

**GC/FID CİHAZI İLE KANTİTATİF
MDMA ANALİZİ METOT VALİDASYONU
MESUT ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİMDALI
DANIŞMAN: DOÇ. DR. NURİYE AKBAY
2016**

**T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GC/FID CİHAZI İLE KANTİTATİF MDMA ANALİZİ
METOT VALİDASYONU**

Mesut ŞAHİN

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN:DOÇ.DR.NURİYE AKBAY

TEKİRDAĞ-2016

Her hakkı saklıdır

Bu tez NKÜBAP tarafından NKUBAP.00.10.YL.14.05 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Doç. Dr. Nuriye AKBAY danışmanlığında, Mesut ŞAHİN tarafından hazırlanan “GC/FID CİHAZI İLE KANTİTATİF MDMA ANALİZİ METOT VALİDASYONU” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Analitik Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Doç. Dr. YELDA YALÇIN GÜRKAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. AYŞE UZGÖREN BARAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. NURİYE AKBAY

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GC/FID CİHAZI İLE KANTİTATİF MDMA ANALİZİ METOT VALİDASYONU

Mesut ŞAHİN

Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nuriye AKBAY

Ecstasy tabletler kullanıcıların devamlı olarak doz artırma ihtiyacı duyduğu yüksek bağımlılık potansiyeli bulunan maddelerdir. Yasadışı olarak tüketimi çok yaygın olan bu tabletlerin içerdikleri MDMA miktarları hem cezalandırma açısından hem de kullanıcı sağlığı açısından önem kazanmaktadır. Adli Bilimlerde doğruluğundan şüphe duyulmayan kanıtlar elde etmek için geçerli ve güvenilir metotlar kullanmak gerekmektedir. Bu çalışmada ecstasy tabletlerin içerdikleri MDMA miktarlarını tespit edebilmek amacıyla GC/FID cihazıyla geçerli kılma çalışmaları yapılmış ve geçerli kılma parametreleri incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: MDMA, ekstazi, validasyon, GC/FID

2016 , 46 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

QUANTITATIVE ANALYSIS OF MDMA WITH GC/FID METHOD VALIDATION

Mesut ŞAHİN

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Analytical Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Nuriye AKBAY

Ecstasy tablets, the users of which constantly feel the need to increase the dosage are substances of high addictive potential. MDMA amounts contained in those tablets, illegal consumption of which is highly widespread, carry importance in terms of both prosecution and users health. In forensic science, valid and reliable methods should be used to obtain proofs wherein there is no room for doubt.

In this study, with a view to be able to detect the MDMA amounts contained in ecstasy tablets, validation work is carried out and validation parameters are surveyed through a GC/FID device.

Keywords: MDMA, ecstasy, validation, GC/FID

2016 , 46 pages

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGE DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖNSÖZ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. MDMA	5
2.2. Gaz Kromatografisi	6
2.2.1. Tarihçe	6
2.2.2. Çalışma prensibi	6
2.2.2.1. Taşıyıcı gaz.....	9
2.2.2.2. Numune girişi	9
2.2.2.3.Kromatografik kolon	10
2.2.2.4. Sıcaklığın etkisi ve kontrolü	11
2.2.2.5. Gaz kromatografi dedektörleri.....	13
2.3. Validasyon-Geçerli Kılma.....	14
2.3.1. Geçerli kılma seviyeleri.....	15
2.3.2. Validasyon parametreleri.....	15
2.3.2.1. Doğruluk.....	16
2.3.2.1.1. Gerçeklik.....	16
2.3.2.1.2. Kesinlik.....	17
2.3.2.1.2.1.Tekrarlanabilirlik.....	17
2.3.2.1.2.2.Tekrar üretilebilirlik.....	18
2.3.2.2. Seçicilik.....	18
2.3.2.3. Tespit limiti(LOD) ve tayin limiti(LOQ).....	19
2.3.2.4. Metot sağlamlığı.....	20
2.3.2.5. Lineer aralık ve çalışma aralığı.....	20
2.3.2.6. Geri kazanım.....	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Kullanılan Alet ve Gereçler.....	23

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
3.2.1. İç standart çözeltisinin hazırlanması.....	23
3.2.2. Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.....	23
3.3. Cihaz ve Metot	25
3.4. Uygulama Çalışması.....	25
3.5. Metot Geçerli Kılma Parametreleri.....	26
3.5.1. Doğruluk.....	26
3.5.2. Seçicilik.....	26
3.5.3. Geri kazanım.....	26
3.5.4. Kesinlik.....	26
3.5.4.1. Tekrarlanabilirlik.....	26
3.5.4.2. Tekrar üretilebilirlik.....	27
3.5.5. Lineer aralık ve ölçüm aralığı.....	27
3.5.6. Tespit limiti(LOD)ve tayin limiti(LOQ).....	27
3.5.7. Metot sağlamlığı.....	27
3.6. Hesaplamalarda Kullanılan İstatistikî Yöntemler.....	28
3.7. Laboratuvarlararası Karşılaştırma Testleri.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	32
4.1. Doğruluk.....	32
4.2. Seçicilik.....	32
4.3. Geri kazanım.....	33
4.4. Kesinlik.....	34
4.4.1. Tekrarlanabilirlik.....	34
4.4.2. Tekrar Üretilebilirlik.....	35
4.5. Lineer aralık ve ölçüm aralığı.....	36
4.6. Tespit Limiti(LOD)ve Tayin Limiti(LOQ).....	38
4.7. Metot Sağlamlığı.....	39
4.8. Homojenizasyon.....	39
4.9. Laboratuvarlararası Karşılaştırma Testleri.....	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	41
6. KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ	46

ÇİZELGE DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1.Gaz kromatografidedektörlerinin uygulandığı numune tipleri.....	13
Çizelge 2.2.AOAC(Uluslararası analitik topluluklar birliği) rehberinde önerilen metot validasyonu parametreleri.....	15
Çizelge 3.1.%95 güven seviyesi için kritik F değerleri.....	29
Çizelge 3.2. İki taraflı bir test için kritik t değerleri.....	30
Çizelge 4.1.MDMA için doğruluk değerleri.....	32
Çizelge 4.2. MDMA ve diğer etken maddelerin tutunma zamanları.....	33
Çizelge 4.3. %84'lük referans MDMA örneğinin geri kazanım çalışması.....	33
Çizelge 4.4. %20'lik MDMA örneğinin tekrarlanabilirlik verileri.....	34
Çizelge 4.5.%20'lik MDMA örneğinin tekrar üretilebilirlik verileri.....	35
Çizelge 4.6.MDMA için doğrusallık verileri.....	36
Çizelge 4.7.MDMA analiz metodu için doğrusallık çalışması sonuçları.....	37
Çizelge 4.8.MDMA için tespit ve tayin sınırları.....	38
Çizelge 4.9.3 farklı örnek için cihaz üzerinde bekleme süresinin sonuçlara etkisi.....	39
Çizelge 4.10.%20'lik MDMA örneğinin homojenite testi.....	40

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1.MDMA'nın kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.2.Kromatografik ayırma yöntemi.....	7
Şekil 2.3. Gaz kromatografi cihazının bölümleri.....	8
Şekil 2.4. Taşıyıcı gazların sabit basınç ve sabit akış altında sıcaklık-akış diyagramları.....	9
Şekil 2.5. Enjeksiyon bloğu çalışma sistemi.....	10
Şekil 2.6. Dolgulu ve kapiler kolonlar.....	11
Şekil 2.7. Gaz kromatogramlarına sıcaklığın etkisi.....	12
Şekil 2.8. FID dedektör.....	14
Şekil 2.9. Gerçeklik ve kesinlik.....	16
Şekil 2.10.Kromatogramlarda sinyal ve gürültü arasındaki ilişki.....	19
Şekil 4.1.MDMA için hazırlanan konsantrasyon düzeyine karşılık gelen okunan konsantrasyon değerleri.....	37
Şekil 4.2.MDMA için hazırlanan konsantrasyon düzeyine karşılık gelen artık değerleri.....	37
Şekil 4.3.MDMA için hazırlanan konsantrasyon düzeyine karşılık gelen bağıl standart sapma değerleri.....	38
Şekil 4.4.MDMA için homojenizasyon sonuçlarının dağılımı.....	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Amu	: AtomicMassUnit
AOAC	: Association of AnalyticalCommunities
C	: Derişim
⁰ C	: Santigrat derece
ENFSI	: European Network ForensicScienceInstitutes
g	: Gram
GC/FID	: GazKromatografi Alevli İyonizasyonDedektör
GC/MS	: GazKromatografi Kütle Dedektör
kg	: Kilogram
L	: Litre
LOD	: Limit of Dedection
LOQ	: Limit of Quantitation
MBDB	: 1,3-Benzodioxolyl-N-methylbutanamine
MDA	: Metilendioksiamfetamin
MDEA	: 3,4-methylenedioxy-N-ethyl-amphetamine
MDMA	: 3-4 Metilendioksimetamfetamin
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre.
μ L	: Mikrolitre
μ m	: Mikrometre
NMKL	: NordicCommittee on Food Analysis
N	: Tekrar sayısı
ng	: Nanogram
ppm	: Partpermillion- Milyonda bir parça 10^{-6}
r	: tekrarlanabilirlik limiti
R	: Geri kazanım
RSD	: BağlıStandart Sapma
s	: Standart Sapma
SCOT	: Supportcoatedopentubuler
S/N	: Signal / Noise
T	: Sıcaklık (⁰ C)
t _R	: Retention time – Alıkonma süresi.
WCOT	: Wallcoatedopentubuler
z	: z-score

ÖNSÖZ

Uyuşturucu ve uyarıcı madde kullanımının oldukça yaygınlaştığı son yıllarda yeni nesil sentetik uyuşturucu kullanımındaki artışla ecstasy tablet kullanımında beklenen yavaşlama görülmemektedir. Kullanıcılarda devamlı olarak tolerans geliştiren MDMA etken maddeli ecstasy tabletlerin içerdikleri MDMA miktarları adalet sistemi tarafından cezalandırma, kolluk kuvvetleri tarafından üretim yerlerinin ve satıcıların yakalanması, kriminal laboratuvarlar tarafından analizlerin izlenebilirliği ve en son kullanıcı sağlığı açısından son derece önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı yasadışı tabletlerin içerdikleri MDMA miktarlarının tespiti için geçerli ve güvenilir bir analiz yöntemi geliştirerek uyuşturucu ile mücadelede gösterilen çabalara katkı sağlamaktır.

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında destek ve anlayışını esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Nuriye AKBAY'a,

Tez çalışması süresince laboratuvar imkanlarını kullanmama izin veren Adli Tıp Kurumu yönetimine ve laboratuvar analizlerini birlikte çalıştığım mesai arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

1. GİRİŞ

3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) kimyasal formülü $C_{11}H_{15}NO_2$, molekül ağırlığı 193,25g/mol olan amfetamin türevi bir psikoaktif maddedir. İlaç etken maddesi MDMA olan ve yasadışı üretilmiş tabletler genellikle ekstazi (ecstasy) olarak isimlendirilmekle birlikte bu tarzda üretilmiş bütün yasadışı tabletler içeriklerindeki etken maddeye bakılmaksızın ekstazi olarak tanımlanmaktadır. Ekstazi tabletler (parti hapları) kullanıcılar arasında Adam, XTC, X, Rave, Lovedrug ve Eve olarak da isimlendirilmektedir.

Ekstazi tabletlerin ağırlıkları 150-350 mg arasında değişmekle birlikte içerdikleri MDMA miktarı değişiklikler gösterebilmektedir. Yasadışı olarak piyasaya sürülen bu tabletlerin üzerlerinde kullanıcıların ilgisini çekebilmek amacıyla çeşitli logo, resim ve amblemler kullanılmaktadır. Üreticileri tarafından tablet şekilleri geçmişte daha çok yuvarlak ve üçgen olarak tercih edilmekteyken son yıllarda 3 boyutlu (kaplumbağa, el bombası vs.) ve parlak renkli tabletler de piyasada sıklıkla görülmektedir. Tabletlerde kullanılan renk, logo ve şekiller kullanıcıların ne kullandıklarını bilmek için takip ettikleri bir yöntem olsa da aynı renk, logo ve şekillerde olmasına rağmen farklı etken maddeleri içeren veya değişik miktarlarda aynı etken maddeyi içeren tabletlere rastlanmaktadır. Bununla birlikte aynı fiziksel özelliklere sahip olmasına rağmen hiçbir etken madde tespit edilemeyen ya da eser miktarda etken madde içerdiği tespit edilen tabletlere de rastlanmaktadır. Tespit edilen bu durumlar bu çalışmanın önemini artırmaktadır.

Ekstazi tabletlerin içeriklerindeki MDMA'nın nitelik ve nicelik olarak tespit edilmesi üretici, satıcı ve kullanıcılar hakkında gerekli yasal işlemlerin yapılabilmesinin yanında üretim yerinin tespiti ve ulaşım kanallarının bulunmasını kolaylaştırabilmesi ve her ne kadar yasal olmasa da kullanıcı sağlığı açısından da önem kazanmaktadır. Ülkemizde adalet sisteminin bu tür analiz isteklerini Adli Tıp Kurumu, Polis ve Jandarma Kriminal Laboratuvarları sağlamaktadır.

Son yıllarda bonzai ismiyle bilinen yeni nesil psikoaktif maddelerin kullanımı ve yakalamalarında önemli artışlar görülmekteyken MDMA etken maddeli ekstazi tabletlerin yakalamalarının azalmadığı aksine 2010 yılından itibaren ele geçirilen ekstazi miktarında bir artış yaşandığı görülmektedir. Üretimde kullanılan alternatif kimyasallar ile maliyetlerin

düşürülmesi, farklı etken maddelerin tabletlere basılmasından vazgeçilmesi ve fiyatların düşmesi talebin yeniden canlanmasına sebep olmuştur (Anonim 2014).

