Çoklu Anyon Standardı II
UME CRM 2282

Dr. F. Gonca COŞKUN
Dr. Murat TUNÇ
Doç. Dr. Oktay CANKUR
Dr. Alper İŞLEYEN
Merve CANER
Tülin ERDOĞAN
Gökhan AKTAŞ
Sevda KAÇMAZ
Cengiz YILMAZ

Tarih
12.04.2023

Doç. Dr. Mustafa ÇETİNTAŞ
Enstitü Müdürü V.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER 2
KISALTMALAR 3
ÖZET 4
GİRİŞ 5
KATILIMCILAR 6
MALZEME İŞLEME 6
HOMOJENLİK 7
KARARLILIK 9
KARAKTERİZASYON 12
ÖZELLİK DEĞERLERİNİN VE BELİRSİZLİKLERİNİN ATANMASI 13
BİLGİLENDİRME AMAÇLI DEĞER 14
İZLENEBİLİRLİK 15
KULLANIM TALİMATI 15
KAYNAKLAR 16
REVİZYON TARİHÇESİ 16
EKLER 17
Ek 1. Homojenlik Çalışması Grafikleri 17
Ek 2. Kısa Dönem Kararlılık Çalışması Grafikleri 18
Ek 3. Uzun Dönem Kararlılık Çalışması Grafikleri 19

KISALTMALAR

α	Anlamlılık derecesi
GUM	Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması Kılavuzu
HDPE	Yüksek yoğunluklu polietilen
IC	İyon Kromatografisi
HP-IC	Yüksek Performanslı İyon Kromatografisi
ISO	Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu
KDK	Kısa Dönem Kararlılık
$MS_{between}$	Gruplar arası kareler ortalaması
MS_{within}	Gruplar içi kareler ortalaması
N	Grup içi tekrar sayısı
PRS	Primer Referans Standart
RSD	Bağıl standart sapma
s	Standart sapma
s_{bb}	Üniteler arası standart sapma
SGT	Tek Yönlü Grubb's Testi
SI	Uluslararası Birimler Sistemi
SRM	Sertifikalı referans malzeme
s_{wb}	Ünite içi standart sapma
u_{bb}	Üniteler arası heterojenlikten kaynaklanan standart belirsizlik
u_{bb}*	Metot tekrarlanabilirliği tarafından gizli kalabilen üniteler arası heterojenlikten kaynaklanan standart belirsizlik
u_{char}	Karakterizasyon standart belirsizliği
$u_{char,rel}$	Karakterizasyon bağıl standart belirsizliği
UDK	Uzun dönem kararlılık
u_{lts}	Uzun dönem kararlılığa bağlı standart belirsizlik
$u_{lts,rel}$	Uzun dönem kararlılığa bağlı bağıl standart belirsizlik
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

Bu rapor, NaF (sodyum florür), KBr (potasyum bromür) ve KH_2PO_4 (potasyum dihidrojen fosfat) Primer Referans Standartları (PRS) kullanılarak hazırlanan UME CRM 2282 Çoklu Anyon Standardı II sertifikalı referans malzemesinin (SRM) üretimi ve SRM içerisindeki F^-, Br^- ve PO_4^{-3} kütle kesirlerinin sertifikalandırılması süreçlerini içermektedir. Referans malzeme üretim süreci gravimetrik SRM hazırlama, homojenlik, kısa dönem kararlılık, uzun dönem kararlılık ve karakterizasyon aşamalarından oluşmaktadır. UME CRM 2282 sertifikalandırma çalışmaları ISO 17034:2016 standardı ve ISO Guide 35:2017 rehber dokümanının gerekliliklerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda gerçekleştirilen kimyasal ölçümlerde TS EN ISO/IEC 17025:2017 gereklilikleri yerine getirilmiştir. Sertifika değerlerine ait belirsizlikler JCGM 100:2008 ölçüm belirsizliği rehberine (GUM) uygun olarak hesaplanmıştır.

Bu referans malzeme üretim projesinin tüm aşamalarının planlanması, gerçekleştirilen faaliyetlerin koordinasyonu, deneylerin gerçekleştirilmesi ve elde edilen tüm verilerin değerlendirmesi TÜBİTAK UME uzmanları tarafından aynı enstitü altyapısı kullanılarak yapılmıştır.

UME CRM 2282 sertifikalı referans malzemesinin F^-, Br^- ve PO_4^{-3} anyonlarının tayininde kalibrasyon standardı olarak kullanılması amaçlanmıştır.

GİRİŞ

İnorganik anyonlar hem ulusal hem de uluslararası mevzuat gereği şebeke suları, çeşitli içme suları, yeraltı ve yüzey suları, atık sular, çeşitli gıda ürünleri ve gıda katkı maddeleri gibi çok farklı alanlarda kontrol edilmektedir. Avrupa Birliği ülkelerinde 91/676/EEC, 98/83/EC, 2006/118/EC ve 2009/54/EC sayılı yönergeler ile çeşitli sularda anyon derişimleri kontrol edilmektedir. Avrupa Birliğinde uygulanan bu yönergelere paralel olarak ülkemizde de, 17.02.2005 tarih, 25730 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik" [1] kapsamında kaynak suları, içme suları ve içme-kullanma sularında ve 01.12.2004 tarih, 25657 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Doğal Mineralli Sular Hakkında Yönetmelik" [2] kapsamında doğal mineralli sularda F^-, NO_2^-, NO_3^-, Cl^-, SO_4^{-2} ve PO_4^{-3} derişimleri kontrol edilmektedir. Bunlara ilave olarak, yeraltı ve yüzey sularının korunmasına yönelik çıkarılan 07.04.2012 tarih, 28257 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Yeraltı Sularının Kirlenmeye ve Bozulmaya Karşı Korunması Hakkında Yönetmelik" [3] ve 23.07.2016 tarih, 28257 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Tarımsal Kaynaklı Nitrat Kirliliğine Karşı Suların Korunması" [4] yönetmelikleri kapsamında da yeraltı ve yüzey sularında NO_3^-, Cl^-, SO_4^{-2} derişimleri kontrol altına alınmıştır. Bu yönetmelikler kapsamında Halk Sağlığı Laboratuvarları, Devlet Su İşleri (DSİ) Laboratuvarları ve birçok özel laboratuvar tarafından çeşitli sularda Br^-, F^-, NO_2^-, NO_3^-, Cl^-, SO_4^{-2} ve PO_4^{-3} tayinleri yapılmaktadır. Avrupa Birliği'nde 1333/2008/EC [5] sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Tüzüğü ve bu tüzüğün EK II ve EK III'ünde listelenmiş olan gıda katkı maddelerine ilişkin spesifikasyonları belirleyen 9.03.2012 tarihli ve (AB) 231/2012 [6] sayılı Komisyon Tüzüğü ile gıda katkı maddeleri yasal düzenlemelere tabi tutulmuştur. Ülkemizde 30.06.2013 tarih, 28693 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği" [7] gıda katkı maddelerinin kullanım koşullarını (maksimum miktarlar, sınırlamalar vb.) belirlemektedir. Ayrıca, 03.04.2017 tarih, 30027 (Mükerrer) sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddelerinin Spesifikasyonları Hakkında Yönetmelik" [8] ile gıda katkı maddelerinin nitelikleri belirlenmiştir. Bu yönetmelikler kapsamında kamu ya da özel gıda kontrol laboratuvarları tarafından çeşitli gıda ürünlerinde NO_2^-, NO_3^-, Cl^-, SO_4^{-2} ve PO_4^{-3} tayinleri yapılmaktadır.

