princip**

Iz homogenega vzorca (prašek, posušene kreme in tekočine) dobimo etanolni ekstrakt, ki vsebuje površinsko aktivne snovi, milo in druge sestavine vzorca detergenta, ki se topijo v etanolu.

Etanolni ekstrakt uparimo do suhega, raztopimo v mešanici izopropanola in vode ter dobljeno raztopino pošljemo skozi kombinacijo močno kislega kationskega izmenjevalca in makroporoznega anionskega izmenjevalca, segretega na 323 K (50 °C). Tako visoka temperatura je potrebna, da se prepreči obarjanje maščobnih kislin, ki se lahko pojavi v kislem mediju.

Neionske površinsko aktivne snovi dobimo iz iztoka z uparivanjem.

Kationske površinsko aktivne snovi, ki bi lahko motile preskus razgradljivosti in analitski postopek, odstranimo s kationskim izmenjevalcem, postavljenim nad anionskim izmenjevalcem.

2.3 **Reagenti in oprema**

## 2.3.1 Deionizirana voda

2.3.2 Etanol, 95 % (v/v) C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

(Dovoljen denaturant: etil metil keton ali metanol)

- 2.3.3 Mešanica izopropanola in vode (50/50 v/v):  
50 prostorninskih delov izopropanola ( $\text{CH}_3\text{CHOH-CH}_3$ ) in  
50 prostorninskih delov vode (2.3.1)
- 2.3.4 Raztopina amonijevega bikarbonata (60/40 v/v):  
0,3 mol  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  v 1 000 ml mešanice izopropanola in vode, ki vsebuje 60 prostorninskih delov izopropanola in 40 prostorninskih delov vode (2.3.1)
- 2.3.5 Kationski izmenjevalec (KAT), močno kisel, odporen proti alkoholu (50–100 mesh)
- 2.3.6 Anionski izmenjevalec (AAT), makroporozen, Merck Lewatit MP 7080 (70–150 mesh) ali ekvivalent
- 2.3.7 Klorovodikova kislina, 10 % HCl w/w
- 2.3.8 2 000 ml bučka z okroglim dnom in s steklenim zamaškom z obrusom ter hladilnikom
- 2.3.9 Presesalni filter premera 90 mm (možnost segrevanja) za filtrirni papir
- 2.3.10 2 000 ml presesalna buča
- 2.3.11 Izmenjevalne kolone z grelcem in pipo: notranji premer cevi: 60 mm, višina: 450 mm (slika 4)
- 2.3.12 Vodna kopel
- 2.3.13 Vakuumska peč za sušenje
- 2.3.14 Termostat
- 2.3.15 Rotavapor

## 2.4 Priprava ekstrakta in ločevanje neionskih aktivnih dejavnikov

### 2.4.1 Priprava ekstrakta

Količina površinsko aktivnih snovi, potrebnih za preskus razgradnje, je približno 25 g BiAS.

Pri pripravi ekstraktov za preskuse razgradljivosti naj bo količina uporabljenega produkta največ 2 000 g. Zato bo morda treba opraviti postopek dvakrat ali večkrat, da dobimo zadostno količino za preskus razgradljivosti. Izkušnje kažejo, da so večkratne manjše ekstrakcije učinkovitejše od ene velike.

### 2.4.2 Izolacija sestavin, topnih v alkoholu

Dodaj 250 g sintetičnega detergenta za analizo v 1 250 ml etanola, segrevaj raztopino do vrelišča in ob mešanju refluktiraj eno uro. Zlij vročo alkoholno raztopino skozi grob presesalni filter, segret na 323 K (50 °C), in hitro prefiltriraj. Speri bučko in presesalni filter s približno 200 ml vročega etanola. Zberi filtrat in sprane ostanke v presesalni bučki.

Pri mazavih ali tekočih produktih za analizo se prepričaj, da vzorec vsebuje največ 25 g anionskih površinsko aktivnih snovi in 35 g mila. Uparevaj stehani vzorec do suhega. Raztopi ostanek v 500 ml etanola in nadaljuj, kot je opisano zgoraj.

Pri praških zelo majhne gostote (< 300g/l) je priporočljivo povečati razmerje etanola na 20 : 1.

Izparevaj etanolni filtrat do popolnoma suhega, najbolje z rotavaporjem. Ponovi postopek, če je potrebna večja količina ekstrakta. Raztopi ostanek v 5 000 ml mešanice izopropanola in vode.

