T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışmanlar

Prof. Dr. EMEL HÜLYA YÜKSELOĞLU

Arş.Gör.Dr. DİLEK SALKIM İŞLEK

TÜKENMEZ KALEMLERİN YAPISINDA BULUNAN ÇÖZÜCÜLERİN GAZ KROMATOGRAFİSİ KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) İLE TAYİNİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYAGER EDA KİRİŞ

İSTANBUL, 2022

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışmanlar

Prof. Dr. EMEL HÜLYA YÜKSELOĞLU

Arş.Gör.Dr. DİLEK SALKIM İŞLEK

TÜKENMEZ KALEMLERİN YAPISINDA BULUNAN ÇÖZÜCÜLERİN GAZ KROMATOGRAFİSİ KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) İLE TAYİNİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYAGER EDA KİRİŞ

İSTANBUL, 2022

Bu tez projesi İ.Ü.C Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No:36100

Aileme…

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatıma adım attığımda bilgisi, deneyimi ve eğitmenliği ile beni kendine hayran bırakan, kendimi geliştirmemde bana büyük katkısı olan ve tez dönemimde elinden gelen bütün desteği veren sevgili danışman hocam Prof. Dr. Emel Hülya Yükseloğlu'na,

Tez konumu seçmemde bana yardımcı olan, karamsarlığa kapıldığımda kendi deneyimlerini aktararak beni hedefime giden bu yolda devam etmeye teşvik eden, laboratuvar çalışmalarında bana yol gösteren, bu süreçte bana zamanını ayıran, tezime büyük katkısı olan ve manevi desteğini eksik etmeyen canım ikinci danışman hocam Arş. Gör. Dr. Dilek Salkım İşlek'e,

Bu zorlu süreçte bana olan desteklerini eksik etmeyen kadim dostlarım Diğdem Karademir ve Pelin Çelik'e

Her zaman yanımda olan, anne yarısı Teyzeme ve Dayıma,

Beni her zaman el üstünde tutan, dualarını ve desteklerini eksik etmeyen başta Dedem Hasan Kiriş olmak üzere Babaannem Rivayet Kiriş, Dedem Mustafa Daloğlu ve Ananem Hatice Daloğlu'na,

Beni büyüten bu yaşa getiren, okumam ve hayallerimi gerçekleştirmem için her türlü maddi ve manevi zorlukların üstesinden gelen, her zaman beni destekleyen canımın içi annem Fatma Kiriş, babam Savaş Kiriş ve kardeşim Ayberk Kiriş'e teşekkürü borç bilirim.

Eda Kiriş

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **iv**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **vii**

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ ..... **ix**

ÖZET **1**

SUMMARY **2**

1. Giriş ve Amaç **3**

2. Genel Bilgiler **5**

2.1. Belge **5**

2.2. Kağıt **8**

2.2.1. Tarihçesi ve Kimyasal Yapısı **8**

2.2.2. Kağıt Analizi **9**

2.3. Mürekkep **11**

2.3.1. Tarihçesi **11**

2.3.2. Kimyasal Yapısı **13**

2.2.2.1. Boyalar ***13***

2.2.2.2. Çözücüler ***16***

2.2.2.3. Reçineler ***17***

2.4. Gaz Kromatografisi **17**

2.4.1. Taşıyıcı Gaz **19**

2.4.2. Enjektör **19**

2.4.3. Kolon 21

2.4.4. Dedektör 23

2.5. Kütle Spektroskopisi 24

2.5.1. İyonizasyon Teknikleri 25

2.5.2. Kütle Analizörü 26

2.5.3. Dedektör 28

2.6. Literatür Taraması 29

2.7. Validasyon 32

3. Gereç ve Yöntem 38

3.1. Kimyasal Maddeler 38

3.2. Kalem ve Kağıt Numuneleri 38

3.2.1. Arşiv Oluşturma 39

3.2.2. Mürekkep İçindeki Çözücülerin Analizi için Örnek Hazırlama 39

3.3. Cihazlar 40

3.4. GC-MS Sistem Koşulları 41

3.5. Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Etoksietanol ve Propilen glikol ün Validasyon Çalışması için Kullanılan Stok ve Kalibrasyon Çözeltilerin Hazırlanması 42

3.6. Metodun Geçerli Kılınması 44

3.7. Arşiv Numunelerinin Değerlendirilmesi 45

4. Bulgular 46

4.1. Özgünlük ve Seçicilik 46

4.2. Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi, LOD ve LOQ Değerleri 48

4.3. Tekrarlanabilirlik 59

4.4. Laboratuvar İçi Tekrarlanabilirlik 64

4.5. Arşiv Analizleri ve RPA- Zaman Eğrisi 66

5. Tartışma 74

6. Sonuç 82

7. Kaynaklar 83

EKLER 91

ÖZGEÇMİŞ 96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil- 1:Tükenmez kalem mürekkeplerinde kullanılan boyar maddeler 14

Şekil- 2:Kristal Viyolenin N-Demetilasyon Mekanizması 15

Şekil- 3:Kristal Viyolenin Tekli Oksijen Etkisiyle Dimetilaminobenzofenon ve Dimetilaminofenol Ürettiği Reaksiyon Mekanizması 15

Şekil- 4:Genellikle Tükenmez Kalem Mürekkeplerinde Kullanılan Çözücüler 16

Şekil- 5:Gaz Kromatografisi Cihazının Temel Kısımları.....18

Şekil- 6: WCOT, PLOT, SCOT ve Dolgulu kolonlar.....22

Şekil- 7:Kütle spektrometresinin temel kısımları 25

Şekil- 8:Elektron İyonizasyon yöntemi 26

Şekil- 9:Kuadrapol kütle analizörü 27

Şekil- 10:a) Dizi Diyot Elektron Çoğaltıcı, b) Devamlı Diyot Elektron Çoğaltıcı 29

Şekil- 11:Bistüri ve GC-MS viali.....40

Şekil- 12: EE, PE, PEE ve PG nin kimyasal özellikleri 42

Şekil- 13: İç standart eklenerek GC-MS de analizlenen boş kağıt örneğine ait kromatogram 46

Şekil- 14: 0,1 mg/ml lik karışım çözeltisine ait kromatogram örneği.....47

Şekil- 15: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram 48

Şekil- 16: 0,2 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram 48

Şekil- 17: 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram 49

Şekil- 18: 0,4 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram 49

Şekil- 19: 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram 49

Şekil- 20: 0,6 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram 50

Şekil- 21: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram 50

Şekil- 22: 0,2 mg/ml konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram 50

Şekil- 23: 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram 51

Şekil- 24: 0,4 mg/ml konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram 51

Şekil- 25: 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram 51

Şekil- 26: 0,6 mg/ml konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram 52

Şekil- 27: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram.....52

Şekil- 28: 0,2 mg/ml konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram.....52

Şekil- 29: 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram.....53

Şekil- 30: 0,4 mg/ml konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram.....53

Şekil- 31: 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram.....53

Şekil- 32: 0,6 mg/ml konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram.....54

Şekil- 33: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram 54

Şekil- 34: 0,2 mg/ml konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram 54

Şekil- 35: 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram 55

Şekil- 36: 0,4 mg/ml konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram 55

Şekil- 37: 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram 55

Şekil- 38: 0,6 mg/ml konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram 56

Şekil- 39: EE'ye ait Kalibrasyon Eğrisi.....57

Şekil- 40: PG'ye ait Kalibrasyon Eğrisi 57

Şekil- 41: PE'ye ait Kalibrasyon Eğrisi.....58

Şekil- 42: PEE'ye ait Kalibrasyon Eğrisi 58

Şekil- 43: 0,1 mg/ml, 0,05 mg/ml ve 0.025 mg/ml lik karışım çözeltilerine ait kromatogramların üst üste çakıştırılmış hali 59

Şekil- 44: 0,1 mg/ml'lik karışım çözeltisine ait kromatogram 60

Şekil- 45: 0,3 mg/ml'lik karışım çözeltisine ait kromatogram 60

Şekil- 46: 0,5 mg/ml'lik karışım çözeltisine ait kromatogram 60

Şekil- 47: İki farklı analiste tarafından hazırlanan 0,1 mg/ml karışım konsantrasyonuna ait 64

Şekil- 48: Taze mürekkebe ait kromatogram 66

Şekil- 49: 30 günlük mürekkebe ait kromatogram 66

Şekil- 50: 60 günlük mürekkebe ait kromatogram 67

Şekil- 51: 80 günlük mürekkebe ait kromatogram 67

Şekil- 52: 120 günlük mürekkebe ait kromatogram 67

Şekil- 53: 140 günlük mürekkebe ait kromatogram 68

Şekil- 54: 160 günlük mürekkebe ait kromatogram 68

Şekil- 55: 180 günlük mürekkebe ait kromatogram 68

Şekil- 56: 210 günlük mürekkebe ait kromatogram 69

Şekil- 57: 230 günlük mürekkebe ait kromatogram 69

Şekil- 58: 240 günlük mürekkebe ait kromatogram 69

Şekil- 59: 260 günlük mürekkebe ait kromatogram 70

Şekil- 60: 270 günlük mürekkebe ait kromatogram 70

Şekil- 61: 280 günlük mürekkebe ait kromatogram 70

Şekil- 62: PE ye ait RPA-Zaman grafiği 72

Şekil- 63: PEE ye ait RPA-Zaman grafiği.....73

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo- I: Taşıyıcı Gazların Avantajları ve Dezavantajları **19**

Tablo- II: GC için numune enjeksiyon yöntemlerinin özelliklerinin karşılaştırılması **21**

Tablo- III: GC'de kullanılan dedektörlerin özelliklerinin karşılaştırılması **23**

Tablo- IV: GC-MS ile mürekkep içindeki çözücülerin analizinde kullanılan kimyasal maddeler **38**

Tablo- V: Kullanılan mavi tükenmez kalem markaları ve modelleri **39**

Tablo- VI: Kullanılan cihazlar ve markaları **40**

Tablo- VII: GC'de kullanılan fırın programı **41**

Tablo- VIII: Analitlerin alıkonma zamanları ve özgün iyonları **47**

Tablo- IX: EE, PG, PE ve PEE standart çözeltilerine ait pik alanları **56**

Tablo- X: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alanı değerleri **61**

Tablo- XI: 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alanı değerleri **61**

Tablo- XII: 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alanı değerleri **62**

Tablo- XIII: 0,1 mg/ml konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma değerleri (%RSD) **62**

Tablo- XIV: 0,3 mg/ml konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma değerleri (%RSD) **63**

Tablo- XV: 0,5 mg/ml konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma değerleri (%RSD) **63**

Tablo- XVI: 0,1 mg/ml konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alan değerleri **64**

Tablo- XVII: 0,3 mg/ml konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alan değerleri **65**

Tablo- XVIII: 0,5 mg/ml konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alan değerleri **65**

Tablo- XIX: EE, PG, PE ve PEE ye ait F-testi değerleri **.....65**

Tablo- XX: PE ye ait pik alanlarının zamana bağlı değişimleri ve RPA değerleri(10 adet mavi tükenmez kaleme ait PE değerlerinin ortalaması)**.....71**

Tablo- XXI: PEE ye ait pik alanlarının zamana bağlı değişimleri ve RPA değerleri(10 adet mavi tükenmez kaleme ait PEE değerlerinin ortalaması) **.....72**

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

A	Aseton
AN	Asetonitril
cm	Santimetre
DCM	Diklorometan
dk	Dakika
EE	Etoksietanol
EI	Elektron İyonizasyon
EtOH	Etanol
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
IS	İç standart
LOD	Tespit Sınırı
LOQ	Ölçüm Limiti
M	Molar
MetOH	Metanol
m	Kütle
mg	Miligram

ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
mm	Milimetre
MS	Kütle Spektroskopisi
nm	Nanometre
NAA	Nötron Aktivasyon Analizi
PA	Piperonil Alkol
PE	Fenoksietanol
PEE	Fenoksietoksietanol
PG	Propilen Glikol
RPA	Bağıl Tepe Alanı
%RSD	Bağıl Standart Sapma
RT	Tutunma Zamanı
SD	Standart Sapma
TCK	Türk Ceza Kanunu
t	Zaman

ÖZET

Adli Bilimler; suçun aydınlatılmasında birçok bilim dalının beraber çalıştığı multi-disipliner bir alandır. Adli Belge incelemesi dava konusu olan belgeler, üzerinde yapılmış olan müdahalelerin neler olduğunu ve bunların analizini yaparak adaletin yerini bulması için yargı sistemine hizmet eden inceleme alanıdır. Yargı sisteminin adli uzmanların cevaplamasını istediği en önemli soru belgenin ne zaman oluşturulduğudur. Bu sorunun cevabı için adli belge uzmanları yıllar boyunca mürekkebin içinde bulunan boyalar, reçineler ve çözücülerin zaman içindeki değişimlerini incelemişlerdir.Bu değişimlerin tespiti için çok sayıda metot ve yöntem geliştirmeye çalışmışlardır. Bu yöntemlerden biride mürekkebin yaşlanmasına bağlı olarak çözücü analizidir. Öte yandan mürekkebin yaşlanması, çeşitli parametrelere (sıcaklık, ışık, nem vb.) bağlı olduğundan tespiti bir o kadar zor olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde fenoksietanolün zamana bağlı değişiminin mürekkep yaş tayini için elverişli olduğu gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasında; belge sahteciliği tespitinde kullanılmak üzere, tükenmez kalem mürekkep çözücülerinin gaz kromatografisi- kütle spektrometresinde tespitine imkan veren metot geliştirilerek, yaş eğrileri çizildi. Geliştirilen bu metot sayesinde belgelerin oluşturulma tarihleri hakkında yorum yapılabilmesi öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mürekkep, Çözücüler, Adli Bilim, Adli Belgede Sahtecilik, GC-MS

SUMMARY

Forensic Science is a multidisciplinary field in which many branches of science work together in the elucidation of crime. It is a document investigation field that serves justice in the elucidation of document forgery. Forensic Document examination is an field that analyzes what interventions have been made on the documents that are the subject of a lawsuit and what they are. The most important question that the judicial system wants forensic document experts to answer is when the document was created. To answer this question, forensic document specialists have studied the changes in time of dyes, resins and solvents contained in ink over the years. They have tried to develop a several number of methods and procedure for detecting these changes. One of these methods is solvent analysis due to the aging of the ink. On the other hand, aging of ink depends on various parameters (temperature, light, humidity, etc.) that's why it is so difficult to determine. When recent studies were examined, it was observed that the time-dependent change of phenoxyethanol was favorable for ink age determination.

In this thesis study, age curves were drawn by developing a method that allows the detection of ballpoint pen ink solvents by gas chromatography-mass spectrometer for use in document forgery detection. According to this developed method, it is predicted that comments can be made on the dates of creation of documents.

Key Words: Ink, Solvents, Forensic Science, Forgery of document, GC-MS

1. Giriş ve Amaç

Adli bilimler, birçok farklı bilim dalının ortak çalışması ile suçun aydınlatılmasına, failin cezalandırılmasına ve mağdurun hakkının savunmasına yardım ederek yargı sistemine hizmet etmektedir.

Dünya da ve ülkemizde en sık işlenen suçlardan biri de belge sahteciliğidir. Bu suç türü, adli belge inceleme alanının konusu olup adli belge uzmanları tarafından tespit edilmektedir.

Dava konusu olan şüpheli yazıların yazılma zamanının tespit eden metotların yargı sisteminin hizmetinde kullanılması hem adaletin yerini bulmasını sağlarken hem de yargının iş yükünü azaltmış olur. Bu suç türünün aydınlatılması için yargı sistemi iki ana soruyu uzmanlara sormaktadır. Bunlardan ilki belgenin kim tarafından oluşturulduğu, ikincisi ise ne zaman oluşturulduğudur. İlk sorunun cevabı için ülkemizde çok sayıda uzman var iken ikinci sorunun cevabı için gerek analitik yöntem gerek uzman sayısı yok denecek kadar azdır. Yaş tayini ile ilgili çalışmalar yurt dışında 1903 den beri çalışılırken ülkemizde bu konunun öneminin anlaşılması 2015 yılında yapılan doktora tezi ile birlikte olmuştur. Bu çalışmaların temeli mürekkebin yapısındaki maddelerin zamana bağlı değişimlerinin analitik tekniklerle incelenmesi ve yorumlanmasıdır. Bu değişimler; boyar maddelerin bozunması, reçinelerin polimerleşmesi ve çözücülerin buharlaşmasıdır.

Yaptığımız literatür taramasında daha çok fenoksietanol'ün zamana bağlı değişimi ile ilgili çalışmaların var olduğu tespit edildi. Fakat yaş sürecinde sadece fenoksietanol değil diğer çözücülerinde (Etoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol) aynı sürece maruz kaldığı bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, mavi tükenmez kalem mürekkebini yapısındaki çözücülerin TD ve ya SPME gibi spesifik yöntemlerin bulunmadığı adli bilimler laboratuvarlarında GC-MS ile analizine imkan veren metodun geliştirilmesi ve validasyonudur.

Arşiv çalışmaları için piyasadan farklı marka ve model 10 adet mavi tükenmez kalem toplandı. Geliştirilen metot ile 0-11 ay arası yaşlandırılan arşiv belgeleri analizlendi. Mürekkebin üretiminde kullanılan glikol bazlı çözücülerin yaş eğrilerinin çizilmesi amaçlandı. Fenoksietanol çözücüsünün yaş eğrisinin çizilmesinin yanı sıra tükenmez kalem mürekkebinin yapısında bulunan Fenoksietoksietanol, Etoksietanol ve Propilen glikol çözücülerinin de yaş eğrilerinin çizilmesi şüpheli belgelerdeki şüpheli yazıların birbirinden ayrım gücünü arttırması amaçlandı.

2. Genel Bilgiler

2.1.Belge

Türk Dil Kurumuna göre gerçeğe tanıklık eden resim, yazı, film gibi dokümanların geneline belge denir (1). Belge eski zamanlardan beri bilginin aktarılması için kullanılan dokümandır. Belge 5237 sayılı TCK'da tanımı yapılmamakla birlikte 765 sayılı TCK'da "kullanılan varaka" terimi yasal terim olarak yer almaktadır. Varaka kelimesi Arapça kökenli olup "kağıt veya kitap yaprağı" anlamına gelmektedir. Evrak ise varaka kelimesinin çoğul halidir (2). Belge kavramı, Hukuk Muhakemeleri Kanunu'nun (HMK) 199.maddesinde ise "uyuşmazlık konusu vakaları ispata elverişli yazılı veya basılı metin, senet, çizim, plan, kroki, fotoğraf, film, görüntü veya ses kaydı gibi veriler ile elektronik ortamdaki veriler ve bunlara benzer bilgi taşıyıcıları" olarak tanımlanmıştır (3). TCK'da belge; resmi belge, özel belge ve resmi belge yerine geçen belge olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Belgenin 3 temel unsuru vardır. Bunlar;

- Belgenin yazılı olması,
- Belgenin hukuki değer taşıyan bir içeriğinin olması
- Düzenleyicisinin belli olmasıdır (4).

Belge sahteciliği en sık karşılaşılan suç türlerindedir. Günlük hayatta sıklıkla kullandığımız tükenmez kalemlerle oluşturulmuş çek, senet, vasiyet, kontrat vb. belgeler adli uzmanlarının karşısına sıklıkla dava konusu olarak çıkmaktadır. Resmi evrakta (belgede) sahtecilik suçu, kamu güvenine karşı suçlar arasında TCK 204. maddede düzenlenmiştir. Resmi bir belgenin sahtesinin üretilmesi, varolan resmi belgenin gerçekle uyuşmayacak şekilde düzenlenmesi veya gerçek bir resmi belgenin değiştirilerek kişilerin veya kurumların aldatılması ve sahte resmi belgenin kullanılması bu üç hareketten herhangi birinin suçlu tarafından kullanılması ile resmi evrakta (belgede) sahtecilik suçu oluşmaktadır (5). Özel belgede sahtecilik suçu 5237 Sayılı Türk Ceza

Kanunu'nun Kamu Güvenine Karşı Suçlar kategorisinde, 207. maddede düzenlenmiştir. Özel belgede sahtecilik, kanunda şu şekilde tanımlanmıştır '' Bir özel belgeyi sahte olarak düzenleyen veya gerçek bir özel belgeyi başkalarını aldatacak şekilde değiştiren ve kullanan kişi cezalandırılır. Bir sahte özel belgeyi bu özelliğini bilerek kullanan kişi de yukarıdaki fıkra hükmüne göre cezalandırılır.'' (6)

Sahteciliği iki ana başlık altında inceleyebiliriz:

1-Bütünü ile yapılan sahtecilik: Bu sahtecilik türünde boş bir nüfus cüzdanı, diploma, pasaport vb. evrakın sahte mühür ve kaşe kullanılır.

2-Kısmi sahtecilik: Bu türde asıl belge üzerinde oynayarak hukuktaki ifadesiyle belgenin değiştirilmesidir. Bu şekilde belge; değer, zaman, anlam olarak değiştirilmiş olur.

Faillerin belgeyi amaçlarına uygun bir şekilde değiştirmek için yaygın olarak kullandıkları 5 yöntem vardır.

- ***Ekleme;*** Bu yöntem ile fail, belge üzerindeki yazı veya rakam bölümlerinde amaca uygun ekleme veya oynama yaparak orjinal zaman ve miktarı değiştirmektedir.
- ***Silme, kazıma;*** Bu yöntemde fail fiziksel veya kimyasallar yollar kullanarak belge üzerinde silme veya kazıma yaparak belgeyi anlam ve değer bakımından değiştirmektedir.
- ***Sürşarj;*** Bu yöntem failin belge üzerinde bulunan rakam, harf veya kelimenin amaca uygun başka bir rakam, harf veya kelimeye dönüştürülerek belgenin anlam ve değerinin değiştirilmesinde kullanılır.
- ***Lekeleme;*** Bu yöntem de fail amaca uygun olarak belge üzerine boya, mürekkep vb gibi maddeler dökerek lekelemesidir.

- ***Isıtma;*** Bu yöntemde belge fırın veya güneş ile yapay yaşlandırılarak belgenin oluşturulduğu tarihin orjinalinden daha eskiye dayandığı izlenimi verilir. (7)

Mürekkep yaş analizinin raporlanmasında uzmanların benimsediği üç yaklaşım vardır: İlki statik yaklaşımdır; Bu, belirli bir zaman aralığına ait mürekkebin yapısında bulunan kararlı moleküllerinin analizine bağlıdır. İkinci görüş ‘mutlak dinamik yaklaşım' dır. Bu yaklaşım, belgelerdeki mürekkebin zamana bağlı değişim sürecini baz almaktadır. Bu yaklaşımda mürekkebin kalemin haznesinin içinde yaşlanmadığı varsayılır, ancak kağıda yerleştirildikten sonra boyaların solması, çözücülerin difüzyonu ve buharlaşması, reçinelerin polimerleşmesi gibi zamansal değişim süreçlerini kapsar (8). Üçüncü yaklaşım ise ‘bağıl dinamik yaklaşım’ dır. Bağıl dinamik yaklaşım belge üzerindeki yazılardaki mürekkeplerin zamana bağlı değişimlerinin karşılaştırılmasını dayanmaktadır. Bu yaklaşım ile oluşturulan belgelerin yaşı kronolojik olarak sıralanabilmektedir. Bağıl mürekkep yaşı karşılaştırması ancak aynı kimyasal yapıya sahip, aynı kağıda uygulanmış ve aynı depolama koşullarında saklanmış belgelerde kullanılmaktadır (9).

Mürekkep yaş tayini analizi yaparken göz önünde bulundurulması gereken faktörleden biri de kağıttır. Mürekkebin kağıda geçişini etkileyen parametrelerin başında kağıdın kalınlığı gelmektedir.Kalınlık değerleri arasındaki farklılıklar mürekkebin kağıda nüfuz etmesinin de farklı olmasına ve bu nedenle renkler arasında farklılığın oluşmasına yol açmaktadır. Diğer bir parametre ise kağıdın bünyesinde bulundurduğu su miktarı yani nemdir. Eğer nem az ise kağıt daha kırılgan olurken, nem fazlalığında ise mürekkebin kurumasını gecikir ve bu da yazının kalitesini düşürür. Saklama koşullarında en ideal nem oranı %55’dir. Üçüncü faktör ise Cobb değeridir. Cobb değeri kağıt yüzeyinin suya karşı gösterdiği direncin bir ölçüsüdür. Bu değer, belirli bir süre içerisinde 1 m^2 kağıt yüzeyi tarafından emilen su miktarının g/m^2 cinsinden ifadesidir. Cobb değerinin mutlaka optimum bir aralıkta tutulması gerekmektedir. Mürekkebin kağıda aktarılması sırasında baskı

kalitesi Cobb değerinin yüksek veya düşük olmasından ciddi derecede etkilenir. Diğer parametreler ise, yüzey düzgünlüğü, ph değeri ve dayanıklılıktır (10).

2.2.Kağıt

Kâğıt, kıtalar arası bilim ve kültür alışverişinde büyük rol oynayarak insanlığın gelişmesine katkı sağlamıştır. Kağıt kullanım kolaylığı ve saklanabilir olma özelliği sayesinde bir ülkedeki bilginin çok uzak olan diğer bir ülkeye çok kısa bir zamanda kolayca yayılmasına olanak sağlamış, böylece bugünkü medeniyete ulaşılmasının önemli unsurlarından birisi olmuştur. Günümüzde en çok üretilen ve kullanılan ürünlerden biridir.

2.2.1. Tarihçesi ve Kimyasal Yapısı

Kağıt kelimesi Cyperius (papirüs) adı verilen bir bitkiden gelmektedir. M.Ö. 4000 yıllarında keşfedildiği düşünülmekte olup, kimin keşfettiği ise bilinmemektedir (11). Diğer bir kaynağa göre Tsai Lun kağıdın M.Ö. 605 te Çin de ortaya çıktığını söylemektedir (12). Papirüs kağıdı, papirüs bitkisinin sapı belli boyutlarda kesilip bir tahta zemin üzerine dizilip, ıslakken tokmaklanarak üretilmekteydi. Bunun yanı sıra Orta Asya da sığır derisi başta olmak üzere pek çok hayvan derisinden de parşömen adı verilen kağıt türü de kullanılmaktaydı. M.S. 751 de Talas savaşında esir düşen Çinliler sayesinde Araplar kağıt yapımını öğrenmiş oldu. Böylelikle Semerkant'a kâğıt yapım merkezi kuruldu (11). Avrupalılar ise Araplardan tam 400 yıl sonra kağıtla tanışmıştır. Avrupa da 1151 de İspanya ilk kağıt üreten ülke olmuştur. Sonrasında 1411 de İsviçre ve 1494 de İngiltere kendi kağıtlarını üretmeye başlamışlardır. Amerika ise bu yarışa 1600 de katılmıştır (12). 19.YY da kağıt yapımında kullanılan bez ve pamuklar yerini oduna bırakmıştır

Kağıdın hammaddesi yani odun selülozdan oluşur. Kağıt yapmak için öncelikle odunda bulunan bu lifler serbest bırakılarak hamur haline getirilir. Daha sonra klorla ağartma işlemi yapılır. Günümüzde ise ağartma işlemi çevreye minimum hasar verdiği için ozon, klor dioksit ve hidrojen peroksit kullanılmaktadır. Kağıtta hammaddenin yanında kullanılan yardımcı kimyasal maddelerde vardır. Bunları dolgu maddeleri, boyar maddeler ve yapıştırıcı maddeler olarak üçe ayırabiliriz. Baryum sülfat, kalsiyum sülfat dolgu maddelerine örnek verilebilir.

Boyar madde olarak renklendirici pigmentler kullanılmaktadır. Kağıt çeşitlerinin (para, harita kâğıtları vb.) su ve mürekkep gibi sıvı maddelere karşı dayanıklı olması için kağıt hamuruna kolofan katılmaktadır. Daha sonra kolofanın lifler üzerinde çökmesini sağlamak için şap katılır. Ayrıca kağıdın boyutunu ayarlamak için alkil keten dimerleri, alkenil suksinik anhidrit kullanılır. Öte yandan kağıt sektöründe talkta kullanılmaktadır. Talk kullanılmasının amacı yumuşaklık, izolasyon, ısıya dayanıklılıktır. Bu nedenle de kağıt sektöründe sıklıkla tercih edilmektedir (13).

2.2.2. Kağıt Analizi

Kağıt, her üreticinin kendi reçetesi olduğu ve farklı kimyasallar kullanıldığı için kompleks bir yapıdır. Adli bilimlerde kağıdın yapısal analizi şüpheli belge incelemelerinde önemli bir rol oynamaktadır.

Kağıdın adli bilimler için ilk yapısal analizi 1971 yılında Schlesinger ve Settle tarafından Nötron Aktivasyon Analizi (NAA) kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada dokuz farklı üreticiden 120 tane kağıt toplanmıştır. Al, Na, Mn, Ti, Sb, Sc, Cr ve Cl elementlerine bakılmıştır. Fakat sonuçlara göre elementlerin konsantrasyonları varyasyon gösteriyordu. Bunun sebebi elementlerin homojen karışmaması veya analiz için gerekli olanın küçük olması olabilir (14).

2010 yılındaki çalışmaya baktığımızda benzer yapıdaki 19 farklı ofis kağıdı X-ray ve kızılötesi spektroskopisi kullanılarak aralarındaki fark incelenmiştir. İlk bulgu dolgu malzemesi olarak kaolin değil kalsiyum karbonat kullanıldığı tespit edilmiştir. Bazı kağıt örneklerinde selüloz ve kalsiyum karbonat sinyallerinin örtüştüğü gözlemlenmiştir. Bunun sebebi de kimyasalların homojen bir biçimde dağılmamasıdır. Bu çalışmada 19 farklı kağıdın birbirleri ile olan ayrımı başarı ile yapılmıştır (15).

2000 yılında yapılan diğer bir çalışmada 17 tane farklı beyaz A4 kağıdın ICP-MS kullanılarak elementel analizi yapılmıştır. Dağılımı ve yüksek konsantrasyonlarda bulunması nedeniyle Na, Mg, Al, Mn, Sr, Y, Ba, La ve Ce elementleri seçilmiştir. Deney için kağıtlar 30mmx40mm boyutlarında kesilerek asitle yıkanmıştır. HNO_3 ve H_2O_2 kullanılarak yıkanan kağıtlarla solüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyon ICP-MS cihazına verilmiştir. Elde edilen veriler ışığında Al, Mn, Sr elementleri baz alınarak t-testi uygulanmıştır. Bu deneyin sonucunda 17 farklı kağıdın ayrımı yapılmıştır (16).

Kher ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise IR spektroskopisi kullanılarak kağıdın yapısı analiz edilmiştir. Bu çalışmada 6 kağıt çeşidi DRIFTS 9000-2500 cm^{-1} ,8 kağıt çeşidi ATR, 4000-650 cm^{-1} kullanılarak kızılötesi spektrumları toplanmıştır. Toplanan spektrumlar Sınıf benzetmesine göre yumuşak bağımsız modelleme (SIMCA) uygulaması ile birlikte Temel Bileşen Analizi (PCA) kullanılarak kağıtların sınıflandırılması ve ayrılması sağlanmıştır. DRIFTS spektrumlarının PCA analizinde 100% ayrım gözlerken, ATR spektrumlarının PCA analizinde 67.86% ayrım gözlenmiştir (17).

Gelişen teknoloji ile birlikte kağıt analizi için de yeni yöntemler ortaya çıkmıştır. Bunlardan biri Lazer Etkileşimli Plazma Spektroskopisi (LIBS)dir. 2020 yılında LIBS kullanılarak yapılan

çalışmada 10 farklı kağıt türü(A4 kağıdı, zarf, not defteri) incelenmiştir. LIBS spektrumlarına bakıldığında sekiz kağıdın düşük oranda Mn ve Fe içerdiği tespit edilmiştir. PCA analizi uygulanmış ve 89% ayrım elde edilmiştir (18).

2.3.Mürekkep

Mürekkep, bir görüntü, metin, tasarım üretmek veya bir yüzeyi renklendirmek için kullanılan boya veya pigment gibi en az bir renklendirici içeren bir jel veya çözeltidir. Gelişen teknoloji ile birlikte mürekkebin yapılışı ve içerikleri değişmiş fakat kullanımı zamanla artmıştır.

