

Ek-8 Test Yöntemleri ve Analitik Yöntemler

Aşağıdaki test ve analitik yöntemler, Bakanlık tarafından yürütülecek piyasadaki deterjanların kontrol işlemlerinde uygulanır:

1. Referans yöntemi (doğrulama testi)

1.1. Tanım

Bu yöntem, şehir atık su arıtma işlemleri için tasarlanmış olan aktif çamur ve ikincil çökeltme sistemi için tanımlanan bir laboratuvar modelidir. TS EN ISO 11733'te belirtildiği şekilde bu test yöntemine, geliştirilmiş modern işletme şartları uygulanabilir.

1.2. Ölçüm için gerekli ekipman

Ölçme işleminde, genel hatları Şekil 1'de ve ayrıntıları Şekil 2'de verilen küçük aktif çamur tesisatı kullanılır. Ekipman, sentetik atık su için sentetik atık su deposu A, besleme ayar pompası B, havalandırma kabı C, çöktürme kabı D, aktif çamuru tekrar beslemesi için hava pompası E ve işlemden geçirilmiş atık sıvıyı depolamak için kap F'den oluşur.

A ve F kapları camdan veya uygun bir plastikten yapılmış olmalı ve en az yirmi dört litrelik bir hacme sahip olmalıdır. B pompası, sentetik atık suyun, havalandırma kabına sabit bir debide akışını sağlamalıdır; bu kap, normal işlem esnasında, üç litre sıvı karışım ihtiva eder. C kabının koni şeklindeki taban kısmının üst bölgesinde asılı halde sinterlenmiş bir G havalandırma kabı bulunur. Havalandırıcıdan geçirilen hava miktarı, H debi ölçeriyle sürekli izlenmelidir.

1.3. Sentetik atık su

Deneyde, sentetik atık su kullanılır. Her bir litre çeşme suyu için, aşağıda belirtilen maddeler çözülür:

- 160 mg pepton;
- 110 mg et ekstratı;
- 30 mg üre, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$;
- 7 mg sodyum klorür, NaCl ;
- 4 mg kalsiyum klorür, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- 2 mg magnezyum sülfat, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- 28 mg dipotasyum hidrojen fosfat K_2HPO_4 ;
- ve 10 ± 1 mg yüzey aktif madde.

Sentetik atık su, kullanılacağı gün taze olarak hazırlanır.

1.4. Örneklerin hazırlanması

Başka maddeler katılmamış yüzey aktif maddeler, olduğu gibi deneye tabi tutulur. Sentetik atık suyun hazırlanabilmesi için, yüzey aktif madde numunesinin aktif içeriğinin belirlenmesi gereklidir (1.3).

1.5. Ekipmanın çalıştırılması

İlk olarak, C havalandırma kabı ve D çöktürme kabı sentetik atık su ile doldurulur. D kabının yüksekliği, C havalandırma kabının hacmi üç litre olacak şekilde sabitlenir. Esas itibarıyla evsel kaynaklı atık suların işlendiği bir atık su arıtma tesisinden yeni alınmış, iyi kalitede 3 ml'lik ikinci kademe sıvı atığı sentetik atık suya ilave edilerek aşılama yapılır. Bu aşılama sıvısı, numune alma ve uygulama işlemleri arasındaki dönemde aerobik şartlarda muhafaza edilmelidir. Sonra, G havalandırıcısı, E hava pompası ve B besleme ayar pompası çalıştırılır. Sentetik atık su, besleme debisi 1 litre/saat olacak şekilde, C havalandırma kabından geçirilir. Bu şekilde, pis suyun C kabındaki ortalama bekleme süresi üç saate ayarlanmış olur.

Havalandırma hızı, C kabındaki karışım sürekli süspansiyon halinde kalacak ve çözünmüş oksijen miktarı en az 2 mg/L olacak şekilde ayarlanır. Bu esnada, uygun yollarla köpüklenme önlenmelidir. Aktif çamuru inhibe eden veya yüzey aktif madde içeren köpük önleyici maddeler kullanılmamalıdır. E hava pompası, çöktürme kabındaki aktif çamur, C havalandırma kabına sürekli ve düzenli olarak tekrar beslenecek şekilde ayarlanır. C havalandırma kabının üst kısmında, D çöktürme kabının tabanında veya dolaşım hattında birikmiş çamur, fırça veya başka uygun bir yöntem ile günde en az bir defa kazınarak dolaşıma verilmelidir. Çamurda çökeltme durduğunda, 2 ml'lik bölümler halinde % 5'lik demir klorür çözeltisi ilave edilerek yoğunluğu artırılabilir; gerektiğinde, bu işlem tekrar edilir.

D çöktürme kabından taşan atık sıvı 24 saat müddetle F kabında toplanır ve çok iyi karıştırıldıktan sonra numune alınır. Bu işlemi takiben F kabı dikkatlice temizlenir.

1.6. Ölçme ekipmanının kontrolü

Sentetik atık suyun (mg/L cinsinden) yüzey aktif madde muhtevası, kullanımdan hemen önce tayin edilmelidir.

24 saat süreyle F kabında toplanmış bulunan sıvıdan alınan numunenin (mg/L cinsinden) yüzey aktif madde muhtevası, hiç beklenilmeden, aynı yöntemle analitik olarak tayin edilir. Tayin hemen yapılamayacaksa, numuneler tercihen dondurularak korunmalıdır. Yüzey aktif madde konsantrasyonları 0,1 mg/L yaklaşımla belirlenmelidir.

Prosesin verimliliğini kontrol amacıyla, F kabında toplanan cam elyaftan geçirilmiş atık sıvının ve A kabındaki filtrelenmiş sentetik atık suyun kimyasal oksijen ihtiyacı (COD) veya çözünmüş organik karbon (DOC) muhtevası haftada en az iki defa tayin edilir.

Şekil 3'te görüldüğü gibi, ön işlem periyodu sonunda, yüzey aktif maddedeki günlük parçalanabilirlik değerleri düzenli hale geldiğinde, DOC veya COD değerlerindeki azalma hemen hemen sifıra inmelidir.

Havalandırma kabındaki aktif çamur içinde asılı halde bulunan katıların kuru madde muhtevası g/L cinsinden haftada iki defa tayin edilmelidir. Kuru madde muhtevası 2,5 g/L'den fazla ise, çamurun bir bölümü alınmalıdır.

Parçalanma deneyi, oda sıcaklığında yapılır. Ancak, sıcaklık kararlı durumda olmalı ve 19–24 °C aralığında tutulmalıdır.

1.7. Biyolojik parçalanabilirliğin hesaplanması

Yüzey aktif maddenin parçalanma yüzdesi, günlük olarak, sentetik atık suyun ve F kabında toplanan sıvının mg/L cinsinden yüzey aktif madde muhtevası temel alınarak hesaplanmalıdır.

Elde edilen parçalanabilirlik değerleri, Şekil 3'te gösterildiği gibi grafiğe geçirilir.

Yüzey aktif maddenin parçalanabilirliği, parçalanmanın düzenli olduğu ve donanın problemsiz olarak çalıştığı sürece, ön işlem ve yeni ortama alıştırmaya periyodunu takip eden yirmi bir gün ve üzeri sürede elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması olarak hesaplanmalıdır. Ön işlem periyodu, hiç bir durumda altı haftayı geçmemelidir.

Günlük parçalanma değerleri % 0,1 yaklaşımla hesaplanmalı, ancak nihai değer en yakın tam sayıya yuvarlatılarak verilmelidir.

Bazı durumlarda, numune alma sıklığı azaltılabilir, ancak ortalama değerin hesaplanmasında, ön işlem periyodundan sonra gelen yirmi bir günlük dönem boyunca alınmış en az on dört adet numune kullanılmalıdır.

2. Biyolojik parçalanabilirlik testlerinde anyonik yüzey aktif maddelerinin tayini

2.1. Prensiptir

Tayin yöntemi, boyar özelliklere sahip katyonik metilen mavisinin, anyonik yüzey aktif maddelerle (MBAS) reaksiyona girerek kloroformla ekstrakte edilebilen mavi renkli tuzlar oluşturması prensibine dayanır. Girişimleri önlemek için, önce alkali çözeltiyle muamele edildikten sonra asidik metilen mavisini çözeltisi ile ekstraksiyon yapılır. Ayrılan organik fazın absorpsiyonu, absorpsiyonun maksimum olduğu 650 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçülür.

