

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ВЕЩЕСТВА
ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ**

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОРАЗЛАГАЕМОСТИ
В ВОДНОЙ СРЕДЕ**

Издание официальное

БЗ 4-93/309

ГОССТАНДАРТ РОССИИ

Москва

Предисловие

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Техническим комитетом ТК 193 "Кислоты жирные синтетические, высшие жирные спирты, поверхностно-активные вещества"

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 28.09.93 № 216

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Издательство стандартов, 1994

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен без разрешения Госстандарта России

Содержание

1	Область применения	1
2	Нормативные ссылки	2
3	Определения, обозначения и сокращения	3
4	Принцип метода	5
5	Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы	5
6	Определение биоразлагаемости поверхностно-активных веществ	6
<i>Приложение А</i>	<i>Модель азротенка-отстойника</i>	<i>16</i>
<i>Приложение Б</i>	<i>Схема установки для определения биоразлагаемости поверхностно-активных веществ непрерывным методом</i>	<i>17</i>
<i>Приложение В</i>	<i>Программа расчета показателей биоразлагаемости ПАВ</i>	<i>18</i>
<i>Приложение Г</i>	<i>Форма заключения по результатам определения показателей биоразлагаемости ПАВ в водной среде</i>	<i>24</i>
<i>Приложение Д</i>	<i>Примеры определения биоразлагаемости ПАВ</i>	<i>25</i>
<i>Приложение Е</i>	<i>Методы анализа, используемые при определении показателей биоразлагаемости ПАВ</i>	<i>27</i>

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВЕЩЕСТВА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ

Метод определения биоразлагаемости в водной среде

Surface active agents.
Method for determination of
biodegradability in aqueous medium

Дата введения 1995-01-01

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий стандарт распространяется на метод определения биоразлагаемости поверхностно-активных веществ (далее—ПАВ) и устанавливает условия, приемы и метод определения их биоразлагаемости как таковых, так и в составах бытовых и технических препаратов.

Стандарт распространяется на анионные, неионогенные, катионные (кроме четвертичных солей аммония) и амфолитные ПАВ, а также их композиции.

Стандарт не распространяется на методы оценки токсичности ПАВ по отношению к водным микроорганизмам.

Поверхностно-активные вещества при попадании в водную среду разлагаются с различной скоростью под воздействием физико-химических и биохимических факторов в зависимости от условий среды и вида ПАВ.

Метод позволяет устанавливая кинетические характеристики процессов биоразложения ПАВ в аэробных условиях в водной среде, а также ориентировочно-допустимый уровень содержания ПАВ в сточных водах, подаваемых в аэротенки.

Показатели биоразлагаемости ПАВ, определяемые по настоящему стандарту, учитываются при санкционировании ассортимента, объемов производства и применения ПАВ, а также при выборе условий и способов очистки сточных вод.

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты и технические условия:

ГОСТ 61-75	Кислота уксусная
ГОСТ 83-79	Натрий углекислый
ГОСТ 84-76	Натрий углекислый 10-водный
ГОСТ 1770-74	Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки
ГОСТ 199-78	Натрий уксусно-кислый 3-водный
ГОСТ 450-77	Кальций хлористый технический
ГОСТ 3118-77	Кислота соляная
ГОСТ 3760-79	Аммиак водный
ГОСТ 3772-74	Аммоний фосфорно-кислый двузамещенный
ГОСТ 3773-72	Аммоний хлористый
ГОСТ 4108-72	Барий хлористый 2-водный
ГОСТ 4148-78	Железо (II) серно-кислое 7-водное
ГОСТ 4197-74	Натрий азогисто-кислый
ГОСТ 4198-75	Калий фосфорно-кислый однозамещенный
ГОСТ 4204-77	Кислота серная
ГОСТ 4208-72	Соль закиси железа и аммония двойная серно-кислая (соль Мора)
ГОСТ 4217-77	Реактивы. Калий азотно-кислый
ГОСТ 4220-75	Реактивы. Калий двуххромово-кислый
ГОСТ 4328-77	Натрия гидроокись
ГОСТ 4517-87	Реактивы. Метод приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе
ГОСТ 4523-77	Реактивы. Магний серно-кислый 7-водный
ГОСТ 5821-78	Реактивы. Кислота сульфаниловая
ГОСТ 5845-79	Реактивы. Калий-натрий винно-кислый 4-водный
ГОСТ 6709-72	Вода дистиллированная
ГОСТ 9147-80	Посуда и аппаратура лабораторная фарфоровые
ГОСТ 9871-75	Термометры стеклянные ртутные электроконтактные и терморегуляторы
ГОСТ 11773-76	Реактивы. Натрий фосфорно-кислый двузамещенный
ГОСТ 13045-81	Ротаметры
ГОСТ 13805-76	Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей

ГОСТ 19627-74	Гидрохинон
ГОСТ 20015-91	Хлороформ
ГОСТ 23519-79	Фенол синтетический технический
ГОСТ 25336-82	Посуда и оборудование лабораторные стек- лянные
ГОСТ 25794,2-83	Методы приготовления титрованных раство- ров для окислительно-восстановительного титрования
ГОСТ 27025-86	Реактивы. Общие указания по проведению испытаний
ГОСТ 27065-86	Качество воды. Термины и определения
ГОСТ 29232-91	Анионные и неионогенные поверхностно-ак- тивные вещества. Определение критической концентрации мицеллообразования. Метод определения поверхностного натяжения с помощью пластины, скобы или кольца
ТУ 6-09-01-744-88	Фосфорно-12-вольфрамовая (7) кислота вод- ная (фосфорно-вольфрамовая кислота)
ТУ 6-09-07-1703-90	1-Нафтиламин

3 ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

Таблица 1

Термин	Определение	Условное обозначение
1 Поверхностно-актив- ные вещества (Tenside, Surfactant)	<p>Вещества с асимметричной молеку- лярной структурой, молекулы которых содержат один или несколько гидрофоб- ных радикал(ов) и одну или несколько гидрофильных групп</p> <p>П р и м е ч а н и я</p> <p>1 Такая структура обуславливает поверхностную активность молекул поверхностно-активных веществ, т. е. способность концентрироваться на межфазных поверхностях раздела, тем самым изменяя свойства системы.</p> <p>2 Дeterгенты (моющие средства) включают поверхностно-активные ве- щества (10-20%) и полезные добав- ки (до 80%)</p>	ПАВ

Термин	Определение	Условное обозначение
2 Биоразлагаемость поверхностно-активных веществ:	Способность молекул подвергаться деструкции (вплоть до углекислого газа, минеральных солей и воды) под воздействием микрофлоры, присутствующей в биологических очистных сооружениях и водоемах	
— первичная	Стадия разложения молекул, соответствующая нарушению их первичной структуры и обусловленной этим потере ими поверхностно-активных свойств	
— показатель	Кинетические критерии оценки функционирования биотической системы "активный ил — ПАВ", характеризующие способность молекул ПАВ разлагаться, а активного ила адаптироваться	
3 Режим процесса биоразложения:		
— квазистационарный	Режим после завершения переходного периода, обусловленного введением в систему ПАВ, лимитируемый скоростями ферментативных реакций разложения ПАВ неадаптированным активным илом и отображаемый на зависимости $C_{\text{вых}} = f(\tau)$ ее выходом на плато А (рисунок 1 а, б, в)	
— стационарный	Режим, который достигается после завершения адаптации активного ила и отображается на зависимости $C_{\text{вых}} = f(\tau)$ выходом на плато Б (рисунок 1 а, в)	
4 Активный ил:		
— неадаптированный	Культивируемый на синтетической сточной воде, содержащей набор минеральных солей и пептон	
— адаптированный к ПАВ	Культивируемый на синтетической сточной воде, содержащей испытуемое ПАВ в течение времени, равного (или большего) продолжительности индукционного периода	
Критическая концентрация биомассы	Характерная для поверхностно-активных веществ в водном растворе концентрация (на практике — узкий интервал концентраций), при превышении кото-	ККМ

Окончание табл. 1

Термин	Определение	Условное обозначение
6 Химическое потребление кислорода	<p>рой в растворе появляются и развиваются ассоциаты молекул поверхностно-активных веществ — мицеллы, что приводит к резкому изменению зависимости ряда физико-химических свойств раствора от концентрации</p> <p>Потребление кислорода, определяемое методом бихроматной окисляемости</p>	ХПК

4 ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на определении способности молекул ПАВ подвергаться биоразложению в аэробных условиях биологических очистных сооружений и водных объектов.

Определение проводят с использованием двух азротенков (контрольного и опытного) при режимах, моделирующих нормальные условия работы биологических очистных сооружений. При этом в контрольный азротенк непрерывно подают синтетическую сточную воду, а в опытный (после завершения подготовительного периода) — синтетическую сточную воду с добавлением испытуемого ПАВ, концентрация которого постоянна на весь период опыта и равна половине критической концентрации мицеллообразования.