Kimyasal analizlerde metot validasyonu yapılan analizlerden geçerli ve güvenilir sonuçlar elde edildiğini ispatlamak amacıyla yapılmaktadır. Geçerli kılma (validasyon), özel amaçlı bir kullanım için gerekli şartların yerine getirildiğinin inceleme sonucunda doğrulanması ve nesnel bir delilin elde edilmesidir. Laboratuvar, standart olmayan metotları, laboratuvarda tasarlanmış / geliştirilmiş metotları, amaçlanan kapsamları dışında kullanılan standart metotları ve ilâvelerle takviye edilmiş veya değiştirilmiş standart metotları, amaçlanan kullanıma uygun olduklarını teyit etmek için geçerli kılmalıdır. Geçerli kılma, yapılacak uygulama veya uygulama alanının ihtiyaçlarını da karşılayacak kapsamda olmalıdır. Laboratuvar, elde edilen sonuçları ve geçerli kılma için kullanılan prosedürü ve metodun amaçlanan kullanıma uygun olup olmadığını belirten bir ifadeyi kaydetmelidir (Anonim 2010).

Analitik metotların geçerli kılınmasının amacı, bilimsel bütünlük ve uygunluğun sağlanması, hedeflenen amaç için yeterli güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların alınmasıdır (Chan ve ark. 2004). Geçerlilik çalışmaları belirlenmiş yöntemlere göre yürütülmelidir. Tanımlanmış işleyiş, belirlenmiş materyal, araç ve gereç kullanılarak istenilen kalitede ürünün sürekli olarak üretilebileceği gösterilmelidir. Araç, gereç ve materyallerin değiştirilmesi de dahil olmak üzere, analizin kalitesini veya analizin tekrarlanabilirliğini etkileyebilecek tüm analiz değişiklikleri geçerli kılınmalıdır. İşleyiş ve yöntemlerin, hedeflenen sonuçlara ulaşmada yeterlilikleri kanıtlanıncaya kadar düzenli aralıklarla tekrar validasyona tabi tutulması gerekmektedir. Tekrar geçerlilik özellikle yöntemi değiştirdiğimiz zaman ve yeni göstergeler değerlerin dışında olduğu zaman önemlidir. Aynı zamanda basit matriks değişikliklerinde, cihaz model ve marka değişikliklerinde tekrar geçerlilik yapılmalıdır (Anonim 2010).

Geçerli kılma çalışmalarıyla analizlerde ortaya çıkan sorunların en aza indirilebilmesi hedeflenmektedir. Dolayısıyla bir laboratuvarında istenilen limitlere göre çok hassas bir metot geliştirilse bile bu metot, düzenli aralıklarla kullanım süresince geçerli kılınmalıdır. Adli laboratuvarlarda ekstazi tabletlerde MDMA validasyonu, ilgili dava dosyalarında güvenilir, tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesinde ve adaletin yerini bulmasında bu çalışma fayda sağlayacaktır.

GC/FID (Gaz kromatografisi alev iyonizasyonedektörü) cihazı kullanılarak ekstazi tabletlerde MDMA analizi ile ilgili değişik konularda birçok çalışma mevcuttur ancak her biri farklı bir amaç için yapılmıştır. Benzer çalışmalara göz atacak olursak;

Phonchai (2009), ekstazi tabletlerde ve idrar örneklerinde GC/FID ile MDMA, MDA ve Metamfetamin kantitatif analizlerini yapmış ve validasyon parametrelerini irdelemiştir. Numune hazırlama yöntemi, kolon, taşıyıcı gaz ve internal standart gibi belli başlı kriterler bu çalışmaya göre farklılıklar göstermektedir.

Palhol (2002), çalışmasında 52 farklı ekstazi tabletin içerdikleri safsızlıkları GC/FID ve GC/MS cihazları yardımıyla tanımlamış ve tabletleri profillendirmiştir.

Bora (2007), ekstazi tabletlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanarak kaynak belirlemesi yapmaya çalışmıştır.

Topal (2012), ekstazi tabletlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanarak kaynak belirlemesi yapmaya çalışmıştır.

Durmuş (2008), çalışmasında GC/MS cihazı yardımıyla kimyasal profillemeye yoluyla ekstazi tabletlerin hangi yolla sentezlendiğini bulmaya çalışmıştır.

Göl (2012), çalışmasında GC/FID ve GC/MS cihazları yardımıyla kokain örneklerinin validasyon çalışmasını yapmıştır.

Bu çalışmayla Gaz Kromatografisi Alev İyonizasyon Dedektör (GC/FID) cihazında narkotik operasyonlarda ele geçirilmiş ekstazi tabletlerde tespit edilen MDMA'nın kantitatif analizi için validasyon çalışmasının yapılarak geçerli ve güvenilir sonuçlar elde edilmesi amaçlanmıştır. ISO/IEC17025 kapsamında da metod validasyonu, analiz sonuçlarının doğruluğunun sağlanabilmesi açısından ve bilimsel açıdan geçerli olan sonuçları elde etmek için her laboratuarda uygulanması zorunlu olan dolayısıyla dünya genelinde yaygınlaşan bir standardizasyon yöntemidir. Metod validasyonunun amacı seçilen metodun istenen amaca uygun nitelikte (performansta, kalitede) sonuç verdiğini test etmek ve metodun günlük kullanımı sırasında istenen performansı sağlamanın koşullarını belirlemek ve kontrol altında tutmaktır. Çalışmamızda, MDMA'nın kantitatif analizinin yapılması amacıyla gaz

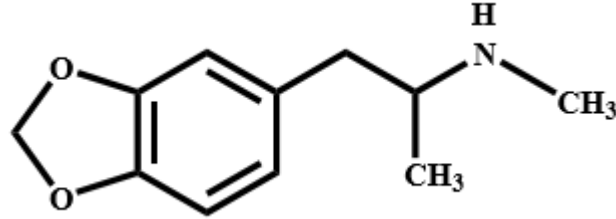
kromatografisi(GC/FID) ile uygulanan yöntem ile validasyon çalışmaları yapılıp yöntemin validasyon parametreleri değerlendirildi. Metodun validasyon çalışmaları yapılmadan öncede laboratuarlararası karşılaştırma testlerinden geçerli sonuçlar alması çalışmayı daha değerli kılmaktadır. Bu çalışma ile laboratuarımızda rutin olarak kullanılan metodun sonuçlarının doğruluğu irdelenecek, elde edilen sonuçlar belirli bir standarda kavuşmuş olacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. MDMA(3,4 metilendioksimetamfetamin)

MDMA ilk olarak 1912 yılında Merck firması tarafından Darmstadt'ta sentezlendi ve 274350 numarasıyla 1914 yılında patenti alındı. Merck araştırmacıları aslında kanamayı durdurmak amacıyla çalışırken bir yan ürün olarak MDMA'yı sentezlemiş fakat ne kadar önemli bir maddeyi sentezlediklerini fark etmemişlerdir. MDMA Merck'in patent uygulamasına potansiyel ilaç değeri olan ürünler listesine kimyasal ara madde olarak eklenmiştir. MDMA (CAS-42542-10-09)'nın kimyasal yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Schoor 1952 yılında madde ile ilgili ilk temel toksikolojik deneyleri yapmış, çalışmalarını ilerleyen yıllarda hayvanlar üzerinde sürdürmüştür (Freudenmann ve ark. 2006).



Şekil 2.1.MDMA'nın kimyasal yapısı

MDMA'nın düşük dozlarda empatiyi arttırıcı etkisi Şili'li antropolog-psikiyatrist Dr. ClaudioNaranjo tarafından kendi üzerinde denemesi sonrasında gösterilmiştir. Naranjo, yaşadıklarını TheHealingJourney (1973) adlı kitabında detaylı olarak anlatmaktadır.

1976'da Shulgin ile birlikte ilacın sıradışıterapötik etkilerini fark eden bir grup bilim adamı ve terapistsuistimal edilmesini, sorumsuz ve bilinçsiz kullanımı engellemek için bu ilacı çok kapalı bir grup içinde kullandılar. Bu araştırma ve tedavi amaçlı çalışmalarda MDMA'nın evlilik ve ilişki terapisi, travma sonrası stres bozukluğu, travma, fobi bozuklukları, bağımlılık, kanser ve ölümcül hastalıklardan mustarip kişilerde endişe tedavisinde kullanılabileceği birçok psikiyatrist ve psikoterapist tarafından kabul gördü ve yasaklandığı 1985'e kadar terapilerde yasal olarak kullanıldı.

1984-1985'lerde MDMA'nın sosyal kullanımının popülerleşmesi ve MDA ile benzer yapıya sahip olması nedeniyle hayvan modellerinde sinir değişikliklerinin gözlemlendiğinin rapor edilmesi ile yasal kontrol altına alınması için idari bir hareket başlatıldı (Shulgin ve Shulgin, 1991).

MDMA ülkemizde 26.11.1996 tarih ve 96/8883 sayılı Bakanlar Kurulu Kararı ile (16.08.1997 tarih ve 23082 sayılı Resmi Gazete) 2313 sayılı uyuşturucu maddelerin murakabesi hakkında kanununun 19. maddesine göre uyuşturucu maddeler kapsamına alınmıştır.

2.2. Gaz Kromatografisi

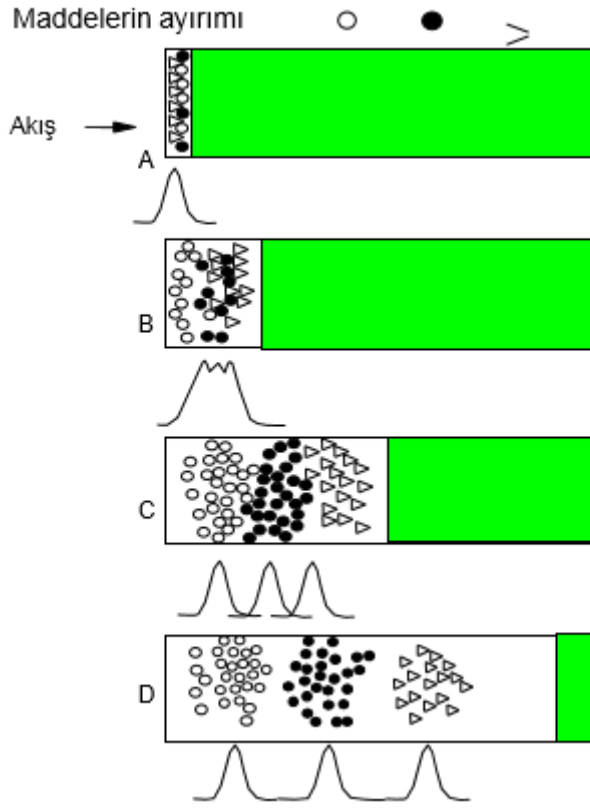
2.2.1. Tarihçe

Kromatografi ilk defa 1903 yılında bir Rus botanikçi Tsvett tarafından bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini ayırmakta kullanılmıştır. Kullandığı kolonda renkli bantlar olduğundan bu ayırma yöntemine kromatografi ismini vermiştir. Yöntem daha sonraları renksiz maddelere de tatbik edilebilmesine rağmen aynı isim kullanılmaya devam edilmiştir. 1931 yılında Kuhn ve Lederer, Tsvett'in tekniğini karotenlerin ve ksantofillerin preparatif ölçüde ayrılması için başarı ile kullandı. Gaz-likid partiyon kromatografisi ilk defa James ve Martin tarafından 1952 yılında uçucu yağ asitleri karışımlarının analizlerinde ve ayrılmasında kullanıldı. Gaz kromatografisi kimya alanında gazların ve uçucu maddelerin analizleri ve ayrılmasında uygun bir metot olarak yaygın bir şekilde kabul edilmiştir.

2.2.2. Çalışma prensibi

Kromatografi bir karışımdaki iki ya da daha fazla bileşenin, hareketli (taşıyıcı-mobil) bir faz yardımıyla sabit (durgun-adsorban) bir faz arasından bu fazlar arasındaki farklı etkileşimlerinden dolayı değişik hızlarda hareket etmeleri esasına dayanarak bileşenlerin birbirlerinden ayrılması yöntemidir. Kromatografik ayırmalarda örnek gaz, sıvı veya süperkritik akışkan olan bir mobil fazda çözülür. Bu mobil faz kendisiyle karışmayan (çözünmeyen, reaksiyon vermeyen), bir kolon içine veya katı yüzey üzerine yerleştirilmiş olan bir sabit fazda harekete zorlanır. Örnek bileşenleri sabit ve mobil fazlarda farklı derecede dağılım gösterirler. Bileşenler sabit faz üzerinde alıkonurlarken mobil faz akışıyla yavaşça

hareket ederler. Böylece sabit faz tarafından zayıf tutulan bileşenler daha hızlı hareket ederler. Sonuç olarak hareket hızındaki bu farklılıktan dolayı örnek bileşenleri kalitatif veya kantitatif analiz edilebilecek bantlara ayrılırlar. Yöntemin basit oluşu, çalışma kolaylığı ve zamandan tasarruf sağlaması yönünden klasik ayırma yöntemlerine göre üstünlük sağlamaktadır. Kromatografik yöntemlerle kimyasal ve fiziksel özellikleri birbirine çok yakın bileşenlerden oluşan karışımları tümüyle, kolayca ve kısa sürede ayırmak mümkün olmaktadır. Fiziksel bir ayırma yöntemi olan kromatografinin diğer bir avantajı karışımdan hiçbir maddenin kaybolmaması ve yeni bir maddenin kimyasal reaksiyonlarla oluşmamasıdır. Kromatografik ayırma yöntemi Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2.Kromatografik ayırma yöntemi (Agilent Technologies GC eğitim notları)

Bir maddenin gaz kromatografi cihazıyla analizinin yapılabilmesi için;

a- Molekül yapısının sıcaklığa dayanıklı olması, sıcaklıkla bozunmaması,

b- Maddenin buharlaşabilir olması,

c- Molekül ağırlığının < 400 amu olması,

d- Gaz fazda stabil olması ve taşıyıcı gazlarla reaksiyona girmemesi,

e- Analiz edilen diğer maddelerle reaksiyona girmemesi gerekmektedir (Agilent Technologies).