2.2. Reaktifler ve ekipmanlar

2.2.1. Tampon çözeltisi, pH 10

Bu çözelti, analitik saflıkta 24 g sodyum bikarbonat (NaHCO_3) ve analitik saflıkta 27 g susuz sodyum karbonatın (Na_2CO_3) deiyonize su içinde çözülmesi ve çözeltinin deiyonize su ile 1000 ml'ye seyreltilmesiyle hazırlanır.

2.2.2. Nötral metilen mavisini çözeltisi

Analitik saflıkta 0,35 g metilen mavisini deiyonize su içinde çözülür ve deiyonize su ile 1000 ml'ye seyreltilir. Çözelti, kullanımdan en az 24 saat önce hazırlanmalıdır. Kloroforma karşı ölçülen şahit kloroform fazının absorpsiyonu, 650 nm dalga boyunda her 1 cm optik yol için 0,015'i geçmemelidir.

2.2.3. Asidik metilen mavisini çözeltisi

Analitik saflıkta 0,35 g metilen mavisini 500 ml deiyonize su içinde çözülür ve 6,5 ml sülfürik asit ($d=1,84$ g/ml) ile karıştırılır. Çözelti, deiyonize su ile 1000 ml'ye seyreltilir. Çözelti kullanımdan en az 24 saat önce hazırlanmalıdır. Kloroforma karşı ölçülen şahit kloroform fazının absorpsiyonu, 650 nm dalga boyunda her 1 cm optik yol için 0,015'i geçmemelidir.

2.2.4. Kloroform (triklormetan), analitik saflıkta, yeni damıtılmış

2.2.5. Dodesil benzen sülfonik asit metil esteri

2.2.6. Potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi, 0,1 M, Etanolde çözülerek hazırlanmış

2.2.7. Etanol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, saf

2.2.8. Sülfürik asit H_2SO_4 , çözeltisi, 0,5 M

2.2.9. Fenolftalein çözeltisi

Bu çözelti, 1 g fenolftaleinin 50 ml etanol içinde çözülür ve sürekli karıştırarak içine 50 ml deiyonize su ilave edilir. Çökelek olursa, süzülerek ayrılır.

2.2.10. Metanol hidroklorik asit: 250 ml hidroklorik asit (analitik saflıkta) ve 750 ml metanol

2.2.11. Ayırma hunisi, 250 ml'lik

2.2.12. Ölçülü balon, 50 ml'lik

2.2.13. Ölçülü balon, 500 ml'lik

2.2.14. Ölçütlü balon, 1.000 ml'lik

2.2.15. Balon, 250 ml'lik, yuvarlak dipli, rodajlı bir cam tapası bulunan, geri soğutuculu; kaynama taşları

2.2.16. pH metre

2.2.17. Fotometre, 650 nm'de ölçüm yapmak için, (1-5) cm hücreleri bulunan

2.2.18. Kalitatif süzgeç kâğıtları

2.3. İşlem

Analize tabi tutulacak numuneler, köpük seviyesinden alınmamalıdır.

Analizlerde kullanılacak ekipmanlar su ile iyice yıkandıktan sonra, kullanılmadan önce, metanollü hidroklorik asit (2.2.10) ve arkasından deiyonize su ile çok iyi durulanır.

Aktif çamur tesisine giren ve çıkan sıvılardan alınan numuneler hiç bekletilmeden süzülür. İlk 100 ml'lik süzüntüler atılır.

Bilinen hacimde numune, gerekirse nötrleştirilerek, 250 ml'lik ayırma hunisine (2.2.11) alınır. Numune miktarı 20-150 g MBAS içermelidir. MBAS muhtevası düşük olan numunelerde, numune hacmi 100 ml'ye kadar artırılabilir. Numune hacmi 100 ml'den az ise, numune deiyonize su ile 100 ml'ye kadar seyreltilir. Numuneye, 10 ml tampon çözeltisi (2.2.1), 5 ml nötral metilen mavisi çözeltisi (2.2.2) ve 15 ml kloroform (2.2.4) ilâve edilir. Karışım, çok şiddetli olmamak kaydıyla, 1 dakika süreyle düzenli bir şekilde çalkalanır. Faz ayrılmasından sonra, kloroform tabakası, içinde 110 ml deiyonize su ve 5 ml asidik metilen mavisi çözeltisi (2.2.3) bulunan ikinci bir ayırma hunisine alınır. Karışım 1 dakika süreyle çalkalanır. Kloroform tabakası, önceden temizlenmiş ve kloroform ile ıslatılmış bulunan bir cam pamuğu yerleştirilmiş huniden geçirilerek ölçütlü balona (2.2.12) alınır.

Alkali ve asidik çözeltiler, ikinci ve üçüncü ekstraksiyonlarda 10'ar ml kloroform kullanılarak üç kez ekstrakte edilir. Birleştirilen kloroform ekstraktları aynı cam pamuk yerleştirilmiş huniden süzülür ve cam pamuk yerleştirilmiş huninin yıkanmasında kullanılan kloroformla balonun 50 ml çizgisine (2.2.12) tamamlanır. Kloroform çözeltisinin absorbanı, 1-5 cm hücrelere sahip fotometre (2.2.17) ile 650 nm dalga boyunda kloroforma karşı ölçülür. Bütün işlemler süresince bir şahit deney yapılır.

2.4. Kalibrasyon grafiği

Standart madde dodesil benzen sülfonik asit metil esteri (tetrapropilen tipinde, molekül ağırlığı=340) çözeltisinden potasyum tuzu ile sabunlaştırıldıktan sonra bir kalibrasyon çözeltisi hazırlanır. MBAS içeriği, Sodyum dodesil benzen sülfonat (molekül ağırlığı=348) olarak hesaplanır.

Tartım kabı kullanılarak, 400-450 mg Dodesil benzen sülfonik asit metil esteri (2.2.5) 0.1 mg duyarlılıkla tartılır ve yuvarlak tabanlı balona alınır ve içine 50 ml etanolü potasyum hidroksit çözeltisi (2.2.6) ile bir kaç kaynama taşı konur. Geri soğutucu takılır ve karışım bir saat müddetle kaynatılır. Soğutulduktan sonra, geri soğutucu ve taşlanmış cam bağlantı yaklaşık 30 ml etanol ile balon içine yıkanır. Çözelti, renksiz hale gelinceye kadar fenolftalein indikatörüne karşı sülfürik asit ile titre edilir. Çözelti daha sonra 1000 ml'lik ölçütlü balona (2.2.14) aktarılır, işaret çizgisine kadar deiyonize su ile seyreltilir ve karıştırılır.

Hazırlanan bu stok yüzey aktif madde çözeltisinin bir kısmı tekrar seyreltilir. Bunun için, çözeltiden 25 ml'lik bir kısım alınır, 500 ml'lik ölçülü balona (2.2.13) aktarılır, deiyonize su ile işaret çizgisine kadar seyreltilir ve karıştırılır.

Bu standart çözeltinin 1 ml'sinde, $\frac{Ex \ 1,023}{20000}$ mg MBAS bulunur.

E: mg cinsinden numunenin ağırlığıdır.

Kalibrasyon grafiğinin hazırlanabilmesi için, standart çözeltiden 1 ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml ve 8 ml'lik kısımlar alınır ve her biri deiyonize su ile 100 ml'ye seyreltilir ve daha sonra 2.3'te verilen işlem, şahit deney işlemi dahil olmak üzere, uygulanır.

2.5. Sonuçların hesaplanması

Numunenin anyonik yüzey aktif madde (MBAS) miktarı kalibrasyon grafiğinden (2.4) okunur. Numunenin MBAS içeriği aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$\frac{mgMBASx \ 1000}{V} = MBAS \ mg/L$$

Burada;

V: Kullanılan numunenin ml cinsinden hacmidir.

Sonuçlar, Sodyum dodesil benzen sülfonat (MA: 348) olarak verilir.

2.6 Sonuçların gösterilmesi

Sonuçlar 0.1 yaklaşımla MBAS mg/L cinsinden ifade edilir.

