

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PLASTİK MADDELER İÇERİSİNDE PBDE VE PBB BİLEŞİKLERİNİN
GC-IDMS YÖNTEMİYLE TAYİNİ**

BURCU BİNİCİ

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMANLAR
PROF. DR. İKBAL KOYUNCU
DOÇ. DR. AHMET CEYHAN GÖREN**

İSTANBUL, 2014

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PLASTİK MADDE İÇERİSİNDE PBDE VE PBB TAYİNİ

Burcu BİNİCİ tarafından hazırlanan tez çalışması 01.04.2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İkbâl KOYUNCU

Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Doç. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN

TÜBİTAK Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME)

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İkbâl KOYUNCU

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Abdürrezzak Emin BOZDOĞAN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK

İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN

TÜBİTAK Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME)

Prof. Dr. Reşat APAK

İstanbul Üniversitesi

Doç. Dr. Gülçin GÜMÜŞ YILMAZ
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Sevgi KOCAOBA
Yıldız Teknik Üniversitesi

Bu alışma, TÜBİTAK Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programının 110T135 nolu 1001 projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Plastik Madde İçerisinde PBDE ve PBB Tayini isimli tez çalışmasında polietilen, polipropilen ve akrilonitril butadien stiren (ABS) polimer matriksleri içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin tayini için metot geliştirildi. Metodun güvenilirliğini ispatlamak için metot validasyonu yapıp belirsizlik bütçesi çıkarıldı. Kantitatif tayin için birincil bir metot olan izotop seyreltme kütle spektrometri yöntemi (IDMS) kullanıldı. Metodun ülke genelinde piyasada kullanımda olan ürünlerde uygulaması yapıldı.

Çalışmanın yapılması süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım saygı değer hocalarım sayın Prof. Dr. İkbâl Koyuncu ve Doç. Dr. Ahmet Ceyhan Gören'e, tez çalışmasının "110T135" numaralı proje kapsamında finansal açıdan desteklenmesini sağlayan TÜBİTAK Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programına, deneysel çalışmaların yürütüldüğü TÜBİTAK, Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME) yöneticilerine ve NMR ölçümlerini gerçekleştiren sevgili arkadaşım Dr. İlker Ün'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nisan, 2014

Burcu BİNİCİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	ix
KISALTMA LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 PBDE ve PBB Yangın Geciktiricileri.....	4
2.1.1 Kullanım Alanları.....	7
2.1.2 Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri.....	8
2.1.3 Kullanımına Getirilen Sınırlamalar	10
2.2 Plastik Malzemeler.....	11
2.2.1 Polietilen	11
2.2.2 Polipropilen	12
2.2.3 Akrilonitril Butadien Stiren	13
2.3 Ekstraksiyon Teknikleri	14
2.3.1 Basınçlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu (PSE).....	14
2.3.2 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE).....	15
2.3.3 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UAE)	16
2.3.4 Sokset Ekstraksiyonu	17
2.4 Kromatografi	19
2.5 Gaz Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi.....	21
2.6 Gaz kromatografi (GC)	21
2.6.1 Taşıyıcı gaz	21

2.6.2	Numune Enjeksiyon Sistemi	22
2.6.3	Kolon Yerleşim Biçimi ve Kolon Fırın	22
2.6.4	Dedeksiyon Sistemleri	23
2.6.4.1	Alev İyonlaşma Dedektörü (FID)	23
2.6.4.2	Termal İletkenlik Dedektörü (TCD)	24
2.6.4.3	Kükürt Kemilüminesans Dedektörü (SCD)	25
2.6.4.4	Elektron-Yakalama Dedektörü (ECD)	25
2.6.4.5	Atomik Emisyon Dedektörleri (AED)	26
2.6.4.6	Termiyonik Dedektörler (TID)	26
2.6.5	Gaz Kromatografi ile Spektroskopik Yöntemlerin Birlikte Kullanımı	27
2.7	Kütle Spektrometre.....	27
2.7.1	Kütle Spektrometre İyonlaştırma Teknikleri	28
2.7.1.1	Elektron Etki İyonlaştırma (EI).....	29
2.7.1.2	Kimyasal İyonlaştırma (CI).....	30
2.7.1.3	Alan İyonlaştırma (FI)	31
2.7.1.4	Alan Desorpsiyon (FD).....	32
2.7.1.5	Matriks Yardımlı Desorpsiyon (MALDI).....	32
2.7.1.6	Elektrosprey İyonlaştırma	32
2.7.2	Kütle Spektrometre Analizörleri.....	33
2.7.2.1	Manyetik Sektör Analizörleri.....	33
2.7.2.2	Kuadrupol Analizörü.....	33
2.7.2.3	Uçuş Zamanlı Kütle Analizörleri	34
2.7.2.4	İyon Tuzaklı Analizörler	35
2.7.3	Kütle Spektrometrinin Kullanıldığı İkili Teknikler	36
2.7.4	Tandem Kütle Spektrometre (MS-MS)	36
2.8	Kimyasal Ölçümlerde Kalite	38
2.9	Metot Validasyonu.....	38
2.9.1	Doğrusallık ve Çalışma Aralığı.....	39
2.9.2	Algılama Sınırı (LOD)	40
2.9.3	Tayin Sınırı (LOQ)	40
2.9.4	Doğruluk	41
2.9.5	Tekrarlanabilirlik ve Ara Tekrarlanabilirlik.....	41
2.10	Ölçüm Belirsizliği.....	42
2.10.1	Ölçüm Belirsizliği Bütçesinin Oluşturulması.....	42
2.10.2	Belirsizlik Kaynakları	45
2.11	İzlenebilirlik	47
2.12	İzlenebilirliği Sağlama Adımları	48
2.12.1	Ölçülenin ve İstenilen Belirsizliğin Tanımlanması	48
2.12.2	Uygun Metodun Seçilmesi	49
2.12.3	Metot Validasyonu	50
2.12.4	Farklı Etkili Parametrelerin Önemi.....	50
2.12.5	Uygun Referans Standartların Seçilmesi ve Kullanılması.....	51
2.12.5.1	Fiziksel Ölçümler	51
2.12.5.2	Malzemenin Yapısının Belirlenmesi	52
2.12.5.3	Sertifikalı Referans Malzemelerle Kalibrasyon	52
2.12.5.4	Diğer Türde Malzemelerle Kalibrasyon.....	53

2.12.5.5 Primer Kalibrantların Saflığının Belirlenmesi	54
2.12.5.5.1 Gravimetri	54
2.12.5.5.2 Titrimetri	55
2.12.5.5.3 İç Standart Nicel Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (IS-qNMR).....	56
2.12.5.5.4 Kararlı İzotop Oranı Kütle Spektrometri	65
2.12.5.5.5 İzotop Seyreltme Kütle Spektrometri (IDMS)	66
2.12.5.5.6 Alan Yüzdesi Gaz Kromatoğrafisi (% GC).....	68
2.12.5.5.7 Alan Yüzdesi Sıvı Kromatoğrafisi (% LC)	69
2.12.5.5.8 Alan Yüzdesi Kantitatif Nükleer Manyetik Rezonans (%qNMR).....	70
2.12.5.5.9 Moleküler Spektroskopisi.....	71
2.12.5.5.10 Elemental Analiz.....	71
2.12.5.5.11 Termal Metotlar	72
2.12.5.5.12 Faz Çözünürlük Analizi (PSA)	73
2.12.5.5.13 Safsızlık Bileşeninin Molünün veya Kütle Fraksiyonunun Ardışık Olarak Belirlenmesi	74
2.12.5.6 Referans Verilerle Kalibrasyon	75
2.12.5.7 Metot Geliştirme, Validasyon ve Doğrulama İçin Referans Maddeler.....	75
2.12.6 Belirsizliğin Belirlenmesi.....	76

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT	77
3.1 GC-MS/MS Analiz Şartları	77
3.2 Örnek Hazırlama Aşaması	82
3.2.1 Basınçlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu (PSE).....	82
3.3 Metot Validasyonu.....	86
3.3.1 Doğrusallık/Çalışma Aralığı	86
3.3.2 Algılama Sınırı (LOD)/Tayin sınırı (LOQ).....	86
3.3.3 Doğruluk	87
3.3.4 Seçicilik	90
3.3.5 Tekrarlanabilirlik.....	96
3.1 Belirsizlik Hesaplaması	97
3.1.1 Ana ve İzotoplu Standart Stok Çözelti Belirsizliği	97
3.1.2 Eklenen İzotoplu Standart Stok Çözelti Miktarı Ölçüm Belirsizliği	99
3.1.3 Başlangıç ve Son Madde Miktarı Ölçüm Belirsizliği.....	100
3.1.4 Kalibrasyon Grafiği Ölçüm Belirsizliği	100
3.1.5 Geri Kazanım Standart Ölçüm Belirsizliği	101
3.1.6 Tekrarlanabilirlik Standart Ölçüm Belirsizliği.....	102
3.1.7 Birleşik Standart Ölçüm Belirsizliği ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği.....	103
3.2 İzlenebilirlik	118

BÖLÜM 4

SONUÇ VE ÖNERİLER	121
-------------------------	-----

4.1. GC/MS-MS Optimizasyonu	121
4.2. Örnek Hazırlama Metodu Optimizasyonu	123
4.2.1. PSE Optimizasyonu	123
4.2.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE)	128
4.3. Metot validasyonu ve Belirsizlik Hesapları	130
4.4. Metodun Piyasadaki Örnekler Üzerinde Uygulanışı	131
KAYNAKLAR	134
EK-A	
SERTİFİKALAR	142
A-1 ERM-EC590-Polietilen Sertifikalı Referans Madde Sertifikası	142
A-2 ERM-EC591-Polipropilen Sertifikalı Referans Madde Sertifikası	143
A-3 Benzoik Asit Sertifikası	144
ÖZGEÇMİŞ	145

SİMGE LİSTESİ

%	Yüzde
°C	Derece celcius
µm	Mikrometre
B1	Eğim
dk	Dakika
g	Gram
M	Molekül kütlesi
m/z	Kütle/yük oranı
mg	Miligram
n	Kalibrasyon için yapılan ölçüm sayısı
p	Örnek ölçümü için okuma sayısı
R	Regresyon katsayısı
R_m	Ortalamanın geri kazanımı
S	Artık standart sapma

KISALTMA LİSTESİ

ABS	Akrilonitril butadien stiren
AS	Ana standart
ASE	Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu
BB-209	Deka-bromobifenil
BDE-183	2,2',3,4,4',5',6-hepta-bromodifenil eter
BDE-206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-nona-bromodifenil eter
BDE-209	Deka-bromodifenil eter
BDE-47	2,2',4,4'-tetra-bromodifenil eter
BM	Başlangıç maddesi
B-SM	Başlangıç-Son Madde
Br	Brom
C	Konsantrasyon
C ₀	Tayin edilen çözelti derişimi
CCQM	Madde miktarı danışma kurulu
CID	Çarpışma kaynaklı ayrılma
CRM	Sertifikalı referans malzeme
decaBB	Dekabromobifenil
decaBDE	Dekabromodifenileter
EEE	Elektrikli ve elektronik eşyalarda bazı zararlı maddelerin kullanımının sınırlandırılmasına dair yönetmelik
EI-MS	Elektron etki iyonlaşma kütle spektrometre
GC/HRMS	Gaz kromatografi/yüksek çözünürlüklü kütle spektrometre
GC/ITMS-MS	Gaz kromatografi iyon yakalamalı tandem kütle spektrometre
GC/NCIMS	Gaz kromatografi/elektron yakalama negatif kimyasal iyonlaşma kütle spektrometre
GC-MS/MS	Gaz kromatografi-tandem kütle spektrometre
HDPE	Yüksek yoğunluklu polietilen
HDXLPE	Yüksek yoğunluklu çapraz bağlı polietilen
HT	Yüksek sıcaklık
IDMS	İzotop seyreltme kütle spektrometri
IRMM	Referans Malzemeler ve Ölçümleri Enstitüsü
IS	İzotoplu standart
L	Etiketlenmiş

LDPE	Düşük yoğunluklu polietilen
LLDPE	Lineer bağlı düşük yoğunluklu polietilen
LOD	Algılama sınırı
LOQ	Tayin sınırı
MA	Molekül ağırlığı
MAE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
MDPE	Orta yoğunluklu polietilen
MRA	Karşılıklı tanınma anlaşması
octaBDE	Octabromodifenileter
PBB	Çokbromlu difenil
PBDE	Çokbromlu difenileter
PE	Polietilen
pentaBDE	Pentabromodifenileter
PEX	Çapraz bağlı polietilen
PP	Polipropilen
PSE	Basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyonu
PFE	Basınçlandırılmış akışkan ekstraksiyonu
PTFE	Politetrafloroetilen
RF	Yanıt faktörü
RoHS	Zehirli maddelerin kullanımının kısıtlandırılması
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
RSD	Bağıl standart sapma
RT	Alıkonma zamanı
s	Safılık
SD	Standart Sapma
SI	Uluslararası birimler sistemi
U	Genişletilmiş belirsizlik
u	Standart ölçüm belirsizliği
UAE	Ultrasonik destekli ekstraksiyon
UHMWPE	Ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen
VLDPE	Çok düşük yoğunluklu polietilen
WEEE	Atık elektrikli ve elektronik cihazlar

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Bromlu yangın geciktiricilerin yangın önleme mekanizması 5
Şekil 2.2	Deka-BDE den PBDF ve PBDD oluşum mekanizması 9
Şekil 2.3	Polietilen molekül formülü 11
Şekil 2.4	Polipropilen molekül formülü 13
Şekil 2.5	PSE işletim şeması (1: Azot tankı, 2: Basınç Kanalı, 3: Vanalar, 4: Fırın, 5: Numune kabı, 6: Ekstrakt toplama şişeleri, 7: Manometre)..... 14
Şekil 2.6	Otomatik PSE cihazı 15
Şekil 2.7	Otomatik MAE cihazı..... 16
Şekil 2.8	Ultrasonik banyo (a) ve ultrasonik çubuk (b)..... 17
Şekil 2.9	Sokslet Aparatı (1: Karıştırıcı çubuk, 2: Ekstrakt toplayıcı aparat, 3: Distilasyon yolu, 4: Sokslet yüksüğü, 5: Ekstraksiyon katısı (Artık katı), 6: Sifon giriş kolu, 7: Sifon çıkış kolu, 8: Genişleme adaptörü, 9: Yoğunlaştırıcı, 10: Soğuk su girişi, 11: Soğuk su çıkışı)..... 18
Şekil 2.10	Gaz kromatografi cihazı şematik görüntüsü 21
Şekil 2.11	Soldan sağa doğru dolgulu ve kılcal kolon görüntüsü 23
Şekil 2.12	Gaz kromatografi/kütle spektrometre sisteminin şematik görünümü..... 27
Şekil 2.13	El tekniği ile iyonlaşma..... 29
Şekil 2.14	Elektron etki iyonlaştırma 29
Şekil 2.15	Kimyasal iyonlaştırma 30
Şekil 2.16	Manyetik sektör analizörü 33
Şekil 2.17	Kuadrupol analizör 34
Şekil 2.18	İyon tuzaklı analizör 36
Şekil 2.19	NMR numune hazırlama 60
Şekil 2.20	İyon tuzaklı analizör 62
Şekil 3.1	PBDE ve PBB bileşiklerinin ve bunların izotoplu bileşiklerinin GC-MS/MS kromatogramı 78
Şekil 3.2	BDE-47 ve BDE-47L bileşiğinin GC-MS/MS kromatogramı 80
Şekil 3.3	Kriyojenik öğütücü 83
Şekil 3.4	Numune kabının doldurulması 84
Şekil 3.5	Standart çözelti kromatogramı (a, b, c, d, e) 93
Şekil 3.6	Ekstrakt kromatogramı (a, b, c, d, e) 96
Şekil 3.7	BDE-47 qNMR spektrumu 120
Şekil 3.8	BDE-183 qNMR spektrumu 120

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Bileşiklerin tanımlanması 6
Çizelge 2.2	PBDE ve PBB bileşiklerinin kullanım alanları 7
Çizelge 2.3	qNMR çalışmalarında kullanılan NMR-aktif çekirdekleri 65
Çizelge 3.1	MS/MS metot parametreleri..... 79
Çizelge 3.2	Kalibrasyon çözeltileri konsantrasyon değerleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$) 81
Çizelge 3.3	Kalibrasyon grafiğinden elde edilen değerler 82
Çizelge 3.4	Uygulanan PSE şartları 85
Çizelge 3.5	LOD (mg kg^{-1}) ve LOQ (mg kg^{-1}) değerleri..... 87
Çizelge 3.6	Sertifikalı referans maddelerin analiz sonuçları..... 88
Çizelge 3.7	Standart ekleme yöntemi doğruluk değerlendirme sonuçları..... 89
Çizelge 3.8	Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)..... 97
Çizelge 3.9	Polipropilen içerisinde BDE-47 Belirsizlik Bütçesi 104
Çizelge 3.10	Polipropilen içerisinde BDE-183 Belirsizlik Bütçesi 105
Çizelge 3.11	Polipropilen içerisinde BDE-206 Belirsizlik Bütçesi 106
Çizelge 3.12	Polipropilen içerisinde BDE-209 Belirsizlik Bütçesi 107
Çizelge 3.13	Polipropilen içerisinde BB-209 Belirsizlik Bütçesi 108
Çizelge 3.14	Polietilen içerisinde BDE-47 Belirsizlik Bütçesi..... 109
Çizelge 3.15	Polietilen içerisinde BDE-183 Belirsizlik Bütçesi..... 110
Çizelge 3.16	Polietilen içerisinde BDE-206 Belirsizlik Bütçesi..... 111
Çizelge 3.17	Polietilen içerisinde BDE-209 Belirsizlik Bütçesi..... 112
Çizelge 3.18	Polietilen içerisinde BB-209 Belirsizlik Bütçesi..... 113
Çizelge 3.19	Akrilonitril butadien içerisinde BDE-47 Belirsizlik Bütçesi 114
Çizelge 3.20	Akrilonitril butadien içerisinde BDE-183 Belirsizlik Bütçesi 115
Çizelge 3.21	Akrilonitril butadien içerisinde BDE-206 Belirsizlik Bütçesi 116
Çizelge 3.22	Akrilonitril butadien içerisinde BDE-209 Belirsizlik Bütçesi 117
Çizelge 3.23	Akrilonitril butadien içerisinde BB-209 Belirsizlik Bütçesi..... 118
Çizelge 4.1	GC-MS/MS optimizasyonu için çalışılan koşullar 122
Çizelge 4.2	Bileşiklerin ve izotoplarının iyon ürünlerinin belirlenmesi için uygulanan voltaj değerleri 123
Çizelge 4.3	Uygulanan PSE metotları..... 124
Çizelge 4.4	Ekstraksiyon metodu sıcaklık optimizasyonu çalışma şartları 126
Çizelge 4.5	Sıcaklık değerlerine karşılık geri kazanım değerleri (%) 127
Çizelge 4.6	Polimerik malzemeleri çözmeye yönelik yapılan uygulamalar 128
Çizelge 4.7	Uygulanan MAE metotları 129

Çizelge 4.8	Hammaddelerde tayin edilen PBDE ve BB-209 bileşiklerinin kütle kesirleri (mg kg^{-1}) $\pm$ genişletilmiş belirsizlik değerleri 132
Çizelge 4.8	Hammaddelerde tayin edilen PBDE ve BB-209 bileşiklerinin kütle kesirleri (mg kg^{-1}) $\pm$ genişletilmiş belirsizlik değerleri (Devam)..... 133

PLASTİK MADDE İÇERİSİNDE PBDE VE PBB TAYİNİ

Burcu BİNİCİ

Kimya Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof.Dr. İkbâl KOYUNCU

Eş Danışman: Doç.Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN

PBDE ve PBB bileşiklerî yangın geciktirici olarak polimerik malzemelere, tekstil ürünlerine ve yapı malzemelerine eklenen, yapılarında brom barındıran organik bileşiklerdir. Bu bileşiklerden en yaygın olarak kullanılanlar pentabromodifenileter (pentaBDE), oktabromodifenileter (octaBDE), dekabromodifenileter (decaBDE) ve dekabromobifenil (decaBB) bileşikleridir. Bulundukları yapıya kimyasal olarak bağlanmadıkları için çevre havasına kolayca salınabilmektedirler. Yapısal olarak çevresel ortamlarda, gıdalarda ve biyolojik ortamlarda birikme özelliğine sahiptirler. Canlılarda endokrin ve sinir sistemini etkileyerek sağlık açısından tehlike arz etmektedirler. Bu nedenle PBDE ve PBB bileşiklerinin polimerik malzeme içeren elektrikli ve elektronik eşyalarda kullanımına ilişkin gerek ülkemiz gerekse Avrupa Birliği tarafından sınırlamalar getirilmiştir. Bu sınırlamaya göre PBB ve PBDE bileşiklerinin elektrikli ve elektronik eşyalarda kabul edilebilir miktarları ağırlık yüzdesi olarak 1 gkg⁻¹ (%0,1) olarak belirlenmiştir. Bu sınırlamaların getirilmesiyle birlikte bu bileşiklerin yönetmeliklere uygun bir biçimde kullanıldığının denetlenmesi gerekliliği söz konusu olur.

Yapılan çalışmada, polietilen (PE), polipropilen (PP) ve akrilonitril butadien stiren (ABS) polimerleri içerisinde 2,2',4,4'-tetra-bromodifenil eter (BDE-47), 2,2',3,4,4',5',6-hepta-bromodifenil eter (BDE-183), 2,2',3,3',4,4',5,5',6-nona-bromodifenil eter (BDE-206), deka-bromodifenil eter (BDE-209) ve deka-bromobifenil (BB-209) bileşiklerini tayin etmeye yönelik GC-IDMS metodu geliştirilip validasyonu yapıldı. Metotta, bileşiklerin ekstraksiyonu için basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyon (PSE) yöntemi kullanıldı. Örnekler GC-MS/MS (Gaz kromatografi/tandem kütle spektrometre) cihazı ile analiz edildi. Kantitatif değerlendirme için izotop seyreltme kütle spektrometri (IDMS) yöntemi kullanıldı. Geliştirilen metodun ülke genelindeki elektrikli ve elektronik ürünlerde uygulaması yapıldı. Geliştirilen metot ile elde edilen geri kazanım değerleri % 79,6 ile % 93,9, % bağıl ölçüm belirsizlik değerleri ise 6,5 ile 13 arasındadır. Uygulaması yapılan örneklerde tayin edilen analit miktarları yasalarca belirlenen 1000 mg/kg limit değeri altında elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: PBDE, PBB, polipropilen, polietilen, akrilonitril butadien stiren, GC-MS/MS, basınçlı çözücü ekstraksiyonu (PSE), IDMS

DETERMINATION of PBDEs and PBB in PLASTIC

Burcu BİNİCİ

Department of Chemistry

PhD. Thesis

Advisor: Prof.Dr. İkbal KOYUNCU

Co-Advisor: Assoc.Prof. Ahmet Ceyhan GÖREN

PBDEs and PBB are organic compounds which are added to polymers and other materials, containing bromine to improve their fire-resistant properties in diverse applications, such as textiles and building materials. The major marketed brominated flame retardants are pentabromodiphenylether (pentaBDE), octabromodiphenylether (octaBDE), decabromodiphenylether (decaBDE) and decabromobiphenyl (decaBB). Since they have been as an additive in materials, they can be released easily to the environment. They bioaccumulate in food, biological media and environmental area such as soil, surface water and air and they effect the endocrine and nervous system of human and animals. Therefore, European Union made a decision about limited usage of octaBDE and pentaBDE compounds in electric and electronic devices. According to this, limit value has set as 1 g kg^{-1} (0.1 %) for the sum of PBBs and PBDEs in plastic parts of electric and electronic devices. This regulation also is implemented in our country.

In this study, a validated analytical method was developed for the determination of 2,2',4,4'-tetra-bromodiphenyl ether (BDE-47), 2,2',3,4,4',5',6-hepta-bromodiphenyl ether (BDE-183), 2,2',3,3',4,4',5,5',6-nona-bromodiphenyl ether (BDE-206), deca-bromodiphenyl ether (BDE-209) and deca-bromobiphenyl (BB-209) compounds in polypropylene (PP), polyethylene (PE) and acrylonitrile butadiene styrene (ABS) polymeric matrixes by using pressurized solvent extraction (PSE) technique and gas

chromatography coupled tandem mass spectrometer (GC-MS/MS). The quantification of the target analytes were performed by isotope dilution mass spectrometry (IDMS). The method was applied on the selected electrical and electronic consumer products. The recovery and relative uncertainty values of developed analytical method were obtained between 79.6-93.9 % and 6.5-13 %, respectively. The mass fraction of target analytes in real samples were obtained under 1000 mg/kg limit value which has set by directives.

Keywords: PBDE, PBB, polypropylene, polyethylene, acrylonitrile butadiene styrene, GC-MS/MS, pressurized solvent extraction (PSE), IDMS

1.1 Literatür Özeti

Yangın geciktiriciler, plastik malzemelere, tekstil ürünlerine, kaplama ürünleri ve yapı malzemelerine eklenen kimyasal maddelerdir [1]. Hem organik hem de inorganik yapıda yangın geciktiriciler mevcuttur. Yaygın olarak kullanılanlar bromlu yangın geciktirici yani çok bromlu difenil eter (PBDE) ve çok bromlu bifenil (PBB) bileşikleridir. Çünkü bromlu yangın geciktiricilerin kullanılması yanmaya karşı direncin sağlanmasında en etkili ve maliyet etkin çözümlerden biridir. Ayrıca organik ve inorganik yapıdaki kimyasalların PBDE bileşikleri kadar etki gösterebilmeleri için PBDE'lere oranla plastik maddeye daha fazla eklenmeleri gerekir. Böyle bir durumda da fosfatlar gibi bu malzemeler polimerik malzemelerin yapısını ve özelliklerini değiştirebilirler [2].

PBDE ve PBB bileşikleri yanma sonucu oluşan radikalleri yakalamaları için Br atomlarını serbest bırakırlar ve böylece yanmayı gerçekleştirecek kimyasal reaksiyonu sonlandırarak radikalik mekanizma üzerinden yanmayı durdurmuş olurlar [3]. Bu bileşikler plastik madde içerisinde ya reaktif ya da katkı maddesi olarak bulunurlar. Reaktif şeklinde bulunanlar plastik maddenin kimyasal yapısına kovalent bağlarla bağlıdır. Katkı maddesi olarak bulunanlarda böyle bir bağlanma mevcut değildir. Kovalent bağla polimer yapıya bağlı olmayan yangın geciktiriciler ortam havasına ısı ve mekanik etkilerle kolayca salınabilmektedirler [4]. PBDE ve PBB gibi phenolik halojenli yapılar apolar bileşikler olup canlı dokularında mevcut lipofilik yapılardan dolayı birikebilirler. Bu birikme yalnızca canlı dokularında olmayıp, aynı zamanda herhangi bir çevresel ortamda adsorpsiyon ile uzun vadede gerçekleşebilmektedir. Bu yüzden bu tip bileşikler insan sağlığı ve çevre kirliliği açısından tehlike oluştururlar. Bu bileşiklerin

bilinen en büyük zararı; insan vücudunda normal tiroid hormonu fonksiyonuna etki ederek beyin ve üreme sisteminin gelişimini engellemeleridir. Ayrıca anne karnındaki bebeklerin beyin ve cinsiyet gelişimlerini olumsuz yönde etkilediklerine dair bulgular literatürde tartışılmaktadır [5]. Zararları göz önüne alınarak plastik madde içerisinde kullanımlarına kısıtlamalar getirilmiştir. Bunun üzerine plastik ortamda PBDE ve PBB bileşiklerinin tayinine yönelik metotlar geliştirilmiştir. Yapılan bir çalışmada yüksek etkili polistiren (HIPS) içerisinde yangın geciktirici bileşikler olan tetrabromo bisfenol (TBBPA), hexabromocyclododecane (HBCD) ve dekabromo difenil eter (decaBDE) bileşiklerinin tayini için HPLC/MS/MS cihazıyla analitiksel metot geliştirilmiştir. MS kısmında kütle analizörü olarak üçlü kuadropol (triple quadrupole) kütle analizörü kullanılmış, iyonlaştırma kaynağı olarak da elektrosprey iyonlaştırma (ESI) ve/veya atmosferik basınçlı kimyasal iyonlaştırma (APCI) kullanılmıştır. Ekstraksiyon metodu olarak ise basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE), ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) olmak üzere üç farklı ekstraksiyon metodu denenmiş, bunların sonuçları karşılaştırılmıştır [6]. Diğer bir çalışmada da TBBPA ve decaBDE bileşiklerinin HIPS içerisinde tayinine ilişkin metot geliştirilmiştir. Ekstraksiyon yöntemi olarak MAE kullanılmıştır. Analizler HPLC-UV cihazında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen metot ile elektrikli ve elektronik eşya atıklarında stirenik kısımlarda uygulama yapılmıştır [7]. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda bu iki çalışmaya benzer biçimde stirenik polimer yapıda farklı türde PBDE ve PBB bileşiklerinin tayinine ilişkin metot geliştirilmiştir. Polipropilen ve polietilen de belli türdeki PBDE ve PBB bileşiklerinin tayinine ilişkin bir çalışma yapılmamıştır. Ayrıca stirenik polimerlerde geliştirilen metotların güvenilirliği analitiksel açıdan ispatlanmamıştır [8], [9], [10], [11], [12], [13].

1.2 Tezin Amacı

Tez çalışmasının amacı polietilen, polipropilen ve akrilonitril butadien stiren polimerik malzemeleri içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerini tayin etmeye yönelik metrolojik izlenebilirliği sağlanmış primer bir yöntem geliştirmektir. Geliştirilen metodun güvenilirliğini ispatlamak için validasyon işleminin uygulanması, belirsizlik hesabının yapılması ve izlenebilirliğinin sağlanması hedeflenmiştir. Metodun örnek hazırlama aşamasında basınçlandırılmış çözücü

ekstraksiyonu (PSE), ölçümler kısmında ise gaz kromatografi/tandem kütle spektrometre (GC-MS/MS) kullanılması amaçlanmıştır. Güvenilir bir kantitatif değerlendirme için izotop seyreltme kütle spektrometri (IDMS) yönteminin kullanılması ve elde edilen metodun piyasada dolaşımda bulunan saç kurutma makinesi, bilgisayar, tost makinesi, mikrodalga fırın, halı ve elektrik kabloları gibi malzemelerde uygulanması hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

PBDE ve PBB bileşikler bölüm 1.1.'de bahsedildiği üzere insan sağlığına zararlı, çevre için kirletici mahiyetinde olan bileşiklerdir. Bu durum göz önünde bulundurularak Avrupa Birliği tarafından yayınlanan Zehirli Maddelerin Kullanımının Kısıtlandırılması (RoHS 2002/95/EC) ve Atık Elektrikli ve Elektronik Cihazlar Direktifi (WEEE 2002/96/EC) ile PBB ve PBDE bileşiklerinin elektrikli ve elektronik eşyalarda kullanılmasına sınırlamalar getirilmiştir. Bu tip ürünlerde izin verilen en yüksek PBDE ve PBB nin ağırlıkça yüzdesi % 0,1 olarak belirlenmiştir. Bu uygulama Türkiye Cumhuriyeti Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından da yürürlüğe koyulmuş ve alınan kararlar 30 Mayıs 2008 tarihinde yayınlanan Resmi Gazetede EEE “Elektrikli ve Elektronik Eşyalarda Bazı Zararlı Maddelerin Kullanımının Sınırlandırılmasına Dair Yönetmelik” ile sunulmuştur. Bu sınırlamaların sonucunda da gerçekleştirilen üretimlerin yasalara uygunluğunun incelenmesi için doğru, güvenilir ve izlenebilir ölçüm aracı ve sertifikalı referans malzemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmayla elektronik eşyaların üretiminde kullanılan fakat bu konuda herhangi bir çalışma yapılmamış olan polipropilen, polietilen ve akrilonitril butadien stiren polimer yapılarında PBDE ve PBB bileşiklerinin tayini için metod geliştirilmesi öngörülmektedir. Geliştirilen metodun güvenilirliğinin uygun yöntemler kullanılarak ispatlanması önemlidir. Böylelikle yapılarında bu polimerlerin bulunduğu tüm elektronik ve elektrikli eşya, tekstil malzemeleri veya yapısal malzemelerde PBDE ve PBB bileşiklerinin tayini güvenilir bir biçimde yapılabilecektir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 PBDE ve PBB Yangın Geciktiricileri

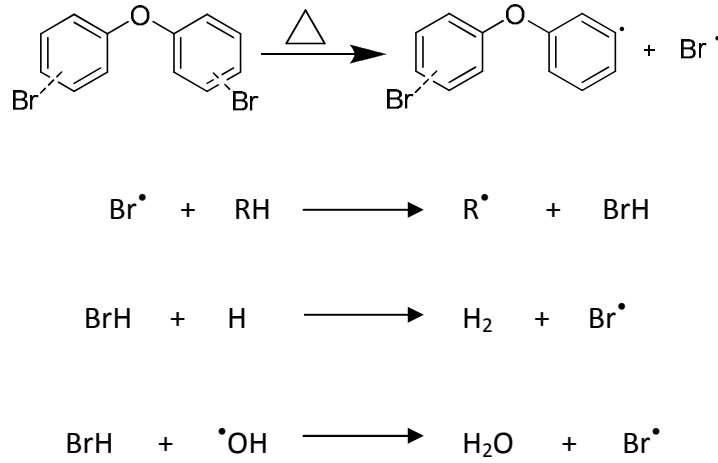
Yangın geciktiriciler, plastikler, tekstil ürünleri, elektrik kabloları ve mobilyacılıkta kullanılan köpüklerde bulunan ve yanma esnasında gerçekleşen reaksiyonu engelleyerek yangını önleyen kimyasal bileşiklerdir. Üretilen cihazlar veya kurulan sistem veya tesisatlarda inorganik ve organik yangın geciktiriciler kullanılarak yüksek ölçüde yangın güvenliğinin sağlanması amaçlanmaktadır. Bromlu yangın geciktiriciler yangın direnci sağlama için kullanılabilecek en ucuz malzemelerdendir. Bunlara alternatif olarak üretilen fosforlu ve metal temelli yangın geciktirici bileşikler hem pahalı hem de birçok üretim problemine yol açabilmektedir [14].

Yangın geciktiriciler, endüstriyel uygulamalarda hem katkı malzemesi hem de reaktif malzeme olarak kullanılabilirler. Katkı malzemesi türündeki yangın geciktiriciler polimerik yapıda çözünürken reaktif türündekiler polimerik yapıya kovalent bağlarla bağlanırlar. Katkı malzemesi olarak kullanılanlar uçucu hale geçip polimerik malzemeden ayrılma eğilimi göstererek çevreye çok kolay bir şekilde salınabilirler. Bu yüzden zamanla bulundukları ortamı kirletirlerken aynı zamanda yangın geciktirme özelliklerini kaybederler. Reaktif olarak kullanılanların çevreye salınma yüzdeleri ise katkı malzemesi olarak kullanılanlardan daha düşüktür [15].

PBDE bileşikler farklı molekül ağırlıklarına sahiptirler. Yüksek molekül ağırlıklı olan PBDE bileşikler katkı malzemesi olarak kullanımları durumunda plastik madde içerisinde daha kalıcı olmaları maksadıyla üretilmektedirler.

Çok çeşitli yangın geciktirici bileşikler olsa da bunların yangın önleme mekanizmaları temelde aynıdır [16]. Isı etkisi altında, polimer matriksinden önce ayrışarak yanıcı gazların oluşumunu engeller. Halojen içeren yangın geciktiriciler, yanma süresince gaz fazında meydana gelen radikal zincir mekanizmasını bozacak şekilde davranırlar. Yanma esnasında oluşan yüksek enerjili OH ve H radikalleri yangın geciktirici tarafından salınan brom atomlarıyla ortamdan uzaklaştırılır [17].

PBDE ve PBB bileşiklerinin yangını önleme mekanizması aşağıda Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



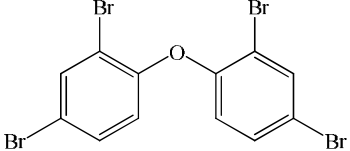
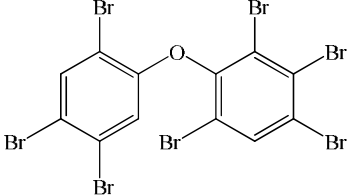
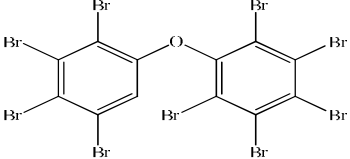
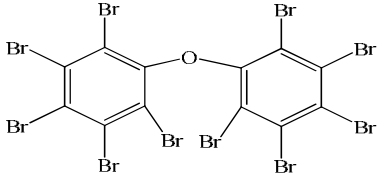
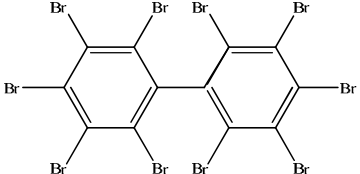
Şekil 2.1 Bromlu yangın geciktiricilerin yangın önleme mekanizması

Uygun yangın geciktiricinin seçilmesinde polimerin termal kararlılığı önemli bir faktördür. Bromlu yangın geciktiriciler genellikle 50 °C de ayrıştığı için çok iyi yangın geciktirme işlevi görürler. Fakat, bu özellikleri ısınan eşyalarda veya güneşe maruz kalan ürünlerde fazla miktarda gereksiz salınımına da sebep olmaktadır. Birçok bromlu bileşik zayıf karbon-brom bağlarından ötürü bu termal özelliğe sahiptir. Polimerin bozulmaya başladığı sıcaklığın altında veya üstünde bozulan veya uçucu hale geçen yangın geciktirici işlevsiz olacağından şu an piyasada kullanılan yangın geciktiriciler bu özelliklere sahip olacak şekilde optimize edilmişlerdir [18].

Genellikle alifatik bromlu bileşikler aromatik bromlu bileşiklere göre daha az termal kararlılık gösterdiklerinden yangın geciktirici olarak dünyada en yaygın olarak aromatik bromlu bileşikler kullanılmaktadır.

En çok kullanılan PBDE ve PBB moleküllerine örnekler Çizelge 2.1’de verilmişlerdir. Bu bileşikler genellikle uluslararası isimlendirme sisteminden ziyade yaygın olarak sahip oldukları brom atomları sayısına ve dizilimine göre isimlendirilirler.

Çizelge 2.1 Bileşiklerin tanımlanması

Moleküler Yapı	Yaygın adı	İsim
	BDE-47	2,2',4,4'-tetra- bromodiphenyl ether
	BDE-183	2,2',3,4,4',5,6-hepta- bromodiphenyl ether
	BDE-206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-nona- bromodiphenyl ether
	BDE-209	Deca- bromodiphenyl ether
	BB-209	Deca- bromobiphenyl

Muhtemel türlerin en yüksek sayısı 209 dur ve izomerlerin numarası mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, hekza-, hepta-, okta-, nona- ve decaya karşılık sırasıyla 3, 12, 24, 42, 46, 42, 24, 12, 3 ve 1 dir.

2.1.1 Kullanım Alanları

PBDE bileşikleri yıllardır yangın önleme amacıyla kullanılmışlardır. Kirlilik açısından hangi yangın geciktiricinin, nerede ve ne kadar kullanıldığı önemlidir. Çizelge 2.2’de görüldüğü gibi PBDE yangın geciktiriciler reçine ve polimerlerde kullanılır.

Çizelge 2.2 PBDE ve PBB bileşiklerinin kullanım alanları

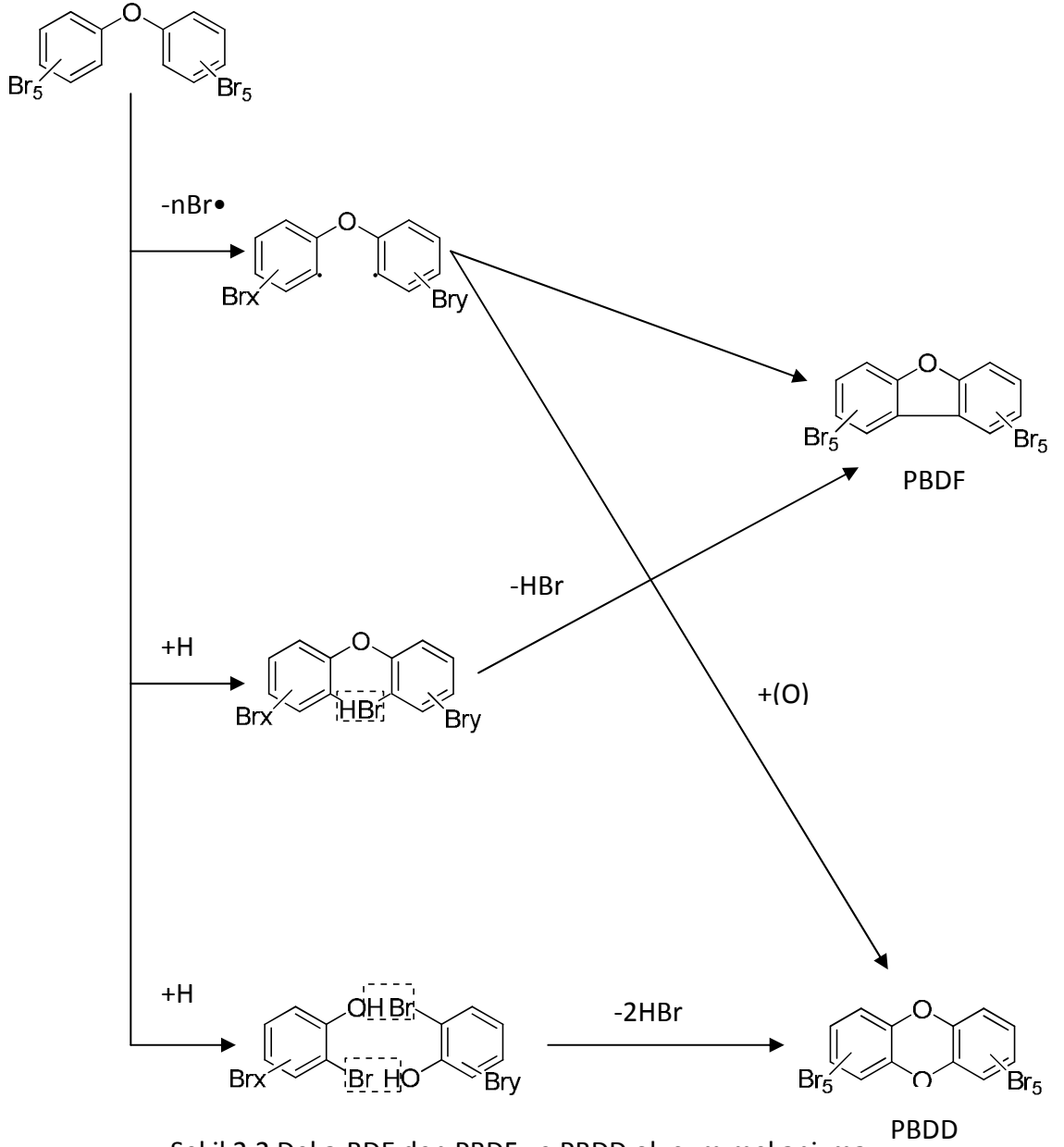
Reçine veya polimer	Temel Uygulamalar	Son Ürün
Akrilonitril butadien stiren	Kalıplandırılmış kısımlar	Televizyon setleri, bilgisayar kasası, saç kurutma makinesi, otomobil kısımları
Epoksi	Devre kartı, koruyucu kaplama	Bilgisayar, gemi iç malzemesi, elektronik kısımlar
Fenolikler	Yazıcı devre kartı	Kâğıt tabakaları
Poliakrilonitril	Paneller, elektriksel bileşenler	Işıklandırma panelleri, evsel elektriksel uygulamalar
Poliamid	Elektrik iletkenleri, otomobil iç kısımları	Bilgisayarlar, ileticiler, otomobil endüstrisi
Polibutilen teraftalat	Elektriksel bileşenler	Anahtarlar, sigortalar
Polietilen	Çapraz bağlı kablolar, köpükler, hava koruması, nem bariyerleri	Güç kabloları, ısıtma tüplerinin yalıtımı, deniz uygulamaları, bina kontrol cihazları
Polietilen teraftalat, polipropilen	Elektriksel bileşenler ve elektronik cihazlar	Kutular, röleler, bobinler. Televizyon ve elektronik aletler, elektromekaniksel kısımlar, yer altı bağlantı kutuları
Polistiren/yüksek etkili polistiren	Televizyon kasası ve arka kaplaması, elektriksel ev aletleri	Duman detektörleri, ofis makineleri, evdeki elektriksel uygulamalar
Polivinil klorid	Kablo koruyucuları	Tel ve kablolar, zemin kaplaması
Poliüretan	Paketleme malzemeleri	Mobilya, ses yalıtımı, tahta benzeri ürün
Tekstil	Kaplama	Halılar, otomobil kumaşları, mobilyalar, askeri güvenlik elbiseleri

2.1.2 Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Çevre ve sağlık üzerindeki potansiyel risklerinden dolayı PBDE bileşiklerinin kullanımına ilişkin endişeler söz konusudur. Bu bileşikler asitlere, bazlara, ısıya, ışığa ve hatta indirgeyen veya okside eden bileşiklere karşı dirençlidir [19], [20] ve bu nedenle çevresel ortamlarda kalıcı özellik gösterirler. Biyolojik dönüşüm testleri de PBDE'lerin kalıcı olduklarını göstermiştir. Mutatoks testinde herhangi bir genotoksik davranış gözlenmemiştir fakat PBDE'lerin hormon düzenini etkilediği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir [21].