2.3.1. Tarihçesi

Mürekkep, MÖ 2697 yılında, Çinli filozof Tien-Lcheu tarafından bulunmuştur. Önceleri gerek mağara duvarlarındaki hiyeroglifleri gerekse taşların üzerine oyulmuş motifleri siyah renklendirmek için kullanılan mürekkep, daha sonra farklı amaçlar içinde kullanılabileceği keşfedildiğinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Eski dönemlerde mürekkep oldukça zor ve meşakkatli olan bir sıra prosedür sonucunda elde edilmekteydi. Mürekkep yapmak için gereken malzemelerin başında çam ağaçlarının yakılması sırasında ortaya çıkan dumandan elde edilen is, gaz yağı, misk (bir çeşit güzel kokulu madde) ve eşek derisinden elde edilen bir tür jelatinimsi madde gelmekteydi. Bu malzemelerin karışımı ile mürekkep oluşturulmaktaydı. Çinlilerden sonra ticaret sayesinde mürekkeple tanışan diğer halklar da kendilerinin bitki ve minerallerinden elde ettikleri boyar maddeleri de karışıma ekleyerek mürekkepler elde ederek bu gelişimine katkı yapmışlardır. MS 400'lü yıllarda günümüz modern mürekkebin temelini oluşturan formül keşfedilmiştir. Bu formüle göre, mürekkebe demir tozu, meşe palamudu tozu ve reçine gibi maddeler katılıyordu. Bu dönemlerde maliyeti düşük olduğu için genel olarak siyah mürekkep kullanılsa da farklı renklerde mürekkeplere de rastlanılmaktadır. Bazı parşömenlerde baş harflerin erguvan rengi (temel maddesi

zincifre, cıva sülfür ve kantaşı) mürekkeple yazıldığı görülür. Bizanslılar ise kutsal kabul ettikleri kırmızı boya ekleyerek elde ettikleri kırmızı mürekkebi sadece imparatorluk yazışmalarında kullanmışlardır. Orta çağa ait el yazmalarında ise altın ve gümüş yaldızlı çeşitli mürekkepler kullanılmıştır.

1450 yılında Alman mucit Johannes Gutenberg'in matbaayı icat etmesi ile mürekkebe olan ilgi ve önem artmıştır. Matbaanın icadı ile mürekkep bu cihaz için özelleştirilmeye başlanmış ve matbaa mürekkebi olarak diğer mürekkeplerden ayrılmıştır (19).

İlk tükenmez kalem prototip Amerikalı John J. Loud tarafından 1888 yılında yapılmış olsa da geliştirilmeye ihtiyacı vardı. Bu buluştan sonra pek çok bilim insanı bu konu üzerinde çalışmış fakat pratikte kullanılabilecek modern tükenmez kalem, gazeteci László Bíró ve kimyager olan kardeşi Győrgy tarafından 1930'lu yıllarda bulunmuştur.Tükenmez kalem mürekkebi akışkan olması, kağıda uygulaması kolay olması ve çabuk kurması nedeniyle dolma kalem mürekkebinden farklıydı. Bu yüzden tükenmez kalem mürekkebi diğer mürekkeplerden ayrılmıştır(20).

1984 yılında Japonya, Osaka da bulunan Sakura şirketinin tükenmez kalem mürekkebini geliştirmesi ile su bazlı jel kalemler piyasaya sürülmüştür. Jel kalemler, tükenmez kalemlerle benzer özellik gösterselerde içerisinde bulunan bakır ftalosiyanin ve demir oksitler gibi pigmentlerin su ve biopolimerle karıştırılması nedeniyle tükenmez kalem mürekkebinden yoğun bir karışımdır. Bu neden ile jel kalem mürekkepleri diğer mürekkeplerden ayrılmıştır(21).

1980'li yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte yazıcıların kullanımın yaygınlaşması ile mürekkep bu cihazların kullanımına uygun olarak modifiye edilmiştir. Bu nedenle inkjet yazıcılar için su bazlı kartuş mürekkebi kullanılırken, lazer yazıcılar için toz halindeki toner mürekkebi kullanılmaktadır (22).

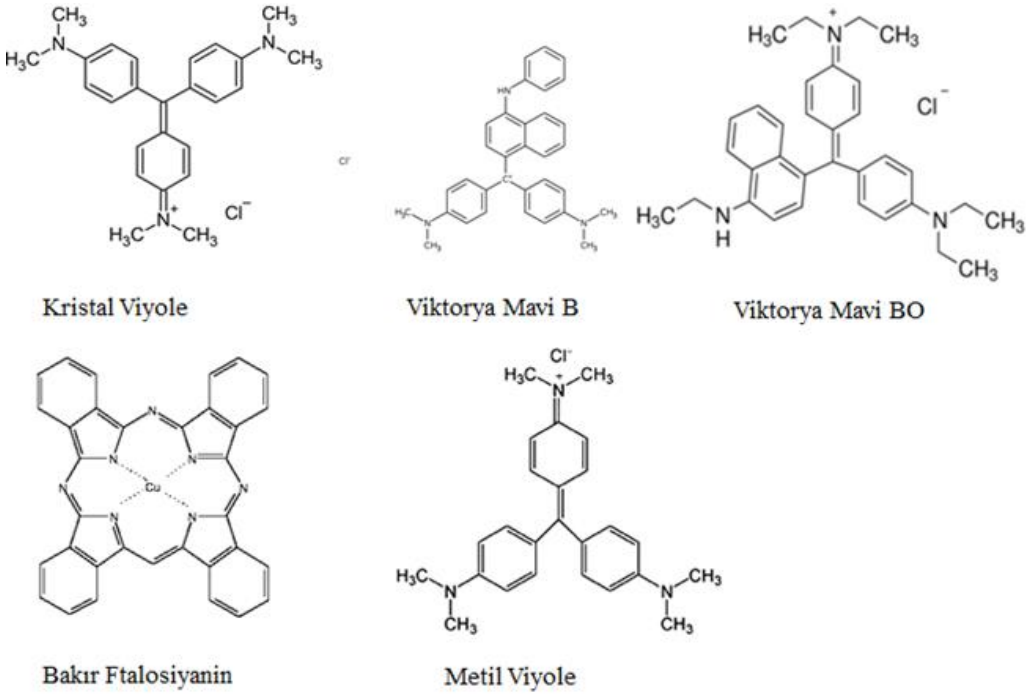
Mürekkep, icadından günümüzü kadar fiziksel ve kimyasal pek çok değişime uğramış ve kullanım alanları genişlemiştir. Bu tarihsel değişimde önemini kaybetmemiş ve günümüzde hala sıkça farklı alanlarda kullanılmaktadır. (23).

2.3.2. Kimyasal Yapısı

Tükenmez kalemlerdeki mürekkepler genellikle suda çözünmeyen ama organik çözücülerde yada yağlarda çözünen boya bazlı renklendiriciler, reçineler ve çözücü karışımından oluşmaktadır. Weyerman ve Bügler'e göre çözücüler 50%, boyalar ve pigmentler 25% ve reçineler 25% oranında mürekkebin içerisinde bulunmaktadır. Diğer bileşenler çok küçük oranlardadırlar örneğin; yüzey aktif madde, korozyon inhibitörleri, inceltme ajanları vb (24).

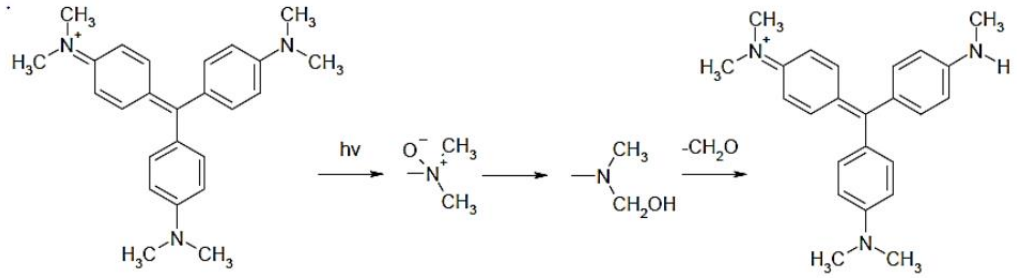
2.2.2.1.Boyalar

Mürekkebe renk veren maddedir. Boyalar kimyasal yapılarına göre inorganik ve organik olarak ikiye ayrılır. İnorganik boyalardan yapılan mürekkeplerin rengi, kristallerin kararlı atomik geçişi nedeniyle fotostabildir, organik boyalar ise değildir. Boyanın rengi, boya molekülünün değişken elektron bulutunun enerji seviyesini değiştiren kromoforların varlığından kaynaklanmaktadır. Bu değişimin bir sonucu olarak, görünür aralıktaki (400-800 nm) absorpsiyon gözümüz tarafından renk olarak algılanır. Boyalar öncelikle pH ı yüksek yani bazik boyalardır. Azot atomu genellikle yükü taşıyan atomdur. Yük sabit veya değişken olabilir. Tükenmez kalem mürekkeplerinde genellikle kullanılan boyar maddeler; Kristal Viyole (heksametil metil viyole), Metil viyole (pentametil metil viyole), Bazik Mavi 26 (viktorya mavi B), Bazik Mavi 7 (Viktorya mavi BO) vb. dir.



Şekil- 1:Tükenmez kalem mürekkeplerinde kullanılan boyar maddeler (25).

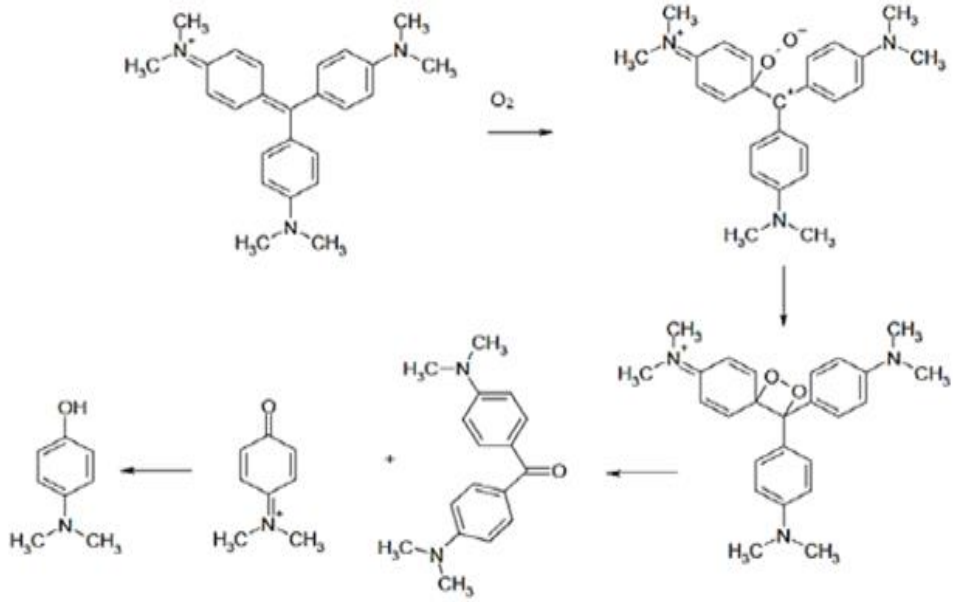
Görünür veya ultraviyole ışığa maruz kalmak fotokimyasal reaksiyona neden olur. Bu reaksiyonlar sonucunda solma meydana gelir. Mürekkebin yapısında bulunan boyaların solmasına çevresel faktörler de etki etmektedir. Oksijen, nem, sıcaklık, ışığın dalga boyu ve boya konsantrasyonu, ışığın neden olduğu solma sürecini hızlandırır. Kağıdın fiziksel ve kimyasal yapısı, yüzey özellikleri, gözenek yapısı ve kağıt üzerinde tutunan çözücü ışığa bağlı solmayı etkileyen faktörlerin örnekleridir. Bu faktörlerin ışığa bağlı solma üzerinde önemli bir etkisi vardır. Mürekkebin solması incelendiğinde üç reaksiyon türü vardır. Birinci reaksiyon türü, en çok gerçekleşen kristal viyolenin N-demetilayson reaksiyonudur. Bu reaksiyon mekanizması Şekil-2 de gösterilmiştir.



Şekil- 2:Kristal Viyolenin N-Demetilasyon Mekanizması (26)

İkinci reaksiyon türü oksijen aracılığıyla boyaların merkez C- Fenil bağlarının ayrıldığı reaksiyonlardır.

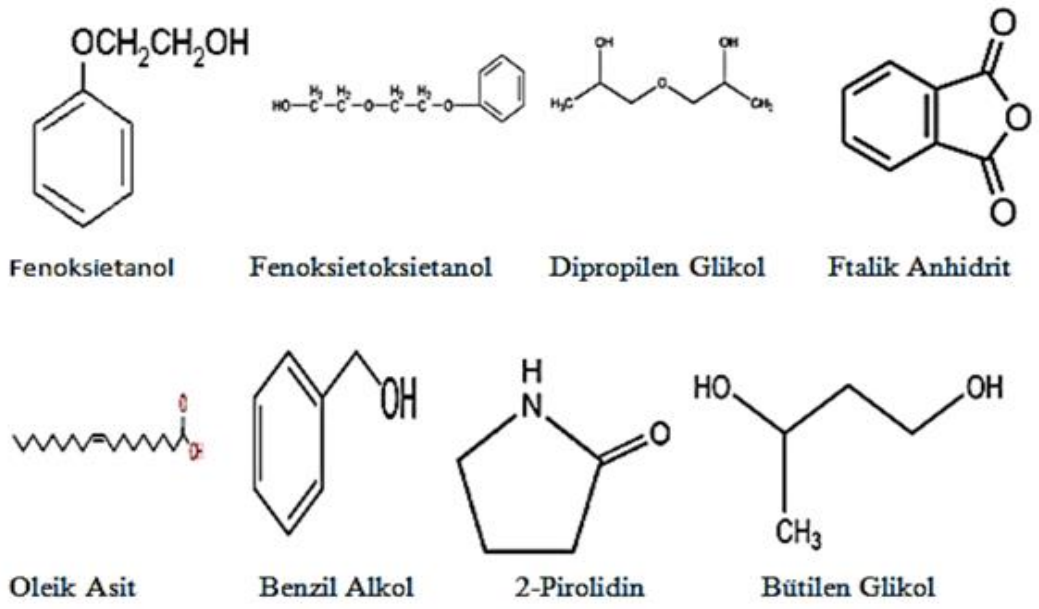
Üçüncü tip reaksiyonlar ise uyarılmış boya katyonunun elektron eklenmesi ya da fotokimyasal hidrojenasyonu sonucunda renksiz boya elde edilen reaksiyonlardır. Bu üç farklı solma reaksiyonu ayrı ayrı gerçekleşebileceği gibi aynı anda da gerçekleşebilir (25).



Şekil- 3:Kristal Viyolenin Tekli Oksijen Etkisiyle Dimetilaminobenzofenon ve Dimetilaminofenol Ürettiği Reaksiyon Mekanizması (26).

2.2.2.2.Çözücüler

Solventler, mürekkebin rengini açmak ve boyadan kağıda geçişi hafifletmek için kullanılır. Başlangıçta tükenmez kalemler için çözücü olarak kullanılan yağ bazlı çözücü, sudan daha yüksek bir yoğunluğa sahiptir ve bu nedenle kaynama noktası ve buhar basıncı düşüktür, bu nedenle kalem haznesinde uzun süre kalır ve kullanılır. Glikol bazlı çözücüler mürekkebi kartuş sıvısında tutar, ancak kağıda uygulandıktan sonra mürekkebin hızla kurumasını sağlar. Başlangıçta olefinler, hint yağı ve ya mineral yağlar çözücü olarak kullanılırdı. Günümüzde fenoksietanol, fenoksietoksietanol, propilen glikol, benzil alkol, bütilen glikol vb. kimyasallar mürekkep çözücüsü olarak tercih edilmektedir (26).



Şekil- 4:Genellikle Tükenmez Kalem Mürekkeplerinde Kullanılan Çözücüler (26)

2.2.2.3.Reçineler

Reçineler, monomerlerin polimerizasyonundan sentezlenir ve diğerlerinden daha yüksek moleküler ağırlıklı maddelerdir. Tükenmez kalemin viskozitesini ayarlamak, bilyeden kağıda aktarırken mürekkebin kayganlığını iyileştirmek ve kurutma aşamasında mürekkep ve kağıt arasındaki bağlantıyı polimerize etmek için mürekkebe reçine eklenir. Kağıt mürekkebi suda çözünürler, ancak mürekkep formülasyonunun organik çözücüsü içinde ayrışırlar. Alkid reçineleri, fenolik reçineler, keton reçineleri tükenmez kalemlerde yaygın olarak kullanılır, ancak daha sonra Weyermann tarafından klorürler ve polivinil asetat, oleilamin, etoksilatlar, ftalatlar, hidrojene asetofenon ve kondensatlar da kullanılmıştır. Alkid, polihidrik alkol ve dibazik asidin polikondenzasyon reaksiyonu ile oluşturulan ve yağ veya yağ asidi ile modifiye edilmiş bir polyester sentetik reçine türüdür (26).

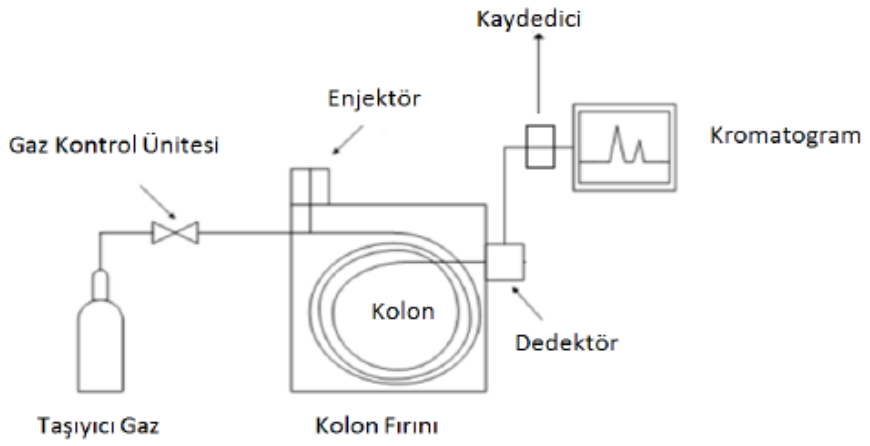
2.4.Gaz Kromatografisi

Kromatografi, tanımlama ve miktar tayini için karmaşık karışımları kendi bileşenlerine ayıran tekniktir. İlk kromatografi 1900'lü yıllarda Rus botanist M. S. Tswett tarafından bulunmuştur (27).

Kromatografi, numune karışımını gaz halindeki bileşiklere buharlaştıran ve bileşiklerin kaynama noktasına ve bunların gözenekli katı veya sıvı dolgu malzemesinin diferansiyel adsorpsiyonuna göre ayıran tekniktir. Düşük molekül ağırlıklı ve uçucu bileşiklerin analizi için yaygın olarak kullanılır ve adli tıp, ilaç ve böcek ilaçları gibi birçok endüstride yaygın olarak uygulanabilir. GC, bileşiklerin bir kolondaki katı / sıvı sabit faz ile gaz halindeki mobil faz arasındaki dağılımına bağlı olarak gaz-katı veya gaz-sıvı ayrıştırma kromatografisi olarak da

bilinir. Numune karışımı enjekte edilir, buharlaştırılır ve inert bir gazla termal olarak kontrol edilen kolona aktarılır. Numunedeki bileşikler, Van der Waals kuvvetleri ve dipol-dipol etkileşimleri gibi çeşitli moleküller arası kuvvetler vasıtasıyla sabit faz ile etkileşime girer. Bazı bileşikler polariteleri nedeniyle daha güçlü etkileşime girme eğilimindedir, böylece sabit fazda mobil faza kıyasla daha yüksek bir konsantrasyona neden olur. Sonuç olarak, bu bileşikler kolonda güçlü bir şekilde tutulur ve sabit faz ile daha zayıf etkileşime sahip bileşiklere kıyasla daha uzun tutunma süresine (RT) sahiptir.

Bir GC sistemi birkaç bileşenden oluşur. Bunlar Şekil-5'te gösterildiği gibi enjektör, kolon ve detektördür. Her bileşenin rolü, iyi bir ayırma ve analiz elde etmek için kritik öneme sahiptir (28).



Şekil- 5:Gaz Kromatografisi Cihazının Temel Kısımları (29).

2.4.1. Taşıyıcı Gaz

Taşıyıcı gaz, bileşikleri kolondan dedektöre taşımak ve gaz akışını sağlamak için gereklidir. Taşıyıcı gazın saflığı ve akışı, iyi ayırma ve tekrarlanabilir kromatogramlar elde etmek için çok önemlidir; gaz filtreleri ve akış regülatörleri, GC'ye yüksek saflıkta ve sabit akışlı gaz sağlamak için kullanılır. Helyum, hidrojen ve azot yaygın olarak kullanılan taşıyıcı gazlardan bazılarıdır. Bu gazların farklı özellikleri vardır ve seçim esas olarak numuneye ve dedektör ve analiz türüne bağlıdır. Bu gazların avantajları ve dezavantajları Tablo-I'de gösterilmiştir (28).

Tablo- I: Taşıyıcı Gazların Avantajları ve Dezavantajları

Taşıyıcı Gaz	Avantajlar	Dezavantajlar
Hidrojen	-iyi ayırma verimliliği -kısa analiz zamanı	-yanıcı -tamamen inert değil
Helyum	-Inert ve yanmaz -yüksek çözünürlük verir	-pahalı -kolay bulunmuyor
Nitrojen	-ucuz ve kolay bulunabilir	-ayırma verimi düşük -uzun analiz zamanı

2.4.2. Enjektör

Numune, bir şırınga, otomatik örnekleyici veya diğer örnekleme cihazları vasıtasıyla GC'ye enjekte edilir. Numuneyi anında buharlaştırmak için genellikle enjeksiyon portuna ve GC cam ek parçasına yüksek sıcaklık (150^{o}C-250^{o}C maksimum 450^{o}C) uygulanır. Bölmeli, bölmesiz ve doğrudan enjeksiyon olmak üzere çeşitli enjeksiyon modları vardır.

Bölmeli enjeksiyon yüksek konsantrasyonlardaki analizler için idealdir. Enjeksiyon sırasında numune "liner" e enjekte edilir ve buharlaşır. Bölmeli enjeksiyon bölme çıkışını açarak numunenin sadece küçük bir kısmının kolona girmesine izin verir. Bölme oranları tipik olarak 5:1 ila 500:1 arasında değişir, oran ne kadar yüksek olursa, bölme çıkışından geçenlere kıyasla kolona giren numune miktarı o kadar düşük olur. Bununla birlikte, numunenin çoğu bölündüğünden, tespit sınırları çok daha yüksektir. Bu, daha az hassas detektörler için sorunlu olsa da, ECD veya MS / MS gibi daha yüksek hassasiyete sahip dedektörler bu sorunu çözebilir (30).

Bölmesiz enjeksiyon genellikle eser analiz yapılacağı zaman kullanılır. Bölmesiz enjeksiyonda, bölme çıkışı kapatılır ve enjeksiyon öncesi ve sırasında kapalı bırakılır. Bölünmüş akış olmadığından, toplam akış önemli ölçüde azaltılmış akış hızında ayarlanır. Enjeksiyon sırasında numune, daha düşük akış hızı nedeniyle kolona girmeden önce "liner" içinde daha uzun süre kalır. Enjeksiyondan sonra yeterli süre geçtikten sonra, girişi temizlemek için bölünme çıkışı açılır. Bu süre, maksimum buharlaşmaya ve analitlerin kolona aktarılmasına izin verecek kadar uzun olacak şekilde hesaplanır (30).

Doğrudan enjeksiyonda "liner"e enjekte edilen numunenin tamımı anında buharlaştırılır ve direkt kolona gönderilir. Çözücü tepe noktası genellikle çok geniş olacaktır. Çözücünün yoğuşma etkilerini ortadan kaldırmak için kolon, çözücünün gaz fazında olacağı bir sıcaklıkta, yani genellikle çözücünün kaynama noktasının yakınında veya üstünde ayarlanmalıdır. İki durumda doğrudan enjeksiyon tercih edilebilir. Birincisi, bölmesiz enjeksiyonda sorunlu olan bir matriste düşük ppm miktarlarını ölçmemiz gerekirse. İkincisi, bölmeli enjeksiyon çok fazla ayrım yapıyorsa. Doğrudan enjeksiyonda mümkün olan en iyi sonuç için hızlı ve en küçük miktarı enjekte etmek gerekir (31).

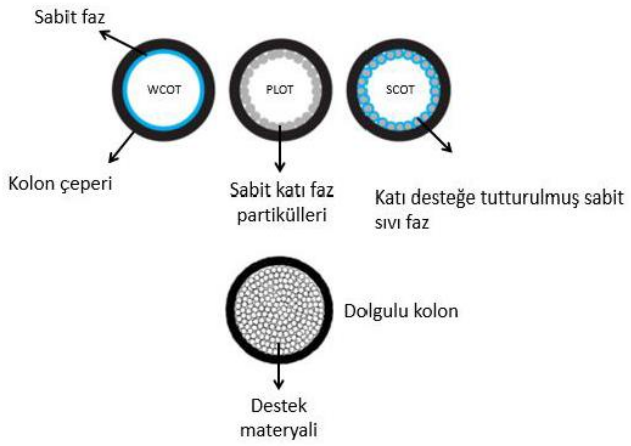
Tablo- II: GC için numune enjeksiyon yöntemlerinin özelliklerinin karşılaştırılması

	Bölmeli Enjeksiyon	**Bölmesiz Enjeksiyon**
Şırınga İğnesi	Kısa	Uzun
Maksimum Enjeksiyon miktarı	0.2-5 µl	>0.5 µl
Enjeksiyon Hassasiyeti	Zayıf	İyi
Enjeksiyon Hızı	Hızlı	<0.5 µl/sn
Enjektör Sıcaklığı	250-320^{o}C	200-280^{o}C
İlk kolon Sıcaklığı	Yok	Numune bileşeninde yer alan K.N 20-400^{0}C altında

2.4.3. Kolon

Ayırma esas olarak kolonlar ve sıcaklık kontrollü fırın kullanılarak gerçekleştirilir. Dolgulu kolanlar kullanılan ilk kolonlardan biridir. Bu kolonlar gözenekli katı veya sıvı kaplı katı parçacıklarla doldurulur. Gözenekli katı için, katı parçacıklar sabit bir faz görevi görür ve analitler gözenekli parçacığın yüzeyine adsorbe edilebilir. Sıvı kaplı katı için, katı parçacık üzerine adsorbe edilen sıvı tabakanın sabit faz olarak hareket ettiği bir gaz-sıvı kromatografisi formu kullanılır. Bu paketlenmiş kolonlar, sınırlı uygulamaları ve verimsiz ayrım nedeniyle günümüzde yaygın olarak tercih edilmemektedir. Günümüzde, daha verimli bir ayırma sağlayan kapiler kolonlar, GC analizleri için yaygın olarak benimsenmiştir. Kapiler kromatografik kolonlar dolgu malzemesi ile doldurulmaz, bunun yerine ince bir sıvı faz filmi iç duvarı kaplar. Açık kapiler kolonlar üçe ayrılır. Destek Kaplı Açık Kapiler Kolonlar (SCOT), Çeperi Kaplı Açık Kapiler Kolonlar (WCOT) ve Gözenekli Katmanlı Açık Kapiler Kolonlar (PLOT).

Destek kaplı açık kapiler kolonlar, sıvı faz ile kaplanmış çok ince bir katı desteğin (Celite gibi) adsorbe edilmiş bir tabakasını içerir. SCOT kolonları daha fazla sıvı faz tutabilir ve çeperi kaplı açık kapiler kolonların (WCOT) ince filmlerinden daha yüksek bir numune kapasitesine sahiptir. SCOT kolonlar yüksek numune kapasitesine rağmen ayırma verimliliği düşüktür.WCOT kolonlarında, çeper 0.05-3 μm film kalınlığında doğrudan sabit faz tabakası ile kaplanır. En sık kullanılan kolon tipidir. PLOT kolonları, alümina, moleküler elekler veya Porapak gibi katı bir adsorbanın gözenekli bir tabakasını içerir. PLOT kolonları ışık, sabit gazlar ve diğer uçucu bileşiklerin analizi için çok uygundur (32).



Şekil- 6: WCOT, PLOT, SCOT ve Dolgulu kolonlar (32)

Bu kolonlarla GC hem izotermal hem de sıcaklık programlı modlarda çalıştırılabilir. Ayrışma ve analitlerin yüksek çözünürlüğünü elde etmek için uygun sıcaklık programı gereklidir. Ayrıldıktan sonra, analitler kolondan ayrılır ve dedektöre giderek bir sinyal verir (28).

2.4.4. Dedektör

Detektörler, bir karışımdaki analitlerin varlığını ve kalitesini belirlemek için kullanılır. Genellikler fizikokimyasal özelliği ölçer ve bu veriler bir sinyale dönüştürülür. Tepe alanı veya tepe yüksekliği, numunede bulunan bileşik miktarına karşılık gelirken, tutma süresi, bileşiğin kimliğini ayırt etmek için kullanılır. Mevcut birkaç GC detektörü vardır. İdeal dedektör şu özelliklere sahip olmalıdır;

- Yüksek hassasiyette olmalı
- Değişkenlerden etkilenmemeli
- Mükemmel doğrusallık olmalı
- Nicel ve tanımlayıcı olmalı
- Yıkıcı olmamalı
- Hızlı ve kullanımı kolay olmalı (28)

Tablo- III: GC'de kullanılan dedektörlerin özelliklerinin karşılaştırılması (33)

Dedektör	Seçicilik	Hassasiyet	Alt-Üst Tayin Sınırları	Gaz	Sıcaklık
Alev İyonizasyon	C-H bağlı organikler	0.1-10 ng	10^{-12} g/s – 10^{7}	Hidrojen-hava karışımı	250-300°C ve 400-450°C
Nitrojen-Fosfor	Nitrojen ve fosfor içerikli bileşikler	1-10 pg	10^{-12}g/s (P) – 10^{5} 10^{-12} g/s (N) – 10^{5}	Hidrojen-hava karışımı	250-300°C

Elektron Yakalama	Halojenler, nitratlar ve konjuge karboniller	0.1-10pg (halojenli bileşikler); 1-100 pg (nitratlar); 0.1-1ng (karboniller)	10^{-14} g/mL – 10^{5}	Azot veya argon/metan	300-400°C
Termal İletken	Özgün değil	5-20 ng	10^{-9} g/mL – 10^{5}	Taşıyıcı gaz ile aynı	150-250°C
Alev Fotometrik	Sülfür veya Fosfor içerikli bileşikler	10-100 pg (sülfür);1-10pg(fosfor)	10^{-13}g/s(P) – 10^{5} 10^{-12}g/s (S) – 10^{3}	Hidrojen-hava karışımı	250-300°C
Kütle	Tüm iyonize moleküler parçacıklar	1-10 ng	10^{-13} g – 10^{6}	yok	250-300°C

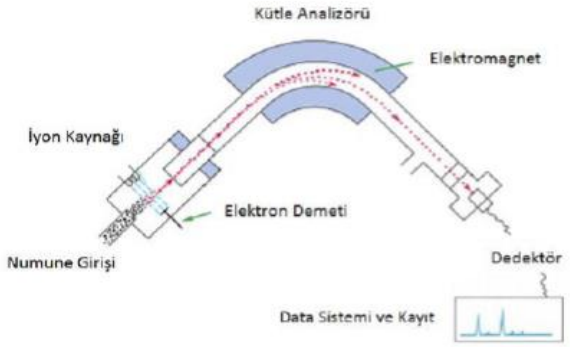
Bu tez çalışmasında kütle dedektörü kullanıldığı için bu dedektör ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

2.5.Kütle Spektroskopisi

GC'yi MS'e bağlarken, GC bileşenlerinde küçük değişiklikler olsa da genel hatlarıyla benzerdir. Bu değişiklikler, MS ile başarılı bağlantı ve arabirim için gereklidir. MS sadece bileşikleri tespit etmekle kalmaz, önce iyonlarına ayırır ve sonra bu iyonları tespit eder. Daha spesifik olarak, elüat MS'e girer ve iyonlaşmanın meydana geldiği iyon kaynağına akar. İyonlar üretildikten sonra, hızlandırılır ve kütle analizörlerine yönlendirilir ve sonunda tespit edilir ve ölçülür.

MS'i GC den ayıran diğer bir faktör ise vakum sistemidir. GC atmosfer basıncında çalışır, MS ise düşük basınç ve yüksek (10^{-3}-10^{-4} Pa) vakum durumu gerektirir. Basıncın başarılı bir şekilde

üstesinden gelmek ve GC'yi MS'e bağlamak için bağlantı ve vakum pompalama sistemi çok önemli bir rol oynamaktadır. Kullanılan modern sistemler hem daha büyüktür hem de genellikle pompalamanın yapıldığı iki farklı vakum kısmı içerir. Bunlar iyon kaynağı ve analizör bölgesidir (28).



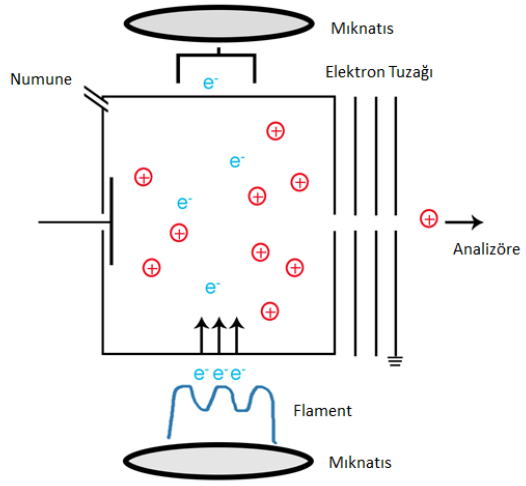
Şekil- 7:Kütle spektrometresinin temel kısımları (34)

2.5.1. İyonizasyon Teknikleri

GC-MS'de iyon kaynağı, elektron bombardımanı veya bir reaktif gazı ile çarpışma reaksiyonu yoluyla gaz halindeki molekülleri yüklü iyonlara dönüştürür. Başlıca kullanılan elektron iyonizasyonu ve kimyasal iyonizasyon dışında daha spesifik olan matriks yardımlı desorbsiyon iyonlaştırma tekniği, ikincil iyon kütle spektrometresi tekniği vb. gibi tekniklerde analizlerde kullanılmaktadır. En çok kullanılan ise elektron iyonizasyon (EI) tekniğidir.