Ülkemizdeki kamu kurum/kuruluşlarının bünyesinde bulunan veya bu kurumlar tarafından yetkilendirilmiş birçok laboratuvar mevcuttur. Bunlara ilave olarak üniversitelerin merkez laboratuvarları ve birçok özel laboratuvar da bulunmaktadır. Bu laboratuvarların birçoğunda çeşitli gıda ürünleri ve/veya sularda inorganik anyon analizlerin yapılmaktadır. Bu laboratuvarların çoğu akreditasyon belgesine sahiptir ve izlenebilir ölçüm sonucu raporlayabilmek için ihtiyaçları olan SI izlenebilir kalibrasyon standartlarını yurtdışı kaynaklardan temin etmektedir.

Bu proje ile ülkemizde anyon analizi yapan laboratuvarların kalibrasyon standardı ihtiyaçlarına yönelik olarak SI izlenebilir kalibrasyon standartları üretilmiş ve ülkede yapılan ölçümlerin SI birimler sistemine metrolojik izlenebilirliğinin TÜBİTAK UME üzerinden sağlanması amaçlanmıştır.

UME CRM 2282 Çoklu Anyon Standardı II sertifikalı referans malzemesinde F^-, Br^- ve PO_4^{-3} nominal derişimleri 1000 mg/kg olup, her bir anyon için kütle kesri sertifikalandırılmıştır. Sertifikalandırma işlemi sonucu atanan kütle kesirleri, saflık tayini TÜBİTAK UME tarafından yapılan yüksek saflıktaki tuzlar ile gravimetrik çözelti hazırlama ve Yüksek Performanslı İyon Kromatografisi (HP-IC) [9] analizi sonuçları kullanılarak belirlenmiştir. Hem UME CRM 2282 Çoklu Anyon Standardı II hazırlamada ve hem de HP-IC ölçümlerinde kalibrasyon standartları hazırlamada kullanılan NaF, KBr ve KH_2PO_4 Primer Referans Standartları kullanımdan önce kurutulmuştur.

Sertifikalandırma işlemi ISO 17034:2016 [10] standardı ve ISO Guide 35:2017 [11] rehber dokümanı esas alınarak belirlenmiş olan gerekliliklere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Sertifikalandırma sürecindeki ölçümler, EN ISO/IEC 17025:2017 [12] standardı gereklilikleri karşılanarak yapılmıştır. Sertifika değerlerine ait belirsizlikler JCGM 100:2008 ölçüm belirsizliği rehberine (GUM) uygun olarak hesaplanmıştır [13].

TÜBİTAK UME tarafından üretilen UME CRM 2282 Çoklu Anyon Standardı II sertifikalı referans malzemesinin F^-, Br^- ve PO_4^{-3} anyonlarının tayininde kalibrasyon standardı olarak kullanılması hedeflenmiştir.

KATILIMCILAR

Sertifikalı referans malzeme üretimi için malzeme işleme, homojenlik, kararlılık ve karakterizasyon çalışmaları ile projenin diğer faaliyetlerinde yer alan kuruluşa ait bilgiler Tablo 1'de verilmektedir.

Tablo 1. Üretim ve Sertifikalandırma Süreçlerine Katılım Sağlayan Kuruluşlar

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

MALZEME İŞLEME

Malzeme Temini

UME CRM 2282 Çoklu Anyon Standardı II sertifikalı referans malzemesinin üretiminde kullanılan malzemeler, NaF PRS, KBr PRS ve KH_2PO_4 PRS ve ultra saf sudur.

Malzeme Hazırlama

UME CRM 2282 Çoklu Anyon Standardı II sertifikalı referans malzemesinin üretiminde kullanılan PRS'ler Tablo 2'de belirtilen koşullarda kurutulmuş ve SRM hazırlanana kadar desikatör içerisinde (kalsiyum sülfat nemçeker üzerinde) muhafaza edilmiştir.

Tablo 2. Primer Referans Standartların Kurutma Koşulları

PRS	Kurutma Sıcaklığı, °C	Kurutma Süresi, saat
NaF	500	15
KBr	500	15
KH_2PO_4	150	3

Gravimetrik Tartım

Çoklu Anyon Standardı II sertifikalı referans malzemesinde F^-, Br^- ve PO_4^{-3} için nominal değer 1000 mg/kg olarak belirlenmiştir. Hedeflenen kütle kesrine ulaşmak için gerekli olan PRS miktarları belirlenmiş ve her bir analit için tartım, ikame tartımı yoluyla yapılmıştır. Bu yöntemde iki ağırlık arasındaki ortalama farkı belirlemek için bir standart ve bir bilinmeyen ağırlığın karşılaştırıldığı bir ikame tartım prosedürü uygulanmaktadır. Bu şekilde, terazi sadece bir komparatör olarak kullanıldığından terazinin kalibrasyon biası ortadan kaldırılmaktadır. İkame tartımı yapıldığında, Uluslararası Birimler Sistemi'ne (SI) izlenebilirlik doğrudan kütle standartları üzerinden sağlanmakta, böylece ölçüm sonucunun belirsizliği azaltılmaktadır. Kütle standartları ile numune arasındaki kütle farkı oldukça düşük olduğundan, terazi belirsizliğindeki doğrusallık bileşeni ihmal edilebilir düzeyde olmaktadır.

Tartım işlemi Sartorius MSA524S (TÜBİTAK UME Kütle Laboratuvarı tarafından kalibrasyonu yapılmış) terazi kullanılarak OIML E2 sınıfı kütle seti (TÜBİTAK UME Kütle Laboratuvarı tarafından kalibrasyonu yapılmış) yardımıyla ayrı beherlere yapılmıştır.

Referans malzemenin hazırlanacağı 100 L'lik HDPE bidon temizlenmiş, kirlilik kontrolü yapılmış ve laminer akışlı kabinde kurutulmuştur. Temizlenmiş bidonun boş tartımı (kapağı ile birlikte) TÜBİTAK UME Kütle Laboratuvarı tarafından metrolojik olarak yapılmıştır. Boş tartımı yapılan bidon ISO 7 sınıfı temiz odada uç filtresi (0,22 µm) ve UV lambalı su saflaştırma sistemi kullanılarak 60 L ultra saf su (18,2 MΩ·cm) ile doldurulmuştur. Beherlerdeki metrolojik olarak tartılmış olan tuzlar ayrı ayrı bidona aktarılarak, beherler en az 10 kez ultra saf su ile çalkalanmış ve bu sular da bidona aktarılmıştır. Bidon ultra saf su ile yaklaşık 100 kg'a tamamlanarak kapağı kapatılmış ve TÜBİTAK UME Kütle Laboratuvarı'na götürülmüştür. Ultra saf su ile hedef ağırlığa tamamlanarak tartım öncesinde tartımın yapılacağı laboratuvarda en az 17 saat homojenleştirilmiş ve bu şekilde SRM'nin tartımdan önce ortam sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Homojenleştirilen malzemenin ikame tartımı bir sonraki gün yapılmıştır.

