

BIODEGRADABILIDAD DE INGREDIENTES TENSOACTIVOS DE DETERGENTES Y DE OTROS PRODUCTOS DE LIMPIEZA. ESPECIFICACIONES

0. INTRODUCCIÓN

Los agentes tensioactivos son ingredientes importantes de los detergentes y de otros productos de limpieza, que pueden llegar al medioambiente acuático en pequeñas cantidades después del tratamiento de aguas residuales por tanto deben cumplir con especificaciones definidas con el fin de garantizar una elevada protección medioambiental, especialmente del medio ambiente acuático y para evitar o reducir al mínimo los riesgos durante su uso. Los agentes tensioactivos, también llamados agentes de superficie, están presentes en los detergentes y otros productos de limpieza para reducir la tensión superficial de los líquidos y favorecer así la humectación de las superficies a fin de facilitar la limpieza. Por tanto, es importante para la protección del medio ambiente, establecer los niveles cuantificables reales de concentración de sustancias y la determinación de sus escalas de biodegradabilidad y demostrar biodegradabilidad de los productos que se expendan en el país mediante la descripción clara y precisa de esta información a través de este documento.

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

1.1 Esta END de norma establece los requisitos de biodegradabilidad de los ingredientes tensioactivos de los detergentes y demás productos de limpieza y su evaluación de la conformidad, con el fin de reforzar la protección del medio ambiente acuático contra los efectos nocivos de éstas sustancias y proteger a los consumidores al mejorar la información proporcionada sobre la biodegradabilidad del agente tensioactivo usado en dichos productos.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos referenciados son indispensables para la aplicación de esta norma. Para referencias fechadas, se aplica únicamente la edición citada. Para referencias no fechadas, se aplica la última edición del documento referenciado (incluida cualquier corrección).

NTC 545, Jabones y detergentes. Definiciones generales.

NTC 4229, Método de ensayo para la biodegradabilidad del alquilbenceno sulfonato (ASTM D2662, Standard Test Method for Biodegradability of Alkylbenzene Sulfonates).

NTC 4256, Gestión ambiental. Calidad de agua. Evaluación de la eliminación y biodegradabilidad de compuestos orgánicos en un medio acuoso. Ensayo de simulación de lodos activados (ISO 11733, Water Quality. Evaluation of the Elimination And The Biodegradability Of Organic Compounds In An Aqueous Medium. Activated Sludge Simulation Test).

NTC 4449 Calidad del agua. Evaluación de la biodegradabilidad aeróbica "última" de compuestos orgánicos en un medio acuoso. Metodo de análisis del dióxido de carbono liberado (ISO 9439, Water Quality. Evaluation of Ultimate Aerobic Biodegradability of Organic Compounds in Aqueous Medium — Carbon Dioxide Evolution Test).

ISO 7827:2010, *Water quality -- Evaluation of the "ready", "ultimate" aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium -- Method by analysis of dissolved organic carbon (DOC)*.

ISO 9408, *Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium by determination of oxygen demand in a closed respirometer*.

ISO 9887, *Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Semi-continuous activated sludge method (SCAS)*.

ISO 9888, *Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Static test (Zahn-Wellens method)*.

ISO 10707, *Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds — Method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test)*.

ISO 10708, *Water quality -- Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds -- Determination of biochemical oxygen demand in a two-phase closed bottle test*.

ISO 14593, *Water quality -- Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium -- Method by analysis of inorganic carbon in sealed vessels (CO₂ headspace test)*.

NF T73-260 Juin 1981, Agents de surface - Détergents - Agents de surface anioniques - Détermination de la biodégradabilité

OECD, *Guidelines for the Testing of Chemicals: Test No. 310: Ready Biodegradability - CO₂ in sealed vessels (Headspace Test)* 2006.

OECD, *Guidelines for the Testing of Chemicals: Test No. 301: Ready Biodegradability*. 1992.

OECD Test Guidelines No. 301 A-F: DOC Die-Away Test (TG 301 A), CO₂ Evolution Test (TG 301 B), Modified MITI Test (I) (TG 301 C), Closed Bottle Test (TG 301 D), Modified OECD Screening Test (TG 301 E) and Manometric Respirometry Test (TG 301 F).

3. DEFINICIONES

Para los propósitos de esta END de norma se aplican las definiciones de la NTC 545 y de la ASTM D459, además de las siguientes:

3.1 Agente tensioactivo (*surface active agent; surfactant*). Toda sustancia orgánica o preparado utilizado en los detergentes, que tiene propiedades tensioactivas y que consta de uno o varios grupos hidrófilos y de uno o varios grupos hidrófobos cuyas características y tamaño permiten la disminución de la tensión superficial del agua, la formación de monocapas de esparcimiento o de adsorción en la interfase agua/aire, la formación de emulsiones, microemulsiones o micelas y la adsorción en la interfase agua/sólido.

[REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2])]

3.2 Agente tensioactivo aniónico (*anionic surfactant; anionic surface active agent*). Compuesto químico que en solución produce iones activos de superficie cargados negativamente.

[ASTM D459, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [14])]

3.3 Biodegradabilidad (*biodegradability*). Susceptibilidad que tiene un compuesto o una sustancia química de ser descompuesta por microorganismos. Un factor importante de la biodegradabilidad es la velocidad con que las bacterias, los factores naturales del medio ambiente o ambos, pueden descomponer químicamente dichos compuestos o sustancias químicas.

[ecoetiquetado Europa – NTC 5131]

3.4 Biodegradabilidad aerobia final (*ultimate aerobic biodegradability*). Nivel de biodegradación alcanzado cuando el tensioactivo es totalmente descompuesto, en presencia de oxígeno, por microorganismos para dar dióxido de carbono, agua y sales minerales de cualquier otro elemento presente (mineralización), de acuerdo con las mediciones a través de los métodos de ensayo reconocidos internacionalmente, y nuevos constituyentes celulares microbianos (biomasa).

[REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2])]

3.5 Biodegradabilidad fácil; biodegradabilidad inmediata (*ready biodegradable*). Clasificación arbitraria de los productos químicos que han pasado algunas de las pruebas de selección especificadas de biodegradabilidad última; estas pruebas son tan rigurosas que se supone que estos compuestos son biodegradables de forma rápida y completamente en el medio acuático en condiciones aerobias.

[Basada en la definición de la Referencia [9]] del Anexo C (Informativo), Bibliografía]

3.6 Biodegradabilidad intrínseca, biodegradabilidad inherente (*inherent biodegradability*). Clasificación de sustancias químicas para las cuales existe evidencia inequívoca de biodegradación (primaria o última) en cualquiera de los ensayos de biodegradabilidad reconocido.

3.7 Biodegradación primaria (*primary biodegradation*). Cambio estructural (transformación) de un tensioactivo por la acción de microorganismos, con resultado de la pérdida de sus propiedades tensioactivas por degradación de la sustancia madre y la

consiguiente pérdida de su capacidad tensioactiva de acuerdo con las mediciones a través de los métodos de ensayo reconocidos.

[Adaptado de: REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2] y de la GTC 164 Referencia [21]).]

3.8 Biodegradación primaria (*primary biodegradation*). Nivel de degradación obtenido cuando la sustancia de ensayo sufre cualquier cambio estructural, que no sea mineralización, como resultado de la acción microbiana.

[ISO 7827:2010]

3.9 Biodegradación fácil (*“ready” biodegradation*). Nivel de degradación bajo condiciones definidas, que indica que el compuesto de ensayo se considera que probablemente se degrada rápido y por completo bajo condiciones aeróbicas del medio ambiente acuático.

[ISO 7827:2010]

3.10 Biodegradación última; biodegradación final (*ultimate biodegradation*). Nivel de degradación obtenido cuando la sustancia de ensayo es totalmente utilizada por microorganismos dando lugar a la producción de dióxido de carbono, agua, sales minerales y nuevos constituyentes celulares microbianos (biomasa).

[ISO 7827:2010]

3.11 Detergente (*detergent*). Toda sustancia o preparado que contenga agentes tensioactivos u otros agentes tensioactivos, que se utilice en procesos de lavado y limpieza. Los detergentes podrán adoptar cualquier forma (líquido, polvos, pasta, barra, pastilla, formas moldeadas, etc.) y ser comercializados para uso doméstico, institucional o industrial. También se considerarán incluidos en esta definición los siguientes productos:

3.11.1 Preparado auxiliar para el lavado (*auxiliary washing preparation*). Detergente destinado al prelavado, aclarado o blanqueo de ropa, ropa de casa, etc.

3.11.2 Preparado de limpieza (*cleaning preparation*). Detergente destinado a limpiadores domésticos generales o a la limpieza de otras superficies (materiales, productos, maquinaria, artefactos mecánicos, medios de transporte y equipo relacionado, instrumentos, aparatos, etc.).

3.11.3 Otros preparados de limpieza y lavado (*other cleaning and washing preparations*). Detergentes destinados a cualquier otro proceso de lavado o limpieza;

3.11.4 Suavizante para ropa (*laundry fabric –softener*). Detergente destinado a modificar el tacto de los tejidos en procesos complementarios a su lavado.

[REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2])]

3.12 Evaluación de la conformidad (*conformity assessment*). Actividad que provee la demostración de que se cumplen los requisitos especificados relativos a un producto, proceso, sistema, persona u organismo.

NOTA 1 La evaluación de la conformidad cubre actividades tales como, el ensayo/prueba, la inspección, la certificación así como la acreditación de organismo de evaluación de la conformidad.

NOTA 2 La expresión “objeto de evaluación de la conformidad” u “objeto” se utiliza para abarcar el material, producto, instalación, proceso, sistema, persona u organismo particular al que se aplican los requisitos especificados en cualquier instancia. Un servicio está cubierto por la definición de producto.

[NTC-ISO/IEC 17000]

NOTA 3. Para el propósito de este documento la evaluación de la conformidad es el conjunto de actividades necesarias (véase la Nota 1), a las que debe someterse el agente tensioactivo para verificar el cumplimiento de los requisitos establecidos en esta END.

3.13 Lavado (*washing*). Limpieza de ropa, tejidos, vajilla y otras superficies duras.

[REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2])]

3.14 Limpieza (*cleaning*). Proceso que remueve la materia indeseable.

[ASTM D459 (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [14])]

3.15 Preparado (*preparation*). Mezcla o solución compuesta por dos o más sustancias.

[REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2])]

3.16 Porcentaje de biodegradación (*percentage biodegradation*). Cantidad porcentual de agente tensioactivo biodegradado.

[MERCOSUR, véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [10]]

3.17 Sustancia (*substance*). Elementos químicos y sus compuestos en estado natural u obtenidos mediante cualquier proceso productivo, incluidos los aditivos necesarios para mantener la estabilidad de los productos y las impurezas derivadas del proceso empleado, pero excluidos los disolventes que se puedan separar sin influir en la estabilidad de la sustancia ni cambiar su composición.