Elektronlar ısıtılmış bir filamentten üretilir ve iyon kaynağı ortamına doğru yüksek voltajla hızlandırılır. GC'den çıkan gaz halindeki moleküller, EI odasındaki bu elektronlarla (70eV) çarpışır. Çarpışmadan, moleküler iyonu oluşturmak (M+) için molekülden (M) bir elektron çıkarılır.

$M_{(g)} + e^- \rightarrow M_{(g)}^+ + 2e^-$



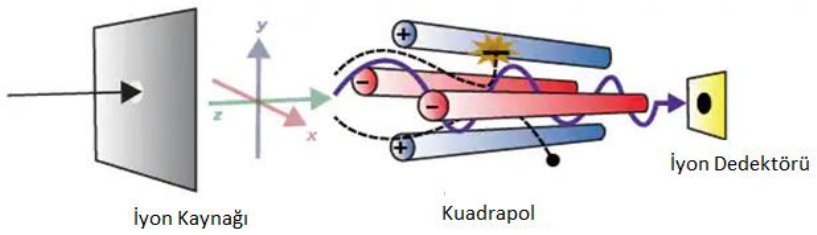
Şekil- 8:Elektron İyonizasyon yöntemi (35)

İyon kaynağındaki vakum esas olarak 10^{-2} Pa dan daha az olan taşıyıcı gaz tarafından belirlenir. GC taşıyıcı gazın müdahalesini azaltarak elektronların ve gaz halindeki moleküllerin çarpışması için yüksek şans sağlar. Mıknatıslar, filamentten yayılan elektronları GC giriş akışından gaz halindeki moleküllere yönlendirmek için iyon kaynağın da kullanılır. Bu, iyon kaynağına giren elektron sayısını ve elektron ile bileşikler arasındaki çarpışma sayısını arttırır. Sonuç olarak iyon kaynağındaki vakum, sıcaklık, elektron enerjisi ve iyon kaynağının tasarımı bu tekniğin verimliliği ve tekrarlanabilirliği açısından büyük önem taşımaktadır (28).

2.5.2. Kütle Analizörü

İyonlar iyon kaynağında oluşturulduktan sonra, elektrik alan oluşturularak kütle analizörüne yönlendirilir. Kütle analizörü, iyonları zaman veya alan içindeki m/z oranlarına göre ayırır. En sık kullanılan analizörler Kuadrapol, Magnetik sektörlü ve Uçuş zamanlı analizörlerdir.

Genellikle en çok kullanılan Kuadrapol analizörüdür. Kuadrapol analizör merkez eksenden eşit uzaklıkta konumlandırılmış bir vakum odasının içinde dört paralel silindirik metal çubuk (hiperboloidal iç yüzeye sahip elektrotlar) içerir. Dört kutupluya hem doğru akım (DC) hem de yüksek frekanslı alternatif akım veya radyofrekansı (RF) uygulanır, böylece yalnızca hedef m/z'ye sahip iyonlar dört kutupludan başarıyla geçer ve dedektöre ulaşır. İyonizasyon ünitesinde üretilen sürekli iyon kaynağı ilk önce z yönünde sadece birkaç düzine voltluk nispeten zayıf bir voltajla hızlandırılır. Bu iyonlar küçük bir delikten geçerek kuadrupole girerler. Aynı polaritenin voltajı çapraz olarak zıt kutuplara uygulanır ve mavi ve kırmızı çubuklarla gösterildiği gibi bitişik kutuplara zıt voltaj polaritesi uygulanır. Her bir kutba doğru akım voltajı ve yüksek frekanslı alternatif akım voltajının bir kombinasyonu uygulandığında, dört kutuplu içinde hızla değişen bir faza sahip bir elektrik alanı üretilir. Sonuç olarak, bu elektrik alanından geçen iyonlar x ve y yönlerinde salınırlar. Kutuplara belirli bir parametreler uygulandığında, belirli bir m/z aralığındaki iyonlar kararlı bir salınım sağlar ve dedektöre ulaşmak için dört kutupludan geçer (28).



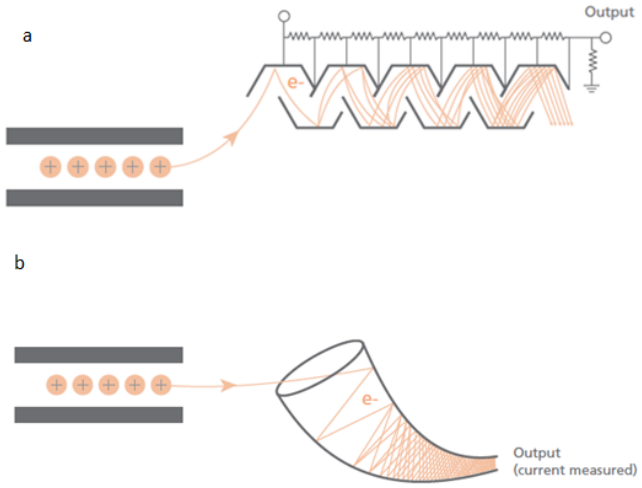
Şekil- 9:Kuadrapol kütle analizörü (36)

2.5.3. Dedektör

Doğru ve güvenilir iyon tespiti olmadan, analizde daha önce olan her şey anlamsız olurdu. Dedektör seçimi, cihazın tasarımına ve analizi yapılacak kimyasal türüne bağlıdır. Dedektör, analizörden, daha da güçlendirilmiş ikincil elektronlar üreterek veya hareketli bir yük tarafından üretilen bir akımı indükleyerek bir sinyal üretir. Günümüzde kullanılan detektörlerden bazıları Faraday kupası, Elektron multipleri ve Fotomuştipleridir. Elektron Multipleri ise ikiye ayrılır; Dizi diyot elektron çoğaltıcı ve devamlı diyot elektron çoğaltıcıdır.

Dizi diyot elektron çoğaltıcı, art arda düzenlenmiş yaklaşık 10-25 ayrı diyota sahiptir. Uygulanan voltajın sonraki her diyot ile daha pozitif olduğu dirençler kullanılarak her diyota negatif voltaj uygulanır. Gelen iyon ilk diyota çarptığında, yüzeyden birkaç elektron yayılır. İkincil elektronların emisyonu, sonraki diyotlar için tekrarlanır ve daha fazla elektron ve daha yüksek elektrik akımı üretir. Sonunda, bu katlanarak güçlendirilmiş sinyal, her m/z için iyonlar ölçülür ve kütle spektrumuna kaydedilir.

Devamlı diyot elektron çoğaltıcı genellikle bir boynuz şeklindedir ve kurşun silikat camdan oluşur. Amplifikasyon prensibi dizi diyot elektron çoğaltıcı tipine benzer, ancak elektronlar ayrı ayrı metal diyottan ziyade diyotun sürekli iç yüzeyinden yayılır. Sinyal üretilmesi için tek bir iyonun bu tetiklemesi yeterlidir (28).



Şekil- 10:a) Dizi Diyot Elektron Çoğaltıcı, b) Devamlı Diyot Elektron Çoğaltıcı (37)

2.6.Literatür Taraması

Literatürde ilk defa mürekkep analizi karşımıza C. Mitchell'in 1904 yılında yazdığı "Inks and Their Composition And Manufacture" adlı kitabı ile çıkmaktadır (38).1908 yılında C. Mitchell "English inks: their composition and differentiation in handwriting" adlı makale yayınlamıştır (39). Daha sonrasında C. Mitchell 1920 yılında değişik iki pH daki okzalik asit ile ekstrakte ettiği mürekkep miktarlarını oranlandığı "Examination of the Age of ink in Writing" makalesini ele almıştır (40). Whitte, Hess ve Mitchell klorür ve sülfat iyonlarının göçünü, solmasını ve ekstrakte edilebilirliğini baz alarak mürekkebin bağıl yaş hesaplamasını 1930 yılında yapmışlardır (38). 1952 yılına gelindiğinde Somerford ve Sounder "Comparison of writing inks by paper chromatography" adlı çalışmada belgeye verilen zararın minimum olduğunu ve kâğıt kromatografisi ile çalışarak mikro miktarının yeterli olduğunu ortaya koymuştur (41).

1959,1960 ve 1963 yılları arasında Kikuchi, Mitchell in tekniğini baz alarak yaptığı çalışmalarda kâğıt üzerindeki mürekkeplere HCl damlatarak eski mürekkeplerdeki dağılma hızına

oranla yeni mürekkeplerdeki dağılma hızının daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (42).1961 yılında ise Crown ve arkadaşları spot test geliştirerek tükenmez kalemdeki boyar maddeleri tespit etmeyi başarmışlardır. Witte 1963 yılında yeni teknikler geliştirerek analiz için kağıt üzerindeki mürekkebin kağıt üzerinden doğrudan almıştır ve "The Examination and Identification of Inks," adlı makalesini yazmıştır (43). 1965 yılında Nakamura ve Shimoda “Examination of micro-quantity of ball point inks from documents by thin-layer chromatography” isimli çalışmasında tükenmez kalem mürekkeplerini TLC ile analizini yapmış ve metil viyole grubunu ekstrakte etmeyi başarmışlardır (44). 1968 yılına gelindiğinde ise Brunelle, Witte in 1963 yılındaki "The Examination and Identification of Inks," adlı çalışmasını baz alarak benzer bir örnekleme tekniği geliştirmiştir. Bu teknik belgede büyük bir tahribat bırakmadığı için önemli hale gelmiştir (45).

Brunelle ve Cantu 1975 yılında bir program geliştirerek şüpheli belgedeki yazıların oluşturulma zamanları hakkında yorum yapabilmek için mürekkep üreticisinin üretim yılını tespit etmiş ve böylelikle statik yaklaşımın temellerini atmışlardır (46). Stewart’ın 1982 yılındaki “Ballpoint ink age determination by volatile component comparison—a preliminary study” çalışmasında çözücüleri baz almış ve mürekkebin formülünü TLC ile belirleyip, kütüphane ile karşılaştırmıştır. Ayrıca GC-FID cihazını kullanarak mürekkebin kağıda temasından sonra organik çözücülerin zamanla azaldığını analiz etmiştir (47).1985 yılında mürekkep çözücülerinin yapısında bulunan -CO, -OH ve -CH bantlarındaki değişimleri FTIR cihazı kullanarak inceleyen Humecki 30 yıla kadar olan belgelerle çalışmış ve OH/CO oranında zamana bağlı azalma olduğunu tespit etmiştir (48). Cantu ve Prough mürekkep kağıt yüzeyinde ne kadar az beklemişse kağıt gözeneklerine daha az nüfuz edeceği için ekstraksiyon veriminin artacağı hipotezini kanıtlamak için 1987 de bir metot geliştirmişlerdir. Bu metodun kullanılması için mürekkeplerin aynı kaleme ait olması, aynı kağıtta olması yada aynı depolama koşullarında saklanmış aynı kalitede farklı

kağıtlardan numune alınması gerekmekteydi. Bu çalışma sonucunda ekstraksiyon oranı olarak hesaplanmış ve bunun zamana bağımlılığı ortaya konmuştur (49). Cantu 1988 yılında ise mürekkeplerin tarihlendirilmesinde yapay yaşlandırma modelini kullanarak normal yaşlandırmadaki değişimlerin öngörülebileceğini "Comments on the accelerated aging of ink" adlı yazısında bahsetmiştir (50).

1990 lı yıllarda Aginsky kütle spektrometresi ile birleştirilmiş gaz kromatografisi kullanarak mürekkebin yapısındaki uçucu ve boya bileşenlerinin oranlamasının zamana bağlı birer değişken olabileceğini ortaya koymuştur (45). 1993 yılındaki çalışmasıyla Aginsky mürekkebin yapısında bulunan reçine ve uçucu olmayan renksiz maddelerin değişimlerini TLC ile analiz etmiş, UV kullanarak gözlemlemiş ve densitometre tarayıcı ile değerlendirmiştir (51). Brunelle 1995 yılındaki "A sequential multiple approach to determining the relative age of writing inks" çalışmasında aynı mürekkepten iki örnek almış birini ısıtarak yapay yaşlandırır iken diğerini doğal yaşlandırmaya bırakmış ve TCL ile analiz ettikten sonra sonuçları karşılaştırmıştır (52).2004 yılına gelindiğinde ise Lociciro ve arkadaşları kâğıt üzerindeki mürekkebi solvet kullanarak çekitlemiş ve GC de analiz etmişlerdir. Bu çalışmasının sonucunda uçucu olan bileşenlerin mürekkebin içerisinde bulunan başka sabit bileşenlerle kıyaslanmasının mürekkebin yaşının tespitinde bir etkisi olmadığı ortaya konulmuştur (53). 2005 ve 2006 yıllarında MALDI ve ESI-MS kullanarak reçinelerin miktarı ve türünü araştıran Kirsch ve arkadaşları mürekkep partilerinin, üretim tarihlerinin tespitinin mümkün olduğunu ve mürekkep yaşlanma ürünlerinin de tespit edildiğini belirtmişlerdir. 2008 yılında Bugler ve arkadaşları termal disorpsiyon ve GC-MS kullanarak %V oranını bulmuştur. Bu orana göre tükenmez kalem mürekkeplerinin zamana bağlı değişiminin grafiğini çizmiştir (54).

Ülkemizde ise bu çalışmaları 2015 yılında tamamladığı “Belgeden mavi renkli Tükenmez Kalem Mürekkeplerinin Yapı ve Yaş Tayini” isimli doktora tez çalışması ile Dilek Salkım İşlek başlatmıştır.

Son yirmi yıldır mavi tükenmez kalem mürekkeplerini yanı sıra siyah, kırmızı tükenmez mürekkepleri ve jel kalem mürekkepleri gibi farklı mürekkep renkleri ve çeşitleri de GC-MS, HPLC, SPME, TD-GC-MS, LIBS gibi değişik analizleme yöntemleri kullanılarak adli olayları çözmeye yardımcı olmak için incelenmiştir. (55,80)

Bu tez çalışmasında ise GC-MS kullanılarak mürekkebin içinde bulunan fenoksietanol, etoksietanol, propilen glikol, fenoksietoksietnol ve piperonil alkol ün zamana bağlı değişiminin grafiği çizilerek belgelerin oluşturulma zamanları tespit edilecektir.

2.7.Validasyon

Laboratuvarda kullanılacak olan analiz yöntem amaca uygun, güvenilir ve valide olmalıdır. Validasyon, hedeflenen amaca yönelik analitik yöntemin uygunluğunu göstermek için kullanılan bir süreçtir (81).

Validasyon gerektiren durumlar;

1.Analiz için yeni metot geliştirilmek istendiğinde

2. Herhangi standart bir metot laboratuvarda ilk defa uygulanacağında

3.Hali hazırda kullanılan metotta değişiklik yapıldığında

4. Geçerliliği belirlenmiş bir metodun başka bir laboratuvarda kullanılacağı zaman

5. Farklı bir kişi tarafından, farklı bir cihaz veya kimyasal kullanıldığında

6. İki metot arasındaki benzerlik veya farklılıkları belirlemek için

7. Kalite kontrol çalışmaları sırasında kullanılan metotta zamanla değişiklikler olduğu fark edildiğinde (82)

Doğrulama prosedürleri, kalite kontrolü ve yönetmeliklere uyum amacıyla çeşitli endüstriyel komiteler, düzenleyici kuruluşlar ve standart kuruluşlar tarafından geliştirilmiştir. Bu kuruluşlara FDA, US, ICH, ISO/IEC gibi kuruluşlar örnek verilebilir. Validasyon hazırlık aşamasında ilk olarak analiz edilecek olan madde için hangi yöntem kullanılacağı ve metodun amacı belirlenmelidir. Bir yöntemin validasyonu kanıtlanırken her aşama kayıt altına alınmalıdır. Validasyon basamaklarının geçerlilik sınırları uluslararası düzeyde belirlenmiştir. Bir analitik yöntemin validasyonu sırasında dikkat edilmesi gereken bazı temel parametreler vardır. Kullanılacak yönteme göre bazen bu parametrelerin hepsi kullanılmazken, bazen de ilave parametreler eklemek gerekmektedir.

Metotların validasyonu seviyesi belirlenmiş performans kriterlerine göre değişiklik gösterir.

1- Bir metot iki farklı laboratuvarda uygulanmış ve kabul edilmiş ise verifikasyon yeterlidir.
2- Bir metot iki farklı laboratuvarda uygulanmış ve kabul edilmiş ancak farklı bir yapıya sahip numune ile çalışılacaksa doğruluk, kesinlik, tespit limiti ve tayin limiti verifikasyona yeni matriks de eklenerek teyit edilmelidir.
3- Bir metot sadece laboratuvar içi çalışma ile valide edilmiş ise, verifikasyon parametrelerine olabildiğince validasyon parametreleri de eklenmelidir.

4- Bir metot bilimsel bir dergide yayınlanmış ve belirli performans parametreleri incelenmiş ise, verifikasyon parametrelerine mümkün olduğu kadar validasyon parametreleri de eklenmelidir.
5- Bir metot hiçbir performans parametresi incelenmemesine rağmen bilimsel bir dergide yayınlanmış ise tam iç validasyon yapılmalıdır.
6- Bir metoda ait herhangi bir performans parametresi bulunmadığı veya laboratuvar içi geliştirilmiş ise tam iç validasyon yapılmalıdır (81).

Seçicilik (Specificity)

Seçicilik, aranan analit içeriğini yabancı maddeler, bozunan ürünler ve kompleks matris bileşenleri gibi diğer bileşenlerin varlığında açık bir şekilde ölçme yeteneğidir. Seçicilik için aranan analiti içeren örneklerin kromatogramları ile aranan analiti içermeyen örneklerin kromatogramları karşılaştırılmalı ve belirlenen analitin sinyalinin gözlemlendiği noktada diğer analitlerden veya çözücüden kaynaklı bir girişim olmamalıdır.

Doğruluk (Accuracy)

Analitik bir prosedürün doğruluğu, parametrelerin test sonuçlarının bu parametrelerin gerçek ölçütü ile karşılaştırıldığında belirli bir analit için ne kadar yakın olduğu olarak tanımlanır. Eser element analizinde doğruluk sertifikalı referans malzeme analizinin bağımsız olarak doğrulanmış bir yöntemle elde edilen verilerle karşılaştırma veya Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO)

tarafından akredite edilmiş, test ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel gerekliliklere uygun bir laboratuvarı içeren laboratuvarlar arası karşılaştırma ile belirlenebilir.

Bir ilaç maddesinin tayin edilmesi gerektiğinde, doğruluk, analitik prosedürün bilinen saflık içeren bir analit ile uygulanması veya prosedürün sonuçlarının, doğruluğu belirtilen veya tanımlanan ikinci, iyi karakterize bir prosedürün sonuçlarıyla karşılaştırılması yoluyla belirlenebilir.

Kesinlik (Precision)

Bir yöntemin kesinliği, aynı koşullar altında konsantrasyonların çalışma aralığı üzerinde tekrarlanan ölçüm derecesidir. Kesinlik, zaman (kısa veya uzun), kalibrasyon (aynı sistemde analizler arası kalibrasyon yapılıp yapılmadığı), ekipman (analizlerde aynı ekipmanların kullanıp kullanılmadığı) ve analist (aynı veya farklı) faktörlerinin değişmesine bağlı değişkenlik gösterebilir. Kesinliğin 3 seviyesi bulunmaktadır. Bunlar tekrarlanabilirlik, ara tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirliktir.

Tekrarlanabilirlik (Repeatability)

Tekrarlanabilirlik, aynı numunenin ölçümlerinin değişkenliğidir. Bu parametre sistem hassasiyeti ve yöntem hassasiyeti açısından incelenir. Sistem hassasiyeti, aynı numune hazırlığının birkaç kez enjekte edilmesi ile belirlenir. Yöntem hassasiyet, bir numunenin birkaç kez hazırlanması ile belirlenir.

- ***Ara Tekrarlanabilirlik (Intermediate Precision);*** Numuneler farklı analistler tarafından, farklı günlerde ve farklı ekipmanlar ile analiz edildiğinde elde edilen değişkenliktir.
- ***Tekrar Üretilebilirlik (Reproducibility);*** Numunelerin aynı yöntem ile farklı laboratuvarlarda analiz edilmesi ve bu analiz sonuçlarının aynı olmasına bağlıdır.

Tespit Limiti (LOD)

Tespit limiti, belirli bir test yöntemi kullanıldığında söz konusu maddenin yokluğundan belirtilen bir güven düzeyi ile güvenilir bir şekilde ayırt edilebilen bir numunedeki en düşük analit miktarını ifade eder. Tespit limitini belirlemek için çeşitli yaklaşımlar mümkündür. Bunlar görsel değerlendirme, sinyal-gürültü oranı, yanıtın standart sapmasıdır. En sık kullanılanı sinyal-gürültü oranıdır. Sinyal/ gürültü oranının 3 olduğu konsantrasyon LOD olarak kabul edilebilir.

Ölçüm Limiti (LOQ)

Ölçüm limiti, bir numunedeki kabul edilebilir hassasiyet ve doğrulukla belirlenebilen en düşük analit miktarıdır. Tespit limitini belirlemek için çeşitli yaklaşımlar mümkündür. Bunlar görsel değerlendirme, sinyal-gürültü oranı, yanıtın standart sapmasıdır. En sık kullanılanı sinyal-gürültü oranıdır. Sinyal/ gürültü oranının 10 olduğu konsantrasyon LOQ olarak kabul edilebilir.

Sağlamlık (Robustnes)

Analitik bir prosedürün sağlamlığı, listelenen prosedür parametrelerindeki küçük ama kasıtlı değişikliklerden etkilenmeden kalma kapasitesinin bir ölçüsüdür. Ölçümler analitik koşullardaki değişimlere karşı hassassa, analitik koşullar uygun şekilde kontrol edilmeli Sağlamlık testlerinden elde edilen veriler sayesinde, yöntemin uygulanabilir olduğu koşullar tespit edilebilir.

Sağlamlığa etki eden faktörlere, farklı oda sıcaklığı, farklı laboratuvarlardaki nem, farklı analistler, kimyasal madde değişimi (marka), matriks kompozisyonu, ekstraksiyon zamanı ve farklı markaların ekipmanları örnek verilebilir.

Lineerlik (Linearity)

Doğrusallık, yöntemin, belirli bir aralıktaki analit konsantrasyonuyla orantılı olarak doğrudan veya iyi tanımlanmış bir matematiksel dönüşümle test sonuçlarını ortaya koymasıdır. Başlangıçta, içeriğin analit konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak bir sinyal grafiğinin görsel olarak incelenmesiyle oluşturulmalıdır. Doğrusal bir ilişki olduğu görülüyorsa, test sonuçları uygun istatistiksel yöntemlerle oluşturulmalıdır. Korelasyon katsayısı, y-kesişimi ve regresyon çizgisinin eğimi belirlenmelidir. Belirli minimum belirtilen aralıklarla birlikte en az beş konsantrasyon seviyesine sahip olunmalıdır. Analiz için belirtilen minimum aralık, hedef konsantrasyonun %80-120'si arasındadır.

Sınırlar (Range)

Analitik bir prosedürün aralığı, yazıldığı şekilde prosedür kullanılarak uygun bir hassasiyet, doğruluk ve doğrusallık düzeyi ile belirlendiği gösterilen üst ve alt analit seviyeleri (bu seviyeler dahil) arasındaki aralıktır. Aralık normalde analitik prosedürle elde edilen test sonuçlarıyla (örneğin yüzde) aynı birimlerde ifade edilir.

3. Gereç ve Yöntem

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı Toksikoloji Laboratuvarında 2021-2022 yılları arasında gerçekleştirildi. Mavi renkli tükenmez kalem mürekkeplerinin yapısında çözücü olarak kullanılan Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol ve Etoksietanolün GC-MS analizine imkan veren metot geliştirildi. Geliştirdiğimiz bu metot ile piyasadan rastgele seçilmiş farklı marka ve modeldeki 10 adet mavi tükenmez kalem kullanarak oluşturduğumuz arşiv numuneleri analizlenerek yaş eğrileri çizildi.

3.1.Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan bütün kimyasallar Tablo-IV de verilmiştir.

Tablo- IV: GC-MS ile mürekkep içindeki çözücülerin analizinde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	**Temin Edildiği Yer**
Fenoksietanol	Sigma Aldrich (Almanya)
Fenoksietoksietanol	TCI (Japonya)
Etoksietanol	Sigma Aldrich (Almanya)
Propilen Glikol	Sigma Aldrich (Almanya)
Piperonil Alkol	Sigma Aldrich (Almanya)
Diklorometan	Merck (Almanya)

3.2.Kalem ve Kağıt Numuneleri

Kalem numuneleri standart ofis A4 (80gr/m^2) kağıdına uygulanmıştır. Piyasadan farklı marka ve modellerden rastgele seçilmiş 10 adet mavi renkli tükenmez kalem temin edildi.

Bu kalemler Tablo-V de gösterilmiştir.

Tablo- V: Kullanılan mavi tükenmez kalem markaları ve modelleri

Tükenmez Kalem Marka ve Modelleri	Pensan Büro-P.B.	Pensan Ofis-P.O.
	Pensan My Tech-P.My	Faber Castell 1425-FBC
	Bic Round Stic-B.R.	Gestetner-Gest
	Scrikss F108-S.F.	Office Time-.O.T.
	Mikro M-25-M.M.	Uni-Ball Laknock-UBL

3.2.1. Arşiv Oluşturma

Piyasadan toplanan farklı marka ve modellerden ait 10 adet mavi renkli tükenmez kalem ile her ay düzenli olarak bası farkını elemine etmek için aynı kişi tarafından A4 standart ofis kağıdına ($80g/m^2$) 10 cm mesafe aralıklarıyla (Bu mesafenin nedeni mürekkep içindeki çözücülerin kağıt yüzeyindeki yatay ve dikey difüzyonu nedeniyle girişim olmaması) cetvel yardımıyla çizgiler çizildi. Oluşturulan belgelerdeki çözücü kontaminasyonunu engellemek için şeffaf dosyaların içerisine teker teker konarak dosyalandı. 23-25^{0}C sıcaklığında, %45-55 nem aralığında saklandı. Bu değerler sıcaklık-nem ölçer ile ölçüldü. Bu arşiv örneklerinden her ay 10 cm lik numuneler alınarak yaşlanma eğrileri çizildi.

3.2.2. Mürekkep İçindeki Çözücülerin Analizi için Örnek Hazırlama

Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Etoksietanol ve Propilen glikolün GC/MS de ile analiz metodunun geçerli kılınmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması bölüm 3.5 de detaylı olarak verilmiştir. Kalemler ile standart ofis kağıdına bası gücünü aynı tutmak için aynı kişi tarafından 10cm aralıklarla cetvel yardımı ile çizgiler çizildi. İlk çizildiği anda ve daha sonra her ay düzenli

olarak bu numunelerden 1mm genişliğinde 10cm uzunluğunda kısımlar alındı. Alınan numuneler 2.0 mL'lik viallere konulup, 1 mL DCM eklenerek 80^0C de su banyosunda bir saat bekletildi. Numuneler GC-MS ile analizlendi.



Şekil- 11:Bistüri ve GC-MS viali

3.3.Cihazlar

Kullanılan cihazlar ve markaları Tablo-VI da verilmiştir.

Tablo- VI: Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz Adı	**Markası ve Modeli**
Su Banyosu	Nüve BM-302
Otomatik pipet ve uçları(2-20µL pipet ve uçları,10-100 µL pipet ve uçları, 200 µL pipet ve uçları)	Eppendorf Research
Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi	Agilent Tech 7820A/5977E MSD
GC Kolon	Agilent HP 5MS (Kolon uzunluğu:30m, çapı:0,25 mm, kalınlığı:0,25 µm)
GC otosampler vial insert	Agilent
GC otosampler viali (2.0 ml)	Agilent
Balon Joje	Isolab
Vortex Karıştırıcı	LMS Vortex Shaker VTX-3000 L
Mikro Santrifüj Tüpü (1.5 mL)	Eppendorf Research
Bistüri Ucu No:22	Plus Med

3.4.GC-MS Sistem Koşulları

GC Koşulları:

Kolon: Agilent HP 5MS

Inlet Sıcaklığı: 250^0C

Akış Hızı: 1 ml/dk

Fırın Programı: Kullanılan fırın programı Tablo-VII de verilmiştir.

Tablo- VII: GC'de kullanılan fırın programı

Artış(°C/dk)	İlk Sıcaklık (°C)	Bekleme(dk)	Toplam Süre (dk)
	40°C	2	11
10°C/dk	80°C	0	
40°C/dk	200°C	2	

MS Koşulları :

Tarama Modu: SIM(m/z=41,43,45,59,65,72,77,93,94,121,123,135,152,182)

Solvent Ertelemesi: 5 dk

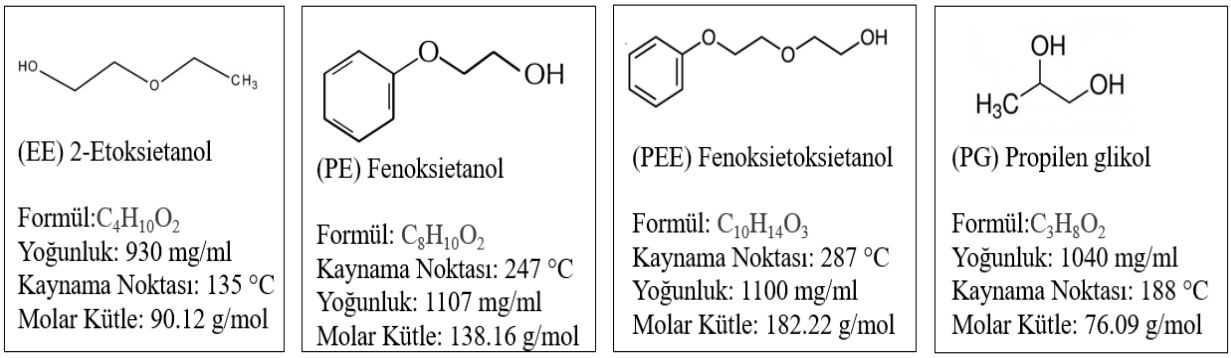
MS Transfer Sıcaklığı: 280°C

MS Analizör Sıcaklığı: 150°C

MS İyon Kaynağı Sıcaklığı: 230°C

3.5.Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Etoksietanol ve Propilen glikol ün Validasyon Çalışması için Kullanılan Stok ve Kalibrasyon Çözeltilerin Hazırlanması

Her bir analite ait standart maddelerin stok çözeltileri bahsedildiği şekilde hazırlandı. Kalibrasyon çözeltileri ise bu stok çözeltinin seyreltilmesi ile hazırlandı. Balon jojelerde hazırlanan kalibrasyon çözeltileri ağzı parafilm ile kaplanarak, $+4^0$C'de, saklandı. Kalibrasyon için kullanılan tüm kimyasalların saflıkları sertifikalandırılmış olup> %99,0 olduğundan safsızlık oranları hesaplamalarda göz ardı edildi.



Şekil- 12: EE, PE, PEE ve PG nin kimyasal özellikleri

Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Piperonil Alkol Stok Çözelti (5 mg/mL): 0.5 g standart PA tartıldı. 100 mL'ye DCM ile tamamlandı

Etoksietanol Stok Çözeltisi (5 mg/mL): 530 µL standart EE den alındı. 100 mL'ye DCM ile tamamlandı.

Fenoksietanol Stok Çözeltisi (5 mg/mL): 450 µL standart PE den alındı. 100 mL'ye DCM ile tamamlandı.

Fenoksietoksietanol Stok Çözeltisi (5 mg/mL): 450 µL standart PEE den alındı. 100 mL'ye DCM ile seyreltildi.

Propilen glikol Stok Çözeltisi (5 mg/mL): 480 µL standart PG den alındı. 100 mL'ye DCM ile tamamlandı.

0,1 mg/mL Karışım Çözeltisi: 5 mg/mL EE, PE, PEE, PG stok çözeltilerinden 10 µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinde 5 µL alınarak 500 mL'ye DCM ile tamamlandı.

0,3 mg/mL Karışım Çözeltisi: 5 mg/mL EE, PE, PEE, PG stok çözeltilerinden 30 µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinde 5 µL alınarak 500 mL'ye DCM ile tamamlandı.

0,5 mg/mL Karışım Çözeltisi: 5 mg/mL EE, PE, PEE, PG stok çözeltilerinden 50 µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinde 5 µL alınarak 500 mL'ye DCM ile tamamlandı.

Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

Her bir analitin kalibrasyon çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır.

0.1 mg/mL Kalibrasyon Çözeltisi: 5 mg/mL'lik (EE/PE/PEE/PG) stok çözeltisinden 10µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinden 5 µL alınarak 500 µL'ye DCM ile tamamlandı

0.2 mg/mL Kalibrasyon Çözeltisi: 5 mg/mL'lik (EE/PE/PEE/PG) stok çözeltisinden 20µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinden 5 µL alınarak 500 µL'ye DCM ile tamamlandı.

