

MINISTERIE VAN VOLKSGEZONDHEID
EN LEEFMILIEU

N. 88 — 1961

25 OKTOBER 1988. — Koninklijk besluit
betreffende de graad van biologische afbreekbaarheid
van bepaalde oppervlakte-actieve stoffen in detergentia

BOUDEWIJN, Koning der Belgen,

Aan allen die nu zijn en hierna wezen zullen, Onze Groet.

Gelet op de wet van 26 maart 1971 op de bescherming van de oppervlaktewateren tegen verontreiniging, inzonderheid op artikel 3, § 2;

Gelet op de Europese overeenkomst inzake beperking van het gebruik van bepaalde detergentia in was- en reinigingsmiddelen, opgemaakt te Straatsburg op 16 september 1968, goedgekeurd bij de wet van 28 februari 1970;

Gelet op de richtlijn 73/404/EEG van 22 november 1973 van de Raad van de Europese Gemeenschappen betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake detergentia, gewijzigd bij de richtlijnen 82/242/EEG van 31 maart 1982 en 86/94/EEG van 10 maart 1986;

Gelet op de richtlijn 73/405/EEG van 22 november 1973 van de Raad van de Europese Gemeenschappen betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake de controlemethoden met betrekking tot de biologische afbreekbaarheid van anionactieve, oppervlakte-actieve stoffen, gewijzigd bij de richtlijn 82/243/EEG van 31 maart 1982;

Gelet op de richtlijn 82/242/EEG van 31 maart 1982 van de Raad van de Europese Gemeenschappen betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen van de Lid-Staten inzake controlemethoden voor de biologische afbreekbaarheid van niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen en houdende wijziging van richtlijn 73/404/EEG;

Gelet op het advies van de Raad van State;

Op de voordracht van Onze Eerste Minister en van Onze Staatssecretaris voor Leefmilieu en op het advies van Onze in Raad vergaderde Ministers,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

Artikel 1. Voor de toepassing van dit besluit wordt verstaan onder detergens, elk produkt waarvan de samenstelling speciaal werd ontworpen om een bijdrage te leveren tot de ontwikkeling van de reinigingsverschijnselen en dat essentiële bestanddelen (oppervlakteactieve stoffen) en doorgaans, aanvullende bestanddelen (hulpstoffen, versterkers, vulstoffen, toevoegsels en andere bijkomende bestanddelen) bevat.

Art. 2. § 1. Het is verboden detergentia in te voeren, op de markt te brengen en te gebruiken wanneer de gemiddelde biologische afbreekbaarheid van de daarin aanwezige oppervlakte-actieve stoffen minder bedraagt dan : 90 % voor elk van de categorieën kationactieve en amfolytische oppervlakte-actieve stoffen, 80 % voor elk van de categorieën anionactieve en niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen.

§ 2. Tot 31 december 1989 is het toegestaan dat volgende produkten met niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen niet beantwoorden aan de voorwaarden gesteld in § 1 :

1° de laagschuimende additieprodukten van alkeenoxyden aan stoffen zoals alcoholen, alkylfenolen, glycolen, meerwaardige alcoholen, vetzuren, amiden en aminen die gebruikt worden in produkten voor vaatwasmachines;

2° de alkali-bestendige alkyl- en alkylarylpolyglycoethers met geblokkeerde eindgroep en de stoffen van de sub 1° bedoelde soorten voor zover die in reinigingsmiddelen voor de levensmiddelen- en voor de metaalverwerkende industrie worden aangewend.

§ 3. De bepaling van § 2 is alleen van toepassing indien de biologische afbreekbaarheid van de in die paragraaf bedoelde produkten groter is dan die van de bestaande produkten voor hetzelfde gebruiksdoel.

§ 4. Het gebruik van de in de § 2 vermelde niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen waarvoor de tijdelijke ontheffing geldt, mag bij normaal gebruik geen schade berokkenen aan de gezondheid van mens of dier.

MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE
ET DE L'ENVIRONNEMENT

F. 88 — 1961

25 OCTOBRE 1988. — Arrêté royal
relatif au taux de biodégradabilité de certains agents de surface
dans les détergents

BAUDOUIN, Roi des Belges,

A tous, présents et à venir, Salut.

Vu la loi du 26 mars 1971 sur la protection des eaux de surface contre la pollution notamment l'article 3, § 2;

Vu l'accord européen sur la limitation de l'emploi de certains détergents dans les produits de lavage et de nettoyage, fait à Strasbourg le 16 septembre 1968, approuvé par la loi du 28 février 1970;

Vu la directive 73/404/CEE du 22 novembre 1973 du Conseil des Communautés européennes concernant le rapprochement des législations des Etats membres relatifs aux détergents, modifiée par les directives 82/242/CEE du 31 mars 1982 et 86/94/CEE du 10 mars 1986;

Vu la directive 73/405/CEE du 22 novembre 1973 du Conseil des Communautés européennes concernant le rapprochement des législations des Etats membres relatives aux méthodes de contrôle de la biodégradabilité des agents de surface anioniques, modifiée par la directive 82/243/CEE du 31 mars 1982;

Vu la directive 82/242/CEE du 31 mars 1982 du Conseil des Communautés européennes concernant le rapprochement des législations des Etats membres relatives aux méthodes de contrôle de la biodégradabilité des agents de surface non ioniques et modifiant la directive 73/404/CEE;

Vu l'avis du Conseil d'Etat;

Sur la proposition de Notre Premier Ministre et de Notre Secrétaire d'Etat à l'Environnement et de l'avis de Nos Ministres qui en ont délibéré en Conseil,

Nous avons arrêté et arrêtons :

Article 1er. Pour l'application du présent arrêté, on entend par détergent, tout produit dont la composition a été spécialement étudiée pour concourir au développement des phénomènes de détergence et qui comprend des composants essentiels (agents de surface) et, généralement, des composants complémentaires (adjuvants, renforçateurs, charges, additifs et autres composants accessoires).

Art. 2. § 1er. Il est interdit d'importer, de mettre sur le marché et d'utiliser des détergents lorsque la biodégradabilité moyenne des agents de surface qui y sont contenus est inférieure : à 90 % pour chacune des catégories cationiques et ampholytes, à 80 % pour chacune des catégories anioniques et non ioniques.

§ 2. Jusqu'au 31 décembre 1989, les produits suivants contenant des agents de surface non ioniques, peuvent ne pas être conformes aux conditions fixées au § 1er :

1° les produits d'addition peu moussants d'oxydes d'alkènes sur des substances telles qu'alcools, alkylphénols, glycols, polyols, acides gras, amides et amines utilisés dans les produits pour lave-vaisselle;

2° les éthers d'alkyles et d'alkylarylpolyglycols bloqués en fin de chaîne et alcalinorésistants et substances des types visés sous 1° utilisés dans les produits de nettoyage destinés aux industries alimentaires et aux industries métallurgiques.

§ 3. La disposition du § 2 ne s'applique que si les agents visés dans ce paragraphe ont une biodégradabilité plus élevée que celle des produits existants destinés au même emploi.

§ 4. L'emploi des agents de surface non ioniques faisant l'objet de la dérogation temporaire en vertu du § 2 ne peut pas, dans les conditions normales d'utilisation, porter préjudice à la santé de l'homme ou de l'animal.

Art. 3. Het nakomen van de vereisten van artikel 2 wordt vastgesteld, via de controlemethodes, opgegeven in bijlage I voor de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen en volgens bijlage II voor de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen.

Art. 4. De volgende aanduidingen moeten in leesbare, zichtbare en onuitwisbare letters voorkomen op de verpakkingen waarin de detergentia aan de verbruiker worden aangeboden :

a) de benaming van het produkt;

b) de naam of de handelsnaam en het adres of het gedeponerd merk van degene die voor het invoeren of voor het op de markt brengen verantwoordelijk is.

Dezelfde aanduidingen moeten voorkomen op de begeleidende documenten bij onverpakt vervoerde detergentia.

Art. 5. Het koninklijk besluit van 23 maart 1977, betreffende de graad van biologische afbreekbaarheid van bepaalde oppervlakte-actieve stoffen in detergentia, wordt opgeheven.

Art. 6. Onze Eerste Minister en Onze Staatssecretaris voor Leefmilieu zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 25 oktober 1988.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :
De Eerste Minister,
W. MARTENS

De Staatssecretaris voor Leefmilieu,
Mevr. M. SMET

Art. 3. La conformité aux exigences de l'article 2 est constatée via les mesures de contrôle reprises en annexe Ier, pour les agents de surface anioniques et en annexe II pour les agents de surface non ioniques.

Art. 4. Les indications suivantes doivent figurer sur les emballages sous lesquels les détergents sont présentés au consommateur, en caractères lisibles, visibles et indélébiles :

a) dénomination du produit;

b) le nom ou la raison sociale et l'adresse, ou la marque déposée du responsable de l'importation ou de la mise sur le marché.

Ces mêmes indications doivent figurer sur les documents d'accompagnement des détergents transportés en vrac.

Art. 5. L'arrêté royal du 23 mars 1977, relatif aux taux de biodégradabilité de certains agents de surface dans les détergents, est abrogé.

Art. 6. Notre Premier Ministre et Notre Secrétaire d'Etat à l'Environnement sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 25 octobre 1988.

BAUDOUIN

Par le Roi :
Le Premier Ministre,
W. MARTENS

Le Secrétaire d'Etat à l'Environnement,
Mme M. SMET

Bijlage I

**BEPALING VAN DE BIOLOGISCHE AFBREEKBAARHEID
VAN ANIONACTIEVE OPPERVLAKTE-ACTIEVE STOFFEN**

Referentiemethode (bevestigingstest)

HOOFDSTUK 1

1.1. Definitie.

In de zin van dit besluit wordt onder anionactieve oppervlakte-actieve stoffen verstaan oppervlakte-actieve stoffen die na het doorlopen van kationische en anionische ionenwisselaars door gefractioneerde elutie worden gescheiden en overeenkomstig de in hoofdstuk 3 beschreven analysemethode als methyleenblauwactieve stof (MBAS) worden bepaald.

1.2. Benodigde uitrusting.

De meetmethode is gebaseerd op het gebruik van een figuur 1 schematisch afgebeelde actief-slibinstallatie, die in figuur 2 meer gedetailleerd is weergegeven.

De apparatuur bestaat uit een voorraadvat A voor kunstmatig afvalwater, een doseerpomp B, een beluchtingsvat C, een decanteervat D, een luchtpomp E voor de terugvoer van het actieve slib en een vergaarbak F voor het opvangen van het behandelde afvalwater.

De vaten A en F moeten uit glas of geschikte kunststof bestaan en een inhoud van ten minste 24 liter hebben. Pomp B zorgt voor regelmatige toevoer van kunstmatig afvalwater naar het beluchtingsvat; bij normaal bedrijf moet dit vat 3 liter van het mengsel bevatten. Een plaatje G van gesinterd glas voor de beluchting hangt in vat C op de hoogte van de rand van de kegel van dit vat. De hoeveelheid via de beluchtingsinrichting ingeblazen lucht moet worden gecontroleerd met een debietmeter H.

1.3. Kunstmatig afvalwater.

Voor het uitvoeren van deze proef wordt gebruik gemaakt van kunstmatig afvalwater.

Los per liter leidingwater onderstaande stoffen op :

106 mg pepton;

110 mg vleesextract;

30 mg ureum (CO(NH₂)₂);

7 mg natriumchloride (NaCl);

4 mg calciumchloride (CaCl₂·2H₂O);

2 mg magnesiumsulfaat (MgSO₄·7H₂O);

28 mg dikaliumorthofosfaat (K₂HPO₄), en

20 ± 2 mg MBAS.

De MBAS wordt geëxtraheerd uit het te onderzoeken produkt volgens de in hoofdstuk 2 aangegeven methode. Het kunstmatige afvalwater wordt elke dag vers bereid.

- 1.4. Bereiding van de monsters.
- 1.4.1. Niet-samengestelde oppervlakte-actieve stoffen kunnen als zodanig worden getest. Het gehalte aan MBAS moet worden bepaald voor het bereiden van het kunstmatige afvalwater (1.3).
- 1.4.2. Bij samengestelde produkten bepaalt men het gehalte aan MBAS en zeep. Er wordt een alcoholextractie verricht en de MBAS wordt afgescheiden (zie hoofdstuk 2). Het MBAS-gehalte van het extract moet bekend zijn om het kunstmatige afvalwater te bereiden.
- 1.5. Werking van de installatie.
- Eerst worden beluchtingsvat C en decanteervat D gevuld met kunstmatig afvalwater. Decanteervat D moet op zodanige hoogte zijn aangebracht dat het beluchtingsvat C 3 liter water bevat. Inoculatie geschiedt door inbrengen van 3 ml secundair afvalwater van goede kwaliteit, dat vers verzameld is uit een behandelingsinstallatie waar overwegend huishoudelijk afvalwater wordt behandeld. Dit afvalwater moet tussen monsterneming en toepassing onder aërobe omstandigheden worden bewaard. Vervolgens worden de beluchting G, de luchtpomp E en de doseerpomp B in werking gesteld. Het kunstmatige afvalwater moet met een debiet van 1 liter per uur in beluchtingsvat C stromen, zodat dit afvalwater gemiddeld 3 uur in het vat blijft.
- De beluchting moet zodanig worden geregeld dat de inhoud van vat C constant in suspensie blijft en het gehalte aan opgeloste zuurstof ten minste 2 mg per liter bedraagt. Schuimvorming moet met geschikte middelen worden tegengegaan; er mogen evenwel geen antischuimmiddelen worden gebruikt die een remmende werking uitoefenen op het actieve slib of die MBAS bevatten. Pomp E moet zodanig worden ingesteld dat er in beluchtingsvat C een doorlopende en regelmatige terugvoer ontstaat van het uit het decanteervat komende actieve slib. Het zich ophopende slib boven in beluchtingsvat C, onder in decanteervat D of in het omloopcircuit moet ten minste eenmaal per dag weer in circulatie worden gebracht door roeren of ieder ander geschikt middel. Wanneer het slib niet bezinkt, kan het bezinken ervan worden bevorderd door eventueel herhaalde toevoeging van hoeveelheden van 2 ml van een 5 % ferri-chloride-oplossing.
- Het uit afscheider D stromende water wordt gedurende 24 uur in vat F opgevangen; na verloop van deze tijd wordt een monster getrokken na homogenisatie van het mengsel. Vat F moet dan zorgvuldig worden gereinigd.
- 1.6. Controle op de meetinrichting.
- Het MBAS-gehalte (in mg/liter) van het kunstmatige afvalwater wordt onmiddellijk vóór het gebruik bepaald.
- Het MBAS-gehalte (in mg/liter) van het uitstromende water dat gedurende 24 uur in vat F is opgevangen moet onmiddellijk na monsterneming op dezelfde wijze analytisch worden bepaald; anders moeten de monsters worden geconserveerd, bij voorkeur door bevroering. De concentratie moet worden bepaald op 0,1 mg MBAS/liter nauwkeurig.
- Ter controle van de goede werking van het proces wordt ten minste tweemaal per week het chemisch zuurstofverbruik (CZV) of de opgeloste organische koolstof (DOC) van het zich in vat F bevindende uitstromende door glasvezel gefiltreerd water en van het in vat A opgeslagen gefiltreerde kunstmatige afvalwater gemeten.
- De afname van CZV of DOC moet zich stabiliseren wanneer de dagelijkse biologische afbraak van de MBAS min of meer regelmatig is, dat wil zeggen aan het eind van de in figuur 3 aangegeven beginperiode.
- Het gehalte aan droge stof van het actieve slib in het beluchtingsvat moet tweemaal per week worden bepaald (in g/liter). Wanneer dit meer dan 2,5 g/liter bedraagt, moet de overmaat aan actief slib worden verwijderd.
- De biologische afbraakproef wordt uitgevoerd bij kamertemperatuur; deze temperatuur moet gelijkmatig zijn en gehouden worden tussen 292 en 297 K (19-24 °C).
- 1.7. Berekening van de biologische afbraak.
- Het biologische afbraakpercentage van de MBAS moet dagelijks worden berekend op basis van het MBAS-gehalte (uitgedrukt in mg/liter) van het kunstmatige afvalwater en van de overeenkomstige uitloop in vat F. De aldus verkregen waarden moeten in een grafiek worden weergegeven als geïllustreerd in figuur 3.
- De biologische afbraak van de MBAS wordt berekend als het rekenkundig gemiddelde van de verkregen cijfers over 21 dagen volgend op de beginperiode, gedurende welk tijdvak de biologische afbraak regelmatig moet zijn geweest en de installatie zonder onderbreking goed moet hebben gefunctioneerd. In geen geval mag de beginperiode meer dan 6 weken bedragen.
- De dagelijkse biologische afbraakwaarden dienen tot op 0,1 % nauwkeurig te worden berekend, maar het eindresultaat wordt op het laatste gehele getal afgerond.
- In sommige gevallen kan de frequentie van de streekproeven worden verminderd. Voor de berekening van het gemiddelde gebruikt men echter de resultaten van ten minste 14 dagelijkse steekproeven, verdeeld over de periode van 21 dagen volgend op de beginperiode.

HOOFDSTUK 2. — Voorbehandeling van de te onderzoeken produkten

- 2.1. Inleiding.
- 2.1.1. *Behandeling van de monsters.*

Op de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen en detergentia moet de volgende behandeling worden toegepast voordat de biologische afbreekbaarheid wordt bepaald door middel van de bevestigingsproef :

Produkten	Behandeling
Anionactieve oppervlakte-actieve stoffen	Geen
Detergentia	Alcoholextractie en vervolgens afscheiding door ionenwisseling en gefractioneerde filtratie uit de anionenwisselaar

Het doel van de alcoholextractie is het verwijderen van de onoplosbare en anorganische bestanddelen uit de handelsprodukten; genoemde bestanddelen kunnen namelijk eventueel de biologische afbraakproef verstoren.

2.1.2. *Ionenwisselingsproces.*

Isolatie en afscheiding van de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen uit zeep en uit niet-ionische en kationactieve oppervlakte-actieve stoffen, zijn voor een goede uitvoering van afbraakproeven noodzakelijk.

Een en ander wordt bereikt door toepassing van een ionenwisselingstechniek waarbij gebruik wordt gemaakt van macroporeus anionenwisselingshars en van geschikte elutiemiddelen voor de gefractioneerde elutie. Zeep, anionactieve en niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen kunnen dus in één proces worden afgezonderd.

2.1.3. *Analytische controle.*

Na homogenisatie wordt het gehalte aan anionactieve oppervlakte-actieve stoffen in het detergens bepaald overeenkomstig de MBAS-analysemethode. Het zeepgehalte wordt aan de hand van een geschikte analysemethode bepaald. Deze analyse van de produkten is noodzakelijk om de hoeveelheden te berekenen, die nodig zijn om de fracties voor de biologische afbreekbaarheidsproeven te bereiden.

Kwantitatieve extractie is niet noodzakelijk, echter ten minste 80 % van de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen dient te worden geëxtraheerd. Doorgaans wordt 90 % en meer verkregen.

2.2. *Principe.*

Uit een homogeen monster (poeders, pasta's en vloeistoffen die gedroogd zijn) wordt een ethanolextract verkregen, dat de oppervlakte-actieve stoffen, zeep en andere in alcohol oplosbare bestanddelen van het monster van het detergens bevat.

Het ethanolextract wordt ingedampt en opgelost in een mengsel van isopropanol en water, waarna men de verkregen oplossing laat percoleren over een combinatie van een sterk zure kationenwisselaar en een macroporeuze anionenwisselaar, die tot 323 K (50 °C) wordt verhit. Deze temperatuur is noodzakelijk om precipitatie van vetzuren in zure media te voorkomen.

De niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen blijven in de uitlopende vloeistof.

De zeep-vetzuren worden door elutie met CO₂-bevattend ethanolafgescheiden. Daarna worden de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen door elutie met een waterige oplossing van ammoniumbicarbonaat in isopropanol als ammoniumzouten verkregen. Deze ammoniumzouten worden gebruikt voor de afbraakproef.

Kationactieve oppervlakte-actieve stoffen die de biologische afbreekbaarheidsproef en het analyseproces zouden kunnen verstoren, worden verwijderd door de kationenwisselaar, die op de anionenwisselaar wordt geplaatst.

