

**BAZI KOZMETİK ÜRÜNLERDE ESER BİLEŞENLERİN
SPEKTROSKOPİK ve KROMATOĞRAFİK
YÖNTEMLERLE TAYİNLERİ**

Özlem YILMAZCAN



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI KOZMETİK ÜRÜNLERDE ESER BİLEŞENLERİN SPEKTROSKOPİK ve
KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE TAYİNLERİ**

Özlem YILMAZCAN

Doç. Dr. Belgin İZGİ
(Danışman)

Prof. Dr. Erwin ROSENBERG
(İkinci Danışman)
(Viyana Teknik Üniversitesi)


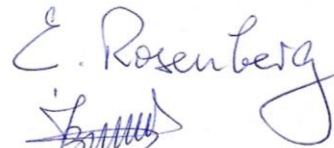




DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA – 2015

TEZ ONAYI

Özlem YILMAZCAN tarafından hazırlanan “Bazı Kozmetik Ürünlerde Eser Bileşenlerin Spektroskopik ve Kromatografik Yöntemlerle Tayinleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Belgin İZGİ/ **İkinci Danışman:** Prof. Dr. Erwin ROSENBERG

Başkan:	Prof. Dr. Cevdet DEMİR Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı	İmza	
Üye:	Prof. Dr. Erwin ROSENBERG Viyana Teknik Üniversitesi Analitik Kimya Bölümü	İmza	
Üye:	Doç. Dr. Belgin İZGİ Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı	İmza	
Üye:	Prof. Dr. Nusret ERTAŞ Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı	İmza	
Üye:	Doç. Dr. Elif TÜMAY ÖZER Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı		
Üye:	Doç. Dr. Sezgin BAKIRDERE Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı	İmza	

Yukarıdaki sonucu onaylarım
Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
...../ / 2015

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

30/07/2015

İmza

Özlem YILMAZCAN

ÖZET

Doktora Tezi

BAZI KOZMETİK ÜRÜNLERDE ESER BİLEŞENLERİN SPEKTROSKOPİK ve
KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE TAYİNLERİ

Özlem YILMAZCAN

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Belgin İZGİ

İkinci Danışman: Prof. Dr. Erwin ROSENBERG (Vienna Teknik Üniversitesi)

Çalışmamızda kozmetik ve çevre örneklerinin kalite kontrolü için örnek hazırlama teknikleri ve farklı analiz yöntemlerinin kullanılması üzerinde durulmuştur. Tezin spektroskopik tekniklerle çalışılan kısmında, çeşitli kozmetik matrislerde, toplam cıva ve kurşun tayini için analitik yöntemler geliştirilmiştir. İlk olarak Enerji Dağılımlı X-Işını Floresans Spektrometre (EDXRF) tekniği ile krem ve göz farı matrislerinde kalitatif element taraması yapılmıştır. Ruj matrisinde kurşunun fraksiyonlaması için bir şema geliştirilmiştir. Gliserol, n-hekzan, aktif karbon, yapay tükürük ve gıda benzeri ekstraksiyon risk değerlendirmeleri açısından incelenmiştir. Göz farı örneklerinde kurşunun tayini için İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometre (ICP-MS) tekniği ile çalışılmıştır. Cıva tayini için grubumuz tarafından daha önce geliştirilen bir sistem, altın amalgamı ile Grafit Fırınlı Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (GFAAS) kullanarak kozmetik kremlerde cıva tayini için modifiye edilmiştir.

Tezin kromatografik tekniklerle çalışılan kısmında, Vakum Outlet - Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresinin (VO-GC/MS) uygulanabilirliği araştırılarak, tekniğin havuz suyu numunelerinde oktinoksat ve oksibenzon UV Filtrelerin tayini için, hızlı, duyarlı ve çevre dostu bir ekstraksiyon metodu olan Katı faz mikro ekstraksiyon ile kombinasyonu incelenmiştir. Oktinoksat ve oksibenzon güneş koruyucu losyonlarda yaygın olarak kullanılan şüpheli endokrin bozucular olması nedeniyle kullanılmıştır. Ekstraksiyon basamaklarını etkileyen bütün deneysel parametreler araştırılmıştır ve geleneksel Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometresi (GC/MS) yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca, Sıvı kromatografi – iyon tuzağı- uçuş zamanlı- kütle spektrometresi ile Tiyomersal bileşiğinin kantitatif tayini için metot geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler, element ve bileşiklerin düşük derişimlerinin belirlenmesinde kozmetik ve çevresel örneklere uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: UV Filtreler, Cıva, Kurşun, Tiyomersal, Havuz suyu, Kozmetik, EDXRF, GFAAS, Vakum Outlet-GC/MS, ICP-MS, LC-IT-TOF-MS

2015, xi + 117 sayfa.

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF SOME TRACE CONSTITUENTS IN COSMETICS BY SPECTROSCOPIC AND CHROMATOGRAPHIC METHODS

Özlem YILMAZCAN

Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Belgin İZGİ

Second Supervisor: Prof. Erwin ROSENBERG (Vienna Technology of University)

In this study, new analytical methods were developed for the determination of quality parameters in cosmetic and environmental samples. In the spectroscopic part of this thesis, developed analytical methods for total mercury and lead determination were presented. Firstly, EDXRF technique was used for the qualitative analysis in cosmetic creams and eye shadow matrixes. A preliminary scheme was proposed for the fractionation of lead in lipstick matrix. Glycerol, n-hexane, activated carbon, artificial saliva and food stimulant extractions were investigated in terms of the risk assessment evaluations. A method was performed for the determination of lead in eye shadow matrices using ICP-MS. Further, a homemade system which has been developed by our group was modified for determination of mercury in cosmetic creams by a mercury gold amalgamation with GF-AAS.

In the chromatographic part of this thesis, the applicability of vacuum outlet-GC/MS and its combination with SPME for the fast, sensitive, convenient and environmentally friendly extraction and subsequent determination of octinoxate and oxybenzone in swimming pool water samples was investigated. Octinoxate and oxybenzone were chosen as representative chemicals as they were suspected endocrine disrupters and yet belong to the most widely used chemicals in sunscreen lotions. All the experimental parameters affecting the extraction procedure were intensively investigated and the analytical characteristics of the method were compared to a conventional GC/MS method and critically evaluated. Also, a LC-IT-TOF-MS method were developed and validated for the quantitative determination of thimerosal compound. This system has proved to be an effective tool for fast, sensitive and selective determination of thimerosal at cosmetic samples. The developed methods have been applied to cosmetic and environmental samples with low concentrations of the elements and compounds.

Keywords: UV Filters, mercury, lead, thimerosal, swimming pool water, fractionation, cosmetic, EDXRF, GFAAS, Vacuum Outlet-GC/MS, ICP-MS, LC-IT-TOF-MS

2015, xi + 117 pages.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, zaman zaman sancılı geçen bu uzun yolda, laboratuvar aşamalarımda zorlukları yenmeme yardım eden, desteğini ve zamanını hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Belgin İZGİ' ye,

Viyana Teknik Üniversitesi'nde bulunduğum süre boyunca, bilgi birikiminden faydalandığım, alt yapımın gelişmesine katkı sağlayan, kendisini tanıdığım için çok şanslı hissettiğim ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Erwin ROSENBERG'e,

Emekli olmasına kısa bir süre kala da olsa kendisiyle çalışma imkânı bulduğum ve bundan her zaman gurur duyduğum, ihtiyacım olan her aşamada beni destekleyen ve yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. Şeref GÜÇER'e,

Doktora çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen, başta tez izleme komitesi üyem ve Kimya Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Cevdet DEMİR olmak üzere, U.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan hocalarıma,

Tez çalışmamı 2214A Doktora Sırası Araştırma Bursu ile destekleyen TÜBİTAK'a,

Çalışmalarımın bir kısmını hizmet alımı şeklinde gerçekleştirdiğim TÜBİTAK BUTAL de, yardımlarından dolayı hocam Doç. Dr. M. Akif ÇİMENÖĞLU ve Sibel TAŞKESEN'e,

ICP-OES çalışmalarımız için bizden yardımını esirgemeyen Balıkesir Üniversitesi'nden sevgili hocam Doç. Dr. Sema BAĞDAT'a,

Doktoram süresince her konuda benden desteğini ve ilgisini esirgemeyen, başta değerli çalışma arkadaşlarım Chrysoula KANAKAKI ve Muazzez ERSOY olmak üzere tüm arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca sevgileriyle bana güç veren ve verdiğim kararlarda beni hem maddi hem manevi olarak sonuna kadar destekleyen annem Nimet YILMAZCAN, babam Mustafa YILMAZCAN ve kardeşim Özge YILMAZCAN'a; ayrıca doğduğum günden beri her koşulda yanımda olan isim annem, teyzem Cennet URUN'a

teşekkür ederim.

Özlem YILMAZCAN
30.07.2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Kozmetikler	3
2.2. Kozmetiklerde Kullanılan Metaller	3
2.2.1. Kurşun	4
2.2.2. Cıva	5
2.3. Kozmetiklerde Kullanılan UV Filtreler	7
2.3.1. Oksibenzon	14
2.3.2. Oktinoksat	15
2.3.3. Endokrin Aktif UV Filtreler	17
2.4. Kozmetiklerde Kullanılan Koruyucular	17
2.4.1. Tiyomersal	19
2.5. Kozmetiklerle İlgili Yasal Düzenlemeler	21
2.6. Çalışmada Kullanılan Analitik Metotlarla İlgili Kuramsal Bilgiler	25
2.6.1. Enerji dağılımlı X-ışını floresans spektrometresi	25
2.6.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi	28
2.6.1.2. Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi	29
2.6.1.3. Grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi	30
2.6.1.4. İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi	32
2.7. Kozmetikler için Örnek Hazırlama Yöntemleri	36
2.7.1. Açık sistem çözünürleştirme sistemi	37
2.7.2. Mikrodalga esaslı çözünürleştirme sistemi	38
2.7.3. Katı faz mikro ekstraksiyonu	39
2.8. Kozmetiklerin Analizinde Kullanılan Analitik Metotlar	44
2.8.1. Gaz kromatografisi – kütle spektrometresi	44
2.8.1.1. Vakum outlet - gaz kromatografisi – kütle spektrometresi	48
2.8.2. Sıvı kromatografisi- iyon tuzağı- uçuş zamanlı- kütle spektrometresi	52
2.8.2.1. Atmosferik basınçlı iyonlaşma teknikleri	53
2.8.2.1.1. Elektrosprey iyonizasyon	53
2.8.2.1.2. Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon	54
2.9. Ölçüm Belirsizliği	55
3. MATERYAL ve YÖNTEM	58
3.1. Materyal	58
3.1.1. Çalışmada kullanılan analitik cihazlar	58
3.1.1.1. Enerji dağılımlı X-ışını floresans spektrometre	58
3.1.1.2. Grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometre	58
3.1.1.3. İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometre	58
3.1.1.4. İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometre	59
3.1.1.5. Gaz kromatografisi – kütle spektrometresi	59
3.1.1.6. Sıvı kromatografi – iyon tuzağı- uçuş zamanlı- kütle spektrometresi	60

3.1.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları	60
3.1.2.1. Etüv	60
3.1.2.2. pH metre	60
3.1.2.3. Analitik terazi	60
3.1.2.4. Su banyosu ve ultrasonik karıştırıcı	61
3.1.2.5. Mikrodalga çözünürleştirme cihazı	61
3.1.2.6. Saf su cihazı	61
3.1.2.7. Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı	61
3.1.3. Çalışmada kullanılan kimyasallar, sertifikalı referans malzemeler, numuneler	62
3.1.3.1. Kimyasallar	62
3.1.3.2. Sertifikalı referans malzemeler	62
3.1.3.2. Numuneler	60
3.2. Yöntem	63
3.2.1. Krem ve göz farı örneklerinin EDXRF analizi için hazırlanması	63
3.2.2. Göz farı örneklerinin açık sistem yaş yakma ile hazırlanması	63
3.2.3. Ruj ve göz farı örneklerinin ICP-MS analizi için çalışma koşulları	64
3.2.4. Ruj örneklerinin analizi için ICP-OES çalışma koşulları	64
3.2.5. ICP-MS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	65
3.2.6. Açık sistem yaş yakma işleminin optimizasyonu	65
3.2.7. Fraksiyonlama çalışmaları için örneklerin hazırlanması	68
3.2.7.1. Açık sistem yaş yakma ile toplam metal tayinleri	69
3.2.7.2. Ruj örneklerinin hekzan ekstraksiyonu	69
3.2.7.3. Ruj örneklerinde aktif karbon ile adsorpsiyon çalışmaları	69
3.2.7.4. Ruj örneklerinin gliserin ile ekstraksiyonu	69
3.2.7.4. Ruj örneklerinde kurşun metalinin yapay tükürük çözeltilisine migrasyonu	70
3.2.7.6. Ruj örneklerinde kurşun metalinin gıda benzerlerine migrasyonu	70
3.2.7.7. SRM analizi ve yüzde geri kazanım çalışmaları	70
3.2.8. Krem Örnekleri için GFAAS ve ICP-MS çalışma koşulları	70
3.2.9. GFAAS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.	71
3.2.10. Krem örneklerinin mikrodalga esaslı çözünürleştirme yöntemi ile GFAAS analizine hazırlanması	71
3.2.11. Açık sistem yaş yakma ile toplam metal analizleri	72
3.2.12. GFAAS için krem örnekleri için oluşturulan tuzaklama metodu	72
3.2.13. GFAAS ve ICP-MS’de metod validasyon parametrelerinin belirlenmesi	73
3.2.14. GC-MS ve vakum outlet-GC/MS için çalışma koşulları	74
3.2.15. GC-MS ve vakum outlet-GC/MS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	75
3.2.16. UV Filtre analizi için katı faz mikro ekstraksiyonu optimizasyonu	75
3.2.16.1. SPME için fiber kaplama optimizasyonu	75
3.2.16.2. SPME için ekstraksiyon işleminin optimizasyonu	76
3.2.16.3. SPME için örnek hacmi optimizasyonu	76
3.2.16.4. SPME için ekstraksiyon süresi optimizasyonu	77
3.2.16.5. SPME için pH ve tuz ilavesi optimizasyonu	77
3.2.16.6. SPME için karıştırma hızı optimizasyonu	78
3.2.17. Taşınma (Carry-over) etkisi	78
3.2.18. Vakum Outlet-GC/MS için ölçüm belirsizliğinin hesaplanması	78
3.2.19. LC-IT-TOF-MS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	79
4. BULGULAR	80
4.1. Kozmetik Kremelerde ve Göz Farlarında Kalitatif EDXRF Sonuçları	80
4.2. Merkezi Kompozit Dizayn Yöntemi ile Optimizasyon Çalışması Sonuçları	84

4.3. Krem Analizleri için Cıva Standardına Göre Validasyon Parametreleri	84
4.4. Kozmetik Kremlerde Cıva Tayini Sonuçları	85
4.5. Rujlarda ve Göz Farlarında Kurşun Tayini için ICP-MS ile Metot Duyarlılık Parametrelerinin Belirlenmesi	87
4.6. Göz Farlarında Kurşun Tayinine Ait Sonuçlar	87
4.7. Ruj Matriksinde Kurşun Fraksiyonlama Çalışmasında Aktif Karbonun Adsorplama Kapasitesi Üzerine Çözücü Etkisine ait Sonuçları	87
4.8. Ruj Örneklerinde Kurşun Elementi için Fraksiyonlama Çalışması ve Yüzde Geri Kazanım Sonuçları	88
4.9. UV Filtrelerin Vakum Outlet-GC/MS de Elde Edilen Van Deemter Eğrileri	88
4.10. UV Filtrelerin Örnek Hacmi, Ekstraksiyon Zamanı ve Farklı Fiberler İçin SPME/GC-MS Optimizasyonu Sonuçları	89
4.11. UV Filtrelerin Farklı Karıştırma Hızı, Ekstraksiyon Modu Ve Sıcaklık İçin SPME/GC-MS Optimizasyonu Sonuçları	90
4.12. UV Filtrelerin pH ve Farklı Derişimlerde Tuz İlavesi Etkisinin SPME/GC-MS Sonuçları	91
4.13. Havuz Suyunda UV Filtreler için DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS ile Alınan Kromatogramı	92
4.14. Havuz Suyunda UV Filtreler için DI-SPME-GC-MS ile Alınan Kromatogramı	93
4.15. DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS Metodu için Ölçüm Belirsizliği Sonuçları	94
4.16. DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS ve SPME-GC-MS Metotları için Validasyon Sonuçları	95
4.17. Tiyomersalin Tayini için LC-IT-TOF-MS ve LC-DAD Validasyon Sonuçları	97
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	99
KAYNAKLAR	105
ÖZGEÇMİŞ	117

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

tR	Alıkonma zamanı
°C	Derece, Santigrat
d	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
m/z	Kütle/yük
μ	Mikro
μg L ⁻¹	Mikrogram/Litre
mg L ⁻¹	Miligram/Litre
mL d ⁻¹	Mililitre/dakika
ppb	Milyarda bir kısım
ppm	Milyonda bir kısım
rpm	Dakikada gerçekleşen devir sayısı
K _{fs}	Örnek matrisi ile fiber arasındaki dağılım katsayısı
n	Fibere kaplanan analitin kütlesi
C _o	Örnekteki analitin başlangıç derişimi
V _f	Fiberin hacmi
V _s	Örnek hacmi
s	Saniye
±	Standart sapma
%	Yüzde

Kısaltmalar

AAS	Atomik absorpsiyon spektrometri
AES	Atomik emisyon spektrometresi
APCI	Atmosferik basınç kimyasal iyonlaşma
BP-3	Benzofenon-3 ya da Oksibenzon
CDL	Curved Desolvasyon hattı
DAD	Diyot seri dedektör
EDCs	Endokrin bozucu kimyasallar
EDXRF	Enerji dağılımlı X-ray floresans
EHMC	Etil Hekzil metoksi sinnemat ve oktinoksat
ESI	Elektrosprey İyonlaşma
EU	Avrupa Birliği
ETAAS	Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi
GC-MS	Gaz kromatografisi- Kütle Spektrometresi
GFAAS	Grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi
HPLC	Yüksek basınç sıvı kromatografisi

ICP-MS	İndüktif eşleşmiş plazma- kütle spektrometresi
INCI	Uluslararası Kozmetik Ürün Bileşenleri Terminolojisi
LC	Sıvı kromatografisi
LC-IT-TOF/MS	Sıvı kromatografisi/uçuş zamanlı kütle spektroskopisi
LOD	Belirleme limiti
LOQ	Nicel tayin limiti
PVDF	Polivinilidin Florür
PTV	Programlanabilen Sıcaklık buharlaştırma Enjektörü
PTFE	Politetrafloroetilen
SRM	Sertifikalı referans malzeme
RSD	Relatif Standart Sapma
SIM	Seçici iyon modu
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
SPME	Katı faz mikro ekstraksiyonu
US FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
UV	Ultraviyole
VO	Vakum Outlet
WDXRF	Dalgaboyu dağılımlı X-Işını floresans spektrometresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.3.1. Cildin yapısı (a), UV ışınlarının cilt tabakasına etkisi (b)	8
Şekil 2.3.2. Organik ve fiziksel UV Filtrelerin cilt tabakasına etkisi	9
Şekil 2.3.1.1. Benzofenonun yapısı	14
Şekil 2.3.2.1. Etil heksil metoksi sinnamat yapısı	15
Şekil 2.4.1.1. Tiyomersalin kimyasal yapısı (A) ve hidroliz ürünleri (B) ve (C)	19
Şekil 2.6.1. Kozmetiklerde metallerin analizi için kullanılan metotlar	25
Şekil 2.6.1.1. Genel olarak XRF cihazına ait parçalar	26
Şekil 2.6.1.2. Enerji Dağılımlı X-ışını floresans spektrometrenin genel şeması	27
Şekil 2.6.1.3. XRF Cihazının temel bileşenleri a) WDXRF, b) EDXRF	27
Şekil 2.6.1.1.1. Atomik absorpsiyon, emisyon ve kütle spektrometresi için cihaz kurulumunun şematik gösterimi	28
Şekil 2.6.1.2.1. AAS'nin şematik gösterimi	29
Şekil 2.6.1.3.1. GFAAS'nin temel bileşenleri	31
Şekil 2.6.1.4.1 ICP-MS cihazının bileşenleri	34
Şekil 2.7.3.1. SPME fiberinin yapısı	39
Şekil 2.7.3.2. SPME fiberlerinin karşılaştırılması	41
Şekil 2.7.3.3. Headspace ve doğrudan SPME türleri	43
Şekil 2.8.1. Kozmetik analizlerinde analitik yöntemlerin özellikleri	44
Şekil 2.8.1.1. Gaz kromatografin bileşenleri	45
Şekil 2.8.1.2. Gaz kromatografi/kütle spektrometrenin şematik gösterimi	48
Şekil 2.8.1.1.1. a. Enjeksiyon portundaki (restriction) sınırlayıcının pozisyonu ve b. Press-Tight konnektörde sınırlayıcı (restriction)	49
Şekil 2.8.1.1.2. He taşıyıcı gazı için 0,53 mm'lik kolonun basınç ve vakum koşullarında Van Deemter eğrileri	50
Şekil 2.8.2.1. Uçuş zamanlı kütle spektrometresinin şematik diyagramı	53
Şekil 2.8.2.1.1. Elektrosprey iyonizasyon şematik görünümü	54
Şekil 2.8.2.1.2. Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon şematik görünümü	55
Şekil 3.2.7.1. Ruj örnekleri için element fraksiyonlama şeması	68
Şekil 3.2.12.1. Cıva ölçümü için kullanılan düzenek	73
Şekil 4.1.1. Siyah (mavi) ve mor (kırmızı) göz farına ait Mo hedefindeki EDXRF spektrumu	81
Şekil 4.1.2. Siyah (mavi) ve mor (kırmızı) göz farına ait HOPG hedefindeki EDXRF spektrumu	82
Şekil 4.1.3. Siyah (mavi) ve mor (kırmızı) göz farına ait Al ₂ O ₃ hedefindeki EDXRF spektrumu	82
Şekil 4.1.4. Güneş koruyucu krem 1 ve hammaddeye ait EDXRF spektrumu	83
Şekil 4.1.5. Güneş koruyucu krem 2 ve hammaddeye ait EDXRF spektrumu	83
Şekil 4.1.6. Güneş koruyucu krem 3 ve hammaddeye ait EDXRF spektrumu	84
Şekil 4.9.1. Artan basınca göre UV Filtrelerin van deemter eğrileri	89
Şekil 4.10.1. UV Filtrelerin örnek hacmi, ekstraksiyon zamanı ve farklı fiberler için SPME/GC-MS optimizasyon grafiği	90
Şekil 4.11.1. UV Filtrelerin farklı karıştırma hızı, ekstraksiyon modu ve sıcaklık için SPME/GC-MS optimizasyon grafiği	91

Şekil 4.12.1. UV filtrelerin pH ve farklı derişimlerde tuz ilavesi etkisinin SPME/GC-MS Sonuçları	92
Şekil 4.13.1. DI-SPME-Vakum outlet-GC/MS kromatogramı. Siyah çizgi:, 5 µg/L seviyesinde oktinoksat (1) ve oksibenzon (2) UV Filtreleri standart ilave edilmiş havuzsuyu, Pembe çizgi: standart ilave edilmeyen havuz suyu örneği. Mavi çizgi: Kolon Blank.	93
Şekil 4.14.1. DI SPME sonrasında Oksibenzon (1) ve oktinoksat (2) için standart ilave edilmiş havuz suyu kromatogramları.	94
Şekil 4.15.1. UV Filtreler için ölçüm belirsizliği grafiği	95
Şekil 4.16.1. SPME sonrası standart ilave edilmemiş havuz suyu örneğinde UV filtrelerin SIM kromatogramı	96
Şekil 4.17.1. Tiyomersal bileşiminin LC-IT-TOF-MS için kalibrasyon grafiği	97
Şekil 4.17.2. Tiyomersal için LC-IT-TOF-MS kromatogramı (Pembe: TIC Kromatogramı, Mavi: 383.0066 m/z'de iyon kromatogramı)	98
Şekil 5.1. A-C ve A-D prosedürlerinin karşılaştırması	102

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.3.1. UV Radyasyonunun Sınıflandırılması	8
Çizelge 2.3.2. Kozmetik ürünlerde izin verilen UV filtreleri ve miktarları	10
Çizelge 2.3.1.1. Benzofenon-3'ün özellikleri	15
Çizelge 2.3.2.1. Etilhekzil metoksisinnamatin özellikleri	16
Çizelge 2.4.1. Kozmetik ürünlerde en sık kullanılan kozmetik koruyucular	18
Çizelge 2.6.1.2.1. Atomik spektroskopide kullanılan kullanılan gaz karışımları ve sıcaklıkları	30
Çizelge 2.7.1. Açık sistem çözünürleştirme için metotlar	37
Çizelge 2.7.3.1. SPME'nin diğer tekniklerle karşılaştırılması	42
Çizelge 2.7.3.2. Ticari olarak uygun SPME Fiberlerinin Özeti	42
Çizelge 2.8.1.1. Dolgulu ve kapiler kolon özellikleri	46
Çizelge 2.8.1.2. Gaz-sıvı kromatografi için uygun bazı durgun fazlar	47
Çizelge 3.2.3.1. Ruj ve göz farı örneklerinin analizi için ICP-MS koşulları	64
Çizelge 3.2.4.1. Ruj örneklerinin analizi için ICP-OES koşulları	64
Çizelge 3.2.6.1. Standart eklenmiş örnek parametrelerin gerçek ve kodlanmış değerleri	66
Çizelge 3.2.6.2. Kullanılan merkezi kompozit dizayn matrisi	66
Çizelge 3.2.6.3. Kurşun tayini için parametrelerin optimizasyonunda ikinci dereceden polinomial model için varyans analizi	67
Çizelge 3.2.6.4. Kurşun elementine ait geri kazanım değerleri	68
Çizelge 3.2.8.1. Krem örneklerinde GFAAS ve ICP-MS ile cıva tayininde çalışma koşulları	71
Çizelge 3.2.10.1. Mikrodalga programı	72
Çizelge 3.2.12.1. Grafit fırın için sıcaklık programı	73
Çizelge 3.2.14.1. UV Filtrelerin analizi için GC-MS Çalışma Koşulları	74
Çizelge 3.2.14.2. UV Filtrelerin analizi için Vakum Outlet-GC-MS Çalışma Koşulları	75
Çizelge 3.2.18.1. Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşımına göre birleştirilmiş belirsizlik (U_c) dört ana katkısının tanımlanması ve açıklaması	79
Çizelge 4.1.1. EDXRF de metaller için gözlenebilme sınırları	80
Çizelge 4.1.2. EDXRF ile güneş koruyucu kremlerde tespit edilen elementler	80
Çizelge 4.1.3. Çalışılan göz farlarında EDXRF ile tespit edilen elementler	81
Çizelge 4.2.1. Optimum açık sistem yağ yakma koşulları	84
Çizelge 4.3.1. Cıva tayininde GF-AAS ve ICP-MS için analitik performans verileri	85
Çizelge 4.4.1. Kozmetik kremlerde cıva tayin sonuçları	85
Çizelge 4.5.1. Kurşun standart çözeltisine göre metot validasyon parametreleri	86
Çizelge 4.5.2. Standart referans malzeme ve conastan yağ standartı sonuçları	86
Çizelge 4.6.1. Göz farlarında kurşun tayini sonuçları	87
Çizelge 4.7.1. Aktif karbonun adsorplama kapasitesi üzerine çözücü etkisi sonuçları	87
Çizelge 4.8.1. Kurşun için fraksiyonlama işlemi ve geri kazanım sonuçları	88
Çizelge 4.16.1. Havuz suyunda UV Filtrelerin analizi için DI-SPME-GC-MS ve DI-SPME-LP-GC-MS için validasyon parametreleri	96
Çizelge 4.17.1. Tiyomersal için LC-IT-TOF-MS ve LC-DAD validasyon sonuçları	97
Çizelge 4.17.2. Tiyomersalin LC-IT-TOF-MS'e göre m/z değerleri	98

1. GİRİŞ

Kozmetik ürünler oldukça karmaşık yapıya sahiptirler. Hem formülasyonu oluşturan çok sayıdaki madde grubunu hem de deri üzerinde özel etkiye sahip aktif maddeleri içerirler. Aktif madde grubu olarak; yaşlanma etkilerini geciktiren (anti-ageing) ajanlar, güneşten koruyucular ve incelticiler gibi maddeler bulunmaktadır. Kullanılan diğer maddeler; bu etkili maddeleri taşıyan karışımı oluştururlar. Kremler vücudun çeşitli bölümlerinde haricen kullanılan ve işlevsel olarak farklı görevler üstlenen çok amaçlı kozmetik ürünlerdir. Kremler, farklı görevler üstlenmenin yanı sıra, yapı olarak doğalarında çeşitli kimyasal katkıların biraraya gelmesi ile oluşan opak, yarı katı veya vizkoz sıvı emülsiyon şeklindeki karışımlardır (Şenses 2006).

Güneş ışınları bronzlaşma ile deriye sağlıklı ve şık bir görünüm vermesinin yanı sıra, uzun vadede erken deri yaşlanmasına yol açabilir. Bu amaçla günümüzde güneş koruyucu kremler kullanılmaya başlanmıştır. Bu koruyucu kremlerin amacı, zararlı olan ışınları absorbe edip, uzun dalga boylu ışınların nüfuz etmesini sağlayarak, pigmentlerin oluşmasını hızlandırmaktır. Güneşten koruyucular güneş yanığını önlerler, foto yaşlanma izlerini, UV ışınlarına bağlı kronik güneş hasarını ve bağışıklık sisteminin baskılanmasını azaltırlar, özellikle bazı deri kanserlerini ve kanser öncülerinin (güneş lekeleri) oluşumunu önlerler (Chisvert ve ark. 2007).

Kozmetik endüstrisi bütün dünyada önemli bir güce sahiptir. Günümüzün kozmetik ürünleri, eskiden olduğu gibi basit maddelere ve klasik formülasyonlara sahip değildir. Bu nedenle kozmetik pazar payının büyük bir kısmına sahip olan büyük kozmetik firmaları, daha etkili ve daha güvenli ürünlerin tüketiciye sunulabilmesi, yeni kozmetik maddelerin veya karışımların elde edilebilmesi için araştırmaya ve geliştirmeye büyük para harcamaktadırlar. Kozmetik ürünler, kullanıcı güvenliği ve etkinliği açısından ülkelerdeki belli mevzuatlara göre düzenlenmektedir. Bu yönetmeliklerin başında 1976 yılında yürürlüğe giren Avrupa Birliği tarafından hazırlanmış EU 76/768 EEC kodlu Kozmetik Mevzuatı gelmektedir. Ayrıca, Amerika ve Japonya'da da, kozmetik ürünlerde bazı kimyasalların kullanımı ile ilgili sınırlamalar mevcuttur. Bu listeler, eski ve yeni formülasyonların kullanımı ve etkilerinin araştırılması ile zaman içinde

güncellenmektedir. Bu mevzuatlar, 1300'den fazla maddenin (ya da maddeler gruplarını) kozmetikte kullanılamaz ve ayrıca neredeyse 500'e yakın maddenin sadece belli koşullar altında kullanılabilir olduğunu listelemektedir. Bu nedenle, bu ürünlerin kalite kontrolü, son ürünün bileşiminin garantisini mevcut mevzuata uygun olarak vermesi bakımından çok önemlidir (Chisvert ve ark. 2013).

Bu kapsamda tez çalışmasında, pazarda bulunan kozmetik ürünlerin karakterizasyonu için mevzuatlarda kullanılan standart analiz metotları ve kozmetiklerde kullanılan UV filtre kimyasallarının çevreye geçişinin izlenmesinde mevcut tayin yöntemlerinin iyileştirilmesi açısından düşük tayin seviyelerine inebilen, güvenilir, doğruluğu yüksek ve hızlı analitik yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Kozmetikler

Kozmetik kelimesinin kökeni yunanca kozmos (düzen veya güzelleştirme, çeki düzen verme) kavramından gelmektedir. Kozmetik ürünler, neredeyse insanlığın varoluşundan beri kullanılmaktadır. Bu ürünler her ne kadar, renklendirmek, koku vermek, ruh halini düzeltmek için geliştirildiyse de, son dönem kozmetik ürünler bunlara ek olarak hasarlı derinin tamiri, yaşlanmanın görünen etkilerinin geri döndürülmesi, ultraviyole ışınlarından korumak ve derinin korunma fonksiyonunun arttırılması gibi etkilere de sahiptir (EU 76/768 EEC 1976).

Türkiye’de, Avrupa Birliği Kozmetik Mevzuatının 76/768/EEC sayılı Konsey Direktifi ile 96/335/EC sayılı komisyon kararına paralel olarak, 23 Mayıs 2005 tarihinde kozmetik yönetmeliğinde değişikliğe gitmiş ve Avrupa’da yürürlükte olan yönetmeliği birebir kabul etmiştir. Belirtilen yönetmelikte; kozmetik ürün “İnsan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış organlar gibi değişik dış kısımlarına, dişlere ve ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek ve/veya vücut kokularını düzeltmek ve/veya korumak ve iyi bir durumda tutmak olan bütün preparatlar veya maddeler” olarak tanımlanmaktadır.

2.2. Kozmetiklerde Kullanılan Metaller

Kozmetik ürünler, alüminyum, antimon, arsenik, kurşun, cıva, nikel, kobalt, kadmiyum, çinko, selenyum, bizmut gibi birçok element içermektedir. Kozmetiklerde toksik element içeriklerinin araştırılması, özellikle kurşun, cıva, arsenik gibi ağır metal derişimlerinin tespiti son yıllarda ilgi odağı olmuştur. Kozmetik ürünlerde metallerin bulunuşu, doğal olarak metal içeren bazı maddeler (örneğin, boyalar ve pigmentler gibi) ve/veya üretim basamaklarından kaynaklı olabilmektedir (Salvador ve ark. 2005). Örneğin; pamuk tohumu yağı, pirinç türevleri gibi bitkisel kaynaklardan elde edilen katkı maddeleri, kurşun ve cıva gibi metalleri de içerebilmektedir. Ayrıca bazı metaller renklendirici olarak kullanılmaktadır. Örnek olarak krom elementi, göz farı ve allıklarda

renklendirici katkısı olarak kullanılmaktadır. Ek olarak kozmetik ürünlerde kullanılan bazı renk katkı maddelerinin (D & C Red 6 gibi), kurşun, arsenik ve cıva metalleri ile kirlendiği Çevresel Çalışma Grubu tarafından yapılan araştırmada bildirilmektedir (EWG 2007).

Kozmetik ürünlerde metal içeriğinin “güvenli” olarak adlandırılan seviyesinin ne kadar olduğuna dair bilimsel tartışmalar mevcuttur. Bunun sebebi ise, bazı metallerin zamanla vücutta birikerek kanser, üreme ve gelişimsel ve nörolojik bozukluklar, kardiyovasküler, böbrek ve böbrek sorunları, akciğer hasarı, kontakt dermatit, saç dökülmesi gibi çeşitli uzun vadeli sağlık etkilerine neden olarak belirtilebilir. Özellikle kobalt, krom ve nikel gibi metallerle temas güçlü cilt hassasiyeti oluşumuna neden olabilirken, arsenik, kadmiyum, cıva, kurşun ve antimon gibi metallerle uzun süreli maruziyette yüksek derecede toksisite oluşturmaktadır (Forte 2008,Thyssen 2010).

2.2.1. Kurşun

Kurşun (Pb), yerkabuğunda doğal olarak bulunması yanında doğal süreçlerden (örneğin, erozyon) çevreye küçük bir miktar geçişi ve endüstriyel faaliyetler, rafineriler gibi insan aktivitelerinden de kaynaklanmaktadır (Health Canada 2009, 2010). Kurşun bazı pirinç ve bronz ürünlerinde, profesyonel boyalar ve pigmentlerde, tıbbi malzemelerde (örneğin, radyasyon kalkanları), bilimsel ekipmanlarda (Environment Canada 2010), askeri teçhizatıta, bazı seramik sırlarda ve özellikle kurşun-asit bataryaların yapımında, yaygın olarak kullanılmaya devam edildiği bildirilmektedir (Agency of Toxic Substances and Disease Registry 2007).

Ruj matriksi, hammaddeler veya renklendirici pigmentlerin kullanımı ile safsızlıklar içerebilmektedir (CSC 2007). CSC tarafından test edilen 33 farklı marka ruj örneğinin %61’inde, USFDA tarafından test edilen ruj örneklerinin tamamında, Kanada Sağlık Kuruluşu tarafından test edilen ruj örneklerinin %81’inde ve 88 farklı renk göz farında yapılan bir çalışmada, kurşun düzeyinin tüm ürünlerde 20 mg/kg’dan az olduğu bulunmuştur (Sainio 2001,Campaign for Safe Cosmetics 2007, FDA 2009,Canwest News Service 2008).

Kurşun ve kurşun içeren bileşiklerin kozmetiklerde kullanımı Avrupa'da yasak olmasına rağmen (EU 76/768/EEC 1976, European Commission 2004); kurşun, safsızlık olarak hammaddelerde bulunabilir veya kozmetik üretim işlemi boyunca bulaşabilmektedir. Ozokerit ve vazelin gibi petrol temelli maddeler kurşun açısından önemli kaynaklardır. Renkli rujlarda kullanılan renk katkı maddeleri de kurşun içerebilmektedir ve FDA renk katkı maddeleri için kurşun limitini 20 µg/g olarak sınırlandırmaktadır (FDA 2013).

2.2.2. Cıva

Cıva (Hg), hem doğal olarak bulunabilen hem de özellikle endüstriyel emisyonlar, tıbbi kullanım ve cıva içeren ürünlerin yanlış bertarafı gibi insan faaliyetleri sonucunda oluşabilmektedir. Cıva elemental ve organik cıva formunda bulunabilmektedir.

Elementel cıva sıvı ve buhar halde bulunabilmektedir. Elemental cıva (Hg^0); Hg^{2+} ye okside olur. Bu iyon mikroorganizmalar tarafından MeHg'ye metillenmekte ve sucül organizmalarda birikmektedir (Havarinasab ve ark. 2005). Organik cıva, cıvanın karbon atomu veya karbon içeren bileşiklerle birleştiği formudur. Cıvanın en toksik formudur. Organik cıvanın en sık karşılaşılan formları; metil cıvave etil cıvadır.

Doğal olarak bulunan elemental cıva, volkanik patlamalar boyunca gazlardan yayılarak ya da madenlerde bulunabilirken; insan kaynaklı elemental cıva ise termometreler, barometre, diş amalgamı, kömür yakan termik santraller dahil olmak üzere sayısız kaynaklara sahiptir. Maruz kalma doğrudan temas veya cıva buharının solunması yoluyla oluşabilmektedir. İnorganik cıva tuzları, cilt aydınlatıcı kremler ve mikrop öldürücü sabunlar gibi hem yetişkinler hem de çocuklar tarafından kullanılan ürünlerde mevcuttur (Counter ve ark. 2004). Metil cıvaya en yaygın maruziyet ise kontaminasyona maruz kalmış balık tüketilmesi ile gerçekleşmektedir. Etil cıvaya maruziyet, mesleki ortamda ve tiyomersal içeren tıbbi preparatların kullanımı yoluyla oluşabilmektedir (Clarkson ve ark. 2003). Benzer şekilde, fenil cıvaya maruz kalma ise bu bileşiği içeren burun spreyleri ve göz merhemlerinin ilaç olarak kullanımı yoluyla oluşabilmektedir (FDA 2013).

Cilde uygulanan cıvalı karışımların kozmetik ürünlerde kullanımı, çok uzun süredir kabul edilmiştir (Mahe ve ark. 1993, Delacuada ve ark. 1993, McRill ve ark. 2000). Organik cıva (tiyomersal ve fenil cıva tuzları) göz makyajı temizleyici ürünler, maskara ve kozmetik koruyucu olarak kullanılırken, inorganik cıva (örneğin amonyaklı cıva), cilt aydınlatma sabun ve kremlerinde kullanılmaktadır (ATSDR 199, Al-Saleh ve ark. 2004, Risher ve ark. 2007, Chan ve ark. 2011).