0.3 mg/mL Kalibrasyon Çözeltisi: 5 mg/mL'lik (EE/PE/PEE/PG) stok çözeltisinden 30µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinden 5 µL alınarak 500 µL'ye DCM ile tamamlandı.

0.4 mg/mL Kalibrasyon Çözeltisi: 5 mg/mL'lik (EE/PE/PEE/PG) stok çözeltisinden 40µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinden 5 µL alınarak 500 µL'ye DCM ile tamamlandı.

0.5 mg/mL Kalibrasyon Çözeltisi: 5 mg/mL'lik (EE/PE/PEE/PG) stok çözeltisinden 50µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinden 5 µL alınarak 500 µL'ye DCM ile tamamlandı.

0.6 mg/mL Kalibrasyon Çözeltisi: 5 mg/mL'lik (EE/PE/PEE/PG) stok çözeltisinden 60µL ve 5 mg/mL PA stok çözeltisinden 5 µL alınarak 500 µL'ye DCM ile tamamlandı.

3.6.Metodun Geçerli Kılınması

Özgünlük

Bu çalışma için çözücüler analizlenerek kullanılan yöntemin her bir çözücüyü analiz etme başarısı tespit edildi. Seçilen SIM parametresi PA için m=152, PE için m=94, EE için m=59, PEE için m=94 (PE den farklı alıkonma zamanına sahip) ve PG için m=45 özgün olduğu, kâğıttan gelen herhangi bir diğer maddeden kaynaklanmadığı tespit edildi.

Seçicilik

Bu çalışma için standart Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol, Etoksietanol ve Piperonil alkol çözeltileri, boş kağıt numunesi ve çözücülerin karışım çözeltisi sisteme verildi. PA için m=152, 135, 93, PE için m=94, 138, 77, EE için m=59, 72, 45, PEE için m=94, 45, 182 (PE den farklı alıkonma zamanına sahip) ve PG için m=45 alıkonma zamanlarında kağıttan ve ya mürekkepten kaynaklı bir girişim saptanmamıştır.Analitlerin alıkonma zamanları ve özgün iyonları Tablo-VIII de verilmiştir.

LOD ve LOQ

0,1 mg/mL, 0.05 mg/mL ve 0.025 mg/mL konsantrasyonlarında Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol ve Etoksietanol çözeltileri hazırlandı. Sisteme verildi. LOD ve LOQ değeri 0.025 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu değer çalıştığımız 11 aylık belgelerdeki çözücü değerlerinin altındadır.

Tekrarlanabilirlik

Bu çalışma için 0.5 mg/mL, 0.3 mg/mL ve 0.1 mg/mL konsantrasyondaki konsantrasyonlarında Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol ve Etoksietanol çözeltileri 3 tekrarlı analizinin standart sapmaları ve % bağıl standart sapmaları belirlendi.

Laboratuvar içi Tekrarlanabilirlik

Farklı analist tarafından 0,5 mg/mL, 0.3 mg/mL ve 0.1 mg/mL konsantrasyondaki konsantrasyonlarında Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol ve Etoksietanol çözeltileri hazırlanıp, aynı metot ve sistem kullanılarak analizlendi.

3.7.Arşiv Numunelerinin Değerlendirilmesi

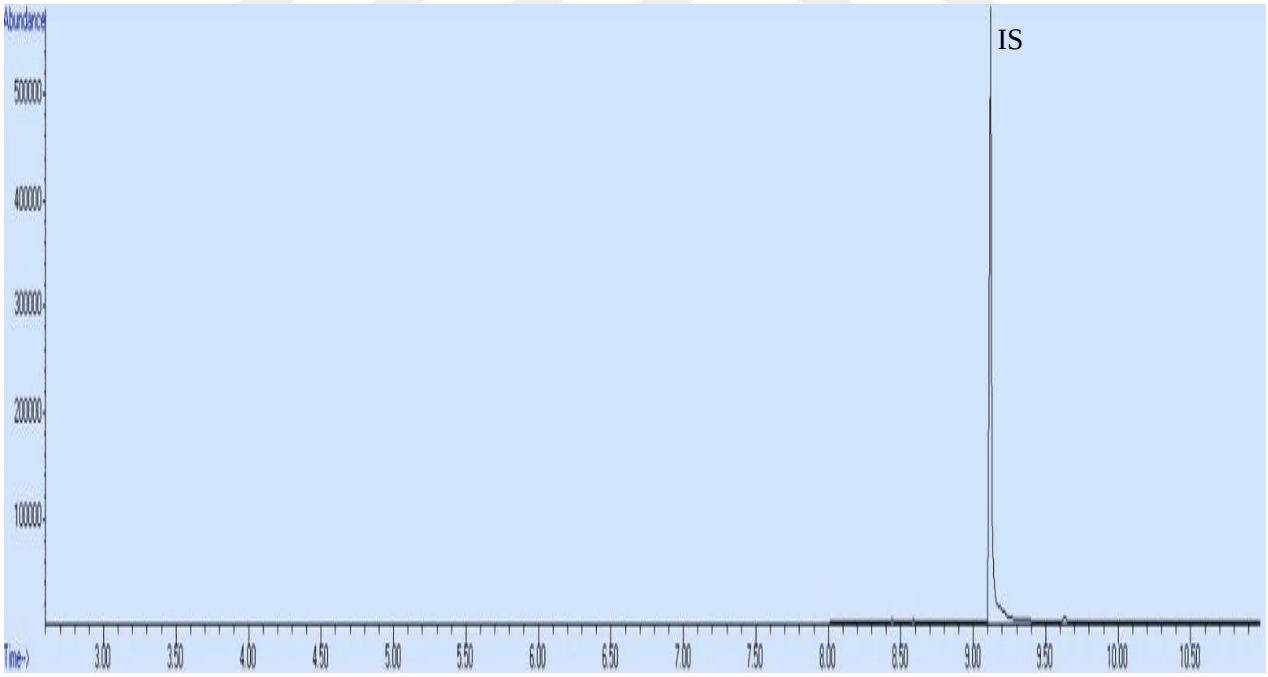
Belgeden çözücü analizi için oda sıcaklığında, %45-55 nem oranında ve şeffaf dosyaların içinde saklanan 0-12 ay arası 14 belge GC-MS ile analizlendi. RPA değerleri hesaplandı ve RPA-zaman grafiği çizildi. RPA aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{RPA} = \frac{\text{Analitin Pik Alanı}}{\text{İç Standardın Pik Alanı}}$$

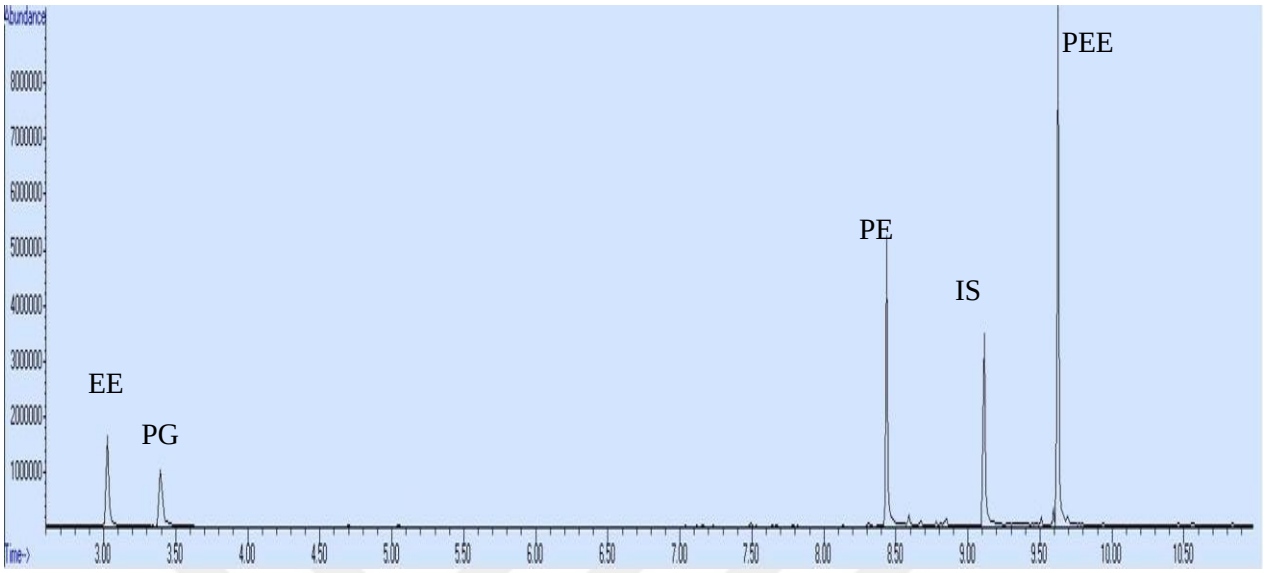
4. Bulgular

4.1.Özgünlük ve Seçicilik

Özgünlük çalışması için çözücülerin alıkonma zamanlarında kağıttan kaynaklanan bir girişim olup olmadığını tespit etmek için boş kağıt numunesi üzerine iç standart eklenerek GC-MS ile analizlendi. Boş kağıda ait kromatogram Şekil-13 de gösterilmektedir. Seçicilik çalışması için 0,1 mg/ml lik karışım çözeltisi hazırlanarak GC-MS ile analizlendi. Bunun sonucunda alıkonma zamanı 3.026 dk EE , 3.391 dk PG, 8.447 dk PE , 9.115 dk PA(IS) ve 9.626 dk da PEE olduğu tespit edilmiştir. Alıkonma zamanları Tablo-VIII de gösterilmiştir. Karışıma ait kromatogram Şekil-14 de gösterilmiştir.



Şekil- 13: İç standart eklenerek GC-MS de analizlenen boş kağıt örneğine ait kromatogram



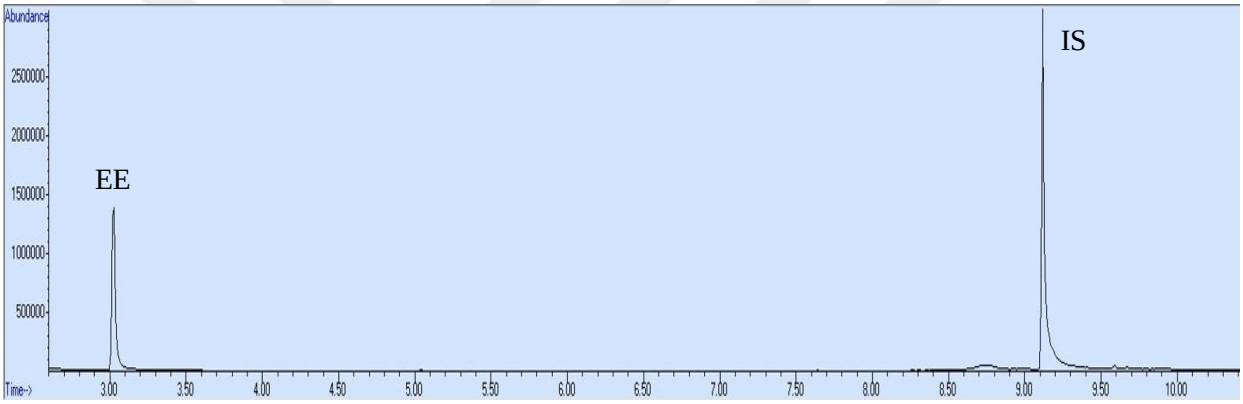
Şekil- 14: 0,1 mg/ml lik karışım çözeltisine ait kromatogram örneği

Tablo- VIII: Analitlerin alıkonma zamanları ve özgün iyonları

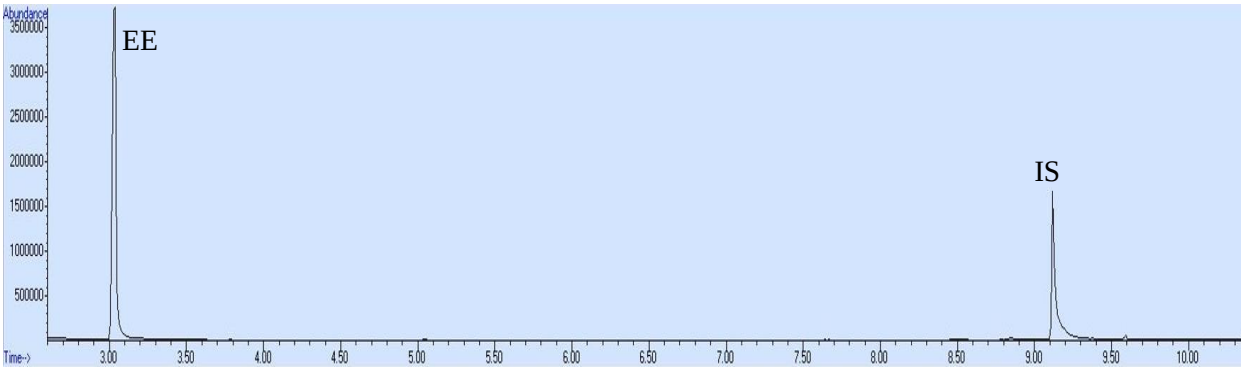
Analit	**Alıkonma Zamanı(dk)**	**Özgün İyon (m/z)**
EE	3.026	59, 72, 45, 43
PG	3.391	45
PE	8.447	94, 138, 77
PA(IS)	9.115	152, 135, 93, 65
PEE	9.626	94, 45, 182, 77

4.2.Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi, LOD ve LOQ Değerleri

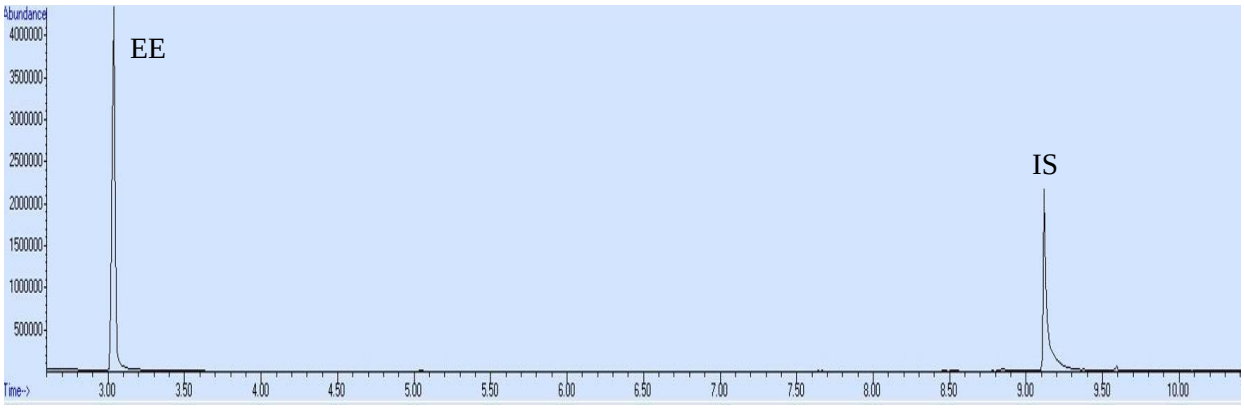
Bölüm 3.5 de anlatıldığı gibi 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0.3 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.5 mg/mL ve 0.6 mg/mL EE, PG, PE ve PEE çözeltileri hazırlandı. Belirtilen konsantrasyonlarda tespit edilen kromatogramlar sırasıyla EE için Şekil-15, 16, 17, 18, 19 ve 20, PG için Şekil-21, 22, 23, 24, 25 ve 26, PE için Şekil-27, 28, 29, 30, 31, ve 32, PEE için Şekil-33, 34, 35, 36, 37 ve 38 de gösterilmiştir. Elde edilen veriler ile EE, PG, PE ve PEE ye ait kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Çözücülere ait kalibrasyon eğrileri Şekil-39, 40, 41 ve 42 de gösterilmiştir.



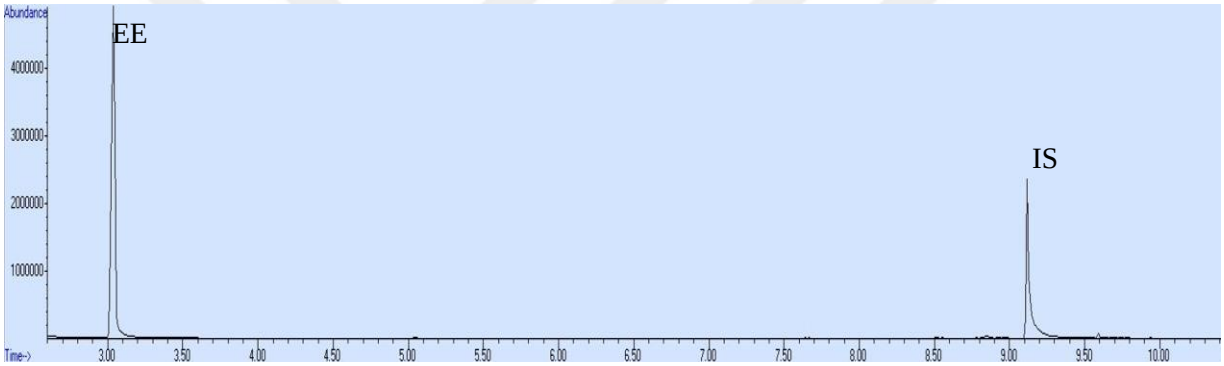
Şekil- 15: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram



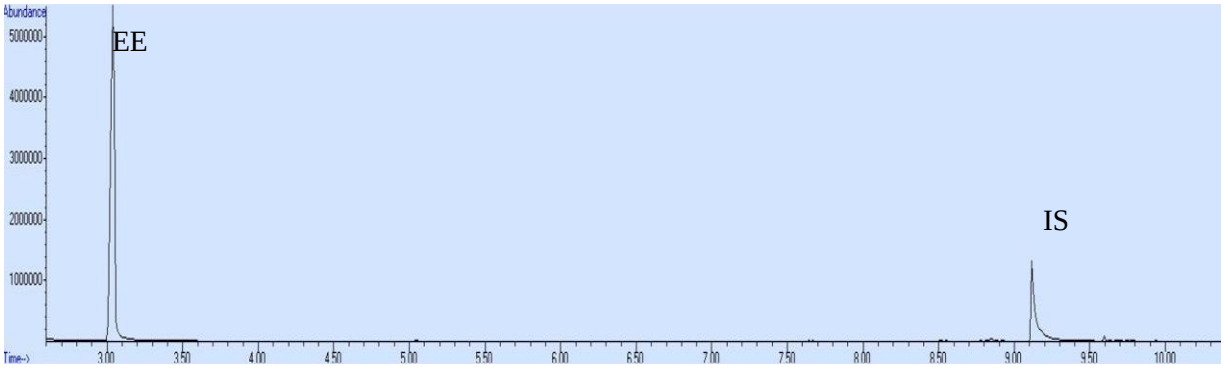
Şekil- 16: 0,2 mg/mL konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram



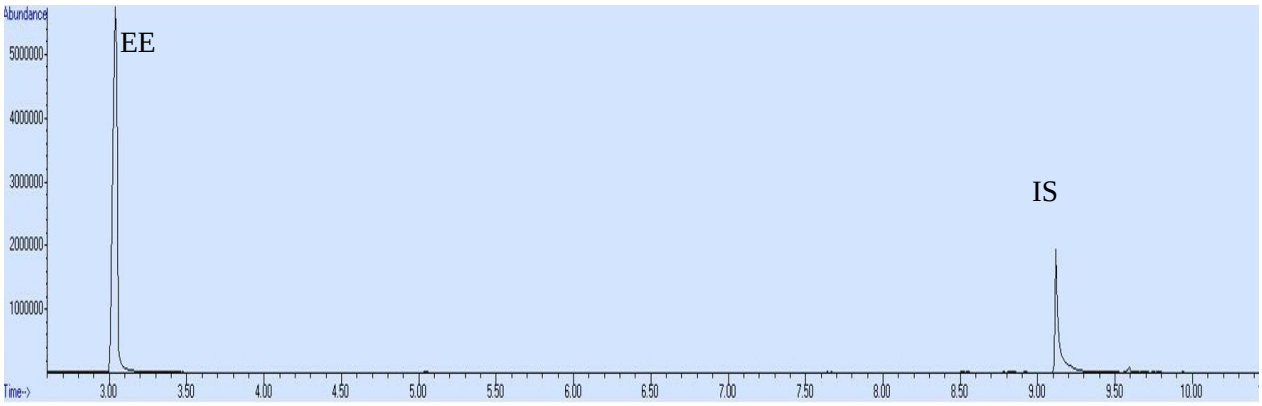
Şekil- 17: 0,3 mg/mL konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram



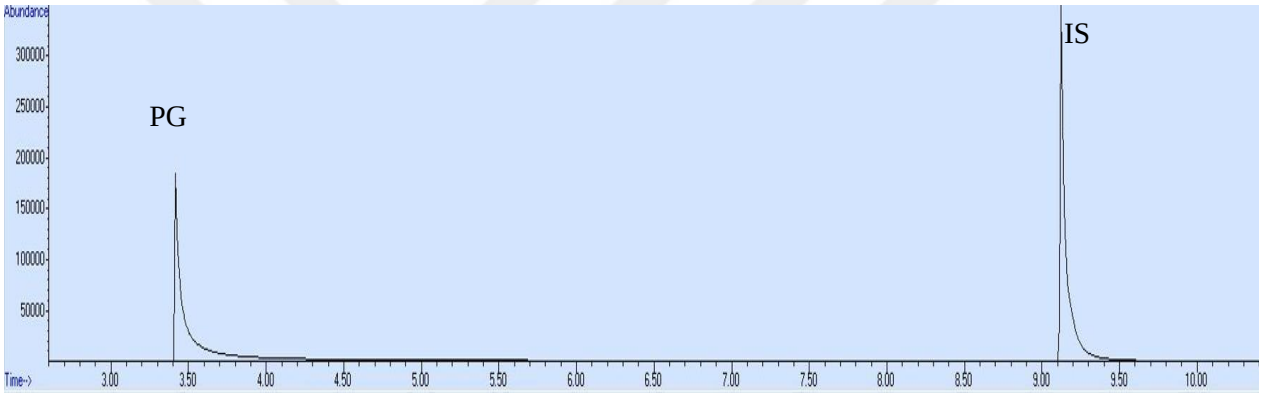
Şekil- 18: 0,4 mg/mL konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram



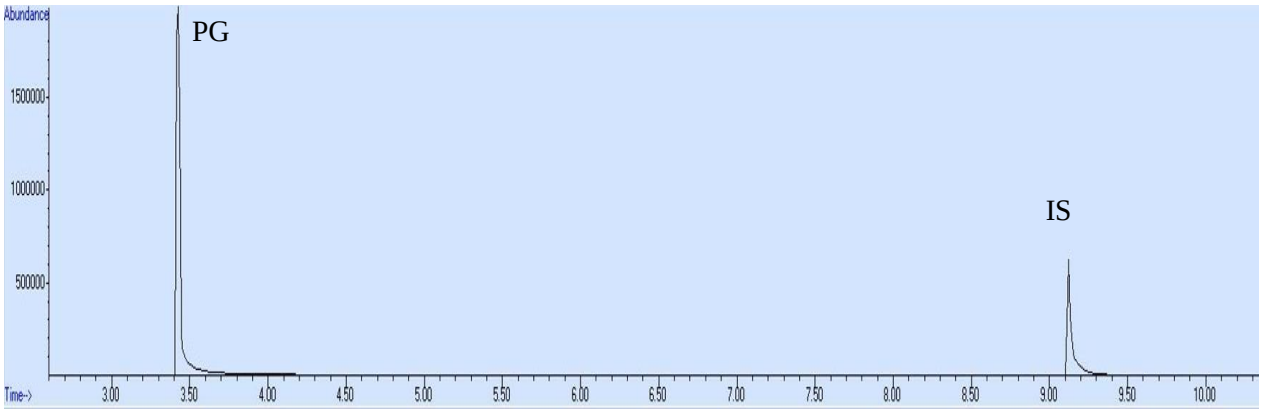
Şekil- 19: 0,5 mg/mL konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram



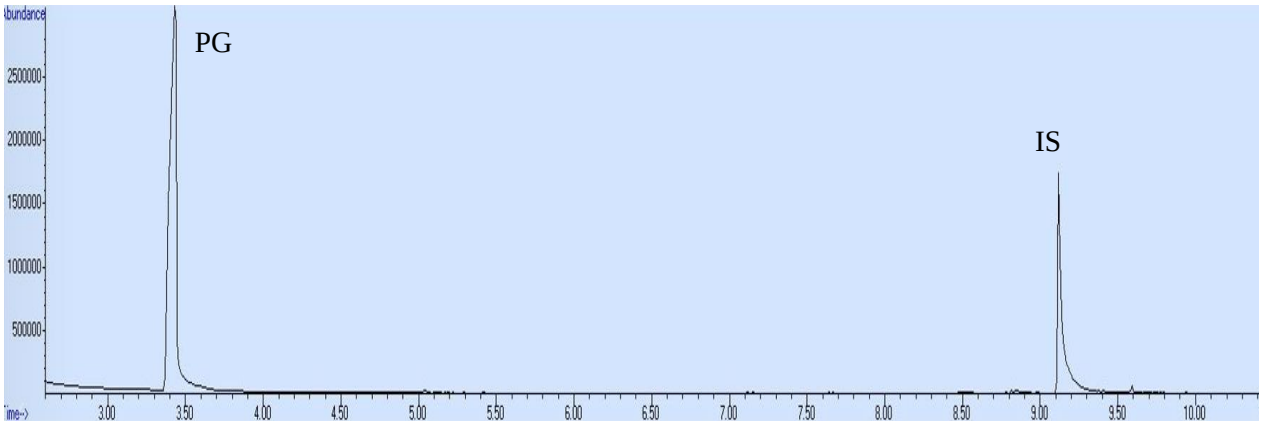
Şekil- 20: 0,6 mg/mL konsantrasyonundaki EE ye ait kromatogram



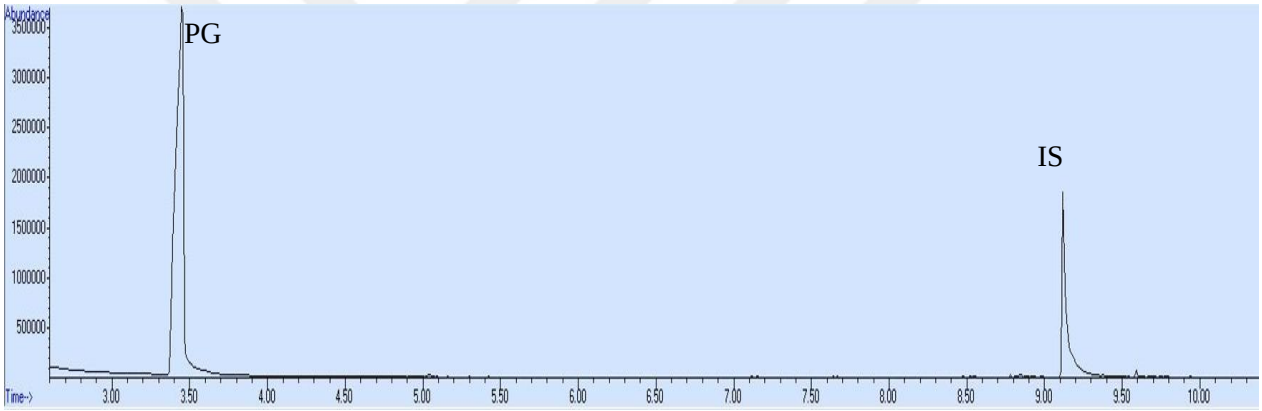
Şekil- 21: 0,1 mg/mL konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram



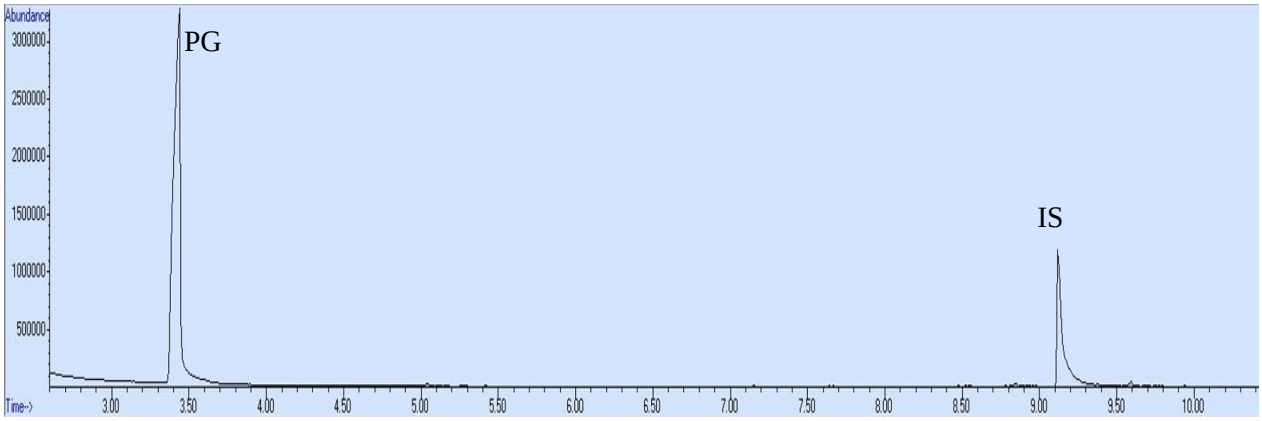
Şekil- 22: 0,2 mg/mL konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram



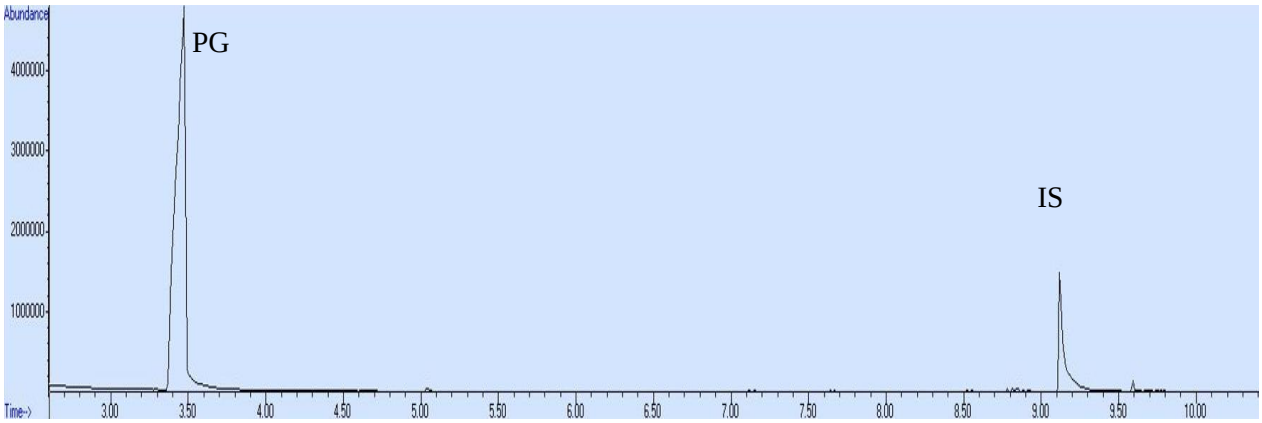
Şekil- 23: 0,3 mg/mL konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram



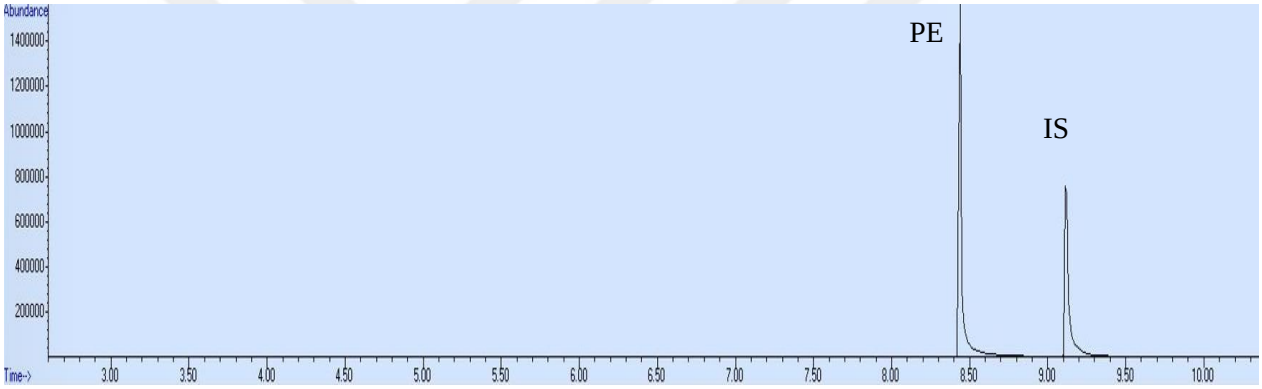
Şekil- 24: 0,4 mg/mL konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram



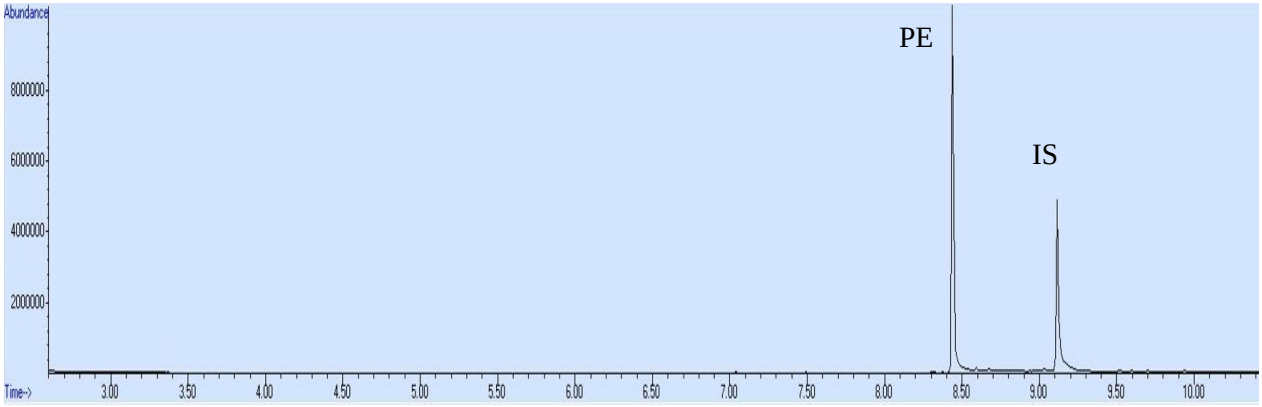
Şekil- 25: 0,5 mg/mL konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram



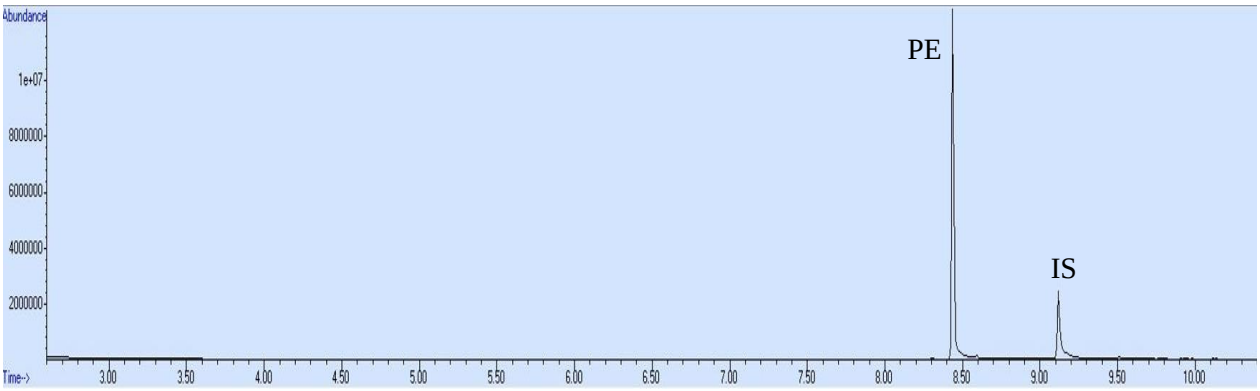
Şekil- 26: 0,6 mg/mL konsantrasyonundaki PG ye ait kromatogram



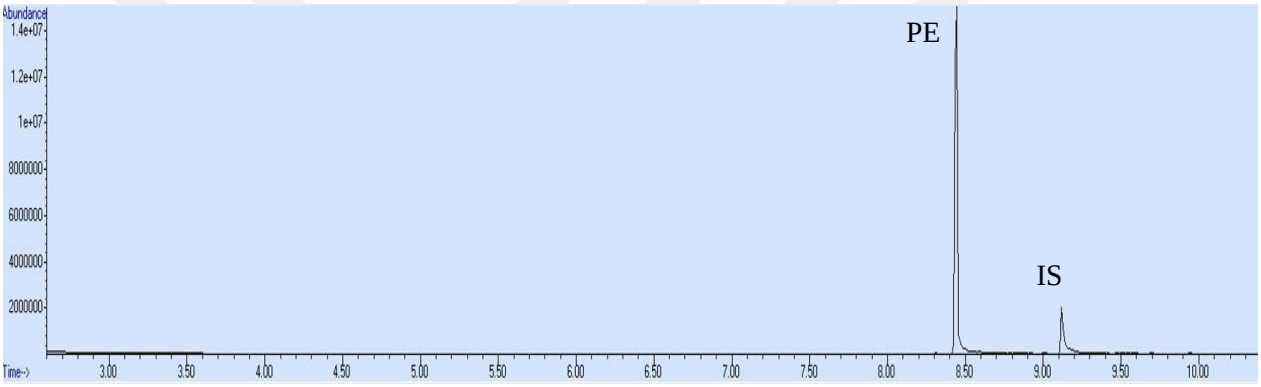
Şekil- 27: 0,1 mg/mL konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram



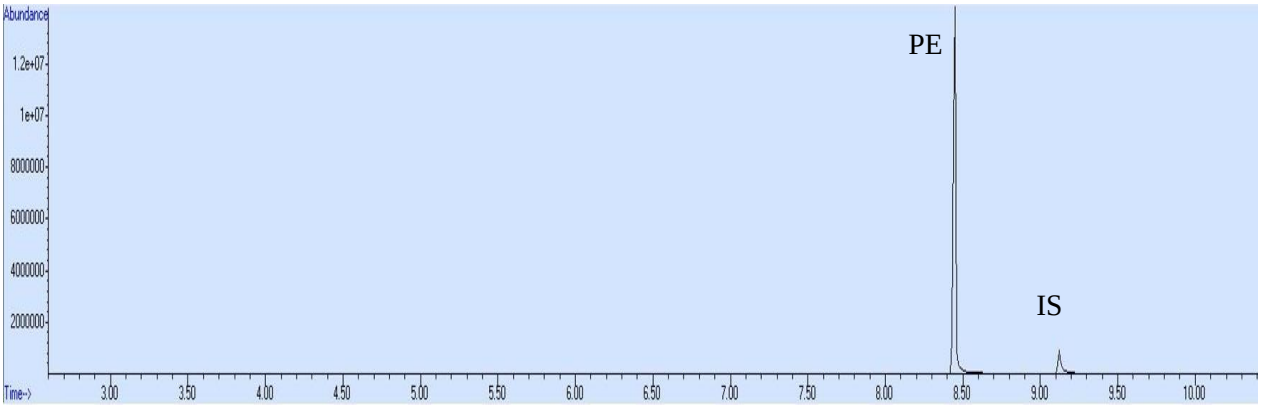
Şekil- 28: 0,2 mg/mL konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram



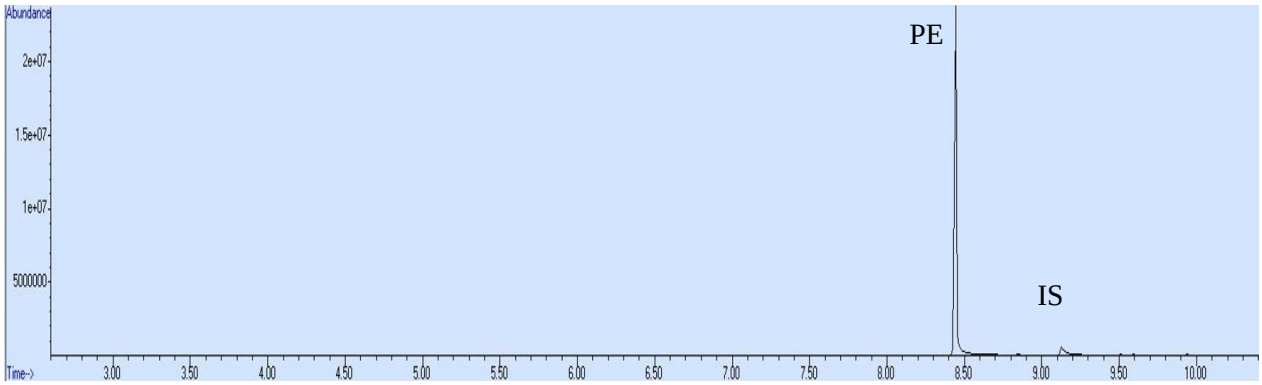
Şekil- 29: 0,3 mg/mL konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram



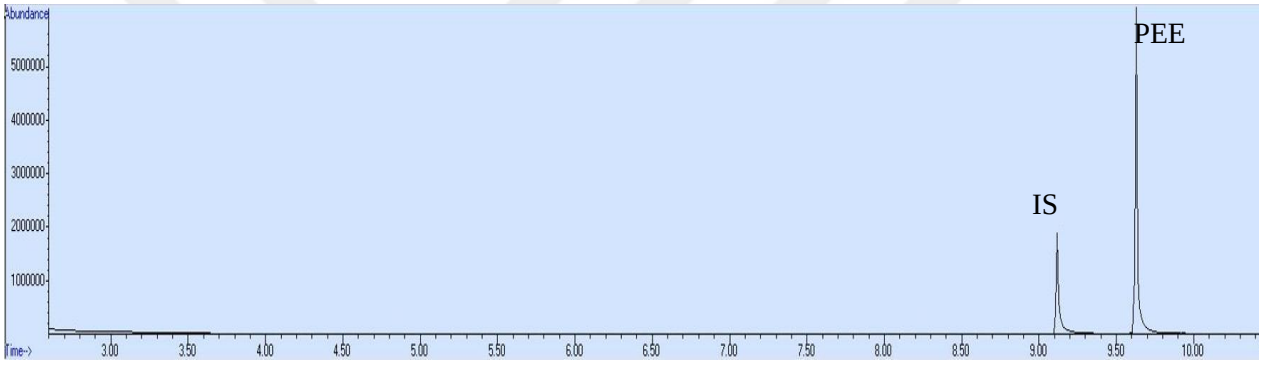
Şekil- 30: 0,4 mg/mL konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram



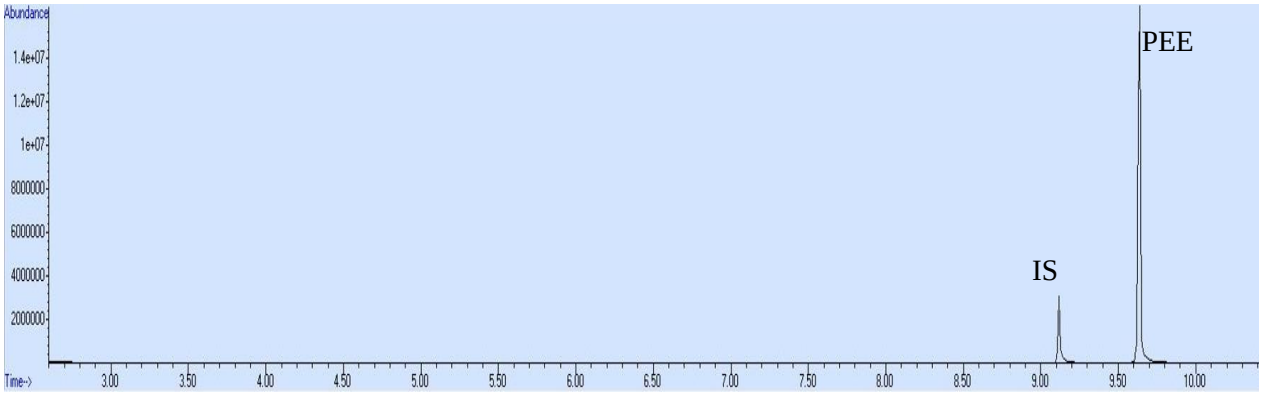
Şekil- 31: 0,5 mg/mL konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram



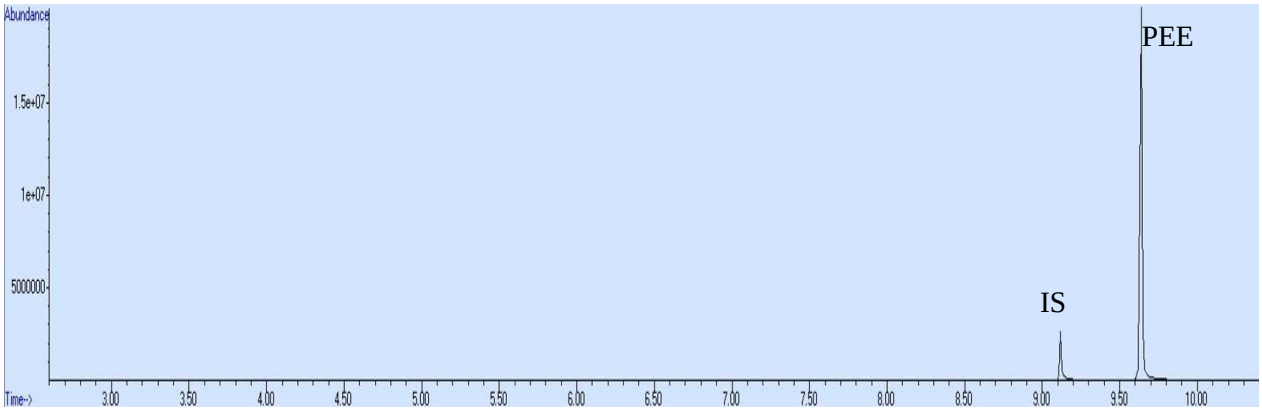
Şekil- 32: 0,6 mg/mL konsantrasyonundaki PE ye ait kromatogram



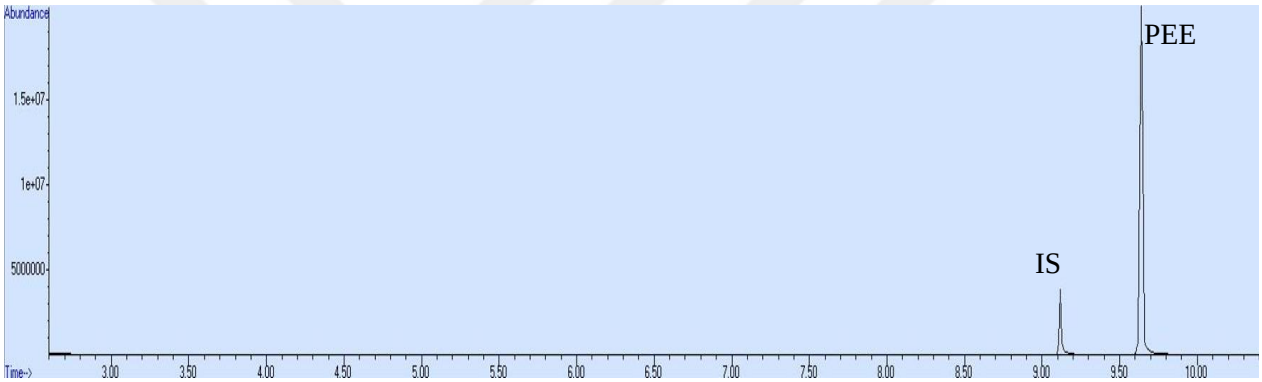
Şekil- 33: 0,1 mg/mL konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram



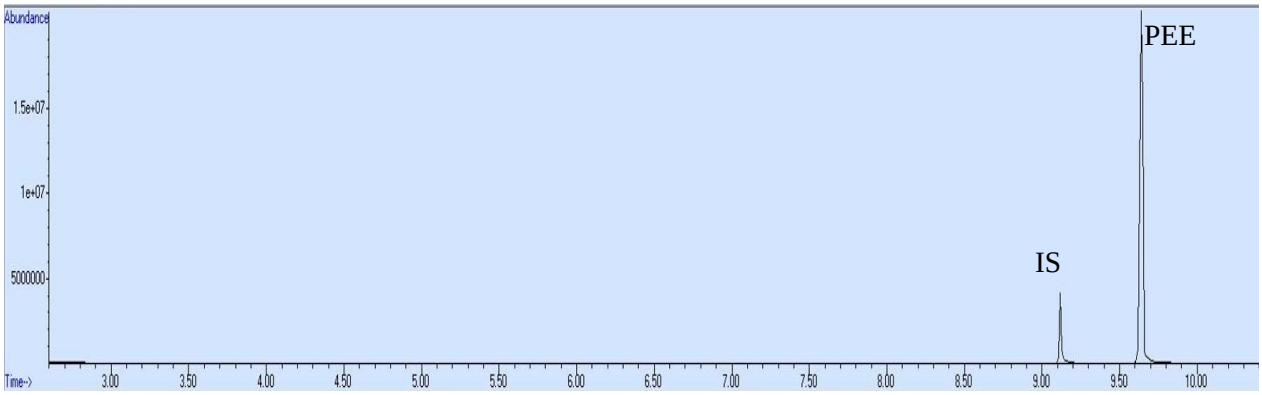
Şekil- 34: 0,2 mg/mL konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram



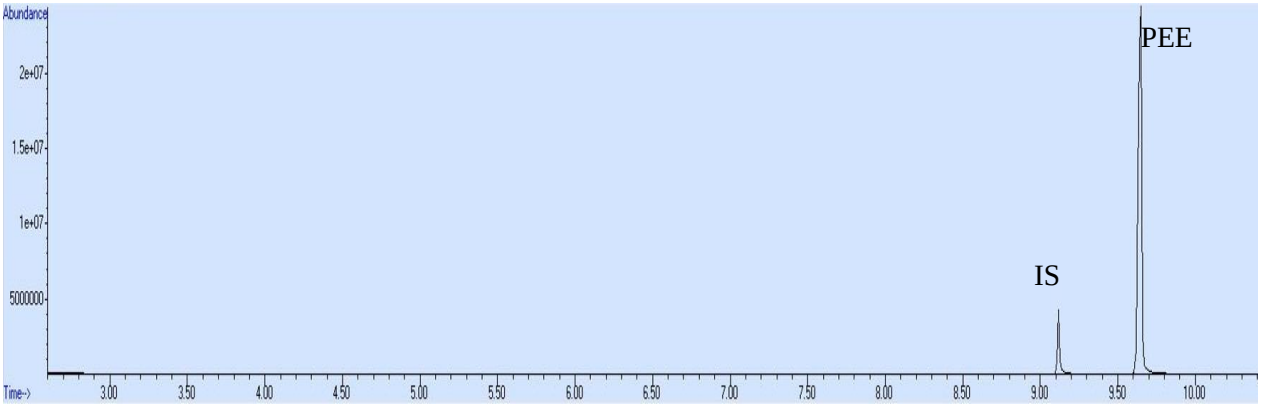
Şekil- 35: 0,3 mg/mL konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram



Şekil- 36: 0,4 mg/mL konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram



Şekil- 37: 0,5 mg/mL konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram



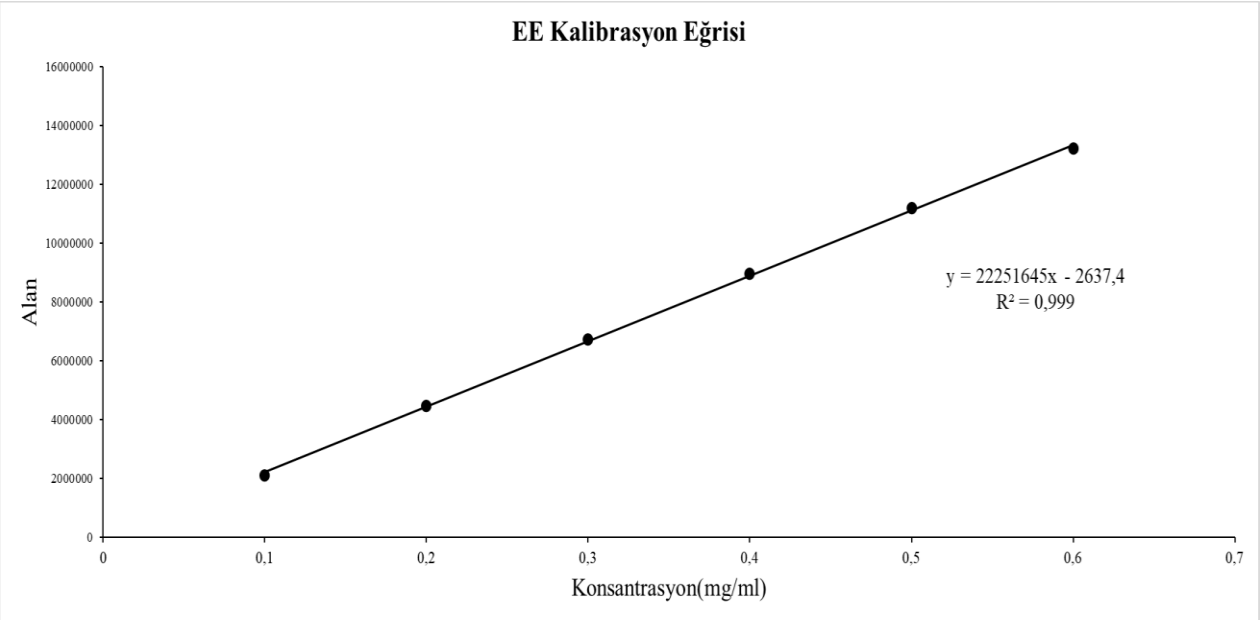
Şekil- 38: 0,6 mg/mL konsantrasyonundaki PEE ye ait kromatogram

EE, PG, PE ve PEE standart çözeltilerine ait pik alanları Tablo-IX da gösterilmiştir.

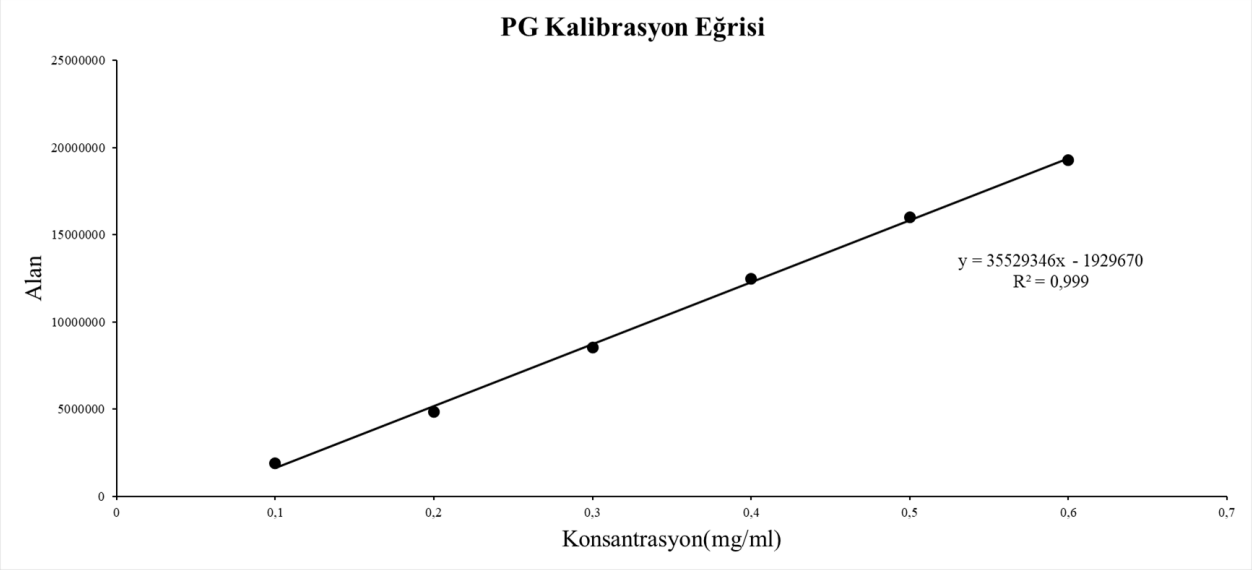
Tablo- IX: EE, PG, PE ve PEE standart çözeltilerine ait pik alanları

Konsantrasyon(mg/mL)	**EE Alan**	**PG Alan**	**PE Alan**	**PEE Alan**
0,1	2115898	1899436	2520044	7009709
0,2	4478878	4848706	6137294	15280141
0,3	6734755	8528684	10487623	22556189
0,4	8968911	12454312	14061278	30052644
0,5	11204109	16020973	17503126	36984184
0,6	13210080	19281493	21063247	43621379

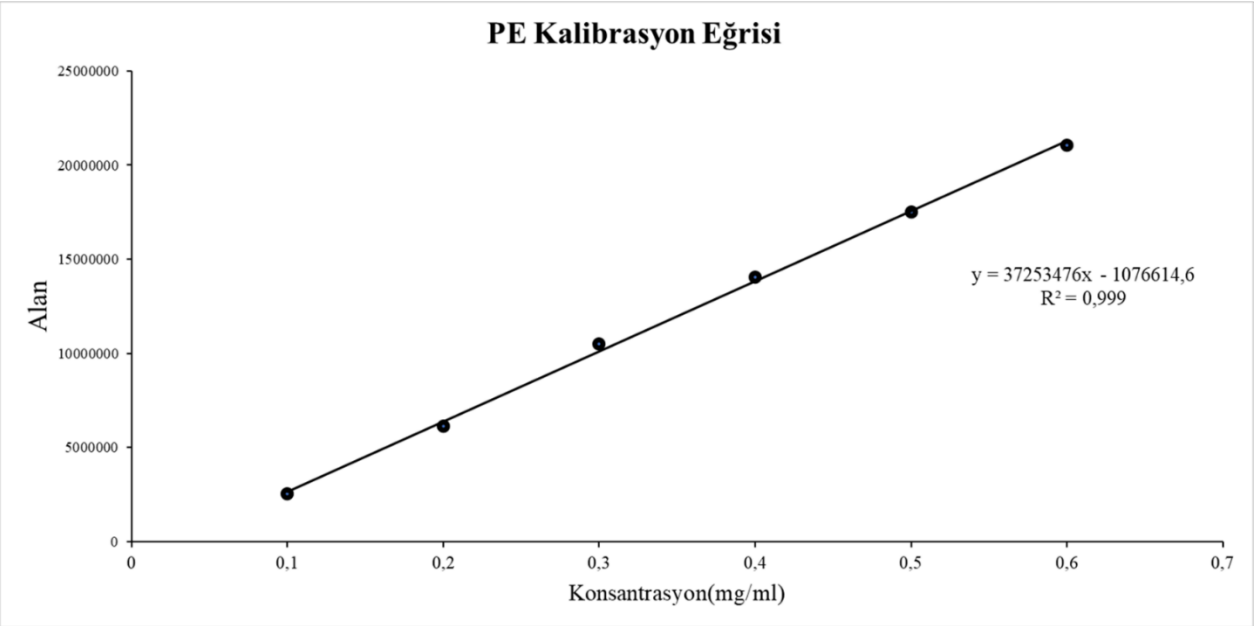
EE standart çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi Şekil-39 gösterilmiştir.PG standart çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi Şekil-40 gösterilmiştir.PE standart çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi Şekil-41 gösterilmiştir.PEE standart çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi Şekil-42 gösterilmiştir.



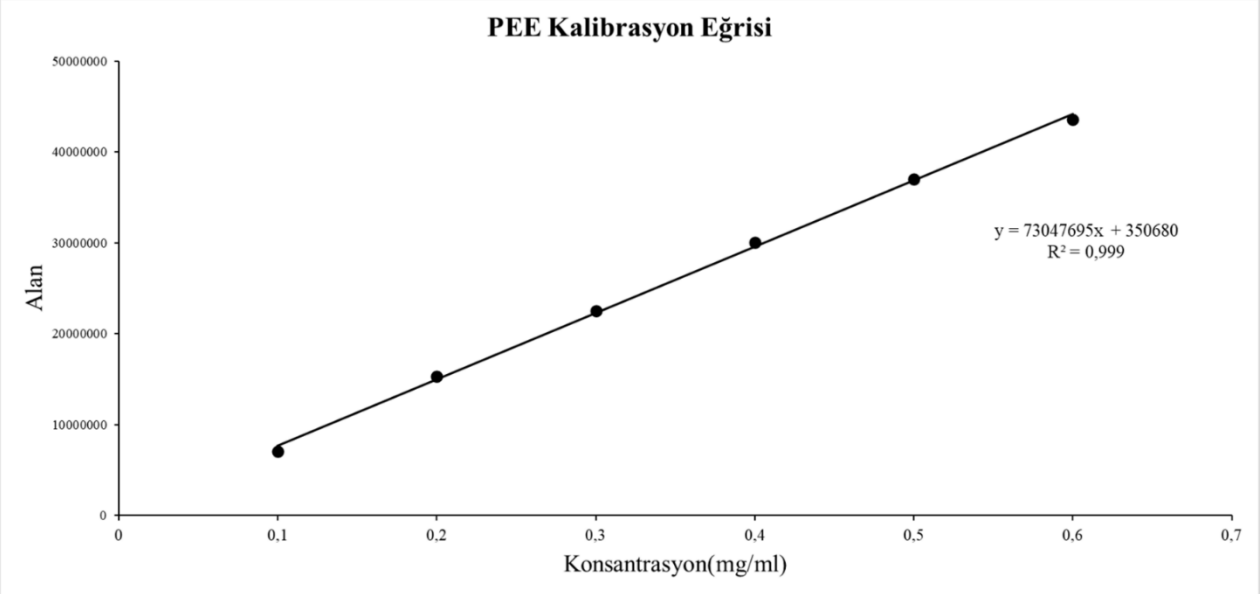
Şekil- 39: EE'ye ait Kalibrasyon Eğrisi



Şekil- 40: PG'ye ait Kalibrasyon Eğrisi

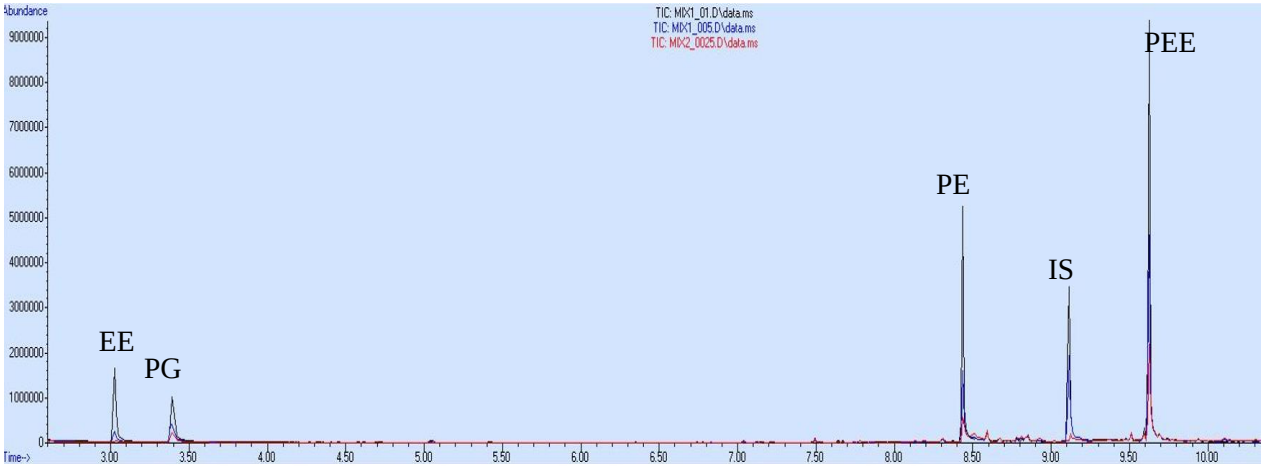


Şekil- 41: PE'ye ait Kalibrasyon Eğrisi



Şekil- 42: PEE'ye ait Kalibrasyon Eğrisi

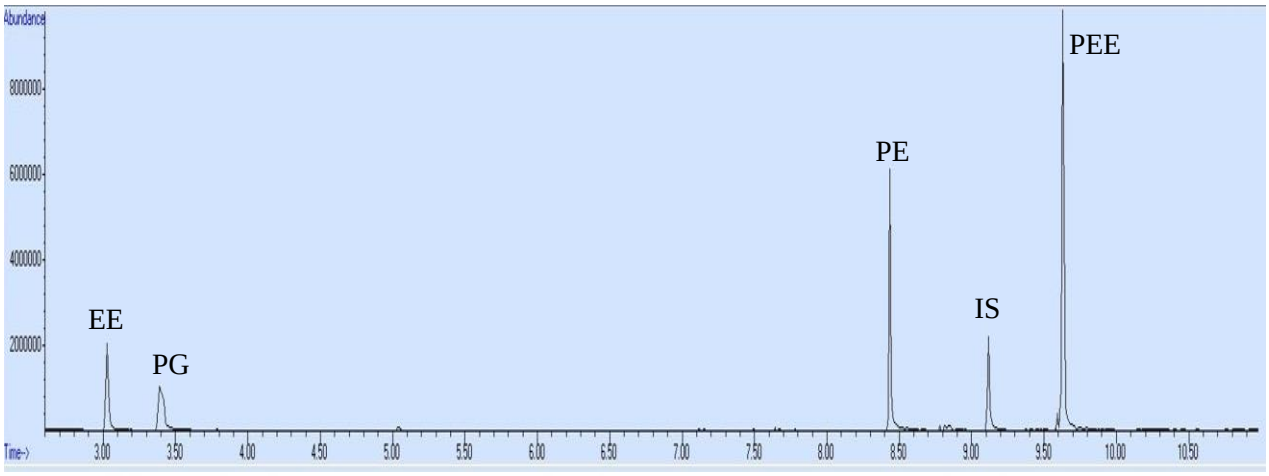
LOD ve LOQ değerlerinin tespit edilmesi için 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL ve 0.025 mg/mL lik tüm analitlerin bulunduğu karışım çözeltisi hazırlandı. GC-MS ile analizlendi. Bu metot için LOD ve LOQ 0.025 mg/mL olarak belirlendi. Bu değer 12 aylık belgelerdeki EE, PG, PE ve PEE miktarının altındadır. 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL ve 0.025 mg/mL lik karışım çözeltilerine ait kromatogramların üst üste çakıştırılmış hali Şekil-43 de gösterilmiştir.