2.3. *Chemicaliën en apparatuur.*

2.3.1. *Gedeïoniseerd water.*

2.3.2. *Ethanol, 95 % (v/v) C₂H₅OH (toegestaan denatureringsmiddel : methylethylketon of methanol).*

2.3.3. *Mengsel van isopropanol en water (50/50 v/v) :
50 delen isopropanol (CH₃CHOH-CH₃) en 50 delen water (2.3.1).*

2.3.4. *Oplossing van kooldioxide in ethanol (ongeveer 0,1 % CO₂) :
laat via een afloopbuis met een ingebouwd gesinterd glasplaatje kooldioxide (CO₂) over het ethanol (2.3.2) percoleren gedurende 10 minuten. De oplossing moet worden bereid onmiddellijk vóór het gebruik.*

2.3.5. *Ammoniumbicarbonaatoplossing (60/40 v/v) :
0,3 mol NH₄HCO₃ in 1 000 ml van een mengsel van isopropanol en water, bestaande uit 60 delen isopropanol en 40 delen water (2.3.1).*

2.3.6. *Kationenwisselaar (KAT), sterk zuur, bestand tegen alcohol (50-100 mesh).*

2.3.7. *Anionenwisselaar (AAT), macroporeus, Merck Lewatit MP 7080 (70-150 mesh) of equivalent.*

2.3.8. *Zoutzuur, 10 % HCl g/g.*

2.3.9. *Kolf met ronde bodem van 2 000 ml, met ingeslepen stop en terugvloeikoeler.*

2.3.10. *Zuigfilter met een diameter van 90 mm (verwarmbaar) voor papieren filters.*

2.3.11. *Filtreerkolf van 2 000 ml.*

2.3.12. *Uitwisselingskolommen met verhittingsmantel en kraan :
binnenbuis : diameter 60 mm en hoogte 450 mm (figuur 4).*

2.3.13. *Waterbad.*

2.3.14. *Vacuümdroogoven.*

2.3.15. *Thermostaat.*

2.3.16. *Rotatieverdamp(er).*

2.4. *Extractie en afscheiding van de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen.*

2.4.1. *Bereiding van het extract.*

De voor de biologische afbraakproef benodigde hoeveelheid oppervlakte-actieve stoffen bedraagt ongeveer 50 g MBAS.

Normaal zal de hoeveelheid produkt waaruit wordt geëxtraheerd niet meer dan 1 000 g bedragen, maar het kan voorkomen dat aanvullende hoeveelheden van het monster moeten worden behandeld. Om praktische redenen zal de bovengrens meestal bij 5 000 g liggen.

Bij de bereiding van extracten voor biologische afbreekbaarheidsproeven verdient het naar uit ervaring is gebleken aanbeveling verscheidene kleine extracties uit te voeren in plaats van één grote.

De aangegeven hoeveelheden wisselaar hebben het vermogen 600-700 mmol oppervlakte-actieve stoffen en zeep af te scheiden.

2.4.2. *Isolatie van in alcohol oplosbare bestanddelen.*

Voeg aan 1 250 ml ethanol 250 g van het te onderzoeken detergens toe, breng dit mengsel aan de kook en laat het gedurende een uur onder terugloop al roerend koken. Laat de hete alcoholische oplossing lopen over een grove zuigfilter verhit tot 323 K (50 °C) en zuig vlug af. Was de kolf en zuigfilter met ongeveer 200 ml hete ethanol. Vang filtraat en filterwaswater op in een filtreerkolf.

Indien dikvloeibare of vloeibare produkten worden onderzocht, dient men zich ervan te vergewissen dat het monster niet meer dan 55 g anionische oppervlakte-actieve stoffen en 35 g zeep bevat. Damp dit gewogen monster volledig in. Los het residu op in 2 000 ml ethanol en ga te werk zoals hierboven is beschreven.

Voor poeders met een laag schudgewicht (< 300 g/liter) wordt aanbevolen een ethanol/monster verhouding van 20 : 1 te gebruiken.

Damp het ethanolbevattend filtraat volledig in, bij voorkeur met een rotatieverdamer. Herhaal een en ander indien een grotere hoeveelheid extract nodig is. Los het residu op in 5 000 ml van een mengsel van isopropanol en water.

2.4.3. Voorbereiding van de ionenwisselingskolommen.

Kationenwisselingskolom.

Breng 600 ml kationenwisselingshars (2.3.6) in een bekersglas van 3 000 ml en dek af door toevoeging van 2 000 ml zoutzuur (2.3.8). Laat dit ten minste 2 uren staan, waarbij af en toe wordt geroerd. Giet het zuur af en breng het hars met gedeïoniseerd water in de kolom (2.3.12) over. De kolom moet een prop van glaswol bevatten. Was de kolom met gedeïoniseerd water met een snelheid van 10-30 ml/min tot het eluaat chloridevrij is. Verplaats het water met 2 000 ml van het mengsel van isopropanol en water (2.3.3) in een tempo van 10-30 ml/min. De wisselingskolom is thans gebruiksklaar.

Anionenwisselingskolom.

Breng 600 anionenwisselingshars (2.3.7) in een bekersglas van 3 000 ml en dek af door toevoeging van 2 000 ml gedeïoniseerd water. Laat de wisselaar gedurende ten minste 2 uren opzwellen. Breng het hars met gedeïoniseerd water in de kolom over. De kolom moet een prop gedeïoniseerd glaswol bevatten als steunlaag voor de wisselaar.

Was de kolom met 0,3 M ammoniumbicarbonaatoplossing (2.3.5) tot deze chloridevrij is. Hiervoor is ongeveer 5 000 ml oplossing nodig. Was opnieuw met 2 000 ml gedeïoniseerd water. Verplaats het water met 2 000 ml van het mengsel van isopropanol en water (2.3.3) met een snelheid van 10-30 ml/min. De wisselingskolom vertoont thans de OH-vorm en is gebruiksklaar.

2.4.4. Ionenwisselingsproces.

Verbind de wisselingskolommen op een zodanige wijze dat de kationenwisselingskolom zich op de anionenwisselingskolom bevindt. Verhit de wisselingskolommen tot 323 K (50 °C), waarbij gebruik wordt gemaakt van een thermostaat. Verhit 5 000 ml van de sub 2.4.2 verkregen oplossing tot 333 K (60 °C) en laat de oplossing door de wisselaarscombinatie lopen met een snelheid van 20 ml/min. Was de kolommen met 1 000 ml van het hete mengsel van isopropanol en water (2.3.3).

Maak om de anionactieve synthetische oppervlakte-actieve stoffen (MBAS) te verkrijgen de KAT-kolom los. Elueer met 5 000 ml ethanol/CO₂-oplossing (323 K; 50 °C) (2.3.4) de zeep-vetzuren uit de KAT-kolom. Verwijder het eluaat.

Elueer vervolgens de MBAS uit de AAT-kolom met 5 000 ml ammoniumbicarbonaatoplossing (2.3.5). Damp het eluaat op een stoombad of in een rotatieverdamer tot droog is. Het residu bevat de MBAS (als ammoniumzout) en eventueel niet oppervlakte-actieve anionactieve stoffen waarvan geen nadelige invloed uitgaat op de biologische afbraakproef. Voeg aan het residu gedeïoniseerd water toe totdat een bepaald volume is bereikt en bepaal op de in hoofdstuk 3 beschreven wijze het MBAS-gehalte hierin. De oplossing wordt gebruikt als standaardoplossing van de anionactieve detergentia voor de biologische afbraakproef. De oplossing dient te worden bewaard bij een temperatuur van minder dan 278 K (5 °C).

2.4.5. Regeneratie van de ionenwisselingsharsen.

De kationenwisselaar wordt na gebruik weggegooid.

Het anionenwisselingshars wordt geregenereerd door een aanvullende hoeveelheid ammoniumbicarbonaatoplossing (2.3.5) door de kolom te laten lopen bij ongeveer 10 ml/min, totdat het eluaat vrij is van anionactieve oppervlakte-actieve stoffen (methyleenblauwttest). Laat vervolgens 2 000 ml van het mengsel van isopropanol en water (2.3.3) door de anionenwisselaar lopen om door te spoelen. De anionenwisselaar is dan opnieuw gebruiksklaar.

HOOFDSTUK 3

Bepaling van de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen bij de proef inzake de biologische afbreekbaarheid

3.1. Principe

Bij deze methode wordt uitgegaan van het feit dat de kationactieve kleurstof methyleenblauw met de anionactieve oppervlakte-actieve stoffen blauwe complexen vormt die met chloroform kunnen worden geëxtraheerd. Om storingen te voorkomen wordt eerst geëxtraheerd uit de alkalische oplossing, waarna het extract met de zure methyleenblauwoplossing wordt geschud. De extinctie van de afgescheiden organische fase wordt fotometrisch gemeten bij de golflengte van de maximale extinctie (650 nm) van het complex.

3.2. Reagentia en apparatuur.

3.2.1. Bufferoplossing pH 10 :

Los 24 g natriumbicarbonaat (NaHCO₃) p.a. en 27 g watervrij natriumcarbonaat (Na₂CO₃) p.a. in gedeïoniseerd water op en vul aan tot 1 000 ml.

3.2.2. Neutrale methyleenblauwoplossing :

Los 0,35 g methyleenblauw p.a. in gedeïoniseerd water op en vul aan tot 1 000 ml. Bereid de oplossing ten minste 24 uren vóór het gebruik. De extinctie van de blanco chloroformfase, gemeten tegen chloroform, mag niet meer bedragen dan 0,015 per cm dikte van de laag bij 650 nm.

3.2.3. Zure methyleenblauwoplossing :

Los 0,35 g methyleenblauw p.a. in 500 ml gedeïoniseerd water op en meng met 6,5 ml H₂SO₄ (d = 1,84 g/ml). Vul met gedeïoniseerd water aan tot 1 000 ml. Bereid de oplossing ten minste 24 uren vóór het gebruik. De extinctie van de blanco chloroformfase, gemeten tegen chloroform, mag niet meer bedragen dan 0,015 per cm dikte van de laag bij 650 nm.

3.2.4. Chloroform (trichloormethaan), CHCl₃ p.a., vers gedistilleerd.

- 3.2.5. Dodecylbenzeensulfonzuurmethylester.
- 3.2.6. Oplossing van kaliumhydroxyde in ethanol, KOH 0,1 M.
- 3.2.7. Zuiver ethanol, C₂H₅OH.
- 3.2.8. Zwavelzuur, H₂SO₄ 0,5 M.
- 3.2.9. Fenolftaleïenoplossing :
Los 1 g fenolftaleïen in 50 ml ethanol op en voeg onder voortdurend roeren 50 ml gedeïoniseerd water toe. Filtreer de oplossing.
- 3.2.10. Zoutzuur in methanol : 250 ml zoutzuur, geconcentreerd, p.a. en 750 ml methanol.
- 3.2.11. Scheitrechter van 250 ml.
- 3.2.12. Maatkolf van 50 ml.
- 3.2.13. Maatkolf van 500 ml.
- 3.2.14. Maatkolf van 1 000 ml.
- 3.2.15. Kolf met ronde bodem van 250 ml, met ingeslepen stop en terugvloeikoeler; kooksteentjes.
- 3.2.16. pH-meter.
- 3.2.17. Fotometer voor metingen bij 650 nm, met cuvetten van 1 tot 5 cm.
- 3.2.18. Kwalitatief filterpapier.
- 3.3. Werkwijze.
De analysemonsters mogen niet door een schuimlaag worden genomen.
Na een grondige reiniging met water, moet de bij de analyse gebruikte apparatuur grondig met een oplossing van zoutzuur in methanol (3.2.10) en vervolgens met gedeïoniseerd water worden uitgespoeld vóór het gebruik.
Filtreer de te onderzoeken in- en uitloop van de actief slibinstallatie onmiddellijk na de monsterneming. Gooi de eerste 100 ml van de filtraten weg.
Breng een bepaalde, zo nodig geneutraliseerde hoeveelheid van het monster in een scheitrechter van 250 ml (3.2.11). De hoeveelhidsmonster moet tussen de 20 en de 150 µg MBAS bevatten. Bij een lager MBAS-gehalte kan tot 100 ml van het monster worden gebruikt. Bij gebruik van minder dan 100 ml moet met gedeïoniseerd water tot 100 ml worden aangevuld. Voeg aan het monster 10 ml van de bufferoplossing (3.2.1), 5 ml van de neutrale methyleenblauwoplossing (3.2.2) en 15 ml chloroform (3.2.4) toe. Schud het mengsel gelijkmatig en niet te krachtig gedurende 1 minuut. Laat na de scheiding van de fasen de chloroformlaag in een tweede scheitrechter lopen, die 110 ml gedeïoniseerd water en 5 ml zure methyleenblauwoplossing (3.2.3) bevat. Schud het mengsel gedurende 1 minuut. Laat de chloroformlaag over een van tevoren met alcohol gewassen en met chloroform bevochtigd wattenfilter percoleren in een maatkolf (3.2.12).
Extraheer de alkalische en zure oplossingen driemaal, bij de tweede en derde extractie met 10 ml chloroform. Filtreer de verenigde chloroformextracten over dezelfde wattenfilter en vul met de chloroform die voor het nawassen van de watten werd gebruikt tot de streep aan in de kolf van 50 ml (3.2.12). Meet de extinctie van de chloroformoplossing met een fotometer bij 650 nm in cuvetten van 1 tot 5 cm tegen chloroform. Voer volgens de hele werkwijze een blancobepaling uit.
- 3.4. IJkcurve.
Bereid een ijkoplossing uit de standaardstof dodecylbenzeensulfonzuurmethylester (tetrapropeen type PM 340) na omzetting in het natriumzout. De MBAS wordt uitgedrukt als natriumdodecylbenzeensulfonaat (PM 348).
Weeg 400 tot 450 mg dodecylbenzeensulfonzuurmethylester (3.2.5) tot op 0,1 mg nauwkeurig in een kolf met ronde bodem en voeg 50 ml van de oplossing van kaliumhydroxide in ethanol (3.2.6), alsmede enkele kooksteentjes toe. Laat na aanbrenging van de terugvloeikoeler 1 uur koken. Was na het koelen de koeler en het verbindingsstuk van geslepen glas met ongeveer 30 ml ethanol en voeg de wasvloeistof toe aan de inhoud van de kolf. Titreer de oplossing met zwavelzuur tegen fenolftaleïen. Breng deze oplossing over in een maatkolf van 1 000 ml (3.2.14), vul met gedeïoniseerd water aan tot de streep en meng.
Een deel van deze oppervlakte-actieve voorraadoplossing wordt daarna verder verdund. Neem 25 ml af, breng deze over in een maatkolf van 500 ml (3.2.13), vul met gedeïoniseerd water tot de streep en meng.

Deze standaardoplossing bevat $\frac{E \times 1,023}{20\,000}$ mg MBAS per ml,

waarin E het gewicht van het monster in mg is.

Neem voor de ijkcurve achtereenvolgens 1, 2, 4, 6 en 8 ml van de standaardoplossing en vul telkens met gedeïoniseerd water aan tot 100 ml. Ga vervolgens te werk zoals sub 3.3 is beschreven, met inbegrip van een blancobepaling.

3.5. Berekening van de resultaten.

De hoeveelheid anionactieve oppervlakte-actieve stof (MBAS) in het monster wordt afgelezen van de ijkcurve (3.4). Het MBAS-gehalte van het monster wordt verkregen aan de hand van de volgende formule :

$$\frac{\text{mg MBAS} \times 1000}{V} = \text{MBAS mg/liter.}$$

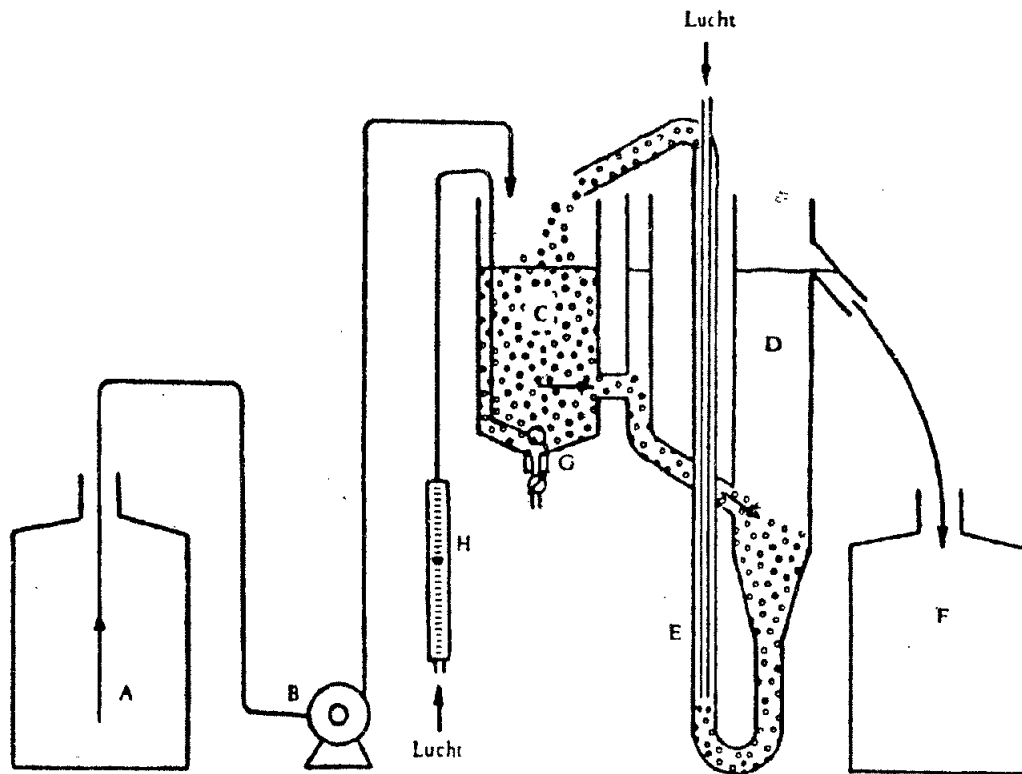
Hierin is V de gebruikte hoeveelheid monster in ml.

Geef de resultaten weer in natriumdodecylbenzeensulfonaat (PM 348).

3.6. Weergave van de resultaten.

Geef de resultaten weer in MBAS mg/liter en wel tot op 0,1 mg/liter nauwkeurig.

Figuur 1

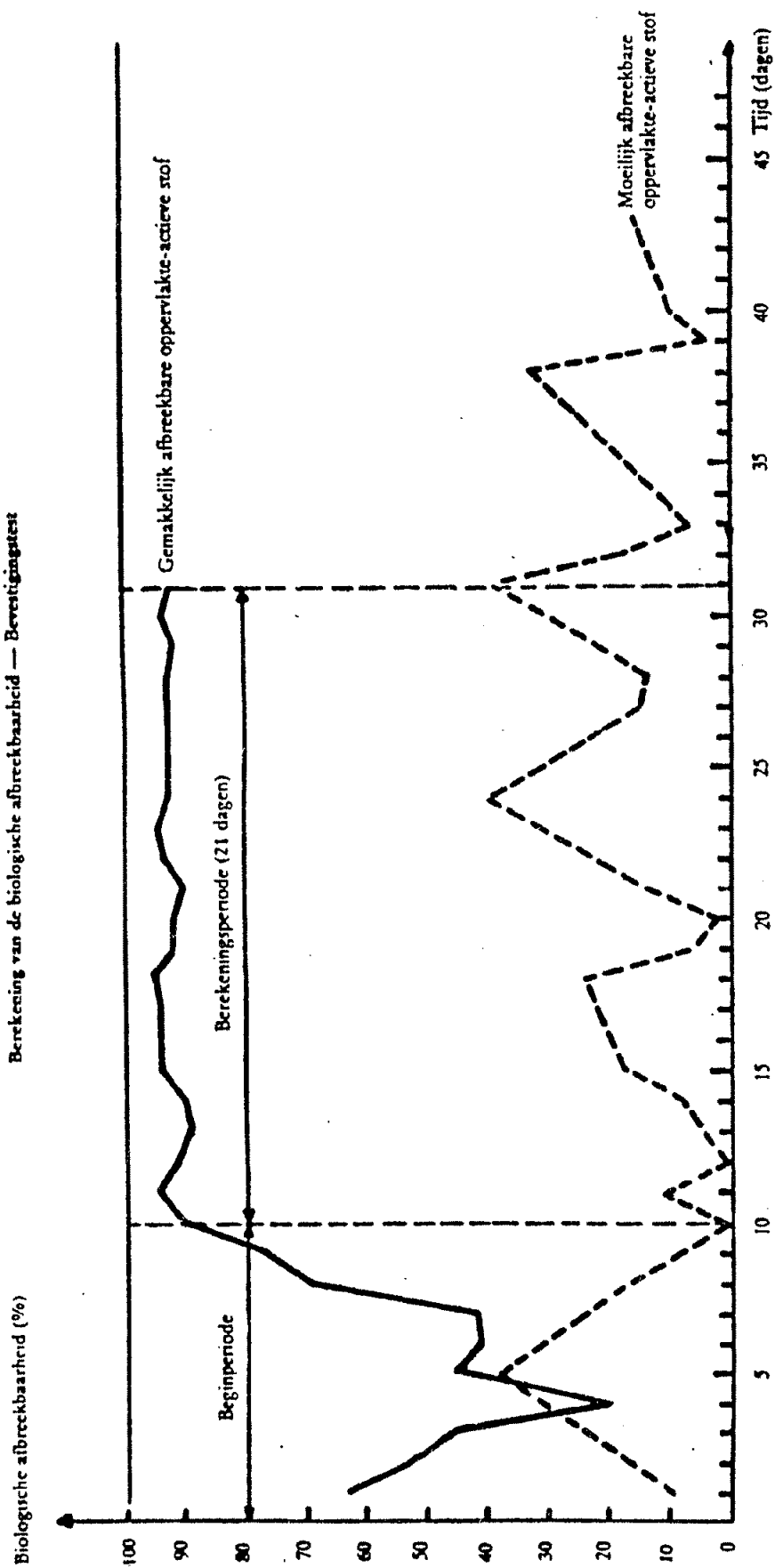


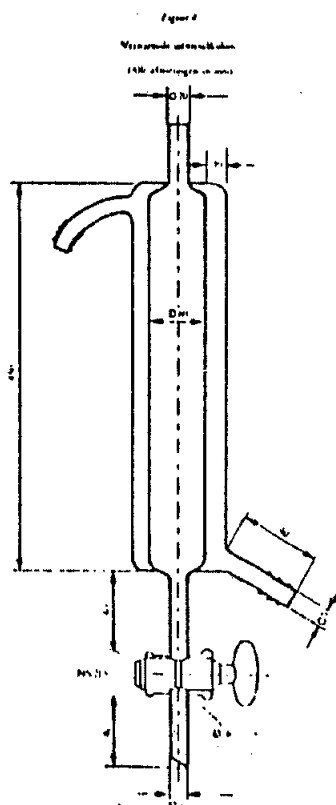
A: Opslagvat
 B: Doserpomp
 C: Beluchtingsvat (capaciteit 3 liter)
 D: Decanteervat

E: Persluchtpomp
 F: Vergaarbak
 G: Luchtregelorgaan
 H: Luchtdebietmeter

FIGUUR 3

Berekening van de biologische afbreekbaarheid — Bevestigingsstent





Gezien om te worden gevoegd bij Ons Besluit van 25 oktober 1988.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :
De Eerste Minister,
W. MARTENS

De Staatssecretaris voor Leefmilieu
Mevr. M. SMET

Annexe I

DETERMINATION DE LA BIODEGRADABILITE DES AGENTS DE SURFACE ANIONIQUES

Méthode de référence (test de confirmation)

CHAPITRE 1er

1.1. Définition.

Aux termes du présent arrêté, les agents de surface anioniques sont les agents qui, après passage sur échangeurs d'ions cationiques et anioniques, sont séparés par élution fractionnelle et déterminés sous forme de substance active au bleu de méthylène (MBAS) suivant la méthode d'analyse décrite au chapitre 3.