Diğer taraftan yüksek lipofilik özellikleri ve bozunma mekanizmalarına karşı dirençli olmaları da PBDE'leri çevre için zararlı hale getirmektedir. Canlı yapılarda da biyolojik birikme gösterirler.

PBDE'lerin çevreye salınımlarının gerçekleştiği yollardan biri atık imha işlemidir. PBDE içeren ürünler evsel atık olarak çöp sahalarına veya atık yakma ünitelerine bırakılırlar. Çöp alanlarında ve yakma ünitelerinde bulunan atıklarda katkı malzemesi olarak kullanılmış PBDE bileşikleri hava salınarak çevre kirliliği oluştururlar. Doğada yok olmaları bahsedildiği üzere biyolojik bozunmayla mümkün değildir fakat fotoliz ile şekil değiştirebilirler. Tabi bu dönüşüm olumlu anlamda değildir. Yapılan çalışmalarda Şekil 2.2'de görüldüğü gibi ısıнын etkisiyle bileşiklerin daha zararlı olan dioksin (PBDD) ve furan (PBDF) bileşiklerine dönüştükleri tespit edilmiştir. Bu nedenle şu sonuca varılabilir ki atık yakma işlemi ısı etkisiyle PBDE'lerden daha zararlı bileşikleri oluşturarak çevre kirliliğine sebep olur [22].



Çevreye salınan bileşikler, deniz, göl ve benzeri su sistemlerinde, bu sistemlerde bulunan canlıların yapısında, sediment gibi çevresel ortamlarda birikme gösterirler. Bu birikmeleri inceleme adına yapılmış birçok çalışma vardır [23], [24], [25]. Bu çalışmalardan bir tanesi TÜBİTAK UME organik kimya grubu laboratuvarlarının da katıldığı ENV-08 Avrupa Metroloji Araştırma Programı (EMRP) projesidir. Bu projede su ekosisteminde bulunan toplam PBDE bileşiklerinin tayini için tayin limitinin (LOQ) 0,15 ng/L olduğu valide edilmiş GC-IDMS metodunun geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Bu bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki etkileri ise ayrı bir çalışma konusudur. Yapılan çalışmalarda elde edilen ilk bulgu 1972 yılında 2,2,4,4'-tetrabromodifenil bileşiğinin

insan sütünde tespit edilmesidir. Bu seviye her geçen gün artmaktadır. Yapılan çalışmalarla bu bileşiklerin insan vücudunda en çok zarar verdiği bölgenin endokrin sistemi olduğu ve temel organların anormal bir biçimde gelişmesine sebep olduğu tespit edilmiştir. Endokrin sistemi vücuttaki böbrek, pankreas ve salgı bezleri yapılar arasında bağlantı kuran sistemdir. Bu nedenle bu sistem üzerindeki herhangi bir olumsuz müdahale veya etki başka metabolik sağlık problemlerine yol açabilmektedir. Hormonsal aktivitedeki herhangi bir eksilme, yok olma veya artma endokrin sisteminin bozulmasına sebep olmaktadır. PBDE bileşikleri gibi endokrin sistemini bozan sentetik kimyasallar dünya genelinde nüfus üzerinde kalıcıdır ve nesilden nesile aktarılır [26], [27]. Bu yüzden bu tip kirleticilerin sürekli izlenmesi çok önemlidir.

2.1.3 Kullanımına Getirilen Sınırlamalar

Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada tarafından polibromlu bifenillerin (PBB) üretiminin durdurulmasından sonra 1970'lerin son dönemlerinden bu yana kuzey Amerika'da büyük oranda PBDE bileşikleri kullanılmıştır. 2005 yılına kadar ticari olarak üç PBDE türü, pentaBDE, oktaBDE ve dekaBDE'nin yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Fakat yaşanan endişelerden dolayı 2004 Aralık ayında pentaBDE ve oktaBDE nin üretimi Kuzey Amerika'da durdurulmuştur. Çevresel Koruma Ajansı (EPA) Ağustos 2006 da yürürlüğe giren *Önemli Yeni Kullanım Kuralları (SNUR)* altında bu kimyasalların üretimini, kullanımını ve ithal edilmesini düzenlemeye başlamıştır. Bu kurala göre insanlar ve iş sahası bu kimyasalları üretmeden, kullanmadan veya ithal etmeden 90 gün önce EPA'yı bilgilendirmelidirler. Daha sonra EPA değerlendirme yapıp uygun olmayan durumları tespit ederse bu kimyasalların kullanımını yasaklayabilir veya sınırlama getirebilir.

Bu işlemlere rağmen federal düzenlemelerin zayıf olduğu düşünülerek birçok eyalet kendi yasalarını yürürlüğe sokmuştur. pentaBDE ve oktaBDE yi yasaklayan eyaletler Kaliforniya, Hawaii, Illinois, Maine, Maryland, Michigan, Minnesota, New York, Oregon, Rhode Island ve Washington'dur.

Kanada'da da uluslararası bir düzenleme yürürlüğe sokulmuştur. Buna göre Kanada'da pentaBDe ve oktaBDE nin kullanımı ve satışı 2006 yılında yasaklanmıştır. 2008

Temmuzda ise dekaBDE nin üretimi yasaklanmış fakat ithal edilmesi ve kullanılması serbest bırakılmıştır.

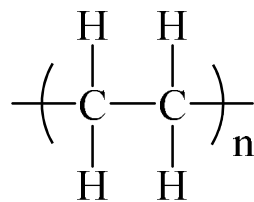
Avrupa’da ise pentaBDE Almanya, İsviçre ve Hollanda’da 1980’lerin sonunda ve 1990’ların başında yasaklanmıştır. Ağustos 2004 de Avrupa Birliği (EU) ağırlıkça % 0.1 veya daha fazla pentaBDE ve okta BDE içeren ürünlerin satışını ve kullanımını yasaklamıştır. dekaBDE bileşiğinin kullanımı ise 2002 yılında yayınlanan Zehirli Maddelerin Kullanımının Kısıtlandırılması RoHS Direktifi (2002/95/EC) ile yasaklanmıştır. Aynı sınırlama Atık Elektrikli ve Elektronik Cihazlar Direktifi (WEEE 2002/96/EC) ile de desteklenmiştir. Bu uygulama Türkiye Cumhuriyeti Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından da yürürlüğe sokulmuş ve alınan kararlar 30 Mayıs 2008 tarihinde yayınlanan Resmi Gazetede EEE “Elektrikli ve Elektronik Eşyalarda Bazı Zararlı Maddelerin Kullanımının Sınırlandırılmasına Dair Yönetmelik” ile sunulmuştur [28], [29], [30].

2.2 Plastik Malzemeler

Çalışmada plastik yapı olarak polipropilen (PP), polietilen (PE) ve akrilonitril butadien stiren (ABS) kullanılmıştır.

2.2.1 Polietilen

Polietilen, çok çeşitli ürünlerde kullanılan bir termoplastiktir. Termoplastik ya da ısıl plastik malzemeler, ısıtıldıkları zaman kalıcı değişime uğramayan plastik malzemelerdir. Plastik endüstrisinde genellikle ismi kısaca PE olarak kullanılır. Polietilenin üretim şekli, etilenin polimerizasyonu ile olur. Polimerizasyon metodu, radikal polimerizasyon, anyonik polimerizasyon, iyon koordinasyon polimerizasyonu ve katyonik polimerizasyon metotları şeklindedir. Bu metotların her biri Şekil 2.3’de görüldüğü gibi farklı tipte polietilen üretimi sağlar.



Şekil 2.3 Polietilen molekül formülü

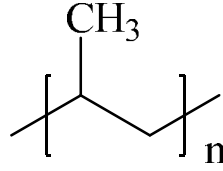
Polietilen yoğunluk ve kimyasal özellikleri göz önüne alınarak çeşitli kategorilerde sınıflanır. Mekanik özellikleri, moleküler ağırlığı, kristal yapısı ve dallanma tipine bağlıdır.

- UHMWPE (ultra yüksek moleküler ağırlıklı PE) (ultra high molecular weight PE)
- HDPE (yüksek yoğunluklu PE) (high density PE)
- HDXLPE (yüksek yoğunluklu çapraz bağlı PE) (high density cross-linked PE)
- PEX (çapraz bağlı PE) (cross-linked PE)
- MDPE (orta yoğunluklu PE) (medium density PE)
- LDPE (düşük yoğunluklu PE) (low density PE)
- LLDPE (lineer bağlı düşük yoğunluklu PE) (linear low density PE)
- VLDPE (çok düşük yoğunluklu PE) (very low density PE)

Özellikleri tiplere göre değişiklik gösterse de; dış ortam koşulları ve neme karşı iyi direnç, esneklik, zayıf mekaniksel kuvvet ve üstün kimyasal direnç genel özellikleri olarak sayılabilir. Uygulama alanı olarak filmler, paketlenme malzemesi, çantalar, borular, konteynırlar, endüstriyel uygulamalar, otomotiv sanayisi, şişeler, bilgisayarlar, elektriksel yalıtım malzemesi, kaplama malzemesi, gıda saklama kapları gibi alanlar mevcuttur [31].

2.2.2 Polipropilen

Polipropilen otomotiv sanayinde kullanılan parçalardan, tekstil ve yiyecek paketlenmesine kadar çok geniş kullanım alanı olan termoplastik bir polimerdir. Kimyasal çözücülere (asit ve baz) karşı aşırı derecede dirençlidir. En yaygın ticari polipropilen kristal yapısı düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) ve yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) arasında bir seviyeye sahiptir. Young modülü (elastizite modülü) de orta seviyededir. Bununla beraber, LDPE'den daha az sert ve HDPE'den çok daha az gevrekli. Kırılmaya karşı iyi dirence sahiptir. Polipropilen oldukça ekonomiktir ve renksiz olduğunda yarı saydam özellik gösterir. Homopolimer, rastgele kopolimer ve blok kopolimer olmak üzere polipropilenin genel üç tipi vardır. Polipropilen molekül formülü Şekil 2.4'de görülmektedir.



Şekil 2.4 Polipropilen molekül formülü

Polipropilenin uygulama alanları, başta otomotiv uygulamaları olmak üzere, mutfak eşyaları ve benzeri elektriksel ve elektronik uygulamalar, film, medikal alanda ve laboratuarda kullanılan plastik malzemeler, bulaşık makinesinde erimeyen plastik kaplar, elektriksel kabloların yalıtımı, evlerde kullanılan paspaslar, plastik şişeler, paketlenme ürünleri, konteynırlar olmak üzere çok çeşitlidir [32].

2.2.3 Akrilonitril Butadien Stiren

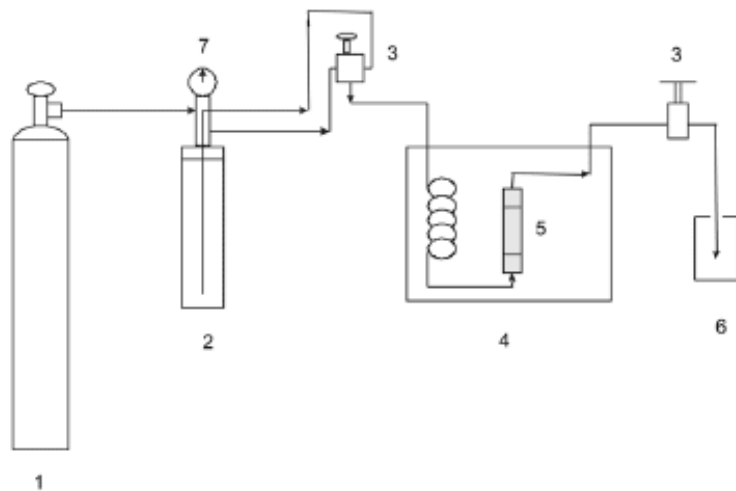
Akrilonitril butadien stiren veya kısaltılmış ismi ile ABS ise (kimyasal formülü $C_8H_8 \cdot C_4H_6 \cdot C_3H_3N$)_x) kalıp yolu ile üretilen ürünlerde çok yaygın olarak kullanılan hafif ve sert bir polimerdir. Borular, otomotiv parçaları, koruyucu kasklar ve oyuncaklar (örn: lego) kullanım alanlarından birkaçıdır. Bu malzeme polibütadien içinde stiren ve akrilonitrilin polimerizasyonu ile elde edilen bir kopolimerdir. İçerdiği madde oranları % 15-35 arası akrilonitril, % 5-30 arası butadien ve % 40-60 arası da stiren olarak değişiklik gösterebilir. Sonuç olarak, poli (stiren ve akrilonitrilin) kısa zincirleri ile polibütadienin uzun zincirlerinin çapraz bağlanmasıdır. Komşu zincirlerden nitril grupları, kutupsal olarak diğer zincirleri çekip bağlayarak, saf polistirenden daha dayanıklı olan, ABS oluştururlar. Stiren plastiğe parlaklık ve iyi yüzey verir. Bütadien kauçuk özelliklerini, düşük sıcaklıkta esnek olabilmeyi sağlar. ABS, -25 °C ve 60 °C arasında kullanılabilir. ABS, otomobiller, iletişim araçları ve ticari eşyalarda kullanıldığı gibi elektrikli ve elektronik ekipmanlarda da oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıntılı bir şekilde bahsedilecek olursa; otomobil iç parçaları, ev gereçleri, iş ekipmanları, inşaat malzemeleri, bobinler, şişeler, mobilyalar gibi kullanım alanları vardır. Bu üç polimer türü de çok geniş uygulama alanına sahiptir fakat sadece yaygın olarak kullanılan alanlardan bahsedilmiştir [33].

2.3 Ekstraksiyon Teknikleri

Polimerik malzemelerde gerçekleştirilen ekstraksiyon çevresel veya gıda örneklerinde gerçekleştirilen ekstraksiyona göre daha zor bir işlemdir. Geçmiş yıllarda katı örneklerden organik bileşiklerin ekstraksiyonu için sokslet ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Şimdilerde ise Sokslet yönteminin yanı sıra ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) ve basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (PSE) sistemleri kullanılmaktadır. Bu tekniklerin tercih edilmesi avantaj ve dezavantajlarına göre yapılmaktadır.

2.3.1 Basınçlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu (PSE)

PSE aynı zamanda basınçlı akışkan ekstraksiyonu (PFE) ve ticari olarak “Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu” (ASE) olarak da bilinir. İlk defa 1996 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Şekil 2.5 ve 2.6’da görüldüğü gibi basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyonunda, katı veya yarı katı örnek kapalı numune kabına yerleştirilir ve sonra ayırıcı olarak duruma göre toprak veya sodyum sülfat eklenir. Numune kabı bir ısıtma döngüsüne tabi tutulur. Isıtma döngüsünün başında kaba çözücü eklenir ve sistemin sıcaklığı artırılır. Sıcaklık artarken basıncın da arttırılmasıyla çözücünün kaynaması engellenmiş olur. Sıcaklığın yükseltilmesiyle ekstraksiyonun kinetiği artar ve böylelikle etkili bir ekstraksiyon gerçekleşmiş olur [34].



Şekil 2.5 PSE işletim şeması (1: Azot tankı, 2: Basınç Kanalı, 3: Vanalar, 4: Fırın, 5: Numune kabı, 6: Ekstrakt toplama şişeleri, 7: Manometre)



Şekil 2.6 Otomatik PSE cihazı

Genel bir değerlendirme yapılırsa; uygun çözücünün kullanılması, sıcaklığın basıncın ayarlanması sokslet ekstraksiyonuna benzemektedir. Sokslet ekstraksiyonu 1879 yılında kullanılmaya başlanmıştır fakat ekstraksiyonun 16-24 saat gibi uzun zaman gerektirmesi, 100-500 mL gibi yüksek hacimlerde çözücüye ihtiyaç duyması gibi dezavantajları yüzünden yerini PSE almıştır. PSE yöntemi bu dezavantajları ortadan kaldırır. Sokslet ekstraksiyonuna nazaran daha az çözücü harcanır ve daha kısa sürede ekstraksiyon gerçekleştirilir. PSE yönteminin diğer avantajları sistemin otomatik olması ve sıcaklığın kontrol edilebilir olmasıdır ki bu özellikler metodun yüksek tekrarlanabilirlik değerlerine sahip olmasını ve sıcaklıkla bozulan bileşiklerle kontrollü bir şekilde çalışmayı sağlar. PSE sisteminin polimerik maddelerde katkı maddesi, çevresel örnekler, gıdasal ve biyolojik örneklerde organik, organometalik bileşiklerin ekstraksiyonu gibi birçok uygulama alanı vardır [35].

2.3.2 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE)

Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) yönteminde ısı kaynağı olarak mikrodalga enerjisi kullanılır. Cihazda çözücü ve örneğin aynı anda yerleştirildiği birçok kapalı kap bulunmaktadır (Şekil 2.7). Bu kaplarda örnek ve çözücü sistemine aynı anda sıcaklık ve basınç uygulanır. Böylece çözücü sistemi kaynama noktasındaki sıcaklık değerinin üstüne ısıtılabilir. Bu şekilde analit yüksek sıcaklıktaki çözücü sayesinde, matriksten çözücüye difüze olur. Kullanılan çözücü sisteminin mikrodalga enerjisini absorblayıp

ısınabilmesi için elektriksel geçirgenliği olan bileşen içermesi gerekir bu nedenle genellikle çözücü olarak polar/apolar çözücü karışımları tercih edilir. Bu sistemin avantajı kısa sürede az çözücü harcayarak aynı anda birden çok örneği ekstrakste edilebilmesidir. Diğer taraftan dikkat edilmesi gereken husus ise mikrodalga enerjisinin yüksek yanıcılığı olan organik çözücülerde kullanılmamasıdır. Böyle bir durum tehlike arz etmektedir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin etkinliği ekstraksiyon çözücüsü, sıcaklık, ekstraksiyon zamanı, matriks etkisi ve su içeriği gibi birçok faktöre bağlıdır [36].



Şekil 2.7 Otomatik MAE cihazı

2.3.3 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UAE)

Ultrasonik destekli ekstraksiyonda ultrason etkisi, basınç dalgalarının elastik özelliklere sahip fiziksel bir ortamda yayılması sonucu oluşur. Mekanik titreşimler mekanik basınç dalgalarına dönüşerek enerjiyi ortama ve ortam da dalgayla temas eden maddeye aktarır. Titreşim halindeki nesne hareketini ortamdaki moleküllere aktarır ve her molekül bu hareketi komşu moleküle ileterek başlangıç konumuna geri döner.

Ultrasonik dalgalar bir ortamdan geçerken kütle transferi üzerindeki hem iç ve hem dış dirence etki ederler. Yüksek şiddetli ultrason sıvı içinde karıştırma sağladığı için kütle transferi üzerindeki dış direnci düşürür. Bu karışıma işlemi ise ultrasonik dalgaların sebep olduğu ses rüzgârı etkisiyle ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde katı-sıvı ara yüzeyinde mikro düzeyde bir karışma gerçekleşir. Bu mikro karışma olayı çok önemlidir çünkü katı

yüzeyinin çok yakınında gerçekleşmekte ve difüzyonun olduğu sınır tabakasını azaltıcı yönde etki etmektedir. Bu etki de kütle transferinin oluşmasını sağlar [37].

Basit ve etkili bir yöntem olması bu tekniğin son yıllarda organik bileşiklerin ekstraksiyonunda tercih edilmesini sağlamıştır. Ayrıca düşük sıcaklıklarda etkin olarak uygulanabildiğinden sıcaklığa duyarlı maddelerin bozulmadan ekstrakte edilmesini mümkün kılar. Ultrasonik ekstraksiyonda verimli bir sonuç elde etmek için örnek miktarı, parçacık boyutu, ekstraksiyon çözücüsünün türü, pH değeri ve hacmi, uygulanan ultrasonik güç, sıklık, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı parametrelerini optimize etmek gerekir. Ultrasonik ekstraksiyon gerçekleştiren cihazlar Şekil 2.8’de görülmektedir.



(a)



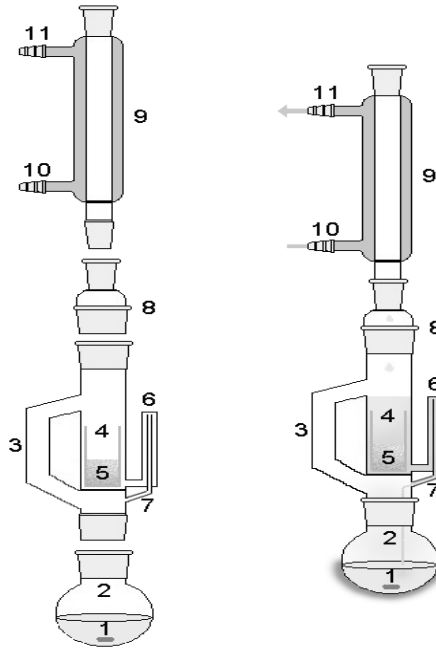
(b)

Şekil 2.8 Ultrasonik banyo (a) ve ultrasonik çubuk (b)

2.3.4 Sokslet Ekstraksiyonu

Sokslet ekstraksiyonu Baron Von Soxhlet tarafından 19. yüzyılın ortalarında geliştirilmiş bir metottur. 1980’li yıllarda modern ekstraksiyon teknikleri geliştirilene kadar oldukça geniş kullanım alanına sahipti, bugünlerde ise hala katı örneklerden organik bileşiklerin ekstraksiyonu için referans metot olarak kullanılmaktadır. Sokslet aparatı Şekil 2.9’da görülmektedir. Şekilde görüldüğü gibi sistem üç ana bileşenden oluşmaktadır. Üst kısımda çözücü buharının geri dönüş yaptığı yoğunlaştırıcı, orta kısımda yüksük tutucunun olduğu sifon, son kısımda da yüksüğe bağlantılı olarak ekstraktın toplandığı

cam aparat vardır. Örnek, delikli selüloz örnek yüksüğüne koyulur. Ekstraktın toplandığı cam aparata 10 g örnek için yaklaşık 300 mL çözücü koyulur. Daha sonra bu cam aparat ısıtıcı kafes ile yavaşça ısıtılır. Isıtma ile oluşan çözücü buharı yoğunlaştırıcı bölgesine geçer ve yoğunlaşarak yüksük olan kısma akar. Yüksük haznesi en üst seviyeye kadar dolduğunda sıvı, sifon yardımıyla tekrar ekstraktın toplandığı cam aparata boşalır. Bu döngü istenilen verimde ekstraksiyon gerçekleştirilene kadar devam eder. Ekstrakte edilen analitler çözücünün kaynama sıcaklığından daha yüksek sıcaklıkta kaynadığı için, çözücü dönüşüm yaparken analit çözücü içerisinde kalır. Bu yöntem bahsedildiği gibi uzun yıllar katı maddelerden organik bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılmıştır ve hala kullanılmaktadır fakat uzun zaman gerektirmesi ve aşırı çözücü sarfiyatına sebep olduğu için yerine PSE, UAE ve MAE gibi daha ekonomik ve pratik ekstraksiyon yöntemleri tercih edilmektedir [38].



Şekil 2.9 Soxhlet Aparatı (1: Karıştırıcı çubuk, 2: Ekstrakt toplayıcı aparat, 3: Distilasyon yolu, 4: Soxhlet yüksüğü, 5: Ekstraksiyon katısı (Artık katı), 6: Sifon giriş kolu, 7: Sifon çıkış kolu, 8: Genişleme adaptörü, 9: Yoğunlaştırıcı, 10: Soğuk su girişi, 11: Soğuk su çıkışı)

2.4 Kromatografi

Kromatografi bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbiriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde ayrılması yöntemidir. İlk kez Rus botanikçi Mikhail Tsvett (1903) tarafından geliştirilen bir yöntemdir. Tsvett bu yöntemi bitki pigmentlerini ayırmakta kullanmıştır. Kullandığı kolonda renkli bantlar oluştuğundan bu ayırma yöntemine kromatografi adını vermiştir. Sabit faz pürüzlü veya granül halde katı veya katı üzerine absorbe edilmiş ince sıvı film şeklinde olurken, hareketli faz gaz veya sıvı olabilir. Çalışma prensibi çeşitli maddelerin hareketli faz yardımıyla sabit faz üzerinde, değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanır.

Kromatografi, ayrılma mekanizmalarına, uygulama biçimine ve faz tiplerine göre sınıflandırılır. Ayrılma mekanizmalarına göre sınıflandırılan kromatografi tekniklerine örnek olarak adsorbsiyon, dağılma, iyon değiştirme, moleküler eleme, iyon çifti, afinite kromatografisi verilebilir. Uygulama biçimine göre ise, düzlemsel kromatografi ki bunlar kağıt ve ince tabaka kromatografisi ve kolon kromatografisi yani gaz ve sıvı kromatografisi şeklinde sınıflandırma söz konusudur. Faz tipine göre ise kromatografi, sıvı-sıvı, sıvı-katı, gaz-katı ve gaz-sıvı şeklinde sınıflandırılır.

Adsorbsiyon kromatografisi, örnek bileşenlerinin dolgu malzemesinin yüzeyinde farklı olarak tutunmaları sonucu meydana gelen bir ayırma işlemidir. Bu kromatografide maddeler katı olan sabit faz ile sıvı veya gaz olan hareketli faz arasında etkileşir. Bu yöntemdeki katı faz, ayrılması gereken maddeleri parçalamamalı, onlarla kimyasal reaksiyona girmemeli, adsorbsiyon kapasitesi yüksek olmalı ve adsorbladıkları maddeleri kolaylıkla geri vermelidirler. Dağılma kromatografisinde ise maddeler sıvı olan sabit faz ile sıvı veya gaz olan hareketli faz arasında dağılır. Birbiriyle karışmayan iki sıvıdan, yani iki fazdan oluşan bir faz sistemi içine konulan madde bu sıvılardaki çözünürlüğüne bağlı olarak iki faz arasında dağılır ve dengeye ulaşır. Böyle bir sistemde maddelerin dağılması sabit olup dağılma katsayısı ile ifade edilir ve K_d ile gösterilir. Böylece K_d değerleri birbirinden farklı olan maddeler kromatografik sistem içerisinde farklı hızlarda ilerleyerek birbirinden ayrılırlar. Diğer bir yöntem olan iyon değiştirme kromatografisi, maddelerin iyonik grupları ile iyon değiştiricideki iyonik grupların eş değer miktarlarının karşılıklı yer değiştirmesi esasına dayanır. İyon değiştirici anyon

veya katyon şeklinde olabilmektedir. İnorganik iyon değıştircilere, $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{12}$ ve Na_2P , organik iyon değıştircilere de anyonik, katyonik ve anfoter reçineler örnek verilebilir. İyon değıştirmeyi etkileyen faktörler ise, hareketli faz derişimi ve pH sı ve kompleks oluşturma etkisidir. Bu tür kromatografi, ayrılmaları güç olan bazı iyonların ve asitlerin, aminoasitlerin ayırımında, seyreltik iyon çözeltilerinin derişikleştirilmesinde ve asit ve baz elde edilmesinde kullanılır. Moleküler eleme kromatografisinde ise karışımdaki moleküllerin molekül büyüklüklerine göre ayrılması esası söz konusudur. İyon çifti kromatografisinde de iyonlaşabilen asidik ve bazik maddelerin ayrılması gerçekleştirilir. Diğer bir yöntem olan afinite kromatografisi seçiciliğı yüksek olan bir tekniktir. Antijen-antikor, enzim-substrat ve reseptör-ilaç gibi oldukça özel etkileşimlere dayanır [39].

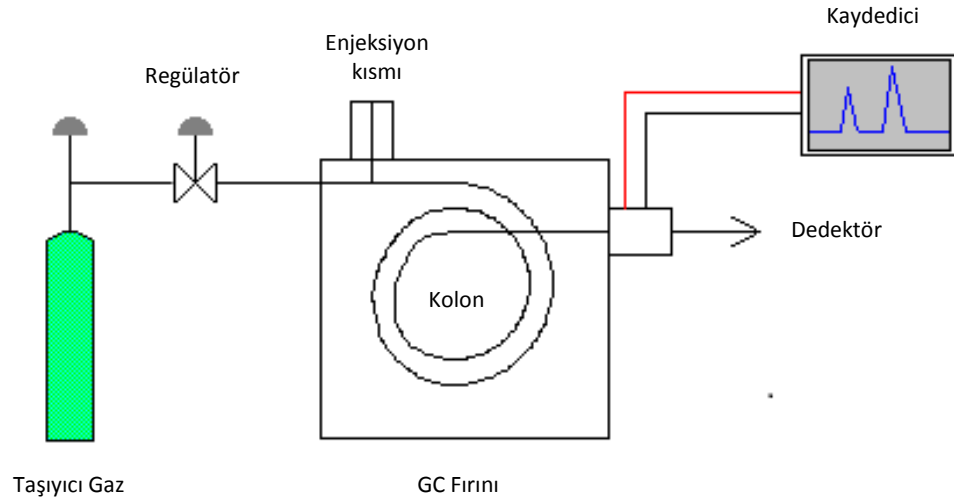
Uygulama biçimine göre ayrılan kromatografilerden ilki kağıt kromatografisidir. Bu yöntemde kalın bir süzgeç kağıdı destek, onun gözeneklerine yerleşen su ise sıvı fazı oluşturur. Hareketli faz bir yürütücü tank içine yerleştirilmiş uygun bir sıvıdır. Böylece kağıt kromatografisi bir sıvı-sıvı dağılım kromatografisidir denilebilir. Bu gruba giren ikinci yöntem ince tabaka kromatografisidir. Bu yöntem aslında bir katı-sıvı adsorbsiyon kromatografisidir. Buradaki sabit faz cam plakalar üstüne ince bir tabaka halinde sıvanmış katı adsorban maddedir. Adsorban madde olarak alumina, silika jel, selüloz ve benzeri maddeler kullanılabilir. Bu yöntemde hareketli fazın sabit faz üzerinden ilerleyişi aşağıdan yukarıya doğru olur. Çözücü kılcallık etkisi ile içerisine daldırılan ince tabaka plakası üzerinde yürür. Bu işlem sırasında plakanın alt kesimlerine bir damlalıkla önceden damlatılmış olan karışımı da farklı hızlarla yukarıya sürükler. Ayırım bu şekilde sağlanmış olur. Yürüme hızı maddenin, katı fazın ve çözücünün polaritesine bağlıdır. Uygulama biçiminde farklılık gösteren bir diğer yöntem ise sıvı kromatografisidir. Sıvı kromatografisi düzlemsel yüzeylere ve kolonlara uygulanabilen bir kromatografi türüdür. Normal faz ve ters faz olmak üzere ayırım iki mekanizma üzerinden ilerler. Normal faz mekanizmasında sabit faz polar, hareketli faz ise apolar veya düşük polariteye sahiptir. Ters faz da ise sabit faz apolar, hareketli faz polardır. Bu yöntem yüksek seçiciliğe sahip ayırım gerçekleştirir. Diğer bir yöntem ise gaz kromatografisidir. Yapılan tez çalışmasında analizler gaz kromatografisi-tandem kütle spektrometresi ile gerçekleştirildiğı için bu teknik detaylı bir biçimde anlatılmıştır [40].

2.5 Gaz Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi

2.6 Gaz kromatografi (GC)

Gaz kromatografisi yöntemi, bir karışımda gaz halinde bulunan veya kolayca buharlaştırılabilen maddelerin birbirlerinden ayrılmasında kullanılır. Bu yöntemde hareketli faz bir gazdır. Bu gaz azot, helyum, argon gibi bir gaz olup "taşıyıcı gaz" adını alır. Sabit faz ise kolonda yer alır ve alumina, silika gibi bir katı olabilir. Bu durumda yöntem "gaz-katı kromatografisi" adını alır. Eğer sabit faz, kieselghur gibi katı dolgu maddesi üzerinde tutulmuş uçucu olmayan bir sıvı filmi ise yöntem "gaz-sıvı kromatografisi" adını alır.

Gaz kromatografi cihazında (GC), numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. İnert (ortamdaki diğer bileşiklerle etkileşime girmeyen) bir hareketli gaz faz ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz, analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi analiti kolon boyunca taşımaktır. Çalışma prensibinin kısaca şematik görünümü Şekil 2.10'da verilmektedir [41].



Şekil 2.10 Gaz kromatografi cihazı şematik görüntüsü

2.6.1 Taşıyıcı gaz

Kimyaca inert olması gereken taşıyıcı gaz, genelde helyum, hidrojen, azottur. Gaz seçimi kullanılan detektör tipine göre yapılır. Taşıyıcı gaz tüpüne bağlı halde, basınç

ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bulunur. Bunlara ek olarak su veya diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde çoğu zaman moleküler elek bulunur.

2.6.2 Numune Enjeksiyon Sistemi

Kolon verimi, numunenin uygun miktarda ve buhar halinde 'bir defada' verilmesini gerektirir. Yavaş enjeksiyon veya daha fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olur. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, en yaygın yöntem sızdırmaz enjektörler kullanımıdır. Enjeksiyon, bir silikon lastik diyaframdan veya bir septumdan yapılır. Septumun hemen arkasında, kolonun giriş ucunda hızlı buharlaştırıcı bölme bulunur. Enjeksiyonun yapıldığı bu kısım numune içinde kaynama noktası en büyük maddenin kaynama noktasından 50°C kadar yüksek sıcaklığa kadar ısıtılır. Normal analitik amaçlar için enjeksiyon hacmi, 0,1-20 µL arasında olabilir. Kılcal kolonlarda daha küçük miktarlar (10^{-3} µL) enjekte edilir. Bunun için kolon girişine bir bölücü yerleştirilir. Bölücü enjekte edilen numunenin bir kısmının kolona gitmesini sağlarken, diğer kısım dışarı atılır [41].

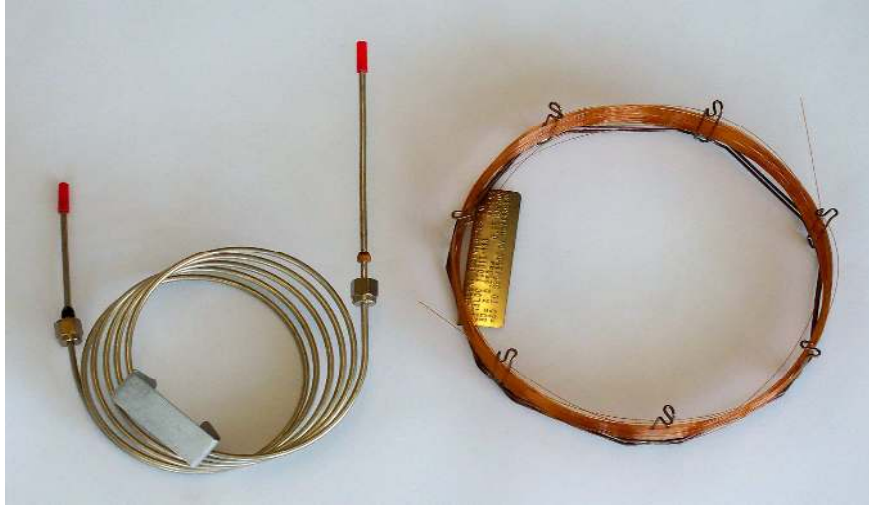
2.6.3 Kolon Yerleşim Biçimi ve Kolon Fırın

Şekil 2.11'de görüldüğü gibi dolgulu ve kılcal olmak üzere gaz kromatografide iki tip kolon kullanılır. Bugüne kadar çalışmaların büyük çoğunluğu dolgulu kolonlarla gerçekleştirilmiştir. Ancak son zamanlarda durum hızla değişmektedir ve görüldüğü kadarıyla dolgulu kolonlar, bazı özel uygulamalar hariç, yerlerini daha verimli ve hızlı kılcal kolonlara bırakmıştır.

Kromatografik kolonların boyları 2-50m veya daha büyük olabilir. Paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan kolonlar yapılabilir. Bu kolonlar ısı kontrolü yapılan bir fırına yerleştirilebilmek için 10-30 cm çapında spiraller haline getirilirler.

En az hata ile çalışabilmek için, 0,1 °C duyarlılıkla kontrol edilmesi gereken bir başka önemli parametre ise kolon sıcaklığıdır. Bu nedenle kolon, sıcaklığı kontrol edilebilen bir bölmeye yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı numunenin kaynama sıcaklığına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Kabaca, numunenin ortalama kaynama sıcaklığının biraz üstünde bir sıcaklıktaki kolonda maddelerin elüsyon zamanı 2-30 dk arasında değişebilir. Çok geniş bir kaynama noktası aralığındaki numuneler için sıcaklık

programlaması yapmak gerekir. Sıcaklık programlamasında kromatografik ayırım devam ederken kolon sıcaklığı sürekli veya basamaklar halinde artırılır [42].



Şekil 2.11 Soldan sağa doğru dolgulu ve kılcal kolon görüntüsü

2.6.4 Dedeksiyon Sistemleri

Gaz kromatografide kullanılan ideal dedektörler 10^{-8} ile 10^{-5} arasında değişen, kullanım amacına bağlı olarak yeterli duyarlılığa sahip olmalıdır. İyi karalılık ve tekrarlanabilirlik sunmalıdır. Geniş doğrusal aralığa ve 400 °C ye kadar varan sıcaklık aralığına sahip olmalıdır. Akış hızından bağımsız küçük cevap zamanı vermelidir. Yüksek güvenilirlik ve kullanım kolaylığı sunmalıdır. Her türlü analite benzer cevap vermelidir ve numuneyi parçalamamalıdır.

Alev iyonlaşma dedektörü (FID), termel iletkenlik dedektörü (TCD), kükürt kemilüminesans dedektörü (SCD), elektron yakalama dedektörü (ECD), atomik emisyon dedektörü (AED), termiyonik dedektör (TID) olmak üzere farklı türlerde GC dedektörü vardır [42].

2.6.4.1 Alev İyonlaşma Dedektörü (FID)

Alev iyonlaşma dedektörü, gaz kromatografide en yaygın biçimde kullanılan dedektördür. GC kolonundan gelen gaz, hidrojen ve hava ile karıştırılıp elektrik çakmağı ile tutuşturularak alev meydana getirilir. Hidrojen/hava alevinde yakılan organik bileşiklerin birçoğu iyon ve elektronlar meydana getirir. Bunlar alevden elektrik

akımının geçmesine yardımcı olurlar. Bekin ucu ile üzerinde bulunan toplayıcı elektroda birkaç yüz voltluk potansiyel uygulanırsa 10^{-12} amper kadar akım oluşur. Bu akım bir işlemsel yükselticiye ölçüm için gönderilir.

Karbon bileşiklerinin alevde iyonlaşma olayları henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak deneyler, oluşan iyon sayısının alevde indirgenen karbon atomları sayısı ile orantılı olduğunu göstermektedir. Alev iyonlaşma dedektörü, dedektöre birim zamanda giren maddenin derişimyle değil verdiği C atomları sayısı ile orantılı olduğu için kütle-duyarlı dedektördür.

Karbonil, alkil, halojen ve amin gibi fonksiyonel gruplar alevde hiç iyon vermez ya da çok az iyon verirler. Ayrıca yanmayan H_2O , CO_2 , SO_2 ve NO_x gibi gazlara da duyarlı değildir. Bu özellikler alev iyonlaşma dedektörünü, su ve azot veya kükürt gazları ile kirlenmiş birçok organik maddenin tayininde çok uygun bir dedektör haline getirmektedir. Alev iyonlaşma dedektörünün suya karşı duyarlı olmayışı bu dedektörü özellikle doğal sulardaki kirleticilerin tayininde kullanışlı hale getirmektedir.

Dedektörün duyarlılığı çok yüksektir (10^{-13} g/s), doğrusal çalışma aralığı geniştir (10^{-7}) ve gürültüsü azdır. Genellikle dayanıklıdır ve kolay kullanılabilirler. Alev iyonlaşma dedektörünün sakıncası ise numuneyi parçalıyor olmasıdır [43].

2.6.4.2 Termal İletkenlik Dedektörü (TCD)

Gaz kromatografide ilk kullanılan ve halen kullanılmaya devam eden bu dedektör, kolondan geçmekte olan gazın, içinde analit molekülleri bulunması halinde ısı iletkenliğinde meydana gelen değişime dayanmaktadır. Dedektörün diğer bir adı katarometredir. Katarometrede elektriksel olarak ısıtılan bir termal elemanın sıcaklığı, etrafından geçmekte olan gazın ısı iletkenliğine bağlı olarak değişir. Bu eleman platin, altın veya tungsten tel olabilir. Bir yarı iletken termistör de ısı elemanı olarak kullanılabilir. Telin veya termistörün direnci, gazın termal iletkenliğinin ölçüsüdür. Termistörlerin ısı iletkenliklerinin sıcaklıkla değişim katsayısı, metal tellerin aksine negatiftir.

Helyum ve hidrojenin ısı iletkenlikleri birçok organik bileşiğin ısı iletkenliğinden altı-on kat kadar büyüktür. Bu nedenle çok küçük miktardaki organik maddenin varlığında dahi, kolonu terk eden gazın iletkenliğinde büyük bir değişiklik meydana gelir. Buna

bağı olarak da dedektör sıcaklığı değişme gösterir. Organik gazların termal iletkenlikleri birbirlerine yakın olduğundan termal iletkenlik dedektöründe iyi duyarlık için helyum ve hidrojen kullanmak uygundur.

Termal iletkenlik dedektörünün üstünlükleri arasında basitliği, geniş bir doğrusal bölge (10^5), organik ve inorganik maddelerin hepsine cevap vermesi, maddeyi parçalamaması sayılabilir. Termal iletkenlik dedektörünün gözlenebilme sınırı (10^{-8} gmadde/mL taşıyıcı gaz) düşüktür. Diğer dedektörlerin duyarlılıkları 10^4 - 10^7 kez daha fazladır. Çok az madde enjekte edildiğinden kılcal kolonlar bu dedektörler ile kullanılamazlar [43].

2.6.4.3 Kükürt Kemilüminesans Dedektörü (SCD)

Son zamanlarda geliştirilen bir dedektördür. Dedektörün temeli, bazı kükürt bileşikleri ile ozonun verdiği reaksiyona dayanır. Reaksiyon sonrası oluşan ışının şiddeti kükürt derişimi ile orantılıdır. Dedektör özellikle kükürt içeren kirleticilerin, örneğin merkaptanların tayininde yararlıdır. Kükürt kemilüminesans dedektöründe kolondan gelen gazlar, hidrojen ve hava ile karıştırılarak alev iyonlaşma dedektöründe olduğu gibi yakılır. Oluşan gazlar ozon ile karıştırılıp oluşan ışının şiddeti ölçülür. Bu dedektör süperkritik akışkan kromatografide de kullanılmaktadır [44].

2.6.4.4 Elektron-Yakalama Dedektörü (ECD)

Halojen içeren maddelerin seçimli dedeksiyonuna imkan verdiği için elektron yakalama dedektörü çevre numunelerinin tayininde çok yaygın kullanılan dedektör durumundadır. Özellikle pestisitlerin, poliklorobifenillerin tayininde kullanılmaktadır. Bu tür dedektörler X-ışınlarının ölçümünde kullanılan orantılı sayaçlara benzer biçimde çalışırlar. Kolondan çıkan gazlar radyoaktif yayıcının üzerinden geçirilir. Radyoaktif madde tanecikleri genellikle azot olan taşıyıcı gazı iyonlaştırarak çok sayıda elektron oluşmasına neden olur. Organik maddelerin yokluğunda dedektörde bulunan bir çift elektrot arasında belli bir akım meydana gelir. Kolondan elektron yakalama özelliği olan organik madde gelmesi halinde elektronların bir kısmı tutulur ve elektrotlarda akım düşmesi gözlenir. Dedektöre uygulanan potansiyel puls olmazsa, oluşan cevap doğrusal değildir.

Elektron yakalama dedektörü seçicidir ve elektronegatif fonksiyonel grup içeren moleküllere karşı (halojenler, peroksitler, kinonlar ve nitro grupları) çok duyarlıdır. Aminlere, alkollere ve hidrokarbonlar gibi fonksiyonel gruplara karşı duyarlı değildir. Bu dedektörün önemli bir uygulama alanı klorlu pestisitlerin belirlenmesi ve tayinidir.

Elektron yakalama dedektörü çok duyarlıdır ve seçici olması büyük avantajdır. Ancak doğrusal çalışma bölgesi 10^2 kadardır [44].

2.6.4.5 Atomik Emisyon Dedektörleri (AED)

Atomik emisyon dedektörleri piyasada mevcut sistemlerdir. Bu cihazda kolon gazları mikrodalga ile enerjilendirilmiş helyum plazmasına gönderilir. Helyum plazması, bir diyod serili optik emisyon spektrometreye bağlıdır. Plazmada numunedeki tüm elementler atomlaştırılır ve karakteristik atomik emisyon spektrumu oluşturulur. Bu spektrum, 170-780 nm arasında ışınları belirleyebilen, hareketli düz diyotlu sistemden oluşan spektrometre ile gözlenir. Sistemdeki ayarlanabilir diyod, iki veya dört elementi aynı anda ölçebilir durumdadır [44].

2.6.4.6 Termiyonik Dedektörler (TID)

Termiyonik dedektörler fosfor ve azot içeren organik bileşiklere karşı seçicidirler. Fosfora karşı duyarlılığı azotun on katı, karbonun ise 10^4 - 10^6 katıdır. Alev iyonlaşma dedektörü ile karşılaştırıldığı zaman termiyonik dedektör, fosfor bileşiklerine karşı 500, azot bileşiklerine karşı 50 kez daha duyarlıdır. Bu özelliğinden dolayı termiyonik dedektör fosforlu pestisitlerin tayininde özellikle kullanılmaktadır.