#### 2.4.3 Priprava kolone za ionsko izmenjavo

##### Kationsko izmenjevalna kolona

V 3 000 ml čašo daj 600 ml kationsko izmenjevalnega gela (2.3.5) in ga prekrij z dodajanjem 2 000 ml klorovodikove kisline (2.3.7). Pusti stati vsaj dve uri in občasno premešaj. Oddekantiraj kislino in z deionizirano vodo prenesi gel v kolono (2.3.11). Ta naj ima frito iz steklene volne. Kolono spiraj z deionizirano vodo s pretokom 10–30 ml/min, dokler v eluatu ni več klorida. Nadomesti vodo z 2 000 ml mešanice izopropanola in vode (2.3.3) pri pretoku 10–30 ml/min. Izmenjevalna kolona je tako pripravljena.

##### Anionsko izmenjevalna kolona

V čašo daj 600 ml anionsko izmenjevalnega gela (2.3.6) in ga prekrij z 2 000 ml deionizirane vode. Pusti vsaj dve uri, da gel nabrekne. Z deionizirano vodo ga prenesi v kolono. Ta naj ima frito iz steklene volne.

Kolono spiraj z 0,3 M raztopino amonijevega bikarbonata (2.3.4), dokler v eluatu ni več klorida. Za to potrebuješ 5 000 ml raztopine. Kolono še enkrat speriš z 2 000 ml deionizirane vode. Nadomesti vodo z 2 000 ml mešanice izopropanola in vode (2.3.3) pri pretoku 10–30 ml/min. Izmenjevalna kolona je zdaj pripravljena in v -OH obliki.

#### 2.4.4 Postopek ionske izmenjave

Sestavi koloni tako, da je kationsko izmenjevalna kolona nad anionsko izmenjevalno kolono. Segrej izmenjevalni koloni na 323 K (50 °C) ob uporabi termostatske kontrole. Segrej 5 000 ml raztopine, dobljene v 2.4.2 na 333 K (60 °C), in spusti skozi kombinacijo izmenjevalnih kolon pri pretoku 20 ml/min. Koloni speriš s 1 000 ml vroče mešanice izopropanola in vode (2.3.3).

Da dobiš neionske površinsko aktivne snovi, zberi filtrat in sprane ostanke s filtra ter uparevaj do suhega, najbolje z rotavaporjem. Ostanek vsebuje BiAS. Dodaj deionizirano vodo, dokler ne dobiš definirane prostornine, in določi vsebnost BiAS v alikvotu kot v 3.3. Raztopino uporabi kot standardno raztopino neionske površinsko aktivne snovi v preskusu razgradljivosti. Raztopino hrani pri temperaturah pod 278 K (5 °C).

#### 2.4.5 Regeneracija ionsko izmenjevalnega gela

Kationski izmenjevalec se po uporabi zavrže.

Anionsko izmenjevalni gel se regenerira s 5 000–6 000 ml raztopine amonijevega bikarbonata pri pretoku približno 10 ml/min (2.3.4) skozi kolono, dokler eluat ne vsebuje več anionskih površinsko aktivnih snovi (preskus z metilen modrim). Potem se ionski izmenjevalec spere z 2 000 ml mešanice izopropanola in vode (2.3.3). Tako je anionski izmenjevalec spet pripravljen za uporabo.

### POGLAVJE 3

## DOLOČANJE NEIONSKIH POVRŠINSKO AKTIVNIH SNOVI V TEKOČINI ZA PRESKUS BIORAZGRADNJE

### 3.1 Princip

Površinsko aktivne snovi se koncentrirajo in izolirajo s plinsko ekstrakcijo. Količina neionskih površinsko aktivnih snovi v uporabljenih vzorcih naj bo v mejah 250–800 µg.

Ekstrahirana površinsko aktivna snov se raztopi v etilacetatu.

Po separaciji faz in odparevanju topila se neionska površinsko aktivna snov obori v vodni raztopini z modificiranim Dragendorffovim reagentom ( $\text{KBiI}_4 + \text{BaCl}_2 + \text{ledocetna kislina}$ ).



Oborina se filtrira, spere z ledocetno kislino in raztopi v raztopini amonijevega tartrata. Bizmut v raztopini se določi s potenciometrično titracijo z raztopino pirolidinditiokarbamata s pH 4–5 z indikatorsko platinsko in kalomelno ali srebro/srebrov klorid referenčno elektrodo.

