

Este documento es un instrumento de documentación y no compromete la responsabilidad de las instituciones

► **B**

**DIRECTIVA DEL CONSEJO**

**de 22 de noviembre de 1973**

**referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos**

(73/405/CEE)

(DO L 347 de 17.12.1973, p. 53)

Modificada por:

	Diario Oficial		
	nº	página	fecha
► <b>M1</b> Directiva del Consejo de 31 de marzo de 1982 (82/243/CEE)	L 109	18	22.4.1982

▼B**DIRECTIVA DEL CONSEJO****de 22 de noviembre de 1973****referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos**

(73/405/CEE)

EL CONSEJO DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea y, en particular, su artículo 100,

Vista la Directiva del Consejo, de 22 de noviembre de 1973, referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los detergentes<sup>(1)</sup> y, en particular, su artículo 4,

Vista la propuesta de la Comisión,

Visto el dictamen del Parlamento Europeo<sup>(2)</sup>,Visto el dictamen del Comité económico y social<sup>(3)</sup>,

Considerando que, para que los Estados miembros puedan determinar los índices de biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos, parece acertado remitirse a los métodos de control ya utilizados con este fin en varios Estados miembros; que, no obstante, en caso de impugnación, sería necesario que el control de la biodegradabilidad se efectuase según un método de referencia común;

Considerando que tal y como está previsto en el artículo 4 de la Directiva de 22 de noviembre de 1973, deben fijarse los márgenes de tolerancia adecuados en la determinación del índice de biodegradabilidad con el fin de evitar que las inexactitudes de los métodos de control pudieran conducir a decisiones de rechazo del producto, con las consiguientes repercusiones económicas; que sólo podrá adoptarse una decisión de rechazo cuando el análisis indique un índice de biodegradabilidad inferior al 80%,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

*Artículo 1*

La presente Directiva se refiere a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos ►**M1** presentes en detergentes tales como los contemplados en el artículo 1 de la Directiva 73/404/CEE ◀.

▼M1*Artículo 2*

De conformidad con las disposiciones del artículo 4 de la Directiva 73/404/CEE referente a los detergentes, los Estados miembros prohibirán la comercialización y uso en su territorio de un detergente si el índice de biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos contenidos en el mismo fuere inferior al 80% y hubiere sido determinado mediante alguno de los métodos siguientes:

- método OCDE, publicado en el informe técnico de la Organización de Cooperación (SIC! Cooperación) y de Desarrollo Económicos de 11 de junio de 1976, «Propuesta de método para la determinación de la biodegradabilidad de los tensioactivos en los detergentes sintéticos»,
- método en vigor en Alemania, establecido por la «Verordnung ber (SIC! über) die Abbaubarkeit anionischer und nichtionischer grenz-

<sup>(1)</sup> DO n° L 347 de 17. 12. 1973, p. 51.<sup>(2)</sup> DO n° C 10 de 5. 2. 1972, p. 29.<sup>(3)</sup> DO n° C 89 de 23. 8. 1972, p. 13.

▼ M1

- flochenaktiver (SIC! grenzflächenaktiver) Stoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln», de 30 de junio de 1977, publicado en el *Bundesgesetzblatt* 1977, parte I, página 244, en la versión del Reglamento por la que se modifica dicho reglamento, de 18 de junio de 1980, publicado en el *Bundesgesetzblatt* 1980, parte I, página 706,
- método en vigor en Francia, aprobado por Decreto de 28 de diciembre de 1977 publicado en el *Journal officiel de la République française*, de 18 de enero de 1978, páginas 514 y 515, y (SIC! y por) la Norma Experimental T 73-260 (de junio de 1981), editada (SIC! editada) por la Association française de normalisation (Afnor),
  - método en vigor en el Reino Unido, llamado «Porous Pot Test», y descrito en el informe técnico nº 70 (1978) del *Water Research Centre*.

*Artículo 3*

En el marco del procedimiento definido en el apartado 2, artículo 5 de la Directiva 73/404/CEE, el dictamen del laboratorio en lo referente a los tensioactivos aniónicos deberá basarse en el método de referencia (prueba de confirmación) descrito en el Anexo a la presente Directiva.

*Artículo 3 bis*

Las modificaciones necesarias para adaptar el Anexo al progreso técnico se adoptarán de conformidad con el procedimiento del artículo 7 *ter* de la Directiva 73/404/CEE.

▼ B*Artículo 4*

1. Los Estados miembros aplicarán, en un plazo de diez y ocho meses a partir de su notificación, las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para cumplir a la (SIC! cumplir la) presente Directiva e informarán de ello inmediatamente a la Comisión.
2. Los Estados miembros comunicarán a la Comisión el texto de las disposiciones básicas de Derecho interno que adopten en el ámbito regulado por la presente Directiva.

