

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

284560

**NARKOTİK ANALJEZİK GRUBU İLAÇLARDAN
KODEİN, METADON ve MEPERİDİN'İN
GAZ KROMATOĞRAFİK ANALİZLERİ**

Analitik Kimya Programı
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

HALUK SARGIN
Kimyager

Ankara, 1986

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NARKOTİK ANALJEZİK GRUBU İLAÇLARDAN
KODEİN, METADON ve MEPERİDİN'İN
GAZ KROMATOĞRAFİK ANALİZLERİ

Analitik Kimya Programı
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

HALUK ŞARGIN
Kimyager

Rehber Öğretim Üyesi: Doç. Dr. AYLA YEŞİLRUSÇUK

Ankara-1986

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I. GİRİŞ ve AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
II.1. Narkotik Analjezikler	3
II.1.1. Sınıflandırılmaları	3
II.1.2. Kimyasal yapıları	8
II.1.3. Farmakolojik Etkileri	12
II.1.4. Bağımlılık yapma özellikleri	12
II.2. Kodein	14
II.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	14
II.2.2. Farmakolojik etkileri	15
II.2.3. Metabolizma ve Atılımı	15
II.2.4. Toksikitesi	16
II.2.5. Kodeinin analiz yöntemleri	16
II.2.5.1. Renk testleri	16
II.2.5.2. Mikrokrystal Testler.....	16
II.2.5.3. Titrimetrik yöntemler.....	17
II.2.5.4. Spektrofotometrik yöntemler	17
II.2.5.5. Spektrofluoremetrik yöntemler	18
II.2.5.6. Immunosassay Teknikleri	18
II.2.5.7. Diğer teknikler	19
II.2.5.8.1. Kağıt Kromatografisi	19
II.2.5.8.2. İnce Tabaka Kromatografisi	20
II.2.5.8.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	20
II.2.5.8.4. Gaz Kromatografisi	21
II.3. Meperidin	22

	<u>Sayfa</u>
II.3.1. Fiziksel ve Kimyasal özellikleri	22
II.3.2. Farmakolojik etkileri	22
II.3.3. Metabolizma ve Atılımı	23
II.3.4. Toksikitesi	23
II.3.5. Meperidin'in analiz yöntemleri	23
II.3.5.1. Renk testleri	23
II.3.5.2. Mikrokristal testleri	24
II.3.5.3. Titrimetrik yöntemler	24
II.3.5.4. Spektrofotometrik yöntemler	24
II.3.5.5. Kromatografik yöntemler	24
II.3.5.5.1. Kağıt Kromatografisi	24
II.3.5.5.2. İnce Tabaka Kromatografisi	25
II.3.5.5.3. Yüksek Basıncılı sıvı kromatografisi	25
II.3.5.5.4. Gaz Kromatografisi	26
II.4. Metadon	28
II.4.1. Fiziksel ve Kimyasal özellikleri	28
II.4.2. Farmakolojik etkileri	28
II.4.3. Metabolizma ve atılımı	29
II.4.4. Toksikitesi	29
II.4.5. Metadonun analiz yöntemleri	29
II.4.5.1. Renk testleri	29
II.4.5.2. Mikrokristal testleri	30
II.4.5.3. Titrimetrik yöntemler	30
II.4.5.4. Spektrofotometrik yöntemler	30
II.4.5.5. Kromatografik yöntemler	30
II.4.5.5.1. Kağıt Kromatografisi	30
II.4.5.5.2. İnce Tabaka Kromatografisi	31
II.4.5.5.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	31

	<u>Sayfa</u>
II.4.5.5.4. Gaz Kromatografisi	32
II.5. Kromatografi;Genel Bilgi:.....	34
II.5.1 Gaz Kromatografisi: Genel Bilgi	35
II.5.2. Genel tanımlar	37
II.5.3. Kolon etkinliği (verimi) ve Ayırma kuv- veti	38
II.5.4. Cihazın tanıtılması	42
II.5.5. Sabit faz ve kolon seçimi	46
II.5.6. Sıcaklık programları	50
II.5.7: Nitel analiz	51
II.5.8. Nicel analiz	53
III. DENEYSEL KISIM	
III.1. Kullanılan maddeler	57
III.2. Kullanılan araç ve gereçler	58
III.3. Çözeltilerin hazırlanması	59
III.4. Yöntem	60
III.4.1. Standart Numunelerin Hazırlanışı	60
III.4.2. Biyolojik materyalde (idrara) yapılan uygulama	62
III.4.2.1. Ekstraksiyon işlemi	62
III.4.3. Gaz-Sıvı kromatografisi çalışma koşulları	63
III.4.4. Çözeltilerin ve biyolojik sıvı (idrara)nın Gaz -Sıvı kromatografisine uygulanması ..	66
IV. BULGULAR	
IV.1. Alınan Kromatogramlar	67
IV.2. Kromatogramlardan alınan verilerin tabloları	74
IV.3. Hesaplamaların sonuçları ve kalibrasyon eğrileri	75

	<u>Sayfa</u>
IV.4. Biyolojik sıvıda yapılan uygulamanın verileri ve ekstraksiyon verimi	80
IV.5. Yöntemin analitik uygulanabilirliğinin saptanması	81
V. TARTIŞMA ve SONUÇ	
V.1. Yöntem seçimine ilişkin tartışma	83
V.2. Gaz-sıvı kromatografisi yönteminin uygulanışına ilişkin tartışma	84
V.3. Alınan sonuçlara ilişkin tartışma	90
ÖZET-TÜRKÇE	91
ÖZET-Yabancı Dilde:.....	92
KAYNAKLAR.....	93
Ek-1	105

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
ŞEKİL 1:Gaz Kromatografisi sistemi	35
ŞEKİL 2:Tipik GC kromatogramı ve alıkonma süreleri ..	37
ŞEKİL 3:Kromatografik kolon için teorik plaka modeli	38
ŞEKİL 4:Teorik plakaya eşdeğer uzunluk (HETP) ve taşıyıcı gaz hızı arasındaki Van Deemter bağıntısı	40
ŞEKİL 5:Tepeciklerin (piklerin) ayrılma derecesi ...	41
ŞEKİL 6:Alev iyonizasyon detektörü	45
ŞEKİL 7:GC de kullanılan sıcaklık programları	51
a) Doğal, b) Çizgisel, c) Çok basamaklı	
ŞEKİL 8:Düzeltilmiş ve düzeltilmemiş alıkonma hacimleri	52
ŞEKİL 9:Çalışmada uygulanan kolon sıcaklık programlanması :.....	64
ŞEKİL 10: Metanol de çözülmüş barbital (RT:3.20) ve meperidin (RT: 7.38) içeren çözeltinin GC Kromatogramı	68
ŞEKİL 11: Metanol de çözülmüş barbital (RT: 3.22) ve metadon (RT: 16.82) içeren çözeltinin GC Kromatogramı	69
ŞEKİL 12: Metanolde çözülmüş barbital (RT: 3.32) ve kodein içeren çözeltinin GC Kromatogramı	70
ŞEKİL 13: Metanolde çözülmüş barbital, meperidin,metadon ve kodein içeren çözeltinin GC Kromatogramı	71

ŞEKİL 14: Birinci seyreltme sonucu oluşan çözeltinin 0.5 µl si ile elde edilen GC kromatogramı.	72
ŞEKİL 15: Biyolojik materyalin (idrar)ın ekstraksiyonu sonucu oluşan çözeltinin 0.5 µl si ile elde edilen GC kromatogramı.....	73
ŞEKİL 16: Meperidin, metadon ve kodeinin kalibrasyon eğrileri.....	78

TABLOLARIN LİSTESİ

Sayfa

TABLO 1: Narkotik Analjeziklerin sınıflandırılması	8
TABLO 2: Kodeinin gaz kromatografik çalışmaları	21
TABLO 3: Meperidinin gaz kromatografik çalışmaları	26
TABLO 4: Metadonun gaz kromatografik çalışmaları	32
TABLO 5: Gaz kromatografide kullanılan çeşitli dedektörler	44
TABLO 6: FID in en az yanıt verdiği veya hiç vermediği maddeler.	46
TABLO 7: Çeşitli maddeler için uygun sıvı fazlar	49
TABLO 8: Standart numunelerdeki meperidin HCl, metadon HCl ve kodein fosfat seyreltilmesi	61
TABLO 9: Kromatogramlardan alınan standart çözeltilerin verileri	74
TABLO 10: Hesapların sonuçları.	77
TABLO 11: Pik alan ve ağırlık oranları	79
TABLO 12: Kromatogramlardan alınan biyolojik materyal (idrar) verileri	80
TABLO 13: Ekstraksiyon verimi	81
TABLO 14: Kalibrasyon eğrilerinin korelasyon ve Regresyon katsayıları için yapılan hesaplamaların sonuçları.	82

BÖLÜM I

GİRİŞ ve AMAÇ

Her geçen gün tedavi amacı ile yeni bir ilacın piyasaya sürüldüğü çağımızda; ilaçlardan pekçoğunun amaçları dışında kullanılarak suistimal edildikleri görülmektedir (1-3). 1986 yılı Ocak ayında yapılan Uyuşturucu ve psikotrop ilaç Düzenlemeleri konulu toplantıda Türkiye'de bu tür ilaçların kullanımındaki artışın 1975-1980 yılları arasındaki beş senede yüzde yüz olduğu, son beş yılda (1980-1985) ise bu artışın, yüzde dörtyüze çıktığı belirtilmektedir (4). Demek ki bu grup ilaçların suistimali de her geçen gün büyük bir hızla artmaktadır.

Narkotik analjezikler, bağımlılık yapan ilaçlar içinde yer alan ve suistimali kolay olan ilaçlardır. Bu nedenle, özellikle, forensik ilaç laboratuvarlarında, sözü edilen ilaçların analizleri de ayrı bir önem taşır (5-7).

Bu ilaçların analizleri titrimetrik (8-9), Spektrofotometrik (10-13), Spektrofluorometrik (14-17), ince tabaka kromatografisi (6,11,18), gaz kromatografisi (19-22), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (23-26) ile yapılmaktadır.

Narkotik analjezik olarak kullanılan ilaçların analizinde gaz-sıvı kromatografisinin amacı hızlilik, ayırma veriminin çok iyi olması, kolaylıkla nicel tayinler yapılması, değişik analizler için kolaylıkla kullanılabilen bir cihaz

olması, ardışık analizler yapılabilmesi ve özellikle foren-
sik amaçlı ilaç zehirlenmeleri gibi acil durumlarda, diğer
tekniklere göre daha hızlı sonuç verebilmesidir.

Gaz-Sıvı Kromatografisi, ilaç analizlerinde iyi bir
teknik olarak son yıllarda büyük bir ilgi görmektedir ve
analitik amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır (27-30).

BÖLÜM II

II- GENEL BİLGİLER

II.1. Narkotik Analjezikler (31-38):

Bu gruptaki ilaçlar, kuvvetli analjezik etki ile birlikte santral sinir sistemi üzerinde oldukça yaygın depresif etki yaparlar; mutad olarak hepsinde az veya çok, ilaç bağımlılığı yapma potansiyeli mevcuttur.

II.1.1. Sınıflandırılması(32):

A- MORFİN ve YARI-SENTETİK MORFİN TÜREVLERİ:

Bunlara opiyat'lar adı da verilebilir. Morfin, opyum (Afyon) içinde en fazla oranda (%10-20) bulunan alkaloiddir. Afyon, haşhaş (Papaver somniferum) bitkisinin olgunlaşmış meyve kapsüllerinin çizilmesi sonucu sızan sıvının katılaşması sonucu oluşan maddedir. Opyum içerisinde 20'den fazla türde alkaloid bulunur. Farmasötik ve terapötik yönden önemli olan alkaloidler, kimyasal yapı bakımından iki gruba ayrılırlar.

1) Fenantren türevi alkaloidler:

Bunlardan morfin, opyum içinde %8-15, kodein %0,5 ve tebain %0,2 oranında bulunur. Kodein, morfinin fenolik hidroksil grubunun metillenmesi sonucu oluşan, metilmorfindir. Tebain, morfinin her iki hidroksil grubunun metillenmesi sonucu oluşur ve dimetilmorfindir, santral sinir sistemini uyarır ve ilaç olarak kullanılmaz.

2) Benzilizokinolin türevi alkaloidler:

Bunlardan papaverin afyonun içinde yaklaşık %1 ve narkopin %6 oranında bulunur. Üçüncü alkaloid olan narsein ilaç olarak kullanılmaz.

Pantopon: Opyum alkaloidlerinin hidroklorür tuzlarını konsantre bir şekilde içeren bir alkaloid karışımıdır. Yaklaşık olarak %50 oranında anhidr morfin ile birlikte kodein, tebain, papaverin, narkotin ve narsein içerir. Analjezik etkisi içindeki morfine bağlıdır.

Dilaudid (Hidromorfon): Morfinden yaklaşık beş kez daha kuvvetli bir analjeziktir. Etki süresi morfinden daha kısa olup morfin'e göre 3-4 kez daha düşük dozda kullanılır. Morfine göre bir üstünlüğü yoktur.

Oksimorfon: Morfinden daha kuvvetli bir analjeziktir. 10 kez daha küçük dozda kullanılır. Morfine göre bir üstünlüğü yoktur.

Eroin: Kimyaca diasetilmorfindir. morfinden 2,5 kez daha kuvvetli analjezik etkiye sahiptir. Bağımlılık yapma potansiyeli morfinden daha fazladır.

B. SENTETİK NARKOTİK ANELJEZİKLER:

Tedavi için kullanılan dozlarda morfininkinden daha kuvvetli bir analjezik etki yapmazlar. Morfinden farkları nitel olmaktan çok nicel bakımdandır.

1) Fenilpiperidin türevleri:

i- Meperidin: Kitleesine göre analjezik etkisi morfinin-
kinden daha zayıftır. Gilt altından verilen 75-100 mg mepe-
ridin aynı yoldan verilen 10 mg morfinin yaptığına eşit de-
recede analjezi yapar ve etkisi morfinden, daha çabuk baş-
lar ve daha kısa sürer.

ii- Anileridin ve pimirodin: Meperidinden daha kuvvet-
li analjezik etkiye sahip bulunan ve ufak dozlarda kulla-
nılan analjeziklerdir. Meperidin'e göre belirli bir üstün-
lükleri yoktur. Meperidin'in aksine, anileridin'in antitusif
etkisi de vardır.

iii- Fenoperidin: Tek başına analjezik olarak ve droperi-
dölle kombinasyon halinde nöroleptik analjezi yapmak için
kullanılır.

iv- Difenoksilat: Münhasıran antidiyaréik olarak ağız
yolundan kullanılır. Yüksek dozlarda morfin-benzeri etkiler
oluşturur. Suistimalini önlemek için atropin katılır. Narko-
tik ilaçlar hakkındaki hükümlere tabi değildir.

2) Difenil propilamin türevleri:

i) Metadon: Farmokolojik tesirleri nitel olarak mor-
finden en önemli farkı tesirinin daha geç başlayıp uzun
sürmesi, oral ve parenteral dozlarının birbirine aşağı yu-
karı eşit olması ve böylece ağız yolundan da etkin bir şe-
kilde kullanılabilmesidir.

ii) Dekstromoramid: Peros, parenteral ve rektal yoldan verilmeye elverişlidir. Etki süresi metadoninkinden kısa olup 4 saat kadar sürer.

iii) Fentanil: Morfine göre 80 kez daha kuvvetli analjezik etkiye sahiptir. Solunum merkezini deprese eder. Droperidol ile birlikte nöraleptik analjezi oluşturmak için kullanılır.

3- Morfinan türevleri:

Morfinan kökü, morfin molekülünden oksijen köprüsünün ve C-6 üzerindeki oksijen atomunun kaldırılması ile elde edilir. En sık kullanılanları levorfanol (Levo-dramoran) ve rasemorfon (Dromoran)'dır. Bunlardan ilki aynı maddenin levo ve ikincisi rasemik şeklidir. Dekstro şeklinin analjezik etkisi, olmayıp metil türevi (Dekstrometorfan) kuvvetli bir antitusif etkiye sahiptir. Rasemorfan'ın analjezik etkisi içindeki levorfanol'a bağlıdır ve bundan dolayı Levorfanol'un yarısı kadar etkinlik gösterir. İki ilacın etkileri arasında nitel yönden bir fark yoktur. Ayrıca solunumu deprese ederler ve bağımlılık özellikleri de vardır.

4) Benzomorfan türevleri:

i) Fenazosin hidrobromür: En kuvvetli narkotik analjezik etkiye sahip ilaçlardan biridir. Uzun süre kullanılması ile tolerans gelişmesi morfin ile olduğundan daha yavaştır. Bağımlılık oluşturduğu kişilerde ilacın kesilmesi, hafif belirtilerde fakat uzun seyreden bir yoksunluk sendromuna neden olur. Solunum depresyonu yapma bakımından oldukça güçlüdür.

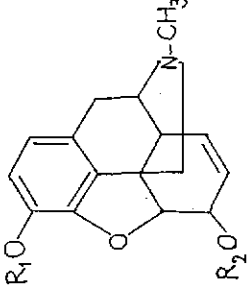
2-3 mg dozu, 10 mg morfin ile eşit derecede analjezik etki oluşturur.

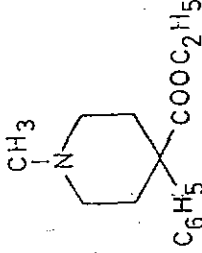
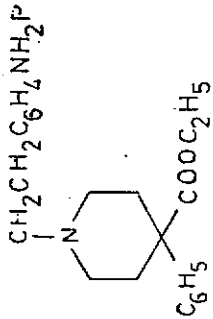
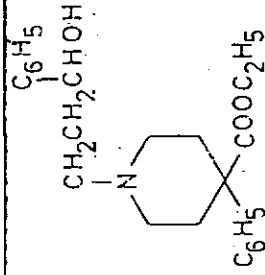
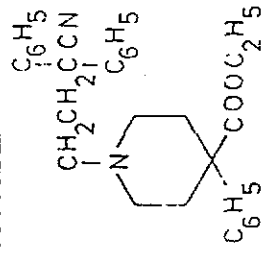
ii) PentOzasin: Analjezik etkisi yanında zayıf antago-nist etkisi de bulunan parsiyel ağanist tipinde bir ilaçtır. Etkileri, aynı yoldan verilen morfin'in etkilerine göre daha çabuk başlar, fakat daha kısa sürer. Solunum sistemini deprese eder. Fakat bağımlılık yapma potansiyeli ve toleransı morfine göre daha azdır.

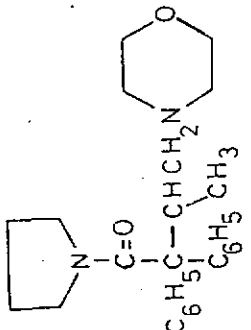
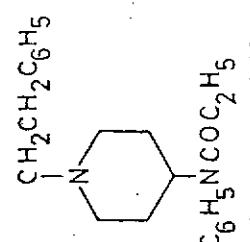
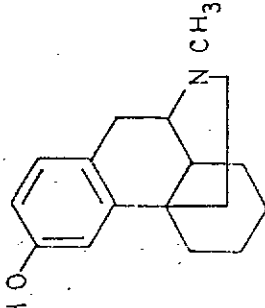
II.1.2.Kimyasal Yapıları:

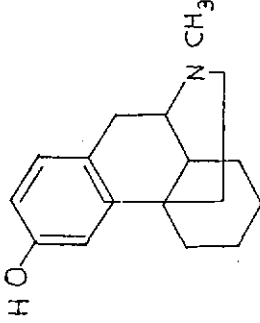
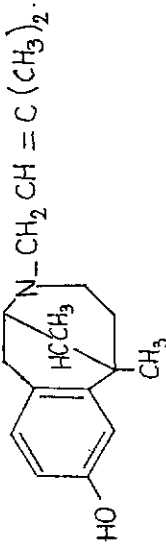
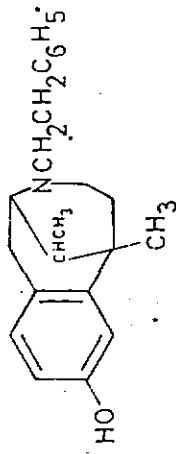
Narkotik analjeziklerin kimyasal yapıları ve sınıflan-dırılmaları Tablo 1 de topluca gösterilmektedir.

Tablo:1 Narkotik Aneljeziklerin Sınıflandırılması ve Kimyasal Yapıları

Sınıfı	Formül	İsim
Morfin ve Yarı Sentetik Morfin Türevleri		<p>R₁ -H MORFIN</p> <p>R₂ -H</p> <p>7,8 Dehidro-4,5-epoksi-3,6-dihidroksi-N-metilmorfinan</p>
		<p>R₁ -CH₃ KODEİN</p> <p>R₂ -H</p> <p>7,8-dehidro-4,5-epoksi-6-hidroksi-3-metoksi-N-metil morfin</p>
		<p>R₁ -COCH₃ EROİN</p> <p>R₂ -COCH₃</p> <p>Diasetil morfin</p>
		<p>HİDROMORFON</p> <p>4,5 - epoksi-3-hidroksi-N-metil-6-oksomorfinan</p>
		<p>OKSİMORFON</p> <p>4,5-epoksi-3,14-dihidroksi-N-metil-6r oksomorfinan</p>

Sınıfı	Formül	İsim
SENTETİK NARKOTİK ANALJEZİKLER		MEPERIDİN Etil-Metil-4-fenilpiperidin-4-karboksilat.
		ANILERIDİN Etil-(p-amino fenetil)-4-fenilpiperidin-4-karboksilat.
		FENOPERIDİN Etil 1-(3-hidroksi-3-fenilpropil)-4-fenilpiperidin-4-karboksilat
		DIFENOKSİLAT Etil 1-(3-siyano-3,3-difenilpropil)-4-fenilpiperidin-4-karboksilat

Sınıfı	Formül	İsim
SENTETİK NARKOTİK ANALJEZİKLER	$ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \quad \text{N}(\text{CH}_3)_2 \\ \quad \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO} \quad \text{C} \quad \text{CH}_2\text{CHCH}_3 \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} $	<p>METADON</p> <p>6-Dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanon</p>
		<p>DEKSTROMORAMİD</p> <p>1-(3-metil-4-morfolino-2,2-difenil-butiril) pirolidin</p>
		<p>FENTANİL</p> <p>N-(1-fenetil-4-piperidinil propilana- nilid.</p>
		<p>LEVORFANOL</p> <p>(-)-3-Hidroksi-N-metilmorfinan</p>

Sınıfı	Formül	İsim
<p style="text-align: center;">SENETİK NARKOTİK ANALJEZİKLER</p>		<p style="text-align: center;">RASEMORFON (±)-3-Hidroksi-N-metil morfinan</p>
		<p style="text-align: center;">PENTAZOSİN 1,2,3,4,5,6-Hekzahidro-6,11-dimetil-3-(3-metil-2-bütenil)-2,6-metano-3-benzazosin-8-ol</p>
		<p style="text-align: center;">FENAZOSİN 1,2,3,4,5,6-Hekzahidro-6.11-dimetil-3-fenetil-2.6-metano-3-benzozosin-8-ol.</p>

II.1.3.Farmakolojik etkileşi:

Narkotik analjeziklerin ağrıya karşı reaksiyonu azalttıkları ve hastanın ağrıya dayanmasını artırdıkları konusunda tam bir görüş birliği mevcuttur. Bunların analjezik etkileri kuvvetli olması nedeniyle, narkotik olmayan analjeziklerle kontrol altına alınamayan kolik tipi şiddetli ağrılarda, miyokard infarktusunun ağrısında, terminal kanser vak'alarında sinir gövdelerinin irritasyon ve istilarına bağlı ağrılarda, kemik kırılması, kas kopması, kas ezilmesi gibi travmatik durumlarda oluşan ağrılarda, postoperatif ağrılarda ve yanıklarda kullanılır.