Cıva insan sağlığına etki eden en zehirli elementlerden birisidir. Metalik cıva ve inorganik cıva bileşikleri, kanserojen olarak (Grup 3) sınıflandırılmamasına rağmen (IARC 1993), Hg tuzlarına akut veya kronik maruz kalmaya, böbrek rahatsızlıklarına, nörolojik ve dermal toksisiteye neden olabilmektedir (Graeme ve ark. 1998).

Cıva bileşiklerinin kozmetik ürünlerde kullanımı yasaktır. Geçtiğimiz yıllarda Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi, kozmetik iyi üretim uygulamaları koşulları altında ürünlerin 1µg/g'dan fazla cıva içermemesi gerektiğini belirtmiştir. Buna rağmen, izin verilen sınır değer üzerinde cıva derişimi bulunan kozmetik ürünler piyasada bulunduğu için, inorganik cıva zehirlenmesi hâlâ devam etmektedir (Peregrino ve ark. 2011, Tang ve ark. 2013).

Cilt kremlerinde cıva varlığı küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Cıva cilt beyazlatma kremleri gibi kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır. Cıva bir nörotoksindir. Cıva bileşiklerinin topikal uygulamayla deride absorbe olma ve vücutta birikme eğilimi vardır (Anonim 2015). Bunlar alerjik reaksiyonlara, cilt tahrişine veya nörotoksik belirtilere sebep olabilmektedir. Kozmetik ürünlerden cıva zehirlenmesi son yıllarda çok sayıda haberde yer almıştır. Hamileyken cıva içeren kozmetik ürün kullanan annelerin çocuklarında cıvaya maruz kaldığına dair çeşitli iddialar mevcuttur. Bu çocuklarda, motor güçlükleri, duysal sorunlar ve zekâ geriliği gibi semptomlar gözlenmiştir (IPCS 1991). Cıva içeren kremler ve sabunlar Avrupa Birliği'nde yasaklanmıştır (Chisvert ve ark. 2007). Avrupa Birliği Direktifinde, cıva ve cıva bileşiklerinin kozmetik malzemelerde kullanımına (sabun, losyon, şampuan ve cilt beyazlatma ürünleri dâhil) izin verilmediği belirtilmektedir. Ancak, fenil cıva tuzlarının, göz makyaj ve göz

makyajı çıkarma ürünlerinde koruyucu olarak kullanımına % 0,007 derişiminde izin verilmektedir (Sahu ve ark. 2014).

Çeşitli kurumlarca hesaplanan günlük civa alım limitleri aşağıdaki gibidir (Ball ve ark. 2001);

EPA; 0,1 µg/kg vücut ağırlığı/gün

FDA; 0,4 µg/kg vücut ağırlığı/gün

WHO; 3,3 µg/kg vücut ağırlığı/gün

Pichichero ve ark. (Pichichero ve ark. 2002) DTaP, hepatit-B tipi aşılarla maruz kalan, altı aylık ve daha küçük 40 çocuk ve aynı aşılarla tiyomersal içermeden maruz kalan 16 çocuktan, kan, idrar ve dışkı örnekleri alıp civa ölçümleri yapmışlardır. Ölçümler aşılardan sonraki 3–28 günler arasında yapılmıştır. Organik ve inorganik toplam civa miktarı; soğuk buhar atomik absorpsiyon yöntemiyle ölçülmüştür (Silva-Pereira ve ark. 2005).

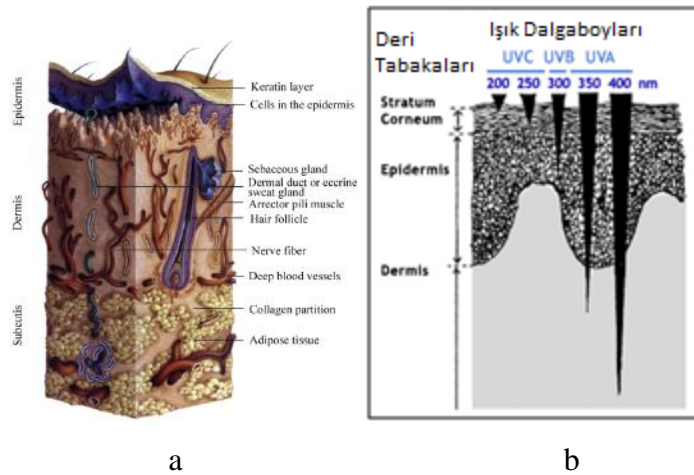
2.3. Kozmetiklerde Kullanılan UV Filtreler

UV radyasyonu güneşten yeryüzüne ulaşan elektromanyetik radyasyon enerjisinin bir parçası olup, dalga boylarına göre UVA, UVB ve UVC olarak sınıflandırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, UVA ve UVB radyasyonunu, muhtemel kanserojenik etkili olarak sınıflandırdığından beri, güneş koruyucularda UV filtrelerin kullanımı önem kazanmıştır (WHO 2011).

Çizelge 2.3.1. UV Radyasyonunun Sınıflandırılması

Radyasyon Tipi	Karakteristik Dalgaboyu	Radyasyon Enerjisi	Cilt Üzerine Etkisi
UVC	~200-290 nm (Kısa dalga- UV)	Yüksek Enerji	DNA Zararı
UVB	~290-320 nm (Orta dalga - UV)	Orta Enerji	Güneş yanığı DNA Zararı Cilt Kanseri
UVA	~320-400 nm (Uzun dalga - UV)	Düşük Enerji	Cilt Yaşlanması DNA hasarı Cilt Kanseri

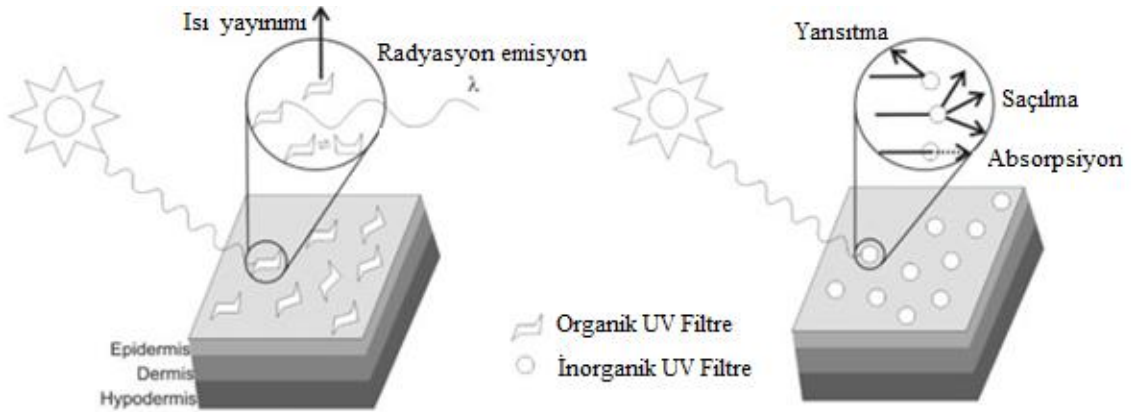
Avrupa Birliği Yönetmeliğine göre; UV filtreler, münhasıran veya esas olarak UV ışığını absorblayan veya yansıtan; UV radyasyonuna karşı cildi korumak için tasarlanmış madde anlamına gelmektedir. Hem UVA ve hem UVB, deri yaşlanması, göz hasarı (katarakt dâhil) ve cilt kanserigibi hastalıklarda önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 2.3.1). Ayrıca UV ışınları bağışıklık sistemini baskılayabildiğinden diğer hastalıkların tedavi aşamasında yetersizlikler oluşturabilmektedir.



Şekil 2.3.1. Cildin yapısı (a), UV ışınlarının cilt tabakasına etkisi (b) (Bhushan 2012)

Avrupa Birliği çerçevesinde, güneş koruyucular da kozmetik olarak kabul edilmektedir. Hangi kimyasalların UV filtre olarak kullanılabileceği ya da izin verilen limitleri bu AB

Kozmetik Direktifi Ek VII altında düzenlenmektedir. Bu ek altında, UV Filtreler," (...) kozmetik güneş koruyucu ürünlerinde bulunan, özellikle UV ışınların bazı zararlı etkilerine karşı cildi korumak için bu ışınları filtre etmeyi amaçlayan maddeler (...) "olarak tanımlanmaktadır. Ekte belirtilen şartlar altında kozmetik ürünlere eklenebileceği belirtilmektedir. UVfiltrelerin kullanımı artık sadece güneş kremleri ile sınırlı değildir; bu filtreler günlük yüz ve vücut bakımı kozmetik ürünlerinde ve ürünü korumak için UV absorblayıcı olarak da kullanılmaktadır. Avrupa Birliği'nin Direktifine göre kullanımına izin verilen UV Filtreler ve maksimum derişimleri Çizelge 2.3.2' de listelenmiştir. Bu raporda kullanılan isimler genellikle INCI tarafından verilmiştir. UV filtreleri kendi doğasına göre iki gruba ayrılmaktadır. Organik UV filtreleri, (ya da kimyasal UV filtreleri) ışığı absorbe etme, inorganik UV filtreleri, (ya da fiziksel UV filtreleri) ışığı yansıtarak ve UV radyasyonu saçılması prensibine dayanmaktadır (EU 76/768 EEC 1976).



Şekil 2.3.2. Organik ve fiziksel UV Filtrelerin cilt tabakasına etkisi

Silikatlar ve talk da kullanılmasına rağmen, fiziksel UV filtreleri, genellikle metal oksitlerdir. Bunlar suda çözünmemektedir ve kimyasal UV Filtrelere nazaran daha yüksek koruma sağlamaktadır. Ancak bu filtrelerin cilt üzerinde rahatsız edici bir film tabakası oluşturması, insanlar tarafından kullanımlarında organik olanlara göre daha az tercih edilebilirdir. Ek olarak, fiziksel UV filtreler, kozmetik ürünlerin hazırlanmasında emülsiyon yapısını bozması nedeniyle, formülasyon hazırlanmasında da sorunlar oluşturabilmektedir. Avrupa Birliği Kozmetik Direktifinde yalnızca titanyum dioksitin (TiO₂) fiziksel UV filtresi olarak kullanımına izin verilmektedir. Başka bir UV Filtre

olan çinko oksit (ZnO₂) Ek VII listesinde yoktur; fakat aynı direktifin kozmetiklerde kullanımına izin verilen renklendiriciler listesinde (Ek IV) renklendirici madde olarak kullanımına izin verilmektedir. Öte yandan, ZnO₂ ve TiO₂ UV Filtreleri, USFDA tarafından UV Filtresi olarak kullanımına izin verilmesine rağmen, Japonya da bu iki UV Filtrenin kullanımı da yasaktır.

Çizelge 2.3.2. Kozmetik ürünlerde izin verilen UV filtreler ve miktarı

Referans Numarası	Madde	İzin verilen maksimum derişim
1	4-Aminobenzoik asit	% 5
2	N,N,N-Trimetil-4-(2-oksoborn-3-lidenmetil) anilyum metill sulfat	% 6
3	Homosalat (INN)	% 10
4	Oksibenzon (INN)	% 10
6	2-Fenilbenzimidazol-5-sulfonik asit ve potasyum, sodyum, trietanolamin tuzları	% 8 (asit cinsinden)
7	3,3'-(1,4-Feenilendimetilen)bis(7,7-dimetil-2-oxo-bisiklo-[2,2,1]heptillmetansulfonik asit) ve tuzları	% 10 (asit cinsinden)
8	1-(4-Tert-butilfenil)-3-(4-metoksifenil)propan-1,3-dion	% 5
9	alfa-(2-Oxoborn-3-ylidene) toluen-4-sulfonik asit ve tuzları	% 6 (asit cinsinden)
10	2-Siyano-3,3-difenilakrilik asit, 2-etilheksil ester (Oktokrilen)	% 10 (asit cinsinden)
11	N-{(2 ve 4)-[(2-oxoborn-3-ylidene) metil] benzil} akrilamid polimeri	% 6
12	Oktil metoksi sinnamat	% 10
13	Etoksilat-etil-1-aminobenzoat (PEG-25 PABA)	% 10
14	Isopentil-4-metoksi sinnamat (Isoamil p-metoksisinnamat)	% 10
15	2,4,6-Trianilin-(p-carbo-2'-etilheksil-1'-oksi)-1,3,5-triazin (Oktil triazon)	% 5
16	Fenol,2-2(2H-benzotriazol-2-yl)-4-metil-6-(2-metil-3-(1,3,3,3-tetrametil-1-(trimetilsilil)oksi)-disiloksanil)propil (Drometriazole Trisiloksan)	% 15

Çizelge 2.3.2. Kozmetik ürünlerde izin verilen UV filtrelerinin listesi (devam)

Referans Numarası	Madde	İzin verilen maksimum derişim
17	Benzoik asit, 4,4-((6-(((1,1-dimetiletıl)amino)karbonil)fenil)amino)-1,3,5-triazin-2,4-diyl)diimino)bis-,bis(2-etilhekzil)ester)	%10
18	3-(4'-Metilbenzyliden)-d-1 kamfor (4-Metilbenziliden kamfor)	%4
19	3-Benziliden kamfor (3-Benziliden kamfor)	%2
20	2-Etilhekzill salisilat (Oktil salisilat)	%5
21	4-Dimetil-aminobenzoat etil-2-hekzil (oktil dimetil PABA)	%8
22	2-Hidroksi-4-metoksibenzo-fenon-5-sulfonik asit (Benzofenon-5) ve tuzları	%5 (asit cinsinden)
23	2,2'-Metilen-bis-6-(2H-benzotriazol-2)-4-(tetrametil-butıl)-1,1,3,3-phenol	%10
24	Monosodyum 2-2'-bis-(1,4-fenilen)1H-benzimidazol-4,6-disulfonik sit	%10 (asit cinsinden)
25	(1,3,5)-Triazin-2,4-bis((4-(2-etil-hekziloksi)-2-hidroksi)-fenil)-6-(4-metoksifenil)	%10
26	Dimetikodietilbenzalmalonat (CAS No 207574-74-1)	%10
27	Titanyum dioksit	%25
28	Benzoik asit, 2-[-4-(dietylamino)-2- hidroksibenzol]-, heksillester. (CAS No 302776-68-7)	%10

Kimyasal UV filtreleri, UV aralığında yüksek molar absorptiviteye sahip organik bileşiklerdir. Bu bileşikler, çoğunlukla, karbon-karbon çift bağıyla konjuge olarak tekli veya çoklu aromatik yapılara sahiptirler (Berne ve ark. 1998, Darvay ve ark. 2001,Goossens ve ark. 2004). Hayvanlar üzerinde yapılan farklı toksikolojik çalışmalar, bazı organik UV filtrelerinin önemli östrojenik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bir başka çalışmada ise insanlara güneş koruyucu uygulayarak hormon seviyelerindeki değişim incelenmiş ve değişimin çok yüksek olmadığı gözlenmiştir (Mueller ve ark. 2003, Schlumpf ve ark. 2004, Seidlova-Wuttke ve ark. 2006).

UV Filtreler, fotostabil ve genellikle lipofilik olup, su ortamında biyotik bozulmaya karşı kararlıdır (Xue ve ark. 2013). UV Filtreler doğrudan ve dolaylı kaynaklar

aracılığıyla çevreye geçişi olmaktadır (Giokas ve ark. 2007). Doğrudan kaynaklar olarak okyanus, göller, nehirler de yüzme havuzları ve endüstriyel atık su deşarjları sayılabilmektedir. Dolaylı kaynaklar ise (giysi yıkama ve idrar atılımı duş sırasında) atık su arıtma tesisleri aracılığıyla evsel atık su deşarjları ile ilgilidir (Santos ve ark. 2012).

Güneş koruyuculardan kaynaklı yüzme havuzlarında kirlenme, ürünleri kullanan bireylerin havuzlara girmesi ile gerçekleşmektedir (Stokes ve ark. 1999, Wright ve ark. 2001). Benzofenon-3 (BP3), Etilheksilmetoksisinamat (EHMC), 2-etilheksil- 2-yano-3,3-difenil-2-propenoat, 2-fenil-1 H-benzimidazol-5-sülfonik asit (PBS) MBC UV Filtreleri açık yüzme havuzlarında tespit edilmiştir. Belirtilen bu filtreler ile Zweiner ve ark. yaptığı bir çalışmada, en yüksek derişimde 40 µg/L, çocuk havuzlarında saptanmıştır (Zwiener ve ark. 2007). Benzer bir çalışmada, yetişkin havuzları ile çocuk havuzları karşılaştırıldığında güneş koruyucu bileşiklerin yetişkin havuz sularında yaklaşık on kat daha düşük derişimlerde olduğu gözlenmiştir (Teo ve ark. 2015).

Lambropoulou ve ark. yüzme havuzu sularında ve yüzme havuzları yanındaki duşların atık sularında yaptıkları bir çalışmada, Benzofenon-3 ve EHDPABA adlı iki UV Filtrenin derişimlerini 2-10 mg /L aralığında tespit etmişlerdir (Lambropoulou ve ark. 2002). Giokas ve ark. da benzer şekilde üç farklı UV filtrenin (BP3, EHMC ve 4-metilbenziliden kamfur (4MBC)) analizi için yüzme havuz sularında ve yakınındaki duş atık sularda çalışmışlardır (Giokas ve ark. 2004). Çalışma, sularda UV Filtre derişimlerinin yaklaşık 10 ng/L'ye kadar olduğunu göstermiştir.

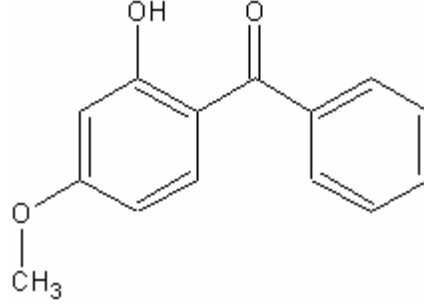
Vidal ve ark. kamu ve özel iki yüzme havuzunda UV filtrelerin [BP3, isoamil p-metoksisinamat (IMC), 4MBC, oktokrilen (OCR), EHDPABA ve EHMC] tayini için çalışmıştır (Vidal ve ark. 2010). Sadece halka açık yüzme havuzunda çalışılan altı UV Filtreden ikisinin varlığına rastlanmıştır. IMC filtresi 300-700 ng/L aralığında ve 4MBC filtresi tayin sınırının altında gözlenmiştir. Giokas (Giokas ve ark. 2007) ve Peck (Peck ve ark. 2006) çevre ortamında UV Filtrelerinin analizi için kullanılan yöntemler hakkında bir çalışma yayınlamıştır.

UV Filtreler deriden yıkama yoluyla doğrudan veya atık su arıtma tesisleri üzerinden çevreye geçmektedir. Buna göre, Avrupa pazarında kullanımı onaylanan UV Filtreler, yüzey sularında, sedimentte, biotada, içme sularında, çamurlarda atık suda ve hatta anne sütü ve idrarda tespit edilmiştir (Schlumpf ve ark. 2010, Balmer ve ark. 2005, Ashford ve ark. 1994). Bu bulgular kozmetik ürünlerde bulunan kimyasalların sucul ortama geçişinin olası olduğunu göstermektedir. İsveç'te yapılan bir izleme çalışması, UV Filtrelerin İsveç'in sucul ortamında mevcut olduğunu ve UV Filtrelerin plajlarda güneş kremlerinin kullanımı sonucu çevre ortamına geçişlerinin olduğunu ispatlamıştır (Sobek ve ark. 2013). En yaygın olarak kullanılan UV Filtreleri benzofenon-3, etilheksil metoksisinamat, kamfur türevleri, triazin türevleri, benzotriazol türevleri, benzimidazol türevleridir.

Çevre örneklerinde UV Filtrelerinin tayini için bildirilen yöntemlerde, genellikle ilk hedef analitlerin ekstraksiyon ya da zenginleştirme basamağını ve ikinci olarak, kromatografik ve kütle spektrometresi analizini içermektedir. Örnek hazırlama için, sıvı-sıvı ekstraksiyonu (SSE), membran destekli sıvı-sıvı ekstraksiyonu (MDSSE), katı faz ekstraksiyonu (SPE), katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME), karıştırma çubuğu destekli ekstraksiyon (SBME) ve tek damla mikro ekstraksiyon (SDME) kullanılmaktadır. Gerçekte bu bileşiklerin çoğu yüksek kaynama noktasına sahip olduğundan analiz öncesi türevlendirme basamağı gerektirmektedir. Analizler genelde diod array dedektörlü sıvı kromatografisi (LC-DAD) ya da gaz kromatografisi kütle spektrometrisi (GC-MS) ile gerçekleştirilmektedir. Oliveira ve ark. yüzme havuz suyunda UV filtrelerin (BP3, BMDBM, EHMC ve HMS) belirlenmesi için LC ye bağlanmış mikro SPE on-line bağlantısı için bir mesofluidic bead enjeksiyon Lab-on valf sistemi geliştirmişlerdir. Ayrıca bu teknikler, sulu ortamda UV Filtrelerinve bozunma ürünlerinin tespiti ve tayini için son yıllarda uygulanmaktadır (Chisvert ve ark. 2007).

2.3.1. Oksibenzon

Oksibenzon bir diğ er adıyla benzofenon-3 yada 2-hidroksi-4-metoksibenzofenon UV filtre olarak kullanılan bir kimyasal maddedir. Maddenin yapısı Ş ekil 2.3.1.1’de gösterilmiştir.



Ş ekil 2.3.1.1. Benzofenonun yapısı

Benzofenon-3, 2,4-dihidroksi benzofenon ve dimetil sülfatın (eter formasyonu) reaksiyonu sonucu üretilmektedir ve 2-hidroksi-4-metoksibenzofenon-5-sülfonik asit, bu maddenin bir türevidir (Ashford ve ark. 1994). Ciba Specialty Chemicals web sitesinin bir araştırması, benzofenon-3 bileş iğ inin kiş isel bakım ürünlerinde bir UV-filtresi olarak ve plastiklerde bir ış ık stabilizatörü olarak kullanıld ığ ını belirtmektedir (Ashford ve ark. 1994). Merck ChemDat14 web sitesine göre, Benzofenon-3, kozmetik ürün koruması için tercih edilen organik bir UV filtre olarak tarif edilmektedir (Brooke ve ark. 2008). Benzofenon-3 geniş spektrumlu koruma için uygun olan yağ da ç özünür toz formunda bir filtredir. Bu madde, aynı zamanda, polimer uygulamalarında bir UV-stabilizatörü olarak kullanılmaktadır.

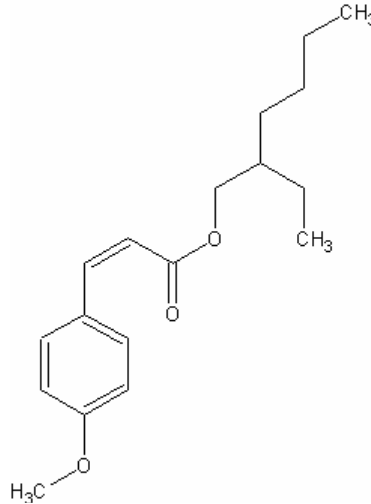
AB Direktifi, kozmetik ürünlerde Benzofenon-3’un en fazla %10 düzeyinde kullanımına izin vermektedir. Benzofenon-3 özellikleri Ç izelge 2.3.1.1’ de özetlenmiştir.

Çizelge 2.3.1.1. Benzofenon-3'ün özellikleri (Brooke ve ark. 2008, Anonim 2015)

Özellik	Değer
Fiziko-kimyasal davranışları	
Molekül Kütlesi	228,24 g/mol
Erime Noktası	62 °C (144 °F; 335 K)
Kaynama Noktası	224 °C (435 °F; 497 K)
Buhar Basıncı	1,42x10 ⁻⁶ mmHg 25°C
Suda çözünebilirliği	68,6 mg/l 25°C
Asiditesi (pK_a)	7,6 (H ₂ O)
Çevresel davranışları	
Fotodegradasyon	Atmosferik OH oranı sabiti 2,0x10 ⁻¹⁰ cm ³ /molekül-s 25°C (yarılanma ömrü = 0,053 gün; 12 saat gün, 1,5 x 10 ⁶ OH/cm ³)
Biyodegradasyon	>% 60 (kolayca biyobozunur)
Birikim	24 (log BCF 1,378)

2.3.2. Oktanoksat

Oktanoksat bir diğer adıyla oktil metoksisinamat ya da 2-etilheksil 4-metoksisinamat UV Filtre olarak kullanılan bir kimyasal maddedir. Maddenin yapısı Şekil 2.3.2.1' de gösterilmektedir.



Şekil 2.3.2.1. Etil heksil metoksi sinamat yapısı

Etilheksil metoksi sinamat, sodyum asetat ve 2-etilheksanol ile birlikte, p-anisaldehit reaksiyona girmesi ile elde edilmektedir. Bu bileşik, güneş koruyucu, cilt bakım ve saç bakım ürünleri de dâhil olmak üzere çeşitli kozmetik ürünlerinde bir UV Filtresi olarak ve plastiklerde bir ışık stabilizatörü olarak kullanılmaktadır (Household Products Database 2015). Etilheksil metoksisinamat yaygın olarak kullanılan sıvı formda UVB filtrelerindedir. İyi bir koruma potansiyeli ve katı organik UV-filtreleri için mükemmel bir çözünürlük özelliği gösteren çözünebilen bir yağdır. Bu süspansiyon etilheksil metoksisinamat, silika, PVP (muhtemelen polivinil pirrolidon), klorfenezin ve bütül hidroksitolüen (BHT) den oluşmaktadır (Brooke ve ark. 2008).

Çizelge 2.3.2.1. Etil heksil metoksi sinamatın özellikleri (Brooke ve ark. 2008)

Özellik	Değer
Fiziko-kimyasal	
Molekül Kütlesi	290.40 g/mol
Erime Noktası	-25 °C (-13 °F; 248 K)
Kaynama Noktası	198 °C (388 °F; 471 K)
Buhar Basıncı	1,38x10 ⁻⁵ mmHg 25 °C
Suda çözünebilirliği	0,2 mg/l 20°C
	0,155 mg/l 25°C
Asiditesi (pK_a)	1,01 g/cm ³
Çevresel davranışları	
Fotodegradasyon	Atmosferik OH oranı sabiti 5,2x10 ⁻¹¹ cm ³ /molekül-s 25°C (yarılanma ömrü = 2,5 gün; 12 saat gün, 1,5x10 ⁶ OH/cm ³ ; cis-isomer) OH oranı sabiti 5,4x10 ⁻¹¹ cm ³ / molekül-s 25°C'de (yarılanma ömrü = 2,4 gün; trans-isomer)
Biyodegradasyon	Kolayca biyobozunur
Birikim	5,856 (log BCF 3,768)

EU 76/768 / EEC sayılı direktif kozmetik ürünlerde bu maddenin izin verilen maksimum düzeyin %10 olduğunu göstermektedir. Etilheksil metoksisinamatın mevcut özellikleri Çizelge 2.3.2.1.'de özetlenmiştir.

2.3.3. Endokrin aktif UV Filtreler

Endokrin sisteminin bozulması son yıllarda halk sağlığı açısından önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır (Hotchkiss ve ark. 2008). Endokrin bozucu kimyasallar (EDCs), vücuttaki hormonları etkileyerek insanlarda gelişim ve üremeyi etkileme potansiyeline sahiptir. Birçok kimyasal, özellikle de, bazı böcek ilaçları, yumuşatıcılar ve ilaçlar, EDCs olarak tespit edilmiştir (Zama ve ark. 2010, Bourguignon ve ark. 2010, Fisher ve ark. 2004, Cooper ve ark. 1997, Colborn ve ark. 1993). UV Filtreler morötesi ışınları cilde nüfuz etmesini önlemek için güneşten koruyuculara ilave edilen, UV ışığını absorbe eden, yansıtan organik ve inorganik bileşiklerdir. Bu filtreler güneş losyonlarında kullanımlarına ek olarak, saç spreyleri, ruj ve şampuanlar dahil olmak üzere, çeşitli kişisel bakım ürünlerinde kullanılmaktadır. Artan kullanım nedeniyle; güneş koruyuculardaki aktif maddelerin varlığının, endokrin bozucu potansiyeli büyüyen bir sorundur (Caliman ve ark. 2009). Benzofenon-3 (BP-3), homosalat (HMS), 4-metil-benziliden kamfor (4-MBC), oktil-p-metoksisinamat (OMC) ve oktil dimetil-paminobenzoat (ODPABA) gibi bazı güneşten koruyucu ajanların, yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda östrojene etki edici özellik gösterdiği kanıtlanmıştır (Morohoshi ve ark. 2005, Kunz ve ark. 2006, Ma ve ark. 2003, Suzuki ve ark. 2005). Birçok bilimsel çalışma, bazı UV filtrelerin üreme ve büyümeyi kontrol ederek endokrin sistemini etkileyebileceğini ve meme kanseriyle arasında potansiyel bir bağlantı olabileceğini ileri sürmektedir (Hamann ve ark. 2006).

2.4. Kozmetiklerde Kullanılan Koruyucular

Koruyucular, kozmetik ürünlerin mikroorganizmalar ile kirlenme olasılığına karşı genellikle bitmiş ürüne, üremelerinin engellenmesi ya da ürünün kimyasal bozulmasını önlemek amacıyla ilave edilen kimyasal maddeler olarak belirtilmektedir (Sasseville 2004).

Koruyucuların kimyasal ve biyolojik aktiviteleri genel olarak ürünün formülasyonundaki maddelerden ve fiziksel şartlardan etkilenebilmektedir. Koruyucu etkinliğini değiştirebilen bu faktörler, ürünün pH'si, yüzey aktif maddeler, proteinler,

inorganik ve organik maddeler, su, ambalaj şekli ve üretim hijyeni, hammaddelerin mikrobiyal kirlenmesi, tespit edilen raf ömrü ve bitmiş ürünün kullanıcı tarafından kötü kullanımı olarak belirlenmiştir (Sutton 2006 ve Beveridge 1998).

Biyolojik olarak aktif kimyasallar olan koruyucuların mikroorganizmaları öldürürken kullanıcıya zarar verebildikleri bilindiğinden bu durum yönetmelik ve yasalarla düzenlenmiştir (Steinberg 2006). Kullanılan kozmetik koruyucularının izin verilen maksimum derişimi, hangi ürünlerde kullanımlarının sınırlandırıldığı ve kullanılmasına izin verilmeyen kimyasal maddelerin listeleri bu yönetmeliklerde belirtilmiştir. Ülkemizde de bu amaçla Sağlık Bakanlığı tarafından Avrupa Birliği Kozmetik Mevzuatının 76/768/EEC sayılı Konsey Direktifi ile 96/335/EC sayılı Komisyon Kararına paralel olarak 24/3/2005 tarihli ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu'nun yedinci maddesine dayanılarak hazırlanan yönetmelikte konuya ilişkin usul ve esaslar düzenlenmiştir (Kozmetik Yönetmeliği 2005). Günümüzde kozmetik ürünlerde en çok kullanılan antimikrobiyal etkili koruyucu maddeler, Çizelge 2.4.1.'de verilmiştir (Brannan 1992).

Çizelge 2.4.1. Kozmetik ürünlerde en sık kullanılan kozmetik koruyucular

p- Hidroksibenzoik asit esterleri (parabenler)	Organik asitler (metalik tuzlarını da içerir)
Metil paraben	Benzoik asit
Etil paraben	Sorbik asit
Propil paraben	Dehidroasetik asit
Butil paraben	Organik alkoller
Formaldehit salanlar	Etil alkol
İmidazolidinil üre	Benzil alkol
Diazolidinil üre	Fenoksietil alkol
Dimetil dimetilol hidantoin (DMDM hidantoin)	Diğerleri
Katerniyum 15	Benzalkonyum klorür
İzotiyazolinonlar	Tiyomersal

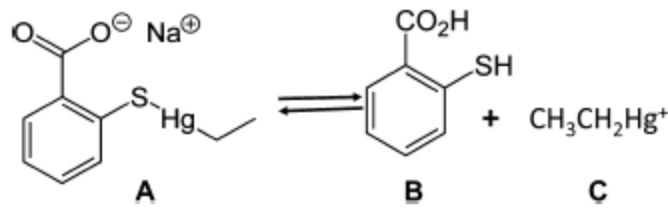
Kozmetik ürünlerde koruyuculara ek olarak mikroorganizmaların üremesini engelleyen antimikrobiyal etkili birçok madde bulunmaktadır. Bunlar arasında; alkoller, esansiyel bitki yağları ve ekstraları, kelat ajanları, fenolik antioksidanlar ve koku verici maddeler

yer almaktadır (Varvaresou ve ark. 2009). Ayrıca ürünlerin düşük miktarlarda su içermesi de ürünü koruduğundan doğal koruyucu olarak kabul edilebilir.

Bitki yağları ve ekstraları binlerce yıldır değişik amaçlar için kullanılmıştır. Alternatif tıp ve doğal terapi amaçlı olarak kullanılan bitkisel yağ ve ekstraları aynı zamanda gıda ve ilaç sanayiinde de koruyucu olarak kullanılmaktadır. *Thymus vulgaris* (kekik), *Calamintha officinalis* (yabani oğul otu), *Lonicera caprifolium* (hanımeli), *Olea europaea* (Zeytin yaprağı) ve *Melaleuca alternifolia* (hint defnesi) gibi bitkiler alternatif tıp, doğal terapi, gıda ve kozmetik sanayisinde koruyucu olarak kullanılan antimikrobiyal etkinliği bilinen bitkilerdendir (Hammer ve ark. 1999).

2.4.1. Tiyomersal

Tiyomersal ya da timerosal (sodyum etilcıva tiyosalisilat $C_9H_9HgNaO_2S$) farmasotik ve kozmetik ürünler için koruyucu madde olarak yaygın olarak kullanılan ve etil cıva ihtiva eden bir bileşiktir. Bu bileşik tiyosalisilatın bir kükürt atomuna bağlı etilcıvayı içermektedir (Şekil 2.4.1.1.). Tiyomersal hem suda çözünebilir hem de lipofilik bir serbest asit olarak hücresel zarlara geçebilmektedir. Vücutta etilcıva ($C_2H_5Hg^+$) ve tiyosalisilata metabolize olduğu ve beyin ile böbrekte biriktiği belirtilmiştir (Herdman ve ark. 2006, Elferink 1999).



Şekil 2.4.1.1. Tiyomersalin kimyasal yapısı (A) ve hidroliz ürünleri (B) ve (C) (Trumpler ve ark. 2009)

Tiyomersal, 1927 yılında geliştirilen ve çok düşük derişimlerde tehlikeli bakterilerin üremesini engellemesi nedeniyle gerek antimikrobiyal özelliği gerekse uygulanabilirliği açısından verimliliği geniş olan ve bugün hala popüler olmaya devam eden bir

koruyucudur (Geier ve ark. 2007, Westphal ve ark. 2003). Kimyasal kirlilikten aşuları uzak tutmak için bir koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tiyomersal mikropların oluşumunu önlemek için de bazı aşular için üretim işlemi sırasında kullanılır. Toksikite genellikle membran bariyerlerin penetrasyonu ve yağ dokularında biyolojik birikimden dolayı kaynaklanmaktadır. Tiyomersalin toksisitesi içerdiği cıva bileşiğinden kaynaklanmaktadır. Çünkü cıva bileşiklerinin yağda çözünme özellikleri fazladır. Cıva bileşikleri özellikle membran (zar) yapısında bulunan proteinlere bağlanarak hücre zarlarının işlevlerini bozarlar; akıcılığı kaybolan membran sertleşerek hücrenin çabuk yaşlanmasına neden olur. Beyin hücrelerinde onlara özgü nörotübül denilen yapılar vardır. Cıva nörotübül yapımını sağlayan tubulin adlı yapıyı tahrip etmektedir (Li ve ark. 2012).

Cıva formlarından, tiyomersal'de bulunan ve mikropları tahrip eden esas etken etilcıvadır. Tiyomersal EtHg'dan oluşmakta ve salisilik asitin tiol guruplarındaki sülfür atomuyla reaksiyona girmektedir. Dokulardaki alınımından hemen sonra EtHg hızlı bir şekilde tiyosalisilik bileşiğinden ayrılmakta ve gidip doku proteinlerindeki tiyollerle bağlanmaktadır (Havarinasab ve ark. 2005, Santos ve ark. 2010). Yine son zamanlardaki çalışmalar metil cıvanın metil cıva sisteme dönüştüğü bildirilmiştir. Metil cıvanın bağışıklık sistem üzerine baskılayıcı bir etkisinin olduğu savunulmaktadır (Havarinasab ve ark. 2005). Organik cıva formları yağda çözünebilir. Kan-beyin bariyerini ve plesantayı kolaylıkla geçebilirler. Gastrointestinal sistem sindirim sistemi (GİS) kanalından en hızlı emilen cıva formudur ve metalik cıvada olduğu gibi organik cıva buharı deriden ve akciğerlerden emilebilir. Sadece metil cıva deriden emilemez. GİS kanalından emilen metil cıva hızla kana geçer ve beyinde inorganik cıvaya dönüşür; ancak dönüşüm oldukça yavaştır. Etil cıva içeren tiyomersal ise beyin tarafından alınır ve önce etil cıvaya sonra inorganik cıvaya dönüşür; ancak dönüşüm daha hızlıdır. En önemli hedef organ beyindir. Dışarıdan cıva alındığında ise en önemli hedef organ ise böbrektir (Erol 2003).

Sincap maymunları ile yapılan bir çalışmada, maymunlara düşük dozda (1-6µg/kg/ gün) tiyomersal verildiğinde; bunun inorganik cıvaya dönüştüğü ve yüksek miktarda

böbrekte ve kısmen beyinde cıva varlığına rastlanmıştır. Hem böbrekte ve hem de beyin de histopatolojik (dokusal) değişimler belirtilmiştir (Blair 1975).

Bir başka çalışmada, tavşan ve sıçanlara 7 gün süreyle tiyomersal verildiğinde; maksimum tolerans düzeyinin, sıçanlarda 45 mg/kg, tavşanlarda ise 20 mg/kg saptanmış ayrıca bazı tavşan türlerinde de tiyomersalin etkileri böbreklerde ve intestinal kanalda lezyonlar şeklinde kendini gösterdiği bildirilmektedir (Powell 1931).

Kanser çalışmalarında; Fischer sıçanlarında; 2 haftalık sıçanlara 1 yıl boyunca 30-1000µg/kg lık tiyomersal uygulamaları sonucunda kontrol grubuna kıyasla %5-14 arasında kütle kaybı gözlenmiştir (Mason 1971).

Götz ve ark. in-vitro olarak tiyomersali; cytochalasin-B blok mikronukleus tekniğiyle, insan lenfositlerinde çalışmışlardır. Çalışmalarını Glutatyon-S-Transferaz enziminden yola çıkarak yürütmüşlerdir. Bu enzim; tiyomersalin ve metabolitlerinin detoksifikasyonunda (toksisitesinin giderilmesinde) görev almaktadır. 0,6µg/mL lik tiyomersal içeren düzenekte mikronukleus seviyesinde negatif kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı bir artış meydana gelmiştir (Götz 2003).

Magos ve ark. yetişkin sıçanlara 5 günlük eş dozda etil ve metil cıva uyguladıklarında (8-9,6mg/kg); etil ve metil cıvanın nörotoksitesi benzer olmakla birlikte beyinde etil cıva hasarı daha fazla gözlenmiştir (Magos 1985).

2.5. Kozmetiklerle İlgili Yasal Düzenlemeler

Kozmetik amaçlı kullanılan maddelerle ilgili mevzuat düzenlemeleri nedeniyle, kozmetik ürünler kalite kontrol işlemlerinden geçirilmektedir. Ülkeler bazında yürürlükte bulunan farklı mevzuatlar hem kullanıcının hem de kozmetik ürünün etkinliğini sağlamak amacıyla yeniden düzenlenmektedir. Bu amaçla farklı düzenleyici sistemler olabilir; ancak bütün mevzuatların kozmetik ürünlerin güvenli ve düzgün bir şekilde etiketlenmiş olmasını sağlamak gibi ortak bir amacı vardır. Kozmetik ürünler için Amerika ve Avrupa Birliği, dünyada en büyük iki üreticidir.