*Artículo 5*

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

▼ **M1**

## ANEXO

**DETERMINACIÓN DE LA BIODEGRADABILIDAD DE LOS TENSIOACTIVOS ANIÓNICOS (SIC! ANIÓNICOS)****Método de referencia (prueba de confirmación)**

## CAPÍTULO I

**1.1. Definición**

A efectos de la presente Directiva, se considerarán tensioactivos aniónicos aquellos tensioactivos que, después de pasar por intercambiadores de iones catiónicos y aniónicos, y separados mediante una elución fraccionada, se determinen como sustancia activa al azul de metileno (MBAS) según el método de análisis descrito en el Capítulo 3 (SIC! III).

**1.2. Equipo necesario**

El método de medida se basará en el empleo de una pequeña planta de lodos activados, cuyo esquema básico se representa en la figura 1 y, de forma más detallada, en la figura 2.

El equipo estará compuesto por un recipiente A para almacenar las aguas residuales sintéticas, una bomba dosificadora B, una cuba de aireación C, un decantador D, una bomba de aire comprimido E para reciclar el lodo activado y un recipiente E para recoger el efluente tratado.

Los recipientes A y F deberán ser de vidrio o de una materia plástica apropiada y de una capacidad de 24 l, como mínimo. La bomba B deberá asegurar un flujo constante de agua residual sintética hacia la cuba de aireación que, durante una operación normal, deberá contener unos 3 l de mezcla. En el vértice del cono interior de la cuba C se suspenderá un difusor de vidrio fritado G para la aireación. La cantidad de aire inyectado a través del dispositivo de aireación se controlará con un caudalímetro H.

**1.3. Agua residual sintética**

Para efectuar el presente ensayo, se utilizará agua residual sintética. Disolver en agua del grifo las siguientes sustancias. Por cada litro de agua:

- 160 mg de peptona,
- 110 mg de extracto de carne,
- 30 mg de urea  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ,
- 7 mg de cloruro de sodio (NaCl),
- 4 mg de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ),
- 2 mg de sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ),
- 28 mg de monohidrógenofosfato (SIC! monohidrogenofosfato) de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ),
- 20 ± 2 (SIC! 20 +/- 2) mg de MBAS.

La MBAS se extraerá del producto a ensayar por el método indicado en el Capítulo 2 (SIC! II). El agua residual sintética deberá prepararse de nuevo cada día.

**1.4. Preparación de las muestras**

Los tensioactivos que no formen parte de un preparado podrán examinarse en su estado original.

- 1.4.1. Para preparar el agua residual sintética se deberá determinar previamente el contenido en MBAS (1.3).
- 1.4.2. En el caso de formulaciones, se procederá a la determinación de los contenidos en MBAS y en jabón. Se procederá a una extracción alcohólica y a una separación de MBAS (ver Capítulo 2 (SIC! II)). Para preparar el agua residual sintética se deberá determinar previamente el contenido en MBAS del extracto.

**1.5. Funcionamiento de la instalación**

En primer lugar, se llenará la cuba de aireación C y el decantador D con agua residual sintética. El decantador D deberá fijarse a la altura precisa para que el volumen contenido en la cuba de aireación C sea de 3 l.

▼ **M1**

La inoculación se efectuará introduciendo 3 ml de un efluente secundario de buena calidad, recién extraído de una planta de tratamiento que trabaje principalmente con aguas residuales domésticas. El efluente deberá mantenerse bajo condiciones aerobias durante el periodo (SIC! período) de tiempo comprendido entre el muestreo y su aplicación. Seguidamente se pondrán en funcionamiento el dispositivo de aireación G, la bomba de aire comprimido E y la bomba dosificadora B. El agua residual sintética pasará (SIC! debe pasar) a través de la (SIC! de la) cuba de aireación C a razón de 1 l por hora, lo cual equivale a un tiempo medio de retención de 3 horas.

Se regulará el ritmo de aireación de manera que el contenido de la cuba C se mantenga constantemente en suspensión y que el contenido en oxígeno disuelto sea de 2 mg/l como mínimo. Se impedirá la formación de espuma por medios apropiados. No obstante, no se utilizarán antiespumantes que tengan una acción inhibitoria sobre el lodo activado o que contengan MBAS. La bomba E se regulará de manera que en la cuba de aireación C el reciclaje del lodo activado procedente del decantador sea continuo y regular. El lodo que se hubiere acumulado en la parte superior de la cuba de aireación C, en el fondo del decantador D, o en el circuito de circulación, deberá ponerse de nuevo en circulación, al menos una vez al día, mediante un escobillón o cualquier otro medio apropiado. Cuando el lodo deje de sedimentar, se podrá favorecer la decantación mediante la aportación, repetida si fuere necesario, de dosis de 2 ml de una solución al 5% de cloruro férrico.

El efluente del decantador D recogido en el colector F permanecerá en el mismo durante 24 horas, transcurridas las cuales, y previa homogeneización de la mezcla, se tomará una muestra. Una vez efectuadas estas operaciones se limpiará cuidadosamente el colector F.

#### 1.6. **Control del dispositivo de medida**

Inmediatamente antes de usar el agua residual sintética, se determinará su contenido en MBAS (en mg/l).

El contenido en MBAS (en mg/l) del efluente retenido durante 24 horas en el colector F se determinará, inmediatamente después de la toma, utilizando el mismo método de análisis, si no se hiciera, las muestras deberán preservarse, preferentemente por congelación. La concentración se determinará con una aproximación de 0,1 mg MBAS/l.