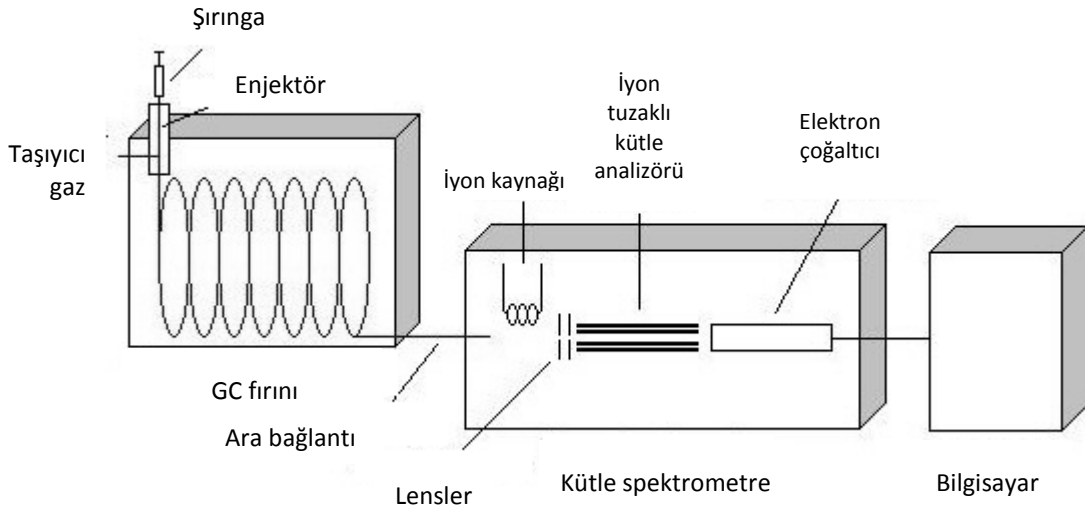
Bu dedektörde kolon gazları hidrojen ile karıştırılır, alev ucunda yakılır. Sıcak gazlar sonra, bir toplayıcıya karşı 180 voltta tutulan ve elektriksel olarak ısıtılan rubidyum silikat parçanın üzerinden geçirilir. Silikat taneciği, 600-800 °C kadar sıcaklık veren bir plazma oluşturur. Olay tümüyle açıklanmamış olmakla beraber, fosfor veya azot içeren maddelerden, çok sayıda iyon oluşur. Bu iyonlardan, P ve N içeren bileşiklerin tayininde yararlanılır [45].

2.6.5 Gaz Kromatografi ile Spektroskopik Yöntemlerin Birlikte Kullanımı

Gaz kromatografi çoğu zaman seçici spektroskopik tekniklerle bağlantılı olarak kullanılır. Böylece ikili yöntemler adı verilen bu sistemler, kompleks karışımların analizinde güçlü bir araç olarak kullanılır.

Bu sistemlerin en yaygını gaz kromatografi/kütle spektrometre cihazıdır. Gaz kromatografi cihazında, kolonda tutulma zamanlarına göre ayrılan molekül kütle spektrometreye aktarılır. Kütle spektrometrede ise iyonlarına ayrılan molekül, iyonların m/z oranlarına göre tayin edilmek üzere analizöre gönderilir. Böylece bir karışımda bulunan bileşikler hem gaz kromatografi hem de kütle spektrometre ile ölçülerek daha hassas ölçüm sağlanmış olur.

Bu tür bir sistemin şematik görünümü Şekil 2.12’de verilmiştir. Kullanım amacına bağlı olarak kütle spektrometreleri farklı analizörlere ve iyonlaştırma kaynağına sahip olabilir [45].



Şekil 2.12 Gaz kromatografi/kütle spektrometre sisteminin şematik görünümü

2.7 Kütle Spektrometre

Kütle spektrometre kuşkusuz halen kullanımda bulunan tüm analitik yöntemlerin en geniş uygulama alanı olanıdır ve maddelerin, elemental bileşimlerinin belirlenmesinde, inorganik, organik ve biyolojik moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında, karmaşık karışımların nitel ve nicel analizlerinde, katı yüzeylerinin yapılarının ve bileşimlerinin

aydınlatılmasında, bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında oldukça yararlı bir yöntemdir.

Kütle spektrometrelerde, molekül üzerine genellikle 70 eV olmak üzere yüksek enerji uygulanır. Yüksek enerjili elektronlar ile analit molekülleri arasındaki çarpışmalar moleküle genel olarak onu uyaracak kadar yüksek enerji verir. Uyarılmış molekülün durulması, sık sık parçalanma şeklinde olur ve daha düşük kütleli iyonlar ortaya çıkar. Diğer yüklü parçalanma ürünleri daha az miktarda oluşur.

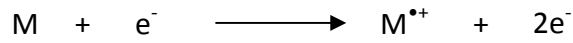
Elektron çarpması sonucu elde edilen pozitif iyonlar, kütle spektrometrenin slit aralığından geçirilir ve kütle/yük oranına ayarlanmış bir ekranda kütle spektrumu halini alır. Her spektrumda en büyük olan pik temel pik olarak adlandırılır ve bu pik 100 değerine karşılık olarak kabul edilir. Geri kalan piklerin yükseklikleri bu temel pike oranlanarak, temel pikin yüzdesi cinsinden uygun yükseklikte verilir. Modern kütle spektrometreleri temel kabul edilecek piki seçecek ve diğer pikleri bu temel pike göre belirleyecek şekilde programlanırlar [46].

2.7.1 Kütle Spektrometre İyonlaştırma Teknikleri

Bir kütle spektrometrede ilk iş, analitin gaz halindeki iyonlarını elde etmektir bu nedenle çalışılacak analite göre uygun iyonlaştırma kaynağı seçilmelidir. Temel olarak gaz faz kaynakları ve desorpsiyon kaynakları olmak üzere iki iyonlaştırma kaynağı vardır. Gaz faz kaynakları elektron etki iyonlaştırma (EI), kimyasal iyonlaştırma (CI) ve alan iyonlaştırma (FI) dır. Desorpsiyon kaynakları ise alan desorpsiyon (FD), elektrosprey iyonlaştırma (ESI), matriks yardımcı iyonlaştırma (MALDI), plazma desorpsiyonu (PD), hızlı atom bombardımanı (FAB), ikincil iyon kütle spektrometri (SIMS) ve termosprey iyonlaştırma (TS) dır. Gaz faz kaynaklarında numune önce buharlaştırılır sonra iyonlaştırılır. Desorpsiyon kaynaklarında ise katı veya sıvı halindeki bir numune doğrudan gaz iyon haline dönüştürülür. Desorpsiyon iyon kaynağının avantajı uçucu olmayan ve termal olarak kararsız numunelere de uygulanabilmesidir [46].

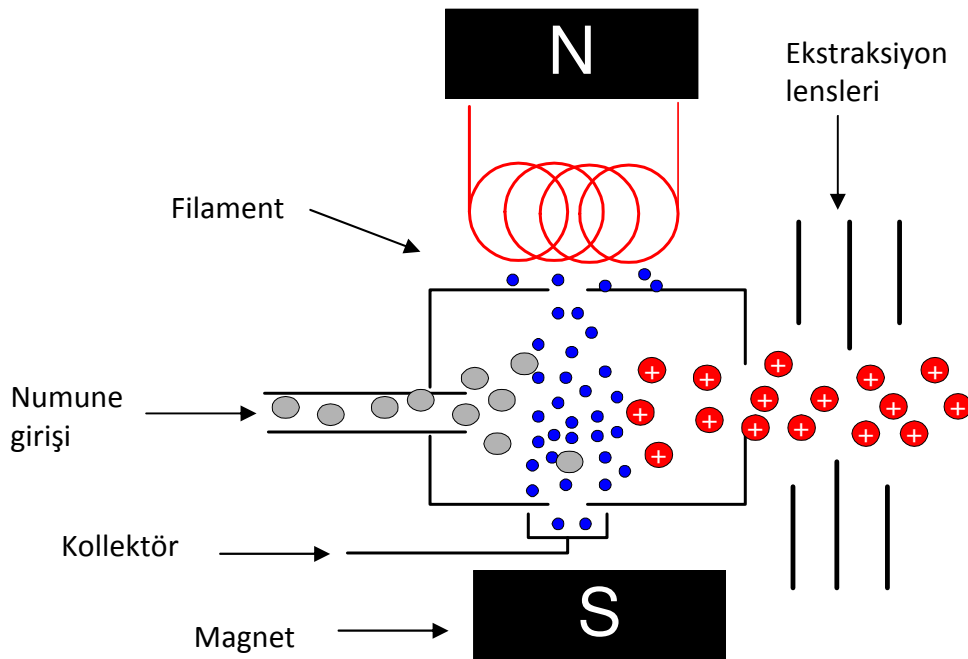
2.7.1.1 Elektron Etki İyonlaştırma (EI)

Kütle analizlerinin ilk örnekleri elektron etki ile ortaya çıkmıştır. Bu teknikte, numune yeterince buharlaşabilecek bir sıcaklığa getirilir ve enerjik elektronlarla bombardıman edilerek iyonlaştırılır. Elektron iyonlaşma tekniğinde Şekil 2.14’de görüldüğü gibi elektronlar ısıtılan bir tungsten veya renyum telden yayılır ve yaklaşık 70V’luk bir potansiyel tarafından tel ve anot arasında hızlandırılır. Şekilde görüldüğü gibi elektronların ve moleküllerin yolları diktir ve yollar, kaynağın merkezinde kesişir ve burada çarpışma ve iyonlaşma olur. Eğer molekülün yüksek enerji seviyesinde bulunan elektronlarını, elektrostatik etkiyle koparabilecek bir enerji aktarımı olursa, ilk ürün tek pozitif yüklü iyonlardır.



Şekil 2.13 EI tekniği ile iyonlaşma

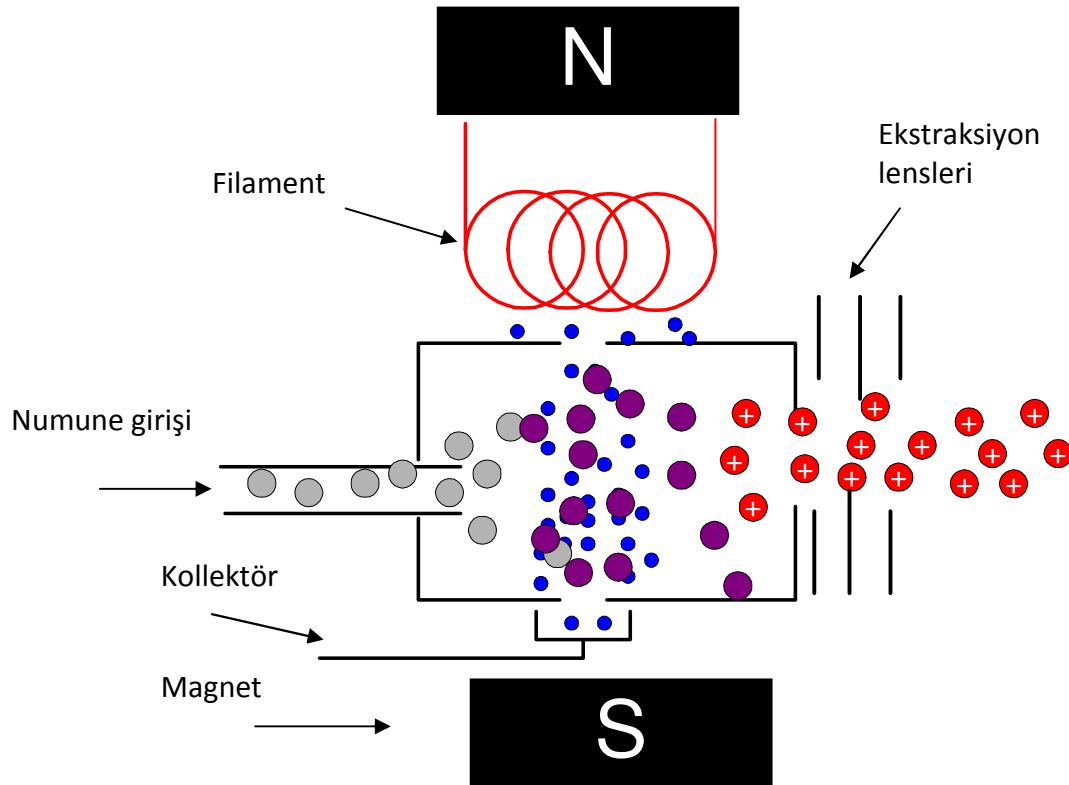
İyonlaşma reaksiyonu Şekil 2.13’deki gibidir. Burada, M analit molekülü ve M^{+} moleküler iyonudur. Elektron etki ile meydana gelmiş pozitif yüklü iyonlar, birinci hızlandırıcı plaka tarafından lens aralığına çekilirler, bu plaka ile diğer parçalar arasında küçük bir potansiyel farkı vardır. Sonuç olarak da bu aralıklardan geçerek kütle analizörüne ulaşırlar [47].



Şekil 2.14 Elektron etki iyonlaştırma

2.7.1.2 Kimyasal İyonlaştırma (CI)

Kimyasal iyonlaştırmada numunenin gaz haline gelmiş atomları elektron bombardımanı ile iyonlaştırılmış çok miktarda başka bir reaktif gazın iyonları ile çarpıştırılır. Bu amaçla genellikle pozitif iyonlar kullanılmaktadır, fakat zaman zaman, analitlerde elektronegativitesi yüksek atomlar varsa, negatif iyonlarla kimyasal iyonlaştırma da kullanılmaktadır.

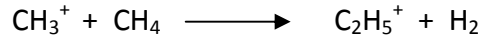
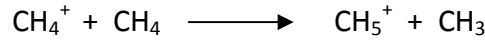


Şekil 2.15 Kimyasal iyonlaştırma

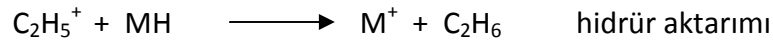
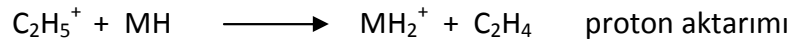
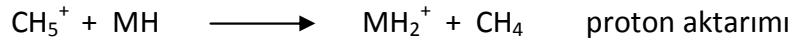
Kimyasal iyonlaştırmada, Şekil 2.15’de görülen elektron demetli iyonlaştıma bölgesi vakum pompası kapasitesi artırılarak kütle analizörüne giden lens aralıkları daraltılarak modifiye edilmiştir. Bu değişikliklerle, iyonlaşma bölgesindeki reaktif basıncı 1 torr’da, analizördeki basınç ise 10^{-5} torr’un altında tutulur. İyonlaşma bölgesinde reaktif gazın numune gaz moleküllerine oranı 10^3 - 10^4 civarındadır. Bu büyük derişim farkından dolayı elektron demeti hemen hemen yalnızca reaktif gaz molekülleriyle etkileşir.

En sık kullanılan reaktif gaz metandır. Metan molekülleri yüksek enerjili elektronlarla etkileşerek CH_4^+ , CH_3^+ , CH_2^+ gibi bazı iyonlar meydana getirirler. İlk iki iyon % 90

civarında meydana gelir. Bu iyonlar hızla diğer metan molekülleriyle reaksiyona girerek aşağıdaki reaksiyonları verirler:



Genel olarak numune molekülü MH ile CH_5^+ veya C_2H_5^+ arasında çarpışmalarda proton veya hidrür aktarımı olur. Örneğin;



Proton aktarımı reaksiyonları $(M+1)^+$ iyonu hidrür aktarım reaksiyonları $(M-1)^+$ iyonu verirler. Bazı bileşiklerde bir C_2H_5^+ iyonunun analite katılmasında $(M+29)^+$ piki gözlenir. Propan, izobütan ve amonyak gibi başka reaktifler de kimyasal iyonlaştırmada kullanılır. İyonlaştırmada kullanılan maddeler bir dereceye kadar analiz edilen maddenin spektrumunu değiştirirler [47].

2.7.1.3 Alan İyonlaştırma (FI)

Alan iyonlaştırma kaynaklarında, iyonlar yüksek elektrik alanının etkisiyle (10^8 V/cm) meydana gelir. Böyle alanları meydana getirmek için çapları 1 μm 'den daha küçük ince uçlardan ibaret, özel şekilde oluşturulmuş yayıcılara yüksek potansiyeller (10-20 kV) uygulanır. Yayıcı olarak çoğu zaman, ince (10 μm) bir tungsten tel üzerinde, yüksek bir elektrik alanda benzonitrili piroliz ederek mikroskopik karbon kılçıkları oluşturmak suretiyle elde edilmiş özel sistem kullanılır. Bu işlemin sonucunda tel yüzeyinden dışa doğru uzanan, binlerce karbon mikrokılçık oluşur.

Alan iyonlaştırmada kullanılan yayıcılar sık sık slit olarak kullanılan ve katottan 0,5-2 mm arasında değişen uzaklıkta bir yere yerleştirilir. Numune probundan gelen gaz halindeki numune, anot etrafındaki karbon mikrokılçıkların civarındaki yüksek alana difüzlenir. Yayıcı mikrokılçıklarının ucunda çok yüksek elektrik alanı yoğunlaşmıştır ve bu uçlarda, tünelleme denilen kuvantum mekaniksel bir mekanizma ile moleküldeki bir elektron, anodun mikrokılçıklarına geçer ve böylece iyonlaşma olur. Bu sırada analite

aktarılan titreşim ve dönme enerjileri çok küçüktür ve bu yüzden çok az parçalanma olur [48].

2.7.1.4 Alan Desorpsiyon (FD)

Alan desorpsiyonunda çok uçlu yayıcı kullanılır. Bu teknikte, numune hücreğine dalıp çıkabilen ve bu prob numune çözeltisiyle kaplı bir prob üzerine elektrot yerleştirilir. Prob numune hücreğine daldırıldıktan sonra, bu elektroda yüksek potansiyel uygulanarak iyonlaşma gerçekleştirilir. Bazı numuneler çalışılırken, yaıcının telden bir akım geçirilerek ısıtılması gerekmektedir. Sonuçta iyonlaşma tamalanmadan önce termal parçalanma olabilir [48].

2.7.1.5 Matriks Yardımlı Desorpsiyon (MALDI)

Bu yöntem, mol kütlesi, birkaç binden birkaç yüzbin Dalton'a kadar olan biyopolimerlerin mol kütlelerini doğru tayin etme kullanılır. Uygun çözücü içerisinde çözülmüş numuneye, ışın absorplayıcı katılarak karıştırılır. Daha sonra çözelti bir metalik probun üzerinde buharlaştırılır. Bu metal prob kütle spektrometreye numune girişini sağlamak için kullanılmaktadır. Katı karışım pulslu bir lazer ışınına maruz bırakılır ve analitin süblimleşerek iyonlaşması sağlanır. Sonra da uçuş zamanlı bir spektrometrede kütle analizi yapılır [49].

2.7.1.6 Elektrosprey İyonlaştırma

Bu teknikte numune çözeltisi, paslanmaz çelikten iğne şeklinde bir kapiler ile dakikada birkaç mikrolitre hız sağlanarak pompalanır. İğneye, etrafındaki silindirik elektroda göre birkaç kilovolt potansiyel uygulanır. Oluşan çok küçük ve elektrik yüklü damlacıklar, daha sonra bir çözücü giderme kapilerinden geçer. Burada çözücü buharlaşır ve elektrik yükleri analit moleküllerine tutunur. Çözücü buharlaşıp damlacıklar küçülürken yük yoğunlukları artar ve iyonlar, gaz fazına desorbe olur.

Elektrosprey işleminin faydalı ve ilginç yönü, büyük ve termal olarak kolayca kırılan biyomoleküllerde çok az parçalanmaya sebep olmasıdır. Bunlardan başka, iyonlar burada oldukça çok yüklenirler ve m/z değerleri yeterince küçülür ve bu yüzden iyonlar 1500 veya daha küçük değerler halinde bir kuadrupol cihazı ile belirlenebilirler.

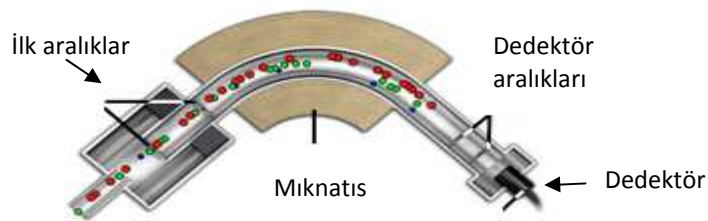
Genel olarak bu teknik polipeptitler, proteinler ve mol kütlesi 100000 Da'dan büyük oligonükleotitler gibi biyomoleküllerin analizi için kullanılırlar [49].

2.7.2 Kütle Spektrometre Analizörleri

Farklı kütle/yük oranlarındaki iyonları ayırabilmek için pek çok cihaz kullanılabilir. İdeal olarak kütle analizörleri küçük kütle farklılıklarını ayırt edebilecek duyarlıkta olmalıdır. Buna ek olarak analizörler, kolayca ölçülebilir iyon akımları elde etmek için yeterli sayıda iyon geçişi sağlayabilmelidir. Bu amaçlar göz önünde bulundurularak farklı türde analizörler geliştirilmiştir [50].

2.7.2.1 Manyetik Sektör Analizörleri

Manyetik sektör analizörlerinde kalıcı mıknatıslar veya elektromıknatıslar kullanılır; bu mıknatıslar iyon kaynağından gelen demete 180, 90 veya 60 derecelik açılarla dairesel hareket yaptırırlar. Şekil 2.16'da bir manyetik sektör analizörü görülmektedir. Burada iyon kaynağı tarafından hızlandırılan iyonlar ilk iki aralığın(slit) ikincisinden geçerken hızlandırılırlar ve metal analizör tüpe ulaşırlar. Bu bölgede iç basınç 10^{-7} torr civarındadır. Mıknatısın sağladığı alan değiştirilerek veya ilk iki aralık (slitler) arasındaki potansiyel farkı ayarlanarak, farklı kütlelerdeki iyonların ikinci aralıktan (slit) geçmesi sağlanabilir; böylece kütle taraması yapılır. Aralıktan geçen iyonlar sektörün sonunda bir toplayıcı [50].

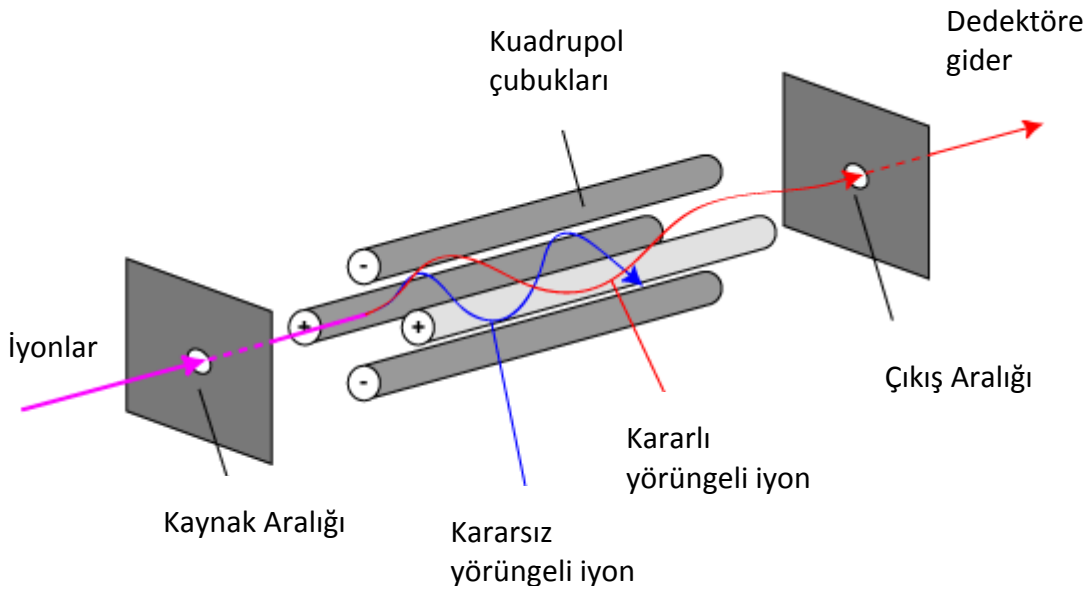


Şekil 2.16 Manyetik sektör analizörü

2.7.2.2 Kuadrupol Analizörü

Kuadrupol kütle analizörünün bulunduğu kütle spektrometreleri, manyetik sektörlü türlere göre daha ucuz ve daha sağlamdır. Kısa tarama süreleri diğer bir avantajdır. Bu analizörde işlem elektrot olarak görev gören dört paralel silindir çubuk üzerinde yapılır

(Şekil 2.17). Karşılıklı çubuklar elektriksel olarak birbirine bağlıdır, bir çift değişebilir doğru akım kaynağının pozitif tarafına, diğer çift ise negatif ucuna bağlanır. İlaveten her çubuk çiftine değişebilir radyo-frekanslı alternatif akım potansiyeli uygulanır. Bu cihazla bir kütle spektrumu elde etmek için, iyonlar çubuklar arasındaki boşluğa 5-10 V'luk bir potansiyelle hızlandırılır. Bu arada çubuklara uygulanan doğru akım ve alternatif akım potansiyelleri, oranları sabit tutularak aynı anda arttırılır. Herhangi bir anda belli bir m/z değerine sahip olanların dışında bütün iyonlar çubuklara çarpar ve nötral moleküllere dönüşür. Sadece sınırlı bir aralıkta m/z değeri taşıyan iyonlar transdüse ulaşır. Tipik olarak, kuadrupol cihazlar kütleleri bir birim farklı iyonları bile kolaylıkla ayırır [51].



Şekil 2.17 Kuadrupol analizör

2.7.2.3 Uçuş Zamanlı Kütle Analizörleri

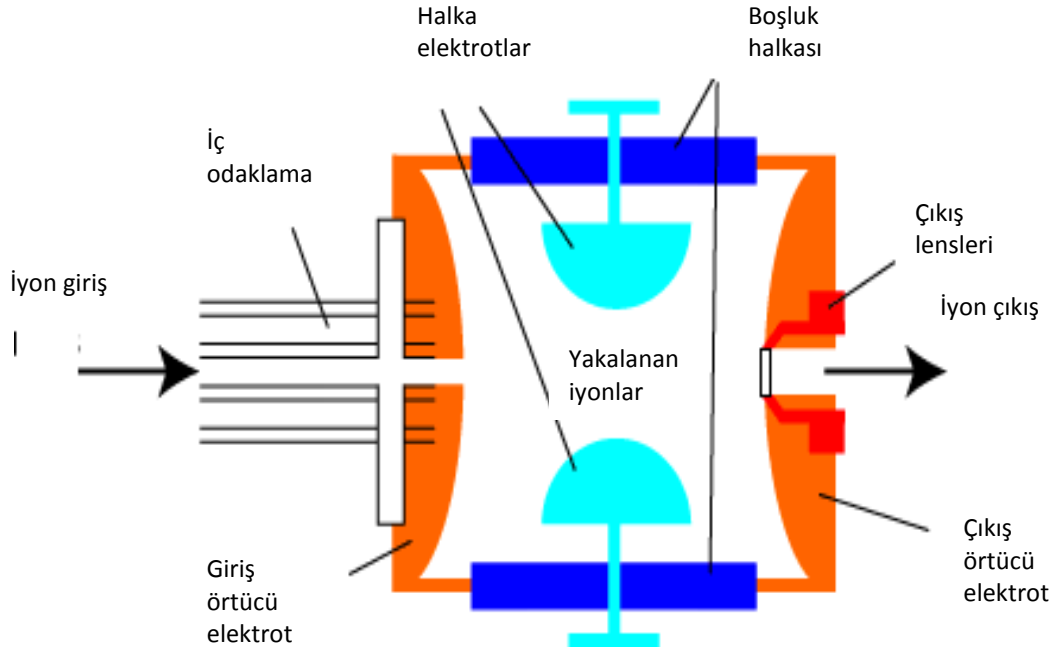
Bu analizörün bulunduğu cihazlarda pozitif iyonlar kısa süreli pulslarla, örneğin elektron, ikincil iyon veya lazer bombardımanlarıyla üretilir. Bu şekilde üretilmiş iyonlar alansız bir toplama tüpüne 10^3 - 10^4 V'luk elektrik alan pulslarıyla hızlandırılarak gönderilirler. Ayırma, tüpün sonunda bulunan dedektöre iyonların ilerlemesi sırasında meydana gelir. Bütün iyonlar, aynı kinetik enerjide olduklarından, hızları kütleleri ile ters orantılı olarak değişir, bu yüzden hafif partiküller dedektöre daha önce ulaşırlar. Tipik olarak bir iyonun uçuş süresi 1-30 μ s arasında değişir.

Uçuş-zamanlı cihazlar, diğer tipteki kütle spektrometrelerine göre, basitlik, sağlamlık, iyon kaynağının kolayca değiştirilebilmesi ve sınırsız kütle aralığı gibi bazı bakımlardan üstündür. Bununla birlikte, sınırlı ayırma gücü ve duyarlılığı gibi dezavantajları vardır [51].

2.7.2.4 İyon Tuzaklı Analizörler

İyon tuzaklı analizörlerde gaz anyon veya katyon oluşturulur ve elektrik ve/veya manyetik alanlar içinde uzunca sürelerle hapsedilir. Şekil 2.18’de görüldüğü gibi bu tip analizör, merkezde oval biçimli bir halka elektrot ve onu alttan ve üstten örten bir çift elektrottan meydana gelmektedir. Örtücü elektrotlar topraklanmış durumda iken, halka elektroda, radyo frekansı ile değişen bir potansiyel uygulanır. Kütle/yük (m/z) oranı uygun olan iyonlar, oval halka elektrodun içindeki bölgede, kararlı bir yörünge çizerek dolaşır. Radyo frekans potansiyeli arttırılınca ağır iyonların yörüngeleri kararlı hale gelirken, hafif iyonların yörüngeleri kararlılık özelliğini kaybeder ve halka duvarına çarpan iyonlar ortamdan uzaklaşır.

Bu sistemin bir kütle spektrometre olarak kullanılması, analit iyonlarının elektron etki veya kimyasal iyonlaştırma kaynağında iyonlaşması ve halkanın üst kısmındaki bir kafesten tutucuya girmesiyle olur. Sonra radyo frekans potansiyeli taranır ve yörüngeleri boşluğa sığmaz hale gelen iyonlar, alttan örten elektrottaki kafesten geçerek boşluğu terk eder. Dışarı çıkmış olan iyonlar bir transdüse giderek tutulurlar [52].



Şekil 2.18 İyon tuzaklı analizör

2.7.3 Kütle Spektrometrinin Kullanıldığı İkili Teknikler

Sıradan bir kütle spektrometre saf bileşiklerin tanınmasında güçlü bir araç olmakla beraber, en basit karışımların analizinde bile farklı m/z değerlerindeki iyonların çokluğu nedeniyle, kullanımı sınırlıdır. Sonuçta ortaya çıkan karmaşık spektrumun yorumu çok zordur. Bu nedenle kütle spektrometre başka ayırma yöntemleriyle birleştirilerek daha hassas ve seçici sistemler oluşturulmuştur. Bunlar gaz veya sıvı kromatografi/kütle spektrometri, kapiler elektroforez/kütle spektrometri veya kütle spektrometre/kütle spektrometre (tandem kütle spektrometre) şeklindedir [53].

2.7.4 Tandem Kütle Spektrometre (MS-MS)

Bu yöntem bir kütle spektrometrenin bir başka kütle spektrometre ile birleştirilmesidir. Bu birleşmede ilk spektrometre, bir karışımdaki farklı bileşiklerin moleküler iyonlarını izole etmede kullanılır. Bu iyonlar daha sonra ikinci kütle spektrometreye gönderilebilirler ve burada, ilk spektrometrede oluşan her bir iyon için ayrı ayrı bir dizi kütle spektrumu vermek üzere parçalanırlar. Bu tekniğin diğer bir adı tandem kütle spektrometre, kısaca MS-MS dir.

Bir tandem cihazında ilk spektrometrede yumuşak bir iyonlaştırma kaynağı (genellikle kimyasal iyonlaştırma) kullanılır, böylelikle birinci cihazdan çıkan iyonlar büyük ölçüde moleküler iyonlar veya protonlanmış molekül iyonlardır. Bu iyonlar, ikinci spektrometreye girdikten sonra ikinci bir iyon kaynağından geçerler. Genellikle bu ikinci iyon kaynağı, içinden helyum pompalanan alansız bir çarpışma haznesi içerir. Hızlı hareket eden ana iyonlarla helyum atomlarının çarpışması sonucu daha küçük iyonik parçalar oluşur. Bu küçük iyonların spektrumu ikinci spektrometre tarafından ortaya çıkarılır. Bu gibi uygulamalarda ilk spektrometre GC/MS ve LC/MS cihazlarında olduğu gibi kromatografi kolonunun yaptığı işi yapar, yani ikinci spektrometre, tek tek tanımak üzere, birinciden gelen bu iyonlardan daha küçük saf iyonik türler üretir.

Kütle spektrometrenin ilk olarak gaz kromatografi daha sonra da sıvı kromatografi ile birleştirilmesi sonucu kompleks organik ve biyolojik karışımların analizinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Tandem kütle spektrometre de GC/MS ve LC/MS ile aynı avantajları sağlamaktadır, ancak bunlardan çok daha hızlıdır. Kromatografik bir kolonda ayırma birkaç dakikadan birkaç saate kadar değişen bir zaman aralığında yapılırken, tandem kütle spektrometre ile yapılan ayırmalar birkaç milisaniyede yapılabilmektedir. Buna ilaveten, kromatografik teknikler numunenin bol miktarda hareketli faz ile seyreltilmesini ve daha sonra hareketli fazın uzaklaştırılmasını gerektirir. Bu durum, bozucu etkileri artırabilir. Oysa tandem kütle spektrometre kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan kimyasal gürültünün daha az olması nedeniyle, diğer iki ikili kromatografik tekniğe oranla daha duyarlıdır. Tandem kütle spektrometrelerinin başlıca sakıncası, diğer iki kromatografik tekniğe göre, daha pahalı cihazlar gerektirmesidir ve bu fiyat farkı da, tandemlerin kullanımını azaltmaktadır.

Bugüne kadar tandem kütle spektrometri doğada ve sanayide karşılaşılan çok çeşitli karmaşık maddelerin bileşenlerinin nicel ve nitel tayini için kullanılmıştır. Bu kullanımlara örnek olarak; bitki alkaloidlerinin, havada kirlilik yapan eser maddelerin, polimer sıralarının, petrokimyasal ürünlerin, poliklorobifenillerin, prostoglandinlerin, dizel egzozlarının ve havadaki koku veren maddelerin tespiti ve tayini verilebilir. Yapılan bu çalışmada da analizlerde GC-MS-MS cihazı kullanılmıştır [54].

2.8 Kimyasal Ölçümlerde Kalite

Kimyasal ölçümler üretim kontrolünde, ürün kalitesini belirlemede, ticari amaçla ürün sınıflandırmada, uluslararası ticarete teknik engellerin aşılmasında, çevre kontrol amacıyla, sağlık ve tıp alanında hastalıkların teşhis ve tedavisinde, adli tıpta suçlu teşhisinde yapılmaktadır. Yapılan kimyasal ölçüm veya analiz sonuçlarına dayanarak kararlar verilmektedir. Kararlar analitik sonuçlara dayalı olduğundan sonucun istenen amaca uygun nitelikte olup olmadığı gibi sonuçların kalitesi ile ilgili bilgileye sahip olmak önemlidir. Bu nedenle, yapılan kimyasal ölçüm sonucunun doğruluğu, güvenilirliği ve karşılaştırılabilirliği büyük önem taşımaktadır.

Kimyasal ölçümlerin kabul görmesi, diğer bir deyişle kalitesinin sağlanması için çeşitli düzenlemeler bulunmaktadır. 1999 yılında Ulusal Metroloji Enstitüleri tarafından imzalanan Karşılıklı Tanınma Anlaşması (Mutual Recognition Agreement, MRA) gereğince, **bir ölçüm sonucunun bir kez ölçüldüğünde her yerde geçerli olması gerekliliği üzerinde fikir birliğine varılmıştır**. Türkiye adına TÜBİTAK UME 14 Ekim 1999'da bu anlaşmaya imza atmıştır. Tüm bu gerekçeler ölçüm sonucunun kalitesinin sağlanması için itici güç olmaktadır. Ölçüm sonuçlarının kalitesinin sağlanması için yapılması kesinlikle gerekli üç işlem vardır. Bunlar metot validasyonu, ölçüm belirsizliği hesabı ve izlenebilirliğin sağlanmasıdır.

2.9 Metot Validasyonu

Metot validasyonu ilk olarak bir teknik gereklilik şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Kimyasal ölçüm yapan ve bu alanda endüstriyel hizmet veren laboratuvarlar yaptıkları ölçümün kaliteli olduğunu ispatlamak için ISO/IEC 17025 standardına göre akredite olmak zorundadırlar. Bu standart "bir laboratuvar, kalite sistemi gereklerini yerine getirdiğini, teknik olarak yeterli olduğunu, geçerli sonuçlar üretebildiğini göstermek zorundadır" şeklinde bir ifade içermektedir. Yine aynı belgede akreditasyon için teknik gereklilikler, kullanılan metodun validasyonu, belirsizlik bütçesi beyanı, Sertifikalı Referans Malzeme (CRM) kullanımı, ölçüm sonuçlarının izlenebilirliğinin gösterilmesi ve karşılaştırmalara katılım şeklinde ifade edilmiştir. Bu teknik gerekliliklerden ilk üçü yani metot validasyonu, ölçüm belirsizliği ve izlenebilirlik, ölçüm kalitesinin kanıtıdır. Validasyon ölçüm yönteminin amaca uygunluğunu, belirsizlik bütçesinin hesaplanması

ölçüm sonucunun istatistiksel olarak doğru ifade edilmesini, izlenebilirlik ise ölçüm sonucunun başka sonuçlar ile karşılaştırılabilmesini sağlar. CRM kullanımı izlenebilirlik zincirinin korunmasında, karşılaştırmalara katılım ise ölçüm sonucunun kontrolünde etkilidir.

Metot validasyonu, ISO/IEC 17025’de; “özel amaçlı bir kullanım için gerekli şartların yerine getirildiğinin inceleme sonucunda teyit edilmesi ve objektif bir delilin elde edilmesi” olarak tanımlanmıştır. Uluslararası metroloji sözlüğünde ise; “belirtilen şartların amaçlanan kullanım için uygunluğunun doğrulanması” olarak tanımlanmıştır [30]. Her iki tanımdan da anlaşılacağı gibi metot validasyonunun amacı bir ölçüm metodu kullanılarak yapılan her ölçüm sonucunun, analitin bilinmeyen içeriğine en yakın değer olmasının garanti altına alınmasıdır. Metodun validasyonu ölçüm sonucuna etki eden parametrelerin tek tek ölçülerek ölçüm sonucuna etkilerinin belirlenmesi ve kanıtlanmasıdır.

Metot validasyonu prosedüründe, doğrusallık, çalışma aralığı, algılama sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), doğruluk, tekrarlanabilirlik ve ara tekrarlanabilirlik gibi birçok parametre incelenmektedir [55].

2.9.1 Doğrusallık ve Çalışma Aralığı

Doğrusal aralık kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu derişim aralığıdır. Bu aralık hesaplanırken en az 5 farklı derişimde en az 3’er defa kalibrasyon çözeltisi hazırlanır ve cihazda en az 3 defa ölçüm yapılarak elde edilen sonuçlarla kalibrasyon grafiğı çizilir. Doğrusal bir kalibrasyon grafiğı elde edildiğı zaman da söz konusu konsantrasyon aralığında doğrusallık elde edilmiş olur.

Çalışma aralığı kalibrasyon grafiğı üzerinde herhangi bir yer olabilir. Genelde doğrusal aralıkta çalışılır, ancak logaritmik de olabilir. Sinyale karşı derişim değışimini gösteren eşitlik bilindiğı sürece kalibrasyon grafiğinin herhangi bir bölgesi olabilir. Doğrusal olmayan bölgelerde eğim azaldığı için duyarlılık düşer [56].

2.9.2 Algılama Sınırı (LOD)

Algılama Sınırı, bir ölçüm metodu ile güvenli bir şekilde algılanabilen en düşük analit derişimidir. Analitin varlığının belirlenebildiği ancak hesaplamaların yapılamadığı miktardır. İfade etmek için LOD kısaltması kullanılır.

Algılama sınırı tespiti farklı şekillerde yapılabilir.

- Gözleme dayalı tespit: Analit derişimi bilinen örneklerin analizi ile ölçülebilir en düşük miktarın belirlenmesidir. Analit derişimi bilinen örnekler analiz edilir ve güvenilir düzeyde ölçülebilen en düşük miktar belirlenir. Genellikle klasik analizlerde tercih edilir. Bu yöntem tecrübe gerektirir. Algılama sınırında analit içeren örnekler kullanarak kalibrasyon eğrisi çizdirilir. Bu eğrinin y eksenini kestiği nokta algılama sınırıdır.
- Sinyal/gürültü oranına dayalı tespit: Kromatografi gibi, zamana bağlı sinyal alınan analizlerde sinyal/gürültü oranının 3 katı alınarak algılama sınırı tespit edilir.
- Standart sapmaya dayalı tespit: Kör örneğin standart sapmasına dayalı tespittir. Eğer kör örnek çok düşük derişimde analit içeriyorsa, kör örnekle yapılan 10 ölçümün standart sapmasının 3 katı alınarak hesaplanır. Kör örnek hiçbir şekilde analit içermiyorsa, kör örneğe algılama sınırına yakın derişimde analit ilave edilerek hazırlanan örnekle yapılan 10 ölçümün standart sapmasının 3 katı alınarak hesap yapılır [57].

2.9.3 Tayin Sınırı (LOQ)

Tayin sınırı bir ölçüm metoduyla kabul edilebilir kesinlikte ve doğrulukta ölçülebilen en düşük analit derişimidir. Aynı zamanda raporlanabilen sınır olarak da bilinir. Tespiti için aşağıdaki yöntemler kullanılır.

- Sinyal/gürültü oranına dayalı tespit: Kromatografi gibi, zamana bağlı sinyal alınan analizlerde sinyal/gürültü oranının 10 katı olması için gerekli derişimdir.
- Standart sapmaya dayalı tespit: Kör örneğin standart sapmasına dayalı tespittir. Eğer kör örnek çok düşük derişimde analit içeriyorsa, kör örnekle yapılan 10 ölçümün standart sapmasının 10 katı alınarak hesaplanır. Kör örnek hiçbir

şekilde analit içermiyorsa, kör örneğe algılama sınırına yakın derişimde analit ilave edilerek hazırlanan örnekle yapılan 10 ölçümün standart sapmasının 10 katı alınarak hesap yapılır [58].

2.9.4 Doğruluk

Ölçüm sonucu ile ölçülen büyüklüğün gerçek değeri arasındaki yakınlık derecesidir. Doğruluk nitel bir kavramdır, rakamsal olarak ifade edilemez. Uluslararası metroloji sözlüğünde “ölçülen büyüklük değeri ile ölçülenin gerçek değeri arasındaki uyuşmanın yakınlığı” olarak tanımlanmıştır [JCGM 200, 2.13]. ISO 5725’e göre doğruluğu tanımlamak için iki terim kullanılır. Gerçek değere yakınlık (gerçeklik, trueness) ve kesinlik (precision).

Gerçeklik, ölçülen değerlerin ortalamasının gerçek değere yakınlığını gösterir. Gerçek değer, bir büyüklüğün tanımına karşılık gelen değerdir. Bir büyüklüğün tanımı ile tutarlı büyüklük değeri olarak da tanımlanabilir [JCGM 200, 2.11]. Ölçüm gerçekliği bir büyüklük değildir ve bu nedenle sayısal olarak ifade edilemez. Ölçüm gerçekliği sistematik ölçüm hatası ile ters ilişkilidir, fakat rastgele ölçüm hatası ile ilişkili değildir. Uluslararası metroloji sözlüğünde “sonsuz sayıda tekrarlanan ölçülen büyüklük değerinin ortalaması ile referans büyüklük değeri arasındaki uyuşmanın yakınlığı” olarak tanımlanmıştır.

Kesinlik ölçülen büyüklük için alınan bağımsız ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Standart sapma (s) veya bağıl standart sapma (%RSD) ile ifade edilir. JCGM 200’de “belirli koşullar altında aynı veya benzer nesneler üzerinde tekrarlanan ölçümler ile elde edilen göstergeler veya ölçülen büyüklük değerleri arasındaki uyuşmanın yakınlığı” olarak tanımlanmıştır [59].

2.9.5 Tekrarlanabilirlik ve Ara Tekrarlanabilirlik

Ölçümün,

- aynı ölçüm prosedürü
- aynı operatör
- aynı ölçüm sistemi

- aynı uygulama koşulları altında
- aynı yerde
- aynı veya benzer nesneler üzerinde

kısa bir zaman aralığında gerçekleştirilmesini sağlayan koşullar tekrarlanabilirlik koşullarıdır. Ölçüm tekrarlanabilirliği bu koşullar altında elde edilen ölçüm kesinliğidir. (JCGM 200, 2.20-21). Tekrarlanabilirlik için analiz yapılırken bu koşullar sağlanmalıdır. Aksi halde başka değişkenler işin içine gireceği için sonuçlar karşılaştırılmaz.

Rutin analizler için farklı gün tekrarlanabilirlikleri kullanılması daha uygundur. Farklı gün tekrarlanabilirliği ara tekrarlanabilirlik olarak isimlendirilir. Ara tekrarlanabilirlik aynı laboratuvar, aynı ve farklı cihazla, aynı veya farklı kişi tarafından farklı günlerde gerçekleştirilerek tespit edilir [60].