Amerika'da, kozmetikler Federal Gıda, İlaç ve Kozmetik Kanunu ile düzenlenmiştir. Bu düzenlemelerin uygunluğunu denetlemede FDA rol oynamaktadır. Ancak, kozmetik ürünlerle ilgili düzenleyici otorite FDA, kozmetikleri ve içerikleri halka satılmadan önce onaylamak zorunda değildir. Genellikle FDA bu ürünleri pazara sunulduktan sonra düzenlemeye alır. Amerika Birleşik Devletleri'nde Gönüllü Kozmetik Kayıt Programı üreticileri, paketlenme, ve ticari dağıtım olan kozmetik ürünlerin dağıtımını yapanlar (distribütörler) tarafından kullanılmak üzere FDA sonrası pazar raporlama sistemidir. Kozmetik ve reçetesiz ilaçların FDA düzenlemesi Gıda, İlaç ve Kozmetik Kanunu (FD & C Act) ve Fuar Ambalaj ve Etiketleme Kanunu (FPLA) aracılığıyla temsilci tarafından yetkilendirilmiştir. FD & C Kanununa göre karışık kozmetiklerin eyaletler arası ticareti yasaktır. Kanuna göre; karışık ürünler normal bilinen veya olağan kullanım koşulları altında tüketiciye zararlı maddeler içeren, kısmen veya tamamen çürümüş, kirli veya çürümüş maddeler içeren malzemeler olarak tanımlanmaktadır.

Yeterli korumayı göstermek için kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanılan mikrobiyolojik testi koruyucu etkinlik testi denir. Çeşitli yöntemler bu test için kullanılmaktadır. FDA göz bölgesi için kozmetiklerde yeterli koruma konusunda endişe duymaktadır (Srikanth ve ark. 2011).

Tüketicileri koruma amacıyla, bazı ülkelerde kozmetik üretiminde metaller için sınır değerler saptamıştır. Alman Federal Hükümeti, çeşitli kozmetik ürünlerde metal içeriğinin alt yapısını ve metal safsızlıklarını belirlemek için testler yapmıştır. Alman Federal Hükümeti'nin çalışmalarına göre, kozmetik ürünlerde safsızlık olarak tayin edilen metal seviyeleri arsenik (As) ve kadmiyum (Cd) için 5 µg/g, civa (Hg) için 1 µg/g ve antimon (Sb) için 5 µg/g ve kurşun (Pb) için 10 µg/g'dır (Bfr 2006). Kanada'da, Kanada Sağlık Grubu tarafından kozmetik ürünleri içinde safsızlık olarak varlığına rastlanan metaller için limitler As, Cd ve Hg için 3 µg/g, Pb için 10 µg/g, ve Sb için 5 µg/g, belirlenmiştir. Bu değerleri belirlemek için, Kanada'da satılan kozmetiklerde ağır metallerin tayini, Kanada Sağlık Ürün Güvenliği Laboratuvarı tarafından gerçekleştirilmiştir. Amerika'da, kozmetiklerde kullanılan tüm renk katkı maddeleri FDA tarafından onaylanmış olması gerekmektedir.

Avrupa Birliği'nde kozmetik mevzuatını düzenleyen temel mevzuat 76/768/EEC dir ve daha sonra ki eklerle geliştirilmiştir (EU 76/768 EEC). Kozmetik ürünler (ham madde ya da bitmiş ürün) (i) EU Kozmetik Direktifine (76/768/EEC; 27 Temmuz 1976 ve (EC) No 1223/2009 regülasyonları), (ii) REACH Regülasyonu (EC No: 1907/ 2006) ve (iii) CLP Regülasyonuna (EC No 1272/2008) tabidir. AB üyesi olmayan ülkeler, ithalat ve ihracatçıları kozmetik ürünün içeriği ve bitmiş ürün için piyasaya sunulmadan bu düzenlemelere uymak zorundadır. AB kozmetik direktifine göre, tüm kozmetik ürünler merkezi AB kozmetik otoritesine Haziran 2013'den itibaren bildirilmelidir. Bu bildirim yapıldığında, tüm AB üye devletlerinde bu ürünlere izin verilir. Bildirim için kozmetik ürünlerle ilgili veriler; sorumlu kişinin kimliği, güvenlik değerlendirmesine ilişkin özet ve sonuç, ürün bileşimi ve zehir danışma merkezi ile ilgili bilgi, acil servis hizmeti için iletişim bilgisi, ürüne ait spesifikasyonlar gibi bilgileri içeren standart AB formları kullanılarak yapılır. EC 76/768/EEC kozmetik direktifi (Madde 2: Topluluk içinde pazara sürülen bir kozmetik ürünü, normal ya da makul şekilde öngörülebilir kullanım koşulları altında tatbik edildiğinde insan sağlığına zarar vermemelidir) Ocak 2003'de düzenlenmiş ve kozmetiklerde kullanılan 1100 kimyasal madde yasaklılar grubuna alınmıştır. Kozmetik içeriklerinin güvenliği, AB Tüketici Ürünleri Bilimsel Komitesi (Scientific Committee on Consumer Products) tarafından gözden geçirilmiştir. Yönetmelik (EC) No 1223/2009), 30 Kasım 2009'da kabul edilmiştir ve bu yeni yönetmeliğin maddeleri 11 Temmuz 2013'den sonra uygulanmaya başlamış ve 76/768/EEC Kozmetik direktifi yerine geçmiştir. AB Kozmetik Direktif 7. düzeltmeye göre, bitmiş ürünlerin hayvan deneylerine tâbi tutulmasına ilişkin yasak, 11 Eylül 2004'ten beri; hayvan deneylerine tâbi tutulmuş bitmiş ürünlerin pazarlanmasına ilişkin yasak ise, 11 Mart 2009'dan beri uygulanmaktadır. Ürünlerin bileşenleri ve bileşenlerinden oluşan kombinasyonlarına yönelik "deney" ve "pazarlama" yasakları da, 11 Mart 2009'dan beri uygulamadadır. Yinelenen doz toksisitesi, üreme toksisitesi ve toksiko kinetiklere ilişkin hayvan deneylerine tâbi tutulan veya bu deneylere tâbi tutulmuş bileşenler içeren ürünlerin pazarlanmasına yönelik yasak, 11 Mart 2013 tarihinden itibaren uygulamaya girmiştir. Kimyasallarda Kayıt, Değerlendirme ve İzin (Registration, Evaluation, Authorisation/ Restriction, Chemicals; REACH), kimyasalların kaydı (Registration), değerlendirilmesi (Evaluation), izni ve kısıtlanmasını (Authorisation / Restriction) öngören yeni bir AB mevzuatıdır. 1 Haziran

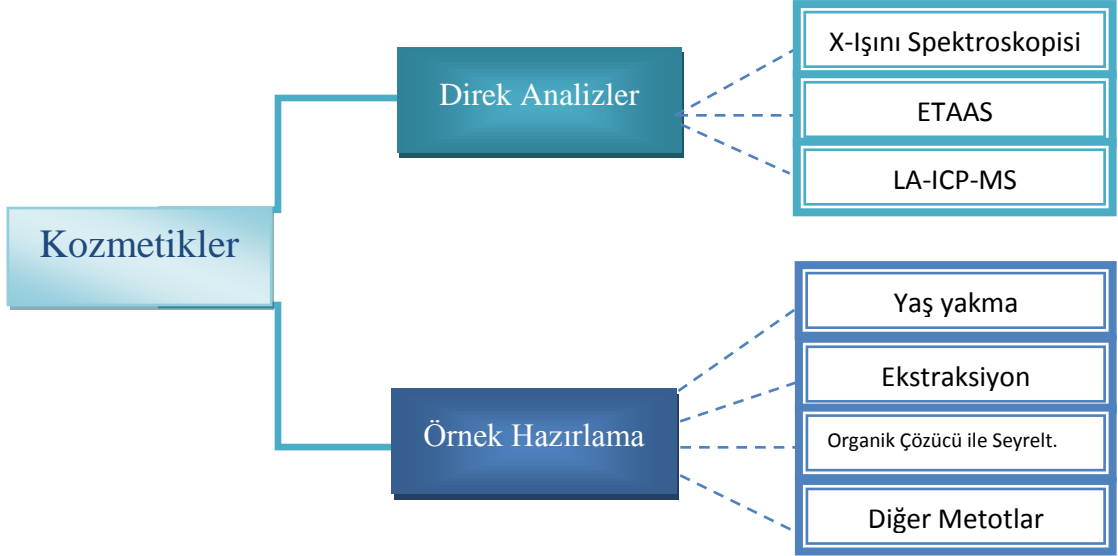
2007'de yürürlüğe girmiştir ve bir dizi AB Yönetmelik ve Tüzüğünü kapsamakta ve onları tek bir sistem altında toplamaktadır. Çoğu kozmetikler REACH regülasyonu altında kimyasal karışımlara aittir ve her bir kimyasal madde ya da içerik için yıllık üretimi 1 tonu aşarsa Avrupa Kimya Ajansına (European Chemical Agency; ECHA) kayıt olmak zorundadır.

REACH'in en önemli getirilerinden biri kozmetik güvenliği için kullanılan hayvan testlerinin alternatif in vitro testlere doğru kaydırılmasıdır. Kozmetik Direktifi 6. ve 7. eklerinde REACH ile ilgili gelişmelerle '3R' kapsamında alternatif testlerin geliştirilmesi gerekmiştir. "3R" 'Azaltma' (Reduction), daha az deney hayvanı kullanarak yeterli veriye ulaşmak, 'İyileştirme' (Refinement) deney hayvanına daha az acı ve stres veren alternatiflerin sağlanması, 'Yerine Koyma' (Replacement) mümkünse hayvan yerine, hücre, doku, simulasyon sistemleri gibi alternatif metodların kullanılmasıdır. 'CLP' (Classification Labelling Packaging) Tüzüğü (Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması) 20 Ocak 2009 tarihinde yürürlüğe girmiştir. Düzenlemeler kapsamında, Avrupa Birliği üyesi ülkelerde kimyasal madde ve karışım üreten veya ithal eden firmaların, bu madde ve karışımları CLP düzenlemesi usul ve esaslarına göre yapması gerekmektedir. '2010 Güvenli Kozmetik Yasası' (Safety cosmetics Act of 2010) 'na göre ürün içeriklerinin hepsi ambalajında belirtilmelidir. Kanser ve üreme sistemi toksisitesine neden olan içerikler üründe belirtilmelidir. Avrupa'daki kozmetik ürünlerin regülasyonu, merkezi olarak harmonize Avrupa Birliği regülasyonlarıyla yönetilmektedir.

Türkiye de kozmetik ürünlerin piyasa gözetim ve denetimi ile yetkili ve sorumlu kurum, Sağlık Bakanlığına bağlı Tıbbi İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kozmetikler Şubesidir. Kurum, Avrupa Birliği Kozmetik Ürünler Yönetmeliği'ne paralel olarak hazırlanan Kozmetik Yönetmeliği'ne uygun denetimler ve analizler yapmaktadır.

2.6. Çalışmada Kullanılan Analitik Metotlarla İlgili Kuramsal Bilgiler

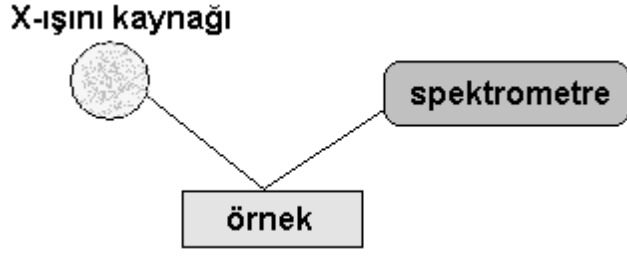
Kozmetik ürünlerde metallerin tayininde kullanılan yöntemler kısaca Şekil 2.6.1’de özetlenmiştir. Kozmetik örneklerde metallerin analizi, ön hazırlık olmadan ya da yaş yakma, organik çözücü ile seyreltme ve ekstraksiyon gibi örnek hazırlama basamakları uygulanarak yapılmaktadır.



Şekil 2.6.1. Kozmetiklerde metallerin analizi için kullanılan metotlar (Salvador ve ark. 2005)

2.6.1. Enerji dağılımlı X-ışını floresans spektrometresi

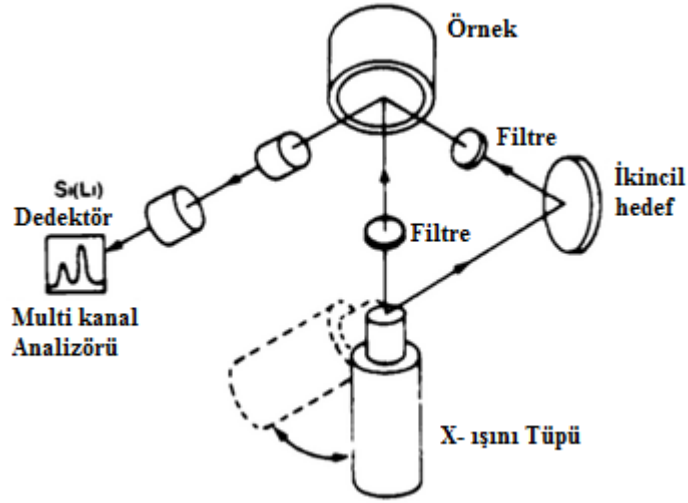
XRF cihazı genel olarak; örnekleme hücresi, X-ışını kaynağı ve spektrometre olmak üzere üç ana parçadan oluşur. Şekil 2.6.1.1’de cihaza ait ana parçalar gösterilmiştir. Spektrometre kaynaktan gelen ışınların emisyonu sonucu, X-ışının değişimini enerji, dalga boyu ve yoğunluk değişiminden yararlanarak ölçebilir ve ölçme prensibine göre konfigürasyonu değişim göstermektedir(Quintin 1993).



Şekil 2.6.1.1. Genel olarak XRF cihazına ait parçalar

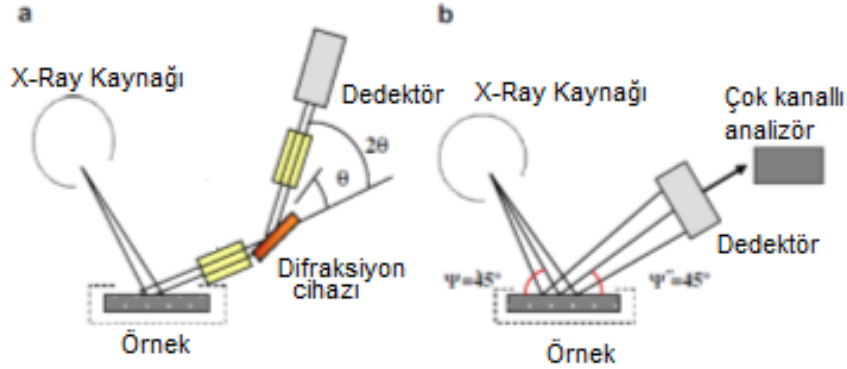
X-ışını kaynağı olarak kullanılan X-ışını tüpleri; cam bir tüp içerisinde vakum altında bulunan tungsten bir filament (katot) ve bir anottan oluşur. Anodu yüksek saflıkta; Cr, Mo, Rh, Ag, W metallereinden biri oluşturur (Jensen ve ark. 2004).

Anotta bulunan atomların elektronlar ile olan etkileşimi sürekli ve karakteristik türde olmak üzere iki farklı X-ışını oluşumuna neden olur. Sürekli X-ışını; yüksek enerjili elektronlar ile hedef atomun çarpışması sonucu yavaşlaması ile oluşur. Karakteristik X-ışınları ise anodun yaydığı belli dalga boyu ve enerjideki fotonlardır. X-ışını tüpünün yaydığı X-ışını spektrumu uygulanan voltaja, anodun yapıldığı materyale ve berilyum pencere kalınlığına göre değişim göstermektedir. XRF cihazları; örneğin uyarılma şekline ve detektör türüne göre iki ana grup altında incelenebilir. Örneğin uyarılma şekline göre; tüp uyarımalı XRF, radyoizotop uyarımalı XRF, ikincil hedefli XRF, senkrotron (hızlandırıcı) XRF, toplam yansımali XRF olmak üzere beş farklı türü vardır. Detektör tipine göre de; dalga boyu dağılımlı XRF, enerji dağılımlı XRF ve filtreli cihazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Enerji dağılımlı XRF cihazlarında temel sistem, düşük güçte bir X-ışını tüpü ve örneğe 45°C açı ile yerleştirilmiş bir Si(Li) detektörden oluşur (Şekil 2.6.1.2.). Bir dizi birincil ışın filtresi; en iyi uyarılmayı almak için X-ışını tüpünden gelen spektrumu değiştirir. Yönlendirici filtreler ise; tüpten gelen ve ölçülen ışınların düzenlenmesinde kullanılır. Tüm sistemden helyum gazı geçirilerek veya sistem vakum altında iken ölçüm gerçekleştirilir (Markowicz ve ark. 1993).



Şekil 2.6.1.2. Enerji Dağılımlı X-ışını floresans spektrometrenin genel şeması

Daha ayrıntılı sistemlerde; cihazın gözlenebilme sınırlarını düşürmek amacıyla ikincil hedefli uyarma kullanılır. X-ışını bir metal disk üzerine düşürülerek ışınlama gerçekleştirilir. X-ışını ikincil hedefler ile belirli enerjilere göre polarize edilerek duyarlılık artırılır (Margui ve ark. 2009, Kaulich ve ark. 2009).

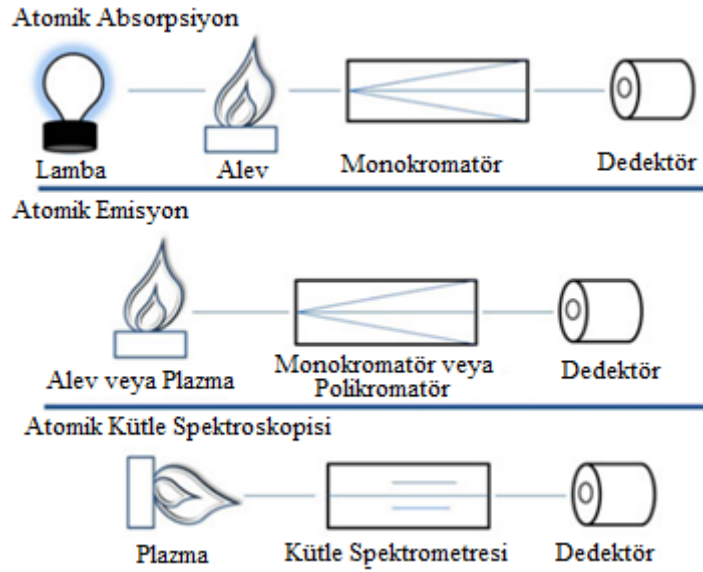


Şekil 2.6.1.3. XRF Cihazının Temel Bileşenleri a) WDXRF, b) EDXRF

Enerji dağılımlı XRF cihazlarında örneği uyarda genel olarak kullanılan yöntemlerden direkt uyarmalı ve ikincil hedefli uyarmalı XRF türleri Şekil 2.6.1.3.'de gösterilmiştir. İkincil hedef olarak; Mo, Al_2O_3 ve HOPG (High Oriented Pyrolytic Graphite) kullanılmaktadır (Jenkins 2000).

2.6.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi

1955 yılında Alan Walsh tarafından geliştirilen ve sonrasında 1959 yılında ticarileşen Atomik Absorpsiyon Spektrometresi metallerin ve bazı ametallerin tayinine uygulanabilen kantitatif bir metottur. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi, ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesine dayanır ve günümüzde 70' in üzerindeki elementin duyarlı olarak tayinini sağlar. Temel ilkeleri 19. yy'dan bu yana bilinmesine rağmen günlük ve rutin çalışmalara uygulanabilmesi 1955 yılında Walsh ve Alkemade'nin çalışmaları sonucunda gerçekleştirilebilmiştir. Grafit Fırını Atomik Absorpsiyon ölçümleri ise L'vov ve Massmann'ın çalışmaları ile başlamıştır (L'Vov 2005, Alt ve ark. 1976). Spektroskopik teknikler diğer tekniklere nazaran ucuz, kullanılması kolay ve hızlı tekniklerdir. Bu nedenle, spektroskopi alanında FAAS, GFAAS, HGAAS, ICP ve ICP-MS teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Lajunen 1992).



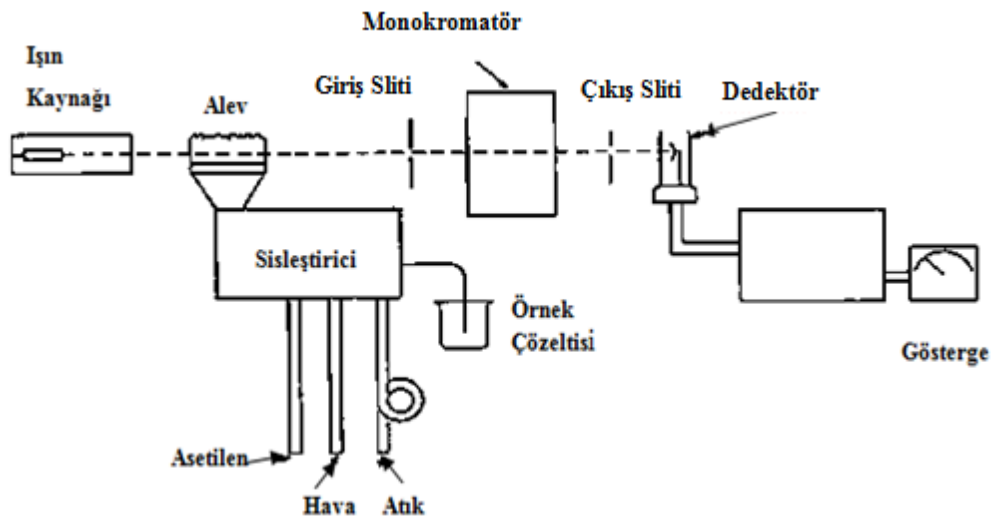
Şekil 2.6.1.1.1. Atomik absorpsiyon, emisyon ve kütle spektrometresi cihaz şematik gösterimi

2.6.1.2. Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi

Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) çeşitli numunelerde eser düzeyinde metal tayinine izin veren analitik performansı yüksek elementel analiz yöntemidir. Atomik absorpsiyon gaz atomları içeren bir hücre içerisinde optik ışının geçişi sonucu ışın yoğunluğunun azalmasının ölçümüne dayanmaktadır.

Cihazın temel bileşenleri; analiz elementinin absorplayacağı dalga boyunda ışına yapan bir ışın kaynağı, örnek çözeltisi içindeki analiz elementini atomik hale getiren bir atomlaştırıcı (alev veya grafit fırın), çalışılan dalga boyunu diğer dalga boylarından ayıran bir monokromatör, ışık şiddetini ölçmeye yarayan bir dedektör, absorpsiyon sonuçlarını veren bir göstergeden oluşmaktadır (Şekil 2.6.1.2.1).

Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve bir sisleştirici yardımıyla püskürtülür. Örnek çözeltisi aleve püskürtüldüğü zaman oluşan ilk olay çözücünün buharlaşmasıdır. Buharlaşma hızı, damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Buharlaşma sonucu oluşan katı parçacıklar (örneğin tuz kristalleri) ısı etkisi ile değişikliklere uğrar. Organik bileşikler yanarken inorganikler buharlaşır ve oluşan gaz moleküller atomlarına ayrılırlar (Walsh 1955).



Şekil 2.6.1.2.1. AAS'nin şematik gösterimi

Bir alevde tayin edilen elementin ve örnekteki diğer elementlerin atomlarından başka CO, CO₂, C, H₂O, O₂, H₂, H, OH, NO, NO₂ gibi çeşitli yanma ürünleri de bulunmaktadır ve bunlar bazen yüksek miktarda oluşabilir. Ayrıca alevde çeşitli türler arasındaki denge tepkimeleri sonucunda yeni bileşikler oluşur. Eğer iki ayrı denge tepkimesi sonucu aynı ayrışma ürünü oluşuyorsa, tepkime ürünlerinin kısmi basıncı nedeniyle bu iki tepkime birbirini etkileyecektir. Ayrışmanın bu şekilde zayıflamasından başka analit atomlarının derişimi iyonlaşma ve/veya başka bir anyonla tepkimeye girmesi ile de etkilenebilir. Bu nedenle alevdeki olaylar son derece karmaşıktır. Alevli atomlaştırıcılarda numunenin yanmasını ve atomik buhar oluşumunu gerçekleştiren bazı yaygın yakıt ve yükseltgen gazlar ile bu karışımlarla oluşan ortalama sıcaklık aralıklarını içermektedir. 1700 ile 2400 °C arasındaki sıcaklıklar, hava yükseltgen olduğunda çeşitli yakıt gazlarla elde edilebilir. Çizelge 2.6.1.2.1.'de atomik spektroskopide kullanılan alev türleri ve sıcaklıkları belirtilmiştir (Welz ve ark. 1984, Bakırdere ve ark. 2011).

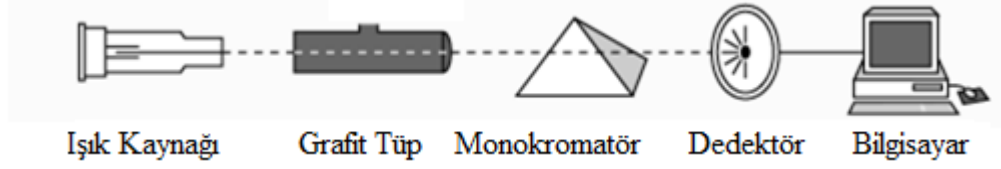
Çizelge 2.6.1.2.1. Atomik spektroskopide kullanılan gaz karışımları ve sıcaklıkları

Yakıt ve Yükseltgen	Sıcaklık, °C
Gaz / Hava	1700-1900
Gaz / O ₂	2700-2800
H ₂ / Hava	2000-2100
H ₂ / O ₂	2550-2700
Asetilen / Hava	2100-2400
Asetilen / O ₂	3050-3150
Asetilen / Azot oksidür	2600-2800

2.6.1.3. Grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi

Elektrotermal atomlaştırıcılar, gaz halinde serbest metal atomları oluşturmak için elektrikle ısıtılan grafit çubuklar, metal şeritler, metal bobinler ve grafit tüplerdir. En çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı, dirençle ısıtılan grafit tüptür. Bu tip

atomlaştırıcılar grafit fırınlı AAS olarak adlandırılır. Şekil 2.6.1.3.1’de grafit tüplü bir fırının basit bir şeması görülmektedir (Crouch ve ark. 1988).



Şekil 2.6.1.3.1. GFAAS'nin temel bileşenleri (Anonim 2015).

Grafit fırınlı atomlaştırıcılar ilk kez 1970 yılında piyasa çıkmıştır. Massman tipi olarak bilinen grafit fırın türlerinde örnek elektriksel olarak ısıtılan küçük, iki ucu açık bir grafit tüpte atomlaştırılır. Massman fırınlarında atomlaşma tam olarak uygun koşullarda gerçekleşmemektedir. Örnek başlangıçta tüpün soğuk duvarlarına enjekte edilmekte ve daha sonra hızlı bir şekilde ısıtılmaktadır. Analit atomları termal denge halindeki bir ortamda olmadığından gaz fazında özellikle matriks parçalanma ürünleri ile çeşitli birleşme reaksiyonları meydana gelmektedir. Bu tür fırınlarda oluşan atomların %60'nın tüpün daha soğuk olan uç kısımlarına difüze olduğu ve buralarda yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca tüpün orta ve uç kısımları arasında 2500 °C ile 800 °C arasında değişen sıcaklıklar ölçülmüştür (Lajunen 1992). Bu problemleri ortadan kaldırmak için L'vov ve arkadaşları tarafından örneğin direkt olarak grafit tüpün duvarlarına verilmesi yerine, tüpün içerisine yerleştirilen bir platforma verilmesini önerilmiştir.

Genellikle küçük hacimlerdeki (10–50 µL arası) sıvı örnek, örnek verme oyuğundan, soğuk tüpün içine (tüp duvarlarına) veya tüpün içindeki platforma verilir. Bu amaçla otomatik pipetler veya daha yaygın olarak otomatik örnekleyiciler kullanılmaktadır (Welz ve ark. 1984).

Numunenin GFAAS ile analizinde sıcaklık programındaki basamaklar:

a)Kurutma Basamağı: Bu basamakta çözücü kaynama noktasından daha düşük sıcaklıklarda ısıtılmasıyla uzaklaştırılır. Yaygın olarak analizi istenen elementin özellikleri de dikkate alınarak ısıtma 80-200 °C kullanılır. Numunenin kurutma

basamağında sıçrama gibi etkilerle uzaklaşmasını önlemek amacıyla basamaklı ve yavaş ısıtma tercih edilir.

b)Pirroliz (Ön atomlaşma) Basamağı: Pirroliz basamağı analiz edilen maddenin buharlaştırılmadan uçucu matrikslerin uzaklaştırıldığı basamak olup örnek içindeki bütün uçucu bileşenleri uzaklaştırmaya yetecek kadar uzun olmalıdır. Tipik olarak bu basamaktaki sıcaklık 350-1800 °C arasında değişir. Ön atomlaşma basamağında organik ve uçucu inorganik bileşikler uzaklaşır ve örnekteki matriks bileşenleri parçalanır.

c)Atomlaşma Basamağı: Bu basamakta ise sıcaklık tayini istenen elementin gaz atomlarının olduğu noktaya kadar yükseltilir. Genellikle bu sıcaklık 750-3000 °C arasındadır. Tayin elementinin absorpsiyonu atomlaşma basamağı sürecince ölçülür. Bu basamakta genellikle atomlaştırıcıdan geçen gaz akışı kesilir veya bazı durumlarda azaltılır. Atomlaştırıcıdan, atomlar absorpsiyon sinyali oluşturarak hızlıca spesifik ışın yolunun dışına atılırlar. Bu sinyal çoğunlukla keskin bir pik şeklinde gözlenir. Çalışma eğrisini hazırlamak için hem pik alanı hem de pik yüksekliği kullanılabilir.

d)Temizleme Basamağı: Grafit küvet atomlaşma basamağından daha yüksek sıcaklıklara ısıtılarak kalıcı veya az uçucu matriksler ortamdaki uzaklaştırılarak hafıza etkisi (memory effect) giderilmeye çalışılır.

e)Soğutma Basamağı: Bu basamakta oda sıcaklığına kadar fırın soğutulur. Her basamak gerekirse birden fazla sıcaklık programı içerecek şekilde optimize edilmelidir (Lajunen 1992).

2.6.1.4. İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi

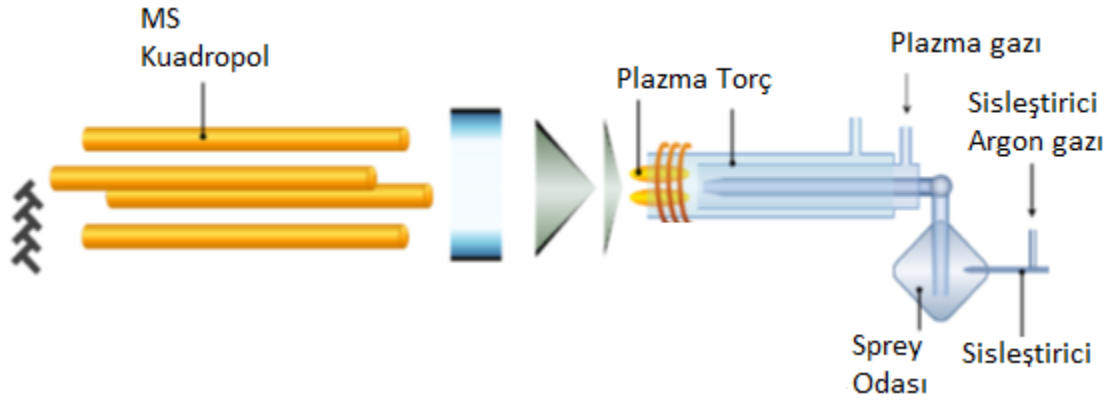
1980 yılında Houk ve ekibi tarafından ICP-MS sistemi geliştirilmiş ve 1980 yılların başlarında ticari olarak piyasaya sunulmuştur. ICP-MS, varolan iki sistemi esas alarak ortaya çıkmıştır (Houk ve ark. 1980). ICP-OES ve GC-MS. Piyasaya sunulan ilk cihazlarda bazı problemler olmasına rağmen, yöntemin hassaslığı, hızlı olması ve düşük tayin limitlerine inebilmesi gibi sebeplerden hızla gelişen bir sistem olarak analitik

cihazlar arasında yerini almıştır. Kütle spektrometresi olarak daha sonraki yıllarda manyetik sektör veya uçuş zamanlı kütle spektrometreleri kullanılmasına rağmen, hiçbiri quadropole kütle analizörleri kadar yaygın kullanıma sahip olmamıştır. İlk çıkan ticari ICP-MS sistemleri oldukça büyük, pahalı ve bir takım limitli kullanıma sahip olmasına karşın, günümüzde çok daha küçük cihazlar yeni teknoloji ile geniş bir doğrusal aralıkta çalışmaya olanak tanımaktadır (Robert 2007).

ICP-MS cihazı genel olarak bir iyonlaştırıcı kaynağı, bir kütle spektrometresi ve bir dedektörden oluşmaktadır. ICP-MS cihazı diğer birçok kütle spektrometri cihazında olduğu gibi ayrı ayrı iki üniteden değil tek bir cihazdan oluşmaktadır. Ancak ICP-MS cihazı diğer tekniklerle kombine şeklinde kullanılabilir. Örneğin HPLC, GC veya kapiler elektroforez bu bağlantılarda kullanılabilir. Günümüzde HPLC-ICP-MS bağlantısı özellikle düşük limitlerdeki türlendirme analizleri için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. ICP-MS cihazında yapılan ölçümler m/z oranına oranına dayanır. (Roos 2006).

ICP-MS ile analizlerde, sıvı halde verilen numune bir enjektör vasıtası ile plazma olarak adlandırılan ortama ulaşır. Plazma ortamındaki sıcaklık yaklaşık 8000-10000 K'dir. Yüksek sıcaklığın etkisi ile madde atomlaşmaya uğrar. Son yörüngesinden elektron koparılan atom tek pozitif yüklü hale gelir. Bu arada sistemde istenmeyen türler çeşitli kısımlar tarafından ayrılarak atılır.

Oluşan pozitif yüklü iyonlar bir kütle filtresi yardımı ile farklı kütle/yük oranlarına göre ayrıştırılıp dedektöre gönderilir. Dedektör gelen iyonları sayarak bir yazılım yardımıyla ekranda bize saniyede sayılan (counts/s) sinyal cinsinden sonuç verilmesini sağlar (Robert 2007).



Şekil 2.6.1.4.1. ICP-MS Cihazının bileşenleri

ICP-MS için analizi yapılacak katı maddeler tamamen çözünürleştirme işlemine tabi tutulmuş olmalıdır. Numune çözünürleştirilmesinde her bir matriks için ayrı ayrı asitlerin kullanılması söz konusudur. Kullanılan asitlerde girişim riskini mutlaka göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Çözünürleştirme işlemi sonrasında numunede herhangi bir bulanıklık veya tortu olması sistemdeki bir takım parçaların tıkanmasına neden olabilir. Bulanıklık veya tortuların oluşması numunenin tam olarak çözünmediği anlamına gelmektedir. Bu da sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olabilir. Numunenin berrak olduğu durumlarda ufak tortuları ve oluşabilecek tıkanıkları engellemek amacıyla numuneler süzülerek cihaza verilir.

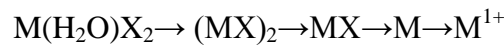
Peristaltik pompalar bir kaç kanallı olabilir. En çok kullanılan üç kanallı peristaltik pompalardır. Bir kanaldan numune verilirken diğer bir kanaldan numune fazlası atılır. Üçüncü kanal çoğunlukla iç standart eklemek için kullanılabilir.

Sıvı numunenin direkt olarak cihaza verilmesi durumunda plazma sönmesi meydana gelir. Bu yüzden sıvı numunenin çok küçük damlacıklar halinde sisteme verilmesi gerekmektedir. Bu işleme sisleştirme, bu işlemi yapan kısma ise nebulizer yani püskürtücü adı verilir. Nebulizer bir argon gazı yardımı ile sıvı numuneyi aerosol dediğimiz küçük damlacıklara çevirir. Buradaki gazın akış hızı belirli aralıklarla optimize edilir. İçeriye fazla akışta numune yolladığımızda cihazda inebileceğimiz dedeksiyon limitleri aşağı çekilir, ancak sisteme giren su miktarı fazla olduğundan oksit oluşumunda artar bu da girişimlerin daha fazla olmasına neden olur.

Nebulizer ile sisleştirilen numune spray chamber denen kısma gelir. Burada büyük damlacıklar ve küçük damlacıklar yani aerosoller bir arada bulunur. Spray chamberin aşağı doğru konik yapısından dolayı büyük damlacıklar aşağı doğru yol alırken küçük damlacıklar itici gazın etkisi ile sisteme doğru ilerlerler.

Plazma, sıvı halde verilen numunenin atomlaştırılıp iyonlaşmasını sağlayan kısımdır. Yüksek saflıktaki argon gazı, içiçe geçmiş kuartz malzemedeki yapılmış tüplerin etrafını saracak şekilde geçirilir. Bu parça torch olarak adlandırılır. Torch'un üst kısmında bakır sarmal bir yapı bulunur. Bu bakır sarmal yapı direkt olarak Radyo frekans (RF) jeneratörüne bağlıdır. RF tarafından yaklaşık olarak 1000-1500 watt güç uygulanır. Bu sayede torchun üst kısmında elektrik ve manyetik alan yaratılır. Manyetik ve elektrik alan oluşumu esnasında torchun etrafından geçen argon gazına bir çakmak vasıtası ile kıvılcım verilir. Bu kıvılcım sayesinde argon atomundan elektron kopartılır. Bu kopan elektronlar manyetik alan tarafından hızlandırılırlar. Oluşan elektronlara bakır sarmal tarafından da bir enerji aktarımı olur. Bu olay indüktifleşmiş eşleşmiş plazma olarak bilinir. Oluşan bu yüksek enerjili elektronlar argon atomları ile çarpışmaya ve daha fazla elektron oluşmasına neden olurlar. Argon gazının çarpışmalı iyonizasyonu bir zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Bu şekilde plazma meydana gelir. Oluşan bu olaya indüktif eşleşmiş plazma (ICP) boşalımı denir (Robert 2007).

Plazmaya sıvı halde verilen numune önce suyunu kaybeder ve küçük kristalize tuzlarına dönüşür. Bu katı kristaller yüksek sıcaklığı etkisi ile gaz haline geçerler. Gaz halindeki moleküller önce atomlaşmaya sonrada iyonlaşmaya uğrar. Eşitlik de örnek çözeltisinin plazmadaki davranışı gösterilmiştir.



Denklem.1

2.7. Kozmetikler için Örnek Hazırlama Yöntemleri

Kozmetik endüstrisinde kullanılan analitik yöntemleri geliştirmek için, özellikle örnek hazırlama aşaması önemlidir. Literatürde kozmetik numunelerin temel içerikleri biliniyor olmasına rağmen, başlıca sorunlardan biri, maksimum derişimleri mevzuatlarla sınırlı bileşenlerin içeriğini belirlemek için analitik yöntemlere ihtiyaç vardır. Bu nedenle uygulamada karşılaşılan bir başka sorun ise ürünlerde değişen yağ bileşenlerine karşı uygun bir örnek hazırlama işlemi bulmaktır. Kozmetikler yapısında mumlar, yağlar, boyalar ve pigmentler de dahil olmak üzere çeşitli bileşenler içerdiğinden örnek hazırlama açısından zor bir matristir. Pigmentler ayrıca alümina, silika, titanyum dioksit, mika gibi refraktör mineralleri içerebilir. Numuneler hakkında bilgi eksikliği ya da üründen ürüne değişen bileşenlerin kullanılması nedeniyle bir örnek için optimizasyon stratejisi geliştirmek anlamlı değildir (Gawalko ve ark. 1997).

Örnek hazırlama eser element analizinde kritik bir adım olarak kabul edilmektedir. İyi bilinen standart yöntemler genellikle yağ yakma (sıcak plaka) ve kuru yakmadır (kül fırını). Mineral asitler ve yükseltgenler çeşitli örnek hazırlama tekniklerinde kullanılmaktadır. Açık ve kapalı olarak yağ yakma uygulanmaktadır.