Homojenleştirme ve Şişeleme

Referans malzemenin şişelere dolumu ISO 7 sınıfı temiz laboratuvarda yapılmıştır. Daha önceden temizlenerek kirlilik kontrolü yapılmış, kurutulmuş ve otomatik etiketleme sistemi (Farmatek, Türkiye) kullanılarak etiketlenmiş olan 604 adet 125 mL'lik HDPE şişeye, her bir şişede (100 ± 5) mL olacak şekilde el ile dolum yapılmıştır. Her bir şişe aynı sıra numaralı ikinci bir etiket yapıştırılmış alüminyum saşelerin içerisine konulmuş ve saşelerin ağzı ısıtılarak kapatılmıştır. Saşelerin içerisine yerleştirilen 604 şişe (bundan sonra "ünite" olarak adlandırılacaktır) belirlenen saklama koşulları altındaki depolama alanına aktarılmıştır.

HOMOJENLİK

Homojenlik testleri için dolum sırasına göre numaralandırılmış malzeme içinden tabakalı rastgele numune seçimi prensibine göre 10 ünite seçilmiştir. Rastgele numune seçimi, TÜBİTAK UME

tarafından hazırlanan "TRaNS" yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Böylelikle, seçilen örneklerin toplam numune sayısını temsil etmesi garanti altına alınmıştır. Homojenlik testleri, 10 ünitenin (19, 63, 140, 214, 272, 333, 398, 464, 522, 568 numaralı üniteler) her birinden 3 alt örnek hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Homojenlik testi için yapılan ölçümler DIONEX ICS 3000 IC sistemi ile geçerli kılınmış HP-IC metodu kullanılarak yapılmış olup, dolum ve analiz sırasında ortaya çıkması olası eğilimlerin bağımsız olarak görülebilmesi için ölçümler rastgele sıralamayla yapılmıştır.

Analizler sonucunda her bir parametre için elde edilen kütle kesri değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi tek-etken varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapılmıştır. ANOVA ile istatistiksel değerlendirmenin yapılması öncesinde veri dağılımları incelenmiştir. Bu amaçla, ünite içi ve üniteler arası elde edilen sonuçlar histogramlar kullanarak tek tepeli dağılım için kontrol edilmiştir. Buna ek olarak, elde edilen verilerin Shapiro-Wilk testi uygulanarak da genelde normal dağılım gösterdiği görülmüştür. Bu istatistiksel testler, TÜBİTAK UME Kimya Grubu tarafından Microsoft Excel® yazılımı ile oluşturulan ve geçerli kılınmış şablonlar kullanılarak yapılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda F^- ve Br^- için her bir ünite ortalamalarından ortaya çıkarılan 10 ünitenin (üniteler arası) dağılımının normal dağılım olarak kabul edilebileceği ancak, PO_4^{-3} verisinin normal dağılım göstermediği tespit edilmiştir.

Ölçüm sonuçları, aykırı değer olup olmadığı ve analitik ölçüm ve/veya dolum sıralamasına bağlı olarak herhangi bir eğilim olup olmaması açısından istatistiksel olarak değerlendirilmiştir ve sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir.

Hiçbir parametre için dolum sıralamasına bağlı ya da analiz sıralamasına bağlı bir eğilim tespit edilmemiştir.

Tek yönlü ve çift yönlü Grubb's testleri uygulandığında (maksimum ve minimum, $\alpha = 0,05$) F^- için aykırı değere rastlanmamıştır. Bromür için 272 numaralı ünitenin birinci paralel ölçümü, PO_4^{-3} için 272 numaralı ünitenin ikinci paralel ölçümü ünite içi aykırı değer olarak tespit edilmiştir. Aykırı değerler birer paralel ölçümde görüldüğü için değerlendirmeye dâhil edilmemiştir. Fosfat için aykırı değerin atılması sonrasında dağılımın normal dağılım olduğu görülmüştür.

Tablo 3. Homojenlik Testi Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi

Parametre	Sıralamaya bağlı eğilim var mı?		Aykırı değer var mı?		Dağılım?
	Ölçüm kaynaklı	Dolum kaynaklı	Tüm veri	Ünite ortalamaları	Normal / Tek Tepeli
F^-	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Evet / Evet
Br^-	Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Evet / Evet
PO_4^{-3}	Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Evet / Evet

ANOVA kullanarak ünite içi (s_{wb}) ve üniteler arası (s_{bb}) standart sapmanın hesaplanmasında sırasıyla aşağıdaki verilen Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 uygulanmaktadır [14]:

$$s_{wb} = \sqrt{MS_{within}} \quad (1)$$

MS_{within} : Ünite içi varyansın karelerinin ortalaması,

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

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{between} - MS_{within}}{n}} \quad (2)$$

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

N : Ünite başına tekrar sayısıdır.

Metot tekrarlanabilirliğinin malzemenin homojenliğini tespit edebilecek derecede iyi olamadığı durumlar veya ölçüm esnasında rastgele meydana gelmiş olabilecek dalgalanmalardan dolayı $MS_{between}$ MS_{within}'den küçük olarak bulunabilmektedir. Bu durumlarda s_{bb} hesaplanamayacağından, metot tekrarlanabilirliğini de kapsayan en yüksek heterojenlik belirsizliği olarak u^*_{bb} Eşitlik 3 kullanılarak hesaplanır.

$$u^*_{bb} = \frac{s_{wb}}{\sqrt{n}} \sqrt[4]{\frac{2}{\nu_{MS_{within}}}} \quad (3)$$

$\nu_{MS_{within}}$: MS_{within} değerinin serbestlik derecesi

Homojenlik çalışmasından elde edilen sonuçlar Tablo 4'te verilmiştir. ANOVA uygulanarak gerçekleştirilen hesaplamalarda, s_{bb} veya u^*_{bb} için bulunan değerlerden büyük olan değer homojenlik belirsizlik bileşeni u_{bb} olarak alınmıştır.

Tablo 4. Homojenlik Çalışmasının Sonuçları

Parametre	$s_{wb,rel}$ (%)	$s_{bb,rel}$ (%)	$u^*_{bb,rel}$ (%)	$u_{bb,rel}$ (%)
F^-	0,11	$MS_{between} < MS_{within}$	0,04	0,04
Br^-	0,06	0,05	0,02	0,05
PO_4^{-3}	0,13	0,06	0,04	0,06

Aday SRM'de sertifikalandırılacak tüm parametreler için elde edilen heterojenlik kaynaklı belirsizlik değerleri hedeflenen maksimum belirsizlik değeri olan %0,2'nin altında olduğu tespit edilmiştir. Homojenlik testlerinde elde edilen verilere ait grafikler Ek 1'de sunulmuştur.