1.2. Equipement nécessaire.

La méthode de mesure est fondée sur l'emploi d'une installation à boue activée, schématisée sur la figure 1 et représentée de manière plus détaillée sur la figure 2.

L'équipement se compose d'un récipient *A*, destiné à stocker les eaux résiduaires synthétiques, d'une pompe doseuse *B*, d'une cuve d'aération *C*, d'un décanteur *D*, d'une pompe à air comprimé *E* pour recycler la boue activée et d'un récipient *F* destiné à recueillir l'effluent traité.

Les récipients *A* et *F* doivent être en verre ou en matière plastique appropriée et contenir au moins 24 l. La pompe *B* doit assurer une alimentation régulière de la cuve d'aération en effluent synthétique, en cours de fonctionnement normal, cette cuve doit contenir 3 l de mélange. Un verre fritté *G* destiné à l'aération est suspendu dans la cuve *C* au sommet du cône intérieur de cette cuve. La quantité d'air insufflée par le dispositif d'aération doit être contrôlée par un débitmètre.

1.3. Effluent synthétique.

Pour effectuer cet essai, on se sert d'un effluent synthétique.

Dissoudre par litre d'eau du robinet :

160 mg de peptone;

110 mg d'extrait de viande;

30 mg d'urée [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$];

7 mg de chlorure de sodium (NaCl);

4 mg de chlorure de calcium ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);

2 mg de sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$);

28 mg de monohydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4);

20 ± 2 mg de MBAS.

On extrait le MBAS du produit faisant l'objet de l'essai par la méthode indiquée au chapitre 2. L'effluent synthétique est préparé chaque jour.

1.4. Préparation des échantillons.

1.4.1. Les agents de surface non formulés peuvent être essayés tels quels. La teneur en MBAS doit être déterminée afin de préparer l'effluent synthétique (1.3).

1.4.2. Dans le cas de formulations, on procède à la détermination de la teneur en MBAS et en savon. On procède à une extraction alcoolique et à une séparation de la MBAS (voir chapitre 2). Il faut connaître la teneur en MBAS de l'extrait pour préparer l'effluent synthétique.

1.5. Fonctionnement de l'installation.

Au départ, on remplit la cuve d'aération *C* et le décanteur *D* avec de l'effluent synthétique. Le décanteur *D* doit être fixé à une hauteur telle que la cuve d'aération *C* contienne 3 l.

On introduit 3 ml d'un effluent secondaire de bonne qualité, fraîchement prélevé dans une installation de traitements d'eaux résiduaires, essentiellement domestiques. L'effluent doit être maintenu dans des conditions aérobies pendant la période de prise entre l'échantillonnage et l'utilisation. On met ensuite en marche le dispositif d'aération, la pompe à air comprimé *E* et la pompe doseuse *B*. L'effluent synthétique doit passer dans la cuve d'aération *C* au débit horaire de 1 l, ce qui donne un temps moyen de rétention de trois heures.

Il faut régler le rythme d'aération de telle façon que le contenu de la cuve *C* reste constamment en suspension et que la teneur en oxygène dissous soit au minimum de 2 mg/l. La formation de mousse doit être empêchée par des moyens appropriés. On n'utilisera cependant pas d'agents antimousse qui ont une action inhibitrice sur la boue activée ou qui contiennent du MBAS. La pompe *E* doit être réglée de telle sorte qu'il y ait dans la cuve d'aération *C* un recyclage continu et régulier de la boue activée issue du décanteur. La boue qui s'est accumulée au sommet de la cuve d'aération *C*, au fond du décanteur *D* ou dans le circuit de circulation, doit être remise en circulation au moins une fois par jour par brossage ou par tout autre moyen approprié. Quand la boue ne décante pas, on peut favoriser la décantation par addition, répétée si nécessaire, de fractions de 2 ml d'une solution à 5 % de chlorure ferrique.

L'effluent sortant du décanteur *D* est recueilli dans la cuve *F* pendant vingt-quatre heures, après quoi on prélève un échantillon après avoir procédé à l'homogénéisation du mélange. La cuve *F* doit alors être nettoyée soigneusement.

1.6. Contrôle du dispositif de mesure.

La teneur en MBAS (en mg/l) de l'effluent synthétique est déterminée immédiatement avant usage.

La teneur en MBAS (en mg/l) de l'eau résiduaire collectée pendant vingt-quatre heures dans la cuve *F* doit être déterminée par la même méthode d'analyse, immédiatement après le prélèvement, sinon les échantillons sont conservés, de préférence par congélation. La concentration doit être déterminée à 0,1 mg MBAS/l près.

Pour vérifier la bonne marche de l'opération, on mesure au moins deux fois par semaine la demande chimique en oxygène (DCO) ou le carbone organique dissous (COD) de l'effluent filtré sur fibre de verre, accumulé dans la cuve *F* et de l'effluent synthétique filtré qui est stocké dans la cuve *A*.

La diminution de la DCO ou du COD doit se stabiliser lorsque la biodégradation journalière de la MBAS est à peu près régulière, c'est-à-dire à la fin de la période initiale indiquée sur la figure 3.

La teneur en matières sèches minérales de la boue activée contenue dans la cuve d'aération doit être déterminée deux fois par semaine (en g/l). Si elle dépasse 2,5 g/l, il faut éliminer l'excès de boue activée.

L'essai de biodégradation est effectué à la température ambiante; cette température doit être régulière et maintenue entre 292 et 297 K (19-24 °C).

1.7. Calcul de la biodégradation.

Le pourcentage de biodégradation de la MBAS doit être calculé quotidiennement à partir de la teneur en MBAS (exprimée en mg/l) de l'effluent synthétique et de l'eau résiduaire correspondante recueillie dans la cuve F. Les valeurs ainsi obtenues doivent être représentées graphiquement, comme l'indique la figure 3.

La biodégradabilité de la MBAS est calculée en prenant la moyenne arithmétique des valeurs obtenues au cours des vingt et un jours suivant la période initiale, délai pendant lequel la biodégradation doit avoir été régulière et l'installation doit avoir fonctionné sans aucune perturbation. En aucun cas, la durée de la période initiale ne dépassera six semaines.

Les valeurs quotidiennes de la biodégradation doivent être calculées à 0,1 % près, mais le résultat final est déterminé au nombre entier près.

Dans certains cas, la fréquence des prélèvements peut être diminuée mais, pour calculer la moyenne, on utilisera les résultats d'au moins 14 prélèvements journaliers répartis sur la période de vingt et un jours qui suivent la période initiale.

CHAPITRE 2. — Traitement préliminaire des produits à examiner

2.1. Notes préliminaires.

2.1.1. Traitement des échantillons

Le traitement des agents de surface anioniques et des détergents préalablement à la détermination de la biodégradation par le test de confirmation est le suivant :

Produits	Traitement
Agents de surface anioniques	Néant
Détergents	Extraction alcoolique suivie d'une séparation par échange d'ions et d'une élution fractionnelle à partir de l'échangeur d'anions

Le but de l'extraction alcoolique est d'éliminer des produits commercialisés les composants insolubles et inorganiques qui peuvent, le cas échéant, perturber le test de biodégradation.

2.1.2. Procédé d'échange d'ions.

Il est nécessaire, pour l'exactitude des tests de biodégradation, d'isoler et de séparer les agents de surface anioniques du savon et des agents de surface non ioniques et cationiques.

Ce résultat est obtenu grâce à l'application d'une technique d'échange d'ions utilisant une résine échangeuse d'anions macroporeuse et les agents d'élution appropriés permettant l'élution fractionnée. Le savon et les agents de surface anioniques et non ioniques se trouvent ainsi isolés en une seule opération.

2.1.3. Contrôle analytique.

Après homogénéisation, la teneur en agents de surface anioniques du détergent synthétique est déterminée suivant la méthode d'analyse à la MBAS. La teneur en savon est déterminée selon une méthode appropriée. Cette analyse des produits est nécessaire pour le calcul des quantités requises pour la préparation des fractions destinées aux essais de biodégradation.

Une extraction quantitative ne s'impose pas; toutefois, on extraira au moins 80 % des agents de surface anioniques. Habituellement, on en obtient 90 % et plus.

2.2. Principe.

A partir d'un échantillon homogène (poudres, pâtes et liquides desséchés), on obtient un extrait par l'éthanol qui contient les agents de surface, le savon et d'autres composants solubles de l'alcool, de l'échantillon de détergent.

L'extrait par l'éthanol est évaporé et dissout dans un mélange isopropanol/eau; on fait passer la solution ainsi obtenue à travers un dispositif mixte échange de cations fortement acide/échange d'anions macroporeux, porté à la température de 323 K (50 °C). Cette température est nécessaire pour empêcher la précipitation des acides gras en milieu acide.

Les agents de surface non ioniques restent dans l'effluent.

Les acides gras du savon sont séparés par élution avec de l'éthanol contenant du dioxyde de carbone. On obtient alors les agents de surface anioniques sous forme de sels d'ammonium par élution avec une solution de bicarbonate d'ammonium dans un mélange isopropanol/eau. Ces sels d'ammonium sont utilisés pour le test de biodégradation.

Les agents de surface cationiques, susceptibles de perturber le test de biodégradation et la procédure analytique, sont éliminés par l'échangeur de cations placé au-dessus de l'échangeur d'anions.

2.3. Produits chimiques et appareillage.

2.3.1. Eau désionisée.

2.3.2. Ethanol, 95 % (v/v) C₂H₅OH (dénaturants admis méthyléthylcétone ou méthanol).

2.3.3. Mélange isopropanol/eau (50/50 v/v). 50 parties d'isopropanol (CH₃CHOH-CH₃); 50 parties d'eau (2.3.1.).

- 2.3.4. Solution de dioxyde de carbone dans l'éthanol (environ 0,1 % de CO₂); au moyen d'un tube de transfert doté d'un disque en verre fritté incorporé, faire barboter le dioxyde de carbone (CO₂) à travers l'éthanol (2.3.2) pendant dix minutes. La solution doit être préparée extemporanément.
- 2.3.5. Solution de bicarbonate d'ammonium (60/40 v/v); 0,3 mol de NH₄HCO₃ dans 1 000 ml d'un mélange isopropanol/eau constitué de 60 parties d'isopropanol et de 40 parties d'eau (2.3.1).
- 2.3.6. Echangeur de cation (KAT), fortement acide, résistant à l'alcool (50-100 mesh).
- 2.3.7. Echangeur d'anions (AAT), macroporeux, Merck Lewatit MP 7080 (70-150 mesh) ou équivalent.
- 2.3.8. Acide chlorhydrique, 10 % HCl (p/p).
- 2.3.9. Ballon à fond rond de 2 000 ml avec rodage conique et condenseur à reflux.
- 2.3.10. Entonnoir filtrant de 90 mm de diamètre (pouvant être chauffé) pour filtres en papier.
- 2.3.11. Fioles à vide de 2 000 ml.
- 2.3.12. Colonnes d'échangeurs à enveloppe chauffante et robinet; tube intérieur de 60 mm de diamètre et de 450 mm de hauteur (figure 4).
- 2.3.13. Bain-marie.
- 2.3.14. Etuve de séchage à vide.
- 2.3.15. Thermostat.
- 2.3.16. Evaporateur rotatif.
- 2.4. Extraction et séparation des agents de surface anioniques.
- 2.4.1. *Préparation de l'extrait.*
La quantité d'agents de surface nécessaire pour l'essai de biodégradation est d'environ 50 g MBAS. Normalement la quantité de produit à extraire ne dépasse pas 1 000 g; cependant il peut être nécessaire d'extraire des quantités supplémentaires de l'échantillon. Pour des raisons pratiques, la quantité de produit utilisé sera dans la plupart des cas limitée à 5 000 g lors de la préparation des extraits pour l'essai de biodégradation. L'expérience a montré qu'une série d'extractions limitées est préférable à une seule extraction d'une grande quantité de produit. En ce qui concerne les échangeurs, les quantités spécifiées sont conçues pour une capacité de 600 à 700 mmol d'agents de surface et de savon.
- 2.4.2. *Isolement des composants solubles dans l'alcool.*
Ajouter 250 g du détergent à analyser à 1 250 ml d'éthanol et porter le mélange à ébullition puis le soumettre à reflux pendant une heure, en agitant. Filtrer la solution alcoolique chaude dans un entonnoir filtrant à larges pores, porté à la température de 323 K (50 °C) et aspirer fortement. Laver la fiole et l'entonnoir filtrant avec environ 200 ml d'éthanol chaud. Recueillir le filtrat et le lavage du filtre dans une fiole à vide. Lorsque les produits à analyser sont des pâtes ou des liquides, s'assurer que l'échantillon ne contient pas plus de 55 g d'agents de surface anioniques et 35 g de savon. Evaporer cet échantillon pesé jusqu'à dessiccation complète. Dissoudre le résidu dans 2 000 ml d'éthanol et procéder comme ci-dessus. Dans le cas de poudres de faible densité apparente (< 300 g/l), il est recommandé d'augmenter la proportion d'éthanol dans le rapport 20/1. Evaporer le filtrat d'éthanol jusqu'à dessiccation complète, de préférence au moyen d'un évaporateur rotatif. Répéter l'opération si une plus grande quantité d'extrait est nécessaire. Dissoudre le résidu dans 5 000 ml d'un mélange isopropanol/eau.
- 2.4.3. *Préparation de colonnes d'échangeurs d'ions.*
Colonne d'échangeurs de cations.
Placer 600 ml de résine échangeuse de cations (2.3.6) dans un bécher de 3 000 ml et couvrir en ajoutant 2 000 ml d'acide chlorhydrique (2.3.8). Laisser reposer pendant au moins deux heures en agitant de temps en temps. Décanter l'acide et transférer la résine dans la colonne (2.3.12) au moyen d'eau désionisée. La colonne doit comporter un tampon de laine de verre. Laver la colonne avec de l'eau désionisée à un débit de 10-30 ml/min jusqu'à ce que l'éluat soit exempt de chlorure. Déplacer l'eau avec 2 000 ml d'un mélange isopropanol/eau (2.3.3) à un débit de 10-30 ml/min. La colonne d'échangeurs est prête à l'emploi.
Colonne d'échangeurs d'anions.
Placer 600 ml de résine échangeuse d'anions (2.3.7) dans un bécher de 3 000 ml et couvrir en ajoutant 2 000 ml d'eau désionisée. Laisser l'échangeur gonfler pendant au moins deux heures. Transférer la résine dans la colonne avec de l'eau. La colonne doit comporter un tampon en laine de verre désionisée comme couche de soutien des échangeurs. Laver la colonne avec une solution 0,3 mol de bicarbonate d'ammonium (2.3.5) jusqu'à ce qu'elle soit exempte de chlorure, ce qui nécessite environ 5 000 ml de solution. Laver ensuite avec 2 000 ml d'eau désionisée. Déplacer l'eau avec 2 000 ml d'un mélange isopropanol/eau (2.3.3) à un débit de 10-30 ml/min. La colonne d'échangeurs est maintenant sous forme OH⁻ et prête à l'emploi.
- 2.4.4. *Procédé d'échange d'ions.*
Monter les colonnes d'échangeurs de sorte que la colonne d'échangeurs de cations se trouve au-dessus de la colonne d'échangeurs d'anions. Porter les colonnes à la température de 323 K (50 °C) au moyen d'un thermostat. Chauffer 5 000 ml de la solution obtenue au point 2.4.2 jusqu'à 333 K (60 °C) et passer la solution à travers le groupe d'échangeurs à un débit de 20 ml/min. Laver les colonnes avec 1 000 ml d'un mélange chaud d'isopropanol/eau (2.3.3). Pour obtenir les agents de surface anioniques synthétiques (MBAS), démonter la colonne KAT. Eluer les acides gras du savon de la colonne KAT au moyen de 5 000 ml d'une solution d'éthanol/CO₂ (à 323 K; 50 °C) (2.3.4). Rejeter l'éluat. Eluer ensuite les MBAS de la colonne AAT au moyen de 5 000 ml de solution de bicarbonate d'ammonium (2.3.5). Evaporer l'éluat jusqu'à dessiccation sur un bain de vapeur ou dans un évaporateur rotatif. Les résidus contiennent les MBAS (sous forme de sel d'ammonium) et, éventuellement, les produits anioniques non tensio-actifs qui ne nuisent pas au test de biodégradation. Ajouter de l'eau désionisée jusqu'à obtention d'un volume déterminé et doser la teneur en MBAS dans une fraction aliquote conformément au chapitre 3. La solution est utilisée comme solution étalon des détergents anioniques pour l'essai de biodégradation. La solution doit être maintenue à une température inférieure à 278 K (5 °C).

2.4.5. *Régénération des résines échangeuses d'ions.*

L'échangeur de cations est jeté après l'emploi.

On régénère la résine échangeuse d'anions en faisant passer dans la colonne une quantité supplémentaire d'une solution de bicarbonate d'ammonium (2.3.5) à un débit d'environ 10 ml/min jusqu'à ce que l'éluat soit exempt d'agents de surface anioniques (essai au bleu de méthylène). Laver ensuite l'échangeur d'anions avec 2 000 ml d'un mélange isopropanol/eau (2.3.3). L'échangeur d'anions peut de nouveau être utilisé.

CHAPITRE 3. — *Détermination des agents de surface anioniques dans l'essai de biodégradation*

3.1. Principe.

La méthode est basée sur le fait que le colorant cationique qu'est le bleu de méthylène donne avec les agents de surface anioniques des sels bleus que l'on peut extraire au chloroforme. Afin d'éviter les interférences, l'extraction est d'abord effectuée à partir d'une solution alcaline et l'extrait est ensuite agité avec une solution acide de bleu de méthylène. L'absorbance de la phase organique séparée est mesurée par photométrie à la longueur d'onde d'absorption maximale de 650 nm.

3.2. Réactifs et appareillage.

3.2.1. Solution tampon pH 10 : dissoudre 24 g de bicarbonate de sodium (NaHCO_3) pour analyse et 27 g de carbonate de sodium anhydre (Na_2CO_3) pour analyse dans de l'eau désionisée et diluer à 1 000 ml.