3. Biyolojik parçalanabilirlik deney sıvılarında noniyonik yüzey aktif madde tayini

3.1. Prensiptir

Yüzey aktif maddeler deriştirilir ve gaz ayırma yöntemi ile izole edilir. Kullanılan numunedeki noniyonik yüzey aktif madde miktarı 250-800 µg aralığında olmalıdır.

Ayrılan yüzey aktif madde etil asetatta çözülür.

Faz ayrılmasından ve çözücünün buharlaştırılmasından sonra, noniyonik yüzey aktif madde, modifiye Dragendorff reaktifi (KBi_4+BaCl_2 +buzlu asetik asit) ihtiva eden sulu çözelti içinde çöktürülür.

Çökelek süzülür, buzlu asetik asit ile yıkanır ve amonyum tartarat çözeltisinde çözünür. Çözeltideki bizmut, bir parlak platin indikatör elektrot ve bir kalomel veya gümüş/gümüş klorür referans elektrot kullanılarak, pH değeri 4-5 arasında tutulan bir pirolidinditiyokarbamat çözeltisi ile potansiyometrik olarak titre edilir. Bu yöntem, 6-30 aralığında alken oksit grupları ihtiva eden noniyonik yüzey aktif maddelere uygulanır.

Titrasyon sonucu elde edilen değer, ampirik faktör 54 ile çarpılarak, noniyonik yüzey aktif madde derişimi, standart referans madde olarak alınan 10 mol etilen oksitli nonilfenol (NP 10) cinsinden ifade edilir.

3.2. Reaktifler ve ekipman

Reaktiflerin hazırlanmasında sadece deiyonize su kullanılmalıdır.

3.2.1. Saf etil asetat, yeni damıtılmış.

3.2.2. Sodyum bikarbonat (NaHCO_3), analitik saflıkta

3.2.3. Hidroklorik asit çözeltisi [20 ml derişik hidroklorik asit su ile 1000 ml ye tamamlanarak hazırlanır]

3.2.4. Metanol, analitik saflıkta, yeni damıtılmış ve cam şişede muhafaza edilen.

3.2.5. Bromkrezol moru; 100 ml metanolde 0.1 g

3.2.6. Çöktürme reaktifi: Çöktürme reaktifi, iki kısım A çözeltisi ile bir kısım B çözeltisinin karıştırılması ile hazırlanır. Karışım, kahverengi bir şişede muhafaza edilmeli ve karıştırıldıktan sonra bir hafta içinde kullanılmalıdır.

3.2.6.1. A çözeltisi

Analitik saflıkta 1.7 g bizmut nitrat ($\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 20 ml buzlu asetik asitte çözülür ve su ile 100 ml'ye tamamlanır. Ayrı bir kaptaki analitik saflıkta 65 g potasyum iyodür 200 ml suda çözülür. Bu iki çözelti 1000 ml'lik ölçülü bir balonda karıştırılır, üzerine 200 ml buzlu asetik asit (3.2.7) ilâve edilir ve su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

3.2.6.2. B çözeltisi

Analitik saflıkta 290 g baryum klorür ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) suda çözülerek 1000 ml ye tamamlanır.

3.2.7. Buzlu asetik asit, % 99-100'lük (daha düşük konsantrasyonlar arzu edilmez).

3.2.8. Amonyum tartarat çözeltisi: Analitik saflıkta 12,4 g tartarik asit ile analitik saflıkta 12,4 ml amonyak çözeltisi ($d=0,910$ g/ml) karıştırılır ve su ile 1000 ml'ye tamamlanır (eşdeğer miktarda analitik saflıkta amonyum tartarat da kullanılabilir).

3.2.9. Amonyak çözeltisi, seyreltik: Analitik saflıkta 40 ml derişik amonyak çözeltisi ($d=0,910$ g/ml) su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

3.2.10. Standard asetat tampon çözeltisi: Analitik saflıkta 40 g katı sodyum hidroksit bir beherde suyla çözülerek 500 ml ye tamamlanır ve soğutulur. Çözeltiye 120 ml buzlu asetik asit (3.2.7) ilâve edilir. İyiye karıştırılır, soğutulur ve 1000 ml'lik ölçülü balona aktarılır. İşaret çizgisine kadar su ile tamamlanır.

3.2.11. Pirolidinditiyokarbamat çözeltisi (karbat çözeltisi olarak bilinir): 103 mg sodyum pirolidinditiyokarbamat ($\text{C}_3\text{H}_8\text{NNaS}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) yaklaşık 500 ml suda çözülür, analitik saflıkta 10 ml n-amil alkol ve analitik saflıkta 0.5 g sodyum bikarbonat (NaHCO_3) ilâve edilir ve su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

3.2.12. Bakır sülfat çözeltisi (3.2.11'in standardizasyonu için)

STOK ÇÖZELTİ:

Analitik saflıkta 1.249 g bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 50 ml 0,5 M sülfürik asit çözeltisi ile karıştırılır ve su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

STANDARD ÇÖZELTİ:

50 ml stok çözelti, 10 ml 0.5 M sülfürik asit (H_2SO_4) ile karıştırılır ve su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

3.2.13. Sodyum klorür, analitik saflıkta.

3.2.14. Gaz ayırma cihazı (Bkz. Şekil 5)
Sinterlenmiş diskin çapı, silindirin iç çapı ile aynı büyüklükte olmalıdır.

3.2.15. Ayırma hunisi, 250 ml'lik.

3.2.16. Manyetik karıştırıcı, 25-30 mm'lik bir magneti bulunan.

3.2.17. Gooch krozesi, Tip G 4, delikli tabanının çapı 25 mm olan.

3.2.18. Cam elyaf süzgeç kağıtlar, daire şeklinde, daire çapı 27 mm ve lif çapı 0.3-1,5 m olan.

3.2.19. Süzme erlenleri, iki adet, 250 ml ve 500 ml'lik, adaptörlü ve lastik tapalı.

3.2.20. Potansiyometre, kaydedicili, ölçme aralığı 250 mV olan, parlak platin indikatör elektrodu ve kalomel veya gümüş/gümüş klorür referans elektrodu bulunan, 20-25 ml kapasiteli bir otomatik büreti veya alternatif olarak manuel donanımı bulunan.

3.3. Yöntem

3.3.1. Yüzey aktif maddelerin ayrılması ve konsantrasyonu

Numune çözeltisi bir kalitatif süzgeç kağıdından süzülür. Süzütünün ilk 100 ml'lik kısmı atılır.

Önceden etil asetat ile çalkalanmış ayırma cihazı içine, 250-800 g arasında noniyonik yüzey aktif madde bulunacak miktarda numune konur.

Ayrılmayı kolaylaştırmak için 100 g sodyum klorür ve 5 g sodyum bikarbonat ilave edilir.

Numune hacmi 500 ml'den fazla ise, bu tuzlar ayırma cihazına katı halde konur ve azot veya hava geçirilerek çözülür.

Daha küçük hacimli bir numune kullanılmış ise, tuzlar önce 400 ml suda çözülür ve daha sonra ayırma cihazına ilave edilir.

Cihaza, önce üst musluk seviyesine kadar su ilave edilir.

Suyun üzerine dikkatlice 100 ml etil asetat eklenir.

Gaz (azot veya hava) hattındaki yıkama şişesine 2/3'üne kadar etil asetat konur.

Cihazdan 30-60 L/h akış hızı altında gaz geçirilir; bir akış ölçer kullanılması tavsiye edilir. Havalandırma hızı başlangıçta yavaş yavaş artırılır. Daha sonra gaz akışı, faz ayırmasının belirgin bir şekilde görüleceği ve fazların birbirleriyle karışmasının ve sudaki etil asetat çözeltisinin en az olacağı biçimde ayarlanır. 5 dakika sonra gaz akışı durdurulur.

Organik fazın hacminde sudaki çözeltisi sebebiyle % 20'den fazla bir azalma olur ise, gaz akışı dikkatlice ayarlanarak ayırma işlemi tekrarlanır.

Organik faz ayırma hunisine alınır. Ayırma hunisinde bulunabilecek bir kaç ml su, gaz ayırma

cihazına geri alınır. Etil asetat fazı, kuru kalitatif süzgeç kağıdından 250 ml'lik behere süzülür.

