



**PARA KLOORO ANİLİNİN TEKSTİL
BOYALARINDA GC-MS İLE TAYİNİ**

SONAY ŞEMEN

Kimya Anabilim Dalı

**Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Ayça KARASAKAL
2023**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



PARA KLOORO ANİLİNİN TEKSTİL BOYALARINDA GC-MS İLE TAYİNİ

SONAY ŞEMEN

ORCID: 0000-0003-3478-1805

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Danışman: Doç. Dr. Ayça KARASAKAL

MART-2023

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

PARA KLOORO ANİLİNİN TEKSTİL BOYALARINDA GC-MS İLE TAYİNİ

Sonay ŞEMEN

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayça KARASAKAL

Azo boyar maddeler; molekül yapısında azo grubu (-N=N-) bulunan sentetik organik boyar maddelerdir. Dünya üzerindeki boyar maddelerin yaklaşık %60-%70'ini oluşturan azo boyar maddeler, insan vücudundaki indirgen enzimlerle bozunup kanserojen amin bileşikler oluştururlar. (P.J. Wakelyn, in Cotton, 2007). Azo boyar maddelerin 4 tanesi kesin kanserojen, 20 tanesi de olası kanserojen olarak adlandırılır. Bu çalışmada, bu kanserojen etkiye sahip olan, azo boyar maddelerden en çok karşılaşılan para kloro anilin miktar tayini için, hızlı ve tekrarlanabilirliği yüksek bir gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi kullanıldı. Yöntem, tekstil boyaları içerisinde bulunan azo bağlarının uygun pH ve sıcaklıkta sodyum ditiyonit ile parçalanması, daha sonra da ter-metilbutil eter ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılarak organik faza çekilmesi ve GC-MS cihazı ile tayin edilmesi esasına dayanmaktadır. Tekstil boyalarındaki para kloro anilin varlığı ve miktarının hızlı bir şekilde tayin edilmesi, dolayısıyla boyama proseslerine girme riskinin ortadan kaldırılması hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Para kloro anilin, GC-MS, Tekstil boyaları

ABSTRACT

DETERMINATION OF PARA CHLORO ANILINE IN TEXTILE DYES BY GC-MS

Sonay ŞEMEN

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayça KARASAKAL

Azo dyes; They are synthetic organic dyestuffs with azo group (-N=N-) in their molecular structure. Azo dyestuffs, which make up approximately 60%-70% of the dyestuffs in the world, decompose with the reducing enzymes in the human body and form carcinogenic amine compounds. (P.J. Wakelyn, in Cotton, 2007). Of the azo dyes, 4 are called definite carcinogens and 20 are called probable carcinogens. In this study, a fast and highly reproducible gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) method was used for the determination of para chloro aniline, which is the most common azo dyestuff with this carcinogenic effect. The method is based on the principle that the azo bonds in textile dyes are decomposed with sodium dithionite at the appropriate pH and temperature, then drawn into the organic phase by liquid-liquid extraction with ter-methylbutyl ether and determined by GC-MS device. It is aimed to determine the presence and amount of para chloro aniline in textile dyes quickly, thus eliminating the risk of entering the dyeing processes.

Keywords: Para chloro aniline, GC-MS, Textile dyes

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-------------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | v |
| SİMGELER DİZİNİ | vii |
| KISALTMALAR DİZİNİ | viii |
| TEŞEKKÜR | 9 |
| 1. GİRİŞ | 10 |
| 1.1 Literatür Özeti | 10 |
| 1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı | 11 |
| 1.3 Para Kloro Anilin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri | 11 |
| 1.4 Para Kloro Anilin Tekstil Boyalarında Kullanımı | 13 |
| 1.4.1 Gaz Kromatografisi | 14 |
| 1.4.2 Kütle Spektrometresi | 16 |
| 1.5 Para Kloro Anilin Tayinine Yönelik Uluslararası Standart | 17 |
| 2. MATERYAL VE YÖNTEM | 18 |
| 2.1 Kullanılan Cihazlar | 18 |
| 2.2 Kullanılan Kimyasallar | 18 |
| 2.3 Çözeltilerin Hazırlanması | 18 |
| 2.4 Para Kloro Anilin GC-MS ile Analizi | 19 |
| 2.5 Analitik Yöntemin Validasyonu ve Validasyon Parametreleri..... | 20 |
| 2.5.1 Doğrusallık..... | 21 |
| 2.5.2 LOD ve LOQ | 21 |
| 2.5.3 Kesinlik | 21 |
| 2.5.4 Doğruluk ve Geri Kazanım..... | 22 |
| 2.5.5 Seçicilik..... | 22 |
| 3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE BULGULAR | 23 |
| 3.1 GC-MS Cihaz Parametreleri | 23 |
| 3.2 Para Kloro Anilin Miktar Tayini | 23 |
| 3.3 Doğrusallık..... | 244 |
| 3.4 LOD ve LOQ | 25 |
| 3.5 Kesinlik | 25 |
| 3.6 Doğruluk ve Geri kazanım | 28 |

| | |
|----------------------------------|-----------|
| 3.7 Seçicilik..... | 29 |
| 4. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 30 |
| KAYNAKLAR..... | 32 |



ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Çizelge 1.1. Para kloro anilinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri | 12 |
| Çizelge 1.2. Meta kloro anilinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri | 12 |
| Çizelge 1.3. Orto kloro anilinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri | 13 |
| Çizelge 1.4. Reaktif Siyah 5 reaksiyonu | 14 |
| Çizelge 3.1. GC-MS cihaz parametreleri..... | 23 |
| Çizelge 3.2. Lineerlik çalışması verileri..... | 24 |
| Çizelge 3.3. Tespit (LOD) ve Tayin (LOQ) Limiti Çalışması verileri..... | 25 |
| Çizelge 3.4. Tekrarlanabilirlik aynı gün..... | 25 |
| Çizelge 3.5. Tekrarlanabilirlik günler arası | 26 |
| Çizelge 3.6. Düşük Konsantrasyon (4 mg/kg) için t-testi ve F testi..... | 26 |
| Çizelge 3.7. Düşük Konsantrasyon(4 mg/kg) için t-testi ve F testi (devamı) | 27 |
| Çizelge 3.8. Orta konsantrasyon (8 mg/kg) için t-testive F testi | 27 |
| Çizelge 3.9. Yüksek konsantrasyon (12 mg/kg) için t-testi ve F testi..... | 27 |
| Çizelge 3.10. Geri kazanım çalışması | 28 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1.1. Gaz Kromatografisi Şeması..... | 15 |
| Şekil 1.2. Kromatogram örneği | 16 |
| Şekil 1.3. GC-MS cihaz diagramı..... | 17 |
| Şekil 1.4. GC-MS cihaz görseli | 17 |
| Şekil 3.1. PKA kalibrasyon grafiği..... | 24 |
| Şekil 3.2. Kör numune ve PKA, naf-d8 kirletilmiş numune kromatogramı..... | 29 |
| Şekil 3.3. PKA kütle spektrumu | 29 |



SİMGELER DİZİNİ

| | |
|----------|------------------|
| °C | Santigrat derece |
| Σ | Toplam sembolü |
| % | Yüzde |



KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------|---|
| DAD | Diyod Dizisi Dedektörü |
| ECD | Elektron Yakalama Dedektörü |
| GC-MS | Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi |
| HPLC | Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi |
| LOD | Gözlenebilme Sınırı |
| LOQ | Tayin Sınırı |
| PKA | Para kloro anilin |
| ppm | Milyonda bir birim |
| RSD | Bağıl standart sapma |
| SD | Standart sapma |
| SIM | Seçilmiş İyon İzleme |
| UV | Ultraviyole |
| Naf-d8 | Naftalen d8 |

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın her aşamasında desteğini benden esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren saygıdeğer hocam Doç.Dr. Ayça KARASAKAL'a, Sevgili eşim, enerji ve neşe kaynağı olarak beni yalnız bırakmayan oğlum ve her koşulda yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Sonay ŞEMEN

Kimyager



1. GİRİŞ

Para kloro anilin, doğal olarak bulunmayıp, sentetik olarak üretilebilen veya herhangi bir kimyasal reaksiyon sonucu açığa çıkma ihtimali olan, insan sağlığı ve çevre için oldukça zararlı bir kimyasal bileşiktir. (Eurachem Guide, 1998). Azo boyar maddeler grubu altında değerlendirilen PKA genel olarak boya, tekstil, kozmetik, bitki koruma gibi alt kullanım alanlarına sahiptir. Bu tez çalışmasında literatürde bulunan PKA analiz metotları incelenmiş, insan sağlığı açısından risk oluşturan en büyük PKA kaynağı olarak tekstil boya için doğru ve tekrarlanabilir bir PKA analiz metodu oluşturulup, valide edilmiştir. Çalışma metodu olarak, ISO 14362 metodu modifiye edilerek, boya içerisinde bulunan PKA'nın uygun kimyasal ve fiziksel yöntemlerle alınıp, GC-MS cihazı ile miktarsal tayininin yapılması benimsenmiştir.