3.2.2. Solution neutre de bleu de méthylène, dissoudre 0,35 g de bleu de méthylène pour analyse dans de l'eau désionisée et diluer à 1 000 ml. Préparer la solution au moins vingt-quatre heures avant l'emploi. L'absorbance de la phase chloroforme de l'essai à blanc, comparée à celle du chloroforme pur, ne doit pas dépasser 0,015 pour 1 cm d'épaisseur de la couche à 650 nm.

3.2.3. Solution acide de bleu de méthylène, dissoudre 0,35 g de bleu de méthylène pour analyse dans 500 ml d'eau désionisée et mélanger avec 6,5 ml d' H_2SO_4 ($d = 1,84$ g/ml). Diluer avec 1 000 ml d'eau désionisée. Préparer la solution au moins vingt-quatre heures avant l'emploi. L'absorbance de la phase de chloroforme de l'essai à blanc, comparée à celle du chloroforme pur, ne doit pas dépasser 0,015 pour 1 cm d'épaisseur de la couche à 650 nm.

3.2.4. Chloroforme (trichlorométhane) CHCl_3 pour analyse, fraîchement distillé.

3.2.5. Dodécylbenzène-méthylester d'acide sulfonique.

3.2.6. Solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol, KOH 0,1 mol.

3.2.7. Ethanol pur ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

3.2.8. Acide sulfurique (H_2SO_4 0,5 mol).

3.2.9. Solution de phénolphthaléine : dissoudre 1 g de phénolphthaléine dans 50 ml d'éthanol et ajouter 50 ml d'eau désionisée en agitant continuellement. Eliminer par filtration tout précipité obtenu.

3.2.10. Acide chlorhydrique et méthanol : 250 ml d'acide chlorhydrique concentré pour analyse et 750 ml de méthanol.

3.2.11. Ampoule à décantation de 250 ml.

3.2.12. Fiole jaugée de 50 ml.

3.2.13. Fiole jaugée de 500 ml.

3.2.14. Fiole jaugée de 1 000 ml.

3.2.15. Ballon à fond rond avec rodage en verre, condenseur à reflux de 250 ml; granulés pour faciliter l'ébullition.

3.2.16. pH-mètre.

3.2.17. Photomètre pour mesures à 650 nm, avec des cuves de 1 à 5 cm.

3.2.18. Papier filtre qualitatif.

3.3. Méthode.

Les échantillons destinés à l'analyse ne doivent pas être prélevés à travers une couche de mousse. Après avoir été soigneusement nettoyé à l'eau, l'appareillage utilisé pour l'analyse doit être entièrement rincé avec une solution d'acide chlorhydrique et de méthanol (3.2.10), puis avec de l'eau désionisée avant usage.

Filtrer les effluents d'entrée et de sortie de l'installation à boue activée à examiner dès l'échantillonnage. Eliminer les premiers 100 ml des filtrats.

Placer un volume mesuré de l'échantillon, neutralisé si nécessaire, dans une ampoule à décantation de 250 ml (3.2.11). Le volume de l'échantillon doit contenir entre 20 et 150 μg de MBAS. Pour une teneur en MBAS plus faible, on peut utiliser jusqu'à 100 ml de l'échantillon. Lorsqu'on en utilise moins de 100 ml, diluer à 100 ml avec de l'eau désionisée. Ajouter à l'échantillon 10 ml de la solution tampon (3.2.1) 5 ml de la solution neutre de bleu de méthylène (3.2.2) et 15 ml de chloroforme (3.2.4). Agiter le mélange de façon régulière et sans trop de vigueur pendant une minute. Après la séparation de phases, faire passer la couche de chloroforme dans une seconde ampoule à décantation contenant 110 ml d'eau désionisée et 5 ml de solution acide de bleu de méthylène (3.2.3). Agiter le mélange pendant une minute. Faire passer la couche de chloroforme sur un filtre de coton hydrophile préalablement lavé à l'alcool et imbibé de chloroforme dans une fiole graduée (3.2.12).

Extraire à trois reprises les solutions alcalines et acides, au moyen de 10 ml de chloroforme lors de la deuxième et de la troisième extraction. Filtrer les extraits combinés de chloroforme à travers le même filtre de coton hydrophile et diluer à la marque dans la fiole de 50 ml (3.2.12) avec le chloroforme utilisé pour relaver le coton hydrophile. Mesurer l'absorbance de la solution de chloroforme avec un photomètre à 650 nm dans des cuves de 1 à 5 cm en comparant avec celle du chloroforme pur. Faire un essai de dosage en blanc tout au long de la méthode.

3.4. Courbe d'étalonnage.

Préparer une solution d'étalonnage à partir de la substance étalon de dodécylbenzène-méthylester d'acide sulfonique (tétrapropylène type PM 340) après saponification dans le sel de potassium. La MBAS est exprimée en dodécylbenzène sulfonate de sodium (PM 348).

Peser 400 à 450 mg de dodécylbenzène-méthylester d'acide sulfonique (3.2.5) à 0,1 mg près dans un ballon à fond rond et ajouter 50 ml de solution d'hydroxyde de potassium et d'éthanol (3.2.6) et quelques granulés pour faciliter l'ébullition. Après avoir monté le condenseur à reflux, faire bouillir pendant une heure. Après refroidissement, laver le condenseur et le rodage de verre avec environ 30 ml d'éthanol et ajouter ces lavages au contenu du ballon. Titrer la solution à l'acide sulfurique jusqu'à décoloration de la phénolphthaléine. Transférer cette solution dans une fiole jaugée de 1 000 ml (3.2.14), diluer à la marque avec de l'eau désionisée et mélanger.

Rediluer ensuite une partie de cette solution mère de l'agent de surface. En prélever 25 ml et transférer dans une fiole jaugée de 500 ml (3.2.13), diluer à la marque avec de l'eau désionisée et mélanger.

Cette solution étalon contient $\frac{E \times 1,023}{20\,000}$ mg MBAS/ml, E représentant le poids de l'échantillon en mg.

Pour établir la courbe d'étalonnage, prélever respectivement 1, 2, 4, 6 et 8 ml de la solution étalon et diluer chacun de ces prélèvements à 100 ml avec de l'eau désionisée. Procéder ensuite comme indiqué au point 3.3 (y compris un essai de dosage en blanc).

3.5. Calcul des résultats.

La courbe d'étalonnage (3.4) indique la quantité d'agent de surface anionique (MBAS) contenue dans l'échantillon. La teneur en MBAS de l'échantillon est indiquée par :

$$\frac{\text{mg MBAS} \times 1\,000}{V} = \text{MBAS mg/l}$$

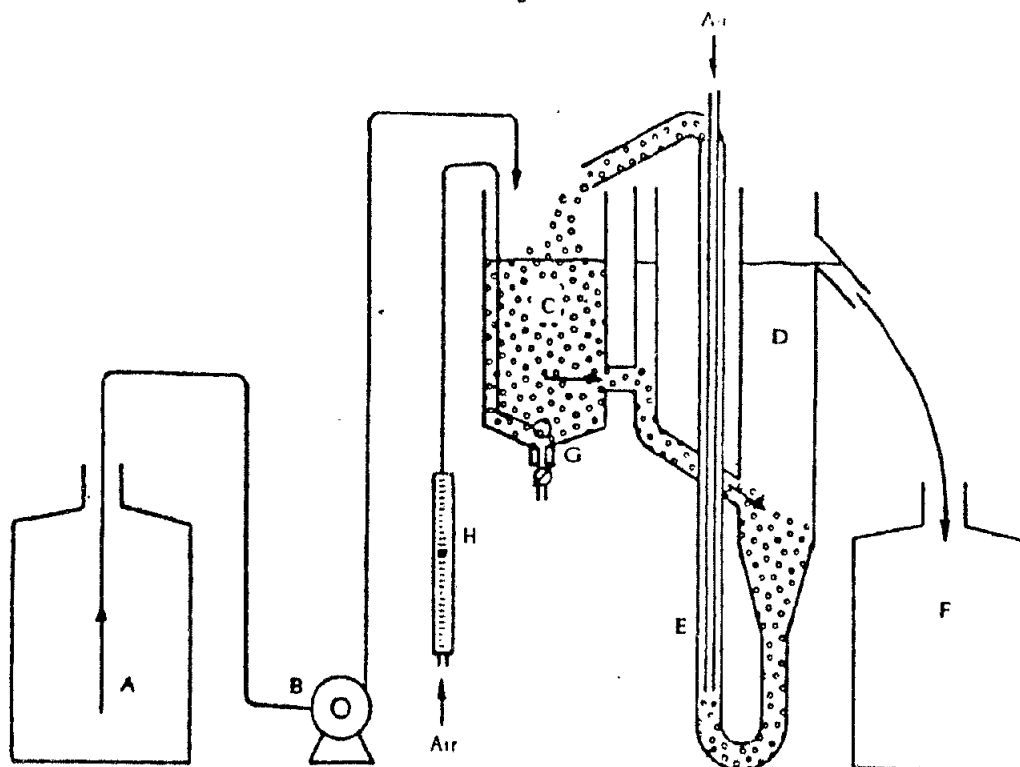
V = le volume en ml de l'échantillon utilisé.

Exprimer les résultats en dodécylbenzène sulfonate de sodium (PM 348).

3.6. Expression des résultats.

Exprimer les résultats en MBAS mg/l à 0,1 mg près.

Figure 1



A Réservoir de stockage

B Pompe doseuse

C Cuve d'aération (capacité 3 l)

D Décanteur

E Pompe à air comprimé

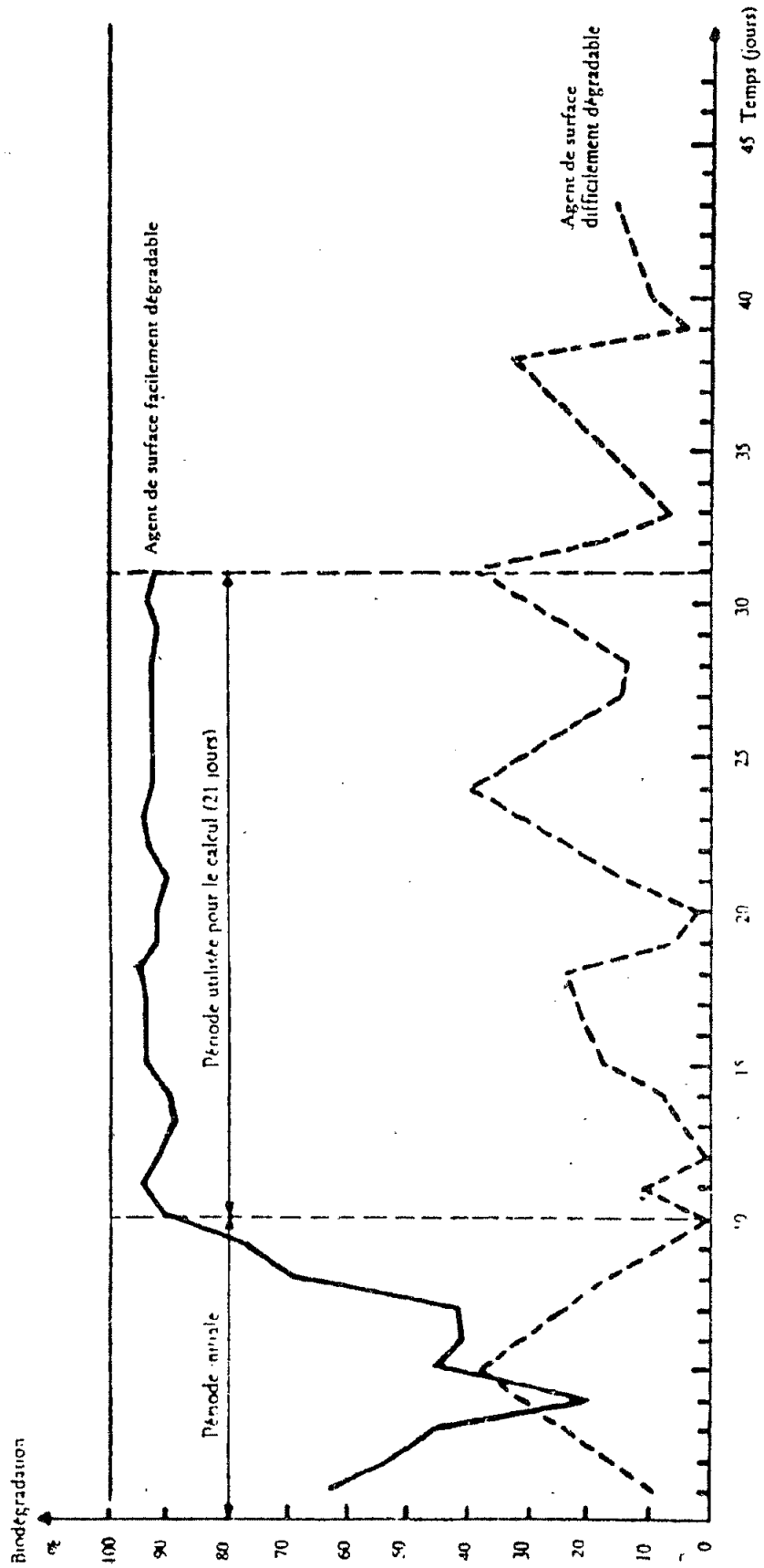
F Collecteur

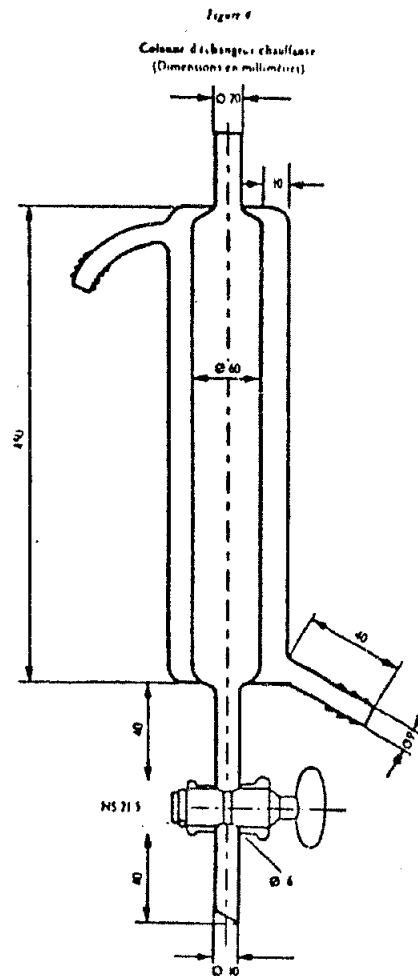
G Aérateur (verre fruité)

H Débitmètre à air

Figure 3

Calcul de la biodégradabilité — Test de confirmation





Vu pour être annexé à Notre arrêté du 25 octobre 1988.

BAUDOUIN

Par le Roi :
Le Premier Ministre,
W. MARTENS

Le Secrétaire d'Etat à l'Environnement,
Mme M. SMET

Bijlage II

BEPALING VAN DE BIOLOGISCHE AFBREEKBAARHEID
VAN NIET-IONISCHE OPPERVLAKTE-ACTIEVE STOFFEN

Referentiemethode (bevestigingstest)

HOOFDSTUK 1

- 1.1. **Definitie.**
In de zin van dit besluit wordt onder niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen verstaan oppervlakte-actieve stoffen die na het doorlopen van kationische en anionische ionenwisselaars overeenkomstig de in hoofdstuk 3 beschreven analysemethode als bismut-actieve stof (BiAS) worden bepaald.
- 1.2. **Benodigde uitrusting.**
De meetmethode is gebaseerd op het gebruik van een figuur 1 schematisch afgebeelde actief-slibinstallatie, die in figuur 2 meer gedetailleerd is weergegeven.
De apparatuur bestaat uit een voorraadvat A voor kunstmatig afvalwater, een doseerpomp B, een beluchtingsvat C, een decanteervat D, een luchtpomp E voor de terugvoer van het actieve slib en een vergaarbak F voor het opvangen van het behandelde afvalwater.
De vaten A en F moeten uit glas of geschikte kunststof bestaan en een inhoud van ten minste 24 liter hebben. Pomp B zorgt voor regelmatige toevoer van kunstmatig afvalwater naar het beluchtingsvat; bij normaal bedrijf moet dit vat 3 liter van het mengsel bevatten. Een plaatje G van gesinterd glas voor de beluchting hangt in vat C op de hoogte van de rand van de kegel van dit vat. De hoeveelheid via de beluchtingsinrichting ingeblazen lucht moet worden gecontroleerd met een debietmeter H.
- 1.3. **Kunstmatig afvalwater.**
Voor het uitvoeren van deze proef wordt gebruik gemaakt van kunstmatig afvalwater.
Los per liter leidingwater onderstaande stoffen op :
160 mg pepton;
110 mg vleesextract;
30 mg ureum ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$);
7 mg natriumchloride (NaCl);
4 mg calciumchloride ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
2 mg magnesiumsulfaat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$);
28 mg dikaliumwaterstoffosfaat (K_2HPO_4), en
 10 ± 1 mg BiAS.
De BiAS wordt geëxtraheerd uit het te onderzoeken produkt volgens de in hoofdstuk 2 aangegeven methode. Het kunstmatige afvalwater wordt elke dag vers bereid.
- 1.4. **Bereiding van de monsters.**
- 1.4.1. Niet-samengestelde oppervlakte-actieve stoffen kunnen als zodanig worden getest. Het gehalte aan BiAS moet worden bepaald voor het bereiden van het kunstmatige afvalwater (1.3).
- 1.4.2. Bij samengestelde produkten bepaalt men het gehalte aan BiAS, methyleenblauwactieve stof (MBAS) en zeep. Er wordt een alcoholextractie verricht en de BiAS wordt afgescheiden (zie hoofdstuk 2). Het BiAS-gehalte van het extract moet bekend zijn om het kunstmatige afvalwater te bereiden.
- 1.5. **Werking van de installatie.**
Eerst worden beluchtingsvat C en decanteervat D gevuld met kunstmatig afvalwater. Decanteervat D moet op zodanige hoogte zijn aangebracht dat het beluchtingsvat C 3 liter water bevat. Inoculatie geschiedt door inbrengen van 3 ml secundair afvalwater van goede kwaliteit, dat vers verzameld is uit een behandelingsinstallatie waar overwegend huishoudelijk afvalwater wordt behandeld. Dit afvalwater moet tussen monsterneming en toepassing onder aërobe omstandigheden worden bewaard. Vervolgens worden de beluchting G, de luchtpomp E en de doseerpomp B in werking gesteld. Het kunstmatige afvalwater moet met een debiet van 1 liter per uur in beluchtingsvat C stromen, zodat dit afvalwater gemiddeld 3 uur in het vat blijft.
De beluchting moet zodanig worden geregeld dat de inhoud van vat C constant in suspensie blijft en het gehalte aan opgeloste zuurstof ten minste 2 mg per liter bedraagt. Schuimvorming moet met geschikte middelen worden tegengegaan; er mogen evenwel geen antischuimmiddelen worden gebruikt die een remmende werking uitoefenen op het actieve slib of die BiAS bevatten. Pomp E moet zodanig worden ingesteld dat er in beluchtingsvat C een doorlopende en regelmatige terugvoer ontstaat van het uit het decanteervat komende actieve slib. Het zich ophopende slib boven in beluchtingsvat C, onder in decanteervat D of in het omloopcircuit moet ten minste eenmaal per dag weer in circulatie worden gebracht door roeren of ieder ander geschikt middel. Wanneer het slib niet bezinkt, kan het bezinken ervan worden bevorderd door eventueel herhaalde toevoeging van hoeveelheden van 2 ml van een 5 % ferri-chloride-oplossing.
Het uit decanteervat D stromende water wordt gedurende 24 uur in vat F opgevangen; na verloop van deze tijd wordt een monster getrokken na homogenisatie van het mengsel. Vat F moet dan zorgvuldig worden gereinigd.
- 1.6. **Controle op de meetinrichting.**
Het BiAS-gehalte (in mg/liter) van het kunstmatige afvalwater wordt onmiddellijk vóór het gebruik bepaald.
Het BiAS-gehalte (in mg/liter) van het uitstromende water dat gedurende 24 uur in vat F is opgevangen moet onmiddellijk na monsternaming op dezelfde wijze analytisch worden bepaald; anders moeten de monsters worden geconserveerd, bij voorkeur door bevriezing. De concentratie moet worden bepaald op 0,1 mg BiAS/liter nauwkeurig.
Ter controle van de goede werking van het proces wordt ten minste tweemaal per week het chemisch zuurstofverbruik (CZV) of de opgeloste organische koolstof (DOC) van het zich in vat F bevindende uitstromende door glasvezel gefiltreerde water en van het in vat A opgeslagen gefiltreerde kunstmatige afvalwater gemeten.

