İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI

Türkiye'de Yaygın Tüketilen Alkollü ve Alkolsüz İçeceklerde Alprazolam ve Lorazepam'ın Çoklu Spektroskopik Yöntemler ve PCA ile Adli Analizi

Yüksek Lisans Tezi

Fatma Nur Bayar

Ağustos 2025

İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI

Türkiye'de Yaygın Tüketilen Alkollü ve Alkolsüz İçeceklerde Alprazolam ve Lorazepam'ın Çoklu Spektroskopik Yöntemler ve PCA ile Adli Analizi

Yüksek Lisans Tezi

Fatma Nur Bayar

Danışman

Prof. Dr. Nuriye Akbay

Ağustos 2025

TEZ JÜRİSİ ONAYI

Fatma Nur Bayar tarafından hazırlanan " Türkiye'de Yaygın Tüketilen Alkollü ve Alkolsüz İçeceklerde Alprazolam ve Lorazepam'ın Çoklu Spektroskopik Yöntemler ve PCA ile Adli Analizi" başlıklı bu Yüksek Lisans Tezi, Adli Bilimler Anabilim Dalı'nda hazırlanmış ve jürimiz tarafından kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ **İMZA**

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Nuriye Akbay

İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Üyeler:

Dr. Öğr. Üyesi Işık Çoban

İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Prof. Dr. Yelda Yalçın Gürkan

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 21/ 08 / 2025

BEYANLAR

Yazım ve Kaynak Gösterme Kılavuzu Beyanı

Danışmanlığımda yazılan bu tezin APA yazım ve kaynak gösterme kılavuzunda belirtilen kurallara uygun olarak yapılandırıldığı ve bu kılavuzun metin içi kaynak gösterme standartlarının bu tezde tutarlı olarak uygulandığı tarafımdan incelenerek teyit edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Nuriye Akbay

Etik İlkelere Sadakat Beyanı

Hazırladığım bu tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu, akademik ve etik kuralları gözeterek çalıştığımı ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

İmza

Fatma Nur Bayar

ÖZET

Türkiye'de Yaygın Tüketilen Alkollü ve Alkolsüz İçeceklerde Alprazolam ve Lorazepam'ın Çoklu Spektroskopik Yöntemler ve PCA ile Adli Analizi

Bayar, Fatma Nur

Yüksek Lisans Tezi, Adli Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuriye Akbay

Ağustos 2025

Bu çalışmada, benzodiazepin grubu ilaçlardan alprazolam (ALP) ve lorazepam (LORA) etken maddelerinin, farklı alkollü (beyaz şarap, roze şarap, votka) ve alkolsüz (gazoz, maden suyu) içecek matrislerinde analitik düzeyde tespitine olanak sağlayan bir metodoloji geliştirilmiştir. Çalışmada UV-Görünür absorpsiyon spektroskopisi, türev spektroskopisi ve floresans spektroskopisi teknikleri birlikte değerlendirilmiş; elde edilen veriler Temel Bileşenler Analizi (PCA) ve Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA) gibi çok değişkenli istatistiksel yöntemlerle yorumlanmıştır. ALP'nin 230–400 nm aralığında karakteristik çift bantlı yapısı referans çözeltiyle büyük ölçüde örtüşmüş, bazı içeceklerdeki girişimlere rağmen türev spektroskopisi ile ayırt edilebilirlik korunmuştur. LORA ise 210–400 nm aralığında ikili bant yapısı göstermiş, özellikle ikinci türev analizi ile spektral çözünürlük artırılmıştır. Her iki ilaç için floresans spektrumlarında artan derişimle bant kaymaları gözlenmiş; bu durum türev floresans spektroskopisi ile giderilerek seçicilik güçlendirilmiştir. İstatistiksel analizlerde, PCA ve k-means kümeleme sonuçları, içecek matrislerinin ilaç sinyalleri üzerindeki etkilerini net biçimde ortaya koymuş ve örneklerin ayrıştırılmasını sağlamıştır. Geliştirilen bu metodoloji, adli toksikoloji gibi alanlarda, ilaçların sıvı matrislerde tespiti için hızlı, ekonomik ve güvenilir bir alternatif sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Benzodiazepin, UV-Görünür Spektroskopi, Türev Spektroskopisi, Floresans Spektroskopisi, Adli Toksikoloji