1.1 Literatür Özeti

Kloro anilin bileşiklerinden 2-kloro anilin, 3-kloro anilin ve 4-kloro anilin (PKA) benzer kullanım alanlarına sahip olmakla birlikte her biri toksik özellikler göstermektedir. Sıçanlar ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarda PKA'nın bu grup içerisinde en yüksek toksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda sucul ortamda da benzer şekilde PKA'nın orta ve ileri derecede toksik etkileri tespit edilmiştir. Genel tüketici maruziyeti bakımından incelendiğinde, tüketicilerin kıyafetler aracılığıyla %1'lik bir temas olması durumunda günlük 300 ng/kg vücut ağırlığı PKA'ya maruz kalabileceği belirlendi. PKA'ya yüksek dozda akut temas durumunun ölüme neden olabileceği bildirildi. Bu açıdan PKA'nın tüketici maruziyetinin önüne geçilmesi için, tekstil ürünlerinde ortadan kaldırılması gerekmektedir. PKA'nın karşılaştırma yapılan farklı aromatik amin bileşiklerine göre insan derisine daha fazla nüfuz edebildiği belirlenmiştir. (Marty & Wepierre, 1979)

PKA'nın analizi ile ilgili genellikle hplc ve gc yöntemleri kullanılmaktadır. Hplc sistemlerinde UV veya DAD dedektörler ayrıca kütle spektrometresi kullanılabilir. GC sistemlerinde de elektron yakalayıcı (ECD) veya kütle spektrometresi (MS) dedektörleri kullanılır. Tarama amaçlı olarak ince tabaka kromatografisi de kullanılabilir. (Ramachandran, Gupta, 1993)

Atık su numunelerinde de PKA analizi çalışmaları olmakla beraber içme suyu veya tatlı su kaynaklarında herhangi bir çalışma yapılmamış ancak atık su yöntemlerinin içme ve kullanma sularına da uygun olacağı öngörülmektedir. (Riggin ve diğerleri, 1985 ; Onuska ve

diğerleri,2000) Toprak numunelerinde GC ile PKA analizi çalışmaları yapılmıştır.(Wegman ve diğerleri, 1984)

Tüketici ürünlerinden, boyalı kâğıt, tekstil, ağız ve el bakım ürünleri gibi gruplarda çalışmalar yapılmıştır. (Kohlbecker,1989; Gavlik,1982; Gavlik& Davis,1994)

Bu tez çalışmasının toplum sağlığı ve tekstil endüstrisi için iki farklı önemi bulunmaktadır. Öncelikli olarak toplumun genel olarak PKA'e maruziyet kaynağı olabilecek tekstil ürünlerinin daha temiz olarak piyasaya sürülebilmesiyle, PKA kaynaklı oluşabilecek sağlık sorunlarının önü kesilecektir. Boya ve tekstil endüstrisi için de uygulamada PKA analizi son ürün olarak adlandırılan son tüketiciye ulaşmış tişört, pantolon gibi tekstil ürünlerinden yapıldığı için olası PKA varlığı tespitinde geriye dönük bir arındırma işlemi yapılamayacağından hem tüketici, hem markalar, hem de müşteriler tarafında oluşabilecek zararların, maddi yükü önceden engellenebilmiş veya azaltılmış olacaktır. Bu metot ile olası PKA varlığı, riskli boyanın boyama aşamasına ulaşmadan tespiti sağlanıp, PKA riskli boyaların sektörde kullanım riski azaltılacaktır.

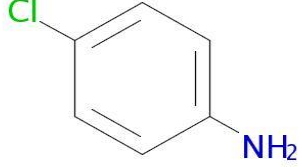
1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu çalışmanın amacı, insanların günlük hayatta karşılaşma, dolayısıyla maruz kalma ihtimali bulunan kanserojen bir madde olan para kloro anilin analizi için güvenilir ve tekrar edilebilir sonuçlar üreten bir analiz metodu oluşturmaktır. Para kloro anilin ihtiva etme olasılığı olan tekstil ürünlerini insanlar her gün kullandıklarından, bu kimyasalla her gün temas etme ihtimalleri bulunmaktadır. Bunun önüne geçmek için en güvenilir yol, tekstil ürünlerinde PKA riskinin kaynağı olan tekstil boyalarını incelemektir. Bu bağlamda bu çalışma kapsamında tekstil boyaları incelenmiş ve tekstil boyalarındaki olası PKA tespiti üzerine bir dizi çalışma yapılmıştır.

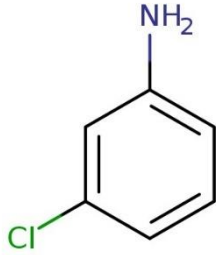
1.3 Para Kloro Anilin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Para kloro anilin, 3-kloro anilin izomerinden biri olan soluk sarı renkli, katı bir maddedir.(European Chemicals Agency- ECHA,2022) Genellikle nitrolanan klor benzenin indirgenmesiyle sentezlenir. Başlıca; azo boyar maddelerin üretimi, pestisit ve diğer tarım ilaçlarının üretimi, bazı bakteri ve küflere karşı antimikrobiyal olarak kullanılır.

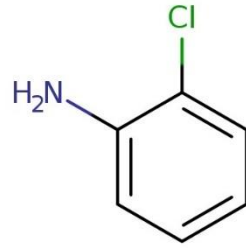
Çizelge 1.1. Para kloro anilinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri

| Özellik | Değer |
|------------------|--|
| Molekül formülü |  |
| Kimyasal formülü | C ₆ H ₆ ClN |
| Molekül ağırlığı | 127,5715 g/mol |
| Erime noktası | 72,5 °C |
| Kaynama noktası | 232 °C |
| Yoğunluk | 1.43 g/cm ³ (20 °C'de) |
| Çözünürlüğü | 2.81 g/L (20 °C'de) |

Çizelge 1.2. Meta kloro anilinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri

| Özellik | Değer |
|------------------|---|
| Molekül formülü |  |
| Kimyasal formülü | C ₆ H ₆ ClN |
| Molekül ağırlığı | 127,5715 g/mol |
| Erime noktası | -10,4 °C |
| Kaynama noktası | 230,5 °C |
| Yoğunluk | 1.2 g/cm ³ (20 °C'de) |
| Çözünürlüğü | 5.4 g/L (20 °C'de) |

Çizelge 1.3. Orto kloro anilinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri

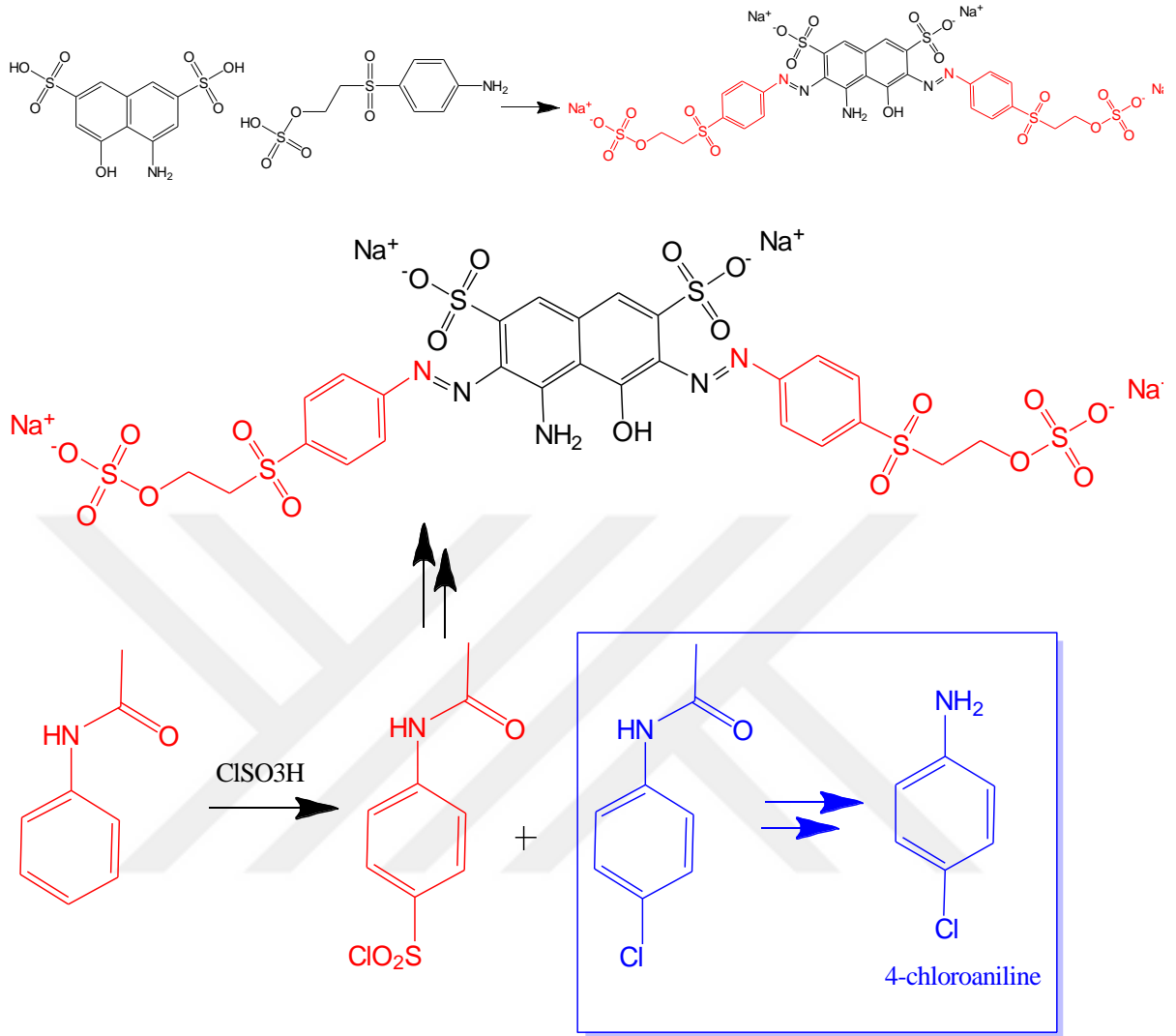
| Özellik | Değer |
|-------------------------|---|
| Molekül formülü |  |
| Kimyasal formülü | C ₆ H ₆ ClN |
| Molekül ağırlığı | 127,5715 g/mol |
| Erime noktası | -2 °C |
| Kaynama noktası | 205 °C |
| Yoğunluk | 1.21 g/cm ³ (20 °C'de) |
| Çözünürlüğü | 5.13 g/L (20 °C'de) |