Para comprobar la eficiencia del proceso, se determinará, al menos dos veces por semana, la demanda química de oxígeno (DQO) o el carbono orgánico disuelto (COD) del efluente acumulado en el colector F, filtrado a través de fibra de vidrio, y del agua residual sintética filtrada almacenada en la cuba A, también después de filtrado.

La disminución en la DQO o en el COD se estabilizará cuando la biodegradación diaria de la MBAS sea más o menos regular, es decir, al final del periodo (SIC! período) inicial indicado en la figura 3.

El contenido en materias secas minerales del lodo activado de la cuba de aireación se determinará dos veces por semana (en g/l). Si sobrepasare 2,5 g/l, se eliminará el exceso de lodo activado.

El ensayo de biodegradación se efectuará a la temperatura ambiente; dicha temperatura deberá ser regular y mantenerse entre 292 y 297 K (19—24 C).

#### 1.7. **Cálculo de la biodegradabilidad**

El porcentaje de biodegradación de MBAS se calculará diariamente a partir del contenido en MBAS (expresado en mg/l) del agua residual sintética y del efluente correspondiente recogido en el colector F.

Los valores obtenidos se representarán gráficamente, según se indica en la figura 3.

La biodegradabilidad de MBAS se calculará tomando la media aritmética de los valores obtenidos en el curso de los 21 días siguientes al periodo (SIC! período) inicial, durante los cuales la biodegradación deberá haber sido regular y la planta deberá haber funcionado sin ninguna perturbación. La duración del periodo (SIC! período) inicial de adaptación no será, en ningún caso, superior a seis semanas.

Los valores de biodegradación diarios se calcularán con una precisión de 0,1%, pero el resultado final se redondeará a (SIC! en) números enteros (SIC! enteros).

En algunos casos, se podrá reducir la frecuencia del muestreo pero, para calcular la media, se utilizarán, como mínimo, los resultados de 14

▼ **M1**

tomas distribuidas a lo largo del periodo (SIC! período) de 21 días que sigue al periodo (SIC! período) inicial de adaptación.

## CAPÍTULO 2 (SIC! II)

## TRATAMIENTO PRELIMINAR DE LOS PRODUCTOS A EXAMINAR

2.1. **Notas preliminares**2.1.1. *Tratamiento de las muestras*

El tratamiento de los tensioactivos aniónicos y de los detergentes, previo a la determinación de la biodegradabilidad por la prueba de confirmación, será el siguiente (SIC! siguiente):

Productos	Tratamiento
Tensioactivos aniónicos	Ninguno
Detergentes	Extracción alcohólica seguida de una separación por intercambio de iones y de una elución fraccional mediante intercambiador de aniones

El objetivo de la extracción alcohólica será eliminar de los productos comerciales los compuestos insolubles e inorgánicos que, en algunas circunstancias, podrían interferir en el ensayo de biodegradabilidad.

2.1.2. *Procedimiento de intercambio de iones*

Para que los resultados de los ensayos de biodegradabilidad sean correctos, se procederá a aislar y separar los tensioactivos aniónicos del jabón y de los tensioactivos no iónicos y catiónicos.

Para ello se aplicará una técnica de intercambio de iones que utilice una resina intercambiadora de aniones macro-porosa y los agentes de elución apropiados que permitan la elución fraccionada. El jabón y los tensioactivos aniónicos y no iónicos podrán, así, aislarse mediante una única operación.

2.1.3. *Control analítico*

Después de la homogeneización, se determinará el contenido en tensioactivos aniónicos del detergente sintético según el método de análisis de MBAS. El contenido en jabón se determinará según un método apropiado.

Este análisis del producto será necesario para calcular las cantidades que se requerirán para la preparación de las dosis destinadas a los ensayos de biodegradabilidad.

No será imprescindible una extracción cuantitativa; no obstante, se extraerá, al menos, un 80% de los tensioactivos aniónicos. Normalmente, se obtendrá un 90% o más.

2.2. **Principio**

A partir de una muestra homogénea (polvos, pastas y líquidos desecados), y mediante una extracción con etanol, se obtendrá un extracto conteniendo los tensioactivos, el jabón y otros componentes solubles del alcohol, de la muestra del detergente.

El extracto obtenido con el etanol se evaporará y disolverá en una mezcla isopropanol/agua; a continuación, se hará pasar la solución resultante a través de un dispositivo mixto de intercambio de cationes fuertemente ácido/intercambio de aniones macroporosos, llevándose hasta una temperatura de 323 K (50 °C). Esta temperatura será necesaria para impedir la precipitación de los ácidos grasos en un medio ácido.

Los tensioactivos no iónicos se quedarán en el efluente.

Los ácidos grasos del jabón se separarán mediante una elución con etanol que contenga dióxido de carbono. Los tensioactivos aniónicos en forma de sales de amonio se obtendrán mediante elución con una solución de bicarbonato de amonio en una mezcla isopropanol/agua. Dichas sales de amonio de (SIC! se) utilizarán para el ensayo de biodegradabilidad.