Narkotik analjeziklerde dozun yükseltilmesi analjezik etkide belirgin bir artmaya neden olur ve tavan yüksektir. Ancak bunlarda analjezik etkideki artma ile solunumu inhibe edici etkideki artma elele gittiği için, solunum üzerindeki yan tesir, dozu kısıtlayan bir engel oluşturur.

Analjezik etkiye ilave olarak sedasyon yapma özellikleri vardır. Ayrıca hastanın endişe ve ruhi gerginliğini azaltmak veya ortadan kaldırmak suretiyle öfori oluştururlar.

Morfin ve türevleri bulbustaki öksürük merkezini deprese ederek kuvvetli bir antitusif etki gösterirler. Yan etki olarak bulantı ve kusma yaparlar.

II.1.4.Bağımlılık yapma özellikleri:

Narkotik analjeziklerin önemli bir sakıncası, devamlı olarak kullanıldıkları takdirde hastada ilaç bağımlılığı

oluşturabilmeleridir. Ancak narkotik analjeziklere bağımlılık oluşabilmesi, terminal kanser ağrılarına karşı kullanılma durumu hariç, ilacın terapötik amaçla kullanılması sırasında, genellikle zannedildiğinden az oranda ortaya çıkar. Narkotik analjeziklere karşı bağımlılık kazanmış kişilerin çoğu, ilacı tıbbi bir indikasyon olmaksızın kullanarak suistimal eden ve meşru olmayan yollardan temin eden kimselerdir.

Narkotik analjeziklerin yapmış oldukları bağımlılığın karakteristik özellikleri şunlardır.

a) Genellikle kompülsiyon derecesinde ilaç özlemi ve kuvvetli psişik bağımlılık vardır.

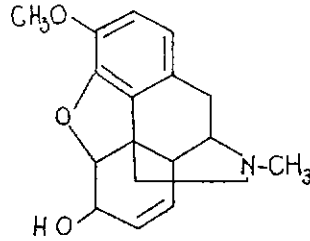
b) Fiziksel bağımlılık erken başlar; kullanılma süresi ve gelişen tolerans ile orantılı olarak derecesi giderek artar. İlacın kesilmesi ciddi belirtilerde seyreden ve genellikle bir hafta kadar süren yoksunluk (abstınens) sendromuna neden olurlar.

c) Belirsiz derecede tolerans gelişir.

Morfine bağımlılık kazanmış kişilerde morfinin kesilmesi yoksunluk sendromuna sebep olur. Yoksunluk belirtilerinin şiddeti kişiye ve ilaca bağımlılık derecesine göre değişir. Metadon bağımlılığından ilacın kesilmesi daha geç ve yavaş başlayıp hafif seyreden fakat uzun süren yoksunluk sendromuna neden olur. Meperidin bağımlılığından ilaç kesilmesi, son dozdan 3 saat sonra başlayıp 8-12 saatte azami şiddete erişen ve morfin yoksunluğuna göre hafif seyreden bir sendroma sebep olur.

Kodein'e bağımlılık kazanmış kişilerde kodein'in kesilmesi, yukarıdaki ilaçlarınkine göre daha hafif seyreden bir yoksunluk sendromu oluşturur. Yoksunluk sendromu esnasında hastaya yeterli dozda bir narkotik analjezik verildiğinde belirtilerin süratle ortadan kalktığı görülür.

II.2. KODEİN:



Yukarıda açık formülü gösterilen 7,8-dehidro-4,5-epoksi-6-hidroksi-3-metoksi-N-metilmorfin olarak adlandırılan kodein, metilmorfin, morfinmetileter veya morfin monometil eter isimleriyle de bilinir. (35)

II.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (34-36):

Afyonun veya morfinin fenolik hidroksil grubunun metilasyonundan elde edilmiş bir alkaloiddir. Beyaz, kristalize olup kuru havada yavaşca ışık tarafından etkilenir. Asit veya etanollu çözeltisi ışığı sola çevirir ve L konumunda bulunur. Yoğunluğu 1,32 ve kaynama noktası 250° dir. Erime derecesi 154° - 158° C dir. Kodein fosfatın 220° - 235° C'dir. 1 gr kodein 120 ml suda, 80° C de 60 ml suda, 2 ml etilalkolde, 18 ml eter de ve 0,5 ml kloroformda çözünür. Spesifik çevirmesi $[\alpha]_D^{15} -136^{\circ}$ (etanolda), $[\alpha]_D^{15} -112^{\circ}$ (kloroformda)dir.

$pK (15^{\circ}) = 6,05$ ve $K = 9,0 \times 10^{-7}$ olup doymun sulu çözeltilde $pH = 9,8$ dir.

II.2.2. Farmakolojik Etkileri (32):

Antitusif etkisine ilave olarak analjezik ve konstipan etkiside vardır. Konstipasyon, sedasyon ve sersemlik hali kodeinin alanlarda sık görülen yan tesirlerdir. Etkileri morfin'e benzer, fakat kodein'in bağımlılık yapma yeteneği morfin'e göre çok düşüktür. Öfori yapma yönünden zayıf tesirlidir. Kodein diğer opiyatlar gibi, solunum yolları mukozasındaki bezlerin salgısını azaltır ve mukozada kuruluk yapar.

II.2.3. Metabolizma ve Atılımı (35):

Kodein hem ağızdan hem de parenteral ilaç alınımı sonrası çok iyi bir şekilde emilir. Kodein, karaciğerde temel olarak üç ana kaynaktan metabolize edilebilir. Bunlar, glukuronik asit ile olan konjügasyonu; Morfin'e O-demetilasyon ve sonraki konjügasyonu; Norkodein'e N-demetilasyon ve sonraki konjügasyonudur. İfrazat hızlı olup; ilaç verilmesine altı saat içerisinde idrarda, salgılanmış toplam maddenin yaklaşık 2/3'ü bulunur. Bu işlem, hemen hemen 24 saat içerisinde tamamlanır.

II.2.4. Toksikitesi (35):

Kodein, morfin'e göre çok daha az zehirlidir. Hatta; aşırı dozda alınsa bile, morfinin karakteristik merkezi depresyonunu oluşturmaz. Ölüm çok seyrek görülür. Tahmin edilen öldürücü dozu insanlarda 800 mg dir.

II.2.5. KODEİNİN ANALİZ YÖNTEMLERİ:

II.2.5.1. Renk testleri:

Pratik olarak renk testleri basit, hızlı ve ucuz olmaları nedeniyle her forenik ilaç laboratuvarlarında halen kullanılmaktadır. Kodein için renk testleri olarak sülfürik asit-formaldehit testi, Amonyum molibdat testi ve Amonyum vanadat testleri uygulanmaktadır. Bu testlerin duyarlılığı sırasıyla 0,25 µg, 0,1 µg ve 1,0 µg olarak verilmektedir (35).

II.2.5.2. Mikrokristal testleri:

Forensik ilaç laboratuvarlarında mikrokristal testleri kullanımı oldukça yaygındır. Bu teknikle, bir kimyasal bileşik diğeri ile tepkimeye sokularak karakteristik bir mikrokristal oluşturur. Bu kristal mikroskop altında tanımlanır. Test oldukça duyarlı olup duyarlılığı 50 µg-0,5 µg arasındadır. Bu testler halen kullanılmaktadır. Yalnız aynı reaktifle benzer mikrokristal veren maddeler olabilmesi testin olumsuz yönlüdür. Kodeinin potasyum iyodür ve potasyum tri iyodür çözeltileri kullanılarak mikrokristal hazırlanabilir (37).

II.2.5.3. Titrimetrik yöntemler:

Kodein, kristal viyole TS indikatörüne karşı 0.1N perklorik asit ile titre edilebildiği gibi metil kırmızısı TS indikatörüne karşı 0.1N Hidroklorür asit ile de titre edilerek miktar tayini yapılabilir (8).

II.2.5.4. Spektro fotometrik yöntemler:

Biyolojik sıvılar ve dokulardaki Narkotik analjezikler, metil oranj ile kompleks oluşturularak tayin edilebilmektedir (13).

Birçok forensik ilaç laboratuvarlarında Ultraviyole spektroskopisi nitel analizlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 15-200 µg/ml düzeyinde ilaç analizlerine kadar spektrum alınabilmektedir. Normal olarak kullanılan bölge 220-360 nm arasındadır (10,38).

Narkotik analjeziklerin çoğunun maksimum dalga boyları birbirlerine benzediğinden bu nedenle bileşiklerin bir arada tayinini yapmak zor olmaktadır (11). Ortamalkali yapılarak piklerin yer değiştirmesi sağlanmaktadır.

Kodein, etanol de 286 nm de bir maksimum, 263 nm de bir minimum, su da ise, 284 nm de bir maksimum pik vermektedir (10).

Infrared spektroskopisinde, kodein için potasyum bromür diski (12,35) kullanılarak alınan başlıca pikler; 1052, 1268 ve 1500 cm^{-1} dir (39).

II.2.5.5. Spektrofluorometrik yöntemler:

Narkotik analjezikler mükemmel yakın floresans vermektedirler. Bugün spektrofluorometrik analiz duyarlı bir analitik Yöntem olarak geniş bir şekilde ilaç analizlerinde forensik ilaç laboratuvarlarında kullanılmaktadır. Narkotik analjezikler 0.1N sülfürik asit çözeltisi içinde 288 nm de eksite edildiğinde 342 nm de emisyon piki verirler(14-17).

II.2.5.6. Immunoassay teknikleri (40-42):

Son yılların en duyarlı ve hızlı yöntemlerinden birisidir. Birçok ilaç biyolojik sıvılarda bu yöntemle tanımlanabilir. Narkotik analjezik ilaçların analizleri için üç farklı immünolojik sistem uygulanmaktadır.

a) RIA (Radioimmunoassay)

Radyoaktif işaretli ilaç ve biyolojik sıvıdaki ilacın özgün antikora bağlanması için yarışmaları esasına dayanır. Maliyeti fazla, analiz zamanı uzun, beceri isteyen bir teknik olup oldukça duyarlıdır.

b) EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay)

Enzime bağlı ilaç ile örnekteki ilacın özgün antikora karşı yarışma esasına dayanır. Enzim aktivitesindeki farklılık ilaç varlığını gösterir. Maliyeti yüksek, analiz zamanı kısa, ve fazla beceri gerekmeyen bir tekniktir.

c) HIT (Hemoglutinasyon İnhibisyon Tekniği)

Özgün antikora karşı ilacın ve eritrositlerin yarışması temeline dayanır. İdrarda ilaç varlığında antikora

ilaç bağlandığından eritrositlerin aglutinasyonu önlenir. Özel beceri gerektiren ve maliyeti yüksek bir tekniktir.

II.2.5.7. Diğer Yöntemler:

Narkotik analjeziklerin polarografi tekniği ile analizleri yapılabilir (43). Fakat son yıllarda kriminal polis laboratuvarlarında bu teknik pek uygulama alanı bulamamaktadır. Ayrıca piroliz teknikleri, X-Işını kırılması tekniği ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) tekniklerin çok pahalı olması ve analiz için oldukça fazla miktarlarda örnekler gerektirmesi bu teknikleri seçkin yapmamaktadır (44).

Kütle spektroskopisinde son yıllarda narkotik analjezikler üzerine oldukça uygulama alanı bulan bir tekniktir (45,46). Cihazın pahalı ve karışık olması kullanımını sınırlamaktadır.

II.2.5.8. Kromatografik yöntemler:

II.2.5.8.1. Kağıt kromatografisi:

Curry ve Powell (47) kodein için 1 no'lu whatmann kağıdı, sitrik asit (4.8 gr) / n-butano 1/su (130/870 ml) karışımını çözücü sistemi olarak kullanmışlar ve iyodoplatinat reaktifi ile lekeleri belirlemişlerdir. Ayrıca UV lambası 254 nm de kuvvetli bir absorpsiyon elde etmişlerdir. R_f değeri 0,16 olarak verilmektedir. İşlem zamanının 5 saat gibi uzun süre olması yöntemin olumsuz yönüdür.

Street (48)'in kodein ile ilgili çalışmasında ise 1 ve 3 no'lu Whatmann kağıdı, çözücü sistemi olarak fosfat tamponu (pH: 7,4) kullanılarak lekeler Uv lambası ile (254 nm) ve

iyodoplatinat reaktifi ile belirlenmiştir. R_f değeri 0,22 olarak verilen çalışmada developman zamanı oldukça kısa olup 15-20 dakika olarak verilmektedir.

II.2.5.8.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK):

Kullanılan kromatografik yöntemler içerisinde en pratik olanlardan biriside İnce Tabaka Kromatografisidir Çünkü, cihaz ve işlem zamanı açısından avantajlıdır. Birçok çalışmada İTK, başlangıç yöntemi olarak kullanılır (49).

Kodeinin ince tabaka kromatografisi ile tayini çeşitli adsorban ve çözücü sistemleri kullanarak yapılmaktadır (11, 50-52). Sunshine (53) silika jel G 60 plakalar ve derişik amonyak/ metanol (1,5: 100 ml) çözücü sistemi kullanmıştır. Bu çalışmada lekeler UV Lambası (254 nm) ve iyodoplatinat reaktifi ile belirlenmiş ve R_f değeri 0,35 olarak bulunmuştur.

II.2.5.8.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC):

Kodeinin HPLC ile yapılan analizlerinde hareketli faz olarak metanol/ 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat tamponu kullanıldığında alıkonma süresi 8 dk. (25) asetonitril/0,1M sodyum dihidrojen fosfat tamponu (pH:4,8) (25:75) kullanıldığında ise 6,6 dk. olarak (26) belirlenmiştir. Bu çalışmalarda μ -Bondopak C_{18} kolonlar kullanılmış ve çıkan maddeler UV detektörü (254 nm) ile tayin edilmiştir. Hareketli faz olarak %0,2 sikloheksilamin sikloheksan kullanıldığında ise alıkonma süresi 1,93 dk. olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Corasil II kolon kullanılmış ve çıkan maddeler UV detektörü (254 nm) ile tayin edilmiştir (54).

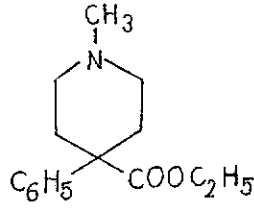
II.2.5.8.4. Gaz Kromatografisi:

Kodeinin GC ile yapılan çalışmaları literatürden seçilerek Tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo:2 Kodeinin Gaz Kromatografik Çalışmaları

İçerik (mm)	Sabit faz	Kolon bölüğü (Mesili)	Kol. sic. (°C)	Gaz (ml/dk.)	det	RE (dk.)	İç st.	Türev	Kaynak
2x2	13 OV-17	Chrom WHP (80/100)	250	Azot (60)	FID	5,13	-	-	(27)
1,8x2	13 OV-17	Gas Chrom Q (100/125)	215	Azot (30)	FID	12,0	3-O-etil morfin ve N-etiBrorfin proklorid	-	(55)
6x0,08	13 OV-17	Gas Chrom Q (100/120)	Sıcaklık programlaması: (180-280°)	Helium (60)	FID	-	Barbital	-	(56)
6x0,08	13 OV-17	Chrom WHP (100/120)	260	Azot	FID	-	squalan	-	(57)
2x2	13 OV-17	Gas Chrom Q (100/120)	Sıcaklık programlaması: (180-280°)	Helium (60)	FID	-	Barbital	-	(56)
2x2	13 OV-17	Chrom WHP (80/100)	275	Azot	FID	-	-	-	(58)
6x4	13 OV-25	Gas Chrom Q (100/120)	265	Azot (60)	FID	10,0	-	BNB (N,N-dim-(tri-metil, silli asetat) kasetin)	(21)
6x2	13 OV-25	Chrom WHP (80/100)	240	Azot (40)	FID	2,3	-	-	(60)
0,3x3	13 OV-225	Chromasorb W (80/100)	sic. prog. (154-250)	Helium (60)	FID	3,0	Peperaverin	Karizmat	(61)
6x2	13 OV-17	Chrom WHP (80/100)	240	Azot (25)	FID	2,7	-	-	(60)
1x1	SE-30	Chrom WHP (80/100)	220	Azot	FID	-	-	-	(62)
1,8x2,5	12 NE-60	Analom (90/100)	230	Azot (20)	FID	4,8	dihidro-Odeinon	-	(66)
2x0,125	13,8 GCN-98	Gas Chrom Q (100/125)	235	Azot (35)	FID	-	-	ESA	(66)
2x2	12,5 SE-30	Chrom Q (80/100)	200	Azot (50)	FID	3,8	-	-	(64)
1,8x2,5	12 NE-60	Analom (90/100)	230	Azot (20)	FID	4,8	dihidro-Odeinon	-	(66)
2x0,125	13,8 GCN-98	Gas Chrom Q (100/125)	235	Azot (35)	FID	-	-	ESA	(66)

II.3. MEPERİDİN



Yukarıda açık formülü gösterilen Etil-1-Metil-4-fenil-piperidin-4-karboksilat olarak adlandırılan meperidin, pethidine, izonipekain ve Demerol isimleri ile de bilinir (35).

İ.3. 1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (34-36):

Bir fenilpiperidin türevi olan meperidin, benzil siyanür ile diklorodietil metilamin'in tepkimesi ile hazırlanır. Çok ince beyaz kristalli tozdur. Hafif acı tatlı olup havada kararlıdır. Erime derecesi 186-189 °C arasındadır. Su, aseton, etilasetat ve kloroform da çözünürken, Etanol ve izopropol da ise çok az çözünür. Benzen ve eterde çözünmez.

II.3.2. Farmakolojik Etkileri (32):

Analjezik etkisi morfinden daha zayıftır. Cilt altına verilen 75-100 mg meperidin aynı yoldan verilen 10 mg morfinin yaptığına eşit derecede analjezi yapar. Etkisi morfinden, daha çabuk başlar ve daha kısa sürede sedasyon ve öfori oluşturur. Morfin gibi solunum merkezini deprese eder. Morfin'e göre daha küçük oranda bulantı ve kusma yapar. Hipnotik etkisi morfinden daha zayıftır. Morfin'in aksine

pupilla'nın büyüklüğünü değiştirmeyiz. Orto statik hipotansiyon oluşturabilinir. Baş dönmesi ve terleme sık olarak oluşabilen yan tesirleridir. Ağız kuruluğu yapabilir. Doęum ağrılarının azaltılmasında tercih edilen bir analjeziktir.

II.3.3. Metabolizma ve Atılımı (35):

Etki süresinin kısa olması vücutta çabuk metabolize edilmesinin sonucudur; hidroliz ve N-demetilasyon suretiyle karaciğerde parçalanır. Etki süresinin kısalığı nedeniyle, devamlı kullanılması halinde tolerans gelişmesi morfine karşı olduğundan daha yavaştır. Verilen dozun sadece %15'i N- demetilasyon tarafından metabolize edilir.

II.3.4. Toksitesi (35):

Tahmin edilen minimum öldürücü dozu insanlarda 1 gr dır. Müptelâ olanlar günde 3-4 gr. dozlarda alırlar. Meperidin zehirlenmeleri; kanda %0,1 mg ve karaciğerde ise %30 mg dır. Ciddi toksik reaksiyonlar, monoamin oksidaz inhibitörlerle muamele altındaki meperidin almış hastalarda oluşur.

II.3.5. MEPERİDİNİN ANALİZ YÖNTEMLERİ:

II.3.5.1. Renk testleri:

Meperidin için sülfürik asit-formaldehit testi uygulanmaktadır. Bu testin duyarlılığı 1,0 µg olarak verilmektedir (35).

II.3.5.2. Mikrokristal testleri:

Meperidinin pikrik asit ve pikrolonik asit çözeltileri kullanılarak mikrokristalleri hazırlanabilir (37)

II.3.5.3. Titrimetrik yöntemler:

Meperidinin Oraset mavisi BTS indikatörüne karşı 0,1 N perklorik asit ile titre edilerek veya dioktil sodyum sülfosüksinat kullanılarak miktar tayini yapılabilir (8,9).

II.2.5.4. Spektrofotometrik yöntemler:

Meperidin, etanol de sırasıyla, 258 nm ve 264 nm ler de maksimum, 250 nm, 225 nm ve 262 nm ler de minimum pikler vermektedir. Suda ise, sırasıyla 251-252 nm, 257 nm ve 263 nm lerde maksimum, 243 nm, 254 nm ve 261 nm lerde minimum pikler vermektedir (12,35).

Meperidin, 0,1 N HCl veya NaOH çözeltilerinde ikinci türev yöntemi kullanarak tayin edilebilir (67).

Infrared spektroskopisinde , meperidin için potasyum bromür diski kullanılarak alınan başlıca pikler sırasıyla 1708,1218,1148 ve 1166 cm^{-1} dir (39).

II.3.5.5. Kromatografik Yöntemler

II.3.5.5.1. Kağıt Kromatografisi:

Curry ve Powell (47) kodein için kullandıkları çözücü sistemini meperidin içinde kullanmışlar ve Dragendorff sprayı ile lekeleri belirlemişlerdir. Street (48) kodein ile ilgili çalışmasını meperidin içinde uygulayarak Rf değerini 0,83 olarak saptamıştır.

II.3.5.5.2 Ince Tabaka Kromatografisi (İTK):

Meperidinin İTK ile tayini çeşitli adsorban ve çözücü sistemleri kullanarak yapılmaktadır (11,30,50,52).

Sunshine (53) kodein için kullandığı İTK yöntemini meperidin içinde kullanarak R_f değerini 0,48 olarak bulmuştur.

II.3.5.5.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi:

Meperidinin HPLC ile yapıla analizinde (μ - Bondapak RP-18 kolon kullanılarak çıkan madde UV detektörü (254 nm) ile tayin edilmiştir ve iç standart olarak hidrokspirogeston koprak kullanılarak nicel çalışmalar yapılmıştır (68).

Flanagan ve diğerleri (69), meperidinin HPLC ile analizini silika kolonlar kullanarak yapmışlardır.

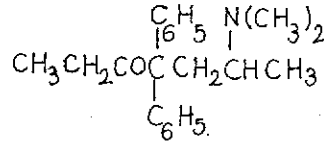
II.3.5.5.4. Gaz Kromatografisi: Meperidinin GC ile yapılan çalışmaları literatürden seçilerek Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Meperidin Gaz kromatografik çalışmaları.