1.4 Para Kloro Anilinin Tekstil Boyalarında Kullanımı

Para kloro aniline, tekstil sektöründe özellikle pamuklarda kullanılan birçok boyanın ham maddeleri arasında yer alan bir bileşiktir. Tekstilde en çok kullanılan boyalardan biri olan reaktif siyah 5 fonksiyonel boyasının ham maddelerinden biri vinil sülfondur (4-Aminofenil sülfatoetil sülfon) (ECHA,2022). Vinil sülfonun sentezi sırasında yan ürün olarak para kloro anilin çıkmaktadır.

Vinil sülfon ile H asit (1-amino-8-naftol-3 ,6-disulfonik asit) reaksiyonuyla üretilen ve kendisi lacivert renkte olan bu fonksiyonel boya, pamuk boyamada kullanılan özellikle siyah ve gri tonların neredeyse hepsinde kullanılır. Vinil sülfon üretimi sırasında açığa çıkmış olan para kloro anilin molekülleri boyanın yapısında serbest halde bulunduğundan, boyanmış ürünlerden insan vücuduna geçebilmekte ve insan sağlığı için ciddi tehlikeler oluşturmaktadır. Bunun önüne geçebilmek için tiyonil klorür yerine klor sülfonik asit kullanılmalıdır.

Çizelge 1.4. Reaktif Siyah 5 reaksiyonu

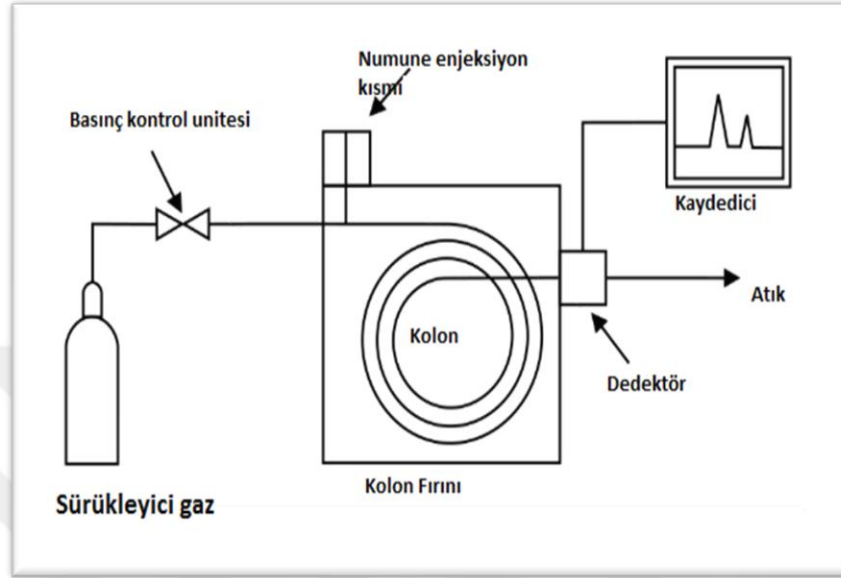


1.4.1 Gaz Kromatografisi

Kromatografi, herhangi bir karışım içerisinde bulunan 2 veya daha fazla maddenin, hareketli bir faz yardımıyla taşınırken, sabit bir faz yardımıyla kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre birbirinden ayrılması prensibine dayanan saflaştırma yöntemleridir. Ayrılmak istenilen maddeler sabit faz ile farklı etkileşimlerde bulunduğu için farklı hızlarda hareket eder, böylelikle birçok madde kolayca birbirinden ayrılmış olur.

Bir karışım içerisinde gaz halinde bulunan veya kolayca gaz fazına geçebilen bileşenlerin birbirinden ayrılmasında kullanılan kromatografik yöntemlerin genel adıdır. Gaz kromatografisinde sabit faz, iç yüzeyleri farklı özelliklerde kimyasallarla kaplanmış bir kolon,

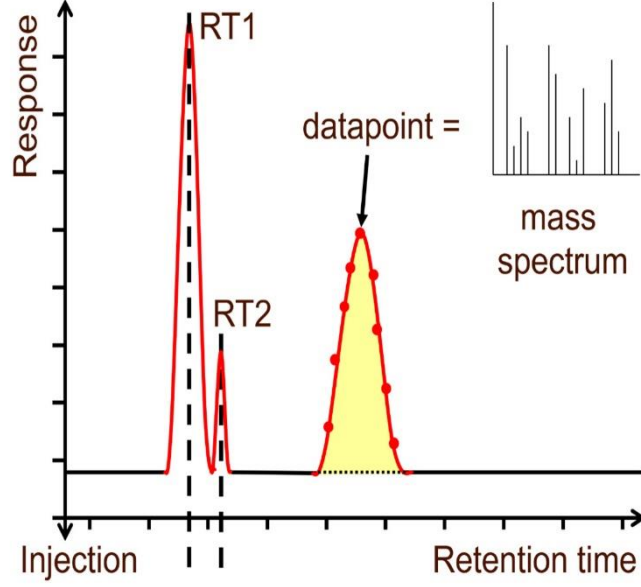
hareketli faz da helyum, hidrojen veya azot gazıdır. Bu gazlara genel olarak sürükleyici gaz denip, kromatografik yöntemle göre kullanılırlar. Bir gaz kromatografisi sistemi genel olarak, sürükleyici gaz, basınç ve gaz akışını ayarlayan kısımlar, numuneyi enjekte etme kısmı, ayrımı gerçekleştiren kolon kısmı, dedektör kısmı ve verileri kaydetme kısmından oluşur.



Şekil 1.1. Gaz Kromatografisi Şeması

Gaz kromatografisinde diğer kromatografi yöntemlerindeki gibi ayrılmak istenilen bileşenlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin hareketli faz ve sabit faz ile olan etkileşimlerine göre maddeler birbirinden ayrılır ve detektöre gönderilir. Bileşenlerin detektöre gelip sinyal alındığı süreye elüsyon zamanı (alınma zamanı) denir. Bu bileşenlerden alınan sinyallerle elde edilen grafiğe kromatogram denir. Bu grafikler hem nitel hem de nicel analizler yapılmasına imkân sağlar.