Gaz ayırma cihazına 100 ml daha etil asetat konur ve 5 dakika müddetle tekrar azot veya hava geçirilir. Organik faz ilk ayırmada kullanılan ayırma hunisine alınır, sulu faz atılır ve organik faz, ilk etil asetat kısmının süzülmesi için süzgeçten süzülür. Ayırma hunisi ve süzgeç 20 ml etil asetat ile çalkalanır.

Etil asetat ekstraktı bir su banyosunda (çeker ocak içinde) kuruluğa kadar buharlaştırılır. Buharlaşmayı arttırmak için, çözeltinin yüzeyi üzerinden hafif bir hava akımı geçirilir.

3.3.2. Çöktürme ve süzme

3.3.1'de elde edilen kuru kalıntı 5 ml metanolde çözülür, 40 ml su ve 0.5 ml seyreltik hidroklorik asit (3.2.3) ilave edilir ve karışım manyetik karıştırıcı ile karıştırılır.

Bu çözeltiye ölçme silindirinden 30 ml çöktürme reaktifi (3.2.6) ilave edilir. Çözelti sürekli karıştırılarak çökelti oluşturulur. 10 dakikalık bir karıştırma işleminden sonra çözelti en az 5 dakika müddetle kendi halinde bekletilir.

Karışım tabanı cam elyaf süzgeç kağıdı ile kaplanmış bir Gooch krozesinden süzülür. Önce süzgeç kağıdındaki kalıntı, vakum uygulanarak 2 ml buzlu asetik asit ile yıkanır. Daha sonra beher, magnet ve kroze, 40-50 ml buzlu asetik asit ile yıkanır. Çöktürme hazırlanacak çözelti titrasyon için aynı behere alınacağından ve kalan çökelti daha sonra çözüleceği için, beher çeperlerine yapışmış çöktürmenin kantitatif olarak alınması önemli değildir.

3.3.3. Çöktürme çözelti hazırlanması

Süzgeç krozesindeki çöktürme için 10'ar ml'lik kısımlar halinde üç sefer (yaklaşık 80 °C) sıcak amonyum tartarat çözeltisi (3.2.8) ilâve edilir ve çökelti çözülür. Daha sonra her bir tartarat çözeltisi birkaç dakika kroze bekletilir ve vakumlu filtreden geçirilerek balona toplanır.

Süzme erlenindeki süzüntü çöktürme işleminin yapıldığı behere alınır. Kalan çöktürmenin çözünmesi için beherin çeperleri 20 ml tartarat çözeltisi ile çalkalanır.

Kroze, adaptör ve süzme erleni 150-200 ml su ile yıkanır, yıkama suları çökelti için kullanılan behere ilâve edilir.

3.3.4. Titrasyon

Çözelti, manyetik karıştırıcı (3.2.16) ile karıştırılır, bir kaç damla bromkrezol moru (3.2.5) ve renk menekşeye dönüşüncüye kadar seyreltik amonyak çözeltisi (3.2.9) ilâve edilir (Çözelti, asitle yıkanma sebebiyle hafifçe asidiktir).

Çözeltiye daha sonra 10 ml standart asetat tampon çözeltisi (3.2.10) ilâve edilir, elektrotlar daldırılır ve büret ucu çözeltiye daldırılmış olarak standart karbat çözeltisi (3.2.11) ile potansiyometrik olarak titre edilir.

Titrasyon hızı 2 ml/dakika'yı geçmemelidir.

Dönüm noktası, titrasyon eğrisinin iki kanadının keşiştiği noktadır.

Zaman zaman, titrasyon eğrisinin dönüm yerinde düzleşme görülebilir; bu durum, plâtin elektrodun dikkatlice temizlenmesi ile (zımpara kağıdı kullanılarak) önlenabilir.

3.3.5. Şahit deneyler

Aynı zamanda, 3.3.2'de belirtilen işlemlere uygun olarak, 5 ml metanol ve 40 ml su kullanılarak yukarıda belirtilen işlemlerin tamamı uygulanarak bir şahit deney yapılır. Titrasyonda harcanan standart karbat çözeltisi miktarı 1 ml'yi aşmamalıdır, aksi takdirde kullanılan reaktiflerin (3.2.3, 3.2.7, 3.2.8, 3.2.9, 3.2.10), özellikle ağır metal içeriği açısından, saflığından şüphe duyulur ve bu durumda, reaktiflerin değiştirilmesi gerekir. Şahit deney sonucu, nihai sonuçların hesaplanmasında göz önüne alınmalıdır.

3.3.6. 'Karbat çözeltisi' faktörünün kontrolü

Karbat çözeltisi için faktör tayini, çözeltinin kullanılacağı gün yapılmalıdır. Bu amaçla, 10 ml bakır sülfat çözeltisi (3.2.12), 100 ml su ve 10 ml standart asetat tampon çözeltisi (3.2.10) ilavesinden sonra karbat çözeltisi ile titre edilir. Kullanılan miktar a (ml) ise faktör f, aşağıdaki gibi hesaplanır:

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

ve bütün titrasyon sonuçları bu faktörle çarpılmalıdır.

3.4. Sonuçların hesaplanması

Her noniyonik yüzey aktif maddenin, bileşimine ve özellikle de alken oksit zincirinin uzunluğuna bağlı olarak farklı bir faktör değeri vardır. Noniyonik yüzey aktif madde derişimi, standart madde olarak kabul edilen 10 etilen oksit birimli bir nonilfenol (NP 10) cinsinden ifade edilir. Nonilfenol için dönüşüm faktörü 0.054'tür.

Bu faktör kullanılarak, numunede bulunan noniyonik aktif madde miktarı, NP 10 eşdeğer mg olarak, aşağıdaki formülle verilir:

$$(b - c) \times f \times 0,054 = \text{NP 10 eşdeğer mg noniyonik yüzey aktif madde miktarı}$$

Burada;

b = numune için harcanan 'karbat çözeltisi' hacmi, ml,

c = şahit deneyde harcanan 'karbat çözeltisi' hacmi, ml,

f = 'karbat çözeltisinin' faktörüdür.

3.5. Sonuçların gösterilmesi

Tayin sonucu 0.1 mg/L NP 10 yaklaşımla, mg/L NP 10 cinsinden verilir.

4- Deneye tabi tutulacak anyonik yüzey aktif maddelerin ön işlemden geçirilmesi

4.1. Ön işlem notları

4.1.1. Numunelerin işlemde geçirilmesi

Referans yönteminde (doğrulama testi) birincil biyolojik parçalanabilirliğin tayininden önce, anyonik yüzey aktif maddelere ve formüle edilmiş deterjanlara uygulanacak işlem aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir:

Ürünler	İşlem
Anyonik yüzey aktif maddeler	Yok
Formüle edilmiş deterjanlar	Önce alkolle ekstrakte edilir ve daha sonra, iyon değiştirme işlemi ile anyonik yüzey aktif maddeler ayrılır.

Alkolle ekstraksiyon yapılmasının nedeni, ticari ürünlerde bulunan ve bazı durumlarda biyolojik parçalanabilirliği bozabileceği düşünülen inorganik ve çözünmeyen maddeleri uzaklaştırmaktır.

4.1.2. İyon değiştirme işlemi

Doğru bir biyolojik parçalanabilirlik deneyinin yapılabilmesi için, anyonik yüzey aktif maddelerin sabundan, noniyonik ve katyonik yüzey aktif maddelerden izole edilmesi ve ayrılması gerekir.

Bu işlem, kademeli elusyon için uygun eluant ve kaba gözenekli değiştirici reçine kullanılarak iyon değiştirme tekniği ile gerçekleştirilir. Bu şekilde, sabun, anyonik ve noniyonik yüzey aktif maddeler tek bir işlemle izole edilebilir.

4.1.3. Analitik kontrol

Homojenleştirme işleminden sonra, sentetik deterjandaki anyonik yüzey aktif madde derişimi, MBAS analitik yöntemine göre belirlenir. Sabun muhtevası uygun bir analitik yöntemle tayin edilir.

Biyolojik parçalanabilirlik deneyleri için gerekli olan fraksiyonların hazırlanmasında ihtiyaç duyulan miktarların hesaplanabilmesi için, üründe bu analizin yapılması gereklidir.

Yüzey aktif maddelerin kantitatif olarak ekstrakte edilmesine gerek yoktur; ancak, anyonik yüzey aktif maddelerin en az % 80'i ekstrakte edilmelidir. Genellikle, ekstrakte edilen madde oranı % 90 veya daha fazladır.