Mikrodalga destekli çözünürleştirme sistemi ilk olarak 1975 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır. Ruj matrisi çok yağlıdır ve ters fazlı LC için kullanılan çözücüler içinde yeterince çözünür değildir (örneğin EtOH, MeOH, MeCN, THF, vb.) Buna ek olarak fondötenler, formülasyonunda metal oksitleri ve pigment maddelerini içerdiğinden kolay çözünür değildir. Bu nedenle tam çözündürme mümkün değildir; analitlerin matristen ayrıştırması gereklidir.

Yağ yakma, matrisin bileşenlerini basit kimyasal yapılara dönüştüren bir yöntemdir. Bu çözünürleştirme ısı yoluyla örneğin bir asit gibi bir kimyasal reaktif kullanılarak enerji sağlanması ile elde edilir.

Yağ çözünürleştirme yöntemlerinin çoğu, okside edici asitler (HNO_3 , sıcak derişik HClO_4 , sıcak derişik H_2SO_4) ve oksitleyici olmayan asitlerin (HCl , HF , H_3PO_4 , seyreltik H_2SO_4 seyreltik HClO_4) kombinasyonlarının kullanımını içerir. Bu asitlerin hepsi özellikle sıcak ve derişik olanları aşındırıcıdır ve yaralanma ve kazalara karşı dikkatle

kullanılmalıdır. Açık sistem çözünürleştirme hem inorganik hem de organik maddelerde etkili olma avantajına sahiptir.

Çizelge 2.7.1. Açık sistem çözünürleştirme için metotlar

Çözünürleştirme Teknikleri	Gereken reaktifler	Uygulama alanı
Açık sistemler		
Geleneksel yakma	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ SO ₄ , HClO ₄ , H ₂ O ₂	İnorganik/organik
Mikrodalga çözünürleştirme	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ SO ₄ , HClO ₄ , H ₂ O ₂	İnorganik/organik
Ultraviyole çözünürleştirme	H ₂ O ₂ , K ₂ S ₂ O ₈	Su, bulamaç
Kapalı sistemler		
Geleneksel ısıtma	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ O ₂	İnorganik/organik
Mikrodalga ısıtma	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ O ₂	İnorganik/organik
Akış sistemleri		
Geleneksel ısıtma	HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂	İnorganik/organik
UV online bozunma	H ₂ O ₂ , K ₂ S ₂ O ₈	Su, bulamaç
Mikrodalga ısıtma	HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂	İnorganik/organik
Buhar faz asit çözünürleştirme	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ O ₂	İnorganik/organik

2.7.1. Açık sistem çözünürleştirme sistemi

Bu yöntem aynı zamanda yaş yakma yöntemi olarak da adlandırılabilir. Bunun nedeni sıvı reaktiflerin kullanılıyor olmasıdır. Yaş yakma yönteminde organik numuneler HNO₃, H₂SO₄, HClO₄ gibi asitlerle ayrı olarak parçalanacağı gibi bu asitlerin karışımı yükseltgen reaktiflerle parçalanması da söz konusudur. Bir ısıtıcı yardımıyla numunenin asitteki süspansiyonu katı faz kayboluncaya kadar ısıtılır. Parçalanma sıcaklığı asidin kaynama noktasıdır (Kuehner ve ark. 1972). Hidroklorik asidin yüksek derişimleri organik maddelerin parçalanmasında sınırlı olarak uygulanabilmesine karşın inorganik maddeler için ideal bir çözücüdür. Bu asit aynı zamanda bazı iyonları indirgemek için de kullanılır. Nitrik asit ile parçalama organik numunelerin eser element içeriklerinin tayininden önce yaygın olarak kullanılır. Bu asit çözünürleştirme işlemi için tek başına kullanıldığı gibi diğer asitlerle karışım oluşturularak da kullanılabilir. Perklorik asit çok etkin bir yükseltgen maddedir. Derişik perklorik asitin sıcak çözeltisinin organik asitlerle veya kolay yükseltgen inorganik maddelerle teması halinde patlayıcı özelliği

olması nedeni ile özel yapım çeker ocakta hazırlanmalıdır. Sıcak derişik sülfürik asitte çok sayıda madde yükseltgenerek parçalanabilmektedir. Bunun nedeni sülfürik asitin sahip olduğu yüksek kaynama noktasıdır.

Hidroflorik asit silikat bileşiklerinin parçalanmasında çok kullanışlı olmasına rağmen parçalanma sonrasında ortamda kalan fazla hidroflorik asitin uzaklaştırılması uzun zaman alan ve oldukça zahmetli olan bir iştir. Ortamda kalan aşırı hidroflorik asit H_2SO_4 ve $HClO_4$ ile uçurulur. Ayrıca hidroflorik asit toksik özellikte olduğu için bu işlemler çeker ocakta yapılmalıdır. Numune çözme işlemlerini daha hızlı hale getirebilmek için bazı asitlerin karışımları hazırlanabilir veya kuvvetli aside yükseltgen maddeler ilave edilebilir. Örneğin çok iyi bir çözücü olan kral suyu 3 hacim hidroklorik asit ile 1 hacim nitrik asitin karıştırılması ile elde edilir. Brom veya hidrojen peroksidin asitlere eklenmesi de organik maddelerin yükseltgenmesini hızlandırarak çözücü etkiyi artırır. Bu şekilde hazırlanacak çözeltilerin bir başka yararı da tek başınayken patlama tehlikesi olan asitlerin bu özelliğinin azaltılabilesidir.

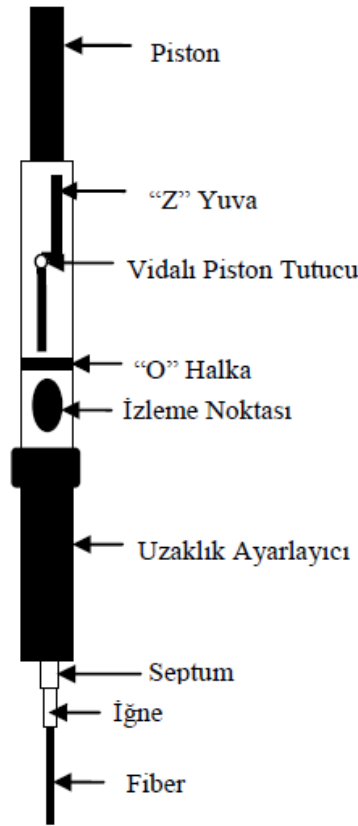
2.7.2. Mikrodalga esaslı çözümlerleştirme sistemi

Hem organik hem de inorganik maddelerin parçalanabildiği bir yöntem olan mikrodalga ile parçalama diğer yöntemlere kıyasla daha yeni bir yöntemdir. Bu parçalama işlemi hem açık hem de kapalı kapta yapılabilmektedir. Ancak yüksek basınç ve sıcaklık elde edilebilmesi bakımından kapalı kaplar daha çok tercih edilmektedir. Kapalı kapların yüksek basınç ve sıcaklık sağlaması dışındaki bir diğer avantajı da buharlaşma kayıplarının önüne geçilebilmesidir. Burada az miktarda kullanılan reaktif parçalama işi için yeterli olmaktadır. Böylece reaktiften gelen kirlenmelerinde önüne geçilebilmektedir. Ayrıca böyle bir analiz kolaylıkla otomatik hale getirilerek zamandan tasarruf edilebilmektedir. Mikrodalga ile parçalama metodu son derece hızlı yapılabilen bir yöntemdir. Diğer yöntemler ile saatler süren bir parçalama işlemi bu yöntemle çok kısa sürede gerçekleştirilebilmektedir. Bu üstünlüğü sağlayan, enerjinin çözümler molekülüne diğer yöntemlerden farklı olan bir mekanizma üzerinden aktarılmasıdır. Bu da mikrodalga kap hiç ısıtılmadan enerji aktarımı yapılabılırken diğerlerinde bir ısı

iletiminin sağlanması için beklenmesi zorunluluğundan olur (Bryce ve ark. 1995, Saraswati ve ark. 1995).

2.7.3. Katı faz mikro ekstraksiyonu

Katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME) 1989 yılında Pawliszyn ve ark. tarafından geliştirilen ve 1993 yılında ticarileşen nispeten yeni bir örnek hazırlama metodudur. Katı faz mikroekstraksiyon, bir adsorpsiyon ve desorpsiyon tekniğidir. Bu teknik, belirli organik bileşenlerin sıvı ya da katı örneklerden doğrudan veya kapalı bir ortamdaki katı-yarıkatı-sıvı örneklerin tepe boşluğundan sabit faz ile kaplı bir eritilmiş silika fiber üzerine adsorpsiyonuna dayanmaktadır (Silva ve ark. 2013, Arthur ve ark. 1990). Genellikle 2-40 dakikalık bir süre sonunda dengeye ulaşıldığında absorbe veya adsorbe edilen bileşenleri içeren fiber örnekten uzaklaştırılır. Bu bileşenler bir GC-enjektör portunda termal desorpsiyon işlemi ile geri alınarak uygun kolon ve detektör ile analiz edilir (Şekil 2.7.3.1).



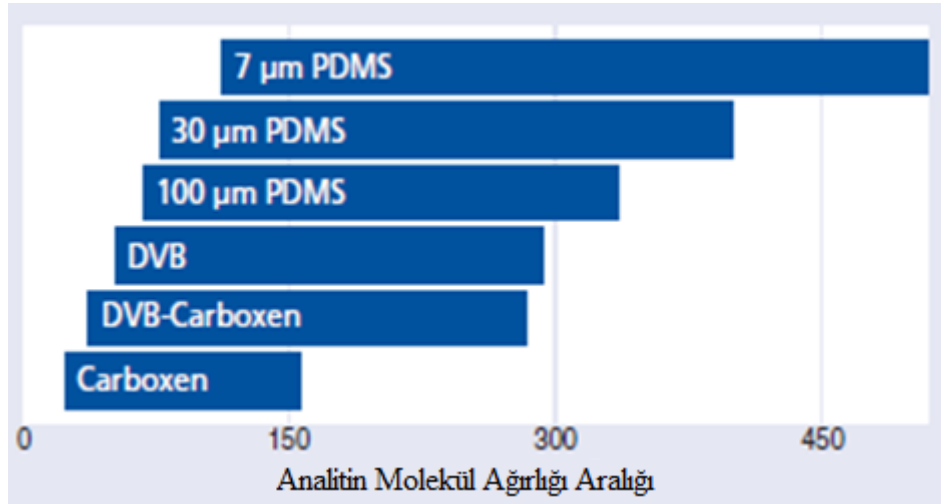
Şekil 2.7.3.1. SPME fiberinin yapısı

SPME cihazı, dış yüzeyi polimerik sabit faz ile kaplı silika fiber ve fiberin içinde bulunduğu paslanmaz çelik bir tüp içeren mikro şırınga görünümünde bir alettir (Şekil 2.7.3.1). Bu tüp örneğin bulunduğu vialin septumuna daldırılır ve daha sonra şırınga yardımıyla 1cm uzunluğundaki fiber uç tepe boşluğuna ya da doğrudan örnek içine itilir. Belli bir süre sonunda örnek içinde, tepeboşluğunda ve fiber üzerinde bulunan uçucu bileşenlerin derişimleri arasında bir denge kurulur.

SPME nin en büyük avantajlarından biri çözücüsüz numune hazırlanabilmesidir. Böylece çözücü kullanımı minimize edilmiş olur. SPME sorpsiyon ve desorpsiyon içeren basit bir sistemdir. SPME numune cihazları taşınabilir ve arazi uygulamalarında kullanılabilir. SPME yüksek derişim yeteneği ve seçicilik gibi avantajlara sahiptir. SPE, analitin çok büyük bir kısmının ekstraksiyonunu sağlar fakat 1 e %2 oranında numune analitik enstrumana enjekte edilir. SPME de ise örneğin tamamının enjekte edilmesine rağmen analitin sadece küçük bir kısmını (%2-20) ekstrakte edebilir. Yöntem az hatayla analiz potansiyeline sahiptir (Bojko ve ark. 2012).

Polidimetilsiloksan (PDMS) tek bileşikli, nonpolar sıvı absorbent fazı kaplaması erimiş silika üzerinde 7,30 ya da 100 µm kalınlığında olan en sık kullanılan SPME fiberlerindandır. PDMS fiberı GC ve HPLC analizlerinde de kullanılmaktadır. En ince kaplama 100mm uçucu bileşikler için kullanılır. Orta düzeydeki kaplama 30mm nonpolar, yarı uçucu organik kaplamalardan küçük kaplama çapı 7mm ise nonpolar, yüksek moleköl ağırlığına sahip bileşiklerde kullanılır. PDMS fiberleri 4-10 pH aralığında sınırlıdır. Poliakrilat (PA) tek içerikli polar absorbenttir ve film kalınlığı 85mm olan kaplamalarda kullanılır. Sorbent GC veya HPLC analizlerinde kullanılabilir ve polar yarı uçucu bileşiklerin ayrımı için uygundur. SPME için Çoklu bileşik fiberleri de geliştirilmiştir. SPME divinilbenzen (DVB) veya asılı CAR-PDMS, nonpolar faz veya karbovaks(CW), orta kararlı polar faz içerir. Katı partiküler sıvı fazda fiberi kaplamak üzere asılı bulunurlar. PDMS-DVB çoklu bileşik içeren bipolar sorbent kaplamadır. PDMS-DVB ticari olarak SPME için 65mm kalınlığında bulunur.GC ve HPLC analizlerinde kullanılır. DVB, PDMS fazında asılı bulunur. CW-DVB çoklu bileşiği polar sorbentleri GC analizleri için 65-70 mm kalınlığında üretilmiştir. SPME, karbovaks-DVB kullanarak alkollerin ve polar bileşiklerin ayrımı mümkündür. DVB,

carbovaks fazında asılı kalır. Karboksen/PDMS çoklu bileşik bipolar sorbenti (75-80 µm kalınlığında) gazların veya düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklerin GC analizleri için kullanılır. Karboksenler nadiren bütün partikül boyunca yayılan gözeneklere sahiptirler ve bu da hızlı desorpsiyon sağlamaktadır. Moleküler ağırlığı 90'dan az olan analitlerin ayrımında 85 µm lik karboksen/PDMS lerin kullanımı en iyi seçenektir (Supelco Bulletin 2009).



Şekil 2.7.3.2. SPME fiberlerinin karşılaştırılması

Uçucu bileşenlerin örnek/tepeboşluğu/fiber arasındaki dağılımı örnek matriksi, örneğin yağ içeriği, tuz derişimi, pH'sı, istenmeyen bazı bileşenlerin bulunması, uçucu bileşenin polaritesi ve uçuculuğu, örnek ve tepeboşluğu hacimleri, örneğin çalkalanması ya da karıştırılması, örneğin sıcaklığı ve fiber seçiciliği gibi pek çok faktöre bağlıdır (Matich, 1999). Fiber sabit fazının küçük hacminden dolayı (yaklaşık 1µl), uçucu bileşenler pek çok durumda sadece kısmi olarak ekstrakte edilebilmektedir (Holt, 2001). Fiber tarafından ekstrakte edilen uçucu bileşen miktarı fiber üzerine kaplanan polimerin kalınlığına ve uçucu bileşenin denge sabitine bağlıdır. Ekstraksiyon süresi, en yüksek denge sabitlerine sahip uçucu bileşenlerin kesin ekstraksiyonu için gerekli olan süre tarafından belirlenmektedir. Denge sabiti genellikle bir uçucu bileşenin molekül ağırlığı ve kaynama noktası yükseldikçe artmaktadır.

Çizelge 2.7.3.1. SPME'nin diğer tekniklerle karşılaştırılması

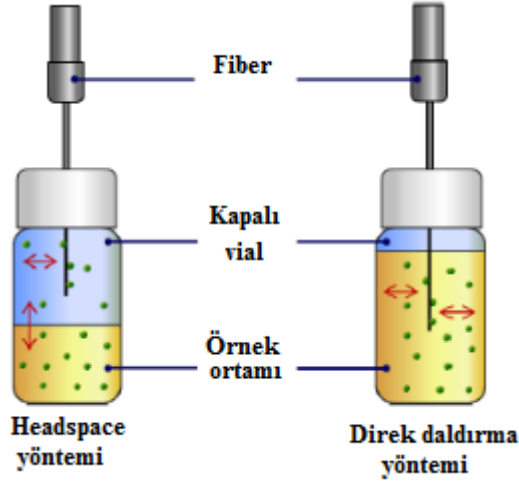
Ekstraksiyon modu	LOD seviyesi	Kesinlik (%RSD)	Zaman (dk)	Çözücü kullanımı
Purge&Trap	ppb	1-30	30	-
Stripping	ppt	3-20	120	-
Headspace	ppm		30	-
LLE	ppt	5-50	60	1000mL
SPE	ppt	7-15	30	100 mL
SPME	ppt	1-12	5	-

Ticari olarak bulunan farklı tipteki polimerik fazlarla kaplanmış fiberler polaritelerine göre apolar, bipolar veya polar olarak ve ayrıca adsorbent ya da absorbent tip fiber olup olmadıklarına göre sınıflandırılabilirler (Çizelge 2.7.3.2.).

Çizelge 2.7.3.2. Ticari olarak uygun SPME Fiberlerinin Özeti (Supelco Bulletin 2009)

Fiber Türü	Film Kalınlığı (µm)	Polarite	Max sıcaklık (°C)	Teknik	Analizlenebilecek Bileşikler
Polydimetil siloksan (PDMS)	100	Non-polar	280	GC/HPLC	Uçucular
PDMS	30	Non-polar	280	GC/HPLC	Non-polar yarı uçucular
PDMS	7	Non-polar	340	GC/HPLC	Orta- Polar Yarı uçucular
PDMS-Divinilbenzen (DVB)	65	Bipolar	270	GC	Polar uçucular
PDMS-DVB	65	Bipolar	270	HPLC	Genel amaç
PDMS-DVB^a	60	Bipolar	270	GC	Polar uçucular
Poliakrilat (PA)	85	Polar	320	GC/HPLC	Polar yarı uçucular
Karboksen-PDMS	75	Bipolar	320	GC	Gazlar ve uçucular
Karbovaks-DVB	70	Polar	265	GC	Polar analitler
DVB-PDMS-karboksen	50/30	Bipolar	270	GC	Kokular

SPME örneklemesinde iki yaklaşım vardır: Doğrudan ve headspace örnekleme SPME numune örnekleme metot tipleri Şekil 2.7.3.3.' de görülebilir.



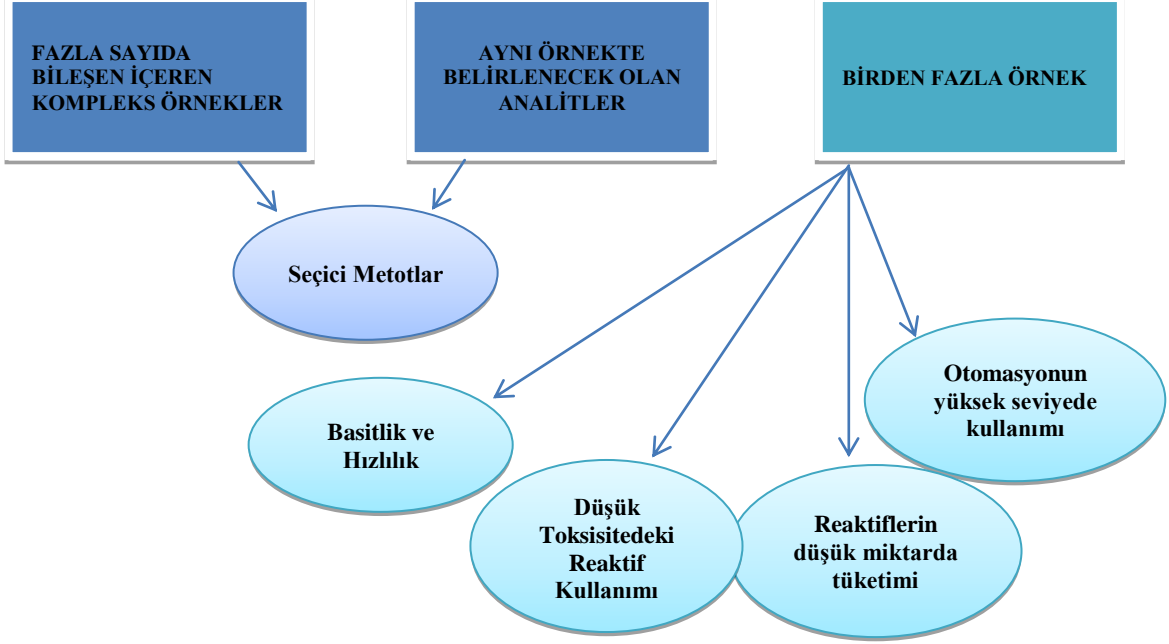
Şekil 2.7.3.3. Headspace ve doğrudan SPME türleri (Ki 2011)

Doğrudan SPME: Fiber matrisinin içine doğrudan yerleştirilir. SPME de yüksek doğruluk ve hassasiyet için, örnekleme süresi ve diğer örnekleme parametrelerinde tutarlılık tam dengelemeden daha önemlidir. Ayrıca vial boyutu ve örnek hacmini sabit tutmak da önemlidir. Doğrudan daldırma SPME ile örnekleme yapıldığı zaman, fiberin örnekteki derinliği optimize edilmesi gereken bir parametredir (Zhang ve ark. 1993).

Headspace SPME: Fiber numunenin üst tepe boşluğu kısmında tutularak örnekleme yapılır. Bu örnekleme yöntemi, kaynama noktası 200 °C daha az olan analitlerin analizi için uygundur. Uçucu organik maddeler bu yöntem kullanılarak kolayca analiz edilebilir. Headspace SPME de denge, doğrudan SPME'ye göre daha hızlı gerçekleşir; çünkü analitler fiber üzerine daha hızlı nüfuz ederler. Headspace SPME girişimleri en aza indirmesinden dolayı ve fiber ömrünün uzattığını için idealdir (Belardi 1989).

2.8. Kozmetiklerin Analizinde Kullanılan Analitik Metotlar

Kozmetik ürünlerin analizinde içeriğindeki bileşenler ve yapısı nedeniyle aşağıdaki özellikleri göz önüne alınmalıdır (Şekil 2.8.1.)

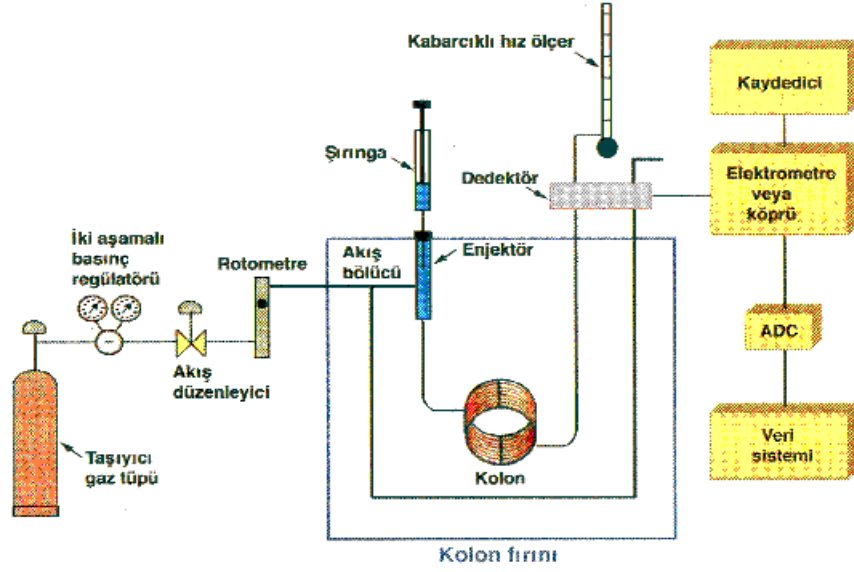


Şekil 2.8.1. Kozmetik analizlerinde analitik yöntemlerin özellikleri

2.8.1. Gaz Kromatografisi – kütle spektrometresi

Gaz kromatografide (GC), ısı ile buharlaştırılan örnek kromatografi kolonunun girişine enjekte edilir ve inert bir gaz ile elüe edilir. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine hareketli faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek görevi; analiti kolon boyunca sürüklemektir. İki çeşit gaz kromatograf vardır: gaz-katı kromatografisi (GSC) ve gaz-sıvı kromatografisi (GLC). Gaz-sıvı kromatografisi birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı için adı genelde kısaca gaz kromatografisi olarak anılır.

Gaz-sıvı kromatografisi analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş sabit sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Bir gaz kromatografisi cihazının temel bileşenleri Şekil 2.8.1.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.8.1.1. Gaz kromatografin bileşenleri (Skoog ve ark. 2005)

Gaz kromatografide hareketli faz olarak kimyasal açıdan inert olan helyum, argon, azot, karbon dioksit ve hidrojen gibi gazlar kullanılır. Gaz seçimi kullanılan detektöre uygun yapılmalıdır. Gaz kaynağına bağlı olan diğer üyeler ise; basınç ayarlayıcıları, göstergeler ve akış ölçerlerdir. Ek olarak, su veya taşıyıcı gazdan gelebilecek diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde moleküler elek bulunmaktadır. Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirine bağlı iki basamaklı basınç düzenleyiciler (regülatörler) ve kromatografa bağlı akış düzenleyici ile yapılır. Modern sistemlerde ise gaz akış ve basıncını kontrol eden elektronik sistemler bulunmaktadır.

Numune enjeksiyonunda, kolon girişinde bulunan bir silikon-lastik diyafram veya bir septum içinden, numune sıvı veya gaz olarak bir mikro şırınga ile hızlı buharlaştırıcı bölmeye verilir. Yavaş enjeksiyon ve fazla miktarda örnek verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olur. Analitik amaçlı enjeksiyon hacmi; 0,1- 20 μL arasında olabilir. Gaz kromatografisinde iki tip enjeksiyon vardır. Bunlar split ve splitless'tir. Splitless enjeksiyon türünde kolon içine enjekte edilen miktar doğrudan kolona verilirken, split enjeksiyonda; split oranına göre örneğin belirli bir kısmı kolona verilir. Bu derişik örneklerde kolona verilmeden önce yapılan bir seyreltme işlemi olarak da kabul edilebilir.

Gaz kromatografisinde, dolgulu ve kapiler olmak üzere iki tip kolon kullanılır. Kromatografi kolonlarının boyu, 2 ile 50 m. arası değişebilir. Yapımlarında paslanmaz çelik, cam, ergitilmiş silis veya teflon kullanılabilir. Kolon sıcaklığının sabit olması önemli bir analiz parametresi olduğu için kolon, sıcaklığı belirli bir etüv (kolon fırını) içerisinde bulunur. Sabit sıcaklık sağlama ve etüve sızmaları için genellikle çapları 10 ile 30 cm arasında değişen bobinler şeklinde sarılırlar. Çizelge 2.8.1.1. 'de dolgulu ve kapiler kolon özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.8.1.1. Dolgulu ve kapiler kolon özellikleri

	Dolgulu	Kapiler
Uzunluk (m)	0,5-5	5-50
İç çap (mm)	2-4	0,1-0,7
Akış (mL/dk)	10-60	0,5-15
Basınç (psi)	10-40	3-40
Plaka sayısı	4000	250.000
Kapasite	10 mg/pik	100 ng/ pik
Film kalınlığı(µm)	1-10	0,1-8

Kapiler kolonlar; uzun kolon boyları, küçük yarıçapları ve daha düşük numune hacimleri ile dolgulu kolonlara göre daha fazla üstünlüğü olan ve kullanım alanı bulan kolon türleridir.

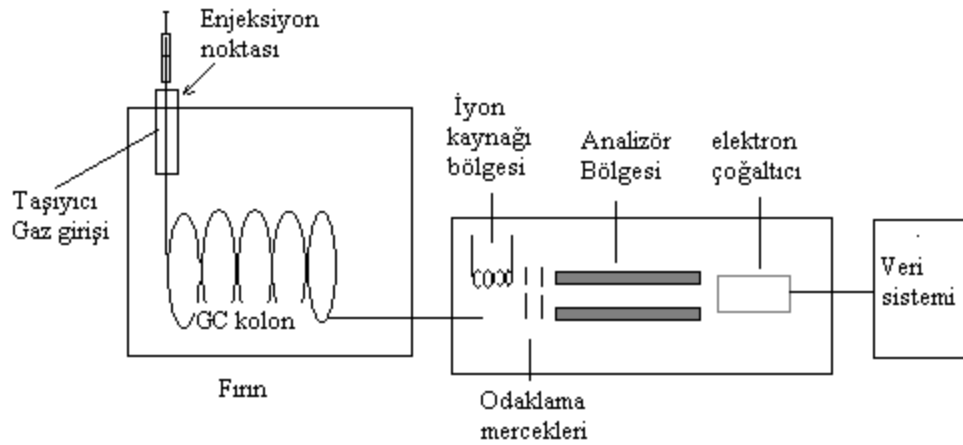
Gaz kromatografide piklerin ayrılmasını iyileştirmek için önemli olan faktörler; kolon uzunluğu, kolon iç çapı, film kalınlığı, taşıyıcı gaz türü, taşıyıcı gaz hızı ve kolon sıcaklığıdır. Gaz kromatografide ideal sabit fazın; düşük uçuculuğa sahip olması, termal olarak kararlı olması, kimyasal olarak inert olması gereklidir. Ticari olarak kullanılan bazı kolon dolgu malzemeleri özellikleri, isim ve uygulama alanları Çizelge 2.8.1.2'de verilmiştir.

Gaz kromatografide başlıca kullanılan detektörler; alev iyonlaştırmalı detektör (FID), termal iyonlaştırmalı detektör (TCD), termiyonik detektörler (TID) ve kütle detektörleri (MS)' dir.

Çizelge 2.8.1.2. Gaz-sıvı kromatografi için uygun bazı durgun fazlar

Durgun Faz	Genel Ticari adı	En yüksek Sıcaklık, °C	Genel Uygulamaları
Polimetil siloksan	OV-1,SE-30	350	Genel amaçlı apolar faz; hidrokarbonlar; polinükleer aromatikler; ilaçlar; steroidler; PCB'ler
%5 Fenil-polidimetil siloksan	OV-3,SE-52	350	Yağ asidi metil esterler; alkaloidler; ilaçlar; halojenli bileşikler
%50 Fenil polidimetil siloksan	OV-17	250	İlaçlar; steroidler; pestisitler; glikoller
%50 Trifloropropil polidimetil siloksan	OV-210	200	Klorlanmış aromatikler; nitroaromatikler; alkil süstitüe benzenler
Poliyetilen glikol	Carbowax 20M	250	Serbest asitler; alkoller; eteri yağlar; glikoller
%50 Siyanopropil polidimetil siloksan	OV-275	240	Poli doymamış yağ asitleri; rozin asitleri; serbest asitler; alkoller

Gaz kromatografisi çoğu zaman seçici spektroskopik ve elektrokimyasal tekniklerle bağlantılı olarak kullanılır. Böylece ikili yöntemler adı verilen bu sistemler, kompleks karışımların analizinde güçlü bir araç olarak karşımıza çıkar. Gaz kromatograf/kütle spektrometresi biyolojik ve doğal sistemlerdeki yüzlerce maddeyi aynı anda tanımak amacıyla kullanılmaktadır. Bu tür bir sistemin şematik görünümü Şekil 2.8.1.2.'de verilmiştir.



Şekil 2.8.1.2. Gaz kromatografisi/kütle spektrometresinin şematik gösterimi.

2.8.1.1. Vakum outlet -gaz kromatografisi – kütle spektrometresi

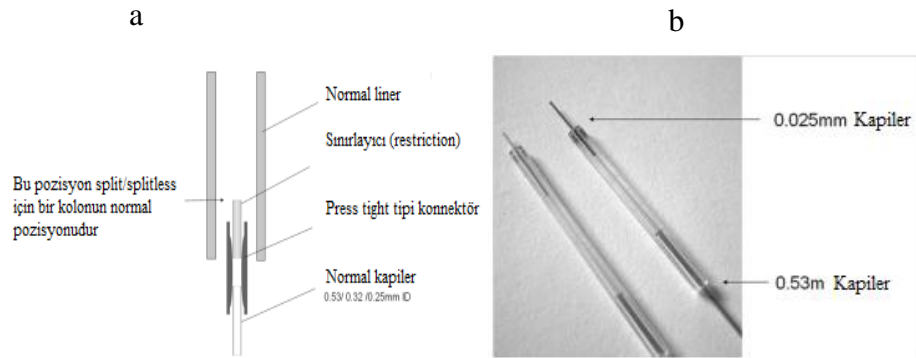
Vakum outlet kapiler GC ya da diğer adıyla Vakum GC tekniğinde kolonlar düşük basınçta çalışmaktadır. Düşük basınç altında ayırmanın gerçekleşmesinde 1962’ de Giddings ve arkadaşlarının belirttiği gibi birçok avantajı vardır. Vakum outlet GC’nin MS ile kombine edilmesi uygulamaları kolaylaştırmaktadır (Zeeuw ve ark. 2000)

Vakum outlet şartlarında, kısa geniş çaplı kolonların kullanımı daha uygundur. Vakum GC de atmosferik outlet basınçlarında çalışan kolonlara göre, kısa mega çaplı kolonlar tüm kolon boyunca vakum geçeceğinden daha yüksek bir analiz hızı sağlamaktadır. Dar çaplı kolonlar kullanıldığında ise bunun tam tersi olmaktadır. Bu vakum koşulları altında gerçekleştirilen, yüksek teorik plaka sayıları ile dar çaplı kolonlar için hız kazancının daha az önemli hale geldiği anlamına gelmektedir (Zeeuw ve ark. 2000, Cramers ve ark. 1998).

Bir kütle spektrometresi ile geniş çaplı bir kolon bağlanması yoluyla vakum işlemi sağlamak için, kolonun başlangıcında bir (restriction) sınırlayıcı kullanımı gereklidir; aksi takdirde işlevsel sorunlar ortaya çıkar. Özellikle, taşıyıcı gaz girişi ve enjeksiyon sisteminin ortam basıncının altında çalıştırılması gerekir. Buna ek olarak, yüksek kolon çıkış akışı, kütle spektrometresinin iyon kaynağında tolere edilebilecek maksimum basınç limitini aşabilir. 0,53 mm iç çaplı ve 10 m uzunluğunda bir geniş çaplı kolonun

tipik (optimum) kolon çıkış akış hızı yaklaşık 7-10 ml/dakikadır. Genellikle, bir MS'in pompalama kapasitesi, 5mL/dakika kolon akış hızında maksimuma ulaşmaktadır. Öte yandan, MS pompalama sistemi kabul edilebilir bir seviyede basıncı sürdürmek için yeterli kapasiteye sahip olduğu takdirde, bir komplikasyon enjektör giriş basıncı ortam değerlerine azalacaktır. Bu ek uygulama avantajlı olmakla beraber hız açısından sorunlara neden olabilir. Ancak kolon girişine bağlanmış bir sınırlayıcı kullanılırsa; akış da kabul edilebilir bir düzeye kadar sınırlı olacağından, enjeksiyon sistemi atmosfer basıncından yüksekte çalışabilir ve hala düşük basınç tüm kolon boyunca hakimdir.

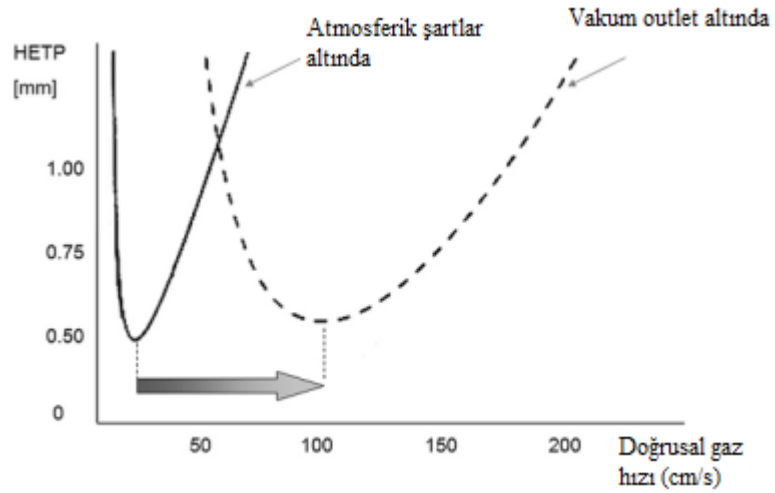
Daha kolay ve güçlü vakum GC sağlayan enjeksiyon portuna (restriction) kısıtlayıcı eklenmesi ile ilgili yeni bir yaklaşım da Zeeuw ve arkadaşları tarafından önerilmiştir. Bu şekilde, özel bir konnektör ihtiyacı ile birlikte üretim gerektirir ve olası sızıntılar, ölü hacim, aktivitesi ve oluşabilecek termal kütle sorunları önlenmiş olur. Örneğin, kısıtlamanın bir kısmı, örnek matrisi ile etkileştiğinde pikler, analitik kolona ulaşmadan genişlemeye ve kuyruklanmaya başlar ve tüm kısıtlamanın değiştirilmesine gerek duyar. Bu gibi durumlarda, bunun bir parçasını kesmek pratik bir yol değildir çünkü kısıtlamanın basınç karakteri ve kolon akışı değişecektir. Zeeuw ve ark. tarafından önerilen yeni metotta ise, enjeksiyon portu içinde press-tight tipi konnektör ve 0,025 mm iç çapı ile kaynaşmış silika kısa parçaları ve konumu kullanarak enjeksiyon kısmı içinde Şekil 2.8.1.1.1'de gösterildiği gibi bir kısıtlama yapılabilir (Zeeuw ve ark. 2009).



Şekil 2.8.1.1.1. a. Enjeksiyon portundaki (restriction) sınırlayıcının pozisyonu ve b. Press-Tight konnektörde sınırlayıcı (restriction) (Koesukwiwata ve ark. 2011).

0,53 mm kapiler içindeki gerçek basınç, 0,25 mm kolondan çok daha düşük olacaktır. Optimum hız, düşük basınç ile arttığından; optimum lineer gaz hızındaki kazanç 0,53 mm kolonlarda 0,25 mm kolonlardan daha yüksek olacaktır (Koesukwiwata ve ark. 2011).

Optimum ortalama taşıyıcı gaz hızı ortalama ikili gaz fazı difüzyon katsayısı ile orantılıdır ve her ikisi de bu basınç ile ters orantılı değişir, bu nedenle vakum outlet GC uygulaması hızlı ayırmalar için fırsat sağlamaktadır. Şekil 2.8.1.1.2’de görüldüğü üzere, kılcal içindeki basınç düşürülmesi, gaz fazındaki hızlı difüzyon nedeniyle Van Deemter eğrisini sağa kaydırmaktadır. Bu etki, bütün kılcal boyunca daha yüksek bir vakum uygulanırken daha etkin olacaktır (Leclercq ve ark. 1998). Bu nedenle etki, 0,53 mm çaplı kolonlarda daha büyüktür. Aynı zamanda küçük çaplı kolonlar için de çalışır; fakat bu durumda kolonun kendisi sınırlayıcı olarak davranacaktır. Dar çaplı kolonlar ile çalışıldığında bu etkinin gözlenmesi için çok kısa süre gerekmektedir (Zeeuw ve ark. 2000)



Şekil 2.8.1.1.2. He taşıyıcı gazı için 0,53 mm’lik kolonun basınç ve vakum koşullarında Van Deemter eğrileri (Koesukwiwata ve ark. 2011).

Uygulamada, düşük basınç altında çalıştırılan 0,53 mm kolon kullanılması, normal basınç altında GC kolon kullanılmasından dört kat yüksek faktör ile (yani, uygun hızları yaklaşık 25 cm/s olan, 0,25 veya 0,32 mm kolon kullanarak) taşıyıcı gaz olarak helyum, 90-100 cm/s akış hızlarıyla sonuçlanır.

Bu hızlarla ve daha kısa kolonlar kullanılarak (10 m yerine 30 m, 2,5 kat bir azalma ile sonuçlanan) analiz zamanında 10 faktörlük bir teorik azalma mümkündür. Pratikte bu faktörlere sadece izotermal analizler için ulaşılabilir. Sıcaklık programlı GC analizlerinde, azaltma faktörlerinin (örneğin, 3-7 arasında bir faktör) daha düşük olduğu gözlenmiştir (Zeeuw ve ark. 2000).