2.10 Ölçüm Belirsizliği

Ölçüm belirsizliği, ölçüm sonucu ile birlikte verilen ve belirlenen güvenilirlik seviyesinde ölçüm değerlerinin dağılımını gösteren bir parametredir. Yapılan ölçümlerde ölçüm sonucunun anlamlı olması için ölçüm belirsizliği değeri ile birlikte sunulmalıdır. Belirsizlik değeriyle verilen ölçüm sonucu, diğer ölçüm sonuçlarıyla karşılaştırılabilir ve/veya hedeflenen amaca uygunluğu değerlendirilebilir niteliktedir. 1970 yılına kadar ölçüm sonuçları hata ile ifade edilmekteydi ancak 1970 yılından itibaren ölçüm belirsizliği ifadesi kullanılmaya başlandı [61].

2.10.1 Ölçüm Belirsizliği Bütçesinin Oluşturulması

Ölçüm belirsizliği bütçesi, Uluslararası Metroloji Sözlüğü'nde ölçüm belirsizliğini, bileşenlerini, bunların hesaplanmasını ve kombinasyonlarını içeren beyan olarak tanımlanmaktadır.

Ölçüm belirsizliği bütçesi oluşturulurken aşağıda açıklanan ölçüm belirsizliği hesaplama adımları dikkate alınmalıdır.

- Ölçülen büyüklüğün tanımlanması
- Belirsizlik bileşenlerinin belirlenmesi

- Belirsizlik bileşen değerlerinin hesaplanması
- Bileşik standart ölçüm belirsizliğinin hesaplanması
- Genişletilmiş ölçüm belirsizliğinin hesaplanması
- Ölçülen büyüklüğün hesaplanması
- Ölçülen büyüklüğün genişletilmiş ölçüm belirsizliği ile birlikte raporlanması.

Belirsizlik değerinin hesaplamasında, metodun geçerli kılınması verilerinin kullanıldığı yukarıdan aşağıya (top down) yaklaşımı ve ölçüm modelinin kullanıldığı aşağıdan yukarıya (bottom up) yaklaşımı olmak üzere iki tür yaklaşım bulunmaktadır.

Yukarıdan aşağıya yaklaşımda, metodun geçerli kılınması parametreleri belirlenir ve her bir parametreden kaynaklanan standart ölçüm belirsizlikleri hesaplanır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımında ise, metot ile ilgili tüm detaylar sıralanır ve ölçüm modeli oluşturulur. Uluslararası Metroloji Sözlüğü'nde ölçüm modeli, bir ölçüm içerisinde yer alan bütün büyüklükler arasındaki matematiksel ilişki olarak tanımlanmaktadır. Ölçüm modeli kullanılarak ölçüm sonucunu etkileyebilecek parametreler belirlenir ve her bir parametre için standart ölçüm belirsizliği hesaplanır. Her iki yaklaşımda da bulunan standart ölçüm belirsizlikleri uygun eşitlikler kullanılarak birleştirir ve bileşik standart ölçüm belirsizliği değeri hesaplanır. Bulunan değer kapsam faktörü ile çarpılarak genişletilmiş ölçüm belirsizliği elde edilir. Raporlamada genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri kullanılır.

Yukarıdan aşağıya yaklaşım kullanım kolaylığı, belirsizlik hesaplamalarında derin bir bilgi gerektirmemesi, söz konusu bütün etkileri kapsamı ve gerçekçi belirsizlik değerinin elde edilmesi gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajı ise analiste metot geliştirme aşamasında yardımcı olmamasıdır.

Aşağıdan yukarıya yaklaşım ise metot geliştirme aşamasında yardımcı olur, belirsizlik bütçesine etki eden parametreleri kolayca gösterir, fakat kullanımı tecrübe gerektirir, ölçüleni tanımlama zorluğu yaşatır, ölçüm modelini yazma zorluğu vardır, çoğu zaman matriksten analiti ayırmak zor olduğundan ve örnekteki diğer bileşenlerden kaynaklanan girişimlerden dolayı belirsizlik katkıları kolayca hesaplanamaz ve örneğin homojenliğinden kaynaklanan sorunlar gözlenemez [62].

Yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımında A tipi ve B tipi olmak üzere iki çeşit hesaplama yöntemi mevcuttur. Uluslararası Metroloji Sözlüğü'nde A tipi ölçüm belirsizliği hesabı, belirli ölçüm koşulları altında elde edilen ölçülen büyüklük değerlerinin istatistiksel analizi ile ölçüm belirsizliği bileşeninin hesaplanması olarak tanımlanırken; B tipi ölçüm belirsizliği hesabı, A tipi ölçüm belirsizliği hesabı dışında kalan yöntemler ile ölçüm belirsizliği bileşenlerinin hesaplanması olarak tanımlanmaktadır. Başka bir deyişle, A tipi hesaplama yöntemi, elde edilen ölçüm sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi iken B tipi hesaplama yöntemi, ölçüm belirsizliğini etkileyebilecek diğer kaynakların belirsizlik değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesidir. B tipi hesaplama yöntemindeki veriler, daha önceden gerçekleştirilen ölçümlerden elde edilen veriler, daha önce gerçekleştirilen metot geçerli kılma çalışmaları sonuçları, ilgili malzemeler ve kullanılan cihazlar konusundaki deneyim ve önceden edinilmiş bilgiler, üretici firmanın kalibrasyon sonuçları (tartımda kullanılan terazinin, hacim ölçümünde kullanılan hacim kaplarının sertifikalarındaki belirsizlik değerleri gibi), sertifikalı referans malzemelerin sertifikalarda bulunan belirsizlik değerleri ve el kitaplarından alınan referans verilere ilişkin belirsizlik değerleridir [62].

İstatistiksel değerlendirmelerde farklı dağılım kabulleri olmakla birlikte kimyasal ölçümlerde genellikle A tipi hesaplama yönteminde normal dağılım, B tipi hesaplama yönteminde normal, dikdörtgen ve üçgen dağılım kabulleri yapılmaktadır. Kimyasal ölçümlerde genelde cam malzemeler için tekrarlanabilirlik çalışmalarında sonuçlar tek bir değer etrafında yakın dağılım göstereceğinden üçgen dağılım kabulü yapılmaktadır. Şüphe duyulan durumlarda ise dikdörtgen dağılım kabulü yapılmaktadır.

A tipi ve B tipi hesaplama yöntemleri dikkate alınarak elde edilen standart ölçüm belirsizlikleri Eşitlik 2.1 ve 2.2'de bileşik standart ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında kullanılmaktadır:

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \dots} \quad (2.1)$$

$$u_c(y) = \sqrt{(u(p))^2 + (u(q))^2 + \dots} \quad (2.2)$$

y: ölçüm sonucu

p: p belirsizlik kaynağına ait ortalama değer

q: q belirsizlik kaynağına ait ortalama değer

$u_c(y)$: y ölçüm sonucuna ait standart ölçüm belirsizliği

$u_c(p)$: p ölçüm sonucuna ait standart ölçüm belirsizliği

$u_c(q)$: q ölçüm sonucuna ait standart ölçüm belirsizliği

Daha sonra Eşitlik 2.3'deki gibi bileşik standart ölçüm belirsizliği k, kapsam faktörü, ile çarpılarak genişletilmiş ölçüm belirsizliği hesaplanır. Raporlamada genişletilmiş ölçüm belirsizliği kullanıldığı için bu değer elde edilmesi gereklidir [63].

$$U = k \times u(y) \quad (2.3)$$

%95,5 ve %99,7 güven aralığı için k sırasıyla 2 ve 3 tür.

2.10.2 Belirsizlik Kaynakları

Genel olarak belirsizlik, örnekleme, depolama koşulları, ölçüm cihazları, çözücü saflıkları, varsayılan stokiyometri, ölçüm ve ortam koşulları, örnek etkileri, hesaplama kaynakları, blank (kör örnek) düzeltmeleri, analist (operatör) ve rastgele etkiler gibi kaynaklardan oluşur. Fakat özelleştirme yapılırsa, aşağıdan yukarıya yaklaşımında örnek alma, örnek hazırlama (saflık, tartım, çözme, seyreltme, sıcaklık gibi), tekrarlanabilirlik, kalibrasyon eğrisi ve geri kazanım gibi belirsizlik kaynakları vardır. Bu kaynakların ölçüm modeline bağlı olarak birkaçı veya hepsi belirsizlik hesabı içerisinde olabilmektedir.

Aşağıdan yukarı yaklaşımda örnek hazırlama aşamasında yapılan tartım işleminden kaynaklanan standart ölçüm belirsizliğini hesaplamak için iki parametre göz önünde bulundurulur. Bunlardan biri terazinin kullanımına bağlı tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik, diğeri ise terazinin kalibrasyonundan gelen belirsizliktir. Kalibrasyondan gelen belirsizlik üretici firma tarafından verilen terazi sertifikasından elde edilir, tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik ise en az 10 seri tartım sonuçlarının standart sapması alınarak hesaplanır. Tartım ölçümüne bağlı standart ölçüm belirsizliği bu iki parametrenin Eşitlik 2.2 kullanılarak birleştirilmesiyle elde edilir. Yine metot içerisinde yapılan hacimsel ölçümlerden kaynaklanan belirsizlik değeri hesaplanmak istendiğinde üç parametre göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar ölçümün tekrarlanabilirliğinden,

hacimsel kabın kalibrasyonundan ve hacimsel ölçüm üzerinde etkili olan sıcaklıktan kaynaklanan ölçüm belirsizlikleridir. Kalibrasyondan gelen belirsizlik tartımda olduğu gibi burada da hacimsel kabın üretici firması tarafından verilen ürün sertifikasında bulunmaktadır. Tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik en az 10 seri hacimsel ölçümün yapılıp elde edilen sonuçların standart sapması alınarak hesaplanmaktadır. Tabi buradaki hacimsel ölçüm hacimsel kabın doldurulup terazi ile tartılmasıyla gerçekleştirilir. Sıcaklıktan gelen standart ölçüm belirsizliği ise laboratuvar sıcaklık değişimi, ölçülen hacim ve kullanılan çözünün 20 °C deki hacimsel genleşme katsayısının çarpılıp dağılım faktörüne bölünmesiyle elde edilir. Dağılım faktörü için tecrübelerle dayalı kabul yapılır. Normal dağılımda katsayı 2, dikdörtgen dağılımda $\sqrt{3}$, üçgen dağılımda ise $\sqrt{6}$ dır. Yine tartım işleminde olduğu gibi hacimsel ölçüm için de bu üç parametreye ait standart ölçüm belirsizlikleri Eşitlik 2.2 kullanılarak birleştirilir ve hacim ölçümüne ait belirsizlik değeri elde edilmiş olur. Diğer taraftan eğer kullanılan metotta kalibrasyon grafiği oluşturuluyorsa buna ait standart ölçüm belirsizlik değerinin hesaplanması gerekir. Bu değer Eşitlik 2.4 ile hesaplanır.

$$u(C_o) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_o - C_{ortalama})^2}{S_{xx}}} \quad (2.4)$$

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (C_i - C_{ortalama})^2 \quad (2.5)$$

$u(C_o)$: kalibrasyon grafiğine ait standart ölçüm belirsizliği

S: artık standart sapma

B1: grafikteki eğim

p: metotta yapılan pararel ölçüm sayısı

n: kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanma sayısı

C_o : kalibrasyon grafiği kullanılarak tayin edilen örnek derişimi

$C_{ortalama}$: hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyonlarının ortalaması

Bir analitiksel metotta ekstraksiyon, saflaştırma gibi örnek hazırlama aşamaları var ise bu kısımlardan gelen belirsizliği değerlendirmek için geri kazanımdan gelen belirsizliği

değerlendirmek gerekir. Bu değerlendirme için sertifikalı referans madde kullanılır ve belli tekrarda metot uygulanarak değerlendirme yapılır. Tekrarlı analizler sonucunda bulunan değerlerin ortalaması alınarak ölçüm sonucu belirlenir. Bu analizlere ait standart ölçüm belirsizliği de elde edilen sonuçların standart sapması alınıp yapılan paralel ölçüm sayısının kareköküne bölünerek hesaplanır. Diğer taraftan sertifikalı referans maddenin sertifikasında ölçülene atfetilen değer ve belirsizlik değeri mevcuttur. Tüm bu değerler Eşitlik 2.6'ya göre birleştirilerek geri kazanım değerlendirilmesine ait standart ölçüm belirsizliği hesaplanır.

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left(\frac{u(C_{göz})}{C_{göz}}\right)^2 + \left(\frac{u(C_{gerçek})}{C_{gerçek}}\right)^2} \quad (2.6)$$

$$R_m = \frac{\overline{C_{göz}}}{C_{gerçek}} \quad (2.7)$$

$u(C_{göz})$: Tekrarlı ölçümler sonucu elde edilen standart ölçüm belirsizliği

$u(C_{gerçek})$: Sertifikalı referans maddenin sertifikasındaki standart ölçüm belirsizliği

$C_{göz}$: Tekrarlı ölçümler sonucu elde edilen ortalama değer

$C_{gerçek}$: Sertifikalı referans maddenin sertifikasındaki ölçülene ait değer

R_m : Ortalamanın geri kazanımı

Yukarıdan aşağıya yaklaşımında ise, genel olarak belirsizlik kaynakları örnekleme, ön işlemler, metot biası, koşullardaki değişim ve örnek matriksindeki değişim şeklindedir. Bu kaynaklar tekrarlanabilirlik, ara tekrarlanabilirlik, geri kazanım, doğrusal aralık ve gerçeklik gibi detaylandırılabilir. Bu kaynakların ölçüm prosedürüne ve metot validasyonundaki parametrelere bağlı olarak birkaçı veya hepsi olabilmektedir [63].

2.11 İzlenebilirlik

Yapılan bir kimyasal ölçümün güvenilir olabilmesi için geçerli analitiksel sonuçlara sahip olması gerekir. Diğer taraftan, ölçümlerin geçerliliğinin sağlanabilmesi için de elde

edilen sonuçların gerek ulusal gerekse uluslararası farklı laboratuvarlarda yapılan ölçüm sonuçlarıyla karşılaştırılabilir olması gerekir. Böyle bir durumun sağlanabilmesi, bütün laboratuvarların aynı ölçüm derecesini veya referans noktasını kullanmasıyla mümkün olur. Birçok durumda bu karşılaştırılabilirlik birincil ulusal veya uluslararası standartlara diğer bir ifadeyle Uluslararası Birim Sistemi (SI) ne ulaşan bir kalibrasyon zinciri kurarak gerçekleştirilir. Kalibrasyon, standardın cihazla yapılan ölçüm sonucu ile standardın gerçek değeri arasındaki ilişki kurma işlemidir. Bu açıklamaya örnek olarak analitiksel terazilerin kalibrasyonu verilebilir. Her bir terazi ulusal standartlara veya birincil kilograma göre kontrol edilmiş referans ağırlıklarca kalibre edilmelidir.

Yapılan açıklamalarla ilişkili olarak izlenebilirlik, bir ölçüm sonucunun her biri ölçüm belirsizliğine katkıda bulunan kalibrasyonlardan oluşan belgelendirilmiş kesintisiz bir zincir aracılığı ile belirli bir referansa ilişkilendirilebilme özelliği şeklinde tanımlanmaktadır [64].

2.12 İzlenebilirliği Sağlama Adımları

İzlenebilirliği oluşturmak için;

- Ölçülenin, ölçüm kapsamının ve istenilen belirsizliğin tanımlanması
- Uygun hesaplama ve ölçüm şartlarını içeren metodun belirlenmesi
- Metot validasyonu yaparak sonucu etkileyen bütün parametreleri ve ölçüm şartlarının belirlenmesi
- Her etkili parametrenin bağıl öneminin tanımlanması
- Uygun referans standartların seçilmesi ve kullanılması
- Belirsizliğin belirlenmesi

adımları eksiksiz olarak takip edilmelidir. Tüm bu adımlar tam olarak takip edilirse kimyasal ölçüme ait izlenebilirlik sağlanmış olur [64].

2.12.1 Ölçülenin ve İstenilen Belirsizliğin Tanımlanması

Anlamli bir ölçüm yapılmak isteniliyorsa, öncelikle ölçülen tam olarak tanımlanmalıdır. Ölçülenin tarifi doğru kelimeler kullanılarak yapılabilir fakat üzerinde dikkatle

durulması ve incelenmesi gereken, analitin türü, uygulanan ölçüm koşulları, geri kazanım düzeltmesi ve metodun özellikleri gibi unsurlar da vardır.

Analitin türü doğru belirlenmelidir çünkü buna bağlı olarak alınması gereken önlemlerin şekli değişecektir. Örneğin element tayini yapılacak ise ortamda ölçümü etkileyecek diğer element türlerinin, izotoplarının varlığı dikkate alınıp gerekli önlemler alınmalıdır. Sıcaklık, nem veya basınç gibi ölçüm koşulları yapılacak kimyasal ölçüm üzerinde etkili olabilir. Bu nedenle ölçülenin belirlenmesinin yanı sıra bir kimyasal ölçüm yaparken bu tür koşulların da göz önünde bulundurulması gerekir. Diğer taraftan yapılan ölçümde elde edilen geri kazanım % 100 den anlamlı bir biçimde farklı ise elde edilen ölçüm sonucu üzerinde geri kazanım düzeltmesi yapılır. Bu düzeltmeyi yapmak için bir takım hesaplamalar gerçekleştirilir. Bu hesaplamaların yapılması, yeni izlenebilirlik unsurlarının incelenmesini gerektirir. Kimyasal ölçüme başlamadan önce tanımlanması gereken bir diğer madde de kullanılması öngörülen metot koşullarıdır. Bu koşullara bağlı olarak izlenebilirliği sağlamak için gerekli araçlar belirlenir.

Hedef ölçüm belirsizliğinin belirlenmesi yapılması gereken ilk adımlardan bir diğeridir. Ölçüm belirsizliği hedefi belirlemek, geliştirilecek olan metodun istenilen performansta olup olmadığını tespit etmeye yarar. Ölçüm belirsizliği ile ilgili bir hedef belirlendiğinde, metotta izlenebilirliği sağlamak için kullanılacak olan standardın belirsizlik değerinin metodun belirsizliğinden düşük olması gerekliliğine dikkat edilmelidir. Böyle bir durumda da metoda ait düşük bir belirsizlik elde edilmek istendiğinde, belirsizlik değeri düşük olan bir standart madde seçilmelidir [65].

2.12.2 Uygun Metodun Seçilmesi

Ölçülen uygun bir biçimde belirlendikten ve anlaşıldıktan sonra isteği karşılayan ölçüm metodu seçilmeli veya geliştirilmelidir. Metot seçilirken, gereksinimler, maliyet, farklı metotlardan elde edilen tecrübeler, gerekli cihazların elde edilebilirliği ve kritik basamaklar göz önünde bulundurulmalıdır.

Uygun metot parametreleri seçildikten sonra izlenebilirliği devam ettirmek için validasyon işlemi yapılmalıdır [65].

2.12.3 Metot Validasyonu

Metot validasyonu işleminin içeriği önceki kısımlarda ayrıntılı bir biçimde verildiği için burada kısaca değinilecektir. İzlenebilirliğin sağlanması için validasyon işlemi aşağıdaki işlemler yapılmalıdır.

- Metoden ilgililenen türleri diğerlerinden ayırabildiğinden emin olmak için seçiciliği ve özgüllüğü değerlendirilmelidir.
- Bağımsız olarak elde edilen izlenebilir değer ile metoden uygulanmasıyla elde edilen değer arasında anlamlı bir fark olmadığını ispatlamak için sertifikalı referans madde kullanılmalıdır.
- Özel fakat metoden üzerinde kısmen etkili olan parametreler mantıksal bir biçimde incelenmelidir.
- Ölçümler sırasında beklenmeyen bir etkinin oluşmaması için belli aralıklarda metot tekrar uygulanarak metoden kesinliği belirlenmelidir.
- Ölçüm sonuçlarının lineer olduğu çalışma aralığı belirlenmelidir.

Analiz eden kişiler veya farklı laboratuvarlar arasında farklı metotlarla karşılaştırmalar da yapılabilir.

Validasyon çalışmalarında önemli olan diğer bir unsur da kendisi izlenebilir olan, metodu kontrol, kalibre ve test etmek için kullanılan referanslardır.

Validasyon izlenebilirliğin sağlanması için olmazsa olmaz bir işlemdir. Standart bir metot kullanılsa bile kendi sistemimize adapte ettiğimizde yine gerekli validasyon aşamaları yapılmalıdır [66].

2.12.4 Farklı Etkili Parametrelerin Önemi

Uygun kontrol ve kalibrasyon için ölçüm üzerinde etkili olan parametrelerin bağıl öneminin belirlenmesi gereklidir. Metoden uygulanışı sırasında bazı şartların kontrolü daha iyi yapılabilse de bazılarının kontrolü güçtür ki kontrolü daha iyi yapılan şartlar bile kimi zaman istenilenin dışına çıkabilir. Bu aşamada yapılması gereken işlem metoden şartlarında belirli değişiklikler yaparak etkilerini tespit etmektir. Böylece metoden sağlamlılığı belirlenmiş olur [66].

2.12.5 Uygun Referans Standartların Seçilmesi ve Kullanılması

Ölçüm eşitliğinde kullanılan bütün değerlerin uygun bir referansa izlenebilir olduğundan emin olmak için, cihazların ölçümüyle ilgili kalibrasyon prosedürlerinin oluşturulması veya bazı değerlerin kontrol altında tutulması, sertifikalandırma veya ölçümde kullanılan bütün referansların kontrolünün yapılması gereklidir. Valide edilmiş bir metot ve yapılan kalibrasyon, izlenebilirliğin en önemli noktalarıdır.

Normalde kalibrasyonda kullanılacak malzeme ve sertifikalı referans standartlar her zaman mevcut olmayabilir, fakat ölçüm standartları doğru seçilerek uygun bir kontrol sağlamak gereklidir. Özel kimyasal ölçümler için farklı türde ölçüm standartları mevcuttur ve bunların kullanımları için birçok farklı durum vardır [67]. Göz önünde bulundurabilecek referanslar:

- Analitiksel iş sırasında yapılan fiziksel ölçümler
- Malzemenin yapısının belirlenmesi
- Sertifikalı referans malzemelerle kalibrasyon
- Diğer türde malzemelerle kalibrasyon
- Referans metot kullanarak kalibrasyon
- Metot geliştirme, validasyon ve doğrulama

2.12.5.1 Fiziksel Ölçümler

Analitiksel çalışmalarda bir dizi fiziksel ölçüm yapılmaktadır. Ancak fiziksel ölçüm cihazlarının uygun bir biçimde kalibrasyonu ve bu işlem için uygun standartların varlığı bu açıdan doğacak sorunları geniş oranda bertaraf etmektedir. İzlenebilirliği sağlamak için kütle, hacim, uzunluk, sıcaklık, zaman ve elektriksel ölçümler gibi fiziksel ölçümleri yapan cihazları kalibre etmek için düşük belirsizlik değeri olan uygun referans standartlar seçilmeli ve kullanılmalıdır.

Kalibrasyon işlemi üçüncü şahıslar tarafından yapılıyorsa, bu taraf kalibrasyona ait sertifikalandırılmış değeri ve değere ait ölçüm belirsizliğini sunmalıdır. Ayrıca ölçümü yapan laboratuvar bu değer devamlılığını kontrol etmelidir [67].

2.12.5.2 Malzemenin Yapısının Belirlenmesi

Birçok analitiksel ölçümde, maddenin yapısı güvenilir bir referans örnek veya verilerle doğrulanmalıdır. Sertifikalı saf malzemeler bu doğrulama işleminde sıklıkla kullanılan araçlardır. Referans veri ile karşılaştırma durumunda ise, referans verinin ölçümün gerçekleştirildiği laboratuvar koşullarında elde edilmiş olması gerekir. Referans veri uygun referanslara izlenebilir olduğu için, yapılan ölçüm sonucu da karşılaştırılabilir nitelikte olacaktır.

Maddenin yapısı yaygın olarak kabul edilen bilgiler kullanılarak da tanımlanabilir. Örneğin, asetik asit ile etanol reaksiyona girdiğinde etil asetatın oluşması beklenen bir sonuçtur. Diğer taraftan elemental yapı, moleküler ağırlık veya belli fonksiyonel grupların bulunması gibi temel özelliklerin ölçümü de maddenin tanımlanmasını sağlayan farklı araçlardır [68].

2.12.5.3 Sertifikalı Referans Malzemelerle Kalibrasyon

Referans malzeme (RM), nominal özelliklerin incelenmesinde veya bir ölçüm sürecinde istenilen, kullanıma uygun olduğu tespit edilmiş, belirli özelliklerle yeterince homojenlik ve kararlılık sağlayan bir malzeme şeklinde tanımlanmaktadır. Sertifikalı referans malzeme (CRM) ise yetkili merci tarafından belgelendirilmiş referans malzemedir. Bu belgedeki malzemenin değeri geçerli kılınmış bir metotla belirlenerek belirsizlik değeri ve izlenebilirliğiyle birlikte verilmektedir [38].

Birçok durumda bu tür sertifikalı kimyasal referans standartların veya kalibrasyon çözümlerinin alınması mümkün, maliyet ve kullanım açısından da uygundur. Bu standartlardaki değerler ulusal veya uluslararası standartlara izlenebilir olduğu ve dolayısıyla güvenilir oldukları için, sertifikalı referans malzemelerin kullanımları mümkün oldukça tavsiye edilmektedir.

Bazı durumlarda, örneğin alaşımların XRF ile analizi, kalibrasyon için matriks sertifikalı referans malzeme kullanmak uygundur. Bu gibi durumlarda sonuç kesinlikle referans malzemenin değerine izlenebilir. Fakat maliyetin fazla olması ve doğru matriks uyumunun yakalanmasının zor olması sebebiyle matriks sertifikalı referans malzemeler ile kalibrasyonun gerçekleştirilmesi önerilmemektedir [68].

2.12.5.4 Diğer Türde Malzemelerle Kalibrasyon

Birçok durumda ölçülen, kimyasal madde miktarıdır. Bu bir element veya molekül olabilir. Kimyacılar uzun yıllardır bu tür maddeleri ayırtırmaya ve saflaştırmaya çalışmışlardır veya referans standart olarak kullanılabilecek yeterli miktarda saf malzeme bulma yoluna gitmişlerdir. Saf malzemeler kullanılarak gerçekleştirilen kalibrasyon ile yapılan ölçüm izlenebilirliği sağlamış olur. Saflığın belirlenmesi uygun tekniklerle büyük emek harcanarak gerçekleştirilir. Bu tür proseslerin güvenilirliği uzun deneyimler ve gerekli kimyasal işlemi doğru bir biçimde değerlendirecek profesyonel incelemelerle belirlenebilir. Belirsizlik ile birlikte sunulan izlenebilir değerler olmadığı müddetçe, kalibrasyon için kullanılan malzemenin yeterince saf olup olmadığı tecrübeye dayalı değerlendirmeler ile belirlenebilir. Böyle bir durumda laboratuvarlar çok dikkatli olmalıdır ve eğer mevcutsa uygun testlerle sertifikalandırılmamış malzemenin saflığını kontrol etmelidirler.

Saf malzemelerin hazırlanması ise hem pahalıdır hem de yüksek analitik bilgi gerektirir. Yine de bazı durumlarda laboratuvar şartlarında saf malzeme sentezlemekten başka yol olmayabilir. Böyle bir durumda sentezlenen maddenin erime noktası ve diğer termal özellikleri, spektroskopik analizleri, nem içeriği, metal olmayan safsızlıkları, inorganik içeriği, elemental mikroanalizi, kromatografik incelemesi ve diğer olabilecek safsızlıklara ilişkin incelemelerin yapılması ve tespit edilmesi gerekir.

Diğer taraftan saf malzeme mevcut olsa bile, düşük konsantrasyon seviyelerinde yapılan analiz, materyalin düşük konsantrasyon seviyelerinde hazırlanmış çözeltilerine ihtiyaç duyacaktır ve düşük konsantrasyonda hazırlanan çözeltinin analit içeriği ve saflığı bulunduğu kabın yüzeyine adsorbe olma, dış kirlilikler, oksidasyon gibi durumlardan etkilenecektir. Malzemenin saflığını korumak için bu gibi etkileri kontrol altında tutmak gerekir.

Bunların dışında kalibrasyon için kullanılabilecek farklı malzemeler ve formülasyonlar vardır örneğin, karışık element kalibrasyon çözeltileri, alaşımlar ve özenle karakterize edilmiş yeni ilaç referans malzemeleri. Bu malzemelerin izlenebilirliğini kanıtlayan belge yoksa, laboratuvarlar malzemelerin kendi amaçlarına uygun olup olmadığını kanıtlamak ile yükümlüdürler [68].

Kalibrasyon malzemelerinin saflığını tayin etmek için çeşitli analitiksel yöntemler vardır.

2.12.5.5 Primer Kalibrantların Saflığının Belirlenmesi

Analitiksel bir metot geliştirilirken kullanılan standart malzemelerin saflığının belirlenmesi, yapılan ölçümün izlenebilirliğini sağlamak için kullanılabilecek diğer bir yoldur. Saf malzeme, birincil bileşen (PC) ile safsızlık bileşenleri (IC) kümesinin toplamı olarak düşünülebilir. Saflık tayininde birincil bileşenin kimliğini belirlemek temel iştir. Birincil bileşenin kimliğini tayin etmek için uygun olan tüm valide edilmiş teknikler göz önünde bulundurulmalıdır.

Bir malzemenin fiziksel özellikleri tam olarak biliniyorsa, erime noktası gibi, bir veya daha fazla karakteristik özelliğin tayini yeterli olacaktır. Daha ayrıntılı incelemeler gerektiğinde yüksek çözünürlüklü kromatografi, nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR), kütle spektrometri (MS) ve moleküler spektroskopisi (UV-VIS, IR ve Raman) gibi teknikler kullanılabilir. Aynı şekilde önemli safsızlık bileşenleri de valide edilmiş tekniklerle belirlenmelidir. Organik safsızlık bileşenleri için gaz kromatografi-alev iyonlaştırma dedektörü (GC-FID) veya gaz kromatografi kütle spektrometri (GC-MS) ve LC-UV ve kütle spektrometri (LC-MS) gib teknikler kullanılırken, inorganik safsızlık bileşenleri için X-ray spektrometre, indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometri (ICP-OES) veya indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometre (ICP-MS), nötron aktivasyon analizi (NAA) ve su tayini için Karl Fischer teknikleri kullanılabilir [69].

2.12.5.5.1 Gravimetri

Gravimetri, bir maddenin kimyasal olarak ilgili olduğu diğer bir saf maddeye dönüştürülmesine dayanan nicel tayin yöntemidir. Bu teknik gravimetrik olarak çözelti hazırlama, titrantın hacim yerine kütle ile ölçüldüğü gravimetrik titrasyon veya sıcaklığın bir fonksiyonu olarak kütle kaybının incelendiği termogravimetrik analizle karıştırılmamalıdır.

Gravimetri doğru tartıma ve madde transferine bağlı olduğu için organik bileşikler üzerinde uygulanan gravimetrik tekniklerde on miligramdan gramlara varan miktarda madde harcanabilir. Ayrıca çökeltinin kütlesine göre %0,1 daha düşük değerlerde bağlı standart belirsizlikler elde edilebilir [70].

Temel gravimetrik prensipler çok özel reaksiyonlara bağılıdır fakat bazı organik bileşikler bu reaksiyonlar olmadan da gravimetrik olarak belirlenebilir. Özel fonksiyonel gruplara veya heteroatomlara sahip olan birincil bileşenler gravimetrik analiz için şekil değiştirmeye yatkın olabilirler, örnek olarak sülfür içeren bir maddenin oksidasyona uğrayarak SO_3 gibi inorganik oksitlere dönüşmesi, uygun bir çözücü içerisinde baryum kloridin aşırısı ile çöktürülmesi ve oluşan baryum sülfatın gravimetrik olarak belirlenmesi verilebilir. Bununla birlikte bu tür dönüşümler seçici değildir, örneğin verilen örnekte madde içerisinde bulunan sülfür içeren tüm bileşikler sonuçta sülfat olarak ölçülecektir.

Gravimetrik ölçümlerin sonuçları tartım sistemi kullandığı için kütle kalibrasyonu üzerinden ilerleyen bir izlenebilirliğe sahiptir ve ayrıca gerçekleşen dönüşümler çözünmeyen reaksiyon ürünü için bilinen, kabul edilmiş bir sitokiyometri sunmaktadır. Bunun yanı sıra, bazı kimyasal dönüşümler seçici ve tamdır. Safsızlık bileşenlerinin tanımlanması ne kadar gerekliyse, aynı şekilde temel kimyasal dönüşüm, tam olarak gerçekleşmeyen çökelme, birlikte çökelme, buharlaşma ve filtreleme kayıpları da belirlenmelidir. Sonuç olarak, en temel durumda, gravimetrik metotlar organik saflığın izlenebilir olarak belirlenmesi için pratik araçlardır [71].

2.12.5.5.2 Titrimeri

Titrimetrik yöntemler, derişimi bilinen bir çözeltilinin analit ile reaksiyona giren miktarının ölçümüne dayanan, uygulama alanı çok geniş etkili nicel analiz yöntemleridir. Kimyasal açıdan farklı sınıflarda olan bir çok titrimetrik metot, her bir sınıfın içerisinde de sayısız özel teknik vardır. Kulometrik titrasyon ölçülenin yük transferinin gerçekleştiği reaksiyon üzerinden, gravimetrik titrasyon ise kimyasal titrantın kütlesi üzerinden birincil bileşenin miktarını belirler. Bunlara ilaveten volumetrik titrasyon ise titrantın hacmi üzerinden birincil bileşenin miktarını belirler [72].

Titrimetrik teknikler reaktantın doğru bir biçimde ölçümüne dayalı olduğu için miligram veya gram ölçüsünde madde miktarına ihtiyaç duyar. Kullanılan örnek bozulduğu için bir başka işlemde kullanılamaz. Elde edilebilen en düşük bağıl ölçüm belirsizliği % 0,01 dir ve metot herhangi bir birincil bileşen için valide edilebilir [73].

Elektrokimyasal veya kimyasal fonksiyonel grup içeren bir çok birincil bileşen kimyasal dönüşüme uğrayarak veya uğramadan farklı titrasyon türleriyle tayin edilebilir. Titrimetrik teknikler fonksiyonel gruplara göre seçici iken moleküle göre seçicilik göstermemektedirler. Mesela örnek içerisinde bulunan safsızlık bileşenleri birincil bileşenle aynı fonksiyonel gruplara sahipse, safsızlık bileşeni de titrantı harcayacaktır. Bu da titrasyonla yapılan ölçümün doğruluğunu azaltacaktır.

Titrimetrik ölçüm sonuçları ölçüm sisteminin yani volumetrik ve gravimetrik metotların çıktıları olduğu için izlenebilir niteliktedirler. Gravimetrik yöntemde olduğu gibi, bu yöntemde de temel kimyasal dönüşümün gerçekleşmediği durumlarda gerekli düzeltmeler yapılmalıdır. Bu tür düzeltmeler ve onların belirsizlikleri yapılmak istenen işlem için başka hangi enstrümental tekniğin uygun olduğunu gösterir.

2.12.5.5.3 İç Standart Nicel Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (IS-qNMR)

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ilk olarak 1946 yılında tanımlanmış [64], [75] ve bu süreçte kimyasal yapıların aydınlatılması, saflık ve safsızlık analizleri için başlıca analitik tekniklerden biri olarak kullanılmıştır. Günümüzde NMR çok geniş bir alanda, endüstride ve akademik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. 1998 ve 2005 yıllarında Holzgrabe ve arkadaşları tarafından yayınlanan çalışmalarda, NMR spektroskopisinin eczacılık alanındaki [76] farklı uygulamalarından bahsedilmiş ve özellikle kantitatif NMR uygulamalarına [77] yer verilmiştir. Jancke ve çalışma arkadaşları NMR spektroskopisini, tamamen matematiksel denklemler kullanılarak tam bir belirsizlik bütçesi çıkartılabildiği için birincil analitik metot olarak önermişlerdir [78].

^1H NMR spektroskopisi, proton çekirdeğinin yüksek hassasiyeti, görece daha düşük durulma zamanına ve neredeyse %100 doğal bolluğa sahip olması nedeniyle kantitatif analizler için çok uygundur. NMR sinyalinin yoğunluğu ve pik şiddeti doğrudan proton sayılarına bağlıdır. Kantitatif analizlerde piklerin alanları kullanıldığından buna bağlı olarak seçilen piklerin şiddeti de önemlidir. Miktar tayini qNMR ile iki farklı yol izlenerek yapılabilmektedir [79]. Bunlardan birincisi rölatif hesaplama tekniği olup iki maddenin mol oranlarından yola çıkılarak yapılmaktadır. İkinci teknik ise dışarıdan bir standardın eklenmesi ile yapılmakta olup analizi yapılacak örneğe ait pik alanı ile uygun standardın pik alanının ölçülmesi ile hesaplanmaktadır. Kullanılan standart, uluslar

arası kabul görmüş bir sertifikalı standart malzeme ise SI izlenebilirliği sağlanmış bir ölçüm yapılmış olur. Çok düşük belirsizlikler ile doğru ve izlenebilir ölçümler yapılabildiği için qNMR organik moleküllerin sertifikasyonu için ideal bir tekniktir [80]. qNMR için üç farklı referans metot kullanılmaktadır bunlardan ilki iç standart ekleme metodu, ikincisi bir koaksiyel NMR tüpü kullanılarak yapılan dış standart ekleme metodu ve üçüncüsü elektronik referans metodudur. ¹H qNMR tekniğinde kullanılan parametrelerin seçimi doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar açısından oldukça önemlidir. Yüksek çözünürlükte spektrumlar elde edebilmek için en az 16 tarama ile 65, 536 zaman alanı seçilmeli sinyal gürültü oranının >300 olması sağlanmalıdır. Analiz esnasında tüp, dönmeden kaynaklı yan bantların oluşmaması için döndürülmemelidir. Durulma kantitatif ölçümlerde en önemli parametre olduğundan durulmanın tam olarak tamamlanması amacıyla T1 durulma süresi ölçülmeli ve en küçük T1 değerinden 5-7 kat daha fazla durulma süresi analiz programına girilmelidir. Elde edilen dataların faz ve baseline düzeltilmesi yazılımın otomatik seçenekleri ile değil mutlaka el ile yapılmalı ve her data için aynı data işleme parametreleri kullanılmalıdır.

qNMR saflık hesabının yapıldığı matematiksel eşitlik aşağıda verilmiştir. Eşitlik 2.8'de görüleceği üzere maddelerin tartılması, NMR örneklerinin hazırlanması ve dataları işlerken integral alanlarının doğru olarak seçimi çok önemlidir. Bu nedenle uygun tartım aralığında metroloji enstitüleri tarafından kalibrasyonu yapılmış teraziler kullanılması şarttır.

$$R_x = \frac{I_x}{I_{std}} \times \frac{N_{std}}{N_x} \times \frac{M_x}{M_{std}} \times \frac{W_{std}}{W_x} \times P_{std} \quad (2.8)$$

P_x: Analitin (X) saflığı [%]

I_x: Analitin seçilen protonuna ait integral alanı

I_{std}: Standardın seçilen protonuna ait integral alanı

N_x: Analitin proton sayısı

N_{std}: Standardın proton sayısı

M_x: Analitin moleküler kütlesi [g/mol]

M_{std}: Standardın moleküler kütlesi [g/mol]

W_x : Analitin gravimetrik ağırlığı [g]

W_{std} : Standardın gravimetrik ağırlığı [g]

P_{std} : Standardın saflığı [%]

NMR ölçümlerinde numune hazırlama işlemi ise diğer tüm analitik yöntemlerde olduğu gibi kantitatif NMR ölçümleri içinde oldukça önemli bir aşamadır. Doğru sonuç için doğru tartım ve numune hazırlama gereklidir. Düşük miktartlı tartımlarda özellikle kullandığımız terazilerin limit değeri dışında kaldığında hata yüksek, tekrarlanabilirlik ise düşük olmaktadır.

Madde miktarları yeterli olduğunda stok çözelti hazırlayıp bu çözelti içerisinde yeterli miktarda numune alarak NMR örneğini hazırlamak en doğru yol olacaktır. Özellikle sertifikalı referans malzemelere dayandırılarak ikincil referans malzemenin saflığını belirlemede veya ulusal ve uluslararası karşılaştırmalara katılımlarda bu yöntemle numune hazırlamak doğru ve tekrarlanabilirliği olan sonuçlar açısından önemlidir. Bu yöntemde;

- Tartım doğrudan nmr tüpü yerine, altı düz ve vidalı kapağı sahip cam bir şişe içerisine yapılmalıdır. Elektrostatik etkiler tartımda hataya neden olduğundan mümkün olduğunca plastik malzemeler kullanılmamalı ve tartım öncesi kullanılan spatül ve şişe gibi malzemelerin elektrostatik yükleri giderilmelidir.
- Terazi sıfırlandıktan sonra örneğin tartılacağı şişenin darası alınmalı ve kaydedilmelidir.
- İç referans olarak kullanılacak saflığı bilinen numune şişe içerisine eklenerek tartımı yapılmalı ve kayıt edilmelidir.
- Son olarak analizi yapılacak olan malzeme şişe içerisine tartılmalı ve değer kayıt edilmelidir.

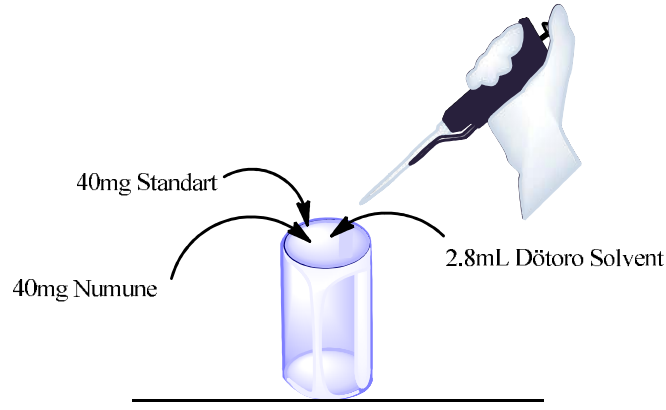
İç referans ve analizi yapılacak olan maddeden 10 mg tartılması, ^1H NMR analizi ve kantitatif ölçümler için gerekli sinyal gürültü (S/N) oranını sağlamaktadır. Ancak bu denli küçük miktarların tartılması esnasında meydana gelebilecek hataları ortadan kaldırmak ve terazinin tartım limitlerinin dışına çıkılmasını engellemek amacıyla, referans malzemedan ve maddemizden 4 veya 5 katı yani 40-50 mg kadar tartılıp, 2.8-

3.5 mL dötoro solvent kullanılarak çözülmesi daha iyi olacaktır. Cam şişe içerisinde hazırlanan ve karıştırılarak homojenize edilen çözeltimizden taksimatlı pipet kullanılarak 0.7 mL alınır ve NMR tüpüne aktarılır. Bu sayede tartımdan gelecek hatalar minimize edilecek ve çok iyi homojenize olmuş ve tamamen çözünmüş NMR analizine hazır numuneler elde edilebilecektir.

Kullanıcı tarafından doğru sonuç için tartım aşamalarının her bir adımı üçer kez tekrarlanabilir ve terazide oluşabilecek dengesizlikler gözlenebilir. Bu bağlamda doğru tartım için terazinin hızlı ve net bir şekilde dengeye geldiğinden emin olunmalı ve ortam sıcaklık ve nem değerleri kontrol altında tutulmalıdır. Terazinin günlük kalibrasyon işleminin yapıldığı kontrol edilmeli, yapılmadıysa mutlaka tartım öncesi yapılmalıdır.

Maddelerin cam şişe içerisine tartımları yapıldıktan sonra şişenin kapağı kapatılmalı ve devrilmeye, kırılmaya karşı korunmalıdır. Rastgele taşınan şişelerin içerisindeki maddelerin şişenin çeperine ve kapağına bulaşması çözme aşamasında zorluklara neden olabileceği gibi madde kaybına da sebep olabilir.

Kantitatif NMR analizleri için hazırlanan numunenin kesinlikle %100 oranında çözünmesi gerekmektedir. Cam şişe kullanılması çözünmeyen partikülleri gözlemlene açısından da oldukça avantajlıdır. Tartımı yapılan numuneler hazırlanmadan önce, çözücüler denemeler ile tespit edilmelidir. Seçilen çözücülere ait pikler ile analitlere ait piklerin aynı bölgede rezonansa gelmemesi çözücü seçiminde önemli bir unsurdur. Sıcaklığın yükseltilmesi analitlerin çözünürlüğünü arttırmak için kullanılabilir ancak benzoik asit gibi referans malzemeler seçildiği takdirde sıcaklığın arttırılması benzoik asitin qnmr ölçümü yapılacak madde ile reaksiyona girmesine veya bu maddenin bozulmasına neden olabilir. Bu nedenle sıcaklığın arttırılması kontrollü bir biçimde yapılmalıdır [81]. Numune hazırlama Şekil 2.19 'da sunulmaktadır.



Şekil 2.19 NMR numune hazırlama

Kantitatif NMR analizleri için dikkat edilecek parametreler ise excitation pulse, tekrarlama süresi, broad-band decoupling, acquisition time, time domain, sinyal gürültü (S/N) oranı, receiver gain (RG), dijital çözünürlük, manyetik alanın ayarlanması (shimming), frekansın ayarlanması, sıcaklık ve NMR örnek tüpünün hassasiyeti ve kılcal çapı şeklindedir.