4.2. Prensip

Homojen bir deterjan numunesinden (toz, krem ve sıvı şeklinde) etanolla ekstraksiyon yoluyla sentetik deterjanda bulunan yüzey aktif maddeler, sabun ve alkolde çözünebilen diğer bileşenler elde edilir.

Etanol ekstraktı kuruluğa kadar buharlaştırılır, izopropanol/su karışımında çözülür ve elde edilen çözelti, 50 °C'ye ısıtılmış kuvvetli asidik katyon değiştirici / iri gözenekli anyon değiştiriciden geçirilir. İşlemin bu sıcaklıkta yapılmasının sebebi, asidik ortamda bulunması muhtemel yağ asitlerinin çökmesini önlemektir.

Deterjanda olabilecek noniyonik yüzey aktif maddeler çözülmüştür.

Sabunlaşmış yağ asitleri, CO₂ içeren etanol ekstraksiyonu ile ayrılır. Anyonik yüzey aktif maddeler, izopropanol ve su karışımında hazırlanmış amonyum bikarbonat çözeltisi ile amonyum tuzları olarak elde edilir. Parçalanabilirlik deneylerinde bu amonyum tuzları kullanılır.

Biyolojik parçalanabilirlik deneyini ve analitik işlemi bozabilecek katyonik yüzey aktif maddeler, anyon değiştirici üzerine yerleştirilmiş katyon değiştirici tarafından tutularak uzaklaştırılır.

4.3. Kimyasallar ve ekipman

4.3.1. Deiyonize su

4.3.2. Etanol (C₂H₅OH), % 95'lik (v/v) (Metil etil keton veya metanole denature edici madde olarak izin verilebilir)

4.3.3. İzopropanol/ su karışımı, (50/50 v/v);

- hacimce 50 birim izopropanol ($\text{CH}_3\text{CHOH.CH}_3$) ile
- 50 birim su (4.3.1)

4.3.4. Karbondioksitli Etanol çözeltisi (yaklaşık % 0,1 CO_2 içeren): Etanol (4.3.2) içerisinden sinterlenmiş bir tüp yardımıyla 10 dakika süreyle CO_2 gazı geçirilerek. Sadece yeni hazırlanmış çözeltiler kullanılmalıdır.

4.3.5. Amonyum bikarbonat çözeltisi, (60/40 v/v): Bu çözelti 0,3 mol amonyum bikarbonatın (NH_4HCO_3), hacimce 60 birim izopropanol ve 40 birim su (4.3.1) içeren 1000 ml'lik bir karışım içinde çözülmesiyle hazırlanır.

4.3.6. Katyon değiştirici (KAT), kuvvetli asidik, alkolde dayanıklı, (tane boyu 50 –100 mesh olan).

4.3.7. Anyon değiştirici (AAT), kaba gözenekli, Merck Lewatit MP 7080 (tane boyu 70-150 mesh) veya eşdeğeri.

4.3.8. Hidroklorik asit (HCl) çözeltisi, % 10'luk (w/w).

4.3.9. Balon; 2000 ml'lik, dibi yuvarlak, traşlanmış cam tapalı, geri soğutuculu.

4.3.10. Süzgeç kâğıdı için (ısıtılabilir) 90 mm çapında nüçe hunisi;

4.3.11 Nüçe erleni; 2000 ml'lik.

4.3.12. İyon değiştirici kolonlar; ısıtma ceketli ve musluklu, iç tüpünün çapı 60 mm ve yüksekliği 450 mm olan (Bkz. Şekil 4).

4.3.13. Su banyosu

4.3.14. Vakumlu etüv

4.3.15. Termostat

4.3.16. Döner kurutucu

4.4. Ekstraktın hazırlanması ve anyonik yüzey aktif maddelerin ayrılması

4.4.1. Ekstraktın hazırlanması

Biyolojik parçalanabilirlik deneyi için gerekli olan yüzey aktif madde miktarı yaklaşık 50 g MBAS 'tır.

Ekstrakte edilecek ürün miktarı, normal şartlarda, 1000 g'ı geçmez; ancak, yeteri kadar ekstrakt elde edilebilmesi için ilâve numune kullanımı gerekebilir. Kolaylık açısından, parçalanma deneyi için ekstrakt hazırlamakta kullanılacak ürün miktarı 5000 g'la sınırlandırılmalıdır.

Deneyimler, büyük miktarlarda çalışılarak tek bir ekstraksiyon yapmak yerine, küçük miktarlarda ancak fazla sayıda ekstraksiyon yapmanın daha avantajlı olduğunu göstermiştir.

Belirtilen iyon değiştirici miktarlar, 600-700 mmol yzey aktif madde ve sabunla çalışılacak Şekilde tasarlanmıştır.

4.4.2. Alkolde ozunebilen bileşenlerin izole edilmesi

Analize tabi tutulacak sentetik deterjandan 250 g alınır, 1250 ml etanol içine ilave edilir, karışım kaynama noktasına kadar ısıtılır ve srekli karıştırılmak suretiyle bir saat muddetle geri soğutucu altında kaynatma işlemine devam edilir. Sıcak alkollu ozelti, sıcaklığı 50 °C'de tutulan kaba gozenekli nuçe hunisinden hızla sızultılır. Balon ve nuçe hunisi yaklaşık 200 ml sıcak etanol ile yıkanır. Yıkama sıvıları da sızuntünün olduğu nuçe erleninde toplanır.

Krem veya sıvı haldeki ürünlerin analizinde, numunede 55 g'dan fazla anyonik yzey aktif madde ve 35 g'dan fazla sabun bulunmamasına dikkat edilmelidir. Tartılmış numune kuruluğa kadar buharlaştırılır. Kalıntı 2000 ml etanol içinde ozlr ve yukarıda belirtilen işlemler uygulanır. Yoğunluğu düşük olan toz deterjanlar (<300 g/L) için etanol oranı 20:1 düzeyinde ayarlanır. Etanol sızunt, tercihen bir döner kurutucu ile kuruluğa kadar buharlaştırılır. Daha fazla miktarda ekstrakt elde edilmesi gerekiyorsa, bu işlem tekrarlanır. Kalıntı, 5000 ml izopropanol/su karışımında ozlr.

4.4.3. İyon değiştirici kolonlarının hazırlanması

KATYON DEğİŞTİRİCİ KOLON

600 ml kation değiştirici reçine (4.3.6) 3000 ml'lik behere alınır ve üzerine 2000 ml hidroklorik asit (4.3.8) ilâve edilir. Ara sıra karıştırılarak en az 2 saat beklenir.

Asit boşaltılır ve reçine deiyonize su ile kolona (4.3.12) alınır. Kolonun, cam pamuktan yapılmış bir tapası bulunmalıdır.

Kolon 10-30 ml/dakika akış hızı ile kolondan alınan sıvıda (eluat) klorür iyonları bulunmayınca ya kadar deiyonize su ile yıkanır.

2000 ml izopropanol/su karışımı (4.3.3) 10-30 ml/dakika akış hızı ile kolondan geçirilir. Değiştirici kolon, bu işlemden sonra kullanıma hazır hale gelir.

ANYON DEğİŞTİRİCİ KOLON

600 ml anyon değiştirici reçine (4.3.7) 3000 ml'lik bir behere alınır ve üzerine 2000 ml deiyonize su ilâve edilir.

Reçinenin Şişmesi için en az 2 saat beklenir.

Reçine deiyonize su ile kolona aktarılır. Kolonun, cam pamuktan yapılmış bir tapası bulunmalıdır.

Kolon, klorür iyonları tamamen uzaklaştırılınca ya kadar 0,3 M Amonyum bikarbonat zeltisi (4.3.5) ile yıkanır. Bu işlem yaklaşık 5000 ml zelti kullanılmasını gerektirir. Kolon, 2000 ml deiyonize su ile tekrar yıkanır. 2000 ml izopropanol/su karışımı (4.3.3) 10-30 ml/dakika akış hızı ile kolondan geçirilir. Bu işlemden sonra kolon Hidroksil (OH) formundadır ve kullanıma hazır hale gelir.

İyon değiştirme işlemi

4.4.4. Kation değiştirme kolonu anyon değiştirme kolonunun üstünde olacak Şekilde, değiştirme kolonları birbirine bağlanır.