Metoda je uporabna za neionske površinsko aktivne snovi, ki vsebujejo 6–30 alkilenoksidnih skupin.

Rezultat titracije se pomnoži z empiričnim faktorjem 54 za konverzijo v referenčno substanco nonilfenola, kondenziranega z 10 moletilen oksida (NP 10).

### 3.2. Reagenti in oprema

Reagenti naj se pripravijo z deionizirano vodo.

#### 3.2.1 Čisti etilacetat, sveže destiliran

#### 3.2.2 Natrijev bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) AR

#### 3.2.3 Razredčena klorovodikova kislina (20 ml koncentrirane kisline (HCl) z vodo razredčimo na 1 000 ml)

#### 3.2.4 Metanol AR, sveže destiliran, shranjen v steklenici

#### 3.2.5 Bromokrezol vijolično, 0,1 g v 100 ml metanola

#### 3.2.6 Reagent za obarjanje: reagent za obarjanje je mešanica dveh prostorninskih delov raztopine A in enega prostorninskega dela raztopine B. Mešanico shranimo v rjavi steklenici in je uporabna en teden po pripravi.

##### 3.2.6.1 Raztopina A

Raztopi 1,7 g bizmutovega nitrata AR ( $\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) v 20 ml ledocetne kisline in dolij vode do oznake 100 ml. V 200 ml vode raztopi 65 g kalijevega jodida AR. Zmešaj ti dve raztopini v 1 000 ml merilno bučko, dodaj 200 ml ledocetne kisline (3.2.7.) in dolij vode do oznake 1 000 ml.

##### 3.2.6.2 Raztopina B

Raztopi 290 g barijevega klorida ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) AR v 1 000 ml vode.

#### 3.2.7 99–100 % ledocetna kislina (nižje koncentracije so neprimerne).

#### 3.2.8 Raztopina amonijevega tartrata: zmešaj 12,4 g vinske kisline AR in 12,4 ml raztopine amoniaka AR ( $d = 0,910 \text{ g/ml}$ ) ter dolij vode do oznake 1 000 ml (ali uporabi ekvivalentno množino amonijevega tartrata AR).

#### 3.2.9 Razredčena raztopina amoniaka: 40 ml raztopine amoniaka AR ( $d = 0,910 \text{ g/ml}$ ), razredčene z vodo na 1 000 ml.

#### 3.2.10 Standardni acetatni pufer: v 500 ml vode raztopi 40 g trdnega natrijevega hidroksida AR in pusti, da se ohladi. Dodaj 120 ml ledocetne kisline (3.2.7). Temeljito premešaj, ohladi in prenesi v 1 000 ml merilno bučko. Dolij vode do oznake 1 000 ml.

#### 3.2.11 Raztopina pirolidinditiokarbamata (znana kot raztopina karbata): v približno 500 ml vode raztopi 103 g natrijevega pirolinditiokarbamata ( $\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaS}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), dodaj 10 ml n-amil alkohola AR in 0,5 g $\text{NaHCO}_3$ AR ter dolij vode do oznake 1 000 ml.

#### 3.2.12 Raztopina bakrovega sulfata (za standardizacijo 3.2.11)

Osnovna raztopina

Zmešaj 1,249 g bakrovega sulfata ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) AR s 50 ml 0,5 M žveplove kisline in dolij vode do oznake 1 000 ml.

Standardna raztopina

Zmešaj 50 ml osnovne raztopine z 10 ml 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in dolij vode do oznake 1 000 ml.

#### 3.2.13 Natrijev klorid AR

3.2.14 Aparatura za plinsko ekstrakcijo (glej sliko 5).

Premer sintranega diska mora biti enak notranjemu premeru cilindra.

3.2.15 Lij ločnik, 250 ml.

3.2.16 Magnetno mešalo z magnetom velikosti 25–30 mm.

3.2.17 Talilni lonček Gooch, premer perforiranega dna = 25 mm, tip G 4.

3.2.18 Okrogli filtrirni papir iz steklenih vlaken premera 27 mm s premerom vlaken 0,5–1,5 µm.

3.2.19 Dve presesalni buči z adapterjem in gumijastim nastavkom, 500 in 250 ml.

3.2.20 Zapisovalni potenciometer s svetlo platinsko indikatorsko elektrodo in kalomelno ali srebro/srebrov klorid referenčno elektrodo z območjem napetosti 250 mV in z avtomatsko bireto volumna 20–25 ml ali alternativno ročno.