Kolon (mmxmm)	Sabit Faz	Kolon dolgusu (Mesh)	Kolon sic. (°C)	Gaz (ml/dk)	Det	RT (dk)	İç st.	Türev	Kaynak
%3 OV-17	Gas Chroma (100/120)	260°	Azot	FID	-	-	-	Trikloroetil kloroformat	(70)
%3 OV-17	Gas ChromQ (80/100)				Azot Seçici detektör		Lignocaine	-	(71)
0,9x2	%3 OV-17 Gas Chrom Q (80/100)	Sic. prog.	Helyum (30)	MS-EI	² H ₄ -Petidinik asit ve ² H ₅ -norpetidinik asit			pentafluoro-benzil	(72)
1,8x2	%3 OV-17 Gas Chrom Q (80/100)	175	Helyum (34)	FID	1,8	2-etil-5-metil-3,3-difenil-1-pirolin hidroklorür		Heptafluoro bütiril	(73)
1.5x3	%3 OV-17 Gas Chrom Q (100/120)	180	Helyum (22)	FID	3,8	N-metil-N-etil Lidokain		-	(74)
1.8x2	%3 OV-17 Chrom W (80/100)	250	Helyum (40)	FID	2.2	-		-	(75)
2.4x8	%10 OV-1 (80/100)	Sic. prog. (230-280)	Helyum (30)	FID	4.2	Hepivatoin		-	(76)
1.8x2	%3 Poly I-110. Gas Chrom Q (80/100)	205	Azot (30)	FID	3.7	-		trifluoroasetik anhidrit	(20)

Kolon (mm)	Sabit faz	Kolon dolgusu (mesh)	Kolon Sıc. (°C)	Gaz (ml/dk)	Det	RT (dk)	İç st.	Türev	Kaynak
2x2	%3 SP-2250	Chrom W (80/100)	215	Azot (20)	FID	1,4	N.N ¹ -dietyl amino asetyl 2,6-ksilidin	-	(77)
3x2	%3,8 SE-30 (AW-DEMCS)	Chrom W (80/100)	Sıc. prog. (120-230)	Azot	FID	2.8	-	-	(1)
6x4	%1 SE-30	Gas Chrom Q (80/100)	180	Azot (65)	FID	3.0	-	-	(78)
	%1 SE-30	Chrom WHP (80/100)	170	Azot	FID		-	-	(62)
	%2 SE-30		215	-	Argon iyonizasyon detektör	1.22	-	-	(63)
0.35x1.5	%5 SE-52	Gas Chrom Q (100/120)	160	Helyum (25)	MS-EI	0.7	² H ₄ -Petidin trifluoro asetil		(72)
1.2xNA	%8 Carbowax ve %2 KOH	Chrom W (80/100)	195	Azot (40)	FID	6.0	Benzamfetamin	-	(72)

II.4. METADON



Yukarıda açık formülü gösterilen 6-Dimetilamin -4,4-difenil-3-heptanon olarak adlandırılan metadon, dl oluşumu şekilde adanon, Butalgin, Diadone, isimleriyle de bilinir. (35).

II.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (34-36):

Difenil propilamin türevi sentetik bir ilaçtır. oluşumu beyaz kristal toz şeklinde olup dl- oluşumu ise, tablet biçimindedir. Tadı acıdır. Erime noktası l-formunun 241 °C, dl-formunun ise 235 °C dir. Metadonun dl-formu, suyun onikide birinde, alkol'ün 8'de birinde, izopropanol'un 2,4 de birinde çözünür (gr/100 ml), pratik olarak eter ve gliserol de çözünmez. %1'lik sulu çözeltisinin pH 4,5-5,6 dır. l-formunun spesifik çevirmesi $[\alpha]_D^{15} -145^\circ$ dir.

II.4.2. Farmakolojik Etkileri (32):

Morfinden en önemli farkı tesirinin daha geç başlayıp uzun sürmesi, oral ve parenteral dozlarının birbirine aşağı yukarı eşit olması ve böylece ağız yolunda da etkin bir şekilde

kullanılabilmesidir. 8-10 gr. metadon, 10 mg parenteral morfin ile eş değerdedir. Bu eki-analjezik dozlarda morfin gibi solunum merkezini deprese eder. Morfin'e oranla daha az öfori, sedasyon ve bulantı yapar. Kuvvetli antitusif etkisi vardır. Morfin'e oranla daha hafif derecede miyozis yapar.

Morfin ve eroin bağımlılığında bu ilaçların kesilmesi amacıyla uygulanan "ikame" için veya "metadonla idame program"ında kullanılır.

II.4.3. Metabolizma ve Atılımı (35):

Hızlıca ve yaygın bir şekilde metabolize edilir; N-demetilasyon, bir metabolik yol olarak kullanılabilir. Deri altı enjeksiyonundan 10 dakika sonra kan plazmasında bulunabilir ve daha sonra karaciğer, akciğerler, böbrekler ve dalakta bulunur. Metadon doku proteinine bağlanır.

II.4.4. Toksikitesi (35):

İnsanda minimum öldürücü dozu 60-120 mg dır. Alışkanlık yapıcı dozu ise damarda günlük 1-2 gr. dır.

II.4.5. METADONUN ANALİZ YÖNTEMLERİ

II.4.5.1. Renk testleri:

Metadon için Amonyum vanadat testi uygulanmaktadır. Bu testin duyarlılığı 0,5 µg olarak verilmektedir (35).

II.4.5.2. Mikrokristal testleri:

Metadonun civa-2-klorür ve platinik bromür çözeltileri kullanılarak mikrokristalleri hazırlanabilir (37).

II.4.5.3. Titrimetrik yöntemler:

Metadonun kristal viyole TS indikatörüne karşı 0,1 N perklorik asit ile titre edilerek miktar tayini yapılabilir (8).

II.4.5.4. Spektrofotometrik yöntemler:

Metadon, etanol: Su (1;1) karışımında 259 nm ve 295 nm de maksimum pikler verirken, 0,1 N H₂SO₄ çözeltilisinde sırasıyla 253 nm, 259 nm, 265 nm ve 292 nm lerde maksimum pikler vermektedir (12,35)

Infrared Spektroskopisinde, metadon için potasyum bromür diski kullanılarak alınan başlıcı pikler sırasıyla 1700, 1460, 1100 ve 700 cm⁻¹ dir (39).

II.4.5.5. Kromatografik yöntemler:

II.4.5.5.1. Kağıt Kromatografisi:

Curry ve Powell (47) kodein ve meperidin için kullandıkları çözücü sistemini metadon içinde kullanışlar ve Dragendorff sprayi ile lekeleri belirlemişlerdir. Meperidin için R_f değerini 0,74 olarak saptamışlardır. Street (48) kodein ve meperidin ile ilgili çalışmasını metadon içinde uygulayarak R_f değerini 0,59 olarak belirlemiştir.

II.4.5.5.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) :

Sunshine (53) kodein ve meperidin için kullandığı İTK yöntemi metadon içinde kullanarak R_f değerini 0,37 olarak bulmuştur.

Jain ve diğerleri (79) silikajel G 60 plaklar ve etil asetat/metilen klorür/amonyum hidroksit (90;10;0,9 ml) çözücü sistemini kullanmıştır. Bu çalışmada lekeler UV lambası (254 nm) ve iyodoplatinat reaktifi ile belirlenmiş ve R_f değeri 0,66 olarak bulunmuştur.

Metadonun ince tabaka kromatografisi ile tayini çeşitli adsorban ve çözücü sistemleri kullanarak yapılmaktadır (11,50-52,62,80).

II.4.5.5.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC):

Metadonun HPLC ile yapılan analizlerinde hareketli faz olarak formik asit/Amonyak/su (10;0,25;90) kullanıldığında alıkonma süresi 13,0 dk. olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Li Chrosorb SI 60 RP 18 kolon kullanılmış ve çıkan maddeler UV detektörü (280,254 nm) ile tayin edilmiştir (26).

Hareketli faz olarak %0,2 sikloheksilamin sikloheksan kullanıldığında ise alıkonma süresi 0,23 dk. olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Corasil II kolon kullanılmış ve çıkan maddeler UV dedektörü (259 nm) ile tayin edilmiştir (54).

II.4.5.5.4. Gaz Kromatografisi:

Metadonun GC ile yapılan çalışmaları literatürden seçilerek Tablo 4'de gösterilmiştir.

Kolon (mm)	Sabit faz	Kolon dolgusu (mesh)	Kolon s.i. (°C)	Gaz (ml/dk)	Det	RT (dk)	İç. st.	Türev	Kaynak
2x2	%3 OV-17	Chrom WHP (80/100)	210	Azot (60)	FID	6.65	-	-	(27)
1.2x2	%3 OV-17	Gas Chrom Q (100/120)	210	Azot (30)	FID	2.0	SKF-525A ve n-pocasan	-	(81)
6x2	%3 OV-17	HP Chrom W (AW DMCS) (80/100)	150	Azot	FID		SKF-525A (B- di- etilaminoetil difenil propil asetat.	-	(82)
1.22x5.5	%3 OV-17	Gas Chrom Q (100/200)	240	Azot (50)	FID	7.7	-	-	(22)
6x0.08	%3 OV-17	Gas Chrom Q (100/120)	Sıc. prog. (180-280).	Helium (60)	FID		Barbitol	-	(56)
	%3 OV-1			Azot	FID		-	-	(58)
1.8x2	%1 OV-17 ve %g UCW	Gas Chrom Q (100/120)	215	Azot (41)	FID	4.0	SKF-525 A	-	(72)
1.8x2	%1,5 OV-10	Gas Chrom Q (100/120)	Sıc. prog. (170-250).	Azot (30)	FID	5.1	2-demitilamino- 4.4-difenil-5- nonanon	-	(83)
1.8x2	%3 SE-30	Gas Chrom Q (80/100)	200	Helium (32)	FID	5.4	SKF-525 A	-	(84)
6x025	%3 SE-30	Gas Chrom a (60/80)	220	Helium	FID		-	-	(85)

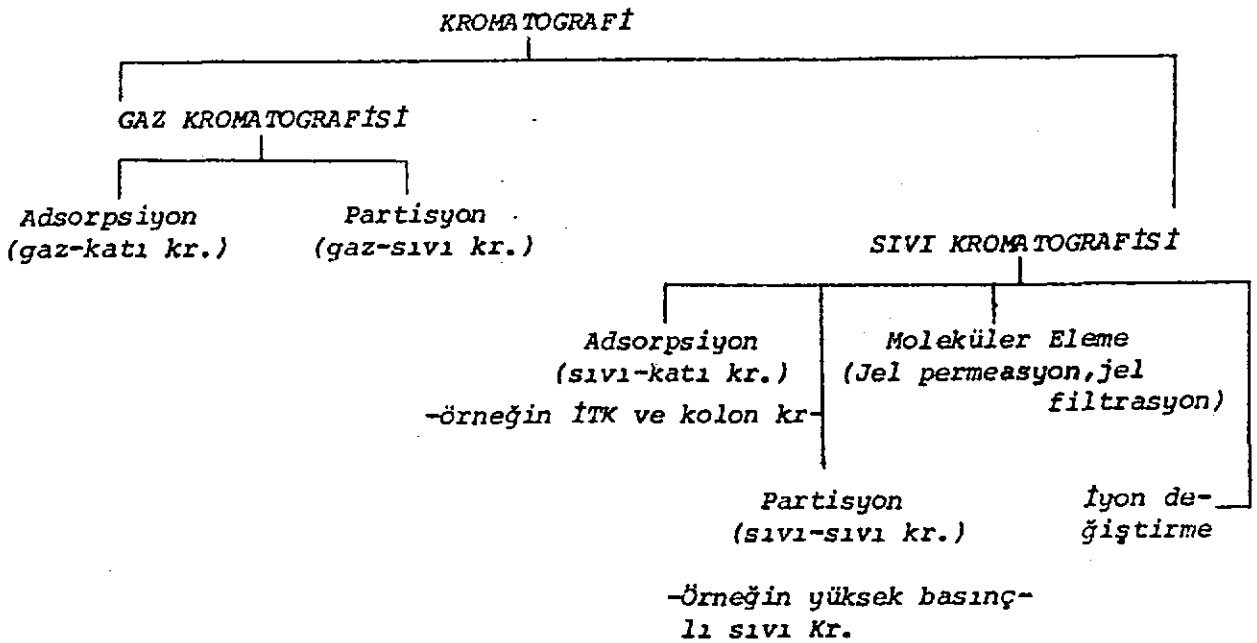
Kolon (mmxmm)	Sabit faz	Kolon dolgusu (mesh)	Kolon sic. (°C)	Gaz (mL/dk)	Det	RT (dk)	iç st.	Türev	Kaynak
	%1 SE-30	Chrom WHP	220°		FID		-	-	(62)
	%2 SE-30		215		Argon İyonizas- yon.	6.0	-	Asetik anhidrit ve propionik anhidrit	(63)
6x2	3/10 ApiezonL- % 10 KOH	Chrom W (NAW) (80/100)	150	Azot	FID		SKF-525 A	-	(82)
3x3	%5 UCW 98	Chrom W-AW- DMCS (80/100)	235	Azot (45)			-	-	(86)
	%3,8 W-98	I Chrom W (AW- DMCS) veya Diatoport S	220	Azot (20)	FID	9.5	-	-	(87)
1.8x1	%10 W-98	Gas Chrom Q (80/100)	180	Helyum (9.2)	MS-CL (izobutan, 0.5 torr. basınç kay- nağı).	7.3	² H ₅ -metadon	-	(88)
0.9x2	%3 SP-2250	DB Supelcoport (100/120)	235	Helyum (35)	FID	1.6	Atropin	-	(89)
1.5x1.8	% 3 DC-560 ve % 0.3 NPG Se	Gas Chrom P (100/120)	138	Azot (30)	ECD	4.0	4-(4-klorofe- nil)-4-fenil- 2-dimetil-ami- no-buten	Baryum peroksit ile benzo fenonlara	³ ³ oksitasyon şeklinde
									yapılır (72)

II.5. Kromatografi:

Kromatografi, iyon veya molekül halinde bulunan katı, sıvı ve gaz karışımlardaki bileşenlerin, bir faz sisteminde dağılım denge farklarına dayanılarak ayırımlarını sağlayan ayırım yöntemidir. (90-91)

Kromatografik yöntemler, ayırım yöntemi olduğu kadar uygun dedektörler kullanıldığında nitel ve nicel tayin olanağı sağlayan analiz yöntemleridir.

Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılmasında en çok kullanılan hareketli fazın sıvı veya gaz olmasına bağlı olan sınıflandırılmadır. (92)

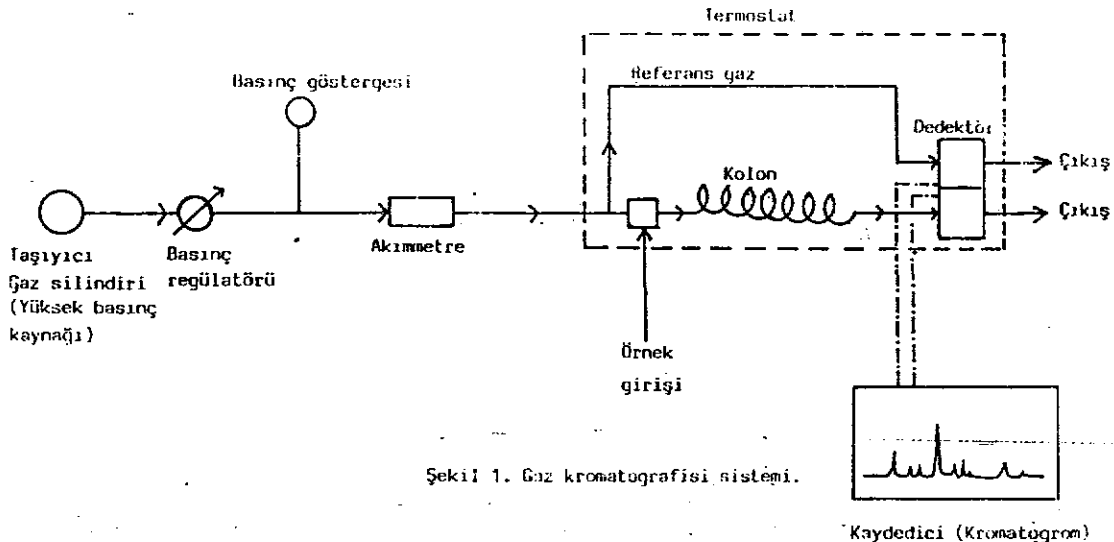


II.5.1.Gaz kromatografisi (GC): Genel bilgi (93-96)

Kromatografi temel olarak bir ayırma yöntemidir. Bir karışımın bileşenlerine ayrılması için kromatografide birisi sabit diğeri de hareketli olmak üzere iki fazın birbirine bağıl hareketinden yararlanılmaktadır. GC de sabit faz bir kolona doldurulmuştur. Hareketli faz ise, ayrılacak olan karışımı kolondaki sabit fazdan geçirme görevini yapmaktadır. Karışım fazlar arasından geçerken içindeki maddeler iki faz arasında farklı bir dağılım göstermekte ve sonuç olarak da kolondan çıkışları farklı derecelerde gecikmelere uğramaktadır. Böylece karışımdaki maddeler kolondaki fazlara olan ilgi derecelerine göre ayrılmış olacaklardır.

Gaz kromatografisi iki şekilde oluşur. Gaz-sıvı kromatografisinde hareketli faz gaz olup, sabit faz sıvıdır. Gaz-katı kromatografisinde ise, sabit faz katı, hareketli faz da gazdır. Teknik, 1941 yılında Martin ve Syngge tarafından önerilmişse de konu ile ilgili ilk yayın 1952 yılında yapılmıştır. Günümüzde en çok uygulama alanı olan ve halen kullanılan ayırım tekniklerinin en önemlisidir.

Gaz kromatografisinin basit bir şeması şekil 1 de gösterilmektedir.



Hareketli fazı oluşturan taşıyıcı gaz genellikle basınç altında bir silindirden sağlanır. Akış hızını ayarlamak için bir basınç regülatörü ve akımmetre kullanılır. Gaz veya sıvı örnek, taşıyıcı gaz içine örnek giriş kısmından enjekte edilir. Sıvı örneklerin çabuk buharlaşmasını sağlamak için giriş kısmı ısıtılmıştır. Buharlaşan örnek taşıyıcı gazla karışmış olarak kolona girerek sürüklenmeye başlar. Kolon sıcaklığı ya sabittir ya da programlı olabilir. Kolondaki doldurulmuş sabit faz, belli tane büyüklüğünde gözenekli katı bir destek maddesi üzerine emdirilmiş uçucu olmayan bir sıvıdır. Buharlaşan örnek kolonda sürüklenirken hareketli faz ile sabit faz arasında bir dağılıma uğramaktadır. Buhardaki değişik maddeler sabit faz içinde veya yüzeyinde farklı süreler geçirerek kolonun öteki ucundan farklı zamanlarda çıkmaktadır. Taşıyıcı gaz yapısında yer alan değişimler kolon çıkışında bir dedektör tarafından ölçülmekte ve bir sinyale dönüştürülerek kaydedici ile bulunmaktadır. Detektör sinyalinde zamanla yer alan değişimlerin kaydedicide çizilmesi ile elde edilen tepeliklerden oluşan Gauss eğrileri şeklindeki grafiklere kromatogram adı verilmektedir. İki bileşenli bir sistem için tipik bir gaz kromatogram şekil 2'de gösterilmektedir.



Şekil 2. Tipik GC kromatogramı ve alıkonma süreleri.

GC de; Bilinen maddelerin kolondan çıkış süreleri ile bilinmeyen maddelerin çıkış süreleri karşılaştırılarak nitel; kromatogramdaki her tepeliğin altındaki alan, o tepeliğe neden olan maddenin miktarına bağlı olduğundan nicel analizler yapılabilmektedir.

II.5.1. Genel Tanımlar:

a) Dağılma katsayısı ve Ayrılma Faktörü: Bir maddenin kromatografik davranışı o maddenin sabit fazda çözünme veya yüzeysel tutulma (adsorpsiyon) derecesine bağlıdır.

$$\text{Dağılma katsayısı (k)} = \frac{\text{Sabit Fazdaki Derişim}}{\text{Hareketli fazdaki derişim}} \quad (1)$$

İ- Bir maddenin sabit fazda çözünürlüğü ne kadar fazla ise k o kadar büyük ve sonuçta kolonda kalış süresi o kadar fazla olur. Bir karışımdaki maddelerin k'ları arasındaki farklılıklar kolonda ayrılmalarını sağlamaktadır.

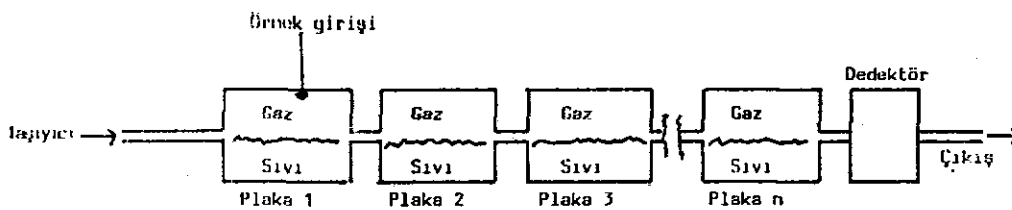
A ve B gibi iki madde için dağılıma katsayıları k_A ve k_B ise bunların birbirine oranı ayrılma faktörü veya bağıl uçuculuk (α) adını alırlar $\alpha = k_A/k_B$ (2)

ii- α , ne kadar büyükse iki maddenin ayrılması o kadar kolay olacaktır. $\alpha = 1$ konumunda ayrılma olanaksız olmaktadır.

b) Alıkonma süresi ve alıkonma hacmi: Kolona verilen bir maddenin kolonun diğer ucundan çıkmasını sağlayan taşıyıcı gaz hacmine alıkonma hacmi (V_R) geçen süreye ise alıkonma süresi (t_R) denilir. Alıkonma süresi, verilmiş bir sıcaklıkta her maddeye özgü bir değerdir ve sistemde başka maddelerin bulunmasından etkilenmez. Fakat kesin olmadığından nitel analizlerde standard madde ile karşılaştırma en emin yoldur. Farklı iki maddenin t_R 'leri aynı olabileceğinden sabit faz veya sıcaklıklar değiştirilip yeniden deneme yapılmalıdır.

II.5.3. Kolon etkinliği (Verimi) ve Ayırma kuvveti:

Bir kolonun şekil 3'de gösterildiği gibi n kadar çok sayıda teorik denge plakalarından oluştuğu varsayılır. Teorik plaka, maddenin sabit ve hareketli faz arasında denge dağılımına ulaştığı kolonun küçük bir kısmını oluşturur.



Şekil 3: Kromatografik kolon için teorik plaka modeli.