Excitation Pulse açısından bakıldığında analiz için 90° veya daha düşük bir pulse açısı kullanılabilir. 90° pulse açısının analize olan etkisi, numunenin fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olarak numuneden numuneye değişebilir. Çok daha iyi hassasiyet ve doğruluğa ulaşabilmek için her bir numune için kalibrasyonun yapılması iyi olacaktır. Normalde, 90° pulse maksimum şiddeti, yoğunluğu sağlamaktadır. Tamamen durulmanın sağlanması ve deney süresini kısaltmak için daha düşük bir pulse açısı da kullanılabilir. Daha düşük tekrarlama (daha az pulse sayısı ve daha düşük deney zamanı) ile iyi bir sinyal gürültü oranına (S/N) ulaşmak için Eşitlik 2.9'daki "Ernst angle" eşitliğini kullanarak pulse açısını hesaplamak mümkündür.

$$\cos \alpha = e^{\left(-\frac{T_R}{T_1}\right)} \quad (2.9)$$

α : pulse açısı

T_R : tekrarlama sayısı

T_1 : durulma zamanı

Ernst eşitliği doğrudan durulma zamanı ile alakalıdır ve kompleks karışım analizlerinde uygulanması sınırlıdır.

Tekrarlama süresi tek bir tarama ile spektrumunun kaydı için geçen süreyi ifade eder, bu süre özellikle durulma zamanı ve acquisition süresine bağlıdır, diğer bazı küçük deney süresine etkileyen faktörler bu iki parametrenin yanında ihmal edilecek kadar düşüktür. T_R direkt olarak en uzun T_1 süresine bağlıdır. İdeal olarak bu sürenin ölçülen T_1 değerinden 5 kez daha uzun olması, %99 oranında durulma için gereklidir.

Broad-band decoupling işleminde, keskinlikteki bozulmayı %1'in altına indirmek için şu kriterlere dikkat edilmelidir:

- broad-band decoupling acquisition süresi boyunca uygulanmalı
- tekrarlama süresi T_1 süresinin 5-7 katı kadar olmalı
- uyarma için 90° pulse açısı kullanılmalıdır. Dinamik, canlı karışımlarda (metabolit karışımları gibi) yüksek konsantrasyona sahip metabolitlerin ^{13}C uydu (satellite) pikleri düşük konsantrasyonlu metabolitlerinkine eşit olabilir. Bu durum qnmr analizlerinde belirsizliğe ve hataya neden olur. Bu gibi koşullarda ^{13}C uydu piklerini elimine etmek amacıyla broad-band decoupling kullanılmalıdır.

FID kaydının yarıda kesilmesini önlemek için uygun acquisition süresi kullanılmalıdır. Bu sürenin az olması eksik yoğunluk ölçümlerine neden olur.

Modern, yüksek hafıza ve işlemci gücüne sahip bilgisayarlar ile çalışan NMR spektrometrelerinde 64K data noktası, kantitatif hesaplamalar için kullanılmalıdır. Bu değer çok düşük seçilmesi kısmen üst üste gelmiş sinyallerin yüksek çözünürlükte kaydını mümkün kılmayacaktır.

Kesin kantitatif sonuçlar elde etmek için sinyal gürültü oranı ^1H için 250:1, ^{19}F için 300:1 ve ^{31}P için 600:1 olmalıdır. Analit miktarı konsantrasyonunun az olduğu numuneler için tarama sayısının artırılması daha yüksek bir S/N oranına ulaşmak için yeterli olabilir. Sinyal gürültü oranı aynı zaman kullanılan probun hassasiyetine de bağlıdır. Bu oran modern cihazlarda ilgili komutlar ile kolaylıkla öğrenebildiği gibi Eşitlik 2.10 yardımı ile de hesaplanabilir.

$$S / N = \frac{N \gamma_{exc} T_2 (\gamma_{det} B)^{3/2} \sqrt{ns}}{T} \quad (2.10)$$

N: Sistemdeki spinlerin sayısıdır. (örnek konsantrasyonu/protonların sayısı)

X_{exc} : Uyarılmış çekirdeklerin gyromagnetic oranı

X_{det} : Saptanan çekirdeklerin gyromagnetic oranı

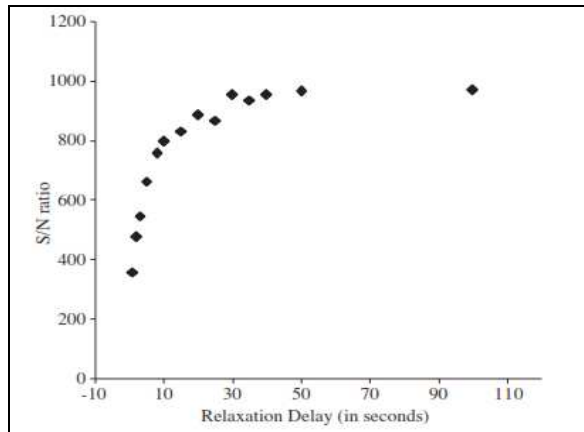
ns: Tarama sayısı

B_0 : Harici manyetik alan

T_2 : Çapraz durulma süresi (Çizgi genişliğini belirler)

T: Numune sıcaklığı

Şekil 2.20'deki grafikte %0.1 etilbenzen standart numunesindeki $-CH_2-$ sinyalinin farklı tekrarlanma sürelerindeki S/N oranı gösterilmiştir. Buna göre tekrarlanma süresini en çok etkileyen faktör olan durulma zamanı arttıkça S/N oranı da belli bir noktaya kadar artmaktadır. Ancak belirli bir süreden sonra değişme azalmaktadır. Bu grafik incelenirse 5-7 kat T_1 süresinin kantitatif analizler için ne kadar önemli olduğunu görülebilir.



Şekil 2.20 İyon tuzaklı analizör

Diğer taraftan, ideal receiver gain (alıcı kazancı) değerini uygulamak oldukça önemlidir. Çünkü çok yüksek RG değeri baselineda bozulmalara neden olurken çok düşük RG değeri ise analitin sinyal kaybına veya çok düşük S/N oranına sebep olabilir. Modern NMR cihazları RG değerini otomatik olarak ayarlayabilmektedirler. Eğer uygulanan pulse, alıcının aşırı yüklenmesine neden olursa kazanç %10 azaltılır ve tekrar pulse gönderilir. Aşırı yüklenmenin olmadığı uygun bir değer ulaşıncaya kadar bu işlem cihaz tarafından tekrarlanır. En hassas ve doğru kantitatif hesaplama için mutlaka ideal RG değeri kullanılmalıdır.

Kantitatif analizler için aynı zamanda uygun dijital çözünürlükte kaydedilmiş spektrumlar gerekir. Dijital çözünürlük (Hertz/point), spectral genişliğin (sw) data noktalarına bölünmesiyle elde edilen değere eşittir.

Manyetik alanın homojen olmayışı sinyal bozulmasına veya uygunsuz pik şekillerinin oluşmasına neden olur. Bu spektrumda kötü çözünürlük ve düşük S/N oranı olarak ortaya çıkar. Manyetik alan homojenitesi, örnek etrafında yüksek manyetik alan oluşana kadar optimize edilmelidir. Optimizasyon esnasında manyetik alan homojenliğinde meydana gelen iyileşme aşağıdaki değişiklikler ile belirlenebilir.

- Lock (kilit) sinyalinin yüksekliğindeki artış
- FID'nin şeklinden
- Spektrumdaki piklerin (özellikle çözücü piki) şeklinden ve çizgi genişliğinden

Spektrometrenin frekansının doğru değerlerde ayarlanmaması (yanlış tune ve match işlemi) 90° pulse etkinliğini etkileyebilir. Buda sinyallerin yoğunluğunda değişmelere neden olur. Bu nedenle yüksek tekrarlanabilirlik için bütün örneklerin frekansının doğru bir biçimde ayarlanması gereklidir.

Sıcaklık kantitatif analizler için ayrıca önemli bir parametredir ve tekrarlanabilir ölçümler için sabit sıcaklık değeri gereklidir. Aynı zamanda sıcaklık durulma özelliklerinde de değişmelere neden olabilmektedir. Sıcaklığı ayarlamak için kullanılan hava akımının yüksek olması güçlü sinyallerin baseline çizgisinde bozulmalara neden olur. Bu nedenle özellikle karşılaştırmalı ölçümlerde bütün örneklerin analizi esnasında aynı hava akımının kullanıldığından emin olunmalıdır.

Çok sayıda numunenin kantitatif analizi yapılacağında veya karşılaştırmının önemli olduğu durumlarda kullanılan NMR tüplerinin hepsinin aynı özellikte olmasına dikkat edilmelidir. Tekrarlanabilirlik açısından aynı hassasiyete ve cidar kalınlığına sahip NMR tüplerini kullanmak önemlidir, tüpün cam kalınlığı cihazdaki lock seviyesi dahil bir çok parametre için önemlidir. İnce cama sahip tüplerde yapılan analizlerde lock seviyesi kalın olan tüplere nazaran daha yüksek olmaktadır

Durulma süresi numuneden numuneye değişen bir parametre olduğundan daha önce çalışılmamış, T₁ ölçümleri yapılmamış örneklerle çalışmadan önce mutlaka bu ölçümler

yapılmalı ve durulma süresi, T_1 değerinin en az 5 katı olacak şekilde seçilmelidir. Aşırı uzun durulma süreleri gereksiz yere analiz süresini uzatacağından bundan kaçınılmalıdır.

Çizgi genişleme (lb) değeri analiz programlanırken girildiği takdirde, datalar işlenirken bu parametrenin ayrıca düzeltilmesine gerek olmayacaktır. Eğer bu değer analiz parametrelerine girilmediyse her bir data işlenmeden önce değiştirilmesi zorunlu olacaktır. Farklı lb değerleri farklı pik kalınlıklarına neden olabileceğinden, integral değerlerinde tekrarlanabilirliği ortadan kaldıracaktır.

NMR kullanılarak gerçekleştirilen saflık tayininde ise, güçlü bir manyetik alana sokulan belli sayıda atom çekirdeğinin radyo frekans ışıması ile etkileşimi, çekirdeği içeren molekülün kimyasal kompozisyonuna veya bağlanmasına bağlı değildir. Her bir atom çekirdeğin geçiş frekansı, bağ yapısı ve üç boyutlu yönlenebilirliğe bağlı 2. ve 3. seviye atomik etkileşimleri ile değişiklik gösterir. Bu küçük farklılıklar daha iyi çözümlenebilir hale gelir ve geçiş şiddeti manyetik alan gücü arttıkça, daha kolayca tespit edilir [82].

Geçiş frekanslarında kimyasal yapıyla ilgili farklılıklar, NMR'ı moleküler yapı belirlemede en temel araçlardan biri yapar. Aksine, tek geçiş frekansları, belirli bir kimyasal çevredeki aynı türdeki çekirdeklerin sayısı ile bir başka kimyasal çevredekilerin sayısını kıyaslama olanağı sağlar.

Farklı kimyasal çevrelerde bir tür molekül içerisinde bulunan çekirdeğin bağıl sayısını tespit etmek yaygın bir işlemken, örnek içerisinde uygun bir iç standardın (IS) kullanılması ile ortamdaki farklı türdeki moleküllerin bağıl sayılarını tespit etmek de mümkündür. İç standart ilişkili olduğu atomik türün bir veya daha fazla çekirdeğini içerdiği müddetçe ölçülenden oldukça farklı bir yapıya sahip olabilir. İç standart ölçülenle karıştırılabilir veya ölçülenle arasındaki kimyasal reaksiyonu önlemek için örnek kabı içerisinde bulunan ayrı bir kaba yerleştirilebilir. Analizde kullanmak üzere katılar veya yoğun akışkanlar ile kullanılabilecek çeşitli çözücüler mevcuttur [83].

IS-qNMR metotları herhangi birincil bileşen kütle kesri seviyesi için uygulanabilir özelliktedir. Çizelge 2.3, sıklıkla kullanılan NMR aktif çekirdekleri, bunların tipik doğal bolluklarını ve bağıl hassasiyetlerini, qNMR çalışmalarında ne sıklıkla kullanıldıklarını listelemektedir. Birçok organik malde bu çekirdeklerden bir veya birkaçını

içermektedir. Genellikle, birkaç miligramdan birkaç yüzmiligrama kadar örnek miktarı gereklidir. İç standardın ölçülenden ayırt edilebilmesi, ölçülenin diğer çalışmalarda geri kazanımını sağlar. % 0,5 ve daha az bağıl ölçüm belirsizlikleri elde edilebilir [84], [85].

Çizelge 2.3 qNMR çalışmalarında kullanılan NMR-aktif çekirdekleri

Çekirdek	% Doğal Bolluk	Aynı Sayıda ¹ H Atomuna Göre Hassasiyet	Bolluk x Bağıl Hassasiyet	qNMR Yayınlarının Sayısı
¹ H	99.98	1	1	Çok
¹⁹ F	100	0.833	0.8	Birkaç tane
³¹ P	100	0.066	0.07	Birçok
¹⁷ O	0.037	0.029	0.001	Birçok
²⁹ Si	4.70	0.008	0.0003	Birkaç tane
¹³ C	1.11	0.016	0.0002	Çok
¹⁵ N	0.37	0.001	0.000004	Hiç bulunamadı.

Tek-pulslu IS-qNMR ölçüm sonuçları, kullanılan iç standardın madde miktarı ile izlenebilir. Ayrılma veya çapraz kutuplaşma tekniklerini kullanan çoklu-puls metotlarla yapılan kantitatif tayinlerde duruma göre dikkatli bir şekilde değerlendirme yapılmalıdır. Gerçek karşılaştırma, bir kimyasal ortamdaki çekirdeklerin sayısı ile ikinci kimyasal ortamdakiler arasında yapıldığı için, her bir iç standarttan gelen tek sinyal ve ilgilenilen malzeme karşılaştırma için gereklidir. Bununla birlikte, her iki malzeme için tüm ilgili NMR geçişleri, karşılaştırmada kullanılan özel geçişlerden önce karakterize edilmelidir [86].

2.12.5.5.4 Kararlı İzotop Oranı Kütle Spektrometri

Bir karışımdaki bileşenlerin kantitatif analizi için kullanılabilecek bir çok kütle spektrometri tekniği vardır ve hepsi, verilen atomik türlerin iki veya daha fazla sayıdaki kararlı izotop sinyallerinin oranını kullanır. İzotop seyreltme kütle spektrometri (IDMS) tekniği, ölçümü yapılan bileşiğin izotopça zenginleştirilmiş versiyonunun bilinen miktarda eklenmesi ile oranlarda oluşan değişim üzerinden değerlendirme yapar. Tek aşamalı IDMS kalibrasyon çözeltileri ve matriks referans malzemelerinin analizi için uygun bir teknik iken, izotoplu bileşiğin ayrıntılı olarak karakterizasyonunu gerektirdiği

için katı organiklerde birincil bileşenin miktarını belirlemede sınırlı uygulama alanına sahiptir [87]. Çok-aşamalı IDMS ise, sertifikalı izotop oranları bulunmayan referans malzemelerin analizleri için uygundur. % 0,01 'den % 0,1'e kadar bağıl belirsizlikler elde edilebilir.

%0,1 bağıl belirsizlikler, izotop oranı kütle spektrometri (IRMS) ile reaksiyon ürünlerinin oranını ölçerek veya moleküllerin CO₂, NO ve SF₆ gibi daha küçük poliatomik moleküllere çevrildiği kimyasal reaksiyon arayüz kütle spektrometri (CRIMS) kullanarak elde edilebilir. Bu metotlar kromatografik ayırma teknikleriyle birlikte kullanıldığında, ölçülen maddeden yapısal olarak farklı, uygun izotoplu bileşikler ile kalibre edilebilir.

İzotop oranı kütle spektrometri tekniği kullanılarak yapılan ölçümler, izotopça zenginleştirilmiş bileşiklere veya onların aracılığıyla ve daha da önemlisi ilgili ölçüm eşitliği ile ilişkili olan bütün deneysel işlemlere izlenebilir [88], [89].

2.12.5.5.5 İzotop Seyreltme Kütle Spektrometri (IDMS)

IDMS yöntemi ilk olarak 1950'li yıllarda elemental analizlerde kullanılmaya başlanmıştır. Kullanımı kolay olduğu için hızla gelişen bir teknik olmuştur. 1970'lere gelindiğinde IDMS organik bileşikler üzerinde de kullanılmaya başlanmıştır. Tayin edilen bileşiklere ait izotoplu bileşikler bulunduğu müddetçe de kullanımı uygun olan bir tekniktir. Ayrıca bu teknik geniş kullanım alanı olan referans bir tekniktir.

Kütle spektrometride, spektrofotometrik tekniklerin aksine, maddelerin konsantrasyonu ile cihazdan alınan yanıt arasında sabit bir ilişki yoktur. Bir bileşik veya iyon ile ilgili seçicilik zaman veya cihazın kalibrasyonuna göre değişir. Bu değişimler örnek enjeksiyon veya kromatografi nedeniyle de olabilir. Böyle bir durumda doğru bir biçimde kantitatif tayin yapmak için iç standart kullanılmalıdır. IDMS tekniğinde inorganik bileşikler için izotopça zenginleşmiş bileşik, organik bileşikler için ise izotopik olarak işaretlenmiş bileşik kullanılarak kantitatif analiz gerçekleştirilir. Aslında bazı durumlarda IDMS kararlı izotop iç standartlaştırma olarak da nitelendirilebilir. Bu işlemde izotopik bileşik analitiksel metodun en başında örneğe eklenir, eklenen iç standardın analitle herhangi bir kayıp veya bölümlere ayrılma olmadan dengeye gelmesi gerekir. Bu iki bileşiğin verdiği yanıtların oranı üzerinden örnek içerisindeki analitin konsantrasyonu tespit edilir. Bu şartlar sağlandığında, IDMS tekniği analiz

süresince ve örnek hazırlama aşaması boyunca oluşabilecek her türlü hatayı elimine eder [90].

İlk zamanlarda, inorganik analitler için IDMS termal iyonlaşma kütle spektrometri (TIMS) kullanılarak gerçekleştirilmekteydi. Bu günlerde IDMS'e dayalı indüktif eşlemiş plazma kütle spektrometri (ICP-MS) analizden önce daha az örnek hazırlamaya ihtiyaç duyduğu ve istenilen doğruluk ve kesinlikte sonuç verdiği için tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Organik analitler için olan IDMS, GC-MS ve LC-MS gibi geniş türde örnek giriş sistemlerine sahip olan cihazlarda kullanılır. IDMS tekniği tandem kütle spektrometrelerde (MS-MS) de kullanılabilir. Bazı durumlarda numune giriş sistemi olan kütle spektrometreler IDMS analizi üzerinde negatif etki oluşturabilirler. Örneğin GC üzerindeki split (ayırma) enjeksiyon yöntemi izotopik bileşik üzerinde ayrışmalara sebep olur. Bu da kesinlikle istenilmeyen bir durumdur.

Kuadrupol ve iyon tuzaklı kütle spektrometreleri gibi paket halinde ve ekonomik olan cihazlar, analitik kimya alanında kütle spektrometrenin kullanımını arttırmışlardır. Sonuç olarak IDMS eser miktar seviyesinde yapılan analizlerde oldukça önemli bir yer almaktadır. Bu durum ayrıca bu tekniğin diğer kalibrasyon yöntemlerinden daha doğru sonuç vermesi ve matriks etkilerini büyük oranda bertaraf etmesinden kaynaklanır [91].

Homojen ve izotopik olarak dengeye ulaşmış bir örnek ile analiz gerçekleştirildiğinde IDMS tekniğinin şöyle avantajları vardır.

- Yüksek kesinlik, doğruluk ve kabul edilebilir düşük bir belirsizlik değeri sunar.
- İzotoplu bileşikler ana bileşik dengeye geldiğinde, metodun toplam geri kazanımı üzerinde inceleme yapmaya gerek kalmayacaktır. Çünkü elde edilen sonuç bu iki bileşiğin verdiği yanıtın oranlanmasıyla elde edilecektir.
- Metodun doğruluğu bu oran ölçümünün kesinliği ile belirlenir.
- Genellikle organik analizlerde gerçekleşen örnek hazırlama aşamasındaki analitin değişimi elimine edilecektir çünkü iç standart olarak analitin izotoplu bileşiği kullanılır.
- Metodoloji daha az zaman harcar ve standart ekleme yönteminden daha yüksek doğruluğa sahiptir.

Dez avantajları ise şöyledir.

- İzotoplu bileşikler pahalıdır ve bulunması zordur.
- Ayrıca kütle spektrometrenin de kendisinden kaynaklanan maliyet vardır.
- Bu tekniği yapacak kişinin konu hakkında gerekli bilgi ve tecrübeye sahip olması gerekir.
- İzotop dengesinin oluşması şarttır.
- Analit ile izotoplu bileşiğinin arasındaki kimyasal ve fiziksel farklılıklar kütle spektrometre tarafından üretilen iyonları etkileyecektir, özellikle organik bileşiklerin analizinde [92].

2.12.5.5.6 Alan Yüzdesi Gaz Kromatoğrafisi (% GC)

Kılcal kolunlu GC ile iyi tasarlanmış ve doğru bir biçimde gerçekleştirilmiş bir analizle bir karışımda bulunan bileşenler tam olarak ayrılabilir. IRMS, CRIMS ve atomik emisyon deteksiyonu (AED) teknikleri molekülleri kendi atomlarına veya küçük poliatomik moleküllerine çevirirler bu özellikleri sayesinde molar-kütle dedektör olarak yüksek hassasiyete sahiptirler. Bu teknikler özel cihazlara ve deneyimli kişilere ihtiyaç duyar. Diğer taraftan kantitatif tayin yapma başarıları ve özellikleri hala tam olarak belirlenememiştir. Alev iyonlaştırma dedeksiyon (FID) gibi yaygın olarak kullanılan sistemler bağıl molar kütle tekniğine yakın hassasiyette ölçüm yapabilir [93].

FID, C-H bağı içeren uçucu ve yarı-uçucu bileşiklere karşı oldukça hassastır. Tüm safsızlık bileşenleri birincil bileşen ile aynı olduğu durumda (örneğin izomerler ve bunların benzerleri) GC-FID birincil bileşenin kütle kesrini doğrudan belirleyebilir. GC ile yapılan analizlerde çok düşük miktarda örnek yeterlidir. %0,5 civarında bağıl belirsizlik elde edilebilir. GC-FID su ve uçucu olmayan bileşiklere hassas olmadığı ve uçucu bileşiklere izomerleri ve yakın türdeş için kısmen kararlı sonuç verdiği için, bu teknik her koşulda geçerli değildir. Belli bir kimyasal sınıfa ait yanıt faktörleri, yanıt faktörlerinin lineerliği ve belirsizliklerin belirlenmesi üzerinde devam eden araştırmalar saf maddelerin değerlendirilmesi için GC-FID kullanımını arttırmaktadırlar [94].

Bir madde içerisindeki birincil bileşene ait kütle kesri ölçümleri bazı kabuller ile birlikte izlenebilir. Bu kabuller şöyledir.

- Birincil bileşenin kütle kesri yüksektir.
- Kromatografik ayırımla safsızlık bileşenleri birincil bileşenden tamamen ayrılmıştır.
- Tüm safsızlık bileşenleri belirlenmiştir.
- Detektör yanıt faktörleri birincil bileşen ve tüm safsızlık bileşenleri için çok yakındır.

Kılcal kolonun kullanılması, sıcaklığın programlanması ve çeşitli kolon durgun fazları iyi bir ayırım gerçekleştirme ve dolayısıyla ölçüm yapma üzerinde etkili parametrelerdir. GC-elektron yakalama deteksiyonu (ECD) halojenli bileşikler için mükemmel bir hassasiyete sahiptir. Kütüphane tarama özellikli GC-MS, safsızlık bileşenlerinin tanımlamaya yardımcı olur. GC-IRMS ve GC-CRIMS ise moleküler yapılar tam olarak belirlenemediğinde bile GC-FID'nin yanıt faktörlerinin hesaplanmasına olanak sağlar [95].

2.12.5.5.7 Alan Yüzdesi Sıvı Kromatografisi (% LC)

Sıvı kromatografi (LC) sistemleri GC'lere göre daha düşük seçiciliğe sahip olmasına rağmen, sundukları çeşitli durgun ve mobil fazlar sayesinde kullanıma daha uygundurlar. Çok uçucu maddeler hariç, yüksek performanslı sıvı kromatografi sistemleri (HPLC) GC nin tek başına kullanıldığı durumlardaki ayırmalardan daha iyi bir ayırma gerçekleştirir. Klasik LC ayırımı GC den daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşir bu nedenle termal bozunmaya uğrayan bileşikler için daha uygundur. Bunun yanı sıra tüm organik bileşiklere aynı oranda cevap veren yeterince hassas bir LC deteksiyon sistemi yoktur.

Yaygın olarak kullanılan ultraviyole-görünür bölge absorpsiyon (UV/Vis) ve floresans (FI) detektörleri birçok organik parçacık için mükemmel hassasiyet sağlamasına rağmen birçok bileşik UV/Vis- veya FI-aktif altyapılar içermezler. Dahası, LC-UV/Vis ve LC-FI yanıt şiddetleri molekül yapısındaki küçük değişikliklere hassastır; tek-dalga UV/Vis dedeksiyonunun tanımlanmamış safsızlık bileşenlerinin karakterizasyonu için uygun olmadığı yapılan çalışmalarca belirlenmiştir [96].

Buharlaştırmalı ışık saçılım dedeksiyonunun (ELSD) evrensel LC dedeksiyonu ilkesine bir adım olduğu iddia edilmiştir. Bir ELSD dedektörü, numuneyi aerosole çeviren bir

püskürteçten, sıvı-faz çözücüyü buharlaştıran sürüklenme tüpünden ve herhangi bir partikülün dedeksiyonunun gerçekleştiği ışık saçılım hücresinden oluşur. Buna rağmen, GC-FID, LC-ELSD'den daha hassastır ve daha büyük lineer dinamik aralığı vardır. Saçılım sinyali karmaşıktır ve partikül büyüklüğü ile her bir bileşiğin gelen ışığı nasıl absorpladığı, kırdığı, yansıttığı, Rayleigh ve Mie saçtığı tam olarak anlaşılamayan bir fonksiyondur [96]. Net yanıt faktörleri henüz kantitatif olarak tahmin edilebilir değildir. Şuan, LC-ELSD yarı-kantitatif doğrulama çalışmaları için en kullanışlı yöntemdir.

Saflık belirlemesi için kullanılamamasına rağmen, LC-IRMS ve LC-CRIMS'in, tüm safsızlık bileşenlerinin kısmi molekül formüllerini ve bağlı kütleyi belirleme yetenekleri vardır [97].

2.12.5.5.8 Alan Yüzdesi Kantitatif Nükleer Manyetik Rezonans (%qNMR)

%qNMR, birincil bileşene ve maddenin tüm gözlenen geçişlerinin alanı toplamına atfedilebilen, bir atom türü için tüm NMR aktif çekirdek geçişlerinin, integrallendirilmiş alanlarını karşılaştırır. Safsızlık bileşenlerinin arasından en az bir birincil bileşen ayırt edilebilirse, toplam çekirdeğin ölçülen çekirdeğe oranı belirlenerek düzeltilen ölçüm sonucu ile alan oranı hesaplanabilir.

Ayırma-bazlı GC-FID ve LC-ELSD metotlarının aksine, ilgili izotopu içeren tüm safsızlık bileşenleri toplam integrale katkıda bulunurlar. Madde içindeki ilgili her bir atom toplam sinyal şiddetine eşit oranda katkıda bulunur. İlgili izotop çok farklı bir kimyasal ortamda bulunduğunda, her bir geçiş frekansı için bağlı yanıt faktörü, geçiş ve temel uyarılma frekansı arasındaki farkın hesaplanabilir fonksiyonudur. Safsızlık bileşenleri belirlenebilirse, uygun atom-molekül oranları belirlenebilir ve düzeltilebilir. Bu yöntemde %0,5 değerinde bağlı belirsizlik elde edilebilir [98].

Değişik atomik türlerin sonuçlarının karşılaştırılması, özellikle ^1H - ve ^{13}C -NMR, validasyonuna yardım eder. %qNMR için birincil bileşenin kesri şu varsayımlar geçerliliği üzerinden izlenebilir:

- birincil bileşenin kesri çok yüksek,
- tüm sinyaller tam olarak integre edilmiştir
- atom-molekül oranları doğru şekilde belirlenmiştir.

2.12.5.5.9 Moleküler Spektroskopi

Eğer bir maddenin moleküler spektrumu (özellikle ultraviyole, görünür bölge, kızılötesi veya yakın kızılötesi spektral alanları) biliniyorsa, birincil bileşenin kesri gözlenen spektrumla bilinen spektrum karşılaştırılarak belirlenebilir. Eğer birincil bileşenin spektrumu iyi açıklanabilmiş farklı bir özellik içeriyorsa bu durumda birincil bileşenin kesri bu özelliğin gözlenen ve bilinen sinyal oranı kullanılarak hesaplanabilir. Bu işlem sıfır seviye kalibrasyon olarak bilinir ve ilgilenilen bölgede safsızlık bileşenleri ile ilgili herhangi bir spektral sinyal alınmadığı durumlarda uygulanabilir niteliktedir. Herhangi bir özellik yeterli ve seçici bir bilgi sağlamıyorsa, çok değişkenli matematiksel tekniklerin kullanımıyla birincil bileşenin kesri çoklu özellikler karşılaştırılarak belirlenebilir. Bu durum da birinci derece kalibrasyon olarak bilinir ve tüm potansiyel safsızlık bileşenlerinin spektrumları belirlendiği zaman kullanıma uygundur. İki veya daha fazla moleküler spektroskopiler bilgi ile ilgili çıktı oluşturmak için kullanıldığında, moleküler uyarma/yayılma spektrofotometresi gibi, çok değişkenli, kemometri alanında yapılan son gelişmeler bilinmeyen safsızlık bileşenlerinin varlığında birincil bileşenin kesrini belirler. Bu işlem de ikinci seviye kalibrasyon veya N-way analiz olarak bilinir. Sıfırinci ve birinci seviye kalibrasyonlar tüm girişim yapan maddelerin yokluğuna veya en azından spektral karakteristikleri hakkında bilgiye gereksinim duyar ve birincil bileşenin kesrini doğrudan hesaplamak için kullanılamaz. Sadece ikinci seviye kalibrasyon sistemleri birincil bileşenin kesrini doğrudan hesaplamak için uygundur. Elde edilebilen kesinlik birincil bileşenin, spektroskopik sistemin ve kullanılan matematiksel işlemlerin spektral özelliklerinin önceden belirlenebilen fonksiyonudur. Bağıl belirsizlik değeri %0,1'den daha az elde edilebilir. İkinci seviye spektroskopik kalibrasyonlar referans spektrumu tanımlamak için kullanan referans metotlara izlenebilir [99].

2.12.5.5.10 Elemental Analiz

Çoğu organik maddenin elemental bileşiminin mol kesrini değerlendirecek birçok teknik vardır. C, H, N, O, P, S, AS, Cl, Br, I ve Se belirlenmesindeki bağıl belirsizlik % 0,1 den daha düşüktür. Böyle bir değerlendirme hata kontrolü açısından çok uygundur. Gözlenen bileşimin beklenenden farklı olması, Birincil bileşenden oldukça farklı yapıda

safsızlık bileşenlerinin olduğunu gösterir. Bunun yanı sıra, elemental analiz birincil bileşenle aynı veya çok benzer molekül formülüne sahip olan safsızlık bileşenlerini ortaya çıkarma gücüne sahip değildir [100].

2.12.5.5.11 Termal Metotlar

Deneysel olarak uygun bir sıcaklıkta kristal olan madde içerisindeki safsızlık bileşenlerinin kesirlerinin toplamını belirlemek için sıcaklıkla ilişkili olan çeşitli faz değişimlerini ölçen bir çok metot vardır. Bu metotlardan en yaygın olarak kullanılanları donma ve erime noktası belirleme, diferansiyel tarama kalorimetre (DSC) ve adiyabatik kalorimetredir. Bu metotlar maddenin katı fazından çok sıvı fazında çözünebilen safsızlıkları olması durumunda, maddenin % 100 saflıktan sapma derecesini belirlerler. Bu metotlar saf maddenin kendi erime noktası sıcaklığında kararlı olduğu ve tüm safsızlıkların sıvı fazda çözündüğü durumlarda uygulanabilir.

Donma ve erime noktası belirleme teknikleri sıcaklığın fonksiyonu olarak maddenin bir fazdan diğerine dönüşümünün yüzdesini hesaplar. DSC teknikleri ise örneğin bağlı ısı akışıyla sıcaklık arasındaki ilişkiyi bir inert referansla kıyaslama yaparak belirler. Adiyabatik kalorimetrik metotlar da maddenin mutlak ısı kapasitesini örneğin sıcaklığının fonksiyonu olarak belirler. Diğer benzer teknikler erime ve donma halinde maddenin hacminde ve dielektrik özelliğindeki değişimleri belirler. Bu metotlar genellikle 0,001 g'dan 0,1 g'a kadar olan madde miktarına ihtiyaç duyar. Fiziksel değişimlere bağlı olan bu teknikler safsızlık bileşenlerinin kesirleri toplamı sıfıra giderken daha etkilidir. Birincil bileşenin kesri 0,99 veya daha fazla olduğu durumda kesinlik % 0,1 veya daha fazladır [101].

Tüm termal metotlardan elde edilen sonuçlar belli kabuller ile izlenebilir özellik kazanabilir. Bu kabüller:

- Birincil bileşenin kesri çok yüksektir.
- Deney gerekli termodinamik koşullar altında yapılmıştır.
- Çözünmeyen hiçbir safsızlık bileşeni yoktur.
- Katı çözelti oluşturan hiçbir safsızlık bileşeni yoktur.

Diferansiyel teknikler bir veya daha fazla referans malzeme kalibratörüne ihtiyaç duyarlar. DSC saflık tayini için birincil metot olarak kabul edilir fakat pratikte DSC izlenebilir sonuç elde etme durumunu azaltan deneysel düzeltmeler içerir. Halihazırda kullanılan tüm metotlar içerisinde adiyabatik kalorimetre deneysel olarak en kullanışlı ve ihtiyaçları karşılayan metottur. Ayrıca zaman ve kaynak açısından da en uygun olanıdır.

Malesef tüm bu tür teknikler birincil bileşen ile katı çözelti oluşturan safsızlık bileşenlerine karşı duyarsızdır. Birincil bileşenle kristallenmeye uğramayan safsızlık bileşenleri tanımlanıp belirlenmedikçe, faz değişim karakteri ile mutlak maddenin saflığı arasındaki ilişki tam olarak kurulamaz [102].

2.12.5.5.12 Faz Çözünürlük Analizi (PSA)

Saflık tayini yapılacak madde iyi tanımlanmış bir çözücü sisteminde az çözünen ve haftalarca belli bir sıcaklıkta kristal olarak kalabilen özellikte ise, PSA hem safsızlık bileşenlerinin kesirleri toplamını belirlemek hem de her bir safsızlık bileşeni üzerinde daha ayrıntılı karakterizasyon yapmak için kullanılır. PSA, sistem bileşiminin fonksiyonu olarak sabit sıcaklık ve basınçta içerisinde aynı miktarda çözücü fakat farklı miktarlarda madde olacak şekilde hazırlanmış çözeltiler içerisindeki sıvı fazın bileşimini inceler [103].

Bozucu olmasa bile, PSA 1 g'dan 100 g'a kadar fazla miktarda madde ve değerlendirmeyi tamamlamak için haftalarca zamana ihtiyaç duyar. Parçalı sistemlere bağlı olmasından dolayı birincil bileşenin kesrinin belirlenebileceği üst limit yaklaşık 0,999 dur. Seçilen çözücüde birincil bileşenden daha çözünür olan safsızlık bileşenleri çözücüde yoğunlaşma eğilimindedirler ve böylece çözelti içerisinde orijinal maddede bulunduklarından daha kolay tanımlanabilirler. Çözücü sistemi birinci bileşenle veya safsızlık bileşenlerinin herhangi biriyle kimyasal reaksiyona girmemelidir [104].

Termal birleşik metotlar gibi, PSA ölçümlerinin sonuçları belirli kabuller yaparak izlenebilir özellik kazanır. Tüm farklı sistemler için dengenin sağlandığı koşullar elde edildiğinde, birçok madde için gerekli koşullar daha kolay belirlenebilir. Bununla birlikte yine termal birleşik metotlar gibi, PSA katı form oluşturan safsızlık bileşenlerine karşı

duyarsızdır. İki veya daha fazla çözücü sisteminin kullanılması böyle problemleri ortaya çıkarır [105].

2.12.5.5.13 Safsızlık Bileşeninin Molünün veya Kütle Fraksiyonunun Ardışık Olarak Belirlenmesi

Herhangi bir veya tüm valide edilmiş analitik metotlar, safsızlık bileşenlerinin miktarının belirlenmesi ve tanımlanması için kullanışlı olduğunu kanıtlayabilir. Çözülmeyen tanecikli madde, uçucular veya kül gibi safsızlık bileşenleri kompozitleri gravimetrik ölçüm metotları kullanılarak belirlenebilir. Daha genel olarak, özel safsızlık bileşenleri belilemek için uygun enstrümantal metotlara ihtiyaç duyulabilir. Fakat tüm metotları kalibre etmek için uygun referans madde bulunmayabilir [106].

Böyle bir durumda başvurulması gereken püf nokta madde içerisinde bulunan safsızlık bileşenlerinin birincil bileşenin birkaç katı büyüklüğünde olmasıdır. Küçük miktarda maddenin belirlenmesindeki büyük bağıl belirsizlikler, küçük mutlak belirsizlikler sunabilir.

Farzedelim ki GC-FID ile gerçekleştirilen yüzde alan hesaplama yöntemi bağıl standart belirsizlik değeri % 5 olan bir sonuç versin. Eğer birincil bileşenin kütle kesri 0,99 ise bunun % 95 güvenilirlik düzeyindeki genişletilmiş belirsizliği $\pm 2 \times 0,99 \times 0,05 = \pm 0,1$ olacaktır. Bu sonucun böyle olma olasılığı düşüktür. Bununla birlikte içerisindeki safsızlık bileşenin kütle kesri 0,01 olan yüksek saflıkta bir kalibrant madde analiz edilirse safsızlık bileşenin kütle kesrine ait genişletilmiş belirsizlik $\pm 2 \times 0,01 \times 0,05 = \pm 0,001$ olacaktır. Genelde aday referans madde içerisinde bulunan safsızlık bileşeninin miktarı daha düşük oldukça, safsızlık bileşeninin analizyle elde edilen belirsizlik beklenenden daha az kritik olur.

Böylece, yeterli derecede saf olan yani içerisindeki safsızlık bileşenlerinin düşük miktarda olduğu aday referans madde, amaca uygunluğunu tespit etmek için iyi bir biçimde analiz edilmelidir. İçerisindeki safsızlıkların güvenilir bir biçimde belirlendiği maddeler kalibrasyon için de uygundur.

Bir safsızlık bileşeni belirlendiğinde fakat projenin zaman ve kaynak imkanı dahilinde mevcut ticari madde olmadığında, uygun yanıt faktörünün hesaplaması bazı metotlar için daha uygun olabilir. Örneğin bir NMR spektrumunun değerlendirilmesinde birçok

yazılım sistemi mevcuttur. Ayrıca GC-FID de yanıt faktörlerini, termal iletkenliği ve fotoiyonlaştırma deteksiyon sistemlerini belirleyebilecek birçok farklı kantitatif yapı-özellik ilişkileri (QSPR) belirleme araçları vardır [107].

Ardışık 1-safsızlık bileşenlerinin kesirleri toplamı veya 1-safsızlık bileşenlerinin kütle kesirleri toplamı belirleme sonuçları şu varsayımların geçerliliği üzerinden izlenebilir:

- tüm safsızlık bileşenlerinin (veya safsızlık bileşenlerinin kimyasal sınıf gruplarının) tanındığı,
- tüm safsızlık bileşenlerinin uygun bir şekilde sayıldığı
- çoklu analizlerin sonuçlarının uygun bir şekilde bir araya getirildiği.

2.12.5.6 Referans Verilerle Kalibrasyon

Bazı durumlarda referans veriler ya iyi karakterize edilmiş bir madde kullanarak kalibrasyonu desteklemek için ya da kalibrasyon faktörleri olarak kullanılır. Örnek olarak infrared spektroskopide dalga boyu ölçeğini kalibre etmek için kullanılan referans spektroskopik veriler veya doğrudan yapılan absorban ölçümlerinden konsantrasyonların belirlenmesi için kullanılan referans absorban verileri sunulabilir. Böyle durumlarda ölçüm sonuçları referans verilere izlenebilir.

Fakat kullanılan referans verinin gerçekleştirilen ölçüm ile aynı koşullar altında elde edildiğinden ve uygun referanslara izlenebilir olduğundan emin olmak gerekir.

2.12.5.7 Metot Geliştirme, Validasyon ve Doğrulama İçin Referans Maddeler

Sertifikalı referans madde, özellikle matriks referans madde, kalibrasyonun yanı sıra, metot geliştirme, validasyon ve ölçüm belirsizliğinin belirlenmesi işlemlerinde de kullanılır. Bu nedenle kullanılan madde izlenebilirliği sağlamanın yanı sıra yapılan uygulamaya da uygun olmalıdır. Matriks etkileri ve diğer faktörler sertifikalandırılan değer belirsizliğinden daha önemli olabilir. Bu faktörler ölçülen (analit), ölçüm aralığı (konsantrasyon), matriks uyumu ve potansiyel girişimler, örnek miktarı, homojenlik ve kararlılık, ölçüm belirsizliği ve karakterizasyon ve sertifikalandırma prosedürüdür.

CRM, kullanılması planlanan ölçüm metodu özellikleri ile uygun seviyeye sahip olmalıdır. Bu özelliklere konsantrasyon örnek olarak verilebilir. Metodun doğruluğunun

en iyi bir biçimde tespit edilmesi için kullanılacak olan CRM çalışılacak örneklerle benzer matrise sahip olmalıdır. CRM, katı, gaz vb fiziksel yapıda olabilir. Bir test parçası veya bir toz olabilir. Yöntemin uygulanmasından önce hazırlanma gerektirebilir. Her ne şekil olursa olsun analizi yapılan örnek ile aynı şekilde olmalıdır. Kullanılacak CRM'in miktarı tekrarlı bir şekilde metodun uygulanmasına fırsat verecek büyüklükte olmalıdır. Nerede olursa olsun ölçüm boyunca CRM kararlı olmalıdır. Bunun için şu üç durum söz konusu olabilir.

- Özellikler kararlıdır ve herhangi bir önlem alınmasına gerek yoktur.
- CRM içindeki bileşenlerin sertifika değeri saklama koşullarına bağlı olarak değişebilir, böyle bir durumda CRM açılmadan önce ve açıldıktan sonra sertifikada belirtilen koşullarda saklanmalıdır.
- Yine CRM içerisindeki bileşenlerin sertifika değeri belirli bir süre kendisini korur şeklinde sertifikada belirtilmektedir.

Sertifika değerinin belirsizliği istenilen kesinlik ve doğruluk gerekliliklerini sağlamalıdır. Sertifikalı referans malzemenin üretilmesi analitiksel süreçteki önemi sebebiyle titizlikle yürütülmesi gereken bir işlemdir. Üretim ve sertifikalandırılma süreci, planlama, homojenlik, kararlılık ve karakterizasyon gibi adımları içermektedir. Güvenilir bir CRM elde etmek için bu adımların ayrıntılı bir biçimde incelenmesi ve yerine getirilmesi gerekmektedir.

2.12.6 Belirsizliğin Belirlenmesi

Belirsizlikle ilgili ayrıntılı bilgi daha önceki bölümlerde verildiği için burada tekrar verilmeyecektir fakat izlenebilirliğin sağlanması açısından belirsizlikle ilgili en temel gereklilikler:

- Ya ölçüm sonucunun belirsizliğine etki eden her bir referans değer belirsizliğinin katkısının belirlenmesi ya da uygunsa kullanımda olan standart metodun kalibrasyon ve kontrol gerekliliklerine uyulması
- Kullanılan referansların etkileri göz önünde bulundurularak sonucun toplam belirsizlik değerlendirilmesinin yapılması
- Toplam belirsizliğin istenilene uyup uymadığının doğrulanmasıdır.