Kolonlar, termostat kontrollü olarak 50 °C'ye ısıtılır.

4.4.2'de elde edilen çözeltinin 5000 ml'si 60 °C'ye ısıtılır ve daha sonra 20 ml/dakika akış hızı ile kolonlardan geçirilir. Kolonlar 1000 ml sıcak izopropanol/ su karışımı (4.3.3) ile yıkanır.

Anyonik yüzey aktif maddelerin (MBAS) elde edilebilmesi için, KAT kolonu sökülür. Kolon içinden, 50 °C sıcaklıkta 5000 ml etanol/ CO₂ çözeltisi (4.3.4) geçirilerek sabunlaşmış yağ asitleri kolon dışına alınır. Kolondan alınan sıvı (eluat) atılır.

AAT kolonundaki MBAS muhtevası, kolon içinden 5000 ml amonyum bikarbonat çözeltisi (4.3.5) geçirilerek dışarı alınır. Kolondan alınan sıvı (eluat), su banyosunda veya döner kurutucuda kuruluğa kadar buharlaştırılır.

Elde edilen kalıntıda, MBAS (amonyum tuzları şeklinde) ve biyolojik parçalanabilirlik testi üzerinde olumsuz bir etki yaratmayan ve yüzey aktif madde niteliği taşımayan muhtemel anyonlar bulunur. Kalıntıya, belirli bir hacim elde edilinceye kadar deiyonize su ilâve edilir ve oluşan yeni çözeltide (aliquot) MBAS muhtevası tayin edilir. Bu çözelti, biyolojik parçalanabilirlik deneyinde anyonik sentetik deterjan standart çözeltisi olarak kullanılır. Çözelti, 5 °C'nin altında muhafaza edilmelidir.

İyon değiştirici reçinelerin rejenerasyonu

4.4.5. Katyon değiştirici kullanımdan sonra atılır.

Kolondan alınan sıvıda (eluat) anyonik yüzey aktif madde kalmayınca kadar (metilen mavisi deneyi) kolon içinden yaklaşık 10 ml/dakika akış hızı ile yukarıdan aşağıya doğru ilâve amonyum bikarbonat çözeltisi (4.3.5) geçirilerek anyon değiştirici reçine rejene edilir.

Son olarak, anyon değiştirici, yukarıdan aşağıya doğru 2000 ml izopropanol/su karışımı (4.3.3) geçirilerek yıkanır. Bu işlemden sonra, anyon değiştirici tekrar kullanıma hazır hale gelir.

Deneye tabi tutulacak noniyonik yüzey aktif maddelerin ön işlemden geçirilmesi.

5. Ön işlem notları

5.1. Numunelerin işlemden geçirilmesi

5.1.1. Referans yönteminde (doğrulama testi) birincil biyolojik parçalanabilirliğin tayininden önce, noniyonik yüzey aktif maddelere ve formüle edilmiş deterjanlara uygulanacak işlem aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir:

Alkole ekstraksiyon yapılmasının amacı, ticari ürünlerde bulunan ve bazı durumlarda biyolojik parçalanabilirliği bozabileceği düşünülen inorganik ve çözünmeyen maddeleri uzaklaştırmaktır.

Ürünler	İşlem
Noniyonik yüzey aktif maddeler	Yok

Formüle edilmiş deterjanlar

Önce alkolle ekstrakte edilir ve daha sonra, iyon değiştirme işlemi ile noniyonik yüzey aktif maddeler ayrılır.

İyon değiştirme işlemi

5.1.2. Doğru bir biyolojik parçalanabilirlik deneyinin yapılabilmesi için, noniyonik yüzey aktif maddelerin sabundan, anyonik ve katyonik yüzey aktif maddelerden izole edilmesi ve ayrılması gerekir.

Bu işlem, kademeli ayırma için uygun ayırıcı ve makro gözenekli değiştirici reçine kullanılarak iyon değiştirme tekniği ile gerçekleştirilir. Bu şekilde, sabun, anyonik ve noniyonik yüzey aktif maddeler tek bir işlemle izole edilebilir.

Analitik kontrol

5.1.3. Homojenleştirme işleminden sonra, deterjandaki anyonik ve noniyonik yüzey aktif madde derişimleri, sırasıyla MBAS ve BiAS analitik tayin yöntemlerine göre belirlenir. Sabun muhtevası uygun bir analitik yöntemle tayin edilir.

Biyolojik parçalanabilirlik deneyleri için gerekli olan fraksiyonların hazırlanmasında ihtiyaç duyulan miktarların hesaplanabilmesi için, üründe bu analiz yapılması gereklidir.

Yüzey aktif maddelerin kantitatif olarak ekstrakte edilmesine gerek yoktur; ancak, noniyonik yüzey aktif maddelerin en az % 80'i ekstrakte edilmelidir. Genellikle, ekstrakte edilen madde oranı % 90 veya daha fazladır.

Prensip

5.2. Homojen bir deterjan numunesinden (toz, krem ve sıvı şeklinde) etanolle ekstraksiyon yoluyla deterjanda bulunan yüzey aktif maddeler, sabun ve alkolde çözünebilen diğer bileşenler elde edilir.

Etanol ekstraktı kuruluğa kadar buharlaştırılır, izopropanol/su karışımında çözülür ve elde edilen çözelti, 50 °C'ye ısıtılmış kuvvetli asidik katyon değiştirici / iri gözenekli anyon değiştiriciden geçirilir. İşlemin bu sıcaklıkta yapılmasının sebebi, asidik ortamda bulunması muhtemel yağ asitlerinin çökmesini önlemektir. Çözelti buharlaştırılarak noniyonik yüzey aktif maddeler elde edilir.

Biyolojik parçalanabilirlik deneyini ve analitik işlemi bozabilecek katyonik yüzey aktif maddeler, anyon değiştirici üzerine yerleştirilmiş katyon değiştirici tarafından elimine edilir.

Kimyasallar ve ekipman

5.3. Deiyonize su

5.3.1. Etanol, C₂H₅OH, % 95'lik (v/v) (Metil etil keton veya metanole, denature edici madde olarak izin verilebilir)

5.3.2. İzopropanol/ su karışımı, (50/50 v/v);

5.3.3. hacimce 50 birim izopropanol ($\text{CH}_3\text{CHOH-CH}_3$) ile

– 50 birim su (5.3.1)

– Amonyum bikarbonat çözeltisi, (60/40 v/v):

5.3.4. Bu çözelti 0.3 mol Amonyum bikarbonatın (NH_4HCO_3), hacimce 60 birim izopropanol ve 40 birim su (5.3.1) içeren 1000 ml'lik bir karışım içinde çözülmesiyle hazırlanır.

Katyon değiştirici (KAT), kuvvetli asidik, alkole dayanıklı, (tane boyu 50 –100 mesh olan).

5.3.5. Anyon değiştirici (AAT), kaba gözenekli, Merck Lewatit MP 7080(tane boyu 70-150 mesh) veya eşdeğeri.

5.3.6. Hidroklorik asit (HCl) çözeltisi, % 10'luk (w/w).

5.3.7. Balon; 2000 ml'lik, dibi yuvarlak, traşlanmış cam tapalı, geri soğutuculu.

5.3.8. Süzgeç kâğıdı için (ısıtılabilir) 90 mm çapında nuçe hunisi;

5.3.9. Nuçe erleni; 2000 ml'lik.

5.3.10. İyon değiştirici kolonlar; ısıtma ceketli ve musluklu, iç tüpünün çapı 60 mm ve yüksekliği 450 mm olan (Bkz. Şekil 4).

5.3.11. Su banyosu

5.3.12. Vakumlu etüv

5.3.13. Termostat

5.3.14. Döner kurutucu

5.3.15. Ekstraktın hazırlanması ve noniyonik yüzey aktif maddelerin ayrılması

5.4. Ekstraktın hazırlanması

5.4.1. Biyolojik parçalanabilirlik deneyi için gerekli olan yüzey aktif madde miktarı yaklaşık 25 g BiAS'tır.

Biyolojik parçalanabilirlik deneyi için ekstrakt hazırlamakta kullanılacak ürün miktarı en fazla 2000 g'la sınırlandırılmalıdır. Bu sınırlama sebebiyle, parçalanma deneyine yetecek miktarda BiAS elde edilebilmesi için, iki veya daha fazla sayıda ekstraksiyon yapılması gerekebilir.