Şekil 3'deki gibi en son n'inci plakadaki gazın detektöre gelmesiyle her plakadaki gaz bir sonraki plakaya geçer ve ilk plakadaki gazın yerini de taşıyıcı gaz alır. Madde her plakada yeniden denge dağılımlarına ulaşır. Ard arda transferlerde bu işlem tekrarlanacaktır. Maddemiz için dağılıma katsayısı (k) ve kolondaki plaka sayısı n ise n-1 transferden sonra maddenin her plakadaki miktarı;

$$\left(\frac{1}{k+1} + \frac{k}{k+1} \right)^{n-1}$$

İfadesinin binominal açılımına uygun olmakta ve k, değişimle değişmediği sürece simetrik bir tepecik oluşturmaktadır. Dağılıma katsayısı farklı maddeler için tepeciklerin maksimum farklı plakalarda oluşmakta ve ayırım gerçekleşmektedir. Plaka sayısı arttıkça tepecikler yaygınlaşmakla beraber, iki maddenin tepecik maksimumları arası uzaklık arttığından daha etkin bir ayırım yapılabilmektedir.

Kolon etkinliğinin bir ölçüsü olan teorik plaka sayısını kromatogramlardaki büyüklüklerden belirleyebilecek bağıntılardan biriside;

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2$$

dir. Bu eşitlikteki, t_R = Alıkonma süresi

(3)

w = Pik taban geniş-

liğidir.

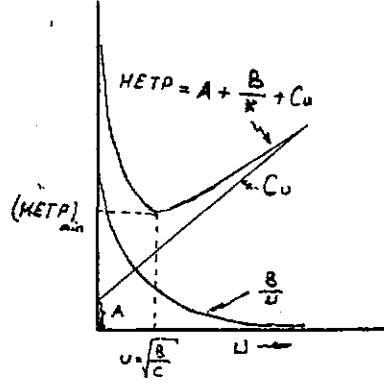
Teorik plakaya eşdeğer kolon uzunluğu $(HETP) = \frac{L}{n}$ (4)

Bu eşitlikteki;

L = Kolon uzunluğu (cm)

n = Teorik plaka sayısı olup değişik kolonların verimi

bu değerlerin kıyaslanması ile belirlenir. Bu değer ne kadar azalır, kolon o derece verimli olur. Kolon verimine tesir eden diğer etkenler şekil 4 de gösterilen Van Deemter bağıntısı ile açıklanabilir.



Şekil 4: Teorik plakaya eşdeğer uzunluk (HETP) ve taşıyıcı gaz hızı arasındaki Van Deemter bağıntısı.

$$\text{HETP} = \frac{L}{n} = A + \frac{B}{u} + Cu \quad (5)$$

bi HETP üç terime bağımlıdır. Bunlar;

- i) Eddy diffüzyonu (A),
- ii) moleküler diffüzyon (B),
- iii) Kütle transferine karşı direnç (C) dir.

Değeri u taşıyıcısı gazın ortalama doğrusal akış hızı olup;

$$u = \frac{\text{kolon uzunluğu (cm)}}{\text{Havaya karşılık } t_R \text{ (sn)}} \quad (6)$$

HETP'nin küçük olabilmesi için bu üç terimin olabildiğince küçük olması gerekir.

Şekil 4'de görüldüğü gibi HETP, taşıyıcı gazın hızına bağlı olarak bir minimum değerden geçmekle ve bu değere ait hız en uygun taşıyıcı gaz hızını saptamaktadır. Ancak kolonun her tarafında gaz hızı aynı olmadığından kolonun ancak küçük bir kısmı maksimum verimle çalışır.

Bağlantı A terimi kolondaki dolgu maddesinin ortalama çapı ve kolon dolgusunun düzenliliği ile ilgilidir.

Bir dolgulu kolonda çözücü ve taşıyıcı gaz molekülleri pek çok farklı uzunluktaki yollar boyunca hareket ederek kolonun ucundan farklı zamanlarda çıkarak tepeciklerin yayvanlaşmasına neden olurlar. Bu yayvanlaşma kolon çapı ve içindeki parçacıkların durumuna bağlıdır. A terimini en aza indirmek için düzenli boyutlarda küçük parçacıklar ve küçük çaplı kolonlar kullanmak ve giriş-çıkış basıncını az oranda düşürmek gerekir.

Bağıntıdaki B terimi ise; Moleküllerin taşıyıcı gaz fazındaki difüzyonudur . Bu difüzyon kolon boyunca tepeciklerin yayvanlaştırır. Bunu en aza indirmek için taşıyıcı gaz hızı ve molekül ağırlığı artırılır. Bu nedenle Hidrojen, Helyum, Argon ve Azot kullanımı tercih edilir.

Son terim olan C, maddenin iki faz arasında dağılma hızı ve sıvı fazda difüzyon ile ilgilidir.

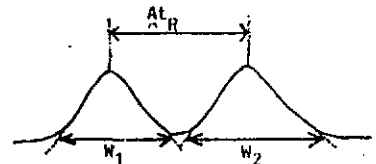
C terimini en aza indirmek için düşük vizkoziteli ince ve düzenli bir film tabakası oluşturan sıvılar kullanılmalıdır. Sıvı ve gaz fazı arasındaki dengeyi sağlamak içinde akış hızı iyice düşük ve dağılım katsayısı ise yeterince büyük olmalıdır.

Ayrılma (R): İki aynı karakterde pikin birbirlerinden doğruca ayrılma derecesidir.

$$R = \frac{2 t_R}{w_1 + w_2} = \frac{t_R}{w}$$

olup t_R = Pikler arası uzaklık,
 w = Pikin taban genişliğidir.

Bu eşitlikteki; semboller şekil 5'de gösterildiği gibi



Şekil 5: Piklerin ayrılma derecesi

Ayrılma gerçek anlamda kolon ve çözücü veriminin birlikte ölçümüdür. Eğer $R=1$ ise, ayırım %98 oranında başarılıdır.

II.5.4. Cihazın Tanıtılması:

GC Cihazının Basit Bir Şeması Şekil'1 de gösterilmektedir.

1) Taşıyıcı gaz: Azot, Argon, Helyum, Hidrojen veya CO_2 taşıyıcı gaz olarak kullanılabilir. Bir taşıyıcı gaz;

a) Ucuz olmalıdır, b) Kullanılan detektöre uygun olmalıdır, c) İnert olmalıdır (örnek ve çözücü ile etkileşmemelidir. d) Minimum diffüzlenmelidir.

Düzenleyicisi, manometre, su ve diğer safsızlıkları temizleyen bir elek bulunur. Optimum gaz hızını belirlemek için Van Deemter grafiklerinden yararlanılabilir.

2) Örnek enjeksiyon giriş bölümü: Bölüm termostatda olup özel olarak ısıtılmıştır ve verilen örneğin tamamen ve çabucak buharlaşmasını sağlaması zorunludur. Sıcaklığı genellikle maddenin buharlaşma sıcaklığının $50^{\circ}C$ üzerinde tutulur. Enjeksiyon çok hızlı bir şekilde yapılmalıdır. Aksi halde pikler geniş çıkar ve cihazın ayırıcılığı azalır. Ayrıca enjekte edilen madde miktarı arttıkça da pik genişliği artar. Örneklerin enjeksiyonunda şırınga kullanılır.

3) Kolon: Paslanmaz çelik, bakır, cam, alüminyum gibi malzemelerden yapılan içerisi uygun bir sabit fazla doldurulmuş ve fazla yer kaplamamaları için uygun bir şekilde bükülen uzun borulardır. Kolay ısıtılabilmesi için cihazda hava ceryanlı ve termostatlı bir etüv içerisine yerleştirirler. Genelde kullanılan 2 tür kolon vardır.

Kılcal kolon uzunluğu 10-300 m, iç çapı 0,3-0,5 mm, iç çeperleri 1 µm kalınlığında olup katı madde ile doldurulabileceği gibi, vakumda emdirilmiş özel ince bir madde ile, film şeklinde kaplanabilir. Dolgulu kolonlar ise, çapı 1-8 mm, uzunluğu 2-20 m olup uçucu olmayan sıvı filmi inert dolgu maddesinin yüzeyindedir.

Çap ne kadar küçükse kolon o derece etkilidir. Örnek kapasitesini arttırabilmek için büyük çaplı kolonlar kullanılabilir.

Kolon sıcaklığı analizin belirli bir zamanda tamamlanmasını sağlayacak kadar yüksek, iyi bir ayırım sağlayacak kadar düşük olmalıdır. Kolon sıcaklığının her 30 °C artışında t_R iki kat azalır. Kolon sıcaklığını örneğin kaynama noktası yakınlarına ayarlamak iyi sonuçlar verir.

4) Dedektör: Kolondan taşıyıcı gaz ile birlikte çıkan maddeleri kaydederek miktarları hakkında bilgi vermek ana görevidir. Bir dedektörün hassaslığının yüksek, ses sinyali seviyesinin düşük, kullanım alanının geniş, her çeşit maddeye karşı duyarlı, akış hızı ve sıcaklık değişimlerine karşı az hassas ve ucuz olması istenir. Ancak tüm bu koşulları sağlayan ideal bir dedektör yoktur. GC'de kullanılan başlıca dedektörler, Tablo 5 de gösterilmiştir. Bu çalışmada alev iyonlaştırıcı dedektör (FID) kullanıldığı için aşağıda ayrıntılı olarak dedektörün özellikleri açıklanmıştır.

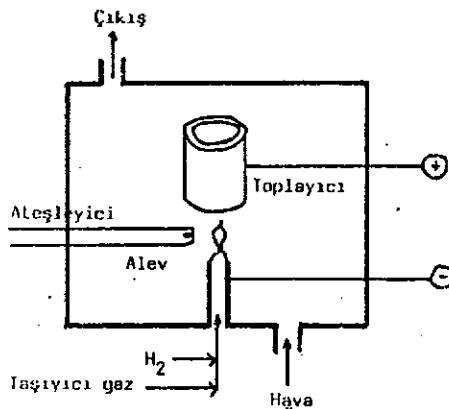
Tablo 5. GAZ KROMATOGRAFİDE KULLANILAN ÇEŞİTLİ DELEKTÖRLER.

Detektör Çalışma Prensipleri	Seçicilik	Duyarlılık	Çizgisel Detektör Kararlılık	Sınır Sıcaklığı (°C)	Taşıyıcı Gaz	Notlar
Isıl İlet-Gazların klenlik. ısıl ilet-klenliğini nit verir. Ölşer.	Bütün bile- 6x10 ⁻¹⁰ 10 ⁻⁵	10 ⁴	0.001-1	450	He, H ₂ , N ₂	Örneği parçalamadan analiz eder. İyi bir a-kaş ve sıcaklık kontrolü gerekli, basit u-cuz, aşındırmaz.
Alev iyo- H ₂ O alevi	Organik bile- 9x10 ⁻¹³	10 ⁻¹¹	10 ⁻⁴	400	N ₂ , H ₂	Örneği parçalayarak analiz eder. Tahrirleyi ci CS ₂ ye duyarlı değil CS ₂ su iyi çözücü lerdir.
nizasyon 2000°C plaz-şiklere yanıt	Asal gaz- ma verir. Asal lar için. gaz ve suya yanıt vermez.					
Gaz Yoğun-gazların luk den- molekül gesi ağırlık- ları far- kı.	molekü ağırlık-10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁶ 10 ⁵	0.3	iyi	En iyi 150 N ₂ , CO ₂ , Ar, SF ₆	Her maddeye duyarlı olup korozif maddeleri özellikle duyarlıdır. Örneği parçalamaz.
Elektro N ₂ +P-c elektron adsorb- 2x10 ⁻¹⁴	10 ⁻¹³ 10 ³	0.8	Orta	225-350	N ₂ veya Ar	Örneği parçalamadan analiz eder. Kolay yakalama e+örnek-layan bileşiklerle- CCl ₄ için akımda a- re yanıt verir. 5x10 ⁻¹⁴ zalmı
Alkali alev H ₂ -O alev- P ve N bileşik-lerc yanıt çok	10 ⁻¹² 10 ³	Orta	Orta	300	N ₂ , He	Tahrir eder. H ₂ ve Hata akışı kontrol edilmeli O ₂ maddesi açıkken çok hassastır.
mad. N vi 1600°C plazma iyi verir.						
Helyum He+P-He* Örnek He* ₂ O	bütün bileşiklerle- 10 ⁻¹⁴ 10 ⁻¹² 5x10 ³		zayıf	100	He	Tahrir edici değil, kanamaya çok hassas.
Enine ke- Örnek P-O sit	Bütün bileşiklerle- 10 ⁻⁹ 10 ⁻⁵ 10 ⁴		iyi	225	H ₂ veya He+23 CH ₄	

Çizgisel Hizmet alanı: Detektörün çizgisel kaldığı en yüksek ve en düşük derişimler arasındaki oranı belirler.

Alev iyonizasyon dedektörü (FID): Kolondan gelen gazlar, Hidrojen-Hava ile karıştırılıp bir metal jette yakılmaktadır. Alevin biraz yukarısında toplayıcı görevi yapan kısa bir tüp veya metal halka ile metal jet arasına da toplayıcı (+) olacak şekilde, bir potansiyel uygulanarak bir elektrik alanı oluşturulmaktadır. Kolondan gelen taşıyıcı gaz alevde iyonlaşmakta ve zıt yüklü iyonlar toplayıcıya doğru giderek bir akım oluşmasına neden olmaktadır. (Şekil-6) Alevin elektrik direncinde yer alan değişikliklerin sürekli olarak kaydedilmesi ile dedektör sinyali elde edilmektedir. Yanıcı gaz olarak H_2 kullanılır. Çünkü; H_2 nin alevde iyonlaşması çok azdır. İdeal taşıyıcı gaz H_2 olmakla beraber emniyet açısından N_2 veya He kullanılır. Özellikleri: a) Bütün organik bileşiklere yanıt verir. b) Taşıyıcı gaz içindeki CO_2 , H_2O gibi safsızlıklara yanıt vermez c) Akış hızı basınç, sıcaklık değişmelerine en az tepki gösterir. d) Örnek yokluğunda hiçbir sinyal vermez. Kararlı bir temel çizgisi vardır. e) 10^{-8} M'a kadar iyi bir sonuç verir. f) FID verimi gazların akış hızlarına bağlıdır.

Tablo 6 de belirtilen FID bazı maddelere yanıt vermez. Bu maddelere karşı duyarsız oluşuda bu detektör için özel kullanım avantajları sağlar.



Şekil 6. Alev iyonizasyon dedektörü.

Tablo: 6. FID'in en az yanıt verdiği veya hiç vermediği maddeler.

He	Ne	N ₂	H ₂ S	N ₂ O	CO	SiCl ₄
Ar	Xe	CS ₂	SO ₂	NO ₂	CO ₂	SiHCl ₃
Kr	O ₂	COS	NO	NH ₃	H ₂ O	SiF ₄

Kaydedici: Dedektör sinyalinin kaydedilmesi için potansiyometrik bir kaydedici kullanılır. Tepki süresi 1 saniye veya altında olan kaydediciler tercih edilmektedir. Kaydedilen tepeciklerin altındaki alanları hesaplamak için integratörler kullanılır.

II.5.4. SABİT FAZ ve KOLON SEÇİMİ: GC de bir ayırımın başarısı seçilen sabit faz ve kolon'a bağlıdır.

Sabit sıvı faz belli tanecik büyüklüklerinde katı bir destek maddesi üzerine ince bir tabaka halinde emdirildikten sonra kolona doldurulmaktadır. Destek maddeleri;

- Geniş, belirgin yüzey alanı; 1 den 20 m²/gr kadar.
- Gözenekli bir yapıda olmalıdır. Gözenek çapları aşağı yukarı birbirine eşit ve 10 μ veya daha küçük olmalıdır.
- Reaktif olmamalıdır; örnekle en az kimyasal adsorbatif etkileşmeye girmelidir.
- Parçacık boyutları aşağı yukarı aynı olmalıdır ki,

pikler o kadar dar ve keskin olabilsin.

e) Mekanik dayanıklılığı fazla olmalı, kolayca kırılmamalıdır.

Bütün bu koşulları sağlayabilen bir dolgu maddesi henüz bulunamamıştır. GC'de en çok kullanılan destek maddesi tanecik büyüklükleri 200-250 μ arasında olan diatomiottir (Kieselgur). Diatome; diatomlardan kurulu, mikro-amorf sulu silika iskeletidir.

Sıvı faz miktarı, katı parçacıkları ince ve düzenli bir film tabakası ile saracak kadar olmalıdır. Fazlası, parçacıklar arasındaki boşlukları doldurarak havuzlar oluşturduğundan kolon verimini düşürür. Az olursa, katı taşıyıcıda adsorbatif etki gösterebilecek boş yüzeyler ortaya çıkacağı gibi örnek, kolondan hızlı çıkarak yakın t_R 'ler elde edilebilir. Bir sıvı faz;

- a) Örnek bileşenleri içiniyi bir çözücü olmalıdır; bileşenlerin çözünürlükleri arasındaki fark iyi bir ayrımı sağlayacak kadar büyük olmalıdır. Eğer çözünürlük düşük ise, bileşenler sistemden hızlıca akarak ayırımın kötü olmasını sağlar.
- b) Düşük viskoziteye sahip, buhar basıncı düşük (0,01-0,1 mmHg) ve de uçucu olmamalıdır. Kolonların ömrü açısından bunlar önemlidir.
- c) Isı kararlılığı fazla olmalıdır.
- d) Çalışma sıcaklığında örneğe karşı kimyasal olarak etkisiz olmalıdır.

GC'nin önemli avantajlarından biride sıvı fazın uygun seçimi ile aynı buhar basıncına sahip değişik maddelerin ayrımının yapılabilmesidir. Bu arada oluşan, madde ile çözücü arasındaki, karşılıklı etkileşme kuvvetleri (Ara etki) dört tanedir. Bunlar;

i) Yönlenme veya kohezyon kuvvetleri: İki kararlı dipol arasındaki etkileşmeden doğan kuvvetler olup GC'de en önemli yönlenmeye sahip yapı hidrojen bağıdır.

ii) Debye kuvvetleri (Yüklenmiş dipol): Bir moleküldeki kararlı bir dipolde, buna komşu moleküldeki yüklenmiş dipol arasındaki etkileşmeden doğan kuvvetler olup çok küçüktür.

iii) London, dağılma veya polar olmayan kuvvetler:

İki etkileşen yapının aniden oluşan dipollerindeki senkronize değişmelerden doğan kuvvetler olup i ve ii'ye göre daha zayıftır.

iv) Özel etkileşme kuvvetleri: Kimyasal bağdan, çözücü arasında kompleks oluşumundan doğan kuvvetlerdir.

Polarite, yukarıdaki kuvvetlerin bir sonucudur. Apolar maddeler, apolar sıvı fazlar üzerinde kaynama noktaları farklılıklarına göre ayrılırlar. Çünkü örnek içindeki bütün bileşenler ile çözücü arasındaki london kuvvetleri aynıdır. Fakat polar maddeler için apolar sıvı fazlar daha uygundur. Çünkü polar maddeler arasındaki büyük dipol-dipol çekim kuvvetleri apolar çözücü içerisinde çok azdır. Genellikle çözücünün (sıvı fazın) polaritesi arttıkça polar maddelerin kolonda kalma süreleri artar. Bunun tersi olarak, çözücünün

Tablo 7. Çeşitli maddeler için uygun sıvı fazlar

<u>Aşırı polar (Grup I)</u>	<u>Sıvı Faz (Grup I için)</u>
Su, glikol, gliserol, amino alkoller Hidroksi asitler, polifenoller, dibazik asitler, vb.	FFAP, 20M-TPA, Carbomax, Ucon, Versamid 900, Hallcomid, Quadrol, Theed, Mannitol, Castomax, Diglycerol
<u>Polar (Grup II)</u>	<u>Sıvı faz (Grup I için)</u>
Alkoller, yağ asitleri, fenoller, primer ve sekonder aminler, oksim ler, -H atomlu nitro bileşikleri, -H atomlu nitriller NH ₃ , HF, N ₂ H ₄ , HCN	Tetrasiyonötil pentaeritritol, Zonyl E-7, Ethofat, - - oksidipropiyanonit, XE-60, XF-1150, Amine 220, Epon 1001, siyanoetil sukroz
<u>Orta polar (Grup III)</u>	<u>Sıvı faz (Grup III için)</u>
Eterler, ketonlar, Aldehitler, Esterler, tersiyer aminler, -H atomsuz nitro bileşikleri, -H atomsuz nitriller	Poliesterler, dibüt il tetraklorofi- talat, SAIB, STAP, Trikreasil fosfat, Benzil siyanür, hexan, propilen karbonat, QF-1, polifenileter, dimetilsulfolan, OV-17.
<u>Az polar (Grup IV)</u>	<u>Sıvı faz (Grup IV ve V için)</u>
CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂ , CH ₃ CHCl ₂ , CH ₂ ClCH ₂ Cl, CH ₂ ClCHCl ₃ Aromatik hidrokarbonlar, çelefe nik hidrakerbonlar	SE-30, SF-96, DC-200, Daw 11, Squalane, OV-1, Apiezan, Hexadecane
<u>Polar olmayan (Grup V)</u>	
Doymuş hidrokarbonlar, CS ₂ , Sülfidler, Merkaptonlar, Halokarbonlar (az polarda olmayan CCl ₄ gibi)	

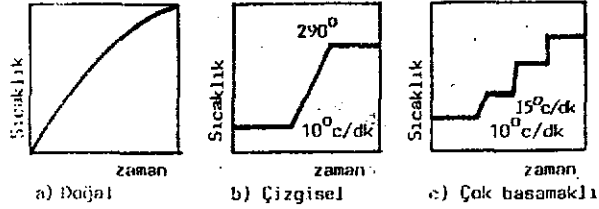
polaritesi azaldıkça apolar maddelerin kolonda kalma süreleri artar.

Apolar madde, sadece London kuvvetleri gösterdiği için çok kuvvetli polar çözücüler içinde bile kolonda kalma zamanında değişme olmaz. Fakat polar çözücüler içinde bile kolonda kalma zamanında değişme olmaz. Fakat polar çözücüler içinde dipol-dipol çekim kuvvetlerini yenmek ve çözücü moleküllerini ayırabilmek için büyük enerji harcamak gerekir. Bu bakımdan son zamanlarda içinde az miktarda apolar ikinci bir çözücü içeren polar çözücüler yapılmaktadır. Böylece, polar maddeler kolonda iken apolar maddelerin kolondan çıkması sağlanır.

Sıvı faz seçiminde genel kural ayrılacak maddelerin tümüne göre benzer bir fazın seçilmesidir. Örneğin, ayrılacak madde polar değilse (Hidrokarbonlar gibi) polar olmayan bir sıvı faz (squalene gibi); Az polar ise, az polar bir sıvı faz; polar ise, polar bir sıvı faz seçmek gerekir. Bu seçim Tablo 7'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

II.5.5. SICAKLIK PROGRAMLANMASI: Analiz anında kolon sıcaklığının denetimli olarak değiştirilmesidir. Bir sıcaklık programlanmasının amacı; Karışık ve çok değişik kaynama noktası değerlerine sahip karışımların, izotermal (eş-sıcaklıklı) çalışmasından elde edilen sonuçların daha verimli hale dönüştürülmesinde kullanılır. Sonuç olarak, alıkonma süreleri ve diğer pek çok karakteristikleri daha iyi değerlendirilerek çok daha kullanışlı kromatogramlar elde edilir.