ABSTRACT

Forensic Analysis of Alprazolam and Lorazepam in Commonly Consumed Alcoholic and Non-Alcoholic Beverages in Türkiye Using Multiple Spectroscopic Methods and PCA

Bayar, Fatma Nur

Master's Thesis, Department of Forensic Science

Supervisor: Prof. Dr. Nuriye Akbay

August 2025

In this study, a methodology was developed to enable the analytical detection of two benzodiazepine active ingredients, alprazolam (ALP) and lorazepam (LORA), in different alcoholic (white wine, rosé wine, vodka) and non-alcoholic (soda, mineral water) beverage matrices. The approach combined UV-Visible absorption spectroscopy, derivative spectroscopy, and fluorescence spectroscopy, while the obtained data were interpreted using multivariate statistical methods such as Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA). ALP exhibited a characteristic dual-band structure within the 230–400 nm range, largely overlapping with the reference solution. Despite interferences in certain beverage matrices, derivative spectroscopy preserved spectral distinguishability. LORA also showed a dual-band profile between 210–400 nm, with the second-derivative analysis particularly enhancing spectral resolution in more complex matrices. For both drugs, fluorescence spectra revealed band shifts with increasing concentrations. These shifts were successfully corrected by derivative fluorescence spectroscopy, thereby improving selectivity and enabling more reliable detection. Statistical evaluations further supported the spectroscopic findings. PCA and k-means clustering demonstrated clear distinctions between beverage-related samples and reference spectra, effectively highlighting the influence of matrix composition on drug signals and enabling sample differentiation. The results underline the robustness and practicality of the developed methodology. Offering rapid, cost-effective, and selective detection, the approach provides a reliable alternative for identifying benzodiazepines in liquid matrices. This methodology has strong applicability in forensic toxicology and related disciplines, where the detection of drug-adulterated beverages is of critical importance.

Keywords: Benzodiazepine, UV-Visible Spectroscopy, Derivative Spectroscopy, Fluorescence Spectroscopy, Forensic Toxicology

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının her aşamasında engin bilgi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, akademik gelişimime kıymetli katkılarda bulunan değerli danışman hocam Prof. Dr. Nuriye Akbay'a en içten şükranlarımı sunarım.

Tez süreci boyunca yönelttiğim her soruya sabırla ve açıklıkla yanıt veren, yol gösterici yaklaşımı ve teşvik edici desteğiyle bana güç katan Öğr. Gör. Dr. Elif Koyuncu'ya; İstatistiksel değerlendirme sürecindeki katkıları ve motive edici desteğiyle çalışmamın niteliğini artıran Öğr. Gör. Dr. Pelin Güzel'e;

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen 2024-GAP-Bili-0003 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilen bu çalışma için sağlanan maddi ve manevi desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Ve bu yolculuk boyunca yanımda olarak sabırlı, anlayışlı ve yapıcı tutumuyla her zaman iç huzurumu korumama yardımcı olan sevgili Büşra Emanetoğlu'na gönülden teşekkür ederim.