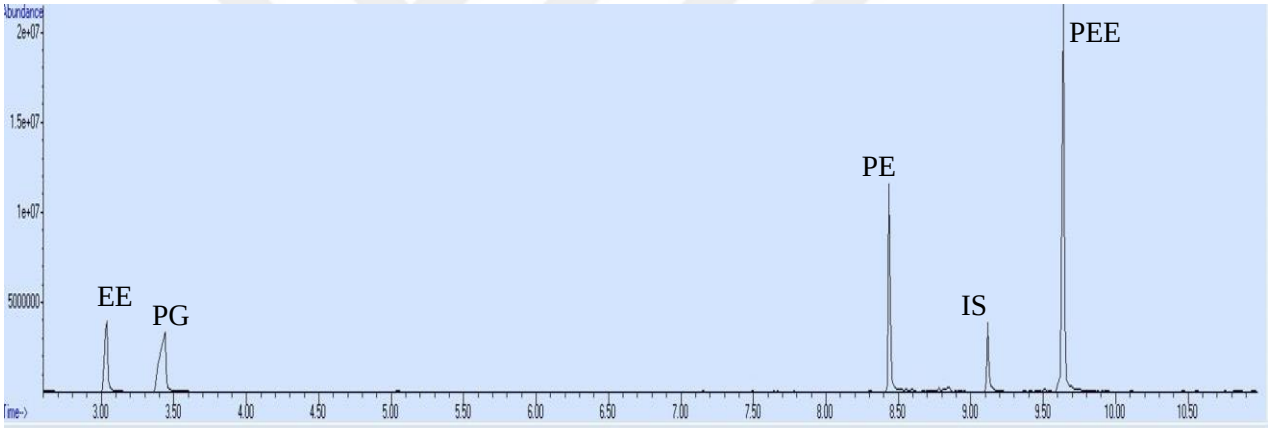
Şekil- 43: 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL ve 0.025 mg/mL lik karışım çözeltilerine ait kromatogramların üst üste çakıştırılmış hali

4.3.Tekrarlanabilirlik

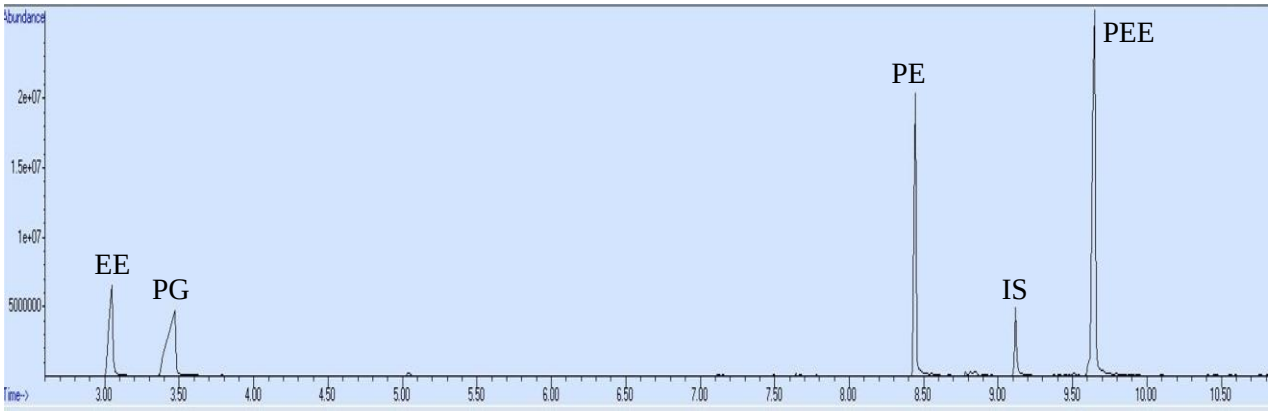
0.1, 0.3 ve 0,5 mg/mL'lik karışım çözeltileri aynı gün içinde aynı analist tarafından hazırlanarak ardışık 3 tekrarlı sisteme verildi. 0.1, 0.3 ve 0,5 mg/mL'lik karışım çözeltilerine ait kromatogramlar Şekil-44, 45 ve 46 da verilmiştir. EE, PG, PE ve PEE'nin 0.1, 0.3 ve 0,5 mg/mL'lik konsantrasyonlarına ait pik alanları Tablo-X, XI ve XII de gösterilmiştir. 0.1, 0.3 ve 0,5 mg/mL'lik konsantrasyonlarında ortalama pik alanı, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo-XIII, XIV ve XV de gösterilmiştir.



Şekil- 44: 0,1 mg/mL'lik karışım çözeltisine ait kromatogram



Şekil- 45: 0,3 mg/mL'lik karışım çözeltisine ait kromatogram



Şekil- 46: 0,5 mg/mL'lik karışım çözeltisine ait kromatogram

Tablo- X: 0,1 mg/ml konsantrasyonundaki EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alanı değerleri

0,1 mg/mL	**1. Analiz**	**2. Analiz**	**3. Analiz**
EE	3281608	3154131	3265159
PG	2228935	2315968	2478337
PE	5166014	4903437	5076309
PEE	1082025	1043091	1121718

Tablo- XI: 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alanı değerleri

0,3 mg/mL	**1. Analiz**	**2. Analiz**	**3. Analiz**
EE	7037628	8069216	8251549
PG	10606901	12332362	12223089
PE	13113263	14843649	14028608
PEE	27676662	32728571	27041014

Tablo- XII: 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alanı değerleri

0,5 mg/mL	**1. Analiz**	**2. Analiz**	**3. Analiz**
EE	13375306	12622643	10949090
PG	22022801	20025194	18134474
PE	20695200	18147709	19914240
PEE	41865048	43744745	39622002

Tablo- XIII: 0,1 mg/mL konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma değerleri (%RSD)

0,1 mg/mL	**ORT. ALAN**	**SD**	**%RSD**
EE	3233633	69340	2,144
PG	2341080	126583	5,407
PE	5048587	133466	2,644
PEE	1082278	39314	3,633

Tablo- XIV: 0,3 mg/mL konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma değerleri (%RSD)

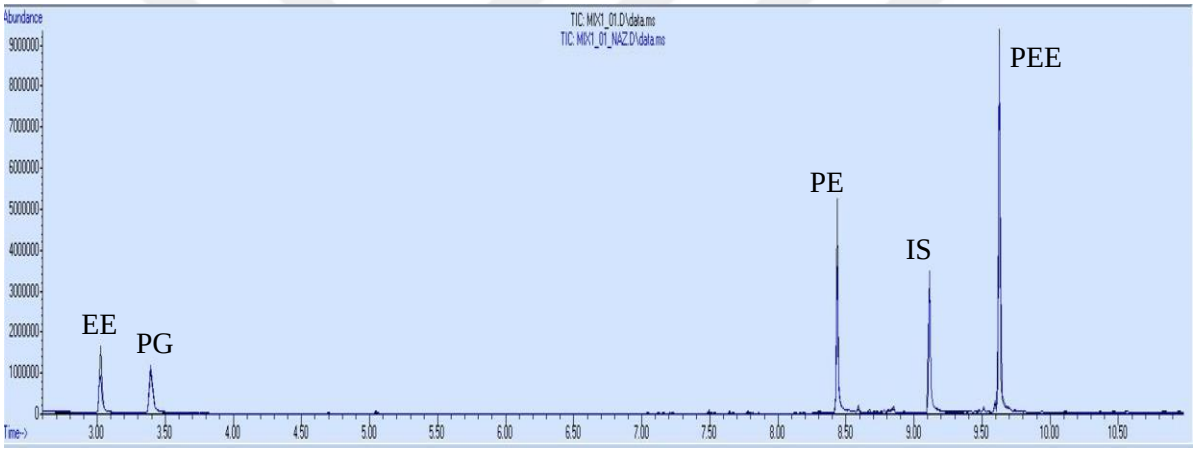
0,3 mg/mL	**ORT.ALAN**	**SD**	**%RSD**
EE	7786131	654602	8,407
PG	11720784	966197	8,243
PE	13995173	865677	6,186
PEE	29148749	3116465	10,692

Tablo- XV: 0,5 mg/mL konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma değerleri (%RSD)

0,5 mg/mL	**ORT.ALAN**	**SD**	**%RSD**
EE	12315680	1241894	10,084
PG	20060823	1944408	9,693
PE	19585716	1305133	6,664
PEE	41743932	2064038	4,945

4.4.Laboratuvar İçi Tekrarlanabilirlik

Farklı analist tarafından 0,5 mg/mL, 0,3 mg/mL ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlarındaki Fenoksietanol, Fenoksietoksietanol, Propilen glikol ve Etoksietanol çözeltileri hazırlanıp, aynı metot ve sistem kullanılarak 3 kez analizlendi. EE, PG, PE ve PEE ye ait ardışık 3 tekrarın pik alan değerleri Tablo-XVI, Tablo-XVII ve Tablo-XVIII de gösterilmiştir. Metodun laboratuvar içi tekrarlanabilir olduğu tespit edildi. İki farklı analistin hazırladığı 0,1 mg/ml konsantrasyonuna ait kromatogram Şekil-47 de gösterilmiştir.



Şekil- 47: İki farklı analiste tarafından hazırlanan 0,1 mg/mL karışım konsantrasyonuna ait kromatogram

Tablo- XVI: 0,1 mg/mL konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alan değerleri

0,1 mg/mL	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	ORT.
EE	3297743	3227555	3198854	3241384
PG	2465159	2351631	2281608	2366133
PE	4954131	5165159	5081608	5066966
PEE	1098160	1116515	1055413	1090029

Tablo- XVII: 0,3 mg/mL konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alan değerleri

0,3 mg/mL	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	ORT.
EE	7111052	8085351	8185244	7793882
PG	10833036	12367784	12190778	11797199
PE	13385351	14911052	13985244	14093882
PEE	27811052	32011151	26999844	28940682

Tablo- XVIII: 0,5 mg/mL konsantrasyon için EE, PG, PE ve PEE ye ait pik alan değerleri

0,5 mg/mL	1. Analiz	2. Analiz	3. Analiz	ORT.
EE	13194441	12036067	10892785	12041098
PG	21646052	19937586	18093189	19892276
PE	20436037	18192785	19846052	19491625
PEE	41698854	43493308	39581605	41591256

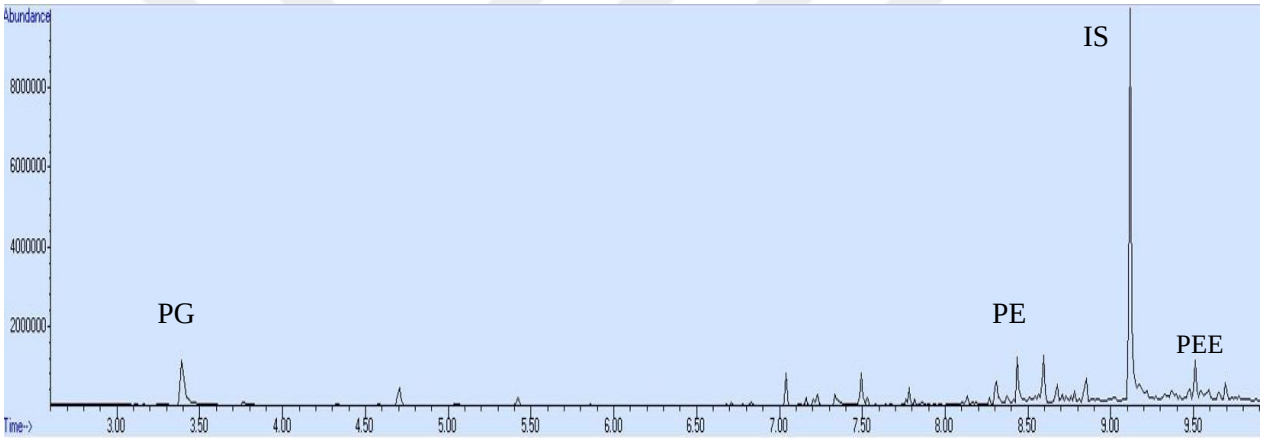
Her iki analistin yaptığı analizler için F-testi değerleri Tablo-XIX da gösterilmiştir. Elde ettiğimiz değerler 5,79 dan küçük olduğu için %95 güven aralığı içindedir (α=0,05).

Tablo- XIX: EE, PG, PE ve PEE ye ait F-testi değerleri

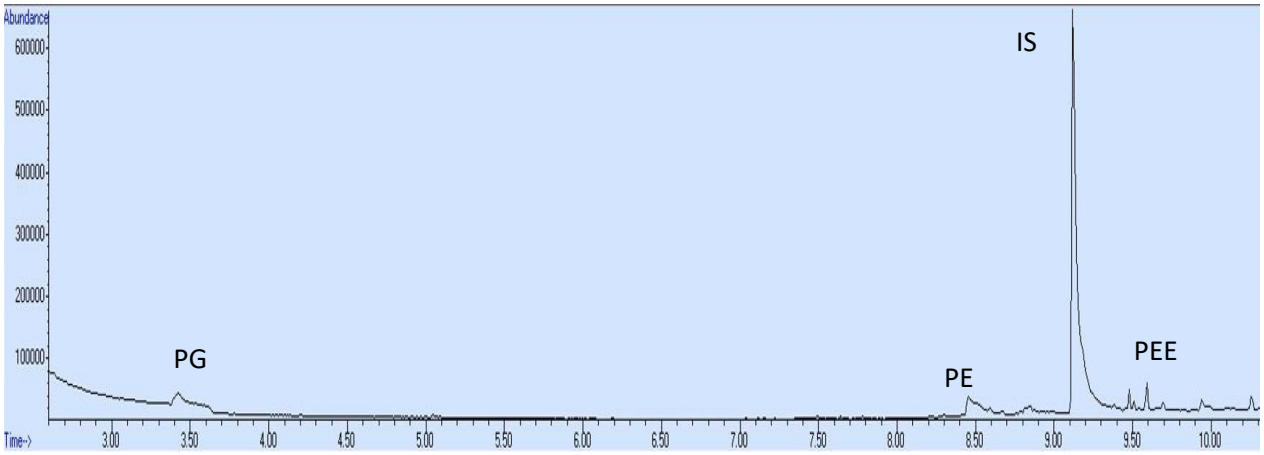
Kons. (mg/mL)	EE, F-test	PG, F-test	PE, F-test	PEE, F-test
0,1	1,51	1,52	1,19	1,18
0,3	0,77	0,89	0,83	0,92
0,5	0,70	0,74	0,82	0,64

4.5.Arşiv Analizleri ve RPA- Zaman Eğrisi

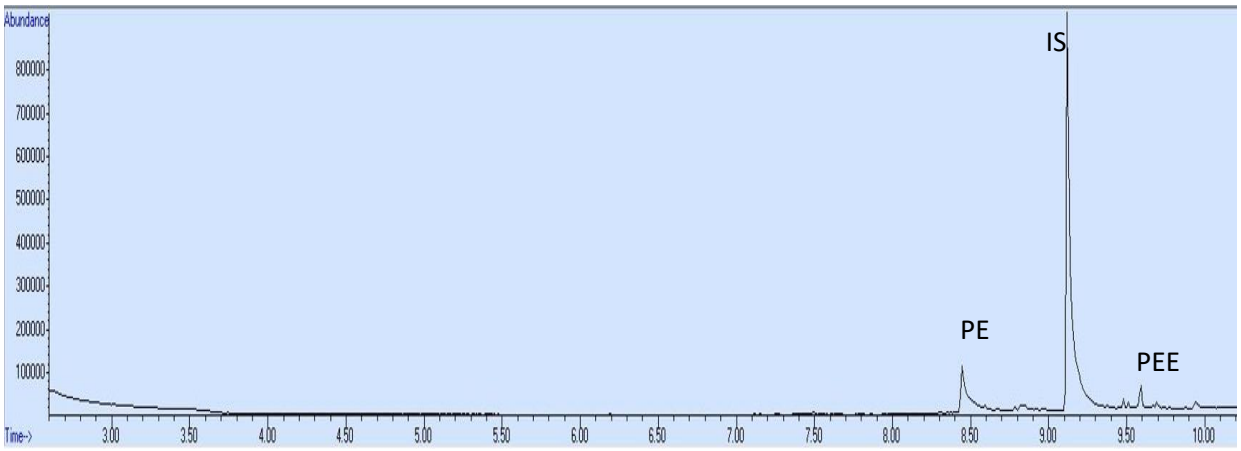
Arşivdeki numuneler belli aralıklarla düzenli olarak analizlendi. Taze mürekkebe ait kromatogram Şekil-47 de gösterilmiştir. 30-80 günlük mürekkebe ait kromatogramlar Şekil-48, 49 ve 50 de gösterilmiştir. 120-160 günlük mürekkebe ait kromatogramlar Şekil-51, 52 ve 53 de gösterilmiştir. 180-230 günlük mürekkebe ait kromatogramlar Şekil-54, 55 ve 56 da gösterilmiştir. 240-280 günlük mürekkebe ait kromatogramlar Şekil-57, 58, 59 ve 60 da gösterilmiştir.



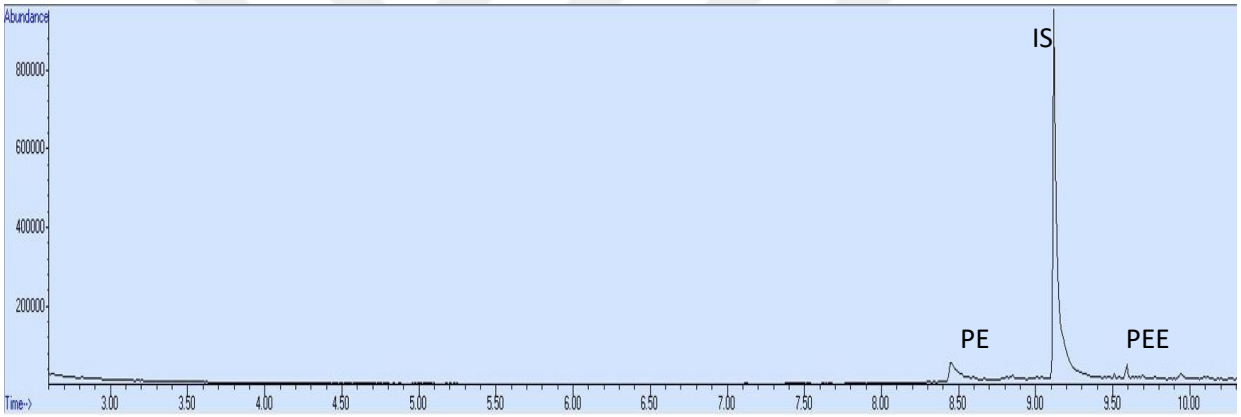
Şekil- 48: Taze mürekkebe ait kromatogram (FBC)



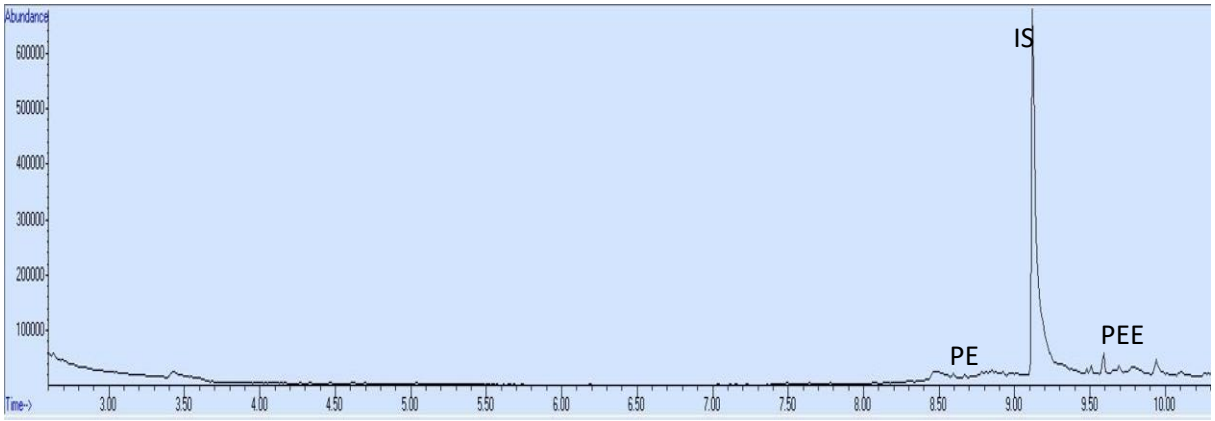
Şekil- 49: 30 günlük mürekkebe ait kromatogram(FBC)



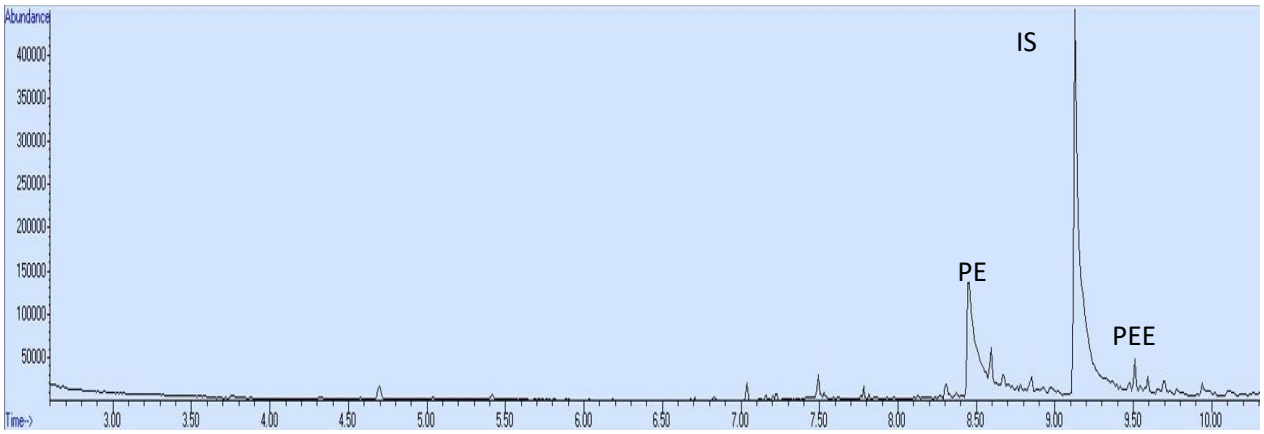
Şekil- 50: 60 günlük mürekkebe ait kromatogram(Gest)



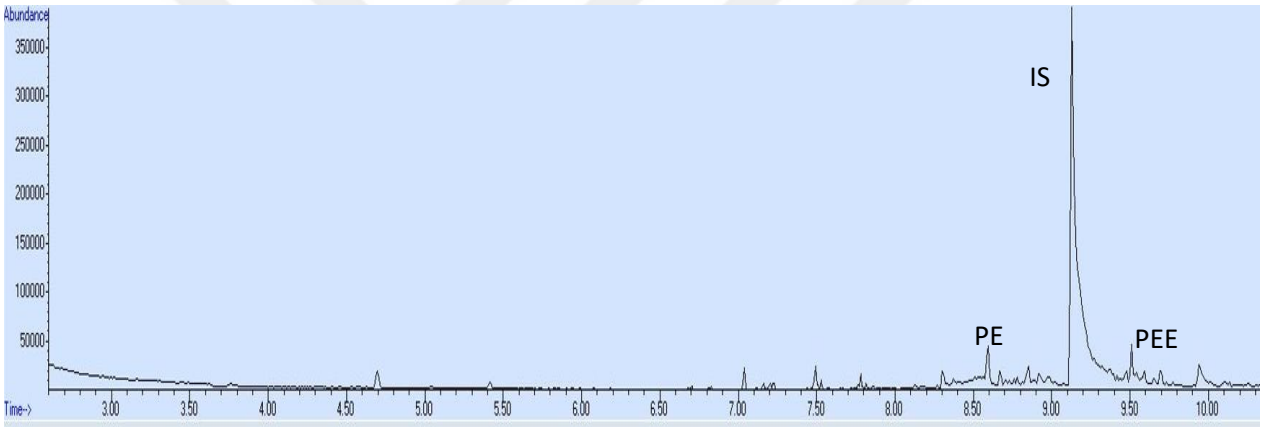
Şekil- 51: 80 günlük mürekkebe ait kromatogram(UBL)



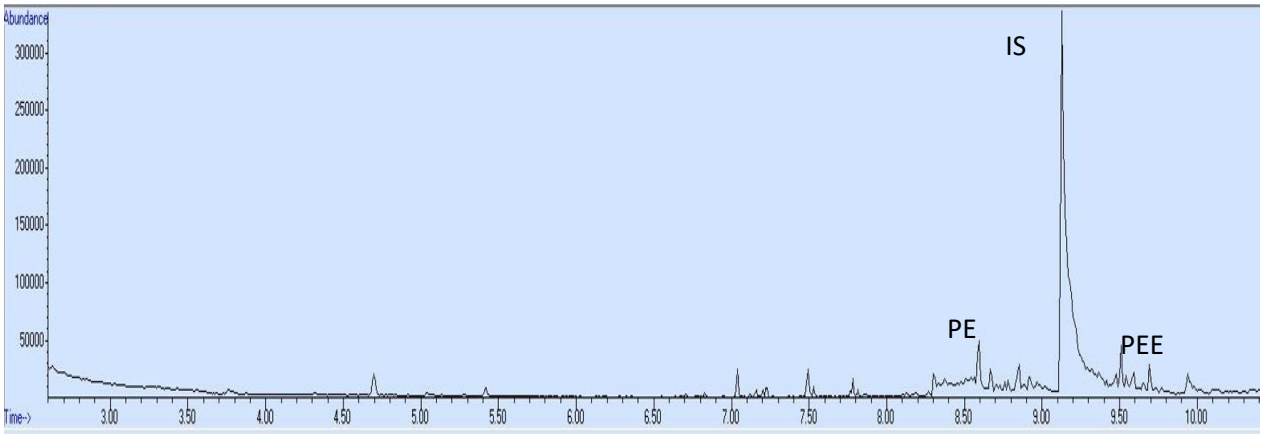
Şekil- 52: 120 günlük mürekkebe ait kromatogram(P.B.)



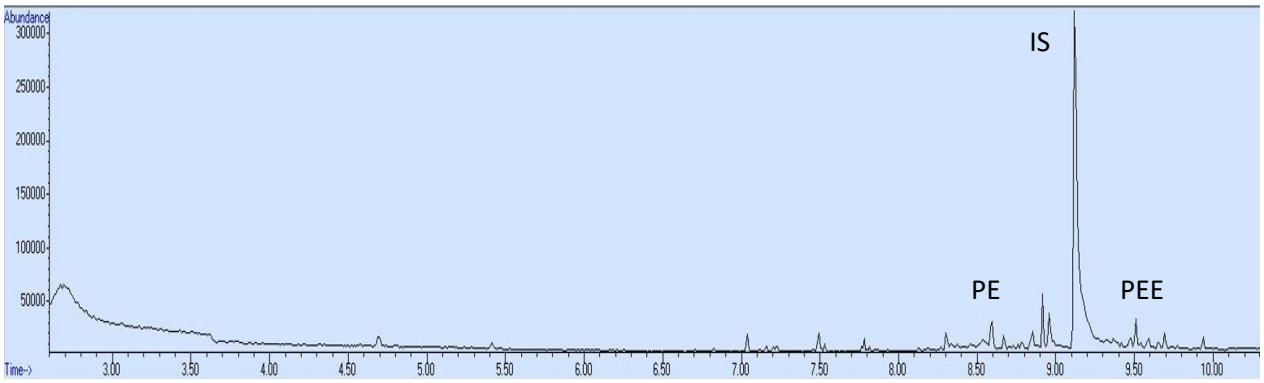
Şekil- 53: 140 günlük mürekkebe ait kromatogram(P.O.)



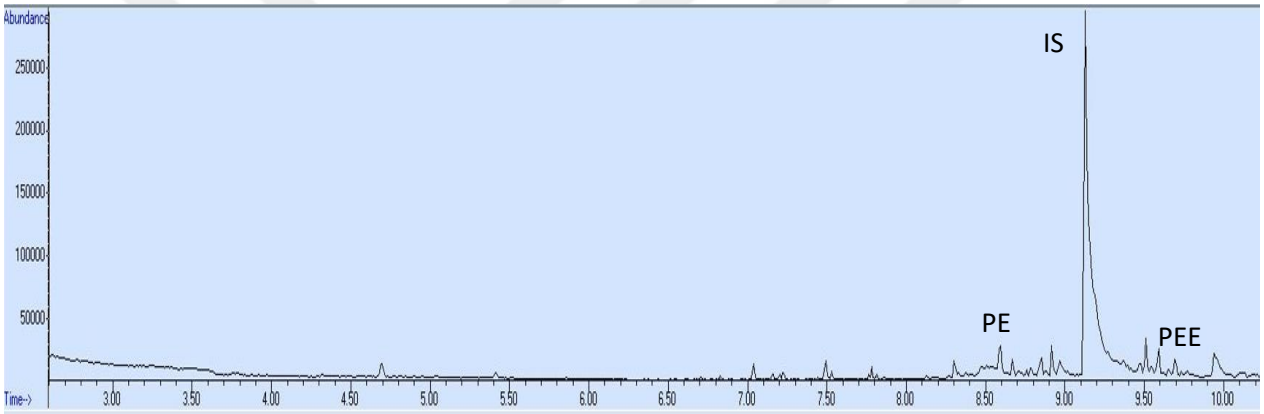
Şekil- 54: 160 günlük mürekkebe ait kromatogram(P.My.)



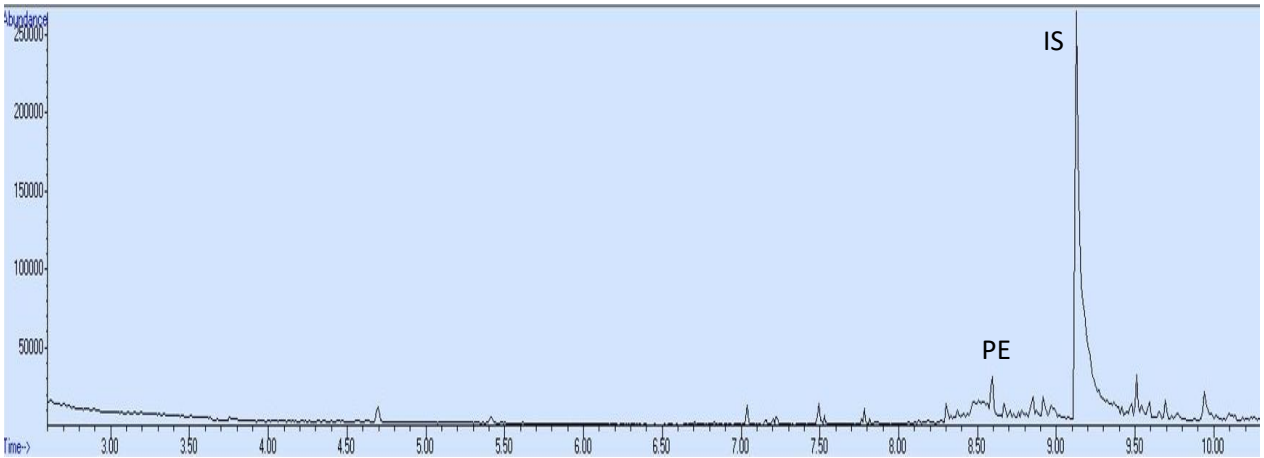
Şekil- 55: 180 günlük mürekkebe ait kromatogram(B.R.)



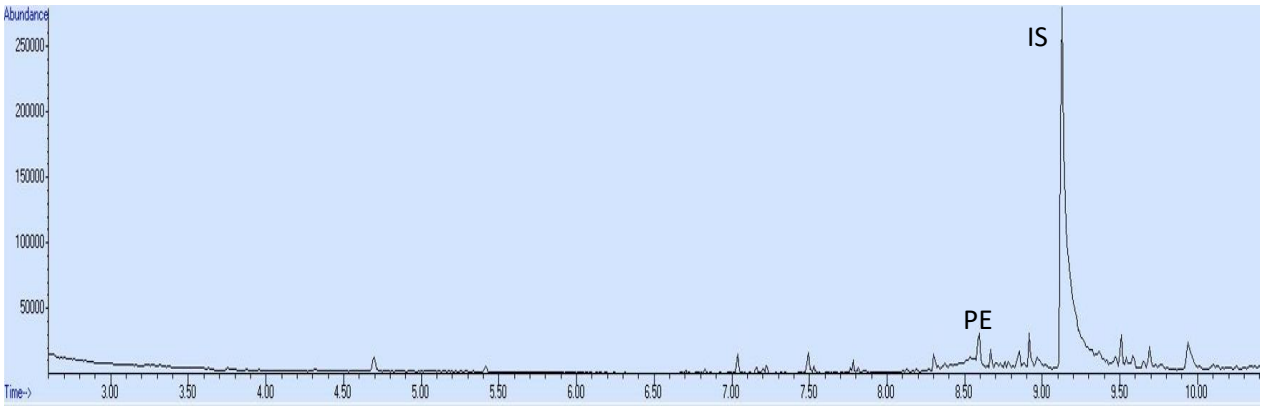
Şekil- 56: 210 günlük mürekkebe ait kromatogram(S.F.)