BÖLÜM 3

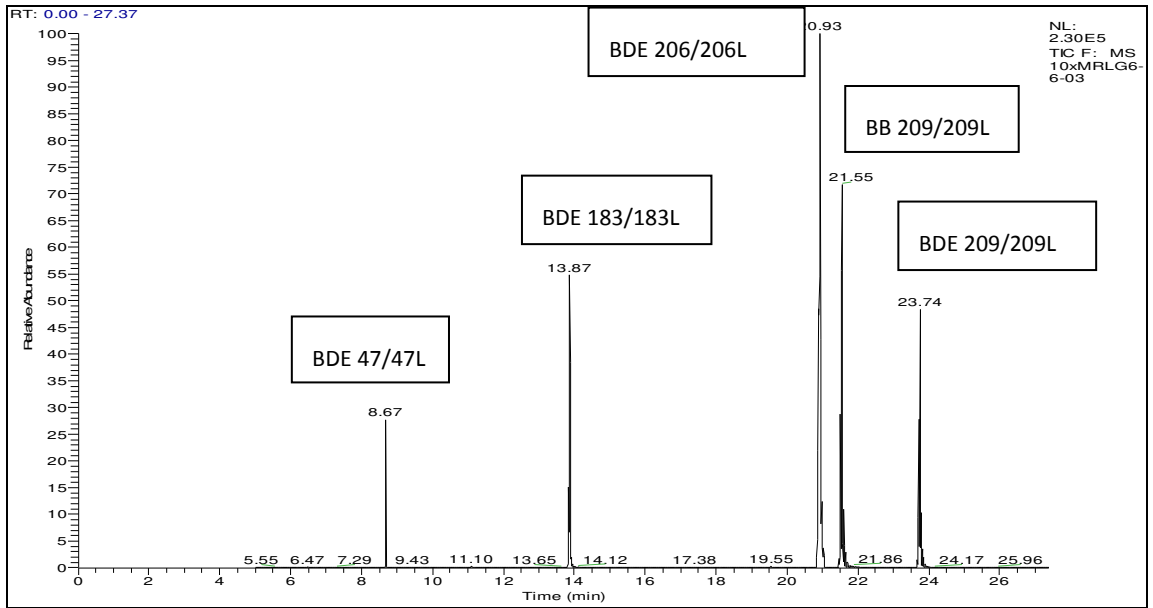
MATERYAL VE METOT

Geliştirilen metot işlemsel olarak kromatografik analiz ve örnek hazırlama aşamalarından oluşur. Analizler GC/MS-MS cihazıyla yapıldı. Örnek hazırlama aşamasında ise basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyon (PSE) yöntemi kullanıldı. Bir önceki bölümde de belirtildiği gibi geliştirilen bir metodun kalitesinin sağlanması için üç temel gereklilik vardır. Bunlar; metot validasyonu, ölçüm belirsizliğinin hesaplanması ve izlenebilirliğin sağlanmasıdır. Metot validasyonu ölçüm yönteminin amaca uygunluğunu, belirsizlik bütçesinin hesaplanması ölçüm sonucunun istatistiksel olarak doğru ifade edilmesini, izlenebilirlik ise ölçüm sonucunun başka sonuçlarla karşılaştırılabilmesini sağlar. Bu bölümde kromatografik analiz yöntemi, örnek hazırlama metodu, metot validasyonu ve belirsizlik hesaplamalarında takip edilen işlemler ayrıntılı bir biçimde sunulmaktadır. İzlenebilirliği oluşturmak için ise metot geliştirme sırasında ve validasyon işleminde sertifikalı referans madde kullanıldı. Ölçüm sonuçlarının kantitatif değerlendirilmesinde birincil standart metot olan izotop seyreltme kütle spektrometre (IDMS) tekniği kullanıldı. Yine kantitatif değerlendirme işlemi için kullanılan standart malzemelerin saflığı qNMR gibi SI izlenebilir birincil metot ile belirlendi.

3.1 GC-MS/MS Analiz Şartları

GC-MS/MS tayin metodu geliştirmek için BDE-47, BDE-183, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşikleri ve bunların izotoplu bileşikleri olan BDE-47L, BDE-183L, BDE-206L, BDE-209L ve BB-209L (Wellington Laboratories, Canada) standart çözeltileri kullanılarak bir karışım hazırlandı.

Geliştirilen metotta GC fırın sıcaklık programı 120 °C (2 dk bekleme) ile başlar, 15 °Cdk⁻¹ hızla 230 °C ye çıkar daha sonra 5 °C dk⁻¹ hızla 315 °C (1 dk bekleme) ye çıkarak sonlanır. Enjeksiyon sıcaklığı, MS bağlantı sıcaklığı ve iyon kaynağı sıcaklığı sırasıyla 280 °C, 280 °C ve 230 °C dir. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL dk⁻¹ sabit akış hızında yüksek saflıkta helyum kullanıldı. İyonlaşma türü olarak elektron iyonlaşma (EI) tekniği kullanıldı. GC kolunu olarak 10 m x 0.25 mm ID x 0.1 µm film kalınlığı olan ve 380-400 °C gibi yüksek sıcaklıklara çıkabilen (HT-5) kolon kullanıldı. Belirlenen bu metotla Şekil 3.1’de de görüldüğü gibi kromatogramda bileşiklere ait piklerin tam olarak ayrılması sağlanabildi.



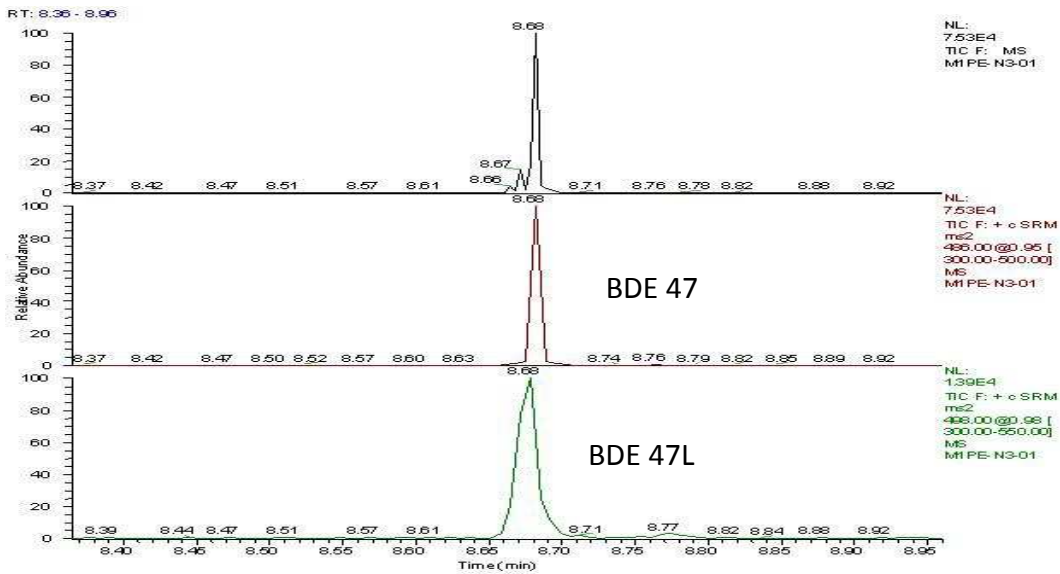
Şekil 3.1 PBDE ve PBB bileşiklerinin ve bunların izotoplu bileşiklerinin GC-MS/MS kromatogramı

Metot oluştururken, alıkonma zamanı (RT) değerlerinin belirlenmesinin yanı sıra izole edilmiş çift (parent) iyon (m/z), CID voltaj ve izole edilmiş ürün (product) iyon (m/z) değerleri de belirlendi. Bu değerler Çizelge 3.1’de verildi. Çizelgede verilen iyon değerleri göz önünde bulundurularak hedef analitlerin kalitatif tayini yapıldı.

Çizelge 3.1 MS/MS metot parametreleri

Bileşik	Türdeş		İzole edilmiş çift "Parent" iyon (<i>m/z</i>)	Molekül formülü	MA (g mol ⁻¹)	CID voltaj	İzole edilmiş ürün "Product" iyonları (<i>m/z</i>)
Tetra-BDE	47	¹² C	486 [M] ⁺	C ₁₂ H ₆ Br ₄ O	485,80	0,98	324/326/328-377/379
	47	¹³ C	498 [M] ⁺	¹³ C ₁₂ H ₆ Br ₄ O	497,70	0,95	336/338/340
Hepta-BDE	183	¹² C	564 [M-2Br] ⁺	C ₁₂ H ₃ Br ₇ O	722,48	3,5	402/404/406-455/457
	183	¹³ C	576 [M-2Br] ⁺	¹³ C ₁₂ H ₃ Br ₇ O	734,39	4	414/416-464/466/468
Nona-BDE	206	¹² C	720 [M-2Br] ⁺	C ₁₂ HBr ₉ O	880,28	4	611/612/614-560/563/564
	206	¹³ C	732 [M-2Br] ⁺	¹³ C ₁₂ HBr ₉ O	892,18	3,45	623/624/626-573/575/576
Deca-BB	209	¹² C	784 [M-2Br] ⁺	C ₁₂ Br ₁₀	943,20	0,9	703/704/705-623/625/527
	209	¹³ C	796 [M-2Br] ⁺	¹³ C ₁₂ Br ₁₀	955,08	1,5	714/715/717-638/639
Deca-BDE	209	¹² C	800 [M-2Br] ⁺	C ₁₂ Br ₁₀ O	959,17	2	717/719/721-690/692/694
	209	¹³ C	812 [M-2Br] ⁺	¹³ C ₁₂ Br ₁₀ O	971,08	2,5	727/729/731-702/704/706

Alıkonma zamanları BDE-47 için 8,67, BDE-183 için 13,87, BDE-206 için 20,93, BB-209 için 21,55 ve son olarak BDE-209 için 23,74 olarak belirlendi. Şekil 3.2’de de görüleceği gibi BDE-47 ve BDE-47L bileşikler birbirinin izotopu olduğu için, alıkonma zamanları arasındaki fark yoktur hatta kimi durumlarda da bu fark sadece 1 saniye’dir ve bu durum diğer bileşikler için de geçerlidir. Bu nedenle kromatogramda bu bileşiklere ait piklerin ayrı bir biçimde görüntülenmesi olanaksızdır. Bu piklerin tayini, aralarındaki izole edilmiş çift iyonu değerleri farkı ve bilgisayar programının da sağladığı aynı alıkonma zamanında iki farklı çift iyon değerine sahip bileşiği algılayabilme özelliği kullanılarak yapıldı. Bu özelliklerden yola çıkılarak bileşiğe ve onun izotoplu bileşiğine ait pikin altındaki alan doğru bir biçimde integre edilebildi.



Şekil 3.2 BDE-47 ve BDE-47L bileşiğinin GC-MS/MS kromatogramı

Yukarıdaki paragraflarda metotla kalitatif ölçümü gerçekleştirmek için gerekli şartlardan bahsedildi. Kantitatif tayin için ise izotop seyreltme kütle spektrometri (IDMS) yöntemi kullanıldı. Analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde belli konsantrasyon aralığında tartım alınarak kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler, ana bileşenlerin konsantrasyon değerleri her bir çözeltide farklı, etiketlenmiş (izotop) bileşiklerin konsantrasyon değerleri ise her bir çözeltide aynı olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler analiz edilerek, ana bileşen ve onun izotoplu arasındaki ilişkiyi gösteren yanıt faktörleri (RF) elde edildi. RF değerleri Eşitlik 3.1 ile hesaplandı.

Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyon değerleri ve bu çözeltilerle elde edilen kalibrasyon grafiklerine ait RF değerleri, RF değerlerinin % RSD değerleri ve R² değerleri, Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3’de verilmektedir. Çözeltiler izooktan çözücüsü içerisinde hazırlandı.

$$RF = \frac{A_{ABx} \times C_{ISx}}{A_{ISx} \times C_{ABx}} \quad (3.1)$$

RF : Yanıt Faktörü

C_{ABx} : Ana bileşiğin konsantrasyonu (ng g⁻¹)

A_{ABx} : Ana bileşiğin kromatogramdaki pikin alanı

A_{ISx} : İzotop bileşiğin kromatogramdaki pikin alanı

C_{ISx} : İzotop bileşiğin konsantrasyonu (ng g⁻¹)

Çizelge 3.2 Kalibrasyon çözeltileri konsantrasyon değerleri (µg kg⁻¹)

Bileşikler	A	B	C	D	E
BDE-47	1000	1250	2500	3750	5000
BDE-183	2000	2500	5000	7500	10000
BDE-206	5000	6250	12500	18750	25000
BDE-209	5000	6250	12500	18750	25000
BB-209	5000	6250	12500	18750	25000
BDE-47L	200	200	200	200	200
BDE-183L	400	400	400	400	400
BDE-206L	1000	1000	1000	1000	1000
BDE-209L	1000	1000	1000	1000	1000
BB-209L	1000	1000	1000	1000	1000

Çizelge 3.3 Kalibrasyon grafiğinden elde edilen değerler

Bileşikler	R ²	RF değerleri	RF Değerlerinin % RSD değerleri
BDE-47	0,9979	1,20	5
BDE-183	0,9990	0,92	5,6
BDE-206	0,9988	1,15	8
BDE-209	0,9974	0,95	7,6
BB-209	0,9971	1,11	8,2

RF değerleri 1,25-0,95 arasında olmalıdır. Çünkü IDMS prensibi, analiz ortamına bileşiğin ikizi gibi davranabilecek başka bir bileşik koyarak metodun getirdiği kayıpları elimine etmek üzerinedir. RF faktörünün 1,25-0,95 arasında elde edilmesi ortama koyulan bileşiğin yani izotoplu bileşiğin, ana bileşiğin ikizi gibi davrandığının göstergesidir.

3.2 Örnek Hazırlama Aşaması

Yapılan çalışmada ekstraksiyon işleminde basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (PSE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) yöntemleri denendi fakat daha iyi sonuç verdiği için PSE yöntemi kullanıldı. MAE yöntemine ait yapılan çalışmalar örnek hazırlama metodunun optimizasyonunu gerçekleştirmek adına yapıldığı için bu ekstraksiyon yöntemi uygulamalarına ait bilgiler sonuçlar ve tartışma bölümünde verildi.

3.2.1 Basınçlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu (PSE)

Bu yöntem Şekil 2.6'da görülen otomatik cihazla gerçekleştirildi. PSE yönteminin geliştirilmesinde sıcaklık, basınç, statik zaman, döngü sayısı, çözücü türü ve yüzdesi ve sisteme çözücü gönderim süresi gibi parametreler etkilidir. Bu parametreler üzerinde farklı değerler uygulanarak polipropilen, polietilen ve akrilonitril butadien stiren plastik

malzemeleri içerisindeki BDE-47, BDE-183, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin ekstraksiyonuna yönelik metod geliştirildi.

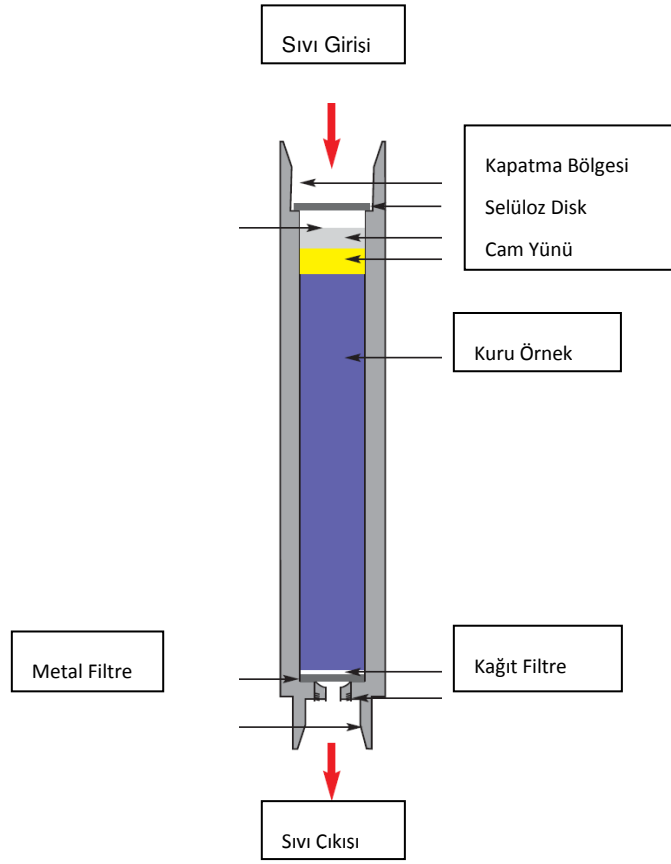
PSE yöntemi uygulanmaya başlamadan önce, örnek, yüzey alanın artırılıp daha verimli ekstraksiyon gerçekleştirmek için kriyojenik öğütücü ile 1 mm tanecik boyutuna sahip hale getirildi. Şekil 3.3’de görülen kriyojenik öğütücüde öğütme gerçekleştirilirken örnek, önce devar içerisine koyulan bir miktar sıvı azot içerisinde 5 dk kadar bekletilip ve uygun bir kaşık veya kepçe yardımıyla mümkün olduğu kadar hızlı bir şekilde yani soğuyan polimerik malzemenin tekrar ısınmasına yol açmayacak bir biçimde öğütücünün besleme kısmından beslenip öğütme gerçekleştirildi.



Şekil 3.3 Kriyojenik öğütücü

Numune kabının hazırlanması aşamasında Şekil 3.4’de görüldüğü gibi, öncelikle cam yünü kabın alt kısmına yerleştirilip üzerine 50 mg örnek koyuldu. Tartılan örnek üzerine IDMS tekniğini uygulamak amacıyla 175 µL izotop standart çözeltisi eklendi. İzotop bileşiklerin çözeltideki konsantrasyonları BDE-47 için 2,5 mg kg⁻¹, BDE-183 için 5 mg kg⁻¹, BDE-209, BDE-206 ve BB-209 için ise 12,5 mg kg⁻¹ dir. Boş kalan kısım yine cam yünü ile doldurularak numune kabının hazırlanması tamamlandı. Burada kullanılan cam yünü, dolgu malzemesi görevi görmektedir. Hazırlanan numune kapları cihaza yerleştirildi. Uygulanan PSE şartları Çizelge 3.4’de verilmektedir. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen numuneler buharlaştırma balonuna aktarılıp ekstraktın çözücüsü döner buharlaştırıcı ile 40 °C de ve uygun vakum altında yaklaşık 1-2 mL kalana kadar buharlaştırıldı. Buharlaştırma sonrasında kalan numune yaklaşık 10 mL izooktan ile yıkanıp amber şişeye alınarak azot altında son miktar 2 g olacak şekilde

buharlaştırma gerçekleştirildi. Cihaza verilmeden önce de örnek önce 0,45 μm daha sonra 0,2 μm 'lik teflon filtreden geçirildi.



Şekil 3.4 Numune kabının doldurulması

Çizelge 3.4 Uygulanan PSE şartları

Polimerik Malzeme	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Statik Zaman (dk)	Döngü Sayısı	Çözücü Türü ve Yüzdesi	Sisteme Çözücü Gönderim Süresi (dk)
PP	80	100	10	3	%100 İzooktan	1
PE	70	100	10	3	%100 İzooktan	1
ABS	70	100	10	3	%100 İzooktan	1

PP ve PE içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin ekstraksiyon metodunun geliştirilmesinde Referans Malzemeler ve Ölçümleri Enstitüsü (IRMM) den temin edilen ERM-EC591 ve ERM-EC590 isimli sertifikalı referans maddeler kullanıldı. Fakat akrilonitril butadien stiren (ABS) içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-209, BB-209 ve BDE-206 bileşiklerinin ve polipropilen (PP) ve polietilen (PE) içerisinde BDE-206 bileşiğinin olduğu bir referans madde mevcut değildir. Bu nedenle bu matrislerde söz konusu bileşiklere ait metodun geliştirilmesi için bileşiklerin plastik malzemelere eklenmesi gerekmektedir. Standart ekleme yöntemini kullanmak amacıyla polimerik malzemeler 1 mm boyutunda öğütülüp, öğütülen malzemenin 50 mg'ı 20 mL toluen içerisinde 120 °C'de 160 rpm hızda 1 saat karıştırılarak çözüldü. Elde edilen homojen polimer çözücü karışımı içerisinde 550 mg ana standart çözelti eklenip karıştırıldıktan sonra karışım, üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak 40 °C lik etüve çözücünün uçup örneğin sabit tartıma ulaşması için koyuldu. Alüminyum folyo kullanımının amacı beherde bulunan karışıma dışarıdan bir maddenin kazara düşmesini engellemektir. Alüminyum folyoya küçük delikler açılarak da çözücünün buharlaşmasına fırsat verecek ortam sağlanmaya çalışıldı. 56 saat sonra örnekler sabit tartıma ulaştı. Metotların

uygulanışında üçerli örneklerle çalışıldı. Sabit tartıma ulaşan örnekler yukarıda açıklandığı şekilde ekstraksiyona tabii tutuldu.

3.3 Metot Validasyonu

PBDE ve PBB bileşiklerinin PP, PE ve ABS matrislerindeki tayinine ilişkin metot geliştirme aşaması tamamlandıktan sonra geliştirilen metodun validasyonu yapıp belirsizlik bütçesi çıkarıldı. Metot validasyonu için doğrusallık/çalışma aralığı, algılama sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), doğruluk, seçicilik ve tekrarlanabilirlik parametreleri incelendi.

3.3.1 Doğrusallık/Çalışma Aralığı

Doğrusallık elde edilen sonuçların analit konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişkide olduğu konsantrasyon aralığıdır. Çalışma aralığı ise metodun uygulanabildiği aralıktır. Çalışılan aralıkta doğrusallığın elde edildiğinin göstergeleri, RF değerlerinin 1,25-0,95 aralığında olması, RF değerlerinin %RSD değerlerinin %10'u geçmemesi ve regresyon katsayılarının (R^2) 0,9950'e eşit veya üstünde olmasıdır. Bu çalışmada söz konusu bileşikler için Çizelge 3.2'de belirtilen en küçük ve en yüksek konsantrasyon değerleri arasında doğrusallık sağlanabildi. Çizelge 3.3'de verilen regresyon katsayıları ve RF değerlerinin hedefleri sağlaması bunun kanıtıdır. Kalibrasyon çözeltileri tartım alınarak Çizelge 3.2'de belirtilen konsantrasyon değerlerinde beş seviyede hazırlandı.

Polipropilen ve polietilende metot geliştirmek için sertifikalı referans malzemeler kullanıldı. Sertifikalı referans malzemelerdeki analitlerin kütle kesri değerleri 87-870 mgkg⁻¹ arasındadır. Bu nedenle çalışma aralığı bu durum göz önünde bulundurularak belirlendi. Fakat LOD ve LOQ değerlerini elde etmek için daha düşük konsantrasyon değerlerinde çalışıldı.

3.3.2 Algılama Sınırı (LOD)/Tayin sınırı (LOQ)

Algılama sınırı, bir ölçüm metodu ile algılanabilen fakat miktarının tespit edilemediği analit derişimidir. Tayin sınırı ise bir ölçüm metodu ile kabul edilebilir kesinlikte ve doğrulukta ölçülebilen en düşük analit derişimidir. Bu iki parametre iki şekilde hesaplanabilir. Bunlardan ilkinde boş örnek içerisine analitler düşük konsantrasyon

değerlerinde eklenir ve bu örnek üzerinde metodun 10 defa uygulamasıyla elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı alınarak LOD, 10 katı alınarak da LOQ hesaplanır. Diğerinde ise kromatografik cihazdan alınan sinyal/gürültü oranının yine 3 katı alınarak LOD, 10 katı alınarak LOQ hesaplanır. Çalışmada, boş örnek içerisine BDE-47 bileşiği için 0,1 mg kg⁻¹, BDE-183 bileşiği için 0,2 mg kg⁻¹, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşikleri için ise 0,5 mg kg⁻¹ kütle kesirlerini elde edecek şekilde standart ekleme yapıldı. Ekleme yapılan örnek üzerinde metod 10 defa uygulandı ve elde edilen sonuçların standart sapmasının 3 katı alınarak LOD değerleri, 10 katı alınarak da LOQ değerleri elde edildi. Sonuçlar Çizelge 3.5’de sunulmaktadır.

Çizelge 3.5 LOD (mg kg⁻¹) ve LOQ (mg kg⁻¹) değerleri

Bileşikler	PP		PE		ABS	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
BDE-47	0,079	0,26	0,090	0,30	0,093	0,31
BDE-183	0,112	0,37	0,149	0,50	0,156	0,52
BDE-206	0,423	1,41	0,430	1,43	0,440	1,47
BDE-209	0,482	1,61	0,489	1,63	0,493	1,64
BB-209	0,463	1,54	0,470	1,59	0,477	1,59

3.3.3 Doğruluk

Doğruluk, ölçülen büyüklük ile ölçülenin gerçek büyüklük değeri arasındaki yakınlıktır. Doğruluğun değerlendirilmesi için ERM-EC591 (polipropilen) ve ERM-EC590 (polietilen) sertifikalı referans maddeleri bir gün içerisinde 6 paralel olarak çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.6’da verilmektedir. Sertifikalı referans maddelere ait sertifikalar EK-A da bulunmaktadır. Geliştirilen metotla elde edilmesi hedeflenen geri kazanım değeri en düşük % 80 dir.

Çizelge 3.6 Sertifikalı referans maddelerin analiz sonuçları

Bileşik	ERM-EC591 (PP)		ERM-EC590 (PE)	
	Geri Kazanım (%)	RSD (%)	Geri Kazanım (%)	RSD (%)
BDE-47	90,0	2,5	92,6	2
BDE-183	90,1	2,3	93,9	2,3
BDE-209	88,7	3,5	93,7	3,4
BB-209	85,5	3,1	89,5	3,2

PP ve PE matrislerinde BDE-206 bileşiğinin ve ABS içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin bulunduğu sertifikalı referans madde olmadığından söz konusu matrislerde hedef bileşiklere ait metodun doğruluğunun değerlendirmesi için standart ekleme yöntemiyle hazırlanmış örnekler üzerinde çalışıldı. Çalışılan doğrusal aralıkta üç farklı konsantrasyon seviyesinde standart ekleme yapıldı. Doğruluğun değerlendirilmesi için çalışılan konsantrasyon seviyeleri, elde edilen geri kazanımlar ve bunların % bağlı standart sapmaları (% RSD) Çizelge 3.7’de verilmektedir.

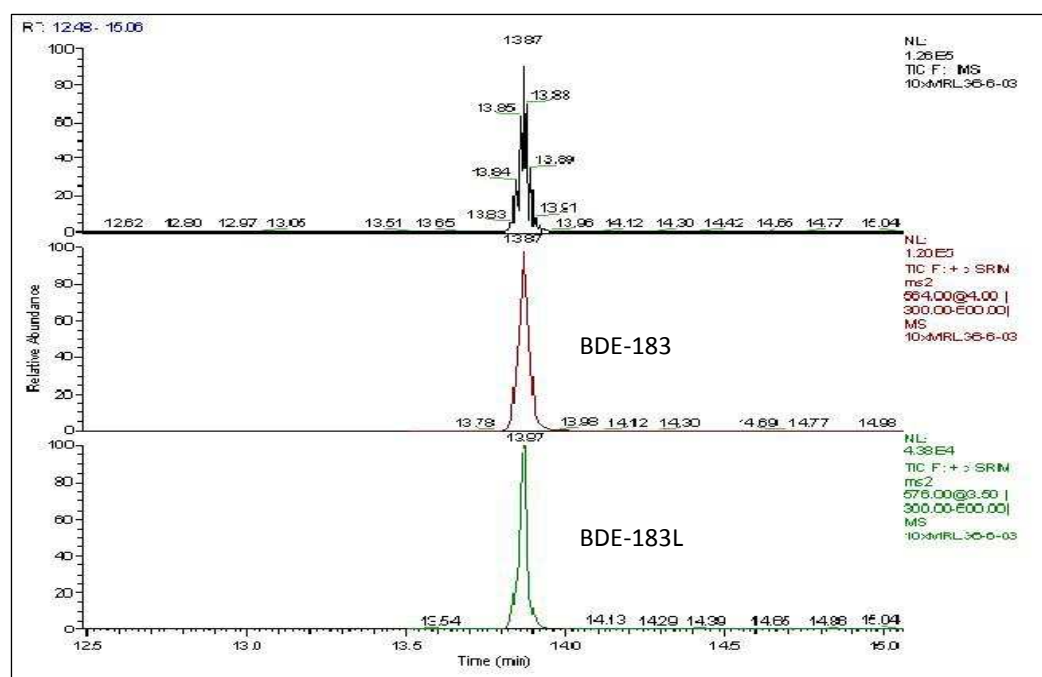
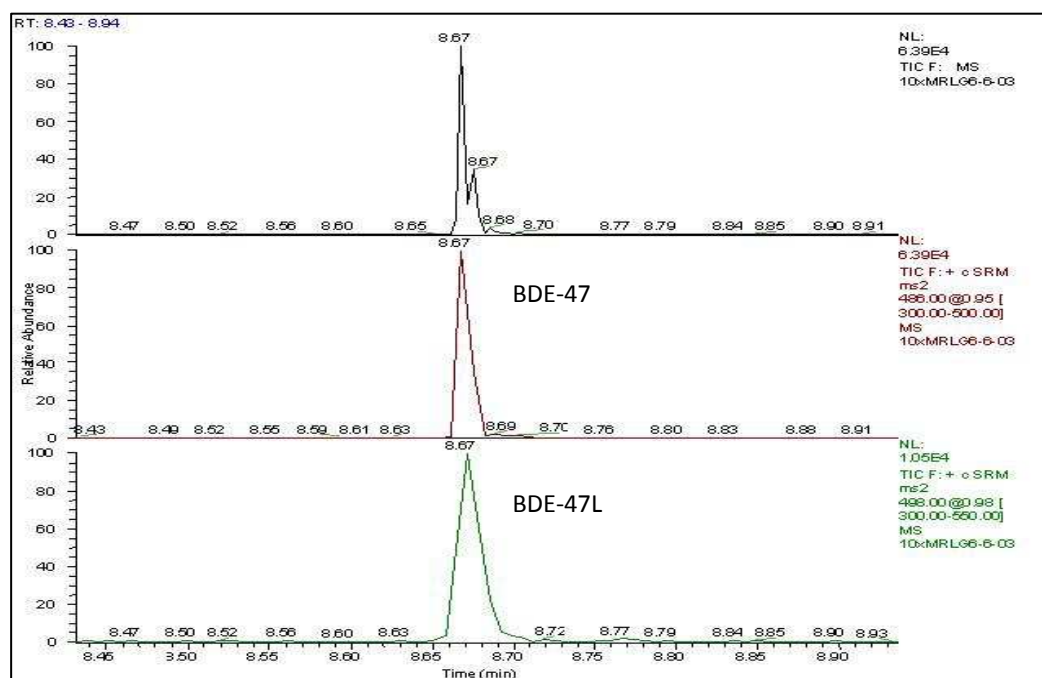
Çizelge 3.7 Standart ekleme yöntemi doğruluk değerlendirme sonuçları

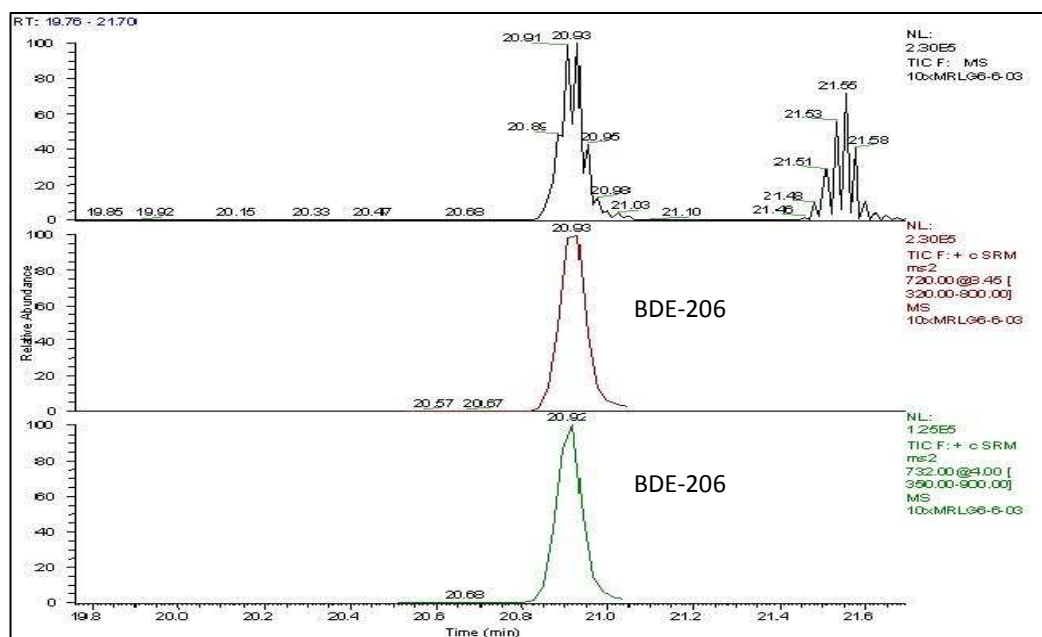
ABS									
Bileşik	Kütle Kesri (mg kg ⁻¹)	Geri Kazanım	RSD (%)	Kütle Kesri (mg kg ⁻¹)	Geri Kazanım	RSD (%)	Kütle Kesri (mg kg ⁻¹)	Geri Kazanım	RSD (%)
BDE-47	1	90,5	4,0	2,5	91,1	3,4	5	88,1	3,2
BDE-183	2	92,5	3,0	5	92,0	3,5	10	86,4	3,1
BDE-206	5	88,5	3,8	12,5	90,2	3,9	25	91,5	3,2
BDE-209	5	80,3	4,8	12,5	79,6	3,8	25	85,9	4,1
BB-209	5	79,8	4,6	12,5	85,1	4,1	25	90,7	3,5
PP									
BDE-206	5	81,3	3,5	12,5	88,2	4,1	25	88,6	3,3
PE									
BDE-206	5	86,5	4,6	12,5	84,3	4,1	25	90,1	3,9

3.3.4 Seçicilik

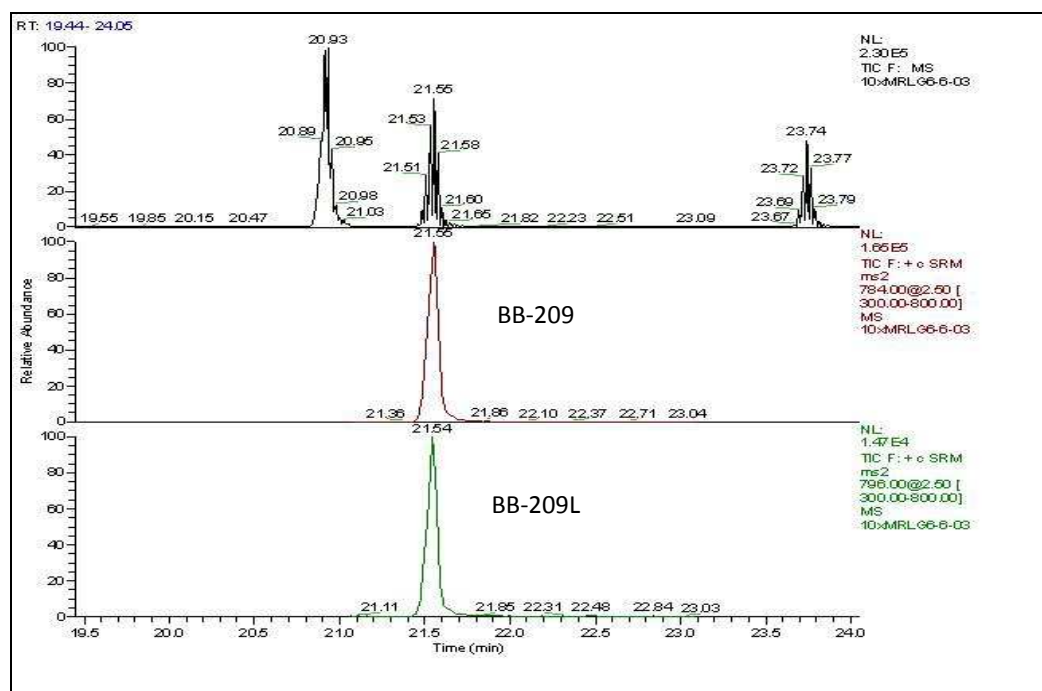
Seçicilik, metodun bir karışım veya bir matrisin içindeki belirli analitleri benzer davranış gösteren diğer bileşimlerin girişimi olmadan belirleme yeteneğini ifade eder. PBDE ve PBB bileşiklerinin tayini için en çok kullanılan cihazlar GC/ECNI-MS, GC/HRMS ve GC/ITMS dir. Bu çalışmada kullanılan cihaz GC/ITMS-MS, iyonlaşma tekniği ise EI-MS dir. EI-MS tekniğinin yanı sıra PBDE ve PBB bileşiklerinin tayininde kullanılan diğer bir teknik ise ECNI-MS tir. Bu teknik EI-MS den daha hassastır, özellikle de yüksek brom derecesine sahip olan bileşikler için, fakat daha düşük bromlu bileşiklerin tayini için izotoplu standartların kullanımına izin vermez ve matriste bulunan diğer bileşiklerin girişim yapma olasılığı daha yüksektir. Bu nedenle bu çalışmada kullanılan iyonlaşma tekniği seçicilik açısından, diğer tercih edilen ECNI-MS teknikten daha avantajlıdır. GC/ITMS in diğer cihazlara göre avantajı ise matris etkilerini daha iyi yok etmesidir. Bu sayede hassasiyeti ve seçiciliği yüksek ve izotoplu bileşiklerle çalışılarak IDMS yönteminin uygulanmasına fırsat verir. Tayin için seçilen kütle değerleri Çizelge 3.1’de verilmektedir.

Standart çözeltiye ve polietilen ekstraktına ait kromatogram Şekil 3.5 ve Şekil 3.6’da verilmektedir. Piklerin simetrik olması girişim yapan maddelerin olmadığına bir göstergesidir.

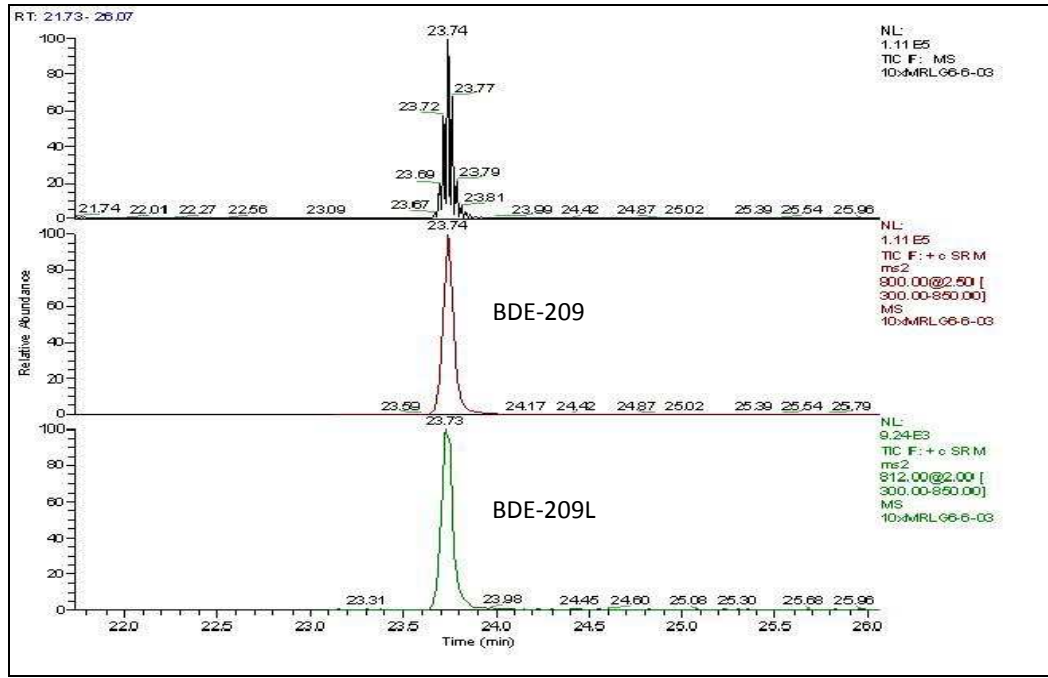




(c) BDE-206

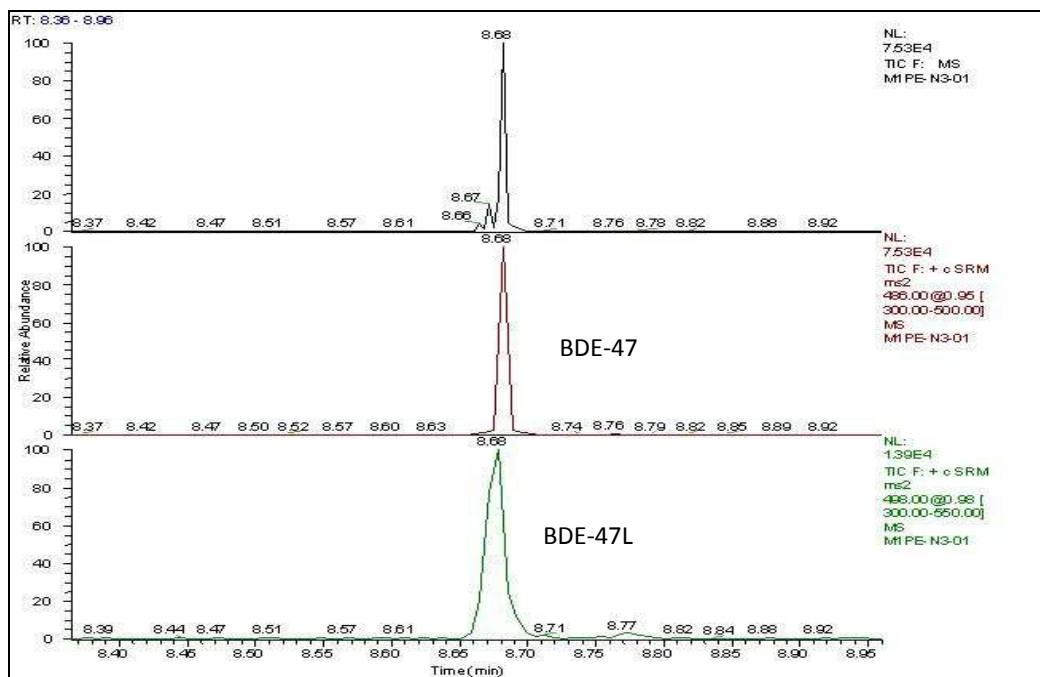


(d) BB-209

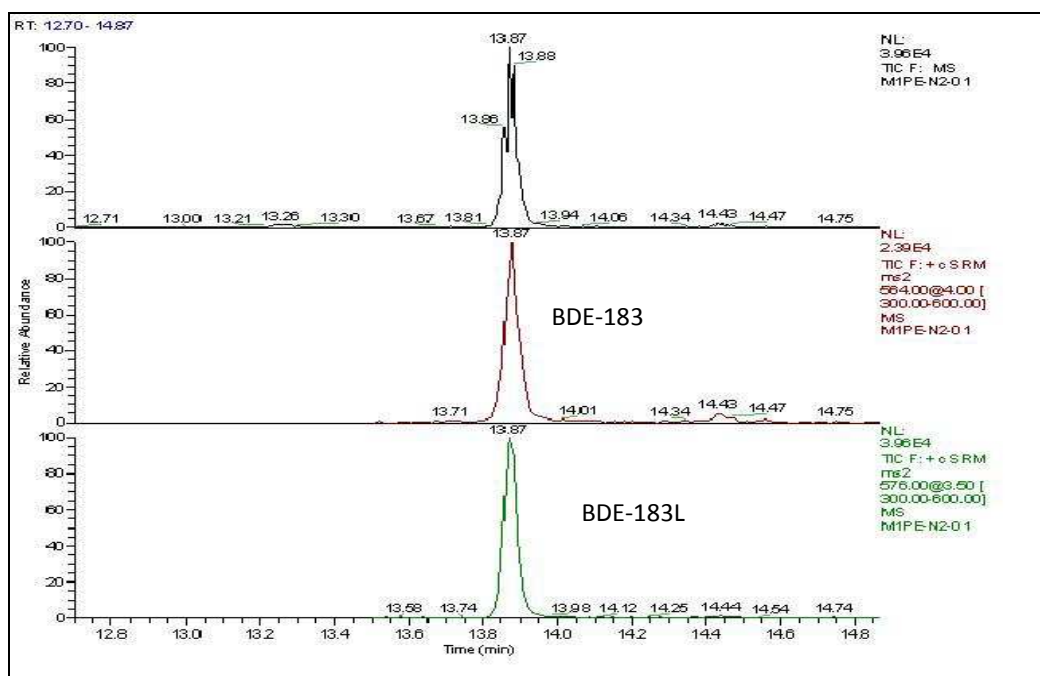


(e) BDE-209

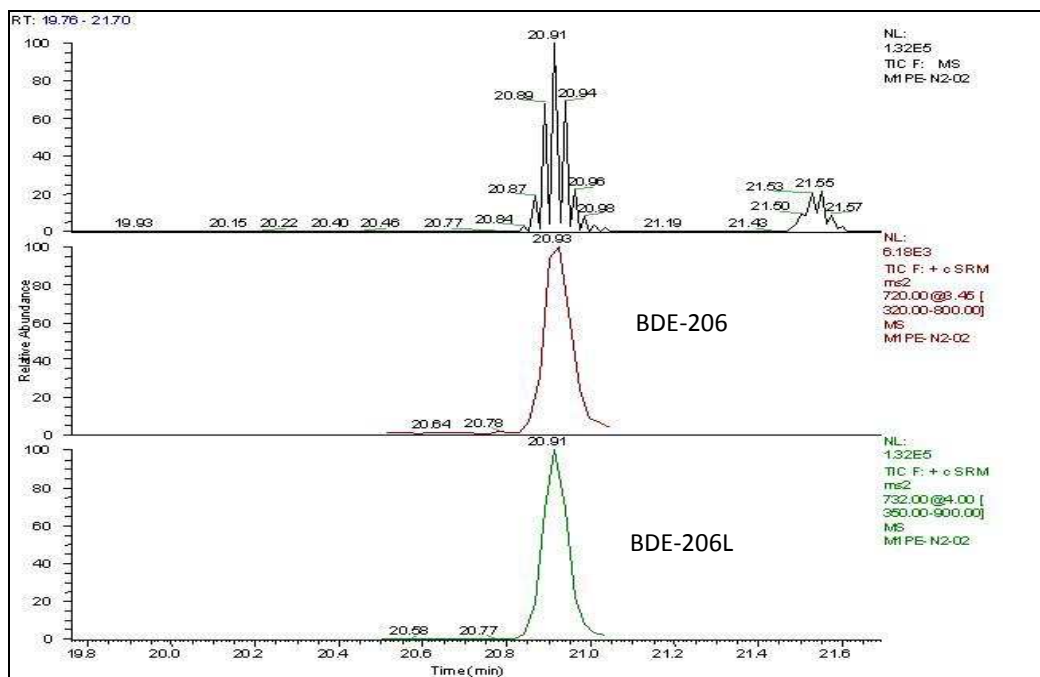
Şekil 3.5 Standart çözelti kromatogramı (a, b, c, d, e)



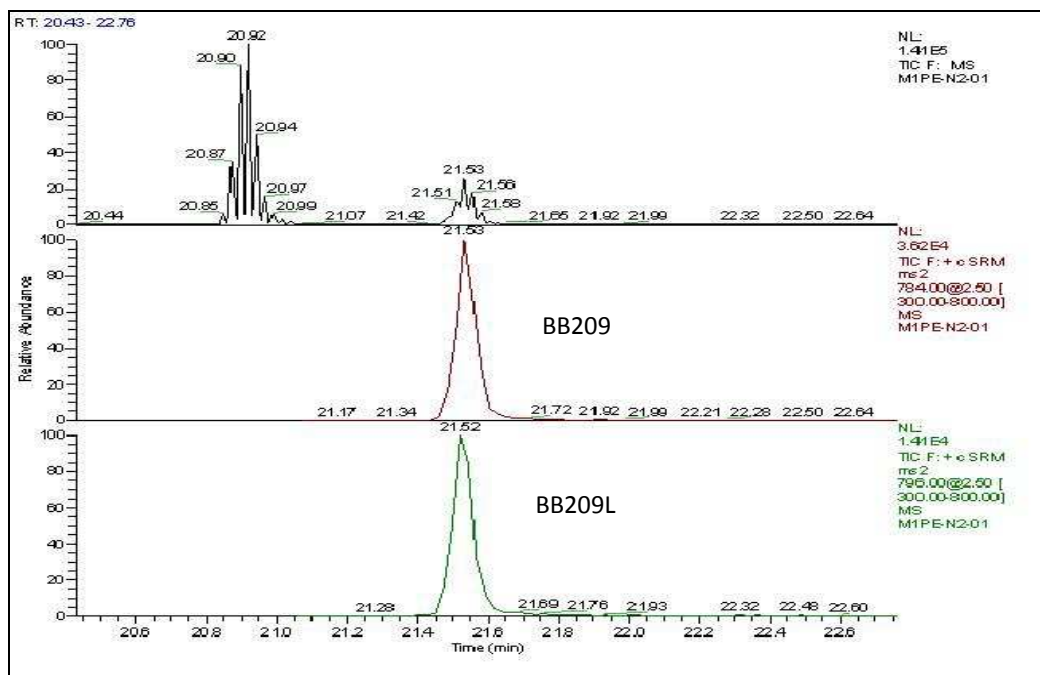
(a) BDE-47



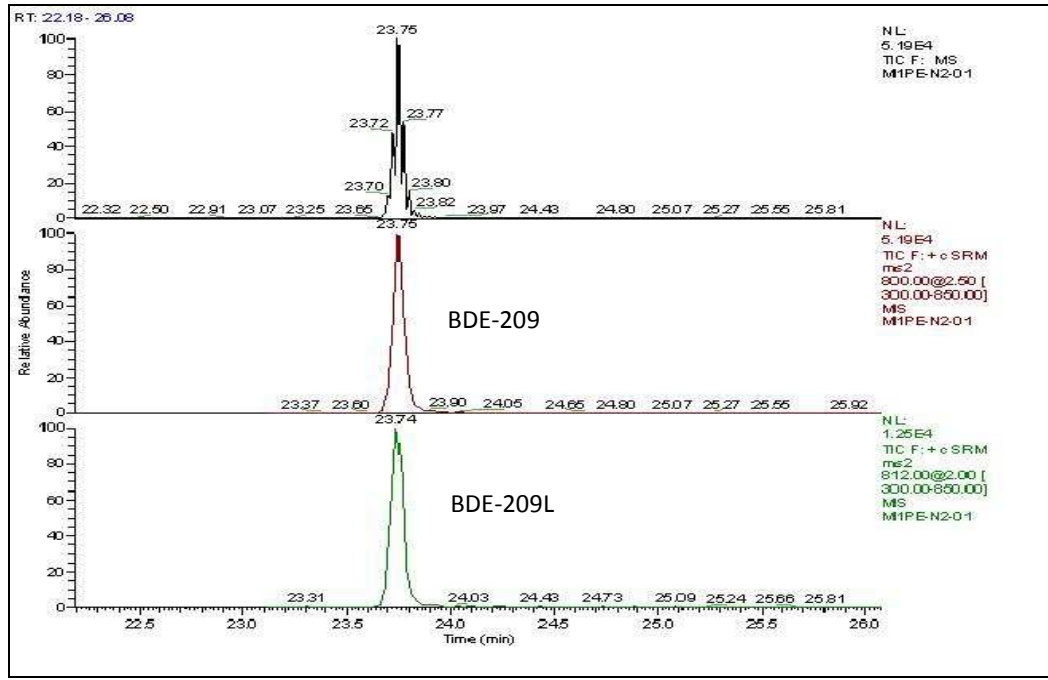
(b) BDE-183



(c) BDE-206



(d) BB-209



(e) BDE-209

Şekil 3.6 Ektrakt kromatogramı (a, b, c, d, e)

Seçicilik için diğer bir ölçüt de örnekteki analitlerin kromatografik pikleri, standart çözeltideki analitlerin pikleri ile aynı zamanda elüe olmasıdır. Bu durumun sağlanabildiği de Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da görülmektedir.

