

Gıda ve Yemlerde Per- ve Polifluoroalkil Maddelerin (PFAS) Belirlenmesi için Analitik Parametreler Rehber Belgesi

Sürüm 2.0

10 Eylül 2024



Yem ve Gıdalardaki Halojenli POP'lar için EURL
c/o Freiburg Devlet Kimya ve Veteriner Analiz
Enstitüsü



Bissierstraße 5
79114 Freiburg
D-Almanya



contact@eurl-pops.eu
+49 761 8855 500



eurl-pops.eu

Belge Geçmişi

Eylem	Tarih	Sürüm
EURL/NRL tarafından kılavuz belgesinin geliştirilmesi ağı	2020-2022	-
EURL POPs web sitesinde kılavuz belgesinin yayınlanması web sitesi	1 ¹ Mart 2022	V 1.0
Belgenin tamamında editoryal iyileştirmeler	8 Mart 2022	V 1.1
Kılavuz belgesinin eklerinin yayınlanması; bölüm 2.3'ün güncellenmesi (br-PFOS'un nicelendirilmesi)	11 Mayıs 2022	V 1.2
Belgenin tamamında editoryal iyileştirmeler Komisyon Yönetmeliği (AB) 2022/2388, Komisyon Tavsiye Kararı (AB) 2022/1431 ve Komisyon Uygulama Yönetmeliği 2022/1428 eklendi Bölüm 2.1.4'teki Tablo 4 ve 5 (gerekli ve hedef miktar sınırları) silinmiştir. Bölüm 2.1.5.1, 2.1.5.2, 2.3.1 ve 2.3.2 eklendi (dallı izomerler) Bölüm 2.2'nin (Yöntem Doğrulama) revizyonu Bölüm 2.3'ün revizyonu (br-PFOS'un miktar tayini) Bölüm 2.5.1'in revizyonu (Sonuçların Yuvarlanması)	10 Eylül 2024	V 2.0

Alıntı

Bu kılavuz belgesi, EURL POPs web sitesinde (www.eurl-pops.eu) kamuya açık olarak yayınlanmaktadır. Bu rapor için önerilen alıntı aşağıdaki gibidir:

Yem ve Gıdalarda Halojenli POP'lar için EURL (2024): Gıda ve Yemlerde Per- ve Polifluoroalkil Maddelerin (PFAS) Belirlenmesi için Analitik Parametreler Rehber Belgesi, 10 Eylül 2024 tarihli 2.0 sürümü.

Çevrimiçi olarak https://eurl-pops.eu/working-groups#_pfas adresinde mevcuttur.

Yazar

Bu kılavuz belge, Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EURL) ve Yem ve Gıdalardaki Halojenli POP'lar için Ulusal Referans Laboratuvarları (NRL) ağıının "Per- ve Polifluoroalkil Maddeler" Çekirdek Çalışma Grubu üyeleri ve davetli uzmanlar tarafından hazırlanmış ve tartışılmıştır.

Editörler

Bjorn Berendsen (Wageningen Gıda Güvenliği Araştırmaları (WFSR), Hollanda) Stefan van Leeuwen (Wageningen Gıda Güvenliği Araştırmaları (WFSR), Hollanda) Christina Riemenschneider (EURL POPs, Almanya)
Katharina Rund (EURL POPs, Almanya)
Alexander Schächtele (EURL POPs, Almanya)

Per- ve Polifluoroalkil Maddeler Çekirdek Çalışma Grubunun mevcut üyeleri	
Münsterland-Emscher-Lippe Kimya ve Veteriner Analiz Enstitüsü, Almanya	Norina Aßhoff, Thorsten Bernsmann
Çevre Ajansı, Avusturya	Stefan Weiß
Halojenli POP'lar için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EURL), Almanya	Christina Riemenschneider, Katharina Rund, Alexander Schächtele
Finlandiya Sağlık ve Refah Enstitüsü, Finlandiya	Jani Koponen
Bağımsız uzman, Örebro Üniversitesi, İsveç	Heidlore Fiedler
Gıda Güvenliği, Hayvan Sağlığı ve Çevre Enstitüsü "BIOR", Letonya	Dzintars Zacs
Deniz Araştırmaları Enstitüsü, Norveç	Stig Valdersnes
Gıdalardaki Kalıntı ve Kirlenici Maddeler Araştırma Laboratuvarı (LABERCA), Fransa	Philippe Marchand, Bruno Veyrand
Ulusal Bilimsel Araştırma Merkezi (NCSR) "Demokritos", Yunanistan	Danae Costopoulou
Ulusal Gıda Enstitüsü, Danimarka Teknik Üniversitesi, Danimarka	Agnieszka Anna Niklas
Yem ve Gıdalardaki Halojenli Kalıcı Organik Kirleniciler (POP) Ulusal Referans Laboratuvarı, Almanya	Anne Jahnke
Sciensano, Belçika	Laure Joly
Devlet Laboratuvarı, İrlanda	Hannah Smith
Wageningen Gıda Güvenliği Araştırmaları (WFSR), Hollanda	Bjorn Berendsen, Stefan van Leeuwen (Başkanlar)

İçindekiler

1. GENEL	6
1.1. Uygulama Alanı	6
1.2. Kısaltmalar	6
1.3. Giriş	7
1.4. Arka Plan	8
1.5. Kapsam	9
1.6. İlgili Alanındaki Analitler	9
1.7. Terimler ve Tanımlar	11
1.8. Analitik Kalite Güvencesi Rehberi	13
1.8.1. Laboratuvarlar için Öneriler	13
1.8.2. Numune Ön İşleme ve Saklama ile İlgili Genel Hususlar	13
1.8.3. Kontaminasyonu / Yüksek kör Seviyeleri Önlemek İçin Genel Hususlar	13
1.8.4. Genel Kalite Kontrol Önlemleri	14
1.9. Doğrulama Parametreleri	15
1.10. Enstrümantasyon	16
1.10.1. LC Sistemi	16
1.10.2. Analitik Kolon	16
1.10.3. Kütle Spektrometresi	16
2. ÖZEL GEREKLİLİKLER	17
2.1. Analitik Performans Kriterleri	17
2.1.1. Doğruluk	17
2.1.2. Görünür Geri Kazanım	17
2.1.3. İyileşme	17
2.1.4. Hassasiyet	18
2.1.5. Miktar Belirleme Sınırı	18
2.1.5.1. Dallı İzomerler	19
2.1.5.2. Toplam Parametreler	19
2.2. Yöntem Doğrulama	19
2.2.1. Örnek Yaklaşım: Tek Matris	20
2.2.2. Örnek Yaklaşım: Matris Grubu	22
2.3. Niceleme	24
2.3.1. PFOS	24
2.3.2. PFOA, PFHxS, PFNA	25
2.4. Ölçüm	25
2.4.1. Etkileyen Maddelerin Hariç Tutulması	25
2.4.2. Analitik Kalibrasyon Eğrisi	25
2.4.3. Tanımlama Gereklilikleri	26
2.5. Sonuçların Raporlanması	27
2.5.1. Sonuçların Yuvarlanması	27

2.5.2. Ölçüm Belirsizliği.....	28
3. KAYNAKLAR.....	30

EK: Gıda ve Yemlerde Per- ve Polifluoroalkil Maddelerin (PFAS) Belirlenmesi için Metodoloji
Örneği

EK'i açmak için pdf simgesine çift tıklayın.



Ayrıca https://eurl-pops.eu/working-groups#_pfas adresinden çevrimiçi olarak da erişilebilir.

1. GENEL

1.1. Uygulama Alanı

Gıda ve yemlerde seçilmiş per- ve polifluoroalkil maddelerin (PFAS) belirlenmesi için analitik parametreler hakkındaki bu belge, Yem ve Gıdalarda Halojenli POP'lar için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EURL) ağı, AB üye devletlerinin ilgili Ulusal Referans Laboratuvarları (NRL'ler) ve kalıcı organik kirleticiler (POP'lar) analizi alanındaki uluslararası uzmanlar tarafından geliştirilmiştir. Bu belgedeki kılavuz, gıda ve yemlerdeki kirletici maddelerin resmi kontrolünü yapan laboratuvarlar için hazırlanmıştır ve bu maddelerin laboratuvarda belirlenmesi üzerine odaklanmaktadır. Laboratuvarlar ve özellikle mevcut bir yöntemi olmayan laboratuvarlar için genel bir kılavuz olarak tasarlanmıştır. EURL'nin resmi görevi ve çalışma kapsamı kapsamında, gıda ve yemlerdeki PFAS analizleri alanında daha fazla uyum sağlanmasına katkıda bulunan bir dizi analitik parametrede yararlı temel unsurlar sunmaktadır.

Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428 Ek B Bölüm 5'te belirtilen özel performans gereklilikleri, gıda ve yemlerde PFAS analizi için genel ilkelerin temelini oluşturmaktadır. Mevcut kılavuz belgesi, AB'de resmi kontrollerle ilgilenen laboratuvarlarda bu genel ilkelere ulaşmak için analitik yöntemlerin uygulanmasına ilişkin öneriler sunmaktadır. Bu belge yasal olarak bağlayıcı değildir. Ancak, Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428, "EURL Kılavuz Belgesinde [...] açıklanan ilkelere uyulması gerektiğini" belirtmektedir.

NOT: Bu belgede verilen tüm öneriler "Güvenilir analizler için kılavuz" olarak değerlendirilmelidir.