В качестве показателей биоразлагаемости приняты кинетические характеристики процесса биоразложения ПАВ, рассчитанные из кинетических кривых остаточного содержания ПАВ в очищенной сточной воде, поступающей из опытного азротенка:

- тип кинетической зависимости процесса биоразложения;
- продолжительность индукционного периода;
- период полуразложения поверхностно-активного вещества адаптированным (или неадаптированным) илом.

5 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

Азротенки объемом 6 дм³ конструкции АКХ им. К.Д. Памфилова (приложения А и Б) или любой другой конструкции с известными характеристиками (рабочий объем, период аэрации).

Дозатор синтетической сточной воды любого типа, обеспечивающий ее непрерывную подачу в аэротенк с заданной скоростью, предпочтительно $1 \text{ дм}^3/\text{ч}$.

Индикатор расхода воздуха ротаметрический типа РМА-1 по ГОСТ 13045.

Терморегулятор ТПК-М-5П.0.50.201 по ГОСТ 9871 (или любой другой аналогичного типа).

Натрий метакислый по ГОСТ 83, ч.

Натрий уксусно-кислый 3-водный по ГОСТ 199, ч.

Калий фосфорно-кислый однозамещенный по ГОСТ 4198, ч. д. а.

Аммоний фосфорно-кислый двухзамещенный по ГОСТ 3772, ч. д. а.

Кальций хлористый технический по ГОСТ 450.

Магний серно-кислый 7-водный по ГОСТ 4523, ч. д. а.

Пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805.

Ил активный неадаптированный, культивированный на синтетической сточной воде, содержащей набор минеральных солей и пептон в концентрациях, приведенных в таблице 2, по режимам, указанным в 6.2.

П р и м е ч а н и е — Допускается использовать в опытах активный ил из регенераторов городских сооружений биологической очистки. При этом он должен быть отмыт от взвешенных веществ и других посторонних примесей культивированием на синтетической сточной воде в течение не менее 20 сут.

6 ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОРАЗЛАГАЕМОСТИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Определение биоразлагаемости ПАВ включает следующие этапы:

- условия проведения определения,
- подготовка к определению;
- выполнение определения;
- обработка результатов определения.

6.1 Условиями определения биоразлагаемости являются

- расход синтетической сточной воды, подаваемой в аэротенк, — $1 \text{ дм}^3/\text{ч}$ температурой $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$;
- расход воздуха $\sim 2 \text{ дм}^3/\text{мин}$;
- концентрация поверхностно-активного вещества в синтетической сточной воде, подаваемой в аэротенк, постоянная и равная половине критической концентрации мицеллообразования.

6.2 Подготовка к определению включает следующие этапы:

- загрузку суспензии неадаптированного активного ила в контрольный опытный аэротенк;

- подачу синтетической сточной воды (без ПАВ) в оба аэротенка,
- проверку режимов работы аэротенков,
- проверку надежности работы аэротенков (при освоении методики или обучении).

6.2.1. Загрузку суспензии неадаптированного активного ила в аэротенки проводят до концентрации $(2,5 \pm 0,2)$ г/дм³ по сухому веществу, концентрацию ила корректируют по результатам ежедневных анализов, избыточный ил из аэротенков удаляют.

6.2.2. Синтетическую сточную воду готовят растворением минеральных солей и пептона в водопроводной хлорированной воде. Состав приведен в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 — Состав синтетической сточной воды

Компонент сточной воды	Массовая концентрация, мг/дм ³
Натрий углекислый	50,0
Натрий уксусно-кислый	50,0*
Калий фосфорно-кислый однозамещенный	25,0
Аммоний фосфорно-кислый двузамещенный	25,0
Кальций хлористый	7,5
Магний серно-кислый	5,0*
Пептон	100-150 (до ХПК = 220 ± 20 мг О ₂ /дм ³)

* В пересчете на безводные соли

6.2.3. Проверку режимов работы аэротенков осуществляют путем периодического отбора и анализа очищенной сточной воды и активного ила.

Значения показателей нормального режима работы аэротенка (при подаче синтетической сточной воды состава, соответствующего таблице 2) приведены в таблице 3, в графе "Значения показателей контрольного аэротенка".

6.2.4. Проверку надежности работы аэротенков проводят в период их освоения и при обучении методике определения биоразлагаемости, определяя биоразлагаемость ПАВ известного состава по описанной методике. Полученные при этом показатели биоразлагаемости должны соответствовать данным, представленным в таблице 4.

Т а б л и ц а 3 — Показатели работы азротенков

Наименование показателя	Значение показателя	
	контрольного азротенка	опытного азротенка при нарушенном режиме работы, вызванном испытываемым ПАВ
1 Иловый индекс, см ³ /г	От 40 до 60	Свыше 100
2 Концентрация аммонийного азота (N) в очищенной воде, мг/дм ³	" 0,4 " 0,6	Более 1,0
3 Концентрация азота нитратов (N) в очищенной воде, мг/дм ³	" 0,7 " 10,0	Менее 3,0
4 Хлопок активного ила	Компактный	Измельчение (диспергирование)
5 Наличие гидробионтов, например	<i>Philodina roseola</i> , <i>Cathypna luna</i> , <i>Opercularia coarctata</i> , <i>Aapidiska costata</i> , <i>Vorticella convallaria</i> , <i>Epistylus plicatilis</i> и др	Полное отсутствие указанных видов или наличие "плотных" форм <i>Paramaecium caudatum</i> , <i>Vorticella microstoma</i> , <i>Lionotus lamella</i> и др.

П р и м е ч а н и е — Режим работы опытного азротенка, в который подается синтетическая сточная вода с ПАВ, считается нарушенным, если его работа отличается от режима контрольного азротенка хотя бы по одному из приведенных в таблице показателей

6.3 Выполнение определения биоразлагаемости

Определение биоразлагаемости ПАВ включает два этапа:

- введение в состав синтетической сточной воды, подаваемой в опытный азротенк, испытываемого ПАВ;
- периодический отбор проб очищенной сточной воды и активного ила из опытного и контрольного азротенка с последующим их анализом.

6.3.1 Определение проводят при постоянной концентрации ПАВ, равной половине критической концентрации мицеллообразования, значение которой должно быть указано в нормативном документе на испытываемое вещество или определено предварительно любым способом, например, из изотермы поверхностного натяжения водных растворов поверхностно-активного вещества по ГОСТ 29232.

П р и м е ч а н и е — Для подавляющего большинства ПАВ критическая концентрация мицеллообразования совпадает с токсикологическим показателем — эффективной концентрацией (ЕС₁₀₀), при которой нарушается нормальное функционирование биоценоза активного ила. Поэтому определение показателей биоразлагаемости рекомендуется проводить при равных нагрузках по концентрации по-

Т а б л и ц а 4 – Поверхностно-активные вещества, используемые для проверки надежности работы аэротенков, и показатели их биоразлагаемости

Наименование ПАВ	Массовая концентрация ПАВ на входе аэротенка, $C_{вх}$, мг/дм ³	Продолжительность индукционного периода, сут	Тип кинетической зависимости процесса биоразложения	Период полуразложения поверхностно-активного вещества активным илом	
				неадаптированным $T_{н1/2}$, ч	адаптированным $T_{а1/2}$, ч
н-Алкилсульфаты натрия фракции $C_{12} - C_{14}$	100	$1,5 \pm 0,5$	1	$0,17 \pm 0,05$	$0,033 \pm 0,006$
Алкилбензолсульфонаты натрия на n-парафинах	50	$6,5 \pm 0,5$	1	$1,0 \pm 0,2$	$0,04 \pm 0,01$
p-Изононилфенилполиоксэтиленгликолевые эфиры (неонол АФ9-10)	30	$6,5 \pm 0,5$	1	$12,8 \pm 2,2$	$0,07 \pm 0,02$

верхностно-активного вещества, обычно 0,5 ЕС₁₀₀ (0,5 критической концентрации мицеллообразования). В этих условиях токсическое влияние поверхностно-активных веществ на биоценоз активного ила находится на подпороговом уровне.

Если же при концентрации, равной половине критической концентрации мицеллообразования, не достигается стационарный режим или обнаружится нарушение режимов работы аэротенка, то опыт прекращают, активный ил выливают, аэротенк заполняют новым неадаптированным активным илом, подготавливают его к работе в соответствии с 6.2 и повторно проводят определение показателей биоразлагаемости при концентрации испытуемого ПАВ меньше половины критической концентрации мицеллообразования. Об этом обязательно указывают в отчете.

6.3.2 Объекты анализа:

- очищенная сточная вода;
- суспензия активного ила.

6.3.3 Перечень анализируемых показателей очищенной сточной воды, активного ила и состояния аэротенка приведен в таблице 5.

Отбор проб очищенной сточной воды и активного ила для анализов осуществляют через каждые $(24 \pm 0,5)$ ч. Периодичность анализов приведена в таблице 5.

Расчет трех показателей биоразлагаемости ПАВ проводят по кинетическим зависимостям изменений остаточных концентраций ПАВ (ХПК) в очищенной сточной воде.

