

BİTKİSEL YAĞLARDA SERBEST YAĞ ASİTLİĞİ TAYİNİ METOT VALİDASYONU ve ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİNİN HESAPLANMASI

Yasin YAKAR¹

¹ Harran Üniversitesi, Organize Sanayi Bölgesi Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojisi Bölümü, Kimya Teknolojisi Programı, Eyyübiye/ŞANLIURFA

Özet

Bu çalışmayla, bitkisel yağlarda TS EN ISO 660 no'lu standartta belirtilen serbest yağ asitliği metodunun valide edilmesi ve ölçüm belirsizliğinin hesaplanması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmalarda farklı asitlik değerlerine sahip zeytinyağı ve ayçiçek yağı kullanılmıştır. Metot validasyon parametreleri kesinlik (tekraredilebilirlik ve tekrarüretilebilirlik) ve doğruluk olarak belirlenmiştir. 3 analist tarafından yapılan çalışmalar sonunda metodun validasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir. Bitkisel yağlarda serbest yağ asitliği tayini için ölçüm belirsizliği çalışması da yapılmıştır. Uygulanan analiz metodunun belirsizlik bileşenleri tartım, hacim, kesinlik ve doğruluk olarak belirlenmiş ve bunlardan gelen belirsizlikler birleştirilerek genişletilmiş belirsizlik hesaplanmıştır. Serbest yağ asitliği için genişletilmiş belirsizlik (U) 0.052 olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Bitkisel yağ, asitlik, validasyon, ölçüm belirsizliği

Abstract

In this study, it was aimed to validate the free fatty acidity (TS EN ISO 660) method in vegetable oils and to calculate the measurement uncertainty. For this purpose, olive oil and sunflower oil with different acidity values were used in the studies. Method validation parameters were determined as precision (repeatability and reproducibility) and accuracy. At the end of the studies carried out by 3 analysts, the validation of the method was successfully carried out. A measurement uncertainty study was also carried out for the determination of free fatty acidity in vegetable oils. The uncertainty components of the applied analysis method were determined as weight, volume, precision and accuracy, and the expanded uncertainty was calculated by combining the uncertainties from these. The expanded uncertainty (U) for free fatty acidity was found to be 0.052.

GİRİŞ

Analitik ölçüm sonuçlarının amaçlarına uygun olması ve farklı yerlerde veya farklı zamanlarda elde edilen sonuçların tutarlı olması gerekir. Laboratuvarlar, belirli müşteri gereksinimlerini karşılamak amacıyla çok çeşitli ölçümler yapar. Sonuçlar amaca uygun değilse, analiz yapmak hem zaman hem de para kaybıdır. Bir laboratuvar, sonuçlarının güvenilir olmadığını bilir veya bundan şüphelenirse, ölçümlerin tekrarlanmasıyla ilgili birtakım maliyetlere maruz kalacaktır. Müşterilere güvenilir olmayan sonuçların verilmesi o laboratuvara potansiyel olarak önemli bir maliyet yükler.

Laboratuvarların gerekli kalitede veri sağlayabilmeleri ve sağladıklarından emin olabilmeleri için bazı kalite güvence tedbirlerini uygulamaya koymaları artık resmi bir gerekliliktir. Bu tür önlemler arasında doğrulanmış analiz yöntemlerinin kullanımı,

tanımlanmış iç kalite kontrol (QC) prosedürlerinin uygulanması, yeterlilik testi programlarına katılım, ISO/IEC 17025'e dayalı akreditasyon ve ölçüm sonuçlarının izlenebilirliğinin sağlanması yer almaktadır (Thompson et al., 2002).