Kullanılan başlıca sıcaklık programları şekil 7'de gösterilmektedir.



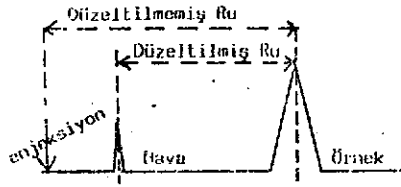
Şekil: 7. GC'de kullanılan sıcaklık programları, a) Doğal, b) Çizgisel, c) Çok basamaklı.

Bunlar içinde en basiti ve en çok uygulama alanı bulan çizgisel programlarıdır.

Bu tür sıcaklık programlarında, ilk piklerin birbirinden iyice ayrılabilmesi için düşük sıcaklık değerleri kullanılır. Sıcaklığı arttırdığımız zaman kaynama noktası farklı olan her bileşen sistemden sırasıyla ayrılmaya başlar ve aynı zamanda analiz süreside kısalmış olur. Burada her bileşene uygun sıcaklık programlandığından, kolaylıkla ölçülebilen, büyük ve iyi ayrılmış pikler elde edilir.

II.5.6. NİTEL ANALİZ: Belirli koşullar altında bilinen bir maddenin analizinden alınan verilerle bilinmeyen bir maddede verilerinin karşılaştırılmasına dayanır. Koşulların doğru seçilmesi ve tekrarlanabilir sonuçların alınması temeldir. Piklerin konumu veya alıkonma süreleri (hacmi) tanımlamada en çok kullanılan özelliktir. Alıkonma süreleri (hacmi), örneğin ve sıvı fazın birer özelliğidir.

a) Düzeltilmemiş alıkonma hacmi: Enjeksiyon anından pik tepesine kadar olan ölçülmüş hacimdir. (Şekil 8) Başka kolonlarla karşılaştırma olanağı olmadığından pek kullanılmayan bir değer olup taşıyıcı gaz akış hızına, kolon sıcaklığına ve boyutlarına, sıvı faza, basınç azalmasına ve de cihazın ölü hacmine bağlıdır.



Şekil 8: Düzeltilmiş ve düzeltilmemiş alıkonma hacimleri.

b) Düzeltilmiş alıkonma hacmi: Hava pikinden (iyonizasyon detektörlerinde çözücü pikinin ucundan) pik tepesine kadar ölçülen ve kolon boyunca basınç azalmasına karşılık düzeltmenin yapıldığı hacimdir (Şekil 8). Taşıyıcı gaz çıkış hızına, kolon sıcaklığına ve boyutlarına, sıvı faza ve basınç azalmasına bağlı olup bu koşulların sürekli denetimini gerektirdiğinden pek kullanılmaz.

Tepeciklerin tanınmasında bilinmeyen örneklerin, alıkonma sürelerinin aynı kolon ve deneysel koşullarda bilinen örneklerin alıkonma süreleri ile doğrudan karşılaştırmaları yerine bağlı alıkonma sürelerinin karşılaştırılması taşıyıcı gaz hızı, kolon sıcaklığı, kolon dolgusu gibi etkenlerdeki küçük değişikliklerden oluşabilecek etkileri giderebilmeleri açısından daha doğru olmaktadır. Sonuç da, her bir tepecik için alıkonma süresi bir iç standardın alıkonma süresine göre belirlenir.

Bağıl alıkonma hacimlerinin (sürelerinin) belirlenmesi amacı ile KOVATS ve WEHRY ortak bir çalışma ürünü olarak "KOVATS alıkonma indisi" yöntemini bulmuşlardır. Bu yöntem de normal alkanlar referans olarak alınmaktadır. Herhangi bir m maddesi için alıkonma indisi (I_m) bağıntısı;

$$I_m = 100C_z + 100 \frac{\log x_m - \log x_z}{\log x_{z-1} - \log x_z} \text{ dir (8)}$$

Bu bağıntıdaki değerler;

X = Düzeltilmiş alıkonma süresi,

C_z = Yapısında z sayıda karbon içeren normal alkan,

C_{z-1} = Yapısında z-1 sayıda karbon içeren normal alkan,

X_m = Bilinmeyen maddenin alıkonma süresi olup iki alkan arasında kalacak şekildedir.

Alıkonma indisi maddenin polar ve apolar kolonlardaki durumu ile değişir. Çok kolonlu çalışma tekniğinde kolonların Mc Reynolds sabitleri aynı olmalıdır. Belli bir kolonda birkaç maddenin alıkonma indisi bulunur. Bu maddeler daha sonra squalane kolona uygulanarak I değerleri bulunur.

$$\Delta I = I_{\text{polar}} - I_{\text{Apolar}} \text{ (9) Bilinmeyen pikin yapısı}$$

hakkında bilgi polar ve apolar sabit fazdaki ΔI ile elde edilir.

II.5.7. NİCEL ANALİZ: Piklerin altındaki alanlar belirlenir. Bu alanlar, madde miktarı ile orantılıdır. Bir i maddesi için pik alanı A_i ve maddenin derişimi C_i olursa

$$A_i = f_i C_i \text{ (10) şeklinde bir ilişki bulunur. Eşitlik-$$

teki f_i o madde için dedektör orantı katsayısı (faktör) dir.

a) Örnekteki bileşen yüzdesi (Alan normalizasyonu):

Örnekteki A gibi bir bileşen için;

$$\%A = \frac{\text{A bileşen alanı}}{\text{Toplam alan}} \times 100 \quad (11) \text{ Bu tür hesaplama, detektör yanıtının}$$

her bileşene karşı aynı ayarda olduğu varsayıldığı zaman doğrudur. Oysa, farklı maddeler farklı yanıt verirler. O zaman detektörün cinsine göre değişen düzeltme faktörlerinin devreye sokulması gerekir.

$$\%A = \frac{\text{A bileşen alanı/FA}}{\text{Toplam alan/Faktörler}} \times 100 \quad (12) \text{ Eşitlikdeki F düzeltme faktörüdür.}$$

$$F \text{ düzeltme faktörü} = \frac{\text{Her bileşenin A (Alan/W (ağırlık))}}{\text{Referans A/ referans W}} \quad (13)$$

şeklinde gösterilir. Referans düzeltme faktörü 1 dir (INST)

FID yanıtı, sıcaklık, taşıyıcı gaz ve akış hızından bağımsız olduğundan nitel analizlerde en uygundur.

Mütlak kalibrasyon: Miktarını bildiğimiz madde GC'ye verilerek ağırlıklara karşı gelen alanların grafiğe geçirilmesiyle bir kalibrasyon eğrisi elde edilir. Sonra, ağırlığını bildiğimiz karışım GC'ye verilir ve içindeki yüzdesi bilinmeyen X bileşenin ağırlığı, bu kalibrasyon eğrisinden okunan alana karşılık gelen ağırlık ile bulunabilir.

$$X \text{ ağırlığı} = \frac{(X \text{ alanı}) (gr/alan)}{\text{enjekte edilmiş gr}} \times 100 \quad (14)$$

6) İç Standart Yöntemi (Bağıl kalibrasyon):

Bu yöntemde en önemli unsur bir iç standardın seçimidir.

Bir iç standart;

- a) Diğer piklerden ayrı ve belirgin bir pik verebilme-
lidir.
- b) Bilinmeyen maddeye yapısal olarak benzemelidir.
- c) Bilinmeyen madde derişimine yakın bir derişimde
olmalıdır.
- d) İlgili piklerin ayrımını önlememelidir.

Bilinen yüzdede örnek ve standart hazırlanır. Elde edilen kromatogramda pik alanları (bileşen/standart)'a karşılık Ağırlık (bileşen/standart) grafiğe geçirilir. Daha sonra, ağırlığı bilinen standart ve bilinmeyen yüzdede tanıtmalı madde GC'ye verilir. Sonuçda, kromatogramdaki alan oranları hesaplanır ve Kalibrasyon eğrisinden bu alan oranlarına karşılık gelen yüzde değerler okunur.

Bu yöntemde GC'ye verilen maddenin toplam miktarının tam olarak bilinmesi gerekmez.

c) Dış Standart Yöntemi : Bu yöntemde bilinmeyen matriks düzeyinde hazırlanan bilinen karışım, bilinmeyen ile aynı koşullarda kromatogramı alınır. Pik büyüklüğünden miktar tayinine geçilir.

Bu yöntemlerden başka olarak pik altındaki alan otomatik integratörle; planimetre kullanılarak; pik'e ait alan kesilip tartılıp belli alana ait kaydedici kağıdının ağırlığı ile karşılaştırılarak; Pik yüksekliğini yarı yükseklikteki pik genişliği ile çarparak hesaplanabilir.

Eğer pikler birbirleri ile çakışiyorsa ya doğrudan ikiye bölerek veya üçgen yaklaşımları yaparak alanları belirle-
nebilir.

Pik alanlarının ölçülmesinden ayrı olarak pik yükseklikleri ölçülerek de nicel analizler yapılabilir.

BÖLÜM III

DENEYSEL KISIM

III.1. KULLANILAN MADDELER

Bu çalışmada kullanılan meperidin hidroklorür, meta don hidroklorür, kodein fosfat ve barbital standart maddeleri, kriminal polis laboratuvarlarına Birleşmiş Milletler Teşkilatı aracılığı ile verilmiş olan standartlardır. Bu maddelerin ergime derecesi tayinleri, ince tabaka kromatografisi, infrared, ultraviyole yöntemlerinin yardımıyla saflık kontrolleri yapılmış, istenilen özellikleri içerdikleri anlaşıldığından ön saflaştırma işlemi yapılmamıştır. Bu maddelerin çözünmesinde kullanılan çözücü metanol (Merck) dür. Ekstraksiyon işleminde aktive edilmiş odun kömürü (Fluka AG), sodyum bikarbonat (Fluka AG), sodyum karbonat (Fluka AG) kullanılmıştır. Çözücü karışımın hazırlanışında diklorometan (merck), izopropil alkol (merck) ve dietileter (Fluka AG) den yararlanılmıştır.

III.2. KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

1. Gaz kromatografisi, Perkin-Elmer, 8320 Model.
2. Grafik yazıcı, Perkin-Elmer, GP-100.
3. UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi, Perkin-Elmer, Lambda 5.
4. Grafik yazıcı, Perkin-Elmer.
5. IR-Kızıl Ötesi spektrofotometresi, Perkin-Elmer 782.
6. IR-Yazıcısı, PR-210.
7. TLC-İnce Tabaka Kromatografisi düzeneği, Camag.
8. Ergime noktası tayin cihazı, Büchi 7510.
9. Mekanik karıştırıcı, Edmond Bühler, SM-25.
10. Hava kurutmalı etüv, Heraeus.
11. Santrifüj, Nüvefuj, 615.
12. Digital pH metre, Knick, 646.
13. pH metre cam elektrodu, Ingold 405-457.
14. pH metre referans elektrodu, Corning.
15. Duyar terazi, Sartorius 2434 (Mak. 1609), Sartorius 1404 (Mak. 2200 g).
16. Hidrojen jeneratörü (üreteç), General Electric, SPE.
17. Kuru hava tübü.
18. Azot tübü, Habaş
19. Voltaj regülatörü, Alfa-gamma
20. Sıvı sızıntı dedektörü, Nupro
21. Otomatik şırınga, Hamilton, 1ml.
22. Otomatik mikro pipetler, Brand,
23. Çeşitli boy Pyrex^R balon jöje ve pipetler.
24. Özel penisilin şişeleri, spatüller ve idrar tübü.

III.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI:

Bu çalışmada iç standart olarak barbital kullanılmıştır. Stok iç standart çözeltisi hazırlamak için 200 mg barbital 50 ml metanolde çözülmüştür. Bu iç standart stok çözelti içinde meperidin ve metadon hidroklorürleri 5 mg/ 5 ml; kodein fosfat ise 20 mg/ 5 ml olacak şekilde çözümlenerek standart stok çözeltiler elde edilmiştir.

Karbonat tamponu: 420 mg sodyum bikarbonat ve 21g sodyum karbonat distile su içinde çözümlenip hacim 500 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin pH'sı 11.0 ± 1.0 olmalıdır.

Çözücü karışımı: Diklorometan, izopropil alkol ve dietileter 65:10:25 (h/h/h) oranlarında karıştırılarak hazırlanmıştır.

III.4. YÖNTEM

III.4.1. Standart Numunelerin Hazırlanması:

Hazırlanan standart stok çözeltilerden ikişer ml alınarak, 2 mg meperidin HCl, 2 mg metadon HCl, 8 mg kodein fosfat içeren toplam altı mililitrelik bir karışım çözelti oluşturulmuştur (1. standart numune). Bu çözeltiden alınan 2 ml üzerine iç standart stok çözeltiden 2 ml eklenerek yeni bir karışım hazırlanmıştır (2. standart numune).

İkinci numune birinci numunenin yarı yarıya seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Bunun ardından 3. standart numune, 2. standart numunenin yarıyarıya seyreltilmesiyle elde edilmiştir. Benzer şekilde 4. ve 5. standart numuneler hazırlanmıştır.

Bu numunelerdeki standart maddelerin derişimleri Tablo 8' de gösterilmiştir.

Tablo 8. Standart numunelerdeki meperidin HCl, metadon HCl, kodein Fosfat seyreltilmesi

Çözelti	İçstandart (ISTD) Barbital	Meperidin HCl	Metadon HCl	Kodein Fosfat
Stok standart çözeltiler.	200mg/50ml MDH	5mg/5ml ISTD	5ml/5ml ISTD	20mg/5ml ISTD.
1. Numune	-	2mg/6ml	2mg/6ml	8mg/6ml.
2. Numune	-	1mg/6ml	1mg/6ml	4mg/6ml.
3. Numune	-	1mg/12ml	1mg/12ml	4mg/12ml.
4. Numune	-	1mg/24ml	1mg/24ml	4mg/24ml.
5. Numune	-	1mg/48ml	1mg/48ml	4mg/48ml.

II.4.2.Biyolojik Materyal (İdrar) da Yapılan Uygulama:

II.4.2.1.Ekstraksiyon İşlemi:

10 ml idrar örneği 15 ml lik santrifüj tübüne alındı. Duyar terazide tartılmış olan 5 mg meperidin hidroklorür, 5 mg metadon hidroklorür ve 20 mg. kodein fosfat santrifüj tübüne aktarılarak mekanik karıştırıcıda homojen bir çözelti olana kadar karıştırıldı. Daha sonra 50 mg odun kömürü santrifüj tübüne eklendi ve tekrar mekanik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha önce hazırlanışı anlatılan karbonat tampon çözeltisinden 1 ml eklendi. Tübün ağzı parafilm ile kapatılarak tekrar mekanik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra 2000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi. Odun kömürü bu basamakta tübün dibine çöktü. Üstte kalan sulu faz, başka bir tübe aktarıldı. Tübün dibindeki odun kömürü 1 ml distile su ile yıkandı ve mekanik karıştırıcıda 1 dakika bekletildi.

Santrifüj işlemi 2 kere daha tekrarlandı ve sulu fazlar diğerleri ile birleştirildi. Tübün çeperinde kalması için odun kömürü iyice sallanmalıdır. Odun kömüründen ilaçlar daha önce hazırlanışı anlatılan 2,5 ml çözücü karışımı ile yıkandı. Tübün ağzı tekrar kapatılarak mekanik karıştırıcıda iyice karıştırıldı.

2000 rpm de 1 dakika santrifüj edildikten sonra çözücü temiz bir penisilin şişesine aktarıldı. 55 °C de hava akımı altında etüvde kuruyana kadar çözücü buharlaştırıldı.

II.4.3. Gaz-sıvı-kromatografisi çalışma koşulları

Detektör: Alev iyonlaştırıcı detektörü (FID)

Kolon: Bu çalışmada yeni bir kolon olan GIT (Glass Lined Tubular Cam astarlanmış tübüler kolon) kullanılmıştır. Bu kolonun özellikleri aşağıda belirtilmiştir; (Fotoğraf 1)

Materyal: S/S (paslanmaz çelik)

Katı destekleyicisi: %3 OV-101 (Metil): Sabit faz %100

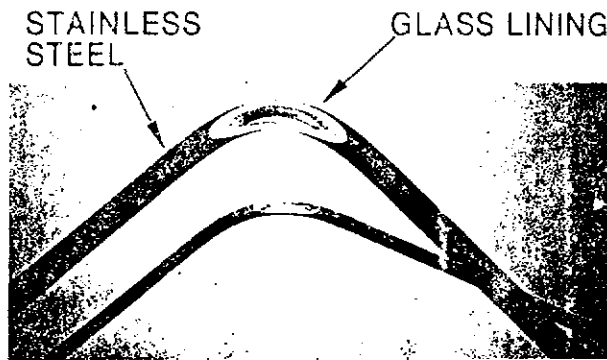
Chromosorb (silikon) WHP 100/125 mesh

Kolon uzunluğu: 2 metre

Tüb yarıçapı: 1/8 in. (3,2 mm.)

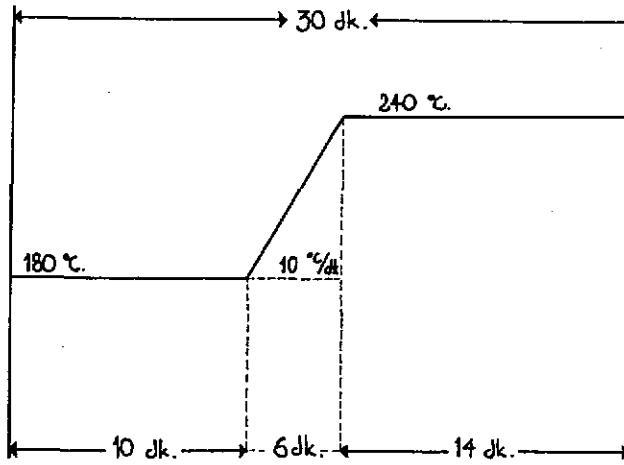
Teoriksel plaka sayısı/hız: 1533.

Çalışma sıcaklık aralığı: 0-350 °C



Fotoğraf 1: GLT kolonu

Kolon sıcaklığı: Bu çalışmada şekil 9 da gösterilen sıcaklık programı uygulanmıştır.



Şekil 9: Çalışmada uygulanan kolon sıcaklık programlanması.

Sıcaklık programı 180 °C de 10 dakika izotermal olarak ayarlanmış ve 10 °C/dakika artış ile 240 °C'ye programlanarak 14 dakika tutulmuştur.

Injektör sıcaklığı: 290 °C

Detektör sıcaklığı: 290 °C

Taşıyıcı gaz: Azot, 4 ml/dak. Akış hızı,

Gaz giriş basıncı: 21 psig.

Hava: 20 lb.f/in² (140 kpa)

Hidrojen: 16 lb.f/in² (120 kpa)

Atenasyon: 8.

Enjeksiyon: Hamilton şiringası ile 0,5 µl

Kağıt hızı: 3 mm/dak.

Analiz süresi: 30 dak.

Akış hızları kolon çıkışında (detektör jet'inde), bir sabun kabarcığı akış metresi ile kolon çevre sıcaklığında ölçülmüştür.

Kolon koşullandırılması: ilaç analizleri için, kolonlar özellikle seçilmelidir. Analitiksel bir örneğin tam bir ayrımı temel olarak kolonun koşullandırılmasına bağlıdır. Kolon koşullandırılmasında izlenen yol şöyledir:

Normal azot gazı akışında 2 saat 300 °C den geçirildi. Enjektör bloku ve detektör, standart gaz kromatografi koşullarında bırakıldı. Sonra, sıcaklık 280 °C ye indirildi. ve 16 saat sürekli ısıtıldı. Fırın, 180 °C ye soğutuldu ve 10 µl silanlaştırıcı reaktif (silyl 8) kolon içerisine enjekte edildi. Daha sonra 180° ve 280 °C arasında program yapıldı ve kararlı bir taban çizgisi elde edilene kadar beklendi.

II.4.4. Çözeltilerin ve biyolojik sıvı (idrar)nın
Gaz-Sıvı kromatografisine uygulanması:

Örnek enjeksiyonunda dikkat edilmesi gereken bazı önemli noktalar vardır. Kullanılacak şırınga mutlaka temiz olmalıdır. Eğer temiz değilse, kullanılan çözücü ile birkaç defa temizlenmesi gerekir. Doldurulan şırıngadaki fazla hacim boşaltılmalı ve hacim okuması doğru yapılmalıdır. Örneğin içinde hava kabarcığı veya yabancı madde bulunmamasına özen gösterilmelidir. İğne cihaz septumuna çabuk ve düzgün bir hareketle sokulmadan önce tüy bırakmayan bir parçayla iğne ucu silinmelidir. Enjeksiyondan sonra şırınga septumdan tek ve ani bir hareketle uzaklaştırılmalıdır.

Bu çalışmada, 1 µl lik Hamilton şırıngası kullanılarak 0,5 µl standart madde çözeltilerin ve ekstrakte edilmiş biyolojik sıvı (idrar)ın gaz-sıvı kromatografisine enjektisi yapılmıştır. Öncelikle, çalıştığımız sıcaklık programlanmasında metanolde çözülmüş iç standartın oluşturduğu çözeltiliye standart maddeler tek tek katılarak alıkonma süreleri elde edilmek suretiyle bir çalışma yapılmış ve bu çalışmanın ışığı altında üç maddenin eklenmesiyle oluşturulan 0,5 µl lik çözeltili GC'ye enjekte edilerek nitel bir çalışma yapılmıştır. Daha sonra elde edilen alıkonma sürelerinin yardımı ile nicel çalışmalar yapılarak bunların biyolojik sıvı (idrar) ya uygunluğu kanıtlanmıştır. 1 ml stok iç standart çözeltilisi eklenerek gaz kromatografik analize hazır hale getirilmiştir.