### 3.3 Metoda

#### 3.3.1 Koncentriranje in ločevanje površinsko aktivnih snovi

Prefiltriraj vodni vzorec skozi kvalitativni filtrirni papir. Prvih 100 ml filtrata zavrzi.

V aparaturu za plinsko ekstrakcijo, predhodno sprano z etilacetatom, daj tako izmerjeno količino vzorca, da vsebuje 250–800 µg neionske površinsko aktivne snovi.

Za izboljšanje separacije dodaj 100 g natrijevega klorida in 5 g natrijevega bikarbonata.

Če prostornina vzorca presega 500 ml, dodaj te soli v aparaturu za plinsko ekstrakcijo v trdni obliki in raztopi s preprihavanjem z dušikom ali zrakom.

Če je uporabljena manjša količina vzorca, raztopi soli v 400 ml vode in nato dodaj v aparaturu za plinsko ekstrakcijo.

Dolij vodo do zgornjega ventila.

Na vodno površino previdno dolij 100 ml etilacetata.

Dve tretjini stekleničke za spiranje napolni z etilacetatom v toku plina (dušik ali zrak).

Skozi aparaturu spusti tok plina 30–60 l/h; vgradnja rotametra je priporočena. Stopnja prezračevanja se mora na začetku postopoma povečevati. Pretok plina mora biti naravnan tako, da fazi ostaneta očitno ločeni ter da se voda in etilacetat ne mešata. Po petih minutah zapri tok plina.

Če je zmanjšanje prostornine organske faze v vodni raztopini večje od 20 %, se mora delovna operacija ponoviti ob povečani pozornosti na pretok plina.

Odlj organsko fazo v lij ločnik. Če v njem ostane kaj vode (naj ne preseže nekaj ml), jo vrni v aparaturu. Etilacetatno fazo filtriraj skozi suh kvalitativni filtrirni papir v 250 ml čašo.

V aparaturu za plinsko ekstrakcijo nalij dodatnih 100 ml etilacetata in ponovi preprihavanje za pet minut. Odlj organsko fazo v lij ločnik, uporabljen pri prvem ločevanju, zavrzi vodno fazo in prefiltriraj organsko fazo skozi isti filter kot prvi odmerek etilacetata. Lij ločnik in filter sperj s približno 20 ml etilacetata.

Izparevaj etilacetatni ekstrakt do suhega na vodni kopeli. Za hitrejše izparevanje uporabi rahel tok zraka čez površino raztopine.

#### 3.3.2 Obarjanje in filtriranje

Raztopi suh preostanek iz 3.3.1 v 5 ml metanola, dodaj 40 ml vode in 0,5 ml razredčene HCl (3.2.3) ter mešaj raztopino z magnetnim mešalom.

Tej raztopini dodaj z merilnim valjem 30 ml reagenta za obarjanje (3.2.6). Oborina nastane ob stalnem mešanju. Po desetminutnem mešanju pusti raztopino stati vsaj pet minut.

Raztopino prefiltriraj skozi talilni lonček Gooch, katerega dno je prekrito s filtrom iz steklenih vlaken. Najprej ob sesanju sper filter s približno 2 ml ledocetne kisline. Potem temeljito sper čašo, magnet in talilni lonček s približno 40–50 ml ledocetne kisline. Kvantitativen prenos oborine, ki je ostala na stenah čaše, na filter papir ni nujen, ker se raztopina oborine, pripravljena za titracijo, vrne v čašo za obarjanje in s tem se raztopi oborina na stenah čaše.

### 3.3.3 Raztopina oborine

Raztopi oborino v filtrirnem talilnem lončku z dodatkom raztopine vročega amonijevega tartrata (približno 80 °C, 353 K) (3.2.8) v treh alikvotih po 10 ml. Vsak alikvot naj stoji v lončku nekaj minut preden ga presesaš skozi filter v bučko.

Vsebinsko presesalne buče prelij v čašo, ki je bila uporabljena za obarjanje. Sper stene čaše z 20 ml raztopine tartrata, da raztopiš preostalo oborino.

S 150–200 ml vode previdno sper lonček, nastavek in presesalno bučo ter prelij vodo za spiranje v čašo za obarjanje.

### 3.3.4 Titracija

Mešaj raztopino z magnetnim mešalom (3.2.16), dodaj nekaj kapljic bromokrezol vijoličnega (3.2.5) in dodaj razredčeno raztopino amoniaka (3.2.9), dokler se barva ne spremeni v vijolično (raztopina je rahlo kislja zaradi ostankov očetne kisline po spiranju).