Deneyimler, büyük miktarlarda çalışılarak tek bir ekstraksiyon yapmak yerine, küçük miktarlarda ancak fazla sayıda ekstraksiyon yapmanın daha avantajlı olduğunu göstermiştir.

Alkolde çözünebilen bileşenlerin izole edilmesi

5.4.2. Analize tabi tutulacak sentetik deterjandan 250 g alınır, 1250 ml etanol içine ilave edilir, karışım kaynama noktasına kadar ısıtılır ve sürekli karıştırılmak suretiyle bir saat müddetle

geri soğutucu altında kaynatma işlemine devam edilir. Sıcak alkollü çözelti, sıcaklığı 50 °C' de tutulan kaba gözenekli nuçe hunisinden hızla süzülür. Balon ve nuçe hunisi yaklaşık 200 ml sıcak etanol ile yıkanır. Yıkama sıvıları da süzültünün olduğu nuçe erleninde toplanır.

Krem veya sıvı haldeki ürünlerin analizinde, numunede 25 g'dan fazla anyonik yüzey aktif madde ve 35 g'dan fazla sabun bulunmamasına dikkat edilmelidir. Tartılmış numune kuruluğa kadar buharlaştırılır. Kalıntı 500 ml etanol içinde çözülür ve yukarıda belirtilen işlemler uygulanır.

Yoğunluğu düşük olan toz deterjanlar (<300 g/L) için etanol oranı 20:1 düzeyinde ayarlanır.

Etanollü süzüntü, tercihen bir döner kurutucu ile tamamen kuruluğa kadar buharlaştırılır. Daha fazla miktarda ekstrakt elde edilmesi gerekiyorsa, bu işlem tekrarlanır. Kalıntı, 5000 ml izopropanol/su karışımında çözülür.

5.4.3. İyon değiştirici kolonlarının hazırlanması

KATYON DEĞİŞTİRİCİ KOLON

600 ml katyon değiştirici reçine (5.3.5) 3000 ml'lik behere alınır ve üzerine 2000 ml hidroklorik asit (5.3.7) ilâve edilir. Ara sıra karıştırılarak en az 2 saat beklenir.

Asit boşaltılır ve reçine deiyonize su ile kolona (5.3.11) alınır. Kolonun, cam pamuktan yapılmış bir tapası bulunmalıdır. Kolon 10-30 ml/dakika akış hızı ile kolondan alınan sıvıda (eluat) klorür iyonları bulunmayınca kadar, deiyonize su ile yıkanır.

2000 ml izopropanol/su karışımı (5.3.3) 10-30 ml/dakika akış hızı ile kolondan geçirilir. Değiştirici kolon, bu işlemden sonra kullanıma hazır hale gelir.

ANYON DEĞİŞTİRİCİ KOLON

600 ml anyon değiştirici reçine (5.3.6) bir behere alınır ve üzerine 2000 ml deiyonize su ilâve edilir. Reçinenin şişmesi için en az 2 saat beklenir. Reçine deiyonize su ile kolona aktarılır. Kolonun, cam pamuktan yapılmış bir tapası bulunmalıdır.

Kolon, klorür iyonları tamamen uzaklaştırılıncaya kadar 0,3 M amonyum bikarbonat çözeltisi (5.3.4) ile yıkanır. Bu işlem yaklaşık 5000 ml çözelti kullanılmasını gerektirir. Kolon, 2000 ml deiyonize su ile tekrar yıkanır.

2000 ml izopropanol/su karışımı (5.3.3) 10-30 ml/dakika akış hızı ile kolondan geçirilir. Bu işlemden sonra kolon OH formundadır ve kullanıma hazır hale gelir.

5.4.4. İyon değiştirme işlemi

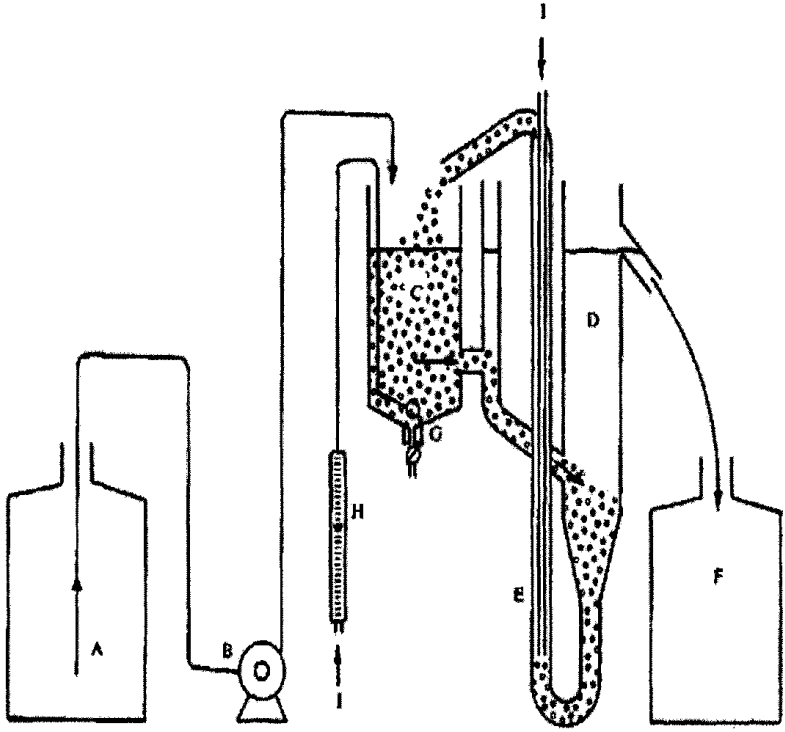
Katyon değiştirme kolonu anyon değiştirme kolonunun üstünde olacak şekilde, değiştirme kolonları birbirine bağlanır. Kolonlar, termostat kontrollü olarak 50 °C'ye ısıtılır. 5.4.2' de elde edilen çözeltinin 5000 ml'si 60 °C'ye ısıtılır ve daha sonra 20 ml/dakika akış hızı ile kolonlardan geçirilir. Kolonlar 1000 ml sıcak izopropanol/ su karışımı (5.3.3) ile yıkanır.

Noniyonik yüzey aktif maddelerin elde edilebilmesi için, süzüntü ve yıkama sıvıları toplanır ve tercihen döner kurutucu ile kuruluğa kadar buharlaştırılır. BiAS muhtevası elde edilen kalıntıdadır. Belirli bir hacim elde edilinceye kadar kalıntıya deiyonize su ilave edilir ve BiAS muhtevası oluşan yeni çözeltide (aliquot) içinde tayin edilir. Bu çözelti, biyolojik parçalanabilirlik deneylerinde noniyonik yüzey aktif madde standart çözeltisi olarak kullanılır. Çözelti, 5 °C'nin altında muhafaza edilmelidir.

5.4.5. İyon değiştirici reçinelerin rejenerasyonu Katyon değiştirici kullanımdan sonra atılır.