Gaz kromatografi cihazlarının çalışma prensipleri şu şekildedir;

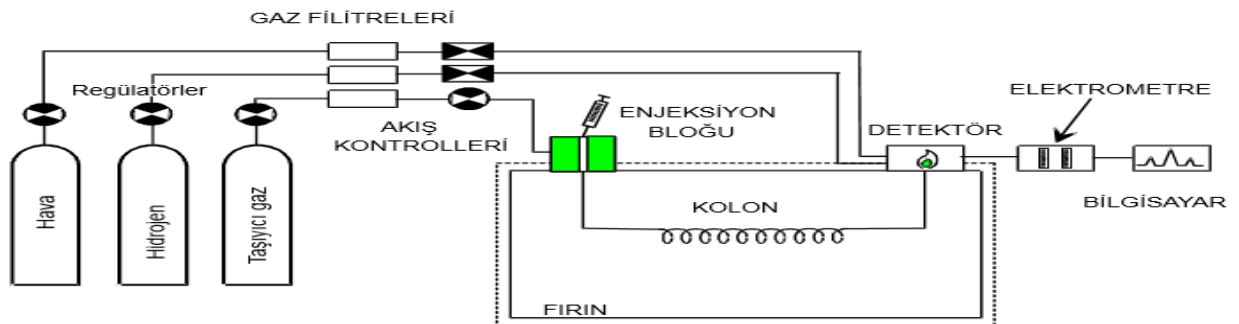
1. Analiz edilecek numunenin uygun numune hazırlama yöntemlerine göre hazırlanarak cam viallere alınması ve cam viallerin cihaz üzerinde belirlenen kısma yerleştirilmesi,

2. Cihazın hangi numuneyi hangi metotta ve hangi hacimde çalışacağını belirten çalışma tablosunun yazılması,

3. Numune vialinden belirlenen miktarda numunenin otoenjektör vasıtasıyla alınması ve enjeksiyon bloğuna gönderilmesi,

4. Enjeksiyon bloğunda sıcaklıkla numunenin buharlaştırılması, gerekirse tercihe göre numunenin tamamının (splitless) veya bir kısmının (split) taşıyıcı gaz yardımıyla kapiler kolona taşınması ve elüsyon işleminin başlaması,

5. Numune bileşenlerinin kolonda tutunmalarına göre ilerleyerek (her bileşen partision katsayısı K' ya bağlı olarak farklı hızlarda hareket edecektir) dedektöre ulaşması ve dedektör sinyallerinin kaydediciye iletilerek pik yüksekliği veya pik alanı olarak kaydedilmesi, enjeksiyon başlangıcından dedektör sinyalinin kaydedilmesine kadar geçen zaman o bileşen için tutunma zamanı (retention time, t_R) olarak kaydedilmektedir. Gaz kromatografi cihazlarında tutunma zamanlarına göre kalitatif analiz, pik alanları veya yüksekliklerine göre de kantitatif analizler yapılabilmektedir. Şekil 2.3'te gaz kromatografi cihazının bileşenleri gösterilmiştir.

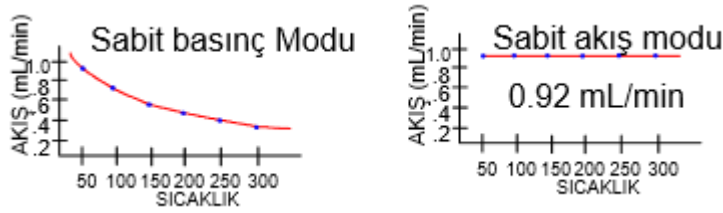


Şekil 2.3. Gaz kromatografi cihazının bölümleri (Agilent Technologies GC eğitim notları)

2.2.2.1. Taşıyıcı gaz

Gaz kromatografisinde mobil faz taşıyıcı gaz olarak adlandırılmaktadır. Taşıyıcı gaz inert olmalıdır. Taşıyıcı gaz olarak argon, azot ve hidrojen de kullanılabilmesine rağmen en yaygın olarak helyum kullanılmaktadır. Taşıyıcı gaz olarak helyum tercih edilmesinin nedeni hidrojen gibi potansiyel patlama tehlikesinin olmaması ve diğer taşıyıcı gazlara göre hassasiyet düşmesine sebep olmamasıdır. Gaz kromatografi cihazlarında kullanılan bütün gazlar cihaza girmeden önce gaz filtrelerinden (moleküler elek) geçirilmelidir.

Taşıyıcı gaz akış hızı gaz kromatografi cihazlarında sabit akış (constantflow) ve sabit basınç (constantpressure) olmak üzere 2 farklı şekilde ayarlanabilmektedir. Basınç-akış değişikliği kullanıcı tarafından programlanmasına rağmen fırın programındaki sıcaklık değişiklikleri nedeniyle sabit basınç altında akışın devamlı değişiklik göstermesi nedeniyle sabit akış modunda çalışma daha çok tercih edilmektedir. Taşıyıcı gazların sabit basınç ve sabit akış altında sıcaklık-akış diyagramları Şekil 2.4'te gösterilmiştir.

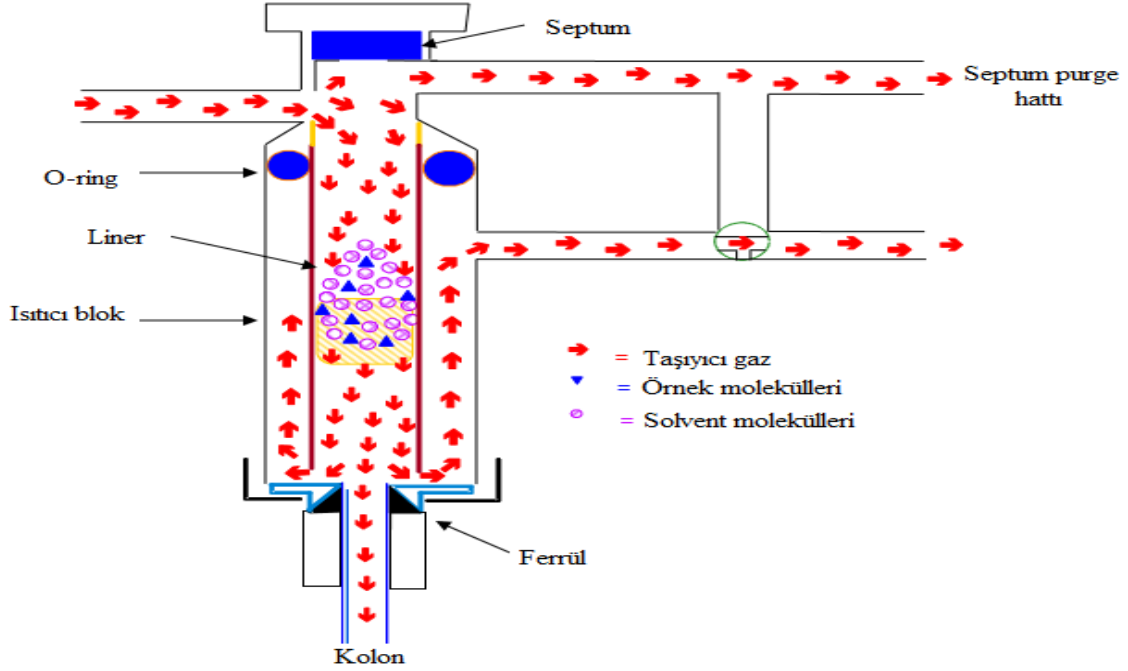


Şekil 2.4. Taşıyıcı gazların sabit basınç ve sabit akış altında sıcaklık-akış diyagramları (Agilent Technologies GC eğitim notları)

2.2.2.2. Numune girişi

Gaz kromatografi cihazlarında numune cihaz üzerine monte edilmiş bir otoenjektör vasıtasıyla enjeksiyon bloğuna gönderilir. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı numunedeki en az uçucu bileşenin kaynama noktasının en az 50 °C üzerinde olması ayrıca kolon girişinde yoğunlaşmaya sebep olmamak için metot başlangıç sıcaklığından düşük olması gerekmektedir. Numune enjeksiyon bloğunun içinde sıcaklıkla buharlaşır, taşıyıcı gazla seyreltilir ve kolona girer. Yüksek kolon verimi ve numuneden numuneye taşınmanın engellenmesi açısından kolona giren numune miktarı önemlidir. Numune miktarının fazla olması ve/veya yavaş enjekte edilmesi (manuel enjeksiyonlarda) bant genişlemesine ve

ayrılmanın iyi olmamasına sebep olabilir. Çalışılan numunenin konsantrasyonuna göre bir kısmının (split) veya tamamının (splitless) cihaza enjekte edilmesi gerekebilir. Cihaz üzerindeki yazılım vasıtasıyla metotlarda bu tür tercihler analiz başlangıcında yapılabilir. Şekil 2.5'te enjeksiyon bloğunun çalışma sistemi gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Enjeksiyon bloğu çalışma sistemi (Agilent Technologies GC eğitim notları)

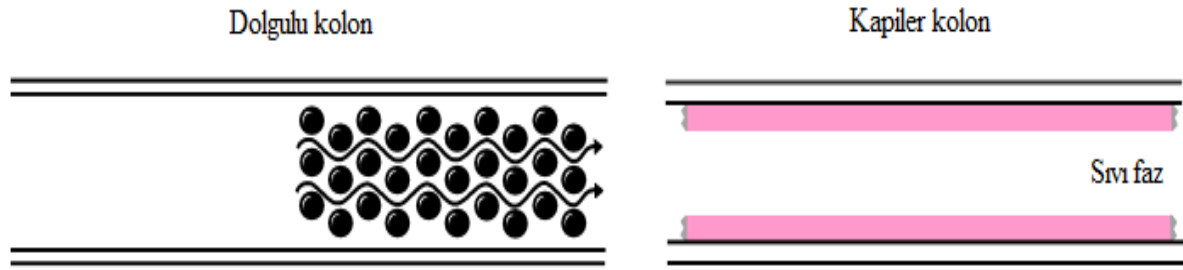
2.2.2.3. Kromatografik kolon

Gazkromatografi cihazlarında dolgulu ve kılcal (kapiler) olmak üzere 2 çeşit kolon kullanılmaktadır. Günümüzde daha çok kapiler kolonlar tercih edilmektedir. Kolon yapımında çoğunlukla paslanmaz çelik ve ergitilmiş silis, nadiren de cam ve teflon kullanılır. Kolonlar kolon fırınlarına sığmaları için bobinler halinde sarılır. Kolonların sabit fazı katı veya katı yüzeyine emdirilmiş bir sıvı olabilir. Kullanılan kolon tipine göre gaz kromatografisi gaz-katı kromatografisi(sabit faz katı) ve gaz-sıvı kromatografisi (sabit faz sıvı) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

1-Gaz-katı kromatografisi: Sabit faz olarak silikajel, alümina veya aktif kömür gibi maddelerin kullanıldığı, zayıf adsorbsiyon prensibine dayalı bu yöntemde birbirinden

ayrılması zor ve kuyruklu pikler elde edilir. Bu yöntem daha çok küçük moleküllü maddelerin ayrılmasında kullanılır.

2-Gaz-Sıvı kromatografisi: Bu yöntemde kolon çapı 0,3-0,5 mm olan kapiler kolonlar kullanılır. Bu kolonlarda gözenekli bir katı faz üzerine emdirilmiş büyük moleküllü özel bir sıvı faz bulunmaktadır. Sabit fazı veya dolgu maddesi özel bir sıvı ile kaplanmış kolonlar SCOT (supportcoatedopentubuler), iç yüzeyi özel bir sıvı ile kaplanmış kolonlar WCOT (wallcoatedopentubuler) olarak adlandırılmaktadır. WCOT kolonlar içleri boş ve açık uçlu kolonlardır. Kolonların iç yüzeyleri büyük moleküllü özel bir sıvı ile kaplıdır. Bu kolonlar bakır, alüminyum, paslanmaz çelik veya camdan yapılabilmektedir. Şekil 2.6'da kromatografik kolon şekilleri gösterilmiştir.



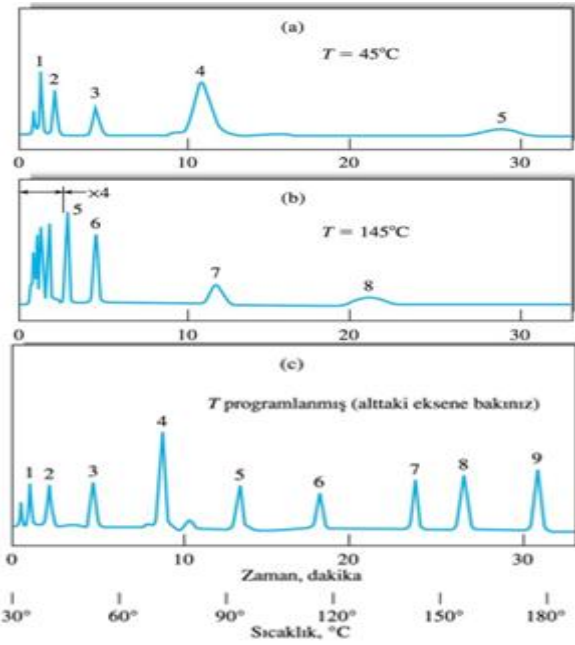
Şekil 2.6. Dolgulu ve kapiler kolonlar (Agilent Technologies GC eğitim notları)

Kaynama noktası geniş bir aralıkta seyreden bileşenler için kolon fırınlarının sıcaklık programlanabilir olması gerekmektedir. Bu durumda ayrılma devam ederken sıcaklık sürekli olarak veya basamaklı olarak değiştirilebilir. Kapiler kolonlarla çalışırken kolon içinde gaz akışı yokken fırına yüksek sıcaklıklar vermemek ve cihazın çalışmadığı durumlarda kolonun belli bir kondüsyonda düşüğe olsa gaz akışı olacak şekilde bekletilmesi tekrarlanabilir sonuçlar almak açısından önemlidir. Bu uygulama aynı zamanda kolon ömrünü de uzatmaktadır. Gaz kromatografisi cihazlarında numune miktarı, kolon uzunluğu, çalışılan numuneye uygun kolon dolgu maddesi, sıcaklık programı, taşıyıcı gaz, taşıyıcı gaz akış hızı uygun bir şekilde seçilerek tatmin edici bir ayırma elde etmek mümkündür.