Ayrıca bu süreçte varlıklarıyla motivasyonumu yüksek tutmamı sağlayan tüm kıymetli arkadaşlarıma;
Sevgileri, güvenleri ve her koşulda yanımda oluşlarıyla bugünlere gelmemi mümkün kılan aileme;
Ve şimdiye dek bana ilham olan tüm kişi ve deneyimlere içten minnettarlığımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ JÜRİSİ ONAYI i

BEYANLAR ii

ÖZET iii

ABSTRACT iv

ÖNSÖZ v

İÇİNDEKİLER vi

TABLO DİZİNİ viii

ŞEKİL DİZİNİ ix

SİMGELER VE KISALTMALAR xv

BÖLÜM I 1

1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
   2.1. BENZODİAZEPİNLER 4
      2.1.1. Lorazepam 5
      2.1.2. Alprazolam 6
   2.2. SPEKTROSKOPİK ANALİZLER 8
      2.2.1. UV Türev Spektroskopisi 9
      2.2.2. Floresans Spektroskopisi 11
   2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER 12

BÖLÜM II 14

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR 14
   3.1. Kullanılan Cihazlar ve Donanım 14
   3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Materyaller 14
   3.3. Örneklerin Hazırlanması 15
   3.4. LC-MS/MS Çalışmaları 15
   3.5. Deney Sonuçlarının İstatistiksel İncelemesi 16
4. DENEYSEL SONUÇLAR 17
   4.1. LC-MS/MS Sonuçları 17
   4.2. UV-Gör Absorpsiyon Spektroskopisi Sonuçları 18
      4.2.1. ALP-Votka UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri 18

4.2.2. ALP-Beyaz Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....22
4.2.3. ALP-Roze Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....27
4.2.4. ALP-Maden Suyu UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....30
4.2.5. ALP-Gazoz UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....34
4.2.6. LORA-Votka UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....38
4.2.7. LORA-Beyaz Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....42
4.2.8. LORA-Roze Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....46
4.2.9. LORA-Maden Suyu UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....50
4.2.10. LORA-Gazoz UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri....54
4.3. Floresans Spektroskopisi Sonuçları....59
4.3.1 ALP-Votka Floresans Spektroskopisi Sonuçları....59
4.3.2 ALP-Beyaz Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları....64
4.3.3 ALP-Roze Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları....68
4.3.4 ALP-Maden Suyu Floresans Spektroskopisi Sonuçları....72
4.3.5 ALP-Gazoz Floresans Spektroskopisi Sonuçları....76
4.3.6 LORA-Votka Floresans Spektroskopisi Sonuçları....80
4.3.7 LORA-Beyaz Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları....84
4.3.8 LORA-Roze Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları....88
4.3.9 LORA-Maden Suyu Floresans Spektroskopisi Sonuçları....92
4.3.10. LORA-Gazoz Floresans Spektroskopisi Sonuçları....96
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI....99
5.1. Korelasyon Matrisi Analizi....99
5.1.1. Alprazolam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi....99
5.1.2. Lorazepam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi....104
5.2. Temel Bileşenler Analizi....107
5.2.1. Alprazolam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi....107
5.2.2. Lorazepam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi....110
BÖLÜM III....111
6. TARTIŞMA....111
KAYNAKÇA....114
ÖZGEÇMİŞ....120
EKLER....121

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. LC-MS/MS analizlerine ait parametreler 16
Tablo 2. LC-MS/MS ile yapılan ALP VE LORA tayinine ait sonuçlar 17

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Benzodiazepinlerin yapısal formülü (NEUROtiker, 2007). 5
Şekil 2. Lorazepam'ın yapısal formülü (Calvero, 2007). 5
Şekil 3. Alprazolam'ın yapısal formülü (Vaccinationist, 2015). 6
Şekil 4. Bilgisayar ortamında simüle edilen Gauss tipi absorpsiyon bandına ait birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü türev spektrumları.....11
Şekil 5. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) votkada farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) votkanın absorpsiyon spektrumu. 18
Şekil 6. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....19
Şekil 7. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 20
Şekil 8. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 21
Şekil 9. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) beyaz şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) beyaz şarabın absorpsiyon spektrumu.....22
Şekil 10. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....24
Şekil 11. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....25
Şekil 12. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 26
Şekil 13. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) roze şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) roze şarabın absorpsiyon spektrumu. 27
Şekil 14. ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları. 28
Şekil 15. ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....29
Şekil 16. ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....30
Şekil 17. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) maden suyunda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) maden suyunun absorpsiyon spektrumu.....31