KARARLILIK

Kararlılık çalışmaları, sertifikalı referans malzemenin kullanıcıya gönderilmesi sırasında meydana gelebilecek çevresel şartlar (kısa dönem kararlılık, KDK) ve depolama şartlarının (uzun dönem kararlılık, UDK) laboratuvar ortamında benzer koşullar oluşturulması ile gerçekleştirmiştir. Kısa dönem kararlılık testi için seçilen 27 ünite ve uzun dönem karalılık testi için seçilen 21 ünite, TRaNS yazılımı kullanılarak, rastgele tabakalı örnek seçimi prensibiyle belirlenmiştir. Sertifikalandırılacak anyonların kararlılık ölçümleri DIONEX ICS 3000 IC sistemi ile HP-IC metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kısa dönem kararlılık çalışmaları için test edilecek sıcaklıklar +25 °C ve +45 °C, süreler ise 1, 2, 3 ve 4 hafta olarak belirlenmiştir. Her iki sıcaklıkta da test edilecek her bir zaman aralığı için 3 ünite o sıcaklıktaki test kabinine/etüve konmuştur. Kararlılık testinde referans nokta için 3 ünite ayrılmış olup,

bu üniteler doğrudan referans sıcaklığı olan +4 °C'ye yerleştirilmiştir. Her bir test süresinin sonunda her iki sıcaklık ortamından üçer ünite referans sıcaklığa transfer edilmiştir. Dört haftalık test süresi tamamlandığında referans sıcaklığa transfer edilen bütün üniteler, referans olarak kullanılacak ünitelerle birlikte eşzamanlı (*isochronous*) olarak analiz edilmiştir.

Uzun dönem kararlılık testi tek bir sıcaklık için +4 °C'de klasik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Seçilen test örneklerinin tamamı referans sıcaklığa (+4 °C) yerleştirilmiştir. Başlangıç değeri, çalışmanın başlangıcında 3 adet referans üniteden yapılan 3 paralel analiz ile belirlenmiştir. Daha sonra referans sıcaklıktaki UDK örneklerinden 71, 177, 246, 345, 490 ve 603'üncü günlerde 3'er ünite alınarak her üniteden 3'er paralel olacak şekilde analiz edilmiştir.

Her iki kararlılık testi için ölçümler, dolum veya test süresine bağlı olası eğilimlerle analitik sıralamaya bağlı eğilimlerin ayırt edilebilmesi için, test süresi ve dolum sırası rastgele sıralanacak şekilde oluşturulan analitik ölçüm dizisi ile analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamaları TÜBİTAK UME Kimya Grubu uzmanlarınca hazırlanan Microsoft Excel® tabanlı hesaplama şablonu kullanılarak yapılmıştır.

Kısa Dönem Kararlılık Çalışması Sonuçları

Kısa dönem kararlılık çalışmasındaki eşzamanlı gerçekleştirilen ölçüm sonuçları öncelikle aynı zaman noktalarına göre gruplandırılmış ve her bir zaman noktası için değerlendirme yapılmıştır. Bu değerlendirmeler her iki sıcaklık için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

Her bir süre için elde edilen ölçüm değerleri, o sıcaklık grubundaki diğer değerlerle uyumluluklarının belirlenmesi için Grubb's testi uygulanarak %95 ve %99 güvenilirlik seviyesinde aykırı değerler açısından incelenmiştir. Florür için +45 °C testinde 254 numaralı ünitenin (t = 1 hafta) üçüncü paralel ölçümü ve Br^- için +45 °C testinde 254 numaralı ünitenin (t = 1 hafta) üçüncü paralel ölçümü, PO_4^{-3} için +25 °C testinde 328 numaralı ünitenin (referans noktası) üçüncü paralel ölçümü ve 585 numaralı ünitenin (t = 1 hafta) ikinci paralel ölçümü sonuçları aykırı değer olarak tespit edilmiştir. Aykırı değerler birer paralel ölçümde görüldüğü için değerlendirmeye dâhil edilmemiştir.

Kısa dönem kararlılık verilerinin değerlendirilmesinde her bir zaman noktası için hesaplanan değerlerin zamana karşı grafiği çizilmiş ve zamana karşı derişim değerlerinde herhangi anlamlı bir değişim olup olmadığının belirlenmesi için değişkenler arasındaki ilişki incelenmiştir (*regression analysis*). Her bir anyon için doğrusal grafikler çizilmiş ve Br^- hariç bu eğimlerin %95 güvenilirlik seviyesinde (α = 0,05) sıfırdan anlamlı derecede farklı olmadığı t-test (çift kuyruklu t_{crit} değeri) ile test edilmiştir. Bromür için gözlenen bu eğim belirsizliğe dâhil edilmiştir. Kısa dönem karalılık test sonuçları Tablo 5'te ve grafikler Ek 2'de verilmiştir.

Kısa dönem kararlılığa ilişkin olarak belirsizlik hesaplamaları bu eğime ait belirsizlik ve maruz bırakılabilecek en uzun süre göz önüne alınarak Eşitlik 4 kullanılarak hesaplanmıştır [15].

$$u_{sts,rel} = \frac{RSD}{\sqrt{\sum(t_i - \bar{t}\,)^2}} \times t \qquad (4)$$

Burada,

RSD : Regresyon eğrisi üzerindeki noktaların bağıl standart sapması,
t_i : Her bir paralel için zaman noktası,
$\bar{t}$: Bütün zaman noktalarının ortalaması,
t : Transfer için öngörülen maksimum süre: 2 hafta.

Tablo 5. Kısa Dönem Kararlılık Testleri Sonuçları ve 2 Hafta Süre için Belirsizlik Değerleri

Parametre	%95 Güvenilirlik seviyesinde aykırı değer sayısı		%95 Güvenilirlik seviyesinde eğim sıfırdan farklı mı?		+25 °C 2 hafta $u_{sts,rel}$ (%)	+45 °C 2 hafta $u_{sts,rel}$ (%)
	+25 °C	+45 °C	+25 °C	+45 °C		
F^-	-	1	Hayır	Hayır	0,03	0,03
Br^-	-	1	Evet	Evet	0,04	0,04[1]
PO_4^{-3}	1	1	Hayır	Hayır	0,05	0,06

[1] u_{sts}, bozunma dikkate alınarak hesaplanmıştır (u_{sts}=Eğim/√3)

Yapılan değerlendirme sonucunda, üretilen sertifikalı referans malzemede sertifikalandırılacak olan parametrelerin 2 hafta süre ile hem +25 °C hem de +45 °C'de kararlı olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda örneklerin sıcaklığın +45 °C'yi ve sürenin 2 haftayı geçmemesi koşulu ile son kullanıcıya herhangi bir soğutma yapılmadan ulaştırılabileceği sonucuna varılmıştır. Sertifikada verilen belirsizlikler en fazla +45 °C transfer sıcaklığı ve 2 hafta transfer süresi dikkate alınarak ve aykırı değer hariç tutularak hesaplanmış belirsizlikleri içermektedir.