2.2.2.4. Sıcaklığın etkisi ve kontrolü

Gaz kromatografisinde amaç numune bileşenlerinin kolon boyunca gaz fazında ilerlemesidir. Kaynama noktası en yüksek olan bileşenin taşıyıcı gaz içinde süratle

buharlaşmasına imkan vermek için kolon sıcaklığının yeteri kadar yüksek olması gerekmektedir. Sıcaklık yeteri kadar yüksek değilse numune kolondan geçerken çok yavaş hareket edecek bu da analiz zamanının yükselmesine, piklerin genişlemesine ve hassasiyetin düşmesine sebep olacaktır. Eğer kolon sıcaklığı çok yüksek olursa numune bileşenleri kolonu hızlıca terk edecek ve uygun bir ayrılma sağlanamayacaktır. Kolon sıcaklığını geniş bir aralık içinde ayarlayabilmek ve kontrol edebilmek bu sebeple çok önemlidir. Kaynama noktası geniş bir aralıkta değişen bileşenler için genellikle sıcaklık programlaması (gradient, kademeli) yapılarak piklerin daha iyi ayrılması sağlanabilir. Bu durumda ayrılma sürerken sıcaklık sürekli olarak veya basamaklar halinde artırılır. Gaz kromatogramlarına sıcaklığın etkisi Şekil 2.7’te gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Gaz kromatogramlarına sıcaklığın etkisi, (a) 45°C’de izotermal, (b) 145°C’de izotermal, (c) 30°C’den 180°C’ye programlanmış (Agilent Technologies GC eğitim notları)

İzotermal çalışmalarda fırın sıcaklığı analiz boyunca sabit tutulmakta ve geç çıkan piklerde yüksek pik genişlemesi görülmektedir. Sıcaklık programı uygulandığında daha kısa süreli analizlerde daha düzgün pikler elde edilebilirken artan kolon kanamasıyla baseline kaymaları görülebilmektedir.

2.2.2.5. Gaz kromatografi dedektörleri

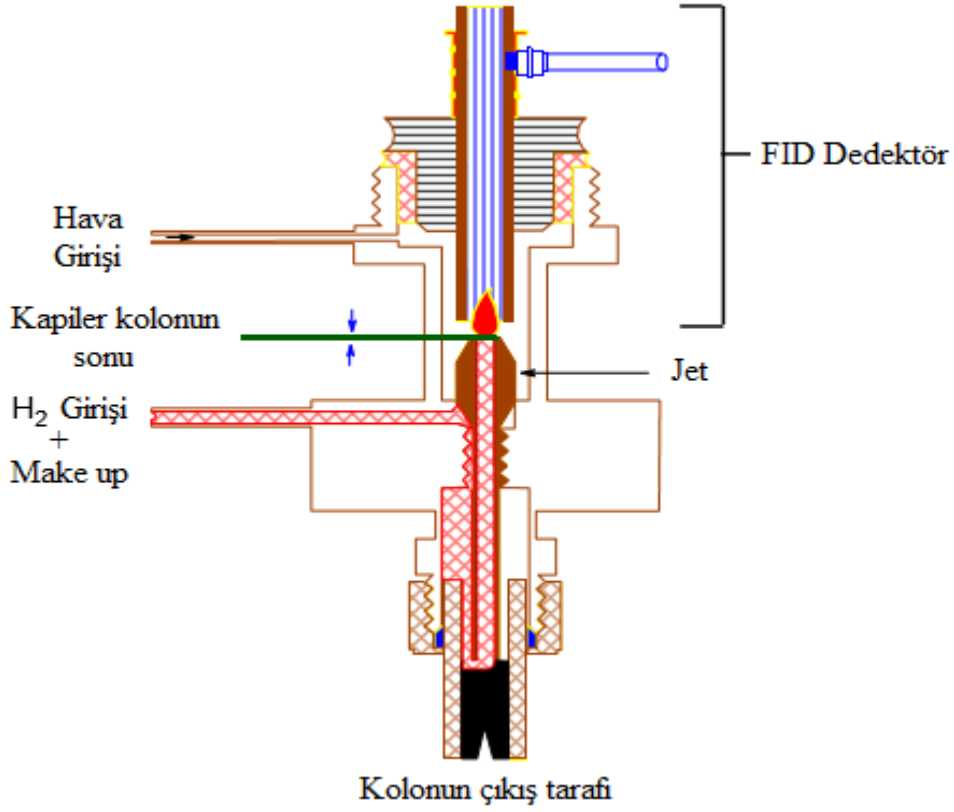
Dedektör kolonda ayrılan bileşenleri algılayan ve onları elektronik sinyallere dönüştüren elektronik birimdir. İdeal bir dedektör ilgilenilen maddelere karşı yeterince hassas, stabil ve tekrarlanabilirliği iyi olmalıdır. Çalışılacak madde konsantrasyonları için yeterli bir lineer aralıkta çalışabilmelidir. Oda sıcaklığından 400°C ye kadar çalışabilmelidir. Akış hızından bağımsız olarak algı-cevap süresi kısa olmalıdır. Geniş bir aralıkta maddeye karşı hassas olmalı ve örnekten olumsuz etkilenmemelidir. Uyguladıkları numune tiplerine göre gaz kromatografidedektörleri Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Gaz kromatografidedektörlerinin uygulandığı numune tipleri(Skoog&Leary 1992)

Dedektör tipi	Uygulanan numuneler
Alev iyonlaşma(FID)	Hidrokarbonlar
Termal iletkenlik(TCD)	Her tip bileşik
Elektron yakalama(ECD)	Halojenli bileşikler
Kütle spektrometre(MS)	Her tür için ayarlanabilir
Termiyonik(NPD)	Azot ve fosfor bileşikleri
Elektrolitik iletkenlik(Hall)	Halojen,kükürt veya azot içeren bileşikler
Fotoiyonlaşma	UV ışınıyla iyonlaşan bileşikler
Fourier dönüşümlü IR(FTIR)	Organik bileşikler

Alev iyonlaşma dedektörü gaz kromatografide en yaygın ve uygulama alanı en geniş dedektörlerdendir. Kolondan gelen karışım hidrojen-hava alevine yönlendirilir. Organik bileşiklerin çoğu bu alevde piroliz edildiğinde elektronlar ve iyonlar üretirler. Oluşan bu elektron ve iyonlar alev boyunca elektrik iletkenliği sağlarlar. FID dedektörler özellikle karbon atomu içeren bileşikler için duyarlıdır. Karbon bileşiklerinin alevdeki iyon sayısı alevde indirgenen karbon atomlarının sayısı ile orantılıdır. Karbonil, alkol, halojen ve amin gibi fonksiyonel gruplar alevde çok az iyon oluştururlar veya hiç oluşturmazlar. Dedektör H₂O, CO, N₂, O₂, CO₂, SO₂, CO, NH₃, NO_x ve asal gazlara duyarsızdır. Bu sebeple su, azot oksitler ve kükürt oksitler ile kirlenmiş olanlar dahil pek çok organik numunenin analizi için çok uygun genel bir dedektördür. FID dedektörler yüksek duyarlık, geniş bir doğrusal cevap aralığı ve düşük gürültü gibi özellikler taşımakla birlikte sağlam ve kullanımı kolaydır. Başlıca sakıncaları yakma basamağında numuneyi tahrip etmesi ve taşıyıcı gazdan başka gaz

kullanmayı gerektirmesidir. Şekil 2.8’de bir FID dedektör gösterilmiştir.(Agilent Technologies)



Şekil 2.8. FID dedektör(Agilent Technologies GC eğitim notları)

2.3. Validasyon-Geçerli Kılma

Geçerli kılma, özel amaçlı bir kullanım için gerekli şartların yerine getirildiğinin inceleme sonucunda doğrulanması ve nesnel bir delilin elde edilmesidir (Anonim 2010).

Bir metot laboratuarda ilk defa uygulanacağında, yeni bir metot geliştirildiğinde, mevcut metotta değişiklik yapıldığında, geçerli kılınmış bir metot farklı bir laboratuarda uygulanacağında, farklı bir cihazla veya farklı bir analist tarafından kullanıldığında, kalite kontrol sırasında mevcut metodun zamanla değiştiği anlaşıldığında, iki metodun eşitliğinin karşılaştırılması gerektiğindevalidasyon çalışması yapılır (Akdağ 2011).

AOAC “How toMeet ISO 17025 RequirementsforMethodVerification“ rehberinde kimyasal analizleri 6 kategoriye ayırmaktadır. Bu kategoriler;

Kategori 1: İdentifikasyonu doğrulayan metot, materyalin ne olduğunu veya hedef

analitintespitini sağlar. Kategori 2: Düşük konsantrasyonlarda analitin miktarını belirler. Kategori 3: Eğer analit spesifikite edilen düşük konsantrasyonun altında veya üstünde ise belirlenmesini sağlar (çoğunlukla limit test olarak adlandırılır). Spesifiye edilen konsantrasyon tayin limiti (LOQ) değerine yakın bir değerdir. Kategori 4: Yüksek konsantrasyonlarda analiti belirler. Kategori 5: Eğer analit spesifikite edilen yüksek konsantrasyonun altında veya üstünde ise belirlenmesini sağlar (çoğunlukla limit test olarak adlandırılır). Spesifiye edilen konsantrasyon tayin limiti (LOQ) değerinin oldukça üstünde bir değerdir. Kategori 6: Kalitatif test.

Bu kategorilere göre önerilen validasyon parametreleri Şekil 2.2’de verilmiştir. Aynı şekilde Eurachem, NMKL vb. diğer bir çok kaynakta metot validasyonu için incelenmesi önerilen performans kriterleri, doğruluk, kesinlik, spesifikite, tespit limiti, tayin limiti, sağlamlık, linearite ve ölçüm aralığı olmak üzere sekiz ana parametreden oluşmaktadır (Yılmaz 2013).

Çizelge 2.2. AOAC (Uluslararası analitik topluluklar birliği) rehberinde önerilen metot validasyonu parametreleri (1- İdentifikasyon 2- Analit düşük konsantrasyonda kantitatif 3- Analit düşük konsantrasyonda limit test 4- Analit yüksek konsantrasyonda Kantitatif 5- Analit yüksek konsantrasyonda limit test 6- Kalitatif H- Hayır E- Evet) (Yılmaz 2013)

Metot Performans Karakteristiği	Kategori 1	Kategori 2	Kategori 3	Kategori 4	Kategori 5	Kategori 6
Doğruluk	H	E	H	E	E	H
Kesinlik	H	E	H	E	E	H
Spesifikite	E	E	E	E	E	E
Tespit limiti (LOD)	H	E	E	E/H	H	H
Tayin limiti (LOQ)	H	E	H	E/H	H	H
Sağlamlık	H	E	H	E	H	H
Linearite- Doğrusallık	H	E	H	E	H	H
Aralık	H	E	H	E	H	H

2.3.1. Geçerli kılma seviyeleri

Tam geçerli kılma, bir analitik yöntem ilk defa geliştirildiğinde, yeni bir maddenin

analizi için kullanılacağında, geçerli kılınmış metoda yeni bir analit eklendiğinde yapılır.

Kısmi geçerli kılma, laboratuvarlar ya da analiz uzmanları arasındaki analitik yöntem aktarmaları, metodolojide, matrikste, numune hazırlama prosedürlerinde ve cihazlarda değişiklikler yapıldığında yapılır.

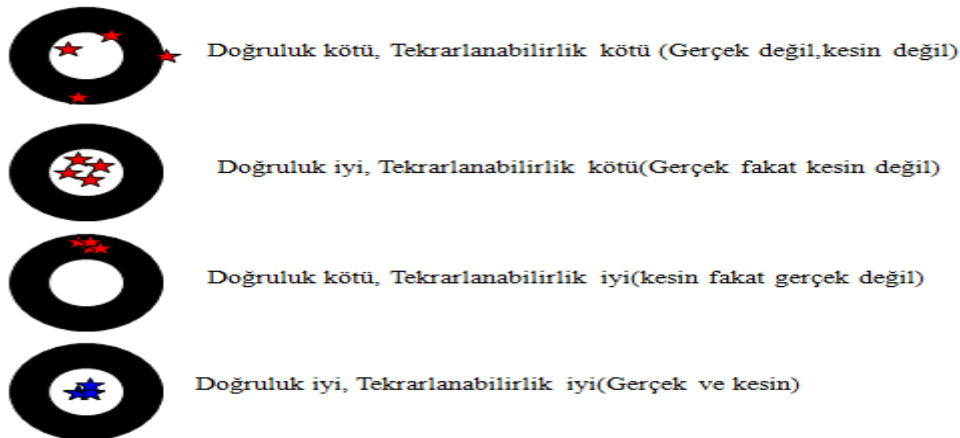
Çapraz geçerli kılma, aynı çalışma veya değişik çalışmalar için iki veya daha fazla analitik yöntem kullanıldığında geçerli kılma parametrelerinin bir karşılaştırmasıdır. Örneğin, ilk orijinal metot referans, değiştirilmiş metot ise karşılaştırma metodu olduğu durumda karşılaştırmaların her iki biçimde de yapılması gerekir.

Validasyon, uygun metodun seçilmesi, amaç ve kapsamının belirlenmesi, cihazların performansının metot için yeterli olup olmadığının doğrulanması, kullanılacak kimyasal ve standartların kalitesinin belirlenmesi, ön deneylerin yapılması, metot kriterlerine göre deneysel çalışmaların yapılması, kalite kontrol grafiklerinin oluşturulması, raporlama ve yeterlilik testleri gibi aşamalardan oluşur (Chan ve ark. 2004).