▼ **M1**

Los tensioactivos catiónicos, susceptibles de perturbar (SIC! perturbar) el ensayo de biodegradabilidad y el procedimiento analítico (SIC! analítico), se eliminarán mediante el intercambiador de cationes, colocado por encima del intercambiador de aniones.

2.3. **Productos químicos (SIC! químicos) y equipo**

- 2.3.1. Agua desionizada
- 2.3.2. Etanol, 95% (v/v) C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (desnaturalizadores permitidos: metiletilcetona o metanol).
- 2.3.3. Mezcla isopropanol/agua (50/50 v/v):
  - 50 partes de isopropanol (CH<sub>3</sub>CHOH — CH<sub>3</sub>),
  - 50 partes de agua (2.3.1).
- 2.3.4. Solución de dióxido de carbono en etanol (aproximadamente 0,1% de CO<sub>2</sub>): mediante un tubo de transferencia provisto de un disco de vidrio fritado incorporado, hacer burbujear el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a través del etanol (2.3.2) durante 10 minutos. La solución se preparará (SIC! preparará) inmediatamente antes de su utilización.
- 2.3.5. Solución de bicarbonato de amonio (60/40 v/v): 0,3 mol de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> en 1 000 ml de una mezcla de isopropanol/agua constituida por 60 partes de isopropanol y por 40 partes de agua (2.3.1).
- 2.3.6. Intercambiador de cationes (KAT), fuertement (SIC! fuertemente) ácido, resistente al alcohol (50—100 mesh).
- 2.3.7. Intercambiador de aniones (AAT), macroporoso, Merck Lewatit MP 7080 (70—150 mesh) o equivalente.
- 2.3.8. Ácido clorhídrico, 10% HCl (p/p).
- 2.3.9. Matraz esférico de fondo redondo de 2 000 ml con esmerilado cónico y condensador de reflujo.
- 2.3.10. Filtro de succión de 90 mm de diámetro (que se pueda calentar) para filtros de papel.
- 2.3.11. Matraces de filtración al vacío (SIC! vacío) de 2 000 ml.
- 2.3.12. Columnas de intercambio con manta calefactora y grifo: tubo interior de 60 mm de diámetro y de 450 mm de altura (figura 4).
- 2.3.13. Baño maria (SIC! maría).
- 2.3.14. Estufa de secado al vacío (SIC! vacío).
- 2.3.15. Termostato.
- 2.3.16. Rotavapor.

2.4. **Extracción y separación de los tensioactivos aniónicos**2.4.1. *Preparación del extracto*

La cantidad de tensioactivos necesaria para la prueba de biodegradabilidad será de unos 50 g de MBAS.

Normalmente la cantidad de producto a extraer no sobrepasará 1 000 g; no obstante, podría ser necesario extraer cantidades suplementarias de la muestra.

Por razones prácticas, en la mayoría de los casos, la cantidad de producto utilizado en la preparación de los extractos para el ensayo de biodegradabilidad se limitará a 5 000 g.

La experiencia ha demostrado que una serie de extracciones limitadas es preferible a la extracción de una gran cantidad de producto de una sola vez. En lo que a intercambiadores se refiere, las cantidades especificadas serán suficientes para 600 a 700 mol de tensioactivos y de jabón.

2.4.2. *Aislamiento de los componentes solubles en el alcohol*

Añadir 250 g del detergente a analizar a 1 250 ml de etanol y llevar la mezcla a ebullición, sometiéndola, después, a reflujo durante una hora, sin dejar de agitar. Verter la solución alcohólica caliente en un filtro de succión de poros anchos, llevar a una temperatura de 323 K (50 °C), y filtrar por succión. Lavar el matraz y el filtro de succión con unos 200 ml de etanol caliente. Recoger el filtrado y el líquido de lavado en un matraz de filtración al vacío.

Cuando los productos a analizar sean pastas o líquidos, asegurarse de que la muestra no contenga más de 55 g de tensioactivos aniónicos y

▼ **M1**

35 g de jabón. Una vez pesada la muestra, evaporar hasta desecación completa. Disolver el residuo en 2 000 ml de etanol y proceder de nuevo según lo indicado más arriba.

En el caso de polvos de escasa densidad aparente (< 300 g/l), es recomendable aumentar la proporción (SIC! proporción) de etanol en la relación 20/1.

Evaporar el filtrado de etanol hasta desecación completa, preferentemente mediante un rotovapor (SIC! rotavapor). Repetir la operación si se necesitare una mayor cantidad de extracto. Disolver el residuo en 5 000 ml de una mezcla isopropanol/agua.

2.4.3. *Preparación de las columnas intercambiadoras de iones*

## Columna de intercambio catiónico

Colocar 600 ml de resina intercambiadora de cationes (2.3.6) en un vaso de 3 000 ml y cubrir añadiendo 2 000 ml de ácido clorhídrico (2.3.8). Dejar reposar durante un mínimo de 2 horas agitando de vez en cuando. Decantar el ácido y transferir la resina a la columna (2.3.12) mediante agua desionizada. La columna deberá estar provista de un tapón de lana de vidrio. Lavar la columna con agua desionizada a una velocidad de flujo de 10—30 ml/min hasta que el efluente esté libre de cloruros. Desplazar el agua con 2 000 ml de una mezcla isopropanol/agua (2.3.3) a una velocidad de flujo de 10—30 ml/min. Una vez finalizados estos preparativos, la columna de intercambio estará lista para la operación.