Uzun Dönem Kararlılık Çalışması Sonuçları

Üretilen SRM'lerin raf ömrü, uzun dönem kararlılık çalışmaları sonuçlarına göre belirlenmektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi her bir zaman noktası için 3 ünite kullanılmış ve her üniteden 3 bağımsız paralel örnek hazırlanarak uzun dönem kararlılık testi ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada test süresi 20 aylık bir zaman dilimini kapsayacak ve toplam 7 zaman noktası olacak şekilde tasarlanmıştır. Her bir zaman noktasında 3 tekrarlı ölçüm sonuçlarına ait grafikler Ek 3'te verilmiştir. Her bir zaman noktasındaki hata çizgileri her üç ünite için elde edilen üçer sonucun standart sapması olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen veriler içerisinde, tek ve çift yönlü Grubb's testi uygulanarak %95 ve %99 güvenilirlik seviyelerinde aykırı değerler olup olmadığına dair inceleme sonucunda F^- (%95 ve %99), Br^- (%95 ve %99) ve PO_4^{-3} (%95 ve %99) için aykırı değerler tespit edilmiştir. Aykırı değerler, F^- için 70 numaralı ünitenin üçüncü paralel ölçümünde ve 239 numaralı ünitenin ikinci paralel ölçümünde, Br^- için 70 ve 299 numaralı ünitelerin üçüncü paralel ölçümlerinde, PO_4^{-3} için 44 numaralı ünitenin üçüncü paralel ölçümünde, 70 numaralı ünitenin üçüncü paralel ölçümünde, 239 numaralı ünitenin ikinci paralel ölçümünde, 299 numaralı ünitenin ikinci paralel ölçümünde ve 322 numaralı ünitenin üçüncü paralel ölçümünde tespit edilmiştir. Tüm aykırı değerler, ünitelerin tek paralel ölçümünde tespit edildiğinden bu değerler veri setine dâhil edilmeden değerlendirme yapılmıştır.

Bulunan değerler, zamana karşı derişim grafiğinde uyum çizgisi (regresyon çizgisi) çizilerek incelenmiştir. Test edilen sıcaklıkta, (+4 ± 3) °C, çizilen eğim çizgileri için %95 ve %99 güvenilirlik seviyelerinde uygulanan *t*-testi sonucunda, F^- ve PO_4^{-3} için eğimin sıfırdan farklı olduğu, Br^- için ise eğimin sıfırdan anlamlı şekilde farklı olmadığı tespit edilmiştir.

Uzun dönem kararlılık, toplam belirsizlik bütçesine katkı sağlayan dört parametreden biridir. Sertifikalı referans malzemenin uzun dönem kararlılıktan kaynaklanan belirsizlik değeri Eşitlik 5 kullanılarak hesaplanmıştır [14].

$$u_{lts,rel} = \frac{RSD}{\sqrt{\sum(t_i - \bar{t}\,)^2}} \times t \quad (5)$$

Burada,

RSD : Regresyon eğrisi üzerindeki noktaların bağıl standart sapması,
t_i : Her bir paralel için zaman noktası,
$\bar{t}$: Bütün zaman noktalarının ortalaması,
t : +4 °C sıcaklıkta muhafaza için belirlenen raf ömrü: 24 ay.

Bu şekilde hesaplanan sonuçlar Tablo 6'da, grafikler ise Ek 3'te verilmiştir. Uzun dönem kararlılıktan kaynaklanan belirsizliğin toplam belirsizliğe katkısı için raf ömrü 24 ay olarak belirlenmiştir. Belirlenen raf ömrünün sonrasındaki kararlılığı güvence altına almak için sertifikalandırma sonrası izleme (SSI) sonuçlarına dayanarak belli dönemlerde tekrar değerlendirmeler yapılacaktır.

Tablo 6. Uzun Dönem Kararlılık Testi Sonuçları ve 24 Ay Süre için Belirsizlik Değerleri

Parametre	%95 Güvenilirlik seviyesinde aykırı değer sayısı	%95 Güvenilirlik seviyesinde eğim sıfırdan farklı mı?	+4 °C, 24 ay $u_{lts,rel}$ (%)
F^-	2	Evet	0,23[1]
Br^-	2	Hayır	0,09
PO_4^{-3}	5	Evet	0,23[1]

[1] u_{lts}, bozunma dikkate alınarak hesaplanmıştır (u_{lts}=Eğim/√3)

KARAKTERİZASYON

ISO 17034:2016 standardına göre karakterizasyon çalışması farklı şekillerde yapılabilmektedir. Bu tasarımlardan biri tek bir laboratuvarda referans metot kullanarak yapılan karakterizasyon çalışmasıdır. Diğer bir tasarım ise birden farklı metodun sonuçlarının ağırlıklı veya ağırlıksız ortalamasına dayanmaktadır. Bu üretim sürecinde tüm analitler için gravimetrik çözelti hazırlama ve HP-IC analiz sonuçlarının ortalaması kullanılarak karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

Gravimetrik çözelti hazırlamada hem tuzların tartımları, hem de TÜBİTAK UME Kütle Laboratuvarı tarafından gerçekleştirilen boş bidon ve son çözelti tartımları metrolojik olarak gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon çalışmasının HP-IC ölçümü, TRaNS programı kullanılarak üniteler arasından rastgele seçilen 6 ünitede, her gün 3 ayrı ünite olmak üzere iki farklı günde ve her bir üniteden 3 paralel ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler geçerli kılınmış metot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Homojenlik çalışmasına ait veriler de karakterizasyon çalışmasına dâhil edilerek iki günlük karakterizasyon çalışması verileri ile homojenlik verilerinin ortalaması kullanılmıştır. Kullanılan metodun doğrulanması için NIST 3100 serisi standart çözeltiler kullanılmış ve kullanılan standartlar Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Metot Doğrulanması için Kullanılan Standartlar

Parametre	Adı	Kodu	İzlenebilirlik
F^-	F^- Anyon Standart Çözeltisi	NIST SRM 3183	SI
Br^-	Br^- Anyon Standart Çözeltisi	NIST SRM 3184	SI
PO_4^{-3}	PO_4^{-3} Anyon Standart Çözeltisi	NIST SRM 3186	SI

Belirsizlik hesaplamaları gravimetrik çözelti hazırlama ve HP-IC için "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements (GUM)" [13] ve "EURACHEM/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" dokümanlarına uygun olarak yapılmıştır. Karakterizasyon belirsizlikleri M. S. Levenson et al. (2000) tarafından belirtilen (6) – (8) numaralı eşitlikler kullanılarak birleştirilmiştir [16].

$$u(B) = \frac{|X_{m1} - X_{m2}|}{2\sqrt{3}} \tag{6}$$

$$u(X) = \sqrt{\left(\frac{1}{2}\right)^2 u^2(m_1) + \left(\frac{1}{2}\right)^2 u^2(m_2)} \tag{7}$$

$$u_{char} = \sqrt{u^2(X) + u^2(B)} \tag{8}$$

Burada,

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

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

u_{char} : Karakterizasyon standart belirsizliğini ifade etmektedir.