Bilindiği gibi, kolon giriş ve çıkış arasındaki basınç farkı sabit olduğunda, bir taşıyıcı gaz volümetrik akışı kolon fırını sıcaklığı tarafından belirlenir ve gradyan sıcaklık programı sırasında bir sabit basınçta çalıştırıldığında, taşıyıcı debisi kayda değer ölçüde yavaşlayabilir.

Hidrojen, geniş bir akış hızı aralığında ve sıcaklıkta yüksek etkinlik sağlamaktadır. Böylece kapiler kromatografi için en uygun gaz olmaktadır. Hidrojen düşük plaka yüksekliği ve yüksek verimliliğinden dolayı iyi bir Van Deemter profiline sahiptir. Helyum ve azot da hidrojenden sonra gelmektedir.

Zeeuw ve ark. tarafından 10 m x 0.53 mm CP-Sil 5 CB kolonu ve içeride bir sınırlayıcı ile quadropol MSD kullanıldığında helyum için optimum hız yaklaşık 90-100 cm /s bulunmuştur. Bu tür yüksek hızların çok kısa analiz sürelerine neden olacağı açıktır. Normal olarak, bu yüksek hızlı koşullar altında ayrılan pikler çok dardır ve sınırlı veri toplama oranı nedeniyle pik tayininde problemler olabilir. Bununla birlikte, bir 0,53 mm çaplı kolonda ayrılan pikler daha geniş olduğundan vakum outlet şartlarında kullanıldığında daha etkili veri toplanmasını sağlanmaktadır (Zeeuw ve ark. 2000).

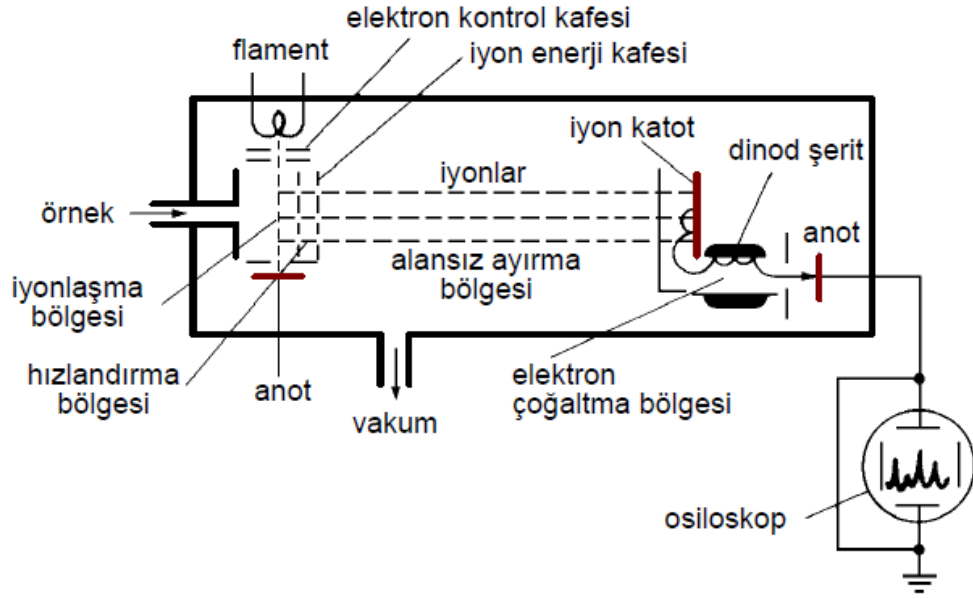
Yüksek doğrusal hız nedeniyle piklerin hızlı ayrılması ve yükseklikleri iyidir. Sinyal/Gürültü oranında daha yüksek pik sonuçları, yaklaşık üç kat iyileşme ve yöntemin tayin limitlerinin düşürülmesini sağlamaktadır. Bu nedenle, teknolojinin uygulanması, az analit miktarlarında bile çok daha hızlı analiz taraması yapabilmektedir (Zeeuw ve ark. 2000, Zeeuw ve ark. 2009).

2.8.2. Sıvı kromatografisi- iyon tuzağı- uçuş zamanlı- kütle spektrometresi

Üç boyutlu iyon tuzağı- uçuş zamanlı- kütle Spektrometresi HPLC kolonundan gelen bileşenlerin kütlelerinin analizinde ve yapısal tanımlama amacıyla kullanılmaktadır. Uçuş zamanlı kütle spektrometre (TOF) teknolojisi kısa sürede doğal ve sentetik makromoleküllerin karakterizasyonu için tercih edilen kütle spektrometresi konumuna gelmiştir. TOF geniş bir kütle aralığında yüksek hassasiyetle spektral çözünürlüğü (rezolüsyonu) birleştirmektedir. Hassas kütle ile birlikte MSⁿ ölçümleri yapılabilmesi, LCMS-IT-TOF ile hızlı ve kolay tanımlama yapılmasına olanak sağlamaktadır. MSⁿ ile yapısal formülün belirlenmesi ve formül kullanılarak bileşen veritabanının taranarak polimer katkılarının tespit edilmesi için kullanılacak gerçekçi ve tercih edilen bir yöntemdir (Ahuja ve ark. 2007, Morrow 2015, Guilhaus 1995, Niessen 1999).

Uçuş zamanlı kütle analizöründe ayırmada magnetik etki bulunmaz. Kısa süreli bir elektron pulsu ile bombardıman yapılarak pozitif iyonlar üretilmesi sağlanır. Delikli bir levha ile kontrol edilen pulsların frekansı 10000 Hz, yaşam süreci 0,25 s kadardır. Üretilen iyonlar daha sonra iyonizasyon pulsu ile aynı frekanstaki bir elektrik alanı pulsu ile hızlandırılır. Hızlandırılmış tanecikler, bir metre boyundaki elektrik alanı bulunmayan bir "ayırma tüpü"ne girerler (Şekil 2.8.2.1.). Tüpe giren tüm taneciklerin kinetik enerjisi aynıdır; böylece her birinin hızı, kütleleri ile ters orantılı olacak şekilde farklı olur.

Uçuş zamanlı kütle spektrometrelerdeki dedektör bir elektron çoğaltıcı (çok kademeli) tüptür; tüpün çıkışı bir katot ışını osiloskopun dikey döndürme levhalarına beslenir, yatay tarama hızlandırma pulsları ile senkronize edilerek kütle spektrumun tamamı osiloskop ekranında hemen görüntülenir.



Şekil 2.8.2.1. Uçuş zamanlı kütle spektrometresinin şematik gösterimi (Ferrer ve ark. 2009)

2.8.2.1. Atmosferik basınçlı iyonlaşma teknikleri

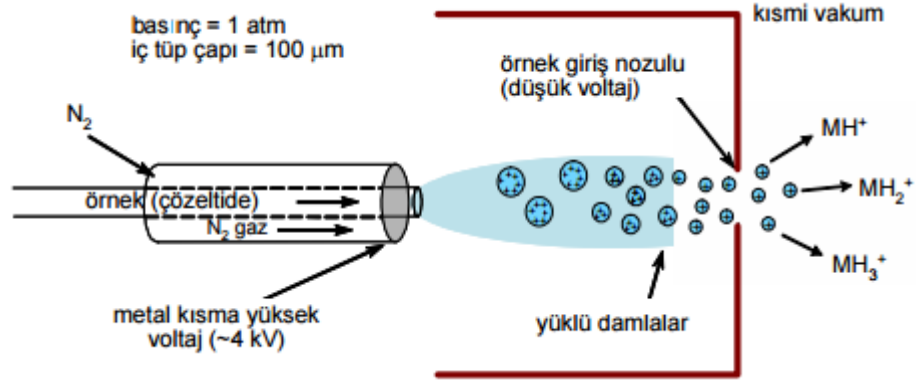
API yöntemi, özellikle sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC/MS) sistemi için kullanım alanı çok yaygın olan bir iyonizasyon tekniğidir; iyonizasyon vakum sisteminin dışında meydana gelir. Örneğin çözelti halinde olması gerekir.

2.8.2.1.1. Elektrosprey iyonizasyon

Elektrosprey İyonizasyon (ESI) en yumuşak iyonizasyon tekniğidir. Polar ve uçucu olmayan bileşikler için ideal bir iyonizasyon yöntemidir; bunlar arasında, proteinler, peptitler, nükleik asitler, farmasötikler ve doğal ürünler sayılabilir.

Elektrosprey arayüz atmosfer basıncında çalışır; bu özelliği nedeniyle vakum altında (1-10 torr) çalışan termosprey tekniğinden ayrılır. Numune çözeltisi, iyon orifisinden 1 cm kadar mesafedeki paslanmaz çelik bir kapilerin ucundan (jet) püskürtülür. Orifis levhası ve jet arasında uygulanan 3-5 kV potansiyel damlacıkların iyonlaşmasını sağlar. Elektrospreyin iyonlaşma verimi iyonizasyon potansiyeline bağlı olarak değişir. Potansiyel farkının artırılması başlangıçta damlacık boyutunu yükseltir, fakat iyon

oluşması gerçekleşemez. Voltajın daha fazla yükseltilmesi halinde sisle kaplanan tanecikler yüklenir ve iyonlaşırlar (Rosenberg, 2003).

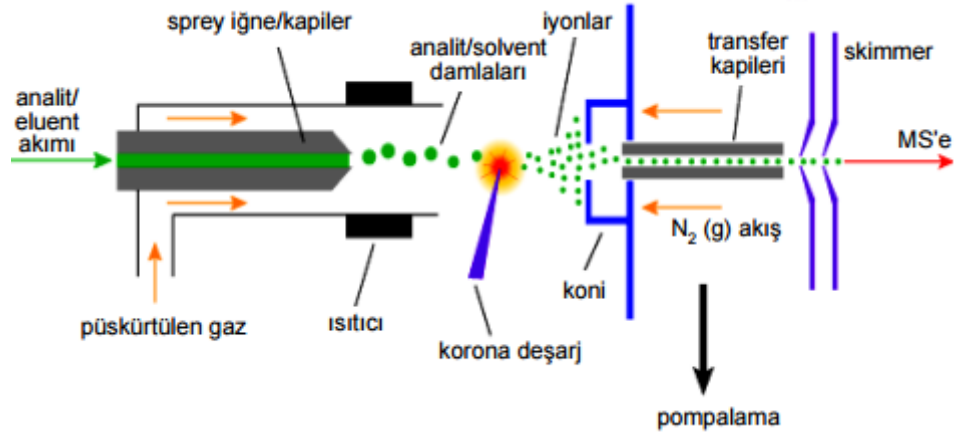


Şekil 2.8.2.1.1. Elektrosprey iyonizasyon şematik gösterimi (Ferrer ve ark. 2009)

Sıvı kromatografi ile birleşik olarak kullanılabilir. Yükü damlacıklardan gaz faza geçen iyonlar $M+H^+$ veya $M - H^-$ iyonları üretir. Çok yükü iyonlar da üretebilmesi yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin analizine olanak verir. ESI kaynak, yüksek voltaj (4.5 kV) uygulanabilen çok ince bir iğne içerir; örnek çözeltisi bu iğne içinden kaynak odacığına püskürtülür ve damlacıklar halinde dağıtılır. Damlacıklar kapilerden çıkarken yüküdürler; solvent buharlaşırken yükü analit moleküllerini bırakırlar ve damlalar kaybolur. ESI, özellikle buharlaştırılması ve iyonlaştırılması zor olan büyük biyolojik moleküller için faydalı bir iyonizasyon tekniğidir.

2.8.2.1.2. Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon

Atmosferik Basınç Kimyasal İyonizasyon (APCI) Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (Heated nebuliser, APCI) polar bileşikler için kullanılan bir iyonizasyon tekniğidir. Yüksek performans sıvı kromatografisinden gelen akım (< 2 mL/dk akış hızı) 600 °C 'de buharlaştırılır. Solvent ve analit arasındaki çarpışmalar ve yük transfer reaksiyonlarının etkisiyle ya $M+H^+$ veya $M-H^-$ iyonlarının oluşmasına yol açan proton transferi oluşur. Bileşikler termal parçalanmaya uğrar. Çok değerlikli iyon oluşumuyla fazla karşılaşılmaz (Aleksandrov ve ark. 1984, Rosenberg 2003).



Şekil 2.8.2.1.2. Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon şematik gösterimi (Ferrer ve ark. 2009)

2.9. Ölçüm Belirsizliği

Bir ölçüm sonucunda, ölçülen kritere katkısı olan değerlerin dağılımını karakterize eden parametre olarak tanımlanır. Bir seri ölçümün istatistiksel dağılımın standart sapmalarından belirlenebilir, önceki deneyim ve bilgilerin olasılık dağılımlarının değerlendirilmesinden ve önceki metot geçerlilik çalışmalarından yararlanılarak hesaplanır (Meyer 2007).

Bir sonucun ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında olası kaynaklar vardır. Bunlar; örnekleme, örnek matriks etkisi, çevre ve ölçüm koşulları, tartım ve hacimsel ekipmanların belirsizliği, cihazların belirsizliği, örnek hazırlama, ekstraksiyon, temizleme, kalibrasyon modelleri ve kullanılan yazılım programının (software) belirsizliği, metot ve işlemlerdeki yaklaşık ve tahmini değerlerle ilgili tesadüfi hatalar olarak sıralanabilir (Maestroni 2005, Ratola ve ark. 2006).

Toplam belirsizliğin hesaplanmasında, her bir kaynağın belirsizliği hesaplanır. İşte bu her bir kaynağın etkisi “belirsizlik bileşeni” dir. Bununla ilgili açıklamalar aşağıda verilmektedir (Vanatta ve ark. 2007) ; Bu kavram standart sapma ile açıklandığında “standart belirsizlik, $u(y)$ ” olarak bilinir. Bir ölçüm sonucu y için bütün bileşenlerin katılımıyla bulunan toplam belirsizlik “birleştirilmiş standart belirsizlik $u_{c(y)}$ ” olarak

bilinir ve bütün bileşenlerin belirsizliklerinden elde edilen varyansın karekökünün alınmasıyla bulunan bir standart sapmadır.

Analiz işlemlerinde pek çok amaçla “genişletilmiş belirsizlik U” kullanılır. Bu ölçülen değerin yüksek güvenlik seviyesindeki (olasılığında) aralıklarını verir. U değeri uc(y) değerinin kapsama faktörü k ile çarpılması ile elde edilir. K faktörü istenen güvenlik seviyesine göre seçilir ve genellikle 2-3 arasında olur. Normal dağılım sözkonusu ise, k=2 faktörü alınır, bu da yaklaşık % 95 oranında gösterir. Daha yüksek güven seviyesinde (% 99,7) de k=3 uygulanır.

Hata ve belirsizlik terimleri arasındaki farklılığa çok dikkat edilmelidir. Bunlar eşanlamlı değildir, tamamen farklı kavramlardır. “Hata” ölçülen büyüklüğün gerçek değeri ile ölçüm sonucu arasındaki farktır. Bu tek bir değer olup, sistematik olan, bilinen hata değerine bir düzeltme uygulanabilir. “Belirsizlik” ise limitleri olan bir değerdir (ISO/IEC Guide 2008). Bir düzeltme işlemi uygulanamaz. Bir analizin sonucu, sistematik hata düzeltilmesinden sonra gerçek değere çok yakın olarak bulunabilir. Araştırmacı sonucun gerçeğe ne kadar yakın olduğunu bilmediğinden dolayı, belirsizlik çok geniş olabilir (Hibbert 2007). Genel olarak ölçüm belirsizliğinin tayini ile ilgili iki ana yaklaşım vardır:

Bireyselden-tüme (bottom-up) yaklaşımı: Ölçüm belirsizliği ve izlenebilirlik çalışma grubu EURACHEM/CITAC tarafından önerilen bu yaklaşımda analiz işlemi tek tek basamaklara bölünür ve her bir basamağın, yani bileşenin, belirsizliği hesaplanır ve bu bileşenler kombine edilerek analitik işlem basamaklarının toplam belirsizliği (u) bulunur. Bu yaklaşımda hangi bileşenin önemli olup özel bir dikkat gerektirdiği, hangisinin ihmal edilebilir olduğu bulunabilir (Ellison ve ark. 2012).

“Tümsel (top-down)” yaklaşım: ISO 21748:2004’ de yayınlanan bu yaklaşım, daha pratik olup, iç metot geçerliliği (validasyon) çalışmalarından ya da laboratuvarlararası çalışmalardan elde edilen verilerin kullanılmasıyla (her bir hata kaynağının belirsizliğini tanımlamaya gerek olmadan) toplam ölçüm belirsizliği (u) tayini yapılabilir. Herhangi bir analitik işlemin belirsizliğini etkileyen potansiyel faktörler kılıç diyagramı ile

tanımlanabilir (Shegunova ve ark. 2008). Belirsizlik saptamasında dört ana safha vardır (Maestroni 2005); Belirsizlik tayini işlemlerinde önce, ölçümü yapılan parametrenin özellikleri yanında nasıl ve hangi modelle yapılacağı açık olarak bilinmelidir. Sonra belirsizlik kaynakları tanımlanarak listesi yapılmalıdır. Belirsizlik bileşenlerinin hesabına geçilmeli ve her bir potansiyel belirsizlik kaynağının belirsizlik genişliği saptanmalıdır. Bileşenlerin toplam birleştirilmiş belirsizliği hesaplanmalıdır. Son olarak da birleştirilmiş standart belirsizlik ve genişletilmiş birleştirilmiş standart belirsizlik hesaplanmalıdır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan analitik cihazlar

3.1.1.1. Enerji dağılımlı X-ışını floresans spektrometre*

Çalışmada SPECTRO X-LAB 2000 marka EDXRF cihazı kullanılmıştır. Cihaz Pd anotlu, EG 60 tipi X-ışını tüpüne (300 W, 50 kV (DC)) sahiptir. İkincil hedefler olarak Mo, Al₂O₃ ve HOPG (High Oriented Pyrolytic Graphite) kullanılmaktadır. Dedeksiyon, sıvı azot soğutmalı Sirius 30(DXP) tipi bir Si(Li) yarı iletken detektör (~150 eV Mn K α) ile sağlanmaktadır.

3.1.1.2. Grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometre

GF-90 Grafit Fırın -GBC SensAA - PAL3000 model döteryum zemin düzeltmeli grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometre cıva ölçümleri için kullanılmıştır.

3.1.1.3. İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometre

Ruj ve göz farı numunelerinin ICP-MS ile analizlerinde PerkinElmer marka ELAN 9000 model İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometre (PerkinElmer SCIEX) kullanılmıştır. ICP-MS cihazına; scott, siklonik (cyclonic), ryton karşı akış, düşük akış ve meinhard tipi sisleştiri sistemleri ve parçaları takılabilmektedir. Cihaza ayrıca; 2 °C ve -5 °C' de çalışabilen PC3 model (Elemental Scientific) peltier soğutmalı siklonik sisleştirci odası aparatı da takılabilmektedir.

* İlgili analitik cihazla ilgili deneysel işlemler; Tübitak Bursa Test ve Analiz Laboratuvarı'nda hizmet alımı kapsamında, uygulamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.1.4. İndüktif eşleşmiş plazma - optik emisyon spektrometre**

Ruj örneklerinin analizinde, Perkin Elmer Optima 3100 XL axial İndüktif Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektrometre (ICP-OES: USA) karşılaştırma metodu olarak kullanılmıştır.

3.1.1.5. Gaz kromatografisi – kütle spektrometresi

UV Filtrelerin analizi, Thermo Fisher Scientific Trace GC Ultra Gaz Kromatografi (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) ile gerçekleştirilmiştir. Cihaza Thermo Fisher Scientific AS2000 model oto örnekleyici ile otomatik enjeksiyon yapılmaktadır. PTV enjektör kullanılmıştır. RTX-5MS (Restek, Bellefonte, PA, USA) silika kapiler kolon kullanılarak (29,5 m uzunluk, 0,25 mm iç çap, 0,25 µm film kalınlığı) analizlenmiştir. Cihazda kullanılan fırın programı; Çizelge 3.2.14.1.'de verilmiştir.

Vakum Outlet-GC/MS analizleri için Optic3 enjektörlü (GL Sciences Inc., Torrance, CA, USA) Shimadzu GC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) kullanılmıştır. Cihaza Shimadzu AOC-5000 Plus model oto örnekleyici ile otomatik enjeksiyon yapılmaktadır. 5 m x 0,10 mm deaktive silika kapiler kolon sınırlayıcı olarak 10 m x 0,53 mm x 1,5 µm apolar DB-1 kolona bağlanmıştır. Cihazla ilgili çalışma koşulları Çizelge 3.2.14.2'de verilmiştir.

** İlgili analitik cihazla ilgili deneysel işlemler; Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde gerçekleştirilmiştir.

3.1.1.6. Sıvı kromatografisi – iyon tuzağı- uçuş zamanlı- kütle spektrometresi

HPLC Shimadzu Prominence serisi kromatografik sistem ve Prominence Series SIL-20AC oto örnekleyici ile çalışılmıştır (Shimadzu, Kyoto, Japan). Mobil faz olarak asetonitril ve su karışımı kullanılmıştır. Kinetex C18 100A, uzunluk: 30 mm, i.d. 4.6mm ve Onyx Monolithic RX-C18 100 A uzunluk: 50 mm i.d. 4,6 mm olmak üzere iki farklı kolon ile çalışılmıştır. APCI ve ESI iyonlaşma modlarında çalışılmıştır. Oto tuning kütle kalibrasyonu 50-2000 Da trifloroasetat kullanarak üreticinin kitabında önerdiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Sisleştirici gaz akış oranı 1,5 L/dk'ya ayarlanmıştır. CDL sıcaklığı 250 °C ve blok sıcaklığı 200 °C' dir.

3.1.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları

3.1.2.1. Etüv

Örnek hazırlama basamaklarında kurutma amaçlı, Nüve marka EN 500 model etüv kullanılmıştır.

3.1.2.2. pH Metre

pH ölçümlerinde cam elektroda sahip, Mettler Toledo (Mettler-Toledo AG, Schwerzenbach, Switzerland) marka pH-metre kullanılmıştır. Ölçümler öncesi cihaz; pH 4 ve 7 tamponları ile kalibre edilmiştir.

3.1.2.3. Analitik terazi

Analizler sırasında numunelerin tartılması ve çözelti hazırlama işlemleri için Gec Avery marka analitik terazi kullanılmıştır. Ölçümler 0,0000 g \pm 0,0001 hassasiyetinde gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.4. Su banyosu ve ultrasonik karıştırıcı

Çalışmalarda, Clifton marka NE1-22 model su banyosu kullanılmış olup; su banyosu sıcaklığı 37 °C'ye ayarlanmıştır.

Örnek hazırlama basamaklarında, ELMA marka LC-30H model ultrasonik karıştırıcı kullanılmıştır. Bu karıştırıcı için ultrasonik frekans 35 kHz ve güç 240 W değerindedir. Ultrasonik ekstraksiyon ve homojenizasyon işlemleri Elma Ultrasonic LC 30 H model ultrasonik banyo ile gerçekleştirilmiştir (Germany).

3.1.2.5. Mikrodalga çözünürleştirme cihazı*

Örneklerin çözünürleştirilerek homojenleştirilmesi amacı ile Milestone marka MLS 1200 mega model mikrodalga parçalama sisteminden yararlanılmıştır.

3.1.2.6. Saf su cihazı

Çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında Human firmasının Zeneer Power I model ve Scholar UV tip ultra saf su düzeneği (Human Corporation) kullanılmıştır. Su kalitesi ise 18,3 MΩ.cm' dir.

3.1.2.7. Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı

Örnek hazırlama işlemleri sırasında, Chiltern Scientific marka HS31 model manyetik karıştırıcılı ısıtıcı kullanılmıştır.

EDXRF ile örnek hazırlama basamağında; homojenizasyonu tam olarak sağlamak amacıyla, vortex karıştırıcı LWM-202 (Daihan LabTech Co. Ltd., Korea) model cihaz kullanılmıştır.

* İlgili analitik cihazla ilgili deneysel işlemler; Tübitak Bursa Test ve Analiz Laboratuvarı'nda hizmet alımı kapsamında, uygulamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.3. Çalışmada kullanılan kimyasallar, sertifikalı referans malzemeler ve numuneler

3.1.3.1. Kimyasallar

Sigma Aldrich Oksibenzon (2-Hidroksi-4-metoksibenzofenon)

Sigma Aldrich Oktanoksat (Etil Hekzil metoksi sinnemat)

Sigma Aldrich Tiyomersal

1000 µg/mL Pb (II) stok çözeltisi

1000 µg/mL İndiyum (In) (II) stok çözeltisi, % 2 (v/v) HNO₃ içinde, sertifika derişimi:

999 ± 5 µg/mL ve sertifika yoğunluğu 1,010 g/mL (20 ± 1°C'de) (Inorganic Ventures)

HPLC-grade methanol

Saf su (Sigma Aldrich (Vienna, Austria)).

Sodyum klorür, Merck (Darmstadt, Germany)

Nitrik asit, suprapur, Merck 100441, (HNO₃, % 65, 1L=1,39 kg) (Merck)

Hidrojen peroksit çözeltisi, Sigma-Aldrich 18304, % 34,5-36,5 (Sigma-Aldrich)

Hidroklorik asit, Merck 100317 (dumanlı, %37, d=1,19 g/cm³ (20 °C), EMSURE®

ACS,ISO,Reag. Ph Eur) (Merck)

NaOH Merck 1.106482

MgCl₂.6H₂O Merck 1.05833

CaCl₂.6H₂O AnalaR 22317.297

K₂HPO₄ Merck 1.05101

K₂CO₃ AnalaR 26726.297

NaCl Merck 1.06404

KCl AnalaR 26764.298

Aktif karbon (toz formu) Sigma C-5385

3.1.3.2. Sertifikalı referans malzemeler

NCS ZC73014 çay (National Analysis Center for Iron and Steel)

Conostan S-21 Organometalik multi-element standardı (içerdiği elementler: Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V, Zn) (100 µg/g) LGC Standards (London, UK).

Conostan 75 Cst Blank Oil standardı, LGC Standards (London, UK).

3.1.3.3. Numuneler

Kozmetik ürünlerden; ruj, göz farı ve güneş koruyucular kullanılmıştır. Ticari olarak piyasada satılan ve yurtdışından ithal edilen beş farklı güneş koruyucu ve beş farklı renk göz farı satın alınmıştır. Rujlarda fraksiyonlama çalışması için ise Türkiye’de üretilen aynı marka rujdan 5 adet satın alınmıştır. Çalışılan havuz suyu örnekleri ise Viyana’da bir yüzme havuzundan toplanmıştır. İçerisinde tiyomersal bulunan aşı örneği eczaneden satın alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Krem ve göz farı örneklerinin EDXRF analizine hazırlanması

EDXRF cihazının kalibrasyonunda; Organometalik Conostan S21 (100 µg/g) istenilen oranda (1-50 mg/kg) Conostan Blank Oil standardı ile seyreltilerek kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Krem örnekleri ve seyreltilen standartlar, vortex cihazı ile iyice karıştırılıp, homojenizasyonu sağlanmış ve ölçüm için 4 µm kalınlığında polipropilen film kaplı ölçüm kaplarına aktarılmıştır. Göz farları örnekleri pres tablet haline getirilerek analize hazırlanmıştır.

3.2.2. Göz farı örneklerinin açık sistem yaş yakma ile hazırlanması

Yaklaşık 0,5 gram tartılan örnekler 5 mL nitrik asit ve 2 mL hidrojen peroksit ile 50 mL hacimli, ağzı saat camı ile kapatılmış cam beherlerde ve ısıtıcı üzerinde parçalama işlemine tabi tutulmuştur. Parçalan örnekler soğutulup 10 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek homojenizasyonu sağlandıktan sonra polipropilen santrifüj tüpünde 50 mL’ye saf su ile tamamlanmıştır. PVDF filtreden süzülen örnekler seyreltilerek ICP-MS

ile analiz edilmiştir. Örneklere uygulanan işlemler aynı şekilde SRM'lere de uygulanmıştır.

3.2.3. Ruj ve göz farı örneklerinin ICP-MS analizi için çalışma koşulları

Ruj ve göz farı örnekleri için ICP-MS çalışma koşulları Çizelge 3.2.3.1.' de özetlenmiştir.

Çizelge 3.2.3.1. Ruj ve göz farı örneklerinin analizi için ICP-MS koşulları

Parametreler	
RF gücü	1000 W
Argon plazma akış hızı	17,0 L /dk
Sisleştirici gaz akış hızı	0,85 L /dk
Sisleştirici	Ryton cross flow
Sprey çemberi	Scott
Örnekleyici ve Skimmer konu	Nikel
Tekrar sayısı	3
Dwell zamanı, ms	50
Dedektör modu	Dual
Ölçülen İzotoplar	²⁰⁸ Pb

3.2.4. Ruj örneklerinin analizi için ICP-OES çalışma koşulları

Ruj örneklerinde kurşun elementi için fraksiyonlama çalışmasında karşılaştırma metodu olarak ICP-OES kullanılmıştır. ICP-OES cihazının çalışma koşulları Çizelge 3.2.4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 3.2.4.1. Ruj örneklerinin analizi için ICP-OES çalışma koşulları

Polikromatör	Echelle based polikromatör UV Bölgesi (167-403 nm)
Torç	Axial
RF jeneratörü	40 MHz, 750-1000 watts
Sisleştirici	Cross-flow
Plazma gaz akış hızı	15 L/dk
Örnek gaz akış hızı	1,5 mL/dk
Nebulizer gaz akış hızı	0,5L/dk

3.2.5. ICP-MS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

1000 mg/kg stok kurşun ve indiyum içeren stok çözeltiler kullanılarak uygun seyreltmeler ile kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Stok çözeltiden 1 mg/kg ara stok çözeltisi ve bu ara stoktan uygun seyreltmeler ile 0,5–20 µg/kg aralığında kalibrasyon için kurşun çözeltileri hazırlanmıştır. İndiyum ise tüm çözeltilere 10 µg/kg olacak şekilde iç standart olarak eklenmiştir.

3.2.6. Açık sistem yaş yakma işleminin optimizasyonu

Katı numunelerin analiz basamağında sıvı olarak kullanılması gerektiğinden açık sistem yaş yakma tekniği ilgil örnekler uygulanmıştır. Sonuçların analitik performansını etkileyen en önemli basamak örnek hazırlama basamağıdır. Örnek hazırlama basamağının tespitinde uygulanacak işlem basamaklarının optimizasyonu önemlidir. Optimum koşulların sağlanabilmesi için oluşturulan deneysel tasarımlar, deneysel çalışmanın planlı bir şekilde, kısa bir zamanda ve yeterli sayıda yapılmasını sağlamaktadır. Bu amaçla kullanılacak açık sistem yaş yakma örnek hazırlama prosedüründe uygun örnek kütlesi ve değişik asit miktarlarının optimizasyonunda kemometrik metot olarak merkezi kompozit dizayn'dan yararlanılmıştır. Kozmetik ürünlerle ilgili olarak en önemli sorunlardan biri de ilgilenilen örneklerle (ruj, far, krem vb.) sertifikalı standart referans malzeme bulunmadığından bilinen miktarda ilgilenilen elementten ilave edilerek çalışılmıştır. 10 mg/L lik Conastan S21 standardından kozmetik örneklerine 1000 µg/L ilave edilmiştir. En uygun çözünürleştirme işlemi belirlendikten sonra sıvı haldeki örnekler soğutulup hacimleri saf su ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Örnekler, ölçüm öncesi; mavi bant süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Kullanılan asit miktar aralıkları ve örnek kütlesi Çizelge 3.2.6.1.'de sunulmuştur. Her bir deneyde farklı asit miktarları ve örnek kütlesi kullanılarak, değışen değerlerin geri kazanım üzerine etkisi araştırılmıştır. Standart ilave edilen örneklerin yaş yakma işlemi için; $2.3+2^3+1=15$ deney ve 5 adet merkez tekrarı olmak üzere toplam 20 yaş yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Merkezi kompozit dizayna ilişkin X matrisi Çizelge 3.2.6.2'de verilmiştir. Matrisde y değeri olarak; Pb elementine ait geri kazanım yüzdesi

(%R) kullanılmıştır. Merkezi kompozit dizayn, Design Expert 9.0.1 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Pb için kuadratik polinomial $y = 48,4 - 8,79X_1 - 5,24X_3 + 4,58X_2X_3 + 4,19X_1^2 - 3,95X_3^2$ denklem

Çizelge 3.2.6.1. Standart eklenmiş örnek parametrelerinin gerçek ve kodlanmış değerleri

Kodlanmış değerler	-1,682	-1	0	+1	+1,682
HNO ₃ hacmi (mL)	1,98	3	4,5	6	7,0
H ₂ O ₂ hacmi (mL)	0,66	1	1,5	2	2,34
Örnek Miktarı (g)	0,13	0,3	0,55	0,8	0,97

Çizelge 3.2.6.2. Kullanılan merkezi kompozit dizayn matrisi

x₁	x₂	x₃
-1	-1	-1
1	-1	-1
-1	1	-1
1	1	-1
-1	-1	1
1	-1	1
-1	1	1
1	1	1
-1,68179	0	0
1,681793	0	0
0	-1,68179	0
0	1,681793	0
0	0	-1,68179
0	0	1,681793
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	0	0

Çizelge 3.2.6.3. Kurşun tayini için parametrelerin optimizasyonunda ikinci dereceden polinomial model için varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama kare	F Değeri	p-değeri Prob > F	
Model	2256,94	9	250,77	10,12	0,001*	önemli
A- HNO₃ hacmi	1055,76	1	1055,76	42,60	0,000*	
B- H₂O₂ hacmi	11,30	1	11,30	0,46	0,515	
C-Örnek miktarı	374,47	1	374,47	15,11	0,003*	
AB	112,50	1	112,50	4,54	0,059	
AC	2,88	1	2,88	0,12	0,740	
BC	167,45	1	167,45	6,76	0,027*	
A²	252,59	1	252,59	10,19	0,010*	
B²	2,85	1	2,85	0,12	0,741	
C²	224,30	1	224,30	9,05	0,013*	
Kalan	247,85	10	24,78			
Uygunluk noksanlığı	96,48	5	19,30	0,64	0,683	Önemsiz
Hata	151,37	5	30,27			
Toplam	2504,79	19				

*Verim(y) üzerine etkisi önemli olan parametreler ($p \leq 0,05$) gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.6.4. Kurşun elementine ait geri kazanım değerleri

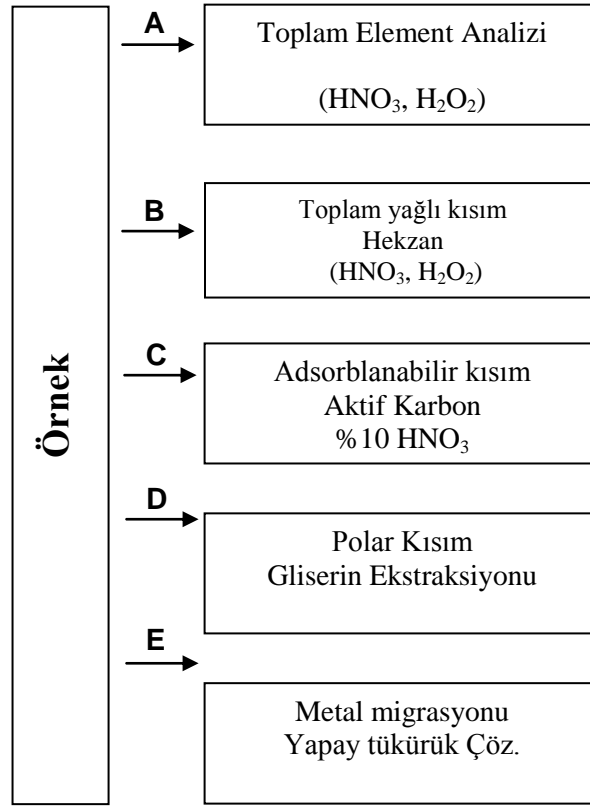
Deney No	HNO ₃ hacmi (mL)	H ₂ O ₂ hacmi (mL)	Örnek miktarı (g)	Deneysel y(%R)	Tahmin Edilen y(%R)
1	3	1	0,3	60,2	61,5
2	6	1	0,3	57,3	52,6
3	3	2	0,3	62,5	61,7
4	6	2	0,3	39,8	37,8
5	3	1	0,8	42,7	43,1
6	6	1	0,8	32,6	31,8
7	3	2	0,8	58,5	61,5
8	6	2	0,8	38,2	35,3
9	1,98	1,5	0,55	78,2	75
10	7,02	1,5	0,55	40,1	45,4
11	4,5	0,66	0,55	44,2	45,6
12	4,5	2,34	0,55	47,9	48,6
13	4,5	1,5	0,13	43,2	46

Çizelge 3.2.6.4. Kurşun elementine ait geri kazanım değerleri (devam)

Deney No	HNO ₃ hacmi (mL)	H ₂ O ₂ hacmi (mL)	Örnek miktarı (g)	DeneySEL y(%R)	Tahmin Edilen y(%R)
14	4,5	1,5	0,97	29,1	28,4
15	4,5	1,5	0,55	44,6	48,4
16	4,5	1,5	0,55	49,8	48,4
17	4,5	1,5	0,55	52,7	48,4
18	4,5	1,5	0,55	48,3	48,4
19	4,5	1,5	0,55	40,1	48,4
20	4,5	1,5	0,55	55,3	48,4

3.2.7. Fraksiyonlama çalışmaları için örneklerin hazırlanması

Ruj örneklerinden yaklaşık 0,1000 gram tartılarak Şekil 3.2.7.1’ de özetlenen farklı çözümler ile ekstraksiyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Tüm örnekler en az üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.



Şekil 3.2.7.1. Ruj örnekleri için element fraksiyonlama şeması

3.2.7.1. Açık sistem yaş yakma ile toplam metal tayinleri

0,1'er gram tartılan örnekler 5 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ ile 50 mL hacimli, ağzı saat camı ile kapatılmış cam beherlerde ve ısıtıcı üzerinde parçalama işlemine tabi tutulmuştur. Parçalan örnekler soğutulup 10 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek homojenizasyonu sağlandıktan sonra polipropilen santrifüj tüpünde 50 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. PVDF filtreden süzülen örnekler seyreltilerek ICP-MS ile analiz edilmiştir. Örneklere uygulanan işlemler aynı şekilde standart referens malzemelere de uygulanmıştır.

3.2.7.2. Ruj örneklerinin hekzan ekstraksiyonu

Yaklaşık 0,1 gram ruj örneğine 20 mL hekzan eklenip ultrasonik banyoda 2 saat çalkalanmıştır. Hekzan fazı katı parçaları uzaklaştırmak için mavi bant süzgeç kağıdıyla süzildikten sonra kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Kalıntıya açık sistem yaş yakma işlemi uygulanmıştır.

3.2.7.3. Ruj örneklerinde aktif karbon ile adsorpsiyon çalışmaları

Kowalewska ve ark. (2005) tarafından önerilen metot, matriksler için gerekli değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Yaklaşık 0,1 g ruj örneğine 50 mL ultra saf su, 2,5 mL metil izobutil keton ve 0,5 g toz aktif karbon eklenmiştir. Örneklere, ultrasonik banyoda bir saat süre ile karıştırılmıştır. Mavi bant süzgeç kağıdından süzölmüş ve 60 °C'de kurutularak 10 mL yaklaşık 1 N nitrik asit çözeltisi ile metal fraksiyonları geri alınmıştır. Elde edilen örneklere on kat seyreltme işlemi uygulandıktan sonra ICP-MS ile analiz edilmiştir.

3.2.7.4. Ruj örneklerinin gliserin ile ekstraksiyonu

Yaklaşık 0,1 gram ruj örneğine 10 mL gliserin eklenip oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 1 saat çalkalanmıştır. Daha sonra örnekler, mavi bant süzgeç kâğıdıyla süzülerek saf suyla 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.2.7.5. Ruj örneklerinde kurşun metalinin yapay tükürük çözeltisine migrasyonu

Ruj örneği; 12,96 cm² boyutlarında mikroskop lamalarına sürülüp, DIN standardına (DIN 53160-1 2010-10) göre hazırlanan yapay tükürük çözeltisini içeren polipropilen tüplerde 1 saat ve 37 °C sıcaklıkta ultrasonik banyoda çalkalanmıştır. Daha sonra çözelti süzülüp, saf su ile 25mL'ye tamamlanmıştır.