Dodaj 10 ml standardnega acetatnega pufra (3.2.10), v raztopino potopi elektrodi in potenciometrično titriraj s standardno „raztopino karbata“ (3.2.11) tako, da je konica birete potopljena v raztopino.

Hitrost titracije naj ne presega 2 ml/min.

Končna točka je presečišče tangent obeh vej titracijske krivulje. Včasih je krivulja očitno preravna, kar lahko preprečimo s previdnim čiščenjem platinske elektrode (s poliranjem s smirkovim papirjem).

### 3.3.5 Slep test

Sočasno opravi slepi preskus skozi ves postopek s 5 ml metanola in 40 ml vode glede na navodila v 3.3.2. Slep test naj bo pod 1 ml, sicer je čistota reagentov (3.2.3 – 3.2.7 – 3.2.8 – 3.2.9 – 3.2.10) dvomljiva, še posebno vsebnost težkih kovin, zato jih je treba zamenjati. Slep test naj se upošteva pri izračunih rezultatov.

### 3.3.6 Kontrola faktorja „raztopine karbata“

Določi faktor raztopine karbata na dan uporabe. To narediš tako, da titriraš 10 ml raztopine bakrovega sulfata (3.2.12) z raztopino karbata po dodatku 100 ml vode in 10 ml standardnega acetatnega pufra (3.2.10). Če je količina porabljenega „a“, potem je faktor f:

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

in vsi rezultati titracij se množijo s tem faktorjem.

## 3.4 Izračun rezultatov

Vsaka neionska površinsko aktivna snov ima svoj faktor glede na svojo sestavo, še najbolj pa je odvisen od dolžine verige alkenoksida. Koncentracija neionskih površinskih aktivnih snovi je izražena glede na standardno substanco – nonilfenol z 10 etilenoksidnimi enotami (NP 10) – katerega konverzijski faktor je 0,054.

Z uporabo tega faktorja je količina površinsko aktivne snovi v vzorcu izražena kot mg NP 10 ekvivalenta, kot sledi:

$$(b-c) \cdot f \cdot 0,054 = \text{mg neionske površinsko aktivne snovi kot NP 10,}$$

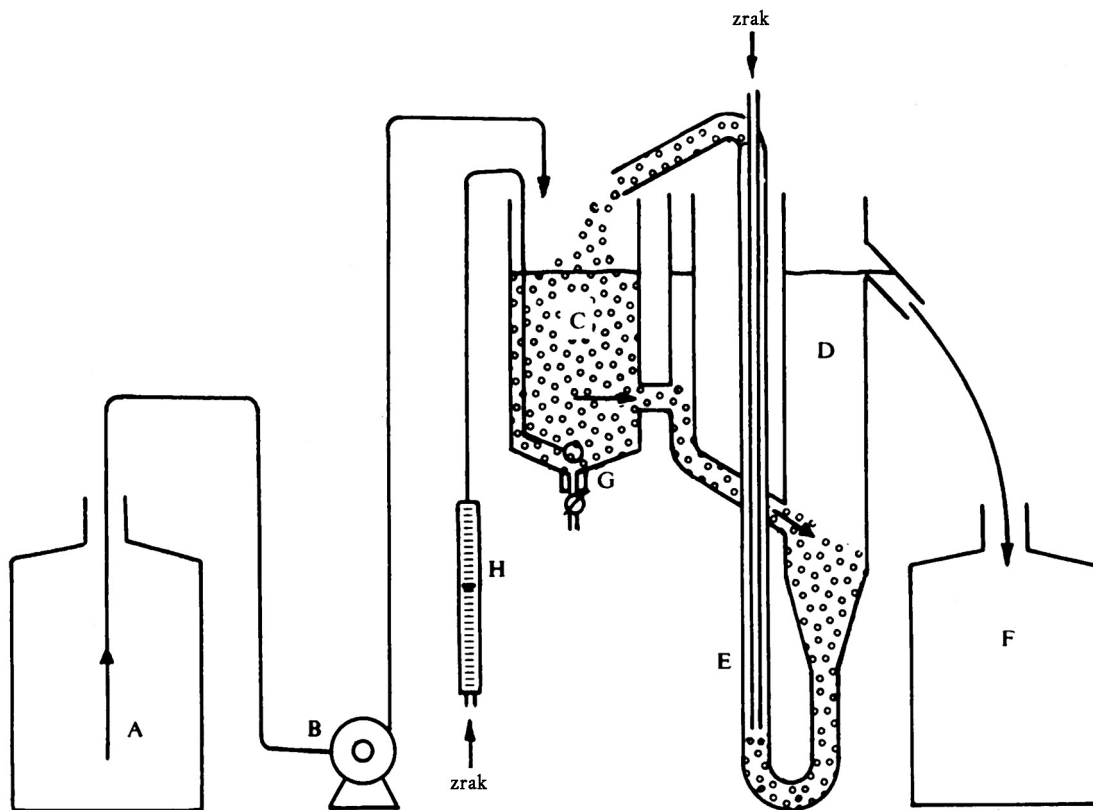
pri čemer je:

- b = prostornina „raztopine karbata“, uporabljene za vzorec (ml),
- c = prostornina „raztopine karbata“, uporabljene za slepi test (ml),
- f = faktor „raztopine karbata“.

### 3.5 Predložitev rezultatov

Rezultati se predložijo v mg/l kot NP 10 na 0,1 natančno.

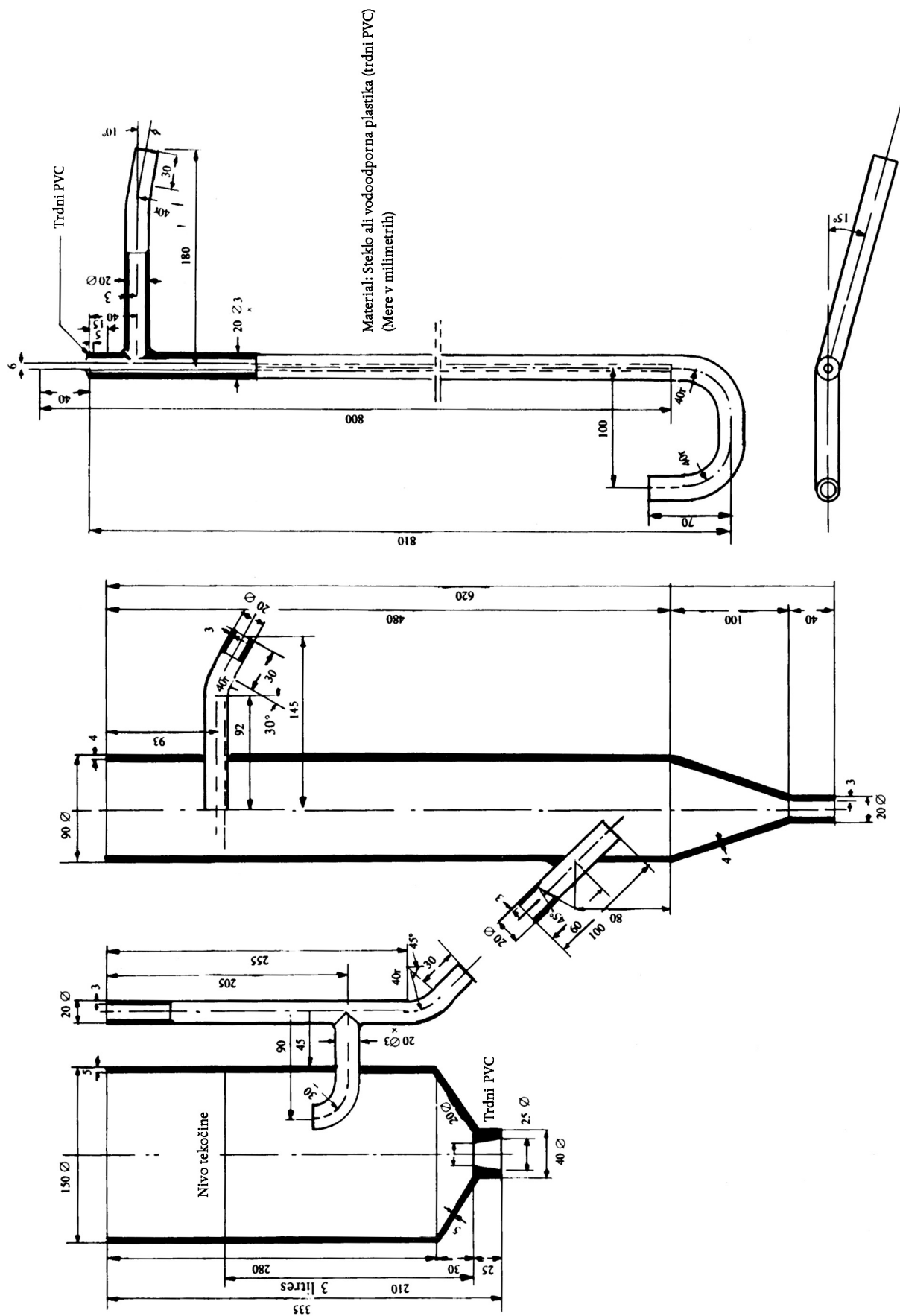