[REGLAMENTO (CE) No 648/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes, (véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [2])]

4. REQUISITOS DE BIODEGRADABILIDAD

4.1 Todos los agentes tensioactivos utilizados en los detergentes y demás productos de limpieza que se comercialicen en el país deben ser fácilmente biodegradables o deben cumplir el ensayo de biodegradabilidad aerobia primaria

4.1.1 Los productos fácilmente biodegradables deben cumplir con lo establecido en el numeral 5.1 o en la Tabla 1.

4.1.2 La biodegradabilidad aerobia primaria de los agentes tensioactivos se considera satisfactoria en un nivel mínimo del 80 %, medida de conformidad con los métodos de ensayo indicados en el numeral 5.3.

4.1.3 Para evaluar el grado de biodegradabilidad de los alquilbenceno sulfonatos se evalúa la reducción del agente tensioactivo en el ensayo presuntivo de la NTC 4229 (ASTM D2667) y si es igual al 90 % ó mayor, se considera que el material es biodegradable sin ensayo adicional. Si la reducción del agente tensioactivo en el ensayo presuntivo está entre el 80 % y el 90 %, el material debe someterse a un ensayo confirmativo. Si la reducción del agente tensioactivo en el ensayo presuntivo es menor que el 80 %, se considera que el material no es biodegradable. Si es necesario efectuar el ensayo de confirmación, la reducción del agente tensioactivo en este ensayo debe ser al menos del 90 % para que el material se considere adecuadamente biodegradable.

5. EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD Y VERIFICACIÓN

5.1 Demostrar la biodegradabilidad fácil o inmediata mediante la revisión de la lista DID (Detergent Ingredient Database Final Report (DID-list), de Europa, versión 2007, véase el Anexo C (Informativo), Bibliografía, Referencia [7]), en la que el ingrediente tensioactivo debe tener la indicación «R» en la columna sobre biodegradabilidad aerobia correspondiente a la identificación de un producto fácilmente biodegradable en condiciones aerobias o no. Si procede, se podrán utilizar revisiones posteriores de esta base de datos de los ingredientes de detergentes a medida que estén disponibles.

5.2 Para los agentes tensioactivos que no figuren en la Parte A de la lista DID, se debe facilitar la información pertinente procedente de documentación científica u otras fuentes o los resultados de pruebas adecuadas que demuestren que dichos agentes tienen biodegradabilidad primaria o fácil (véanse las Referencias de la [25] a la [28]). Las empresas elaboradoras de productos que utilicen agentes tensioactivos cuya biodegradabilidad sea conocida deben disponer de la información técnica del proveedor como respaldo de su biodegradabilidad.

5.3 La biodegradabilidad primaria se mide calculando el nivel de agentes tensioactivos originales restante en los licores biodegradados, de conformidad con los métodos de ensayo de laboratorio siguientes:

5.3.1 El dictamen del laboratorio en lo referente a la biodegradabilidad primaria de los agentes tensioactivos debe basarse en el método de referencia (prueba de confirmación) descrito en el Anexo A (Normativo), basado en el de la OCDE, publicado en el informe técnico de la OCDE del 11 de junio de 1976, [REGLAMENTO (CE) No 648/2004, Sección 1 del Anexo VIII (Véase el Anexo C (Informativo) [2], [3]).

5.3.1.1 Se permiten cambios en el procedimiento de ensayo de confirmación, siempre que se ajusten a la NTC 4256 (ISO 11733).

5.3.2 Se pueden utilizar los siguientes métodos de biodegradabilidad primaria:

5.3.2.1 NF T73-260 Juin 1981, Agents de surface - Détergents - Agents de surface anioniques - Détermination de la biodégradabilité

5.3.2.2 Método en vigor en Alemania, establecido por *Verordnung über die Abbaubarkeit anionischer und nichtionischer grenzflächenaktiver Stoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln*, de 30 de enero de 1977, publicado en el *Bundesgesetzblatt* de 1977, Parte I, página 244, tal como se describe en el Reglamento por el que se modifica dicho Reglamento, de 4 de junio de 1986, publicado en el *Bundesgesetzblatt* de 1986, parte I, página 851.

5.3.2.2 Método del Reino Unido denominado 'Porous Pot Test', descrito en el documento, Technical Report No 70 (1978) del Water Research Centre.

5.3.3 Métodos analíticos para los agentes tensioactivos aniónicos. La determinación de los agentes tensioactivos aniónicos en los ensayos de biodegradabilidad se deben realizar con base en el análisis de la sustancia activa al azul de metileno (MBAS) de acuerdo con los criterios establecidos en el Anexo A (Normativo) literal A.2. En el caso de los agentes tensioactivos aniónicos que no reaccionen al método MBAS antes citado, o si resulta más apropiado por cuestiones de eficacia o precisión, se deben aplicar análisis instrumentales específicos apropiados, como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o la cromatografía de gases (CG). El fabricante del agente tensioactivo aniónico debe proporcionar a las autoridades nacionales competentes, a petición de las mismas, muestras del agente tensioactivo puro en cuestión.

5.3.4 Métodos analíticos para los agentes tensioactivos no iónicos. La determinación de los agentes tensioactivos no iónicos en los ensayos se realizará con el método de la sustancia activa al bismuto (BiAS) de acuerdo con el procedimiento analítico establecido en la NTC 4256 (ISO 11733) o en la sección 3 del Anexo VIII del Reglamento (CE) No. 648/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004, sobre detergentes (Texto pertinente a efectos del EEE) (Véase el anexo I (Informativo) [6], [8]).

En el caso de los agentes tensioactivos no iónicos que no reaccionen al método BiAS antes citado, o si resulta más apropiado por cuestiones de eficacia o precisión, se aplicarán análisis instrumentales específicos apropiados, como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o la cromatografía de gases (CG). El fabricante proporcionará a las autoridades competentes, a petición de las mismas, muestras del agente tensioactivo puro en cuestión.

NOTA. Se puede utilizar cualquier otro método de análisis reconocido o validado.

5.3.5 Métodos analíticos para los agentes tensioactivos catiónicos. La determinación de los agentes tensioactivos catiónicos en los ensayos se realizará con el análisis de la sustancia activa al azul de disulfina (DBAS) de acuerdo con los siguientes procedimientos DBAS: El método usado en la República Federal de Alemania (1989) DIN 38 409-Ausgabe: 1989-07.

En el caso de los agentes tensioactivos catiónicos que no reaccionen al método de ensayo antes citado, o si resulta más apropiado por cuestiones de eficacia o precisión (que deben justificarse), se aplicarán análisis instrumentales específicos apropiados, como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o la cromatografía de gases (CG). El fabricante proporcionará a las autoridades nacionales competentes, a petición de las mismas, muestras del agente tensioactivo puro en cuestión. (8.4.2004 L 104/11 Diario Oficial de la Unión Europea ES).

5.3.6 Métodos analíticos para los agentes tensioactivos anfotéricos. La determinación de tensioactivos anfotéricos en los ensayos se hará mediante análisis utilizando los procedimientos siguientes:

- 1) Si no hay agentes tensioactivos catiónicos: método usado en la República Federal de Alemania (1989) DIN 38 409-Teil 20.
- 2) En los demás casos: método Orange II (Boiteux, 1984).

En el caso de los agentes tensioactivos anfotéricos que no reaccionen a los ensayos antes citados, o si resulta más apropiado por cuestiones de eficacia o precisión (que deben justificarse), se aplicarán análisis instrumentales específicos apropiados, como CLAR o CG. El fabricante proporcionará a las autoridades competentes, a petición de las mismas, muestras del agente tensioactivo puro en cuestión.

NOTA. Se puede utilizar cualquier otro método de análisis reconocido o validado.

5.3.7 Los ensayos especificados sobre la biodegradabilidad de los agentes tensioactivos se deben realizar en laboratorios que se ajusten a una norma internacional reconocida, en concreto la norma NTC/ISO/IEC/17025 o a los principios de las prácticas correctas de laboratorio.

5.3.8 El grado de biodegradabilidad de los alquilbenceno sulfonatos se evaluará con base en el método que sirve como un índice de la aptitud del sulfonato para el uso general como agente tensioactivo de la norma NTC 4229 (ASTM D2667).

5.3.9 Los métodos de biodegradabilidad fácil o inmediata se encuentran relacionados en la Tabla 1.

Tabla 1.Requisitos y métodos de biodegradabilidad fácil o inmediata

Tipo de método	Método de las guías OCDE	Método ISO/NTC	Directiva Europea
Biodegradabilidad fácil o inmediata, (aerobia) Mínimo 60 % en 28 d			
Ensayo de espacio de cabeza CO ₂ o ensayo de CO ₂ en recipientes cerrados. Alternativo al 301 B	310	ISO 14593 Método de referencia.	
Ensayo Sturm modificado (Ensayo de evolución de CO ₂)	301 B	NTC 4449 o ISO 9439	Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-C
Ensayo de la botella cerrada (respirometría manométrica)	301 D	ISO 10707	Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-E
Ensayo MITI (I) modificado	301 C	--	Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-F
Ensayo de respirometría manométrica	301 F	ISO 9408	Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-D
Demanda bioquímica de oxígeno en una botella cerrada, en dos fases de biodegradación.		ISO 10708	
Biodegradabilidad fácil o inmediata (aerobia), mínimo 70 % en 28 d			
Desaparición de carbono orgánico disuelto COD	301 A	ISO 7827:2010	Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-A)
Detección modificada (desaparición del carbono orgánico disuelto COD)	301 E	ISO 7827:2010	Directiva 67/548/CEE anexo V.C.4-B)
* Los métodos de ensayo incluidos en el Anexo V de la Directiva no. 67/548/CEE se incorporaron al Reglamento (CE) no. 440/2008, (véase la Referencia [31] en el Anexo B (Informativo)).			

NOTA Los ensayos de biodegradabilidad fácil o inmediata, sirven como prueba inicial, son relativamente simples, económicos, y se aproximan a las condiciones microbianas comúnmente encontradas en aguas superficiales. Son muy poco probables los resultados falsos positivos, pero son bastante comunes los resultados falsos negativos. Los ensayos de biodegradabilidad fácil o inmediata más conocidos son la *Prueba de Sturm* y el *MITI-I* (Karsa y Porter, 1995). Los ensayos de biodegradabilidad inherente o predictivos, se realizan con niveles más altos de biomasa y nutrientes que la pruebas de biodegradación fácil o inmediata, y por tanto tienen una mayor probabilidad de predecir el potencial que tiene una sustancia de ser biodegradada en ambientes con biomasa microbianas altas, como por ejemplo en lodos activados. Un resultado positivo indica que la sustancia es removida, bien sea por absorción o biodegradación, de ambientes aclimatados con biomasa microbianas altas, y la posibilidad de resultados falsos negativos es muy baja. Los ensayos de biodegradabilidad inherente más conocidos son el *SCAS*, *MITI-II*, y *Zahn-Wallens* (Karsa y Porter, 1995) (véase la Referencia [23] en el Anexo B (Informativo) Bibliografía).