1.2. Kısaltmalar

Kısaltma	Tanım
br-PFOS	Dallı perflorooktansülfonik asit
CWG	Çekirdek Çalışma Grubu
EC	Avrupa Komisyonu
ECF	Elektrokimyasal florlama işlemi
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EURL	Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı
HDPE	Yüksek yoğunluklu polietilen
HRMS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
ILIS	İzotop etiketli iç standart
IS	İç standart
ISO	Uluslararası Standartlar Örgütü
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
LDPE	Düşük yoğunluklu polietilen

L-PFOS	Lineer perflorooktansülfonik asit
LOD	Tespit sınırı
LOQ	Kantifikasyon sınırı
LRMS	Düşük çözünürlüklü kütle spektrometresi
ME	Matris etkisi
ML	Maksimum seviye
MRM	Çoklu reaksiyon izleme
NRL	Ulusal Referans Laboratuvarı
OFL	Resmi Laboratuvar
PEEK	Polieter eter keton
PFAS	Per- ve polifluoroalkil maddeler
PFCA	Perfloroalkil karboksilik asitler
PFHxA	Perfloroheksanoik asit
PFHxS	Perfloroheksan sülfonik asit
PFNA	Perflorononanoik asit
PFOA	Perflorooktanoik asit
PFOS	Perflorooktansülfonik asit
PFSA	Perfloroalkil sülfonik asitler
POP	Kalıcı organik kirleticiler
PTFE	Politetrafloroetilen
PVDF	Poliviniliden florür
QC	Kalite kontrol
RS	Geri kazanım standardı
RT	Alıkonma süresi
SANTE	Avrupa Komisyonu Sağlık ve Gıda Güvenliği Genel Müdürlüğü
S/N	Sinyal-gürültü oranı Seçilmiş
SRM	reaksiyon izleme
TDCA	Taurodeoksikolik asit
(U)HPLC	(Ultra) Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
w.w.	Yas ağırlık

1.3. Giriş

Bu belgede numune alma ile ilgili bilgi verilmemektedir. Okuyucu, belirli gıda maddelerinde perfloroalkil maddelerin kontrolü için numune alma ve analiz yöntemlerini belirleyen Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428'e [1] başvurabilir. Ayrıca, yemlerdeki PCDD/F'ler ve PCB'ler için Komisyon Yönetmeliği (EC) No 152/2009 [2] kullanılabilir, çünkü bu yönetmelikte verilen talimatların PFAS için de benzer olması beklenmektedir. Ek olarak, kontaminasyon riskini en aza indirmek için numune almada kullanılan tüm prosedürlerde politetrafloroetilen (PTFE) veya diğer floropolimerler içeren ekipmanların kullanımından kaçınılmalıdır.

1.4. Arka plan

Per- ve polifluoroalkil maddeler (PFAS), hidrofobik florlu alkil zinciri ve hidrofilik fonksiyonel gruptan oluşan bir grup insan yapımı organik bileşiktir. Bu sınıf bileşikler, perfluoroalkil parçacığı ($C_nF_{2n+1}-$) içeren tüm maddeleri içeren çok sayıda maddeyi içerir [3]. Poliflorlu maddelerde, bir veya daha fazla CF_2 parçası, karşılık gelen sayıda CH_2 grubu ile değiştirilir.

PFAS, 1950'lerden beri kullanılmaktadır. C-F bağının kararlılığı nedeniyle, birçok PFAS biyolojik, kimyasal ve fiziksel dönüşüme dirençlidir. Bazen "öncü maddeler" olarak adlandırılan bazı PFAS'lar, biyolojik, kimyasal ve fiziksel dönüşüm geçirerek kararlı PFAS'lara dönüşebilir. PFAS'lar, doğrudan veya dolaylı kullanımlarda monomerik veya polimerik maddeler olarak yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu nedenle çevrede (su, hava, toprak, tortular ve biyota) ve ayrıca gıdalarda, vahşi yaşamda ve insanlarda bulunmuştur.

En sık kullanılan üç PFAS, Kalıcı Organik Kirleticiler (POP) hakkındaki Stockholm Sözleşmesi'nin eklerinde listelenmiştir: 2009'da perfluorooktansülfonik asit (PFOS), perfluorooktanoik asit (PFOA) 2019'da ve perfluorheksan sülfonik asit (PFHxS) 2022'de – üretim ve kullanımlarının ortadan kaldırılması amacıyla [4]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yayınlanan en son bilimsel görüşte, PFOS, PFOA, PFHxS ve perfluorononanoik asit (PFNA) olmak üzere dört PFAS değerlendirilmiştir [5]. 1 Ocak 2023 tarihinden itibaren, PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS ve PFOS, PFOA, PFNA ve PFHxS'nin toplamına belirli gıda maddelerinde maksimum seviyeler uygulanmaktadır [6].

2023 yılında, Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (IARC) PFOS ve PFOA'nın kanserojenliğini yeniden değerlendirmiştir. PFOS artık insanlara karşı muhtemel kanserojen (Grup 2B) ve PFOA insanlara karşı kanserojen (Grup 1) olarak sınıflandırılmaktadır [7]. AB'de PFOA, şüpheli kanserojen ve insan üreme sistemi için toksik olduğu varsayılan madde olarak uyumlaştırılmış bir sınıflandırmaya sahiptir [8].

PFOS ve ilgili maddeler, esas olarak elektrokimyasal florlama işlemi (ECF) ile üretilmiştir ve bu nedenle, doğrusal (L-PFOS) ve dallı (br-PFOS) izomerlerin bir karışımı olarak bulunabilir. PFOA, doğrusal ve dallı izomerler üretmek için ECF süreciyle veya doğrusal ürünler elde etmek için pentafluoroetil iyodürden (PFOA durumunda) telomerizasyon süreciyle üretilmiştir. PFHxS için şu anda bilinen doğrudan kullanım alanı bulunmamaktadır. PFNA, floropolimer poliviniliden florür (PVDF) üretiminde yüzey aktif madde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca PFNA, PFOA ve perfluoroheksanoik asit (PFHxA) gibi kısa zincirli perfluoroalkil karboksilik asitlerin (PFCA) sentezinin bir yan ürünüdür.

2018 yılında, Avrupa Komisyonu Sağlık ve Gıda Güvenliği Genel Müdürlüğü (SANTE), gıda tüketiminden kaynaklanan PFAS'ın olumsuz etkilerinden insan sağlığını korumak amacıyla, yem ve gıdalardaki halojenli POP'lar konusunda Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı'ndan (EURL) gıdaların rutin analizinde düşük miktar sınırlarına ulaşmak için analitik parametreler ve koşullar geliştirmesini talep etti. Ardından, EURL'nin koordinasyonunda, perfluoroalkil maddelerle ilgili bir çekirdek çalışma grubu (kısaca "CWG PFAS") kuruldu.

1.5. Kapsam

Bu kılavuz belgede yer alan öneriler, PFAS analizine, özellikle PFCA ve perfloroalkil sülfonik asitler (PFSA), perflorooktansülfonamid (FOSA) ve gıda ve yem matrislerinde seçilen ikamelerin analizine uygulanır. Öneriler diğer PFAS'lara da uygulanabilir.

Öneriler, aşağıdaki konulara ilişkin çalışmaların bir parçası olarak gıda ve yemlerdeki PFAS konsantrasyonlarının izlenmesini sağlamak üzere tasarlanmıştır:

- bu kirleticilerin maksimum seviyelerinin belirlenmesi ve güncellenmesi,
- yasal sınırların önerilmesi için kullanılabilecek veritabanlarının oluşturulması veya
- sürdürülmesi,
- besin alımı yoluyla nüfusun maruz kalma düzeyinin değerlendirilmesi ve risk değerlendirmesi,
- uygulama (sınırlar belirlenmişse).

Diğer amaçlar arasında, özellikle bu tür kontaminasyonun meydana geldiği olaylarda olası kontaminasyonun kaynağını/kaynaklarını belirlemek için zaman eğilimleri ve modellerine ilişkin çalışmalar yer alabilir.

1.6. İlgili Alanındaki Analitler

Bu belgede verilen gereklilikler, gıda ve yem numunelerindeki aşağıdaki PFAS'lar (**Tablo 1**) için geçerlidir. PFCA ve PFSA benzer fiziko-kimyasal özelliklere sahiptir, tek bir analitik yöntemle yakalanabilir ve gıda ve yemlerde en çok endişe verici maddeler olarak tespit edilmiştir [5]. Ayrıca, FOSA ve PFAS ikameleri gibi yeni ortaya çıkan perfloroalkil maddeler de dikkate alınabilir (**Tablo 1**). Gereklilikler, diğer PFAS'ların (örneğin PFCA/PFSA öncülleri) ve matrislerin (insan dokuları, çevre numuneleri ve içme suyu gibi) analizine de uygulanabilir, ancak bunlar bu belgenin kapsamı dışındadır.

Tablo 1: İlgili konusu analitler

Kısaltma	Açıklama	Açıklama
Perfloroalkil Karboksilik Asitler (PFCA)		
PFBA	Perflorobütanoik asit	
PFPeA	Perfloropentanoik asit	
PFHxA	Perfloroheksanoik asit	
PFHpA	Perfloroheptanoik asit	
PFOA	Perflorooktanoik asit	Ana bileşik [5] (raporlarda "toplam PFOA" olarak belirtilmiştir)
PFNA	Perflorononanoik asit	Ana bileşik [5] (raporlarda "toplam PFNA" olarak belirtilmiştir)
PFDA	Perflorodekanoik asit	
PFUnDA	Perfloroundekanoik asit	
PFDODA	Perflorodekanoik asit	
PFTTrDA	Perflorotridekanoik asit	
PFTeDA	Perflorotetradekanoik asit	

Tablo 1 (devam)

Kısaltma	Açıklama	Açıklama
Perfloroalkil Sülfonik Asitler (PFSA)		
PFBS	Perflorobütan sülfonik asit	
PFPeS	Perfloropentan sülfonik asit	
PFHxS	Perfloroheksan sülfonik asit	Ana bileşik [5] ("toplam PFHxS" olarak rapor edilmiştir)
PFHpS	Perfloroheptan sülfonik asit	
PFOS	Perflorooktansülfonik asit	Ana bileşik [5] (raporlarda "toplam PFOS" olarak belirtilmiştir)
PFNS	Perflorononan sülfonik asit	
PFDS	Perflorodekan sülfonik asit	
PFUnDS	Perfloroundekan sülfonik asit	
PFDoDS	Perflorododekan sülfonik asit	
PFTrDS	Perflorotridekan sülfonik asit	
Perfloroalkan sülfonamidler		
FOSA	Perflorooktansülfonamid	
PFAS ikameleri		
DONA	(triflorometoksi)propoksi]-propiyonik asit	
GenX	2,3,3,3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy)-propanoik asit	
F-53B	2-[(6-chloro-1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6-dodecafluorhexyl)oxy]-1,1,2,2-tetrafluoroetansülfonik asit (9Cl-PF3ONS; F-53B'nin ana bileşeni)	
	2-((8-chloro-1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8-heksadekafluorooktil)oksi)-1,1,2,2-tetrafluoroetansülfonik asit (11Cl-PF3OUdS; F-53B'nin yan bileşeni)	
Capstone A	tridekafluorooktil)sülfonil]amino]-, hidroksit	
Capstone B	tridekafluorooktil)sülfonil]amino]-, hidroksit	

1.7. Terimler ve Tanımlar

Bu kılavuz belgesinde aşağıdaki terimler ve tanımlar geçerlidir:

Gerçeklik: Test sonucu ile kabul edilen referans değer arasındaki uyumun yakınlığı [9]. Doğruluk ve kesinlik belirlenerek tespit edilir [10].