6.4. Обработка результатов определения биоразлагаемости

Результатами определения биоразлагаемости являются показатели:

- тип кинетической зависимости процесса биоразложения;
- продолжительность индукционного периода;
- период полуразложения поверхностно-активного вещества адаптированным (или неадаптированным) активным илом.

6.4.1 Определение типа кинетической зависимости

Строят графические зависимости $C_{\text{вых}} = f(\tau)$.

Типичные виды кинетических зависимостей $C_{\text{вых}} = f(\tau)$, характерных для процесса биоразложения, приведены на рисунке 1.

Тип I — характерен для большинства ПАВ, биоразложение которых протекает с активацией процесса (рисунок 1а).

Тип II — частный случай типа I с продолжительностью индукционного периода более 25 сут (рисунок 1 б).

Тип III — характерен для некоторых ПАВ, процесс биоразложения которых протекает с самоингибированием (рисунок 1 в).

6.4.2 Определение продолжительности индукционного периода

По окончании тридцатисуточного эксперимента проводят графическое или аналитическое (на ЭВМ) определение продолжительности индукционного периода ($\tau_{\text{инд}}$).

6.4.2.1 Графическое определение

Определение значения $\tau_{\text{инд}}$ для ПАВ с кинетическими зависимостями I и III типов сводится к нахождению той области ($C_{\text{вых}}, \tau$), в которой зависимость $C_{\text{вых}} = f(\tau)$ выходит на плато (Б).

П р и м е ч а н и е — В случае, если отсутствуют методики прямого химического определения остаточной концентрации поверхностно-активного вещества, продолжительность индукционного периода находят из зависимостей ХПК = $f(\tau)$.

6.4.2.2 Достоверность результатов определения продолжительности индукционного периода

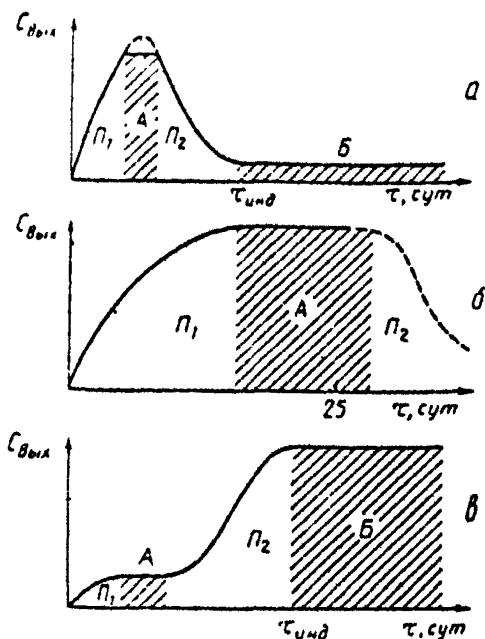
Достоверность определения продолжительности индукционного периода ($\tau_{\text{инд}}$), установленная на одном ПАВ по внутрилабораторной сходимости результатов, составляет $\pm 10\%$.

6.4.3 Определение периодов полуразложения

6.4.3.1 Периоды полуразложения адаптированным ($T_{a1/2}$) и неадаптированным ($T_{n1/2}$) активным илом рассчитывают по формулам:

— для адаптированного активного ила (стационарный режим, рис. 1 а, в — Б)

$$T_{a1/2} = 0,693 \cdot \frac{V}{q} \cdot \frac{C_{\text{вых}}}{C_{\text{вх}} - C''_{\text{вых}}}, \quad (1)$$



A – квазистационарный режим; *Б* – стационарный режим биоразложения ПАВ; Π_1 и Π_2 – переходные режимы; типы кинетических зависимостей: *a* – I, *б* – II, *в* – III

Рисунок 1 – Концентрация ПАВ на выходе ($C_{\text{вых}}$) аэротенка в зависимости от характера течения процесса, вида ПАВ и продолжительности испытаний

– для неадаптированного активного ила (квазистационарный режим, рис. 1б – *A*)

$$T_{\text{н } 1/2} = 0,693 \cdot \frac{V}{q} \cdot \frac{C''_{\text{вых}}}{C_{\text{вх}} - C'_{\text{вых}}}, \quad (2)$$

где $C_{\text{вх}}$, $C'_{\text{вых}}$ и $C''_{\text{вых}}$ – массовая концентрация поверхностно-активного вещества на входе аэротенка и в очищенной сточной воде в квазистационарном и стационарном режимах биоразложения, мг/дм³;

V – объем аэротенка, дм³;

q – скорость потока, дм³/ч;

П р и м е ч а н и е — В случае отсутствия специфических аналитических методов определения остаточной концентрации поверхностно-активного вещества в очищенной сточной воде биоразлагаемость оценивают из кинетики изменения ХПК очищенной сточной воды по формулам 3, 4):

— для адаптированного активного ила (стационарный режим, рис. 1 а, в — Б)

$$T_{a,x 1/2} = 0,693 \cdot \frac{V}{q} \cdot \frac{ХПК''_{\text{вых}}}{ХПК_{\text{вх}} - ХПК''_{\text{вых}}}, \quad (3)$$

— для неадаптированного активного ила (квазистационарный режим, рис. 1б — А)

$$T_{n,x 1/2} = 0,693 \cdot \frac{V}{q} \cdot \frac{ХПК'_{\text{вых}}}{ХПК_{\text{вх}} - ХПК'_{\text{вых}}}, \quad (4)$$

где $ХПК_{\text{вх}}$, $ХПК'_{\text{вых}}$ и $ХПК''_{\text{вых}}$ — химическое потребление кислорода синтетической сточной воды на входе аэротенка и очищенной сточной воды в квазистационарном и стационарном режимах биоразложения, мг $O_2/\text{дм}^3$.

6.4.3.2 Оценка достоверности определения периодов полуразложения

Достоверность определения периодов полуразложения определяет-ся точностью определения концентрации ПАВ в очищенной сточной воде:

а) анионных — фотометрическим методом с метиленовым синим при массовой концентрации 0,1 мг/дм³; относительное стандартное отклонение $\pm 19\%$;

б) неионогенных — фотометрическим методом с фосфорно-вольфрамовой кислотой при массовой концентрации (0,5–10,0) мг/дм³; относительное стандартное отклонение $\pm 10\%$.

В соответствии с указанным выше относительная ошибка при определении периодов полуразложения составляет:

— для анионных ПАВ $\pm 24\%$;

— для неионогенных ПАВ $\pm 12\%$.

П р и м е ч а н и е — Оценка достоверности определения показателей биоразлагаемости по данным ХПК: стандартное отклонение при определении ХПК в интервале 50–140 мг/дм³ составляет $\pm 20\%$. Соответственно ошибка при определении периодов полного биоразложения ПАВ (по ХПК) составляет $\pm 30\%$.

6.4.4 Определение продолжительности индукционного периода и периодов полуразложения с использованием ЭВМ

Алгоритм программы определения продолжительности индукционного периода и периодов полуразложения приведен в приложении В.

Программа написана на языке TURBOBASIC для персональных ЭВМ типа IBM PC/XT/AT.

6.5 Обработка результатов определения

На основе полученных согласно 6.3 результатов проводят отнесение ПАВ к классу биоразлагаемости в соответствии с классификацией, приведенной в таблице 6.

Т а б л и ц а 6 – Классификация поверхностно-активных веществ по биоразлагаемости

Класс биоразлагаемости	Лимитирующий показатель при отнесении к классу биоразлагаемости для типов кинетической зависимости процесса биоразложения		
	I	II	III
	Продолжительность индукционного периода $T_{\text{инд}}$, сут	Период полуразложения активным илом, ч	
		неадаптированным $T_{\text{н}}$ 1/2	адаптированным $T_{\text{а}}$ 1/2
1 Быстроразлагаемые	Менее 3	Менее 0,22	
2 Умеренноразлагаемые	От 3 до 10 включ.	От 0,22 до 1,05 включ.	
3 Медленноразлагаемые	От 11 до 25 включ.	" 1,06 " 4,33 "	
4 Чрезвычайно медленно разлагаемые	Более 25	Более 4,33	

Пример определения биоразлагаемости поверхностно-активных веществ приведен в приложении Д.

6.6 Определение ориентировочно-допустимых уровней содержания ПАВ в стоках, подаваемых в аэротенки (ОДУ_А) и водоемах (ОДУ_В)

Концентрацию ПАВ, при которой аэротенк работает в течение не менее 20 сут после достижения адаптации устойчиво, без нарушений режимов, указанных в таблице 3, принимают в качестве ориентировочно-допустимого уровня (ОДУ_А) при сбросе на биологические очистные сооружения.

Концентрацию ПАВ, при которой достигается предельная адсорбция на границе вода – воздух, принимают в качестве ориентировочно-допустимого уровня для воды водоемов (ОДУ_В).

6.7 Составление заключения и выдача рекомендаций по способам переработки сточных вод

6.7.1 По результатам определения показателей биоразлагаемости составляют заключение по форме, приведенной в приложении Г.

