Benzoik Asit
Sertifikalı Referans Malzemesi
UME CRM 1504

Kemal ÖZCAN
Dr. Lokman LİV
Dr. Erinç ENGİN
Dr. İlker ÜN
Dr. Murat TUNÇ
Dr. Aylin BOZTEPE
Dr. Tanıl TARHAN
Dr. Tuğba DIŞPINAR GEZER
Gökhan AKTAŞ
Hüseyin KAYA
Dr. Alper İŞLEYEN
Zeynep GÜLSOY ŞERİF
Dr. Şükran AKKUŞ ÖZEN
Gürol KONİ

Tarih
16.02.2024

Doç. Dr. Mustafa ÇETİNTAŞ
Enstitü Müdürü (V.)

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER 2
KISALTMALAR 3
ÖZET 4
GİRİŞ 5
KATILIMCILAR 8
MALZEME İŞLEME 8
HOMOJENLİK 8
KARARLILIK 10
KARAKTERİZASYON 12
ÖZELLİK DEĞERLERİNİN VE BELİRSİZLİKLERİNİN ATANMASI 13
İZLENEBİLİRLİK 13
KULLANIM TALİMATI 14
KAYNAKLAR 15
REVİZYON TARİHÇESİ 16
EKLER 17
EK 1. Homojenlik Grafikleri 17
EK 2. Kısa Dönem Kararlılık Grafikleri 18
EK 3. Uzun Dönem Kararlılık Grafikleri 20
EK 4. Karakterizasyon Verileri 21

KISALTMALAR

ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
BA	Benzoik asit
J/g	Joule/gram
KDK	Kısa dönem kararlılık
ISO	Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu
$MS_{Between}$	Üniteler arası kareler ortalaması ANOVA
MS_{within}	Ünite içi kareler ortalaması ANOVA
n	Ünite içi tekrar sayısı
PT	Potansiyometrik titrasyon
qNMR	Nicel Nükleer Manyetik Rezonans
RSD	Bağıl standart sapma
s	Standart sapma
s_{bb}	Üniteler arası standart sapma
SI	Uluslararası Birimler Sistemi
SRM	Sertifikalı Referans Malzeme
u_{bb}	Olası üniteler arası heterojenliğe bağlı standart belirsizlik
u^*_{bb}	Metot tekrarlanabilirliğince gizlenmiş heterojenliğin standart belirsizliği
u_{char}	Karakterizasyona bağlı standart belirsizlik
$u_{char,rel}$	Karakterizasyona bağlı bağıl standart belirsizlik
UDK	Uzun dönem kararlılık
u_{lts}	Uzun dönem kararlılığa bağlı standart belirsizlik
$u_{lts,rel}$	Uzun dönem kararlılığa bağlı bağıl standart belirsizlik
u_{rect}	Üniteler arası heterojenliğin dikdörtgen dağılım ile modellenmiş standart belirsizliği
$u_{rect,rel}$	Üniteler arası heterojenliğin dikdörtgen dağılım ile modellenmiş bağıl standart belirsizliği
u_{sts}	Kısa dönem kararlılığa bağlı standart belirsizlik
$u_{sts,rel}$	Kısa dönem kararlılığa bağlı bağıl standart belirsizlik
$v_{MSwithin}$	MS_{within} serbestlik derecesi

ÖZET

Maddelerin enerjilerinin hesaplanmasında kalorimetreler kullanılmaktadır. Kalorimetrelerde yapılan ısıl değer ölçümlerinin doğruluğundan emin olmak için ısıl değeri bilinen referans malzeme olarak benzoik asit (BA) maddesi kullanılmaktadır. Maddelerin gerçek ısıl değerlerinin tam olarak belirlenmesi bu malzemelerin saflığına da bağlıdır.

Kalorimetre, yakıtların kontrollü bir ortamda yakılması ile açığa çıkan enerjinin miktarını ölçmek için kullanılan sisteme denir. Sistem, homojen olarak karıştırılan bir sıvıya, yanma reaksiyonunda meydana gelen ısı enerjisinin aktarılmasıyla, sıvıda oluşan sıcaklık artışının ölçülmesi prensibi ile çalışır.

Kalorimetrelerin belirli zaman aralıklarında ısıl değeri bilinen referans malzemelerle kalibrasyonu yapılmaktadır. Bu, kalorimetrelerde yapılan ölçümlerin güvenilir ve tekrarlanabilir olmasını sağlamaktadır.

Maddelerin enerji değerlerinin doğru bir şekilde ölçülmesi önemlidir. Bununla ilgili olarak ülkemizde enerji, gıda, tekstil, ilaç vb. sektörlerde kullanılan alanla ilgili olarak maddelerin enerjileri ölçülmektedir. Benzoik asit sertifikalı referans malzemesi de yurt dışındaki üreticilerden temin edilmektedir. Bu da hem pahalıya mal olmakta hem de temininde zaman zaman güçlük çekilmesine neden olmaktadır.

Ülkemizde çok sayıda ısı değerleri ölçümü alanında akredite olmuş kuruluş faaliyet göstermektedir. Bu kuruluşların BA sertifikalı referans malzemesine olan ihtiyaçlarının ülke içinden karşılanması, ölçüm birliğinin ve izlenebilirliklerinin sağlanması bu referans malzemenin üretilmesi için motivasyon olmuştur.

Referans malzemenin üretimi temel olarak malzeme işleme, homojenlik, kısa dönem ve uzun dönem kararlılık, karakterizasyon, değer atama ve sertifika sonrası izleme tespiti aşamalarından oluşmaktadır.

GİRİŞ

Isıl Değer Ölçümleri

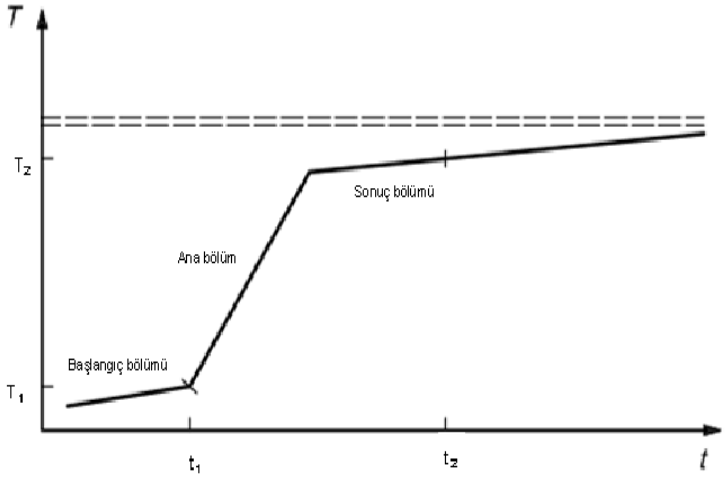
Kimyasal tepkimelerin, tepkime ısılarının deneysel olarak belirlenmesi için "kalorimetre" kullanılır. Kalorimetre, dış ortamla ısı alışverişinin olmadığı bir ortama yerleştirilen ve içi saf su ile doldurulmuş ısı yalıtımlı bir hazneden oluşmaktadır [1, 2]. Deney, bu hazne içerisinde bulunan yanma odasında (reaktörde) gerçekleştirilir. Yanma odasında oksijenle zenginleştirilerek içeride bulunan maddelerin tam yanması sağlanır. Bu yanma sayesinde meydana gelen ısı, suyun ilk sıcaklığında bir değişime neden olur ve bu sıcaklık değişiminden yararlanılarak maddelerin ısıl değerleri hesaplanır. Yanma olayında termodinamiğin birinci ilkesi kullanılır [3-6]. Bu prensibe göre, yanma olayında meydana gelen ısı, kalorimetre içerisinde bulunan su tarafından soğrulur. Böylece meydana gelen ısı alışverişinde suyun aldığı ısı değeri yanan maddenin verdiği ısı değerine eşit olur. Bu ilkeden yararlanılarak ısıl değerler hesaplanır.