BÖLÜM IV

BULGULAR

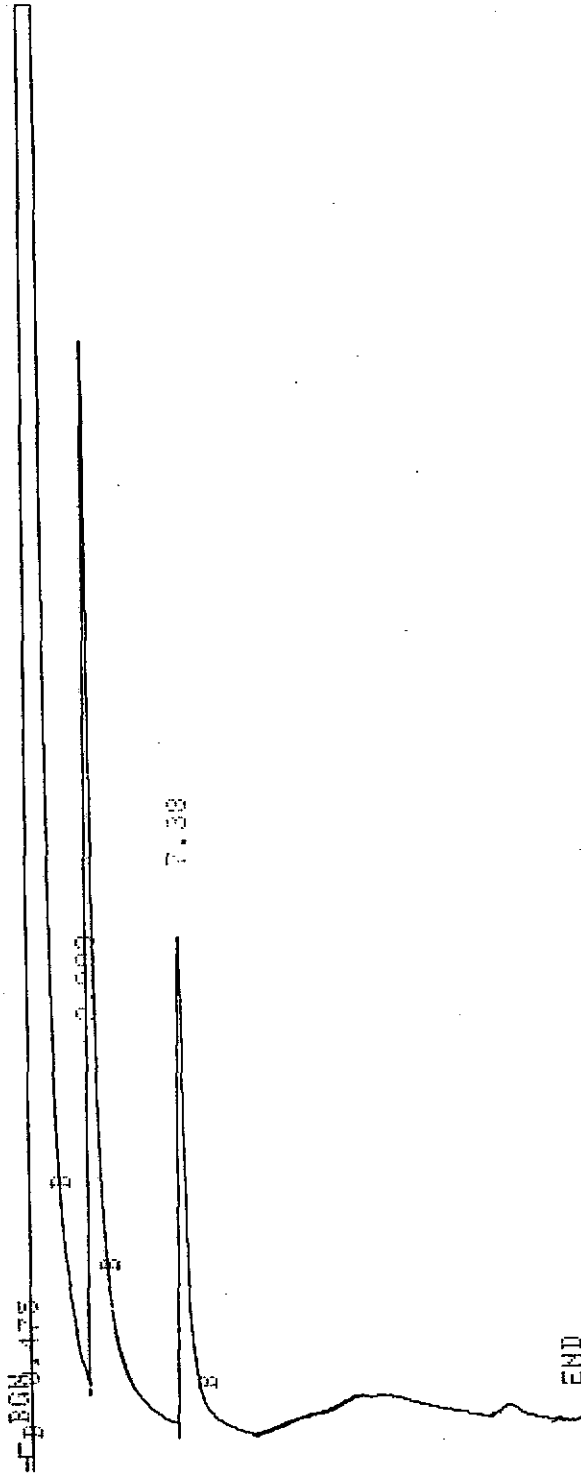
IV.1. Alınan Kromatogramlar:

Bu çalışma sonucu elde edilmiş standart çözeltiler ve biyolojik sıvı (idrar)ın kromatogramları Şekil (10-15)'da gösterilmiştir.

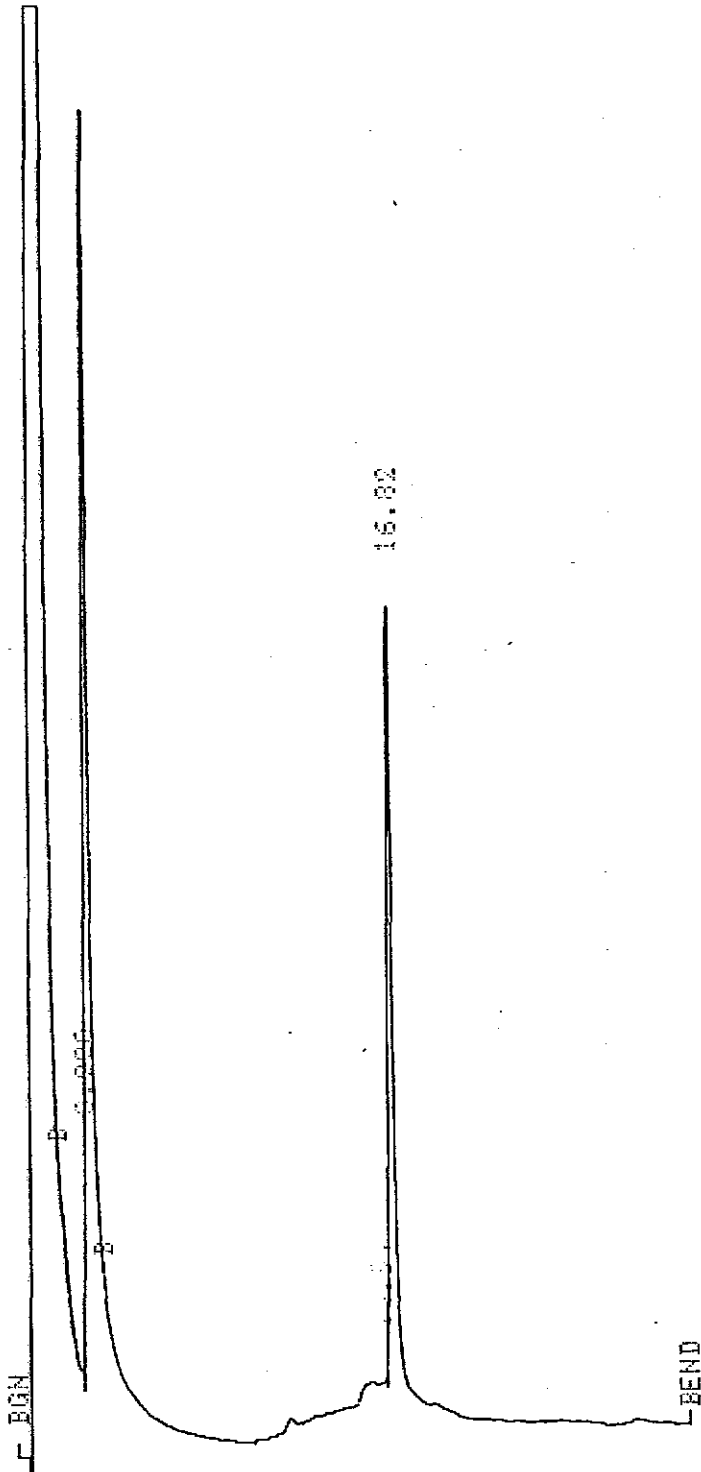
IV.2. Kromatogramlardan alınan verilerin tabloları:

Tablo 8'de gösterilen standart numunelerin seyreltilmeleri sonucu elde edilen gaz kromatografik veriler Tablo 9'da gösterilmiştir. Daha önce yapılan bir ön çalışma sonucu alınan veriler burada verilmemiştir. Bunun nedeni de kodein fosfatın ikinci seyreltme sonucu dedektöre yeterli yanıt verememesidir. Sonuç olarak kodein fosfatın miktarı 20 mg'a arttırılmıştır.

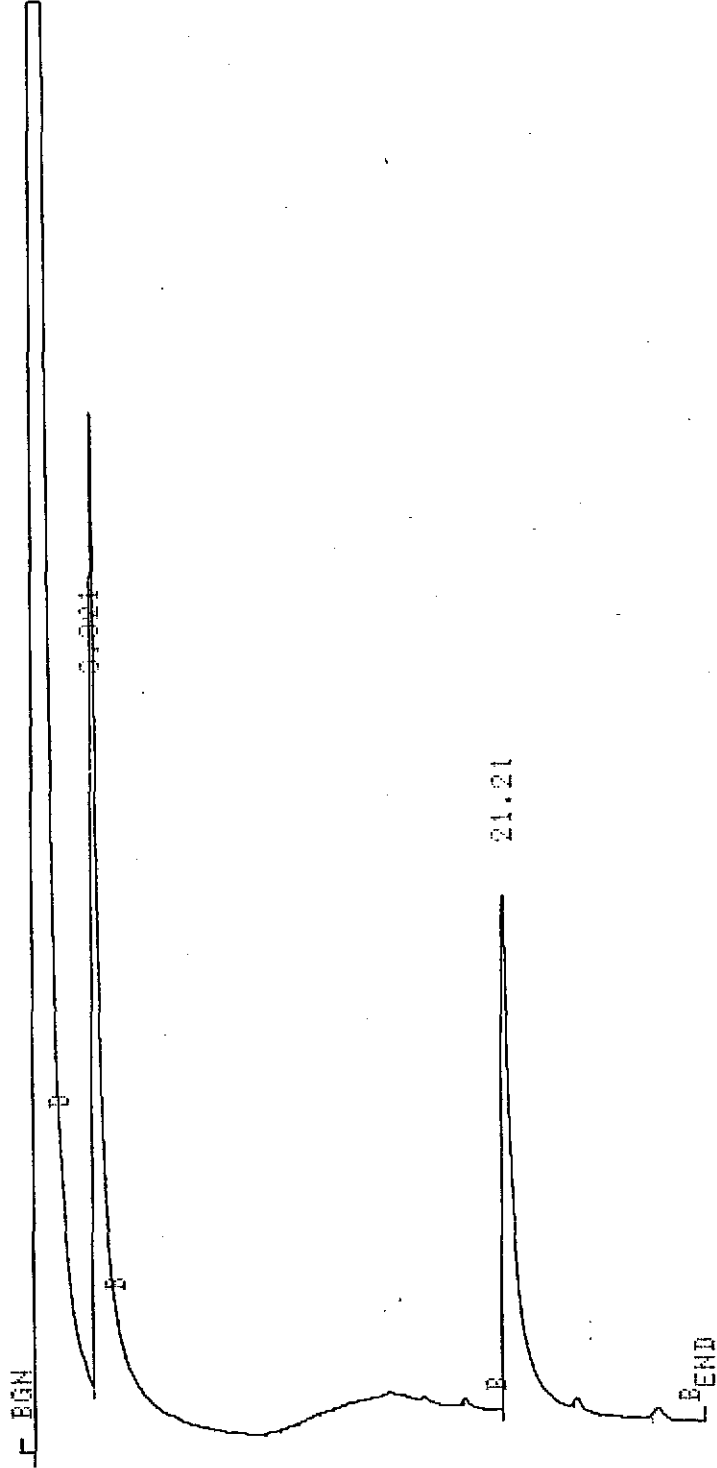
Tablo 9'da görülen veriler, her bir seyreltmede beş ayrı enjeksiyon yapılarak alınan verilerin ortalama değerleridir.



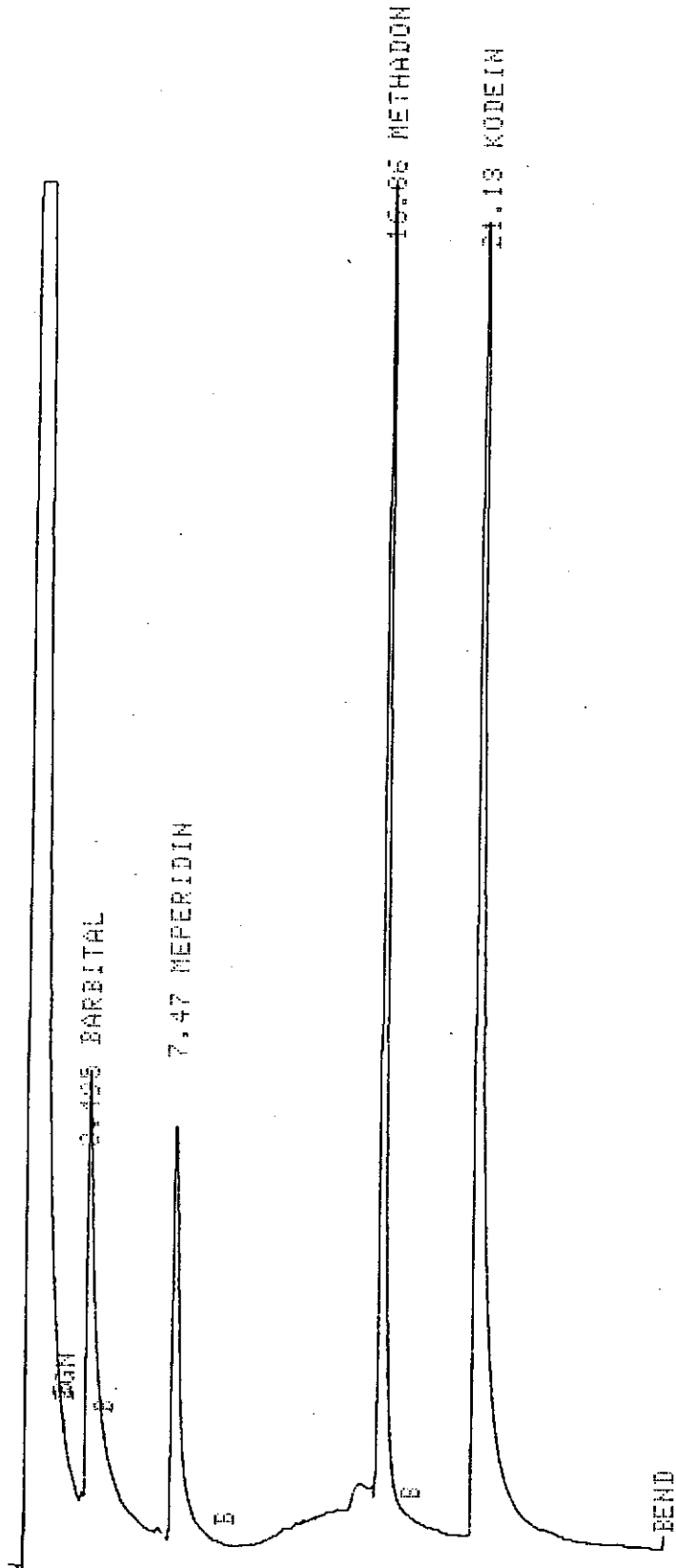
Şekil 10: Metanol de çözülmüş barbital (RT: 3.20) ve meperidin (RT: 7.38) içeren çözeltinin GC Kromatogramı.



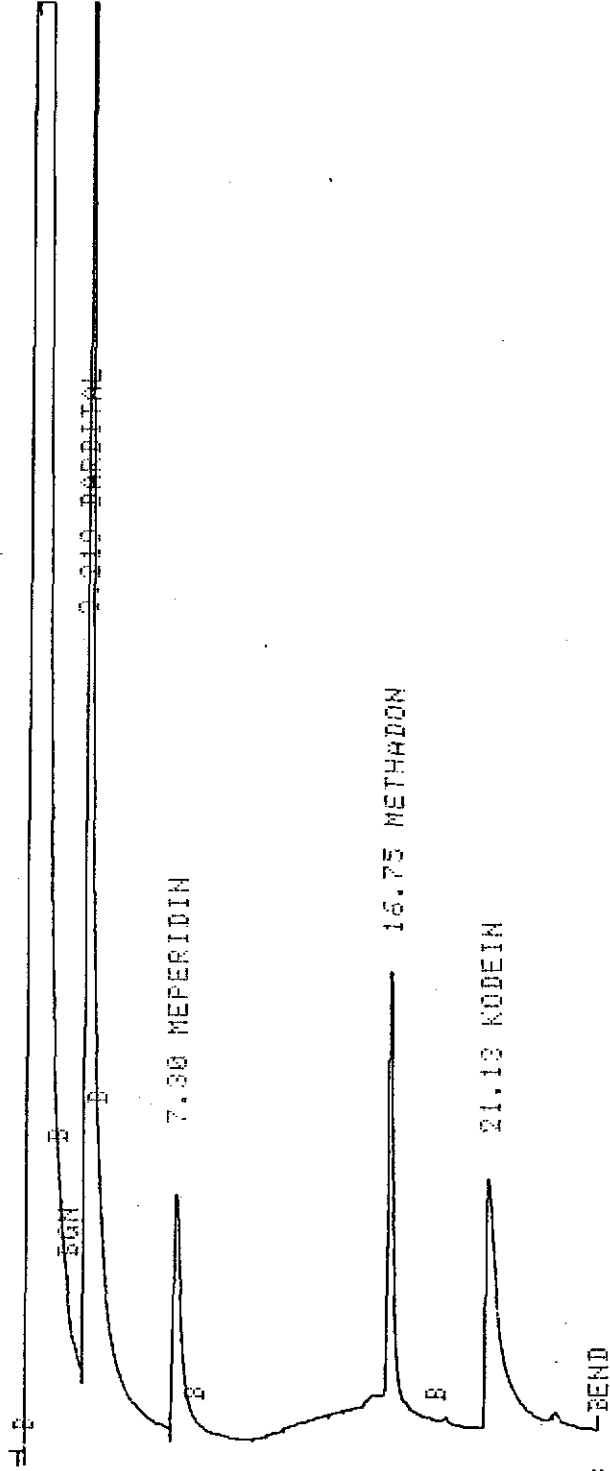
Şekil 11: Metanol de çözülmüş barbital (RT: 3.22) ve metadon (RT: 16.82) içeren çözeltinin GC Kromatogramı.



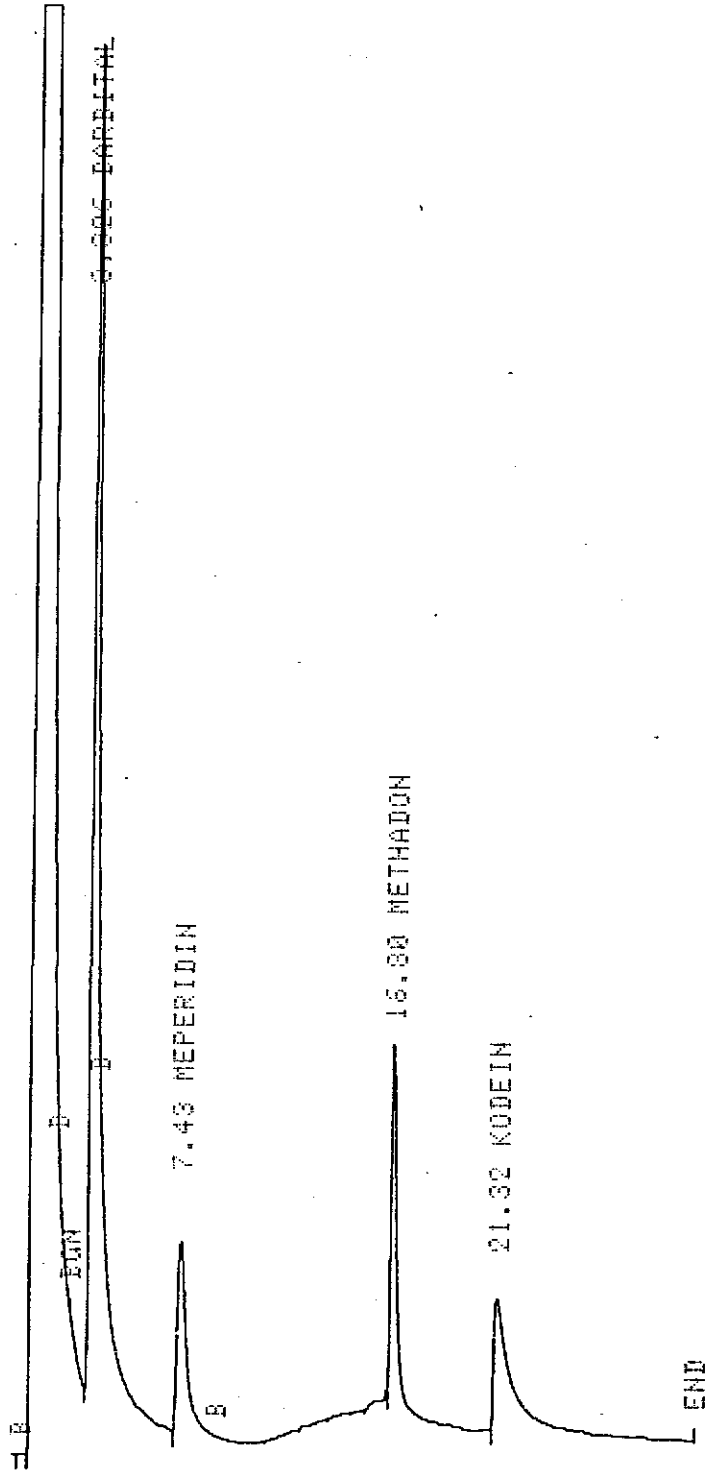
Şekil 12: Metanol de çözülmüş barbital (RT: 3.321) ve kodein (RT: 21.21) içeren çözeltinin GC Kromatogramı.



Şekil 13: Metanol de çözülmüş barbital, meperidin, metadon ve kodein içeren çözeltinin GC Kromatogramı.



Şekil 14: Birinci seyreltme sonucu oluşan çözeltinin $0.5 \mu\text{l}$ si ile elde edilen GC kromatogramı Atenasyon: 8, kağıt hızı 3 mm/dk.



Şekil 15: Biyolojik materyalin (idrar)ın ekstraksiyonu sonucu oluşan çözeltilinin $0.5 \mu\text{l}$ si ile elde edilen GC kromatogramı. Atenasyon: 8, kağıt hızı: 3 mm/dk.

Tablo 9: Kromatogramlardan alınan standart çözeltilerin verileri.

Standart çözeltiler	RT Alikonma Süresi	Alan	RRT Bağıl Alikonma süresi	Miktar (mg)	Seyreltme Sırası
BARBİTAL (İSTD)	3.36	10.7287	1.00	400.0000	1
	3.36	10.9246	1.00	400.0000	2
	3.34	11.1429	1.00	400.0000	3
	3.35	11.1510	1.00	400.0000	4
	3.36	11.1602	1.00	400.0000	5
MEPERİDİN HCL	7.47	3.0284	2.25	29.0392	1
	7.48	1.0112	2.25	14.5218	2
	7.58	0.3636	2.75	7.2628	3
	7.61	0.1112	2.76	3.6314	4
	7.58	0.0555	2.76	1.8138	5
METADON HCL	16.91	4.6186	5.12	29.8092	1
	16.95	2.6785	5.23	14.9090	2
	17.04	1.4915	5.22	7.4548	3
	17.00	0.6982	5.21	3.2242	4
	16.99	0.2975	5.20	1.6108	5
KODEİN FOSFAT	21.47	5.7774	6.58	100.420	1
	21.61	3.0109	6.70	50.1336	2
	21.62	0.5583	6.53	25.0094	3
	21.42	0.2915	6.58	12.5537	4
	21.46	0.1436	6.42	6.2734	5

IV.3. Hesaplamaların sonuçları ve kalibrasyon eğrileri:

Bu çalışmadaki deneylerde kullanılan standart maddelerin molekül ağırlıkları aşağıda verilmiştir.

Meperidin: 247.35 gr/mol.

Meperidin HCl: 283.80 gr/mol.

Metadon: 309.50 gr/mol.

Metadon HCl: 245.90 gr/mol.

Kodein: 299.36 gr/mol.

Kodein PO₄: 397.37 gr/mol.

Deneylerimizde GC cihazımızın okumuş olduğu değerler baz (temel) halinde olduğundan numunelerin miktarlarını baz cinsinden hesaplamak gerekmektedir.

$$\text{Meperidin} \frac{247.35}{283.80} \times 100 = \%87.156.$$

$$\text{Metadon} \frac{309.50}{345.90} \times 100 = \%89.476.$$

$$\text{Kodein} \frac{299.36}{397.37} \times 100 = \%75.335.$$

Barbital = %100 (iç standart olarak kullanıldığından değeri %100 olarak girilmiştir.)