6.7.2 Для предупреждения негативного влияния ПАВ, попадающих со сточными водами в водные системы, рекомендуется следующие методы очистки сточных вод (по классам) (таблица 7).

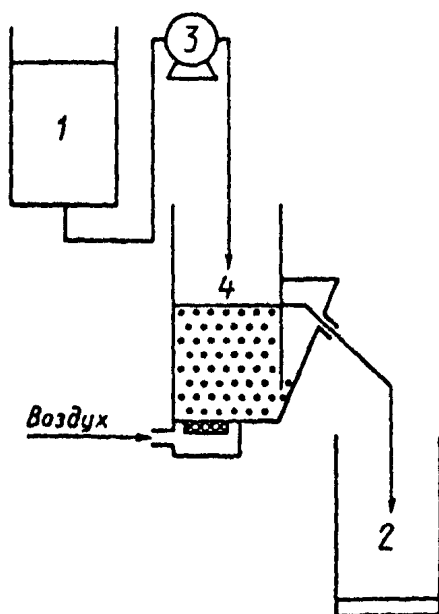
Т а б л и ц а 7 – Рекомендуемые приемы очистки стоков

Приемы, рекомендуемые для очистки сточных вод, содержащих ПАВ	Класс по биоразлагаемости			
	1*	2	3	4**
Биологические методы очистки	+	+	+	—
Локальные физико-химические методы очистки	—	—	+	+

* В порядке исключения допускается сброс в водные объекты после соответствующего разбавления до ПДК.

** Без локальной очистки стоков физико-химическими методами сбросы на биологические очистные сооружения не рекомендуются

**Схема установки для определения биоразлагаемости
поверхностно-активных веществ непрерывным методом**



*1-2 – емкости для загрязненной и очищенной сточной воды; 3 – дозатор
4 – аэротенк-отстойник*

Рисунок Б.1

**ПРОГРАММА РАСЧЕТА
ПОКАЗАТЕЛЕЙ БИОРАЗЛАГАЕМОСТИ ПАВ**

```

color 8,7
defdbl a-z
dim x(300), y(300)
dim z(200, 10), c(200, 10)
dim xx(300), yy(300)
open "PRN" for output as#1
open "SCRN:" for output as#2
n = 362
co = 50
m = 14
data 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17
  for i = 1 to m
    read x(i)
  next
data 4.1, 2.3, 3.6, 2.3, 2.1, 1.3, 1.1, 3.1, 1.1, 1.0, 0.8, 0.7, 0.7, 0.6
  for i = 1 to m
    read y(i)
  next
*** нахождение макс. и мин. значений x,y***
xmax=x(1)
xmin=x(1)
ymax=y(1)
ymin=y(1)
  for i=1 to m
    if xmax<x(i) then xmax=x(i)
    if xmin>x(i) then xmin=x(i)
    if ymax<y(i) then ymax=y(i)
    if ymin>y(i) then ymin=y(i),
  next
screen 2
'***построение осей координат***
line (40, 180)-(570, 180), 3
line (40, 180)-(40, 20), 3
'***построение сетки***
  for i=180 to 20 step -16
    for j=40 to 570 step 10

```

```

    pset(j, i)
next j, i
for i=40 to 570 step 53
for j=180 to 20 step -4
    pset(i, j)
next j, i
    преобразование значений x и y в графические координаты***
for i=1 to m
     $xg = (x(i) - xmin) * 530 / (xmax - xmin) + 40$ 
     $yg = 180 - (y(i) - ymin) * 160 / (ymax - ymin)$ 
    pset(xg, yg), 3
    line((xg-3).(yg-2)) - ((xg+3).(yg+2)), 7, b
next
4444 a$=inkey$ : if a$=" " then 4444
screen 0
n2=m
n1=m-1
98 y8=0
    for l=n1 to n2
        y8=y8+y(l)
    next l
y9=y8/(n2-n1+1)
y91=y9
ep=0.2*y9
    for l=n1 to n2
        if abs(y9-y(l)) > ep then 187
    next l
if n1 > 1 then 198
'на построение
goto 1189
198 n1=n1-1
goto 98
187 n4=n1-1
'наклон участка
n3=n4-1
122 n5=n3
n6=n4
99 a1=a
b1=b
gosub 1000
Ta=(y91-a)/b
Ka=(co-y91)/y91/6

```

```

pr=(co-y91)/(co*100
  for i=n3 to n4
    y9=a+b*x(i)
    ep=0.2*y9
    if abs(y9-y(i)) > ep then 88
  next i
a1=a
b1=b
n31=n3
if n3>1 then 118
'построить угол
goto 1189
118 n3=n3-1
goto 99
88 a=a1
b=b1
n3=n31
y8=0
y7=y(1)
  for i=1 to n3+1
    y8=y8+y(i)
    if y7 < y(i) then
      y7=y(i)
      x7=x(i)
    end if
  next i
print y7, x7
555 a$=inkey$: if a$="" then 555
y9=y8/n3
ep=0.2*y9
  for i=1 to n3
    if abs(y9-y(i)) > ep then 186
  next i
  построение
1189 screen 0
x9=(y9-a)/b
n1=n3
n2=n4
goto 3333
186 y9=y7
x9=x7

```

```

goto 1189
'***расчет yp и d***
3333 syy=0
    for i=n1 to n2
        yp=a+b*x(i)
        syy=syy+(y(i)-yp)^2/yp^2
    next
d=sqr(syy/(n2-n1))
s1=0
    for i=n2+1 to m
        s1=s1+y(i)
    next
f1=s1/(m-n2)
xmax1=(f1-a)/b
screen 2
'***построение осей координат***
line (40, 180)-(570, 180), 3
line (40, 180)-(40, 20), 3
'***построение сетки***
    for i=180 to 20 step -16
        for j=40 to 570 step 10
            pset (j, i)
        next j, i
    for i=40 to 570 step 53
        for j=180 to 20 step -4
            pset (i, j)
        next j, i
'***преобразование значений x и y в графические координаты***
    for i=1 to m
        xg=(x(i)-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
        yg=180-(y(i)-ymin)*160/(ymax-ymin)
        pset (xg, yg), 3
        line ((xg-3), (yg-2))-((xg+3), (yg+2)), 7, b
    next
'***построение расчетных прямых***
    if n1=1 then
        for x=xmax1 to xmax step (xmax-xmin)/530
            y=f1
            xg=(x-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
            yg=180-(y-ymin)*160/(ymax-ymin)
            pset (xg, yg)
        next
    elseif n3=1 then

```



```

    for x=x9 to xmax1 step (xmax-xmin)/530
        yp=a+b*x
        xg=(x-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
        yg=180-(yp-ymin)*160/(ymax-ymin)
        pset (xg, yg)
    next
    for x=xmax1 to xmax step (xmax-xmin)/530
        y=f1
        xg=(x-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
        yg=180-(y-ymin)*160/(ymax-ymin)
        pset (xg, yg)
    next
else
    for x=x9 to xmax1 step (xmax-xmin)/530
        yp=a+b*x
        xg=(x-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
        yg=180-(yp-ymin)*160/(ymax-ymin)
        pset (xg, yg): next
    for x=xmax1 to xmax step (xmax-xmin)/530
        y=f1
        xg=(x-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
        yg=180-(y-ymin)*160/(ymax-ymin)
        pset (xg, yg)
    next
    for x=x(1) to x9 step (xmax-xmin)/530
        yp=y9
        xg=(x-xmin)*530/(xmax-xmin)+40
        yg=180-(yp-ymin)*160/(ymax-ymin)
        pset (xg, yg)
    next
end if
2222 as=inkeys: if as=" " then 2222
for k=1 to 35
    print
next
screen 0
print "ВВЕДИТЕ ВЫБОР ВЫВОДА ДАННЫХ:"
print "1 - ВЫВОД НА ПЕЧАТЬ"
print "2 - ВЫВОД НА ЭКРАН"
input k
cls

```

```

print #k, " Tm"; " Km"; " Ta"=" Ka"; " %"
  for l=1 to n3
    if abs(y9-y(l)) < ep then Km=(co-y9)/y9/6
    goto 1001
    Km=(co-y7)/y7/6
    goto 1001
  next
1001 print #k, using "####.##"; x9, Km, Ta, Ka, pr, y9, x7
print #k, "КОЭФИЦИЕНТЫ В ПОРЯДКЕ СЛЕДОВАНИЯ РАВНЫ:"
print #k, using "###.##"; a, b
print #k, "АППРОКСИМАЦИЯ ВИДА  $y=A+Bx$ ",
print #k, " x"; " y"; " yp"
  for i=n1 to n2
    yp=a+b*x(i)
    print #k, using "###.##"; x(i), y(i), yp
  next
print #k, using "###.##": d
print #k, using "Y=###.## X=###.## "; f1, xmax1
stop
1000 rem print "***ПОДПРОГРАММА APR***"
sx=0
sxx=0
sy=0
sxy=0
  for i=n5 to n6
    +x(i)
    sy+=y(i)
    sxx=sxx+x(i)^2
    sxy=sxy+x(i)*y(i)
  next
a=(sx*sxy-sy*sxx)/(sx^2-(n6-n5+1)*sxx)
b=(sx*sy-(n6-n5+1)*sxy)/(sx^2-(n6-n5+1)*sxx)
return
123 print "неверно заданы нач. или кон."
stop
goto 122
end

```

ФОРМА ЗАКЛЮЧЕНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ БИОРАЗЛАГАЕМОСТИ ПАВ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

а) Химическое и товарное наименование.