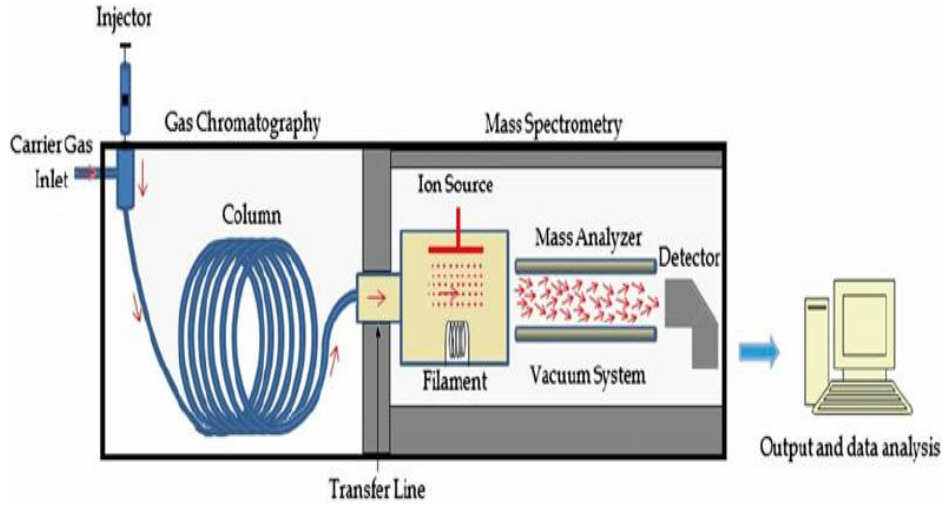
Kromatogramda birbirinden ayrı sinyaller ile grafik haline getiren her bir pik bir bileşeni ifade eder. Pikin alınma zamanı hangi maddeye ait olduğunu belirlemede, pikin alanı veya yüksekliği de madde miktarını hesaplamada kullanılır. Kromatogramdaki her bir pik bir bileşenin kalitatif ve kantitatif olarak tayininde kullanılabilir.



Şekil 1.2.Kromatogram örneği

1.4.2 Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi atomlardan, moleküllerden, radikallerden veya bunların karışımlarından iyonlar meydana getiren ve sonra da bu iyonları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayırıp, ayrı ayrı saptayan bir cihazdır. Burada m yüklü bir taneciğin kütleini, z ise yükünü ifade eder. İyonizasyon bölgesinden çıkan iyonlar, belirli kütlede iyonlar içerir ve bunlar iyon demetlerine ayrılır. Kütle analizörü ile kütlelerin hızlandırma potansiyeli veya alan kuvvetleri değiştirilerek, iyon toplayıcı detektöre yönlendirilirler ve burada iyon akımı oluşur ve akım yükseltilir. Yükseltelen iyon akım alan kuvveti veya hızlandırma potansiyelleri data kayıt sistemiyle kaydedilir.



Şekil 1.3. GC-MS cihaz diagramı



Şekil 1.4. GC-MS cihaz görseli

1.5 Para Kloro Anilinın Tayinine Yönelik Uluslararası Standart

ISO 14362-1:2017 Tekstil- Azo boyar maddelerden türetilen belirli aromatik aminlerin tayini için yöntemler – Bölüm 1: Liflerde ekstraksiyon yapılarak ve yapılmadan elde edilebilen belirli azo boyar maddelerin kullanımının tespiti

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Homojen hale getirilmiş numunelerdeki azo boyar maddelerin pH=6 olan sitrat tampon çözeltisiyle muamele edilip, boyar maddelerin sodyumditiyonit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) ilavesiyle indirgenmesi, açığa çıkan PKA eter fazına çekilip saflaştırılması, metanolle çözülüp GC-MS cihazında tayin edilmesi prensibine dayanır.

2.1 Kullanılan Cihazlar

Analitik terazi (Precisa 321-0,0001 g hassaslıkta)

Genel laboratuvar ekipmanları

Ultrasonik Su banyosu (Lab companion UCP-10)

GC-MS – Agilent 5977A

2.2 Kullanılan Kimyasallar

Metanol (Merck 1.06007.2500)

Ter- butil metil ether (Merck 1.01843.2500)

Sodyum ditiyonit (Merck 1.06507.0500)

Sodyum hidroksit (Sigma Aldrich 221465)

Sitrik asit (Sigma Aldrich 251275)

Sitrat/sodyum hidroksit tampon çözeltisi, pH=6, c=0.06 mol/L (12,526 g sitrik asit ve 6,329 g sodyum hidroksit önceden 70°C'ye ısıtılmış 1 L suda çözülür.)

Sodyum ditiyonit çözeltisi, d=200 mg/ml, taze olmalıdır 20 g sodyum ditiyonit 100 mL destile suda çözülür. Tümüyle çözülene kadar ultrasonik banyoda tutulur. Bu çözelti günlük taze olarak hazırlanır.

2.3 Çözeltilerin Hazırlanması

2, 5, 10, 20 ve 30 ppm' den oluşan 5 noktalı ve 3 tekrarlı kalibrasyon grafiği çizilir. Para kloro anilin için grafiğin eğimi R^2 min 0,995 olmalıdır. Kalibrasyon çözeltisinin içerisine iç standart olarak Naftalen D8 ilave edilir.

2500 ppm ana stok çözelti: Para kloro anilin standardından 25 mg alınıp 10 ml metanolde çözülür. + 4 derecede 1 yıl saklanabilir.

1000 ppm naftalen D8 çözeltisi: Katı naftalen D8 den 10 mg alınıp, 10 ml metanolde çözülür. + 4 derece 1 yıl saklanabilir. Standartlar ve numunelerde son konsantrasyon 10 ppm olacak şekilde ayarlama yapılır. İç standardın kullanım amacı, hazırlık ve ekstraksiyon aşamalarında veya cihazın hassasiyetinde bir problem olduğunda konsantrasyon farkını tespit edip, sonuçların bu iç standarda göre düzeltilmesidir.

2 ppm kalibrasyon çözeltisi: 2500 ppm'lik ana stok çözeltiden, içinde 1-2 ml metanol ve 100 µl internal standart olan 10 ml'lik balonjojeye 8 µl ilave edilip, metanol ile hacme tamamlanır. Analiz sırasında günlük hazırlanmalıdır.

5 ppm kalibrasyon çözeltisi: 2500 ppm'lik ana stok çözeltiden, içinde 1-2 ml metanol ve 100 µl internal standart olan 10 ml'lik balonjojeye 20 µl ilave edilip, metanol ile hacme tamamlanır. Analiz sırasında günlük hazırlanmalıdır.

10 ppm kalibrasyon çözeltisi: 2500 ppm'lik ana stok çözeltiden, içinde 1-2 ml metanol ve 100 µl internal standart olan 10 ml'lik balonjojeye 40 µl ilave edilip, metanol ile hacme tamamlanır. Analiz sırasında günlük hazırlanmalıdır.

20 ppm kalibrasyon çözeltisi: 2500 ppm'lik ana stok çözeltiden, içinde 1-2 ml metanol ve 100 µl internal standart olan 10 ml'lik balonjojeye 80 µl ilave edilip, metanol ile hacme tamamlanır. Analiz sırasında günlük hazırlanmalıdır.

30 ppm kalibrasyon çözeltisi: 2500 ppm'lik ana stok çözeltiden, içinde 1-2 ml metanol ve 100 µl internal standart olan 10 ml'lik balonjojeye 120 µl ilave edilip, metanol ile hacme tamamlanır. Analiz sırasında günlük hazırlanmalıdır.

2.4 Para Kloro Anilin GC-MS ile Analizi

Optimum çalışma şartları, analiz metodunda (ISO 14362) belirtilenden farklılık göstermesi açısından kontrol edilmiş ve metod şartlarının uygunluğu teyit edilmiştir. Değişkenler olarak sıcaklık; 70 °C üzerine çıkarıldıkça (80 °C ve 90 °C) analit kaybı yaşandığı, yine daha düşük sıcaklıkta da (60 ve 50 derece) ekstraksiyonun tam gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Çözücü ve pH metotta belirtildiği kullanılmıştır.

Test edilecek boya numunesinden 0,1 g ($\pm 0,001$ g) kapaklı test tüpüne tartılır. Üzerine 2 mL metanol ilave edilip ultrasonik su banyosunda çözülür.

Numune üzerine önceden ısıtılmış olan $70 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'deki sitrat tampon çözeltisinden 15 mL konur ve kapağı kapatılır. Hızlı bir şekilde çalkalanıp çözelti $70 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 30 ± 1 dk bekletilir. 30 dk sonunda azo gruplarının indirgenmesi için 3 ml %20'lik sodyumdiyoniit çözeltisi eklenip şiddetlice çalkalanır ve tekrar $70 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 30 ± 1 dk bekletilir. Test tüpü 2 dk içerisinde oda sıcaklığına soğutulur.

Ayrırma; Reaksiyon çözeltisi diatome toprak ihtiva eden kolona aktarılır. Çözeltinin kolon tarafından emilmesi için 15 dakika beklenir. Kalan boyalar üzerine 10 ml t-bütül metil eter ilave edilip çözelti şiddetlice çalkalanır. Bu çözelti kolona ilave edilir. Aynı işlem 10 ml ve 20 ml ile tekrarlanır. En son kolon 40 ml t-bütül metil eter ile yıkanır. Eluat 100 ml'lik balonda toplanır.