Validasyon; cihaz, yöntem veya sistemin belirlenen koşullara uygunluğunu göstermek için yapılan işlemlerin tamamı olarak ifade edilebilir. Yöntem başarımları esasları, valide edilecek yöntemin uygulama amacı ve kapsamına göre belirlenir. Validasyon parametreleri; kesinlik, doğruluk, tespit limiti, ölçüm limiti, seçicilik, özgüllük, doğrusalık, duyarlılık ve sağlamlıktır. (Kuselman & Shenhar, 1997; Ertaş & Kayalı, 2005; Haouet et al., 2006; Tiryaki, 2006; Gustavo González & Ángeles Herrador, 2007; Feinberg, 2007). Validasyon, bir yöntem laboratuvarında ilk kez uygulandığında, yeni bir yöntem geliştirildiğinde, rutin olarak kullanılan bir yöntemde değişiklik yapıldığında, geçerli kılınmış bir yöntemi uygulayan kişi veya kullanılan cihazlarda değişiklik olması durumunda ya da yapılan kalite kontrol testlerinde aralıkların dışına çıkılması gibi durumlarda yapılmalıdır (Ertaş & Kayalı, 2005).

Ölçüm belirsizliği, ölçülen büyüklükle makul olarak ilişkilendirilebilecek değerlerin dağılımını karakterize eden, bir ölçümün sonucuyla ilişkili bir parametre olarak ifade edilebilir (Sin et al., 2006; Otomański & Szlachta, 2009). Belirsizliğin değerlendirilmesinde, tüm olası belirsizlik kaynaklarının belirlenmesi gerekir. Ancak bu tür detaylı bir çalışma ciddi bir emek gerektireceğinden dolayı belirsizliğe katkısı en fazla olan kaynaklar üzerinde yoğunlaşarak iyi bir belirsizlik tahmini yapılabilir (İnal, 2007; Dias et al., 2008).

Bu çalışmada; üç analist tarafından, bitkisel yağlarda TS EN ISO 660'a göre serbest yağ asitliği analiz metodunun validasyon çalışmaları yapılmış ve ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Validasyon ve ölçüm belirsizliği çalışmalarında rafine ayçiçek yağı (AY) ve natürel sızma zeytinyağı (ZY) numunesi kullanılmıştır. Yağlar Şanlıurfa'da faaliyet gösteren yerel bir marketten satın alınmıştır. Analizlerde kullanılan dietil eter, etil alkol, sodyum hidroksit ve fenolftalein kimyasalları analitik saflıkta olup Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir.

Yöntem

Bu çalışmada, bitkisel yağlarda serbest yağ asitliği tayini metot validasyonu ve ölçüm belirsizliğinin hesaplanması amacıyla TS EN ISO 660:2020 nolu standart kullanılmıştır. 250 ml'lik erlene yaklaşık 10 g kadar yağ numunesi tartılarak üzerine 100 mL nötralize edilmiş etil alkol+dietil eter çözücü karışımı (1+1) ilave edilerek numunenin çözülmesi sağlanmıştır. Birkaç damla fenolftalein damlatıldıktan sonra 0,1 N etanolü potasyum hidroksit çözeltisi ile renk hafif pembe olana kadar titre edilmiş ve sarfiyat kaydedilmiştir. Serbest yağ asitliği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% SYA = \frac{V \times c \times MA}{10 \times m}$$

Burada;

V: Titrasyonda sarfedilen etanollü KOH çözeltisi hacmi (mL)

C: Etanollü KOH çözeltisinin konsantrasyonu

M_A: Oleik asidin molekül ağırlığı (282 g/mol)

m: Numune miktarı (g).

Validasyon ve ölçüm belirsizliği parametreleri

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından yayınlanan “TS EN ISO 660:2020- Hayvansal ve Bitkisel Katı ve Sıvı Yağlar- Asit Sayısı ve Asitlik Tayini” yönteminin laboratuvarında geçerli kılınması ve ölçüm belirsizliğinin hesaplanması için çalışmalar yapılmıştır.

Metot validasyon çalışmalarında kesinlik (tekraredilebilirlik, tekrarüretilebilirlik) ve doğruluk parametreleri kullanılmıştır. Ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında ise yukarıdaki validasyon parametrelerinden gelen belirsizliklere ek olarak tartım ve hacimden gelen belirsizlik değerleri de kullanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Metod Validasyon Çalışmaları

Tekrarlanabilirlik çalışması

Tekrarlanabilirlik için toplam 3 analist tarafından ZY ve AY numunelerinde aynı gün içerisinde 10 tekrarlı çalışma yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilerden ortalama, standart sapma (SD) ve rölatif standart sapma (RSD) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.1). Tekrarlanabilirlik şartları altında hesaplanan RSD değerlerinin uygunluğu Tablo 4.8’de verilen derişime bağlı kesinlik değerleri ile karşılaştırılmıştır. Grup içi verilere Grubb testi uygulanmak suretiyle analiz sonuçlarında aykırı değerlerin olup olmadığı incelenmiştir. Tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen tüm % RSD değerlerinin derişime bağlı kesinlik değerleri tablosunda verilen 2,7 (ZY için) ve 3,7 (AY için) değerinden küçük olduğu görülmüştür.