Görünür geri kazanım: Kalibrasyon grafiği aracılığıyla analitik bir prosedürden elde edilen, yüzde olarak ifade edilen gözlemlenen değer [11]. *Örneğin, izotop etiketli iç standartlar kullanıldığında, geri kazanım ekstraksiyon/temizleme kayıpları ve matris etkileri için düzeltilir ve yaklaşık %100 olur.*

"Lot" olarak da adlandırılan parti: Tek tip koşullar altında üretildiği bilinen veya varsayılan bir miktar malzeme [12].

Bias: Test sonucunun tahmini değeri ile kabul edilen referans değeri arasındaki fark [10,9].

Körler:

- **Kalibrasyon körü:** İlgili analiti/analitleri tespit edilebilir düzeyde içermeyen bir kalibrasyon standardı [13].
- **Reaktif körü, "prosedür kör" olarak da adlandırılır:** Tüm ölçüm prosedürü boyunca getirilen ve test numunesi ile aynı şekilde analiz edilen matris içermeyen numune [14]. aynı şekilde analiz edilen numune [14].
- **"Matris körü" olarak da adlandırılan numune körü:** Analit içermeyen matris [13].
- **Çözücü körü:** Cihaza sunulan çözeltide bulunan çözücü(ler)den oluşan bir çözelti [13].

Standart ekleme veya kirletme: Geri kazanım tayini amacıyla analitin eklenmesi [15].

Girişim: Numunede bulunan eşlik eden maddelerin varlığından kaynaklanan sinyal ölçümünde sistematik hata [12].

Laboratuvarlar arası çalışma: Test performansını belirlemek için önceden belirlenmiş koşullara göre iki veya daha fazla laboratuvar tarafından aynı numune üzerinde testlerin düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi. Çalışma, amacına göre işbirliği çalışması veya yeterlilik çalışması olarak sınıflandırılabilir. [10]

İç standart (IS): Tanımlanması gereken analitin fiziko-kimyasal özelliklerine mümkün olduğunca benzer fiziko-kimyasal özelliklere sahip, numunede bulunmayan ve her numuneye ve her kalibrasyon standardına eklenen bir madde [16]. *İlgili izotop etiketli iç standartlar, analitlerin kantifikasyonu için temel olarak kullanılır.*

Hesaplama limiti veya Kantifikasyon sınırı (LOQ): Makul istatistiksel kesinlik ile ölçülebilen analitin en düşük içeriği [17], yani tam analitik yöntem ve tanımlama kriterleri uygulanarak kabul edilebilir doğrulukla doğrulanmış analitin en düşük konsantrasyonu veya kütlesi [15].

Alt sınır: Her bir niceliksel olarak belirlenmemiş benzer madde veya maddenin toplam parametreye katkısı için sıfırın kullanılması gereken kavram [17].

Matris: Numuneyi oluşturan malzeme.

Matris etkisi (ME): Analit dışındaki numunenin tüm bileşenlerinin miktarın ölçülmesi üzerindeki birleşik etkisi. Belirli bir bileşenin bir etkiye neden olduğu tespit edilebilirse, buna girişim denir [12]. *Matris etkisi (ME) genellikle % olarak ifade edilir ve aşağıdaki denklem 1'e göre hesaplanabilir [18].*

$$ME (\%) = \left(\frac{A_{\text{matris}}}{A_{\text{[çözücü]}}} - 1 \right) \times 100 \quad (\text{Denk. 1})$$

ile:

ME= Matris etkisi

A_{matris} = enjeksiyondan önce kör numune ekstraktına eklenen analitin pik alanı A_{solvent} = aynı konsantrasyondaki çözücü standardındaki analitin pik alanı

ME < 0 İyon sinyalinin bastırılması ME > 0

İyon sinyalinin güçlendirilmesi

Ölçüm belirsizliği: Bir ölçümün sonuçlarıyla ilişkili, ölçülen büyüklüğe (ölçülen miktar) makul olarak atfedilebilecek değerlerin dağılımını karakterize eden bir parametre [12].

Kesinlik: Belirlenmiş (önceden belirlenmiş) koşullar altında elde edilen bağımsız test/ölçüm sonuçları arasındaki uyumun yakınlığı. Kesinlik ölçüsü genellikle belirsizlik açısından ifade edilir ve test sonucunun standart sapması olarak hesaplanır. Daha az kesinlik, daha büyük bir standart sapma ile belirlenir. [10,9]

Geri kazanım, "ekstraksiyon geri kazanımı", "mutlak geri kazanım" veya "geri kazanım faktörü" olarak da adlandırılır: Analitik bir sürecin ön konsantrasyon veya ekstraksiyon aşamasında bir analit için elde edilen verim, orijinal numunedeki analit miktarına bölünerek *yüzde olarak ifade edilir [11].*

Geri kazanım standardı (RS), "sırınga/enjeksiyon/volumetrik standart" olarak da adlandırılır: numunede bulunmayan ve numune işleme ve cihaz analizi öncesinde bilinen bir konsantrasyonda her numuneye, kör numuneye veya standarda eklenen, kimyasal saflığı bilinen bir bileşik. Geri kazanım standartları, IS'nin miktarının belirlenmesi için kullanılabilir.

Tekrarlanabilirlik: Tekrarlanabilirlik koşulları altında hassasiyet, yani aynı laboratuvar, aynı operatör tarafından, aynı ekipman kullanılarak, kısa zaman aralıklarında, aynı test öğeleri üzerinde aynı yöntemle bağımsız test sonuçları elde edilen koşullar [9,10]. *Örneğin, üç tekrar, aynı yöntem ve numune malzemesi, aynı operatör ve aletler, kısa bir zaman aralığı içinde (bir gün/sıra).*

Seçicilik (kalitatif): Diğer maddelerin, belirli bir prosedüre göre bir maddenin tayinine müdahale etme derecesi [12].

Doğruluk: Büyük bir dizi test sonucundan elde edilen ortalama değer ile kabul edilen referans değer arasındaki uyumun yakınlığı [9,10]. Doğruluk genellikle sapma olarak ifade edilir [19].

Validasyon: Belirli bir öğenin, amaçlanan kullanım için yeterli olan belirli gereksinimleri karşıladığına dair objektif kanıt sağlanması [20].

Laboratuvar **içi tekrarlanabilirlik**, "*ara kesinlik*" olarak da adlandırılır. Aynı laboratuvar, bir dizi laboratuvar içi koşul altında elde edilen hassasiyet [10], yani test sonuçlarının aynı yöntemle, aynı test numunesiyle, bazı farklı çalışma koşulları altında elde edildiği koşullar. *Örneğin, farklı operatörler, farklı cihazlar, üç tekrar, belirli bir laboratuvar, üç gün/sekans boyunca üç konsantrasyon.*

NOT: Bu belgede kullanılan "yöntem" terimi, "prosedür" terimi ile eşanlamlı olarak kabul edilebilir.

1.8. Analitik Kalite Güvencesi için Kılavuz

1.8.1. Laboratuvarlar için Öneriler

Laboratuvarlar, analitik kalite güvencesini uyguladıklarından emin olmak için ISO/IEC 17011 [21] standardına uygun olarak faaliyet gösteren tanınmış bir kuruluş tarafından akredite edilmelidir. Yöntemler, ISO/IEC 17025 [20] standardına göre akredite edilmelidir.

Laboratuvarlar, EN ISO/IEC 17043 [22] uyarınca akredite kuruluşlar (örneğin EURL) tarafından yürütülen laboratuvarlar arası çalışmalara sürekli olarak başarılı bir şekilde katılarak, doğrulama ve sürekli iç kalite kontrol yoluyla, ilgili konsantrasyonlarda (yani LOQ ile örneğin LOQ'nun 100 katı ve/veya yasal sınırlar aralığı arasında) PFAS analizinde yeterliliklerini göstermelidir.

1.8.2. Numune Ön İşleme ve Depolama ile İlgili Genel Hususlar

Numuneler, numunenin bütünlüğünü koruyarak, ilgili PFAS içermediği kanıtlanabilen kaplarda (örneğin polipropilen/polietilen kaplar) saklanmalı ve taşınmalıdır.

Ekstraksiyon için kullanılan numune miktarı, önerilen LOQ'larda konsantrasyonlar da dahil olmak üzere yeterince düşük bir çalışma aralığına ilişkin gereklilikleri karşılamak için yeterli olmalıdır.

Söz konusu ürünler için kullanılan özel numune hazırlama prosedürleri, gıdalar için Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428 [1]'e uygun olmalıdır. Yemler için yasal belge bulunmamakla birlikte, numune hazırlama prosedürlerine ilişkin genel hususlar, örneğin Komisyon Tüzüğü (AT) No 152/2009 [2]'de bulunabilir.

1.8.3. Kontaminasyonu / Yüksek kör seviyelerini önlemek için genel hususlar

Laboratuvar, numune alma ve analiz prosedürünün her aşamasında çapraz kontaminasyonu önlemek için önlemler alınmalıdır.

Örnekleme ve örneklerin hazırlanması sırasında, PFAS içeriğini etkileyebilecek, analitik tayini olumsuz etkileyebilecek veya toplu örnekleri temsil edici olmaktan çıkarabilecek herhangi bir değişiklikten kaçınmak için önlemler alınmalıdır.

Örnekleme işleminden sorumlu kişi aşağıdaki önlemleri dikkate almalıdır: su ve leke tutmazlık özelliğini artırmak için floropolimer astarlı veya PFAS ile işlenmiş giysiler veya eldivenler giyilmemelidir; örnekleme gününde PFAS içeren nemlendiriciler, kozmetikler, el kremi, güneş kremleri ve ilgili ürünler kullanılmamalıdır.

Örnekleme, örnek saklama ve örnek aktarımı sırasında kullanılan malzemeler PFAS içermemelidir. Özellikle, örneğin floropolimer kesme tahtaları, örnekleme kapları, örnekleme kaplarının kapaklarının astarları gibi floropolimer malzemelerle (ör. PTFE, PVDF ve diğerleri) örneğin temas etmesini önleyin. Diğer PFAS içeren malzemelerle temastan kaçının.