5.3.10 Cuando sea necesario, las autoridades competentes podrán exigir documentación acreditativa y efectuar verificaciones independientes. En caso de que se deban presentar declaraciones, documentación, informes de ensayos u otros justificantes que demuestren el cumplimiento de los criterios, se entenderá que dichos documentos podrán ser presentados por el fabricante o, en su caso, su proveedor o proveedores.

NOTA Para la selección de ensayos de biodegradabilidad se puede consultar la GTC 164 (véase la referencia [21] en el Anexo B (Informativo) Bibliografía).

ANEXO A (Normativo)
DETERMINACIÓN DE LA BIODEGRADABILIDAD PRIMARIA DE LOS AGENTES TENSIOSACTIVOS

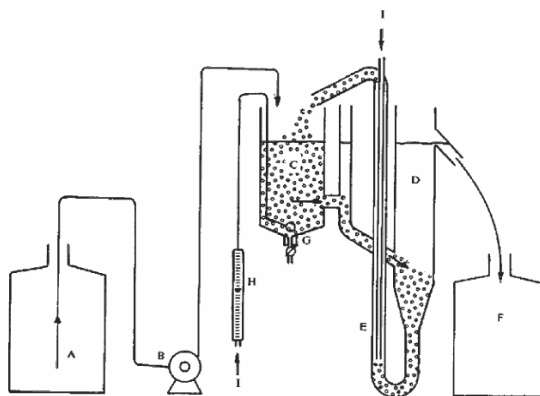
A.1 MÉTODO DE REFERENCIA (PRUEBA DE CONFIRMACIÓN)

A.1.1. Definición

Este método describe un modelo de laboratorio con lodos activados y decantador secundario diseñado para simular una planta municipal de tratamiento de aguas residuales. Se podrán aplicar a este método condiciones de funcionamiento mejoradas de acuerdo con el estado de la técnica, tal como describe la NTC 4256 (ISO 11733).

A.1.2 Equipo necesario

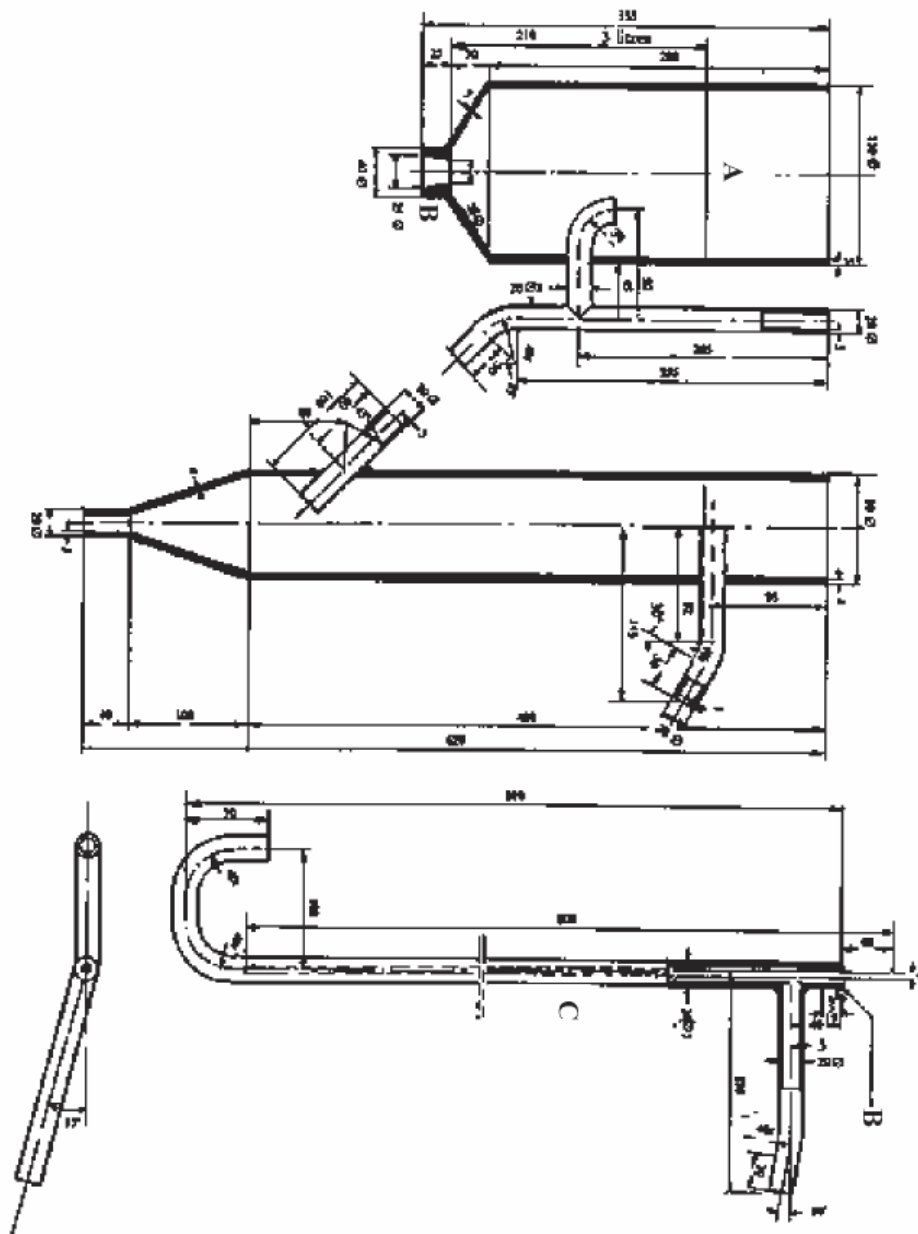
A.1.2.1 El método de medida se basará en el empleo de una pequeña planta de lodos activados, cuyo esquema básico se representa en la Figura A.1 y, de forma más detallada, en la Figura A.2.



Convenciones:

- A. Recipiente de almacenamiento inicial
- B. Bomba dosificadora
- C. Cuba de aireación (capacidad de 3 l)
- D. Decantador
- E. Bomba de aire comprimido
- F. Colector
- G. Dispositivo de aireación de vidrio fritado
- H. Caudalímetro
- I. Aire

Figura A.1. Planta de lodos activados: generalidades



(dimensiones en milímetros)

Convenciones

- A. Nivel del líquido
- B. PVC duro
- C. Vidrio o materia plástica resistente al agua (PVC duro)

Figura A.2. Planta de lodos activados: detalle

A.1.2.2 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 F para recoger el efluente tratado.

A.1.2.3 Los recipientes A y F deben ser de vidrio o de un material plástico apropiado y de una capacidad de 24 L, como mínimo. La bomba B debe asegurar un flujo constante de agua residual sintética hacia la cuba de aireación que, durante una operación normal, debe 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.

A.1.3 Agua residual sintética

Para efectuar el presente ensayo, se debe utilizar agua residual sintética. Disuelva 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 de potasio (K_2HPO_4),
- 10 mg \pm 1 mg del agente tensioactivo.

El agua residual sintética debe prepararse de nuevo cada día.

A.1.4 Preparación de las muestras

A.1.4.1 Los agentes tensioactivos que no formen parte de un preparado podrán examinarse en su estado original.

A.1.4.2 Para preparar el agua residual sintética se debe determinar previamente el contenido activo del agente tensioactivo (véase el literal A.1.3).

A.1.5 Funcionamiento de la instalación

A.1.5.1 En primer lugar, se llenará la cuba de aireación C y el decantador D con agua residual sintética. El decantador D debe fijarse a la altura precisa para que el volumen contenido en la cuba de aireación C sea de 3 L.

A.1.5.2 La inoculación se debe efectuar 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 debe mantenerse bajo condiciones aerobias durante el periodo 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 pasa a través de la cuba de aireación C a razón de 1 L/h, lo cual equivale a un tiempo medio de retención de 3 horas.

A.1.5.3 Se debe regular 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 debe impedir 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, debe 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 fuera necesario, de dosis de 2 ml de una solución al 5 % de cloruro férrico.

A.1.5.4 El efluente del decantador D recogido en el colector F permanecerá en el mismo durante 24 h, transcurridas las cuales, y previa homogeneización de la mezcla, se tomará una muestra. Una vez efectuadas estas operaciones se limpiará cuidadosamente el colector F.

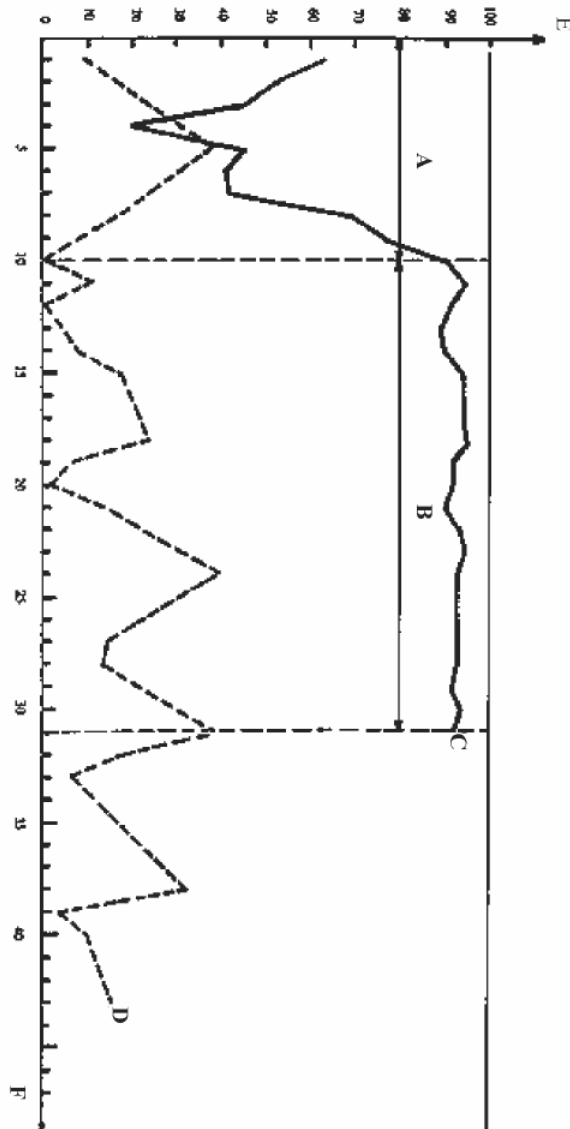
A.1.6 Control del dispositivo de medida

A.1.6.1 Inmediatamente antes de usar el agua residual sintética, determine su contenido de agente tensioactivo (en mg/l).