Aminlerin belirlenmesi için t-bütül metil eter ekstraktı yaklaşık 1ml kalana kadar maksimum 35°C de, düşük vakum altında evaporatörde uçurulur. Konsantre edilmiş çözelti yavaş akımlı azot gazı ile kurutulur. (Ekstraktın kuruluğa kadar uçurulması amin kaybına neden olabilir.)

Kurutulan ekstrakt 1,5 ml metanolde çözülerek viale alınır ve bekletmeden GC-MS'e enjekte edilir. Analiz 24 saat içerisinde tamamlanmazsa numune -18°C de muhafaza edilmelidir.

Kolonsuz ayırma işlemi; İndirgeme işlemi sonunda soğutulan numune üzerine 20 ml t-butilmetil eter ilave edilip manyetik karıştırıcı ile 5 dk ekstrakte edilir. Süre sonunda üstteki eter fazı ayrılır. Aynı işlem 20 ml ve 40 ml eterlerle tekrarlanır. Toplanan eter kısmı yaklaşık 1ml kalana kadar maksimum 35°C de, düşük vakum altında evaporatörde uçurulur. Konsantre edilmiş çözelti yavaş akımlı azot gazı ile kurutulur. (Ekstraktın kuruluğa kadar uçurulması amin kaybına neden olabilir.)

Kurutulan ekstrakt 1,5 ml metanolde çözülerek viale alınır, üzerine ISTD ilave edilir ve bekletmeden GC-MS'e enjekte edilir. Analiz 24 saat içerisinde tamamlanmazsa numune -18°C de muhafaza edilmelidir.

2.5 Analitik Yöntemin Validasyonu ve Validasyon Parametreleri

Analitik yöntemin geçerliliğinin kontrolü için seçicilik, doğruluk, LOD ve LOQ, kesinlik, doğruluk parametreleri kontrol edilmiş, yöntem performans kriterleri incelenip

belgelenmiştir.

2.5.1 Doğrusallık

Kalibrasyon grafiği oluşturmak için her birinden 3 paralel olacak şekilde 0,2,5,10,20,30 mg/kg 'lık kalibrasyon seti hazırlanmış ve peş peşe GC-MS cihazına enjekte edilmiştir. Sonuçlar değerlendirilirken hem paraleller arası fark hem de grafiğin eğimi kontrol edilmiştir. Konu ile ilgili istatistik Çizelge 3.2'de verilmiştir.

2.5.2 LOD ve LOQ

LOD analiz edilmek istenilen kimyasalın tespit edildiği ancak miktarsal bir sonuç verilemeyen en düşük konsantrasyon, LOQ ise kabul edilebilir doğruluk ve kesinlikte miktarsal bir sonuç verilebilen en düşük konsantrasyondur.

LOD ve LOQ değerleri hesaplanırken kalibrasyon grafiğinin en düşük noktalarına göre düşük konsantrasyonda bir kirlenme yapılarak, birbirinden bağımsız 10 ölçüm sonucu elde edilmiştir.

Elde edilen 10 ölçüm sonucunun standart sapması hesaplanmış, standart sapmanın 3 katı LOD, 10 katı ise LOQ olarak değerlendirilmiştir. Konu ile ilgili istatistik Çizelge 3.3'de verilmiştir.

2.5.3 Kesinlik

Kesinlik, birbirinden bağımsız olarak çalışılmış numunelere ait sonuçların birbiriyle olan yakınlığını irdelemektedir.

Kesinlik çalışması kapsamında aynı gün içerisinde (tekrarlanabilirlik) ve farklı günlerde (tekrarlanabilirlik) çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlar ayrı ayrı kontrol edilmiştir. Düşük konsantrasyon olarak 4 mg/kg, orta düzey konsantrasyon için 8 mg/kg ve yüksek konsantrasyon olarak 12 mg/kg kirlenmeler yapılmıştır. Çıkan değerlerin uygunluğu T testi, F testi gibi istatistiksel yöntemlerle kontrol edilmiştir. Konu ile ilgili istatistik Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'de verilmiştir.

2.5.4 Doğruluk ve Geri Kazanım

Doğruluk belirli sayıda birbirinden bağımsız ölçümün olması gereken gerçek değere yakınlığının hesaplanması yöntemidir. Var ise sertifikalı bir referans madde, yok ise de bu çalışmada olduğu gibi 3 farklı konsantrasyonda kör numuneye kirlenme yapılarak bu çalışma yapılır. Hesaplanan sistematik hataların gerçekte olması beklenen değerlerle korelasyonu yine t-testi ile kontrol edilir.

Doğruluk çalışması kapsamında düşük, orta ve yüksek konsantrasyonu temsil etmesi açısından 4 mg/kg, 8 mg/kg ve 12 mg/kg seviyelerinde kirlenme yapılmıştır. İçeriğinde PKA ihtiva etmeyen boya numunesi kör numune olarak okutulmuş, ardından her bir konsantrasyon için 6 adet PKA kirlenmesi yapılmıştır. PKA için referans metot ISO 14362-1’de verilen minimum geri kazanım değeri olan %70’e göre çıkan sonuçlar değerlendirilmiştir. Konu ile ilgili istatistik Çizelge 3.9’da verilmiştir.

$$\% \text{ Geri kazanım} = (\text{okunan değer/teorik değer}) \times 100 \quad (\text{Denklem 2.1})$$

2.5.5 Seçicilik

Seçicilik, analiz edilmek istenilen maddenin, ortamda bulunma ihtimali olan diğer maddelerden ayrılabilmesi açısından yöntemin incelendiği parametredir. Bu çalışmada kör numune üzerine PKA ve iç standart olan naftalen d8 eklenerek GC-MS cihazında herhangi bir girişim olup olmadığı kontrol edilmiş, elde edilen spektrumun PKA ve naftalen d8 maddelerine ait olduğu cihazın kütüphane yazılımıyla da teyit edilmiştir. Konu ile ilgili istatistik Şekil 3.2 ve Şekil 3.3’te verilmiştir.

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE BULGULAR

3.1 GC-MS Cihaz Parametreleri

Çizelge 3.1. GC-MS cihaz parametreleri

| | |
|---------------------------------|--|
| Kolon | HP-5MS Kolon (30 m x 250 µm x 0.25 µm) |
| Taşıyıcı gaz | Helyum |
| Akış Hızı | 1.3 mL/dk |
| Inlet Sıcaklığı | 260°C |
| MS transfer line | 280 °C |
| MS source | 230 °C |
| Quadrupole | 150 °C |
| Enjeksiyon Hacmi | 1 µL |
| Enjeksiyon Tipi | Split (Split flow: 15) |
| Fırın Sıcaklık Programı: | 1) 100 °C, 2 dk 2) 15 °C/dk 310 °C, 5 dk |
| Solvent delay time | 3 dk |
| Dedektör off time | 15 dk |
| Mod | SIM (PKA : 127/129/65, NapD8:136/68) |

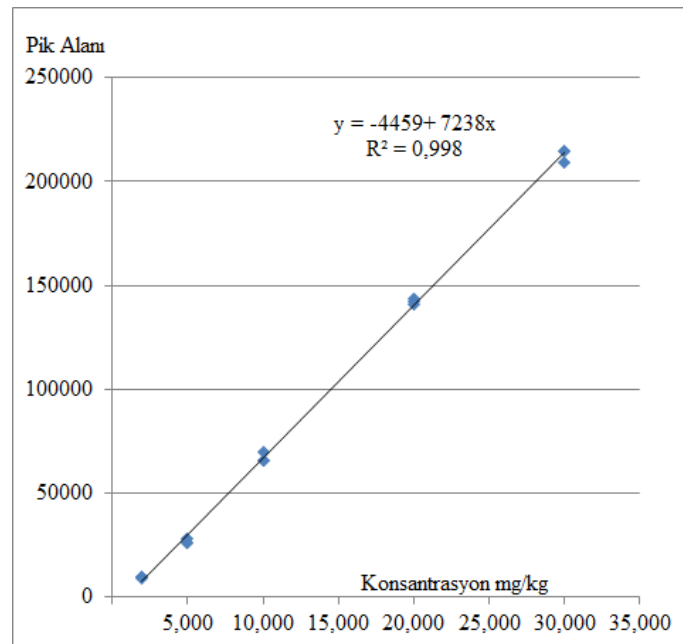
3.2 Para Kloro Anilin Miktar Tayini

Önceden hazırlanmış standart çözeltilerle çizilen kalibrasyon grafiği kullanılarak, numunelerdeki para kloro anilin miktarı hesaplanır. Eğer kalibrasyon grafiğinin dışında bir konsantrasyon varsa gerekli seyreltmeler yapılarak, numunedeki konsantrasyonun kalibrasyon eğrisi üzerine düşmesi sağlanır. Kalibrasyon eğrisinin eğimi $R^2 = 0,995$ ve üzeri olmalıdır.