Analist, yukarıda açıklanan önlemleri alarak numunelerin numune hazırlığı sırasında kontamine olmamasını sağlamalıdır. Ayrıca, mümkün olduğunca numuneyle temas eden aparat ve ekipman PFAS içermemeli ve örneğin paslanmaz çelik, yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) veya polipropilen parçalarla değiştirilmelidir. Bunlar, kontaminasyon riskini en aza indirmek için PFAS içermeyen su ve/veya PFAS içermeyen çözücüler ve deterjanlarla temizlenmelidir. [1]

Aşağıdaki (kapsamlı olmayan) liste, laboratuvarıda çapraz kontaminasyona neden olabilecek malzemeler/sarf malzemeleri hakkında genel bir fikir vermektedir:

- PTFE ürünleri (örneğin PTFE kaplı şişe kapakları)
- Alüminyum folyo
- Teflon™ ve diğer floropolimer içeren malzemeler
- Düşük yoğunluklu polietilen (LDPE)
- Decon 90
- Gore-Tex®
- Alet bakımı sırasında kullanılan yağlayıcılar

Analiz ve numune alma için kullanılan reaktifler ve diğer ekipmanlar, PFAS'ın olası girişimini veya kaybını önlemek için kontrol edilmelidir.

Matriksi su ile değiştirmeden tüm analitik prosedürü uygulayarak reaktif kör analizi yapılmalıdır. Reaktif körlerinin seviyeleri, kontrol tablosu çalıştırılarak her numune dizisinde ve zaman içinde izlenmelidir. İsteğe bağlı olarak başka körler (örn. çözücü körü, kalibrasyon körü) de izlenebilir. Bunlar, analizin farklı aşamalarında olası kontaminasyonu kontrol etmeye yardımcı olabilir.

1.8.4. Genel Kalite Kontrol Önlemleri

Reaktif körlerinin düzenli analizi ve takviye deneyleri veya kontrol numuneleri (tercihen (sertifikalı) referans malzemeler kullanılarak veya bunların bulunmaması durumunda, başarılı laboratuvarlar arası çalışmalardan elde edilen malzemeler kullanılarak) iç kalite kontrol önlemleri olarak gerçekleştirilmelidir. Reaktif körleri, takviye deneyleri veya kontrol numunelerindeki seviyeler kalite kontrol (QC) çizelgelerine kaydedilmeli ve analitik performansın gerekliliklere uygun olduğundan emin olmak için kontrol edilmelidir. [23]

1.9. Validasyon Parametreleri

Gıda ve yem numunelerinde PFAS'ın rutin analizi için laboratuvarlar, validasyon prosedürü ve rutin analiz sırasında metodolojinin performansını göstermelidir. Performans, LOQ'nun 1 katından örneğin LOQ'nun 100 katına kadar bir aralıkta gösterilmeli ve yasal sınırları (varsa) kapsamalıdır.

Tablo 2, rutin analizden önce gerçekleştirilmesi gereken validasyon çalışmaları için seçilen parametrelerin önerilerini sunmaktadır. Tanımlar bölüm 1.7'de bulunabilir.

Tablo 2: Validasyon çalışmaları ve rutin kalite kontrol önlemleri için öneriler

Matrislerin gruplandırılması	- Grup içindeki matrisler benzer fiziko-kimyasal özelliklere sahipse, bir matris grubunu temsil etmek için farklı gıda veya yem matrislerinin kullanılması - Matris gruplarına ilişkin örnekler, pestisitler için SANTE/12682/2019 sayılı belgenin Ek A'sında verilmiştir: örneğin süt ve süt ürünleri; et (kas) ve deniz ürünleri; vb. [15] - Önemli matris etkileri gözlemlenirse, analitler ve/veya yöntemler için daha fazla alt gruplandırma gerekli olabilir.
Analitik prosedürün seçiciliği	Benzer şekilde, analitik yöntemler, ilgi konusu analitleri, diğer birlikte ekstrakte edilen ve muhtemelen etkileşime girebilecek bileşiklerden güvenilir ve tutarlı bir şekilde ayırabilme yeteneğini gösterir
Doğruluk	- Kullanılan ölçüm süreci, bir numunedeki gerçek konsantrasyonun geçerli bir tahminini sağlamalıdır. - Doğruluk, sertifikalı referans malzemelerin düzenli analizi, takviye deneyleri veya laboratuvarlar arası çalışmalara katılım yoluyla tahmin edilebilir. laboratuvarlar arası çalışmalara katılımı tahmin edilebilir.
Keskinlik	Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen sonuçlardan hesaplanabilir.
Hesaplama limiti	Spesifik LOQ'lar Komisyon Tavsiye Kararı (AB) 2022/1431 [24]'de verilmiştir. Bunlar, yeni toksikolojik çalışmalar ve risk değerlendirmelerinden kaynaklanan yeni toksikolojik çalışmalar ve risk değerlendirmelerinden elde edilen değerlendirmelere göre revize edilebilir.

1.10. Cihaz

Kapsam dahilindeki analitlerin analizi için düşük çözünürlüklü veya yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (LRMS veya HRMS) ile birleştirilmiş (Ultra) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ((U)HPLC) önerilir.

1.10.1. LC Sistemi

LC sistemi, tutarlı numune enjeksiyon hacimleri sağlamalı ve sabit bir akış hızında ikili doğrusal gradyanlar gerçekleştirebilmelidir. Sistem bir günden fazla süreyle atıl durumda kaldığında, PFAS PTFE transfer hatlarında birikebilir. LC çözücü hatlarından yüksek PFAS seviyelerinin temizlenmesinde uzun gecikmeleri önlemek için, PTFE boruları polietere eter keton (PEEK) borularla ve PTFE çözücü fritleri paslanmaz çelik fritlerle değiştirmek faydalı olabilir. Ayrıca, numune döngüsünden önceki kaynaklardan (ör. mobil faz, bağlantı parçaları, tüpler) kaynaklanan PFAS'ın birlikte elüsyonunu önlemek için enjeksiyon valfinin önüne bir gecikme kolunu takılabilir. Enjeksiyon iğnesinin iyice durulanması, numune döngüsünde ve valflerde biriken PFAS'ın birlikte elüsyonunu azaltabilir.

1.10.2. Analitik Kolon

Laboratuvar LC kolonunu seçebilir. Önceki deneyimlere dayanarak, katı faz parçacıkları ile doldurulmuş bir C_{18} sıvı kromatografi kolonu önerilir (bkz. Ek).

1.10.3. Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi, pozitif ve negatif iyon modunda elektrosprey iyonizasyonu yapabilmelidir. Sistem, belirtilen tutma süresi segmentleri içinde analitler için spesifik ürün iyonları üretebilmelidir.

2. ÖZEL ANALİTİK GEREKLİLİKLER

2.1. Analitik Performans Kriterleri

Analitik performans kriterleri, kalite güvencesinin önemli bir unsurudur. Bu parametreler, bir yöntemin uygunluğu ve sonuçların kalitesi hakkında bilgi sağlar. Ortak kriterler, laboratuvarlar arasında sonuçların ve yöntemlerin karşılaştırılabilirliğinin temelini oluşturur.

Ancak, farklı kontrol amaçları farklı performans kriterleri gerektirir; yani, yasal olarak maksimum seviyeler (ML) öngörülen madde/matris kombinasyonları, mevcut ML'si olmayan madde/matris kombinasyonlarına göre daha sıkı kriterler gerektirir. **Tablo 3**, doğrulanması gereken PFAS analizi yöntemleri için kriterleri tanımlamaktadır. Her bir parametreye ilişkin daha ayrıntılı açıklamalar aşağıdaki bölümlerde verilmiştir.

Tablo 3: Maksimum seviyelerin uygunluk testi veya izleme amaçları için numunelerde analiz edilen PFAS için validasyon parametreleri ve performans özellikleri

Parametre	Maksimum seviyelerin a)	İzleme amaçları ^{b)}
Doğruluk)	$\pm \%20$ [1]	$\pm \%35$
Laboratuvar içi tekrarlanabilirlik (ara hassasiyet)	$\leq \%20$ [1]	$\leq \%25$
LOQ	Bkz. 2.1.5 ve Komisyon Tavsiye Kararı (AB) 2022/1431 [24]	

a) yalnızca yasal olarak tanımlanmış maksimum seviyelere sahip madde/matris kombinasyonları için

b) yasal olarak tanımlanmış maksimum seviyeleri olmayan madde/matris kombinasyonları ve yasal olarak tanımlanmış maksimum seviyeleri olan madde/matris kombinasyonları için, bölüm 2.1.5'te belirtilen LOQ'ları elde etmek amacıyla

c) veya görünür geri kazanım olarak ifade edilir (uygunluk testi için %80-120 ve izleme amaçları için %65-135)

2.1.1. Doğruluk

Doğruluk, sertifikalı referans materyallerin, zenginleştirme deneylerinin veya laboratuvarlar arası çalışmalara katılımın geniş bir dizi analizinden tahmin edilebilir ve maksimum seviyelerin uygunluk testi için -20 % ile +20 % arasında, izleme amaçları için ise -35 % ile +35 % arasında olmalıdır (**Tablo 3**).

2.1.2. Görünür Geri Kazanımı

Kalite kontrol numuneleri, iç kalite kontrol önlemleri olarak sık sık analiz edilmelidir. Kalite kontrol numunelerinde PFAS'ın görünür geri kazanımı %80-120 (uygunluk testi) ve %65-135 (izleme amaçlı) aralığında olmalıdır. Doğruluk kriteri karşılanabiliyorsa, bireysel sonuçlar için daha yüksek sapmalar kabul edilebilir.

2.1.3. Geri kazanım

Bir RS mevcutsa, eklenen IS'nin geri kazanımı kolaylıkla ölçülebilir. PFAS için, bireysel IS'lerin geri kazanımları, şu anda elde edilen sonuçları yansıtacak şekilde %30-140 aralığında olmalıdır.

2.1.4. Kesinlik

Hassasiyet, tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen sonuçlardan, örneğin rutin QC numunelerinden elde edilen sonuçlardan hesaplanabilir. Laboratuvar içi tekrarlanabilirlik, maksimum seviyelerin uygunluk testi için PFAS analizinde $\leq 20\%$ ve izleme amaçları için $\leq 25\%$ olmalıdır (**Tablo 3**).

2.1.5. Hesaplama Limiti

PFAS analizinde LOQ tahmini için, en düşük doğrulanmış seviye yaklaşımı önerilir [1,25]. Bu, LOQ'nun, tanımlama (bkz. 2.4.3), doğruluk ve hassasiyet (bkz. 2.1.1 ve 2.1.4) için ilgili kriterlerin karşılandığı kanıtlanmış, bir analitin başarıyla doğrulanmış en düşük seviyesi olduğu anlamına gelir.

Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428 Ek Bölüm B Tablo 5 [1]'e göre, PFOS, PFOA, PFNA ve PFHxS için LOQ, ilgili bireysel PFAS için maksimum seviyenin $\leq$ 'sidir.

Dört ayrı PFAS (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS) için, Komisyon Tavsiye Kararı (AB) 2022/1431 Numara 7'de verilen gösterge seviyeleri, belirli matrisler için ulaşılması gereken maksimum LOQ'ları yansıtmaktadır [24].