A.1.6.2 El contenido de agente tensioactivo (en mg/l) del efluente retenido durante 24 h en el colector F se determinará, inmediatamente después de la toma, utilizando el mismo método de análisis, si no se hace esto, las muestras deben preservarse, preferentemente por congelación. Determine la concentración se con una aproximación de 0,1 mg/L de agente tensioactivo.

A.1.6.3 Para comprobar la eficiencia del proceso, determine, al menos dos veces por semana, la demanda química de oxígeno (DQO) o el carbono orgánico disuelto (COD) del afluente 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.

A.1.6.4 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 período inicial indicado en la Figura A.3.



Convenciones

- A. Período inicial
- B. Período usado para el cálculo (21 días)
- C. Tensioactivo fácilmente biodegradable
- D. Tensioactivo difícilmente biodegradable
- E. Porcentaje de biodegradación (%)
- F. Tiempo (días)

Figura A.3. Cálculo de la biodegradabilidad. Ensayo de confirmación

A.1.6.5 Determine el contenido en materias secas minerales del lodo activado de la cuba de aireación dos veces por semana (en g/l). Si sobrepasa 2,5 g/l, elimine el exceso de lodo activado.

A.1.6.6 Efectúe el ensayo de biodegradación a la temperatura ambiente; dicha temperatura debe ser regular y mantenerse entre 19 °C - 24 °C.

A.1.7 Cálculo de la biodegradabilidad

A.1.7.1 El porcentaje de biodegradación del agente tensioactivo se debe calcular diariamente a partir del contenido de agente tensioactivo (expresado en mg/l) del agua residual sintética y del efluente correspondiente recogido en el colector F.

A.1.7.2 Los valores obtenidos se deben representar gráficamente, según se indica en la Figura A.3.

A.1.7.3 La biodegradabilidad del agente tensioactivo se debe calcular tomando la media aritmética de los valores obtenidos en el curso de los 21 días siguientes al período inicial, durante los cuales la biodegradación debe haber sido regular y la planta debe haber funcionado sin ninguna perturbación. La duración del período inicial de adaptación no debe ser, en ningún caso, superior a seis semanas.

A.1.7.4 Los valores de biodegradación diarios se deben calcular con una precisión de 0,1 %, pero el resultado final se redondeará a números enteros.

A.1.7.5 En algunos casos, se podrá reducir la frecuencia del muestreo pero, para calcular la media, se deben utilizar, como mínimo, los resultados de 14 tomas distribuidas a lo largo del período de 21 días que sigue al período inicial de adaptación.

A.2 DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES TENSIOACTIVOS ANIÓNICOS EN LOS ENSAYOS DE BIODEGRADABILIDAD

A.2.1. Principio

El método se basa en la propiedad del azul de metileno, colorante catiónico, de formar con los agentes tensioactivos aniónicos sales azules MBAS que pueden extraerse con 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

A.2.2 Reactivos y equipo

A.2.2.1 Solución reguladora de pH 10. Disuelva 24 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) grado analítico y 27 g de carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3) grado analítico, en agua desionizada y diluya hasta 1 000 ml.

A.2.2.2 Solución neutra de azul de metileno. Disuelva 0,35 g de azul de metileno grado analítico en agua desionizada y diluir hasta 1 000 ml. Preparar la solución, al menos, 24 h antes de su uso. La absorbencia de la fase cloroformo del ensayo en blanco, comparada con la del cloroformo puro, no debe sobrepasar 0,015 por 1 cm de espesor de la capa a 650 nm.

A.2.2.3 Solución ácida de azul de metileno. Disuelva 0,35 g de azul de metileno grado analítico en 500 ml de agua desionizada y mezcle con 6,5 ml de H_2SO_4 ($d = 1,84 \text{ g/ml}$). Diluya en 1 000 ml de agua desionizada. Prepare 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 debe sobrepasar 0,015 por 1 cm de espesor de la capa a 650 nm.

A.2.2.4 Cloroformo (triclorometano) CHCl_3 grado analítico, recientemente destilado.

A.2.2.5 Metiléster del ácido dodecibencenosulfónico.

A.2.2.6 Solución de hidróxido de potasio en etanol, KOH 0,1 M.

A.2.2.7 Etanol puro ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

A.2.2.8 Ácido sulfúrico (H_2SO_4 0,5 M).

A.2.2.9 Solución de fenoltaleína. Disuelva 1 g de fenoltaleína en 50 ml de etanol y añadir 50 ml de agua desionizada agitando continuamente. Elimine por filtración cualquier precipitado obtenido.

A.2.2.10 Ácido clorhídrico y metanol: 250 ml de ácido clorhídrico concentrado grado analítico y 750 ml de metanol.

A.2.2.11 Embudo de decantación de 250 ml.

A.2.2.12 Matrices aforados de 50 ml, 500 ml y de 1 000 ml.

A.2.2.13 Matraz de fondo redondo con esmerilado cónico, condensador de reflujo de 250 ml; granulados para facilitar la ebullición.

A.2.2.14 Medidor de pH.

A.2.2.15 Fotómetro para medidas a 650 nm, con celdas de 1 cm a 5 cm.

A.2.2.16 Papel de filtro cualitativo.

A.2.3 Método

A.2.3.1 Las muestras para analizar no deben tomarse a través de una capa de espuma.

A.2.3.2 Después de haber sido cuidadosamente limpiado con agua, el equipo utilizado para el análisis, enjuáguelo completamente con una solución de ácido clorhídrico y de metanol (A.2.2.10), y con agua desionizada inmediatamente antes de utilizarlo.

A.2.3.3 Filtrae los afluentes y efluentes de la planta de lodos activados por examinar inmediatamente después de efectuado el muestreo. Deseche los primeros 100 ml de los filtrados.

A.2.3.4 Pega un volumen medido de la muestra, neutralizado en caso necesario, en un embudo de decantación de 250 ml (A.2.2.1). El volumen de la muestra debe contener entre 20 µg y 150 µg 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, diluya la muestra en agua desionizada hasta obtener 100 ml. Añada a la muestra 10 ml de la solución reguladora de pH (A.2.2.1), 5 ml de la solución neutra de azul de metileno (A.2.2.2) y 15 ml de cloroformo (A.2.2.4). Agite la mezcla uniformemente y sin demasiada energía durante un minuto. Después de la separación de fases, pase 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 (A.2.2.3). Agite la mezcla durante un minuto. Haga 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 (A.2.2.12).

A.2.3.5 Extraiga, por tres veces, las soluciones alcalinas y ácidas, realizando la segunda y la tercera extracción mediante 10 ml de cloroformo. Filtre los extractos combinados de cloroformo a través del mismo filtro de algodón hidrófilo y diluya, hasta la marca de 50 ml del matraz (A.2.2.12), con el cloroformo utilizado en el segundo lavado del algodón hidrófilo. Mida 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. Haga un ensayo de determinación en blanco utilizando el proceso.

A.2.4 Curva de calibración

A.2.4.1 Prepare una solución de calibración a partir de la sustancia patrón de metiléster del ácido dodecilbenceno sulfónico (tetrapropileno tio PM 340) después de saponificación en la sal de potasio. La MBAS se expresará en dodecilbenceno sulfonato de sodio (PM 348).

A.2.4.2 Pese con una pipeta pesadora de 400 mg a 450 mg de metilester del ácido dodecilbenceno sulfónico (A.2.2.5) con una aproximación de 0,1 mg en un matraz de fondo redondo y añada 50 ml de solución de hidróxido de potasio y de etanol (A.2.2.6) y algunos granulados para facilitar la ebullición. Después de montar el condensador de reflujo, haga hervir durante una hora. Una vez enfriado, lave el condensador y la junta esmerilada de vidrio con unos 30 ml de etanol y añada dichos lavados al contenido del matraz. Valore la solución de ácido sulfúrico hasta la decoloración de la fenoltaleína. Transfiera dicha solución a un matraz aforado de 1 000 ml (A.2.2.14), enrase con agua desionizada y mezcle.

A.2.4.3 A continuación vuelva a diluir una parte de esta solución madre del agente tensioactivo. Transfiera una alícuota de 25 ml a un matraz aforado de 500 ml (A.2.2.12), enrase con agua desionizada y mezcle.

A.2.4.4 Dicha solución patrón contiene:

$$E \times 1,023 \text{ mg MBAS por ml}$$

20 000

en donde

E es el peso de la muestra en mg.

A.2.4.5 Para establecer la curva de calibración, extraiga respectivamente 1 ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml y 8 ml de la solución patrón y diluya cada una de dichas tomas hasta 100 ml con agua desionizada. A continuación, proceda como se indica en el punto A.3 (incluyendo un ensayo de determinación en blanco).

A.2.5 Cálculo de los resultados

A.2.5.1 La curva de calibración (A.4) indica la cantidad de agentes tensioactivos aniónicos (MBAS) de la muestra. El contenido en MBAS de la muestra se obtendrá mediante la fórmula siguiente:

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

en donde

V es el volumen en ml de la muestra utilizada.

Los resultados se expresarán como dodecylbenzenesulfonato de sodio (PM 348).

A.2.6. Expresión de los resultados

Los resultados deben expresarse en mg/L de MBAS con una aproximación de 0,1.

A.3. DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES TENSIOACTIVOS NO IÓNICOS EN LOS ENSAYOS DE BIODEGRADABILIDAD

A.3.1. Principio

Los agentes tensioactivos pueden ser concentrados y aislados mediante el paso de una corriente de gas. En la muestra utilizada, la cantidad de tensioactivo no iónico debe ser del orden de 250 µg — 800 µg. Durante el arrastre, el agente tensioactivo se disolverá en acetato de etilo. Después de la separación de las fases y evaporación del disolvente, el agente tensioactivo no iónico se precipitará en solución acuosa con el reactivo de Dragendorff modificado (KBil4 + BaCl2 + ácido acético glacial). A continuación se procede a filtrar el precipitado, lavarlo con ácido acético glacial y disolverlo en una solución de tartrato de amonio. El bismuto presente en la solución se valora potenciométricamente con una solución de pirrolidinaditiocarbamato a pH 4–5, utilizando un electrodo indicador de platino pulimentado y un electrodo de referencia de calomelano o de plata/cloruro de plata. El método será aplicable a los agentes tensioactivos no iónicos que contengan entre 6 y 30 unidades de óxido de alqueno. El resultado de la valoración se multiplicará por el factor empírico de 54 para convertirlo en el producto de referencia: nonilfenol condensado con 10 mol de óxido de etileno (NP 10).

A.3.2. Reactivos y equipo

Los reactivos deben prepararse en agua desionizada.

A.3.2.1. Acetato de etilo puro, recién destilado.