3.3 Doğrusallık

Çizelge 3.2. Lineerlik çalışması verileri

| Kalibrasyon verileri | | |
|----------------------|--------|----------------------------|
| Konsantrasyon mg/kg | Sinyal | |
| 2 | 9398 | |
| 2 | 9791 | |
| 2 | 9090 | |
| 5 | 26149 | |
| 5 | 26223 | |
| 5 | 28020 | |
| 10 | 65421 | |
| 10 | 69412 | |
| 10 | 65560 | |
| 20 | 141858 | Doğru denklemi: $y = a+bx$ |
| 20 | 143565 | $a = -4459$ |
| 20 | 140585 | $b = 7238$ |
| 30 | 214875 | $R^2 = 0,9983$ |
| 30 | 214411 | Lineerlik: 0,9950 |
| 30 | 209080 | Sonuç: Lineer |



Şekil 3.1. PKA kalibrasyon grafiği

3.4 LOD ve LOQ

Çizelge 3.3. Tespit (LOD) ve Tayin (LOQ) Limiti Çalışması verileri

| Ölçüm sayısı | Ölçüm sonucu mg/kg |
|--------------|--------------------|
| 1 | 3,54 |
| 2 | 3,41 |
| 3 | 3,36 |
| 4 | 3,33 |
| 5 | 3,40 |
| 6 | 3,52 |
| 7 | 3,43 |
| 8 | 3,37 |
| 9 | 3,22 |
| 10 | 3,38 |
| SD | 0,09 |
| LOD=3xSD | 0,27 mg/kg |
| LOQ=10xSD | 0,91 mg/kg |

3.5 Kesinlik

Çizelge 3.4. Tekrarlanabilirlik aynı gün

| | Konsantrasyon | | |
|----------------|---------------|---------|----------|
| | 4 mg/kg | 8 mg/kg | 12 mg/kg |
| 1 | 3,54 | 7,02 | 12,17 |
| 2 | 3,41 | 7,6 | 12,14 |
| 3 | 3,36 | 7,43 | 11,82 |
| 4 | 3,33 | 7,15 | 11,87 |
| 5 | 3,4 | 7,74 | 11,85 |
| 6 | 3,52 | 7,10 | 12,46 |
| Ortalama | 3,43 | 7,34 | 12,05 |
| Standart Sapma | 0,09 | 0,29 | 0,25 |
| RSD (%) | 2,49 | 4,00 | 2,09 |

Çizelge 3.5. Tekrarlanabilirlik günler arası

| | Konsantrasyon | | |
|-----------------------|---------------|---------|----------|
| | 4 mg/kg | 8 mg/kg | 12 mg/kg |
| 1 | 3,43 | 7,15 | 11,7 |
| 2 | 3,32 | 7,93 | 11,9 |
| 3 | 3,37 | 7,14 | 11,57 |
| 4 | 3,22 | 7,2 | 12,05 |
| 5 | 3,38 | 7,34 | 11,56 |
| 6 | 3,32 | 7,02 | 11,89 |
| Ortalama | 3,34 | 7,30 | 11,78 |
| Standart Sapma | 0,07 | 0,33 | 0,20 |
| RSD (%) | 2,15 | 4,48 | 1,69 |

Çizelge 3.6. Düşük Konsantrasyon (4 mg/kg) için t-testi ve F testi

| | | | | | | | | | | |
|---|------------|------------|-----------|-----------|-----------|-------------|----------|----------|----------|-----------|
| t Testi(%95 güven seviyesi) thesap= 1,904 | | | | | | | | | | |
| tkritik(0,05;n-1)= 2,571 | | | | | | | | | | |
| t<tkritik olduğundan uygundur | | | | | | | | | | |
| t tablo | %20 | %10 | %5 | %2 | %1 | %0,1 | | | | |
| n=1 | 3,078 | 6,314 | 12,706 | 31,821 | 63,657 | 639,619 | | | | |
| n=2 | 1,886 | 2,920 | 4,303 | 6,965 | 9,925 | 31,598 | | | | |
| n=3 | 1,638 | 2,353 | 3,182 | 4,541 | 5,841 | 12,941 | | | | |
| n=4 | 1,533 | 2,132 | 2,776 | 3,747 | 4,604 | 8,610 | | | | |
| n=5 | 1,476 | 2,015 | 2,571 | 3,365 | 4,032 | 6,859 | | | | |
| n=6 | 1,440 | 1,943 | 2,447 | 3,143 | 3,707 | 5,959 | | | | |
| n=7 | 1,415 | 1,895 | 2,365 | 2,998 | 3,499 | 5,405 | | | | |
| n=8 | 1,397 | 1,860 | 2,306 | 2,896 | 3,355 | 5,041 | | | | |
| n=9 | 1,383 | 1,833 | 2,262 | 2,821 | 3,250 | 4,781 | | | | |
| n=10 | 1,372 | 1,812 | 2,228 | 2,764 | 3,169 | 4,587 | | | | |
| F Testi(% 95 güven seviyesi) Fhesap=V1/V2= 1,408 | | | | | | | | | | |
| Fkritik(0,05;n-1;n-1)= 5,050 | | | | | | | | | | |
| F<Fkritik olduğundan uygundur | | | | | | | | | | |
| F-tablo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| n=1 | 161,4 | 199,5 | 215,7 | 224,6 | 230,2 | 234,0 | 236,8 | 238,9 | 240,5 | 241,9 |

Çizelge 3.7. Düşük Konsantrasyon(4 mg/kg) için t-testi ve F testi (devamı)

| | | | | | | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| n=2 | 18,51 | 19,00 | 19,16 | 19,25 | 19,30 | 19,33 | 19,35 | 19,37 | 19,38 | 19,40 |
| n=3 | 10,13 | 9,552 | 9,277 | 9,117 | 9,013 | 8,941 | 8,887 | 8,845 | 8,812 | 8,785 |
| n=4 | 7,709 | 6,944 | 6,591 | 6,388 | 6,256 | 6,163 | 6,094 | 6,041 | 5,999 | 5,964 |
| n=5 | 6,608 | 5,786 | 5,409 | 5,192 | 5,050 | 4,950 | 4,876 | 4,818 | 4,772 | 4,735 |
| n=6 | 5,987 | 5,143 | 4,757 | 4,534 | 4,387 | 4,284 | 4,207 | 4,147 | 4,099 | 4,060 |
| n=7 | 5,591 | 4,737 | 4,347 | 4,120 | 3,972 | 3,866 | 3,787 | 3,726 | 3,677 | 3,637 |
| n=8 | 5,318 | 4,459 | 4,066 | 3,838 | 3,688 | 3,581 | 3,500 | 3,438 | 3,388 | 3,347 |
| n=9 | 5,117 | 4,256 | 3,863 | 3,633 | 3,482 | 3,374 | 3,293 | 3,230 | 3,179 | 3,137 |
| n=10 | 4,965 | 4,103 | 3,708 | 3,478 | 3,326 | 3,217 | 3,135 | 3,072 | 3,020 | 2,978 |

Çizelge 3.8. Orta konsantrasyon (8 mg/kg) için t-testive F testi

| | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------|
| t Testi (% 95 güven seviyesi) | thesap= | 0,241 |
| | tkritik(0,05;n-1)= | 2,571 |
| | t<tkritik olduğundan uygundur | |
| F Testi (% 95 güven seviyesi) | Fhesap=V1/V2= | 1,239 |
| | Fkritik(0,05;n-1;n-1)= | 5,050 |
| | F<Fkritik olduğundan uygundur | |