İdeal bir kalorimetre çevreden ısısal olarak yalıtılmalıdır [7-10]. Gözlenen sıcaklık değerleri sadece tepkimede meydana gelen ısı değişiminin değerleri olmalıdır. Pratikte kalorimetreyi çevreden tamamen yalıtmak pek mümkün olmayabilmektedir. Bir kalorimetre ısısı kontrol edilen bir ortam içerisine konulan kaplarla aralarında bir miktar boşluk bırakılarak yapılır. Kalorimetre her tarafından ısı yalıtımı yapılmış bir ortam olarak tasarlanır [11-16].

Enerji kaynaklarının tamamını oluşturan üç dış etki vardır;

- Su karıştırıcı,
- Sıcaklık ölçüm cihazının kendinden ısınması,
- Sıcaklık farklarının bir sonucu olarak kalorimetrenin ceketinden enerji akışının meydana gelmesidir.

Şekil 1'de tipik bir deneyin (yanma veya kalibrasyon) sıcaklık - zaman eğrisi gösterilmiştir. Veri toplama, önceden tanımlanmış bir sıcaklıkta başlar. Yukarıda belirtilen etkilerden dolayı t_1 zamanına kadar kalorimetrenin sıcaklığının artmasına izin verilir. Bu deneyin başlangıç bölümüdür. t_1 anında, ya ısıtıcı açılarak ya da yanma ile ana bölüm başlatılır. Ani sıcaklık artışı ile ana bölümde yanma devam eder. Yanmanın bitmesi ve sistemin sıcaklığında meydana gelen değişim sonucu oluşan sıcaklık değeri dengeye gelene kadar beklenir.



Şekil 1. Yakıt yakılmadan önce, yanarken ve yandıktan sonra sıcaklığın zamana göre değişimi

Saflık Ölçümleri

Benzoik Asit Saflığının Potansiyometrik Titrasyon ile Belirlenmesi

Potansiyometrik titrasyon, indikatör olarak potansiyel ölçümünün kullanıldığı ve potansiyeldeki sıçrama sayesinde ilgili analitin miktarının belirlendiği bir tekniktir. Potansiyometrik titrasyonda titrant ilavesi ile potansiyeli değişen pek çok analit için saflık belirlenebilir. Benzoik asit te bu analitlerden birisidir. Yöntem bir miktar suda çözünmüş benzoik asite etanol ilavesi ve ardından ayarlı sodyum hidroksit ile titrasyonuna dayanmaktadır. Titrasyon sonucunda benzoik asitin saflığı eşitlik (1) ile belirlenmektedir.

$$\text{Benzoik asit saflığı } (\%) = \frac{(EP1 - BL1) \times TF \times C1 \times K1}{m} \quad (1)$$

$EP1$: Titrasyonda harcanan titrant miktarı (mL)

$BL1$: Kör seviyesi (0,00 mL)

TF : Titrant faktörü

$C1$: Derişim dönüşüm katsayısı (12,212 mg/mL)
(1 mg benzoik asit 1 mol/L 1 mL NaOH'a denktir)

$K1$: Birim dönüşüm katsayısı (0,1)

m : Numune miktarı (g)

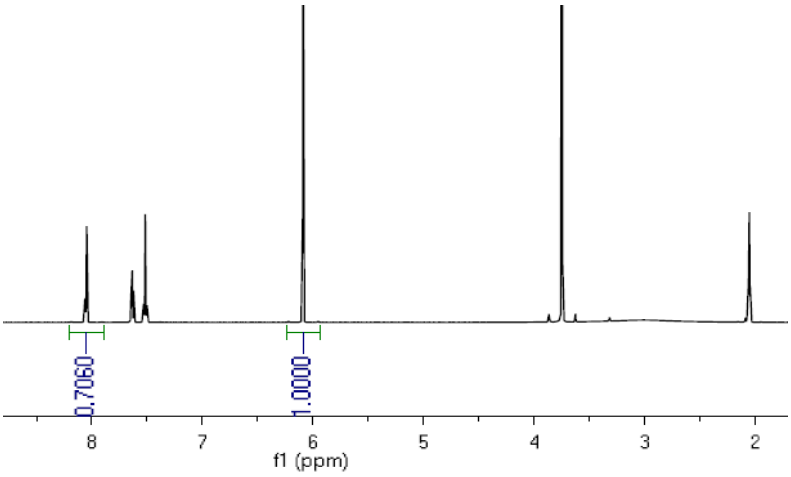
Benzoik Asit Saflığının Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi ile Belirlenmesi

Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi ilk olarak 1946 yılında tanımlanmış [17-18] ve bu süreçte kimyasal yapıların aydınlatılması, saflık ve safsızlık analizleri için başlıca analitik tekniklerden biri olarak kullanılmıştır. NMR tekniği özellikle küçük organik moleküller ve büyük polimer yapıların analizinde kullanılan önemli bir spektroskopi metodudur [19].

^{1}H-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. qNMR tekniğinin belirsizliğin düşük olması kesin ve yüksek doğruluklu ölçümler için tercih edilme sebebidir. qNMR ile miktar tayini iki farklı yol izlenerek yapılabilmektedir [19]. 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, SI izlenebilir bir sertifikalı standart malzeme ise SI izlenebilirliği sağlanmış bir ölçüm yapılmış olur. qNMR analizleri için üretilmiş benzoik asit ve dimetilsülfon sertifikalı referans malzemeleri bu özellikleri içeren kimyasallara örnek olarak verilebilir [20]. Çok düşük belirsizlikler ile doğru ve izlenebilir ölçümler yapılabildiği için qNMR organik moleküllerin sertifikasyonu için ideal bir tekniktir [21].

qNMR özellikle son yıllarda prob ve manyet teknolojisinde meydana gelen gelişmelere bağlı olarak sertifikalı referans malzemelerin üretimi ve saflık belirleme konularında dünyadaki metroloji enstitüleri ve referans malzeme üreticileri tarafından çok yaygın olarak kullanılmaktadır [22].

qNMR metodunda malzeme saflığı, eşdeğer sinyallere sahip moleküler yapıların, bir referans malzeme ve analize konu örnek için karşılaştırılması yolu ile sağlanmaktadır. Bu analizlerde izlenebilirlik zincirini sağlamak amacıyla UME CRM 1301 - Kloramfenikol referans malzemesi kullanılmıştır. Kloramfenikol kullanılarak saflığı belirlenen trimetoksibenzen referansı BA saflığını belirlemek amacıyla analizlerde tercih edilmiştir. Trimetoksibenzene ait pik grupları BA ile çakışmadığından ve benzoik asit ile birlikte DMSO-d_6 çözücüsü içerisinde çok iyi çözündüğünden dolayı çok uygun bir referans malzeme olarak görülmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Benzoik asit ve Trimetoksibenzenin DMSO-d_6 çözücüsü içerisinde ki ^{1}H NMR Spektrumu

qNMR saflık hesabının yapıldığı matematiksel eşitlik (2) aşağıda verilmiştir. Eşitlikten görüleceği üzere maddelerin tartılması, NMR örneklerinin hazırlanması ve verileri işlerken integral alanlarının doğru olarak seçimi çok önemlidir. Bu nedenle uygun tartım aralığında kalibrasyonu yapılmış terazilerin kullanılması gereklidir.

$$P_x = \frac{I_x}{I_{Std}} \frac{N_{Std}}{N_x} \frac{M_x}{M_{Std}} \frac{W_{Std}}{W_x} P_{Std} \qquad (2)$$

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 (Std) saflığı (%)

Bu rapor, BA malzemesinin ISO 17034:2016'ya [23] göre UME CRM 1504 kodlu SRM'nin üretim süreci, sertifikalandırılması ve bu süreçte yapılan çalışmalara ait ayrıntıları içermektedir. Bu süreç; örnek hazırlama, homojenlik, kısa ve uzun dönem kararlılık, karakterizasyon testleri ve değer atanması aşamalarından oluşmaktadır.