A.3.2.2. Bicarbonato sódico NaHCO3, grado analítico.

A.3.2.3. Ácido clorhídrico (HCl) diluido (20 ml de ácido clorhídrico concentrado, grado analítico, diluidos con agua hasta obtener 1 000 ml).

A.3.2.4. Metanol, grado analítico, recién destilado, conservado en una botella de vidrio.

A.3.2.5. Púrpura de bromocresol (0,1 g en 100 ml de metanol).

A.3.2.6. Agente de precipitación formado por una mezcla de 2 volúmenes de la solución A y de 1 volumen de la solución B. La mezcla se conservará en una botella de color topacio y podrá utilizarse hasta una semana después de su preparación.

A.3.2.6.1. Solución A

Disuelva 1,7 g de nitrato básico de bismuto grado analítico ($\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) en 20 ml de ácido acético glacial y complete con agua hasta 100 ml. A continuación, disuelva 65 g de yoduro potásico grado analítico en 200 ml de agua. Mezcle estas dos soluciones en un matraz aforado de 1 000 ml, añadir 200 ml de ácido acético glacial (A.3.2.7) y complete el volumen con agua.

A.3.2.6.2. Solución B

Disuelva 290 g de cloruro de bario grado analítico ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 1 000 ml de agua.

A.3.2.7. Ácido acético glacial de 99 % a 100 % (no usar concentraciones inferiores).

A.3.2.8. Solución de tartrato amónico: mezcle 12,4 g de ácido tartárico grado analítico y 12,4 ml de amoníaco grado analítico ($d = 0,910 \text{ g/ml}$) y complete hasta 1 000 ml con agua (o disolver directamente la cantidad equivalente de tartrato amónico grado analítico).

A.3.2.9. Solución de amoníaco diluido: 40 ml de amoníaco grado analítico ($d = 0,910 \text{ g/ml}$) diluidos con agua hasta obtener 1 000 ml.

A.3.2.10. Patrón de acetato regulador de pH: disuelva 40 g de hidróxido de sodio sólido grado analítico, en 500 ml de agua en un vaso y deje enfriar. Añada 120 ml de ácido acético glacial (véase el literal A.3.2.7). Mezcle bien, deje enfriar y transfiera a un matraz aforado de 1 000 ml. Enrase con agua.

A.3.2.11. Solución de pirrolidinaditiocarbamato (en lo sucesivo denominada «solución de carbato»): disuelva 103 mg de pirrolidina–ditiocarbamato sódico ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaS}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en unos 500 ml de agua, añada 10 ml de alcohol n–amílico grado analítico y 0,5 g de NaHCO_3 grado analítico y complete con agua hasta 1 000 ml.

A.3.2.12. Solución de sulfato de cobre (para normalización de lo establecido en el literal A.3.2.11).

SOLUCIÓN MADRE

Disuelva 1,249 g de sulfato de cobre grado analítico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) con 50 ml de ácido sulfúrico 0,5 M y enrase con agua hasta completar 1 000 ml.

SOLUCIÓN PATRÓN

Mezcle 50 ml de solución madre con 10 ml de H_2SO_4 0,5 M y enrase con agua hasta 1 000 ml.

A.3.2.13. Cloruro sódico grado analítico.

A.3.2.14. Equipo para extracción por arrastre con gas (véase la Figura A.5).

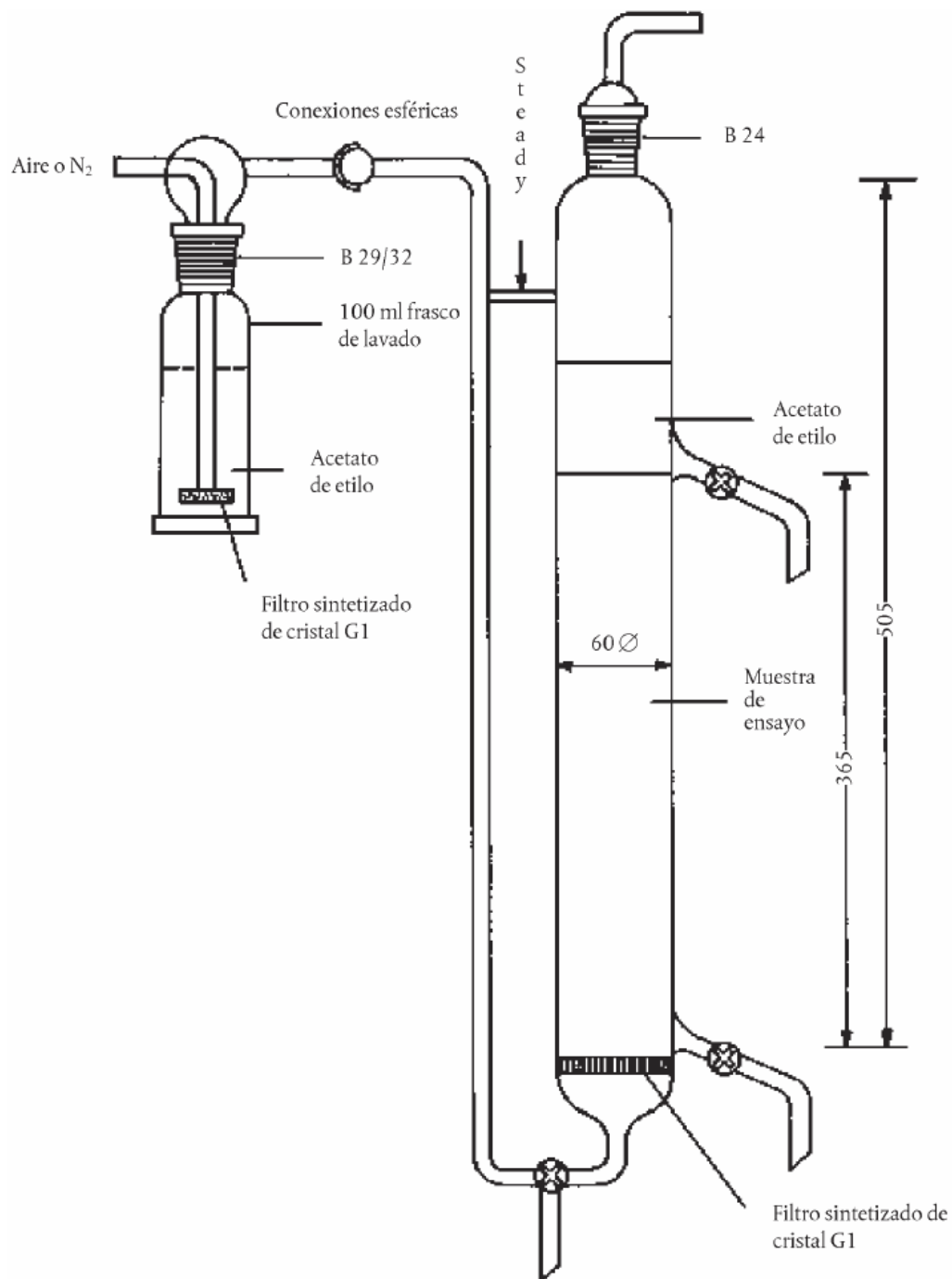


Figura A.5. Equipo para extracción por arrastre con gas

El diámetro de la placa porosa debe ser igual al diámetro interno del cilindro.

A.3.2.15 Embudo de decantación de 250 ml.

A.3.2.16 Agitador magnético con barra magnética de 25–30 mm.

A.3.2.17 Crisol de Gooch, diámetro de la base perforada = 25 mm, tipo G4.

A.3.2.18 Papeles de filtro circulares de fibra de vidrio de 27 mm de diámetro; diámetro de las fibras: 0,3 μm –1,5 μm .

A.3.2.19 Dos matraces para filtrado con adaptadores y juntas de caucho, de 500 ml y 250 ml, respectivamente.

A.3.2.20 Potenciómetro gráfico equipado de un electrodo indicador de platino pulimentado y de un electrodo de referencia de calomelano o de plata/cloruro de plata, con un intervalo de 250 mV, y con bureta automática de 20 ml – 25 ml de capacidad, o un equipo manual equivalente.

A.3.3 Método

A.3.3.1 Concentración y separación del agente tensioactivo

Filtre la muestra acuosa a través de un filtro de papel cualitativo. Elimine los 100 primeros ml del filtrado. Coloque en el equipo de extracción por arrastre con gas, previamente enjuagado con acetato de etilo, una cantidad medida de muestra, de forma que contenga entre 250 µg y 800 µg de tensioactivo no iónico.

Para mejorar la separación, añada 10 g de cloruro sódico y 5 g de bicarbonato sódico. Si el volumen de la muestra sobrepasa los 500 ml, dichas sales incorpore en forma sólida al aparato de extracción, burbujeando nitrógeno o aire a través del mismo para disolverlas. En el caso de utilizar una muestra más pequeña, disuelva las sales en 400 ml de agua antes de incorporarlas al aparato de extracción.

Añada agua hasta el nivel de la llave superior. Cuidadosamente añada 100 ml de acetato de etilo encima del agua.

Llene el frasco lavador en el tubo del gas (nitrógeno o aire) hasta sus dos tercios con acetato de etilo. A continuación, haga pasar a través del equipo una corriente de gas de 30 l/h a 60 l/h; es recomendable la utilización de un caudalímetro. Al principio, aumente gradualmente la corriente de gas. El paso del gas debe ajustarse de forma que las fases permanezcan claramente separadas, para reducir al mínimo la mezcla de las fases y de la solución de acetato de etilo con el agua. Corte el paso del gas al cabo de 5 minutos. Si hay una reducción del volumen de la fase orgánica de más del 20 % por solución en el agua, debe repetirse la operación vigilando cuidadosamente la velocidad del flujo gaseoso, reduciéndola si fuese necesario.

Separe la fase orgánica y trasvase completamente a un embudo de decantación. Vierta de nuevo el agua de la fase acuosa que haya pasado al embudo de decantación (únicamente deberían ser unos pocos ml), en el equipo de extracción por arrastre con gas. Filtre la fase de acetato de etilo a través de papel de filtro cualitativo seco en un vaso de 250 ml.

Vierta otros 100 ml de acetato de etilo en el aparato de extracción por arrastre con gas y pasar de nuevo aire o nitrógeno durante 5 minutos. Traslase la fase orgánica al embudo de decantación usado en la primera separación, rechazando la fase acuosa y filtrando la fase orgánica con el filtro utilizado para la primera dosis de acetato de etilo. Tanto el embudo de decantación como el filtro se enjuagarán con unos 20 ml de acetato de etilo.

El extracto de acetato de etilo se evaporará a sequedad al baño maría (en una vitrina). Una suave corriente de aire dirigida sobre la superficie de la solución durante la evaporación acelerará la misma.