Çizelge 3.9. Yüksek konsantrasyon (12 mg/kg) için t-testi ve F testi

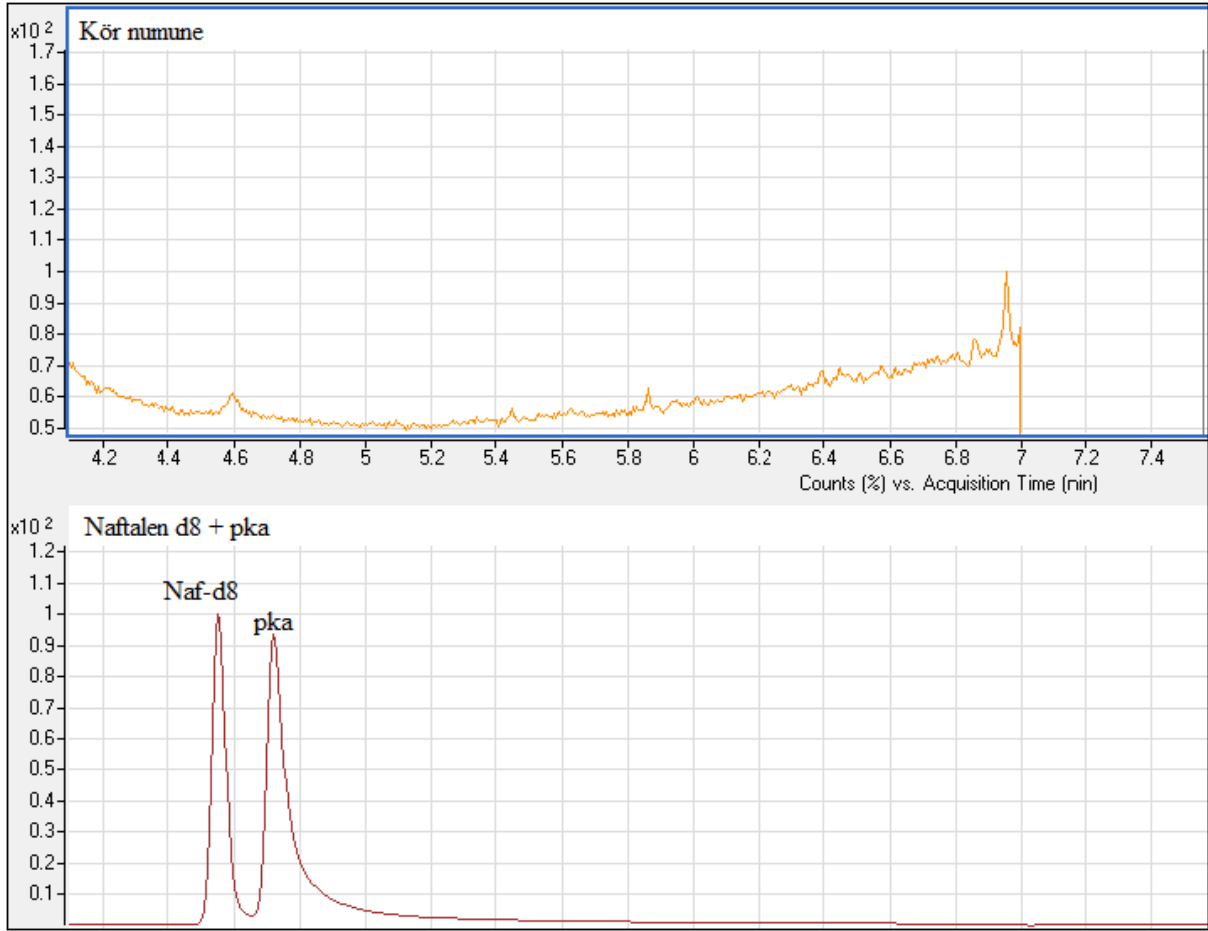
| | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------|
| t Testi (% 95 güven seviyesi) | thesap= | 2,088 |
| | tkritik(0,05;n-1)= | 2,571 |
| | t<tkritik olduğundan uygundur | |
| F Testi (% 95 güven seviyesi) | Fhesap=V1/V2= | 1,593 |
| | Fkritik(0,05;n-1;n-1)= | 5,050 |
| | F<Fkritik olduğundan uygundur | |

3.6 Doğruluk ve Geri kazanım

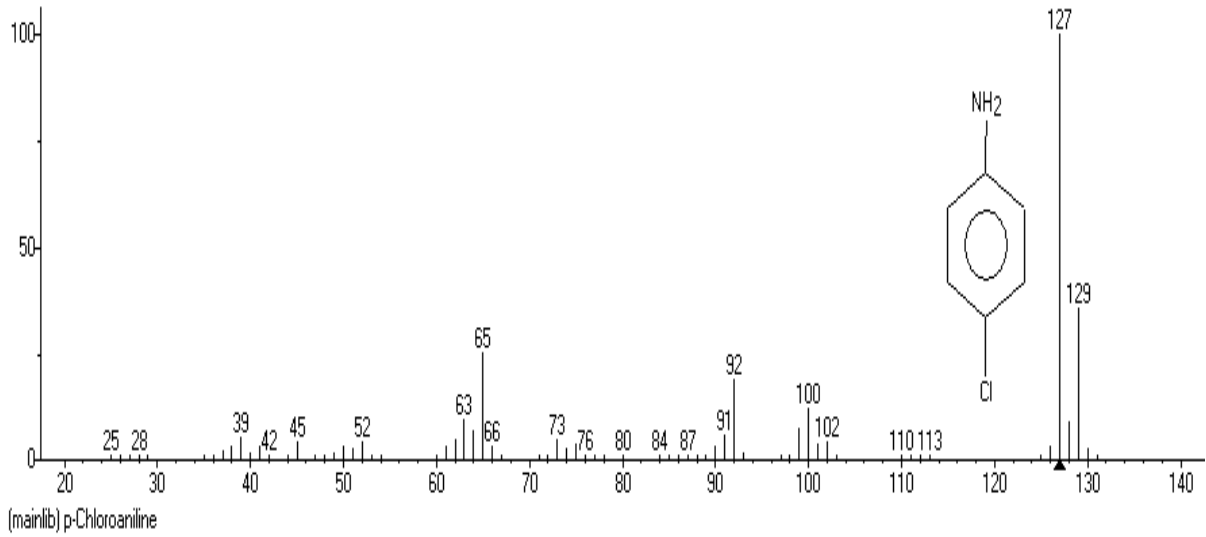
Çizelge 3.10. Geri kazanım çalışması

| Analiz sayısı | Bulunan | Bulunan | Bulunan |
|------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | konsantrasyon | konsantrasyon | konsantrasyon |
| | (Kirlenme: 4 mg/kg) | (Kirlenme: 8 mg/kg) | (Kirlenme: 12 g/kg) |
| 1 | 3,39 | 7,47 | 11,71 |
| 2 | 3,27 | 7,21 | 11,97 |
| 3 | 3,28 | 6,9 | 11,43 |
| 4 | 3,23 | 7,01 | 11,8 |
| 5 | 3,46 | 7,02 | 11,7 |
| 6 | 3,25 | 7,2 | 11,67 |
| Ortalama | 3,31 | 7,14 | 11,71 |
| %Ortalama Kazanım | Geri 82,83 | 89,19 | 97,61 |
| Standart Sapma | 0,09 | 0,20 | 0,18 |
| % RSD | 2,74 | 2,85 | 1,51 |

3.7 Seçicilik



Şekil 3.2. Kör numune ve PKA, naf-d8 kirletilmiş numune kromatogramı



Şekil 3.3. PKA kütle spektrumu

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde boyar maddenin direkt kendisinden yapılan para kloro anilin analiz metotlarından ziyade, genel olarak son ürün diye tabir edilen boyanmış tekstil ürünlerinden analiz metotları mevcuttur.

Tekstil üzerinden yapılan analizlerde ortaya çıkması muhtemel sağlık ve ekonomik riskler bu kontrol yöntemiyle bertaraf edilebilir. Tekstil sektöründe genel olarak yüksek miktarda boyamalar yapıldığından, boyanmış kumaşta yasal limitin üzerinde bir para kloro anilin tespitinde üreticiye ciddi bir ekonomik yük getirmektedir. Aynı zamanda para kloro anilin içeren boyar maddelerle boyanan tekstil ürünlerinin test edilmeden son tüketiciye ulaşma ihtimali bulunmaktadır. Bu durumda testi yapılmamış ve yasal limitin üzerinde PKA bulunduran ürünler insan sağlığı açısından büyük risk oluşturmaktadır. Bu çalışma ile PKA içeren herhangi bir boya boyahaneye ulaşmış tekstil ürününde kullanılmadan gerekli önlemler alınabilecektir.

Tekstil sektöründe kullanılan boyaların büyük bir miktarı uzak doğu menşelidir. Dolayısıyla ciddi bir tedarik süresi ve taşımacılık maliyetleri vardır. PKA ihtiva eden bir boya ülke sınırlarından girip, tekstilde kullanıldıktan sonra PKA tespit edildiği takdirde artık bunun geri dönüşü olmadığı gibi stokta var olan PKA riskli boyanın geri gönderilmesi veya bertaraf edilmesi de maliyet olarak pek mümkün olmayacaktır. Bu metot sayesinde tedarikçiden istenilen küçük bir miktar ön numune analiz edilip PKA riski olmadığına karar verilebilir, bu sonuca istinaden de PKA riskli boyalardan bilmeden tedarik edilmesinin ve sektöre dağılmasının önüne geçilebilir.