Ancak, bazı gıda numunelerinin bu seviyelerin altında konsantrasyonlar gösterdiği göz önüne alındığında, dört ayrı PFAS (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS) için 0,001 – 0,050 $\mu\text{g/kg w.w.}$ aralığında hedef LOQ'lar arzu edilir (Komisyon Tavsiye Kararı (AB) 2022/1431 Numara 6) [24].

NOT: Analitik yöntemin belirli amaçları (1.5'te tanımlandığı gibi), özellikle maruz kalma değerlendirmesi için daha da düşük LOQ'lar gerektirebilir.

LOQ'ların tahmininde, reaktif körleri aşağıdaki şekilde dikkate alınmalıdır:

- Maksimum seviyelerin uygunluk testi için: Reaktif kör seviyelerinin katkısı, hedef LOQ'nun %30'u olmalıdır ($\leq$). %30'dan yüksek katkı, LOQ'ların tahminine reaktif kör seviyelerinin dahil edilmesini gerektirir. Bölümlerde belirtildiği gibi, reaktif kör seviyelerinin LOQ tahminine dahil edilmesi gerekir. Bölümlerde belirtildiği gibi 1.8.3 ve 1.8.4'te belirtildiği gibi, reaktif kör seviyeleri her numune analizi dizisinde izlenmeli ve bir QC tablosuna kaydedilmelidir.
- İzleme amaçları için: Yüksek reaktif kör seviyeleri nedeniyle, en düşük doğrulanmış seviye yaklaşımı kullanılarak mümkün olan en düşük hedef LOQ elde edilemediği durumlarda LOQ, ortalama reaktif kör konsantrasyonunun 3,3 katı kullanılarak tahmin edilebilir (bkz. **Tablo 4**).

Tablo 4: İzleme amaçları için düşük LOQ'lar elde etmek üzere miktar tayin sınırının (LOQ) tahmini

	Hayali reaktif boş değerleri* (µg/kg)	LOQ hesaplaması	Sonuçta elde edilen LOQ (µg/kg)
Reaktif kör 1	0,028	3,3x ortalama reaktif kör	0,109
Reaktif körü 2	0,03		
Reaktif körü 3	0,048		
Reaktif körü 4	0,026		
Reaktif körü 5	0,029		
Ortalama (µg/kg)	0,033		
Standart sapma (µg/kg)	0,009		

*Ortalama reaktif kör değerini hesaplamak için en az beş reaktif kör kullanılması önerilir. Bu değerler, doğrulama sırasında (LOQ'yu tahmin etmek için) veya QC tablosundan (rutin analizde LOQ'yu izlemek için) belirlenebilir.

2.1.5.1. Dallı İzomerleri

Ayrı ayrı ölçülen tüm bileşenlerin (yani dallı izomerlerin toplamı, doğrusal izomer) LOQ'ları belirlenmelidir. Uygulamada iki durum söz konusudur (bkz. 2.3.1 ve 2.3.2):

- Dallı ve doğrusal izomerler içeren bir analitik standart kullanılarak dallı izomerlerin kantifikasyonu: dallı izomerlerin ve doğrusal izomerin toplamına ilişkin bireysel LOQ'lar belirlenmelidir;
- Doğrusal izomere karşı dallı izomerlerin kantifikasyonu: doğrusal izomer için kullanılan LOQ uygulanabilir.

2.1.5.2. Toplam Parametreleri

PFOS, PFOA, PFNA ve PFHxS'nin toplamı gibi toplam parametreler için, uygunluk testi için toplam LOQ gerekli değildir [1]. Bu, toplam PFOS, toplam PFNA, toplam PFHxS ve toplam PFOA için geçerlidir.

2.2. Metot validasyonu

Bölüm 1.9'da açıklandığı gibi, gıda ve yem numunelerinde PFAS'ın rutin analizinden önce, laboratuvarlar validasyon prosedürü sırasında metodolojilerinin performansını göstermelidir. Laboratuvar içi yöntem validasyonu, yöntemin amaçlanan amaca uygun olduğunu kanıtlamak için gereklidir. **Tablo 5**, yöntem validasyonu sırasında doğrulanacak parametreleri ve kriterleri özetlemektedir. Validasyon prosedürüne (minimum gereklilikler) pratik bir yaklaşım örneği aşağıda verilmiştir.

Tablo 5: Validasyon parametreleri ve kriterleri

Parametre	Açıklama	Kriter	Çapraz referans
Doğrusallık	Beş kalibrasyon seviyesinden doğrusallık kontrolü	Geri hesaplanan konsantrasyonun gerçek konsantrasyondan sapması $\leq \%$	-
Doğruluk	Test edilen her takviye seviyesi için ortalama görünür geri kazanım; "bias"	Tablo 3	Bölüm 2.1
Hassasiyet	Test edilen her takviye seviyesi için laboratuvar içi tekrarlanabilirlik Test edilen her takviye seviyesi için	Tablo 3	Bölüm 2.1
LOQ	Doğruluk ve kesinlik için tanımlama gerekliliklerini ve analitik performans kriterlerini karşılayan en düşük takviye seviyesi doğruluk ve kesinlik	-	Bölüm 2.1.5
İyon oranı, tutulma süresi	MS teknikleri için tanımlama gerekliliklerine uygunluğu kontrol edin gerekliliklerine uygunluğu kontrol edin	Tablo 8	Bölüm 2.4.3

Validasyon, yöntemin kapsamındaki tüm analitler için gerçekleştirilmelidir. Validasyon, yöntemin kapsamındaki tek bir matris (bkz. 2.2.1) veya bir matris grubu (bkz. 2.2.2) için gerçekleştirilebilir.

2.2.1. Örnek Yaklaşım: Tek Matriks

Genel bakış:

- Süre: ≥ 2 gün
- $\geq$ Operatör: 1 teknisyen
- $\geq$ Matris: 1 matris (ör. domuz eti) ile 5 farklı parti
- Reaktif körü: Sıra başına ≥ 1
- **Matris partisi başına** numune seti:
 - 1 numune körü
 - Hedef LOQ'nun 1 katı standart eklenmiş 1 numune
 - 1 başka bir daha yüksek seviyede zenginleştirilmiş numune, örneğin hedef LOQ'nun 2-50 katı aralığında
 - 1 başka bir daha yüksek seviyede zenginleştirilmiş numune, örneğin hedef LOQ'nun 50-100 katı aralığında
 - Ek numuneler ve zenginleştirme seviyeleri isteğe bağlıdır

NOT: Güçlendirme seviyeleri aralığı, yöntemin kapsamındaki tüm analitlerin ulaşılabilir LOQ'larını ve varsa ML'lerini kapsamalıdır.

Numune setinin özel özeti:

- Seçilen test materyali partilerinden bir dizi temsili miktar ($n \geq 4$) hazırlayın, örn. ≥ 5 farklı parti domuz eti (bkz. **Tablo 6**).
- Test materyali partilerinin yarısını (sayının tek olması durumunda, ortalamanın hemen altında veya üstünde bir sayı seçin) **hedef LOQ'nun 1 katı** ve en az **diğer iki daha yüksek seviyeyle**, örneğin hedef LOQ'nun 2-100 katı aralığında güçlendirin. Her partiden bir temsili miktar güçlendirilmeden bırakılır (= kör).
- Analizi gerçekleştirin.
- Her numunede tespit edilen konsantrasyonu hesaplayın.
- Bu adımları, en az **bir gün daha**, kalan test malzemesi partileriyle, farklı operatörlerle (mümkünse) ve mümkün olduğunca farklı çevre koşullarında, örneğin farklı reaktif partileri, çözücüler veya diğer parametrelerin varyasyonları (**Tablo 6**).
- Test edilen her takviye seviyesi için takviye edilmiş numunelerin ortalama konsantrasyonunu, standart sapmasını ve varyasyon katsayısını (%) belirleyin.
- Tablo 5**'teki parametreleri değerlendirin ve kriterlere göre doğrulayın.

Tablo 6: Bir matris (örneğin domuz eti) için validasyon yapıldığında validasyon numune seti örneği

	Parti 1	Parti 2	Parti 3	Parti 4	Parti 5
Test malzemesi	Domuz eti 1	Domuz eti 2	Domuz eti 3	Domuz eti 4	Domuz eti 5
Operatör	Teknisyen A	Teknisyen A	Teknisyen A (veya B)	Teknisyen A (veya B)	Teknisyen A (veya B)
Gün	1	1	1 veya 2	2	2
Eklenmiş standard seviyeleri	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ
	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin, 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ
	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ
Eklenmiş standard seviyesi ve	1	1	1	1	1
Operatör başına numune kör sayısı	1	1	1	1	1
Sekans başına reaktif kör sayısı	≥ 1				

NOT: Ek test materyali partileri, tekrarlar, günler, operatörler ve takviye seviyeleri isteğe bağlıdır.

Enstrümantal numune dizisi:

- Kalibrasyon standartları
- Reaktif körleri
- Numune körleri
- Standart eklenmiş numuneler
- Kalibrasyon standartları

2.2.2. Örnek Yaklaşım: Matris Grubu

Genel bakış:

- Süre: ≥ 2 gün
- Operatör: ≥ 2 teknisyen (mümkünse)
- Matris: $\geq$ Bir matris grubunun 5 farklı matrisi (bkz. bölüm 1.9'daki **Tablo 2**)
- Reaktif kör: Sıra başına ≥ 1
- **Matris partisi başına** numune seti:
 - 2 numune körü
 - Hedef LOQ'nun 1 katında 2 standart eklenmiş numune
 - 2 adet başka bir daha yüksek seviyede zenginleştirilmiş numune, örneğin hedef LOQ'nun 2-50 katı aralığında
 - 50-100x hedef LOQ aralığında başka bir daha yüksek seviyede 2 standart eklenmiş numune
 - Ek numuneler ve zenginleştirme seviyeleri isteğe bağlıdır

NOT: Güçlendirme seviyeleri aralığı, yöntemin kapsamındaki tüm analitlerin ulaşılabilir LOQ'larını ve varsa ML'lerini kapsamalıdır.