A.3.3.2. Precipitación y filtración

Disuelva el residuo seco (véase el literal A.3.3.1) en 5 ml de metanol, añadir 40 ml de agua y 0,5 ml de HCl diluido (véase el literal A.3.2.3) y remueva la mezcla con un agitador magnético.

Añada a esta solución 30 ml de agente de precipitación (véase el literal A.3.2.6) medidos con una probeta. Después de una agitación repetida se formará el precipitado. Al cabo de 10 minutos de agitación, deje reposar la mezcla durante al menos 5 minutos.

Filtre la mezcla en un crisol de Gooch, cuya base se habrá recubierto con un papel de filtro de fibra de vidrio. A continuación, lave el filtro, bajo succión, con unos 2 ml de ácido acético glacial. Después, lave bien el vaso, la barra imantada y el crisol con ácido acético glacial, del que se necesitarán alrededor de 40 ml–50 ml. No será necesario transferir cuantitativamente al filtro el precipitado que quede adherido a las paredes del vaso ya que la solución del precipitado se debe verter de nuevo en el mismo vaso para su valoración, disolviéndose entonces el precipitado que haya podido quedar en él.

A.3.3.3 Disolución del precipitado

Disuelva el precipitado en el crisol filtrante mediante adición de una solución caliente (alrededor de 80 °C) de tartrato amónico (véase el literal A.3.2.8) en tres dosis de 10 ml cada una. Deje reposar cada dosis durante algunos minutos en el crisol antes de filtrarla en el matraz.

Vierta el contenido del matraz de filtración en el vaso. Enjuague las paredes del vaso con 20 ml de solución de tartrato para disolver el resto del precipitado.

En seguida, lave cuidadosamente el crisol, el adaptador y el matraz de filtración con 150 ml – 200 ml de agua, vertiendo el agua de enjuague en el vaso utilizado para la precipitación.

A.3.3.4 Valoración

Agite la solución con un agitador magnético (A.3.2.16) y añada algunas gotas de púrpura de bromocresol (véase el literal A.3.2.5) y la solución de amoníaco diluido (véase el literal A.3.2.9) hasta que vire a violeta (inicialmente, la solución será ligeramente ácida debido al residuo de ácido acético utilizado para el enjuague).

Después, añada 10 ml de regulador de acetato (véase el literal A.3.2.10) y, sumerja los electrodos en la solución, proceda a valorar potenciométricamente con la solución patrón de «carbato» (véase el literal A.3.2.11), estando la punta de la pipeta inmersa en la solución. La velocidad de valoración no debe sobrepasar los 2 ml/min. El punto final será la intersección de las tangentes a las dos ramas de la curva de potenciales. A veces se observa que la inflexión de la curva es muy plana; esto podrá corregirse limpiando cuidadosamente el electrodo de platino (pulíendolo con un papel abrasivo).

A.3.3.5 Determinación en blanco

Al mismo tiempo, proceda a una determinación en blanco siguiendo todo el proceso con 5 ml de metanol y 40 ml de agua, de conformidad con las instrucciones definidas en el véase el literal A.3.3.2. El valor correspondiente al blanco debe permanecer por debajo de 1 ml; de lo contrario, habría que sospechar de la pureza de los reactivos (véanse los literales A.3.2.3, A.3.2.7, A.3.2.8, A.3.2.9 y A.3.2.10), especialmente de su contenido en metales pesados, que deberían ser reemplazados. El valor del blanco se debe tener en cuenta para el cálculo del resultado final.

A.3.3.6 Control del factor de la «solución de carbato»

El factor de la solución de carbato debe determinarse diariamente antes de utilizarla. A tal fin, se valorarán 10 ml de la solución de sulfato de cobre (A.3.2.12) con la solución de carbato después de la adición de 100 ml de agua y 10 ml del regulador de acetato (A.3.2.10). Si el consumo en ml fuere igual a «a», el factor «f» se obtendrá de la siguiente manera:

$$f = (10/a),$$

y todos los resultados de las valoraciones se multiplicarán por este factor.

A.3.4 Cálculo de los resultados

Cada tensioactivo no iónico tendrá su propio factor en función de su composición, en particular, de la longitud de la cadena de óxido de alqueno. Las concentraciones de agentes tensioactivos no iónicos se expresarán en relación a una sustancia patrón –un nonilfenol de 10 unidades de óxido de etileno (NP 10)– para la cual se ha determinado un factor de conversión de 0,054.

La cantidad de tensioactivo presente en la muestra se calculará de la siguiente manera:

$$(b - c) \times f \times 0,054 = \text{mg de tensioactivo no iónico, expresado como mg de NP 10}$$

en donde:

- b es el volumen de «solución de carbato» utilizado para la muestra (ml),
c es el volumen de «solución de carbato» utilizado para la determinación en blanco (ml),
f es el factor de la «solución de carbato».

A.3.5 Expresión de los resultados

Los resultados deben expresarse en mg/l, como NP 10, con una aproximación de 0,1.

A.4 Tratamiento preliminar de los agentes tensioactivos aniónicos para el ensayo

A.4.1 Notas preliminares

A.4.1.1 Tratamiento de las muestras

El tratamiento de los agentes tensioactivos aniónicos y de los detergentes, previo a la determinación de la biodegradabilidad primaria por el ensayo de confirmación, será el siguiente:

Productos	Tratamiento
Tensioactivos aniónicos	Sin tratamiento
Detergentes	Extracción alcohólica seguida de separación de los agentes tensioactivos aniónicos mediante intercambio iónico

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.

A.4.1.2 Procedimiento de intercambio iónico

Para que los resultados de los ensayos de biodegradabilidad sean correctos, se procederá a aislar y separar los agentes tensioactivos aniónicos del jabón y los agentes tensioactivos no iónicos y catiónicos. Para ello se aplicará una técnica de intercambio iónico que utilice una resina intercambiadora macroporosa y los agentes de elución apropiados que permitan la elución fraccionada. El jabón y los agentes tensioactivos aniónicos y no iónicos podrán, así, aislarse mediante una única operación.

A.4.1.3 Control analítico

Después de la homogeneización, determine el contenido de agente 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 es 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 agentes tensioactivos aniónicos. Normalmente, se obtendrá un 90 % o más.

A.4.2 Principio

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

El extracto obtenido con el etanol se evaporará a sequedad y disolverá en una mezcla de isopropanol/agua; a continuación, se hará pasar la solución resultante a través de un dispositivo mixto de intercambio catiónico fuertemente ácido/intercambio aniónico macroporoso, llevándose hasta una temperatura de 50 °C. Esta temperatura será necesaria para impedir la precipitación de los ácidos grasos en un medio ácido. Los agentes tensioactivos no iónicos se quedarán en el efluente. Los ácidos grasos del jabón se separarán mediante una extracción con etanol que contenga dióxido de carbono. Los agentes tensioactivos aniónicos en forma de sales de amonio se obtendrán mediante elución con una solución de bicarbonato de amonio en una mezcla de isopropanol/agua. Dichas sales de amonio se utilizarán para el ensayo de biodegradabilidad. Los agentes tensioactivos catiónicos susceptibles de perturbar el ensayo de biodegradabilidad y el procedimiento analítico se eliminarán mediante el intercambiador catiónico, colocado por encima del intercambiador aniónico.

A.4.3 Reactivos y materiales o equipos

A.4.3.1 Agua desionizada

A.4.3.2 Etanol, 95 % fracción en volumen C₂H₅OH (desnaturalizadores permitidos: metiletilcetona o metanol)

A.4.3.3 Mezcla de isopropanol/agua (50/50 fracción en volumen):

— 50 partes en volumen de isopropanol, CH₃CHOH.CH₃

— 50 partes en volumen de agua (A.4.3.1)

A.4.3.4 Solución de dióxido de carbono en etanol (aproximadamente 0,1 % CO₂): mediante un tubo de transferencia provisto de un disco de vidrio frito incorporado, hacer burbujear el dióxido de carbono (CO₂) a través del etanol (A.4.3.2) durante 10 minutos. La solución se preparará inmediatamente antes de su utilización.

A.4.3.5. Solución de bicarbonato de amonio (60/40 fracción en volumen): 0,3 mol de NH₄HCO₃ en 1 000 ml de una mezcla de isopropanol/agua constituida por 60 partes en volumen de isopropanol y 40 partes en volumen de agua (A.4.3.1).

A.4.3.6. Intercambiador catiónico (KAT), fuertemente ácido, resistente al alcohol (malla 50–100)

A.4.3.7. Intercambiador aniónico (AAT), macroporoso, Merck Lewatit MP 7080 (malla 70–150) o equivalente

A.4.3.8. Ácido clorhídrico, 10 % HCl fracción en peso

A.4.3.9. Matraz esférico de fondo redondo de 2 000 ml con esmerilado cónico y condensador de reflujo.

A.4.3.10. Filtro de succión de 90 mm de diámetro (que se pueda calentar) para filtros de papel

A.4.3.11. Matraz de filtración al vacío de 2 000 ml

A.4.3.12. Columnas de intercambio con manta calefactora y grifo: tubo interior de 60 mm de diámetro y de 450 mm de altura (Figura A.4).