Şekil 18. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....32
Şekil 19. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 33
Şekil 20. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 34
Şekil 21. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) gazozda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) gazozun absorpsiyon spektrumu. 35
Şekil 22. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....36
Şekil 23. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....37
Şekil 24. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 38
Şekil 25. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) votkada farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) votkanın absorpsiyon spektrumu. 39
Şekil 26. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları. 40
Şekil 27. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....41
Şekil 28. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....42
Şekil 29.LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) beyaz şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) beyaz şarabın absorpsiyon spektrumu.....43
Şekil 30. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....44
Şekil 31. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 45

Şekil 32. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 46
Şekil 33. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) roze şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) roze şarabın absorpsiyon spektrumu. 47
Şekil 34. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....48
Şekil 35. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....49
Şekil 36. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 50
Şekil 37. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) maden suyunda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) maden suyunun absorpsiyon spektrumu.....51
Şekil 38. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.....52
Şekil 39. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 53
Şekil 40. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları. 54
Şekil 41. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) gazozda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) gazozun absorpsiyon spektrumu. 55
Şekil 42. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları. 56
Şekil 43. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....57
Şekil 44. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.....58
Şekil 45. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.....60

Şekil 46. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden floresans türev spektrumu. 61
Şekil 47. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci türev floresans spektrumu. 62
Şekil 48.ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden floresans türev spektrumu. 63
Şekil 49. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden floresans türev spektrumu. 64
Şekil 50. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 65
Şekil 51. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 66
Şekil 52. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 67
Şekil 53. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 68
Şekil 54. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 69
Şekil 55. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 70
Şekil 56. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 71
Şekil 57. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 72
Şekil 58. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 73
Şekil 59. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 74
Şekil 60. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 75
Şekil 61. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 76
Şekil 62. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 77

Şekil 63. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 78
Şekil 64. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 79
Şekil 65. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 80
Şekil 66. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 81
Şekil 67. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 82
Şekil 68. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 83
Şekil 69. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 84
Şekil 70. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 85
Şekil 71. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 86
Şekil 72. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 87
Şekil 73. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 88
Şekil 74. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 89
Şekil 75. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 90
Şekil 76. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 91
Şekil 77. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 92
Şekil 78. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 93
Şekil 79. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 94

Şekil 80. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 95
Şekil 81. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 95
Şekil 82. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu. 96
Şekil 83. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu. 97
Şekil 84. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu. 98
Şekil 85. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu. 98
Şekil 86. ALP-Votka Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 99
Şekil 87. ALP-Beyaz şarap Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 100
Şekil 88. ALP-Roze şarap Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 101
Şekil 89. ALP-Maden suyu Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 102
Şekil 90. ALP-Gazoz Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 103
Şekil 91. LORA-Votka ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 104
Şekil 92. LORA-Beyaz şarap ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri 105
Şekil 93. LORA-Roze şarap ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 105
Şekil 94. LORA-Maden suyu ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 106
Şekil 95. LORA-Gazoz ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri. 107
Şekil 96. ALP'in tüm içecekler ile yapılan UV spektrumlarının birinci derece türev ve ikinci bölge PCA analizi. 108
Şekil 97. LORA'nın tüm içecekler ile yapılan UV spektrumlarının birinci derece türev PCA analizi. 110

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
mL	Mililitre
mg	Miligram
µL	Mikrolitre
µg	Mikrogram
m/z	Kütle/Yük Oranı
λ	Dalga boyu

Kısaltmalar	Açıklama
GC	Gama Hidroksibütirat
ALP	Alprazolam
LORA	Lorazepam
UV-Gör	UV-Görünür Bölge
PCA	Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis)
GABA	Gama Aminobütirik Asit
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi- Tandem Kütle Spektrometresi
GC-MS	Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi
HCA	Hiyerarşik Kümeleme Analizi