Örnek setinin özel genel görünümü:

- Seçilen test materyali partilerinden bir dizi temsili miktar ($n \geq 4$) hazırlayın, yani ≥ 5
- farklı test materyali partisi (örneğin domuz eti, kuzu eti, somon kası, pisi balığı kası ve sığır eti) hazırlayın (bkz. **Tablo 7**).
- Tüm test malzemesi partilerini, **hedef LOQ'nun 1 katı** ve en az **iki diğer daha yüksek seviyede**, örneğin hedef LOQ'nun 2-100 katı aralığında analitlerle zenginleştirin. Her parti için bir temsili miktar güçlendirilmemiş olarak kalır (= kör).
- Analizi gerçekleştirin.
- Her numunede tespit edilen konsantrasyonu hesaplayın.
- Bu adımları, tüm ($n \geq 5$) test malzemesi partileri için en az **bir başka günde ve farklı**
- **bir operatörle** (mümkünse) ve mümkün olduğunca farklı ortam koşullarında tekrarlayın.

mümkün olduğunca koşullar, örneğin farklı reaktif partileri, çözücüler veya diğer parametrelerin varyasyonları (Tablo 7).

- Test edilen her takviye seviyesi için takviye edilmiş numunelerin ortalama
- konsantrasyonunu, standart sapmasını ve varyasyon katsayısını (%) belirleyin.
- **Tablo 5**'teki parametreleri değerlendirin ve kriterlere göre doğrulayın.

Tablo 7: Bir **matris grubu** (örneğin et (kas) ve deniz ürünleri) için validasyon yapılması durumunda validasyon numune seti örneği

	Parti 1	Parti 2	Parti 3	Parti 4	Parti 5
Test malzemesi	Domuz eti	Kuzu eti	Somon balığı kası	Pisi balığı kası	Sığır eti
Operatör	Teknisyen A ve B	Teknisyen A ve B	Teknisyen A ve B	Teknisyen A ve B	Teknisyen A ve B
Gün	1 ve 2	1 ve 2	1 ve 2	1 ve 2	1 ve 2
Güçlendirme seviyeleri	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ	1x hedef LOQ
	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ	Örneğin 5x hedef LOQ
	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ	Örneğin 50x hedef LOQ
Güçlendirme seviyesi ve operatör başına tekrar sayısı	1	1	1	1	1
Operatör başına numune kör sayısı	1	1	1	1	1
Sekans başına reaktif kör sayısı	≥ 1				

NOT: Ek test materyali partileri, tekrarlar, günler, operatörler ve takviye seviyeleri isteğe bağlıdır.

Enstrümantal numune dizisi:

- Kalibrasyon standartları
- Reaktif körleri
- Kör numuneler
- Standart eklenmiş numuneler
- Kalibrasyon standartları

2.3. Kantifikasyon

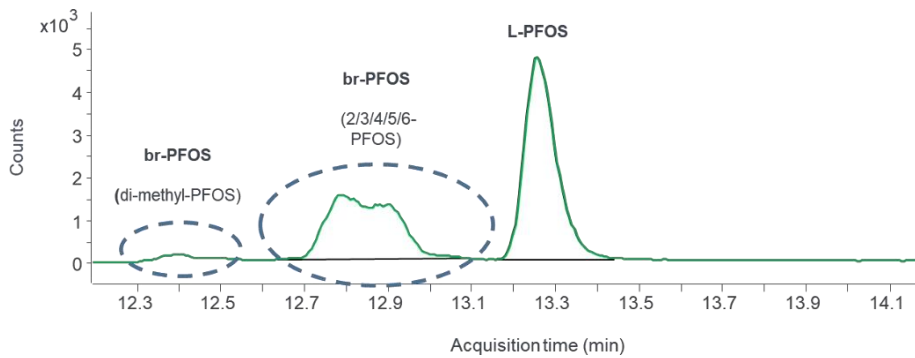
Analitik prosedürün tamamını valide etmek için, IS ilavesi analitik yöntemin en başında, örneğin ekstraksiyondan önce gerçekleştirilmelidir.

En az dört ana bileşiğin (**Tablo 1**) izotop etiketli IS (ILIS) kullanılması tercih edilir, çünkü bu, miktar tayininin güvenilirliğini artıracaktır.

Ek PFAS (ILIS bulunmayan) aynı anda belirleniyorsa, uygun¹izotop etiketli PFAS kullanılarak göreceli tepki faktörleri belirlenmelidir. Bunların geçerliliği, uygun kalibrasyon çözeltileri veya referans malzemeleri kullanılarak doğrulanabilir.

2.3.1. PFOS

1-PFOS, C₁₈ kolonlarında genellikle L-PFOS ile birlikte elüe olur ve br-PFOSK²standardına sadece %1 katkıda bulunur. Dimetil ikameli dallı izomerlerin konsantrasyonunun ihmal edilebilir derecede düşük olduğu düşünülmektedir. Br-PFOS'un tutma süresinin belirlenmesi için, her sekansla birlikte br-PFOS ve doğrusal PFOS (ör. br-PFOSK) karışımı içeren doğal bir PFOS standardının ölçülmesi önerilir.



Şekil 1: Teknik PFOS standardının doğrusal PFOS (L-PFOS) ve dallı izomerlerinin (br-PFOS) ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı (kütle geçişi m/z 499 → 80).

Toplam PFOS'un miktarının belirlenmesi, L-PFOS ve br-PFOS'u içermelidir (**Şekil 1**). br-PFOS, L-PFOS'tan kromatografik olarak ayrılmamışsa, toplam PFOS, L-PFOS kullanılarak belirlenebilir. br-PFOS, L-PFOS'tan kromatografik olarak ayrılmışsa, br-PFOS aşağıdaki yaklaşımlardan biri kullanılarak miktarı belirlenebilir:

- Bilinen bir oranda br-PFOS ve doğrusal PFOS (ör. br-PFOSK) karışımı içeren analitik PFOS standardı kullanılarak br-PFOS'a karşı br-PFOS'un miktarının belirlenmesi,
- Fragman iyonları ölçüm için kullanılıyorsa (tipik olarak LRMS), doğrusal PFOS standardı kullanılarak br-PFOS'un L-PFOS'a göre ölçülmesi ve m/z 499 → 99 ile m/z 499 → 80 kütle geçişlerinin ortalamasının hesaplanması.
- İyon m/z 499 kullanılırsa (tipik olarak HRMS).

¹ örneğin, kromatografik olarak en yakın mevcut ILIS

² Potasyum perflorooktansülfonat (doğrusal ve dallı izomerler), CAS numarası mevcut değil

Bu nicelme prosedürleri, yöntem geliştirmedeki zorluklar göz önüne alındığında, yazarlar tarafından en pragmatik ve doğru yaklaşımlar olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, CWG PFAS üyeleri arasında yapılan karşılaştırmalı bir çalışma, bu yaklaşımların sonuçlarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığını göstermiştir [26]. Ayrıca, Orbitrap ile elde edilen sonuçlar, iyon m/z 499'un L-PFOS ve br-PFOS için eşit tepki verdiğini ve bu nedenle Orbitrap ile nicelme için kullanılabileceğini göstermiştir. Diğer HRMS sistemlerinin kullanıcılarının, cihazlarının benzer sonuçlar verip vermediğini test etmeleri önerilir.

2.3.2. PFOA, PFHxS, PFNA

PFOA, PFHxS ve PFNA'nın nicelendirilmesi, doğrusal ve dallı izomerleri içermelidir. PFOS'un nicelendirilmesi için kullanılan yaklaşımlar (bkz. 2.3.1) PFOA, PFHxS ve PFNA için de geçerlidir. PFOA, PFHxS ve PFNA'nın doğrusal ve dallı izomerlerini içeren analitik standartlar ticari olarak temin edilebilir.

NOT: PFOA, PFHxS ve PFNA'nın dallı izomerleri daha az yaygındır ve gıda numunelerinde PFOS'un dallı izomerlerine göre daha az sıklıkla tespit edilebilir.

2.4. Ölçüm

2.4.1. Girişim Yapan Maddelerin Dışlanması

PFAS'ın etkileşimli (örneğin taurodeoksikolik asit) veya diğer olası koelüe olan etkileşimli maddelerden ayrılması, uygun numune hazırlama yöntemleri ve/veya kromatografi/kütle spektrometresi teknikleri ile gerçekleştirilmelidir.

NOT: Taurodeoksikolik asit (TDCA), karaciğer hücrelerinde oluşan ve normalde hayvansal kaynaklı matrislerde (özellikle yumurta ve sakatatta) bulunan endojen bir bileşiktir. Tipik c_{18}

LC kolonu ayırma koşullarında, PFOS (499 → 80) ile aynı tutma süresinde elüe olur ve aynı kütle geçişini paylaşır. Bu, yanlış pozitif tanımlamaya veya PFOS konsantrasyonunun fazla raporlanmasına yol açabilir. Bu nedenle, TDCA, uygun numune hazırlama yöntemleri kullanılarak ENVI-Carb veya uygun LC ayırma yöntemleri (örn. FluoroSep RP Octyl kolonu) ile uzaklaştırılmalıdır. [27,28] Alternatif olarak, PFOS'un miktarının belirlenmesi için girişimsiz 499 → 99 kütle geçişi kullanılabilir. Ancak bu kütle geçişi,

499 → 80 geçişinden daha az duyarlıdır ve bu nedenle PFOS için daha yüksek bir LOQ'ya yol açar [28].

Ayrıca, PFBA için doku ve PFPeA için kabuklu deniz ürünleri ve sıcak kakao gibi gıdalarda müdahale edici maddeler (yani yağ asitleri) bildirilmiştir [29,30].

2.4.2. Analitik Kalibrasyon

Kalibrasyon eğrisinin alt aralığı, PFAS için LOQ (veya hedef LOQ) ile gösterilir. Bu, mevcut literatürde bildirilen PFAS konsantrasyonlarını veya belirlenmiş yasal sınırları yansıtacak şekilde, aralığın üst sınırında 5,0 ile 50 $\mu\text{g/kg}$ arasında olmalıdır. Beklenen konsantrasyon aralığını kapsayan ilk kalibrasyon eğrisini hazırlamak için en az beş kalibrasyon konsantrasyonu gereklidir. Kalibrasyon eğrisi birkaç büyüklük sırasını kapsıyorsa, ağırlık faktörlerinin (ör. 1/x) kullanılması önerilir.

2.4.3. 'ın Tanımlama Gereklikleri

Tablo 8'de, PFAS'ın güvenilir analizi için kütle spektrometrik performans ve tepe tanımlama kriterleri listelenmiştir. Daha fazla tanımlama ve validasyon kriterleri, örneğin içme suyundaki PFAS [31] ve pestisitler [15] için uluslararası standartlaştırılmış yöntemlerde açıklanmaktadır.