Boyar maddelerin çevresel etkileri de en az insan sağlığı riskleri kadar önem verilmesi gereken bir konudur. Boyahanelerdeki terbiye, boyama ve yıkama aşamalarında kullanılan boyaların önemli bir kısmı kumaşa tutunmadan atık sulara, arıtma sistemlerine dolayısıyla çevreye taşınmaktadır. Burada PKA içeren boyanın ikincil bir riski daha ortaya çıkabilmekte, zaten çevre için zararlı olan boyanın bir de PKA gibi yüksek kanserojen maddeler içermesi, dolaylı yollardan kullanma, içme ve yeraltı su kaynaklarına ayrıca toprağa karışabilir. Dolayısıyla tarım ürünlerine de bulaşarak tekrardan belki tekstildekinden de büyük bir sağlık riski oluşturabilir.

Bu çalışmanın bir ileriki aşaması olarak, boyadaki PKA analizinden önce boya üretiminde kullanılan hammadde ve üretim aşamaları ve ara ürünlerin kontrolü için bir analiz

metodu geliştirilebilir. Bu sayede doğru hammadde seçimi veya proses geliştirme ile PKA içeren boyanın üretilmesinin önüne geçilerek, risk henüz kaynağındayken bertaraf edilmiş olur.



KAYNAKLAR

- Agilent, GC-MS cihaz görseli(<https://www.agilent.com/cs/library/datasheets/public/5991-1838EN.pdf>)
- Birner G, Neumann HG. (1988). Biomonitoring of aromatic amines. II:Hemoglobin binding of some monocyclic aromatic amines. *Archives of Toxicology*, 62:110-115.
- Bresch H, Beck H, Ehlermann D, Schlaszus H, Urbanek M (1990). A long-term toxicity test comprising reproduction and growth of zebrafish with 4-chloroaniline. *Archives of environmental Contamination and Toxicology*, 19:419-427.
- Burkhardt-Holm P, Oulmi Y, Schroeder A, Storch V, Braunbeck T.(1999). Toxicity of 4-chloroaniline in early life stages of zebrafish (*Danio rerio*): II. Cytopathology and regeneration of liver and gills after prolonged exposure to waterborne 4-chloroaniline. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(1):85-102.
- Chhabra RS, Thompson M, Elwell MR, Gerken DK. (1990). Toxicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology*, 28(10):717-722.
- Du Pont. (1981). Benzenamine, 4-chloro, inhalation median lethal concentration (LC50). Wilmington, DE, Du Pont (Report No. 14050; NTIS/OTS 84003A) [cited in BUA, 1995].
- Du Pont.(1982). Benzenamine, 4-chloro, subacute inhalation study of p-chloroaniline in rats. Wilmington, DE, Du Pont (Report No. 14050; NTIS/OTS 84003A) [cited in BUA, 1995].
- Eurachem Guide. (1998).
- European Chemicals Agency ECHA. (2022)
- Gavlick W.K, Davis P.K. (1994). Gas chromatographic determination of PKA in a chlorhexidine digluconate-containing alcohol foam surgical scrub product. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, 77(3):583-586.
- Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Schematic-plot-of-the-main-components-of-GC-MS-instruments_fig1_273955959 [accessed 9 Dec, 2022]
- Gaz Kromatografisi Şeması(<http://tr.alwsci.com/info/whats-gas-chromatography-mass-23963408.html>)
- Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Schematic-plot-of-the-main-components-of-GC-MS-instruments_fig1_273955959 [accessed 9 Dec, 2022]
- Gerald Booth (2007). "Nitro Compounds, Aromatic". *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH. doi:10.1002/14356007.a17_411.
- Hong SK, Anestis DK, Henderson TT, Rankin GO. (2000). Haloaniline-induced in vitro nephrotoxicity: Effects of 4-haloanilines and 3,5-dihaloanilines. *Toxicology Letters*, 114(1-3):125-133.

- ISO 14362-3 (2017). Textiles — Methods for determination of certain aromatic amines derived from azo colorants — Part 3: Detection of the use of certain azo colorants which may release 4-aminoazobenzene
- ISO 14362-1 (2017). Tekstil - Azo boyar maddelerden türetilen belirli aromatik aminlerin tayini için yöntemler - Bölüm 1: Liflerde ekstraksiyon yapılarak ve yapılmadan elde edilebilen belirli azo boyar maddelerin kullanımının tespiti
- Kawakami T, Isama K, Nakashima H, Tsuchiya T & Matsuoka A. (2010). Analysis of primary aromatic amines originated from azo dyes in commercial textile products in Japan
- Kohlbecker G. (1989). Toxic impurities in chlorhexidine digluconate. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift*, 44:273-276.
- Kondrashov VA. (1969a). The toxicology of chloraniline and aniline. *Trudy, Gosudarstvennyi Institut Prikladnoi Khimii*, 62:209-214.
- Kondrashov VA. (1969b.) On the toxic action of chloraniline and aniline fumes on the organism through the intact skin exposed to them. *Gigiena Truda i Professional'nye Zabolovaniya*, 13:29-32 [cited in BUA, 1995].
- Kromatogram örneği (<https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/gc-ms-principle-instrument-and-analyses-and-gc-msms-362513>)
- LGC (1998). The risk of cancer caused by textiles and leather goods coloured with azo dyes. Final report. Report prepared by Laboratory of the Government Chemist, London, for European Commission DG III.
- Marty J-P, Wepierre J. (1979). Évaluation de la toxicité d'agents d'activité cosmétique cas du trichlorocarbanilide. *Labo-Pharma — Problèmes et Techniques*, 286:306-310.
- Müller L, Fattore E, Benfenati E. (1997). Determination of aromatic amines by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry in water samples, 1997. *Journal of Chromatography*, 791(1-2):221-230.
- Nomenclature of Organic Chemistry : IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013 (Blue Book). Cambridge: The Royal Society of Chemistry. 2014. p. 669. doi:10.1039/9781849733069-FP001. ISBN 978-0-85404-182-4.
- Noormohammadia F, Farajib M, Pourmohammad M. (2022). Determination of aromatic amines in environmental water samples by deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction followed by HPLC-UV
- Onuska FI, Terry KA, Maguire RJ. (2000). Analysis of aromatic amines in industrial wastewater by capillary gas chromatography mass spectrometry. *Water Quality Research Journal of Canada*, 35(2):245-261.
- Ramachandran KN, Gupta VK. (1993). New analytical technique for the simultaneous determination of aromatic amines. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 346(4):457.

- Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December (2006). concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency
- Riggin RM, Cole TF, Billits S. (1983). Determination of aniline and substituted derivatives in wastewater by gas and liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 55:1862-1869.
- "Safety data for 4-chloroaniline". Oxford University. Archived from the original on 2012-04-23. Retrieved 2008-03-11.
- Schneider, G. (1997). Verwendungsverbot bestimmter Azofarbstoffe für Bedarfsgegenstände: Analytik und Bewertung von Analyseergebnissen Application Ban of Certain Azo colorants for commodities: Analysis and Interpretation of Analytical Results, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 93 (3), 69-102
- Scott AI, Eccleston E. (1967). Investigations of the general toxic and haematological effects of para-chloroaniline in several species. *Proceedings of the European Society for the Study of Drug Toxicity*, 8:195-204.
- Shardul D. Prabhu S, Asolekar R. (2022). Cleaner production through enhanced resource recovery and reuse in dye intermediates industry: Integration of Vinyl Sulphone with H-acid production
- TC. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Yayınları (2017).
- US EPA (1990). Textile dye weighing monitoring study. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances (EPA 560/5-90-009).
- Valentovic MA, Ball JG, Anestis D, Rankin GO (1993). Investigation of 4-chloroaniline toxicity in Fischer 344 (F344) rats. *Toxicologist*, 13(1):208.
- Wakelyn P.J. (2007). Health and safety issues in cotton production and processing, in *Cotton*
- Wegman RCC, van den Broek HH, Hofstee AWM, Marsman JA. (1984). Determination of triazines, organophosphorus containing pesticides and aromatic amines in soil samples. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, 49/3b:1231-1239.
- Worobey BL, Webster GRB. (1982). Pyrolytic release of tightly complexed 4-chloroaniline from soil and soil humic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30:164-169.
- Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T, Miyajima K. (1991). Identification of urinary metabolites in a patient of acute poisoning by p-chloroaniline. *Japanese Journal of Industrial Health*, 33:501-508.
- Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T, Miyajima K. (1992a). Excretion of pchloroaniline metabolites into urine. *Japanese Journal of Industrial Health*, 34:3-9.
- Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T, Miyajima K, Andoh K. (1992b). Amounts of urinary metabolites of p-chloroaniline and their half lives in a patient with acute poisoning. *Japanese Journal of Industrial Health*, 34:126-130.

Zvezdaj VI. (1970). Die Toxikologie von isomeren (para- und meta-) Chloranilinen und die experimentelle Begründung der maximal zulässigen Konzentrationen dieser Verbindungen in der Luft von Arbeitsräumen. Farmakologiya i Toksikologiya (Kiev), 5:145-148 [cited in BUA, 1995].