б) Нормативный документ.

в) Химический состав препарата и сведения о его компонентах или примесях (токсичность, биоразлагаемость, санитарно-гигиенические нормативы).

г) Физико-химические свойства.

Коллоидно-химические характеристики (концентрация достижения предельной адсорбции на границе вода — воздух, критическая концентрация мицеллообразования).

д) Результаты экспериментальных исследований биоразлагаемости ПАВ в аэротенках (форма — таблица 5) с определением кинетических характеристик процесса биоразложения:

— тип кинетической зависимости;

— продолжительность индукционного периода;

— периоды полуразложения ПАВ адаптированным и (или) неадаптированным активным илом;

— ориентировочно допустимый уровень содержания ПАВ в сточных водах, подаваемых на аэротенки (ОДУА), и в водоемах (ОДУВ).

е) Класса биоразлагаемости.

ж) Общие выводы.

з) Ответственный исполнитель организации, проводивший исследования биоразлагаемости ПАВ. Подпись, печать, дата.

ПРИМЕРЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОРАЗЛАГАЕМОСТИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

1 ПАВ с кинетическими зависимостями типа I (алкилбензолсульфонат натрия)

В соответствии с 6.2 подготавливают к работе два аэротенка — контрольный и опытный.

Устанавливают концентрацию *n*-алкилбензолсульфоната в синтетической сточной воде на входе аэротенка: $C_{вх} = 0,5 \text{ ККМ} = 50 \text{ мг/дм}^3$.

Проводят определение показателей очищенной сточной воды. Результаты сводят в таблицу по форме таблицы 5.

Строят графическую зависимость $C_{вых} = f(t)$. Результаты приведены на рисунке Д.1. По кинетической зависимости процесса биоразложения указанное вещество относится к типу I. Из рисунка Д.1 определяют продолжительность индукционного периода: $t_{инд} = (6,5 \pm 0,5) \text{ сут.}$

В соответствии с 6.4.3 определяют периоды полуразложения вещества в часах: — неадаптированным активным илом по формуле (2)

$$T_{н1/2} = 0,693 \cdot \frac{6}{1} \cdot \frac{10}{50-10} = 1,0 \pm 0,2;$$

— адаптированным активным илом по формуле (1)

$$T_{а1/2} = 0,693 \cdot \frac{6}{1} \cdot \frac{0,5}{50-0,5} = 0,04 \pm 0,01.$$

Отнесение *n*-алкилбензолсульфоната натрия к классу по биоразлагаемости проводят в соответствии с таблицей 6.

По $t_{инд}$ указанное вещество относится по кинетике процесса биоразложения к типу I, лимитирующий показатель — продолжительность индукционного периода. Его значение $(6,5 \pm 0,5) \text{ сут.}$, т.е. указанное вещество следует отнести ко 2-му классу — “умеренно разлагаемые” вещества.

2 ПАВ с кинетическими зависимостями типа II

В соответствии с классификацией к данному типу относятся ПАВ, у которых продолжительность индукционного периода превышает 25 сут. Например, оксигетилированные на 40 молей окиси этилена *p*-изононилфенолы (неонолы АФ9—40) имеют следующие показатели: $t_{инд} = (31,5 \pm 0,5) \text{ сут.}$, $T_{н1/2} = (19 \pm 3) \text{ ч.}$, $T_{а1/2} = (0,22 \pm 0,55) \text{ ч.}$ Указанный продукт по значению $t_{инд}$ относится к 1-му классу, по значению $T_{а1/2}$ — ко 2-му классу, по значению $T_{н1/2}$ — к 4-му классу. Окончательно указанное ПАВ относится к 4-му классу биоразлагаемости.

3 ПАВ с кинетическими зависимостями типа III

В соответствии с классификацией к данному типу относятся ПАВ, у которых процесс биоразложения самонигибируется. Например, цианметилированные оксигетилированные на 10 молей окиси этилена *p*-изононилфенолы (неонолы АФ9—91Ц) имеют следующие показатели: $t_{инд} = (13 \pm 1) \text{ сут.}$, $T_{н1/2} = (0,46 \pm 0,10) \text{ ч.}$, $T_{а1/2} = (10 \pm 3) \text{ ч.}$ Указанный продукт по значению $t_{инд}$ относится к 3-му классу, по значению $T_{а1/2}$ — к 4-му классу, по значению $T_{н1/2}$ — ко 2-му классу. Окончательно указанное ПАВ относят к 4-му классу биоразлагаемости.

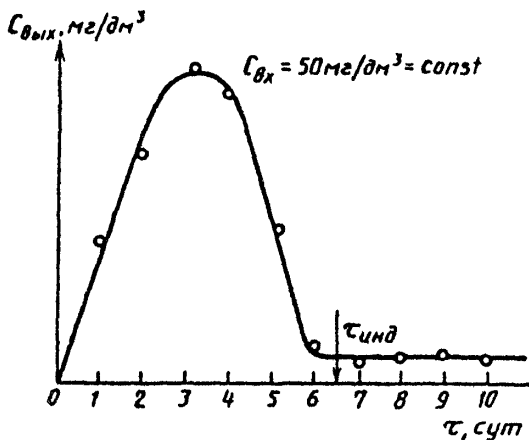


Рисунок Д.1 — Концентрация алкилбензолсульфоната на основе *n*-парафинов в очищенной сточной воде в зависимости от продолжительности испытаний

Методы анализа, используемые при определении показателей биоразлагаемости ПАВ

1 ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К МЕТОДАМ АНАЛИЗА

1.1 Общие указания по проведению анализа — по ГОСТ 27025.

1.2 Допускается применение других средств измерения с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а реактивов по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

1.3 Допускается применение других методов анализа, точность которых не ниже указанной в настоящем стандарте.

2 КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНИОНАКТИВНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ (АПАВ)

Метод основан на образовании ассоциатов анионноактивных ПАВ с красителем метиленовым синим, растворимых в хлороформе и практически нерастворимых в воде. Экстракцию комплексного соединения хлороформом проводят сначала в щелочной среде, а затем в кислой, что позволяет устранять мешающее влияние ионов минеральных солей (хлоридов, нитратов и др.).

Определению мешают сульфиды, их влияние устраняют добавлением пероксида водорода.

2.1 Средства измерений, вспомогательные устройства и реактивы

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Фотоэлектроколориметр.

Воронки ВД-1—250 ХС по ГОСТ 25336.

Воронка В-36—80 ХС по ГОСТ 25336.

Бы 2—50—2, 2—100—2 и 2—1000—2 по ГОСТ 1770.

Шплетки вместимостью 2, 5, 10 и 50 см³.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота серная по ГОСТ 4204.

Метиленовый синий.

Натрий фосфорно-кислый двузамещенный по ГОСТ 11733.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Хлороформ по ГОСТ 20015.

2.2 Подготовка к анализу

2.2.1 Приготовление образцов сравнения анионноактивного ПАВ

Образцы сравнения готовят из стандартного образца АПАВ с концентрацией 0,1 мг/см³ АПАВ.

2.2.2 Приготовление фосфатного буферного раствора

10,0 г двузамещенного фосфорно-кислого натрия помещают в мерную колбу, растворяют в дистиллированной воде, добавляют раствор гидроокиси натрия до pH 10 и разбавляют водой до объема 1 дм³.

2.2.3 Приготовление нейтрального раствора метиленового синего

0,35 г метиленового синего помещают в мерную колбу, растворяют в воде и доводят объем до 1 дм³.

2.2.4 Приготовление кислого раствора метиленового синего

0,35 г метиленового синего помещают в мерную колбу, растворяют в 500 см³ воды, добавляют 6,5 см³ концентрированной серной кислоты и доводят объем до 1 дм³ водой.

2.3 Построение градуировочного графика

Готовят растворы сравнения. Для этого в делительные воронки помещают по 1, 2, 3, 4 или 5 см³ раствора сравнения, содержащего 0,1 мг/см³ АПАВ, разбавляют дистиллированной водой до 100 см³, приливают 10 см³ фосфатного буферного раствора, 5 см³ нейтрального раствора метиленового синего, 15 см³ хлороформа. Осторожно встряхивают в течение 1 мин и после отстаивания хлороформный слой сливают в другую делительную воронку, в которую налито 110 см³ дистиллированной воды и 5 см³ кислого раствора метиленового синего. Взбалтывают осторожно в течение 1 мин, дают отстояться и сливают слой хлороформа в мерную колбу вместимостью 50 см³ через небольшую воронку с вложенным в нее тампоном ваты, предварительно смоченным хлороформом.