## Columna de intercambio aniónico

Colocar 600 ml de resina intercambiadora de aniones (2.3.7) en un vaso de 3 000 ml y cubrirla añadiendo 2 000 ml de agua desionizada. Dejar en espera la resina durante, al menos 2 horas, para que se hinche. Transferir la resina a la columna mediante agua desionizada. En la columna se colocará un tapón de lana de vidrio desionizada que servirá de soporte a los intercambiadores.

Lavar la columna con una solución de 0,3 mol de bicarbonato de amonio (2.3.5) hasta que quede libre de cloruros, para lo cual se requerirán unos 5 000 ml de solución. Lavar a continuación con 2 000 ml de agua desionizada. Desplazar el agua con 2 000 ml de una mezcla isopropanol/agua (2.3.3) a una velocidad de flujo de 10—30 ml/min. Una vez finalizados estos preparativos, la columna de intercambio estará en forma OH y lista para la operación.

2.4.4. *Procedimiento de intercambio de iones*

Conectar las columnas intercambiadoras colocándolas de forma que la columna de intercambio catiónico se encuentre por encima de la columna de intercambio aniónico. Poner las columnas a la temperatura de 323 K (50 °C) mediante un termostato. Calentar 5 000 ml del filtrado obtenido en el punto 2.4.2 hasta 333 K (60 °C) y hacerlo pasar a través de ambas columnas a una velocidad de flujo de 20 ml/min. Lavar las columnas con 1 000 ml de una mezcla caliente de isopropanol/agua (2.3.3).

Para obtener los tensioactivos aniónicos (MBAS), se desconectará la columna KAT. Se procederá, entonces, a la elución de los ácidos grasos del jabón de la columna KAT mediante 5 000 ml de una solución de etanol/CO<sub>2</sub> (SIC! etanol/CO<sub>2</sub>) (a 323 K; 50 °C) (2.3.4). El eluyente será desechado.

A continuación se procederá a la elución de las MBAS de la columna AAT mediante 5 000 ml de solución de bicarbonato de amonio (2.3.5). Evaporar el eluyente hasta desecación en un baño de vapor o en un rotavapor. Los residuos contienen las MBAS (en forma de sal de amonio) y, en algún caso, productos aniónicos no tensioactivos que no perjudican el ensayo de biodegradabilidad. Añadir agua desionizada hasta obtener un volumen preciso y determinar el contenido en MBAS en una fracción alícuota, de conformidad con el Capítulo 3 (SIC! III). La solución se utilizará como solución madre de los detergentes aniónicos para el ensayo de biodegradabilidad. La solución deberá mantenerse a una temperatura inferior a 278 K (5 °C).

2.4.5. *Regeneración de las resinas de intercambio iónico*

El intercambiador de cationes se tirará después de su uso.

La resina de intercambio aniónico se regenerará haciendo pasar a través de la columna una cantidad suplementaria de una solución de bicarbonato de amonio (3.2.5) a una velocidad de flujo de unos 10 ml/min hasta que el efluente quede libre de tensioactivos aniónicos (ensayo a

▼ **M1**

azul de metileno). Lavar luego el intercambiador de aniones con 2 000 ml de una mezcla isopropanol/agua (2.3.3). El intercambiador de aniones (SIC! aniones) podrá utilizarse de nuevo.

## CAPÍTULO 3 (SIC! III)

## DETERMINACIÓN DE LOS TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN EL ENSAYO DE BIODEGRADABILIDAD

3.1. **Principio**

El método se basa en la propiedad del azul de metileno, colorante catiónico, de formar con los tensioactivos aniónicos sales azules que pueden extraerse mediante cloroformo. A fin de evitar las interferencias, la extracción se efectuará, primero, a partir de una solución alcalina procediéndose a continuación a agitar el extracto con una solución ácida de azul de metileno. La absorbencia de la fase orgánica separada se medirá por fotometría a la longitud de onda de absorción máxima de 650 nm.