3.2.7.6. Ruj örneklerinde kurşun metalinin gıda benzerlerine migrasyonu

Migrasyon çalışmaları doğrultusunda ruj örneği; 12,96 cm² boyutlarında mikroskop lamalarına sürülüp, %3'lük asetik asit, %10'luk etil alkol ve çeşme suyu gibi gıdayı temsil eden farklı çözücülerin 30 mL'sini içeren polipropilen tüplerde 1 saat ve 37 °C sıcaklıkta ultrasonik banyoda çalkalanarak, ilgili şartlarda gerçekleşen metal migrasyon miktarları belirlenmiştir.

3.2.7.7. SRM analizi ve yüzde geri kazanım çalışmaları

Optimum örnek hazırlama koşullarında örnek ve standart referans malzemeler (kozmetik referans malzemesi olmadığından çay standart referans malzemesi kullanılmıştır) analiz için hazırlanmıştır. Ayrıca yüzde geri kazanım çalışmaları için standart ilaveli örneklerle de analiz yapılmıştır.

3.2.8. Krem Örnekleri için GFAAS ve ICP-MS çalışma koşulları

Çalışmada kullanılan GFAAS için karşılaştırma metodu olarak ICP-MS cihazlarının çalışma koşulları Çizelge 3.2.8.1.' de verilmiştir.

Çizelge 3.2.8.1. Krem örneklerinde GFAAS ve ICP-MS ile cıva tayininde çalışma koşulları

<i>GFAAS</i>	
Element	Hg
Dalgaboyu (nm)	253,7
Lamba akımı (mA)	5
Spectral bant genişliği (nm)	0,5
<i>ICP-MS</i>	
RF gücü	1500 W
Argon plazma akış oranı	15,0 L/dk
Nebulizer gaz akış oranı	0,9 L/dk
Tekrar sayısı	3
Ölçülen İzotop	²⁰² Hg
Lens 1	2 V
Lens 2	-115,5 V

3.2.9. GFAAS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

1000 mg/kg stok cıva çözeltisi kullanılarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Stok çözeltilerden 1 mg/kg ara stok çözeltisi hazırlanmış ve bu ara stok çözeltileri de kullanılarak 5-20 µg/kg aralığında kurşun çözeltileri hazırlanmıştır.

3.2.10. Krem örneklerin mikrodalga esaslı çözünürleştirme yöntemi ile GFAAS analizine hazırlanması

Homojenize edilmiş örneklerden 0,5'er g alınarak; PTFE kaplara üzerine 5 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ ilave edilerek mikrodalga sistemli yaş yakma düzeneğinde numuneler çözünürleştirilmiştir. Mikrodalga esaslı çözünürleştirme sisteminin koşulları Çizelge 3.2.10.1.'de özetlenmiştir. Çözünürleştirilmiş örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra polipropilen santrifüj tüplerine alınarak son hacim 25 mL'ye seyreltilmişlerdir. Sertifikalı referans malzemeler, standart katmalı örnekler veya çözgen kör örnekleri de aynı şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2.10.1. Mikrodalga programı

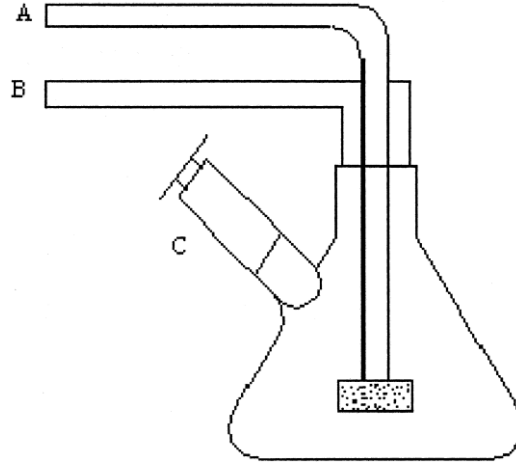
Basamak No	Süre (dk)	Güç (W)
1	2	250
2	2	0
3	6	250
4	5	400
5	5	600

3.2.11. Açık sistem yaş yakma ile toplam metal analizleri

0,5'er gram tartılan krem örnekleri 5 mL nitrik asit ve 2 mL hidrojen peroksit ile 50 mL hacimli, ağzı saat camı ile kapatılmış cam beherlerde ve ısıtıcı üzerinde parçalama işlemine tabi tutulmuştur. Parçalanan örnekler soğutulup 10 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek homojenizasyonu sağlandıktan sonra polipropilen santrifüj tüpünde 50 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. PVDF filtreden süzülen örnekler seyreltilerek GFAAS ile analiz edilmiştir.

3.2.12. GFAAS için krem örnekleri için oluşturulan tuzaklama metodu

Kremlerde cıva tayini için grafit küvet %0,1'lik altın çözeltisi ile piroliz basamağına kadar tekrarlı işlem ile yüzey kaplandıktan sonra Şekil 3.2.12.1' deki düzenek ile GFAAS ye bağlanmıştır. Düzeneğe şırıngayla 1mL örnek ve indirgenme çözeltisi olarak %5'lik SnCl₂ eklenerek GFAAS de analiz gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2.12.1.'de grafit fırın için oluşturulan sıcaklık programı verilmiştir.



Şekil 3.2.12.1. Cıva ölçümü için kullanılan düzenek,
A: Gaz girişi B: Gaz Çıkışı C: İndirgenme Çözültisi

Çizelge 3.2.12.1. Grafit fırın için sıcaklık programı

Sıcaklık (⁰ C)	Zaman (s)	Artış (⁰ C/s)	Gaz (Argon)	tipi	Gaz Akışı (ml/min)
100	30	10	3		50
200	20	50	3		50
750	3	0	3		-
1100	2	0	3		50

3.2.13. GFAAS ve ICP-MS’de metot validasyon parametrelerinin belirlenmesi

Belirleme ve nicel tayin limitleri, çözgen körü (blank) değerine yakın ve çözgen körü sinyalinden belirli güven seviyesinde ($k=3$, % 99,86 güven aralığı) farklılaştırılabilen en küçük derişime dayalı olarak belirlenmiştir (Corley 2003). İlgili derişim biriminin standart sapmasının üç ve on katı alınarak ayrıca örnek kütlesi ve seyreltme faktörü de kullanılarak metot belirleme ve nicel tayin limitleri hesaplanmıştır. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik değerleri ilgili standardın tekrarlanabilir ve tekrar elde edilebilir sinyalinin standart sapmasına göre belirlenirken; metodun doğruluğu da sertifikalı referans malzemeler ile incelenmiştir.

3.2.14. GC-MS ve vakum outlet-GC/MS için çalışma koşulları

UV Filtrelerin analizinde kullanılan GC/MS ve Vakum Outlet GC-MS için çalışma koşulları çizelge 3.2.14.1 ve 3.2.14.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2.14.1. UV Filtrelerin analizi için GC-MS Çalışma Koşulları

GC	
Taşıyıcı gaz	He
Enjeksiyon Hacmi	1 µl
Enjeksiyon modu	Splitless
İnlet Sıcaklığı	260°C
Fırın Programı	30°C (1dk) → 110°C (25°C/dk) → 300°C (60°C/dk, 5dk)
Kolon	RTX-5MS (29,5 m x 0,25mm x 0,25 µm)
Akış modu	Sabit akış
Akış hızı	1 mL/dk
MS	
İyon kaynağı Sıcaklığı	200°C
Scan Modu	Full Scan / SIM
Kütle aralığı	50 – 650 amu
İyonlaşma Modu	Pozitif İyonlaşma

Çizelge 3.2.14.2. UV Filtrelerin analizi için Vakum Outlet-GC-MS Çalışma Koşulları

GC	
Taşıyıcı gaz	He
Enjeksiyon Hacmi	1 µl
Enjeksiyon modu	50:1
İnlet Sıcaklığı	250 °C
Fırın Programı	250 °C (2 dk)
Kolon	DB-1 (10m x 0,53mm x 1,5 µm)
AkışModu	Sabit akış
İnlet Basıncı	500 kPa
Lineer Hız	98,3 cm/dk
Akış oranı	1,04 mL/dk
MS	
İyon Kaynağı Sıcaklığı	200 °C
Tarama Modu	SIM
İyonlaşma Modu	Pozitif İyonlaşma

3.2.15. GC-MS ve vakum outlet-GC/MS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

Oksibenzon ve Oktinoksat UV Filtreleri için 1 mg/kg ara stok çözeltisi hazırlanmış ve bu ara stok çözeltileri de seyreltilerek GC-MS için 5-50 µg/kg ve Vakum Outlet GC/MS için ise 0,5-25 µg/kg aralığında kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır.

3.2.16. UV Filtre analizi için katı faz mikro ekstraksiyonu optimizasyonu

UV Filtre analizi için SPME optimizasyon parametreleri olarak; fiber kaplama, ekstraksiyon zamanı, ekstraksiyon modu, örnek hacmi ve karıştırma hızı araştırılmıştır.

3.2.16.1. SPME için fiber kaplama optimizasyonu

Ticari olarak piyasada mevcut olan SPME fiberden (100 µm film kalınlığında PDMS, ve 85 µm film kalınlığında PA) ikisi seçilerek sonuçları karşılaştırılmıştır.

3.2.16.2. SPME için ekstraksiyon işleminin optimizasyonu

SPME ile örnekleme işlemleri doğrudan ve headspace ekstraksiyonu olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmiştir. Doğrudan ekstre etme (doğrudan daldırma, DI) modunda, kaplanmış fiber, numune içine yerleştirilmesi ve analitlerin fiber ile etkileşmesi işlemine dayanmaktadır. Headspace (HS) modunda, analitlerin numune ile dengelenmiş gaz fazı elde edilir. Ekstraksiyon işleminin genel olarak ekzotermik karakterli olduğu kabullenildiğinden ekstraksiyon sıcaklığının etkisinin doğrudan SPME yapıldığında etkili olamayacağını düşündürmüştür. Bu nedenle, DI modu için oda sıcaklığında çalışılmıştır. HS modu ile çalışma yapıldığında, üç farklı ekstraksiyon sıcaklığı (oda sıcaklığı, 40 °C ve 60 °C) ile çalışma planlanmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığında artış fiber numunesinin kütle aktarım kinetiğinin hızlanması yanında ekstraksiyon hızında da artışa neden olmaktadır. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen DI-SPME modu, ilgilenilen bileşik için daha büyük ekstraksiyon verimi sağlamıştır. Çalışmada örnekler için belirtilen SPME seçilerek işlemler gerçekleştirilmiştir.

3.2.16.3. SPME için örnek hacmi optimizasyonu

Örnek içinde, tepe boşluğunda ve fiber üzerinde bulunan uçucu bileşenlerin derişimleri arasında bir denge kurulur. Çalışma ortamında denge kurulduktan sonra analiz gerçekleştirilir veya dengeyi sağlamak için zaman öncelikleri belirlenir.

Dengeye ulaşıldığında, örnek içinde başlangıçta bulunan uçucu bileşen miktarı, aşağıda verilen eşitliğe göre üç fazda dağılım gösterir:

$$n = \frac{K_{fs}V_fV_sC_0}{V_s + K_{fs}V_f} \quad (1)$$

K_{fs} : Örnek matriksi ile fiber arasındaki dağılım katsayısı

n : fibere kaplanan analitin kütlesi

C_o : örnekteki analitin başlangıç derişimi

V_f : fiberin hacmi

V_s : örnek hacmi

K_{fs} , sıcaklık, pH, organik çözücü gibi faktörlerden etkilenir. Diğer ayırma teknikleri ile karşılaştırma yapıldığında eğer K_{fs} büyük ise sorbent faz içindeki hedef analitin derişimi de daha büyüktür ve analitik işlemin hassasiyetinin yüksek olduğunun işaretidir.

$$n = K_{fs} \cdot V_f \cdot C_o \quad (2)$$

Denklemini incelediğimizde numune hacmi eğer çok büyükse ($K_{fs}V_f \ll V_s$), ayrılan analit miktarı numune hacminden bağımsızdır. Eğer ayrılan analit hacmi numune hacminden bağımsızsa, derişim ayrımı direkt olarak matris derişimine tekabül etmektedir.

Literatürdeki verilere göre, artan örnek hacimleri ile SPME yönteminin kesinliğinin azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Moder 1999). Bu nedenle üç farklı örnek hacmi (2 mL, 5mL ve 10mL) ile araştırma gerçekleştirilmiştir.

3.2.16.4. SPME için ekstraksiyon zamanı optimizasyonu

SPME de iyi bir kesinlik sağlamak için ekstraksiyon süresi ve kütle transferi koşulları kesinlikle kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla üç farklı ekstraksiyon zamanında (30dk, 45dk ve 60dk) SPME enjeksiyonu yapılmıştır.

3.2.16.5. SPME için pH ve tuz ilavesi optimizasyonu

pH ayarlaması zayıf bazik veya asidik analitler için SPME yönteminin duyarlılığını arttırmaktadır. Bu kapsamda iki UV Filtrenin pH optimizasyonu için kendi orijinal pH'ı olan 6,5'da ve pH 3'de çalışılmıştır.

Sulu çözeltilere tuz eklenmesi iyonik şiddeti arttırmaktadır. Ancak yüksek tuz derişimleri SPME fiberlerin bozulmasına ve kullanım ömrünün azalmasına yol açtığı için bu çalışmada analit ekstraksiyonunda tuz etkisinin araştırılmasında 0-30 g/L tuz oranları ile çalışılmıştır.

3.2.16.6. SPME için karıştırma hızı optimizasyonu

Örnekteki analitin difüzyonunu arttırmak ve daha hızlı bir denge sağlamak için, numunenin karıştırma işlemi ekstraksiyon işlemi sırasında ve öncesinde gerçekleştirilir. Üç farklı karıştırma hızı (600 rpm, 800 rpm ve 1000 rpm) kullanılmıştır.

3.2.17. Taşınma (Carry over) etkisi

Her iki UV Filtrede yüzme havuzundan alınansu örneklerinde 2-4 dakika boyunca izotermal elüsyon kullanılarak Vakum Outlet-GC/MS ile analiz edilmiştir. İkinci dakikadan sonra kromatogramlarda görünen herhangi bir kontaminasyon olmadığından toplam çalışma süresi azaltılmıştır.

3.2.18. Vakum outlet-GC/MS için ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

Belirsizlik hesaplaması için çeşitli teorik veya deney odaklı yaklaşımlar mevcuttur, ancak iki yaygın olarak kullanılan yaklaşım vardır: Aşağıdan yukarıya yaklaşım ve yukarıdan aşağıya yaklaşım. Çalışmamızda EUROCHEM Guide'a göre (bottom up) aşağıdan yukarıya yaklaşım kullanılarak ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır (Çizelge 3.2.18.1.).

Çizelge 3.2.18.1. Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşımına göre birleştirilmiş belirsizlik (U_c) dört ana katkısının tanımlanması ve açıklaması

Belirsizliğe Katkılar		Terminoloji
Standart Hazırlama	$U_1 = u_{st}$ $U_{st} = \sum[(\Delta m_i/m_i)^2]^{1/2}$	Δm_i : reaktif ağırlığı ve çözelti gibi verilen parametrelerin ölçümlerle ilişkili hata; m_i : Bu eylemlerin her birinde ölçülen değer
Kalibrasyon eğrisi	$U_2 = s_{x_0}/x_0$ $s_{x_0} = (S_{y/x}/b)\{(1/m) + (1/n) + [(y_0 - y_{av})^2/b^2(X_i - X_{av})^2]\}^{1/2}$ $S_{y/x} = (y_i - y_{icalc})^2/(n-2)^{1/2}$	s_{x_0} : kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişimin standart sapması; x_0 : kalibrasyon eğrisinden hesaplanan derişim; b : kalibrasyon eğrisinin eğimi; m : her x değeri için tekrar sayısı; n : kalibrasyon eğrisini oluşturan standart sayısı; y_0 : kalibrasyon eğrisi yoluyla x_0 derişiminden hesaplanan y deneysel değeri; y_{av} : y_i değerlerinin ortalaması; x_i : kalibrasyonda kullanılan standartların (x) derişimi; x_{av} : x_i değerlerinin ortalaması
Kesinlik	$U_3 = u_p/x_0$ $u_p = s/n^{1/2}$	s : kesinlik denemelerinin standart sapması; n : deneme sayısı
Doğruluk	$U_4 = u_e$ $u_e = s(\eta)/n^{1/2}$	$s(\eta)$: ortalama yüzde gerikazanımın bağıl standart sapması; n : deneme sayısı
Belirsizlik	$U = (U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2)^{1/2}$	

3.2.19. LC-IT-TOF-MS için kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

Tiyomersal için 1 mg/kg ara stok çözeltisi kullanılarak uygun seyrelme işlemleri ile LC-IT-TOF-MS analizlerinde kullanılmak üzere 5-50 µg/kg çalışma aralığında kalibrasyon çözeltileri de hazırlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kozmetik Kremlerde ve Göz Farlarında Kalitatif EDXRF Sonuçları

EDXRF tekniği kullanılarak kalitatif olarak dört farklı güneş koruyucu krem, krem yapımında kullanılan hammadde ve beş farklı renkteki göz farı için metal taraması yapılmıştır. İncelenen metaller için gözlenebilme sınır değerleri ve sonuçlar Çizelge 4.1.1 ve 4.1.2. ve 4.1.3’de sırasıyla verilmiştir.

Çizelge 4.1.1. EDXRF de metaller için gözlenebilme sınır değerleri

Element	LOD (mg/kg)	Element	LOD (mg/kg)
P	5	As	1
S	3	Br	1
Cl	3	Sr	1
K	20	Zr	1
Ca	15	Mo	3
Ti	5	Ag	1
V	5	Cd	1
Cr	5	In	1
Mn	5	Sn	1
Fe	5	In	3
Co	3	Ba	5
Ni	1	Hg	2
Cu	1	Tl	2
Zn	1	Pb	2
Ga	1	Bi	2

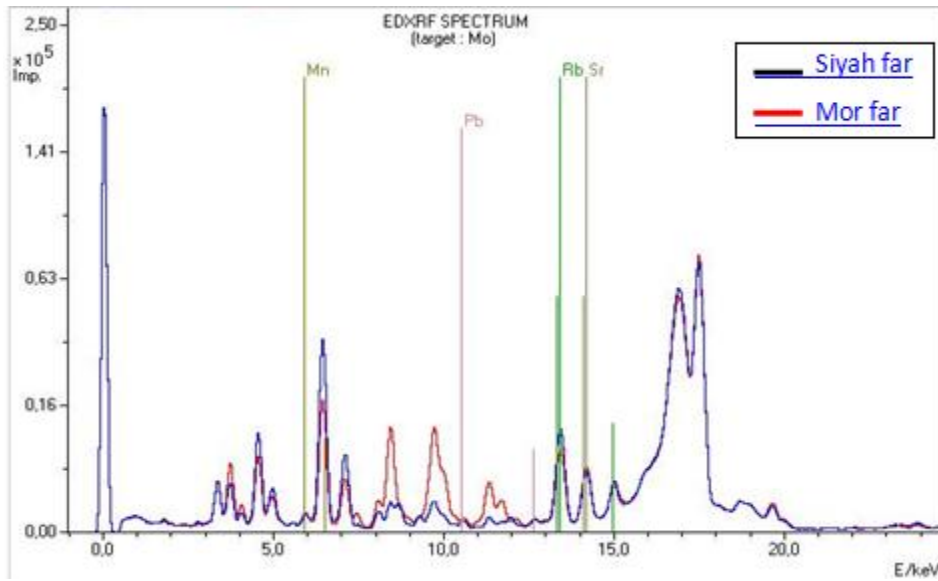
Çizelge 4.1.2. EDXRF ile güneş koruyucu kremlerinde tespit edilen elementler

Krem 1	Krem 2	Krem 3	Krem 4
S	P	P	S
Ca	S	S	Ca
Ti	K	Fe	Fe
V	Fe	Ni	Ni
Fe	Cu	Cu	Cu
Ni	Zr	Zr	
Cu		Sn	
Br			
Zr			

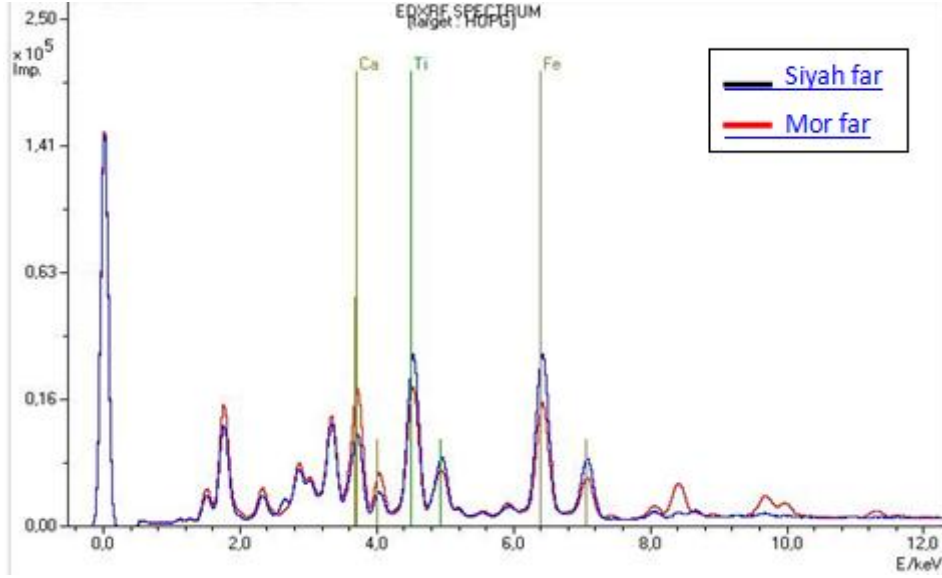
Çizelge 4.1.3. Çalışılan göz farlarında EDXRF ile tespit edilen elementler

Göz Farı	Göz Farı	Göz Farı	Göz Farı	Göz Farı
1	2	3	4	5
Al	Al	Al	Al	Al
Si	Si	Si	Si	Si
K	K	K	K	K
Ti	Ca	Ca	Ca	Ca
Fe	Ti	Ti	Ti	Ti
Cu	Fe	Fe	Fe	Fe
Zn	Cu	Cu	Cu	Cu
Ga	Zn	Zn	Zn	Zn
Rb	Ga	Ga	Ga	Ga
Sr	Sr	Sr	Sr	Sr
Zr	Zr	Zr	Zr	Zr
Nb	Nb	Nb	Nb	Nb
Sn	Sn	Sn	Mo	Mo
Ba	Ba	Ba	Sn	Sn
Pb	Pb	Pb	Ba	Ba
			Pb	Pb

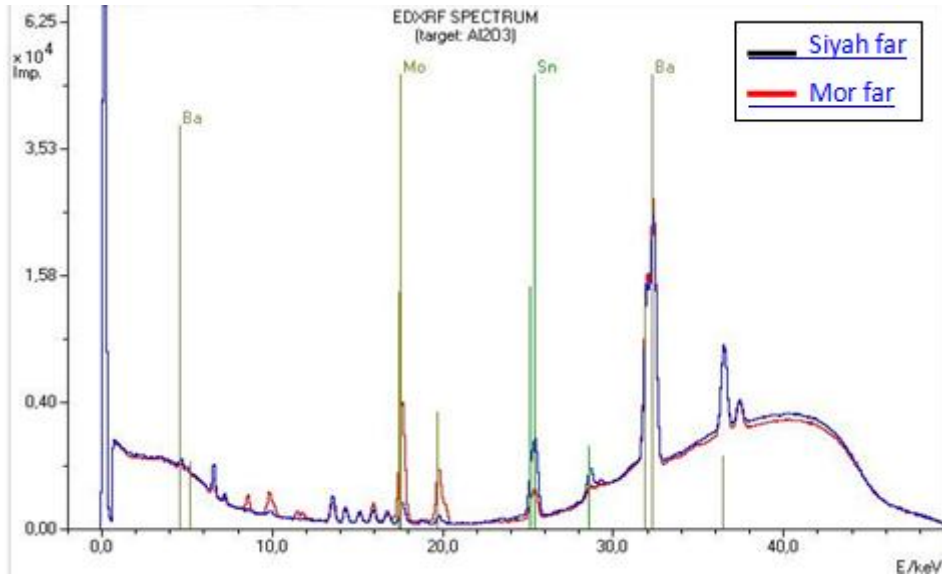
Çalışılan beş farklı renkteki göz farından siyah ve mor olanlarının hedeflerdeki EDXRF spektrumları, örnek hazırlamadan ölçülen örneklere ait spektrumlarında sırasıyla Şekil 4.1.1, Şekil 4.1.2 ve Şekil 4.1.3’de gösterilmiştir. Bu spektrumlarda, far örneklerinde yoğun olarak bulunan Mn, Pb, Ba ve Ti elementlerinin pikleri görülmektedir.



Şekil 4.1.1. Siyah (mavi) ve mor (kırmızı) göz farına ait Mo hedefindeki EDXRF spektrumu



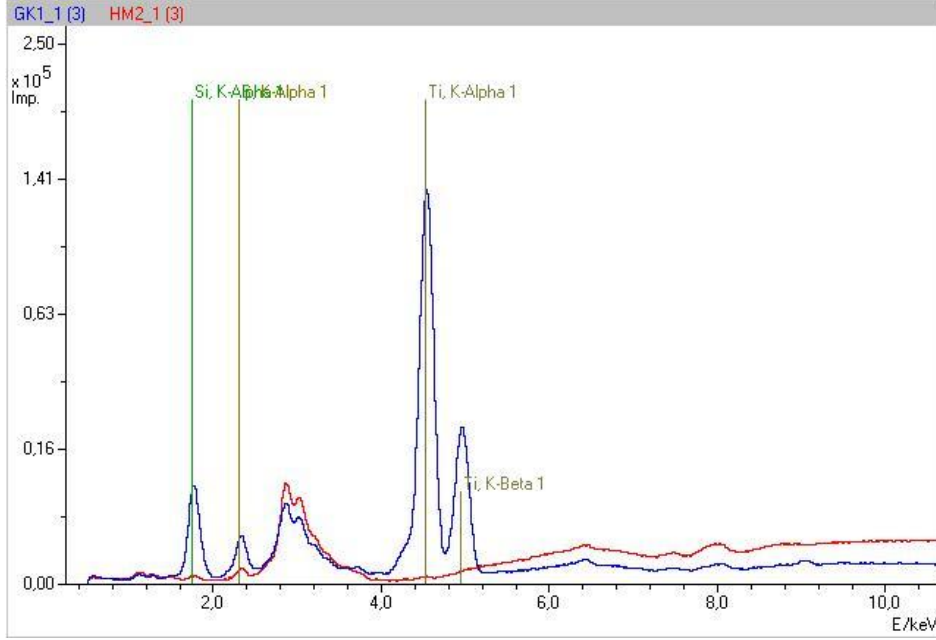
Şekil 4.1.2. Siyah (mavi) ve mor (kırmızı) göz farına ait HOPG hedefindeki EDXRF spektrumu



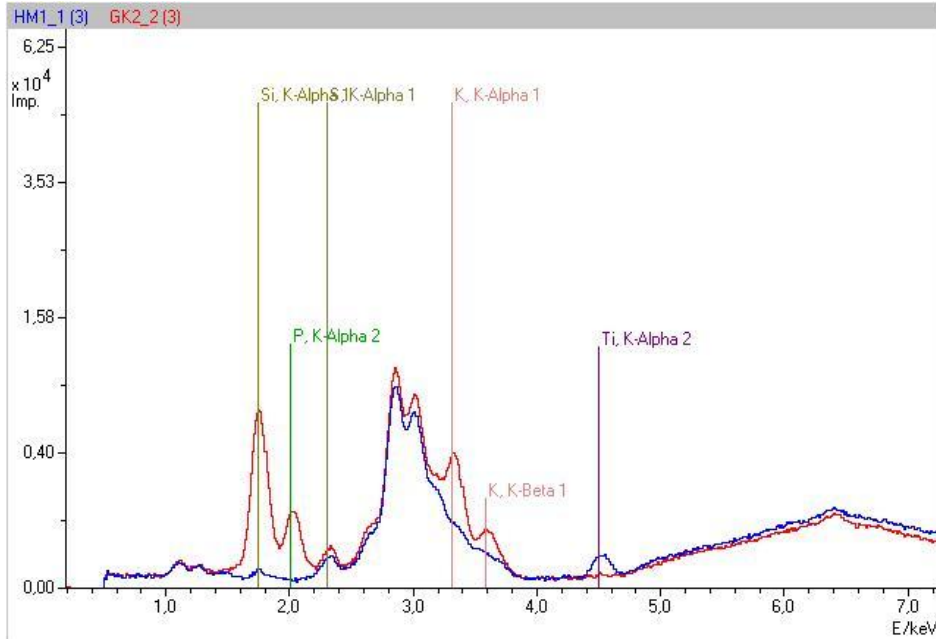
Şekil 4.1.3. Siyah (mavi) ve mor (kırmızı) göz farına ait Al_2O_3 hedefindeki EDXRF spektrumu

Çalışılan dört farklı güneş koruyucunun üçünde hammadde ile karşılaştırmalı EDXRF spektrumları, Şekil 4.1.4, Şekil 4.1.5 ve Şekil 4.1.6'de verilmiştir. Compton piklerinin her iki spektrumda da tamamen örtüşmesi matris eşleşmesinin gerçekleştiğini

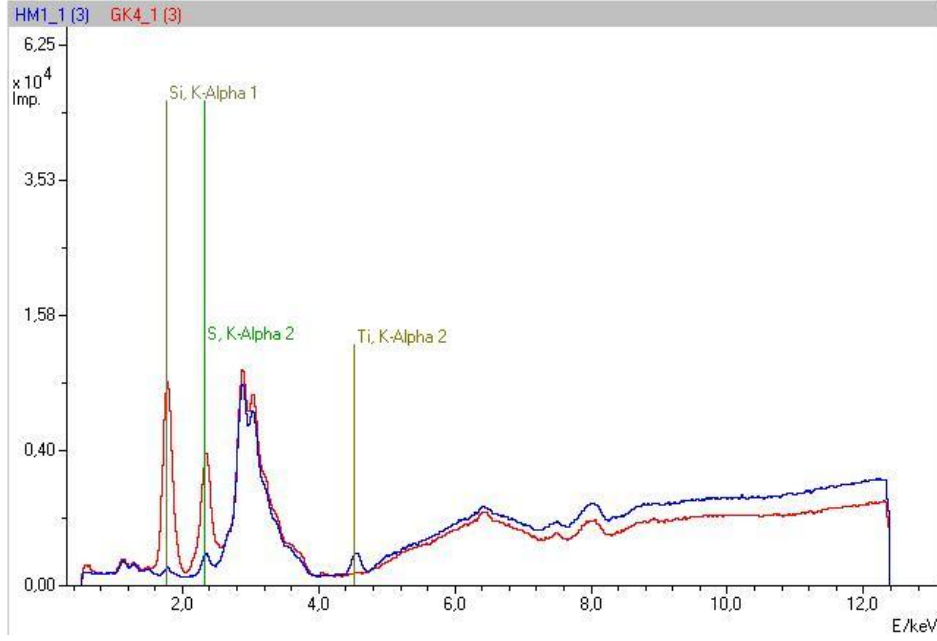
doğrulamıştır. Bu spektrumlara göre çalışılan güneş koruyucularda Si, Ti, P ve K elementlerinin pikleri görülmektedir.



Şekil 4.1.4. Güneş koruyucu krem 1 (mavi çizgi) ve hammaddeye (kırmızı çizgi) ait EDXRF spektrumu



Şekil 4.1.5. Güneş koruyucu krem 2 (mavi çizgi) ve hammaddeye (kırmızı çizgi) ait EDXRF spektrumu



Şekil 4.1.6. Güneş koruyucu krem 3 (mavi çizgi) ve hammaddeye (kırmızı çizgi) ait EDXRF spektrumu

4.2. Merkezi Kompozit Dizayn Yöntemi ile Optimizasyon Çalışması Sonuçları

Kozmetik örnekleri için Çizelge 3.2.5.1, Çizelge 3.2.5.2 ve Çizelge 3.2.5.3.'te verilen deneysel dizayn yöntemlerine göre belirlenen optimum koşullar Çizelge 4.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1. Optimum açık sistem yaş yakma koşulları

Kütle (g)	HNO₃ (mL)	H₂O₂ (mL)
0,5	5	2

4.3. Krem Analizleri için Cıva Standardına göre Validasyon Parametreleri

Cıva standart çözeltisi ile gerçekleştirilen validasyon çalışmasında kullanılan parametreleri Çizelge 4.3.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3.1. Cıva tayininde GFAAS ve ICP-MS için analitik performans verileri

Metot	Kalibrasyon Eğrisi denklemleri	LOD ^a (µg/L)	R ²	Gün içi Kesinlik ^{b,d}	Günlerarası Kesinlik ^{c,e} %RSD	Geri kazanım %
GF-AAS	y= 0,0142x	0,45	0,999	3,6	7,1	87
ICP-MS	y=0,0167x	0,34	0,999	3,3	6,8	96

^a: Açık sistem çözünürleştirme işleminde seyreltme faktörü göz önüne alınarak metot belirleme ve nicel tayin limitleri hesaplanmıştır.

^{b,c}: Gün içi ve günler arası % RSD değerine dayalı olarak hesaplanmıştır (N=5)

^d: Ayrı ayrı hazırlanmış ve aynı gün ölçülmüş aynı derişimdeki beş farklı kurşun çözeltilisini karakterize etmektedir.

^e: Günler arası kesinlik bir haftalık periyotta ölçülen üç farklı çözeltiliyi karakterize etmektedir.

4.4. Kozmetik Kremlerde Cıva Tayini Sonuçları

Kozmetik kremlerde yapılan cıva tayinlerine ait GFAAS ve ICP-MS sonuçları çizelge 4.4.1'de özetlenmiştir. Sonuçlara göre, kremlerde cıva miktarı 6,50-10 µg/kg arasında bulunduğu görülmektedir. ICP-MS ve AAS sonuçlarına t-testi uygulanmıştır ve % 95 güven seviyesinde iki metot birbiri ile istatistiksel açıdan uyumludur.

Çizelge 4.4.1. Kozmetik kremlerde cıva tayin sonuçları*

Örnekler	GF-AAS (µg/kg)	ICP-MS (µg/kg)
Krem 1	9,19 ± 0,11	9,50 ± 0,05
Krem 2	9,73 ± 0,09	9,90 ± 1,05
Krem 3	9,05 ± 0,15	8,86 ± 0,45
Krem 4	8,87 ± 1,13	9,13 ± 0,92
Krem 5	6,50 ± 0,38	6,73 ± 0,15

* Ortalama ± standart sapma, (n=3)

4.5. Rujlarda ve Göz Farlarında Kurşun Tayininde ICP-MS ile Metot Duyarlılık Parametrelerinin Belirlenmesi

Ruj ve göz farları matrikslerin analizinde cihaz ile ilgili parametreleri Çizelge 4.5.1’de ve doğruluk çalışmalarına yönelik sonuçlar ise Çizelge 4.5.2’de ayrıntılı olarak görülmektedir.

Çizelge 4.5.1. Kurşun standart çözeltisine göre metot validasyon parametreleri

Isotop	Kalibrasyon eğrisi denklemleri	Korelasyon katsayısı (R ²)	Çalışma aralığı (µg/L)	LOD ^a (mg/kg)	LOQ ^b (mg/kg)	Gün içi kesinlik ^{c,d}	Günlerarası kesinlik ^{e,f}
²⁰⁸ Pb	y=23611x	0,9998	0,5-20	0,02	0,06	3,0	7,2

^{a,b} : Açık sistem parçalamada seyreltme faktörü göz önüne alınarak metot belirleme ve nicel tayin limitleri hesaplanmıştır.

^{c,e} : Gün içi ve günler arası % RSD değerine dayalı olarak hesaplanmıştır (N=10)

^d : Ayrı hazırlanmış ve aynı gün ölçülmüş aynı derişimdeki altı farklı kurşun çözeltisini karakterize etmektedir.

^f : Günler arası kesinlik bir haftalık periyotta ölçülen üç farklı çözeltiyi karakterize etmektedir.

Çizelge 4.5.2. Standart referans malzeme ve conastan yağ standardı sonuçları*

Element	SRM		Yağ Standardı	
	Çay		Conastan S-21	
	Ölçülen değer (mg/kg)	Sertifikalı değer (mg/kg)	Ölçülen değer (mg/kg)	Referans değer (mg/kg)
Pb	1,44 ± 0,05	1,5 ± 0,2	15,2 ± 0,8	15,0

* Ortalama ± standart sapma, (n=3)

4.6. Göz Farlarında Kurşun Tayinine Ait Sonuçlar

Göz farlarında kurşun elementinin tayini için ICP-MS sonuçları Çizelge 4.6.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.6.1.Göz farlarında kurşun tayini sonuçları*

	Pb (mg/kg)
Göz Farı 1	2,17 ± 0,08
Göz Farı 2	2,02 ± 0,01
Göz Farı 3	2,14 ± 0,30
Göz Farı 4	3,06 ± 1,05
Göz Farı 5	2,45 ± 0,71

* Ortalama ± standart sapma, (n=3)

4.7. Ruj Matriksinde Kurşun Fraksiyonlama Çalışmasında Aktif Karbonun Adsorplama Kapasitesi Üzerine Çözücü Etkisine ait Sonuçları

Ruj matriksinde kurşun fraksiyonlama çalışmasında aktif karbonun adsorblama kapasitesini araştırmak amacıyla farklı polaritedeki çözümler kullanılarak ICP-MS ile elde edilen veriler Çizelge 4.7.1.’ de verilmiştir.

Çizelge 4.7.1. Aktif karbonun adsorplama kapasitesi üzerine çözücü etkisi sonuçları*

Aktif karbon ekstraksiyonu	Su	Eter	Fındık yağı	Hekzan
Pb	0,47 ± 0,20	0,46 ± 0,22	0,51 ± 0,26	0,42 ± 0,15

* Ortalama ± standart sapma, (n=3) mg/kg olarak sonuç verilmiştir.

4.8. Ruj Örneklerinde Kurşun Elementi için Fraksiyonlama Çalışması ve Yüzde Geri Kazanım Sonuçları

Ruj örneği için fraksiyonlama çalışması ve geri kazanım sonuçları Çizelge 4.8.1.' de özetlenmiştir. Geri kazanımlar, standart ilave edilerek IUPAC ve EUROCHEM referansına (Thompson ve ark. 1999) göre planlanmıştır ve ardışık fraksiyonlama olarak değil ayrı ayrı fraksiyonlama uygulanmıştır.

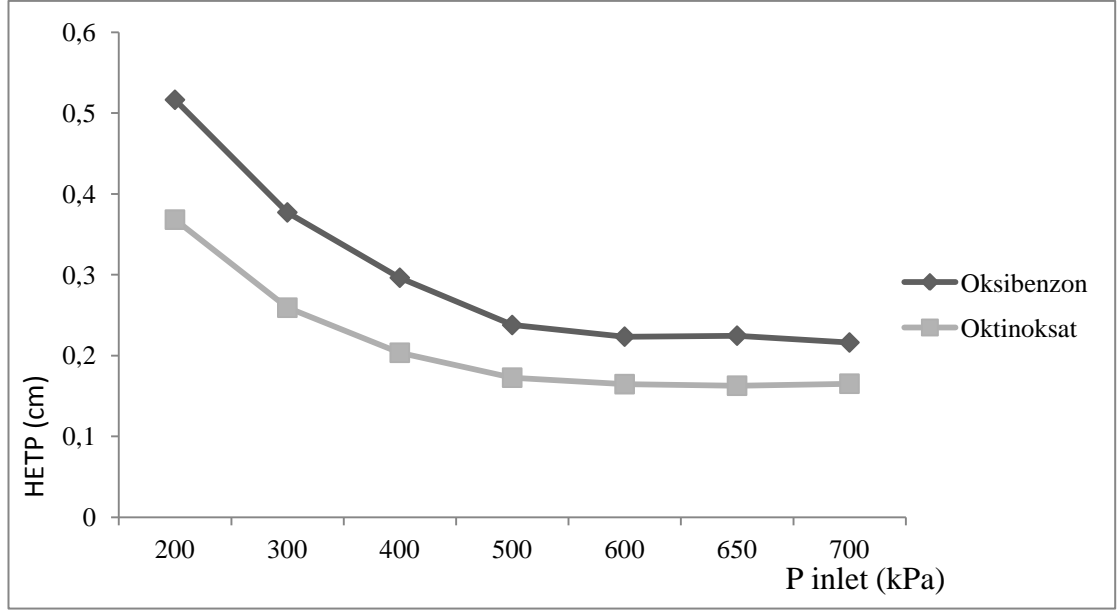
Çizelge 4.8.1. Kurşun için fraksiyonlama işlemi ve geri kazanım sonuçları*

	Pb (mg/kg)	% Geri kazanım
Toplam Element		
Çözünürleştirilmesi		
ICP-MS	0,99 ± 0,27	67
ICP-OES	0,85 ± 0,18	55
n-hekzan ekstraksiyonu	<LOD	-
Aktif karbon absorpsiyonu	0,47 ± 0,20	80
Gliserol Ekstraksiyonu	0,65 ± 0,05	90
Yapay Tükürük Migrasyonu	<LOD	-
Gıda Benzerlerine Migrasyon	<LOD	-

* Ortalama ± standart sapma, (n=3)

4.9. UV Filtrelerin Vakum Outlet-GC/MS ile Elde Edilen Van Deemter Eğrileri

Vakum outlet GC'de hangi basınçla çalışılacağını belirlemek için artan basınçların teorik tabaka yüksekliklerine göre çizilen grafiği Şekil 4.9.1. de verilmiştir. Bu eğriden yararlanılarak optimum basınç 500 kPa olarak seçilmiştir.