Slika 1



- A. Posoda za shranjevanje  
 B. Odmerjevalna črpalka  
 C. Posoda za prezračevanje (s kapaciteto tri litre)  
 D. Posoda za usedanje

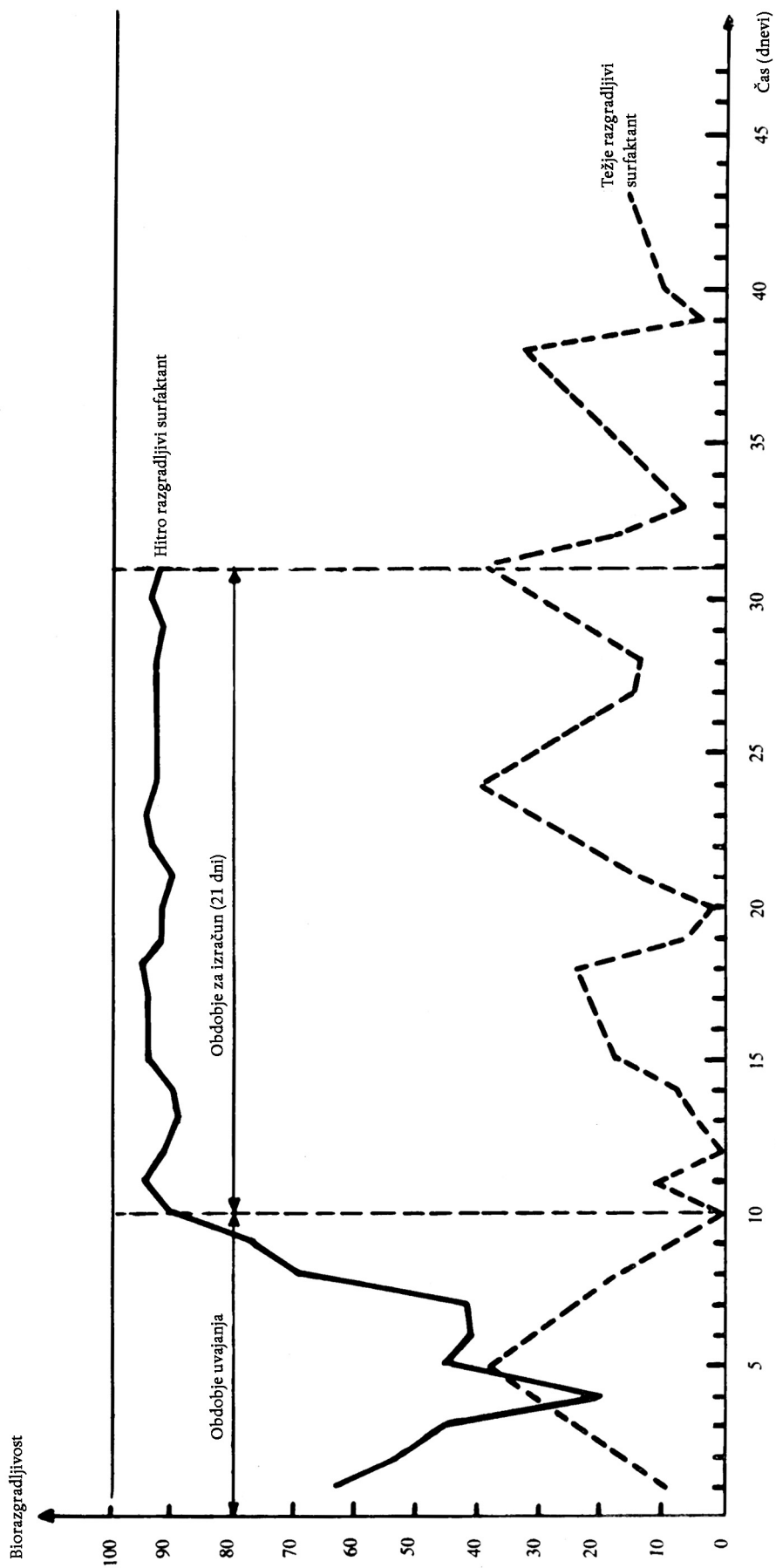
- E. Zračna črpalka  
 F. Posoda za zbiranje  
 G. Sintran ventil  
 H. Merilnik pretoka