De afname van CZV of DOC moet zich stabiliseren wanneer de dagelijkse biologische afbraak van de BiAS min of meer regelmatig is, dat wil zeggen aan het eind van de in figuur 3 aangegeven beginperiode.

Het gehalte aan droge stof van het actieve slib in het beluchtingsvat moet tweemaal per week worden bepaald (in g/liter). Wanneer dit meer dan 2,5 g/liter bedraagt, moet de overmaat aan actief slib worden verwijderd.

De biologische afbraakproef wordt uitgevoerd bij kamertemperatuur; deze temperatuur moet gelijkmatig zijn en gehouden worden tussen 292 en 297 K (19-24 °C).

1.7. Berekening van de biologische afbraak.

Het biologische afbraakpercentage van de BiAS moet dagelijks worden berekend op basis van het BiAS-gehalte (uitgedrukt in mg/liter) van het kunstmatige afvalwater en van de overeenkomstige uitloop in vat F.

De aldus verkregen waarden moeten in een grafiek worden weergegeven als geïllustreerd in figuur 3. De biologische afbraak van de BiAS wordt berekend als het rekenkundig gemiddelde van de verkregen cijfers over eenentwintig dagen volgend op de beginperiode, gedurende welk tijdvak de biologische afbraak regelmatig moet zijn geweest en de installatie zonder onderbreking goed moet hebben gefunctioneerd. In geen geval mag de beginperiode meer dan zes weken bedragen.

De dagelijkse biologische afbraakwaarden dienen tot op 0,1 % nauwkeurig te worden berekend, maar het eindresultaat wordt op het laatste gehele getal afgerond.

In sommige gevallen kan de frequentie van de steekproeven worden verminderd. Voor de berekening van het gemiddelde gebruikt men echter de resultaten van ten minste 14 dagelijkse steekproeven, verdeeld over de periode van eenentwintig dagen volgend op de beginperiode.

HOOFDSTUK 2. — Voorbehandeling van de te onderzoeken produkten

2.1. Inleiding.

2.1.1. *Behandeling van de monsters.*

Op de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen en detergentia moet de volgende behandeling worden toegepast voordat de biologische afbreekbaarheid wordt bepaald door middel van de bevestigingsproef :

Produkten	Behandeling
Niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen	Geen
Detergentia	Alcoholextractie en vervolgens afscheiding van de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen door ionenwisseling

Het doel van de alcoholextractie is het verwijderen van de onoplosbare en anorganische bestanddelen uit de handelsprodukten; genoemde bestanddelen kunnen namelijk eventueel de biologische afbraakproef verstoren.

2.1.2. *Ionenwisselingsproces.*

Isolatie en afscheiding van de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen uit zeep en uit anionactieve en kationactieve oppervlakte-actieve stoffen, zijn voor een goede uitvoering van biologische afbraakproeven noodzakelijk.

Een en ander wordt bereikt door toepassing van een ionenwisselingstechniek waarbij gebruik wordt gemaakt van macroporeus wisselingshars en van geschikte elutiemiddelen voor gefractioneerde elutie. Zeep, anionactieve en niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen kunnen dus in één proces worden afgezonderd.

2.1.3. *Analytische controle.*

Na homogenisatie wordt het gehalte aan anionische en niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen in het detergenten bepaald overeenkomstig de MBAS- en BiAS-analysemethode. Het zeepgehalte wordt aan de hand van een geschikte analysemethode bepaald.

Deze analyse van het produkt is noodzakelijk om de hoeveelheden te berekenen, die nodig zijn om de fracties voor de biologische afbreekbaarheidsproeven te bereiden.

Kwantitatieve extractie is niet noodzakelijk, echter ten minste 80 % van de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen dient te worden geëxtraheerd. Doorgaans wordt 90 % en meer verkregen.

2.2. Principe.

Uit een homogeen monster (poeders, pasta's en vloeistoffen die vooraf gedroogd zijn) wordt een ethanolextract verkregen, dat de oppervlakte-actieve stoffen, zeep en andere in alcohol oplosbare bestanddelen van het monster van het detergenten bevat.

Het ethanolextract wordt drooggedampt en opgelost in een mengsel van isopropanol en water, waarna men de verkregen oplossing laat percoleren over een combinatie van een sterk zure kationenwisselaar en een macroporeuze anionenwisselaar, die tot 323 K (50 °C) wordt verhit. Deze temperatuur is noodzakelijk om precipitatie van vetzuren in zure media te voorkomen.

De niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen worden door verdamping van de uitlopende vloeistof verkregen.

Kationactieve oppervlakte-actieve stoffen die de afbreekbaarheidsproef en het analyseproces zouden kunnen verstoren, worden verwijderd door de kationenwisselaar, die op de anionenwisselaar wordt geplaatst.

- 2.3. Chemicaliën en apparatuur.
- 2.3.1. Gedeïoniseerd water.
- 2.3.2. Ethanol, 95 % (v/v) (C₂H₅OH) (toegestaan denatureringsmiddel : methylethylketon of methanol).
- 2.3.3. Mengsel van isopropanol en water (50/50 v/v) :
50 delen isopropanol (CH₃CHOH-CH₃) en 50 delen water (2.3.1).
- 2.3.4. Ammoniumbicarbonaat-oplossing (60/40 v/v) : 0,3 mol NH₄HCO₃ in 1 000 ml van een mengsel van isopropanol en water, bestaande uit 60 delen isopropanol en 40 delen water (2.3.1).
- 2.3.5. Kationenwisselaar (KAT), sterk zuur, bestand tegen alcohol (50-100 mesh).
- 2.3.6. Anionenwisselaar (AAT), macroporeus, Merck Lewatit MP 7080 (70-150 mesh) of equivalent.
- 2.3.7. Zoutzuur, 10 % HCl g/g.
- 2.3.8. Kolf met ronde bodem van, met een inhoud 2 000 ml, met ingeslepen stop en terugvloeikoeler.
- 2.3.9. Zuigfilter met een diameter van 90 mm (verwarmbaar) voor papieren filters.
- 2.3.10. Filtreerkolf van 2 000 ml.
- 2.3.11. Uitwisselingskolommen met verhittingsmantel en kraan :
binnenbuis : diameter 60 mm en hoogte 450 mm (figuur 4).
- 2.3.12. Waterbad.
- 2.3.13. Vacuümdroogoven
- 2.3.14. Thermostaat.
- 2.3.15. Rotatieverdamer.

2.4. Bereiding van het extract en afscheiding van de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen.

2.4.1. *Bereiding van het extract.*

De voor de afbreekbaarheidsproef benodigde hoeveelheid oppervlakte-actieve stoffen bedraagt ongeveer 25 g BiAS.

Bij de bereiding van extracten voor biologische afbreekbaarheidsproeven moet de te gebruiken hoeveelheid produkt tot een maximum van 2 000 g worden beperkt. Daarom kan het nodig zijn de bewerking tweemaal of vaker uit te voeren om de hoeveelheid te verkrijgen, die voor de afbreekbaarheidsproef voldoende is.

Uit ervaring is gebleken dat het aanbeveling verdient verscheidene kleine extracties uit te voeren in plaats van één grote.

2.4.2. *Isolatie van in alcohol oplosbare bestanddelen.*

Voeg aan 1 250 ml ethanol 250 g van het te onderzoeken detergens toe, breng dit mengsel aan de kook en laat het gedurende een uur onder terugloop al roerend koken. Laat de hete alcoholische oplossing lopen over een grove zuigfilter verhit tot 323 K (50 °C) en zuig vlug af. Was de kolf en zuigfilter met ongeveer 200 ml hete ethanol. Vang filtraat en filterwaswater op in een filtreerkolf.

Indien dikvloeibare of vloeibare produkten worden onderzocht, dient men zich ervan te vergewissen dat het monster niet meer dan 25 g anionische oppervlakte-actieve stoffen en 35 g zeep bevat. Damp dit gewogen monster volledig in. Los het residu op in 500 ml ethanol en ga te werk zoals hierboven is beschreven.

Voor poeders met een laag schudgewicht (< 300 g/liter) wordt aanbevolen een ethanol/monster verhouding van 20 : 1 te gebruiken.

Damp het ethanolbevattend filtraat volledig in, bij voorkeur met een rotatieverdamer. Herhaal een en ander indien een grotere hoeveelheid extract nodig is. Los het gehele residu op in 5 000 ml van een mengsel van isopropanol en water.

2.4.3. *Voorbereiding van de ionenwisselingskolommen.*

Kationenwisselingskolom.

Breng 600 ml kationenwisselingshars (2.3.5) in een bekersglas van 3 000 ml en dek af door toevoeging van 2 000 ml zoutzuur (2.3.7). Laat dit ten minste twee uren staan, waarbij af en toe wordt geroerd. Giet het zuur af en breng het hars met gedeïoniseerd water in de kolom (2.3.11) over. De kolom moet een stop van glaswol bevatten. Was de kolom met gedeïoniseerd water met een snelheid van 10-30 ml/min. tot het eluaat chloridevrij is. Verplaats het water met 2 000 ml van het mengsel van isopropanol en water (2.3.3) in een tempo van 10-30 ml/min. De wisselingskolom is thans gebruiksklaar.

Anionenwisselingskolom.

Breng 600 ml anionenwisselingshars (2.3.6) in een bekersglas en dek af door toevoeging van 2 000 ml gedeïoniseerd water. Laat de wisselaar gedurende ten minste twee uren opzwellen. Breng het hars met gedeïoniseerd water in de kolom over. De kolom moet een stop van glaswol bevatten.

Was de kolom met 0,3 M ammoniumbicarbonaatoplossing (2.3.4) tot deze chloridevrij is. Hiervoor is ongeveer 5 000 ml oplossing nodig. Was opnieuw met 2 000 ml gedeïoniseerd water. Verplaats het water met 2 000 ml van het mengsel van isopropanol en water (2.3.3) met een snelheid van 10-30 ml/min. De wisselingskolom vertoont thans de OH-vorm en is gebruiksklaar.

2.4.4. *Ionenwisselingsproces.*

Verbind de wisselingskolommen op een zodanige wijze dat de kationenwisselingskolom zich op de anionenwisselingskolom bevindt. Verhit de wisselingskolommen tot 323 K (50 °C), waarbij gebruik wordt gemaakt van een thermostaat. Verhit 5 000 ml van de sub 2.4.2 verkregen oplossing tot 333 K (60 °C) en laat de oplossing door de wisselaarscombinatie lopen met een snelheid van 20 ml/min. Was de kolommen met 1 000 ml van het hete mengsel van isopropanol en water (2.3.3).

Vang, om de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen te verkrijgen, het eluaat en het waswater op en damp deze volledig in, bij voorkeur met een rotatieverdamer. Het residu bevat de BiAS. Voeg gedeïoniseerd water toe totdat een bepaald volume is bereikt en bepaal op de sub 3.3. beschreven wijze het BiAS-gehalte in een aliquot deel. De oplossing wordt gebruikt als standaardoplossing van de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen voor de biologische afbreekbaarheidsproef. De oplossing dient te worden bewaard bij een temperatuur van minder dan 278 K (5 °C).

2.4.5. *Regeneratie van de wisselingsharsen.*

De kationenwisselaar wordt na gebruik weggegooid.

Het anionenwisselingshars wordt geregenereerd door ongeveer 5 000-6 000 ml ammoniumbicarbonaat-oplossing (2.3.4) door de kolom te laten lopen met ongeveer 10 ml/min., totdat het eluaat vrij is van anion-actieve oppervlakte-actieve stoffen (methyleenblauwttest). Laat vervolgens 2 000 ml van het mengsel van isopropanol en water (2.3.3) door de anionenwisselaar lopen om door te spoelen. De anionenwisselaar is dan opnieuw gebruiksklaar.

HOOFDSTUK 3

Bepaling van de niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen bij de proef inzake de biologische afbreekbaarheid

3.1. Principe

De oppervlakte-actieve stoffen worden door gasstripping geconcentreerd en geïsoleerd. Bij het gebruikte monster moet de hoeveelheid niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen gelegen zijn tussen 250 en 800 µg.

De gestripte oppervlakte-actieve stof wordt in ethylacetaat opgelost.

Na fase-afscheiding en verdamping van het oplosmiddel wordt de niet-ionische oppervlakte-actieve stof in een oplossing in water geprecipiteerd door toevoeging van gewijzigd Dragendorff-reagens (K₂BiJ₄ + BaCl₂ + ijsazijn).

Het precipitaat wordt gefiltreerd, met ijsazijn gewassen en in een ammoniumtartraatoplossing opgelost. Het bismut in de oplossing wordt potentiometrisch getitreerd met een pyrolidinedithiocarbamaatoplossing (pH 4-5), waarbij gebruik wordt gemaakt van een blank platina indicatorelektrode en een calomel of zilver/zilverchloride referentie-elektrode.

De methode is van toepassing op niet-ionische oppervlakte-actieve stoffen die 6-30 alkeenoxyldegroepen bevatten:

Het resultaat van de titratie wordt met de empirische factor 54 vermenigvuldigd voor omzetting in de referentiestof — nonylfenol, gecondenseerd met 10 mol etheenoxylde (NP 10).

3.2. Reagentia en apparatuur.

Reagentia moeten worden aangelengd met gedeïoniseerd water.

3.2.1. Zuiver ethylacetaat, vers gedestilleerd.

3.2.2. Natriumbicarbonaat (NaHCO₃) p.a.

3.2.3. Verdund zoutzuur (HCl) (20 ml zoutzuur p.a., geconcentreerd, verdund tot 1 000 ml met water).

3.2.4. Methanol p.a., vers gedestilleerd en in een glazen fles bewaard.

3.2.5. Broomkresolpurper, 0,1 g in 100 ml methanol.

3.2.6. Neerslagmiddel : het neerslagmiddel is een mengsel van twee volumedelen oplossing A en een volume-deel oplossing B. Het mengsel wordt in een bruine fles bewaard en kan tot een week na de vermenging worden gebruikt.

3.2.6.1. Oplossing A.

Los 1,7 g basisch bismutnitraat p.a. (BiONO₃ · H₂O) in 20 ml ijsazijn op en vul aan met water tot 100 ml. Los vervolgens 65 g kaliumjodide p.a. in 200 ml water op. Vermeng deze twee oplossingen in een maatkolf met een inhoud van 1 000 ml, voeg aan het mengsel 200 ml ijsazijn (3.2.7) toe en vul aan met water tot 1 000 ml.

3.2.6.2. Oplossing B.

Los 290 g bariumchloride (BaCl₂ · 2H₂O) p.a. op in 1 000 ml water.

3.2.7. Ijsazijn 99-100 % (lagere concentraties zijn ongeschikt).

3.2.8. Ammoniumtartraatoplossing : vermeng 12,4 g wijnsteen zuur p.a. en 12,4 ml ammoniumoplossing p.a. (d = 0,910 g/ml) en vul tot 1 000 ml aan met water (of gebruik een equivalente hoeveelheid ammoniumtartraat p.a.).

3.2.9. Verdunde ammoniakoplossing : 40 ml ammoniakoplossing p.a. (d = 0,910 g/ml) die met water wordt verdund tot 1 000 ml.

3.2.10. Acetaatbuffer : los in een bekerglas 40 g vast natriumhydroxyde p.a. in 500 ml water op en laat afkoelen. Voeg hieraan 120 ml ijsazijn (3.2.7) toe. Meng grondig, laat afkoelen, giet over in een 1 000 ml-maatkolf en vul tot de streep aan met water.

3.2.11. Pyrolidinedithiocarbamaatoplossing (hierna te noemen « carbaatoplossing ») : los 103 mg natriumpyrolidinedithiocarbamaat (C₄H₈NNaS₂ · 2H₂O) in ongeveer 500 ml water op, voeg er 10 ml n-amylalcohol p.a. en 0,5 g NaHCO₃ p.a. aan toe en vul aan tot 1 000 ml met water.

3.2.12. Kopersulfaatoplossing (voor standaardisatie 3.2.11).

Voorraadoplossing.

Meng 1 249 g kopersulfaat p.a. (CuSO₄ · 5H₂O) met 50 ml 0,5 M zwavelzuur en vul aan tot 1 000 ml met water.

Standaardoplossing.

Meng 50 ml voorraadoplossing met 10 ml 0,5 M H₂SO₄ en vul aan tot 1 000 ml met water.

3.2.13. Natriumchloride p.a.

3.2.14. Gasstripper (zie figuur 5). De diameter van de schijf van gesinterd materiaal moet gelijk zijn aan de binnendiameter van de cylinder.

3.2.15. Scheitrechter met een inhoud van 250 ml.

3.2.16. Magnetroerder met magneet van 25-30 mm.

- 3.2.17. Goochkroes, diameter van de geperforeerde bodem 25 mm, type G 4.
- 3.2.18. Rond filtreerpapier van glasvezel, diameter 27 mm met vezeldiameter 0,5-1,5 µm.
- 3.2.19. Twee filtreerkolven met verbindingsstuk en rubberhals, met een inhoud van respectievelijk 500 ml en 250 ml.
- 3.2.20. Registrerende potentiometer met een blank-platina-indicatorelektrode en een calomel- of zilver/zilverchloridereferentie-elektrode met een meetgebied van 250 mV en met een automatische buret met een inhoud van 20-25 ml, of soortgelijke, met de hand bediende apparatuur.
- 3.3. Werkwijze.
- 3.3.1. *Concentratie en afscheiding van de oppervlakte-actieve stof.*
 Filtreer het waterige monster over kwalitatief filtreerpapier. Gooi de eerste 100 ml van het filtraat weg. Breng in de stripper, na spoeling met ethylacetaat, een zodanig afgemeten hoeveelheid van het monster dat dit 250-800 µg niet-ionische oppervlakte-actieve stof bevat.
 Voeg hieraan, om de afscheiding te bevorderen, 100 g natriumchloride en 5 g natriumbicarbonaat toe. Indien het volume van het monster meer dan 500 ml bedraagt, moeten deze zouten in vaste vorm aan de stripper worden toegevoegd en een en ander worden opgelost door stikstof of lucht door het apparaat te laten stromen.
 Indien gebruik wordt gemaakt van een kleiner monster moeten de zouten in 400 ml water worden opgelost en vervolgens aan de stripper worden toegevoegd.
 Voeg water toe om het niveau tot aan de bovenste afsluiter te brengen.
 Voeg voorzichtig een laag van 100 ml ethylacetaat toe boven het water. Vul de wasfles in de gasleiding (stikstof of lucht) voor tweederde met ethylacetaat.
 Laat een gasstroom van 30-60 liter/uur door de stripper gaan; hierbij verdient het aanbeveling een rotameter in te schakelen. De doorstromingsnelheid moet in het begin geleidelijk worden opgevoerd. De gastoevoersnelheid moet zodanig zijn geregeld dat de fasen merkbaar gescheiden blijven, ten einde vermenging van de fasen en oplossing van het ethylacetaat in het water zo klein mogelijk te houden. Sluit de gasstroom na 5 minuten.
 Indien er een vermindering van het volume van de organische fase door oplossing in water met meer dan 20 % plaatsvindt, moet het verwijderen worden herhaald met een zwakkere gasstroom.
 Laat de organische fase in een scheitrechter aflopen. Breng het water in de scheitrechter, dat afkomstig is van de waterige fase — dit mag slechts een hoeveelheid van enkele ml zijn — terug in de stripper. Filtreer de ethylacetaatfase over droog kwalitatief filtreerpapier in een 250 ml-bekerglas.
 Breng nog 100 ml ethylacetaat in de stripper en laat er opnieuw gedurende 5 minuten stikstof of lucht doorstromen. Laat de organische fase afvloeien in de scheitrechter waarvan gebruik werd gemaakt bij de eerste scheiding, werp de waterige fase weg en laat de organische fase door dezelfde filter stromen als de eerste ethylacetaathoeveelheid. Spoel zowel scheitrechter als filter uit met 20 ml ethylacetaat.
 Damp het ethylacetaatextract volledig in op een waterbad (zuurkast). Laat een lichte luchtstroom over het oppervlak van de oplossing gaan om de verdamping te bespoedigen.
- 3.3.2. *Precipitatie en filtratie.*
 Los het droge residu van 3.3.1 in 5 ml methanol op, voeg 40 ml water en 0,5 ml verdunde HCl (3.2.3) toe en roer het mengsel om met een magnetische roerder.
 Voeg aan deze oplossing 30 ml neerslagmiddel (3.2.6) uit een maatcilinder toe. Het precipitaat vormt zich na herhaald roeren. Laat het mengsel na 10 minuten roeren ten minste 5 minuten staan.
 Filtreer het mengsel door een Goochkroes, waarvan de bodem bedekt is met filtreerpapier van glasvezel. Was eerst de filter onder afzuiging met ongeveer 2 ml ijsazijn. Was vervolgens het bekglas, de magneet en de kroes grondig met ijsazijn, waarvan men ongeveer 40-50 ml nodig heeft. Het is niet noodzakelijk het precipitaat dat aan de wanden van het bekglas kleeft kwantitatief in de filter over te brengen, omdat de oplossing van het precipitaat voor de titratie weer in het bij de precipitatie gebruikte bekglas wordt overgebracht en het resterende precipitaat daarna opgelost zal worden.
- 3.3.3. *Oplossing van het precipitaat.*
 Los het precipitaat op in de filterkroes door toevoeging van de hete (ongeveer 353 K, 80 °C) ammoniumtartraatoplossing (3.2.8) in drie gedeelten van elk 10 ml. Laat elk gedeelte enkele minuten in de kroes staan alvorens het door de filter wordt afgezogen in fles.
 Breng de inhoud van de filtreerkolf in het bekglas waarvan gebruik werd gemaakt bij de precipitatie. Spoel de wanden van het bekglas af met nogmaals 20 ml tartraatoplossing ten einde de rest van het precipitaat op te lossen.
 Was de kroes, het verbindingsstuk en de filtreerkolf zorgvuldig met 150-200 ml water en breng het spoelwater terug in het bekglas waarvan bij de precipitatie gebruik werd gemaakt.
- 3.3.4. *Titratie.*
 Roer de oplossing om met een magnetische roerinrichting (3.2.16), voeg er enkele druppels broomkresolpurper (3.2.5) aan toe en vervolgens de verdunde ammoniakoplossing (3.2.9) totdat de oplossing een paarse kleur vertoont (de oplossing is zwak zuur door het azijnzuurresidu waarvan gebruik werd gemaakt bij het uitspoelen).
 Voeg vervolgens 10 ml acetaatbuffer (3.2.10) toe, dompel de elektroden in de oplossing en titreer potentiometrisch met standaard carbaatoplossing (3.2.11), waarbij het uiteinde van de buret in de oplossing is ondergedompeld. De titreersnelheid mag niet meer bedragen dan 2 ml/min.
 Het eindpunt wordt gevormd door het snijpunt van de raaklijnen aan de twee takken van de potentiaal-kromme. Soms vervlakt de buiging in de potentiaalkromme; dit kan worden voorkomen door zorgvuldige reiniging van de platina-elektrode (schuren met amarilpapier).
- 3.3.5. *Blanco bepalingen.*
 Pas tegelijkertijd de gehele procesgang toe op een blanco bepaling met 5 ml methanol en 40 ml water, overeenkomstig de instructies die sub 3.3.2 zijn gegeven. Bij titratie moet men beneden de 1 ml blijven omdat anders de zuiverheid van de reagentia (3.2.3 — 3.2.7 — 3.2.8 — 3.2.9 — 3.2.10), met name het gehalte ervan aan zware metalen, verdacht is en dan moeten zij worden vervangen. Met deze blanco bepaling dient bij de berekening van de resultaten rekening te worden gehouden.