3.2. **Reactivos y equipo**

- 3.2.1. Solución tampón pH 10: disolver 24 g de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) grado analítico y 27 g de carbonato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) grado analítico, en agua desionizada y diluir a 1 000 ml.
- 3.2.2. Solución neutra de azul de metileno: disolver (SIC! disolver) 0,35 g de azul de metileno grado analítico en agua desionizada y diluir a 1 000 ml. Preparar la solución, al menos 24 horas antes de su uso. La absorbencia de la fase cloroformo del ensayo en blanco, comparada con la del cloroformo puro, no deberá sobrepasar 0,015 por 1 cm de espesor de la capa a 650 nm.
- 3.2.3. Solución ácida de azul de metileno: disolver 0,35 g de azul de metileno grado analítico en 500 ml de agua desionizada y mezclar con 6,5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $d = 1,84$  g/ml). Diluir en 1 000 ml de agua desionizada. Preparar la solución, al menos 24 horas antes de su uso. La absorbencia de la fase de cloroformo del ensayo en blanco, comparada con la del cloroformo puro, no deberá sobrepasar 0,015 por 1 cm de espesor de la capa a 650 nm.
- 3.2.4. Cloroformo (triclorometano)  $\text{CHCl}_3$  grado analítico, recientemente destilado.
- 3.2.5. Dodecibenceno-metilester (SIC! metiléster) de ácido sulfónico.
- 3.2.6. Solución de hidróxido de potasio en etanol, KOH 0,1 mol.
- 3.2.7. Etanol puro ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).
- 3.2.8. Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol).
- 3.2.9. Solución de fenolftaleína: disolver 1 g de fenolftaleína en 50 ml de etanol y añadir 50 ml de agua desionizada agitando continuamente. Eliminar por filtración cualquier precipitado obtenido.
- 3.2.10. Ácido clorhídrico y metanol: 250 ml de ácido clorhídrico concentrado (SIC! concentrado) grado analítico y 750 ml de metanol.
- 3.2.11. Embudo de decantación de 250 ml.
- 3.2.12. Matraz aforado de 50 ml.
- 3.2.13. Matraz aforado de 500 ml.
- 3.2.14. Matraz aforado de 1 000 ml.
- 3.2.15. Matraz esférico de fondo redondo con esmerilado cónico, condensador de reflujo de 250 ml, granulados para facilitar la ebullición.
- 3.2.16. pH-metro.
- 3.2.17. Fotómetro para medidas a 650 nm, con células de 1 a 5 cm.
- 3.2.18. Papel de filtro cualitativo.

3.3. **Método**

Las muestras a analizar no deberán tomarse a través de una capa de goma espuma.

Después de haber sido cuidadosamente limpiado con agua, el equipo utilizado para el análisis se enjuagará completamente con una solución de ácido clorhídrico y de metanol (3.2.10), y con agua desionizada inmediatamente antes de utilizarlo.

▼ **M1**

Filtrar los afluentes y efluentes (SIC! efluentes) de la planta de lodos activados a examinar inmediatamente después de efectuado el muestreo. Desechar los primeros 100 ml de los filtrados.

Colocar un volumen medido de la muestra, neutralizado en caso necesario, en un embudo de decantación de 250 ml (3.2.1). El volumen de la (SIC! de la) muestra deberá contener entre 20 y 150 g de MBAS. Si el contenido en MBAS fuere menor, se podrán utilizar hasta 100 ml de la muestra. En caso de utilizar menos de 100 ml, se diluirá la muestra en agua desionizada hasta obtener 100 ml. Añadir a la muestra 10 ml de la solución tampón (3.2.1), 5 ml de la solución neutra de azul de metileno (3.2.2) y 15 ml de cloroformo (3.2.4). Agitar la mezcla uniformemente y sin demasiada energía durante un minuto. Después de la separación de fases, se pasará la capa de cloroformo a un segundo embudo de decantación que contenga 110 ml de agua desionizada y 5 ml de solución ácida de azul de metileno (3.2.3). Agitar la mezcla durante un minuto. Hacer pasar la capa de cloroformo a través de un filtro de algodón hidrófilo, previamente lavado con alcohol y empapado de cloroformo, a un matraz aforado (3.2.12).

Extraer, por tres veces, las soluciones alcalinas y ácidas, realizando la segunda y la tercera extracción mediante 10 ml de cloroformo. Filtrar los extractos combinados de cloroformo a través del mismo filtro de algodón hidrófilo y diluir, hasta la marca de 50 ml del matraz (3.2.12), con el cloroformo utilizado en el segundo lavado del algodón hidrófilo. Medir la absorbencia de la solución de cloroformo con un fotómetro de 650 nm en células de 1 a 5 cm comparándola con la del cloroformo puro. Hacer un ensayo de determinación en blanco utilizando el proceso.

**3.4. Curva patrón**

Preparar una solución patrón a partir de la sustancia tipo de dodecibenceno-metiléster de ácido sulfónico (tetrapropileno tio PM 340) después (SIC! tipo PM 340) después de saponificación en la sal de potasio. La MBAS se expresará en dodecibenceno sulfonato de sodio (PM 348).

Pesar de 400 a 450 mg de dodecibenceno-metiléster (SIC! metiléster) de ácido sulfónico (3.2.5) con una aproximación de 0,1 mg en un matraz esférico de fondo redondo y añadir 50 ml de solución de hidróxido de potasio y de etanol (3.2.6) y algunos granulados para facilitar la ebullición. Después de montar el condensador de reflujo, hacer hervir durante una hora. Una vez enfriado, lavar el condensador y la junta esmerilada de vidrio con unos 30 ml de etanol y añadir dichos lavados al contenido del matraz. Determinar la graduación de la solución de ácido sulfúrico hasta la decoloración de la fenoltaleína. Transferir dicha solución a un matraz aforado de 1 000 ml (3.2.14), completar el volumen diluyendo en agua desionizada y mezclar.