Birinci seyreltme sonucunda hazırlanan numune içindeki meperidin, metadon ve kodein miktarlarınının 100 ml de hesaplanmasında aşağıdaki değerler elde edilmiştir:

$$\text{Meperidin} \frac{1 \text{ mg} \times 0.87156 \times 100 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} = 29.052 \text{ mg.}$$

$$\text{Metadon} \quad \frac{1 \text{ mg} \times 0.89476 \times 100 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} = 29.052 \text{ mg.}$$

$$\text{Kodein} \quad \frac{4 \text{ mg} \times 0.75335 \times 100 \text{ ml}}{3 \text{ mg.}} = 100.446 \text{ mg.}$$

Deneylerimizde 0.5 μ l enjeksiyon yapıldığında, enjeksiyonunda elde edilen standart madde miktarları aşağıda hesaplandığı gibidir.

$$\text{Meperidin: } 29.052 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 0.29052 \text{ mg/ml} = 0.29052 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

$$\text{Enjekte edilen meperidin miktarı: } 0.5 \mu\text{l} \times 0.29052 \mu\text{g}/\mu\text{l} \\ 0.14526 \mu\text{g} = 145.26 \text{ ng.}$$

$$\text{Metadon: } 29.825 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 0.29825 \text{ mg/ml} = 0.29825 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

$$\text{Enjekte edilen metadon miktarı: } 0.5 \mu\text{l} \times 0.29825 \mu\text{g}/\mu\text{l} \\ 0.149125 \mu\text{g} = 149.12 \text{ ng.}$$

$$\text{Kodein: } 100.446 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 1.0044 \text{ mg/ml} = 1.0044 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

$$\text{Enjekte edilen kodein miktarı: } 0.5 \mu\text{l} \times 1.0044 \mu\text{g}/\mu\text{l} \\ 0.5022 \mu\text{g} = 502.2 \text{ ng}$$

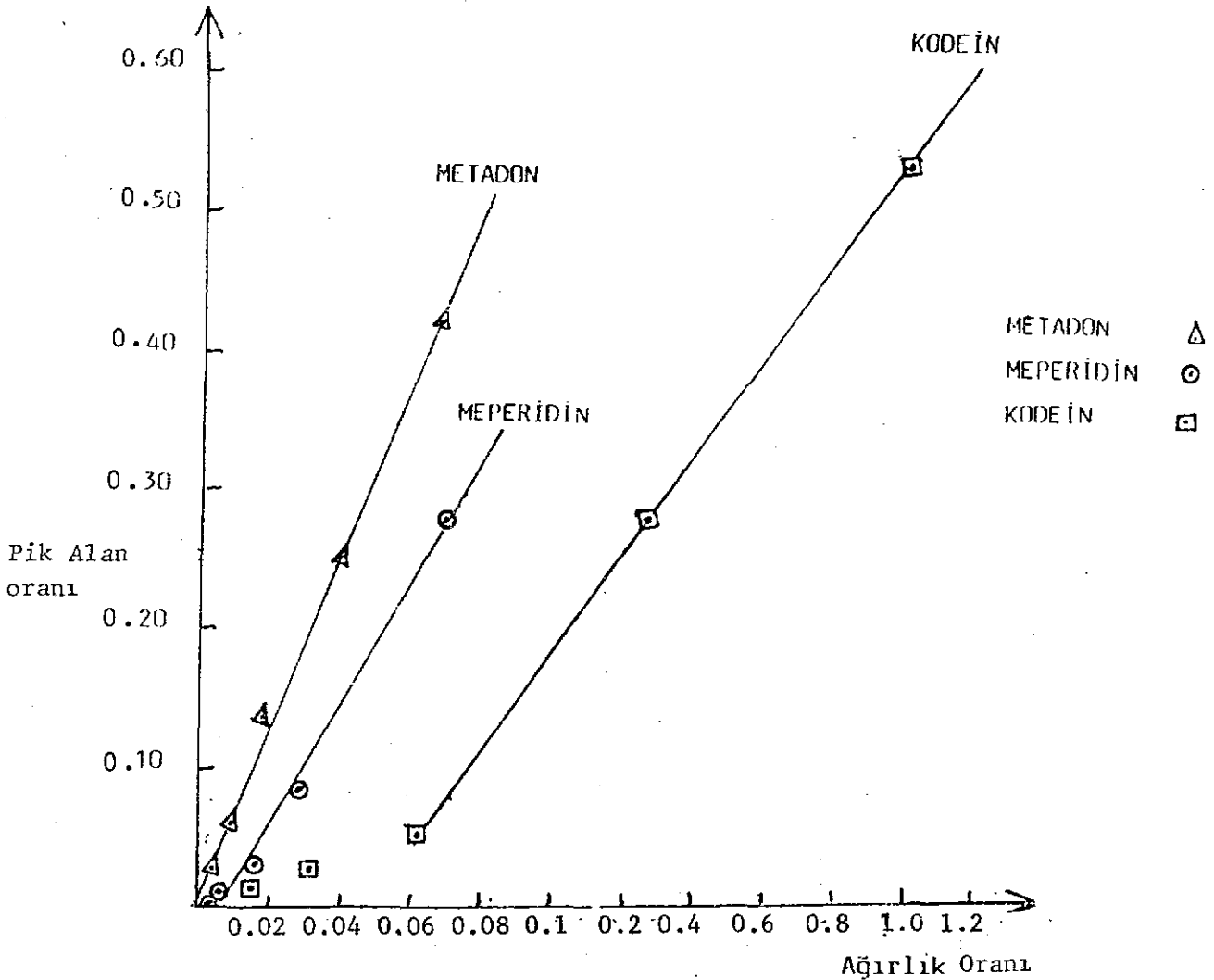
Benzer şekilde yapılan hesaplamalar Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Hesapların Sonuçları

Seyreltme sayısı	Derişim ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Enjekte edilen miktar (μl)	Enjekte miktarı (ng)	Deney sonucu elde edilen miktar (ng)	Verim %
MEPERIDİN	0.2905	0.5	145.260	145.196	99.95
	0.1452	0.5	72.630	72.609	99.97
	0.0726	0.5	36.315	36.314	99.99
	0.0363	0.5	18.170	18.157	99.92
	0.0181	0.5	9.085	9.069	99.82
METADON	0.2982	0.5	149.125	149.046	99.94
	0.1491	0.5	74.562	74.595	100.04
	0.0745	0.5	37.280	37.274	99.98
	0.0322	0.5	16.190	16.121	99.57
	0.1614	0.5	8.070	8.054	99.80
KODEİN	1.0044	0.5	502.200	502.110	99.98
	0.5022	0.5	251.100	250.100	99.60
	0.2511	0.5	125.550	125.047	99.59
	0.1255	0.5	62.775	62.768	99.98
	0.0627	0.5	31.387	31.367	99.93

Kalibrasyon eğrileri:

Kalibrasyon eğrileri, elde edilen kromatogramlardaki pik alanları ($\frac{\text{bileşen}}{\text{standart}}$) a karşı, ağırlık ($\frac{\text{bileşen}}{\text{standart}}$) oranları hesaplanarak tek bir grafik üzerinde analiz edilen üç maddeyi içerecek şekilde çizilmiştir (Şekil 16). Pik Alan ve ağırlık oranlarının hesaplanması tablo 11 de gösterilmiştir.



Şekil 16: Meperidin, Metadon ve Kodeinin kalibrasyon eğrileri (şekildeki noktalar 5 deneyin ortalamasıdır).

Tablo 11. Pik alan ve Ağırlık oranları

Standart numune	Seyreltme sırası	Ortalama pik alanı (bileşen standard)		Ortalama miktar (bileşen standard)		St. Saptama		St. Hata		V. katsayısı	
		(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
NEPERİDİN	1	0.2826	0.0726	0.0128	2.1579x10 ⁻⁵	5.7387x10 ⁻³	9.6505x10 ⁻⁶	4.5394	0.0297		
	2	0.0925	0.0363	3.2371x10 ⁻³	8.9442x10 ⁻⁶	1.4477x10 ⁻³	4.0000x10 ⁻⁶	3.4963	0.0246		
	3	0.0326	0.0181	2.9533x10 ⁻³	7.6293x10 ⁻⁶	1.3206x10 ⁻³	3.4119x10 ⁻⁶	9.0357	4.2012x10 ⁻²		
	4	0.0099	0.0090	1.4774x10 ⁻³	7.1366x10 ⁻⁶	6.6072x10 ⁻⁶	3.1916x10 ⁻⁶	0.1480	7.8597x10 ⁻²		
	5	0.0049	0.0045	7.8763x10 ⁻⁶	4.9910x10 ⁻⁷	3.5224x10 ⁻⁶	2.2321x10 ⁻⁷	0.1607	0.0110		
METADON	1	0.4311	7.4538x10 ⁻²	1.8814x10 ⁻²	3.0517x10 ⁻⁵	8.4141x10 ⁻³	1.3647x10 ⁻⁵	4.3641	4.0942x10 ⁻²		
	2	0.2451	0.0372	4.6177x10 ⁻³	1.8688x10 ⁻⁵	2.0651x10 ⁻³	8.3575x10 ⁻⁶	1.8633	5.0139x10 ⁻²		
	3	0.1339	0.0186	4.6664x10 ⁻³	7.6293x10 ⁻⁶	2.0866x10 ⁻³	1.4119x10 ⁻⁶	3.4839	0.0409		
	4	0.0626	0.0080	4.1000x10 ⁻⁴	8.0921x10 ⁻⁶	1.6335x10 ⁻⁴	3.6189x10 ⁻⁶	0.6549	0.1003		
	5	0.0266	0.0040	3.1960x10 ⁻⁵	7.4091x10 ⁻⁷	1.9233x10 ⁻⁵	3.3135x10 ⁻⁷	0.1201	0.0185		
RODEİN	1	0.5392	0.2056	2.1581x10 ⁻²	0.1010x10 ⁻¹	9.6514x10 ⁻³	4.5169x10 ⁻³	4.0021	4.9076		
	2	0.2756	0.1253	7.0666x10 ⁻³	3.4526x10 ⁻⁴	3.1343x10 ⁻³	1.5440x10 ⁻⁴	2.5928	0.2754		
	3	0.0493	0.0626	8.1273x10 ⁻³	2.2006x10 ⁻⁴	3.6346x10 ⁻³	9.8416x10 ⁻⁵	14.4657	0.3513		
	4	0.02614	0.0313	4.8252x10 ⁻⁵	1.0789x10 ⁻⁵	2.1579x10 ⁻⁵	4.8252x10 ⁻⁶	0.1845	3.4379		
	5	0.0128	0.0156	2.9431x10 ⁻⁶	9.0312x10 ⁻⁶	4.0389x10 ⁻⁶	0.0229x10 ⁻⁶	0.0229	0.0578		

IV.4. Biyolojik sıvıda yapılan uygulamanın verileri
ve ekstraksiyon verimi:

Ekstrakte edilmiş biyolojik materyalin (idrara)ın gaz kromatografik verileri Tablo 12'de gösterilmiştir. Bu bir ön çalışma niteliğinde olduğundan sadece birinci seyreltme yapılarak alınan veriler Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12: Kromatogramlardan alınan biyolojik materyal
(idrar) verileri:

Ekstrakte edilmiş biyolojik materyal (idrara)	RT (Alikonma süresi)	Alan	RRT (Bağlı Alikonma süresi)	Miktar (mg)	seyreltme sırası
BARBİTAL (İSTD)	3.82	10.6983	1.00	400.0000	1
MEPERİDİN HCL	7.44	2.6938	2.23	25.9413	1
METADON HCL	16.84	4.0197	5.09	26.1249	1
KODEİN FOSFAT	21.33	4.5842	6.49	79.5914	1

Ekstraksiyon verimi: Bu çalışmada kullanılan biyolojik numuneler sağlıklı kişilerden alınan idrar örneklerine ilaç eklemek suretiyle elde edilmiştir. Alkali odun kömürü ile yapılan tüketme sonucunda elde edilen verimler Tablo 13'de gösterilmektedir.

Tablo 13 Ekstraksiyon verimi (%)

Ekstraksiyon sonucu elde edilen madde	% verim
Meperidin HCl	89.29
Metadan HCl	87.59
Kodein Fosfat	79.24

Ön çalışma verileri ve ekstraksiyon verimi bu çalışmanın biyolojik materyale uygulanabileceğini göstermektedir.

IV.5. Yöntemin analitik uygulanabilirliğinin saptanması:

Meperidin, metadon ve kodeinin gaz kromatografik kalibrasyon eğrileri için EK-1'de verilen doğrusal regresyon analizi ve korelasyon katsayıları hesaplanarak Tablo 14'de gösterilen sınırlar arasında yöntemin analitik olarak kullanılabilir nitelikte bir yöntem olup olmadığı istatistiksel yolla araştırılmıştır (104).

Tablo 14. Kalibrasyon eğrilerinin korelasyon ve regresyon katsayıları için yapılan hesaplamaların sonuçları ($\alpha=0.05$) (S.D= n-2)

Standart Eğri	n	b	r	S_r	t_H	t_T
Metadon	5	5.6607	0.9969	0.0454	21.9581	3.18
Meperidin	5	4.1429	0.9876	0.0906	10.9006	3.18
Kodein	5	2.8740	0.9863	0.0952	10.3602	3.18

Tablo 14. de görüldüğü gibi, her üç madde için, $t_H > t_T$ olması korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğunu gösterir. Sonuç da, yöntemin analitik olarak kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

BÖLÜM V.

TARTIŞMA ve SONUÇ

V.I. Yöntem Seçimine İlişkin Tartışma:

Maddelerin çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanan, spektrofotometrik, elektrokimyasal ve diğer analitik yöntemlerin uygulanışında karşılaşılan en önemli sorun karışımda bulunan maddelerin analiz sırasında tam bir ayrımlarının yapılmamasıdır. Bu nedenle karışımlardaki maddelerin, birbirlerinden ayrıldıktan sonra analizlerinin yapılması, yukarıda değinilen analiz yöntemlerinin etkinliğini artırıp sonuçların daha sağlıklı olmasını sağlar.

Distilasyon, kristalizasyon, ekstraksiyon, kimyasal ve elektrolitik çöktürme yöntemleri öteden beri bilinen ve uygulanan klasik ayırma yöntemleridir. Ancak bu klasik yöntemler kompleks karışımların ayrılmasında numune miktarının çok az olduğu durumlarda yetersiz kalmaktadır.

Kromatografi, iyon veya molekül halinde bulunan katı, sıvı ve gaz karışımlarındaki bileşenlerin, ikili faz sistemlerinde, dağılma katsayılarına dayanılarak ayrılmalarını sağlayan bir analitik yöntemdir.

Çalışma amacımızın narkotik analjezik olarak kullanılan kodein, meperidin ve metadonun birarada ayrımı ve miktar tayini olması nedeniyle kromatografi tekniğinin bizim için uygun bir teknik olduğu düşünülmüştür.

Diğer kromatografik yöntemler içerisinde gaz-sıvı kromatografisini seçmemizin nedeni, sözü edilen... maddeler için GLC nin ayırma veriminin çok iyi olması, kolaylıkla, nitel ve nicel analizlerinin yapılabilmesi, hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların alınması gösterilebilir(27-30).

V.2. Gaz-Sıvı Kromatografisi Yönteminin Uygulanmasına İlişkin Tartışma:

Kriminal polis laboratuvarlarında, kontrol altına alınmış ilaçların nitel analizlerinin yapılması genellikle yeterli olmaktadır. Kişinin kontrol altına alınmış ilacı ne kadar miktarda kullandığı ikinci derecede önemlidir.

Gerekli hallerde nicel analize başvurulmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda narkotik analjeziklerden kodein, meperidin ve metadon için öncelikle nitel analiz yöntemi geliştirilmiştir. Ayrıca bu maddelerin nicel analizleride yapılmış ve yöntemin biyolojik materyale (idrara) uygulanabileceği gösterilmiştir.

GC cihazımız kılcal kolon ile çalıştırılmak üzere tasarlanmış olmasına karşın, daha önce özelliklerini belirttiğimiz GLT kolonu çalışmamızda denenmiştir.

Paslanmaz çelik tübünge'in borusuna (çapına) bir cam astarı (liner) eritme işlemi ile yapılan bir kolon olup yüksek

sıcaklıklar (500°C) ve basınçlarda örneğin bozunmasını, kirlilik, absorpsiyon ve katalitik bozunmaları engelleyen metal sistemlerle beraber geleneksel akış yolu sorunlarının üstesinden gelebilen bir kolondur. Tubing çelik kuvveti ile cam'ın kimyasal etkisizliğini birleştirmektedir. 1/16, 1/8 ve 1/4 O.D. lerde olmaktadır. Normal metal tubing den ayırabilmek için siyah oksite bir durumda bulundurulmalıdır (fotoğraf 1).

Bu kolon yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerin kaynama noktası ayrımını yapar. Steroidler, ilaçlar, karbonhidratlar, polinükleer aromatikler,metabolitler başta olmak üzere genel amaçlı olup biomedikal uygulamalarda çok kullanışlıdır. İyi sıcaklık kararlılığı ile orta dereceli polarlılığı olan bir kolondur (97).

Yeni bir kolon olan GLT kolonu ile başarılı sonuçlar alınmış ve narkotik analjeziklerden kodein, meperidin ve metadona kolonun uygulanabileceği, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilebileceği anlaşılmıştır. Ayrıca bu kolonun cihazımız ile uyum içinde çalıştığının gösterilmiş olması kriminal polis laboratuvarlarında uygulanacak olan diğer kontrol altına alınmış ilaç analizleri için de yeni bir seçenek sağlamıştır.

altına alınmış ilaç analizleri için de yeni bir seçenek sağlamıştır.

Bu çalışmada dedektör olarak FID kullanılmıştır. Rutin ilaç analizleri için GLC de en çok kullanılan de ektör FID dir. Geniş bir dinamik aralığı (10^6) vardır ve birçok ilaç örneklerinin analizlerinde yeterli derecede duyarlık sağlamaktadır (27,52,56).

GLC de genellikle, dolgulu kolonlar için yüksek taşıyıcı gaz akış hızları (30-60 ml/dk.) söz konusu iken kılcal kolonlarda düşük taşıyıcı gaz akış hızları (1-5 ml/dk.) ile çalışılır. (57,60,62).

Bu aralıkta yaptığımız ön denemelerde ayırım için en uygun taşıyıcı gaz akış hızınının 4 ml/dk olduğu belirlenmiş ve çalışma boyunca bu akış hızı kullanılmıştır.

Diğer bir dedektör olan ECD, rutin ilaç analizlerinde genel olarak kullanılmamakta, spesifik bazı ilaçların hassas analizleri için tercih edilmektedir. Çünkü FID'ın duyarlılığı bu rutin analizler için yeterlidir. Ek olarak, FID'ın daha "sorunsuz" dedektör olduğu bildirilmektedir (56).

Ayrıca çoğunluk FID da ilaç analizleri ECD de olduğu gibi bir ön türevlendirme işlemi gerektirmemektedir (51,68). Birçok ilaç ve bunların metabolitleri kuvvetli elektrofilik özelliklere sahip olmadığından bu maddelerin ECD ile analizinden önce türevlendirilmeleri gerekir. ECD taşıyıcı gaz, çözücü, kolon kanaması gibi kaynaklardan kolaylıkla kirle-
nebilir.

ECD, FID a göre çok daha kolay temizlenebilir olmasına karşın aynı kolaylıkta kirlenebilir bir dedektördür. Kirlilik sonucu doğal olarak duyarlılık azalır. ECD ve kılcal çalışmalar için gazlar yüksek saflıkla olmalı ve kimyasal olarak örnek ile etkileşim yapmamalıdır (86). FID da genel de böyle bir sorun yoktur.

NPD dedektörünün toksikolojik ilaç analizlerinde geniş kullanımı olmakla beraber rutin ilaç analizlerinde sıklıkla başvurulmamaktadır. Bunun nedeni de rutin analizlerde NPD'nin yüksek duyarlılığının genellikle gerekmediğidir. Ayrıca NPD'nin işlem parametrelerinin FID'a göre daha kritik olduğu bilinmektedir. Bunun nedenide hidrojen gaz akış hızının dedektöre göre ayarlanmasının gereği ve sürekli olarak basınç altında tutulmasının güçlüğünden kaynaklanmaktadır. NPD'yi pestisidler gibi fosfor içeren bileşiklerde kullanmak en başarılı sonuçları getirmektedir. Bu dedektörün azot içeren organik bileşiklere karşı yanıtı, moleküldeki azot atomlarının sayısına ve onların yapısal çevresine bağlıdır. NPD'nin birçok azot içeren ilaçlar için FID'ından on katı kadar daha duyar olduğu saptanmıştır (21,86).

Katı destekleyici olarak Chromosorb WHP kullanılmıştır. İlaç analizlerinde yüksek sıcaklıkta kararlı olan ve düşük kolon kanamalarına yol açan düşük-orta polariteli dolgulu kolonlar tercih edilir. Bunlar daha hızlı bir analiz ve iyi bir ayırım sağlarlar. Genelde en çok kullanılanlar %3 OV-1, %3 OV-17, %3 OV-25, %3 OV-110 ve eşdeğerli fazlara sahip genel amaçlı kolonlardır (27,52,57,79).

Bu çalışmada %3 OV-101 sabit fazlı kolon kullanılmıştır.

Taşıyıcı gaz olarak azot seçilmesinin nedeni ucuz ve emniyetli olmasından kaynaklanmaktadır (86).

Hidrojen gaz tüpü yerine suyun elektrolizi yöntemi ile hidrojen gazı üreten ve çeşitli filtrelerden geçirilerek uygun saflık sağlayan hidrojen jeneratörü kullanılmıştır. Bu jeneratörün dikkatli bakımı ile başarılı sonuçlar alınabileceğini çalışmamızda gözlenmiştir.

Kolon sıcaklığı ilaç yapısı ve özelliklerine bağlı olarak seçilmektedir. (52,99). Üst sıcaklık sınırları birçok kolon için (OV serisi gibi) 350 °C dir. Mümkün olabilecek en üst sıcaklık sınırını kullanmak, ilaçların hızlı bir şekilde kolondan geçmesine neden olur. Sonuç da kolonda kirlenmesi önlenmiş olunur. Bu çalışmada sıcaklık programlanması yapılmış ve üst sıcaklık sınırı olarak 240 °C de ilaçların hızlı ayırımı sağlanmıştır.

Enjeksiyon ve dektör sıcaklıkları genelde kolon sıcaklığının yaklaşık olarak 30 °C üzerinde olmalıdır. İlaçların bu sıcaklıkta bozunmadığı varsayılır. Nominal aralık 275-300 °C dir (99) çalışmamızda ön deneyler sonucunda 290 °C nin en uygun sıcaklık olduğu saptanmıştır.

Nitel analizlerde alıkonma süreleri saptanmadan önce renk testleri, İTK ve UV yöntemleri kullanılarak maddelerin safsızlığına kesinlik kazandırılması yoluna gidilmiştir.

Nicel analizler için iç standart (ISTD) yöntemi seçilmiştir. İç standart yöntemi diğerlerine göre daha kolay

ve pratikdir. Bir iç standart seçebilmek için bazı koşullar gerekmektedir. Bunlar sırasıyla iç standardın örnek içinde bulunmaması, örnek için kullanılan çözücüde eriyebilmesi, iyi bir kromatografik davranış gösterilmesi ve kolaylıkla saf durumda elde edilebilir olmasıdır (86). Bütün bu koşulları iç standart olarak seçtiğimiz barbital yerine getirebilmektedir (52). İç standart olarak denediğimiz ve halen kriminal polis laboratuvarlarında kullanılan %10'luk metanoldaki Lynsterol ve kafein ile bu kadar başarırlı sonuçlar elde edilememiştir.

Uygun bir çözücü olarak metanol seçilmiştir. Çünkü kolonda bozulmaz. veya dedektör performansını etkilemez (86-87).