Raporda, UME CRM 1504 üretim ve analiz süreçleri, homojenlik, kararlılık ve karakterizasyon çalışmalarına ait bulgular, istatistiksel değerlendirmeler, sonuçlar ve bu sonuçlara ilişkin ölçüm belirsizlikleri ISO Guide 35:2017 [24] dokümanına uygun olarak belirlenmiş ve sertifika değerleri ve belirsizlikleri ilgili rehberin gereklilikleri yerine getirilerek hesaplanmıştır.

KATILIMCILAR

UME CRM 1504'ün üretiminin tüm aşamaları (malzemenin tablet formuna dönüştürülmesi dışında) Tablo 1'de gösterildiği gibi TÜBİTAK UME'de gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Katılımcı kurum ve işin tanımı

İş Tanımı	Laboratuvar/Kurum
Malzeme İşleme	TÜBİTAK Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME), Gebze-Kocaeli, Türkiye TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi (MAM), Gebze-Kocaeli, Türkiye
Homojenlik Çalışmaları **Kararlılık Çalışmaları** **Karakterizasyon Çalışması** **Proje Yönetimi ve Veri Değerlendirme**	TÜBİTAK Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME), Gebze-Kocaeli, Türkiye

MALZEME İŞLEME

Malzeme işlemenin ilk aşamasında temin edilen BA 1 mm boyutundan büyük tanecik boyutuna sahip tanecikleri 1 mm gözenekli elek yardımı ile elendi. Elenmiş BA (< 1 mm) 30 °C'ta HEPA filtreli etüv içerisinde 24 saat süresince kurutuldu. BA, 3 boyutlu karıştırıcıda (HKTM Megamix, Türkiye) 4 saat süresince homojenleştirildi ve 1 kg olacak şekilde vakumlu plastik kaplara aktarıldı. Toz formundaki BA yaklaşık 1 g olacak şekilde tablet makinesinde (Kaan Kalıp, Tablet Baskı Zımba ve Matrizleri, Türkiye) tablet formuna dönüştürüldü. Daha sonra tabletler her bir şişeye 10 veya 50 adet olacak (yaklaşık 10 g veya 50 g) şekilde şişelendi. Şişeler etiketleme makinesinde (Farmatek, Türkiye) dolum sırasına göre etiketlendi. Sertifikalandırma testleri için seçilen üniteler ayrıldıktan sonra diğer tüm üniteler sıcaklık kontrollü ortamda muhafazaya alındı.

HOMOJENLİK

Homojenlik çalışması için 10 ünite, tabakalı rastgele numune seçimi prensibine göre seçilerek ayrılmıştır. Böylelikle, seçilen örneklerin toplam ünite sayısını temsil etmesi garanti altına alınmıştır. Homojenlik tespiti ısıl değer için kalorimetre cihazı, saflık için potansiyometrik titrasyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiş ve ölçüm sonuçları raporlanmıştır. Isıl değer ve saflık ölçümlerinin izlenebilirliği NIST 39j referans malzemesi ile sağlanmıştır. Kalite kontrol analizlerinde Alpha AR 208 kodlu referans malzeme kullanılmıştır. Homojenlik tespiti için yapılan ölçümler tekrarlanabilirlik

koşullarında dolum ve analiz sıralamasından oluşabilecek olası eğilimleri ortadan kaldırmak için rastgele sırayla yapılmıştır.

Elde edilen ölçüm sonuçları tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Verilerin tek tepeli dağılımı ANOVA ile istatistiksel değerlendirme için önemli bir ön koşuldur. Bu nedenle örnek ortalamalarının yanı sıra her bir ölçüm sonucunun dağılımı normal dağılım grafikleri kullanılarak normallik için, histogramlar kullanılarak da tek tepelilik için kontrol edilmiştir. Tüm parametrelerde, bireysel sonuçlar ve ortalamalar açısından normal ve tek tepeli bir dağılım gözlenmiştir.

Veriler herhangi bir eğilimin ve/veya aykırı değerin varlığını kontrol etmek için istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Doldurma ve ölçüm sıralamasına bağlı herhangi bir eğilim gözlemlenmemiştir. Herhangi bir aykırı değer tespit edilmemiştir (tek Grubbs testi, α = 0,05).

ANOVA kullanarak şişe içi (s_{wb}) ve şişeler arası (s_{bb}) standart sapmanın hesaplanmasında (3) ve (4) nolu denklemler uygulanmaktadır.

$$s_{wb} = \sqrt{MS_{within}} \tag{3}$$

MS_{within} : Ünite içi varyansın karelerinin ortalaması

s_{wb} : Alt örnekler tüm üniteyi temsil ettiği sürece metodun standart sapmasına eşdeğer

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{between} - MS_{within}}{n}} \tag{4}$$

$MS_{between}$: Üniteler arası varyansın karelerinin ortalaması

n : Ünite başına tekrar sayısı

$MS_{between}$ MS_{within}'den küçük olduğu zaman s_{bb} hesaplanamamaktadır. Bunun yerine u^*_{bb}, metot tekrarlanabilirliği tarafından gizlenebilen heterojenlik (5) nolu denklem ile hesaplanır [25]:

$$u^*_{bb} = \frac{s_{wb}}{n} \sqrt[4]{\frac{2}{v_{MS_{within}}}} \tag{5}$$

$v_{MS_{within}}$: MS_{within}'in serbestlik derecesidir.

Benzoik asit için yapılan homojenlik çalışması sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. Üst ısıl değer ve saflık parametreleri için gerçekleştirilen homojenlik testi ile ilgili grafikler ise Ek 1'de verilmiştir.

Tablo 2. Homojenlik çalışması sonuçları

Parametre	$s_{wb,rel}$ (%)	$s_{bb,rel}$ (%)	$u^*_{bb,rel}$ (%)	$u_{bb,rel}$ (%)
Üst Isıl Değer	0,07	$MS_{between} < MS_{within}$	0,02	0,02
Saflık (Potansiyometrik titrasyon ile)	0,15	0,06	0,05	0,06

KARARLILIK

Kararlılık testi çalışmaları, sertifikalı referans malzemenin kullanıcıya gönderilmesi sırasında meydana gelebilecek çevresel faktörlerin (kısa dönem kararlılık) ve depolama koşullarının (uzun dönem kararlılık) laboratuvar ortamında benzer koşullar oluşturulması ile gerçekleştirilmiştir.

Kısa Dönem Kararlılık Sonuçları

Kısa dönem kararlılık çalışmaları için 26 ünite (13 asil, 13 yedek) tabakalı rastgele numune seçimi yöntemi ile belirlenmiştir. Kısa dönem kararlılık çalışmaları için test edilecek sıcaklıklar; -20 °C ve 50 °C; süreler; 1, 2 ve 4 hafta olarak belirlenmiştir. Her bir sıcaklık ve zaman noktası için 2 asil 2 yedek ünite test sıcaklığına, referans nokta için ise 1 asil 1 yedek ünite olmak üzere referans sıcaklık olarak seçilen 18 °C'ye yerleştirilmiştir. Test süresinin sonunda her iki sıcaklıktan tüm üniteler referans sıcaklığa aktarılmıştır. 4 haftalık süre tamamlandığında referans sıcaklığa transfer edilen bütün üniteler, referans olarak kullanılacak üniteler ile birlikte tekrarlanabilirlik koşulları altında analiz edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara, "Grubbs Testi" uygulanarak %95 ve %99 güvenilirlik seviyesinde aykırı değerler açısından incelenmiştir. Herhangi bir aykırı değer olmadığı görülmüştür. Kısa dönem kararlılık verilerinin değerlendirilmesinde her bir zaman noktası için hesaplanan değerlerin zamana karşı grafiği çizilmiştir. Zamana karşı değerlerde herhangi anlamlı bir değişim olup olmadığının belirlenmesi için değişkenler arasındaki ilişki incelenmiştir (*regression analysis*). Çizilen eğim çizgileri için %95 güven aralığında uygulanan istatistiki değerlendirme sonucu eğimin sıfırdan anlamlı derecede farklı olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 3). Kısa dönem kararlılık testi ile ilgili grafikler Ek 2'de verilmiştir.