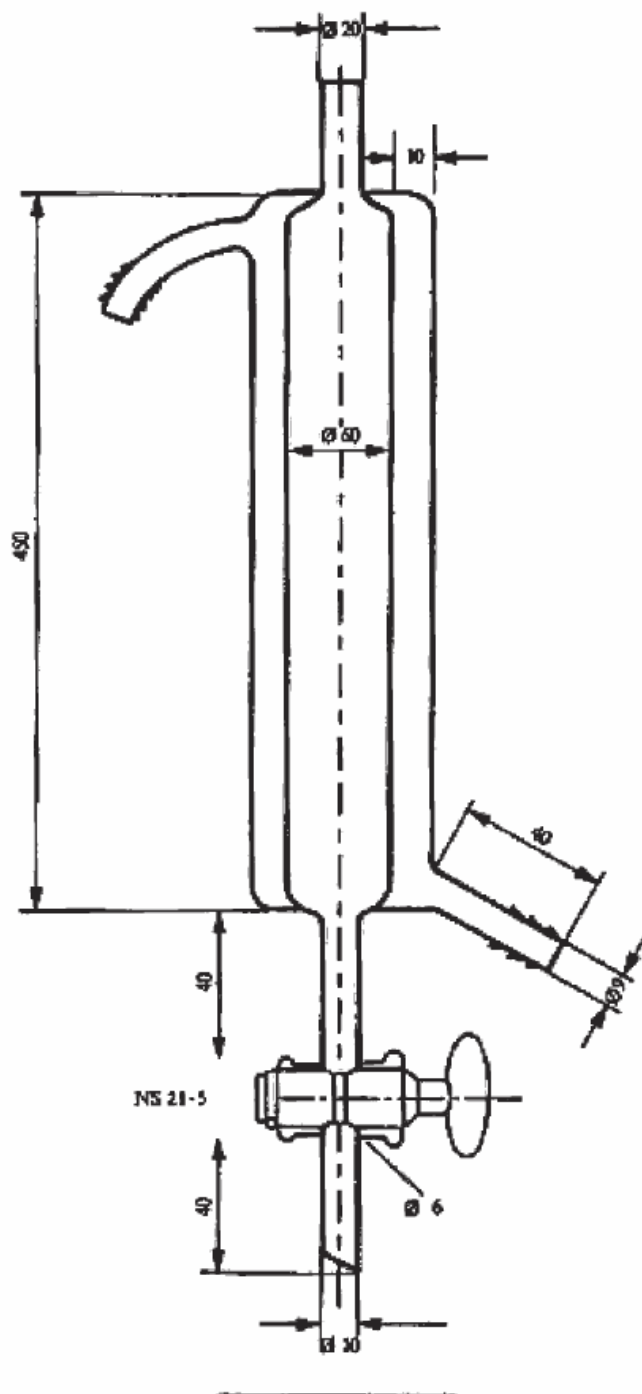


Figura 4. Columna de intercambio calefactora

A.4.4.4 Procedimiento de intercambio iónico

Conecte las columnas intercambiadoras colocándolas de forma que la columna de intercambio catiónico se encuentre por encima de la columna de intercambio aniónico. Lleve las columnas a la temperatura de 50 °C mediante un termostato. Caliente 5 000 ml del filtrado obtenido en el literal A.4.4.2 hasta 60 °C y hágalo pasar a través de ambas columnas a una velocidad de flujo de 20 ml/min. Lave las columnas con 1 000 ml de una mezcla caliente de isopropanol/agua (véase el literal A.4.3.3).

Para obtener los agentes tensioactivos aniónicos (MBAS), desconecte la columna KAT. Proceda, entonces, a la elución de los ácidos grasos del jabón de la columna KAT mediante 5 000 ml de una solución de etanol/CO₂ a 50 °C (A.4.3.4). El eluyente debe ser desechado.

A continuación, proceda con la elución de las MBAS de la columna AAT mediante 5 000 ml de solución de bicarbonato de amonio (A.4.3.5). Evapore el eluyente hasta desecación con 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. Añada agua desionizada hasta obtener un volumen preciso y determinar el contenido en MBAS en una fracción alícuota. La solución se utilizará como solución patrón de los detergentes aniónicos para el ensayo de biodegradabilidad. La solución debe mantenerse a una temperatura inferior a 5 °C.

A.4.4.5 Regeneración de las resinas de intercambio iónico

El intercambiador de cationes se debe desechar después de su uso. La resina de intercambio aniónico se regenera haciendo pasar a través de la columna una cantidad suplementaria de una solución de bicarbonato de amonio (A.4.3.5) a una velocidad de flujo de unos 10 ml/min hasta que el efluente quede exento de tensioactivos aniónicos (ensayo al azul de metileno). Lave, a continuación, el intercambiador de aniones con 2 000 ml de una mezcla de isopropanol/agua (véase el literal A.4.3.3). El intercambiador de aniones podrá utilizarse de nuevo.

A.5. Tratamiento preliminar de los agentes tensioactivos no iónicos para el ensayo

A.5.1 Notas preliminares

A.5.1.1 Tratamiento de las muestras

El tratamiento de los agentes tensioactivos no iónicos y de los detergentes, previo a la determinación de la biodegradabilidad primaria por el ensayo de confirmación, será el siguiente:

Productos	Tratamiento
Tensioactivos no iónicos	Sin tratamiento
Detergentes	Extracción alcohólica seguida de separación de los tensioactivos no iónicos mediante intercambio iónico

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.

A.5.1.2. Procedimiento de intercambio iónico

Para que los resultados de los ensayos de biodegradabilidad sean correctos, se procederá a aislar y separar los agentes tensioactivos no iónicos del jabón y los agentes tensioactivos aniónicos y catiónicos. Para ello se aplicará una técnica de intercambio iónico que utilice una resina intercambiadora de aniones macroporosa y los agentes de elución apropiados que permitan la elución fraccionada. El jabón y los agentes tensioactivos aniónicos y no iónicos podrán, así, aislarse mediante una única operación.

A.5.1.3. Control analítico

Después de la homogeneización, se determinará el contenido de agentes tensioactivos aniónicos y no iónicos del detergente según el método de análisis de MBAS y de BiAS. 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 agentes tensioactivos no iónicos. Normalmente, se obtendrá un 90 % o más.

A.5.2. Principio

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

El extracto obtenido con el etanol se evaporará a sequedad y se disolverá en una mezcla de isopropanol/agua; a continuación, se hará pasar la solución resultante a través de un dispositivo mixto de intercambio catiónico fuertemente ácido/intercambio aniónico macroporoso, llevándose hasta una temperatura de 50 °C. Esta temperatura será necesaria para impedir la precipitación de los ácidos grasos en un medio ácido. Los agentes tensioactivos no iónicos se extraerán del efluente por evaporación.

Los agentes tensioactivos catiónicos susceptibles de perturbar el ensayo de biodegradabilidad y el procedimiento analítico se eliminarán mediante el intercambiador catiónico, colocado por encima del intercambiador aniónico.

A.5.3 Productos químicos y equipo

A.5.3.1 Agua desionizada

A.5.3.2 Etanol, 95 % fracción en volumen $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (desnaturalizadores permitidos: metiletilcetona o metanol)

A.5.3.3 Mezcla de isopropanol/agua (50/50 fracción en volumen):

- 50 partes en volumen de isopropanol, $\text{CH}_3\text{CHOH}\cdot\text{CH}_3$
- 50 partes en volumen de agua (véase el literal A.5.3.1)

A.5.3.4 Solución de bicarbonato de amonio (60/40 fracción en volumen):

0,3 mol de NH_4HCO_3 en 1 000 ml de una mezcla de isopropanol/agua constituida por 60 partes en volumen de isopropanol y 40 partes en volumen de agua (véase el literal A.5.3.1).

A.5.3.5 Intercambiador catiónico (KAT), fuertemente ácido, resistente al alcohol (malla 50–100)

A.5.3.6 Intercambiador aniónico (AAT), macroporoso, Merck Lewatit MP 7080 (malla 70–150) o equivalente

A.5.3.7 Ácido clorhídrico, 10 % HCl fracción en peso

A.5.3.8 Matraz esférico de fondo redondo de 2 000 ml con esmerilado cónico y condensador de reflujo

A.5.3.9 Filtro de succión de 90 mm de diámetro (que se pueda calentar) para filtros de papel

A.5.3.10 Matraz de filtración al vacío de 2 000 ml

A.5.3.11 Columnas de intercambio con manta calefactora y grifo: tubo interior de 60 mm de diámetro y de 450 mm de altura (Figura A.4).

A.5.3.12 Baño de María

A.5.3.13 Estufa de secado al vacío

A.5.3.14 Termostato

A.5.3.15 Rotavapor

A.5.4. Extracción y separación de los agentes tensioactivos no iónicos

A.5.4.1. Preparación del extracto

La cantidad de tensioactivos necesaria para el ensayo de degradación será de aproximadamente 25 g de BiAS. En la preparación de los extractos para los ensayos de biodegradabilidad, la cantidad de producto por utilizar no debe sobrepasar 2 000 g. Por lo tanto, podría ser necesario realizar la operación varias veces con el fin de obtener una cantidad suficiente para dichos ensayos. La experiencia ha demostrado que es preferible una serie de extracciones limitadas a la extracción de una gran cantidad de producto de una sola vez.

A.5.4.2. Aislamiento de los componentes solubles en alcohol

Añada 250 g del detergente sintético a analizar a 1 250 ml de etanol y lleve la mezcla a ebullición, sometiéndola, después, a reflujo durante una hora, sin dejar de agitar. Vierta la solución alcohólica caliente en un filtro de succión de poros anchos, lleve a una temperatura de 50 °C y filtre por succión. Lave el matraz y el filtro de succión con unos 200 ml de etanol caliente. Recoja el filtrado y el líquido de lavado en un matraz de filtración al vacío.

Cuando los productos por analizar sean pastas o líquidos, asegúrese de que la muestra no contenga más de 25 g de tensioactivos aniónicos y 35 g de jabón. Una vez pesada la muestra, evapore hasta desecación completa.

Disuelva el residuo en 500 ml de etanol y proceda de nuevo según lo indicado más arriba. En el caso de polvos de escasa densidad aparente (< 300 g/l), es recomendable aumentar la proporción de etanol en relación 20:1.

Evapore el filtrado de etanol hasta la desecación completa, preferentemente mediante un rotavapor. Repita la operación si se necesita una mayor cantidad de extracto. Disuelva el residuo en 5 000 ml de una mezcla de isopropanol/agua.

A.5.4.3 Preparación de las columnas de intercambio iónico

A.5.4.3.1 Columna de intercambio catiónico

Coloque 600 ml de resina intercambiadora de cationes (véase el literal A.5.3.5) en un vaso de 3 000 ml y cubra añadiendo 2 000 ml de ácido clorhídrico (véase el literal A.5.3.7). Deje reposar durante un mínimo de dos horas agitando de vez en cuando. Decante el ácido y transfiera la resina a la columna (véase el literal A.5.3.11) mediante agua desionizada. Ponga en la columna un tapón de lana de vidrio desionizada. Lave la columna con agua desionizada a una velocidad de flujo de 10 ml/min a 30 ml/min hasta que el efluente esté exento de cloruros. Desplace el agua con 2 000 ml de una mezcla isopropanol/agua (véase el literal A.5.3.3) a una velocidad de flujo de 10 ml/min a 30 ml/min. Una vez finalizados estos preparativos, la columna de intercambio estará lista para la operación.

A.5.4.3.2 Columna de intercambio aniónico

Coloque 600 ml de resina intercambiadora de aniones (véase el literal A.5.3.6) en un vaso y cúbrala añadiendo 2 000 ml de agua desionizada. Deje en espera la resina durante, al menos 2 horas, para que se hinche. Transfiera la resina a la columna mediante agua desionizada. En la columna, coloque un tapón de lana de vidrio desionizada. Lave la columna con una solución 0,3 M de bicarbonato de amonio (véase el literal A.5.3.4) hasta que quede libre de cloruros, para lo cual se requerirán unos 5 000 ml de solución. Lave a continuación con 2 000 ml de agua desionizada.

Desplace el agua con 2 000 ml de una mezcla isopropanol/agua (véase el literal A.5.3.3) a una velocidad de flujo de 10 ml/min – 30 ml/min. Una vez finalizados estos preparativos, la columna de intercambio debe estar en forma OH y lista para la operación.