3.3.5 Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik, aynı ölçüm koşulları altında gerçekleştirilen, aynı ölçüm büyüklüğüne ait birbirini izleyen ölçüm sonuçları arasındaki yakınlık derecesidir. Tekrarlanabilirlik değerlendirmesi çalışma aralığının orta seviyesindeki konsantrasyon değerlerinde yapıldı. Bu değerlerde tekrarlanabilirlik üç farklı polimer türünde bir günde üç paralel örnekle 5 gün boyunca metodun uygulanmasıyla gerçekleştirildi. Bu ölçümlerle hem gün içerisindeki tekrarlanabilirlik hem de günler arası tekrarlanabilirlik tespit edildi. Tekrarlanabilirlik ölçüsü yüzde bağıl standart sapma (%RSD) ile ifade edilir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.8'de verilmektedir.

Çizelge 3.8 Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (% RSD)

Bileşik	PP		PE		ABS	
	Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
BDE-47	3,0	4,4	3,9	4,2	3,5	3,8
BDE-183	3,9	3,4	3,6	3,3	3,9	3,6
BDE-206	4,1	3,7	4,2	4,0	3,2	2,9
BDE-209	5,4	4,6	5,7	3,5	5,1	4,5
BB-209	4,9	3,5	4,6	4,4	4,7	3,9

3.1 Belirsizlik Hesaplaması

Geliştirilen metoda ait ölçüm belirsizliğini hesaplamak için aşağıdan yukarı yaklaşım kullanıldı. Belirsizlik kaynakları, kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılmak üzere hazırlanan ana ve izotoplu olmak üzere iki stok çözelti, metot uygulamasının başında örneğe izotoplu standardın eklenmesi, örneğin tartımı, örneğin son miktarının ayarlanması, kalibrasyon grafiği, geri kazanım ve tekrarlanabilirliktir.

3.1.1 Ana ve İzotoplu Standart Stok Çözelti Belirsizliği

Kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasında ana ve izotoplu standart stok çözeltileri hazırlanır. Ana ve izotoplu standart stok çözeltinin hazırlanmasından gelen ölçüm belirsizliği ise ayrı ayrı Eşitlik 3.2 ile hesaplanmaktadır. Çözeltiler tartım alınarak hazırlandı. Ana ve izotoplu standart stok çözeltiye ait standart ölçüm belirsizliği $u_c(Stok)$ şeklinde ifade edilmektedir.

$$\frac{u_c(Stok)}{C_{Stok}} = \sqrt{\left(\frac{u(s)}{s}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2} \quad (3.2)$$

$u_c(\text{Stok})$: Hazırlanan stok çözeltinin standart ölçüm belirsizliği

$u(S)$: Analitin saflığından gelen standart ölçüm belirsizliği

$u(m)$: Tartımdan gelen standart ölçüm belirsizliği

C_{Stok} : Hazırlanan stok çözelti konsantrasyonu

s : Analit saflığı

m : Tartım

Saflık değeri ve buna ait standart ölçüm belirsizliği stok çözeltinin hazırlanmasından kullanılan analitin sertifikasında yer almaktadır. Tartımdan gelen belirsizlik ise Eşitlik 3.3 ile hesaplanır. Tartım işleminde belirsizlik oluşturabilecek iki parametre vardır. Bunlardan biri ölçüm tekrarlanabilirliğinden gelen belirsizlik, diğeri ise terazinin kalibrasyonundan gelen belirsizliktir. Kalibrasyondan gelen belirsizlik üretici firma tarafından verilen terazi sertifikasından elde edilir. Terazi her kullanıldığında bu değer belirsizlik hesaplamasına dahil edilir. Eşitlik 3.3'de görüldüğü gibi bu değer üç defa kullanıldı çünkü aynı terazi, tartım yaparken, hem analitin tartılması, hem çözünün tartılması hem de daranın alınması esnasında kullanıldı. Tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik değeri ise belirsizlik hesaplamalarında bir defa dahil edilir ve bu değer en az 10 seri tartım yapıp sonuçların standart sapması alınarak hesaplanır. Geliştirilen metotta, metoda ait genel tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik hesaplandığı için burada ayrıca hesaplanmadı. Çünkü genel tekrarlanabilirlik belirsizliği tartım işleminin tekrarlanabilirliğinden gelen belirsizliği de kapsamaktadır.

$$u(m) = \sqrt{u_{C_{\text{mbileşik}}}^2 + u_{C_{\text{çözücü}}}^2 + u_{C_{\text{mdara}}}^2} \quad (3.3)$$

$u(m)$: Tartım standart ölçüm belirsizliği

$u_{C_{\text{mbileşik}}}$: Bileşik tartılırken terazi kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliği

$u_{C_{\text{çözücü}}}$: Çözücü tartılırken terazi kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliği

$u_{C_{\text{dara}}}$: Dara tartılırken terazi kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliği

$u_{C_{\text{mbileşik}}}$, $u_{C_{\text{çözücü}}}$ ve $u_{C_{\text{dara}}}$ rakamsal olarak birbirine eşittir.

3.1.2 Eklenen İzotoplu Standart Stok Çözelti Miktarı Ölçüm Belirsizliği

IDMS tekniği uygulandığı için, metottan gelen hataları elimine etmek amacıyla metot uygulanmaya başlamadan önce örneğe bir miktar izotoplu standart stok çözelti eklendi. Ekleme hava sızdırmaz şırınga (Hamilton, USA) ile yapıldı. Böyle bir durumda hacim ölçümünden bir belirsizlik kaynaklanır. Hacimden kaynaklanan standart ölçüm belirsizliği ise Eşitlik 3.4 ile hesaplanır. Bu işlemde üç parametre söz konusudur bunlar; ölçümün tekrarlanabilirliğinden, hacimsel kabın kalibrasyonundan ve hacimsel ölçüm üzerinde etkili olan sıcaklıktan kaynaklanan ölçüm belirsizlikleridir. Kalibrasyondan gelen belirsizlik tartımda olduğu gibi burada da hacimsel kabın üretici firması tarafından verilen ürün sertifikasında bulunmaktadır. Tekrarlanabilirlikten gelen belirsizlik en az 10 seri hacimsel ölçümün yapıp elde edilen sonuçların standart sapması alınarak hesaplanmaktadır. Sıcaklıktan gelen standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 3.5’de olduğu gibi laboratuvar sıcaklık değişimi, ölçülen hacim ve kullanılan çözücünün 20 °C deki hacimsel genleşme katsayısının çarpılıp dağılım faktörüne bölünmesiyle elde edilir. Dağılım faktörü için tecrübelerle dayalı kabul yapılır. Normal dağılımda katsayı 2, dikdörtgen dağılımda $\sqrt{3}$, üçgen dağılımda ise $\sqrt{6}$ dır. Genellikle kabul olarak dikdörtgen dağılım yapılır ve buradaki hesaplamalarda da öyle yapıldı. Sonuç olarak yine tartım işleminde olduğu gibi hacimsel ölçüm için de bu üç parametreye ait standart ölçüm belirsizlikleri Eşitlik 3.4 kullanılarak birleştirilir ve hacim ölçümüne ait belirsizlik değeri elde edilmiş olur. Fakat yine burada da tartımda olduğu sebepten ötürü tekrarlanabilirlikten gelen standart ölçüm belirsizliği işleme dahil edilmedi.

$$u(V_{IS}) = \sqrt{(u_{Vc})^2 + (u_{Vsıcaklık})^2} \quad (3.4)$$

$u(V_{IS})$: İzotoplu standart stok çözelti ekleme hacimsel ölçüm standart ölçüm belirsizliği

u_{Vc} : Hacimsel kabın kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliği

$u_{Vsıcaklık}$: Sıcaklık etkisinden gelen standart ölçüm belirsizliği

$$u(V_{Sıcaklık}) = \frac{\Delta TVQ}{\sqrt{3}} \quad (3.5)$$

V: Ölçülen hacim

Q: Kullanılan çözücünün oda sıcaklığındaki hacimsel genleşme katsayısı

ΔT : Laboratuvar sıcaklık değişimi

3.1.3 Başlangıç ve Son Madde Miktarı Ölçüm Belirsizliği

Geliştirilen metotta başlangıçtaki ve cihaza verilmeden önceki örnek miktarı gravimetrik olarak ölçüldü. Bu durumda yine tartım işleminden bir belirsizlik kaynaklanmaktadır ve bu ölçümlere ilişkin standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 3.6 ve 3.7 ile hesaplanır.

$$u(m_{BM}) = \sqrt{(u_{Cmörnek})^2 + (u_{Cmdara})^2} \quad (3.6)$$

$$u(m_{SM}) = \sqrt{(u_{Cmörnek})^2 + (u_{Cmdara})^2} \quad (3.7)$$

$u(m_{BM})$: Başlangıç maddesi tartımından gelen standart ölçüm belirsizliği

$u(m_{SM})$: Son maddenin tartımından gelen standart ölçüm belirsizliği

$u_{Cmörnek}$: Örnek tartılırken terazi kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliği

u_{Cmdara} : Dara tartılırken terazi kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliği

Diğer kısımlarda olduğu gibi burada da tekrarlanabilirlikten gelen ölçüm belirsizliği toplam tekrarlanabilirlik incelendiği için ihmal edildi.

3.1.4 Kalibrasyon Grafiği Ölçüm Belirsizliği

Oluşturulan kalibrasyon grafiğinden kaynaklanan standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 3.8 ile hesaplanır ve $u(c_0)$ ile ifade edilir.

$$u(c_0) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - C_{ortalama})^2}{S_{xx}}} \quad (3.8)$$

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (C_i - C_{ortalama})^2 \quad (3.9)$$

$u(C_0)$: Kalibrasyon grafiğine ait standart ölçüm belirsizliği

S: Artık standart sapma

B1: Grafikteki eğim

p: Metotta yapılan paralel ölçüm sayısı

n: Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanma sayısı

C_0 : Kalibrasyon grafiği kullanılarak tayin edilen örnek derişimi

$C_{ortalama}$: Hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyonlarının ortalaması

3.1.5 Geri Kazanım Standart Ölçüm Belirsizliği

BDE-47, BDE-183, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin polipropilen ve polietilen polimerik matrikslerindeki geri kazanımının değerlendirilmesi için ERM-EC591 (polipropilen) ve ERM-EC590 (polietilen) sertifikalı referans maddeleri bir gün içerisinde 6 paralel olarak çalışıldı. Fakat polipropilen ve polietilen matrislerinde BDE-206 bileşiği ve akrilonitril butadien stiren içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-206, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin geri kazanımının değerlendirmesi için sertifikalı referans madde olmadığından söz konusu matrikslerde hedef bileşiklere ait standart ekleme yöntemiyle hazırlanmış örnekler üzerinde çalışıldı. Standart ekleme, çalışılan doğrusal aralık göz önüne alınarak bu aralıktaki üç farklı konsantrasyon seviyesinde yapıldı. Üç farklı noktada ekleme yapılan örnekler de bir gün içerisinde 6 paralel olarak çalışıldı ve geri kazanım değerleri elde edildi. Bu işleme ait belirsizlik değeri $u(R_m)$ ile ifade edilir ve Eşitlik 3.10 ile hesaplanır.

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left(\frac{u(C_{göz})}{C_{göz}}\right)^2 + \left(\frac{u(C_{gerçek})}{C_{gerçek}}\right)^2} \quad (3.10)$$

$$R_m = \frac{\overline{C_{göz}}}{C_{gerçek}} \quad (3.11)$$

$u(C_{göz})$: Tekrarlı ölçümler sonucu elde edilen standart ölçüm belirsizliği

$u(C_{gerçek})$: Sertifikalı referans maddenin sertifikasındaki standart ölçüm belirsizliği

$C_{göz}$: Tekrarlı ölçümler sonucu elde edilen ortalama değer

$C_{gerçek}$: Sertifikalı referans maddenin sertifikasındaki ölçülene ait değer

R_m : Ortalamanın geri kazanımı

Buradaki $C_{gerçek}$ değeri sertifikalı referans madde kullanıldığı zaman, bu maddenin sertifikasında verilen konsantrasyon değeri, standart ekleme ile hazırlanan madde kullanıldığında ekleme yapılan maddenin ekleme yapıldıktan sonraki konsantrasyon değeridir. Bu değerlere ait belirsizlik ise $u(C_{gerçek})$ olarak ifade edilir. Sertifikalı referans malzeme için $u(C_{gerçek})$ değeri sertifikadan elde edilir, standart ekleme yöntemiyle hazırlanan malzeme için ise bu değer gravimetrik ekleme yapıldığı için Eşitlik 3.12 ile hesaplanır.

$$u(C_{gerçek}) = \sqrt{u_{Cmörnek}^2 + u_{Cstandart}^2 + u_{Cmdara}^2 + u_{CAS}^2} \quad (3.12)$$

Buradaki u_{Cm} sembolü tartım yapılırken terazinin kalibrasyonundan gelen standart ölçüm belirsizliğini ifade eder. Terazi, örnek, standart ve daranın tartımında kullanıldığı için bu değer üç defa hesaba katılmıştır. $u(C_{gerçek})$ değerinin hesaplanmasında kullanılan bir diğer belirsizlik ise u_{CAS} yani eklenen standart çözeltinin belirsizliğidir.

$C_{göz}$ değeri, gerek sertifikalı referans maddenin gerekse standart ekleme ile hazırlanmış maddenin tekrarlı analizleri sonucunda elde edilen değerlerin ortalaması alınarak hesaplanır. Bu ölçüme ait standart ölçüm belirsizliği ise Eşitlik 3.13'de olduğu gibi elde edilen sonuçların standart sapması alınıp yapılan paralel ölçüm sayısının kareköküne bölünerek hesaplanır.

$$u(C_{göz}) = \frac{SD}{\sqrt{N}} \quad (3.13)$$

Buradaki SD yapılan ölçümlerin standart sapması N ise yapılan ölçüm sayısıdır. Analizler gün içinde 6 defa tekrarlandığı için bu değer 6 dır.

3.1.6 Tekrarlanabilirlik Standart Ölçüm Belirsizliği

Metodun tekrarlanabilirliğinden gelen standart ölçüm belirsizliğini hesaplamak için üç farklı polimer türünde bir günde üç paralel örnekle 5 gün boyunca metot uygulandı. Bu

ölçümlerle hem gün içerisindeki tekrarlanabilirlik hem de günler arası tekrarlanabilirlik tespit edildi. Tekrarlanabilirliğe ilişkin standart ölçüm belirsizliği Eşitlik 3.14 ile hesaplanmaktadır.

$$u(T) = \frac{RSD}{\sqrt{N}} \quad (3.14)$$

Buradaki RSD yapılan ölçümlerin bağıl standart sapması N ise yapılan ölçüm sayısıdır. Analizler gün içinde 3 paralel olmak üzere 5 farklı günde gerçekleştirildiği için N sayısı 15 tir.

3.1.7 Birleşik Standart Ölçüm Belirsizliği ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği

Metoda ait birleşik standart ölçüm belirsizliğini hesaplamak için incelenen tüm parametreler Eşitlik 3.15’de olduğu gibi birleştirilir ve böylelikle metodun birleşik standart ölçüm belirsizliği, $u_{Canalit}$ hesaplanmış olur. Genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri ise raporlamada kullanılan belirsizlik değeridir ve birleşik standart ölçüm belirsizliğinin % 95 güven aralığında kapsam faktörü (k) 2 ile çarpılmasıyla elde edilir.

$$\frac{u_{Canalit}}{C_{analit}} = \sqrt{\left(\frac{u_c(AS)}{C_{AS}}\right)^2 + \left(\frac{u_c(IS)}{C_{IS}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{BM})}{m_{BM}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{SM})}{m_{SM}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{IS})}{V_{IS}}\right)^2 + \left(\frac{u(C_0)}{C_0}\right)^2 + u(R_m)^2 + u(T)^2} \quad (3.15)$$

Buradaki C_{analit} , analite ait konsantrasyon yani ölçüm sonucudur. Çalışılan tüm matrislerde bütün bileşiklere ait ölçüm belirsizliği sonuçları Çizelge 3.9-Çizelge 3.23 arasında verilmektedir.

Çizelge 3.9 Polipropilen içerisinde BDE-47 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6	0,0144	0,002400
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2,5	0,0090	0,003600
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	2,5	0,0760	0,030400
Geri Kazanım	1	0,0059	0,005900
Tekrarlanabilirlik	1	0,0096	0,009553
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,033
Sonuç (mg kg^{-1})	230		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		7,54	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		15,1	
Bağıl belirsizlik (%)		6,55	

Çizelge 3.10 Polipropilen içerisinde BDE-183 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12	0,0144	0,001200
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	5	0,0090	0,001800
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	5	0,0650	0,013000
Geri Kazanım	1	0,0367	0,036700
Tekrarlanabilirlik	1	0,0094	0,009424
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,040
Sonuç (mg kg^{-1})	79		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		3,17	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		6,35	
Bağıl belirsizlik (%)		8,04	

Çizelge 3.11 Polipropilen içerisinde BDE-206 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	12,5	0,0798	0,006384
Geri Kazanım	1	0,0452	0,045170
Tekrarlanabilirlik	1	0,0101	0,010070
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,047
Sonuç (mg kg^{-1})	12,4		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,58	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		1,16	
Bağıl belirsizlik (%)		9,36	

Çizelge 3.12 Polipropilen içerisinde BDE-209 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12,5	0,0650	0,005200
Geri Kazanım	1	0,0452	0,045190
Tekrarlanabilirlik	1	0,0129	0,012910
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,047
Sonuç (mg kg^{-1})	750		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		35,51	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		71,02	
Bağıl belirsizlik (%)		9,47	

Çizelge 3.13 Polipropilen içerisinde BB-209 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12,5	0,0761	0,006088
Geri Kazanım	1	0,0518	0,051800
Tekrarlanabilirlik	1	0,0108	0,010844
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,053
Sonuç (mg kg^{-1})	700		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		37,3	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		74,7	
Bağıl belirsizlik (%)		10,7	

Çizelge 3.14 Polietilen içerisinde BDE-47 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6	0,0144	0,002400
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2,5	0,0090	0,003600
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	2,5	0,0760	0,030400
Geri Kazanım	1	0,0191	0,019100
Tekrarlanabilirlik	1	0,0105	0,010457
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,038
Sonuç (mg kg^{-1})	200		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		7,54	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		15,1	
Bağıl belirsizlik (%)		7,54	

Çizelge 3.15 Polietilen içerisinde BDE-183 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12	0,0144	0,001200
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	5	0,0090	0,001800
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	5	0,0650	0,013000
Geri Kazanım	1	0,0296	0,029600
Tekrarlanabilirlik	1	0,0089	0,008908
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,034
Sonuç (mg kg^{-1})	120		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		4,04	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		8,08	
Bağıl belirsizlik (%)		6,74	

Çizelge 3.16 Polietilen içerisinde BDE-206 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	12,5	0,0798	0,006384
Geri Kazanım	1	0,0472	0,047190
Tekrarlanabilirlik	1	0,0106	0,010586
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,049
Sonuç (mg kg^{-1})	12,4		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,61	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		1,21	
Bağıl belirsizlik (%)		9,77	

Çizelge 3.17 Polietilen içerisinde BDE-209 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12,5	0,0650	0,005200
Geri Kazanım	1	0,0645	0,064500
Tekrarlanabilirlik	1	0,0119	0,011877
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,066
Sonuç(mg kg^{-1})	640		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		42,13	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		84,27	
Bağıl belirsizlik (%)		13,17	

Çizelge 3.18 Polietilen içerisinde BB-209 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12,5	0,0761	0,006088
Geri Kazanım	1	0,0459	0,045890
Tekrarlanabilirlik	1	0,0116	0,011619
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,048
Sonuç (mg kg^{-1})	620		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		29,6	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		59,3	
Bağıl belirsizlik (%)		9,56	

Çizelge 3.19 Akrilonitril butadien içerisinde BDE-47 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6	0,0144	0,002400
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2,5	0,0090	0,003600
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	2,5	0,0760	0,030400
Geri Kazanım	1	0,0151	0,015100
Tekrarlanabilirlik	1	0,0094	0,009424
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,036
Sonuç (mg kg^{-1})	2		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,07	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		0,1	
Bağıl belirsizlik (%)		7,11	

Çizelge 3.20 Akrilonitril butadien içerisinde BDE-183 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12	0,0144	0,001200
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	5	0,0090	0,001800
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	5	0,0650	0,013000
Geri Kazanım	1	0,0390	0,038960
Tekrarlanabilirlik	1	0,0097	0,009682
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,042
Sonuç (mg kg^{-1})	5,6		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,24	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		0,47	
Bağıl belirsizlik (%)		8,46	

Çizelge 3.21 Akrilonitril butadien içerisinde BDE-206 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği (mg kg^{-1})	12,5	0,0798	0,006384
Geri Kazanım	1	0,0388	0,038800
Tekrarlanabilirlik	1	0,0092	0,009166
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,040
Sonuç (mg kg^{-1})	12		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,49	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		0,97	
Bağıl belirsizlik (%)		8,09	

Çizelge 3.22 Akrilonitril butadien içerisinde BDE-209 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12,5	0,0650	0,005200
Geri Kazanım	1	0,0465	0,046500
Tekrarlanabilirlik	1	0,0124	0,012394
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,048
Sonuç(mg kg^{-1})	12,4		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,60	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		1,20	
Bağıl belirsizlik (%)		9,69	

Çizelge 3.23 Akrilonitril butadien içerisinde BB-209 Belirsizlik Bütçesi

Parametreler	Değer (x)	$u(x)$	$u(x)/x$
Ana standart stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	30	0,0144	0,000480
IS stok çözelti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5	0,0090	0,000720
Başlangıç madde miktarı (mg)	50	0,0045	0,000090
Son madde miktarı (g)	2	0,0045	0,002250
Eklenen IS miktarı (μL)	175	0,0270	0,000154
Kalibrasyon Grafiği ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	12,5	0,0761	0,006088
Geri Kazanım	1	0,0496	0,049589
Tekrarlanabilirlik	1	0,0111	0,011103
Bağıl standart ölçüm belirsizliği			0,051
Sonuç (mg kg^{-1})	12,3		
Birleşik standart ölçüm belirsizliği		0,6	
Genişletilmiş belirsizlik (k=2)		1,3	
Bağıl belirsizlik (%)		10,2	

3.2 İzlenebilirlik

Geliştirilen metotta izlenebilirliği sağlamak için yukarıdaki bölümlerde de bahsedildiği gibi metot validasyonu kısmında doğruluk değerlendirmesinde sertifikalı referans maddelerin kullanılması ve bileşiklerin kantitatif tayini için IDMS gibi birincil seviye bir yöntem kullanılması şeklinde işlemler yapıldı. Bu amaç doğrultusunda yapılan bir diğer işlem ise oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin, saflığı bilinen standart ile düzeltilmesinin

yapılmasıdır. Bu işlem, piyasada katı formda elde edilebildiği için BDE-47 ve BDE-183 bileşikleri üzerinde uygulandı.

Bu kimyasalların saflık analizi için katı formdaki standartları satın alınmış izoktan çözücüsü içerisinde çözeltileri hazırlanıp ve qNMR tekniği ile saflık analizleri gerçekleştirildi. Daha sonra saflığı bilinen bu katı kimyasallar ile gravimetrik olarak çözeltiler hazırlanıp ve BDE-47 ve BDE-183 için oluşturulan kalibrasyon grafiğinde düzeltme yapılarak sonuçlar bu düzeltmeye göre değerlendirildi.

NMR deneyleri, CDCl_3 içerisinde ^1H NMR için 599,77 Mhz frekansında, 5mm çok çekirdekli sıvı probun kullanıldığı Varian VNMR-600 Mhz NMR spektrometresinde yapıldı. % 99,9 dötoro atom ile % 0,1 hacim TMS içeren dötoro kloroform (CDCl_3), spektroskopik saflıkta Merck firmasından satın alınıp ve herhangi bir saflaştırma yapılmadan kullanıldı. ^1H NMR deney, sırasıyla 7,4 μs , 90° sinyal genişliği kullanılarak alındı. İç standart olarak NIST SRM 350b kullanıldı. Çalışılan qNMR koşullarında sinyal açısı 90° , tarama sayısı (nt) 32, durulma zamanı (d1) 40 s, sinyalin uygulanma süresi (at) 3.4 s, dönüşüm ölçüsü 64K, spektral genişlik (sw) 9615,4 Hz, çizgi genişliği (lb) 0,3 Hz, sıcaklık 25°C şeklindedir. Eşitlik 3.16 kullanılarak bileşiklere ait saflık değerleri BDE-47 için $99,2 \pm 0,03$ (%), BDE-183 için ise $98,7 \pm 0,02$ (%) olarak bulundu. Elde edilen kromatogramlar Şekil 3.7 ve Şekil 3.8’de görüldüğü gibidir. Kullanın iç standardın Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST) tarafından verilmiş sertifikası da EK-A’da verilmektedir.

$$R_x = \frac{I_x}{I_{std}} \times \frac{N_{std}}{N_x} \times \frac{M_x}{M_{std}} \times \frac{W_{std}}{W_x} \times P_{std} \quad (3.16)$$

P_x : Analitin (X) saflığı [%]

I_x : Analitin seçilen protonuna ait integral alanı

I_{std} : Standardın seçilen protonuna ait integral alanı

N_x : Analitin proton sayısı

N_{std} : Standardın proton sayısı

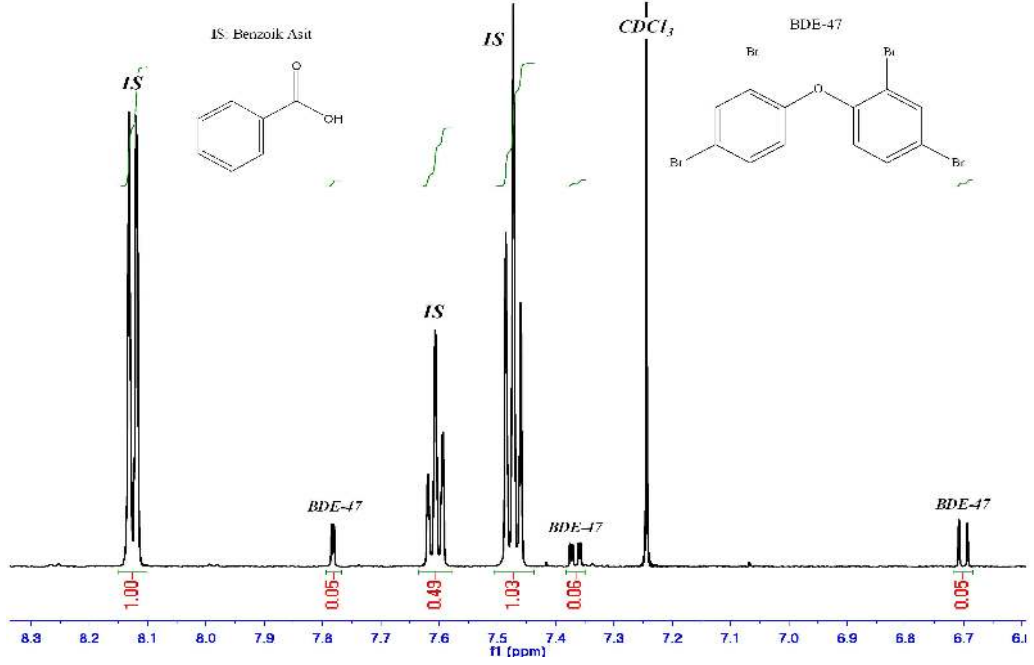
M_x : Analitin moleküler kütlesi [g/mol]

M_{std} : Standardın moleküler kütlesi [g/mol]

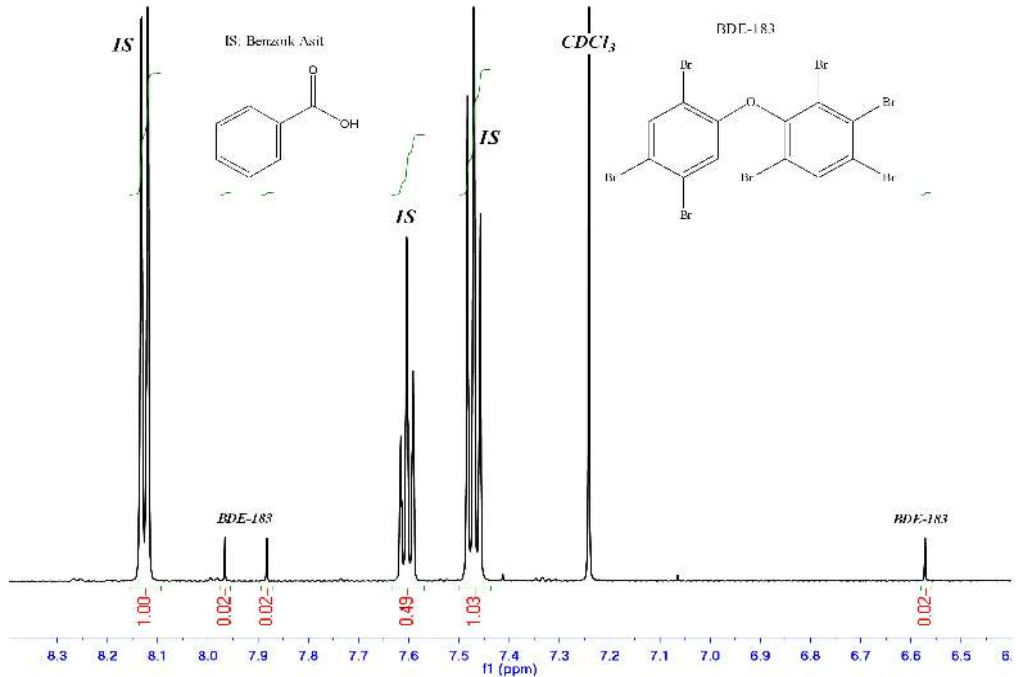
W_x : Analitin gravimetrik ağırlığı [g]

W_{std} : Standardın gravimetrik ağırlığı [g]

P_{std} : Standardın saflığı [%]



Şekil 3.7 BDE-47 qNMR spektrumu



Şekil 3.8 BDE-183 qNMR spektrumu

SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. GC/MS-MS Optimizasyonu

Metotta kullanılan kromatografik program elde edilmeden önce Çizelge 4.1’de verilen sıcaklık programları ve analiz şartları uygulanıp ve 10 numaralı sütundaki sıcaklık programı optimum tayin metodu olarak seçildi. Optimum tayin metodu seçiminde; bileşiklere ait piklerin kromatogramda birbirinden ayrı bir biçimde görüntülenmesi, pik şekillerinin Gauss eğrisi biçiminde olması, çözünürlük, analiz zamanı ve iyonlaşma parametreleri dikkate alındı.

Çizelge 4.1 GC-MS/MS optimizasyonu için çalışılan koşullar

Metot Sayısı	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
İyon Kaynağı Sıcaklığı (°C)	230	230	230	230	230	230	230	230	230	230	230	230
He Sabit Basınç (psi)	6	-	-	-	1	-	-	6	-	-	-	-
He Sabit Akışı (mL dk ⁻¹)	-	1	1,8	1	-	1	1	-	1	1	1	1
Sıcaklık Programı												
ilk Sıcaklık (°C)	140	100	90	100	80	110	100	100	75	120	90	110
Bekleme Zamanı (dk)	2	2	1	1	1	3	1	1	20	2	2	5
2.Sıcaklık (°C)	180	-	-	-	200	200	180	140	-	230	145	200
Bekleme Zamanı (dk)	0	-	-	-	0	0	0	0	-	0	14	4.5
Hızı (mL dk ⁻¹)	10	-	-	-	10	30	20	2	-	15	30	40
3.Sıcaklık (°C)	220	-	-	-	-	-	-	220	-	-	-	-
Bekleme Zamanı (dk)	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-
Hızı (mL dk ⁻¹)	3	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-
Son Sıcaklık (°C)	325	295	340	320	300	330	300	330	330	315	300	325
Bekleme Zamanı (dk)	5	14	2	5	15	1	20	1.2	8	1	1	15
Hızı (mL dk ⁻¹)	10	25	20	25	20	20	5	8	2	5	10	10
SIM (Seçimli İyon Görüntüleme) Modunda İzlenen İyonlar (m/z)	79,81, 487, 489	-	79,81, 487, 489	79,81, 487, 489	79,81, 487, 489	79,81, 487, 489	79,81, 487, 489	79,81,487, 489	79,81, 487, 489	-	-	-
Full Scan (Tam Tarama) Kütle Ağırlığı	-	50-1000	-	-	-	-	-	-	-	50-1000	50-1000	50-1000

MS kısmında bileşiklerin doğru bir biçimde kantitatif tayinlerinin yapılması için bileşiklere ait olan izole edilmiş ürün iyonlarının tam olarak elde edilmesi gerekmektedir. Bunun için de molekül üzerine uygulanan voltaj önemli bir parametredir. Çizelge 3.1’de verilen voltaj değerlerini elde etmeden önce Çizelge 4.2’de verilen voltaj değerlerinde denemeler yapıldı.

Çizelge 4.2 Bileşiklerin ve izotoplarının iyon ürünlerinin belirlenmesi için uygulanan voltaj değerleri

Bileşikler	BDE-47/47L	BDE-183/183L	BDE-206/206L	BDE-209/209L	BB-209/209L
Uygulanan Voltaj Değerleri (V)	2,5/2/1,5/1/0,98 1,2/1/0,95	5,5/2/3/3,5 5,5/2/3/3,5/4	3/4 3/3,45	5,5/4/2,5/2 3/2,5	5,5/4/3/1/0,9 2,5/2/1,5

L=İzotop bileşik

4.2. Örnek Hazırlama Metodu Optimizasyonu

4.2.1. PSE Optimizasyonu

Örnek hazırlama aşamasında amaca uygun olan metodu elde etmeden önce birçok deneme yapıldı. Bunlar Çizelge 4.3’de de görüldüğü gibi %5 Sikloheksan-%95 toluen karışımı, %5 Sikloheksan-%95 İzooktan karışımı ve %100 izooktan olmak üzere üç farklı çözücü türünde, bu çözücü türlerinden %5 Sikloheksan-%95 toluen karışımı için iki farklı sıcaklık (140, 150 (°C)), %5 Sikloheksan-%95 İzooktan için tek bir sıcaklık (120 (°C)) ve %100 izooktan için 5 farklı sıcaklık (50, 60, 70, 80, 90 (°C)) değerinde ve farklı olarak % 100 izooktan çözücüsü için tüm sıcaklık değerlerinde 5 ve 10 dk olmak üzere iki statik zaman koşulu altında çalışmak gibi uygulamalardır.

Çizelge 4.3 Uygulanan PSE metotları

Metot Numarası	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Statik Zaman (dk)	Döngü Sayısı	Çözücü Yüzdesi ve Türü	Sisteme Çözücü Gönderim Süresi (dk)
1	140	100	3	3	%5 Siklohekzan %95 Tolen	1
2	150	110	3	3	%5 Siklohekzan %95 Tolen	1
3	120	100	3	3	%5 Siklohekzan %95 Izooktan	1
4	50	100	5	3	%100 Izooktan	1
5	50	100	10	3	%100 Izooktan	1
6	60	100	5	3	%100 Izooktan	1
7	60	100	10	3	%100 Izooktan	1
8	70	100	5	3	%100 Izooktan	1
9	70	100	10	3	%100 Izooktan	1
10	80	100	5	3	%100 Izooktan	1
11	80	100	10	3	%100 Izooktan	1
12	90	100	5	3	%100 Izooktan	1
13	90	100	10	3	%100 Izooktan	1

Yapılan denemelerden sonra, en uygun koşul olarak çözücü cinsi bakımından % 100 izooktan, statik zaman olarak 10 dk ve döngü sayısı olarak da 3 değerinin uygun olduğu tespit edildi. Sıcaklık bakımından da PP için 80 °C, PE ve ABS için ise 70 °C uygun

görüldü. PP nin aksine PE ve ABS ile daha düşük sıcaklıklarda çalışılmasının sebebi PP ile çalışılan sıcaklıklarda PE ve ABS nin çözünmeye uğraması ve ekstraktta gözle görülür partiküllerin oluşmasıdır. Bu partiküller hem PSE cihazının bozulmasına hem de filtreden geçirilse de GC kolonunun kirlenmesine sebep olmaktadır. Sıcaklık PSE yönteminde kritik bir parametredir. Bu nedenle her bir polimerik malzeme için uygun sıcaklık değerini bulmaya yönelik optimizasyon çalışması yapıldı. Yapılan çalışmadaki koşullar Çizelge 4.4’de sunulmaktadır. Uygun sıcaklık değerinin tespit edilmesinde sıcaklık farklılaşmasına bağlı olarak elde edilen geri kazanım değerleri göz önüne alındı. Bu değerler de Çizelge 4.5’de verilmektedir. Sıcaklığın yükselmesi moleküllerin bir ortamdan diğerine geçişini hızlandırırsa da bileşiklerin bozulmasına sebep olmaktadır çünkü PBDE ve PBB bileşikleri sıcaklıkla bozulan bileşiklerdir. Ekstraksiyon süresince meydana gelen kayıpların etkisi, izotoplu bileşiklerce giderilse de PP için 90 °C’de geri kazanımlarda düşüş gözlemlendi.

Çizelge 4.4 Ekstraksiyon metodu sıcaklık optimizasyonu çalışma şartları

Polimerik Malzeme	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Statik Zaman (dk)	Döngü Sayısı	Çözücü Türü ve Yüzdesi	Sisteme Çözücü Gönderim Süresi (dk)
PP	70	100	10	3	%100 İzooktan	1
	80	100	10	3	%100 İzooktan	1
	90	100	10	3	%100 İzooktan	1
PE	50	100	10	3	%100 İzooktan	1
	60	100	10	3	%100 İzooktan	1
	70	100	10	3	%100 İzooktan	1
ABS	50	100	10	3	%100 İzooktan	1
	60	100	10	3	%100 İzooktan	1
	70	100	10	3	%100 İzooktan	1

Çizelge 4.5 Sıcaklık değerlerine karşılık geri kazanım değerleri (%)

Bileşikler	Sıcaklık Değerleri (°C)		
PP	70	80	90
BDE-47	80,2	92,0	85,3
BDE-183	81,5	90,1	84,1
BDE-206	78,8	89,6	82,3
BDE-209	80,6	88,7	79,6
BB-209	75,3	90,5	81,2
PE	50	60	70
BDE-47	78,5	81,3	94,6
BDE-183	75,9	83,9	93,9
BDE-206	65,1	79,2	92,1
BDE-209	69,4	80,3	93,7
BB-209	72,6	79,5	89,5
ABS	50	60	70
BDE-47	77,8	80,3	90,5
BDE-183	76,9	81,9	92,6
BDE-206	69,0	75,3	88,2
BDE-209	70,8	79,6	87,3
BB-209	71,0	78,5	89,8

Örnek hazırlama aşamasında akrilonitril butadien stiren (ABS) içerisinde BDE-47, BDE-183, BDE-209, BB-209 ve BDE-206 bileşiklerinin ve PP ve PE içerisinde BDE-206 bileşiğinin ekstraksiyon metodunun geliştirilebilmesi için bu polimerik malzemeler içerisine standartların eklenmesi gerekmektedir. Bu amaçla bu malzemeler belirli çözücüler içerisinde, belirli sıcaklıklara belirli sürelerce maruz bırakılarak çözülmeye çalışıldı. Uygulanan şartlar Çizelge 4.6'da verilmektedir. Denemelerden sonra en iyi sonuç 50 mg boş örnek alınıp 20 mL toluen içerisinde 120 °C'de 160 rpm hızda 1 saat karıştırılma koşullarında elde edildi.

Çizelge 4.6 Polimerik malzemeleri çözmeye yönelik yapılan uygulamalar

Uygulama Numarası	Polimer Miktarı (g)	Çözücü Cinsi	Çözücü Miktarı (g)	Sıcaklık (°C)	Karışma Suresi (dk)	Karışma hızı (rpm)
1	1	Toluen	26	110	70	180
2	1	Toluen	17	110	70	180
3	1	Toluen	12	110	55	180
4	1	Toluen	20	120	60	160
5	1	İzooktan	20	110	70	180
6	1	İzooktan	13	110	70	180
7	1	İzooktan	10	110	55	180

4.2.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE)

Polipropilen ve polietilenden BDE-47, BDE-183, BDE-209 ve BB-209 bileşiklerinin ekstraksiyonuna yönelik metod geliştirme çalışmaları kapsamında PSE yönteminin yanı sıra mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) yöntemiyle de uygulamalar yapıldı.

MAE yönteminde mikrodalga enerjisi kullanılarak örnek ile temasta bulunan çözücü ısıtılır ve böylelikle örnek içerisindeki analitler çözücüye geçer. Yine bu sistemde de

basınç uygulanarak çözücünün kaynaması önlenmektedir. Bu yöntemdeki etkili parametreler çözücü cinsi, çözücü miktarı ve sıcaklık programıdır.