Tablo 3. Kısa dönem kararlılık Grubbs Testi sonuçları

Parametre		Isıl Değer	Saflık
Grafiğin eğimi %95 ve %99 güvenilirlik seviyesinde anlamlı derecede sıfırdan farklı mı?	**-20 °C**	Hayır	Hayır
	50 °C	Hayır	Hayır

Kısa dönem kararlılığa ilişkin olarak belirsizlik hesaplamaları denklem (6) kullanılarak yapılmıştır [26].

$$u_{sts,rel} = \frac{RSD}{\sqrt{\sum(t_i - \bar{t})^2}} \times t \qquad (6)$$

RSD : Regresyon eğrisi üzerindeki noktaların bağıl standart sapması,

t_i : Her bir paralel için zaman noktası,

$\bar{t}$: Bütün zaman noktalarının ortalaması,

t : -20 °C ve 50 °C'de önerilen taşıma süresi: 4 hafta

Isıl değer ve saflık için kısa dönem kararlılık çalışmalarında elde edilen belirsizlik değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. UME CRM 1504 ısıl değer ve saflık ölçüm verilerine ait kısa dönem kararlılık belirsizlik değerleri

Kısa Dönem Kararlılık Belirsizlik Değerleri	$u_{sts,rel}$ (%)	
	-20 °C	**50 °C**
Üst Isıl Değer, 4 hafta	0,03	0,04
Saflık, 4 hafta (Potansiyometrik titrasyon ile)	0,09	0,09

Bu sonuçlara göre üretilen sertifikalı referans malzemenin sıcaklığın 50 °C'yi ve sürenin 4 haftayı geçmemesi koşuluyla malzemenin ek soğutma önlemleri alınmadan taşınmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Uzun Dönem Kararlılık Sonuçları

Üretilen SRM'nin raf ömrü, uzun dönem kararlılık çalışmaları sonuçlarına göre belirlenmiştir. Ölçümlerde 1, 3, 6 ve 12 ay süresince 18 °C' de her bir zaman noktası için muhafaza edilen ikişer ünite kullanılmış (2 asil 2 yedek) olup, uzun dönem kararlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Her bir zaman noktası için seçilen her bir şişeden 2 tekrar sonuç elde edilmiştir. %99 güven aralığında eğilim bulunmazken, %95 güven aralığında ise eğilim saptanmıştır.

Elde edilen veriler içerisinde, tek ve çit yönlü Grubbs test uygulanarak %95 ve %99 güven aralıklarında aykırı değer olup olmadığı incelenmiştir. Buna göre yapılan analizler için herhangi bir aykırı değer tespit edilmemiştir.

Bulunan değerler, zamana karşı derişim grafiğinde uyum çizgisi (regresyon çizgisi) çizilerek incelenmiştir. Sertifikalı referans malzemenin uzun dönem kararlılıktan kaynaklanan belirsizlik değeri denklem (7) kullanılarak hesaplanmıştır [26]. Uzun dönem kararlılık testi ile ilgili grafikler Ek 3'te verilmiştir.

$$u_{lts,rel} = \frac{RSD}{\sqrt{\sum(t_i - \bar{t})^2}} \times t \qquad (7)$$

RSD : Regresyon eğrisi üzerindeki noktaların bağıl standart sapması,

t_i : Her bir tekrar için zaman noktası,

$\bar{t}$: Bütün zaman noktalarının ortalaması,

t : 18 °C için önerilen saklama süresi: 12 ay

Uzun dönem kararlılıktan kaynaklanan belirsizliğin toplam belirsizliğe katkısı için kullanım süresi 12 ay ve saklama sıcaklığı 18 °C olarak belirlenmiştir. Bu parametre, sertifika değerlerinin toplam belirsizlik bütçesine katkı sağlayan 4 parametresinden birisidir. Bu şekilde hesaplanan UME CRM 1504 ısıl değer ve saflık ölçüm verilerine ait uzun dönem kararlılık belirsizlik değeri sonuçları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. UME CRM 1504 ısıl değer ve saflık ölçüm verilerine ait uzun dönem kararlılık belirsizlik değeri

Uzun Dönem Kararlılık Belirsizlik Değerleri	$u_{lts,rel}$ (%)
Üst Isıl Değer, 12 Ay	0,03
Saflık, 12 Ay (Potansiyometrik titrasyon ile)	0,04

KARAKTERİZASYON

ISO 17034 standardına ve ISO Guide 35 kılavuzuna göre karakterizasyon ve değer atama çeşitli yollardan yapılabilmektedir [23, 24]. Bu çalışmada bu yaklaşımlardan tek bir laboratuvarda referans ölçüm metodu kullanımı yaklaşımı seçilmiştir. NIST SRM 39j BA referans malzemesi ile ölçümlerin izlenebilirliği sağlanmış, Alpha AR 208 kodlu referans malzeme ile kalite kontrol analizleri gerçekleştirilmiştir. SRM adayının 6 ünitesinden ölçümler yapılmıştır. Deneyler 2 gün içerisinde her gün için 6 farklı örnek numunesi bir adet SRM numunesi ile birlikte analiz edilerek gerçekleştirilmiştir. Belirsizlik hesaplamaları ısıl değer ve saflık için "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements (GUM)" and "EURACHEM/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" dokümanlarına uygun olarak hesaplanmış ve sonuçlar Ek 4'te verilmiştir. Potansiyometrik titrasyon ve qNMR saflık ölçümlerin belirsizlikleri M. S. Levenson ve ark. Tarafından belirtilen (8) – (10) nolu denklemler kullanılarak birleştirilmiştir [27].

$$U(B) = \frac{\left|X_{PT} - X_{qNMR}\right|}{2\sqrt{3}} \tag{8}$$

$$u(X) = \sqrt{\left(\frac{1}{2}\right)^2 u^2(PT) + \left(\frac{1}{2}\right)^2 u^2(qNMR)} \tag{9}$$

$$u_{char} = \sqrt{u^2(X) + u^2(B)} \tag{10}$$

$U(B)$: İki metodun sonuçlarının farkından kaynaklanan standart belirsizlik,

$u(X)$: İki metodun belirsizliğinin birleştirilmesinden elde edilen standart belirsizlik,

u_{char} : Karakterizasyon standart belirsizliğini ifade etmektedir.

Malzemenin saflık için değer ataması iki metodun sonuçlarının ortalaması alınarak yapılmıştır. Karakterizasyon çalışması ile ilgili tüm veriler Ek 4'de verilmiştir.

ÖZELLİK DEĞERLERİNİN VE BELİRSİZLİKLERİNİN ATANMASI

Sertifika değerleri üzerindeki belirsizlik; karakterizasyon çalışmasından kaynaklanan belirsizliği (u_{char}), homojenlikten kaynaklanan belirsizliği (u_{bb}), kısa dönem kararlılıktan kaynaklanan belirsizliği (u_{sts}) ve uzun dönem kararlılıktan kaynaklanan belirsizliği (u_{lts}) içermektedir.