A continuación volver a diluir una parte de esta solución madre del tensioactivo. Sacar de la misma 25 ml y transferirlos a un matraz aforado de 500 ml (3.2.13), completar el volumen diluyendo en agua desionizada y mezclar.

Dicha solución tipo contendrá  $\frac{E \times 1,023}{20\,000}$  mg MBAS, donde E representa el peso de la muestra en mg.

Para establecer la curva patrón, extraer respectivamente (SIC! respectivamente) 1, 2, 4, 6 y 8 ml de la solución patrón y diluir cada una de dichas tomas hasta 100 ml con agua desionizada. A continuación, proceder como se indica en el punto 3.3 (incluyendo un ensayo de determinación (SIC! determinación) en blanco).

**3.5. Cálculo de los resultados**

La curva patrón (3.4) indica la cantidad de tensioactivos aniónicos (MBAS) de la muestra. El contenido en MBAS de la muestra se obtendrá mediante la fórmula siguiente:

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

V = el volumen en ml de la muestra utilizada.

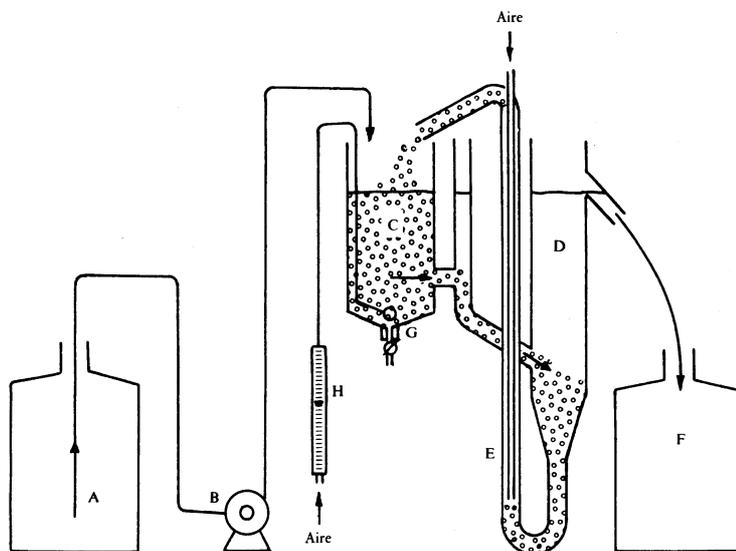
Los resultados se expresarán en dodecibenceno sulfonato de sodio (PM 348).

**3.6. Expresión de los resultados**

Los resultados deben expresarse en MBAS mg/l con una tolerancia de 0,1 mg.

▼M1

Figura 1



- A: Recipiente de almacenamiento inicial
- B: Bomba dosificadora
- C: Cuba de aireación (capacidad 3 l)
- D: Decantador
- E: Bomba de aire comprimido
- F: Colector de efluente
- G: Difusor (vidrio fritado)
- H: Medidor de flujo de aire