Bu işlemde de 0,2 g sertifikalı referans madde numune kaplarına tartıldı. Üzerine önce 45 mg izotop standart çözeltisi ve sonra 10 mL izooktan çözücü olarak eklendi. Hazırlanan numune kaplarının kapakları kapatılarak MAE cihazına yerleştirildi ve belirlenen şartlara göre ekstraksiyon gerçekleştirildi. Uygulanan şartlar Çizelge 4.7’de verilmektedir. İşlem sonunda ekstrakt cam buharlaştırma balonuna aktarıldı ve ekstraktın çözücüsü döner buharlaştırıcı ile yine yaklaşık 3-4 mL kalana kadar 40 °C de uygun vakum altında buharlaştırıldı. Buharlaştırma sonrasında kalan numune izooktan ile yıkanarak 50 mL’lik balon jojeye aktarıldı ve cihaza verilmeden önce bu 50 mL’lik çözeltiden 5 mL alınıp 10 mL’lik balon jojede izooktan ile hacme tamamlanarak ekstraksiyonun son çözeltisi hazırlandı. Örnek GC-MS/MS cihazına verilmeden önce 0.45 µm’lik PTFE filtresinden geçirildi. MAE ile yapılan uygulamalarda PSE deki gibi bir verim elde edilemedi. Elde edilen geri kazanım %40-45 seviyelerindedir.

Çizelge 4.7 Uygulanan MAE metotları

Metot Numarası	Sıcaklık Programı	Çözücü Cinsi	Basınç (bar)	Güç (watt)
1	- Başlangıç: Hız: 10 °C dk⁻¹ Sıcaklık: 100 °C - Birinci Kademe: Hız: 26 Sıcaklık: 130 °C - Bekleme Süresi: 50 dk	Izopropil Alkol/ n-hegzan (1:1)	200	800
2	- Başlangıç: Hız: 8 °C dk⁻¹ Sıcaklık: 80 °C - Birinci Kademe: Hız: 22 Sıcaklık: 110 °C - Bekleme Süresi: 50 dk	Izooktan	200	800

4.3. Metot validasyonu ve Belirsizlik Hesapları

Geliştirilen metodun valide edilmesi için doğrusallık/çalışma aralığı, algılama sınırı(LOD)/tayin sınırı(LOQ), doğruluk, seçicilik ve tekrarlanabilirlik gibi gerekli parametreler incelendi

Çalışılan aralıkta doğrusallığın elde edildiğinin göstergeleri, RF değerlerinin 1,25-0,95 aralığında olması, RF değerlerinin % RSD değerlerinin 10'u geçmemesi ve regresyon katsayılarının (R^2) 0,9950 e eşit veya üzeri olmasıdır. Yapılan çalışmada RF değerleri 1,25-0,95 aralığında, % RSD değerleri 5-8,2 aralığında ve regresyon katsayıları da 0,9971-0,9990 aralığında elde edildi. Bu nedenle geliştirilen metodun istenilen çalışma aralığında doğrusal olduğu ispatlandı.

Literatürde yapılan çalışmalar polistiren plastik malzemesi üzerinedir. Polistirenin camsı geçiş sıcaklığı polipropilen (PP), polietilen (PE) ve akrilonitril butadien stiren (ABS) plastik malzemelerinden daha düşüktür. Bu özellik polistiren üzerinde yapılan ekstraksiyonun verimini artırmaktadır. Verim arttığı için PP, PE ve ABS ile yapılan çalışmalarda elde edilen LOD ve LOQ değerlerinin, polistirenle yapılan çalışmalardan daha yüksek olacağı ön görülerek metot validasyonunda PP, PE ve ABS plastik matrislerinde LOD değerleri 0,05-1 mg kg⁻¹ ve LOQ değerleri ise 0,5-2,5 mg kg⁻¹ aralığında hedef olarak belirlendi. Geliştirilen metotla hedeflenen LOD ve LOQ değerleri sağlanabildi.

Validasyonunda incelenen diğer bir parametre, doğruluk, için ise Referans Malzemeler ve Ölçümleri Enstitüsü (IRMM) den temin edilen ERM-EC591 ve ERM-EC590 kod numaralı sertifikalı referans maddeler kullanıldı. Yapılan çalışmada geliştirilen metodun en az % 85 verim ve % 5 RSD ile çalışabilir olması hedeflendi. Bu hedefin elde edilip edilmediği hem doğruluk çalışmasıyla hem de tekrarlanabilirlik çalışmasıyla incelendi. Bölüm 3'de Çizelge 3.6'da sunulan sonuçlara bakıldığında geliştirilen metodun istenilen başarıyı sağladığı görülmektedir.

Son parametre ise seçiciliktir. Bu parametrede önemli olan analitin bulunduğu matris içerisinde matris bileşenlerden ayırımının güvenilir bir biçimde yapılabilmesidir. Yapılan çalışmada kullanılan cihaz, GC/ITMS-MS, matris etkilerini yüksek oranda

bertaraf etme özelliğine sahip olduğu ve değerlendirmede IDMS tekniği kullanıldığı için geliştirilen metot söz konusu analitler için istenilen seçiciliği sağlayabildi.

4.4. Metodun Piyasadaki Örnekler Üzerinde Uygulanışı

Tez çalışmasında geliştirilen metodun ticari örneklerde uygulaması yapıldı. Uygulama yapılan ürünler saç kurutma makinesi, bilgisayar, tost makinesi, mikrodalga fırın, halı ve elektrik kablolarıdır. Bu amaç doğrultusunda bu materyallerin yapısında kullanılan plastik hammaddeler gerekli kuruluşlardan temin edildi. Hammade üzerinde çalışılmasının sebebi ürünün üretildiği ilk andaki içerdiği PBDE ve PBB konsantrasyonlarını tespit etmektir. Başlangıçta belirtildiği gibi bu bileşiklerin elektriksel ve elektronik cihazlarda en fazla ağırlıkça % 0,1 (1 mg g⁻¹) olarak bulunma zorunluluğu getiren, Avrupa Birliği ve Türkiye’de Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından yayınlanan yönetmelikler vardır. Ürün piyasaya gönderilip bir müddet kullanıldıktan sonra analit içeriği çevre şartlarından ötürü değişmektedir. Değişmesi ya analitin çevreye salınması ya da sıcaklığın etkisiyle başka bileşiklere dönüşmesi şeklinde gerçekleşir. Bu nedenle ürünlerin ilk üretim anındaki PBDE ve PBB konsantrasyonlarını tespit etmek yasalara uygunluğunu anlama açısından daha anlamlıdır.

İlgili kuruluşlardan söz konusu materyallerde kullanılan sekiz PP, altı PE ve dört ABS hammaddesi temin edildi. Elde edilen maddelerin tanecik boyutu metot uygulanmadan önce 1 mm’ye indirildi. Bu işlem için 5’er g madde sıvı azot içerisinde bir müddet bekletilip ve daha sonra öğütücü ile istenilen boyutta öğütüldü. Daha sonra 50 mg öğütülen malzeme, içerisine öncelikle cam yünü konulan basınçlandırılmış çözücü ekstraksiyon (PSE) sisteminin numune kaplarına yerleştirildi, IDMS tekniğinin uygulanması için üzerine şırınga ile her bir bileşiğin izotopunu içeren standart çözelti eklendi. Boş kalan kısım yine cam yünü ile doldurularak numune kabının hazırlanması tamamlandı. Hazırlanan numune kapları cihaza yerleştirilip belirli şartlar altında ekstraksiyon gerçekleştirildi. Ekstraksiyon şartlarındaki değişim plastik malzeme türleri için sadece sıcaklık üzerindedir. PP, PE ve ABS için sırasıyla uygulanan sıcaklıklar 80, 70 ve 70 °C dir. Sıcaklık dışındaki diğer parametreler olan döngü sayısı 3, statik zaman 10 dk, kullanılan çözücü türü ve yüzdesi % 100 izooktan, basınç ise 100 bar’dır. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen numuneler buharlaştırma balonuna aktarılıp

ekstraktın çözücüsü döner buharlaştırıcı ile 40 °C de ve uygun vakum altında yaklaşık 3-4 mL kalana kadar buharlaştırıldı. Buharlaştırma sonrasında kalan numune izooktan ile yıkanarak son miktar 2 g olacak şekilde amber cam şişeye aktarıldı. Örnek önce 0,45 µm ve daha sonra 0,2 µm'lik PTFE filtreden geçirilerek GC-MS/MS cihazına verilmek üzere amber GC şişesine aktarıldı. PBDE ve PBB bileşikleri ışık altında bozunmaya uğradıkları için çalışırken mümkün olduğunca ışığa maruz kalmayı azaltacak koşullarda çalışılmalıdır. Yapılan uygulamada her bir örnek için üçerli tekrarlar çalışıldı. Elde edilen sonuçlar ve bunlara ait % 95 güven aralığındaki genişletilmiş belirsizlik değerleri Çizelge 4.8'de verilmektedir.

Çizelge 4.8 Hammaddelerde tayin edilen PBDE ve BB-209 bileşiklerinin kütle kesirleri (mg kg⁻¹) ± genişletilmiş belirsizlik değerleri

		BDE-47	BDE-183	BDE-206	BDE-209	BB-209
Bilgisayar	PP-3	104,5±6,8	76,1±6,4	101,3±9,4	95,6±9,6	98,9±10,9
	PP-4	108,3±7,1	89,9±7,2	-	81,2±10,1	89,6±9,9
	PP-7	-	90,3±7,2	81,1±7,6	91,6±9,2	92,3±10,1
	PE-2	96,3±7,2	90,1±6,3	95,5±9,3	-	85,6±8,2
	PE-3	83,0±6,2	-	102,3±10,2	97,6±12,7	97,5±9,3
	ABS-4	123,1±8,7	95,1±8,1	108,6±8,8	89,9±8,7	97,3±9,7
Saç Kurutma Makinesi	PP-1	85,6±5,5	-	-	75,2±7,5	-
	PP-2	96,5±6,7	102,5±8,2	91,2±8,7	91,2±9,1	82,9±8,1
	PP-8	91,2±5,2	76,1±6,8	93,2±8,6	80,5±8,5	97,2±10,9
	PE-5	75,5±5,6	68,5±4,6	-	-	-
	PE-6	89,1±6,7	90,1±6,1	102,4±10,1	92,8±12,1	89,1±10,4
Tost Makinesi	PP-5	91,1±5,9	87,5±7,1	100,9±9,5	-	82,1±9,3
	PP-6	95,5±6,2	71,6±5,7	102,5±9,6	91,3±9,1	82,9±9,1
	PE-3	83,2±6,2	-	102,3±10,1	97,6±12,7	97,5±9,3

Çizelge 4.8 Hammaddelerde tayin edilen PBDE ve BB-209 bileşiklerinin kütle kesirleri
(mg kg⁻¹) ± genişletilmiş belirsizlik değerleri (Devam)

		BDE-47	BDE-183	BDE-206	BDE-209	BB-209
Mikrodalga Fırın	PP-5	91,1±5,9	87,5±7,1	100,9±9,1	-	82,1±9,3
	PP-6	95,5±6,2	71,6±5,7	102,5±9,6	91,3±9,1	82,9±9,1
	PE-1	94,5±7,1	81,5±5,5	98,6±9,6	72,3±9,9	-
Halı	PE-2	96,3±7,2	90,1±6,3	95,5±9,3	-	85,6±8,2
	ABS-4	123,1±8,7	95,1±8,1	108,6±8,8	89,9±8,7	97,3±9,7
	ABS-2	89,9±6,4	101,2±8,6	-	79,3±7,7	-
Kablo	PP-3	104,5±6,8	76,1±6,1	100,5±9,5	95,6±9,5	98,9±10,9
	PP-4	108,3±7,1	89,9±7,1	-	81,2±10,1	89,6±9,8
	PE-4	92,1±6,9	-	97,5±9,5	91,1±11,8	90,6±8,7
	ABS-1	87,5±6,2	100,5±8,5	-	85,1±8,2	-
	ABS-2	89,9±6,4	101,2±8,6	-	79,3±7,7	-
	ABS-3	92,6±6,6	98,2±8,4	-	81,5±7,9	-

Yapılan bu çalışmada seçilmiş PBDE ve PBB bileşiklerinin polipropilen, polietilen ve akrilonitril butadien stiren polimerik matrislerinde tayin edildiği valide edilmiş ve belirsizlik bütçesi çıkarılmış analitiksel metot geliştirildi. Geliştirilen metot, piyasada kullanılan ürünlerin yapısında bulunan plastik hammaddeler üzerinde uygulandı. Verilen tablolarda da görüldüğü üzere farklı materyallerde aynı plastik hammadde kullanılmaktadır. Çalışmada analizi yapılan PBDE ve PBB bileşiklerinin toplam değerleri yönetmeliklerce belirlenen 1000 (mg kg⁻¹) değerinden düşük olarak elde edildi.

- [1] Choi, K.I., Lee, S.H., ve Osako, M., (2009). "Leaching of brominated flame retardants from TV housing plastics in the presence of dissolved humic matter", *Chemosphere*, 74:460-466.
- [2] Rahman, F., Langford, K.H., Scrimshaw, M.D., ve Lester, J.N., (2001). "Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants", *The Science of Total Environment*, 275:1-17.
- [3] Sinkkonen, S., Paasivirta, J., Lahtipera, M., ve Vattulainen, A., (2004). "Screening of halogenated aromatic compounds in some raw material lots for an aluminium recycling plant", *Environment International* 30:363-366.
- [4] Vetter, W., Von der Recke, R., Symons, R., ve Pyecroft, S., (2008). "Determination of polybrominated biphenyls in Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisii*) by gas chromatography coupled to electron capture negative ion tandem mass spectrometry or electron ionization high-resolution mass spectrometry" *Rapid Communication Mass Spectrometry*, 22:4165-4170.
- [5] Von der Recke, R., ve Vetter, W., (2008). "Congener pattern of hexabromobiphenyls in marine biota from different proveniences", *Science Total Environment*, 393:358-366.
- [6] Vilaplana, F., Karlson, P., ve Greus, A., R., (2008). "Analysis of brominated flame retardants in styrenic polymers Comparison of the extraction efficiency of ultrasonication, microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction", *Journal of Chromatography A*, 1196:139-146.
- [7] Vilaplana, F., Greus, A., R., ve Karlson, S., (2009). "Microwave-assisted extraction for qualitative and quantitative determination of brominated flame retardants in styrenic plastic fractions from waste electrical and electronic equipment (WEEE)", *Talanta*, 78:33-39.
- [8] Schlummer, M., Brandl, F., Maurer, A., ve Eldik, R., V., (2005). "Analysis of flame retardant additives in polymer fractions of waste of electric and electronic equipment (WEEE) by means of HPLC-UV/MS and GPC-HPLC-UV", *Journal of Chromatography A*, 1064:39-51.
- [9] Pöhlein, M., Bertran, R., U., Wolf, M., ve Eldik, R., V., (2008). "Versatile and fast gas chromatographic determination of frequently used brominated flame retardants in styrenic polymers", *Journal of Chromatography A*, 1203:217-228.

- [10] Ranz, A., Maier, E., Trampitsch, C., ve Lankmayr, E., (2008). "Microwave-assisted extraction of decabromodiphenylether from polymers", *Talanta*, 76:102-106.
- [11] Schlummer, M., Gruber, L., Maurer, A., Wolz, G., ve Eldik, R., V., (2007). "Characterisation of polymer fractions from waste electrical and electronic equipment (WEEE) and implications for waste management", *Chemosphere*, 67:1866-1876.
- [12] Pöhlein, M., Llopis, A., S., Wolf, M., ve Eldik, R., V., (2005). "Rapid identification of RoHS-relevant flame retardants from polymer housings by ultrasonic extraction and RP-HPLC-UV", *Journal of Chromatography A*, 1066:111-117.
- [13] Morf, L., S., Tremp, J., Gloor, R., Huber, Y., Stengele, M., ve Zennegg, M., (2005). "Brominated Flame Retardants in Waste Electrical and Electronic Equipment: Substance Flows in a Recycling Plant", *Environmental Science and Technology*, 39:8691-8699.
- [14] Wang, D., ve Qing, X.L., (2010). "Application of mass spectrometry in the analysis of polybrominated diphenyl ethers", *Mass Spectrometry Review*, 29:737-775.
- [15] Kurly, W.C., ve Papa, A.J., (1991). *Flame retardants in polymeric materials*, Birinci baskı, New York, USA.
- [16] Bergman, A., (1989). "Brominated flame retardants in a global environmental perspectives", *Aromatic flame retardants workshop*, Stokloster, Sweden.
- [17] Danish EPA, (1999). "Brominated flame retardants: substance flow analysis and assessment of alternatives", <http://www.mst.dk/199908pubs/87-7909-416-3>, 07/04/2012.
- [18] Li, K., Fu, S., Yang, Z.Z., ve Xu, X.B., (2008). "Composition, Distribution, and Characterization of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in the Soil in Taiyuan, China", *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 81:588-593.
- [19] Price, D., (1998). "Brominated flame retardants: mechanism of action", *workshop on brominated flame retardants*, Skoklester, Sweden, 24-26 Ekim.
- [20] WHO (World Health Organisation), (1994). "Brominated diphenyl ethers", *Environmental Health Criteria*, 62.
- [21] Allchin, C.R., Law, R.J., ve Morris, S., (1999). "Polybrominated dihenyl ethers in sediments and biota downstream of potential sources in UK", *Environmental Pollution*, 105:197-207.
- [22] De Boer, J., Wester, P., Klammer, H.J.C., Lewis, W.E., ve Boon, J.P., (1998). "Do flame retardants threaten ocean life?", *Nature*, 394:28-29.
- [23] Hurtzinger, O., ve Thoma, H., (1987). "Polybrominated dibenzodioxins and dibenzofurans", *Chemosphere*, 16:1877-1880.
- [24] Peng, X., Tang, C., Yu, Y., Tan, J., Huang, Q., Wu, J., Chen, S., ve Mai, B., (2009). "Concentrations, transport, fate and releases of polybrominated diphenyl

- ethers in sewage treatment plants in the Pearl River Delta, South China", *Environment International*, 35:303-309.
- [25] Johannessen, S.C., Macdonald, R.W., Wright, C.A., Burd, B., Shaw, D.P., ve Roodseelaar, A.V., (2008). "Joined by geochemistry, divided by history: PCBs and PBDEs in Strait of Georgia sediments", *Marine Environmental Research*, 66:112-120.
 - [26] Pulkrabova, J., Hradkova, P., Hajslova, J., Poustka, J., Napravnikova, M., ve Polacek, V., (2009). "Brominated flame retardants and other organochlorine pollutants in human adipose tissue samples from the Czech Republic", *Environment International*, 35:63-68.
 - [27] Kalantzi, O.I., Brown, F.R., Caleffi, M., Goldstein, R.G., ve Petreas, M., (2009). "Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human breast adipose samples from Brazil, *Environment International*" 35:113-117.
 - [28] EEE, (2008). "Elektrikli ve Elektronik Eşyalarda Bazı Zararlı Maddelerin Kullanımının Sınırlandırılmasına Dair Yönetmelik".
 - [29] RoHS, (2003). "Restriction of the use of certain hazardous substances in electrical electronic equipment) Directive 2002/95/EC of the European Parliament and of the Council of 27 January 2003".
 - [30] WEEE, (2003). "Waste Electrical and Electronic Equipment), Directive 2002/96/EC of the European Parliament and of the Council of 27 January 2003".
 - [31] Pringer, O.G., ve Baner, A. L., (2008). *Plastic packaging: interactions with food and pharmaceuticals*, ikinci baskı, Wiley-VCH.
 - [32] Harper, C.A., (2002). *Handbook of plastics, elastomers, composites*, Dördüncü baskı, McGraw-Hill.
 - [33] Rutkowski, J.V., ve Levin, B.C., (1986). "Acrylonitrile-Butadiene-Styrene Copolymers (ABS): Pyrolysis and Combustion Products and their Toxicity-A Review of the Literature", *Fire and Materials*, 10:93-105.
 - [34] Vilaplana, F., Karlsson, P., Ribes-Greus, A., Ivarsson, P., ve Karlsson, S., (2008). "Analysis of brominated flame retardants in styrenic polymers comparison of the extraction efficiency of ultrasonication, microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction", *Journal of Chromatography A*, 1196:139-146.
 - [35] Kaufmann, B., ve Christen, P., (2002). "Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction", *Photochemical Analysis*, 13:105-113.
 - [36] Vilaplana, F., Ribes-Greus, A., ve Karlsson, S., (2009). "Microwave-assisted extraction for qualitative and quantitative determination of brominated flame retardants in styrenic plastic fractions from waste electrical and electronic equipment (WEEE)", *Talanta*, 78:333-339.
 - [37] Junior, D.S., ve Krug, F., J., (2006). "Currents on Ultrasound-Assisted Extraction for Sample Preparation and Spectroscopic Analytes Determination", *Applied Spectroscopy Reviews*, 41:305-321.

- [38] Jurado-Sanchez, B., Ballesteros, E., ve Gallego, M., (2013). "Comparison of microwave assisted, ultrasonic assisted and Soxhlet extractions of N-nitrosamines and aromatic amines in sewage sludge, soils and sediments", *Science of the Total Environment*, 463:293-301.
- [39] Ewing, G.W., (1985). *Instrumental methods of chemical analysis*, Beşinci baskı, McGraw-Hill.
- [40] Nogare, S.D., ve Juvet, R.S., (1962). *Gas-Liquid Chromatography: Theory and Practice*, İkinci baskı, Wiley.
- [41] Harris, W.E., ve Habgood, H., (1966). *Programmed Temperature Gas Chromatography*, Üçüncü baskı, Wiley.
- [42] Akande, W.G., (2012). "A Review of experimental procedures of gas chromatography-mass spectrometry (gc-ms) and possible sources of analytical errors", *Earth Science*, 1:1-9.
- [43] Elceman, G.A., (1994). "Gas chromatography", *Analytical Chemistry*, 66:621-633.
- [44] Robards, K., Haddad, P.R., ve Jackson P.E., (2004). *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, İkinci baskı, Elsevier Academic Press.
- [45] Marriott, P.J., Shellie, R., ve Cornwell, C., (2001). "Gas Chromatographic Technologies for the Analysis of Essential Oils", *Journal of Chromatography A*, 936:1-22.
- [46] Chapman, J.R., (1993). *Practical Organic Mass Spectrometry*, İkinci Baskı, Wiley.
- [47] Skoog, D.A., Holler F.J., Nieman, T.A., Kılıç, E., Köseoğlu, F., ve Yılmaz, H., (1998), *Enstrumental Analiz İlkeleri*, Birinci baskı, Bilim yayıncılık.
- [48] Barcelo, D., (1996). *Applications of LC-MS in Environmental Chemistry*, Birinci baskı, Elsevier Science.
- [49] Bruins, A.P., (1991). "Mass spectrometry with ion sources operating at atmospheric pressure", *Mass Spectrometry Reviews*, 10:53-77.
- [50] March, R.E., (2000). "Quadrupole ion trap mass spectrometry: a view at the turn of the century", *International Journal of Mass Spectrometry*, 200:285-312.
- [51] Schwartz, J.C., Senko, M.W., ve Syka, J. E.P., (2002). "A two-dimensional quadrupole ion trap mass spectrometer", *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 13:659-669.
- [52] Park, M.A., Callahan, J.H., ve Vertes, A., (1994). "An inductive detector for time-of-flight mass spectrometry", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 8:317-322.
- [53] Matz, L.M., Asbury, G.R., ve Hill, H.H., (2002). "Two-dimensional separations with electrospray ionization ambient pressure high-resolution ion mobility spectrometry/quadrupole mass spectrometry", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16: 670-675.

- [54] Covey, T.R., Lee, E.D., ve Henion, J.D., (1986). "Mass Spectrometry for the Determination of Drugs in Biological Samples", *Analytical Chemistry*, 58:2453-2460.
- [55] TS EN ISO/IEC 17025, Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar
- [56] The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Eurachem (1998).
- [57] JCGM 200, International Vocabulary of Metrology-Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM)
- [58] YENISOY-KARAKAŞ, S., (2006). "Validation and uncertainty assessment of rapid extraction and clean-up methods for the determination of 16 organochlorine pesticide residues in vegetables", *Analytica Chimica Acta*, 571:298-307.
- [59] Camino-sanchez, F.J., Zafra-Gomez, A., Perez-Trujillo, J.P., Conde-Gonzalez, J.E., Marques, J.C., ve Vilchez, J.L., (2011). "Validation of a GC-MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction", *Chemosphere*, 84:869-881.
- [60] Park, J.H., Mamun, M.I.R., El-Aty, A.M.A., Na, T.W., Choi, J.H., Ghafar, M.W., Kim, K.S., Kim, S.D., ve Shim, J.H., (2011). "Development and validation of a multiresidue method for determination of 37 pesticides in soil using GC-NPD", *Biomedical Chromatograph*, 25:1003-1009.
- [61] GUM, ISO 1995 Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement
- [62] EURACHEM/CITAC Guide, (2011) Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement
- [63] TUBITAK-Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME), (2013). Metroloji, Birinci baskı, Promat Basım Yayın San. ve Tic. A.Ş. Kocaeli.
- [64] CITAC / EURACHEM GUIDE, (2003), "Traceability in Chemical Measurement"
- [65] Taylor, B., (1995). "Guide for the Use of the International System of Units (SI)", NIST Special Publication 811.
- [66] CITAC / EURACHEM GUIDE, (2002), Guide to Quality in Analytical Chemistry
- [67] EER/RM/062 The selection and use of reference materials; A basic guide for laboratories and accreditation bodies (2002).
- [68] ISO Guide 35, Reference materials-General and statistical principles for certification, (2006)
- [69] Kolthoff, I.M., Treatise on analytical chemistry. Part I. Theory and Practice, edited by I.M. Kolthoff and Philip J. Elving, Birinci baskı, Wiley, New York, NY USA Wiley.
- [70] Beck, C.M., (1997). "II. Toward a revival of classical analysis", *Metrologia* 34:19-30.

- [71] Vetter, T.W., Pratt, K.W., Turk, G.C., Beck II, C.M., ve Butler, T.A., (1995). "Using instrumental techniques to increase the accuracy of the gravimetric determination of sulfate", *Analyst*, 120:2025-2032.
- [72] Mariassy, M., (2000). "Coulometry for Purity Determination. CCQM Primary Methods Symposium: How Far Does the Light Shine?" 4-5 April, BIPM, Sevres, France.
- [73] Felber, H., ve Rezzonico, S. (2000). "Titrimetry: Determination of Copper in a monoelemental standard. Symposium: How Far Does the Light Shine?" 4-5 April, BIPM, Sevres, France.
- [74] Bloch , F., Hansen, W., Packard, M.E., (1946). "Nuclear induction", *Physical Review*, 69:127
- [75] Purcell, E.M., Torrey, H.C., ve Pound, R.V., (1946). "Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid", *Physical Review*, 69:37-38.
- [76] Holzgrabe, U., Diehl, B.W.K., ve Wawer, I., (1998). "NMR spectroscopy in pharmacy", *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 17:557-616.
- [77] Holzgrabe, U., Deubner, R., Schollmayer, C., ve Waibel, B., (2005). "Quantitative NMR spectroscopy applications in drug analysis", *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38:806-812.
- [78] Jancke, H., Malz, F., ve Haesselbarth, W., (2005). "Structure analytical methods for quantitative reference applications", *Accreditation and Quality Assurance*, 10:421-429.
- [79] Bharti, S.K., ve Roy, R., (2012). "Quantitative ^1H NMR spectroscopy", *Trends in Analytical Chemistry*, 35:5-26.
- [80] Weber, M., (2013). "Using high-performance ^1H NMR (HP-qNMR®) for the certification of organic reference materials under accreditation guidelines— Describing the overall process with focus on homogeneity and stability assessment", *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.
- [81] Bharti, S.K., (2012). "Quantitative ^1H NMR Spectroscopy", *Trends in Analytical Chemistry*, 35:5-26.
- [82] Jancke, H., (1998). "NMR spectroscopy as a primary analytical method".- In: PIBM, Comité Consultatif pour la Quantité de Matière, Working documents of the 4th Meeting; CCQM/98-2;1-12.
- [83] Rabinstein, D.L., ve Keire, D.A., (1990). *Quantitative Analysis by NMR*, Üçüncü baskı, New York, USA, 323-369.
- [84] Al Deen, T.S., Hibbert, D.B., Hook, J.M., ve Wells, R.J., (2002). "Quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry-II. Purity of phosphorus-based agrochemicals glyphosate (N-(phosphonomethyl)-glycine) and profenofos (O-(4-bromo-2-chlorophenyl) O-ethyl S-propyl phosphorothioate) measured by H-1 and P-31 QNMR spectrometry". *Analytical Chimica Acta*, 474:125-135.
- [85] Griffiths, L., ve Irving, A.M., (1998). "Assay by nuclear magnetic resonance spectroscopy: quantification limits", *Analyst*, 123:1061-1068.

- [86] Kasler, F., (1973). Quantitative Analysis by NMR Spectroscopy, Birinci baskı, Academic Press, London, UK.
- [87] Watters, R.L., Eberhardt, K.R., Beary, E.S., ve Fassett, J.D., (1997) "Protocol for isotope dilution using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of inorganic elements", *Metrologia*, 34:87-96.
- [88] Milton, M.J.T., ve Wang, J.A., (2002). "High accuracy method for isotope dilution mass spectrometry with application to the measurement of carbon dioxide", *International Journal of Mass Spectrometry*, 218:63-73.
- [89] Brenna, J.T., Corso, T.N., Tobias, H.J., ve Caimi, R.J., (1997). "High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry", *Mass Spectrometry Reviews*, 16:227-258.
- [90] Chan, S., Kong, M.F., Wong, Y.C., Wong, S.K., Sin, ve D.W.M., (2007). "Application of Isotope Dilution Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Analysis of Organochlorine Pesticide Residues in Ginseng Root", *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55:3339-3345.
- [91] Bercaru, O., Ulberth, F., ve Emons, H., Vandecasteele C., (2006). "Accurate quantification of PAHs in water in the presence of dissolved humic acids isotope dilution mass spectrometry", *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 384:1207-1213.
- [92] Webb, K.S., ve Carter D., (1997). "The Role of Isotope Dilution Mass Spectrometry in the Development of Tandem Mass Spectrometry for Quantitative Organic Analysis", *Rapid Communication Mass Spectrometry*, 11:155-158.
- [93] Van Stee, L.L.P., Brinkman, U.A.T., ve Bagheri, H., (2002). "Gas chromatography with atomic emission detection: a powerful technique", *TRAC-Trends in Analytical Chemistry*, 21:618-626.
- [94] Jennings, W., Mittlefehldt, E., ve Stremple, P., (1997). *Analytical gas chromatography*, İkinci baskı, Academic Press, Inc. San Diego, CA USA.
- [95] Mackay, L., (2002). "Personal communication", AGAL-NARL, Sidney, Australia.
- [96] Parriott, D., (1992). *A practical Guide to HPLC Detection*, Academic press, Birinci Baskı, Inc. San Diego, CA USA.
- [97] Abramson, F.P., Black, G.E., ve Lecchi, P., (2001). "Application of high-performance liquid chromatography with isotope-ratio mass spectrometry for measuring low levels of enrichment of underivatized materials", *J Chromatography A*, 913:269-273.
- [98] Paul, G.F., (2001). "A versatile concept for the validation of natural product reference compounds", *Phytochemical Analysis*, 12:28-42.
- [99] Faber, N.M., Bro, R., ve Hopke, P.K., (2003). "Recent developments in CANDECOMP/PARAFAC algorithms: a critical review", *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 65:119-137.
- [100] Ma, T.S., ve Rittner, R.C., (1979). *Modern Organic Elemental Analysis*, Birinci Baskı, Marcel Dekker, Inc. New York, NY USA.

- [101] Ozawa, T., (2000) "Thermal analysis-review and prospect", *Thermochimica Acta*, 355:35-42.
- [102] Herington, E.F.G., (1971). Thermal methods. In: L.A.K. Staveland, ed., *The characterization of chemical purity. Organic compounds*, International Union of Pure and Applied Chemistry, Physical Chemistry Division, Commission on Physicochemical Measurements and Standards, Birinci Baskı, Butterworth & Co. (Publishers) Ltd, London, UK.
- [103] Mader, W.J., (1970). "Phase solubility analysis", *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 1:193-214.
- [104] Smith, G.B., ve Downing, G.V., (1979). "Phase solubility analysis as the basis of a separation method" *Analytical Chemistry*, 51: 2290-2293.
- [105] Grady, L.T., Hays, S.E., King, R.H., Klein, H.R., Mader, W.J., Wyatt, D.K., ve Zimmerer, R.O., (1973). "Drug purity profiles", *J Pharmaceutical Sciences*, 62:456-464.
- [106] Scanlon, J.T., ve Willis, D.E., (1985). "Calculation of flame ionization detector relative response factors using the effective carbon number concept", *J. Chromatographic Science*, 23:333-340.
- [107] Katritzky, A.R., Ignatchenko, E.S., Barcock, R.A., ve Lobanov, V.S., (1994). "Prediction of gas-chromatographic retention times and response factors using a general quantitative structure-property relationship treatment", *Analytical Chemistry*, 66:1799-1807.

SERTİFİKALAR

A-1 ERM-EC590-Polietilen Sertifikalı Referans Madde Sertifikası



CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM® - EC590

POLYETHYLENE		
	Mass Fraction	
	Certified value ² [g/kg]	Uncertainty ³ [g/kg]
Br	2.13	0.09
2,2',4,4'-TetraBDE (BDE-47) ¹	0.23	0.04
2,2',3,4,4'-PentaBDE (BDE-99) ¹	0.30	0.06
2,2',4,4',6-PentaBDE (BDE-100) ¹	0.063	0.016
2,2',4,4',5,5'-HexaBDE (BDE-153) ¹	0.047	0.013
2,2',4,4',5,6'-HexaBDE (BDE-154) ¹	0.026	0.007
2,2',3,4,4',5,6'-HeptaBDE (BDE-183) ¹	0.132	0.012
2,2',3,3',4,4',6,6'-OctaBDE + 2,2',3,4,4',5,6,6'-OctaBDE (BDE-197+204) ¹	0.076	0.015
DecaBDE (BDE-209) ¹	0.65	0.10
DecaBB (BB-209) ¹	0.63	0.10

1) Brominated diphenylethers (BDE) or brominated biphenyls (BB) as obtained by quantification by GC-MS. The numbering is according to the system by Ballschmiter *et al.* (J. high resolut. chrom. 15:260-270).

2) Unweighted mean value of the means of accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified value and its uncertainty are traceable to the International System of Units (SI).

3) The certified uncertainty is the expanded uncertainty estimated in accordance with the Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM) with a coverage factor $k = 2$, corresponding to a level of confidence of about 95 %.

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date: 7. APR. 2009

The minimum amount of sample to be used is 30 mg for Br and the polybrominated flame retardants and 200 mg for Sb.

NOTE

European Reference Material ERM®-EC590 was produced and certified under the responsibility of the IRMM according to the principles laid down in the technical guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-IRMM-LGC. Information on these guidelines is available on the internet (<http://www.erm-crm.org>).

Accepted as an ERM®, Geel, December 2008

Signed:

Prof. Dr. Hendrik Emons
European Commission
Joint Research Centre
Institute for Reference Materials and Measurements
Retieseweg 111
B-2440 Geel, Belgium



All following pages are an integral part of the certificate.

A-2 ERM-EC591-Polipropilen Sertifikalı Referans Madde Sertifikası



CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM® - EC591

POLYPROPYLENE		
	Mass Fraction	
	Certified value ² [g/kg]	Uncertainty ³ [g/kg]
Br	2.08	0.07
2,4,4'-TriBDE (BDE-28) ¹	0.0025	0.0006
2,2',4,4'-TetraBDE (BDE-47) ¹	0.245	0.023
2,2',3,4,4'-PentaBDE (BDE-99) ¹	0.32	0.04
2,2',4,4',6-PentaBDE (BDE-100) ¹	0.066	0.007
2,2',4,4',5,5'-HexaBDE (BDE-153) ¹	0.044	0.010
2,2',4,4',5,6'-HexaBDE (BDE-154) ¹	0.026	0.006
2,2',3,4,4',5,6'-HeptaBDE (BDE-183) ¹	0.087	0.008
2,2',3,3',4,4',6,6'-OctaBDE + 2,2',3,4,4',5,6,6'-OctaBDE (BDE-197+204) ¹	0.052	0.009
DecaBDE (BDE-209) ¹	0.78	0.09
DecaBB (BB-209) ¹	0.74	0.08

1) Brominated diphenylethers (BDE) or brominated biphenyls (BB) as obtained by quantification by GC-MS. The numbering is according to the system by Ballschmiter *et al.* (J. high resolut. chrom. 15:260-270).

2) Unweighted mean value of the means of accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified value and its uncertainty are traceable to the International System of Units (SI).

3) The certified uncertainty is the expanded uncertainty estimated in accordance with the Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM) with a coverage factor $k = 2$, corresponding to a level of confidence of about 95 %.

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date: 7. APR. 2009

The minimum amount of sample to be used is 30 mg for Br and the polybrominated flame retardants and 200 mg for Sb.

NOTE

European Reference Material ERM®-EC591 was produced and certified under the responsibility of the IRMM according to the principles laid down in the technical guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-IRMM-LGC. Information on these guidelines is available on the internet (<http://www.erm-crm.org>).

Accepted as an ERM®, Geel, December 2008

Signed:

Prof. Dr. Hendrik Emons
European Commission
Joint Research Centre
Institute for Reference Materials and Measurements
Retieseweg 111
B-2440 Geel, Belgium



All following pages are an integral part of the certificate.

A-3 Benzoik Asit Sertifikasi



National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material[®] 350b

Benzoic Acid (Acidimetric)



This Standard Reference Material (SRM) consists of highly purified benzoic acid ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$). SRM 350b is intended for use in acidimetric standardization and is supplied in a unit of 30 g.

Certified Values and Uncertainties: The certified values, reported in Table 1 as a mass fraction ($w_{\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}}$) and amount-of-substance content of H^+ ion (n_{H^+}), are based on coulometric assays of the dried material (see "Drying Instructions") including the effects of air buoyancy. The certified values are based on the results of determinations from 12 randomly selected bottles from the entire lot of SRM 350b. Each determination was obtained by coulometric acidimetric titration [1] to the inflection point (pH ca. 8.15).

Table 1. Certified Values for SRM 350b Benzoic Acid

$w_{\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}}$	$99.9978 \% \pm 0.0044 \%$
n_{H^+}	$8.188\,40 \text{ mol kg}^{-1} \pm 0.000\,26 \text{ mol kg}^{-1}$

The uncertainties in Table 1 are expanded uncertainties, U , calculated as $U = k u_c$, where k is a coverage factor that governs the confidence level of U and u_c is the combined standard uncertainty calculated according to the ISO and NIST Guides [2]. The quantity u_c represents, at the level of one standard deviation, the potential combined effects of the uncertainty arising from instrumental sources, chemical interferences, and uncertainties in fundamental constants, and possible material inhomogeneity. The value of k is calculated from the effective degrees of freedom, ν_{eff} . The value $k = 1.96$, corresponding to $\nu_{\text{eff}} > 1000$, was used to obtain the cited value for U for $w_{\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}}$. The value $k = 1.97$, corresponding to $\nu_{\text{eff}} = 437$, was used to obtain the certified value of U for n_{H^+} . The coverage factors were each chosen to obtain an approximate 95 % level of confidence.

Expiration of Certification: The certification of this SRM is valid until **01 July 2015**, within the measurement uncertainties specified, provided the SRM is handled and stored in accordance with the instructions given in this certificate. However, the certification is invalid if the SRM is damaged, contaminated, or modified.

Maintenance of Certification: NIST will monitor representative samples from this SRM lot over the period of its certification. If substantive changes occur that affect the certification before the expiration of certification, NIST will notify the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

The coordination of the technical measurements leading to the certification of this SRM was performed by K.W. Pratt of the NIST Analytical Chemistry Division.

Stephen A. Wise, Chief
Analytical Chemistry Division

Gaithersburg, MD 20899
Certificate Issue Date: 16 December 2005

Robert L. Waters, Jr., Chief
Measurement Services Division

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Burcu Binici
Doğum Tarihi ve Yeri : 13/06/1982- İstanbul
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta :burcu.binici@tubitak.gov.tr/burcu_binici@yahoo.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Mühendisliği	Kocaeli Üniversitesi	2008
Lisans	Kimya Mühendisliği	Kocaeli Üniversitesi	2004
Lise	Fen Bilimleri	Neşet Yalçın Süper Lisesi	2000

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2006-Devam ediyor	TÜBİTAK/UME	Araştırmacı
2004-2005	University of Southern Missi.	Ziyaretçi Araştırmacı

YAYINLARI

Makale

1. B. Binici, S. Yenisooy-Karakas, M. Bilsel, N. Durmaz-Hilmioglu; "Sources of polycyclic hydrocarbons and pesticides in soluble fraction of deposition samples in Kocaeli, Turkey"; Environmental Science and Pollution Research (In press), 2013.
2. L.I. Majoros, R. Lava, M. Ricci, B. Binici, F. Sandor, A. Held, H. Emons; "Full method validation for the determination of hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene in fish tissue by GC-IDMS" Talanta, 116, 251-258, 2013.
3. B. Binici, M. Bilsel, M. Karakas, İ. Koyuncu, A.C. Gören; "An efficient GC-IDMS method for determination of PBDEs and PBB in plastic materials"; Talanta, 116, 417-426, 2013.
4. J.A. Pojman, V. Viner, B. Binici, S. Lavergne, M. Winsper, D. Golovaty, L. Gross; "Snell's law of refraction observed in thermal frontal polymerization"; CHAOS, 17, 033125, 2007.
5. B. Binici, D.I. Fortenberry, K.C. Leard, M. Molden, N. Olten, S. Popwell, J.A. Pojman; "Spherically-Propagating Thermal Polymerization Fronts"; Journal of Polymer Science, 44, 1387-1395, 2006.

Bildiri

1. A. İşleyen, F. Akçadağ, B. Arı, B. Binici, F.G. Coşkun, A. Şimşek, Kayısıda Kükürt Dioksit (SO₂) Sertifikalı Referans Malzemesi Üretimine Yönelik Çalışmalar, XXVI. Ulusal Kimya Kongresi, 1-6/10/2012, Fethiye/Muğla.
2. B. Binici Gokcen, L.I. Majoros, M. Ricci, A. Held, H. Emons, "Hexachlorobenzene and Hexachlorobutadiene in Fish Tissue: Method Development for Implementation of the Water Framework Directive", Dioxin2011, 21-25/08/2011, Brussels/Belgium
3. L.I. Majoros, M. Ricci, B. Binici Gokcen, H. Emteborg, A. Held, H. Emons, "Development of a New Candidate Certified Reference Material for Biota Monitoring of Hexachlorobenzene and Hexachlorobutadiene", Dioxin2011, 21-25/08/2011, Brussels/Belgium
4. B. Binici, M. Bağış, G. Bilsel, M. Bilsel, A.C. Gören, "Yeşil Çayda Klorlu Pestisit Tayin Metodunun Geliştirilmesi ve Türkiye'de Satışa Sunulan Örneklerde Uygulamasının Yapılması" VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 74, 3-7/09/2012, Antakya/Hatay.
5. B. Gökçen, M. Bağış, M. Bilsel, İ. Koyuncu, A.C. Gören, "Plastik Madde İçerisinde PBDE ve PBB Tayini", 25. Ulusal Kimya Kongresi, Erzurum-2011
6. B. Binici; F. Akçadağ, "Determination of Organochlorine Pesticide in Tomato and Evaluation of Proficiency Testing Results", 19th Symposium IMEKO, Eylül 2009, Lisbon, Portekiz.

7. B. Binici, S.Y. Karakaş, N.D. Hilmioğlu, “PAH ve Pestisit bileşiklerinin atmosferik çökmesi ve faktör analizinin uygulanmasıyla kirlenici kaynaklarının belirlenmesi”, Çevre Sorunları Sempozyumu Kocaeli-2008, 39, 2008.
8. B. Binici, S.Y. Karakaş, N.D. Hilmioğlu, “Yağmur suyunda PAH ve Pestisit Tayini ve Kaynak Tespiti”, 21. Ulusal Kimya Kongresi, 2007.
9. J.A. Pojman, V. Viner, B. Binici, S. Lavergne, M. Winsper, D. Golovaty, L. Gross; “Snell’s law of refraction observed in thermal frontal polymerization”; CHAOS, 17, 033125, 2007.
10. B. Binici, D.I. Fortenberry, K.C. Leard, M. Molden, N. Olten, S. Popwell, J.A. Pojman; “Spherically-Propagating Thermal Polymerization Fronts”; Journal of Polymer Science, 44, 1387-1395, 2006.
11. B. Binici and J. A. Pojman, “In-Situ Fabrication and Repair”; Mississippi Academy of Sciences, Oxford MS, USA, Aralık 2004

Proje

1. EMRP-ENV-08 WFD Traceable measurements for monitoring critical pollutants under the European Water Framework Directive, 2011-2013
 2. Araştırma Projesi, (TÜBİTAK-1001) “Plastik Madde İçerisinde PBDE ve PBB Tayini” 2010-2012
 3. Uluslararası Proje, “TR080209-Kimyasal ve İyonlaştırıcı Radyasyon Metrolojisi Alt Yapılarının Geliştirilmesi”, IPA-EU, 2009-2012
 4. Endüstri Projesi “Akaryakıtlar için ulusal marker sisteminin geliştirilmesi ve sürekli güncellenmesi” EPDK, Ankara, 2006-Devam ediyor.
-