2.3.2. Validasyon parametreleri

2.3.2.1. Doğruluk

Doğruluk elde edilen değer ile gerçek değer arasındaki yakınlığın ifadesidir. Doğruluk parametresi gerçeklik ve kesinlik olmak üzere iki ana bileşenden oluşur. Şekil 2.9'da gerçeklik ve kesinlik parametreleri gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Gerçeklik ve kesinlik

2.3.2.1.1. Gerçeklik

Gerçeklik için sistematik hata(bias) hesabı yapılır. Sistematik hata bir ölçüm metodunun gerçek sonucu verebilme kabiliyetini belirtir. Sistematik hatanın hesaplanabilmesi için doğru olduğu kabul edilen referans yani gerçek değer bilinmelidir. Gerçek değer sertifikalı referans materyallerden, valide edilmiş metodun ölçümü sonucu veya yeterlilik testleri sonucunda elde edilebilir. Bu üç yöntemde de ortak nokta gerçek değerlerin birçok laboratuarda yapılmış ölçümlerin sonucunda elde edilmiş olmasıdır.

Hatayı matematiksel olarak hesaplarken mutlak hata ve bağıl hata olmak üzere iki tür yöntem kullanılır. Mutlak hata ölçüm sonucundan ölçülen büyüklüğe ait gerçek değer çıkarılması ile elde edilen değer olup sistematik hata veya biasolarakta adlandırılır. Bağıl hata ise ölçüm hatasının ölçülen büyüklüğün gerçek değerine bölünmesi ile elde edilen değerdir. Rölatif olarak hatayı ifade ettiği için ölçüm sonucundan bağımsız olarak tanımlıdır (Akdağ 2011).

Mutlak hata=|Ölçüm sonucu-Gerçek değer|

Bağıl hata=(Mutlak hata/Gerçek değer)*100

2.3.2.1.2. Kesinlik

Kesinlik ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ifadesidir ve bağımsız analiz sonuçları arasındaki tutarlılığı göstermektedir. Kesinlik doğruluğun gerçeklik dışındaki diğer bir bileşeni olup rastgele hataların dağılımını göstermektedir. Kesinlik ölçümünü 4 faktör etkilemektedir. Bunlar zaman (kısa ve uzun zaman aralığı), kalibrasyon (aynı ekipmanda dahi ölçümler arasında yeniden kalibrasyon yapıp yapılmadığı), operatör (aynı veya değişik operatörler) ve ekipman (ölçümlerde aynı veya farklı ekipmanların kullanılıp kullanılmadığı) olup bunların değişkenliğine göre kesinlik de değişmektedir. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik olarak iki genel kesinlik ölçümü bulunmaktadır (Yılmaz 2013).

2.3.2.1.2.1. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen kesinliktir. Tekrarlanabilirlik koşulları ISO 5725-1'de aynı metot ile eşdeğer örneklerde aynı laboratuarda, aynı ekipman ve aynı analist tarafından kısa zaman aralığında elde edilen bağımsız test sonuçları elde edilmesi

olarak tanımlanmıştır. Koşulların yakınlığı nedeniyle beklenen kesinlikte küçük olmaktadır(Yılmaz 2013).

Tekrarlanabilirlik limiti(r) tekrarlanabilirlik koşulları altında kısa zaman aralıklarıyla yapılan iki analiz sonucu arasındaki (genellikle %95 olan bir güven seviyesinde $r=2,8 * S_r$ içinde kalması beklenen) mutlak farkı ifade etmektedir.

2.3.2.1.2.2. Tekrar üretilebilirlik

Tekrar üretilebilirlik yani uyarlık tekrar üretilebilirlik koşulları altında elde edilen kesinliktir. Tekrar üretilebilirlik koşulları standartta aynı metot ile eşdeğer örneklerde farklı laboratuarda, farklı ekipman ve farklı analist tarafından uzun zaman aralığında elde edilen bağımsız test sonuçlarının elde edilmesi olarak tanımlanmıştır.

Kesinlik kantitatif analizlerde standart sapma (s) ve rölatif standart sapma (RSD) ile, kalitatif analizlerde ise “yanlış pozitif” ve “yanlış negatif” oranları ile ifade edilir. Hem tekrarlanabilirlik hem de tekrar üretilebilirlik analit konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği için değişik konsantrasyonlarda (düşük, orta, yüksek gibi) tespit edilmelidir. Kesinliğin rölatif standart sapma olarak ifadesi konsantrasyondan bağımsız hale getireceği için kullanımda tercih edilmektedir(Yılmaz 2013).

Tekrar üretilebilirlik limiti(R) tekrar üretilebilirlik koşullarında yapılan iki analiz sonucu arasındaki(genellikle % 95 olan bir güven seviyesinde $R=2,8 * S_R$ içinde kalması beklenen) mutlak farkı ifade etmektedir.

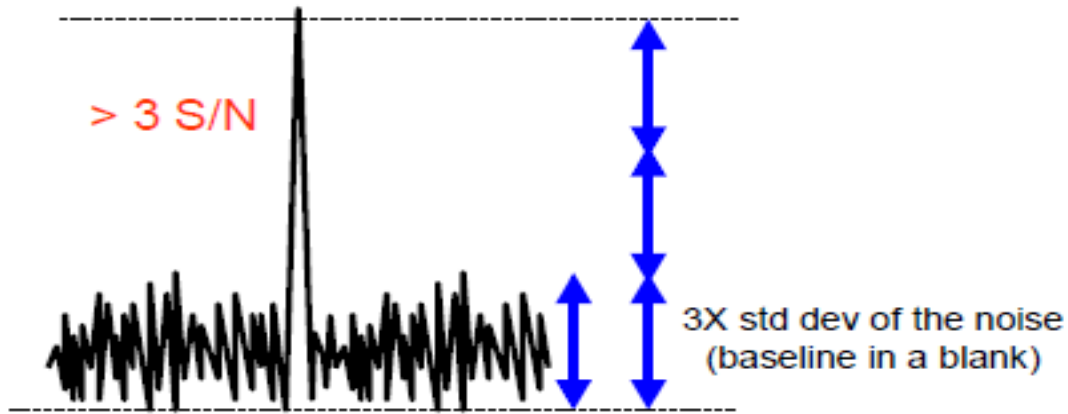
2.3.2.2. Seçicilik

Seçicilik bir metodun aranan analiti diğer analitlerin bulunduğu örnek içinde ayırt edebilme yeteneğine denilmektedir. Seçicilik parametresinin belirlenebilmesi için kör numune ve değişik numunelere aranan analit eklenerek girişim oluşturup oluşturmadığı incelenmektedir(Yılmaz 2013).

2.3.2.3. Tespit limiti(LOD) ve tayin limiti(LOQ)

ISO/TS 13530, tespit limiti'ni (LOD) kör ve sıfır dışında tespit edilebilen en küçük miktar ya da konsantrasyon olarak belirtmektedir. Tespit limiti 3 şekilde hesaplanabilmektedir.

- Kör örneklerinin sonuçlarının standart sapmaları üzerinden,
- Metodun standart sapması üzerinden,
- Gürültü üzerinden(Şekil 2.10'da kromatogramlarda sinyal ve gürültü arasındaki ilişki gösterilmiştir),



Şekil 2.10.Kromatogramlarda sinyal ve gürültü arasındaki ilişki

Tespit limiti kör örneklerin sonuçlarının standart sapmaları üzerinden eşitlik 2.1'den hesaplanır.

$$C_{LOD}=3*s_0 +C_{kör} \quad (2.1)$$

s_0 = kör örneklerin sonuçlarının standart sapmaları,

$C_{kör}$ = kör örneklerin ortalaması,

Yukarıdaki eşitlik eğer analiz sonuçlarından körün çıkarılması temeline dayanıyorsa $C_{kör}$ eşitliğe konulmamalıdır. Kesinlik hesabından yani s_0 matrikse uygun kör veya düşük seviyede analit içeren materyal kullanılarak en az 6 tercihen 10 bağımsız çalışma ile elde edilmelidir(Yılmaz 2013).

Tayin limiti(LOQ) ise kabul edilebilir kesinlik ve gerçeklikle ölçülen en düşük

analitkonsantrasyonu olarak tanımlanır ve eşitlik 2.2'den hesaplanır.

$$C_{LOQ}=10*s + C_{k\ddot{o}r} \quad (2.2)$$

2.3.2.4. Metot sağlamlığı

Sağlamlık(Robustness/Ruggedness) alışmaları ile laboratuardan kaynaklanan bazı kck sapmaların ve bunların analiz sonuçları üzerine etkisi incelenmektedir. Bu çalışmanın yapılabilmesi için ön araştırma çalışmaları, analiz n aşaması, temizleme ve analiz faktörlerini seçmek gerekmektedir. Bunlar rnek kompozisyonu, üretim tarihi farklı kimyasallar, pH, ekstraksiyon süresi, sıcaklık, basınç, akış hızı, uçuculuk, kolon sıcaklığı gibi faktörlerdir. İncelenecek faktörler tanımlandıktan sonra, her bir faktör üzerinde biraz değişiklikler uygulanarak sonuçları önemli lde etkileyenlerin metot protokolünde açık bir Şekilde tanımlanması gerekmektedir. Metot parametrelerinde rutin işlem sırasında ufak değişikliklerin analiz sonucuna etkisi ne kadar az ise metot o kadar sağlamdır (Yılmaz 2013).

2.3.2.5. Lineer aralık ve ölüm aralığı

Lineer lm aralığı derişim/sinyal bağıntısının doğrusal olduğu derişim aralığı olarak tanımlanmaktadır. Ölüm sinyalinin analit konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak belirlendiği bir kalibrasyon grafiği ile gösterilmektedir. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması, içinde miktarı bilinen referans örnekle veya kr örnek içine eklenmiş analitin bilinen konsantrasyonu ile yapılır. Her bir ölüm noktasında en az iki ölüm yapılır. Eurachem rehberinde en az 6 noktada, birde kr eklenerek ve her bir noktada tekrar sayısı 3 olarak, ISO 11095'de en az 3 farklı seviyede referans örnek ve tekrar sayısı ise en az 2 olarak belirtilmiştir. Standartlar her bir noktada ana solüsyondan dilüsyonlar yapılması yerine bağımsız olarak hazırlanmalıdır. Kalibrasyon eğrisinin analiz edilen örnek yapısının farklılığına göre değişebileceği göz ardı edilmemelidir. Elde edilen yanıtla çizilen eğride st ve alt sınırlar belirlenmelidir. Kalibrasyon eğrisinin en alt noktası uygulanan analiz metodunun tayin limiti olmalıdır. Her bir konsantrasyon düzeyine karşılık gelen cihaz yanıtı grafiğe geçirilir. Sonuçlar grafiksel olarak verilir ve lineer regresyon formülü ile korelasyon katsayısı belirlenir. Bu Şekilde alışma aralığının doğrusal olup olmadığı tespit edilir. Korelasyon katsayısı >0,99 olmalıdır (Yılmaz 2013). Kantitatif metotlarda çalışma aralığının belirlenmesi gerekmektedir. Analiz sonucunda elde edilen değerler bu aralıktaki yer

almalıdır. Bu aralığın en düşük noktası LOQ değeridir.

2.3.2.6. Geri kazanım

Kimyasal analizlerde gerçek değer ölçülmesi uygulanan metoda bağlı olarak değişim göstermektedir. Deneysel işlemler sırasında çeşitli nedenlerle kayıplar oluşmaktadır. Kayıp miktarı metodun geri kazanım oranı olarak ifade edilmektedir (Akdağ 2011).

Geri kazanım çalışması üç şekilde yapılabilmektedir.

1- Aranılan maddenin numuneye bilinen miktarda eklenmesi ile (spike), analiz edilecek maddeyi içermeyen matris madde üzerine belli oranda standart eklenerek analiz edilir ve geri kazanım eşitlik 2.3'ten hesaplanır.

$$R(\%) = (C/C_S) * 100 \quad (2.3)$$

C=bulunan değer C_S =Spike edilen miktar

Analiz edilecek maddeyi içermeyen matris madde yoksa örnek üzerine belli oranda standart eklenerek analiz edilir ve gerikazanım eşitlik 2.4'ten hesaplanır.

$$R(\%) = ((C - C_B) / C_S) * 100 \quad (2.4)$$

C=bulunan değer C_B=örnekte bulunan miktar C_S =Spike edilen miktar

2- Sertifikalı referans madde kullanılarak;

Referans standart madde mevcutsa referans madde analiz edilir ve bulunan değer referans değerine oranı geri kazanım oranıdır ve eşitlik 2.5'ten hesaplanır.

$$R(\%) = (C/C_{CRM}) * 100 \quad (2.5)$$

C=bulunan değer C_{CRM} =Referansın değeri

3- Referans metotla analiz ederek geri kazanım belirleme,

Analiz örneği belirsizliği bilinen referans metotla analiz edilerek geri kazanım oranı bulunabilir. Analiz örneği aday metot ve referans metotla analiz edilir. Geri kazanım eşitlik 2.6'dan hesaplanır.

$$R(\%)=(C_M/C_R)*100 \quad (2.6)$$

C_M =Aday metotla bulunan değer C_R =Referans metotla bulunan değer

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Alet ve Gereçler

Numunelerin analize hazırlanmasında, hesaplamalarda ve analiz sırasında Mettler Toledo AG245 hassas terazi, Eppendorf pistonlu pipetler 5mL (500µL-5000µL arasında kalibrasyonlu) ve 1mL (100µL-1000µL arasında kalibrasyonlu), 20mL'lik cam flakonlar, kauçuk ve teflon flakon kapakları, tartım kapları, gaz kromatografivialleri, hesap makinası, pipet uçları, balonjoje, vortex, portüp, pHkağıtları ve A4 kağıtlar kullanıldı.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kloroform (VWR), Saf su (Chromasolvplusfor HPLC, SigmaAldrich), Amonyak (Ammoniumhydroxidesolution %26 NH₃, Riedel de Haen), Referans standart MDMA (Lipomed), yaklaşık %20'lik MDMA numunesi (kalite kontrol örneği) ve iç standart (triacontane, %99, sigmaaldrich)

3.2.1. İç standart çözeltisinin hazırlanması

100 mg triacontane hassas terazide tartılır. Balonjojeye konulur, üzerine kademeli olarak kloroform eklenir, çalkalanır ve çözülür. 1000mL'ye tamamlanır. Çalkalanarak tamamen çözülüp, karışması sağlanır. Hazırlanan bu 0,100mg/mL'lik stok çözelti buzdolabında muhafaza edilir. Çözelti kullanılmadan bir saat kadar önce buzdolabından çıkarılmalıdır.