Экстрагирование проводят три раза, дважды наливая в первую делительную воронку по 15 см³ хлороформа и один раз 10 см³ и повторяя описанные операции. Собранные в мерной колбе вместимостью 50 см³ экстракты разбавляют хлороформом, доводя объем до метки.

Оптическую плотность растворов сравнения измеряют на фотозлектроколориметре по отношению к контрольному раствору при длине волны 650 нм (красный светофильтр).

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс введенные в дистиллированную воду массы АПАВ в миллиграммах, а на оси ординат — соответствующие им значения оптических плотностей.

2.4 Проведение анализа

Объем воды, отбираемой для анализа, при концентрации АПАВ до 5 мг/дм³ составляет от 50 до 20 см³, до 10 мг/дм³ — 10 см³, до 30 мг/дм³ — 5 см³, до 70 мг/дм³ — 2 см³.

Аликвоту анализируемой воды помещают в делительную воронку, разбавляют дистиллированной водой до 100 см³ и далее анализ проводят, как указано в 2.3 данного приложения.

По полученному значению оптической плотности, пользуясь градуировочным графиком, находят массу АПАВ в анализируемой воде в миллиграммах.

2.5 Обработка результатов

Массовую концентрацию анионных ПАВ в воде X_1 в миллиграммах на кубический дециметр рассчитывают по формуле

$$X_1 = \frac{m \cdot 1000}{V}, \quad (\text{Е.1})$$

где m — найденная по градуировочному графику масса АПАВ, мг; V — объем анализируемой пробы, см³.

3 КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕИОНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ (НПАВ)

Определение основано на осаждении НПАВ в виде комплексного соединения с фосфорновольфрамовой кислотой и хлористым барием, которое при растворении в концентрированной серной кислоте дает с гидрохиноном красно-коричневую окраску

Определению мешают сульфаты при массовой концентрации их более 200 мг/дм³, влияние которых устраняют путем разбавления пробы, а также белки, которые удаляют с помощью гидроокиси цинка.

3.1 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и растворы

Фотоэлектроколориметр.

Центрифуга.

Баня водяная.

Колба 2—100—2 и 2—1000—2 по ГОСТ 1770.

Пипетки вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³.

Пробирка ПЗ—25 ХС по ГОСТ 25336.

Барий хлористый 2-водный по ГОСТ 4108, раствор с массовой долей 10 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Гидрохинон по ГОСТ 19627, раствор в серной кислоте с массовой долей 5 %.

Кислота серная по ГОСТ 4204.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 разбавленная 1:1.

Фосфорно-12-вольфрамовая (7) кислота водная (фосфорно-вольфрамовая кислота) по ТУ 6—09—01—744—88, раствор с массовой долей 2 %.

3.2 Подготовка к анализу

Готовят стандартный раствор немоногенного ПАВ массовой концентрации 0,1 мг/см³ НПAB.

3.3 Построение градуировочного графика

Готовят растворы сравнения. Для этого в мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 0, 1, 2, 3, 4 и 5 см³ раствора сравнения, содержащего 0,1 мг/см³ НПAB, и доводят объем до метки дистиллированной водой, получая растворы сравнения НПAB с массовой концентрацией 0, 1, 2, 3, 4 и 5 мг/дм³. Затем по 10 см³ полученных растворов пипеткой помещают в пробирки, добавляют 2 капли раствора соляной кислоты, 1 см³ раствора хлористого бария и 1 см³ раствора фосфорновольфрамовой кислоты и перемешивают тонкой стеклянной палочкой, пользуясь ей и дальше в ходе анализа.

Далее пробирки помещают в кипящую водяную баню, выдерживают в течение 15 мин. Затем пробирки вынимают, центрифугируют 5 мин со скоростью 2500 об/мин и сливают раствор, находящийся над осадком (очень осторожно, лучше отсосать через тонкий капилляр с помощью вакуум-насоса). Оставшийся осадок дважды промывают, наливая в пробирку по 5 см³ горячей дистиллированной воды, и дважды центрифугируют. Подсушенный в сушильном шкафу при 105°C осадок растворяют в 3 см³ концентрированной серной кислоты. После растворения осадка добавляют 1 см³ раствора гидрохинона, перемешивают тщательно палочкой и добавляют еще 6 см³ концентрированной серной кислоты.

Оптическую плотность растворов сравнения измеряют на фотоэлектроколориметре по отношению к контрольному раствору при длине волны 500 нм (зеленый светофильтр).

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс введенные в дистиллированную воду массы НПAB в миллиграммах, а на оси ординат — соответствующие им значения оптических плотностей.

3.4 Проведение анализа

В пробирку помещают 10 см³ анализируемой пробы воды исходной или

разбавленной так, чтобы массовая концентрация НПАВ в пробе была в пределах 2—6 мг/дм³, и далее анализ проводят, как указано в 3.3 данного приложения.

По полученному значению оптической плотности, пользуясь градуировочным графиком, находят массу НПАВ в анализируемой воде в миллиграммах.

3.5 Обработка результатов

Массовую концентрацию НПАВ в воде X_2 в миллиграммах на кубический дециметр рассчитывают по формуле

$$X_2 = \frac{m \cdot 1000}{V}, \quad (E.2)$$

где m — найденная по градуировочному графику масса НПАВ, мг; V — объем анализируемой пробы, см³.

4 ХИМИЧЕСКОЕ ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА (ХПК)

Метод основан на практически полном окислении органических веществ, содержащихся в воде, двухромово-кислым калием в кислой среде до двуокиси углерода и воды. Избыток двухромово-кислого калия оттитровывают раствором соли Мора в присутствии индикатора (фенилантрапиновой кислоты или ферроина) и катализатора (серно-кислое серебро).

4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и растворы

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Бюретка вместимостью 25 см³ с ценой деления 0,1 см³.

Колба 2—100—2 по ГОСТ 1770.

Колба П-1—250—29/32 ТС по ГОСТ 25336.

Пипетка вместимостью 20 см³.

Стаканчик для взвешивания типа СВ по ГОСТ 25336.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Железо (II) серно-кислое 7-водное по ГОСТ 4148.

Калий двухромово-кислый по ГОСТ 4220, раствор молярной концентрации $c(1/6K_2Cr_2O_7) = 0,1$ моль/дм³, готовят по ГОСТ 25794.2.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х.ч.

Серебро серно-кислое.

Соль закиси железа и аммония двойная серно-кислая (соль Мора) по ГОСТ 4208, раствор молярной концентрации $c(NH_4)_2SO_4FeSO_4 \cdot 6H_2O = 0,05$ моль/дм³, готовят по ГОСТ 25794.2.

1,10-Фенантролин, ч.

Раствор ферроина; готовят следующим образом: 1,485 г 1,10-фенантролина и 0,695 г 7-водного серно-кислого железа (II) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в воде, разбавляют водой до метки и перемешивают.

4.2 Проведение анализа

20 см³ сточной воды или другой анализируемой жидкости* помещают в колбу,

* Объем пробы для анализа подбирают таким образом, чтобы на ее окисление расходовалось не более 8 см³ титрованного раствора двухромово-кислого калия. При этом надо соблюдать условие, при котором сумма объемов анализируемой жидкости и двухромово-кислого калия относилась бы к объему серной кислоты как 1:1.

добавляют 10 см³ раствора двуххромово-кислого калия и малыми порциями приливают 30 см³ концентрированной серной кислоты. Затем добавляют 200 мг серно-кислого серебра, содержимое тщательно перемешивают и после присоединения обратного холодильника смесь равномерно кипятят в течение 2 ч. Затем колбу охлаждают, обмывая стенки холодильника 50 см³ дистиллированной воды, добавляют 2—3 капли раствора ферроина и титруют избыток двуххромово-кислого калия раствором соли Мора.

Одновременно проводят контрольный опыт с 20 см³ дистиллированной воды.

4.3 Обработка результатов

Химическое потребление кислорода ХПК в миллиграммах кислорода на кубический дециметр анализируемой воды (мг О₂/дм³) вычисляют по формуле

$$ХПК = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N \cdot K \cdot 8 \cdot 1000}{V_0}, \quad (1.3)$$

где V_1 — объем раствора соли Мора, израсходованный на титрование контрольного раствора, см³; V_2 — объем раствора соли Мора, израсходованный на титрование анализируемой пробы, см³; N — молярная концентрация применяемого раствора соли Мора, моль/дм³; K — поправочный коэффициент раствора соли Мора, 8 — грамм-эквивалент кислорода, мг; V_0 — объем анализируемой воды, взятой для анализа, см³.

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, относительное расхождение между которыми не превышает допускаемое расхождение, равное 10 % при доверительной вероятности $P = 0,95$.

5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТА НИТРИТОВ

Метод определения азота нитритов основан на образовании диазосоединений при реакции нитритов с сульфаниловой кислотой. Полученное диазосоединение реагирует с 1-нафтиламином, образуя окрашенное в ярко-красный цвет азосоединение. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации нитритов.