Tablo 4.1. Tekrarlanabilirlik koşulları altında ZY ve AY numunelerinde SYA çalışması

Tekrar sayısı	1. analist		2. analist		3. analist	
	ZY	AY	ZY	AY	ZY	AY
1	1,096	0,152	1,115	0,154	1,105	0,157
2	1,126	0,162	1,082	0,154	1,117	0,155
3	1,118	0,160	1,097	0,155	1,105	0,157
4	1,063	0,154	1,087	0,162	1,078	0,158
5	1,112	0,162	1,073	0,154	1,059	0,165
6	1,090	0,157	1,072	0,160	1,105	0,158
7	1,098	0,163	1,069	0,163	1,105	0,154
8	1,120	0,162	1,069	0,164	1,094	0,164
9	1,082	0,158	1,087	0,155	1,084	0,158
10	1,114	0,153	1,071	0,162	1,087	0,165

Ortalama	1,102	0,158	1,082	0,158	1,094	0,159
Standart sapma	0,020	0,004	0,015	0,004	0,017	0,004
RSD	0,018	0,026	0,014	0,027	0,016	0,026
% RSD	1,79	2,64	1,40	2,67	1,56	2,56
Grubb üst	1,215	1,198	2,180	1,420	1,348	1,476
Grubb alt	1,974	1,437	0,859	0,947	2,052	1,230
Grubb ölçütü	2,29	2,29	2,29	2,29	2,29	2,29
Değerlendirme	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun

Tekrar üretilebilirlik çalışması

Tekrar üretilebilirlik için de yine 3 analist tarafından ZY ve AY numunelerinde 5 farklı günde toplam 10 tekrarlı çalışma yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilerden ortalama, standart sapma (SD) ve rölatif standart sapma (RSD) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7). Tekrar üretilebilirlik şartları altında hesaplanan RSD değerlerinin uygunluğu Tablo 4.8’de verilen derişime bağı kesinlik değerleri ile karşılaştırılmıştır. Grup içi verilere Grubb testi uygulanmak suretiyle analiz sonuçlarında aykırı değerlerin olup olmadığı incelenmiştir. Tekrar üretilebilirlik koşulları altında elde edilen tüm % RSD değerlerinin derişime bağı kesinlik değerleri tablosunda verilen 2,7 (ZY için) ve 3,7 (AY için) değerinden küçük olduğu görülmüştür.

Tablo 4.2. AY numunesinde tekrar üretilebilirlik çalışması (1. analist-2. analist)

Tekrar sayısı	a	b	X	a-b	(a-b)/X	((a-b)/X) ²
1	0,155	0,154	0,155	0,001	0,005	0,000
2	0,160	0,157	0,158	0,003	0,019	0,000
3	0,156	0,152	0,154	0,004	0,026	0,001
4	0,160	0,158	0,159	0,002	0,013	0,000
5	0,155	0,156	0,155	-0,001	-0,004	0,000
6	0,152	0,154	0,153	-0,002	-0,012	0,000
7	0,152	0,154	0,153	-0,002	-0,013	0,000
8	0,148	0,154	0,151	-0,006	-0,038	0,001
9	0,157	0,160	0,159	-0,003	-0,019	0,000
10	0,154	0,160	0,157	-0,006	-0,038	0,001
Toplam						0,005
RSD						0,015
%RSD						1,5

Tablo 4.3. AY numunesinde tekrar üretilebilirlik çalışması (1. analist-3. analist)