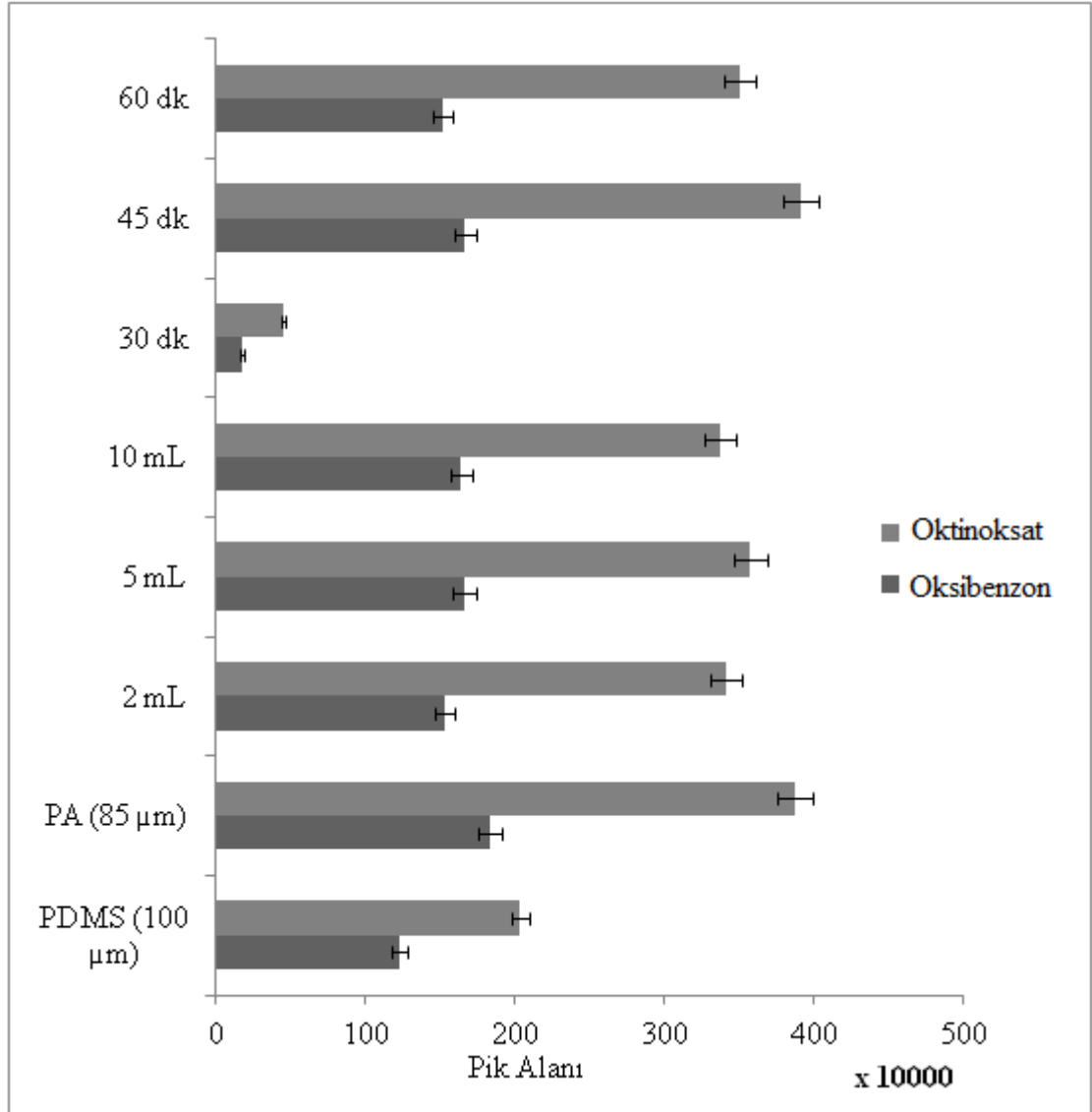


Şekil 4.9.1. Artan basınca göre UV Filtrelerin van deemter eğrileri

4.10. UV Filtrelerin Örnek Hacmi, Ekstraksiyon Zamanı ve Farklı Fiberler İçin SPME/GC-MS Optimizasyonu Sonuçları

Örnek hacmi, ekstraksiyon zamanı ve farklı fiberler için SPME/GC-MS optimizasyonu incelenmiş olup sonuçları Şekil 4.10.1.’ de özetlenmiştir.

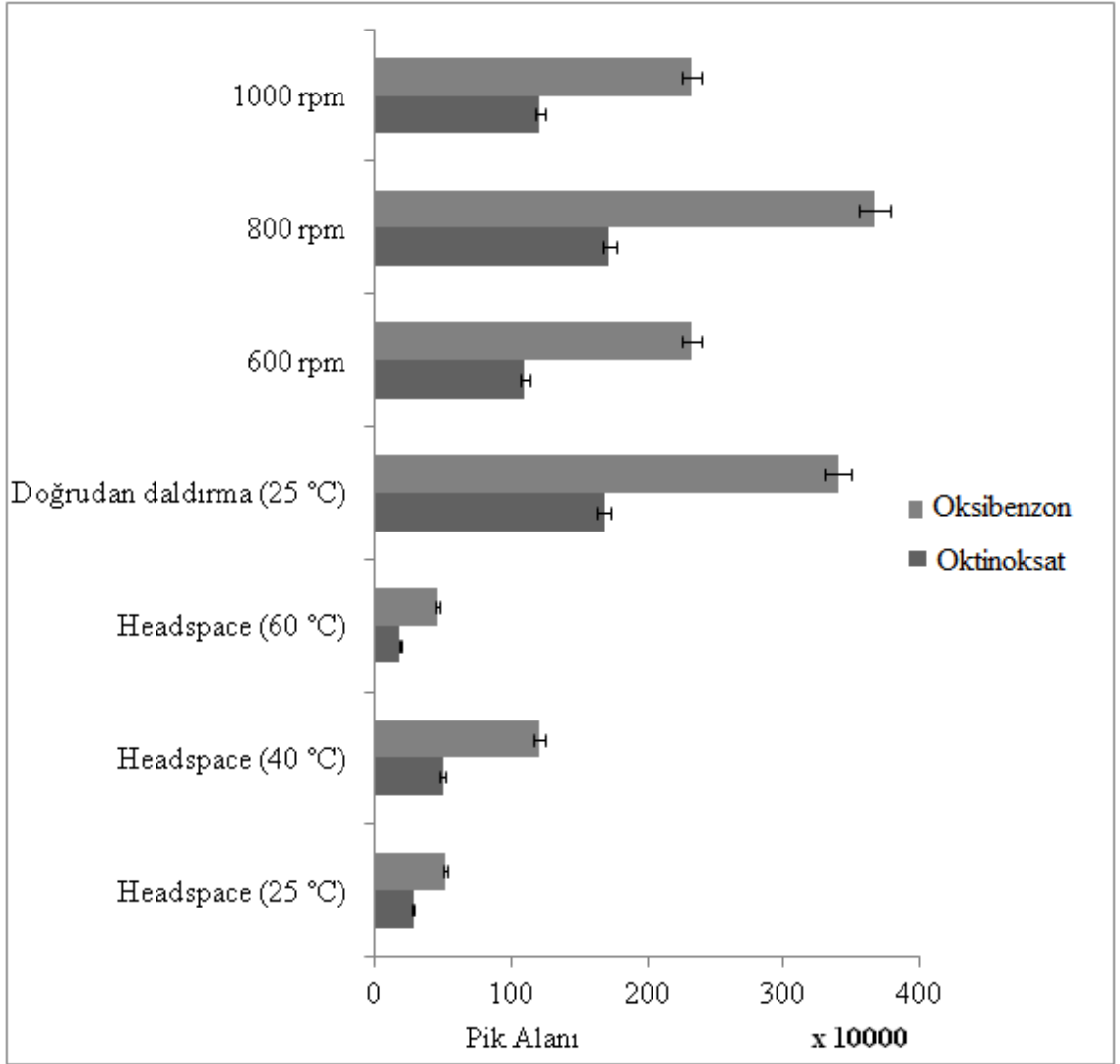
Analitin kimyasal doğası, katı faz ile ekstraksiyon işleminde kullanılacak polimerin türünü belirlemektedir. Kaplamanın seçimi, birincil olarak hedef bileşik polaritesine dayanmaktadır. “Benzer benzeri çözer” kuralı sıvı polimerik kaplamalar için de geçerlidir. Poliakrilat (PA) fiberi ile ekstraksiyon işleminde hedef analit için en iyi kromatografik pik alanını vermiştir ve bu nedenle SPME optimizasyon deneyleri için seçilmiştir. PA fiberlar, genellikle π - π etkileşimleri nedeniyle aromatik bileşikler (örneğin Oktanoksat gibi) için yüksek afiniteye sahiptir. Ayrıca; optimum örnek hacmi 5 mL, ekstraksiyon zamanı 45 dk olarak seçilmiştir.



Şekil 4.10.1. UV Filtrelerin örnek hacmi, ekstraksiyon zamanı ve farklı fiberler için SPME/GC-MS optimizasyon grafiği

4.11. UV Filtrelerin Farklı Karıştırma Hızı, Ekstraksiyon Modu ve Sıcaklık için SPME/GC-MS Optimizasyonu Sonuçları

SPME/GC-MS ile UV Filtrelerin analizinde örnek hacmi farklı karıştırma hızı, ekstraksiyon modu ve sıcaklık parametreleri incelenerek optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.11.1.' de verilmiştir. Bu sonuçlara göre, optimum karıştırma hızı 800 rpm, ekstraksiyon modu doğrudan daldırma ve çalışma sıcaklığı olarak da oda sıcaklığı seçilmiştir.



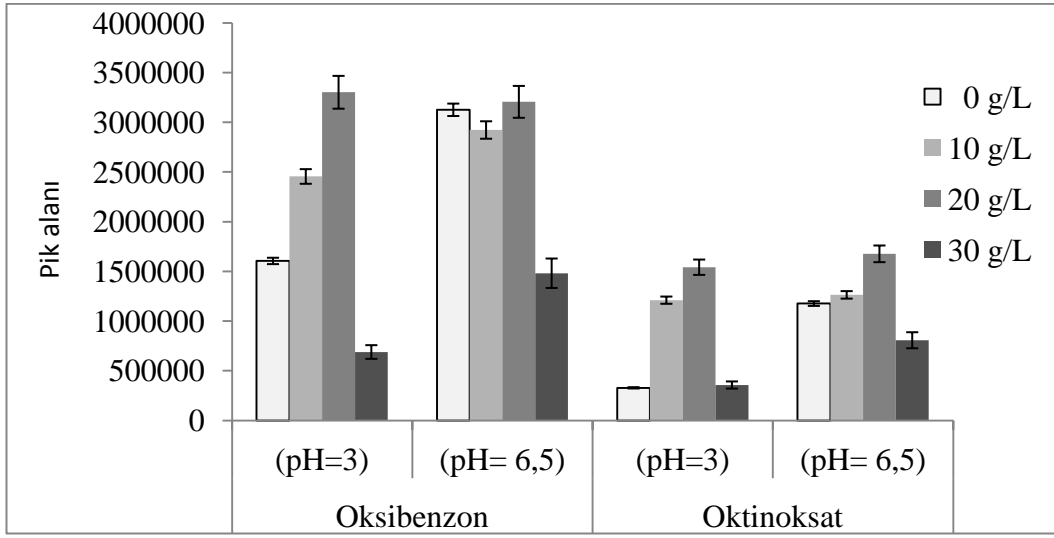
Şekil 4.11.1. UV Filtrelerin farklı karıştırma hızı, ekstraksiyon modu ve sıcaklık için SPME/GC-MS optimizasyon grafiği

4.12. UV Filtrelerin pH ve Farklı Derişimlerde Tuz İlavesi Etkisinin SPME/GC-MS Sonuçları

UV Filtrelerin analizi ile ilgili olarak; çalışmalar orijinal pH: 6,5 asidik pH: 3 kullanılarak farklı derişimlerde tuz ilavesi ile gerçekleştirilmiştir. Gözlenen sonuçlar Şekil 4.12.1.' de verilmiştir.

pH'ın ayarlanması, ekstraksiyon verimini bazik ve asidik yapıdaki analitler için iyileştirmesinin yanı sıra, örnek çözeltisinin iyonik kuvvetini arttırdığından polar türler için de önem kazanmaktadır. Asit ve tuz eklenmesi SPME de pozitif etki sağlamaktadır.

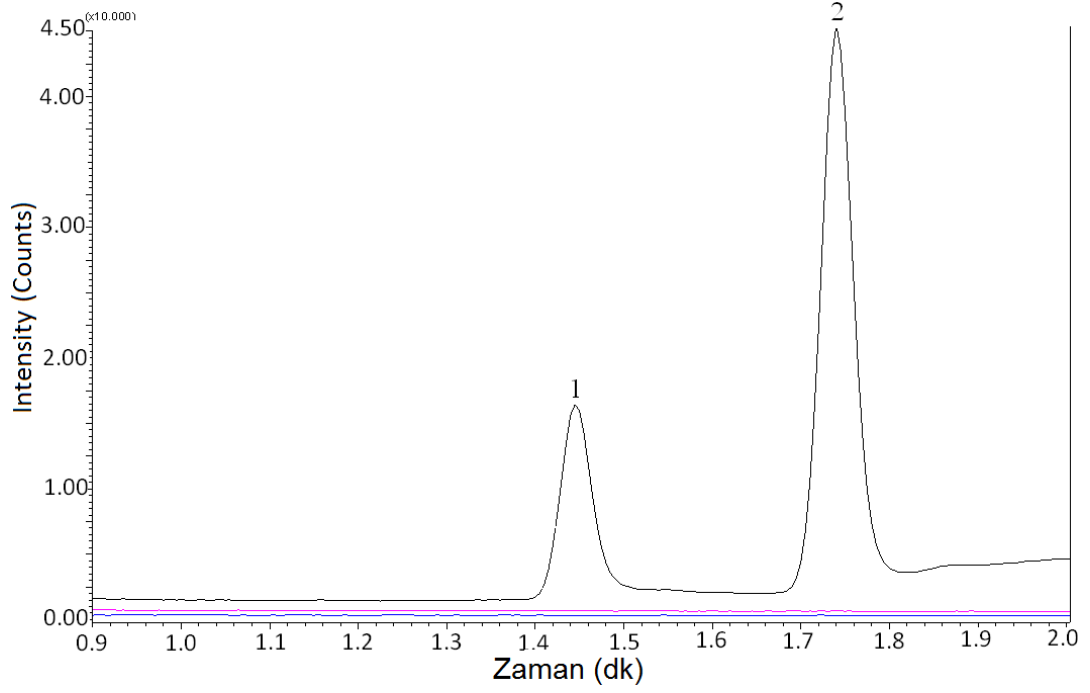
Örnek çözeltisinin pH'ı değiştiğinde, oktinoksatın nötral yapısı nedeniyle önemli bir etki gözlenmemiştir. Çözeltiye tuz eklenmesi ile örnek vizkozitesinin artması önemli bir rol oynasa da bu etki çok büyük değildir. Tuz eklenmesiyle çözeltinin iyonik kuvveti artar ve analitin çözünürlüğü azalır; dahası fiberin fiziksel özelliklerini de değiştirir. Şekil 4.12.1'de verilen sonuçlara bakılacak olursa nötral bir bileşik olan oktinoksat için orijinal pH'ında ve 20g/L tuz ilavesinde maksimum sonucu vermiştir; ancak oksibenzen için 20g/L tuz ilavesi ile hiç tuz eklenmemesi arasında ciddi bir değişim yoktur. Bu nedenle tuz ilavesi olmadan kendi orijinal pH'larında çalışmaya devam edilmiştir.



Şekil 4.12.1. UV filtrelerin pH ve farklı derişimlerde tuz ilavesi etkisinin SPME/GC-MS Sonuçları

4.13. Havuz Suyunda UV Filtreler için DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS ile Alınan Kromatogramı

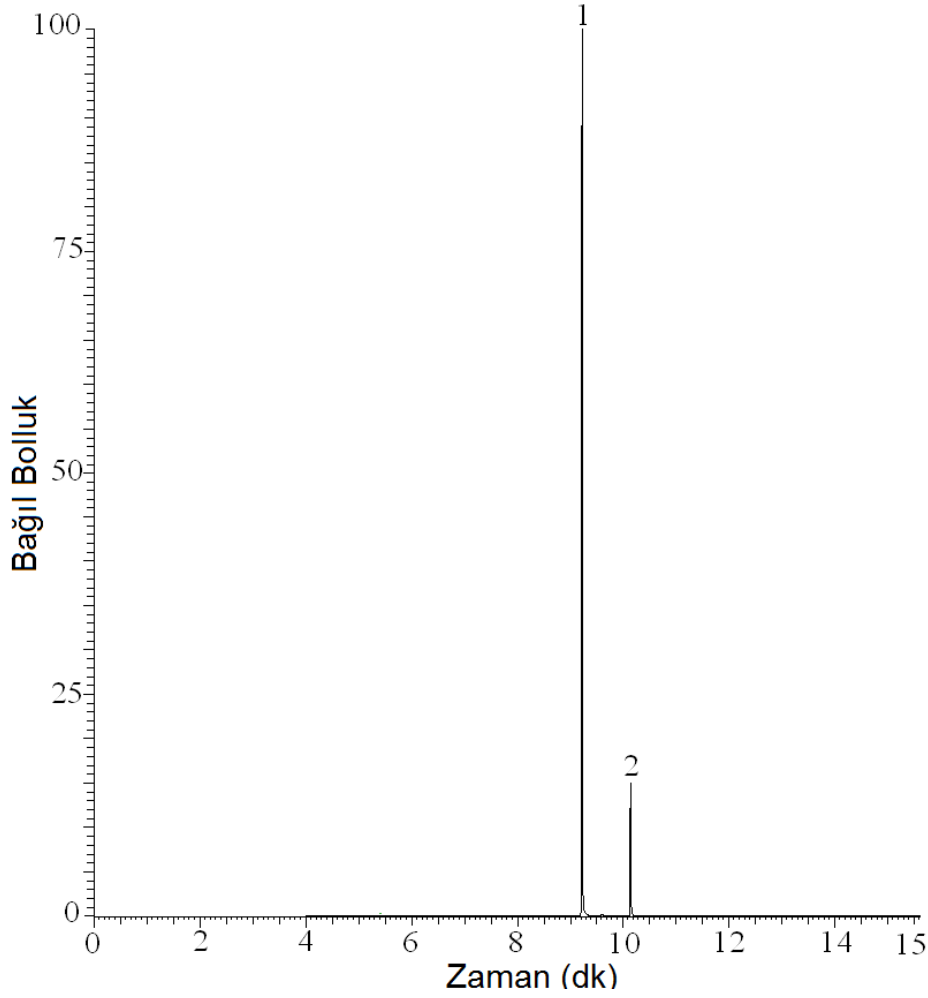
Havuz suyunda UV Filtrelerin vakum outlet tekniğiyle analizinde DI-SPME ekstraksiyonundan sonra, alıkonma zamanına karşı kromatogramı Şekil 4.13.1'de verilmiştir. 5µg/L standart ilave edilmiş havuz suyu örneği ve standart ilave edilmeyen havuz suyu örneği ve kör de karşılaştırma olarak verilmiştir.



Şekil 4.13.1. DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS kromatogramı. Siyah çizgi: 5 µg/L seviyesinde oktinoksat (1) ve oksibenzon (2) UV Filtreleri standart ilave edilmiş havuzsuyu, Pembe çizgi: standart ilave edilmeyen havuz suyu örneği. Mavi çizgi: Kolon Blank.

4.14. Havuz Suyunda UV Filtreler için DI-SPME-GC-MS ile Alınan Kromatogramı

Havuz suyunda UV Filtrelerin GC/MS tekniğiyle analizinde, DI-SPME ekstraksiyonundan sonra, alıkonma zamanına karşı kromatogramı Şekil 4.14.1’de verilmiştir.



Şekil 4.14.1. DI SPME sonrasında Oksibenzon (1) ve oktinoksat (2) için standart ilave edilmiş havuz suyu kromatogramları.

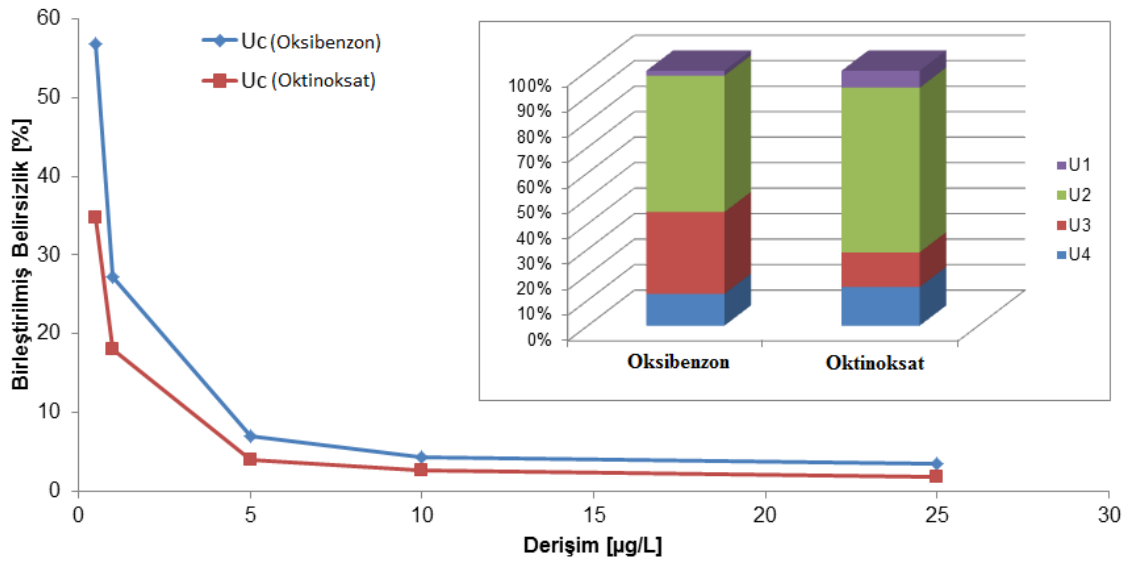
4.15. DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS Metodu için Ölçüm Belirsizliği Sonuçları

EURACHEM/CITAC kılavuzunda sunulan aşağıdan yukarıya yaklaşımı izleyerek ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır (Ellison ve ark. 2012). Bu yaklaşıma göre analiz işlemleri tek tek basamaklara bölünür ve her bir bileşenin, belirsizliği hesaplanır ve bu hesaplanan belirsizlikler birleştirilerek analitik işlemlerin toplam belirsizliği (u) bulunmaktadır. Bu kapsamda dört farklı ana etmenin etkisi araştırılmıştır:

- (i) standartların hazırlanması ile ilgili belirsizlik (U_1),
- (ii) kalibrasyon eğrisi ile ilgili belirsizlik (U_2),
- (iii) metodun kesinliği ile ilişkili belirsizlik (U_3),

(iv) metodun doğruluğu ile ilgili belirsizlik (U4).

Şekil 4.15.1’de bu belirsizliklerin bireysel katkıları hesaplanıp kombine belirsizlik verilmiştir. Kalibrasyon eğrisinden kaynaklanan belirsizliğin, kombine belirsizliğe en büyük katkısının olduğunun ve bu katkının daha düşük derişimlerde daha da etkin olduğu sonucuna varılmıştır.



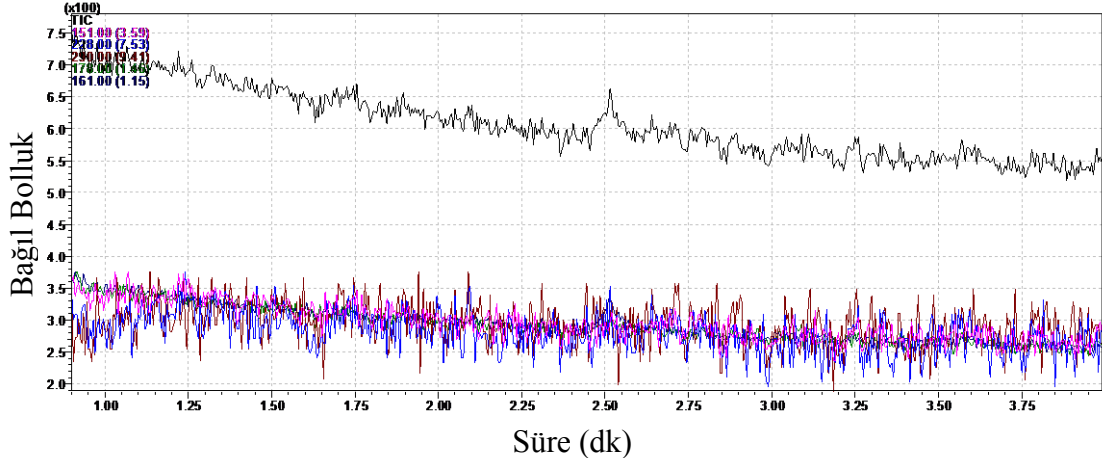
Şekil 4.15.1. UV filtreler için ölçüm belirsizliği grafiği

4.16. DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS ve SPME-GC-MS Metotları için Validasyon Sonuçları

Vakum Outlet-GC/MS ve aynı zamanda geleneksel GC/MS metotlarını karşılaştırmak ve optimum koşullar altında her iki yöntemin analitik performansını değerlendirmek amacıyla kullanılan iki UV Filtre ile korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve tekrarlanabilirlik gibi validasyon parametreleri araştırılmıştır.

Kalibrasyon eğrisinin çalışma aralığı GC/MS için 5-50µg/L ve Vakum Outlet-GC/MS için 0,5-25 µg/L aralığında belirlenmiştir. Her iki yöntem de iyi bir korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Gün içi ve günlerarası tekrarlanabilirlik (n = 3) ve geri kazanım testleri 5µg/L standart ilave edilmiş yüzme havuzu suyu ile gerçekleştirilmiştir. Buna ek

olarak, orjinal (standart ilave edilmemiş) yüzme havuz suyu numuneleri her iki yöntem ile analiz edilmiş ve her iki UV Filtre (oksibenzon, oktinoksat) de tayin sınırın altında olduğundan tespit edilememiştir. Şekil 4.16.1’de SPME sonrası standart ilave edilmemiş havuz suyu örneğinin Vakum Outlet-GC/MS metodunda SIM kromatogramı verilmiştir. Validasyon sonuçları Çizelge 4.16.1’de verilmiştir.



Şekil 4.16.1. SPME sonrası standart ilave edilmemiş havuz suyu örneğinde UV filtrelerin SIM kromatogramı

Çizelge 4.16.1. Havuz suyunda UV Filtrelerin analizi için DI-SPME-GC/MS ve DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS için validasyon parametreleri

DI-SPME-GC/MS					
Bileşik	Korelasyon katsayısı ^a (R ²)	LOD (µg/L)	% RSD	%R	
			Gün içi ^{b,d}	Günler Arası ^{c,f}	
Oktinoksat	0,999	1,16	1,9	4,8	87
Oksibenzon	0,990	1,93	1,2	4,2	95
DI-SPME-Vakum Outlet-GC/MS					
Bileşik	Korelasyon katsayısı ^e (R ²)	LOD (µg/L)	% RSD	%R	
			Gün içi ^{b,d}	Günler Arası ^{c,f}	
Oktinoksat	0,999	0,17	1,9	4,3	80
Oksibenzon	0,997	0,29	0,7	3,7	83

^a: Derişim aralığı 5-50 µg/L

^{b,c}: Gün içi ve günler arası % RSD değerine dayalı olarak hesaplanmıştır (N=5)

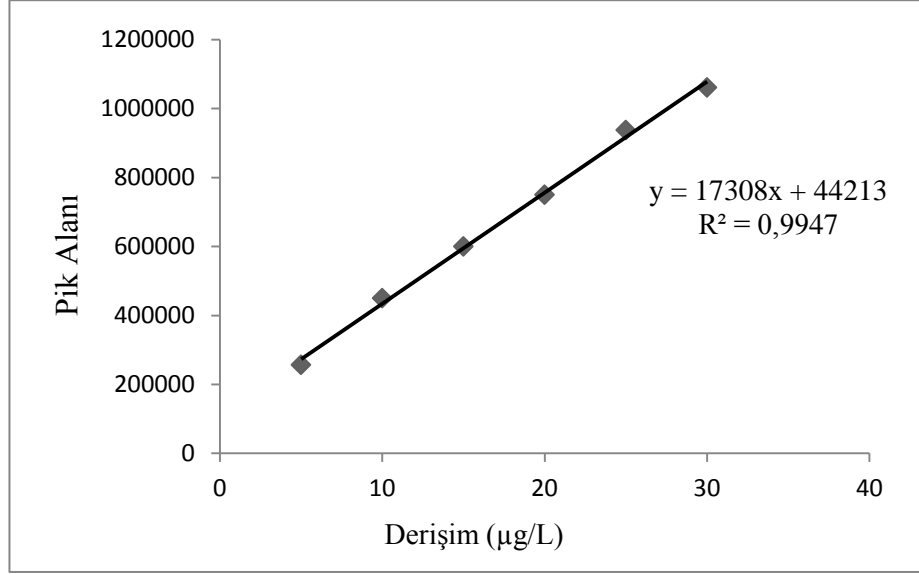
^d:Ayrı ayrı hazırlanmış ve aynı gün ölçülmüş aynı derişimdeki beş farklı kurşun çözeltisini karakterize etmektedir.

^e: Derişim aralığı 0,5-25 µg/L

^f: Günler arası kesinlik bir haftalık periyotta ölçülen üç farklı çözeltiyi karakterize etmektedir.

4.17. Tiyomersalin Tayini için LC-IT-TOF-MS ve LC-DAD Validasyon Sonuçları

Tiyomersalin tayini için yapılan çalışmada, 5-30 µg/L derişim aralığındaki altı adet standarda ait kalibrasyon eğrileri Şekil 4.17.1.'de gösterilmiştir. Kalibrasyon grafiklerine ait analitik parametreler ise Çizelge 4.17.1.'de özetlenmiştir.

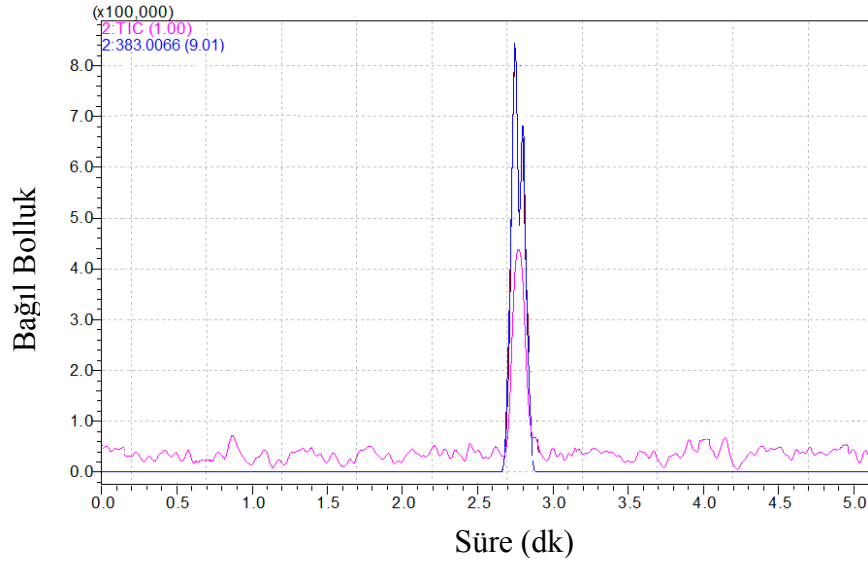


Şekil 4.17.1. Tiyomersal bileşiminin LC-IT-TOF-MS için kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.17.1. Tiyomersal için LC-IT-TOF-MS ve LC-DAD validasyon sonuçları

	LOD (µg L ⁻¹)	R ²	Kesinlik (% R.S.D.)		Çalışma aralığı (µg/L)
			Gün içi	Günlerarası	
LC-IT-TOF-MS	1,2	0,9947	3,5	6,3	5-30
LC-DAD	1,9	0,9932	3,8	7,2	5-30

Tiyomersal tayini için öncelikle 3.2.19. da belirtilen şekilde hazırlanan standartlar cihaza enjekte edilerek taramalı iyon modunda çalışılmış ve standartlara ait piklerin geliş zamanları ve kütle spektrumları belirlenmiştir. Tiyomersala ait LC-IT-TOF-MS kromatogramı Şekil 4.17.2'de verilmiştir.



Şekil 4.17.2.Tiyomersal için LC-IT-TOF-MS kromatogramı (Pembe: TIC Kromatogramı, Mavi: 383.0066 m/z’de iyon kromatogramı)

Tiyomersal tayini için optimum şartların belirlenmesinden sonra model olarak kullanılan çözeltilerden gerçek örnek denemesine geçilmiştir. Bu amaçla ticari olarak piyasada satışı olan ve içeriğinde bulunan tiyomersal miktarı bilinen aşı örneği ile çalışılmıştır.

Çizelge 4.17.2. Tiyomersalin LC-IT-TOF-MS’e göre m/z değerleri

Alıkonma zamanı (dk)	Formül (M)	Ölçülen m/z	Tahmin edilen m/z	İyonu
2,74	C ₉ H ₉ O ₂ SHg	383,0001	383,0018	[M-H] ⁻

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tez çalışmasında piyasaya sürülen kozmetik ürünlerin ve kozmetiklerde kullanılan kimyasalların çevreye geçişinin kontrollerine yönelik analitik metotların geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Krem ve benzeri yağ içeriği yüksek matrikslerin analizinde karşılaşılan önemli sorunlar arasında numune içinde kullanılan bileşenlerin bilinmemesi ve bu içeriğin üründen ürüne değişim göstermesi olarak ifade edilebilir. Buna ek olarak; örnek hazırlama basamağında ortaya çıkan en önemli problem ise içeriğinde bulunan yağ bileşenleri sebebiyle numunenin tam çözünmemesi olarak belirtilebilir. Belirtilen sorunların tam anlaşılması, uygun örnek hazırlama ve ölçüm metodunun seçilmesi için numunenin yapısının aydınlatılması önem arz etmektedir. Bu açıdan bakıldığında da en az örnek hazırlama ile EDXRF yöntemi ile tarama avantajlıdır. Ayrıca, EDXRF yöntemi numuneyi daha az tahrip eden zayıf kaynakların kullanılmasına olanak verir. EDXRF ile nicel analizin doğruluğu % 1 dolaylarında ve yöntemin tespit edebildiği en küçük derişim ise % 0,1 civarındadır. Güneş koruyucu kremlerde ve göz farı örneklerinde EDXRF tekniği ile kalitatif olarak örnek içindeki metallerin taraması yapılmıştır.

EDXRF ile metal taraması yapıldıktan sonra, aynı krem örneklerine cıvanın analizi için, daha önce grubumuz tarafından (İzgi ve ark. 2000) geliştirilen home-made tuzaklama (trapping) sistemi uygulanmıştır. Bu amaçla GFAAS tekniği kullanılarak kremlerde cıvanın, SnCl_2 ile indirgenmesi sonrası altın kaplı grafit küvet yüzeyinde tutularak tayini hedeflenmiştir. Sonuçlar validasyon için ICP-MS ile karşılaştırılmıştır. Seçilen beş krem örneğinde çalışılmış ve bu örneklerde 6-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aralığında cıva tespit edilmiştir. ICP-MS ve GFAAS sonuçlarına t-testi uygulanmıştır ve t deneysel = 0,85 < t kuramsal = 4,303 olup; % 95 güven seviyesinde iki metot birbiri ile istatistiksel açıdan uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Göz farı örneklerinde kurşunun kantitatif tayini için ICP-MS tekniği ile analizler gerçekleştirilmiştir. Örnek hazırlama basamağı olarak açık sistem yağ yakma tekniği kullanılmıştır. Çalışmanın rujlarda kurşun tayini üzerine yapılan kısmında, ruj

örneklerinin kimyasal içeriği, metal tayinleri için uygulanacak örnek hazırlama basamağının yapısını belirlemenin önemi üzerinde durulmuştur. Literatür incelendiğinde; kuru yakma, yağ yakma, mikrodalga esaslı çözünürleştirme metotları örnek hazırlama basamakları arasında yer almaktadır. Ancak kuru yakma metodu yüksek sıcaklıklarda uçucu bileşenlerin kayıpları sebebiyle ruj örneklerinin analizinde kullanımını sınırlamaktadır. Yağ yakma metotlarına gelince, örnek içeriğinde yağ bileşenlerinin tam çözünmemesi söz konusu olduğundan yaygın olarak mikrodalga ısıtma esaslı yağ yakma metodu sıcaklık ve basınç parametrelerinin optimize edilebilmesi nedeniyle tercih edilmektedir. Burada da uygun örnek miktarı, ısı ve basınç optimizasyonu zaman alıcı ve aşılması gereken önemli bir sınırlamadır. Belirtilen sorunların tam anlaşılması, uygun örnek hazırlama ve ölçüm metodunun seçilmesi için örneğin yapısının aydınlatılmasında fraksiyonlama ve karakterizasyon çalışmaları ile ana bileşenlerin tespiti açısından önem arz etmektedir.

ICP-MS eser elementlerin ölçümü için düşük tayin seviyelerine inmesi nedeniyle hassas bir tekniktir. Diğer taraftan, element tayinlerini, spektral girişimler etkileyebilmektedir. ICP-MS yazılım programı matematiksel düzeltmenin denklemleri kullanarak spektral girişimler engellenebilir, bu nedenle, ²⁰⁸Pb izotop ölçümlerinin doğruluğunu kontrol etmek için yazılımlar kullanılmıştır. İndiyum da tekrarlanabilirlik ve sonuçların doğruluğu arttırmak için bir iç standart olarak kullanılmıştır. Kullanılan ICP-MS şartları optimize edilmiş ve hesaplanmış metot validasyon parametreleri Çizelge 4.5.1. ve 4.5.2' de verilmiştir. Kozmetik ürünlerle ilgili analiz çalışmalarında validasyon açısından karşılaşılan en önemli problem standart referans madde/malzeme bulunmamasıdır. Bu nedenle yöntemin doğruluğunun belirlenmesi amacıyla çalışılan matriksleri temsil edebilecek benzer yapıları içeren standart referans madde/malzeme olarak, çay yaprakları standart referans malzemesi ve Conostan S- 21 yağ standardı kullanılmıştır.