3.2.2. Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

1500 µg/mL'lik çözeltinin hazırlanması: 15 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapılip tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazından 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

1000 µg/mL'lik çözeltilinin hazırlanması:10 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapıpıp tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazından 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltilisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

500 µg/mL'lik çözeltilinin hazırlanması:10 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapıpıp tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazı ayrı bir flakonda kloroformla 1:2 oranında seyreltildi ve bu çözeltiliden 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltilisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

100 µg/mL'lik çözeltilinin hazırlanması:10 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapıpıp tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazı ayrı bir flakonda kloroformla 1:10 oranında seyreltildi ve bu çözeltiliden 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltilisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

50 µg/mL'lik çözeltilinin hazırlanması:10 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapıpıp tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazı ayrı bir flakonda kloroformla 1:20 oranında seyreltildi ve bu çözeltiliden 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltilisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

10 µg/mL'lik çözeltilinin hazırlanması:10 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapıpıp tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazı ayrı bir flakonda kloroformla 1:100 oranında seyreltildi ve bu çözeltiliden 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltilisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

5 µg/mL'lik çözeltinin hazırlanması: 10 mg saf MDMA'ya denk gelecek şekilde referans standart tartılıp üzerine 5 mL saf su eklendi ve karıştırıldı, üzerine amonyak ilave edilerek pH 10 yapıp tekrar karıştırıldı. 5 mL kloroform eklenerek vortex yardımıyla 1 dk karıştırıldı. Altta kalan kloroform fazı ayrı bir flakonda kloroformla 1:200 oranında seyreltildi ve bu çözeltiden 0,500 mL gaz kromatografivialine konuldu. Üzerine iç standart çözeltisinden 0,500 mL eklenerek 1 mL'ye tamamlandı.

3.3. Cihaz ve Metot

Analizlerde Chemstation (Versiyon N.05.05) yazılımlı Agilent 6890N marka gaz kromatografisi (GC) ve ona bağlı olarak çalışan alev iyonizasyondetektörü (FID) cihazı kullanılmıştır.

Kolon: DB-5(10,0m x 100 µm x 0,17 µm)(max. 325⁰C)5% phenyl 95% dimethylpolysiloxane

Fırın sıcaklık programı:

Başlangıç sıcaklığı: 80 ⁰C (bekleme süresi 1dk),

Sıcaklık değişimi: 20 ⁰C/dk,

Final sıcaklığı: 310 ⁰C (bekleme süresi 5dk),

Analiz süresi: 17,50 dk,

Enjeksiyon sıcaklığı: 230 ⁰C,

Enjeksiyon hacmi: 1 µL,

Split oranı: 100:1,

Taşıyıcı gaz ve akış hızı: Helyum (0,9 mL/dk),

İnlet basıncı: 69,26 psi (sabit basınç),

Dedektör sıcaklığı: 300 ⁰C

Dedektör gazları ve akış hızları: Hidrojen (40mL/dk), Hava (450mL/dk)

3.4. Uygulama Çalışması

Çalışma, Adli Tıp Kurumu Başkanlığı İstanbul Merkez Kimya İhtisas Dairesi Narkotik Şubesi'nde Adli Tıp Kurumu'ndan izin alınarak yapılmıştır. Analizler sertifikalı referans standart MDMA.HCL (Lipomed Lot No:94.3B10.1) (Freebasecontent:% 84,00) ve MDMA numunesi olarak yaklaşık % 20'lik örnek kullanılarak yapılmıştır.

3.5. Metot Geçerli Kılma Parametreleri

Bu metodun geçerli kılma çalışması doğruluk, seçicilik, geri kazanım, kesinlik, doğrusallık, tespit (LOD) ve tayin (LOQ) limiti ile sağlamlık parametreleri göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

3.5.1. Doğruluk

Metodun dedeksiyon limitinde ve daha yüksek düzeyde olmak üzere iki doğruluk seviyesi belirlendi. Her bir konsantrasyon için ortalama, standart sapma ve bağıl hata değerleri hesaplandı (n=10)

3.5.2. Seçicilik

Seçicilik parametresinde piyasada MDMA ile birlikte genellikle bulunabilen kafein, efedrin ve parasetamol ile yasadışı tabletlerde etken madde olarak tespit edilebilen Amfetamin, MBDB, MDA, MDEA ve Metamfetamin etken maddelerine bakıldı. Herbir madde ayrı ayrı çalışılarak alıkonma zamanlarına (t_R) bakıldı. Kromatogramdaki kaymaları elimine edebilmek için alıkonma zamanlarının internal standardın alıkonma zamanlarına oranı hesaplandı.

3.5.3. Geri kazanım

Geri kazanım çalışmasında sertifikada belirtilen saflık değeri % 84,0 olan referans MDMA standardı kullanılarak 10 farklı analiz yapıldı.

3.5.4. Kesinlik

3.5.4.1. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik çalışması için aynı gün içinde yaklaşık olarak % 20 düzeyinde MDMA içeren gerçek örnek, iki operatör tarafından, birbirinden bağımsız olarak 10'ar defa çalışıldı. Daha sonra ortalama, standart sapma, bağıl standart sapma, t ve F değerleri hesaplandı.

3.5.4.2. Tekrar üretilebilirlik

Tekrar üretilebilirlik çalışması için 6 farklı günde yaklaşık olarak % 20 düzeyinde MDMA içeren gerçek örnek, iki operatör tarafından, birbirinden bağımsız olarak hergün 4-5'er defa çalışıldı. Daha sonra ortalama, standart sapma, bağıl standart sapma, t ve F değerleri hesaplandı.

3.5.5. Lineer aralık ve ölçüm aralığı

Lineer aralık çalışmasında MDMA için 7 farklı konsantrasyon ve her bir konsantrasyon seviyesinde 3 tekrar yapılarak çalışıldı. Elde edilen sonuçlar hazırlanan konsantrasyon değerine karşı (x) okunan konsantrasyon değeri (y) şeklinde bir grafiğe geçirildi. Regresyon katsayıları hesaplandı. Ayrıca artıklar (her bir x değeri için gerçek y ile tahmin edilen y değeri arasındaki fark) hesaplandı. Lineer aralık ve çalışma aralığı belirlendi.

3.5.6. Tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ)

Tespit ve tayin limiti hesaplanması için kabul edilebilir kesinlik ve gerçeklik değerine yakın (10ppm) değerlerde 10 adet analiz yapıldı. Ortalama ve standart sapma hesaplandı. Tespit sınırı (LOD) hesaplanırken elde edilen ortalamaya ölçümlerin standart sapmasının 3 katı eklendi. Tayin sınırı ise (LOQ) ortalamaya ölçümlerin standart sapmasının 10 katı eklenerek hesaplandı.

3.5.7. Metot Sağlamlığı

Yaklaşık %20 MDMA içeren gerçek örnekten birbirinden bağımsız 3 farklı tartım yapılarak numune hazırlama yöntemine göre hazırlanmış ve insertli viallere dağıtılarak enjeksiyona hazır hale getirilmiştir. Viallerin enjeksiyon öncesi bekleme sürelerinin sonuçları nasıl etkilediği t testi yapılarak incelenmiştir.

3.6. Hesaplamalarda Kullanılan İstatistiki Yöntemler

Ortalama değer(X_{ort}): Bütün ölçümlerin toplamının ölçüm sayısına bölünmesiyle elde edilen değerdir ve eşitlik 3.1'den hesaplanır (Miller ve ark. 1993).

$$X_{ort}=(X_1+X_2+X_3+\dots+X_{n-1}+ X_n)/n \quad (3.1)$$

Standart sapma: Veri değerlerinin yayılımının özetlenmesi için kullanılan bir ölçüdür ve eşitlik 3.2'den hesaplanır.

$$s^2= \sum(X_i- X_{ort})^2/ (n-1) \quad (3.2)$$

s : Standart sapma x_i : Ölçülen değer X_{ort} : Ölçülen değerlerin ortalaması n : Ölçüm sayısı

Bağıl standart sapma (varyasyon katsayısı): Standart sapmayı ölçüm sonucundan bağımsız ve birimsiz olarak raporlamak için bağıl standart sapma (% RSD) eşitlik 3.3'ten hesaplanır.

$$\% RSD = s / X_{ort} \quad (3.3)$$

F Testi: İki örnek varyansının oranını, yani standart sapmalarının karesinin oranını dikkate alır ve F değeri eşitlik 3.4'ten hesaplanır.

$$F = s_1^2/s_2^2 \quad (3.4)$$

s_1^2 = 1. anakütlenin varyansı

s_2^2 = 2. anakütlenin varyansı

Eşitlikteki s_1^2 ve s_2^2 değerleri daima $F \geq 1$ olacak şekilde yerleştirilir. Yok hipotezi örneklerin alındığı kitlelerin normal olduğu ve kitlelerin varyanslarının eşit olduğu varsayımı üzerine kurulur. Eğer yok hipotezi doğruysa varyans oranı 1 sayısına oldukça yakın bir değerde olacaktır. Oranın 1 değerinden biraz farklı olması rastgele değişimlerden kaynaklanabilir, bununla birlikte eğer fark çok büyükse aradaki fark bu nedene dayandırılmaz. Yani hesaplanan F değeri belirli bir kritik değeri (tablolardan bulunur) aştığı durumda yok hipotezi reddedilir. Kritik F değeri tablodan serbestlik derecelerine (n-1) göre

bulunur. Tek taraflı ve çift taraflı F testleri için kritik değerler çizelge 3.1.'de verilmiştir (Miller ve ark. 1993).

Çizelge 3.1. % 95 güven seviyesi için kritik F değerleri (Miller ve ark. 1993)

Tek-taraflı bir F testi için kritik değerler (P=0.05)

v_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.318	4.459	4.065	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124

v_1 = kesrin üst tarafı için serbestlik derecesi sayısı, v_2 =Kesrin alt tarafı için serbestlik derecesi sayısı.

İki-taraflı bir F testi için kritik değerler (P=0.05)

v_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.880	5.513	5.285	5.119	4.995	4.889	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

v_1 = kesrin üst tarafı için serbestlik derecesi sayısı, v_2 =Kesrin alt tarafı için serbestlik derecesi sayısı.

t Testi : Yeni bir analitiksel yöntem kullanılarak elde edilen sonuçların ikinci bir yöntem kullanılarak elde edilen sonuçlarla kıyaslanmasıdır. Bu durumda iki ortalama değer X_{ort1} ve X_{ort2} elde edilecektir. Yok hipotezi iki yöntemin aynı sonucu vereceği üzerine kurulursa bu durumda $(X_{ort1} - X_{ort2})$ farkının sıfırdan önemli bir şekilde farklı olup olmadığı test edilebilir. Eğer iki örneğin standart sapması birbirinden önemli bir şekilde farklı değilse harmanlanmış standart sapma değeri (S_h) bireysel standart sapmalar kullanılarak eşitlik 3.5' ten hesaplanır.

$$S_h^2 = ((n_1 - 1) * s_1^2 + (n_2 - 1) * s_2^2) / (n_1 + n_2 - 2) \quad (3.5)$$

t değeri de eşitlik 3.6'dan hesaplanır.

$$t^2 = (X_{ort1} - X_{ort2})^2 / S_h^2 (1/n_1 + 1/n_2) \quad (3.6)$$

hesaplanan t değeri güven seviyesi ve serbestlik derecesine göre t tablo değeriyle kıyaslanır. Yani hesaplanan t değeri belirli bir kritik değeri (tablodan bulunur) aştığı durumda yok hipotezi reddedilir. Serbestlik derecesi eşitlik 3.7'den hesaplanır.

$$\text{Serbestlik derecesi } (v) = n_1 + n_2 - 2 \quad (3.7)$$

Çizelge 3.2. İki taraflı bir test için kritik t değerleri (tek taraflı bir test için ihtiyaç duyulan P (önemlilik seviyesi) değerinin iki katı alınarak ilgili sütundan t değeri bulunur) (Miller ve ark. 1993)

Güven seviyesi	%90	%95	%98	%99
P	0,10	0,05	0,02	0,01
Serbestlik derecesi(v)				
1	6,31	12,71	31,82	63,66
2	2,92	4,30	6,96	9,92
3	2,35	3,18	4,54	5,84
4	2,13	2,78	3,75	4,60
5	2,02	2,57	3,36	4,03
6	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,89	2,36	3,00	3,50
8	1,86	2,31	2,90	3,36
9	1,83	2,26	2,82	3,25
10	1,81	2,23	2,76	3,17
12	1,78	2,18	2,68	3,05
14	1,76	2,14	2,62	2,98
16	1,75	2,12	2,58	2,92
18	1,73	2,10	2,55	2,88
20	1,72	2,09	2,53	2,85
30	1,70	2,04	2,46	2,75
50	1,68	2,01	2,40	2,68
∞	1,64	1,96	2,33	2,58

3.7. Laboratuvarlararası Karşılaştırma Testleri

Analiz sonuçlarının karşılaştırılabilmesi amacıyla içeriği organizatör bir laboratuvar tarafından bilinen örneklerin katılımcı laboratuvarlar tarafından analizlerinin yapılması ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi amacını taşıyan testlerdir.

Karşılaştırma test performansları laboratuvarların gönderdikleri analiz sonuçlarına göre z-score hesaplanarak yapılmaktadır. zscore eşitlik 3.8'den hesaplanır.

$$Z = (X_i - X_{ref})/s \quad (3.8)$$

X_i : Laboratuvar sonucu, X_{ref} : Referans değer, s : Referans standart sapması

Eşitlik 3.8'den hesaplanan z-score'un değerlendirmesi şu şekilde yapılmaktadır (Akdağ 2011).