BÖLÜM I

1. GİRİŞ

Adli bilimler, suçun işleniş biçimini ve faili ortaya çıkarmaya yönelik, olayın üzerindeki sis perdesini aralayan çok disiplinli bir alandır (Aşıcıoğlu vd., 2024). Fizik, kimya, biyoloji, psikoloji, hukuk ve tıp gibi alanların katkısıyla suçun aydınlatılması ve maddi gerçeğe ulaşılması hedeflenir. Houck ve Siegel'e göre adli bilimler, kişi, yer ve nesneler arasında bağlantı kurarak ceza ve hukuk davalarının çözümüne katkı sağlayan bilimsel bir disiplindir. "Adli" kelimesi Latince forum (halk) sözcüğünden gelirken, "bilim" sistematik bilgi üretimini ifade eder. Bu alan sadece suçluyu tespit etmekle kalmaz, aynı zamanda masumların korunmasına da hizmet eder (Houck & Siegel, 2009). Bu bağlamda adli bilimler, bilimin adalet sistemine hizmet eden yönünü temsil eder. Adli bilimlerin temel amacı hukuki uyuşmazlıkların çözümüne katkı sağlamak ve ceza yargılamasında gerçeğin ortaya çıkarılmasına yardımcı olmaktır. Adli bilimler, yalnızca teknik bir uzmanlık değil, aynı zamanda yargı sürecine bilimsel yöntemlerle destek veren bir yaklaşımı da ifade eder (Aşırdizer, 2021).

Adli toksikoloji, adli bilimlerin alt disiplinlerinden biri olup, "zehir bilimi" anlamına gelen toksikolojinin hukuki süreçlere hizmet eden özel bir alanıdır. Ceza hukuku, medeni hukuk, ticaret hukuku gibi farklı alanlara konu olabilecek olaylarda yer alan kimyasal maddelerin incelenmesi bu disiplinin temel ilgi alanını oluşturur. Özellikle bağımlılık yapıcı yasal ya da yasadışı maddelerin kullanımı, akut veya kronik zehirlenmelere neden olabilecek kimyasalların etkileri, yasal statüleri ve biyolojik ya da fiziksel delillerde tespit edilmeleri gerektiği durumlarda adli toksikoloji devreye girmektedir. Trafik ve iş kazaları, intihar, cinayet, cinsel saldırı, gasp gibi olayların yanı sıra kasıtlı ya da kasıtsız zehirlenmelerde, fail veya mağdurun madde etkisi altında olup olmadığının değerlendirilmesinde bu bilim dalı önemli rol oynar. Adli toksikolojinin bilimsel çerçevesi, adli tıp, eczacılık, kimya, biyoloji, farmakoloji, farmasötik toksikoloji, hukuk ve mühendislik gibi birçok disiplinle olan çok yönlü ilişkisiyle şekillenir. Bu yönüyle adli toksikoloji, adli bilimlerin doğasında var olan multidisipliner yapının temel örneklerinden biridir.

Adli toksikoloji, kimyasal maddelerin ölü ya da canlı organizmalar üzerindeki toksik etkilerinin tıbbi ve hukuki yönleriyle incelenmesini konu alır. Analiz süreçlerinde, analitik toksikolojiye özgü gelişmiş enstrümantasyon ve yöntemlerden faydalanılır. Bu bilim dalı; ante-mortem toksikoloji, post-mortem toksikoloji, davranış-performans toksikolojisi ve yasadışı madde/ilaç kontrolü olmak üzere dört ana alt alanda faaliyet göstermektedir. Davranış-performans toksikolojisi, bireylerin madde etkisi altındayken gösterdikleri davranışsal değişimleri incelerken; yasa dışı madde/ilaç kontrolü, biyolojik ve fiziksel numunelerdeki madde analizlerini kapsar. Özellikle merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde etkili olan psikotrop ya da psikoaktif maddeler, adli toksikolojinin ilgi alanındadır. Bu maddeler MSS üzerinde uyarıcı ya da baskılayıcı etkiler göstererek, bireylerde bilişsel, duygusal ve algısal düzeyde geçici veya kalıcı değişimlere neden olur. Oluşan etkiler maddenin kimyasal yapısı, beyinde etki ettiği reseptörler ve etki süresi gibi değişkenlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (Aşıcıoğlu vd., 2024).