Tablo 8: Farklı LC-MS teknikleri için kütle spektrometrik performans ve tepe tanımlama kriterleri

(U)HPLC-LRMS	Birim kütle çözünürlüğü
Tipik sistemler (örnekler)	MS/MS üçlü dört kutuplu, iyon tuzağı, Q-tuzağı
Toplama	Örneğin, seçilmiş veya çoklu reaksiyon izleme (SRM, MRM)
Minimum iyon sayısı	2 ürün iyonu
İyon oranı	Numune ekstraktlarından elde edilen iyon oranı, aynı dizideki kalibrasyon standartlarının ortalamasının %30'u ($\pm$) içinde olmalıdır. aynı dizideki kalibrasyon standartlarının ortalamasının %30'u (xml-ph-0000@deepl.internal) içinde olmalıdır.
Sinyal-gürültü (S/N) oranı	≥ 3
Tutma süresi (RT)	Analitin kromatografik RT'sinin IS'nin RT'sine oranı (yani analitin göreceli RT'si), maksimum %1 sapma ile kalibrasyon standardının oranına karşılık gelmelidir. (NOT: Yalnızca izotopik olarak etiketlenmiş analogu olan analitler için geçerlidir.)
Diğer	Çıkarılan iyon kromatogramlarındaki her iki geçişten gelen analit pikleri kromatogramlarından alınan analit pikleri tamamen örtüşmelidir.
(U)HPLC-HRMS	Doğru kütle çözünürlüğü
Tipik sistemler (örnekler)	Yüksek çözünürlüklü MS: (Q-)TOF, (Q-)Orbitrap
Kütle çözünürlüğü	$\geq 10\,000$ %10 vadi (tüm kütle aralığı için)
Toplama	Örneğin tam tarama, tüm iyon parçalanması (AIF) ^{MSE} , paralel reaksiyon izleme (PRM), veriye bağlı ^{MS2}
Minimum iyon sayısı	≤ 5 ppm ^g kütle doğruluğuna sahip 2 iyon ^h
Sinyal-gürültü (S/N) oranı	≥ 3
Tutma süresi (RT)	Analitin kromatografik RT'sinin IS'nin RT'sine oranı (yani analitin göreceli RT'si), maksimum %1 sapma ile kalibrasyon standardının oranına karşılık gelmelidir. (NOT: Yalnızca izotopik olarak etiketlenmiş analogları olan analitler için geçerlidir.)
Diğer	Ekstrakt iyon kromatogramlarındaki öncü ve/veya ürün iyonlarından kaynaklanan analit pikleri kromatogramlarındaki diğer analit pikleri tamamen üst üste gelmelidir.

^{e)} aynı MS/MS koşullarını, özellikle çarpışma enerjisi ve çarpışma gazı basıncını, bir analitin her geçişi için uygulamak

^{f)} tercihen moleküler iyon, (de)protonlanmış molekül veya adükt iyon ve en az bir fragman iyonu içeren

^{g)} <1 mDa için m/z <200

NOT: Yalnızca bir spesifik MS/MS geçişine sahip PFAS'lar (örn. PFBA, PFPeA) ikinci bir kromatografik ayırma yöntemi (yani farklı bir analitik kolon ve elüent üzerinde ikincil LC elüsyonu kullanımı) veya başka bir MS yöntemi (örn. yüksek çözünürlüklü MS kullanımı) kullanılarak doğrulanmalıdır.

2.5. Sonuçlarının Raporlanması

Test numunelerinde belirlenen konsantrasyonlar, gıda için µg/kg yağ ağırlık veya yem için µg/kg ürün birimlerinde ifade edilmelidir (isteğe bağlı olarak, nem içeriği %12 olan bir yemle ilgili olarak). Sonuçlar, sırasıyla anyonlar³ veya nötr bileşikler⁴ olarak ve iki anlamlı rakamla raporlanmalıdır (bkz. 2.5.1).

Verilerin yorumlanmasına yardımcı olmak için ölçüm belirsizliği (bkz. 2.5.2) de dahil edilmelidir. Analiz sonuçları $x \pm U$ olarak raporlanmalıdır; burada x analiz sonucudur ve U, yaklaşık %95 güven aralığı sağlayan 2 kapsama faktörü kullanılarak genişletilmiş ölçüm belirsizliğidir.

PFOS, "toplam PFOS" olarak ve ayrıca mümkünse L-PFOS ve br-PFOS olarak raporlanmalıdır.

Tüm hedef analitler ayrı ayrı konsantrasyonlar olarak ve PFOA, PFOS, PFNA ve PFHxS ayrıca alt sınır toplam konsantrasyon (Σ PFOA, PFNA, PFOS, PFHxS) olarak raporlanmalıdır.

NOT: En az iki MS/MS geçişi ile doğrulanmış PFAS konsantrasyonları raporlanmalıdır. Aksi takdirde, sonucu doğrulamak için farklı bir kromatografik yöntem veya başka bir MS yöntemi kullanılmalıdır (bkz. 2.4.3). Bu mümkün değilse, sonucun yeterince doğrulanmadığı bilgisi raporlama formatına dahil edilmelidir⁵.

Rapora (isteğe bağlı olarak) dahil edilmesi gereken ek bilgiler:

- PFAS için ekstraksiyon ve saflaştırma için kullanılan yöntemler hakkında bilgi dahil edilmelidir – bu bilgi temel olabilir, örneğin analizde kullanılan tekniklerin belirtilmesi
- Bildirilen verilerin değerlendirilmesine yardımcı olmak için, tek tek iç standartların geri kazanımları da dahil edilebilir.
- Yem verileri ayrıca, belirlenen nem içeriği ile birlikte %12 nem içeriğine sahip bir yemle karşılaştırmalı olarak µg/kg ürün olarak da rapor edilebilir.

2.5.1. Sonuçlarının Yuvarlanması

Sonuçlar iki anlamlı rakama yuvarlanmalıdır.

Sonucun yuvarlanması için aşağıdaki genel kurallar önerilmektedir:

- a) Birincil sonuçta yuvarlanacak rakamın ardından gelen rakam 5'ten küçükse (0, 1, 2, 3, 4), önceki rakam değişmez.
- b) Birincil sonuçta yuvarlanacak rakamın ardından gelen rakam 5 veya daha fazla ise (5, 6, 7, 8, 9), önceki rakam bir birim yukarı yuvarlanır.

³ anyon olarak mevcutsa (örneğin PFCA, PFSA)

⁴ anyon olarak mevcut değilse (örneğin FOSA)

⁵ EFSA'ya tanımlama doğrulama düzeyini bildirmek için, "anmethText" değişkenindeki açık metin, analitik yöntem veya analizle ilgili ek bilgileri bildirmek için kullanılabilir.

- c) Genişletilmiş ölçüm belirsizliği, yuvarlanan nihai sonuç kullanılarak tahmin edilecektir.
d) Genişletilmiş belirsizliğin değeri, (ikinci tutulan olmayan basamak yuvarlandıktan sonra) ilk tutulan olmayan basamak 0 olmadığı sürece her zaman yukarı yuvarlanır. Genişletilmiş belirsizliğin değeri, yuvarlanan sonuçla aynı sayıda ondalık basamakla verilmelidir.

Örnek:

1. Birincil sonuç= 0,5678 µg/kg
2. İki anlamlı rakama yuvarlanan birincil sonuç= **0,57 µg/kg** (nihai sonuç)
3. Genişletilmiş ölçüm belirsizliği için birincil değer (ör. %30)= 0,57 x 0,3 = 0,171 µg/kg
4. **Genişletilmiş ölçüm belirsizliğinin yuvarlanmış değeri= 0,18 µg/kg (iki anlamlı rakam)**
5. **Bildirilen sonuç = 0,57 µg/kg ± 0,18 µg/kg (k= 2; %95)**

2.5.2. Ölçüm Belirsizliği

Bireysel birleşik belirsizlik u için ilk tahmin olarak laboratuvar içi tekrarlanabilirlik standart sapması kullanılabilir. Ancak, mümkünse, sapmanın belirsizliği (sabit laboratuvar sapması düzeltildikten sonra) ölçüm belirsizliği tahminine dahil edilmelidir. Bu, aşağıdakilerden elde edilebilir a) sertifikalı referans malzemelerin analizi, b) yeterlilik testlerine katılım veya c) takviye deneyleri. Tahminle ilgili daha fazla bilgi [32–34]'te bulunabilir.

Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428'e göre, yaklaşık %95 güven seviyesi sağlayan 2'lik bir kapsama faktörü, genişletilmiş belirsizlik U için kullanılır [1].

Toplam parametrelerin raporlanması ve yasal sınırlarla olası karşılaştırma, bu toplam parametreler için birleşik belirsizlik u ve genişletilmiş ölçüm belirsizliği U'nun ek olarak tahmin edilmesini gerektirir. PFAS için bu, PFOS, PFOA, PFNA ve PFHxS'nin toplamı ve örneğin L- ve br-PFOS'un toplamı olarak hesaplanan toplam PFOS için geçerlidir. [1]

Bu durumlarda, toplam parametrenin birleşik belirsizliği u (mutlak değer olarak) hesaplaması, birleşik belirsizliklerin tek tek mutlak değerlerinin karelerinin toplamının karekökü olarak hesaplanır (denklem 2). Bu hesaplamalar için, tek tek maddelerin yuvarlatılmış sonuçları ve belirsizlikleri kullanılabilir. Daha sonra, bölüm 2.5.1'e göre ilave yuvarlama yapılır.

$$u_{sum(abs)} = \sqrt{\sum_{i=1}^n u_{i(abs)}^2} \quad (\text{Denklem 2})$$

ile:

$u_{sum(abs)}$ = toplam parametresinin mutlak birleşik ölçüm belirsizliği $u_{i(abs)}$ = tek tek parametrelerin mutlak birleşik ölçüm belirsizliği

Toplam parametre için genişletilmiş belirsizlik, toplama katkıda bulunan tek tek maddelerin içeriğine bağlıdır ve toplam parametreler için standartlaştırılmaz.