Meperidin HCl ve metadon HCl standart maddelerinden 5'er mg alınarak stok iç standart çözeltisinde çözünmüştür. Kodein fosfat standardından ise, 5 mg alınarak hazırlanan stok çözeltisi ile yapılan deneylerde elde edilen kromatogramlardaki pik alanlarının çok düşük değerlerde olması nedeniyle kodein fosfat miktarı artırılmıştır. Kodein fosfat (20 mg /5 ml İSTD) olduğunda yeterli detektör yanıtı elde edilmiştir. Sonuç olarak bu madde için bu derişimden itibaren seyreltmelere başlanmasına karar verilmiştir.

Çizilen kalibrasyon eğrisinden görülebileceği gibi kodeinin dördüncü ve beşinci seyreltme değerlerini gaz kromatografik verileri, ideal doğrusallıktan sapmaktadır. Bunun nedeni; aktiflik ve dağılma katsayılarının matriks etkisi sebebiyle oluşmuş değişiklikleri olarak gösterilebilir.

Ayrıca bu seyreltmelerden sonra detektör yanıtının etkinliğinin azalması olabileceği gibi, meperidin ve metadona kıyasla kodeinin bu kolondaki davranışının iyi olmamasında (pik şeklinin yayvanlaşması) bağlanabilir.

V.3. Alınan Sonuçlara ilişkin tartışma:

Cihazımızın otomatik integratörünün maddelerimiz için beşinci seyreltme sonucu vermiş olduğu detekte edilebilirlik sınırı, meperidin için 9,069 ng, metadon için 8,054 ng ve kodein için 31,367 ng olarak belirlenmiştir. Bu seyreltmeden sonra pik alan ve şekillerinin iyice küçüldüğü görülmüştür.

Bu çalışmada, bir arada bulunan metadon, meperidin ve kodeinin GC de ayrılması yapıldığından detekte edilebilirlik alt sınırı, tek tek GC ye verilen maddelere göre daha az olmaktadır. Yapılan literatür araştırmasında çalışma koşullarımızın benzerine rastlanamamıştır.

Sonuç olarak; geliştirdiğimiz bu yeni yöntem basit, hızlı, duyarlı ve tekrarlanabilir olup, daha sonra GC de yapmayı planladığımız diğer narkotik analjezik analizlerinde bize ışık tutacaktır.

ÖZET

Bu çalışmada, bağımlılık yapma özellikleri suistimal edilme olasılığı fazla olan meperidin, metadon ve kodeinin nitel ve nicel olarak GLC de analizleri yapılarak alt tayin sınırları belirlenmiştir.

Çalışmalar 2mx3,2mm, %3 OV 101 GLT (Cam astarlanmış tübüler kolon Glass Lined Tubular Column) kolonu kullanılarak yapılmış ve yapılan farklı denemeler sonucu, 290 °C enjektör ve de aktör (FID) sıcaklıkları, 4 ml/dk taşıyıcı gaz (Azot) akış hızı, programlı sıcaklık (Başlangıç sıcaklığı 180 °C, başlangıç süresi 10 dk, artış hızı 10 °C/dk, son sıcaklık 240 °C ve son süre 14 dk) koşullarının en uygun olduğu belirlenmiş ve analizler bu koşullarda yapılmıştır.

Çalışmalar sonunda meperidin için 9.069 ng, metadon için 8.054 ng ve kodein için 31.367 ng değerleri dedekte edilebilirlik sınırı olarak belirlenmiştir. Ayrıca idrar ile çalışma yapılarak, yöntemin biyolojik materyallere uygulanabilirliği gösterilmiştir. Bu çalışmanın diğer önemli bir yanı da bu tür analizlerin GLT tipinde bir kolonda etkin bir şekilde yapılabilirliğinin gösterilmesidir.

SUMMARY

Aim of this experiment is to find out the lower limits of amounts of meperidine, methadone and codeine as quantitatively and qualitatively by GLC, which cause addiction and which have a great amount abusing.

This experiment has been run out by using the column of 2mx3,2mm 3% OV 101 GLT (Glass lined Tubular Column) and has been determined that injector and detector (FID) temperatures of 290 °C, Carrier gas (Nitrogen) of 4 ml/min, programmed temperature (beginning temperature: 180 °C, beginning time: 10 min; ramprate: 10 °C/min, final temperature: 240 °C and final time: 14 min), after a series of different experiments, analysis has been run out at these conditions.

After experiments, the values of 9,069 ng for meperidine, 8,094 ng for methadone and 31,367 ng for codeine has been determined that they are sensitivities limits. Separately, by the experiment with in urine, it is showed that this method is applicable to biological materials. Another important output of this experiment that, this kind of analysis can be successful with GLT column in a active way.

KAYNAKLAR

1. Sine, H.E., Mc Kenna, M.J., law, M.R., Murray, M.H.,
Emergency Drug Analysis, J. Chromatogr. Sci., 10, 297 (1972).
2. Stewart, R.B., Forgnane, M., May, F.G., Formes, J., Cluff,
L.E., Epidemiology of Acute Intoxicotions: Patients
Characteristics, Drugs and Medical Complications, Clin.
Toxicol., 7, 513 (1974)
3. Shulgin, A.T., Drugs of Abuse in the Future, Clin. Toxicol.,
8, 405 (1975).
4. "Geçen yıl Türkiye'de 12 milyon kutu uyuşturucu ilaç
Tüketildi", Ankara Eczacı Odası Bülteni, 7, 599 (1985).
5. Wheals, B.B., Isocratic Multi-Column High-Performance
liquid Chromatography as a Technique for Qualitative
Anaysis and Its Application to the Char cterisañion of
Basic Drugs Uring an Aqueous Methanol Solvent, J.Chromatog.
65, 187 (1980).
6. Doms, D.J., Latt, P.F., Forensic Chromatography, Trends
in Analytical Chemistry., 1, 105 (1982).
7. Manura, J.J., Chao, J.M., Saferstein, R, The Forensic
Identification of Heroin, J. Foren. Sci., 23,44 (1978).
8. Türk Farmakopesi 1974, Milli Eğitim Basımevi, İstanbul
(1974).
9. Falcao, R.F., Vianna, M.J., Determination of Salts of...

Organic Bases Using Diactyl Sodium Sulfosuccinate, Rev.
Part. Farm., 29, 201 (1979).

Ref: C.A. 92: 153223 z(1980).

10. Gill, R., Bal, T.S., Moffat, A.C., The Application of Derivative UV-Visible Spectroscopy in Forensic Toxicology, J.Foren. Sci. Soc., 22, 165 (1982).
11. Mule, S.J., Determination of Narcotic Analgesics in Human Biological materials: Application of Ultraviolet Spectrophotometry, Thin-layer and Gas-Liquid Chromatography, Anal. Chem., 36, 1907 (1964).
12. Andres, C.N., Ultraviolet Absorption Data of pharmaceuticals, Microgram., 1, 145 (1968).
13. Takemori, A.E., Mannering, G.T., Lee, Y., Metabolic N-and O-demethylation of Morphine and Morphinan-Type Analgetics., Univ. Microfilms. Mic 58, 87 (1935).
14. Udenfriend, S., Fluorescence Assay in Biology and Medicine, vol. II, Academic Press, New York (1969).
15. Dezan, P., Canaff, R.F., Bionchi, R., Fluorimetric Characteristics of Some Narcotics and Dangerous Drugs, J.Assoc. Offic. Anal. Chem., 54, 4 (1971).
16. De Silva, J.A.F., D'Arcante, L., The Use of Spectrofluorometry in the Analysis of Drugs in Biological Materials, J.Foren. Sci., 14, 184 (1969).

17. Brandt, R., Rogozinsky, S., Cheronis, N., Spectrophotometric Method for the Microdetection and Estimation of Morphine and Codeine, *Microchem. J.*, 5, 215 (1961).
18. Juselius, R.E., Barnhart, F., Detection of Barbiturate, Narcotics, and Amphetamines in Urine, *Clin. Toxicol.*, 6, 53 (1973).
19. Gough, T.A., Baker, P.B., Identification of Major Drugs of Abuse Using Chromatography, *Chromatogr. Sci.*, 20, 289 (1982).
20. Yeh, S.Y., Krebs, H.A., Thin-Layer Chromatography and Gas-Liquid Chromatography Determination of Meperidine and Its Metabolites in Biological fluids, *J. Pharm. Sci.*, 70, 482 (1981).
21. Machata, G., Vycudilik, W., Gas Chromatographic Analysis of Illicit Heroin Samples, *J. Anal. Toxicol.*, 4, 318 (1980).
22. Valentine, J.L., Wiegert, P.E., Charles, R.L., GLC Determination of methadone in Human Urine, *J. Pharm. Sci.*, 61, 796 (1972).
23. Gill, R.L.B., Moffat, A.C., High-Performance Liquid Chromatography Retention Data for 84 Basic Drugs of Forensic Interest on a Silica Column Using an Aqueous Methanol Eluent, *J. Chromatogr.*, 301, 165 (1984).
24. Baker, P.B., Gough, T.A., The Separation and Quantitation of the Narcotic Components of Illicit Heroin Using Reversed-Phase High-Performance liquid Chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, 19, 483 (1981).

25. Gupta, V.D., Ghanekar, A.G., Quantitative Determinations of Codeine phosphate, Guaifenesin, pheniramine maleate, phenyl propanolamine hydrochloride, and pyrilamine maleate in an Expectorant by High-Pressure Liquid Chromatography, J. Pharm. Sci., 66, 895 (1977).
26. Beasley, Sr. T.H., Ziegler, H.W., High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Methadone hydrochloride Oral Solution, J.Pharm. Sci., 66, 1749 (1977).
27. Bengüdeniz, T., The Study on Isolation and Identification of Illicit Drugs, United Nations Narcotics Laboratory Section, Vienna (1984).
28. Alm, S., Jonson, S., Karlsson, H., Sundholm, E.E., Simultaneous Gas Chromatographic Analysis of Drugs of Abuse on Two Fused-Silica Column of Different Polarities, J.Chromatogr., 254, 179 (1983).
29. Gough, T.A., Baker, P.B., Identification of Major Drugs of Abuse Using Chromatography: An Update, J. Chromatogr. Sci., 21, 145 (1983).
30. Andrey, R.E., Moffat, A.C., Gas-Liquid Chromatographic Retention Indices of 1318 Substances of Toxicological Interest on SE-30 or OV-1 Stationary Phase, J.Chromatogr., 220, 195 (1981).
31. Güven, K.C., İlaç ve Kozmetik Formülleri, 7. Baskı, İstanbul (1985).
32. Kayaalp, O., Tıbbi Farmakoloji, Cilt 1, Nüve Matbaası, Ankara (1983).

33. Lingeman, R.R., *Drugs From A to Z*, 2. Ed., Mc Graw-Hill Co, New York (1974).
34. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press, 60. Ed., USA (1979-80).
35. Clarke, E.G.C., *Isolation and Identification of Drugs*, Pharmaceutical Press, 2. Ed, London (1978).
36. *British Pharmacopeia 1973*, Her majesty's Stationary Office University Printing House, Cambridge (1973).
37. Fulton, C.C., *Modern Microcrystal Tests for Drugs*, Wiley Interscience Pub., NY (1969).
38. Sadtler, S.P., *Ultra-violet Spectra*, Sadtler Research Laboratories, Philadelphia, PA (1979).
39. Alha, A., *Infrared Absorption Spectroscopy in Forensic Toxicology Practice* in "Methods of Forensic Science, IV, "A. Curry, ed., Interscience Pub. (1965).
40. Van der Slooten, E.P.J., Vander Helm, H.J., *Comparison of the EMIT Opiate Assay and a Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Morphine and Codeine in Urine*, *Clin. Chem.*, 22, 110 (1976).
41. Mule, S.J., Whitlock, E., Jukofsky, D., *Radioimmunoassay of Drugs Subject to Abuse*, *Clin. Chem.*, 21, 86 (1975).
42. Bidanset, J.H., *Drug Analysis by Immunoassays*, *J. Chromatogr. Sci.*, 12, 293 (1974).
43. Kalvada, R., Zykka, J., *The Use of Oscillographic Polarography in the Determination of Narcotics*, *Bulletin on Narcotics*, April-June, 41 (1957).

44. Berman, E., Preston, S., Analysis of Drugs of Abuse by Chromatographic Methods, Preston Pub. Inc., Niles (1978).
45. Cone, E.J., Gorodetzky, C.W., Yeh, S.Y., Darwin, W.D., Buchwald, W.F., Detection and Measurement of Opium Alkaloids and Metabolites in Urine of Opium Eaters by Methane-⁻Chemical Ionization Mass Fragmentography, J. Chromatogr., 230, 57 (1982).
46. Cone, E.J., Buchwald, W., Yousefnejad, D., Simultaneous Determination of phencylidine and Monohydroxylated Metabolites in Urine of man by Gas Chromatography-Mass Fragmentography with Methane Chemical Ionization, J. Chromatogr., 223, 331 (1981).
47. Curry, A.S., Powell, H., Paper Chromatographic Examination of the Alkaloid Extract in Toxicology, Nature., 173, 1143 (1954).
48. Street, H.V., Simultaneous Detection of Alkaloid, Neutral, and Acidic Poisons in Human Tissues by High-Temp-Reversed-Phase Paper Chromatography, J. Foren. Sci. Soc., 2, 118 (1962).
49. Sunshine, I. (ed.), Handbook of Analytical Toxicology, The Chemical Rubber Co., Cleveland, OH (1969).
50. Pe, W., A Rapid Method of Screening Blood and Urine Samples for Narcotic Analgesics, J. Foren. Sci. Soc., 23, 221 (1983).
51. Stead, A.H., Gill, R., Wright, T., Gibbs, J.P., Moffat, A.C., Standardized Thin-Layer Chromatographic Systems for the Identification of Drugs and Poisons, Analyst., 107, 1106 (1982).

52. Steele, J.A., Solvent Systems for the Identification of Opiates in Narcotic Seizures by Thin-Layer Chromatography, *J. Chromatogr.*, 19, 300(1965).
53. Sunshine, I., Use of Thin Layer Chromatography in the Diagnosis of Poisoning, *Am. J. Clin. Path.*, 40, 576(1963).
54. Chan, M.L., Whetsell, C., Mc Chesney, J.D., Use of High Pressure Liquid Chromatography for the separation of Drugs of Abuse, *J. Chromatogr. Sci.*, 12, 152 (1974).
55. Dahlström, B., Paalzow, L., Edlund, P.O., Simultaneous Determination of Codeine and Morphine in Biological Samples by Gas Chromatography with Electron Capture Detection, *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, 41, 273 (1977).
56. Adams, R.F., Drug Analysis by Simultaneous Dual column GLC, Parts I and II, *Clin. Chem. Newsletter*, 4, 15 (1972).
57. Huizer, H., Logtenberg, H., Steenstra, A.J., Heroin in the Netherland, *Foren. Sci. Lab.*, Rijswijk (1976).
58. Moore, J.M., Bena, E.F., Rapid Gas Chromatographic Assay for Heroin in Illicit Preparations, *Anal. Chem.*, 44, 385 (1972).
59. Moore, J.M., The Application of Derivatization Technique in Forensic Drug Analysis, Drug Enforcement Administration, Special Testing and Research Lab., Virginia (1980).
60. Barbato, J., Analytical Manual, Private Communication, Northeast Regional Lab., Drug Enforcement Administration, Virginia (1973).

61. Brunson, M.K., Nash, J.F., Gas Chromatographic Measurement of Codeine and Norcodeine in Human Plasma, Clin. Chem., 21, 1956 (1975).
62. Mule', S.J., Methods for the Analysis of Morphine and Related Surrogates, J. Chromotogr. Sci., 12, 945 (1974).
63. Mule', S.J., Methods for the Analysis of Narcotics Analgesic and Amphetamines, J. Chromotogr. Sci., 10, 275 (1972).
64. Finkle, B.S., Cherry, E.J., Taylor, D.M., A Gasliquid Chromatography Based System for the Detection of Poisons, Drugs and Human Metabolites Encountered in Forensic Toxicology, J. Chromatogr. Sci., 9, 393 (1971).
65. Zweidinger, R.A., Weinberg, F.M., Handy, R.W., Quantitative GLC Determination of Codeine in Plasma, J. Pharm. Sci., 65, 427 (1976).
66. Swami, N.K., Golani, H.C., Dua, R.D., Assay of Major and Minor Constituents of Opium Samples and Studien of their Origin, Foren. Sci. Inter., 14, 181 (1979).
67. Lawrence, A.H., Mc Neil, J.D., Identification of Amphetamine and Related Illicit Drugs by Second Derivative Ultraviolet Spectrometry, Anal. Chem., 54, 23 (1982).
68. Gupta, D.V., Quantitation of Meperidine Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Forms by High-Performance Liquid Chromatography, J. Pharm. Sci. 72, 695 (1983).
Ref: C.A. 99: 43635x (1983).

69. Flanagan, R.J., Storey, G.C.A., Bhamra, R.K., Jane, I., High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Basic Drugs on Silica Columns Using a Nonaqueous Ionic Eluents, *J. Chromatogr.* 247, 15 (1982).
70. Hartvig, P., Fagerlund, C., A Simplified Method for the Gas Chromatographic Determinations of Pethidine and Norpethidine After Derivatization with Trichloroethyl Chloroformate , *J. Chromatogr.*, 274, 355 (1983).
71. Tse, J., Chan, K., The Simultaneous Determination of Pethidine and Norpethidine in Biofluids by Nitrogen Selective Gas Chromatography, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 3, 99 (1981).
Ref: C.A. 94:131871 y (1981).
72. Gupta, R.N., *CRC Handbook of Chromatography, Drugs vol I and II*, CRC Press, Florida (1981).
73. Szeto, H., Inturrisi, C.E., Simultaneous Determination of Meperidine and Normeperidine in Biofluids, *J. Chromatogr.*, 125, 503 (1976).
74. Mather, L.E., Tucker, G.T., Meperidine and other Basic Drugs: General Method for their Determination in Plasma, *J. Pharm. Sci.*, 63, 306 (1974).
75. Knowles, J.A., White, G.R., Ruelius, H.W., Determination of Meperidine in Human Plasma and Urine by GLC, *Anal. Lett.*, 6, 281 (1973).
76. Siek, T.J., The Analysis of Meperidine and Normeperidine in Biological Specimens, *J. Foren. Sci.*, 23, 6 (1978).

77. Evans, M.A., Harbison, R.D., Micromethod for Determination of Meperidine in Plasma, *J. Pharm. Sci.*, 66, 599 (1977).
78. Butler, W.P., *Methods of Analysis*, Internal Revúne Service Pub. 341, (Rev.6/67) (1973).
79. Jain, N.C., Leung, W.J., Budd, R.D., Sneath, T.C., TLC Separation of Methadone and its Primary Metaboltes in the Presence of the other Drugs in Urine, *J. Chromatogr.*, 103, 85 (1975).
80. Davis, C.M., Fenimore, D.C., Improved Thin-Layer Chromatographic System for Methadone and its Metabolites in Biological Samples, *J. Chromatogr.*, 104, 193 (1975).
81. Thompson, B.C., Caplan, Y.H., A Gas Chromatographic Method for the Determination of Methadone and its Metabolites in Biological Fluids and Tissues, *J. Anal. Toxicol.*, 1, 66 (1977).
82. Naresh, C.J., Budd, R.D., Leung, W.J., Sneath, T.C., Rapid Screening and Confirmation of Amphetamine, Methamphetamine, Methadone, and Methadone Metabolite in Urine by Gas/Thin Layer Chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, 14, 293 (1976).
83. Lynn, R.K., Leger, R.M., Gordon, W.P., Olsen, G.D., Gerber, N., New Gas Chromatographic Assay For the Quantification of Methadone, *J. Chromatogr.*, 131, 329 (1977).
84. Inturrisi, C.E., Verebely, K., A Gas-Liquid Chromatographic Method for the Quantitative Determination of Methadone in Human Plasma and Urine, *J. Chromatogr.*, 65, 361 (1972).

85. Goldston, B., Private Communication, South Central Regional Lab, Drug Enforcement Administration, California (1973).
86. Vander Slooten, E.P.J., Vander Helm, H.J., Geerlings, P.J., Gas Chromatographic Detection of Methadone and Morphine in the Urine of Drug Addicts, *J. Chromatogr.*, 60, 131 (1971).
87. Robinson, E.A., Holder, T.A., Chemical Evaluation of Drug Cocktails in Autopsy Specimens, *J. Chromatogr. Sci.*, 12, 281 (1974).
88. Hackey, D.L., Kreek, M.J., Mattsan, D.H., Quantitative Analysis of Methadone in Biological Fluids Using Deuterium-labeled Methadone and GLC-CI Mass Spectrometry, *J. Pharm. Sci.*, 66, 1749 (1977).
89. Choulis, N.H., Papadopoulos, H., Gas-Liquid Chromatographic Determination of Methadone in sustained-Release Tablets, *J. Chromatogr.*, 106, 180 (1975).
90. Bobbitt, J.M., *Thin-layer Chromatography*, Reinhold. New York (1963)
91. Stani, G., *Thin-layer Chromatography*, George Allen and Urwin, Springer Verlag, Berlin (1969)
92. Hadden, N., Baumann, F., Mac Donald, F., Munk, M., Stevenson R., Gare, D., Zamoroni, F., Majors, R., "Basic Liquid Chromatography. Varran Aerograph, Walnut Creak, California (1971.)

93. Mc Nair, H.M., Bonelli, E.J., Basic Gas Chromatography, Varian Instrument Division, 5. ed., California (1969).
94. Johnson, J.F., Guide to Modern Methods of Instrumental Analysis, Wiley-Interscience, California (1972).
95. Skoog, D.A., West, D.M., Fundamentals of Analytical Chemistry, Holt Rinehart and Winston Inc. 3. ed., New York (1976).
96. Şener, B., Orbey, M.T., Temizer, A., Modern Analiz Yöntemleri, Seldem Ofset, Ankara (1986).
97. Chromatography, Cat. No: 50, Alltech Assac. Inc., Deerfield (1983).
98. Sümbüloğlu, K., Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Çağ Matbaası, Ankara (1978).

EK 1 : Standart Eğrilerin Çizilmesinde Yapılan İstatistiksel

Hesaplamalar:

Korelasyon katsayısı (r) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (98).

$$r = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sqrt{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n})(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n})}}$$

x: Alan

y: Miktar

Korelasyon katsayısının önem kontrolü için H_0 hipotezi "Korelasyon katsayısı tesadüfi bir değerdir" şeklinde kurulmuştur. Bu hipotezi sınamak amacıyla korelasyon katsayısının standart hatası (S_r) bulunarak t_H değeri hesaplanmıştır.

$$t_H = \frac{r}{S_r}$$

$$S_r = \frac{1-r^2}{n-2}$$

Bundan sonra t tablosuna başvurularak 0.05 yanılma olasılığında, n-2 serbestlik derecesinde t_T değeri saptanmıştır. t_H değeri t_T değerinden büyük olduğu için H_0 hipotezi reddedilerek korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

1958 yılında Ankara'da doğdum. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldum. Yedek Subaylık görevimi tamamladıktan sonra bir süre özel sektörde kimyager olarak çalıştım. 1985 yılında Kriminal Polis Laboratuvarlarında göreve başladım. Halen aynı yerde kimyager olarak çalışmaktayım.