Tekrar sayısı	a	b	X	a-b	(a-b)/X	((a-b)/X) ²
1	0,155	0,153	0,154	0,002	0,011	0,000
2	0,160	0,165	0,162	-0,005	-0,031	0,001
3	0,156	0,153	0,155	0,002	0,016	0,000
4	0,160	0,154	0,157	0,006	0,035	0,001
5	0,155	0,162	0,159	-0,007	-0,044	0,002
6	0,152	0,159	0,156	-0,007	-0,043	0,002
7	0,152	0,157	0,155	-0,005	-0,032	0,001
8	0,148	0,155	0,152	-0,007	-0,044	0,002
9	0,157	0,158	0,158	-0,001	-0,006	0,000
10	0,154	0,148	0,151	0,006	0,038	0,001
Toplam						0,011
RSD						0,023
%RSD						2,3

Tablo 4.4. AY numunesinde tekrar üretilebilirlik çalışması (2. analist-3. analist)

Tekrar sayısı	a	b	X	a-b	(a-b)/X	((a-b)/X) ²
1	0,154	0,153	0,154	0,001	0,005	0,000
2	0,157	0,165	0,161	-0,008	-0,050	0,002
3	0,152	0,153	0,153	-0,002	-0,010	0,000
4	0,158	0,154	0,156	0,004	0,023	0,001
5	0,156	0,162	0,159	-0,006	-0,040	0,002
6	0,154	0,159	0,157	-0,005	-0,031	0,001
7	0,154	0,157	0,156	-0,003	-0,019	0,000
8	0,154	0,155	0,155	-0,001	-0,006	0,000
9	0,160	0,158	0,159	0,002	0,013	0,000
10	0,160	0,148	0,154	0,012	0,076	0,006
Toplam						0,012
RSD						0,025
%RSD						2,5

Tablo 4.5. ZY numunesinde tekrar üretilebilirlik çalışması (1. analist-2. analist)

Tekrar sayısı	a	b	X	a-b	(a-b)/X	((a-b)/X) ²
1	1,095	1,082	1,088	0,013	0,012	0,000
2	1,091	1,110	1,101	-0,019	-0,017	0,000
3	1,107	1,096	1,102	0,011	0,010	0,000

4	1,112	1,102	1,107	0,010	0,009	0,000
5	1,100	1,094	1,097	0,006	0,006	0,000
6	1,117	1,111	1,114	0,005	0,005	0,000
7	1,096	1,115	1,106	-0,019	-0,017	0,000
8	1,100	1,082	1,091	0,018	0,017	0,000
9	1,118	1,097	1,108	0,021	0,019	0,000
10	1,120	1,087	1,104	0,033	0,030	0,001
Toplam						0,003
RSD						0,011
%RSD						1,1

Tablo 4.6. ZY numunesinde tekrar üretilebilirlik çalışması (1. analist-3. analist)

Tekrar sayısı	a	b	X	a-b	(a-b)/X	((a-b)/X) ²
1	1,095	1,098	1,096	-0,003	-0,003	0,000
2	1,091	1,100	1,096	-0,009	-0,008	0,000
3	1,107	1,084	1,096	0,023	0,021	0,000
4	1,112	1,082	1,097	0,030	0,027	0,001
5	1,100	1,084	1,092	0,016	0,015	0,000
6	1,117	1,102	1,109	0,015	0,013	0,000
7	1,096	1,105	1,101	-0,009	-0,008	0,000
8	1,126	1,117	1,122	0,009	0,008	0,000
9	1,118	1,105	1,112	0,013	0,012	0,000
10	1,120	1,078	1,099	0,042	0,038	0,001
Toplam						0,003
RSD						0,013
%RSD						1,3

Tablo 4.7. ZY numunesinde tekra rüretilebilirlik çalışması (2. analist-3. analist)

Tekrar sayısı	a	b	X	a-b	(a-b)/X	((a-b)/X) ²
1	1,082	1,098	1,090	-0,016	-0,015	0,000
2	1,110	1,100	1,105	0,010	0,009	0,000
3	1,096	1,084	1,090	0,012	0,011	0,000
4	1,102	1,082	1,092	0,020	0,018	0,000
5	1,094	1,084	1,089	0,010	0,009	0,000
6	1,111	1,102	1,107	0,009	0,009	0,000
7	1,115	1,105	1,110	0,010	0,009	0,000
8	1,082	1,117	1,099	-0,035	-0,032	0,001
9	1,097	1,105	1,101	-0,008	-0,007	0,000
10	1,087	1,078	1,083	0,009	0,008	0,000
Toplam						0,002
RSD						0,010
%RSD						1,0

Tablo 4.8. Derişime bağı kesinlik değerleri (AOAC, 2016).