Örnek:

Tablo 9: PFOS, PFOA, PFNA ve PFHxS toplamının ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasına ilişkin örnek

	PFOS toplamı	PFOA	PFNA	PFHxS
İçerik (yuvarlatılmış) [µg/kg]	5,5	0,66	0,35	0,12
Göreceli genişletilmiş belirsizlik $U_{(rel)}$	%20	%20	%20	%
Göreceli birleşik belirsizlik $U_{(rel)}$	%	%	%	%
Mutlak birleşik belirsizlik $U_{(abs)}$ (yuvarlatılmış) [µg/kg]	0,55	0,066	0,035	0,012

$İçerik_{toplam} = 5,5 + 0,66 + 0,35 + 0,12 = 6,6 \text{ [µg/kg]}$ (iki anlamlı rakama yuvarlanmış) $U_{toplam(abs)} =$

$$\sqrt{0,55^2 + 0,066^2 + 0,035^2 + 0,012^2} = 0,555180 \text{ [µg/kg]}$$

$$U_{sum(abs)} = 0,555180 \times 2 = 1,11036 \text{ [µg/kg]}$$

$$U_{toplam(abs)} = 1,1 \text{ [µg/kg]} \text{ (iki anlamlı rakama yuvarlanmış)}$$

PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS toplamının raporlanan sonucu = $6,6 \text{ µg/kg} \pm 1,1 \text{ µg/kg}$ ($k=2$; 95 %)

PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS toplamının göreceli genişletilmiş belirsizlik U : %18

3. KAYNAKLAR

- [1] Bazı gıda maddelerinde perfloroalkil maddelerin kontrolü için numune alma ve analiz yöntemlerini belirleyen 24 Ağustos 2022 tarihli Komisyon Uygulama Tüzüğü (AB) 2022/1428.
- [2] Yemlerin resmi kontrolü için numune alma ve analiz yöntemlerini belirleyen 27 Ocak 2009 tarihli Komisyon Yönetmeliği (EC) No 152/2009.
- [3] R.C. Buck, J. Franklin, U. Berger, J.M. Conder, I.T. Cousins, P. de Voogt, A.A. Jensen, K. Kannan, S.A. Mabury, S.P.J. van Leeuwen, Çevrede Perfloroalkil ve Polifloroalkil Maddeler: Terminoloji, Sınıflandırma ve Kaynaklar, Entegre çevre değerlendirme ve yönetimi 7 (2011) 513–541.
- [4] Stockholm Sözleşmesi, Stockholm Sözleşmesinde POP'ların Listesi.
- [5] Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) CONTAM Paneli (Gıda Zincirindeki Kirleticiler EFSA Paneli), Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom LR, Leblanc J-C, Nebbia CS, Nielsen E, Ntzani E, Petersen A, Sand S, Vleminckx C, Wallace H, Barregard L, Ceccatelli S, Cravedi J-P, Halldorsson TI, Haug LS, Johansson N, Knutsen HK, Rose M, Roudot A-C, Van Loveren H, Vollmer G, Mackay K, Riolo F ve Schwerdtle T, Gıdalarda perfloroalkil maddelerin varlığının insan sağlığı için oluşturduğu risk, EFSA Dergisi 18 (2020).
- [6] Gıdalardaki belirli kirleticiler maddelerin azami seviyeleri ve 1881/2006 sayılı Tüzüğün yürürlükten kaldırılması hakkında 25 Nisan 2023 tarihli Komisyon Tüzüğü (AB) 2023/915.
- [7] Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (IARC), Perflorooktanoik asit (PFOA) ve perflorooktansülfonik asit (PFOS), IARC Monogr Identif Carcinog Hazards Hum (2023).
- [8] Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), Gıda Zincirindeki Kirleticiler Bilimsel Paneli'nin Perflorooktansülfonat (PFOS), perflorooktanoik asit (PFOA) ve bunların tuzları hakkındaki görüşü, EFSA Dergisi (2008) 1–131.
- [9] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO 3534-1:1993 Kalite kontrol için istatistiksel yöntemler - Cilt 1 kelime dağarcığı ve semboller, Cenevre, İsviçre.
- [10] Gıda üreten hayvanlarda kullanılan farmakolojik olarak aktif maddelerin kalıntıları için analitik yöntemlerin uygulanması, sonuçların yorumlanması ve numune alma için kullanılacak yöntemler ile 2002/657/EC ve 98/179/EC sayılı Kararların yürürlükten kaldırılmasına ilişkin 22 Mart 2021 tarihli ve 2021/808 sayılı Komisyon Uygulama Tüzüğü.
- [11] D. T. Burns, K. Danzer, A. Townshend, Analitik prosedürlerde "geri kazanım" ve "görünür geri kazanım" terimlerinin kullanımı (IUPAC Tavsiyeleri 2002), Saf ve Uygulamalı Kimya 74 (2002) 2201–2205.
- [12] IUPAC, Kimya Terminolojisi Özeti ("Altın Kitap"), A. D. McNaught ve A. Wilkinson tarafından derlenmiştir, Oxford, Birleşik Krallık, 1997.
- [13] H. Cantwel, Yöntem Doğrulamasında Körler - Eurachem Kılavuzu'na Ek Analitik Yöntemlerin Amaca Uygunluğu, 2019.

- [14] IUPAC Analitik Kimya Bölümü, Analitik Terminoloji Özeti (IUPAC 'Turuncu Kitap'), J. Inczedy, T. Lengyel ve A.M. Ure tarafından yayınlanmak üzere hazırlanmış, Blackwell Science, Oxford, Birleşik Krallık, 1998.
- [15] Avrupa Komisyonu, Sağlık ve Gıda Güvenliği Genel Müdürlüğü, Gıda ve Yemlerdeki Pestisit Kalıntılarının Analizi için Analitik Kalite Kontrolü ve Yöntem Doğrulama Prosedürleri, SANTE/11312/2021 (V2) belgesi, 01.01.2024 tarihinden itibaren geçerlidir. https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727&LabID=100&Lang=EN. (erişim tarihi: 05.09.2024)
- [16] Analitik yöntemlerin performansı ve sonuçların yorumlanması ile ilgili 96/23/EC sayılı Konsey Direktifini uygulayan 12 Ağustos 2002 tarihli Komisyon Kararı.
- [17] Belirli gıda maddelerindeki dioksin, dioksin benzeri PCB ve dioksin benzeri olmayan PCB seviyelerinin kontrolüne ilişkin numune alma ve analiz yöntemlerini belirleyen ve (AB) 589/2014 sayılı Tüzüğü yürürlükten kaldıran 5 Nisan 2017 tarihli (AB) 2017/644 sayılı Komisyon Tüzüğü.
- [18] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO/IEC Kılavuzu 58:1993 Kalibrasyon ve test laboratuvarı akreditasyon sistemleri — İşletme ve tanınma için genel şartlar, Cenevre, İsviçre.
- [19] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO 5725-1:1994 Ölçüm yöntemleri ve sonuçlarının doğruluğu (gerçeklik ve hassasiyet) — Bölüm 1: Genel ilkeler ve tanımlar, Cenevre, İsviçre.
- [20] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO/IEC 17025:2017 Test ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel gereklilikler, Cenevre, İsviçre.
- [21] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO/IEC 17011:2017 Uygunluk değerlendirmesi — Uygunluk değerlendirme kuruluşlarını akredite eden akreditasyon kuruluşları için gereklilikler, Cenevre, İsviçre.
- [22] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO/IEC 17043:2010 Uygunluk değerlendirmesi — Yeterlilik testi için genel gereklilikler, Cenevre, İsviçre.
- [23] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO 7870-1:2019-11 Kontrol çizelgeleri - Bölüm 1: Genel kılavuzlar, Cenevre, İsviçre.
- [24] Gıdalardaki perfloroalkil maddelerin izlenmesine ilişkin 24 Ağustos 2022 tarihli Komisyon Tavsiye Kararı (AB) 2022/1431.
- [25] T. Wenzl, J. Haedrich, A. Schaechtele, P. Robouch, J. Stroka, Yem ve Gıdalardaki Kirleticiler Alanında Ölçümler için LOD ve LOQ Tahminine İlişkin Kılavuz Belge, Avrupa Birliği Yayınları Ofisi, Lüksemburg, 2016.
- [26] Yem ve Gıdalarda Halojenli POP'lar için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı, Domuz Karaciğerinde Doğrusal, Dallı ve Toplam PFOS'un Belirlenmesine İlişkin Karşılaştırmalı Çalışma. Nihai Rapor Sürüm 1.0. https://eurl-pops.eu/user/pages/05.news/eurl-comparative-study-br-pfos-2023/Comparative%20Study_br-PFOS_2023.pdf?q-64cde584. (erişim tarihi: 05.09.2024)
- [27] M. Sadia, L. W. Y. Yeung, H. Fiedler, Gıdalarda seçilmiş perfloroalkil asitlerin iz düzeyinde analizi: Yöntem geliştirme ve veri üretimi, Çevre kirliliği 263(Pt A): 113721 (2020) 1–9.

- [28] J.P. Benskin, M. Bataineh, J.W. Martin, Sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi ile perfloroalkil karboksilat, sülfonat ve sülfonamid izomerlerinin eşzamanlı karakterizasyonu, Analitik kimya 79 (2007) 6455–6464.
- [29] J. T. Bangma, J. Reiner, R. C. Fry, T. Manuck, J. McCord, M. J. Strynar, Biyolojik Numunelerde Perflorobütanoik Asit için Analitik Yöntem Girişiminin Tanımlanması, Çevre bilimi ve teknolojisi mektubu 8 (2021) 1085–1090.
- [30] J. Bangma, J. McCord, N. Giffard, K. Buckman, J. Petali, C. Chen, D. Amparo, B. Turpin, G. Morrison, M. Strynar, Biyolojik ve çevresel numunelerde perfloropentanoik asit (PFPeA) ve perflorobütanoik asit (PFBA) için analitik yöntem girişimleri, Chemosphere 315 (2023) 137722.
- [31] J. Shoemaker ve D. Tetterhorst, Yöntem 537.1:2020 Katı Faz Ekstraksiyonu ve Sıvı Kromatografi/Tandem ile İçme Suyunda Seçilmiş Per- ve Poliflorlu Alkil Maddelerin Belirlenmesi Kütle Spektrometri (LC/MS/MS) ile İçme Suyunda Seçilmiş Per- ve Poliflorlu Alkil Maddelerin Belirlenmesi. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?dirEntryId=343042&Lab=NERL. (erişim tarihi 05.09.2024)
- [32] Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO), ISO 11352:2012 Su kalitesi – Validasyon ve Kalite Kontrol Verilerine Dayalı Ölçüm Belirsizliğinin Tahmini, Cenevre, İsviçre.
- [33] B. Magnusson, T. Näykki, H. Hovind, M. Krysell, Teknik Rapor 537: Çevre Laboratuvarlarında Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması El Kitabı. (NT TR 537 - ed. 4, 2017).
- [34] Yem ve Gıdalardaki Halojenli POP'lar için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı, PCDD/F ve PCB ölçümleri yapan laboratuvarlar için ölçüm belirsizliği kılavuz belgesi Analizi kullanarak İzotop Seyreltme Kütle spektrometresi. https://eurl-pops.eu/user/pages/05.news/03.download-mu-guidance/MU_Guidance_document_PCDD-F_PCB_Food-Feed.pdf?q-64cde584. (erişim tarihi: 05.09.2024)