тщательность метода — 0,005 мг/дм³.

5.1 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и растворы

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Фотоэлектроколориметр.

Баня водяная.

Термостат лабораторный.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 100 и 1000 см³.

Пипетки вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, концентрированная и раствор концентрации 1 моль/дм³.

Натрий азотисто-кислый по ГОСТ 4197, х. ч.

1-Нафтиламин по ТУ 6—09—07—1703.

Кислота сульфаниловая по ГОСТ 5821.

5.2 Подготовка к анализу

5.2.1 Приготовление раствора сульфаниловой кислоты

8,000 г сульфаниловой кислоты при нагревании на водяной бане растворяют

в 300 см³ дистиллированной воды, раствор перемешивают, охлаждают и добавляют 290 см³ концентрированной уксусной кислоты. Объем полученного раствора доводят до 1 дм³ дистиллированной водой.

5.2.2 Приготовление раствора 1-нафтиламина

5,000 г 1-нафтиламина растворяют в 1 дм³ уксусной кислоты концентрации 5 моль/дм³, затем раствор фильтруют через фильтр, хорошо промытый горячей дистиллированной водой, и хранят в склянке из темного стекла.

Для приготовления раствора уксусной кислоты концентрации 5 моль/дм³ 290 см³ концентрированной уксусной кислоты разбавляют до объема 1 дм³ дистиллированной водой.

5.2.3 Приготовление реактива Грисса

Смешивают равные объемы раствора сульфаниловой кислоты и раствора 1-нафтиламина в склянке из темного стекла с пришлифованной стеклянной пробкой. Реактив готовят в день определения.

5.2.4 Приготовление раствора, содержащего нитритный азот

0,492 г азотисто-кислого натрия переносят в колбу, растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки водой в мерной колбе вместимостью 1 дм³ (раствор А).

10 см³ раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и доводят объем до метки водой. 1 см³ раствора содержит 0,001 мг нитритного азота (раствор Б).

5.3 Построение градуировочного графика

Готовят серию растворов сравнения, помещая в мерные колбы вместимостью 100 см³ по 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 и 6,0 см³ раствора Б. Прибавляют по 2 см³ реактива Грисса, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой, перемешивают и выдерживают 20 мин при 30°C в термостате, после чего измеряют оптическую плотность по отношению к контрольному раствору на фотоэлектроколориметре в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 50 мм при длине волны 520—550 нм (зеленый светофильтр).

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс введенные массы азота нитритов в миллиграммах, а на оси ординат — соответствующие им значения оптических плотностей.

5.4 Проведение анализа

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят навеску анализируемой воды, содержащую не более 0,005 мг азота нитритов. В колбу прибавляют 2 см³ реактива Грисса, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и далее анализ проводят, как описано в 5.3 данного приложения.

По полученному значению оптической плотности, пользуясь градуировочным графиком, находят массу нитритного азота в анализируемой воде в миллиграммах.

5.5 Обработка результатов

Массовую концентрацию нитритного азота X_3 в миллиграммах на кубический дециметр рассчитывают по формуле

$$X_3 = \frac{m \cdot 1000}{V}, \quad (E.4)$$

где m — масса нитритного азота, найденная по градуировочному графику, мг;
 V — объем анализируемой воды, см³.

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, относительное расхождение между которыми не

превышает допускаемое расхождение, равное 5 % при доверительной вероятности $P=0,95$.

6 ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТНОГО АЗОТА

Колориметрическое определение нитратного азота основано на реакции нитратов с 1, 2, 4-фенолдисульфокислотой в результате которой образуются окрашенные в желтый цвет нитропроизводные. Этим способом можно определять от 0,01 до 4 мг нитратного азота в 1 дм³ воды.

6.1 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и растворы

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Фотоэлектроколориметр.

Баня водяная.

Колба Кн—1—250—29/32°C по ГОСТ 25336.

Колбы 2—100—2 и 2—1000—2 по ГОСТ 1770.

Пипетки градуированные вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³.

Цилиндр 1—50 по ГОСТ 1770.

Чашка выпарительная по ГОСТ 9147.

Холодильник воздушный длиной 1100 мм и диаметром 8—10 мм.

Аммиак водный по ГОСТ 3760, раствор молярной концентрации 4 моль/дм³.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий азотно-кислый по ГОСТ 4217.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч.

Фенол по ГОСТ 23519.

Хлороформ по ГОСТ 20015.

6.2 Подготовка к анализу

6.2.1 Приготовление раствора, содержащего азотно-кислый калий

0,721 г азотно-кислого калия, высушенного при 105°C, переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм³, растворяют в дистиллированной воде, добавляют 1 см³ хлороформа и доводят объем раствора водой до метки. 1 см³ этого раствора содержит 0,01 мг нитратного азота (раствор А).

10 см³ раствора А разбавляют в мерной колбе вместимостью 100 см³ водой до метки и перемешивают (раствор Б). Раствор Б применяют свежеприготовленным. 1 см³ раствора Б содержит 0,01 мг нитратного азота.

6.2.2 Приготовление сульфифенолового реактива

3 г фенола смешивают с 20,1 см³ серной кислоты и нагревают 6 ч на кипящей водяной бане в колбе с пробкой, в которую вставлен воздушный холодильник.

6.3 Построение градуировочного графика

Готовят серию растворов сравнения, помещая пипетками в выпарительные чашки по 0, 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см³ раствора Б и добавляя дистиллированную воду до 10 см³. Анализируемые растворы в чашках досуха выпаривают на водяной бане, охлаждают и прибавляют по 2 см³ сульфифенолового реактива. Быстро размешивая при этом весь сухой остаток, дают постоять 10 мин. добавляют 15 см³ воды и перемешивают до растворения. Затем количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 см³, добавляют 10 см³ раствора аммиака, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают.

Оптическую плотность растворов сравнения измеряют по отношению

контрольному раствору на фотоэлектрорефлектометре при длине волны 410 нм (фиолетовый светофильтр) в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 50 мм.

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс введенные массы нитратного азота в миллиграммах, а на оси ординат — соответствующие им значения оптических плотностей.

6.4 Проведение анализа

10 см³ анализируемой воды помещают в выпарительную чашку и досуха выпаривают на водяной бане. После охлаждения сухой остаток смачивают 2 см³ сульфохенолового раствора, дают постоять 10 мин, приливают 15 см³ воды и перемешивают до растворения. Затем количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, добавляют 10 см³ раствора аммиака и далее анализ проводят, как описано в 6.3 данного приложения.

По полученному значению оптической плотности, пользуясь градуировочным графиком, находят массу нитратного азота в анализируемой воде в миллиграммах.

6.5 Обработка результатов

Массовую концентрацию нитратного азота X_4 в миллиграммах на кубический дециметр рассчитывают по формуле

$$X_4 = \frac{m \cdot 1000}{V}, \quad (E.5)$$

где m — масса нитратного азота, найденная по градуировочному графику, мг;
 V — объем анализируемой воды, см³.

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, относительное расхождение между которыми не превышает допускаемое расхождение, равное 10 % при доверительной вероятности $P=0,95$.

7 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АММОНИЙНОГО АЗОТА

Метод определения аммонийного азота основан на образовании окрашенного соединения — йодистого мер-ураммония — при взаимодействии иона NH_4^+ с реактивом Несслера.

Чувствительность метода — 0,005 мг/дм³.

Определению аммонийного азота с реактивом Несслера мешают соединения с несколькими амидными группами, алифатические и ароматические амины, спирты, альдегиды, ацетон, органические хлорамины и другие органические соединения, реагирующие с реактивом Несслера. В их присутствии аммонийный азот отгоняют из анализируемой воды и определяют его в полученном дистилляте.

Определению мешают соли жесткости, железа, сульфиды, свободный хлор мутность воды.

7.1 Средства измерений, вспомогательные устройства и реактивы

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г

Фотоэлектрорефлектометр

Колба Кн 1 - 100—29/32 по ГОСТ 25336

Колба 2 - 1000 - 2 по ГОСТ 1770

Ципетки вместимостью 1, 2 и 50 см³

Аммоний хлористый по ГОСТ 3773, х.ч

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий-натрий винно-кислый 4-водный (Сегетова соль) по ГОСТ 5845.

Натрий углекислый 10-водный по ГОСТ 84, х.ч.

Реактив Нesslerа, готовят по ГОСТ 4517.

7.2 Подготовка к анализу

7.2.1 Приготовление безаммиачной дистиллированной воды

К 2 дм³ дистиллированной воды прибавляют 10-годный углекислый натрий до слабощелочной реакции и упаривают раствор на $\frac{1}{4}$ объема. Воду хранят в бутылки с нижним тубусом. В пробку бутылки вставляют хлоркальциевую трубку.

7.2.2 Приготовление раствора сегетовой соли

50 г сегетовой соли растворяют в 100 см³ безаммиачной дистиллированной воды. Раствор хранят в склянке из темного стекла в темном месте.