Analit (%)	Birim	% RSD
100	% 100	1.3
10	% 10	1.9
1	% 1	2.7
0,01	% 0,1	3.7
0,001	100 ppm (mg/kg)	5.3
0,0001	10 ppm (mg/kg)	7.3
0,00001	1 ppm (mg/kg)	11
0,000001	100 ppb (µg/kg)	15
0,0000001	10 ppb (µg/kg)	21
0,00000001	1 ppb (µg/kg)	30

Doğruluk

Doğruluk çalışmasında akredite bir laboratuvarından temin edilen ZY numunesi kullanılmıştır. 10 tekrarlı olarak yapılan analizlerde elde edilen değerlerin ortalaması, standart sapması ve sistematik hatası hesaplanmıştır (Tablo 4.9). Sertifika değeri ile gerçek değer arasında önemli bir farkın olup olmadığı t testi yapılmak suretiyle kontrol edilmiştir. t- testi tablosundan % 95 güven aralığında ve n-1 serbestlik derecesindeki t kritik değeri 2.262 bulunmuştur. Hesaplanan t değeri, t kritik değerden küçük olduğu için sonuçlar arasında önemli bir fark yoktur.

Tablo 4.9. Referans numune analiz sonuçları

Tekrar sayısı	Sonuç (% SYA)
1	1,24
2	1,20
3	1,22
4	1,20
5	1,18
6	1,20
7	1,18
8	1,26
9	1,20
10	1,26
Gerçek Değer	1,23
Bulunan Değer	1,21
Bağıl hata	0,013
Standart Sapma	0,030
t değeri	1,693
t kritik	2,262

Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Uygulanan analiz metodunun belirsizlik bileşenleri aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır;

- Örnek tartımından gelen belirsizlik
- Hacimden gelen belirsizlik
- Kesinlikten gelen belirsizlik
- Doğruluktan gelen belirsizlik

Tartımdan gelen belirsizlik

Çalışmalarda kullanılan hassas terazinin belirsizliği $\pm 0,001$ olarak verilmiş. Standart belirsizlik dikkörtgen dağılımla $0,001/\sqrt{3} = 0,0006$ olarak bulunmuştur.

Hacimden gelen belirsizlik

- 5 mL'lik pipet için sertifika değeri ± 0.05 mL olarak verilmiştir. Standart belirsizlik dikkörtgen dağılıma göre $0,05/\sqrt{3} = 0,028$ olarak bulunmuştur.
- 2 mL'lik pipet için sertifika değeri ± 0.02 mL verilmiştir. Standart belirsizlik dikkörtgen dağılıma göre $0,02/\sqrt{3} = 0,011$ olarak bulunmuştur.

Hacimden gelen toplam belirsizlik;

Bileşen	Değer	Standart Bel.	Rel. Std. Bel.
Pipet hacmi (5 ml)	5	0,028	0,0056
Pipet hacmi (2 ml)	2	0,011	0,0055
Toplam Hacim Belirsizliği			0,0078

Kesinlikten gelen belirsizlik

Kesinlikten gelen belirsizliğin hesaplanması için hem ZY'da hem de AY'da tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik çalışmalarından elde edilen RSD'ler aşağıdaki formül kullanılarak birleştirilmiştir. $RSD_{\text{birleşik}} = 0,021$ olarak hesaplanmıştır.

$$RSD_{\text{birleşik}} = \sqrt{\frac{(RSD_1^2 \times df_1) + (RSD_2^2 \times df_2) + \dots + (RSD_n^2 \times df_n)}{df_1 + df_2 + \dots + df_n}}$$

RSD: Rölatif standart sapma

df: Serbestlik derecesi ($df=n-1$; n: Tekrar sayısı)

Doğruluktan gelen belirsizlik

Yapılan çalışmalarda doğruluk bağıl hatası 0,013 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.9).