$2 > |z|$ ise performans yeterli,
 $3 > |z| > 2$ ise performansı şüpheli,
 $|z| > 3$ ise performans yetersiz.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Doğruluk

Bölüm 3.5.1'deki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. MDMA için doğruluk değerleri (n=10)

Hazırlanan kons.	MDMA($\mu\text{g/mL}$)	
	105,00	420,00
1.analiz	84,49	402,98
2.analiz	81,90	419,32
3.analiz	86,17	418,98
4.analiz	83,63	419,39
5.analiz	87,34	402,97
6.analiz	81,04	431,74
7.analiz	80,52	414,63
8.analiz	92,43	408,89
9.analiz	95,49	406,27
10.analiz	96,92	425,56
Ortalama	87,00	415,10
s	6,00	9,70
RSD	6,90	2,34
Hata	18,00	4,90
Bağlı hata	17,14	1,17

4.2. Seçicilik

Bölüm 3.5.2'deki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2.MDMA ve diğer etken maddelerin tutunma zamanları

Analit	t_R	t_{Ranalit}/t_{Ris}
Amfetamin	2,749	0,220
Metamfetamin	3,212	0,257
Efedrin	4,591	0,368
MDA	5,317	0,426
MDMA	5,669	0,454
MDEA	5,982	0,479
MBDB	6,266	0,502
Kafein	7,607	0,609
Parasetamol	11,694	0,937
Triakontan(IS)	12,485	1

4.3. Geri kazanım

Geri kazanım çalışmasında sertifikada belirtilen saflık değeri % 84,00 olan referans MDMA standardı kullanılmıştır. Bölüm 3.5.3'deki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.3'te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. % 84,00'lük referans MDMA örneğinin geri kazanım çalışması (n=10)

Sertifika değeri=%84,00	Geri kazanım(%)
1.analiz	100,63
2.analiz	95,55
3.analiz	92,92
4.analiz	93,26
5.analiz	87,37
6.analiz	89,26
7.analiz	92,13
8.analiz	84,07
9.analiz	83,04
10.analiz	82,26
Ortalama	90,49
s	5,95

4.4. Kesinlik

4.4.1. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik çalışmasında yaklaşık % 20'lik MDMA kalite kontrol örneği kullanılmıştır. Bölüm 3.5.4.1'deki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4.%20'lik MDMA örneğinin tekrarlanabilirlik verileri(n=10)

	1.Operatör	2.Operatör
1.analiz	19,48	20,11
2.analiz	20,16	19,48
3.analiz	19,76	20,29
4.analiz	20,37	20,21
5.analiz	19,14	19,82
6.analiz	20,87	20,04
7.analiz	20,65	20,53
8.analiz	20,33	20,92
9.analiz	20,73	21,00
10.analiz	19,80	21,43
Ortalama	20,13	20,38
s	0,57	0,59
RSD	2,83	2,90
t hesap	0,972	
t tablo(18;0,05)	2,101	
F hesap	1,076	
F tablo(9;9)	4,026	

Yok hipotezine göre $F \text{ hesap} < F \text{ tablo}$ olduğundan aynı gün içinde her iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde kesinlik bakımından anlamlı bir fark yoktur.

Yok hipotezine göre $t \text{ hesap} < t \text{ tablo}$ olduğundan aynı gün içinde her iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde sonuçların ortalamaları bakımından anlamlı bir fark yoktur.

4.4.2. Tekrar Üretilirlik

Tekrarlanabilirlik çalışmasında yaklaşık % 20'lik MDMA kalite kontrol örneği kullanılmıştır. Bölüm 3.5.4.2'deki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5.% 20'lik MDMA örneğinin tekrar üretilebilirlik verileri(n=25)

	1.Operatör	2.Operatör
1.gün	19,96	21,33
	20,81	21,56
	20,62	20,98
	20,57	21,03
2.gün	21,84	21,04
	22,22	19,01
	21,84	19,71
	21,57	19,96
3.gün	20,97	19,30
	20,94	19,73
	21,14	20,57
	21,38	20,16
4.gün	21,72	22,56
	22,05	22,73
	22,28	22,36
	22,08	22,40
5.gün	22,36	21,44
	22,70	22,00
	21,56	22,21
	21,99	21,98
	21,34	21,64
6.gün	18,63	20,77
	20,57	21,19
	18,84	20,52
	20,24	17,87
Ortalama	21,21	20,96
s	1,03	1,22
RSD	0,05	0,06
t hesap	1,090	
t tablo(48;0,05)	2,010	
Fhesap	1,411	
Ftablo(24;24)	2,270	

Yok hipotezine göre F hesap < F tablo olduğundan farklı günlerde her iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde kesinlik bakımından anlamlı bir fark yoktur.

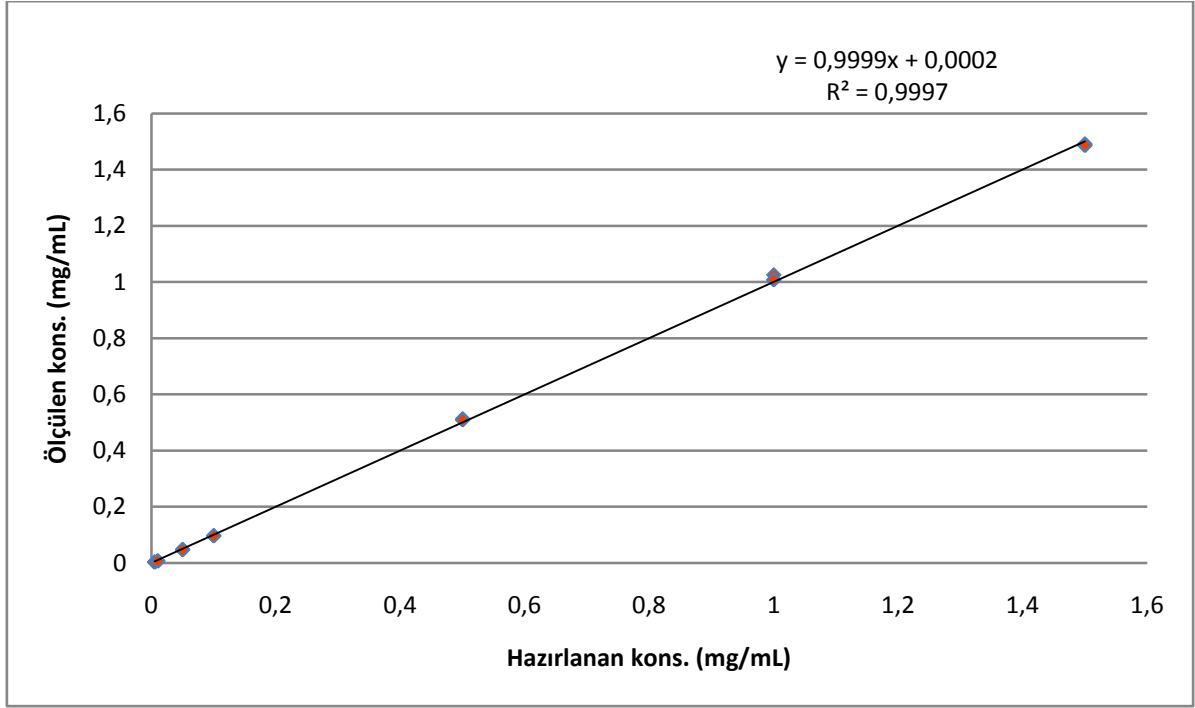
Yok hipotezine göre t hesap < t tablo olduğundan farklı günlerde her iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde sonuçların ortalamaları bakımından anlamlı bir fark yoktur.

4.5. Lineer aralık ve ölçüm aralığı

Bölüm 3.5.5'deki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. MDMA için doğrusallık verileri

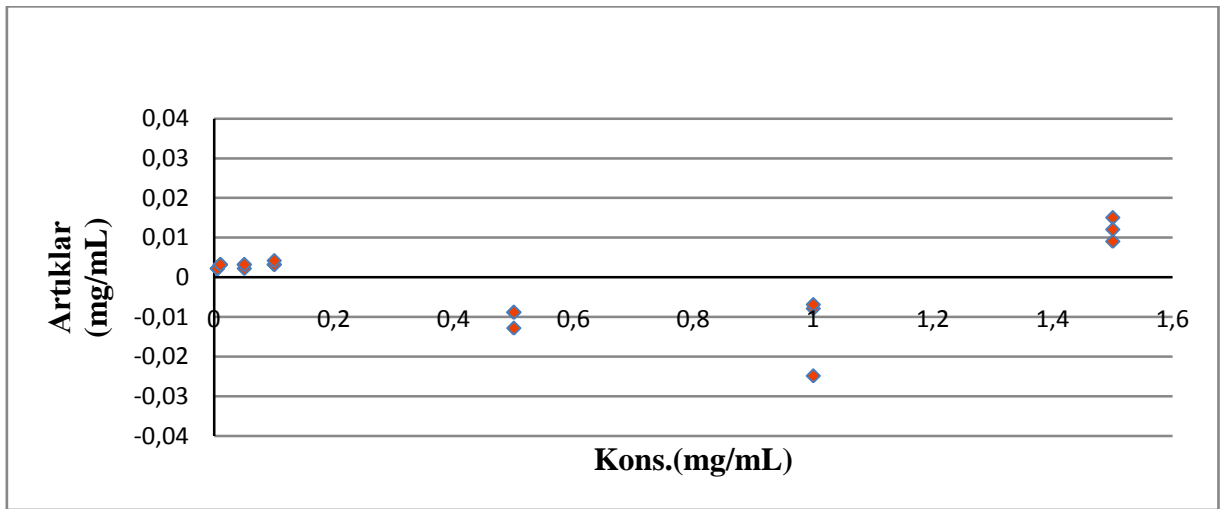
Hazırlanan Konsantrasyon (mg/mL)	Ölçülen Konsantrasyon (mg/mL)	Ortalama	s	RSD	Artıklar
0,005	0,003	0,003	0,000	0,000	0,002
	0,003				0,002
	0,003				0,002
0,010	0,007	0,007	0,000	0,000	0,003
	0,007				0,003
	0,007				0,003
0,050	0,048	0,047	0,001	1,276	0,002
	0,047				0,003
	0,047				0,003
0,100	0,097	0,097	0,001	0,620	0,003
	0,097				0,003
	0,096				0,004
0,500	0,513	0,510	0,002	0,451	-0,013
	0,509				-0,009
	0,509				-0,009
1,000	1,025	1,013	0,010	0,997	-0,025
	1,008				-0,008
	1,007				-0,007
1,500	1,485	1,488	0,003	0,202	0,015
	1,491				0,009
	1,488				0,012



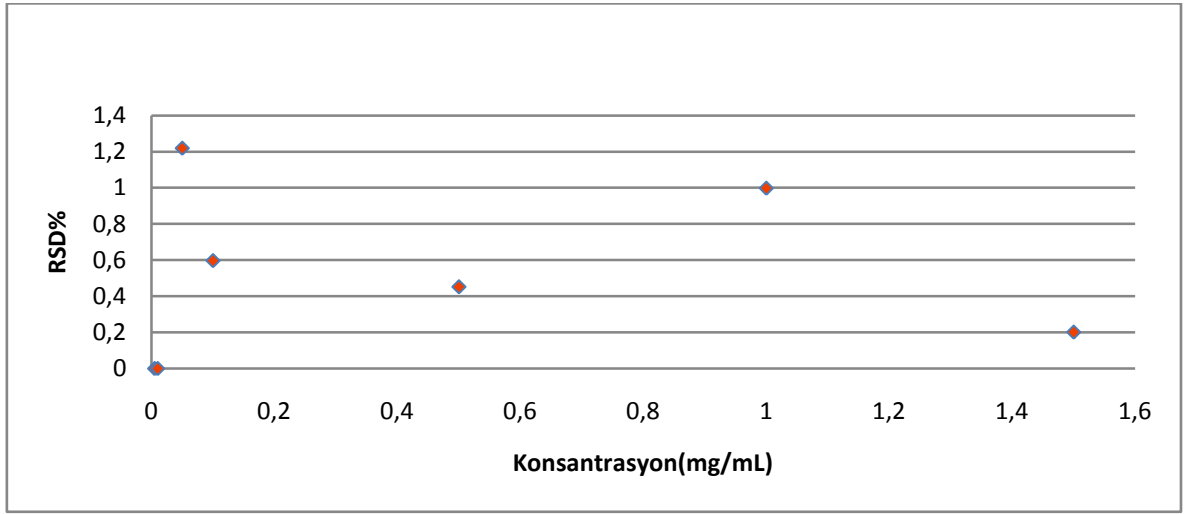
Şekil 4.1. MDMA için hazırlanan konsantrasyon düzeyine karşılık gelen okunan konsantrasyon değerleri

Çizelge 4.7. MDMA analiz metodu için doğrusallık çalışması sonuçları

ÇALIŞMA ARALIĞI ($\mu\text{g/mL}$)	LİNEER ARALIK ($\mu\text{g/mL}$)	DENKLEM	R^2	RSD DAĞILIMI
12,26-1500	5-1500	$y = 0,9999x + 0,0002$	0,9997	0.00-1,28



Şekil 4.2. MDMA için hazırlanan konsantrasyon düzeyine karşılık gelen artık değerleri



Şekil 4.3. MDMA için hazırlanan konsantrasyon düzeyine karşılık gelen bağıl standart sapma değerleri

4.6. Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)

Bölüm 3.5.6'daki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.8'de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. MDMA için tespit ve tayin sınırları

Hazırlanan konsantrasyon (10µg/mL)	Okunan konsantrasyon (µg/mL)	S/N
1.analiz	10,71	7,1
2.analiz	10,86	7,3
3.analiz	10,80	7,1
4.analiz	10,53	6,9
5.analiz	11,00	7,8
6.analiz	10,82	7,1
7.analiz	11,01	7,6
8.analiz	10,81	7,8
9.analiz	10,81	7,1
10.analiz	11,01	7,3
Ortalama	10,82	7,3
s	0,14	-
RSD	1,33	-
LOD	11,25	-
LOQ	12,26	-

4.7. Metot Sağlamlığı

3.5.7 bölümündeki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.9'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. 3 farklı örnek için cihaz üzerinde bekleme süresinin sonuçlara etkisi