Slika 2



Slika 3

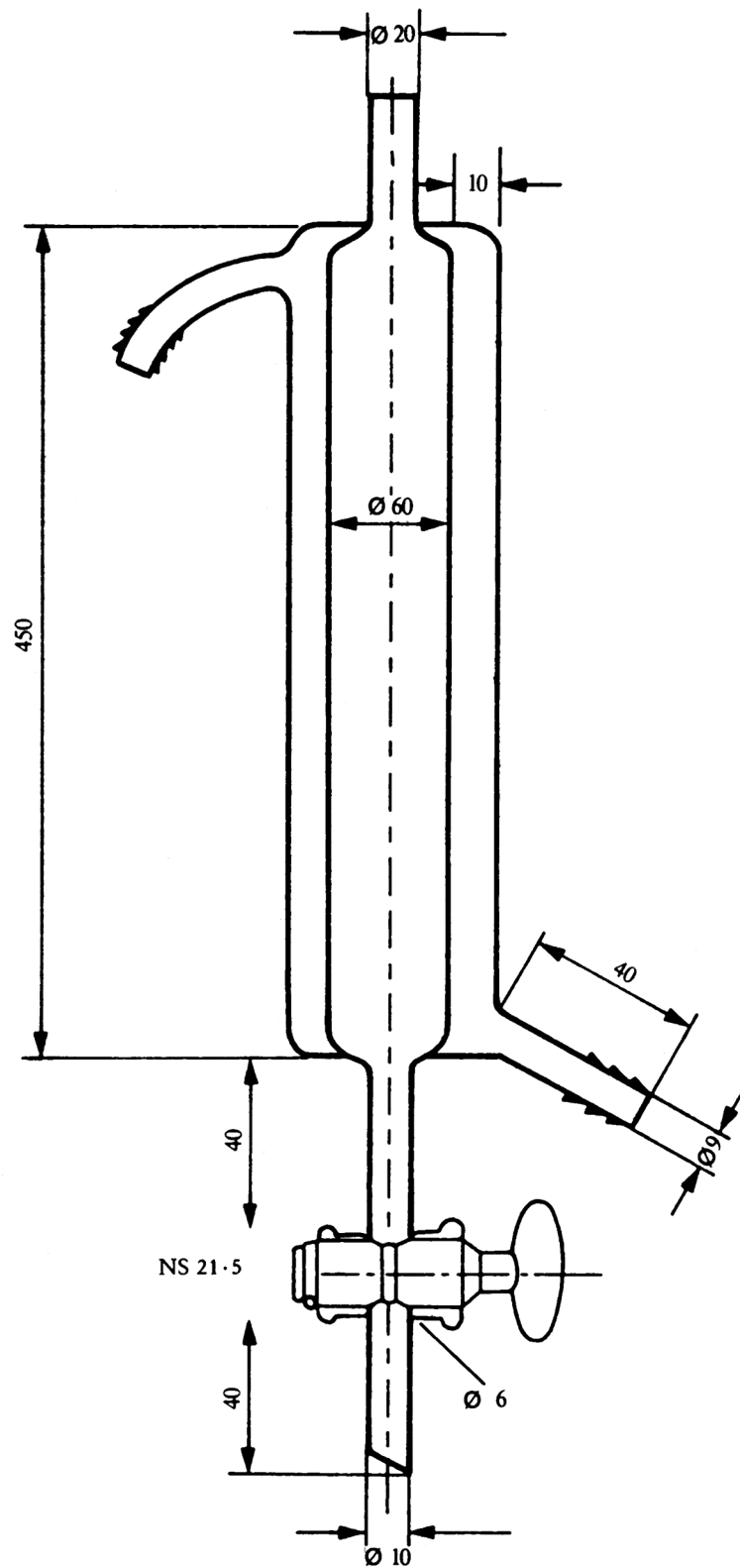
## Izračun biorazgradljivosti – dokazni preskus



Slika 4

## Ogrevana izmenjevalna kolona

(Mere v milimetrih)





Slika 5

## Priprava za plinsko ekstrakcijo