Figura 2

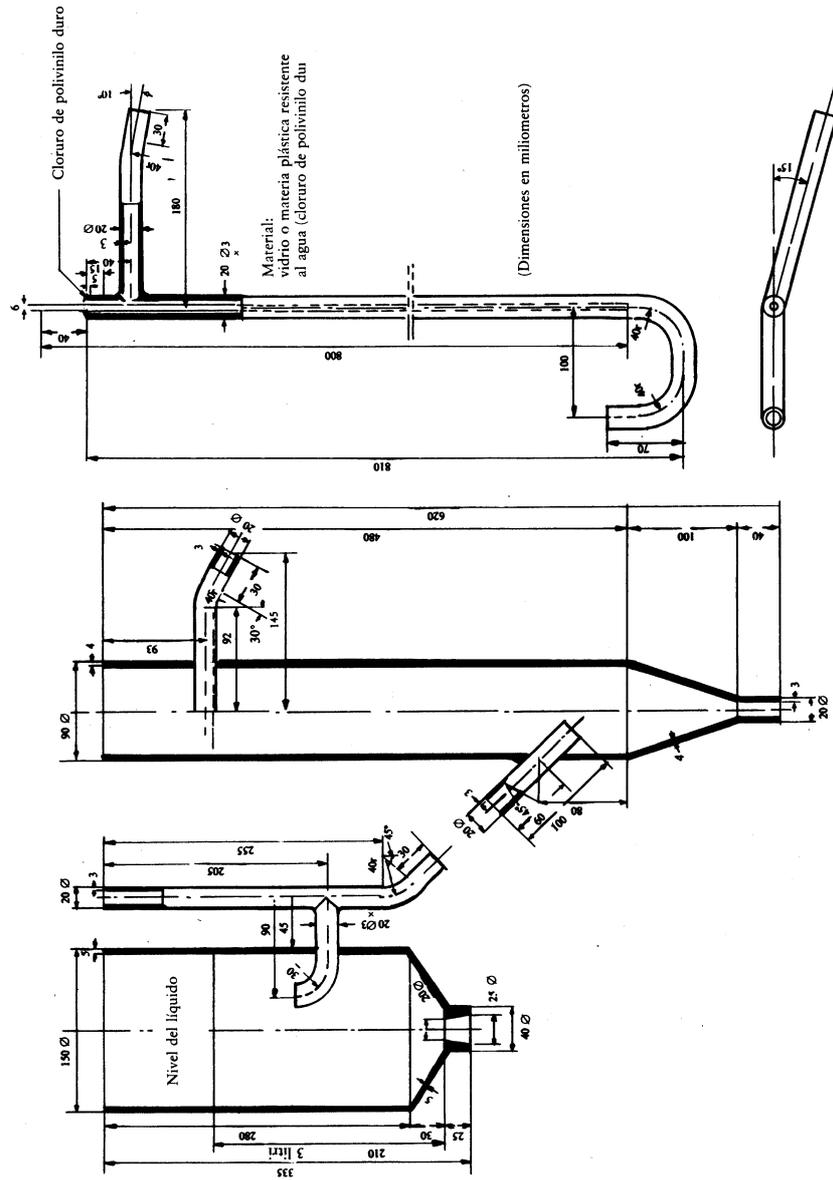
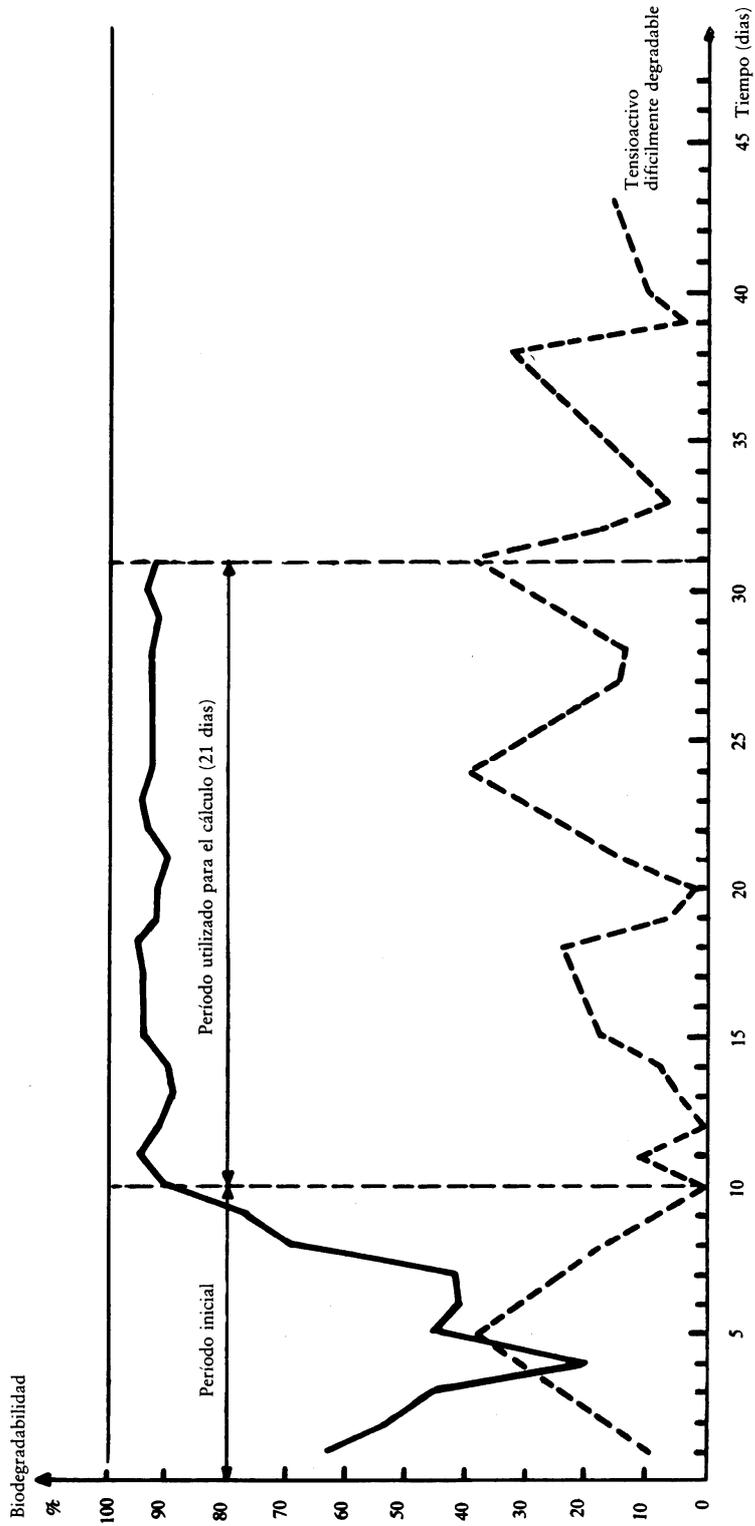


Figura 3  
Cálculo de la biodegradabilidad — Prueba de confirmación



▼ M1

Figura 4

## Columna de intercambio calefactora

(Dimensiones en milímetros)