Bu farklı parametrelerin CRM belirsizliğine yansıtılması aşağıda verilen (11) numaralı denklem kullanılarak yapılmıştır:

(11)

Sertifika değeri üzerindeki genişletilmiş belirsizlik değeri yaklaşık olarak %95 güvenilirlik aralığını temsil eden kapsam faktörü, *k*=2 temel alınarak hesaplanmıştır. Sertifika değerleri ve belirsizlikleri Tablo 6'da, her bir parametrenin sertifika değeri üzerindeki belirsizliğe yapmış olduğu yüzde katkısı ise Tablo 7'de verilmiştir.

Saflık değeri atanırken iki yöntemden (potansiyometrik titrasyon ve NMR spektroskopi) elde edilen karakterizasyon sonuçları ve belirsizlik değerleri kullanılmıştır.

Tablo 6. Sertifika değerleri ve belirsizlikleri

Parametre	Sertifika Değeri	U_{CRM} (*k*=2)	$u_{bb,rel}$ (%)	$u_{sts,rel}$ (%)	$u_{lts,rel}$ (%)	$u_{char,rel}$ (%)	$U_{CRM,rel}$ (%)
Üst Isıl Değer (J/g)	26473	32	0,02	0,04	0,03	0,01	0,12
Saflık (g/100g)	99,96	0,27	0,06	0,09	0,04	0,07	0,264

Tablo 7. U_{CRM} değerini oluşturan her bir parametrenin değere yüzde katkısı

Parametre	$u_{bb,rel}$ (%)	$u_{sts,rel}$ (%)	$u_{lts,rel}$ (%)	$u_{char,rel}$ (%)
Üst Isıl Değer	20,1	39,9	29,2	10,8
Saflık	23,9	35,5	14,9	25,7

İZLENEBİLİRLİK

Üretilen sertifikalı referans malzemenin sertifikalandırılmış değerlerinin metrolojik izlenebilirliği birincil seviye ölçüm sistemleri kullanılarak sağlanmıştır. Bu yöntemle yapılan karakterizasyon çalışmalarında kullanılan tüm örnekler gravimetrik olarak hazırlanmıştır. Tartımlar, ulusal ölçüm standartlarına izlenebilir teraziler kullanılarak yapılmış olup, kullanılan terazilerin kontrolü, uygun kütle seti ağırlıkları ile gerçekleştirilmiştir. Kullanılan terazi ve kütle seti ağırlıkları, Uluslararası Birimler Sistemi'nde (SI) tanımlanmış birimleri gerçekleştiren ulusal ölçüm standartlarına izlenebilirdir. Ölçümler sırasında kullanılan termometreler uluslararası sıcaklık ölçeği ITS-90'a göre kalibre edilmiş ve izlenebilirliği sağlanmıştır. Karakterizasyon ölçümlerine ait ölçüm belirsizliği hesaplamaları, birincil seviye ölçüm yöntemi ile yapılan ölçümler sonucunda elde edilen veriler kullanılarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen ölçümler NIST SRM 39j BA referans malzemesine izlenebilirdir.

KULLANIM TALİMATI

Kullanım Amacı

Isıl değer ölçümlerinde kullanılan kalorimetre cihazlarının ve BA tayinlerinin kalibrasyonunda, metotların geçerli kılınmasında ve bu alandaki faaliyetlerin kalite kontrolünün sağlanmasında kullanılması amaçlanmıştır.

Saklama Koşulları

Malzeme (18 ± 5) °C'de ve ışıksız ortamda saklanmalıdır. Şişenin açılması ve kullanımı sırasında malzemenin kirlenmesini ve rutubet kapmasını önlemeye yönelik tüm önlemler alınmalıdır ve şişe kapağı uzun süre açık bırakılmamalıdır.

TÜBİTAK UME, malzeme ile ilgili bildirdiği saklama koşulları ve kullanım talimatına uyulmaması nedeniyle malzemede meydana gelebilecek değişikliklerden sorumlu tutulamaz.

Güvenlik Uyarıları

Malzeme cilt ve göz ile temas ettirilmemelidir. Isıl değer ölçümü gerçekleştirildikten sonra bomba içerisinde oluşan gazlar solunmamalıdır. Malzemenin mevcut olan güvenlik kurallarına göre kullanımı ve imhası önemle tavsiye edilir. Lütfen kullanımdan önce Güvenlik Bilgi Formunu inceleyiniz.

Minimum Örnek Alım Miktarı

Şişe içerisinde bulunan her bir tablet, kalorimetre yanma odalarına zarar vermeyecek birim ağırlıkta üretilmiştir (yaklaşık 1 g). Kullanıcı kullandığı ısıl değer ölçüm standardına göre, yanma odasında uygun miktarda malzeme kullanabilir. Benzoik asit saflığının potansiyometrik titrasyon ile belirlenmesi sürecinde kullanılan minimum örnek miktarı 120 mg, NMR spektroskopisi ile belirlenmesi sırasında kullanılan minimum örnek miktarı ise 10 mg'dır.

Sertifika Değerlerinin Kullanılması

Metot performansının değerlendirilmesi için, SRM'nin ölçülen değerleri sertifika değerleri ile karşılaştırılır [28]. Karşılaştırma işlemi aşağıda belirtilmiş şekilde özetlenebilir:

- Ortalama bulunan değer ile sertifika değeri arasındaki mutlak fark bulunur (Δ_m)
- Ölçüm belirsizliği (u_{meas}) ile sertifika değerindeki standart belirsizliği (u_{CRM}) Eşitlik 12 kullanılarak birleştirilir,

$$u_\Delta = \sqrt{u_{meas}^2 + u_{CRM}^2} \tag{12}$$

Bileşik belirsizliği kapsam faktörü (k = 2) ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik hesaplanır (Eşitlik 13), bu %95 güven seviyesine karşılık gelmektedir.

$$U_\Delta = 2 \times u_\Delta \tag{13}$$

Eğer $\Delta_m \leq U_\Delta$ ise, ölçüm sonucu ile sertifika değeri arasında %95 güvenilirlik seviyesinde anlamlı bir fark olmadığı kabul edilir.

Ölçüm sonuçlarının değerlendirilebileceği ve kalite kontrol kartlarının kullanıcılarca oluşturulabileceği bir çevrimiçi sonuç değerlendirme uygulamasına aşağıdaki adresten ulaşılabilir:

https://rm.ume.tubitak.gov.tr/srm_sd

KAYNAKLAR

[1] Jones J.B., Hawkins, G.A., Engineering Thermodynamics, 2.Basım, New York, (1986).

[2] Atılgan H., Mühendislik Termodinamiği (çeviri), Beta Basım A.Ş, Kırklareli, 79-123, (2003).

[3] Wark K., Thermodynamics, McGraw-Hill, Newyork, (1988).

[4] Bryant A.C., Refrigeration Equipment, A Servicing and Installation Handbook, Burlington, 121, (1997).

[5] Ficher R.A., Chernoff, K., Air Conditioning and Refrigeration Repair, USA, 132,138-139, (1988).

[6] Rossini F. D., The Heat Of Formation of Water and The Heats of Combustion of Methane and of Carbon Monoxide, Bur. Stand. J. Res. 7, 329-330, (1931).

[7] Schley P. Ve ark., Measurements of the Calorific Value of Methane with the New GERG Reference Calorimeter, Int J Thermophys, 31, 665–679, (2010).

[8] Villermaux C. Ve ark., Measurement of Gas Calorific Value: A New Frontier to be Reached With an Optimised Reference Gas Calorimeter, 23rd World Gas Conference, Amsterdam, (2006).