Özellikle MSS baskılayıcıları, adli toksikolojide önemli bir yer tutar. Bu grup maddeler; “madde ile kolaylaştırılmış cinsel suçlar” olarak adlandırılan vakalarda sıkça kullanılmaktadır. Ketamin, gama-hidroksi bütirat (GHB) ve flunitrazepam gibi maddeler, bilinç kaybı, motor kontrol kaybı, solunum depresyonu ve hatta ölüme yol açabilecek potansiyele sahiptir. Bu etkilerinden ötürü fail tarafından mağdurun direncini kırmak ve olayın hatırlanmasını engellemek amacıyla kullanılabilmektedir (Mercan & Açıkkol, 2014).

Alkol ve uyuşturucu gibi bilinç kaybı oluşturacak maddelerin birçok adli vakaya neden olduğu bilinmektedir (Stark vd., 1999). Alkol ve uyuşturucular, saldırı, trafik kazaları, cinsel saldırılar, hırsızlık, mala zarar verme, uyuşturucu ticareti, kaçakçılık ve halk sağlığı suçları dahil olmak üzere çeşitli adli vakalara yol açabilir ve yasal düzenlemelere göre cezai sonuçlar doğurabilir (Ohshima, 2006).

Alkol veya uyuşturucu maddelerin etkisi altında olan bir kişinin, normalde savunma veya tepki yeteneğine sahip olması gereken bir durumda suça maruz kalması, bu maddelerin etkisiyle suçun işlenmesini kolaylaştırdığı bir durumu ifade eder. Bu tür durumlar, suçun işlenmesindeki zorlukları azaltan veya kurbanın direncini düşüren etkileri nedeniyle "uyuşturucunun kolaylaştırdığı suçlar" olarak adlandırılır (Hall & Moore, 2008). Uyuşturucu kullanımının suçların kolaylaştırılmasında etkili bir araç olarak kullanılması tarihsel olarak uzun bir geçmişe sahiptir. Bununla beraber uyuşturucunun, suçların

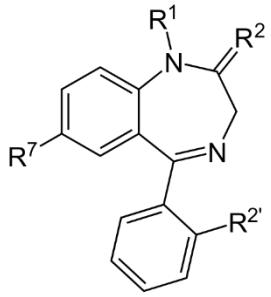
işlenmesindeki rolüne dair bildirimler 1990'ların ortalarından itibaren önemli ölçüde artmıştır (Schwartz vd., 2000). Bu tür suçlara maruz kalan kurbanlar genellikle, uyuşturucu etkisi altında kaldıklarını ve bu durumun sonucunda soyulduklarını veya saldırıya uğradıklarını ifade ederler. Çoğu durumda bu saldırılar, mağdurların faillerle mücadele etme yeteneklerini zayıflatan veya etkisiz hale getiren güçlü merkezi sinir sistemi baskılayıcısı niteliğindeki maddelerin etkisi altında olmuştur. Bu kapsamdaki vakalar arasında cinsel saldırılar büyük bir orana sahiptir.