ÖZELLİK DEĞERLERİNİN VE BELİRSİZLİKLERİNİN ATANMASI

Sertifikalandırılan özellik değerlerinin ve bunlara ait belirsizliklerinin atanması, her parametre için karakterizasyon çalışmasında elde edilen veriler ve beraberindeki belirsizlik değerlerine ek olarak homojenlik ve kararlılık testlerinden elde edilen verilerden hesaplanan belirsizliklerin katkıları da değerlendirilerek gerçekleştirilmiştir.

Sertifikada verilecek özellik değeri, gravimetrik çözelti hazırlamadan elde edilen değer ve karakterizasyon çalışmasının HP-IC ölçüm verisinin aritmetik ortalaması alınarak hesaplanmıştır (Eşitlik 9).

$$C_{CRM} = (C_{m1} + C_{m2})/2 \tag{9}$$

Burada C_{CRM} sertifika değerini ifade etmektedir.

Özellik değerine ait belirsizlik hesaplanmasında karakterizasyon, homojenlik, kısa dönem ve uzun dönem kararlılık belirsizliklerinin katkılarının birleştirilmesi Eşitlik 10'da verildiği şekilde hesaplanmıştır.

$$u_{CRM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2} \quad (10)$$

Burada u_{CRM} özellik değerine ait bileşik standart belirsizliği ifade etmektedir. Bu değer, Eşitlik 11'de gösterildiği şekilde *k* kapsam faktörü ile çarpılarak sertifika değerine ait genişletilmiş belirsizliğe dönüştürülür.

$$U_{CRM} = k \cdot u_{CRM} \quad (11)$$

Sertifika değerleri ile birlikte verilen belirsizlik değerleri %95 güvenilirlik seviyesine karşılık gelen kapsam faktörü *k* = 2 ile çarpılarak genişletilmiş belirsizliklerdir. Her bir parametre için sertifika değerleri ve üzerindeki belirsizlikler Tablo 8'de verilmiştir. Belirsizlik bileşenlerinin toplam belirsizlik üzerindeki katkı oranları ise Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 8. Sertifika Değerleri ve Belirsizlikler

Parametre	Sertifika değeri (mg/kg)	U_{CRM} (mg/kg) (*k* = 2)	U_{CRM} Bağıl, % (*k* = 2)
F^-	993,8	5,3	0,53
Br^-	998,5	2,8	0,28
PO_4^{-3}	998,9	5,2	0,52

Tablo 9. Belirsizlik Bileşenlerinin Toplam Belirsizliğe Katkısı

Parametre	u_{char}(%)	u_{bb} (%)	u_{lts} (%)	u_{sts} (%)
F^-	22,6	2,0	73,8	1,6
Br^-	30,2	12,3	47,7	9,7
PO_4^{-3}	12,3	4,8	78,2	4,7

BİLGİLENDİRME AMAÇLI DEĞER

UME CRM 2282'e ilişkin yoğunluk ölçümleri 3 farklı üniteden 3 paralel okuma ile TÜBİTAK UME laboratuvarlarında yapılmıştır. Bu veriler bilgilendirme amaçlı olarak Tablo 10'da verilmektedir.

Tablo 10. Bilgilendirme Amaçlı Verilen Yoğunluk Değeri

Parametre	Değer	U (*k* = 2)
Yoğunluk (20 °C)	1002,625 kg/m^3	0,044 kg/m^3

İZLENEBİLİRLİK

Bu çalışmada homojenlik ve kararlılık deneyleri dâhil tüm sertifikalandırma deneylerinde geçerli kılınmış metotlar kullanılmıştır. Referans malzemenin hazırlanması ve ölçümlerinde 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. Sertifikalı referans malzemenin hazırlanmasında ve karakterizasyon, homojenlik, kararlılık çalışmalarında, TÜBİTAK UME tarafından safsızlıkların tayini yöntemi ile saflığı belirlenen ve sertifikalandırılan Primer Referans Standartlar (PRS) kullanılarak SI izlenebilirliği sağlanmıştır. Sertifikalandırma çalışmalarında izlenebilirlik amacıyla kullanılan Primer Referans Standartlar Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Sertifikalandırma Çalışmalarında İzlenebilirlik Kaynağı Olarak Kullanılan Primer Referans Standartlar

Parametre	Adı	Saflık ve Belirsizliği, % (*k=2*)	İzlenebilirlik
F^-	NaF Primer Referans Standardı	99,456 ± 0,032	SI
Br^-	KBr Primer Referans Standardı	99,9810 ± 0,0038	SI
PO_4^{-3}	KH_2PO_4 Primer Referans Standardı	99,9926 ± 0,0021	SI

KULLANIM TALİMATI

Kullanım Amacı

Bu malzemenin F^-, Br^- ve PO_4^{-3} anyonlarının tayininde kalibrasyon standardı olarak kullanılması amaçlanmıştır.

Saklama Koşulları

Malzeme kullanım öncesi ve sonrasında (2 - 8) °C'de saklanmalıdır. TÜBİTAK UME, malzeme ile ilgili bildirdiği saklama koşulları ve kullanım talimatına uyulmaması nedeniyle malzemede meydana gelebilecek değişikliklerden sorumlu tutulamaz.

Güvenlik Uyarıları

Malzeme yalnızca laboratuvar kullanımı için üretilmiştir. Malzemenin saklanması ve kullanımı sırasında genel laboratuvar önlemleri uygulanmalıdır. Malzemenin mevcut olan güvenlik kurallarına göre kullanımı ve imhası tavsiye edilir. Malzeme kullanılmadan önce Güvenlik Bilgi Formu (GBF) dikkatlice okunmalıdır.

Malzemenin Kullanılması

Şişe açılmadan önce ortam sıcaklığı ile dengeye gelmesi beklenmelidir. Şişe açılmadan önce çalkalanmalıdır. Şişenin açılması ve kullanımı sırasında malzemenin kirlenmesini ve buharlaşmasını önlemeye yönelik tüm önlemler alınmalıdır.

Minimum Örnek Alım Miktarı

Çözeltinin F^-, Br^- ve PO_4^{-3} için homojen olduğu yapılan şişe içi ve şişeler arası homojenlik testleri ile kanıtlanmıştır. Minimum örnek alım miktarı, son kullanıcı tarafından ölçüm yeteneğine göre, hazırlayacağı çalışma çözeltisinin belirsizliğine etkisi de göz önünde bulundurularak belirlenmelidir.