[9] ISO 6976: Natural Gas — Calculation of Calorific Values, Density, Relative Density and Wobbe Index From Composition. Geneva: International Organization for Standardization, (1995).

[10] Jaeschke M. Ve ark., GERG Project: Development and Set-Up of a New Reference Calorimeter, Proceedings of the International Gas Conference (IGRC), Vancouver, Canada, (2004).

[11] 31 Aralık 2002 tarih ve 24980 sayılı Resmi Gazete, Doğal Gazın Faturalandırmaya Esas Satış Miktarının Tespiti ve Faturalandırılmasına İlişkin Esaslar Hakkında Tebliğ.

[12] ISO 6976, Natural Gas—Calculation of Calorific Values, Density, Relative Density and Wobbe Indices from Composition, International Organization for Standardization, 3rd edition, (2016).

[13] ISO TR 29922, Natural Gas— Supporting Information on the Calculation of Physical Properties According to ISO 6976, (2017).

[14] ISO 15971, Natural gas – Measurement of Properties – Calorific Value and Wobbe Index, International Organization for Standardization, (2008).

[15] TS 1740 2006, Sıvı Hidrokarbon Yakıtlar-Yanma Isısının Tayini – Kalorimetre Bombası Metodu, (2006).

[16] ASTM D5865-2013, Kok ve Kömürün Isıl Değerleri İçin Test Metotları, (2013).

[17] Bloch, F., Hansen, W., Packard, M.E., Nuclear induction, Physical Review, 69, 127, (1946).

[18] Purcell, E.M., Torrey, H.C., Pound, R.V., Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid, Physical Review, 69, 37–38, (1946).

[19] Bharti, S. K., Roy, R., Quantitative 1H NMR spectroscopy, Trends in Analytical Chemistry, 35, 5-26, (2012).

[20] Wells, R.J., Cheung, J., Hook, J.M., The use of qNMR for the analysis of agrochemicals in NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis, 7, 291-315, (2008).

[21] Weber, M., Hellriegel, C., Rueck, A., Wuethrich, J., Jenks, P., 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, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 93, 102–110, (2014).

[22] Shena, S., Yang, X., Shi, Y., Application of quantitative NMR for purity determination of standard ACE inhibitors, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 114, 190–199, (2015).

[23] ISO 17034, General Requirements for the Competence of Reference Materials Producers, International Organization for Standardization, (2016).

[24] ISO Guide 35, Reference materials - Guidance for Characterization and Assessment of Homogeneity and Stability, International Organization for Standardization, (2017).

[25] T. P. J. Linsinger, J. Pauwels, A. M. H. Van der Veen, H. Schimmel, A. Lamberty, Homogeneity and Stability of Reference Materials, Accred. Qual. Assur. 6, 20–25, (2001).

[26] T. P. J. Linsinger, J. Pauwels, A. Lamberty, H. Schimmel, A. M. H. van der Veen, L. Siekmann, Estimating The Uncertainty of Stability for Matrix CRMs, Fresenius J Anal. Chem. 370, 183–188, (2001).

[27] Levenson,M.S. An Approach to Combining Results From Multiple Methods Motivated by the ISO GUM, Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology, 105, 577, (2000).

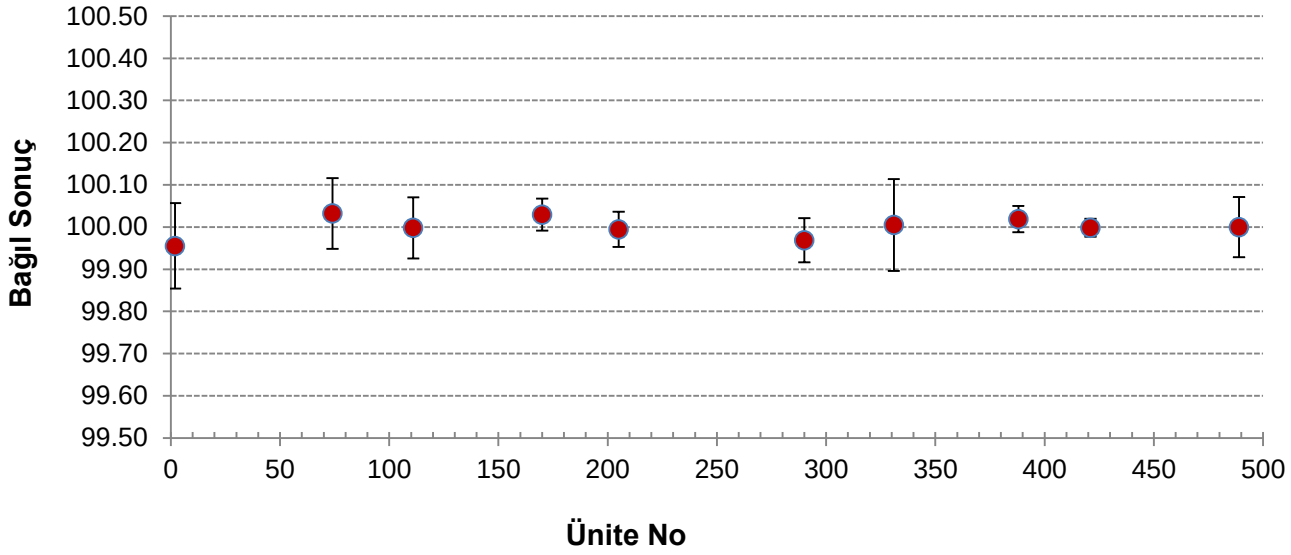
[28] ERM Application Note 1: Comparison of a measurement result with the certified value, (2010) *https://crm.jrc.ec.europa.eu/e/132/User-support-Application-Notes*

REVİZYON TARİHÇESİ

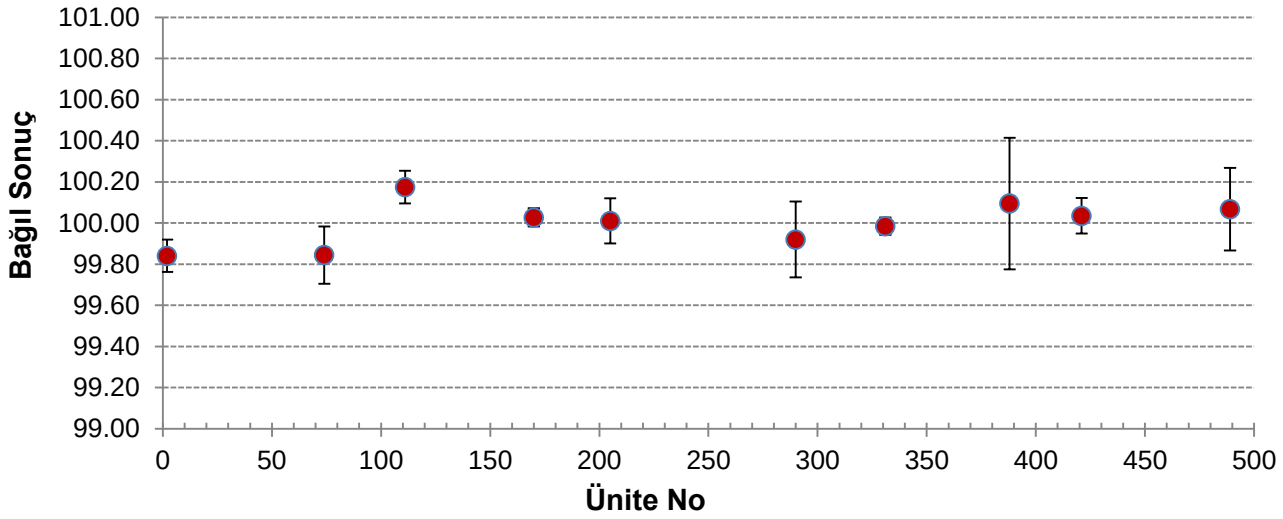
Tarih	Açıklama
24.09.2021	İlk Yayın
27.12.2022	Malzeme İşleme bölümüne 50 adet şişeleme ile ilgili ifade eklendi.
16.02.2024	Üst ısıl değer için karakterizasyon belirsizlik değeri ve U_{CRM} değerine katkısı güncellendi. Karakterizasyon bölümüne izlenebilirlik ve kalite kontrol ile ilgili ifadeler eklendi. İzlenebilirlik bölümünde ölçümlerin izlenebilirliği ile ilgili ifade güncellendi. [28] nolu kaynak linki güncellendi.