7.2.3 Приготовление раствора, содержащего аммонийный азот

0,383 г перекристаллизованного и высушенного при 100—105°C хлористого аммония помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм³, растворяют в безаммиачной дистиллированной воде и доводят объем раствора этой же водой до метки (раствор А).

1 см³ раствора А содержит 0,1 мг аммонийного азота.

7.3 Построение градуировочного графика

Готовят серию растворов сравнения, помещая пипетками в мерные колбы вместимостью 100 см³ по 0; 0,5; 1,0; 2,0; 2,5; и 3,0 см³ раствора А, доводят объемы раствора безаммиачной дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. По 50 см³ полученных растворов сравнения помещают пипеткой в конические колбы вместимостью 100 см³, добавляют 2 см³ раствора сегетовой соли и 1 см³ реактива Нesslerа, перемешивают и точно через 10 мин измеряют оптическую плотность растворов сравнения по отношению к контрольному раствору на фотоэлектроколориметре при длине волны 425 нм (синий светофильтр) в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 50 мм.

По полученным значениям оптических плотностей строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс введенные массы аммонийного азота в миллиграммах, а на оси ординат — соответствующие им значения оптических плотностей.

7.4 Проведение анализа

В коническую колбу вместимостью 100 см³ отбирают пипеткой 50 см³ профильтрованной анализируемой воды, содержащей 0,02—0,08 мг аммонийного азота (при большем содержании азота пробу предварительно разбавляют). К пробе добавляют 2 см³ раствора сегетовой соли и 1 см³ реактива Нesslerа и далее анализ проводят, как описано в 7.3 данного приложения.

По полученному значению оптической плотности, пользуясь градуировочным графиком, находят массу аммонийного азота в анализируемой воде в миллиграммах.

7.5 Обработка результатов

Массовую концентрацию аммонийного азота X_5 в миллиграммах на кубический дециметр рассчитывают по формуле

$$X_5 = \frac{m \cdot 1000}{V}, \quad (B.6)$$

где m — масса аммонийного азота, найденная по градуировочному графику, мг; V — объем анализируемой воды, см³.

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух

параллельных определений, относительное расхождение между которыми не превышает допускаемое расхождение, равное 5 % при доверительной вероятности $P=0,95$.

8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АКТИВНОГО ИЛА

Определенное количество иловой смеси из азротенка фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный фильтр, затем высушивают при 105°C. Концентрацию ила определяют гравиметрическим методом.

8.1 Средства измерений, вспомогательные устройства и материалы

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Шкаф сушильный лабораторный.

Воронка В-56—80 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканчик СВ-14/8 по ГОСТ 25336.

Цилиндр 1—100—2 по ГОСТ 1770.

Эксикатор по ГОСТ 25336.

Фильтр обеззоленный "белая лента".

8.2 Подготовка к анализу

Обеззоленный фильтр "белая лента" помещают в стаканчик и сушат в сушильном шкафу при 105°C до постоянной массы.

8.3 Проведение анализа

Активный ил в азротенке хорошо перемешивают и отбирают в цилиндр иловую смесь, которую затем фильтруют через обеззоленный фильтр, предварительно доведенный до постоянной массы и вложенный в воронку. Остатки ила со стенок цилиндра смывают дистиллированной водой. Воронку с фильтром подсушивают в сушильном шкафу.

Подсушенный фильтр осторожно складывают и помещают в стаканчик (не закрывая его крышкой), в котором доводился до постоянной массы пустой фильтр, а затем в сушильном шкафу высушивают в течение часа. Стаканчик закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Эти операции повторяют до получения постоянной массы, причем продолжительность просушивания сокращают до 30 мин.

Результаты всех взвешиваний в граммах записывают с точностью до третьего десятичного знака.

Сухой остаток сохраняют для определения зольности по 9.2. данного положения.

8.4 Обработка результатов

Массовую концентрацию активного ила X_6 в граммах на кубический дециметр вычисляют по формуле

$$X_6 = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 1000}{V}, \quad (E.7)$$

где m_1 — масса высушенного фильтра с активным илом, г; m_2 — масса высушенного фильтра без активного ила, г; V — объем профильтрованной иловой смеси, см³.

9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗОЛЬНОСТИ АКТИВНОГО ИЛА

Зольность активного ила определяют гравиметрическим методом после прокаливания сухого осадка, полученного при определении концентрации активного ила.

9.1 Средства измерений и вспомогательные устройства

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Печь муфельная.

Тигель фарфоровый по ГОСТ 9147.

Эксикатор по ГОСТ 25336.

9.2 Проведение анализа

Взвешенный обеззоленный фильтр с высушенным активным илом, полученным по 8.3 данного приложения, помещают в предварительно прокаленный при температуре 600°C и доведенный до постоянной массы фарфоровый тигель и осторожно поджигают спичкой. Затем фарфоровый тигель с озолненным фильтром 60 мин прокаливают в муфельной печи при температуре 600°C. Тигель охлаждают, выдерживают в эксикаторе 30 мин и взвешивают. Прокаливание и взвешивание повторяют до получения постоянной массы, причем продолжительность повторных прокаливаний сокращают до 30 мин. Результаты всех взвешиваний в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака.

9.3 Обработка результатов

Зольность сухого вещества активного ила X_7 в процентах рассчитывают по формуле

$$X_7 = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m_0}, \quad (\text{Е.8})$$

где m_1 — масса тигля с остатком после прокаливания, г; m_2 — масса пустого тигля, г; m_0 — масса остатка после высушивания, полученная по 8.3 данного приложения, г.

10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЛОВОГО ИНДЕКСА

Иловый индекс равен объему, занимаемому 1 г сухого вещества активного ила через 30 мин отстаивания в цилиндре.

10.1 Средство измерений

Цилиндр 1—100—2 по ГОСТ 1770.

10.2 Проведение анализа

Пробу иловой смеси взбалтывают, наливают 100 см³ в цилиндр и отстаивают в течение 30 мин, затем измеряют объем, занимаемый активным илом.

10.3 Обработка результатов

Иловый индекс $I_{\text{и}}$ в кубических сантиметрах на грамм рассчитывают по формуле

$$I_{\text{и}} = \frac{V \cdot 10}{X}, \quad (\text{Е.9})$$

где V — объем активного ила в цилиндре после 30-минутного отстаивания,

см³; X — массовая концентрация активного ила, определенная по 8.4 данного приложения, г/см³.

11 ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОГО ИЛА

Гидробиологическое исследование активного ила проводят микроскопированием с целью контроля за его качеством, а также за работой биологических очистных сооружений (аэротенков).

11.1 Средства измерений, вспомогательные устройства

Микроскоп МБИ-6 или аналогичный.

Предметные и покровные стекла.

11.2 Подготовка к исследованию

10 см³ активного ила отбирают непосредственно из аэротенка. Затем на предметное стекло пипеткой наносят небольшую каплю суспензии активного ила, накрывают покровным стеклом и укрепляют на предметном столике микроскопа.

11.3 Проведение измерения

Проводят микроскопирование, для чего пробу просматривают вначале при малом увеличении (окуляр 10× или 15×, объектив 8×), затем при большом (окуляр 10× или 15×, объектив 40×). Просматривают не менее 3 проб.

11.4 Обработка результатов

Количество организмов учитывают по пятибалльной системе: один — единично, два — мало, три — порядочно, четыре — много, пять — масса. Отмечают также состояние организмов, их подвижность, работу реснитчатого аппарата.

Проводят определение видов организмов по определителям (например Атлас "Фауна аэротенков", Л 6 "Наука, 1984, 264 с).

12 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕНООБРАЗОВАНИЯ

Метод основан на измерении высоты столба пены над уровнем аэрируемой жидкости в аэротенке.

12.1 Средство измерения

Линейка, градуированная в сантиметрах и миллиметрах.

12.2 Проведение измерения

С помощью линейки измеряют среднюю высоту столба пены над уровнем аэрируемой жидкости, прикладывая линейку к аэротенку.

За результат измерения принимают среднее арифметическое результатов пяти измерений, проведенных в течение 30 мин.

УДК 661.185.543.542:006.354

Л29

Ключевые слова: поверхностно-активные вещества, биоразлагаемость, иловый индекс, кинетические характеристики, концентрация, период полураспада, критическая концентрация мицеллообразования

ОКСТУ 2409

Редактор *Л.И. Нахимов*
Технический редактор *О.Н. Власова*
Корректор *В.И. Кануркина*

Сдано в набор 20.10.93. Подписано в печать 25.12.93. Усл. печ. л. 2,33. Усл. кр.-отт. 2,56.
Уч.-изд. л. 2,30. Тираж 455 экз. С 974. Зак. 6003

Ордена "Знак Почета" Издательство стандартов,
107076, Москва, Колодезный пер., 14
Набрано в Издательстве стандартов на ИПУ
Тип. "Московский печатник". Москва, Лялин пер., 6.