KAYNAKLAR

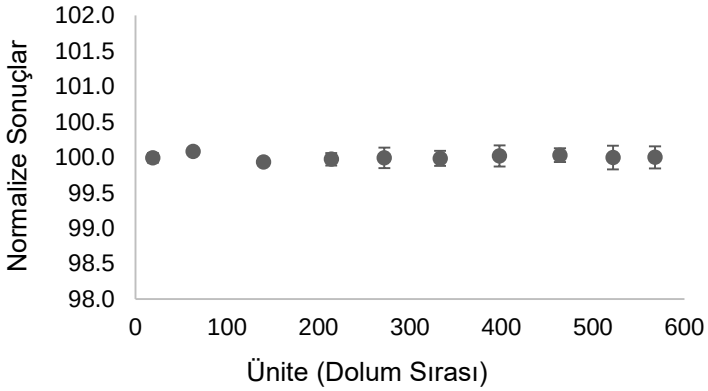
[1] İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, 17.02.2005 tarih, 25730 sayılı Resmi Gazete
[2] Doğal Mineralli Sular Hakkında Yönetmelik, 01.12.2004 tarih, 25657 sayılı Resmi Gazete
[3] Yeraltı Sularının Kirlenmeye ve Bozulmaya Karşı Korunması Hakkında Yönetmelik, 07.04.2012 tarih, 28257 sayılı Resmi Gazete
[4] Tarımsal Kaynaklı Nitrat Kirliliğine Karşı Suların Korunması, 23.07.2016 tarih, 28257 sayılı Resmi Gazete
[5] 1333/2008/EC sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Tüzüğü
[6] 231/2012 sayılı Komisyon Tüzüğü
[7] Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 30.06.2013 tarih, 28693 sayılı Resmi Gazete
[8] Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddelerinin Spesifikasyonları Hakkında Yönetmelik, 03.04.2017 tarih, 30027 (Mükerrer) sayılı Resmi Gazete
[9] R. G. Brennan, T.A. Butler, and M.R. Winchester, “Achieving 0.2% Relative Expanded Uncertainty in Ion Chromatography Analysis using a High Performance Methodology”, National Institute of Standards and Technology, Analytical Chemistry Division, Gaithersburg MD 20899
[10] ISO 17034:2016, General requirements for the competence of reference material producers
[11] ISO Guide 35:2017, Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability
[12] TS EN ISO/IEC 17025:2017 Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yetkinliği için genel gereklilikler
[13] JCGM 100:2008 Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement
[14] 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 (2001) 20 - 25
[15] 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 (2001) 183-188
[16] M. S. Levenson, D. L. Banks, K. R. Eberhardt, L. M. Gill, W. F. Guthrie, H. K. Liu, M. G. Vangel, J. H. Yen, and N. F. Zhang, "An Approach to Combining Results From Multiple Methods Motivated by the ISO GUM", Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology, Volume 105, Number 4, July–August 2000 Method in page 577: Between-Method Uncertainty