EKLER

EK 1. Homojenlik Grafikleri

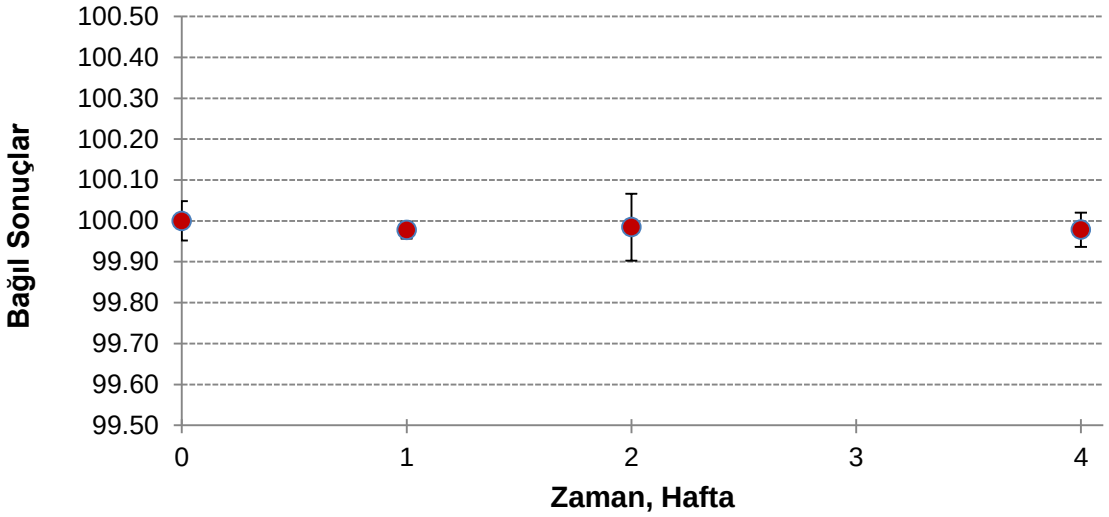


Şekil A1. UME CRM 1504, Homojenlik grafiği, Üst ısıl değer

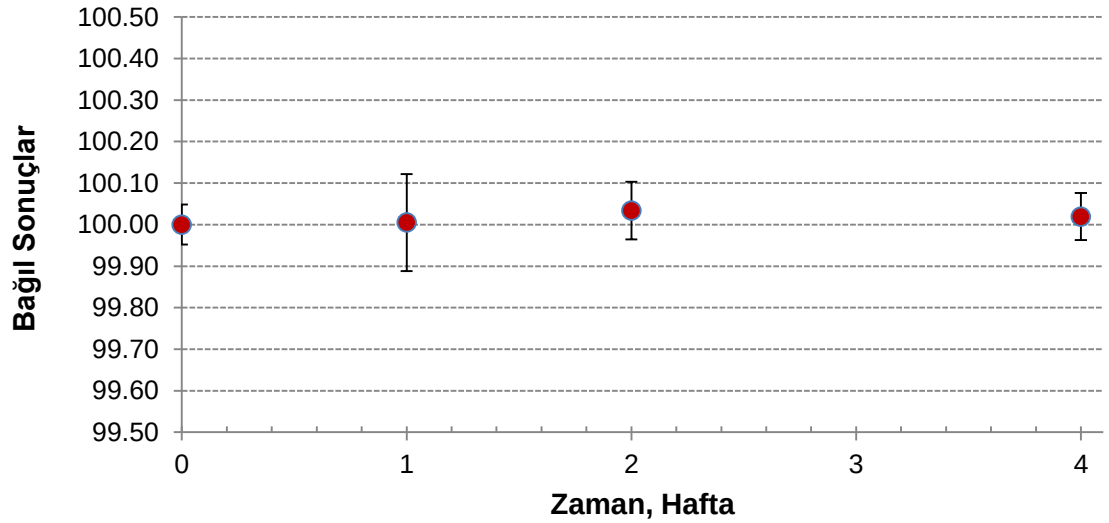


Şekil A2. UME CRM 1504, Homojenlik grafiği, Saflık

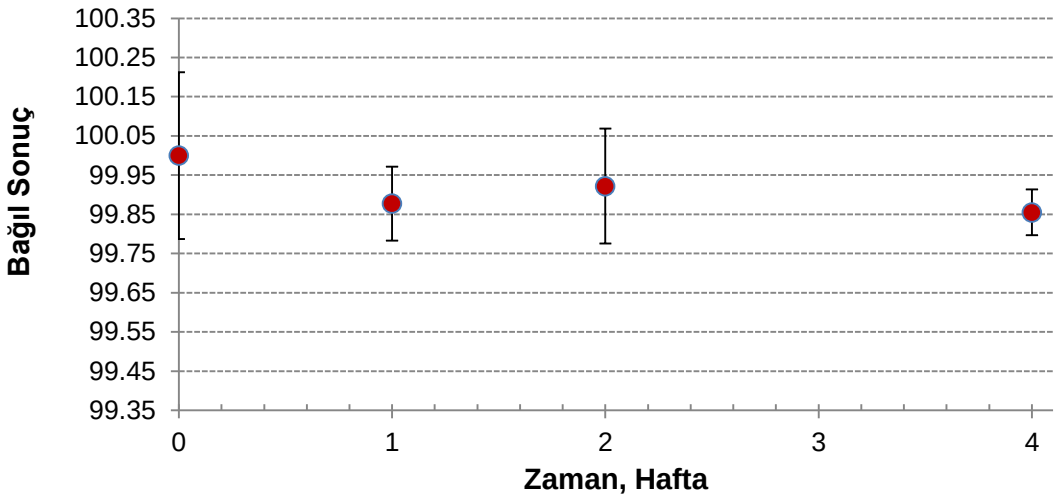
EK 2. Kısa Dönem Kararlılık Grafikleri



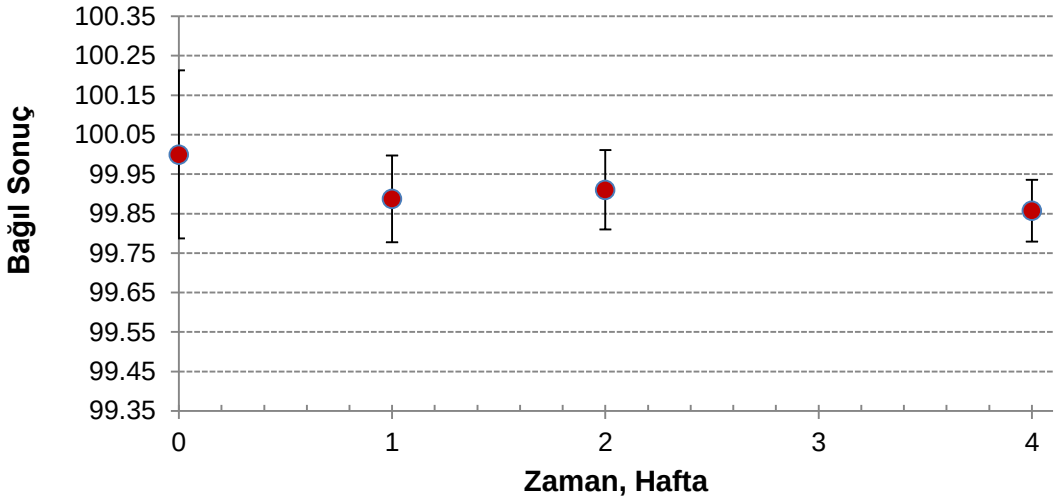
Şekil A3. UME CRM 1504, Kısa dönem kararlılık grafiği, Üst ısıl değer, -20 °C