Toplam belirsizliğin hesaplanması

Tartım, hacim, kesinlik ve doğruluktan gelen belirsizlikler aşağıdaki formül kullanılarak birleştirilmiş ve toplam belirsizlik bulunmuştur.

$$U = \sqrt{(U_{\text{Tartım}})^2 + (U_{\text{hacim}})^2 + (U_{\text{Kesinlik}})^2 + (U_{\text{Doğruluk}})^2}$$

$$U_{\text{top}} = 0,026$$

Genişletilmiş belirsizliğin hesaplanması

Genişletilmiş Belirsizlik, toplam belirsizliğin (U_{top}) k katsayısı ile (%95 güven aralığında $k=2$) arpılmasıyla hesaplanmıştır. lm belirsizliği, bitkisel yağlarda SYA için $\pm 0,052$ olarak bulunmuştur.

$$U_{(SYA)} = k \times U_{(top)}$$

$$U_{(SYA)} = 2 \times 0,026$$

$$U_{(SYA)} = \pm 0,052$$

SONUÇ

Yapılan bu çalışmayla, bitkisel yağlarda TS EN ISO 660 standartına göre SYA analizi için metodun validasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir. Validasyon çalışmalarında kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilbilirlik) ve doğruluk parametreleri kullanılmıştır. Ayrıca metodun ölçüm belirsizliği de hesaplanmıştır. lm belirsizliğinin hesaplanmasında tartım, hacim, kesinlik ve doğruluktan gelen belirsizlik bileşenleri kullanılmıştır. Bitkisel yağlarda SYA analizi için genişletilmiş lm belirsizliği değeri $\pm 0,052$ olarak bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- AOAC. (2016). Guidelines for Standard Method Performance Requirements. *Journal of AOAC International and Official Method of Analysis*, 9.
- Dias, M. G., Cames, M. F. G. F. C., & Oliveira, L. (2008). Uncertainty estimation and in-house method validation of HPLC analysis of carotenoids for food composition data production. *Food Chemistry*, 109(4), 815–824. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.026>
- Ertaş, . S., & Kayalı, A. (2005). Analitik yöntem geerliliğine genel bir bakış: an overview on analytical method validation. *Ankara Universitesi Eczacılık Fakultesi Dergisi*, 34(1), 001–017. https://doi.org/10.1501/eczfak_0000000014
- Feinberg, M. (2007). Validation of analytical methods based on accuracy profiles. *Journal of Chromatography A*, Elsevier, 2007, 1158 (1-2), pp.174-183.
- Gustavo González, A., & Ángeles Herrador, M. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 26(3), 227–238. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.01.009>
- Haouet, M. N., Altissimi, M. S., Framboas, M., & Galarini, R. (2006). Validation of the Volhard method for chloride determination in food. *Accreditation and Quality Assurance*, 11(1–2), 23–28. <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0116-x>
- İnal, B.B. (2007). Klinik Biyokimya da lm Belirsizliği. *Uzmanlık Tezi*, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 65s.
- Kuselman, I., & Shenhar, A. (1997). Uncertainty in chemical analysis and validation of the analytical method: Acid value determination in oils. *Accreditation and Quality Assurance*, 2(4), 180–185. <https://doi.org/10.1007/s007690050127>
- Otomański, P., & Szlachta, A. (2009). The Evaluation of Expanded Uncertainty of Measurement Results in Direct Measurements Using the LabVIEW Environment. *Measurement Science Review*, 8(6). <https://doi.org/10.2478/v10048-008-0032-9>
- Sin, D. W. M., Wong, Y. C., Mak, C. Y., Sze, S. T., & Yao, W. Y. (2006). Determination of five phenolic antioxidants in edible oils: Method validation and estimation of measurement



- uncertainty. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), 784–791. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.12.005>
- Thompson, M., Ellison, S. L. R., & Wood, R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 835–855. <https://doi.org/10.1351/pac200274050835>
- Tiryaki, O. (2006). Method validation for the analysis of pesticide residues in grain by thin-layer chromatography. *Accreditation and Quality Assurance*, 11(10), 506–513. <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0171-3>
- TS EN ISO 660. (2020). Hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağlar- Asit sayısı ve asitlik tayini. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.