REVİZYON TARİHÇESİ

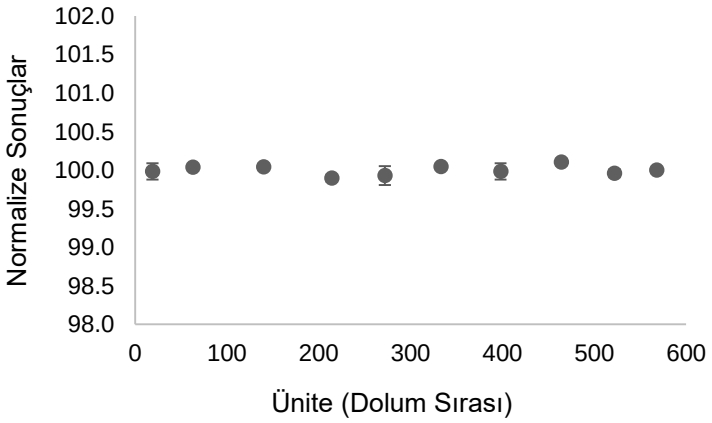
Tarih	Açıklama
12.04.2023	İlk Yayın

EKLER

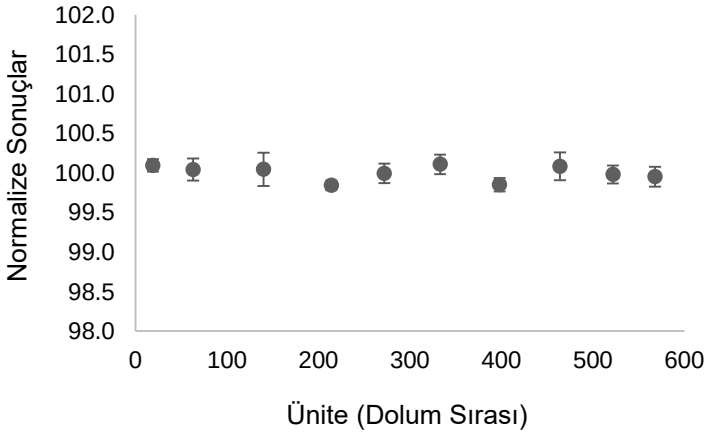
Ek 1. Homojenlik Çalışması Grafikleri



Şekil A1.1. F^- Homojenlik Grafiği

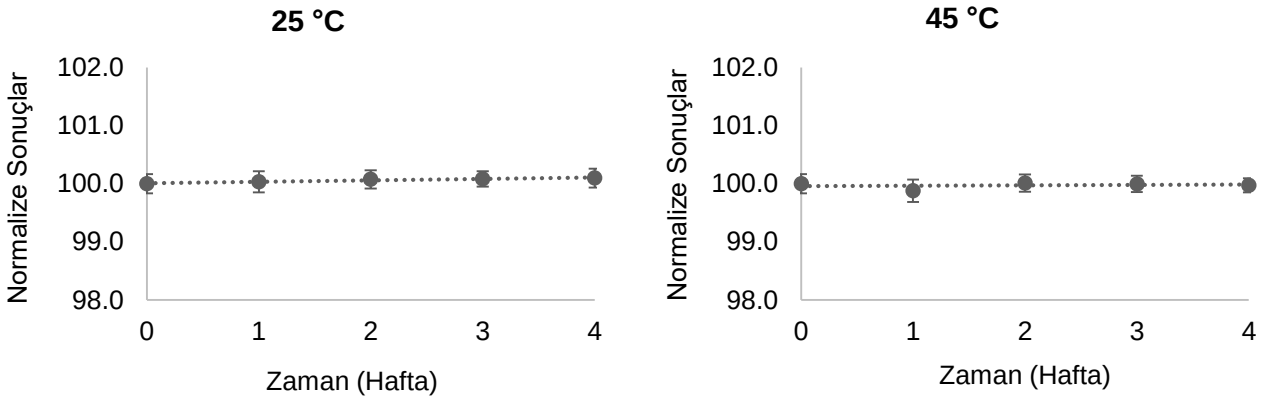


Şekil A1.2. Br^- Homojenlik Grafiği

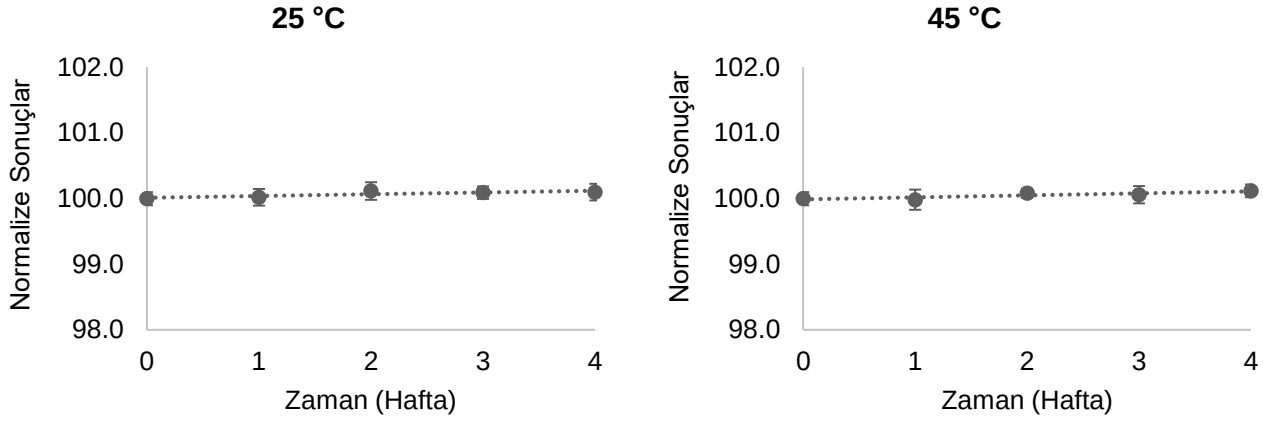


Şekil A1.3. PO_4^{-3} Homojenlik Grafiği

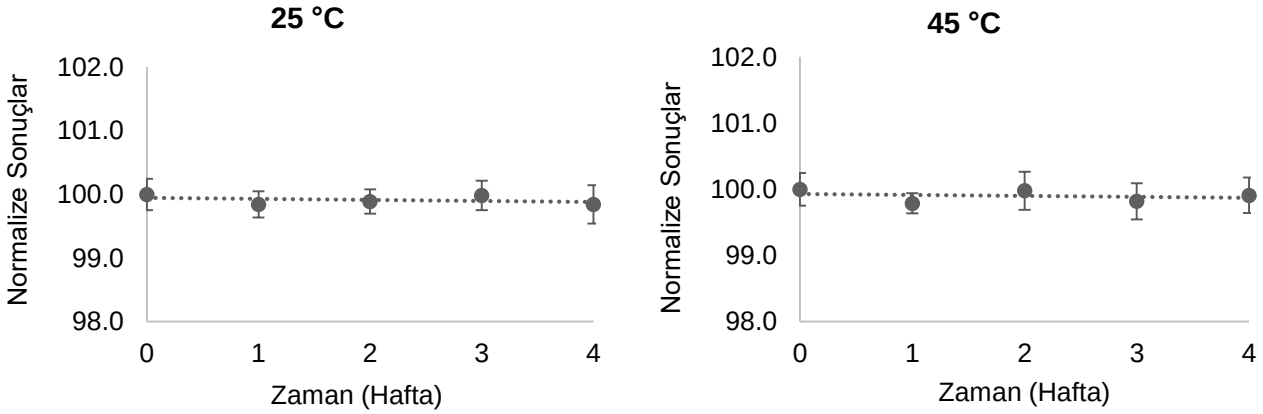
Ek 2. Kısa Dönem Kararlılık Çalışması Grafikleri



Şekil A2.1. F^- için +25 °C ve +45 °C Sıcaklıklarda KDK Grafikleri

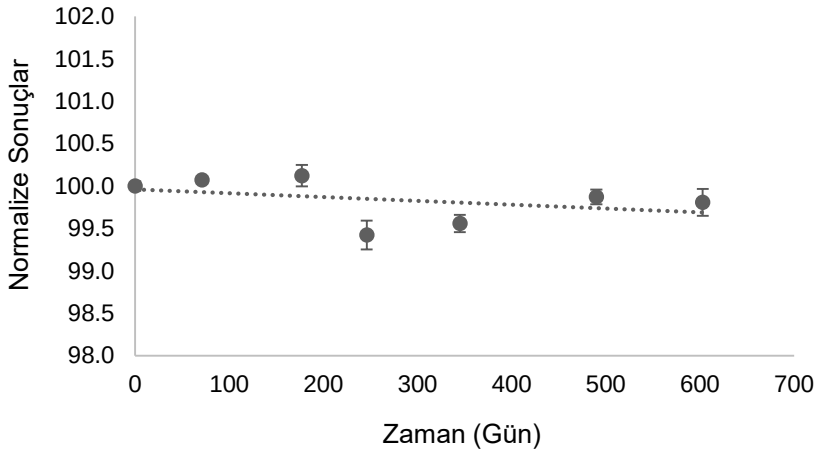


Şekil A2.2. Br^- için +25 °C ve +45 °C Sıcaklıklarda KDK Grafikleri

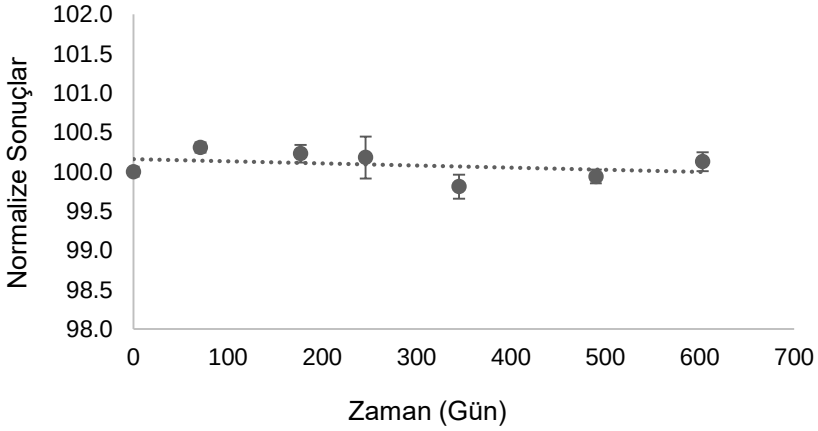


Şekil A2.3. PO_4^{-3} için +25 °C ve +45 °C Sıcaklıklarda KDK Grafikleri

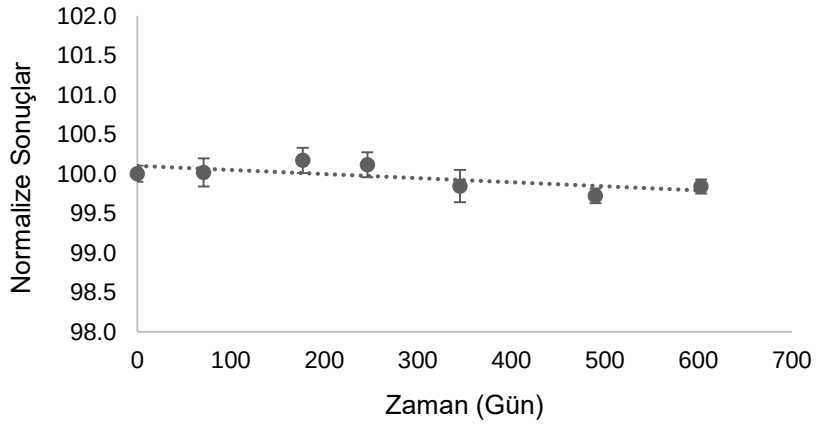
Ek 3. Uzun Dönem Kararlılık Çalışması Grafikleri



Şekil A3.1. F^- için +4 °C Sıcaklıkta UDK Grafiği



Şekil A3.2 Br^- için +4 °C Sıcaklıkta UDK Grafiği



Şekil A3.3. PO_4^{-3} için +4 °C Sıcaklıkta UDK Grafiği