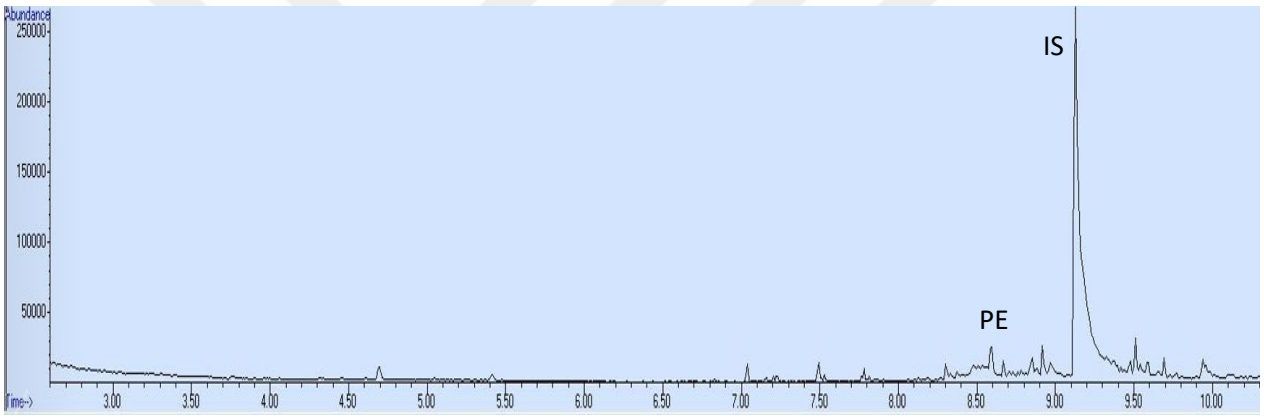
Şekil- 57: 230 günlük mürekkebe ait kromatogram(O.T.)



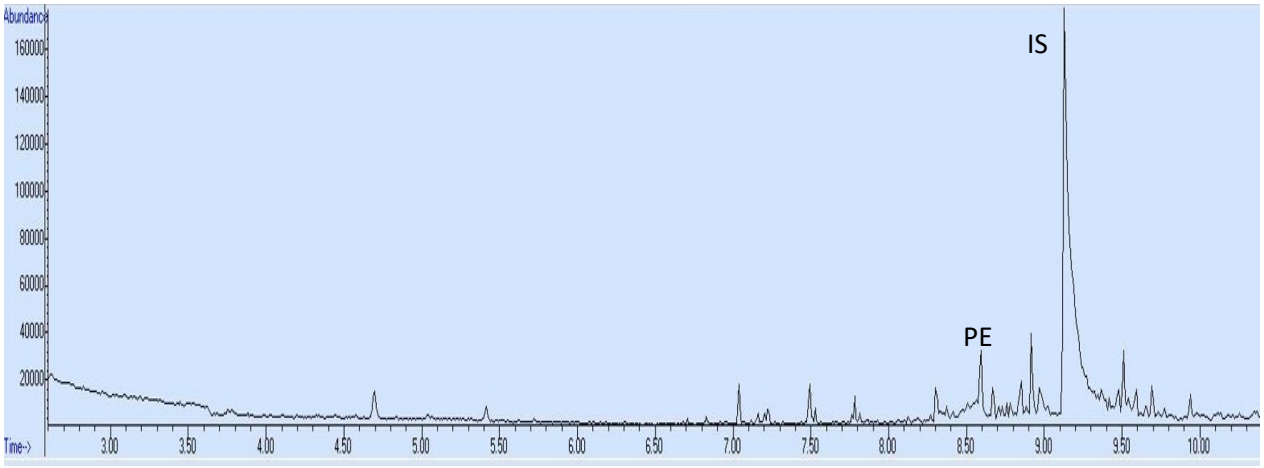
Şekil- 58: 240 günlük mürekkebe ait kromatogram(FBC)



Şekil- 59: 260 günlük mürekkebe ait kromatogram(M.M.)



Şekil- 60: 270 günlük mürekkebe ait kromatogram(P.O.)



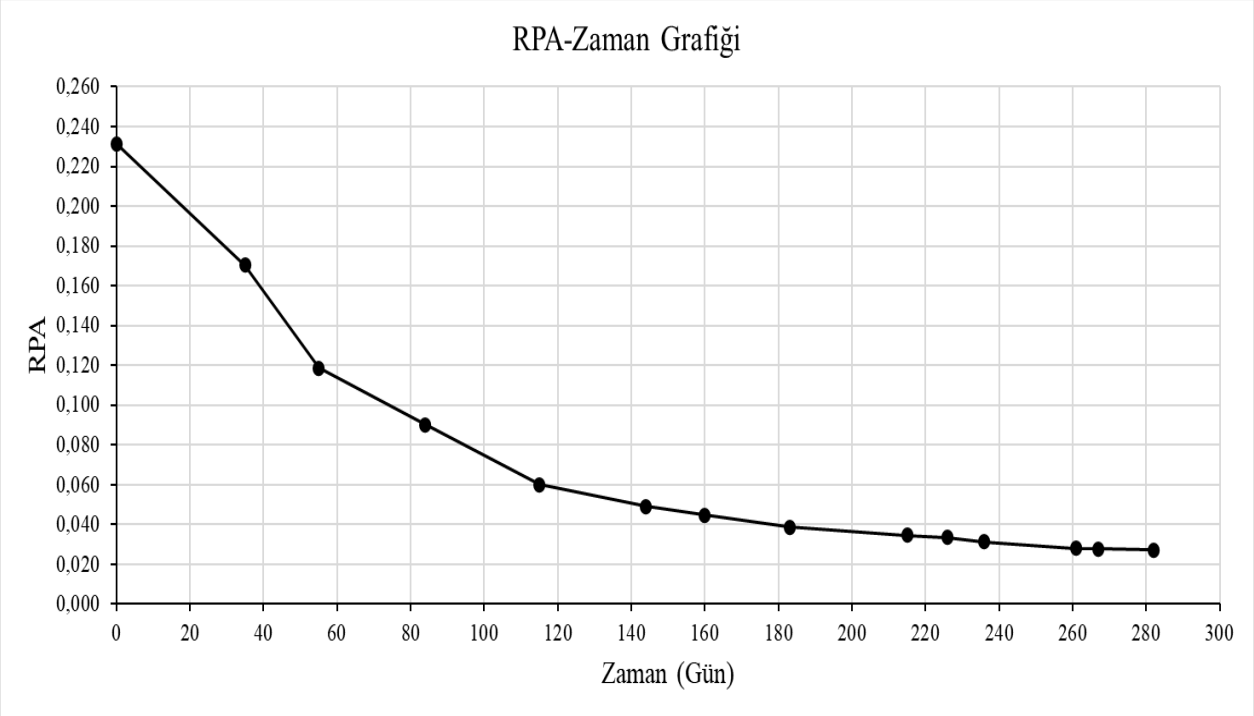
Şekil- 61: 280 günlük mürekkebe ait kromatogram(Gest.)

GC-MS analizinden elde edilen PE ye ait pik alanlarının zamana bağlı değişimleri ve RPA değerleri Tablo-XVI da verilmiştir. Elde edilen verilerle RPA-Zaman grafiği çizilmiştir. PE ye ait RPA-Zaman grafiği Şekil-61 de gösterilmiştir. RPA değeri aşağıdaki verilen formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{RPA} = \frac{\text{Analitin Pik Alanı}}{\text{İç Standardın Pik Alanı}}$$

Tablo- XX: PE ye ait pik alanlarının zamana bağlı değişimleri ve RPA değerleri(10 adet mavi tükenmez kaleme ait PE değerlerinin ortalaması)

Zaman (Gün)	PE Alan	IS Alan	RPA
0	248842	1075977	0,231
30	121088	711392	0,170
60	102088	860394	0,119
80	209224	2320073	0,090
120	50258	838066	0,060
140	25964	528166	0,049
160	37568	841097	0,045
180	38554	998926	0,039
210	24362	705966	0,035
230	23077	688084	0,034
240	23925	765768	0,031
260	21324	758664	0,028
270	22723	821961	0,028
280	148114	5432583	0,027



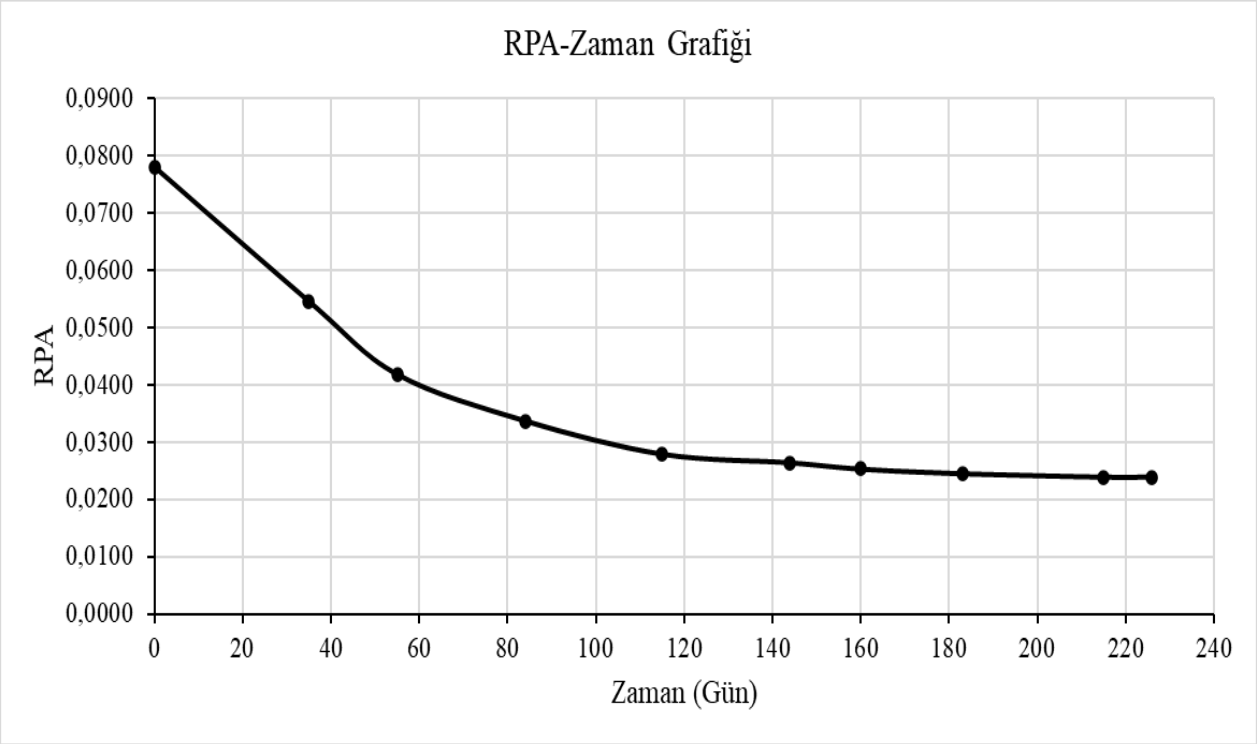
Şekil- 62: PE ye ait RPA-Zaman grafiği

PEE ye ait pik alanlarının zamana bağlı değişimleri ve RPA değerleri Tablo-XVII de verilmiştir. Elde edilen verilerle RPA-Zaman grafiği çizilmiştir. PEE ye ait RPA-Zaman grafiği Şekil-62 de gösterilmiştir. RPA değeri yukarıda verilen formül ile hesaplanmıştır.

Tablo- XXI: PEE ye ait pik alanlarının zamana bağlı değişimleri ve RPA değerleri(10 adet mavi tükenmez kaleme ait PEE değerlerinin ortalaması)

Zaman (Gün)	PEE Alan	IS Alan	RPA
0	83819	1075977	0,0779
30	40692	711392	0,0572
60	35792	860394	0,0416
80	80043	2320073	0,0345

120	24472	838066	0,0292
140	15053	528166	0,0285
160	23635	841097	0,0281
180	27870	998926	0,0279
210	18990	705966	0,0269
230	18165	688084	0,0264



Şekil- 63: PEE ye ait RPA-Zaman grafiği

5. Tartışma

Belge, bir gerçekliğin kanıtı olan yazı, resim veya dökümandır (81). Günlük hayatımızda kullandığımız bu belgelerin aynı zamanda hukuki geçerliliği olması nedeniyle kurumların ve bireylerin yaptıkları anlaşmaların taraflar için mağduriyet oluşturmaması için kişilerin haklarını güvence altına almaktadır.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de en sık işlenen suç türlerinden biri ise belge sahteciliğidir. Belgede sahtecilikte faillerin kullandığı yöntemler karalama gibi optik yöntemlerle tespit edilebileceği gibi yapay yaşlandırma gibi kompleks bir yöntemde olabilir. Günümüzde gelişen teknoloji ile birlikte artık belge ve mürekkebe dair daha fazla şey aydınlatılabiliyor olsa bile hala analiz yöntemlerinin cevaplayamadığı sorular bulunmaktadır. Suçlular ise bu boşluklardan faydalanarak belgelerde çeşitli yöntemler kullanarak kişileri veya kurumları mağdur ederek suç işlemektedir. Belgede zamansal değişime maruz kalan ve belge hakkında daha fazla fikir sahibi olmamıza yardımcı olan mürekkebin analizlenmesi ise suçun aydınlatılmasında büyük rol oynamaktadır. Belge mürekkebinin analizlenmesi ile belgenin ne zaman oluşturulduğu, belgedeki şüpheli yazıların aynı kalemle mi yoksa farklı kalemle mi oluşturulduğu gibi temel ama önemli soruların cevaplanmasına olanak sağlamaktadır. Bu analizler tükenmez kalemlerin yapısında bulunan üç ana bileşenin ki bunlar; boyar maddeler, çözücüler ve reçinelerdir, birinin veya hepsinin zamana bağlı değişimleri tespit edilerek yapılmaktadır.

Literatür taramasına baktığımızda ilk mürekkep yaş analizi 1904 yılında Mitchell tarafından dolma kalem mürekkebi kullanılarak yapılmıştır. İlerleyen yıllarda yine Mitchell'in önderliğinde dolma kalem mürekkebin kimyasal yapısı incelenmiş ve mürekkebin yapısında bulunan organik veya inorganik bileşiklerin zamansal değişimlerini kendi metodunu oluşturarak tespit etmiştir (35,36). 1900'lü yıllarda daha yavaş ilerleyen mürekkep yaş ve yapı analizi son otuz yılda hukuki

ve bilimsel açıdan önemi anlaşıldığından hız kazanmış ve artmıştır. Adli belge kimyası uzman sayısı arttıkça pek çok farklı analitik cihaz kullanılarak farklı metotlar geliştirilmiştir (51-76). Günümüz de geliştirilen bu metotlar sayesinde mahkemenin sorduğu soruların pek çoğuna cevap verilebilmektedir.

2007 yılında Weyermann ve arkadaşlarının 31 mavi tükenmez kalem kullanarak yaptığı çalışmada mürekkebin yapısında bulunan fenoksietanol, fenoksietoksietanol, dipropilen glikol ve etoksietoksietanol çözücüleri GC-MS de analizlendi. Belgeden 1 cm kesit alınmıştır. Mürekkebin çözücüye daha rahat geçebilmesi için bu kesit daha küçük parçalara ayrılmıştır. Bizim çalışmamızda 10 cm numune alımı yapılmıştır. Bunun nedeni Weyermann'ın kullandığı kolonun dolgu maddesi (low bleed) ve uzunluğu çözücü analizi için elverişli iken bizim kullandığımız kolonun uzunluğunun kısa olması ve dolgu maddesini tutuculuğunun fazla olmasıdır.Weyermann ve ark. kağıttan mürekkebin ekstraksiyonu için DCM çözücüsü ilave etmiş ve numune 10 dk ultrasonik banyoda bekletmiştir. Bizim çalışmamızda da DCM çözücüsü kullanılmış, ultrasonik banyo yerine numuneler sıcak su banyosunda 80□C de bir saat bekletilmiştir. Mürekkep yaş tayini çalışmalarında bası izi (kişiden kişiye göre değişir) etkisini ortadan kaldırmak için mutlaka oran kullanılmaktadır. Buna örnek verecek olursak Bugler'in 2008 yılında yaptığı çalışmada mürekkebin yapısındaki fenoksietanolün TD-GC/MS tayininde TD de numune iki farklı sıcaklıkta (90□C ve 200□C) ısıtarak elde ettiği pik alanlarını bağıl çözücü oranı (%V) kullanarak yaş eğrisi çizmiştir (75). Biz çalışmamızda ekstraksiyon yöntemi kullandığımız için analitin pik alanını internal standardın pik alanına oranlayarak RPA değerleri elde ettik. Weyermann'ın 2007 de yaptığı çalışmada da RPA değeri kullanılmıştır. Weyermann ın yaş eğrisi 562 güne kadar giderken, bizim yaş eğrimiz 280 gündür. Bunun en önemli nedeninin kolondan kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Yaptığımız literatür taramasında; kağıt yüzeyinden mürekkep yapısındaki çözücülerin eldesi için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanıldığı tespit edilmiştir. El Sabbah ve ark.larının 2019 yılında yaptığı çalışmada belgeden alınan 1 cm numune önce CCl_4 ile yavaş ekstraksiyona tabi tutulduktan sonra GC-MS e verilir. Bu aşamaya yavaş ekstraksiyon denmesnin nedeni analitlerin CCl_4 de çok iyi çözünmemesidir. Ekstraksiyonunn ikinci aşamasında vialdeki kağıt numunesi kurutulur, ardından kloroform eklenerek tekrar GC-MS e verilir. Bu aşama hızlı ekstraksiyon olarak adlandırılır. Bu sürecin uzun ve aşamalı olması; zaman, maliyet ve madde israfının yanı sıra analistten kaynaklanabilecek hataları arttırmaktadır. Bizim çalışmamızda ise belgeden alınan numune doğrudan DCM çözücüsü ilave edilerek sisteme verildiğinden maliyet ve zaman açısından daha avantajlıdır. El Sabbah , Aginsky nin %D(decrease of solvent extractability) değerini temel alarak yaş eğrisini %D- Zaman (ay) şeklinde 10. aya kadar çizmiştir.

Mürekkep yaş tayini ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu fenoksietanol analizini içermektedir. Bu tez çalışmasında ise mavi tükenmez kalemin yapısında olduğu bilinen Fenoksietanol çözücüsünün yanı sıra yine mavi tükenmez kalemin içerisinde olduğu bilinen Etoksietanol, Propilen glikol ve Fenoksietoksietanol gibi diğer çözücülerin de analizi yapılarak elde edilen verilerle mürekkep yaş tayini yapılmıştır. Bu çalışmada farklı marka ve modele sahip on mavi tükenmez kalem GC-MS yöntemi kullanılarak analizlenmiştir.

Bu tez çalışmasında mürekkep yaş analizi için arşiv oluşturulmuştur. Bu arşiv aynı analist tarafından piyasadan toplanan farklı marka ve model 10 adet mavi tükenmez kalem kullanılarak standart A4 kağıdına 10 cm aralıklarla cetvel yardımı ile çizgi çizilerek oluşturulmuştur. Her

kalemden sonra kullanılan cetvel ve arşivin oluşturulduğu yüzey alkolle temizlenmiş ve 10 dk kuruması beklendikten sonra diğer kalem örneği hazırlanmıştır. Her tükenmez kalem için her ay düzenli olarak çizgiler çizilmiştir. Arşiv örnekleri ayrı ayrı şeffaf dosya konarak karanlık ortamda sabit oda sıcaklığı ve nemde saklanmıştır. Arşivi aynı analistin oluşturması ile değişken olan bası farklılığı elimine edilmeye çalışılmıştır. Çizgilerin arasında 10 cm olması mürekkebin içinde bulunan çözücülerin mürekkep kâğıda uygulandığı andan itibaren kâğıtta dikey ve yatay olarak difüzlenmesi nedeniyle olan girişim elimine edilmeye çalışılmıştır. Cetvelin ve belgenin oluşturulduğu yüzeyin alkolle temizlenmesi ile tükenmez kalemin içinde bulunan çözücülerin diğer bir kalem örneği ile teması engelleyerek kontaminasyon riski ortadan kaldırıldı. Oluşturulan arşiv numunesine ait örnek resim Ekler-1 de gösterilmiştir.

Etoksietanol, Propilen glikol, Fenoksietanol ve Fenoksietoksietanol ’ün tespit edilmesinde kullanılacak yöntemin validasyonu için standartlarından hazırlanan stock çözeltiler ve kalibrasyon çözeltileri Bölüm 3.5. anlatıldığı gibi hazırlanmıştır.

Özgünlük ve seçicilik çalışması için önce içinde iç standart eklenmiş boş kağıt analizlenmiştir. Bu çalışma için 0,1 mg/ml lik karışım çözeltisi hazırlanarak GC-MS ile analizlenmiştir. Bunun sonucunda EE nin alıkonma zamanı 3.026 dk, özgün iyonları 59, 72 olarak tespit edilmiştir. PG için alıkonma zamanı 3.391 dk, özgün iyonu 45 olarak tespit edilmiştir. PE nin alıkonma zamanı 8.447 dk, özgün iyonları 94, 138 olarak tespit edilmiştir. PEE için alıkonmaz zamanı 9.115 dk, özgün iyonları 152, 135 olarak tespit edilmiştir. PA (IS) için alıkonma zamanı 9.626 dk, özgün iyonları 94, 182 olarak tespit edilmiştir.

Bu veriler doğrultusunda piklerin geldiği alıkonma zamanlarında çözücüden veya kâğıttan kaynaklanan bir girişim olmadığı gözlemlenmiştir.

Tablo-IX dan elde edilen veriler ile Pik Alanı-Konsantrasyon kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Pik alanı seçilmesinin sebebi, farklı nedenlerden kaynaklı ortam koşulların değişimi analit pik yüksekliğinin (tepe noktasının) kısalmasına, daha geniş olmasına ve bazı durumlarda daha asimetrik olmasına neden olur, ancak bu değişimin toplam molekül sayısı aynı kaldığı sürece tepe noktasının altındaki toplam alan üzerinde çok az etkisi vardır.

Tekrarlanabilirlik için üç farklı konsantrasyonda çözeltiler hazırlanarak sisteme üç tekrarlı verilmiştir. Elde edilen veriler ile standart sapma ve bağıl standart sapma hesaplanmıştır. %RSD değerleri 0,3 mg/ml konsantrasyonundaki PEE'ye ve 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki EE'ye ait %RSD değerleri dışında %10'nun altında olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışma için geliştirilen metoda göre LOD ve LOQ değerleri 0,025 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Laboratuvar içi tekrarlanabilirlik için farklı analist 0,1 mg/ml, 0,3 mg/ml ve 0,5 mg/ml konsantrasyonlarında EE, PG, PE ve PEE karışım çözeltilerini aynı prosedür ile hazırlamış, aynı yöntem ve sistem ile analizlenmiştir. Bu çalışmanın sonucuna ait kromatogram Şekil-47 de gösterilmiştir. Bu verilere göre kullanılan yöntemin laboratuvar içi tekrarlanabilir olduğu belirlenmiştir.

Arşiv numunelerinin analizlenmesi için, belge üzerinden numune alımı önce 5mm lik punch yardımı ile yapılmıştır. Alınan numune miktarına ait resim Ekler-2 de verilmiştir. Numune 2.0 ml'lik viale yerleştirilip, DCM eklenmiş ve yüksek devirde 5dk vortexlenerek ekstre edilmiştir. Hazırlanan numuneye ait resim Ekler-3 te verilmiştir. Daha sonra sisteme verilen örnek analizlenmiştir. Kolonun uygun olmaması (genellikle GC-MS mürekkep analizinde CP-Sil 8 CB kapiler kolunu kullanılmaktadır. Bizim kullandığımız kolon ise HP 5MS kolondur.), termal

desorber veya katı-faz mikro ekstraksiyon gibi yöntemlerin kullanılmaması nedeniyle bu miktarda sonuç alınamamıştır. Bunun doğrultusunda numune miktarı arttırılmış 1mm genişliğinde 1, 4, 7 ve 10 cm uzunluğunda numuneler alınmış ve analizlenmiştir. Alınan numunelere ait resimler Ekler-4,5,6 ve 7 de gösterilmiştir. Bu analiz sonucunda numune alımı için uygun miktar 1mm genişliğinde 10 cm uzunluğundaki miktar olduğu tespit edilmiştir. DCM dışında başka bir çözünün kullanılmamasının nedeni ise EE, PG, PE ve PEE nin içinde çözünebildiği ortak çözücünün kloroform olmasıdır. Kloroformun toksik olması ve çok uçucu bir madde olması nedeni ile tercih edilmemiştir. Bunun yanı sıra asetonitril, aseton, etanol ve metanol gibi çözücülerde denenmiş fakat kayda değer veriler elde edilememiştir.

Numune miktarının yanı sıra ön hazırlık işleminde de modifikasyon gerçekleştirilmiştir. Analitlerin kağıt yüzeyinden DCM e geçebilmesi için su banyosunda ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. 65 °C, 70 °C ve 80 °C derece olmak üzere üç farklı sıcaklık denenmiştir. En uygun sıcaklık değeri 80 °C derece olarak tespit edilmiştir. Numuneler, 80^0C de ki su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Numune hazırlama işlemi standart hale getirildikten ve metot validasyonu gerçekleştirildikten sonra arşiv numuneleri analizlenmiştir.

Çalışılan 10 adet tükenmez kalemin hepsinde fenoksietanol ve fenoksietoksietanol tespit edilirken, 1 tanesinde (Faber Castel 1425) propilen glikol bulunmuştur. Ancak hiçbirinde etoksietanole rastlanmamıştır. Etoksietanol jel kalem mürekkeplerinde çözücü olarak yaygın kullanılmakta olduğu bilinmektedir. Etoksietanol çözücüsü de tükenmez kalem mürekkeplerinde kullanılan çözücüler gibi glikol bazlı olduğundan kullanılabileceği varsayılarak araştırıldı. Ancak bizim çalıştığımız kalemlerde rastlanılmamıştır.

Arşiv numunelerin GC-MS ile analizi ile elde edilen veriler ve bu veriler ile hesaplanan RPA değerleri Tablo-XVI ve Tablo-XVII de gösterilmiştir. Bu veriler doğrultusunda çizilen PE'ye ait RPA-Zaman grafiği Şekil-62 de ve PEE'ye ait RPA-Zaman grafiği Şekil-63 de gösterilmiştir.

Şekil-48'e bakıldığı zaman taze mürekkepte Propilen glikol, Fenoksietanol ve Fenoksietoksietanol tespit edilirken Etoksietanol tespit edilememiştir. Bu yüzden Etaoksietanol için yaş eğrisi çizilememiştir. Diğer taraftan taze mürekkepte (0. gün) tespit edilen propilen glikol, 30 günden sonra geliştirilen yöntem ile tespit edilememiştir. Bu nedenle PG'ye ait yaş eğrisi çizilememiştir.

Fenoksietanolün yaş eğrisi incelendiğinde 280 güne kadar deneysel olarak değişimin devam ettiği gözlemlenmiştir. RPA grafiğine bakıldığında kağıt yüzeyinden buharlaşmanın 60 günlük dönemde daha hızlı olduğu, ancak hem çevresel faktörlerin etkisi hem de çözücü miktarındaki azalma nedeni ile buharlaşma hızının düştüğü tespit edilmiştir. Yaş tayini raporlamasında hata payını minimize etmek adına uzmanlar direkt zaman yerine zaman aralığı kullanmayı tercih ederler. RPA> 0,23 ise yeni belge, 0,12< RPA< 0,23 ise belge 0-60 günlük, 0,06<RPA< 0,12 ise belge 60-120 günlük, 0,04<RPA< 0,06 ise belge 120-180 günlük, 0,03<RPA< 0,04 ise belge 180-280 günlük ve RPA< 0,03 ise belge için zaman aralığı verilememektedir.

Fenoksietoksietanolün yaş eğrisi incelendiğinde 230 güne kadar deneysel olarak değişimin devam ettiği gözlemlenmiştir.RPA grafiğine bakıldığında kağıt yüzeyinden buharlaşmanın 60 günlük dönemde daha hızlı olduğu, ancak hem çevresel faktörlerin etkisi hem de çözücü miktarındaki azalma nedeni ile buharlaşma hızının düştüğü tespit edilmiştir. RPA> 0,078 ise yeni belge, 0,042< RPA< 0,078 ise belge 0-60 günlük, 0,029<RPA< 0,042 ise belge 60-120

günlük, 0,028<RPA< 0,029 ise belge 120-180 günlük, 0,026<RPA< 0,028 ise belge 180-230 günlük ve RPA< 0,026 ise belge için zaman aralığı verilememektedir.

Bu çalışma ile geliştirilen metot, 0-12 ay arasında fenoksietanol ve fenoksietoksietanol içeren mavi tükenmez kalem ile oluşturulmuş belgelerde yaş tespitine olanak sağlamaktadır.

6. Sonuç

Bu tez çalışmasında piyasadan toplanan farklı marka ve modellere ait mavi tükenmez kalemlerin yapısında bulunan etoksietanol, propilen glikol, fenoksietanol ve fenoksietoksietanol çözücülerinin GC-MS ile analiz edilerek belgenin oluşturulma tarihinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışılan arşiv numunelerinde fenoksietanol ve fenoksietoksietanol ün tükenmez kalem mürekkebinin yapısında daha fazla miktarda bulunması nedeniyle 0,025 mg/ml konsantrasyonun altındaki değerlerle çalışılmamıştır ve 280 günden daha eski belgelerde çözücü tespit edilememiştir. Genel olarak mürekkep yaş analizinde bakılan fenoksietanol ün dışında bakılan diğer çözücülerden etoksietanol tespit edilemezken propilen glikol taze mürekkepte tespit edilmiş, fenoksietoksietanol ise 230 güne kadar tespit edilebilmiştir.

Diğer çözücülerin araştırılmasının nedeni oluşturulma zamanı bilinmeyen belgenin analizinde destekleyici bir unsur daha olması ile analiz sonucunun doğruluğunun teyit edilmesidir. Mürekkep yaş analizi çalışmalarının daha kapsamlı olabilmesi için numune sayıları ve çeşitleri (siyah, kırmızı ve yeşil renk) arttırılmalı, uygun kolon ve yöntem seçilmeli, termal desorber, katı faz mikro ekstraksiyon vb. gibi yöntemlerde kullanılmalıdır.

Çevresel faktörlerin (sıcaklık, ışık, nem vb.) belgedeki mürekkebin yaşlanmasına etkisi, mürekkep analizinde kağıt çeşidinin etkisi, elementel analiz yöntemleri ile mürekkep çeşidinin belirlenmesi için yapılacak olan çalışmaların sonucu yargı sistemine daha iyi hizmet edebilir.

Bu çalışmada ülkemizde mürekkep yaş çalışmalarının yetersiz olduğu ve adaletin yerine getirilmesinde gerekli öneme sahip olamadığı, yetişmiş bilirkişi olabilecek uzman belge kimyacısının az olması ise çıkarılan bir diğer önemli sonuçtur.

7. Kaynaklar

(1) TDK. Türk Dil Kurumu. [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 4 Ekim 2021.] https://sozluk.gov.tr/.

(2)Taşdemir, Kubilay. Belge. *Belgelerde Sahtecilik Suçları.* Ankara : ütopyagrafik, 2013.

(3) Gazete, Resmi. 6100 Hukuk Muhakemeleri Kanunu. *Resmi Gazeete* . [Çevrimiçi] 4 Şubat 2011. [Alıntı Tarihi: 4 Ekim 2021.] https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/02/20110204-2.htm.

(4) GÖZEL, Arif. BELGEDE SAHTECİLİK SUÇLARININ KONUSU. 2015, Cilt 5, 1.

(5)Av. Baran Doğan. Resmi Evrakta (Belgede) Sahtecilik Suçu ve Cezası. *Av.Baran Doğan Hukuk Bürosu.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 4 Ekim 2021.] https://barandogan.av.tr/blog/ceza-hukuku/resmi-evrakta-belgede-sahtecilik-cezasi.html.

(6) Bulut, Av. Ferhat. Özel Belgede Sahtecilik Suçu ve Cezası. *Ferhat Bulut.* [Çevrimiçi] 3 Şubat 2021. [Alıntı Tarihi: 4 Ekim 2021.] https://www.ferhatbulut.av.tr/makaleler/ozel-belgede-sahtecilik-sucu-ve-cezasi.

(7) *ADLİ BELGE İ NCELENMESİ NDE.* Öztel, Ahmet. : IRD Dergisi, 2004, Cilt 50.

(8) *A comparative study of ballpoint ink ageing parameters using GC/MS.* Agnes Koenig, Sophie Magnolon, Celine Weyermann. 93-106, Lausanne-Dorigny : Forensic Science International, 2015, Cilt 252. http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.03.027

(9) *Sketch of Analytical Methods for Document Dating, Part II; the Dynamic Approach: Determining Age Dependent Analytical Profiles.* Cantu, A A. 3, : International Journal of Forensic Document Examiners, 1996, Cilt 2. NCJ Number 166131

(10) Kağıt, Alkim. Kağıt Terminolojisi. *Alkim Kağıt.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 4 Ekim 2021.] https://www.alkimkagit.com.tr/tr/ar---ge/kagit-terminolojisi/.