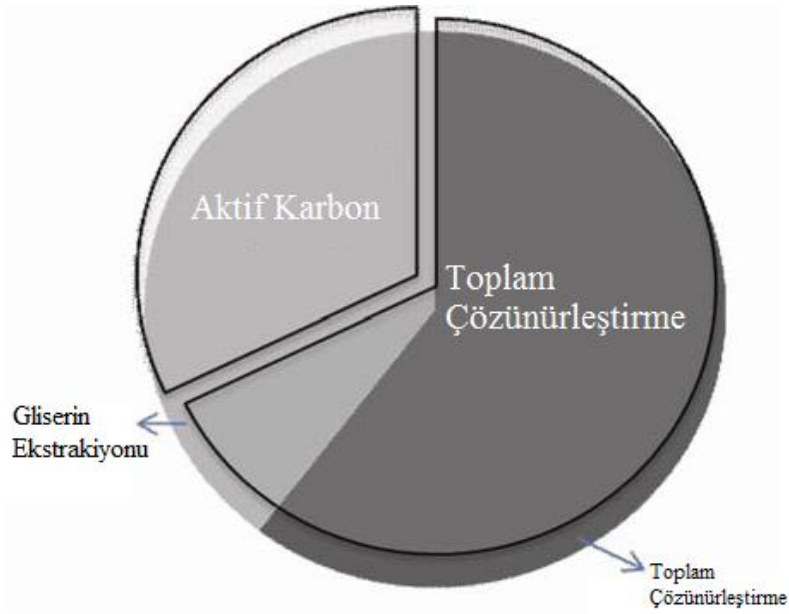
Çalışmada, ruj örneklerinin bileşimlerinin aydınlatılması ve metal içeriğinin sulu faza alınmasına yönelik basit bir yöntem araştırılması hedeflenmiştir. Bunun için olası metal kaynaklarının, çözgen ekstraksiyonları yoluyla ayrılması yapılan fraksiyonlama çalışmaları, uygulanabilecek örnek hazırlama basamağının başarısında önem arz etmektedir. Fraksiyonlama, belirli bir örnekteki analit ya da analit grubunun fiziksel

(örneğin boyut, çözünürlük) veya kimyasal (bağlanma, reaktivlik) özelliklerine göre sınıflandırılması işlemine verilen isimdir. İlgili türlerin analitik prosedür veya ölçüm basamaklarından kaynaklanan kararsızlığı, türün belirlemeye imkan vermeyecek inertliği ya da çok fazla türün varlığı ve belirlemenin karmaşıklığı gibi nedenlerle fraksiyonlama pratik bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır. Fraksiyonlamada türlerin; boyut, çözünürlük, afinite, yük ve hidrofobiklik gibi özelliklerine dayanarak ayırma ve sınıflandırma yapılmaktadır. Kozmetik ürünlerin analizinde boya bileşenlerinin organik yapı göstermesi ve metal içeriklerinin önemli kaynağı olması nedeniyle boya ekstraksiyonu üzerinde ağırlıkla durulmaktadır. Literatürde bulunan fraksiyonlama çalışmalarında, daha çok gıda, biyolojik ve sediment örneklerinde uygulaması görülmekte olup, metallerin farklı substratlara bağlanarak ayrılması ve bu şekilde metal migrasyonunun belirlenmesi hedeflenmektedir. Bu fraksiyonlama işlemleri de yine literatürde “Tessier prosedürleri” şeklinde yaygın olarak kullanılmış ve farklı modifikasyonları yapılmıştır.

Toplam element tayinini karakterize etmek için optimize edilen açık sistem çözünürlüştürme uygulanmıştır. Numunelerin toplam kurşun içeriği $0,99 \pm 0,27$ mg/kg bulunmuştur. Ruj örneklerinin analizinde gözlemlenen yüksek standart sapma, örnek miktarını artırarak azaltılmıştır. Toplam element içerikleri ICP-OES ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen değerler Student t testleri ile karşılaştırılmıştır; t deneysel = 2,122 < t kuramsal = 4,303 olup; % 95 güven seviyesinde iki metot birbiri ile istatistiksel açıdan uyumludur.

Kozmetik ürünler silika bazlı ve yağlı bileşenler içerdiği için çözünürlüştürmesi oldukça zor yapılardır. Bu nedenle kozmetiklerde bulunan yağın eter, hekzan ya da metanol: kloroform gibi karışımların kullanılmasıyla uzaklaştırılmasının daha uygun olduğu düşünülmektedir. Literatürde fraksiyonlarını elde etmede ayrıca metanol, etanol, aseton gibi çözümler de kullanılmıştır. Ruj örneklerinde çözümler olarak su kullanımı geçişlerin yağlı yapıdan dolayı az olacağından pek tercih edilmemektedir. Bu nedenle, n- hekzan ekstraksiyonu, ruj örneklerinin temel bileşenlerinden biri olan lipitler ele alınarak bunları çözebilecek uygun çözümler olarak hekzan seçildiğinde ilgili elementlerin ne kadarının yağlı kısma bağlı olduğuna dair çıkarımlar yapılmıştır.

Aktif karbon işleminde ise matriksin aromatik yapılar içeren kesrini örneğin boyar maddelerin bulunduğu bileşenleri karakterize edebileceği düşünülmüştür. Bunun için değişik çözümler uygulanarak aktif karbonun adsorpladığı miktarlar araştırılmıştır. Aynı yaklaşımla rujun temel bileşenlerinden biri olan wax-yağ gibi polar yapıların yapısında dağılmış olan polar bileşenlere bağlı metal kesrinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla gliserin ekstraksiyonu uygulanmıştır.



Şekil 5.1. Toplam Çözünürleştirme-Aktif Karbon ve Toplam Çözünürleştirme-Gliserin Ekstraksiyonunun Karşılaştırması

Başta Avrupa Birliği ülkeleri, Amerika, Japonya olmak üzere, diğer birçok ülkenin oluşturduğu kozmetik standartlarında kullanımına sınırlama getirilen toksik elementlerin insan sağlığı açısından risk değerlendirmesine katkıda bulunmak amacı ile de rujun organizmaya muhtemel geçiş yolundan biri olan tükürük çözeltisi simüle edilerek değerlendirme yapılmıştır. Prosedürlere ilişkin sonuçlar ve standart ilave edilmiş numunelerinden elde edilen geri kazanım sonuçları Çizelge 4.8.1' de verilmektedir.

Sonuç olarak, toplam çözünürleştirme yerine alternatif diğer ekstraktlardan birinin seçilip seçilemeyeceği araştırıldığında kurşun elementinin gliserin ile muhtemelen daha

kolay tayin edilebildiği gösterirken aromatik yapıya bağlı bir yapıda olduğunu göstermektedir (Şekil 5.1.). Toplam element tayininin yerine fraksiyonlama çalışmaları yapılarak ilgili elementin hangi yapıyla ilişkili olduğu ve muhtemel mekanizmaların anlaşılması açısından bu nedenle önemlidir.

Kozmetik ürünlerin yaygın kullanımında, ürünün üretiminde kullanılan bileşenlerin veya metabolitlerin kanser riski oluşturduğu konusunda iddialar mevcuttur. Bu konuda getirilen sınırlamalar oldukça az olup, ülkemizde bu konuda sınırlayıcı yönetmelikler yok denecek kadar azdır. Örneğin, endokrin bozucu kimyasallar olarak bilinen oktinoksat ve oksibenzon UV Filtrelerinin havuz sularına geçişi ile ilgili çalışmalara literatürde sıkça rastlanmaktadır. Bu kapsamda, kozmetik ürünlerde sık kullanılan bu iki UV Filtrenin havuz sularında analizi için SPME-GC/MS ve SPME-Vakum Outlet-GC/MS metotları geliştirilip ve optimize edilmiştir. Yöntemler karşılaştırılarak Vakum Outlet yönteminin duyarlılık ve toplam çalışma süresi açısından üstün olduğunu kanıtlanmıştır. Geleneksel SPME-GC/MS yöntemi ile SPME-Vakum Outlet GC/MS yöntemi karşılaştırıldığında oksibenzon için 5 kat ve Oktinoksat için 11 kat daha düşük tayin limitleri sağlanmıştır. Ayrıca SPME-Vakum Outlet GC/MS yönteminin, SPME-GC/MS'e göre 8 kat daha kısa sürede tamamlandığı (toplam 2 dakika çalışma süresi) görülmüştür.

Seçilen mikroekstraksiyon yöntemi, geleneksel olarak kullanılan alternatif yöntemlere göre yüksek ekstraksiyon verimi, düşük LOQ, iyi tekrarlanabilirlik, yüksek seçicilik ve çevre dostu olması, ekonomik ve hızlı bir yaklaşım içermesi gibi nedenlerle önemli avantajlara sahiptir. SPME yöntemini etkileyen tüm ilgili parametreler manuel uygulanması için mümkün olan hassas numune hazırlama yöntemleri ayrıntılı olarak incelenmiştir ve optimize edilmiştir. Aşağıdan yukarıya (bottom up) yaklaşıma dayalı yöntem belirsizliğinin hesaplanmasında kombine belirsizliğe en önemli katkının kalibrasyon eğrisinin istatistiksel hesaplamasından kaynaklanan belirsizlik olduğunu göstermiştir.

Hızlı ve etkili bir yöntem olan Vakum Outlet-GC/MS ile hassas numune hazırlama yöntemi SPME havuz sularının analizi için optimize edilmiştir. DI-SPME-Vakum

Outlet-GC/MS yöntemi, yüksek bir performans göstermiştir. Bu yeni yaklaşımın üstünlüğü çevre su örneklerinin hızlı rutin analizleri için yöntemin uygulanabilirliğini göstermiştir.

Kozmetik ürünlerde tiyomersalin tayininde LC-IT-TOF-MS tekniği kullanılarak bir metot geliştirilmiştir. Tiyomersal kozmetik ürünlerde sıklıkla kullanılan koruyucu grubundan bir kimyasaldır. Metodun optimizasyonu için ESI ve APCI için iyonizasyon modları ile çalışılmış ve APCI iyonizasyon modunun daha hassas sonuçlar vermesi nedeniyle çalışmanın devamında APCI iyonizasyon yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar valide edildikten sonra gerçek örnek olarak piyasada satılan kozmetikler gibi kompleks içerikli matriks olan aşı örnekleriyle çalışılmıştır.

Sonuç olarak; tez çalışmasında çeşitli kozmetik ürünlerde ve havuz suyu örneğinde spektroskopik ve kromatografik teknikler kullanarak hızlı, güvenilir ve analitik performansı yüksek örnek hazırlama ve analiz yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu metotların tutarlı, analitik performansının yüksek olduğu elde edilen sonuçlardan görülmektedir. Gelecekte kozmetik ürünlerde yasaklı olan kimyasalların takibi ve tayini açısından kullanılan metotların hızlı bir şekilde cevap verebilecek olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

Agency of Toxic Substances and Disease Registry, 2007. Toxicological Profile for Lead. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=96&tid=22> (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Ahuja, S., Rasmussen, H. 2007. HPLC Method Development for Pharmaceuticals, Academic Press, Elsevier.

Aleksandrov, M.L., Gall, L.N., Krasnov, V.N., Nikolaev, V.I., Pavlenko, V.A., Shkurov, V.A. 1984. Extraction of ions from solutions under atmospheric pressure as a method for mass spectrometric analysis of bioorganic compounds. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR.* 277: 379-383

Al-Saleh, I., N. Shinwari, N., El-Doush, I., Billedo, G., Al-Amodi, M., Khogali, F. 2004. Comparison of mercury levels in various tissues of albino and pigmented mice treated with two different brands of mercury skin-lightening creams, *Biomet-als* 17: 167-175.

Anonim, 2015. http://en.wikipedia.org/wiki/Oxybenzone#cite_note-1 (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Anonim, 2015. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_006.pdf (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Anonim, 2015. http://people.whitman.edu/~dunnivfm/C_MS_Ebook/CH2/2_3.html (Accessed:10.04.2015)

Alt, F., Massmann, H. 1976. Determination of trace-elements (Mn, Co) in sera by atomic absorption spectrometry. *Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie*, 279: 100–100.

Arthur, C.L., Pawliszyn, J. 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 62: 2145–2148.

Ashford, R.D. 1994. Ashford's dictionary of industrial chemicals. London: Wavelength Publications.

ATSDR 1999. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Mercury. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, USA.

Bakirdere, S., Aydin, F., Bakirdere, E.G., Titretir, S., Akdeniz, I., Aydin, I., Yildirim, E., Arslan, Y. 2011. From mg/kg to pg/kg Levels: A Story of Trace Element Determination: A Review, *Applied Spectroscopy Review.*, 46:38–66.

Balmer, M.E., Buser, H., Muller, M.D., Poiger, T., 2005. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. *Environmental Science & Technology* .39 (4): 953-962.

Ball, L.K., Ball, R., Pratt, R.D. 2001. An assessment of thimerosal use in childhood vaccines. *Pediatrics*. 107: 1147-1154.

Belardi, R.P., Pawliszyn, J. 1989. The application of chemically modified fused silica fibres in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns. *Water Pollut. Res. J. Can.* 24: 179-186.

Berne, B., Ros, A. M. 1998. 7 years experience of photopatch testing with sunscreen allergens in Sweden. *Contact Dermatitis* 38, 61-64.

Beveridge, E.G. 1998. Microbial Spoilage and Preservation of Pharmaceutical Products. *Pharmaceutical Microbiology*. 355-373.

BfR. 2006.http://www.bvl.bund.de/EN/Home/homepage_node.html (Erişim Tarihi: 10.04.2015).

Blair, A., Clark, B., Clarke, A. Wood, P., 1975. ‘Tissue Concentrations Of Mercury After Chronic Dosing Of Squirrel Monkeys With Thimerosal’, *Toxicology* ,3: 171–176.

Bojko, B., Cudjoe, E., Gómez-Ríos, G.A., Gorynski, K., Jiang, R., Reyes-Garcés, N., Risticvic, S., Silva, E.A.S., Togunde, O., Vuckovic, D, Pawliszyn, J. 2012. SPME – Quo vadis? *Anal. Chim. Acta.* 750:132-151.

Bourguignon, J.P., Parent, A.S. 2010. Early homeostatic disturbances of human growth and maturation by endocrine disrupters. *Curr. Opin. Pediatr.* 22: 470–477.

Brannan, D.K., 1992. *Cosmetic Microbiology: A practical Handbook*, CRC Press, Boca Raton, FL.

Bryce, D.W., Izquierdo, A., Luque de Castro, M.D. 1995. Use of focused microwaves for expeditive shortening of sample pre-treatment: digestion and reduction procedures prior to selenium speciation as selenium (IV) or selenium (VI). *Analyst*. 120:217-314.

Brooke, D.N., Burns, J.S., Crookes, M.J. 2008. UV-filters in cosmetics – prioritisation for environmental assessment, *The Environment Agency*.

Caliman, F.A., Gavrilesu, M. 2009. Pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting agents in the environment—a review. *Clean Soil Air Water.* 37 (4-5): 277–303.

Campaign for Safe Cosmetics, 2007. A Poison Kiss: The Problem of Lead in Lipstick (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Canwest News Service, 2008. Tories won't list leaded lipsticks. <http://www.canada.com/topics/news/national/story.html?id=4b8f58b0-c225-4925-8e6e-3b41a3687626> (Erişim tarihi:10.04.2015)

Chan, T.Y.K. 2011. Inorganic mercury poisoning associated with skin-lightening cosmetic products. *Clin. Toxicol.* 49: 886-891.

Chisvert, A., Salvador, A., 2007. UV filters in sunscreens and other cosmetics. Tanning and whitening agents. Analytical methods. In: Chisvert, A., Salvador, A. (Eds.), *Analysis of Cosmetic Products, Chapter 3.1 e UV Filters in Sunscreens and Other Cosmetics. Regulatory Aspects and Analytical Methods.* Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 83-120.

Chisvert, A., Salvador A., 2013. Cosmetic ingredients: from the cosmetic to the human body and the environment. *Analytical Methods.* 5:309-310.

Clarkson, T.W., Magos, L., Myers, G.J., 2003. The Toxicology of Mercury-Current Exposures and Clinical Manifestations. *N Engl J Med.* 349:1731-7.

Colborn, T., Saal, F.S.V., Soto, A.M., 1993. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.* 101: 378–384.

Cooper, R.L., Kavlock, R.J. 1997. Endocrine disruptors and reproductive development: a weight-of-evidence overview. *J. Endocrinol.* 152: 159–166.

Corley, J. 2003. Best Practices in Establishing Detection and Quantification Limits for Pesticide Residues in Foods: Handbook of Residue Analytical Methods for Agrochemicals, Volume 1, Ed.: Lee, P.W., Aizawa, H., Barefoot, A.C., Murphy, J.J., John Wiley & Sons Ltd., UK, pp 59-75.

Counter, S.A., Buchanan, L.H. 2004. Mercury exposure in children: a review. *Toxicol Appl Pharmacol.* 198:209–230.

Cramers, C.A., Leclercq, P.A. 1988 Consideration on Speed of Separation, Detection and Identification Limits in Capillary GC and GC/MS. *Critical Reviews in Analytical Chemistry.* 20: 117-147.

Crouch, S.R., and Ingle, J.D.J. 1988. Spectrochemical Analysis. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.

Darvay A., White, I.R., Rycroft, R.J., Jones, A.B., Hawk, J. L., McFadden, J.P. 2001. Photoallergic contact dermatitis is uncommon. *Br. J. Dermatol.* 145, 597-601.

Delacuadra, J. 1993. Cutaneous sensitivity to mercury and its compounds. *Ann. Dermatol. Venereol.* 120: 37-42.

DIN 53160-1 2010-10: Determination of the colorfastness of articles for common use-Part 1: Test with artificial saliva.

European Commission, 2004. Report on the comparative study on cosmetics legislation in the EU and other principal markets with special attention to so-called borderline products. Risk & Policy Analysts Limited, London, UK.

Elferink JGR. 1999. Thimerosal: a versatile sulfhydryl reagent, calcium mobilizer, and cell function-modulating agent. *General Pharmacology*. 33(1):1-6.

Ellison, S.L.R., Williams, A. 2012. (eds.) Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical measurement, Third Edition. www.eurachem.org.. (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Environment Canada, 2010. Lead. <http://www.ec.gc.ca/toxiques-toxics/Default.asp?lang=En&n=98E80CC6-1&xml=D048E4B9-B103-4652-8DCF-AC148D29FB7D> (Erişim Tarihi:10.04.2015)

Erol, D. 2003. Civa Ve Çeşitli Civa Formlarının Organizma Üzerine Etkileri Erişim; www.klinikbiyokimya.com, [15.01.2007]

EU 76/768/EEC. 1976. European Union Council Directive 76/768/EEC of 27 July 1976 on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. *Official Journal L 262*, p. 169.

EWG, Environmental Working Group, 2007. Impurities of Concern in Personal Care Products.<<http://www.ewg.org/skindeep/2007/02/04/impurities-of-concern-in-personal-care-products/>>. (Erişim Tarihi: 10.04. 2015).

Fisher, J.S. 2004. Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome. *Reproduction*. 127: 305–315.

Ferrer, I., Thurman, E.M. 2009. Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry. Wiley, New York, USA, 280 s.

Food and Drug Administration, 2009. Cosmetics. <http://www.fda.gov/Cosmetics/default.htm>. (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Food and Drug Administration, 2013.(<http://www.fda.gov/cder/fdama/mercury300.htm>) (Erişim Tarihi:10.04.2015)

Forte, G., Petrucci, F., Bocca, B. 2008. Metal allergens of growing significance: epidemiology, immunotoxicology, strategies for testing and prevention. *Inflammation Allergy Drug Targets*, 7: 145–162.

Gawalko, E.J., Nowicki, T.W., Babb, J. 1997.Comparison of closed-vessel and focused open vessel microwave dissolution for determination of cadmium, copper, lead, and selenium in wheat, wheat products, corn bran, and rice flour by transverse-heated graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J AOAC Int* 80:379-387.

Geier, D.A., Sykes, L.K., Geier, M.R. 2007.Methodological Issues and Evidence of Malfeasance in Research Purporting to Show Thimerosal in Vaccines Is Safe. *J. Toxicol. Environ. Health B.* 10: 575–596.

Giokas, D.L., Sakkas, V.A., Albanis, T.A. 2004. Determination of residues of UV filters in natural waters by solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–photodiode array detection and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1026 (1): 289–293.

Giokas, D.L., Vlessidis, A.G., 2007. Application of a novel chemometric approach to the determination of aqueous photolysis rates of organic compounds in natural waters. *Talanta.* 71 (1): 288-295.

Giokas, D.L., Salvador, A., Chisvert, A., 2007. UV filters: from sunscreens to human body and the environment. *TrAC Trends Anal. Chem.* 26 (5): 360–374.

Goossens, A., 2004.Photoallergic contact dermatitis. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 18: 262-266.

Götz, W.A., Asgari, S., Schulz, T.G., Bünger, J., Müller, M. Hallier, E. 2003.Thimerosal Induces Micronuclei in the Cytochalacyn B Block Micronucleus Test With Human Lymphocytes. *Arch Toxicol,* 77: 50-55.

Graeme, K.A., Pollack, C.V. 1998. Heavy metal toxicity, part I: arsenic and mercury. *J. Emerg. Med.* 16: 45–56.

Guilhaus, M. 1995. Principles and Instrumentation in Time-of-flight Mass Spectrometry. *Journal of mass spectrometry.* 30: 1519-1532.

Hamann, I.H., Schmutzler, C., Kirschmeyer, P., Jarry, H. and Kohrle, J. 2006. 4-Methyl-benzylidene camphor (4MBC) causes pituitary effects comparable to hypothyroidism. *Endocrine Abstracts,* 11, 60.

Hammer, KA., Carson, CF., Riley, TV.,1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol.* 86:985-990.

Havarinasab, S., Hultman, P. 2005. Organic Mercury Compounds AndAutoimmunity, *Autoimmunity Reviews,* 4: 270-275.

Health Canada, 2010. Lead Information Package - Some Commonly Asked Questions about Lead and Human Health. http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/contaminants/leadplomb/asked_questionsquestions_posees-eng.php (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Health Canada, 2010. Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada: Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 1.

Herdman, Michelle L. 2006. "Thimerosal-Induced Neuritotoxicity: Apoptosis Occurs Through A Mitochondrial-Mediated Pathway Via the JNK Signaling Pathway". *Thesis, Dissertations and Capstones*. Paper 638.

Hibbert, D.B. 2007. Systematic errors in analytical measurement results. *J. Chromatogr A*. 1158: 25- 32.

Household Products Database, 2015.<http://hpd.nlm.nih.gov/> (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Hotchkiss, A.K., Rider, C.V., Blystone, C.R., Wilson, V.S., Hartig, P.C., Ankley, G.T., Foster, P.M., Gray, C.L., Gray, L.E. 2008. Fifteen years after “Wingspread” – environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: where we are today and where we need to go. *Toxicol. Sci.* 105: 235–259.

Houk, R. S., Fassel, V. A., Flesch, G. D., Svec, H. J., Gray, A. L., Taylor, C. E. 1980. Inductively Coupled Argon Plasma as an Ion Source for Mass Spectrometric Determination of Trace Elements *Anal. Chem.* 52, 2283-2289.

IARC, International Agency for Research on Cancer, 1993. Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. Vol. 58. IARC, Lyon, France.

IPCS. 1991. Mercury-containing cream and soap. In: Inorganic mercury. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 118; <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc118.htm#SectionNumber:3.5>). (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

ISO/IEC Guide 98-3:2008. Uncertainty of Measurement – Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement, Geneva, 120 pp.

Izgi B., Demir C., Gucer S. 2000. Application of factorial design for mercury determination by trapping and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*. 55, 971-977.

Jenkins, R. 2000. X-ray Techniques: Overview, Encyclopedia of Analytical Chemistry R.A. Meyers (Ed.) Copyright John Wiley & Sons Ltd

Jensen CD, Johansen JD, Menne T, Andersen KE. 2004. Methyl dibromoglutaronitrile in rinse-off products causes allergic contact dermatitis: an experimental study. *British Journal of Dermatology* 150: 90-95.

Kaulich, B., Gianoncelli, A., Beran, A., Eichert, D., Kreft, I., Pongrac, P., Regvar, M., Vogel-Mikuš, K., Kiskinova M. 2009. Low-energy X-ray fluorescence microscopy opening new opportunities for bio-related research. *J R Soc Interface*. 6: 641–647.

Ki T.Y. 2011. Prevalent Instrumentation and Material in Trace Elements Analysis and Speciations. *Thesis*.

Koesukwiwata ,U., Lehotay, S. J., Leepipatpiboon, N. 2011. Fast, low-pressure gas chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry for analysis of 150 pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*. 1218: 7039–7050.

Kowalewska, Z., Izgi, B., Saracoglu, S., Gucer, S. 2005. Application of liquid-liquid extraction and adsorption on activated carbon to the determination of different forms of metals present in edible oils. *Chem. Anal. (Warsaw)*, 50 (6) 1007–1019.

Kuehner, E. C., Alvarez, R., Paulsen, P. J., Murphy, T. J. 1972. Isotopic abundance ratios and concentrations of selected elements in Apollo 14 samples. *Anal. Chem.* 44,: 2050-2055.

Kunz, P.Y., Fent, K., 2006. Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of in vivo and in vitro estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish. *Aquat. Toxicol.* 79 (4): 305–324.

L’Vov, B.V. 2005. Fifty years of atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 60: 382–382.

Lambropoulou, D., Giokas, D., Sakkas, V., Albanis, T., Karayannis, M. 2002. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-paminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solidphase microextraction. *J. Chromatogr. A* 967 (2): 243–253.

Lajunen, J.L.H.J., 1992. Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission, The Royal Society of Chemistry, Cambridge

Leclercq, P.A., Cramers, C.A. 1998. Review: High-Speed GC/MS. *Mass Spectrometry Reviews* 17: 37–49.

Li, W.-X. Chen, S.-F. Chen, L.-P. Yang, G.-Y. Li, J.-T., Liu, H.-Z. Zhu, W. 2012. Thimerosal-induced apoptosis in mouse C2C12 myoblast cells occurs through suppression of the PI3K/Akt/survivin pathway. *PLoS One*. 7(11):490-464.

Ma, R., Cotton, B., Lichtensteiger, W., Schlumpf, M., 2003. UV filters with antagonistic action at androgen receptors in the MDA-kb2 cell transcriptional-activation assay. *Toxicol. Sci.* 74 (1): 43–50.

Maestroni, M.B., 2005. Uncertainty of laboratory operations. In Lectures Database/Uncertainty of analytical results/Principles of estimation of uncertainty. FAO/IAEA Training Workshop on Introduction to QC/QA in Pesticide Analytical Laboratories, Training and Reference Center for Food and Pesticide Control, Seibersdorf, Vienna, Austria, 12 Sept- 7Oct 2005.

Mahe, A., Blanc, L., Halna, J.M., Keita, S., Sanogo, T., Bobin, P. 1993. Epidemiological study of the cosmetic use of bleaching agents by women in Bamako. *Ann. Dermatol. Venereol.* 120: 870-873.

Magos, L., Brown, A.W., Sparrow, S., Bailey, E., Snowden, R.T., Skipp, W.R. 1985. The comparative toxicology of ethyl- and methylmercury. *Arch Toxicol.* 57:260-267.

Margui E., Queralt, I., Hidalgo M, 2009. Application of X-ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material, *Trends in Analytical Chemistry*, 28:3-5.

Markowicz, A.A., Van Grieken, R. E. 1993. Quantification in XRF analysis of intermediate thickness samples". In: Van Grieken and Markowicz (eds) Handbook of X-Ray Spectroscopy, Marcel Dekler Inc., New York, 339-358.

Mason, M.M., Cate, C.C., Baker, J. 1971. Toxicology and carcinogenesis of various chemicals used in the preparation of vaccines. *Clin Toxicol*; 4:185-204.

McRill, C., Boyer, L.V., Flood, T.J., Ortega, L. 2000. Mercury toxicity due to use of a cosmetic cream. *J. Occup. Environ. Med.* 42: 4-7.

Meyer, V.R., 2007. Measurement uncertainty. *J. Chromatography A.* 1158: 15-24.

Moder, M.; Popp, P.; Eisert, R.; Pawliszyn, J. 1999. Determination of polar pesticides in soil by solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography-electrospray/ mass spectrometry. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry.* 363(7):680-685.

Morohoshi, K., Yamamoto, H., Kamata, R., Shiraishi, F., Koda, T., Morita, M., 2005. Estrogenic activity of 37 components of commercial sunscreen lotions evaluated by in vitro assays. *Toxicol. in Vitro.* 19 (4): 457-469.

Morrow, K.J., Technological Advances Continue to Increase the Versatility of This Reliable Lab Workhorse, <http://www.genengnews.com/gen-articles/mass-spectrometry-s-role-in-discovery-on-the-rise/3288/?page=2> (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Mueller, S.O., Kling, M., Arifin-Firzani, P., Mecky, A., Duranti, E., Shields-Botella, J., Delansome, R., Broschard, T., Kramer, P.J. 2003. Activation of estrogen receptor alpha and ERbeta by 4-methylbenzylidene-camphor in human and rat cells: comparison with phyto- and xenoestrogens. *Toxicol. Lett.* 142: 89-101.

Niessen, W.M.A. 1999. State-of-the-art in liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 856:179-190.

Peck, A.M. 2006. Analytical methods for the determination of persistent ingredients of personal care products in environmental matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (4): 907-939.

Peregrino, C.P., Moreno, M.V., Miranda, S.V., Rubio, A.D., Leal, L.O. 2011.Mercury Levels in Locally Manufactured Mexican Skin-Lightening Creams. *Int.J. Environ.Res. Public Health* . 8: 2516-2523.

Pichichero, M.E., Cernichiari, E., Lopreiato,J., Treanor,J. 2002. Mercury Concentrations And Metabolism In Infants Receiving Vaccines Containing Thiomersal: A Descriptive Study, *Lancet*, 360: 1737–1741.

Powell, H.M., Jamieson, W.A. 1931. Merthiolate as a Germicide. *Am J Hyg.* 13: 296-310.

Quintin C. 1993. Handbook of X-ray Spectrometry Methods and Techniques,” published by Marcel Dekker, pp. 512-514.

Ratola, N., Santos, L., Herbert, P., Alves, A. 2006. Uncertainty associated to the analysis of organochlorine pesticides in water by solid-phase microextraction/gas chromatography–electron capture detection—Evaluation using two different approaches. *Anal. Chim. Acta.* 573: 202-208.

Risher, J.F., De Rosa, C.T.2007. Inorganic: the other mercury, *J. Environ. Health* 70: 9-16.

Robert, T. 2007. Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners. CRC, Boca Raton.

Roos, P., Appelblad, P., Skipperud, L., Sjögren, A. 2006. The NKS-NORCMAS guide to beginners in ICP-MS, Roskilde, Denmark.

Rosenberg, E. 2003. The potential of organic (electrospray- and atmospheric pressure chemical ionisation) mass spectrometric techniques coupled to liquid-phase separation for speciation analysis. *J. Chromatogr. A.* 1000: 841–889.

Sahu, R., Saxena, P., Johnson, S. 2014. Heavy Metals in Cosmetics. *Centre for Science and Environment, Pollution Monitoring Laboratory.* http://www.cseindia.org/userfiles/Heavy_Metals_in_Cosmetics_Report.pdf (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Sainio, E.-L., Jolanki, R., Hakala, E., Kanerva, L. 2001. Metals and arsenic in eye shadows. *Contact Dermatitis*, 42(1): 5-10.

Salvador A., Chisvert, A. 2005. Sunscreen analysis, A critical survey on UV filters determination, *Anal. Chim. Acta*537: 1-14.

Santos, A.J.M., Miranda, M.S., Esteves da Silva, J.C.G. 2012. The degradation products of UV filters in aqueous and chlorinated aqueous solutions. *Water research.* 46: 3167 -3176.

Santos, E.H., Santos, A., Baika, L., Satie Sato, C., Tormen, L., Sturgeon, R.E., Curtius, A.J. 2010. Determination of thimerosal in human and veterinarian vaccines by

photochemical vapor generation coupled to ICP OES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 25: 1627-1632.

Saraswati, R., Vetter, T.W., Waters, R.L. 1995. Comparison of reflux and microwave oven digestion for determination of arsenic and selenium in sludge reference material using flow injection hydride generation and atomic absorption spectrometry. *Analyst*. 120:959-962.

Sasseville, D. 2004. Hypersensitivity to preservatives. *Dermatol Ther*, 17:251-263.

Schlumpf, M., Jarry, H., Wuttke, W., Ma, R. 2004. Estrogenic activity and estrogen receptor beta binding of the UV filter 3-benzylidene camphor. Comparison with 4-methylbenzylidene camphor. *Toxicology*. 199: 109-120.

Schlumpf, M., Kypke, K., Wittassek, M., Angerer, J., Mascher, H., Mascher, D. 2010. Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk correlation of UV filters with use of cosmetics. *Chemosphere* . 81: 1171–1183.

Seidlova-Wuttke D., Harry, H., Christoffel, J., Rimoldi, G., Wuttke, W. 2006. Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethox- 321 ycinnamate (OMC) and 4-methylbenzylidene camphor (4MBC)-2 322 filters of UV light—on several uterine, vaginal and bone parameters. 323 *Toxicol Appl Pharmacology*. 210: 246-254.

Shegunova, P., Bercaru, O., Olsen, B.S. 2008. Estimation of measurement uncertainty in organic analysis: two practical approaches. *Accred. Qual. Assur*. 13:11-18.

Silva, E.A.S., Risticovic S., Pawliszyn J. 2013. Recent trends in SPME concerning sorbent materials, configurations and in vivo applications. *Trends Anal. Chem*. 43: 24-36.

Silva-Pereira¹, L.C., Cardoso, P.C.S., Leite, D.S., Bahai, M.O., Bastos, W.R., Smith, M.A.C. Burbano, R.R. 2005. Cytotoxicity and genotoxicity of low doses of mercury chloride and methylmercury chloride on human lymphocytes in vitro. *Brazilian Journal of Medical And Biological Research*., 38: 901-907.

Skoog, D., Holler, F.J., Nieman, T.A. 1999. Enstrümantal Analiz İlkeleri. Bilim Yayıncılık, Ankara, s. 849.

Sobek, A., Bejgarn, S., Rudén, C., Molander, L., Breitholtz, M. 2013. In the shadow of the Cosmetic Directive — Inconsistencies in EU environmental hazard classification requirements for UV-filters *Science of the Total Environment* 461-462: 706–711.

Srikanth, T., Hussen, S., Abha, A., Vasantharaju S.G., Sandeep, G. 2011. A comparative view on cosmetic regulations: USA, EU and INDIA. *Der Pharmacia Lettre*. 3(1): 334-341.

Steinberg, DC. 2006. Global Regulation of Preservatives and Cosmetic Preservatives. *Cosmetic Microbiology*. 215-226.

Stokes, R., Diffey, B., 1999. The water resistance of sunscreen and day-care products. *Br. J. Dermatol.* 140: 259–263.

Supelco Bulletin, 2009.<https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/Bulletin/4547.pdf> (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Sutton, SVW. 2006. Antimicrobial Preservative Efficacy and Microbial Content Testing. *Cosmetic Microbiology*. 111-145.

Suzuki, T., Kitamura, S., Khota, R., Sugihara, K., Fujimoto, N., Ohta, S. 2005. Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203 (1): 9–17.

Şenses F., 2006. El Kremi Üretiminde Kullanılan Yüzey aktif Maddelerin Kremin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri. *Y. Lisans Tezi*.

Tang, H.L., Mak, Y.F., Chu, K.H., Lee, W., Fung, S.K.S., Chan, T.Y.K., Tong, K.L. 2013. Minimal change disease caused by exposure to mercury-containing skin lightening cream: A report of 4 cases, *Clin.Nephrol.* 79: 326-329.

Thompson M., Ellison, S.L.R., Fajgelj, A., Willetts, P., Wood, R. 1999. Harmonised Guidelines for the use of Recovery Information in Analytical Measurement. *Pure Appl. Chem.* 71: 337–348.

Teo, T.L.L., Coleman, H.M., Stuart J.K. 2015. Chemical contaminants in swimming pools: Occurrence, implications and control. *Environment International* 76:16–31.

Thyssen, J.P., Menné, T. 2010. Metal allergy – a review on exposures, penetration, genetics, prevalence, and clinical implications. *Chem. Res. Toxicol.* 23: 309–318.

The Campaign for Safe Cosmetics, 2007. Lead in Lipstick. <http://www.safecosmetics.org/article.php?id=223> (Erişim Tarihi: 10.04.2015)

Trumpler, S.L., Meermann, W., Buscher, B., Sperlingab, W., Karst, M.U. 2009. Interaction of thimerosal with proteins—ethylmercury adduct formation of human serum albumin and b-lactoglobulin A. *Metallomics*. 1: 87-91.

Vanatta, L.E., Coleman, D.E., 2007. Calibration, uncertainty, and recovery in the chromatographic sciences. *J. Chromatogr A.* 1158: 47-60.

Varvaresou, A., Papageorgiou, S., Tsirivas, E., Protopapa, E., Kintziou, H., Kefala, V., 2009. Self-preserving cosmetics. *Int J Cosmetic Sci.* 31:163-175

Vidal, L., Chisvert, A., Canals, A., Salvador, A., 2010. Ionic liquid-based single-drop microextraction followed by liquid chromatography-ultraviolet spectrophotometry

detection to determine typical UV filters in surface water samples. *Talanta*. 81 (1–2): 549–555.

Walsh, 1955. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectrochim. Acta*, 7: 108-121.

Welz, B., Sperling, M. 1984. *Atomic Absorption Spectrometry*. Wiley-VCH, Weinheim
Westphal, G., Asgari, S., Schulz, T., Bünger, J., Müller, M., Hallier, E. 2003. Thimerosal induces micronuclei in the cytochalasin B block micronucleus test with human lymphocytes. *Archives of Toxicology* 77: 50-55.

WHO, World Health Organization. 2011. Mercury in skin lightening products. Public Health and Environment, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Wright, M.W., Wright, S.T., Wagner, R.F. 2001. Mechanisms of sunscreen failure. *J. Am. Acad. Dermatol.* 44 (5): 781–784.

Xue, L., Ma, W., Zhang, D., Du, X. 2013. Ultrasound-assisted liquid–liquid microextraction based on an ionic liquid for preconcentration and determination of UV filters in environmental water samples. *Anal. Methods*. 5: 4213-4219.

Zama, A.M., Uzumcu, M. 2010. Epigenetic effects of endocrine-disrupting chemicals on female reproduction: an ovarian perspective. *Front. Neuroendocrinol.* 31: 420–439.

Zeeuw, J., Peene, J., Jansen, H.-G., Lou, X. 2000. A Simple Way to Speed up Separations by GC-MS Using Short 0.53 mm Columns and Vacuum Outlet Conditions. *Journal of High Resolution Chromatography*. 23: 677 – 684.

Zeeuw, J., Reese, S., Cochran, J., Grossman, S., Kane, T., English, C. 2009. Simplifying the setup for vacuum-outlet GC: Using a restriction inside the injection port. *Journal of Separation Science* 32 : 1849 – 1857.

Zhang, Z., Pawliszyn, J. 1993. Headspace Solid Phase Microextraction. *Anal. Chem.* 65: 1843-1852.

Zwiener, C., Richardson, S.D., DeMarini, D.M., Grummt, T., Glauner, T., Frimmel, F.H. 2007. Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water. *Environ. Sci. Technol.* 41 (2): 363–372.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özlem YILMAZCAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa 01/12/1985
Yabancı Diller : İngilizce, Almanca

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Bursa Turhan Tayan Anadolu Lisesi, 2003
Lisans : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi -Kimya Bölümü, 2008
Yüksek Lisans : Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü-Kimya Bölümü, 2010

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Rudolf Duraner A.Ş. 2015

İletişim (e-posta) : ozlemyilmazcan@gmail.com

Yayımlar:

Yılmazcan, Ö., Özer, E.T., İzgi, B., Güçer, Ş. 2013. Optimization of Static Head-Space Gas Chromatography - Mass Spectrometry-Conditions for the Determination of Benzene, Toluene, Ethyl benzene, Xylene, and Styrene in Model Solutions. *Ekoloji*. 22,89,76.

Yılmazcan, Ö., Erdemir, Ü.S., İzgi, B., Özer, E.T., Güçer, Ş. 2015. Lead Fractionation Analysis in Lipstick Samples by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Spectroscopy Letters*. 48,4, 290.

Yılmazcan, Ö., Kanakaki, C., İzgi, B., Rosenberg, E. 2015. Fast Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Octinoxate and Oxybenzone UV Filters in Swimming Pool Waters after Solid Phase Microextraction, *Journal of Separation Science*. DOI: 10.1002/jssc.201401250.