3.3.6. *Bepaling van de factor van de carbaatoplossing.*

Bepaal dagelijks voor gebruik de factor van de carbaatoplossing. Titreer daarvoor 10 ml van de standaard kopersulfaatoplossing (3.2.12) met carbaatoplossing na toevoeging van 100 ml water en 10 ml acetaatbuffer (3.2.10). Indien de gebruikte hoeveelheid « a » ml is, dan is :

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

Alle resultaten van de titraties moeten met deze factor worden vermenigvuldigd.

3.4. *Berekening van de resultaten.*

Aangezien elke niet-ionische oppervlakte-actieve stof een eigen omrekeningsfactor heeft, die wordt bepaald door zijn samenstelling, in het bijzonder de lengte van de alkeenoxylketen, worden de berekeningen van de concentratie van de niet-ionische stoffen gereleerd aan een referentiestof. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een nonylfenol met 10 etheenoxyl-eenheden (NP 10), waarvan de omrekeningsfactor 0,054 bedraagt. Met behulp van deze factor wordt de hoeveelheid in het monster aanwezige oppervlakte-actieve stof gevonden en in mg NP 10 equivalent uitgedrukt aan de hand van de volgende formule :

$0,054 f (b-c) = \text{mg niet-ionische oppervlakte-actieve stof als NP 10.}$

Hierin is : b = het volume carbaatoplossing gebruikt voor het monster (ml);

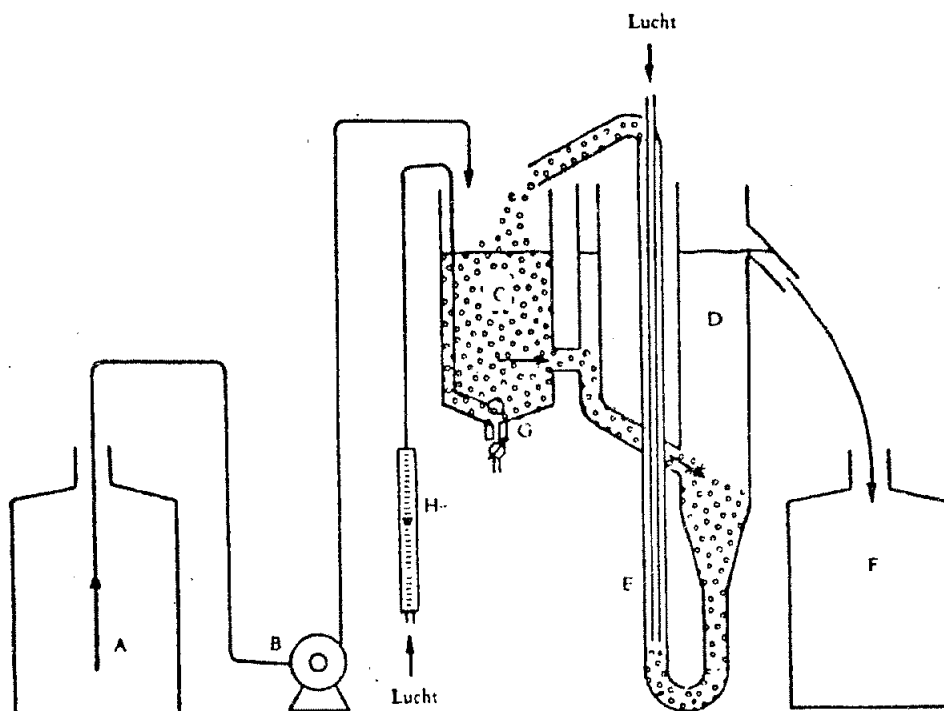
c = het volume carbaatoplossing gebruikt voor de blanco bepaling (ml);

f = de factor van de carbaatoplossing.

3.5. *Weergave van de resultaten.*

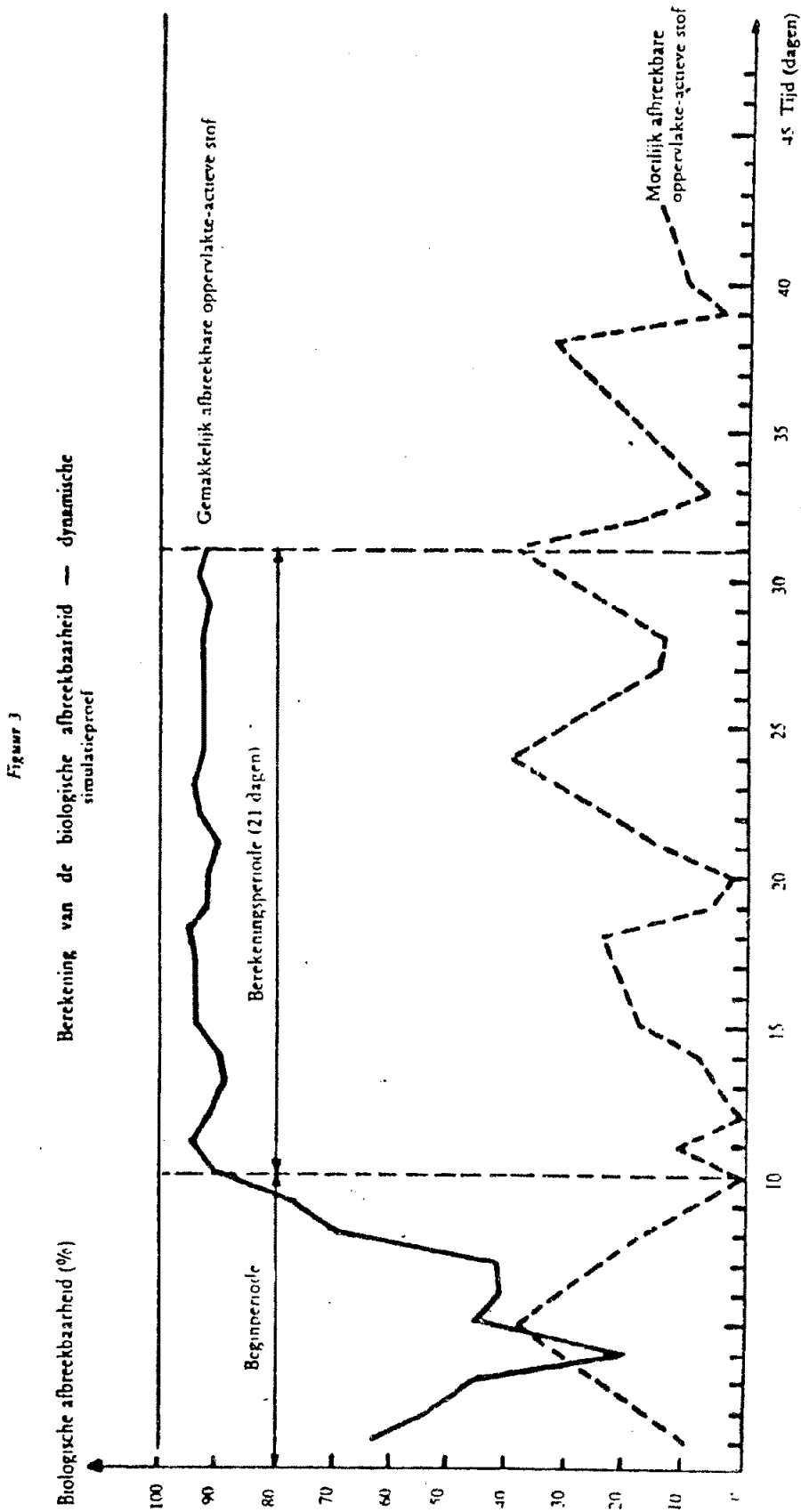
Geef de resultaten weer in mg/liter als NP 10 en wel tot op 0,1 nauwkeurig.

Figuur 1



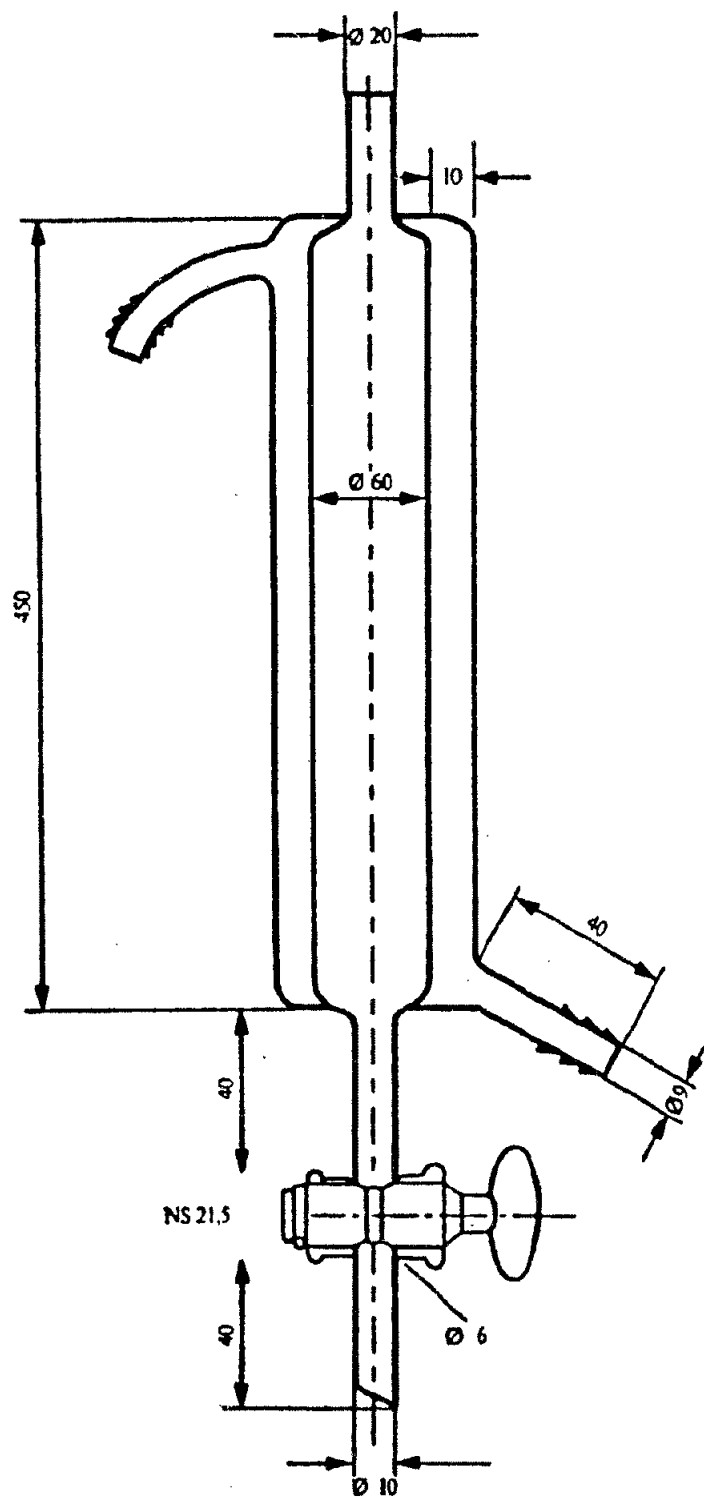
A Voorraadvat
B Doseerpomp
C Beluchingsvat (capaciteit 3 liter)
D Decantervat

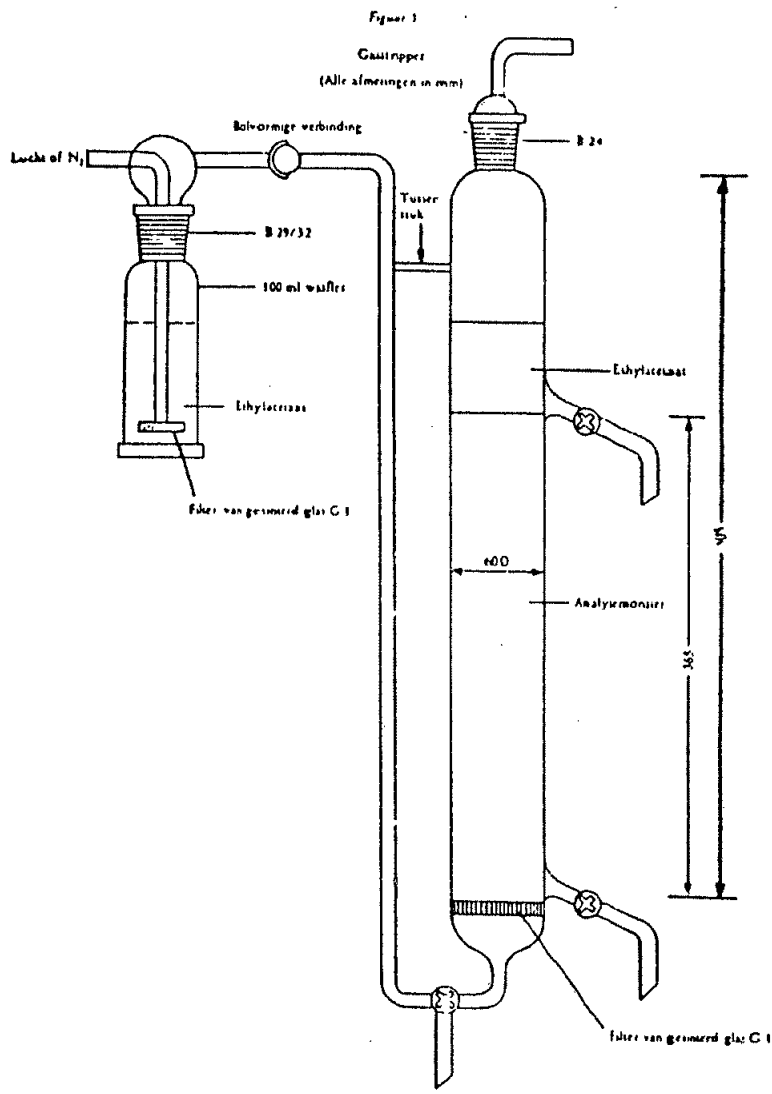
E Persluchtpomp
F Vergaarbak
G Luchtregeelorgaan
H Luchtdebietmeter



Figuur 1

Verwarme uitwisselkolom
(Alle afmetingen in mm)





Gezien om te worden gevoegd bij Ons Besluit van 25 oktober 1988

BOUDEWIJN

Van Koningswege :
De Eerste Minister,
W. MARTENS

De Staatssecretaris voor Leefmilieu,
Mevr. M. SMET

Annexe II

DETERMINATION DE LA BIODEGRADABILITE DES AGENTS DE SURFACE NON IONIQUES

Méthode de référence (test de confirmation)

CHAPITRE 1er

1.1. Définition.

Aux termes du présent arrêté, les agents de surface non ioniques sont les agents qui, après passage sur échangeurs d'ions cationiques et anioniques, sont déterminés comme substance active au bismuth (BIAS) suivant la méthode d'analyse décrite au chapitre 3.

1.2. Equipement nécessaire.

La méthode de mesure est fondée sur l'emploi d'une installation à boue activée, schématisée sur la figure 1 et représentée de manière plus détaillée sur la figure 2.

L'équipement se compose d'un récipient *A*, destiné à stocker les eaux résiduaires synthétiques, d'une pompe doseuse *B*, d'une cuve d'aération *C*, d'un décanteur *D*, d'une pompe à air comprimé *E* pour recycler la boue activée et d'un récipient *F* destiné à recueillir l'effluent traité.

Les récipients *A* et *F* doivent être en verre ou en matière plastique appropriée et contenir au moins 24 l. La pompe *B* doit assurer une alimentation régulière de la cuve d'aération en effluent synthétique; en cours de fonctionnement normal, cette cuve doit contenir 3 l du mélange. Un verre fritté *G* destiné à l'aération est suspendu dans la cuve *C* au sommet du cône intérieur de cette cuve. La quantité d'air insufflée par le dispositif d'aération doit être contrôlée par un débitmètre *H*.

1.3. Effluent synthétique.

Pour effectuer cet essai, on se sert d'un effluent synthétique.

Dissoudre par litre d'eau du robinet :

- 160 mg de peptone;
- 110 mg d'extrait de viande;
- 30 mg d'urée [CO (NH₂)₂];
- 7 mg de chlorure de sodium (NaCl);
- 4 mg de chlorure de calcium (CaCl₂ · 2H₂O);
- 2 mg de sulfate de magnésium (MgSO₄ · 7H₂O);
- 28 mg de monohydrogénophosphate de potassium (K₂HPO₄);
- 10 ± 1 mg de BIAS.

On extrait le BIAS du produit faisant l'objet de l'essai par la méthode indiquée au chapitre 2. L'effluent synthétique est préparé chaque jour.

1.4. Préparation des échantillons.

1.4.1. Les agents de surface non formulés peuvent être essayés tels quels. La teneur en BIAS doit être dosée afin de préparer l'effluent synthétique (1.3).

1.4.2. Dans le cas de formulations, on procède à la détermination des teneurs en BIAS, MSAS et en savon. On procède à une extraction alcoolique et à une séparation de la BIAS (voir chapitre 2). Il faut connaître la teneur en BIAS de l'extrait pour préparer l'effluent synthétique.

1.5. Fonctionnement de l'installation.

Au départ, on remplit la cuve d'aération *C* et le décanteur *D* avec de l'effluent synthétique. Le décanteur *D* doit être fixé à une hauteur telle que la cuve d'aération *C* contienne 3 l.

On introduit 3 ml d'un effluent secondaire de bonne qualité, fraîchement prélevé dans une installation de traitements d'eaux résiduaires, essentiellement domestiques. L'effluent doit être maintenu dans des conditions aérobies pendant la période de prise entre l'échantillonnage et l'utilisation. On met ensuite en marche le dispositif d'aération *G*, la pompe à air comprimé *E* et la pompe doseuse *B*. L'effluent synthétique doit passer dans la cuve d'aération *C* au débit horaire de 1 l, ce qui donne un temps moyen de rétention de trois heures.