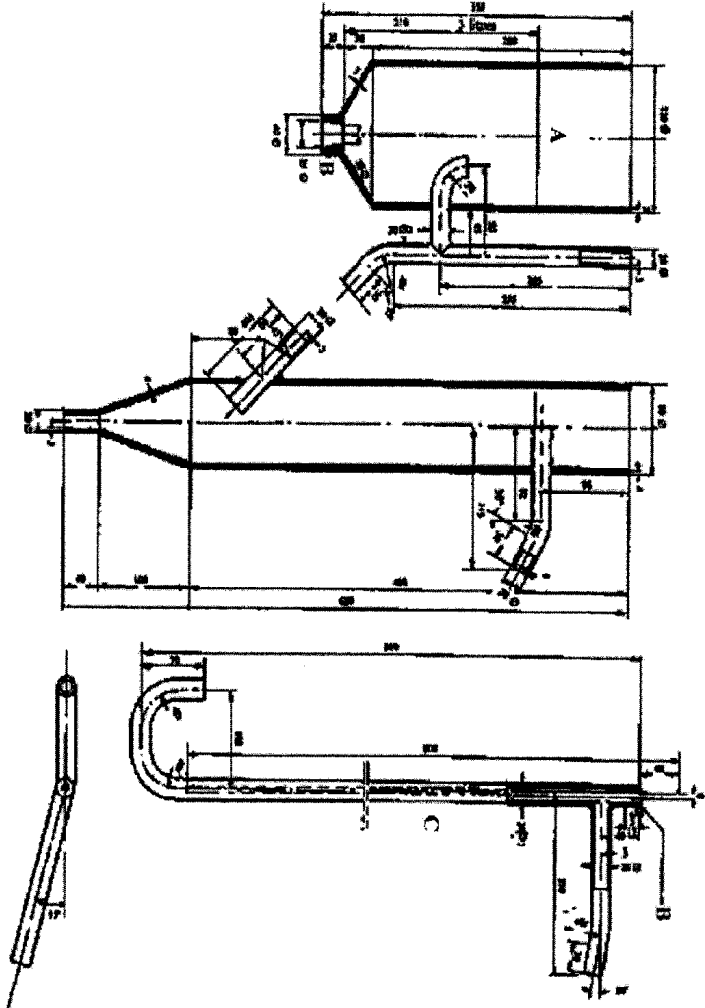
Anyon değiştirici reçine, kolondan alınan sıvıda (eluat) anyonik yzey aktif madde kalmayınca kadar (metilen mavisi), kolon içinden yaklaşık 10 ml/dakika akış hızı ile yukarıdan aşağıya doğru 5000-6000 ml amonyum bikarbonat ęzeltisi (5.3.4) geçirilerek rejener edilir. Son olarak, anyon değiştirici, yukarıdan aşağıya doğru 2000 ml izopropanol/su karışımı (5.3.3) geçirilerek yıkanır. Bu işlemden sonra, anyon değiştirici tekrar kullanıma hazır hale gelir.

Şekil-1:
Aktif çamur tesisi: genel görünüm



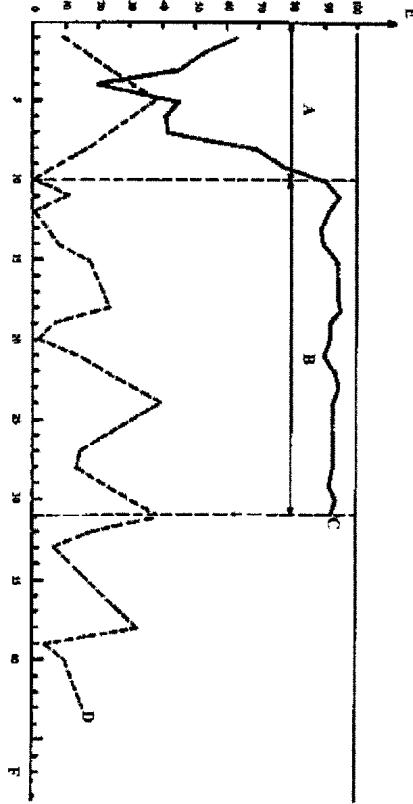
- A: Sentetik Atık Su Deposu
- B: Besleme ayar pompası
- C: Havalandırma kabı (Üç litre kapasiteli)
- D: Çöktürme kabı
- E: Hava pompası
- F: İşlem Görmüş Su Deposu
- G: Sinterlenmiş havalandırıcı
- H: Hava akış ölçeri
- I: Hava

Şekil-2
Aktif çamur tesisi: detay
(Ölçüler milimetredir)



- A: Sıvı seviyesi
B: Sert PVC
C: Cam ya da suya dayanıklı plastik sert PVC

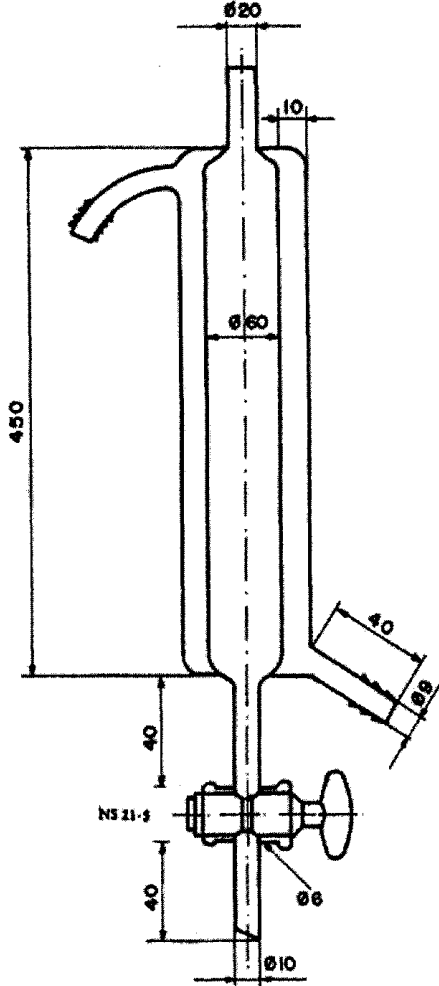
Şekil-3
Biyolojik parçalanabilirliğin hesaplanması
(doğrulama testi)



- A Ön işlem periyodu
- B Hesaplamanın yapıldığı periyot
- C Kolay parçalanabilir yüzey aktif madde
- D Zor parçalanabilir yüzey aktif madde
- E Biyolojik parçalanma(%)
- F Zaman (days)

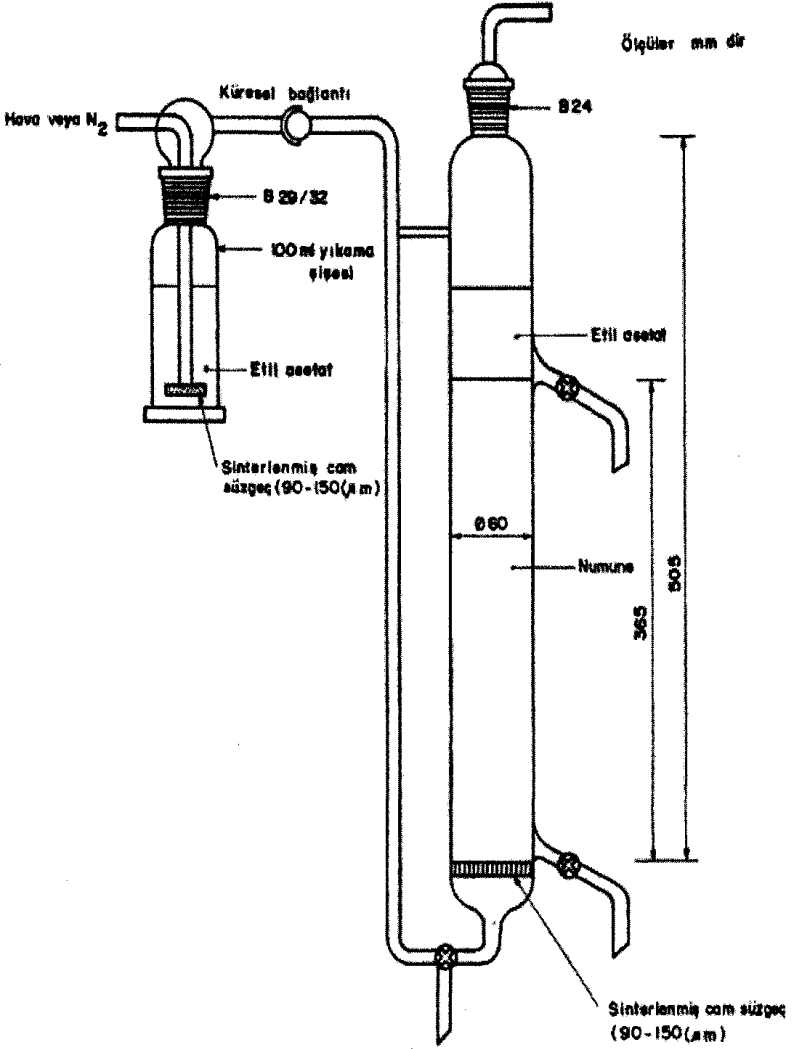
Şekil-4
Isıtma ceketli iyon değiştirme kolonu

Ölçüler mm dir



Şekil 4 - Isıtma ceketli iyon değiştirme kolonu

Şekil-5
Gaz ayırma cihazı



Şekil 5 - Gaz ayırma cihazı