Şekil A4. UME CRM 1504, Kısa dönem kararlılık grafiği, Üst ısıl değer, 50 °C

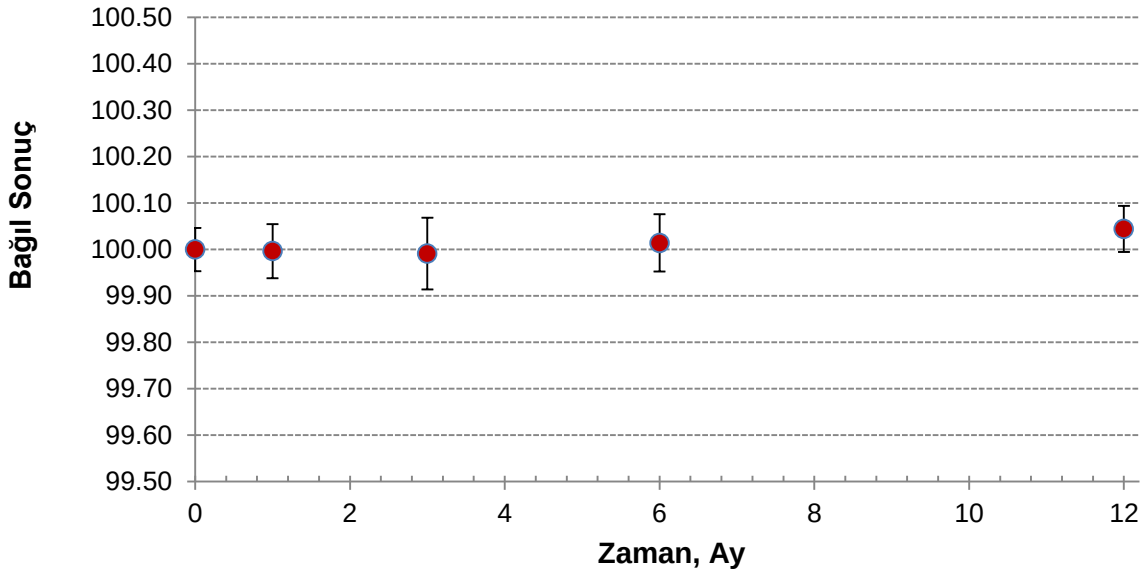


Şekil A5. UME CRM 1504, Kısa dönem kararlılık grafiği, Saflık, -20 °C

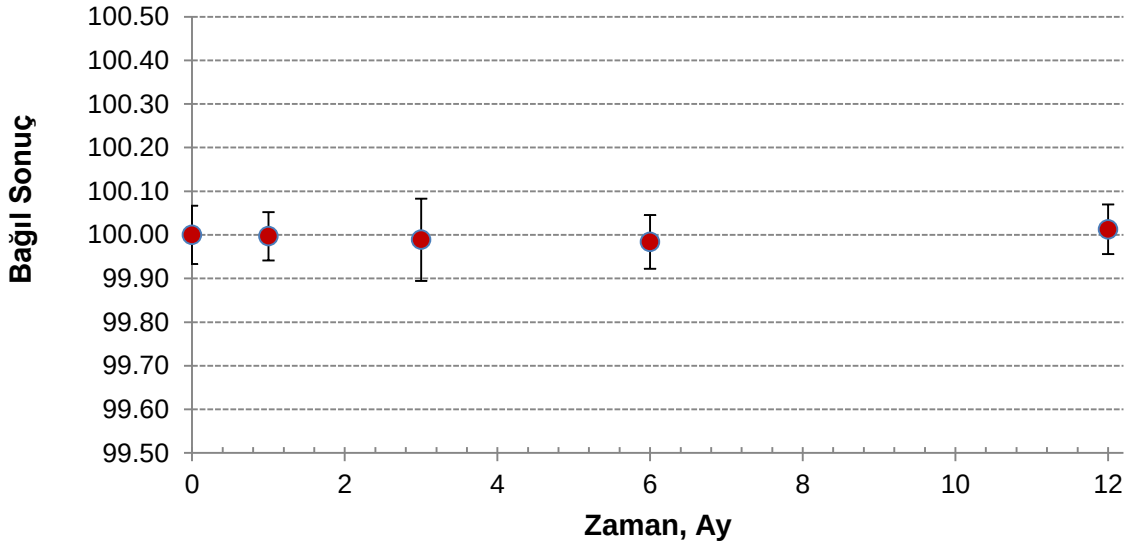


Şekil A6. UME CRM 1504, Kısa dönem kararlılık grafiği, Saflık, 50 °C

EK 3. Uzun Dönem Kararlılık Grafikleri



Şekil A7. UME CRM 1504, Uzun dönem kararlılık grafiği, Üst ısıl değer, 18 °C



Şekil A8. UME CRM 1504, Uzun dönem kararlılık grafiği, Saflık, 18 °C

EK 4. Karakterizasyon Verileri

Tablo A1. UME CRM 1504 Üst ısıl değer karakterizasyon ölçüm sonuçları

Kullanılan Teknik	Şişe No	Üst Isıl Değer Ölçüm Sonuçları (J/g)
Bomba Kalorimetresi	1-1	26471,8
	1-2	26476,7
	132-1	26472,2
	132-2	26476,5
	211-1	26467,1
	211-2	26473,2
	272-1	26468,6
	272-2	26485,4
	398-1	26463,9
	398-2	26484,4
	484-1	26463,8
	484-2	26473,9
	Ortalama Üst Isıl Değer	**26473,1**
	Standart Belirsizlik (*k* = 1)	**3,2**

Tablo A2. UME CRM 1504 Saflık karakterizasyon ölçüm sonuçları

Kullanılan Teknik	Şişe No	Saflık Ölçüm Sonuçları (%)
Potansiyometrik Titrasyon	1-1	99,931
	1-2	100,017
	132-1	100,038
	132-2	99,987
	211-1	100,096
	211-2	99,907
	272-1	99,997
	272-2	100,018
	398-1	100,098
	398-2	99,829
	484-1	99,957
	484-2	100,049
	Ortalama Saflık	**99,994**
	Standart Belirsizlik (*k* = 1)	**0,074**

Tablo A3. Saflık karakterizasyon ölçüm sonuçları

Kullanılan Teknik	Şişe No	Saflık Ölçüm Sonuçları (%)
qNMR	4-1	99,879
	4-2	99,771
	4-3	99,806
	52-1	99,993
	52-2	99,957
	52-3	99,944
	97-1	99,965
	97-2	99,906
	97-3	100,004
	126-1	99,897
	126-2	99,820
	126-3	99,795
	258-1	99,969
	258-2	99,902
	258-3	99,942
	318-1	100,003
	318-2	99,932
	318-3	99,981
	325-1	100,016
	325-2	99,971
	325-3	100,069
	341-1	99,917
	341-2	99,871
	341-3	99,981
	354-1	99,845
	354-2	99,832
	354-3	99,858
	471-1	99,939
	471-2	99,840
	471-3	99,851
	Ortalama Saflık	**99,915**
	Standart Belirsizlik (*k* = 1)	**0,097**