Il faut régler le rythme d'aération de telle façon que le contenu de la cuve *C* reste constamment en suspension et que la teneur en oxygène dissous soit au minimum de 2 mg/l. La formation de mousse doit être empêchée par des moyens appropriés. On n'utilisera cependant pas d'agents antimousse qui ont une action inhibitrice sur la boue activée ou qui contiennent du BIAS. La pompe *E* doit être réglée de telle sorte qu'il y ait dans la cuve d'aération *C* un recyclage continu et régulier de la boue activée issue du décanteur. La boue qui s'est accumulée au sommet de la cuve d'aération *C*, au fond du décanteur *D* ou dans le circuit de circulation, doit être remise en circulation au moins une fois par jour par broyage ou tout autre moyen approprié. Quand la boue ne décante pas, on peut favoriser la décantation par addition, répétée si nécessaire, de portions de 2 ml d'une solution à 5 % de chlorure ferrique.

L'eau sortant du décanteur *D* est recueilli dans la cuve *F* pendant vingt-quatre heures; au bout de ce temps, on prélève un échantillon après avoir procédé à l'homogénéisation du mélange. La cuve *F* doit alors être nettoyée soigneusement.

1.6. Contrôle du dispositif de mesure.

La teneur en BIAS (en mg/l) de l'effluent synthétique est déterminée immédiatement avant usage.

La teneur en BIAS (en mg/l) de l'eau résiduaire collectée pendant vingt-quatre heures dans la cuve *F* doit être déterminée analytiquement par la même méthode, immédiatement après le prélèvement, sinon les échantillons sont conservés, de préférence par congélation. La concentration doit être déterminée à 0,1 mg BIAS/l près.

Pour vérifier la bonne marche de l'opération, on mesure au moins deux fois par semaine la demande chimique en oxygène (DCO) ou le carbone organique dissous (COD) de l'effluent filtré sur fibre de verre, accumulé dans la cuve F et de l'effluent synthétique filtré qui est stocké dans la cuve A.

La diminution de la DCO ou du COD doit se stabiliser lorsque la biodégradation journalière du BiAS est à peu près régulière, c'est-à-dire à la fin de la période initiale indiquée sur la figure 3.

La teneur en matières sèches minérales de la boue activée contenue dans la cuve d'aération doit être déterminée deux fois par semaine en g/l. Si elle dépasse 2,5 g/l, il faut éliminer l'excès de boue activée.

L'essai de biodégradation est effectué à la température ambiante; cette température doit être régulière et maintenue entre 292 et 297 K (19-24 °C).

1.7. Calcul de la biodégradation.

Le pourcentage de biodégradation de la BiAS doit être calculé quotidiennement à partir de la teneur en BiAS exprimée en mg/l de l'effluent synthétique et de l'eau résiduaire correspondante recueillie dans la cuve F.

Les valeurs ainsi obtenues doivent être représentées graphiquement, comme l'indique la figure 3.

La biodégradabilité du BiAS est calculée en prenant la moyenne arithmétique des valeurs obtenues au cours des vingt et un jours suivant la période initiale, délai pendant lequel la biodégradation doit avoir été régulière et l'installation doit avoir fonctionné sans aucune perturbation. En aucun cas, la durée de la période initiale ne dépassera six semaines.

Les valeurs quotidiennes de la biodégradation doivent être calculées à 0,1 % près, mais le résultat final est déterminé au nombre entier près.

Dans certains cas, la fréquence des prélèvements peut être diminuée mais, pour calculer la moyenne, on utilisera les résultats d'au moins 14 prélèvements journaliers répartis sur la période de vingt et un jours qui suivent la période initiale.

CHAPITRE 2. — Traitement préliminaire des produits à examiner

2.1. Notes préliminaires.

2.1.1. Traitement des échantillons

Le traitement des agents de surface non ioniques et des détergents préalablement à la détermination de la biodégradation par le test de confirmation est le suivant :

Produits	Traitement
Agents de surface non ioniques	Néant
Détergents	Extraction alcoolique suivie de la séparation des agents de surface non ioniques par échange d'ions

Le but de l'extraction alcoolique est d'éliminer des produits commercialisés, les composants insolubles et inorganiques qui peuvent, le cas échéant, perturber le test de biodégradation.

2.1.2. Procédé d'échange d'ions.

Il est nécessaire, pour l'exactitude des tests de biodégradation, d'isoler et de séparer les agents de surface non ioniques du savon et des agents de surface anioniques et cationiques.

Ce résultat est obtenu grâce à l'application d'une technique d'échange d'ions utilisant une résine échangeuse macroporeuse et un agent d'éluion approprié permettant l'éluion fractionnée. Le savon et les agents de surface anioniques et non ioniques se trouvent ainsi isolés en une seule opération.

2.1.3. Contrôle analytique.

Après homogénéisation, on détermine la teneur en agents de surface anioniques et non ioniques du détergent suivant la méthode d'analyse à la MBAS et à la BiAS. La teneur en savon est déterminée selon une méthode appropriée.

Cette analyse du produit est nécessaire pour le calcul des quantités requises pour la préparation des fractions destinées aux essais de biodégradation.

Une extraction quantitative ne s'impose pas; toutefois, on extraira au moins 80 % des agents de surface non ioniques. Habituellement, on en obtient 90 % et plus.

2.2. Principe.

A partir d'un échantillon homogène (poudres, pâtes et liquides préalablement desséchés), on obtient un extrait par l'éthanol qui contient les agents de surface, le savon et d'autres composants solubles dans l'alcool, de l'échantillon de détergent.

L'extrait par l'éthanol est évaporé jusqu'à dessiccation complète et dissous dans un mélange isopropanol/eau; on fait passer la solution ainsi obtenue à travers un dispositif mixte échange de cations fortement acide/échange d'anions macroporeux, porté à la température de 323 K (50 °C). Cette température élevée doit empêcher la précipitation des acides gras en milieu acide.

Les agents de surface non ioniques sont extraits de l'effluent par évaporation. Les agents de surface cationiques, susceptibles de perturber le test de biodégradation et la méthode analytique, sont éliminés par l'échangeur de cations placé au-dessus de l'échangeur d'anions.

2.3. Produits chimiques et appareillage.

2.3.1. Eau désionisée.

2.3.2. Ethanol, 95 % (v/v) C₂H₅OH (dénaturants admis : méthyléthylcétone ou méthanol).

2.3.3. Mélange isopropanol/eau (50/50 v/v). 50 parties d'isopropanol (CH₃CHOH-CH₃); 50 parties d'eau (2.3.1).

- 2.3.4. Solution de bicarbonate d'ammonium (60/40 v/v); 0,3 mol de NH_4HCO_3 dans 1 000 ml d'un mélange isopropanol/eau constitué de 60 parties d'isopropanol et de 40 parties d'eau (2.3.1).
- 2.3.5. Echangeur de cation (KAT), fortement acide, résistant à l'alcool (50-100 mesh).
- 2.3.6. Echangeur d'anions (AAT), macroporeux, Merck Lewatit MP 7080 (70-150 mesh) ou équivalent.
- 2.3.7. Acide chlorhydrique, 10 % HCl (p/p).
- 2.3.8. Ballon à fond rond de 2 000 ml avec rodage conique et condenseur à reflux.
- 2.3.9. Entonnoir filtrant de 90 mm de diamètre (pouvant être chauffé) pour filtres en papier.
- 2.3.10. Fiole à vide de 2 000 ml.
- 2.3.11. Colonnes d'échangeurs à enveloppe chauffante et robinet; tube intérieur de 60 mm de diamètre et de 450 mm de hauteur (figure 4).
- 2.3.12. Bain-marie.
- 2.3.13. Etuve de séchage à vide.
- 2.3.14. Thermostat.
- 2.3.15. Evaporateur rotatif.
- 2.4. Préparation de l'extrait et séparation des agents non ioniques.
- 2.4.1. *Préparation de l'extrait.*
 La quantité d'agents de surface nécessaire pour l'essai de biodégradation est d'environ 25 g BiAS.
 Lors de la préparation des extraits pour les essais de biodégradation, la quantité de produit utilisée sera limitée à 2 000 g au maximum. De ce fait, il pourra être nécessaire de recommencer l'opération plusieurs fois afin d'obtenir une quantité suffisante pour l'essai de biodégradation.
 L'expérience a montré qu'une série d'extractions limitées était préférable à l'extraction de grandes quantités.
- 2.4.2. *Isolément des composants solubles dans l'alcool.*
 Ajouter 250 g du détergent à analyser à 1 250 ml d'éthanol et porter le mélange à ébullition puis le soumettre à reflux pendant une heure, en agitant. Filtrer la solution alcoolique chaude dans un entonnoir filtrant à larges pores, porté à la température de 323 K (50 °C) et aspirer fortement. Laver la fiole et l'entonnoir filtrant avec environ 200 ml d'éthanol chaud. Recueillir le filtrat et le lavage du filtre dans une fiole à vide.
 Lorsque les produits à analyser sont des pâtes ou des liquides, s'assurer que l'échantillon ne contient pas plus de 25 g d'agents de surface anioniques et de 35 g de savon. Evaporer cet échantillon pesé jusqu'à dessiccation complète. Dissoudre le résidu dans 500 ml d'éthanol et procéder comme ci-dessus.
 Dans le cas de poudres de faible densité apparente (< 300 g/l), il est recommandé d'augmenter la proportion d'éthanol dans le rapport 20/1.
 Evaporer le filtrat d'éthanol jusqu'à dessiccation complète, de préférence au moyen d'un évaporateur rotatif. Répéter l'opération si une plus grande quantité d'extrait est nécessaire. Dissoudre la totalité des résidus dans 5 000 ml d'un mélange isopropanol/eau.
- 2.4.3. *Préparation des colonnes d'échangeurs d'ions.*
 Colonne d'échangeurs de cations.
 Placer 600 ml de résine échangeuse de cations (2.3.6) dans un bécher de 3 000 ml et couvrir en ajoutant 2 000 ml d'acide chlorhydrique (2.3.7). Laisser reposer pendant au moins deux heures en agitant de temps en temps. Décanter l'acide et transférer la résine dans la colonne (2.3.11) avec de l'eau désionisée. La colonne doit comporter un tampon en laine de verre. Laver la colonne avec de l'eau désionisée à un débit de 10-30 ml/min. jusqu'à ce que l'éluat soit exempt de chlorure. Déplacer l'eau avec un mélange de 2 000 ml d'isopropanol/eau (2.3.3) à un débit de 10-30 ml/min. La colonne d'échangeurs est prête à l'emploi.
 Colonne d'échangeurs d'anions.
 Placer 600 ml de résine échangeuse d'anions (2.3.6) dans un bécher et l'immerger en totalité en ajoutant 2 000 ml d'eau désionisée. Laisser l'échangeur gonfler pendant au moins deux heures. Transférer la résine dans la colonne avec de l'eau désionisée. La colonne doit comporter un tampon en laine de verre.
 Laver la colonne avec une solution 0,3 mol de monohydrogénéocarbonate d'ammonium (2.3.4) jusqu'à ce qu'elle soit exempte de chlorure, ce qui nécessite environ 5 000 ml de solution. Laver ensuite avec 2 000 ml d'eau désionisée. Déplacer l'eau avec un mélange de 2 000 ml d'isopropanol/eau (2.3.3) à un débit de 10-30 ml/min. La colonne d'échangeurs est maintenant sous forme OH et prête à l'emploi.
- 2.4.4. *Procédé d'échange d'ions.*
 Monter les colonnes d'échangeurs de sorte que la colonne d'échangeurs de cations se trouve au-dessus de la colonne d'échangeurs d'anions. Porter les colonnes à la température de 323 K (50 °C) au moyen d'un thermostat. Chauffer 5 000 ml de la solution obtenue au point 2.4.2 jusqu'à 333 K (60 °C) et passer la solution à travers le groupe d'échangeurs à un débit de 20 ml/min. Laver les colonnes avec un mélange chaud de 1 000 ml d'isopropanol/eau (2.3.3).
 Pour obtenir les agents de surface non ioniques, recueillir l'éluat et le lavage du filtre et les faire évaporer jusqu'à dessiccation complète, de préférence au moyen d'un évaporateur rotatif. Le résidu contient le BiAS. Ajouter de l'eau désionisée jusqu'à l'obtention d'un volume déterminé et doser la teneur en BiAS, conformément au point 3.3, dans l'aliquote. La solution est utilisée comme solution mère des agents de surface non ioniques pour l'essai de biodégradation. La solution doit être maintenue à une température inférieure à 278 K (5 °C).
- 2.4.5. *Régénération des résines échangeuses.*
 L'échangeur de cations est jeté après emploi.
 On régénère la résine échangeuse d'anions en faisant passer dans la colonne environ 5 000-6 000 ml d'une solution de bicarbonate d'ammonium (2.3.4) à un débit d'environ 10 ml/min jusqu'à ce que l'éluat soit exempt d'agents de surface anioniques (essai au bleu de méthylène). Laver ensuite l'échangeur d'anions avec un mélange de 2 000 ml d'isopropanol/eau (2.3.3). L'échangeur d'anions peut de nouveau être utilisé.

CHAPITRE 3. — Dosage des agents de surface non ioniques dans les essais de biodégradation

3.1. Principe.

Les agents de surface sont concentrés et isolés par entraînement gazeux. Dans l'échantillon utilisé, la quantité d'agent de surface non ionique doit être de l'ordre de 250-800 µg.

L'agent de surface entraîné est dissous dans l'acétate d'éthyle.

Après séparation des phases et évaporation du solvant, l'agent de surface non ionique est précipité en solution aqueuse avec le réactif de Dragendorff modifié (KBil. + BaCl₂ + acide acétique glacial).

Le précipité est filtré, lavé avec de l'acide acétique glacial et dissous dans une solution de tartrate d'ammonium. Le bismuth présent dans la solution est dosé potentiométriquement avec une solution de pyrrolidinedithiocarbamate à pH 4-5, en utilisant une électrode indicatrice de platine poli et une électrode de référence au calomel ou d'argent, chlorure d'argent.

La méthode est applicable aux agents de surface non ioniques contenant 6-30 groupements d'oxyde d'alkène.

Le résultat du dosage est multiplié par le facteur empirique 54 de façon à exprimer arbitrairement les résultats en nonylphénol condensé avec 10 moles d'oxyde d'éthylène (NP 10).

3.2. Réactifs et appareillage.

Les réactifs doivent être préparés dans l'eau désionisée.

3.2.1. Acétate d'éthyle pur, fraîchement distillé.

3.2.2. Monohydrogénocarbonate de sodium NaHCO₃ pour analyse.

3.2.3. Acide chlorhydrique (HCl) dilué (20 ml d'acide chlorhydrique pour analyse concentré dilué à 1 000 ml avec de l'eau).

3.2.4. Méthanol pour analyse fraîchement distillé, conservé dans un flacon en verre.

3.2.5. Pourpre de bromocrésol (0,1 g dans 100 ml de méthanol).

3.2.6. Agent de précipitation : l'agent de précipitation est un mélange de 2 volumes de la solution A et 1 volume de la solution B. Le mélange est conservé dans un flacon en verre brun et peut être utilisé jusqu'à une semaine après sa préparation.

3.2.6.1. Solution A.

Dissoudre 1,7 g de nitrate basique de bismuth pour analyse (BiONO₃·H₂O) dans 20 ml d'acide acétique glacial et compléter avec de l'eau à 100 ml. Dissoudre ensuite 65 g d'iodure de potassium pour analyse dans 200 ml d'eau.

Mélanger ces deux solutions dans une fiole jaugée de 1 000 ml, ajouter 200 ml d'acide acétique glacial (3.2.7) et compléter avec de l'eau à 1 000 ml.

3.2.6.2. Solution B.

Dissoudre 290 g de chlorure de baryum (BaCl₂·2H₂O) pour analyse dans 1 000 ml d'eau.

3.2.7. Acide acétique glacial 99-100 % (des concentrations inférieures ne conviennent pas).

3.2.8. Solution de tartrate d'ammonium : mélanger 12,4 g d'acide tartrique pour analyse et 12,4 ml de solution aqueuse d'ammoniaque pour analyse (d = 0,910 g/ml) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau (ou utiliser la quantité équivalente de tartrate d'ammonium pour analyse).

3.2.9. Diluer l'ammoniaque : diluer 40 ml d'ammoniaque pour analyse (d = 0,910 g/ml) avec de l'eau jusqu'à 1 000 ml.

3.2.10. Tampon acétate : dissoudre 40 g d'hydroxyde de sodium solide pour analyse dans 500 ml d'eau dans un bécher et refroidir. Ajoute : 120 ml d'acide acétique glacial (3.2.7). Bien mélanger, refroidir et transférer dans un ballon jaugé de 1 000 ml et ajuster au trait de jauge avec de l'eau.

3.2.11. Solution de pyrrolidinedithiocarbamate (ci-après dénommée « solution de carbate ») : dissoudre 103 mg de pyrrolidinedithiocarbamate sodique (C₅H₁₀NNa S₂·2H₂O) dans environ 500 ml d'eau, ajouter 10 ml d'alcool n amylique pour analyse et 0,5 g de NaHCO₃ pour analyse et compléter avec de l'eau à 1 000 ml.

3.2.12. Solution de sulfate de cuivre (pour étalonnage de 3.2.11).

Solution concentrée.

Dissoudre 1,249 g de sulfate de cuivre pour analyse (CuSO₄·5H₂O) avec 50 ml 0,5 mole d'acide sulfurique et compléter avec de l'eau à 1 000 ml.

Solution étalon.

Mélanger 50 ml de solution concentrée avec 10 ml 0,5 mole H₂SO₄ et compléter avec de l'eau à 1 000 ml.

3.2.13. Chlorure de sodium pour analyse.

3.2.14. Appareil d'extraction des agents de surface (voir figure 5).

Le diamètre du disque fritté doit être identique au diamètre interne du cylindre.

3.2.15. Ampoule à décanter de 250 ml.

3.2.16. Agitateur magnétique avec aimant de 25-30 mm.

3.2.17. Creuset de Gooch, diamètre de la base perforée = 25 mm, type G 4.

3.2.18. Filtres circulaires en fibre de verre de 27 mm de diamètre; diamètre des fibres : 0,5-1,5 µm.

3.2.19. Deux fioles à vide avec allonges et collet de caoutchouc, de 500 ml et 250 ml respectivement.

3.2.20. Potentiomètre enregistreur équipé d'une électrode indicatrice de platine poli et d'une électrode de référence au calomel ou argent/chlorure d'argent permettant une gamme de mesure de 250 mV, et avec burette automatique d'une capacité de 20-25 ml, ou dispositif manuel.

3.3. Méthode.

3.3.1. Concentration et séparation de l'agent de surface.

Filter l'échantillon aqueux à travers un papier filtre qualitatif. Eliminer les 100 premiers ml du filtrat. Placer dans l'appareil d'extraction préalablement rincé à l'acétate d'éthyle une quantité mesurée de l'échantillon telle que celui-ci contienne entre 250 et 800 µg d'agent de surface non ionique. Afin d'améliorer la séparation, ajouter 100 g de chlorure de sodium et 5 g de monohydrogencarbonate de sodium.

Si le volume de l'échantillon dépasse 500 ml, ajouter ces sels sous forme solide dans l'appareil d'extraction et les dissoudre en faisant passer de l'azote ou de l'air dans l'appareil.

Si l'on utilise un échantillon de volume plus réduit, dissoudre les sels dans 400 ml d'eau puis les ajouter dans l'appareil d'extraction.

Ajouter de l'eau jusqu'à ce que le niveau atteigne le robinet supérieur.

Ajouter avec précaution 100 ml d'acétate d'éthyle à la surface de la phase aqueuse. Remplir le flacon laveur de l'arrivée de gaz (azote ou air) aux deux tiers d'acétate d'éthyle.

Faire passer dans l'appareil un débit de gaz de 30-60 l/h; l'emploi d'un rotamètre est recommandé. Le taux d'aération doit être progressivement augmenté au début. Le débit de gaz sera réglé de telle sorte que les phases restent bien séparées, de manière à limiter au minimum le mélange des phases et de la solution d'acétate d'éthyle dans l'eau. Couper l'arrivée de gaz après cinq minutes.

Si le volume de la phase organique diminue de plus de 20 % par dissolution dans l'eau, on répétera l'opération en diminuant le débit de gaz.

Verser la phase organique dans une ampoule à décanter. Reverser dans l'appareil d'extraction l'eau provenant de la phase aqueuse qui se trouverait dans l'ampoule à décanter (il ne devrait pas y en avoir plus de quelques ml). Filter la phase d'acétate d'éthyle à travers un papier filtre qualitatif sec dans un bécher de 250 ml.