Bekleme Süresi (saat)	1no'lu örnek %	2no'lu örnek %	3no'lu örnek %	ort	s	RSD	S _h	t _{hesap}	t _{tablo}
0	20,84	20,99	20,22	20,68	0,41	1,97			
5	21,59	21,38	20,32	21,10	0,68	3,23	0,56	0,90	2,78
6,5	21,63	21,49	20,12	21,08	0,84	3,96	0,66	0,74	2,78
8,5	21,68	21,80	20,47	21,32	0,74	3,45	0,60	1,30	2,78
10	21,72	21,75	20,52	21,33	0,70	3,29	0,57	1,38	2,78
18	21,53	21,60	20,66	21,26	0,52	2,46	0,47	1,51	2,78
20	22,13	22,08	20,63	21,61	0,85	3,94	0,67	1,70	2,78
22	22,14	22,09	20,72	21,65	0,81	3,72	0,64	1,85	2,78
23,5	22,12	22,22	20,57	21,64	0,92	4,28	0,72	1,63	2,78
26	21,86	21,82	20,90	21,53	0,54	2,52	0,48	2,15	2,78
30	22,59	22,69	21,53	22,27	0,64	2,89	0,54	3,61	2,78

Yok hipotezine göre 26 saatin sonunda $t_{hesap} < t_{tablo}$ olduğundan numunelerin enjeksiyon öncesinde cihaz üzerinde 26 saate kadar bekleyen numune ile yeni hazırlanan numunelerin analiz sonuçlarının ortalamaları bakımından % 95 güven seviyesinde anlamlı bir fark yoktur

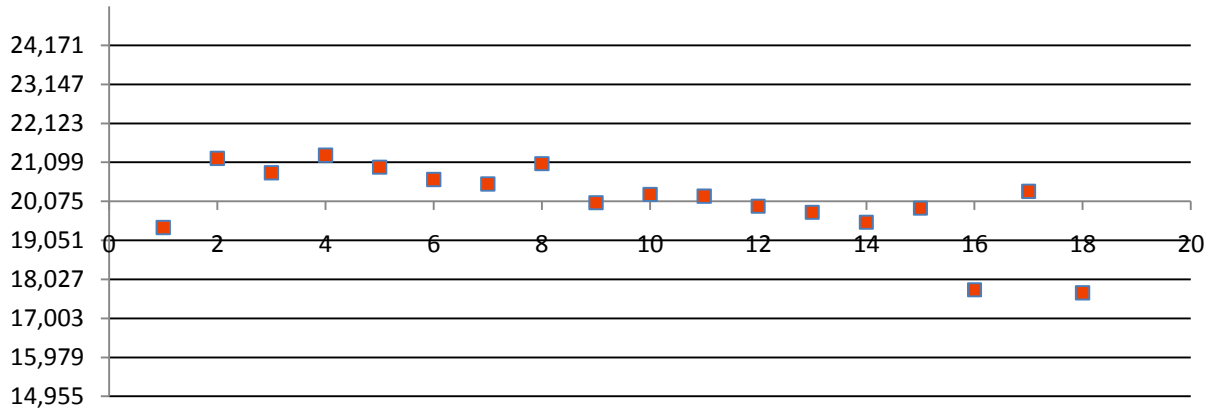
4.8. Homojenizasyon

Bölüm 3.5.6'daki çalışmanın sonuçları aşağıda Çizelge 4.10'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. %20'lik MDMA örneğinin homojenite testi

	%		%		%
1. analiz	19,39	7. analiz	20,53	13. analiz	19,79
2. analiz	21,21	8. analiz	21,06	14. analiz	19,52
3. analiz	20,82	9. analiz	24,04	15. analiz	19,90
4. analiz	21,29	10. analiz	20,26	16. analiz	17,75
5. analiz	20,97	11. analiz	20,21	17. analiz	20,34
6. analiz	20,65	12. analiz	19,95	18. analiz	17,67
Ortalama=20,08			s=1,03		

Homojenizasyon testinden elde edilen sonuçların standart sapmalara göre dağılımı Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. MDMA için homojenizasyon sonuçlarının dağılımı

4.9. Laboratuvarlararası Karşılaştırma testleri

2013 yılında yeterlilik test örneği olarak ENFSI tarafından laboratuvarımıza gönderilen % 32,30 MDMA (n=10, RSD=% 1,33) içeren maddenin, geçerli kılma çalışmaları yapılan metotla analiz sonucu % 32,66 MDMA olarak raporlanmıştır. 59 farklı laboratuvar tarafından yapılan kantitatif analiz sonuçlarına göre;

$$z=(32,66-32,30) / 1,33=0,27 \text{ ve } 2 > |z| \text{ olduğundan metot performansı yeterlidir.}$$

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Adli kimya laboratuvarlarında yapılan analizlerden geçerli, güvenilir, tekrar edilebilir ve izlenebilir sonuçlar alınabilmesi amacıyla geçerli kılma çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Geçerli kılma çalışmaları önemi her geçen gün daha da artan ve tüm dünyada yaygınlaşan bir standardizasyon yöntemidir.

Bu çalışmada gerçek MDMA numunesinin kantitatif tayini amacıyla gaz kromatografisi (GC/FID) ile uygulanan metodun validasyon çalışmaları yapıp validasyon parametreleri değerlendirmiştir. Bu bağlamda metot açısından doğruluk, seçicilik, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), linearite, tespit (LOD) ve tayin (LOQ) limiti ile sağlamlık parametreleri incelenmiştir.

Doğruluk parametresi açısından sonuçların bağıl hataları, yüksek seviyeler için %15'in, düşük seviyeler için ise %20'nin altındadır.

Seçicilik parametresi açısından MDMA ile birlikte kafein, parasetamol, efedrin, amfetamin, MBDB, MDA, MDEA ve metamfetamin etken maddeleri çalışılmıştır. Bu maddelerden kafein, efedrin ve parasetamol piyasada MDMA ile birlikte bulunabilen benzer etkiler elde etmek, MDMA yüzdesini düşürmek ve toplam madde miktarını artırmak için kullanılabilir. Amfetamin, metamfetamin, MBDB, MDA, MDEA etken maddelerine ise ekstazi tabletlerde rastlanabildiğinden bu maddeler içinde seçicilik parametresi irdelenmiştir. Bu maddeler için alıkonma zamanları belirlenmiştir. Geçerli kılınan metot ile MDMA'nın bu maddelerle ayrımının yapılabilirdiği gözlenmiştir.

Sertifikalı referans standart MDMA (% 84,00) örneğinden yapılan 10 bağımsız analizin sonucundan geri kazanım (R) % 90,05±5,95 olarak tespit edilmiştir.

Kesinlik parametresi açısından tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik hesaplanmıştır.

Tekrarlanabilirlik iki operatör tarafında aynı gün içinde 10'ar kez çalışılmıştır. Standart sapma ve bağıl standart sapma hesaplanmıştır. Operatörler arasındaki standart

sapmaları karşılaştırabilmek için F testi uygulanmıştır. F tablo değeri F hesaplanan değerden büyük olduğundan iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde aynı gün içinde kesinlik bakımından anlamlı bir fark yoktur. Ortalamaların birbirleriyle karşılaştırılabilmesi için t testi uygulanmıştır. t tablo değeri t hesaplanan değerden büyük olduğundan iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde aynı gün içinde ortalamalar bakımından anlamlı bir fark yoktur.

Tekrar üretilebilirlik için iki operatör tarafından 6 farklı günde toplam 25'er analiz yapılmıştır. Standart sapma ve bağıl standart sapma hesaplanmıştır. Operatörler arasındaki standart sapmaları karşılaştırabilmek için F testi uygulanmıştır. F tablo değeri F hesaplanan değerden büyük olduğundan iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde farklı günler arasında kesinlik bakımından anlamlı bir fark yoktur. Ortalamaların birbirleriyle karşılaştırılabilmesi için t testi uygulanmıştır. t tablo değeri t hesaplanan değerden büyük olduğundan iki operatörün çalışmaları arasında % 95 güven seviyesinde farklı günler arasında ortalamalar bakımından anlamlı bir fark yoktur.

Doğrusallık (linearite) parametresi için 7 farklı konsantrasyon ve her bir konsantrasyon seviyesinde 3 tekrar yapılarak çalışılmıştır. Lineer aralık 5-1500 µg/mL , çalışma aralığı 12,26-1500 µg/mL, doğrunun denklemi $y = 0,9999x + 0,0002$ olarak hesaplanmıştır. Regresyon katsayısı 0,9997 olarak hesaplanmıştır. Regresyon katsayısı 0,99'dan büyük olduğundan geçerli sayılmıştır. Ayrıca artıklar (her bir x değeri için gerçek y ile tahmin edilen y değeri arasındaki fark) hesaplanmıştır.

Tespit ve tayin limiti hesaplanması için kabul edilebilir kesinlik ve gerçeklik değerine (10µg/mL) yakın 10 adet analiz yapılmıştır. Ortalama ve standart sapma hesaplanmıştır. MDMA için tespit limiti (LOD) 11,25µg/mL, tayin limiti (LOQ) 12,26µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Sağlamlık parametresi açısından analizi etkileyebileceği düşünülen enjeksiyon öncesi bekleme süresinin sonuçlara etkisi incelenmiştir. Enjeksiyon öncesi bekleme süresinin sonuçlara etkisini ölçmek amacı ile yaklaşık %20 MDMA içeren örnekten birbirinden bağımsız 3 farklı tartım yapılarak numune hazırlama yöntemine göre hazırlanmış ve insertli viallere dağıtılarak enjeksiyona hazır hale getirilmiştir. Viallerin enjeksiyon öncesi bekleme sürelerinin sonuçları nasıl etkilediği t testi yapılarak incelenmiştir. Enjeksiyon

öncesinde cihaz üzerinde 26 saate kadar bekleyen numune ile yeni hazırlanan numunelerin analiz sonuçlarının ortalamaları bakımından % 95 güven seviyesinde anlamlı bir fark yoktur.

Laboratuvarlararası karşılaştırma test sonucuna göre 59 farklı laboratuvar tarafından çalışılan örneğin z-score değeri $2 > |z|$ olarak hesaplanmış ve performansı yeterli görülmüştür.

Bu çalışmada adli kimya laboratuvarında gerçek MDMA numunesi ile geçerli kılma parametreleri ayrıntılı bir şekilde irdelenmiş ve kapsamlı bir çalışma yapılmıştır. Adalet sistemine doğrudan hizmet eden adli kimya laboratuvarlarında kullanılan metotlardan geçerli ve güvenilir sonuçların alınması son derece önemlidir. Geçerli kılınmış ve yeterliliği sürekli olarak kontrol edilen metotlarla çalışmak adalet sistemine olan güveni de artıracaktır. Metodun performans parametreleri detaylı bir şekilde incelenmiş ve ekstazi tabletlerin analizlerinde geçerli ve güvenilir sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics -The Fitness for Purpose of Analytical Methods EURACHEM Guide English Edition 1.0 – (1998)
- Agilent Technologies GC-GC/MS uygulamaları eğitim notları, Sem Ltd.Şti.(2011),
- Akdağ, İ.,2011 Metot Validasyonu-Kimyasal analizlerde belirsizlik seminerleri Eğitim Notları, 100 s., İstanbul.
- Bora T.(2007), Yakalanan Ekstazi Tabletlerinin Nitel, Nicel ve Kaynak Belirlemede Kullanılan Analiz Yöntemlerinin Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Chan, C.C., Lam, H., Lee, Y.C., Zhang X.M. Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification, Wiley-Interscience (2004)
- Durmuş H.(2008), Chemical Profiling of Ecstasy Tablets, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir
- Freudenmann, R. W., Öxler, F., Bernschneider-Reif, S. (2006). The origin of MDMA (ecstasy) revisited: the true story reconstructed from the original documents. Addiction; 101, 1241–5.
- Guidance for the Validation of Analytical Methods Used in Residue Depletion Studies, (2010), US. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine
- Göl E.(2012), GC/FID Cihazında Kokain Metot Validasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul
- Johns, T. (1959) : Beckman-gas chromatography applications manual.p.:108-112
- Miller J.C., Miller J.N. (1993), Analitik Kimyacılar İçin İstatistik(Çevirenler:Uyanık A., Bat L. (2004)
- Palhol F., Boyer S, Nault N., Chabrillat M., (2002), Impurity profiling of seized MDMA tablets by capillary gas chromatography. Anal. Bioanal Chem. 374, 274-281.
- Principles of Instrumental Analysis, Skoog/Leary, Forth Edition, 1992
- Phonchai A. (2009) Determination of MDMA, MDA and MA in ecstasy tablets and urine samples and suspects seized in Songkhla province using GC-FID technique
- Recommended methods for the identification and analysis of amphetamine, methamphetamine and their ring-substituted analogues in seized materials, United Nation Publication, Stnar 34. p: 30-36

- Shulgin, A.,Shulgin, A. (1991). PİHKAL: A ChemicalLoveStory. TransformPress, Berkeley
- Topal H.(2012), 3,4 Metilendioksimetamfetamin (MDMA) İçerenTabletlerin Kimyasalve Fiziksel Özellikleri Kullanılarak Kataloglandırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- TS EN ISO/IEC 17025, (2010), Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar, p.:12-14
- Türkiye uyuşturuocu raporu, (2014), p:128
- W.E. Harris andH.W.Habgood
(1966),Programmedtemperaturegaschromatography,Newyork:Wiley,John Wiley&Sons,Inc
- www.mdma.net, Erişim Kasım 2015
- www.wikipedia.org/wiki/Ekstazi, Erişim Kasım 2015
- Yılmaz A. (2013), Kimyasal Analizlerde Metot Validasyonu ve Verifikasyonu, Türklab Rehber Kitap

ÖZGEÇMİŞ

Mesut Şahin 1978’de İstanbul’da doğdu. İlkokulu Üsküdar Güzeltepe İlkokulu’nda, Ortaokulu Üsküdar Fatih Ortaokulunda, Liseyi Beylerbeyi Lisesi’nde okudu. 1995’te Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünde başladığı lisans eğitimini 1999 yılında tamamladı. Askerlik hizmetinden sonra 6 yıl farklı tekstil boyahanelerinde çalıştı. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilimdalında yüksek lisans öğrenimine 2012 yılında başladı. Halen Adli Tıp Kurumu Kimya İhtisas Dairesi Narkotik Şubesinde Kimyager olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir kız çocuğu babasıdır.