(11) Kağıtçılık, Papür. KÂĞIDIN TARİHÇESİ. *Papür Kağıtçılık.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 19 Ekim 2021.] http://papurkagit.com/kagittarih/.

(12) Taşdemir, Kubilay. Kağıt. *Belgelerde Sahteciliik Suçları.* Ankara : ütopyagrafik, 2013.

(13)ERKAN SAYIN, Zehra & Malayoglu, Ufuk. (2001). Kağıt-Karton Sanayiinde Kullanılan Endüstriyel Hammaddeler ve Özellikleri.

(14) *Large-scale study of paper by neutron-activation analysis.* Settle, 4 H. L. Schlesinger and D. M. 3, : Journal of Forensic Sciences, 1971, Cilt 16. Referans Numarası: 5093561

(15) *Forensic differentiation of paper by X-ray diffraction and infrared spectroscopy.* V. Causin, C. Marega, A. Marigo, R. Casamassima, G. Peluso, L. Ripani. Roma : Forensic Science International, 2010, Cilt 197. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.12.056

(16) *Characterization of document paper using elemental compositions determined by inductively coupled plasma mass spectrometry.* Spence, Lindsay D., Baker, Anthony T. ve Byrne, John P. 7, : Journal of Analytical Atomic Spectrometry,, 2000, Cilt 15. https://doi.org/10.1039/B001411G

(17) *Classification of Document Papers by Infrared Spectroscopy and Multivariate Statistical Techniques.* Kher, Ashwini, ve diğerleri. 9, : Applied Spectroscopy, 2001, Cilt 55. https://doi.org/10.1366%2F0003702011953199

(18) *Forensic Analysis of Commercial Inks by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy.* Cicconi, Flavio, ve diğerleri. 13, : Sensors, 2020, Cilt 20. https://doi.org/10.3390/s20133744

(19) https://www.history.com/topics/inventions/printing-press#:~:text=Goldsmith%20and%20inventor%20Johannes%20Gutenberg,use%20commercially%3A%20The%20Gutenberg%20press. (Son Erişim Tarihi: 23 Mayıs 2022)

(20) The cheap pen that changed writing forever, BBC Future (2020). https://www.bbc.com/future/article/20201028-history-of-the-ballpoint-pen#:~:text=An%20American%2C%20John%20J%20Loud,in%20place%20by%20a%20socket. (Son Erişim Tarihi: 23 Mayıs 2022)

(21) http://www.historyofpencils.com/writing-instruments-history/gel-pen-history/ (Son Erişim Tarihi: 23 Mayıs 2022)

(22) https://www.tonerink.com.au/blog/the-history-of-ink/ (Son Erişim Tarihi: 23 Mayıs 2022)

(23) Mürekkebin İcadı. *Sosyal Bilgiler.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 21 Ekim 2021.] https://www.sosyal-bilgiler.com/icatlar-dunyasi/174-murekkebin-icadi.html.

(24) Taşdemir, Kubilay. Mürekkep. *Belgelerde Saahtecilik Suçları.* Ankara : ütopyagrafik, 2013.

(25) *Forensic Identification of Dyes in Ballpoint Pen Inks Using LC–ESI–MS.* Dilara Akhmerova, Alina Krylova, Andrey Stavrianidi, Oleg Shpigun & Igor Rodin: Chromatographia, 2017. https://doi.org/10.1007/s10337-017-3404-1

(26) İşlek S.D. Belgeden Mavi Renkli Tükenmez Kalem Mürekkeplerinin Yapı ve Yaş Tayini, Doktora Tezi 2015 İstanbul.

(27) *M. S. Tswett and the discovery of chromatography I: Early work (1899–1903).* Sakodynskii, L. S. Ettre & K. I. : Chromatographia, 1993, Cilt 35. https://doi.org/10.1007/BF02277520

(28) Crouch, Douglas A. Skoog & F James Holler & Stanley R. Gas Chromatography. *Principles of Instrumental Analysis.* Belmont, CA : David Harris, 2007.

(29) File:Gas chromatograph.png. *Wikimedia Commons.* [Çevrimiçi] 27 Eylül 2005. [Alıntı Tarihi: 11 Kasım 2021.] https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gas_chromatograph.png.

(30) Split vs. Splitless Injection. *Restek.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 11 Kasım 2021.] https://www.restek.com/en/video-library/split-vs-splitless-injection/.

(31) Zeeuw, Jaap de. Direct injection.. when do we use this? *Restek.* [Çevrimiçi] 13 Kasım 2009. [Alıntı Tarihi: 11 Kasım 2021.] https://www.restek.com/en/chromablography/chromablography/direct-injection..-when-do-we-use-this/.

(32) Md. Musfiqur Rahman, A.M. Abd El-Aty,Jeong-Heui Choi,Ho-Chul Shin,Sung Chul Shin,Jae-Han Shim. Chapter 3 Basic Overview on Gas Chromatography Columns. *Wiley Online Library.* [Çevrimiçi] 25 Kasım 2015. [Alıntı Tarihi: 11 Kasım 2021.] https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9783527678129.assep024.

(33) *Gas chromatography.* Catalogue, J & W. 1998.

(34) Jeffrey. Topic 2.2: The mass spectrometer. *IB Chemistry.* [Çevrimiçi] 17 Kasım 2013. [Alıntı Tarihi: 12 Kasım 2021.] https://myibchemistry.blogspot.com/2013/11/topic-22-mass-spectrometer.html.

(35) Electron Ionization. *Creative Proteomics.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 12 Kasım 2021.] https://www.creative-proteomics.com/support/electron-ionization.htm.

(36) Quadrupole MS. *SHIMADZU.* [Çevrimiçi] [Alıntı Tarihi: 12 Kasım 2021.] https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/fundamental/mass_analyzers.html.

(37) *GGR Biennial Critical Review: Analytical Developments Since 2010.* Michael Wiedenbeck,Roxana Bugoi, M. J. M. Duke, Roxana Bugoi,. 4, 2012, Cilt 36.

(38) *BRUNELLE, R. L.; CRAWFORD, K. R. Advances in the forensic analysis and dating of writing ink. 2003. Springfield, Ill.: Charles C Thomas. xix, 2002.*

(39) *MITCHELL, C. A. English inks: their composition and differentiation in handwriting. Analyst, 1908, 33.384: 80-85.* https://doi.org/10.1039/AN9083300080

(40) *Estimation of the age of ink in writing.* Ainsworthá Mitchell, C. 532, : Analyst, 1920, Cilt 45.

(41) *Comparison of writing inks by paper chromatography.* Somerford, A. W. 1, : The Journal of Criminal Law, Criminology, and Police Science, 1952, Cilt 43.

(42) *Estimation of age of blue black ink writing (III).* Kikuchi, Y. 1, : Japanese Police Science Report, 1963, Cilt 16.

(43) *"The Examination and Identification of Inks," Methods of Forensic Science, Vol. II.* Witte, AH. New York : Interscience Publishers, 1963.

(44) *Examination of micro-quantity of ball point inks from documents by thin-layer chromatography.* Nakamura, G. R., & Shimoda, S. C. : Criminology & Police Sci., 1965, Cilt 56.

(45) D. S. Salih Cengiz, İşlek, D. S. *Belgede Sahtecilik Tespitinde Mürekkep Yapı ve Yaş Tayini* . Anakara : Seçkin, 2017.

(46) *A. New Developments in the Dating of Inks.* Brunelle, R., Cantu´. Saint Cloud, Fransa : Interpol Meeting 4th International Forensic Science Symposium, 1975.

(47) *Ballpoint ink age determination by volatile component comparison—a preliminary study.* Stewart, L. F. 2, : Journal of Forensic Science, 1985, Cilt 30.

(48) *Experiments in ballpoint ink aging using infrared spectroscopy.* Humecki, H. : In Proceedings of the International Symposium on Questioned Documents, 1985.

(49) *On the relative aging of ink—the solvent extraction technique. .* Cantu, A. A., & Prough, R. S. 5, : Journal of Forensic Science, 1987, Cilt 32.

(50) *Comments on the accelerated aging of ink.* Cantu, A. A. 3, : Journal of Forensic Science, 1988, Cilt 33.

(51) *Some new ideas for dating ballpoint inks—a feasibility study. .* Aginsky, V. N. 5, : Journal of Forensic Science, 1993, Cilt 38.

(52) *A sequential multiple approach to determining the relative age of writing inks.* Brunelle, R. L. 2, : International Journal of Forensic Document Examiners, 1995, Cilt 1.

(53) *Dynamic of the ageing of ballpoint pen inks: quantification of phenoxyethanol by GC-MS. .* Lociciro, S., Dujourdy, L., Mazzella, W., Margot, P., & Lock, E. 3, : Science & justice: journal of the Forensic Science Society, 2004, Cilt 44.

(54) *Age determination of ballpoint pen ink by thermal desorption and gas chromatography–mass spectrometry. .* Bügler, J. H., Buchner, H., & Dallmayer, A. 4, : Journal of Forensic Sciences, 2008, Cilt 53.

(55) Wang, Y., Yao, L., Zhao, P. et al. Determining the relative age of blue ballpoint ink by gas chromatography. Front. Chem. China 1, 223–226 (2006). https://doi.org/10.1007/s11458-006-0014-o

(56) XU, Yuanyuan; WANG, Jinghan; YAO, Lijuan. Dating the writing age of black roller and gel inks by gas chromatography and UV–vis spectrophotometer. Forensic science international, 2006, 162(1-3), 140-143. 10.1016/j.forsciint.2006.06.011

(57) BRAZEAU, Luc; GAUDREAU, Marc. Ballpoint pen inks: the quantitative analysis of ink solvents on paper by solid-phase microextraction. Journal of forensic sciences, 2007, 52(1), 209-215. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00299.x

(58) WEYERMANN, Céline, et al. A GC/MS study of the drying of ballpoint pen ink on paper. Forensic science international, 2007, 168.(2-3), 119-127. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.06.076

(59) BÜGLER, Jürgen H.; BUCHNER, Hans; DALLMAYER, Anton. Age determination of ballpoint pen ink by thermal desorption and gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Forensic Sciences, 2008, 53(4), 982-988. https://onlinelibrary.wiley.com/toc/15564029/2008/53/4

(60) ANDRASKO, Jan. Some examples of applications of a microthermal desorption device in the forensic laboratory. Journal of Forensic Sciences, 2009, 54.(5), 1055-1058. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01104.x

(61) EZCURRA, M., et al. Analysis of bic crystal medium ball point pen inks. J. Am. Soc. Questioned Doc. Examiners, 2009, (12), 57-68.

(62) YAO, Ya-Tong, et al. Differentiation and dating of red ink entries of seals on documents by HPLC and GC/MS. Journal of separation science, 2009, 32.(17), 2919-2927. https://doi.org/10.1002/jssc.200900110

(63) GAUDREAU, M.; AGINSKY, V. Essentials of the solvent loss ratio method. In: 68th Annual Conference of the American Society of Questionned Document Examiners (ASQDE). 2010.

(64) LALLI, Priscila M., et al. Fingerprinting and aging of ink by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. Analyst, 2010, 135(4), 745-750. https://doi.org/10.1039/B923398A

(65) KIRSCH, D., et al. A new approach for dating of ballpoint ink entries. In: 69th Annual Conference of the American Society of Questionned Document Examiners (ASQDE). 2011.

(66) Wu, Y., Zhou, C. X., Yu, J., Liu, H. L., & Xie, M. X. (2012). Differentiation and dating of gel pen ink entries on paper by laser desorption ionization-and quadruple-time of flight mass spectrometry. Dyes and Pigments, 94(3), 525-532. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2012.03.005

(67) Li, B., Xie, P., Guo, Y. M., & Fei, Q. (2014). GC analysis of black gel pen ink stored under different conditions. Journal of Forensic Sciences, 59(2), 543-549. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12313

(68) Koenig, A., Bügler, J., Kirsch, D., Köhler, F., & Weyermann, C. (2015). Ink dating using thermal desorption and gas chromatography/mass spectrometry: Comparison of results obtained in two laboratories. Journal of Forensic Sciences, 60, S152-S161. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12603

(69) Li, B., Xie, P., Guo, Y. M., & Fei, Q. (2014). GC analysis of black gel pen ink stored under different conditions. Journal of Forensic Sciences, 59(2), 543-549. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12313

(70) Gaudreau, M., & Brazeau, L. (2002, Ağustos). Ink dating using a solvent loss ratio method. In Proceedings of the 60th Annual Conference of the American Society of Questioned Document Examiners (s. 14-18). American Society of Questioned Document Examiners.

(71) Lociciro, S., Dujourdy, L., Mazzella, W., Margot, P., & Lock, E. (2004). Dynamic of the ageing of ballpoint pen inks: quantification of phenoxyethanol by GC-MS. Science & justice: journal of the Forensic Science Society, 44(3), 165-171. doi: 10.1016/S1355-0306(04)71709-8.

(72) Bügler, J. H., Buchner, H., & Dallmayer, A. (2008). Age determination of ballpoint pen ink by thermal desorption and gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Forensic Sciences, 53(4), 982-988. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00745.x

(73) Wang, Y., Yao, L., Zhao, P., Wang, J., & Wang, Y. (2006). Determining the relative age of blue ballpoint ink by gas chromatography. Frontiers of Chemistry in China, 1(2), 223-226. https://doi.org/10.1007/s11458-006-0014-o

(74) Andrasko, J. (2006). A simple microthermal desorption device. Journal of forensic sciences, 51(4), 925-928. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00179.x

(75) Bügler, J. H., Buchner, H., & Dallmayer, A. (2008). Age determination of ballpoint pen ink by thermal desorption and gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Forensic Sciences, 53(4), 982-988. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00745.x

(76) Samanidou, V. F., Nikolaidou, K. I., & Papadoyannis, I. N. (2004). Development and validation of a Gradient-HPLC-PDAD method for the identification of ballpoint pen ink components: study of their decomposition on aging for forensic science applications. Journal of liquid chromatography & related technologies, 27(2), 215-235. https://doi.org/10.1081/JLC-120027097

(77) Kirsch, D., Köhler, F., & Spengler, B. (2006). Mass spectrometric investigation of resins in ballpoint ink. In 4th European Association of Forensic Science Conference.

(78) Weyermann, C., Kirsch, D., Costa-Vera, C., & Spengler, B. (2006). Photofading of ballpoint dyes studied on paper by LDI and MALDI MS. Journal of the american society for mass spectrometry, 17(3), 297-306. https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.11.010

(79) Zhao, P. C., Wang, Y. J., Xu, Y. Y., & Wan, J. H. (2008). Investigation of accelerated aging in light and writing age of roller pen inks. Guang pu xue yu Guang pu fen xi= Guang pu, 28(10), 2348-2351.

(80) Freidenfelds, V., & Mekss, P. (2012). The Possibilities of Determination of the Relative Age of Ballpoint Pen Ink Entries by High Performance Liquid Chromatography/Lodisu Pildspalvas Tintes Ierakstu Relativa Vecuma Noteiksanas Iespejas Ar Augstefektivas Skidrumu Hromatografijas Metodi. Latvian Journal of Chemistry, 51(3), 242. doi:10.2478/v10161-012-0011-1

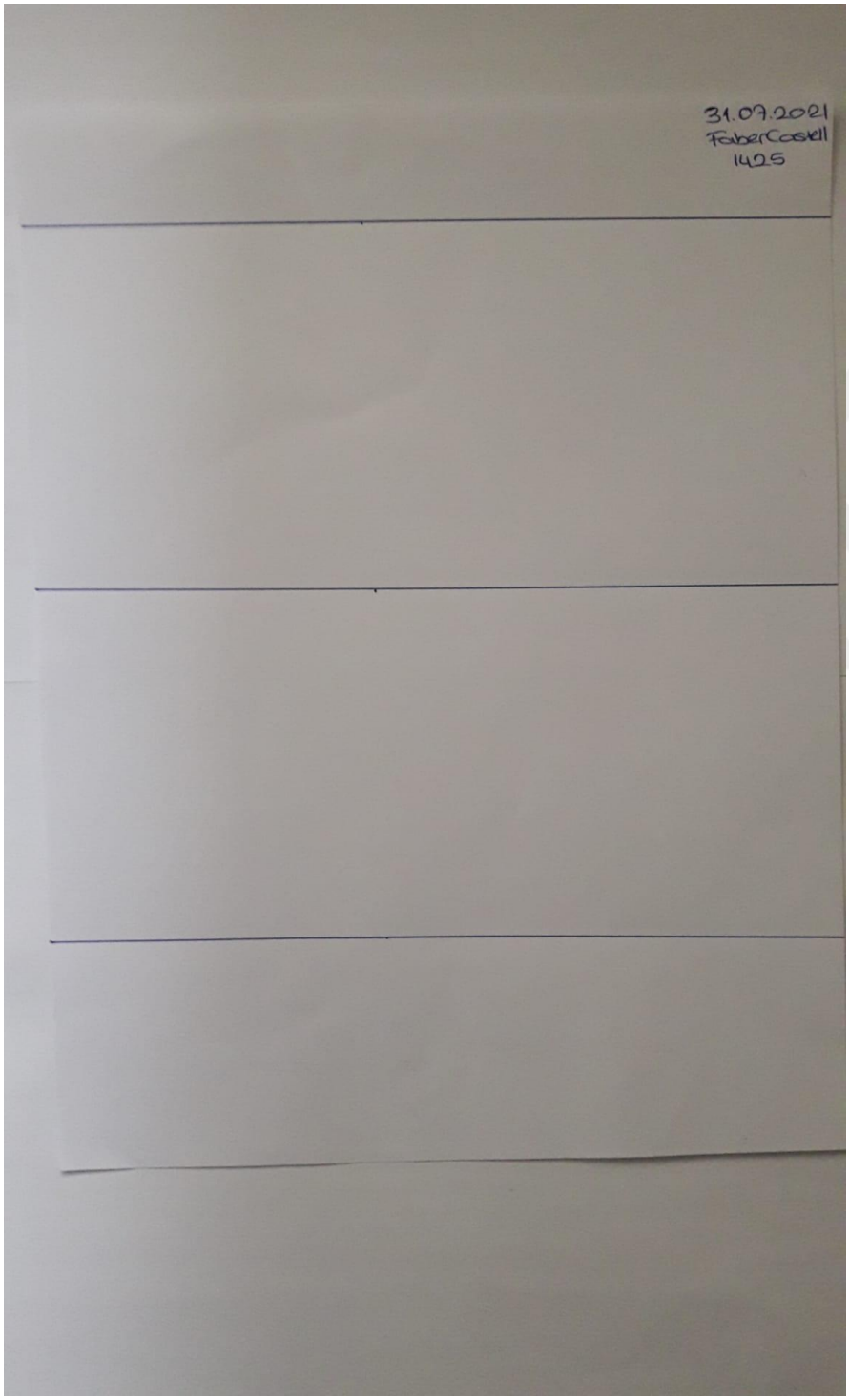
(81)Yılmaz, Doç. Dr.Aysun. *Kimyasal Analizlerde Metod Validasyonu ve Verifikasyonu.* Istanbul : turklab, 2013.

(82)S.L.R. Ellison, A. Williams. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* . İngiltere : EURACHEM/CITAC Guide, 2012.

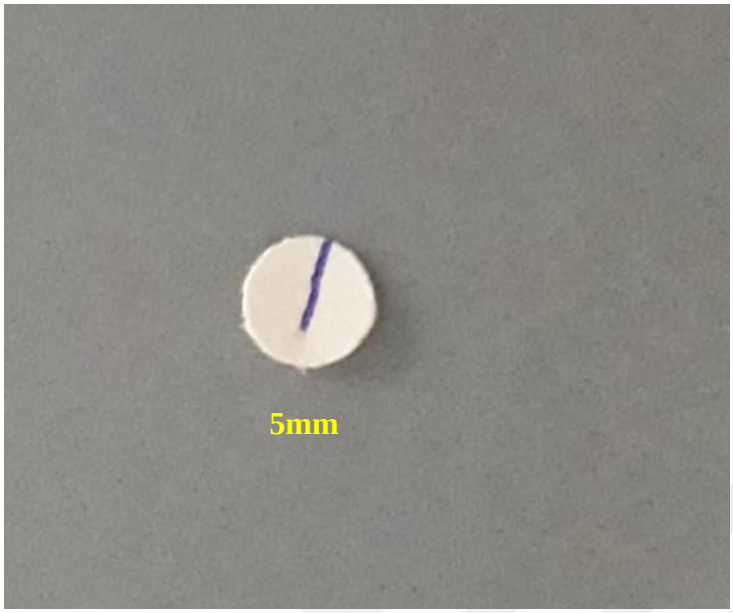
(83) Birincioğlu İ, Özkara E. ADLİ BELGE İNCELEMELERİNDE BİLİNMEYENLER, ÖRNEKLERLE YAZI VE İMZA ANALİZİ İLE ISLAK İMZA KAVRAMI. TBB Dergisi 2010; 87: 403-433.

EKLER

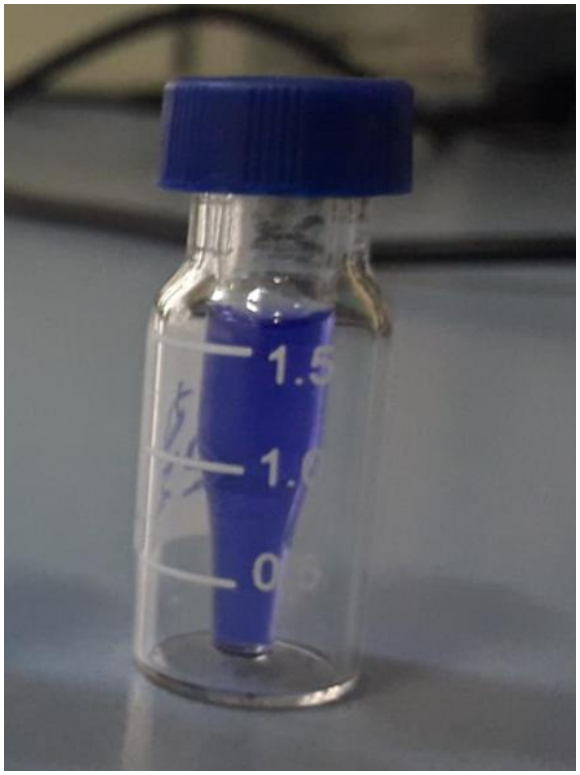
Ek 1- Hazırlanan Arşiv Örneği



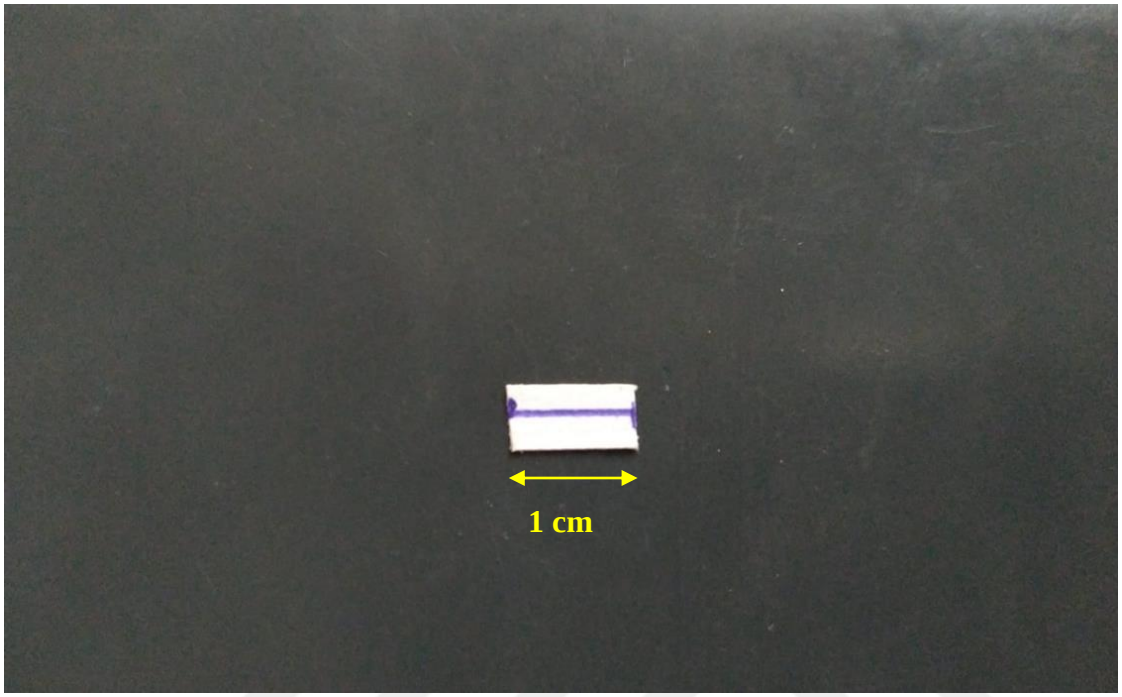
Ek 2- 5mm lik Punch ile Belgeden Alınan Örnek



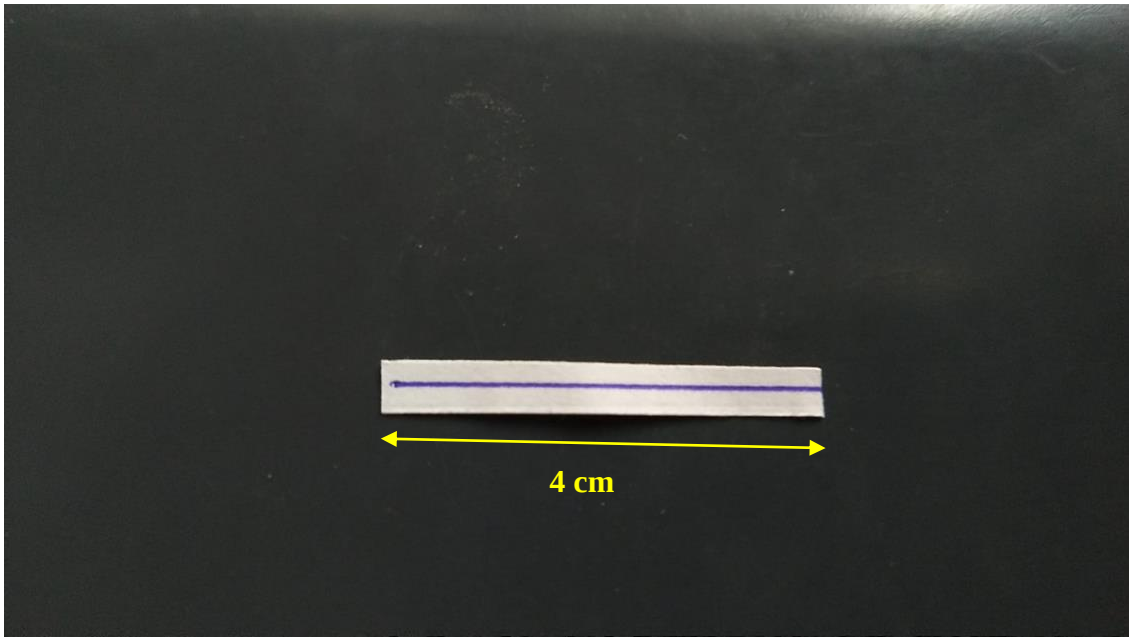
Ek 3- 5mm ile Hazırlanan Numune



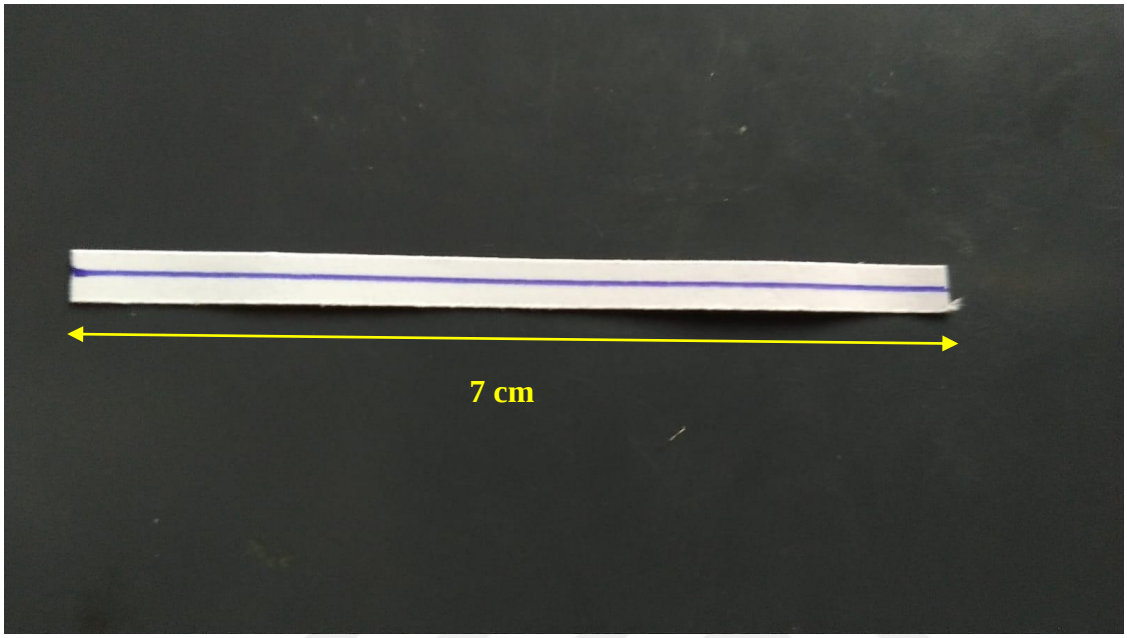
Ek 4- Belgeden Alınan 1 cm lik Örnek



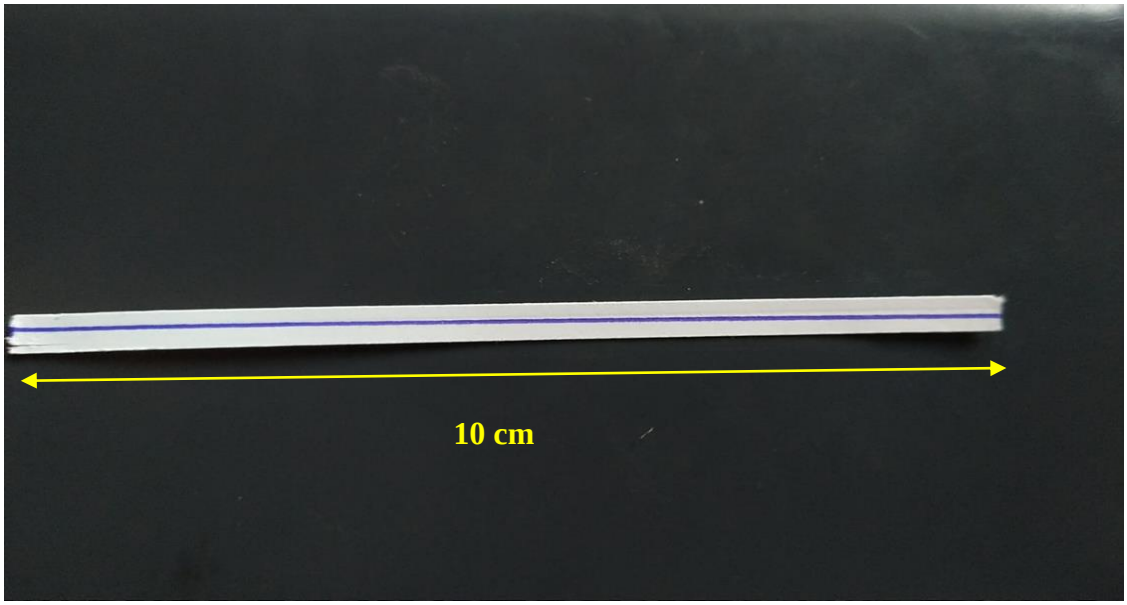
Ek 5- Belgeden Alınan 4 cm lik Örnek



Ek 6- Belgeden Alınan 7 cm lik Örnek



Ek 7- Belgeden Alınan 10 cm lik Örnek



EK 8- F Dağılım Tablosu (α=0,05)

F-table of Critical Values of α = 0.05 for F(df1, df2)

	DF1=1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
DF2=1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	243.91	245.95	248.01	249.05	250.10	251.14	252.20	253.25	254.31
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.37
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

ÖZGEÇMİŞ

EDA KİRİŞ

E-mail:

Eğitim Bilgileri:

2019-2022	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü M.Sc., Adli Kimya, İstanbul, Türkiye
2012-2018	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü (İYTE) B.Sc., Kimya, İzmir, Türkiye
2008-2012	İzmir Özel Türk Koleji Anadolu Lisesi

Tecrübe:

Ağustos 2017- Eylül 2017	Stajyer Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Bursa, Türkiye

Dil Becerileri:

İleri Düzey İngilizce

Orta Düzey Korece

Katıldığı Sertifika Programları:

Kasım 2016	ISO 22716:2007 İyi Üretim ve Uygulamaları Sertifikası
	TSC Apparel, İzmir, Türkiye
Aralık 2016	Zaman Yönetimi Sertifikası
	Yaşamartı, İzmir, Türkiye

Teknik Yetenekler:

- Microsoft Ofis Programları (Excel, Power Point, Word vb.)
- Hesaplamalı Kimya Programı (Gaussian View 5.0)