Verser à nouveau 100 ml d'acétate d'éthyle dans l'appareil d'extraction et y faire passer de l'azote ou de l'air pendant cinq minutes. Soutirer la phase organique dans l'ampoule à décanter utilisée pour la première séparation, éliminer la phase aqueuse et faire passer la phase organique à travers le même filtre. Rincer l'ampoule à décanter et le filtre avec environ 20 ml d'acétate d'éthyle. Evaporer l'extrait d'acétate d'éthyle jusqu'à dessiccation complète sur un bain-marie (sorbonne). Diriger un léger courant d'air sur la surface de la solution pour accélérer l'évaporation.

3.3.2. Précipitation et filtration

Dissoudre le résidu sec visé au point 3.3.1 dans 5 ml de méthanol, ajouter 40 ml d'eau et 0,5 ml de HCl dilué (3.2.3) et agiter le mélange avec un agitateur magnétique.

Ajouter à cette solution 30 ml de précipitant (3.2.6) avec une éprouvette graduée. Le précipité se forme par agitation. Après avoir agité pendant dix minutes, laisser le mélange reposer pendant au moins cinq minutes.

Filter le mélange dans un creuset de Gooch, dont la base est recouverte d'un filtre en fibre de verre. Puis laver le filtre sous faible dépression avec environ 2 ml d'acide acétique glacial. Ensuite, bien laver le bécher, le barreau aimanté et le creuset avec de l'acide acétique glacial (environ 40-50 ml). Il n'est pas nécessaire de transférer quantitativement sur le filtre le précipité qui adhère sur les parois du bécher parce que la solution du précipité destinée au titrage est reversée dans le bécher de précipitation, le précipité restant étant ensuite dissous.

3.3.3. Dissolution du précipité.

Dissoudre le précipité dans le creuset filtrant par addition à chaud (environ 353 K, 80°C) de la solution de tartrate d'ammonium (3.2.8) en trois fractions de 10 ml. Laisser chaque fraction reposer pendant quelques minutes dans le creuset avant de la filtrer dans la fiole.

Verser le contenu de la fiole filtrante dans le bécher utilisé pour la précipitation. Rincer les parois du bécher avec 20 ml de solution de tartrate pour dissoudre le reste du précipité.

Laver soigneusement le creuset, l'allonge et la fiole filtrante avec 150-200 ml d'eau et reverser l'eau de rinçage dans le bécher utilisé pour la précipitation.

3.3.4. Titration.

Agiter la solution avec un agitateur magnétique (3.2.16), ajouter quelques gouttes de pourpre de bromocrésol (3.2.5) et ajouter la solution d'ammoniaque diluée (3.2.9) jusqu'à obtention d'une coloration violette (la solution est légèrement acide compte tenu du résidu d'acide acétique utilisé pour le rinçage).

Ajouter ensuite 10 ml de tampon d'acétate (3.2.10), plonger les électrodes dans la solution et doser potentiométriquement avec la solution de carbate étalon (3.2.11), l'extrémité de la burette étant immergée dans la solution. La vitesse de titration ne doit pas dépasser 2 ml/min.

Le point d'équivalence est l'intersection des tangentes aux deux parties de la courbe du potentiel. On constatera à l'occasion que l'inflexion de la courbe du potentiel s'aplatit, ce à quoi on peut remédier en nettoyant soigneusement l'électrode de platine (par polissage au moyen d'un papier abrasif).

3.3.5. Témoin.

Simultanément, procéder à un dosage en blanc en suivant toute la méthode avec 5 ml de méthanol et 40 ml d'eau conformément aux instructions définies au point 3.3.2. Le dosage en blanc doit rester inférieur à 1 ml; sinon la pureté des réactifs 3.2.3. — 3.2.7 — 3.2.8 — 3.2.9 — 3.2.10 est suspecte (notamment leur teneur en métaux lourds) et il y a lieu de les remplacer. Il sera tenu compte du dosage en blanc dans le calcul des résultats.

3.3.6. Contrôle du facteur de la « solution de carbate ».

Calculer chaque jour le facteur concernant la solution de carbate avant utilisation. A cet effet, doser 10 ml de la solution étalon de sulfate de cuivre (3.2.12) avec la solution de carbate après addition de 100 ml d'eau et 10 ml du tampon d'acétate (3.2.10). Si la quantité utilisée est égale à « a » ml, le facteur s'obtient comme suite :

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

et tous les résultats des dosages sont multipliés par ce facteur.

3.4. Calcul des résultats.

Chaque agent de surface non ionique a son propre facteur en fonction de sa composition, notamment de la longueur de la chaîne d'oxyde d'alkène. Les concentrations en agents de surface non ioniques sont exprimées par rapport à une substance de référence, un nonylphénol à 10 unités d'oxyde d'éthylène (NP 10) pour lequel le facteur de conversion est égal à 0,054.

La quantité d'agent de surface présente dans l'échantillon se trouve exprimée à l'aide de ce facteur comme suit :

$$0,054 f (b-c) = \text{mg d'agent de surface non ionique exprimé en mg d'équivalent NP 10}$$

où b = volume de solution de carbate utilisé pour l'échantillon (ml),

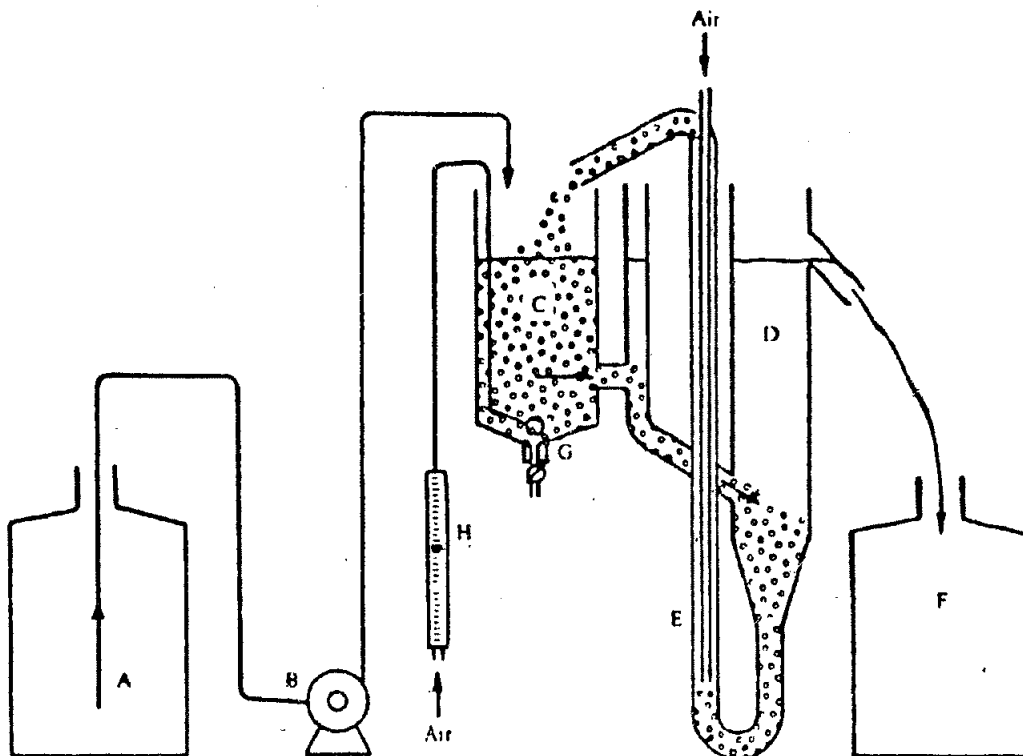
c = volume de solution de carbate utilisé pour le dosage en blanc (ml),

f = facteur de la solution de carbate.

3.5. Expression des résultats.

Exprimer les résultats en mg/l sous forme d'équivalent NP 10 à 0,1 mg près.

Figure 1



A: Récipient de stockage

B: Pompe doseuse

C: Cuve d'aération (capacité 3 l)

D: Décanteur

E: Pompe à air comprimé

I: Collecteur

G: Aérateur (verre frité)

H: Débitmètre à air

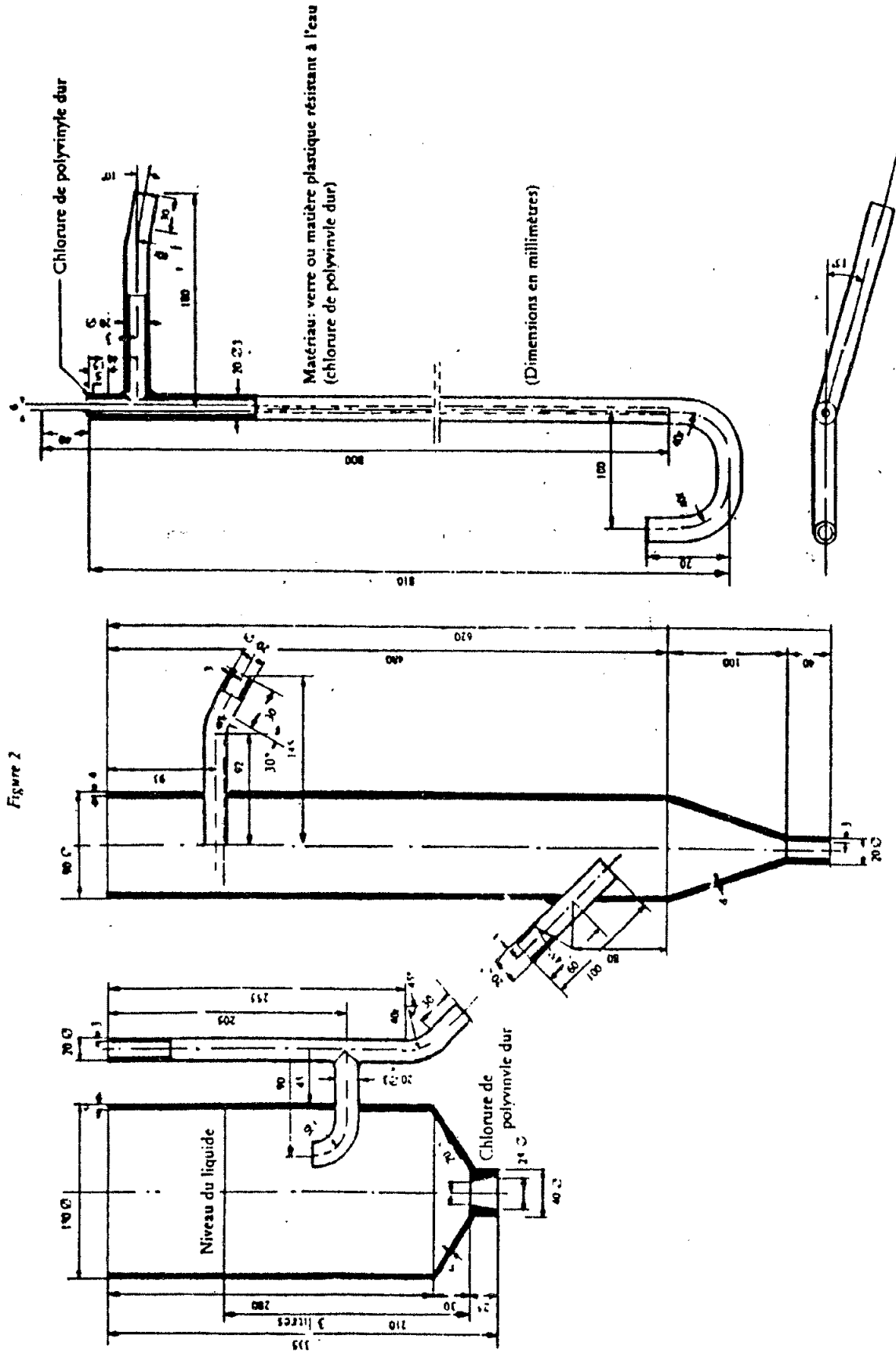


Figure 3

Calcul de la biodégradabilité — Test de confirmation

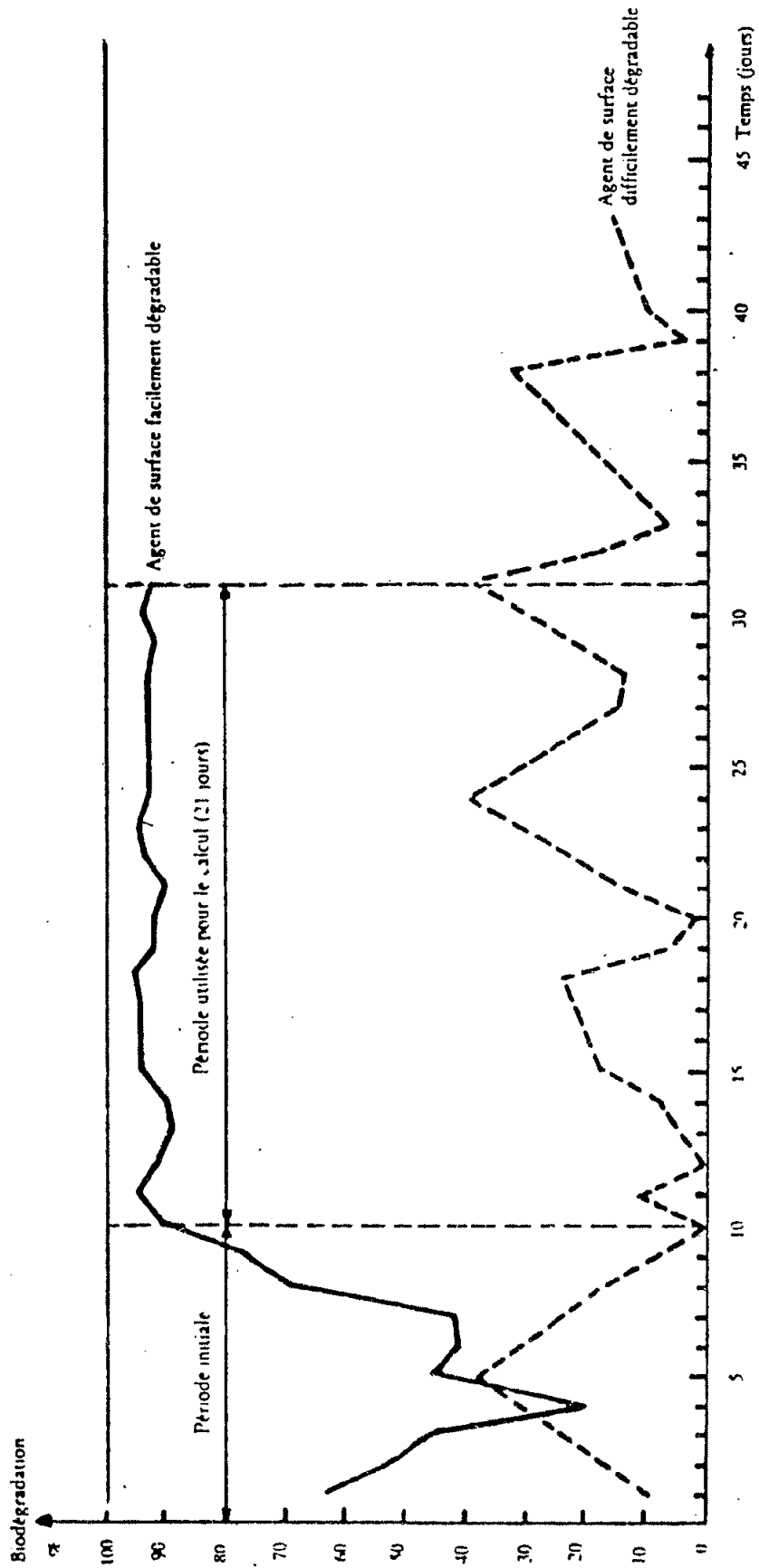
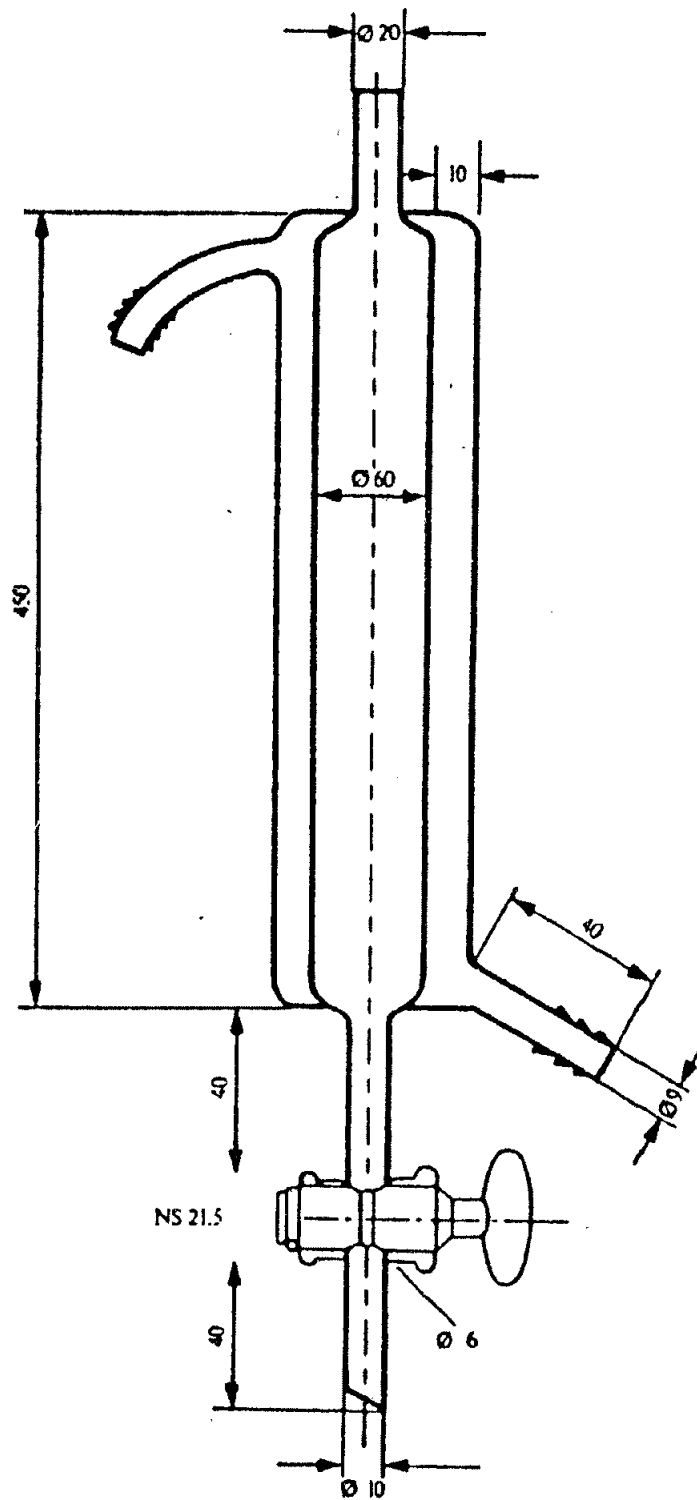
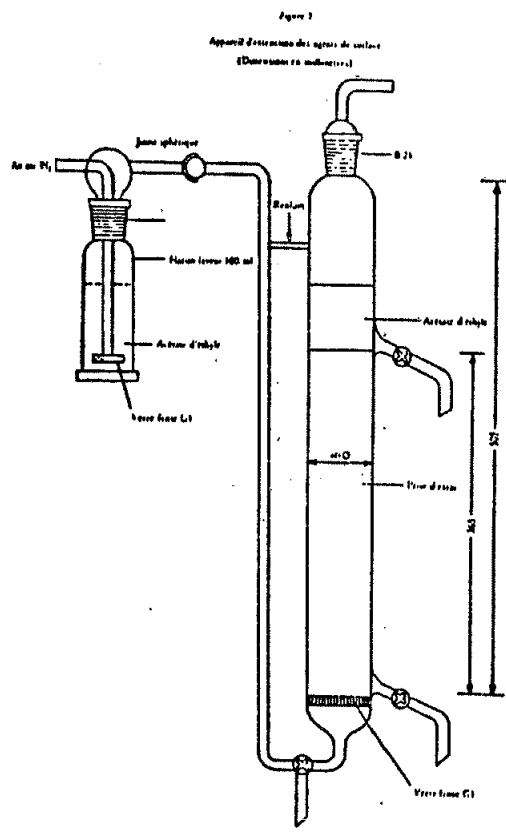


Figure 4

Colonne d'échangeur chauffante
(Dimensions en millimètres)





Vu pour être annexé à Notre arrêté du 25 octobre 1988.

BAUDOIN

Par le Roi :
Le Premier Ministre,
W. MARTENS

Le Secrétaire d'Etat à l'Environnement,
Mme M. SMET