A.5.4.4. Procedimiento de intercambio iónico

Conecte las columnas intercambiadoras colocándolas de forma que la columna de intercambio catiónico se encuentre por encima de la columna de intercambio aniónico. Lleve las columnas a la temperatura de 50 °C mediante un termostato. Caliente 5 000 ml del filtrado obtenido en el numeral A.5.4.2 hasta 60 °C y hágalo pasar a través de ambas columnas a una velocidad de flujo de 20 ml/min. Lave las columnas con 1 000 ml de una mezcla caliente de isopropanol/agua (véase el literal A.5.3.3).

Para obtener los agentes tensioactivos no iónicos, recoja el eluyente y el líquido de lavado del filtro y evapórelos hasta desecación completa, preferentemente mediante un rotavapor. El residuo contiene el BiAS. Añada agua desionizada hasta obtener un volumen preciso y determine el contenido en BiAS en una fracción alícuota. La solución se utilizará como solución patrón de los agentes tensioactivos no iónicos para el ensayo de biodegradabilidad. La solución debe mantenerse a una temperatura inferior a 5 °C.

A.5.4.5. Regeneración de las resinas de intercambio iónico

Deseche el intercambiador de cationes después de su uso.

La resina de intercambio aniónico se regenera haciendo pasar a través de la columna aproximadamente de 5 000 ml a 6 000 ml de una solución de bicarbonato de amonio (véase el literal A.5.3.4) a una velocidad de flujo de unos 10 ml/min hasta que el efluente quede exento de tensioactivos aniónicos (ensayo al azul de metileno). Lave, a continuación, el intercambiador de aniones con 2 000 ml de una mezcla de isopropanol/agua (véase el literal A.5.3.3). El intercambiador de aniones podrá utilizarse de nuevo.

ANEXO B (Informativo)

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Legislación europea sobre biodegradabilidad y etiquetado de detergentes. Disponible en: http://europa.eu/legislation_summaries/consumers/product_labelling_and_packaging/l32025_es.htm
- [2] Reglamento (CE) N° 648/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 31 de marzo de 2004 sobre detergentes [Véanse los actos modificativos]. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:104:0001:0035:ES:PDF>
- [3] REGLAMENTO (CE) No 907/2006 DE LA COMISIÓN de 20 de junio de 2006 por el que se modifica el Reglamento (CE) no 648/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre detergentes, con el fin de adaptar sus anexos III y VII. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:168:0005:0010:ES:PDF>
- [4] DIRECTIVA DEL CONSEJO de 31 de marzo de 1982 que modifica la Directiva 73/405/CEE referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los agentes tensioactivos aniónicos. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31982L0243:ES:HTML>[5]
- [5] Recomendación 89/542/CEE de la Comisión y la Recomendación 98/480/CE de la Comisión, de 22 de julio de 1998, relativa a prácticas respetuosas del medio ambiente aplicables a los detergentes domésticos.
- [6] COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS Bruselas, 27.02.2004 COM(2004) 134 final INFORME DE LA COMISIÓN AL PARLAMENTO EUROPEO Y AL CONSEJO en aplicación del artículo 9 de la Recomendación 98/480/CE de la Comisión, de 22 de julio de 1998, relativa a prácticas respetuosas del medio ambiente aplicables a los detergentes domésticos. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2004:0134:FIN:ES:PDF>
- [7] Update of the Detergent Ingredient Database Final Report. Marianne B. Eskeland. Ecolabelling Norway June 2007
Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/ecolabel/pdf/did_list/final_report.pdf
Disponible en: http://ec.europa.eu/environment/ecolabel/ecolabelled_products/categories/did_list_en.htm
- [8] 52009DC0208. Informe de la Comisión al Parlamento Europeo y al Consejo de conformidad con el artículo 16 del Reglamento (CE) n° 648/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004, sobre detergentes, relativo a la biodegradación de los principales ingredientes orgánicos no tensioactivos de los detergentes (Texto pertinente a efectos del EEE) /* COM/2009/0208 final */ . disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2009:0208:FIN:ES:HTML>
- [9] Opinion of the Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE) on a Proposed "ready biodegradability" approach to update detergents legislation - adopted at the 12th CSTEE plenary meeting of 25 November 1999. Disponible en: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sct/docshtml/sct_out51_en.htm
- [10] MERCOSUR/GMC/RES. N° 24/05. REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR "DETERMINACIÓN DE BIODEGRADABILIDAD DE TENSIOACTIVOS ANIÓNICOS" (COMPLEMENTACIÓN DE LA RES. GMC N° 25/96). Disponible en:
http://www.anmat.gov.ar/Legislacion/Domisanearios/Disposicion_ANMAT_2316-2006.pdf
<http://test.e-legis-ar.msal.gov.ar/leisref/public/showAct.php?id=1265>
http://www.proteger.com.ar/Legal/productos/Domisanearios/disp_2316_2006.htm
- [11] Resolución n° 47, de 11 de diciembre de 2007. Reglamento Técnico Mercosur para productos de limpieza y afines. Derogación de la res. GMC N° 10/04. Del: 11/12/2007; Boletín Oficial 15/02/2008. Disponible en: <http://test.e-legis-ar.msal.gov.ar/leisref/public/showAct.php?id=14421&word=TENSIOACTIVOS>
- [12] Agência Nacional de Vigilância Sanitária www.anvisa.gov.br Consulta Pública n° 54, de 28 de julho de 2005. DIRCEU RAPOSO DE MELLO. METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE EM PRODUTOS SANEANTES. Disponible en: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[11203-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[11203-1-0].PDF)
- [13] DECISIÓN DE LA COMISIÓN de 23 de marzo de 2005 por la que se establecen los criterios ecológicos para la concesión de la etiqueta ecológica comunitaria a los productos de limpieza de uso general y a los productos de limpieza de cocinas y baños
- [14] ASTM D459 - 09 *Standard Terminology Relating to Soaps and Other Detergents*.

- [15] NTC 4182:1997, Gestión ambiental. Calidad del agua. Determinación de la biodegradabilidad aerobia de los compuestos orgánicos en medio acuoso. Metodo semicontinuo con lodos activados (SCAS). (ISO 9887:1992, *Water quality -- Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium -- Semi-continuous activated sludge method (SCAS)*)
- [16] NTC 4229:1997, Reaprobada en 2009, Método de ensayo para determinar la biodegradabilidad del alquilbenceno sulfonato de sodio (ASTM D2667-95 (Reapproved 2008) *Standard Test Method For Biodegradability of Alkylbenzene Sulfonate*).
- [17] NTC 4233:1997, Gestión ambiental. Calidad de agua. Evaluación de la biodegradabilidad anaeróbica "última" de los compuestos orgánicos en lodos de digestión. Método por medición de la producción de biogás (ISO 11734:1995, *Water quality -- Evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge -- Method by measurement of the biogas production*).
- [18] NTC 4255:1997, Gestión ambiental. Calidad de agua. Evaluación de la biodegradabilidad aerobia de los compuestos orgánicos en medio acuoso. Ensayo estático (Metodo Zahn-Wellens). (ISO 9888 *Water quality -- Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium -- Static test (Zahn-Wellens method)*).
- [19] NTC 4256:1997, Gestión ambiental. Calidad de agua. Evaluación de la eliminación y biodegradabilidad de compuestos orgánicos en un medio acuoso. Ensayo de simulación de lodos activados (ISO 11733:2004, *Water Quality. Evaluation of the Elimination And The Biodegradability Of Organic Compounds In An Aqueous Medium. Activated Sludge Simulation Test*).
- [20] NTC 5131, Etiquetas ambientales Tipo I. Sello ambiental colombiano. Criterios para productos limpiadores institucionales, industriales y para uso doméstico.
- [21] NTC-ISO/IEC 17000:2005, Evaluación de la conformidad – Vocabulario y principios generales.
- [22] GTC 164:2007, Calidad de agua. Selección de ensayos para biodegradabilidad (ISO/TR 15462:2006, *Water quality -- Selection of tests for biodegradability*)
- [23] NORMA Oficial Mexicana NOM-189-ssa1/scfi-2002, Productos y servicios. Etiquetado y envasado para productos de aseo de uso doméstico. Disponible en:
http://www.quiminet.com.mx/ar1/ar_%25FD9%25A3j%25E67%25A4P.htm
- [24] El significado ambiental de las pruebas de biodegradabilidad, y un ensayo recomendado para América Latina. Cardinale Pizani Pablo, Bookland Elizabeth A, Cowan Christina E, Larson Robert J. Procter and Gamble Latinoamericana, M108 P.O.Box 020010. Miami, FL 33102. EE.UU. <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/mexico/01202e21.pdf>
- [25] EUROPEAN UNION CATIONIC & AMPHOTERIC SURFACTANT PRIMARY BIODEGRADABILITY RING TEST. ETD/98/502063. WRc Ref: CO 4909, June 2000. Disponible en:
http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/studies/cationic_en.pdf
- [26] Ecetoc, European Chemical Industry Ecology and Toxicology Centre Technical Reports. TR 028: Evaluation of Anaerobic Biodegradation | June 1988. Disponible en:
http://www.ecetoc.org/index.php?mact=MCSOap,cntnt01,details,0&cntnt01by_category=5&cntnt01template=display_list_v2&cntnt01or_der_by=Reference%20Desc&cntnt01display_template=display_details_v2&cntnt01document_id=201&cntnt01returnid=89
- [27] R. S. Boethling, Elizabeth Sommer, and David DiFiore. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pollution Prevention and Toxics 7406M, 1200 Pennsylvania Avenue, NW, Washington, DC 20460. Received September 14, 2006. *Designing Small Molecules for Biodegradability*. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/cr050952t>
- [28] CleanGredients®. Online database of cleaning product ingredient chemicals. Disponible en: <http://www.cleangredients.org/home>
- [29] *The Japanese National Institute of Technology and Evaluation (NITE). Biodegradation and Bioconcentration of the Existing Chemical Substances under the Chemical Substances Control Law.* Disponible en:
http://www.safe.nite.go.jp/english/kizon/KIZON_start_hazkizon.html
- [30] OPPTS 835.0001 *Principles and Strategies Related to Biodegradation Testing of Organic Chemicals under the Toxic*

Substances Control Act (TSCA). Disponible en: <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/EPA-Method-835-0001.pdf>.

[31] OECD. *INTRODUCTION TO THE OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS SECTION 3. PART1: PRINCIPLES AND STRATEGIES RELATED TO THE TESTING OF DEGRADATION OF ORGANIC CHEMICALS*. 2003. Disponible en: <http://www.oecd.org/dataoecd/38/2/5598432.pdf>

[32] REGLAMENTO (CE) nº 440/2008 DE LA COMISIÓN de 30 de mayo de 2008 por el que se establecen métodos de ensayo de acuerdo con el Reglamento (CE) no 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH). Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:142:0001:0739:ES:PDF>