Cinsel saldırı, bireyin rızası dışında gerçekleşen cinsel ilişkiyi ifade etmekte olup, bu tür saldırılar genellikle tehdit ve güç kullanılarak gerçekleştirilir. Saldırgan, fiziksel güç kullanmadan da ilaçlar aracılığıyla cinsel saldırı girişiminde bulunabilir. Bu ilaçlar, kurbanda bilinç kaybı, konfüzyon, bulantı ve algı-durum bozukluğu gibi semptomlar oluşturabilir (Jickells & Negrusz, 2008). Bu semptomlar, kişiyi zayıf hale getirerek cinsel ilişkiyi reddetme veya kendini savunma eylemlerini engelleyebilir. Tipik bir senaryoda, saldırgan kurbanın içeceğine ilacı karıştırabilir ve kurban ilacın etkisi altındayken cinsel saldırıyı gerçekleştirir. İlacın etki süresi, alınan miktar ve hangi maddelerle birlikte alındığı gibi faktörlere bağlıdır. Cinsel saldırılarda kullanılan maddeler arasında en yaygın olanlar uyuşturuculardır. Her zaman illegal yollarla elde edilen uyuşturucu bu görevi üstlenmeyebilir, bunun yerine yaygın kullanılan bazı ilaçlar öne çıkar. Cinsel saldırılarla ilişkilendirilen ilaçlar arasında GHB ve analogları, klonazepam, alprazolam, flunitrazepam, oxazepam, lorazepam gibi benzodiazepinler, barbitüratlar ve ketamin gibi çeşitli maddeler yer almaktadır. Bu ilaçlar çoğunlukla renksiz ve kokusuz olup yüksek oranda alkol veya diğer içeceklerde çözünebilir. Oral uygulamadan sonra hızla emilerek vücuttan (Efeoğlu vd., 2013; Grela vd., 2018).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BENZODİAZEPİNLER

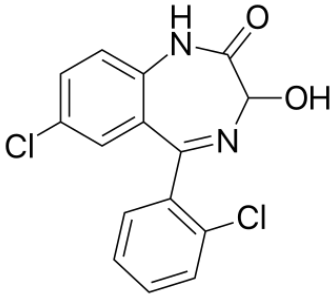
Benzodiazepinler, γ-aminobütirik asit (GABA) sistemindeki reseptörleri etkileyen geniş bir moleküler sınıfı temsil eder. Bu moleküller, merkezi sinir sistemi üzerinde sakinleştirici, kas gevşetici, anksiyolitik ve hipnotik etkiler gösterirler. Bu özellikler nedeniyle benzodiazepinler, tıbbi uygulamalarda özellikle anksiyete, uykusuzluk, nöbetler ve kas spazmları gibi durumların tedavisinde kullanılırlar. Benzodiazepinlerin uykusuzluk tedavisinde kullanımının onaylanması ve bu ilaçların kullanımının yaygınlaşması 1960'lı yıllara dayanmaktadır. Özellikle 1960 yılında diazepamın onaylanmasının ardından, benzodiazepinlerin kullanımı hızla artmış ve 1970'li yıllarda İngiltere ve ABD'de en çok satılan ilaçlar arasında yer alarak geniş bir popülerlik kazanmıştır. Ancak, benzodiazepinlerin hızla tolerans ve bağımlılık geliştirme potansiyeli nedeniyle, bu ilaçların uzun süreli kullanımı önerilmemektedir. Tolerans gelişimi, ilacın aynı etkiyi elde etmek için artan dozlarda kullanılmasını gerektirebilir. Bağımlılık ise, fiziksel ve psikolojik bağımlılık biçimlerinde ortaya çıkabilir ve ilacın bırakılması durumunda belirtilen yoksunluk semptomlarına neden olabilir (Lader, 2011). Benzodiazepin toleransı ilk defa Hollister vd. (1961) tarafından rapor edilmiştir; ancak bu olgu, 1960'lı ve 1970'li yıllarda barbitüratların yerini alabilen bu ilaçların fazla kullanımı nedeniyle sıklıkla gölgede kalmıştır. Bu dönemde, benzodiazepinlerin popülerliği ve reçete edilme sıklığı artmış, ancak bu kullanımın bağımlılık ve diğer yan etkilerle ilişkilendirilmesi yetersiz bir şekilde ele alınmıştır (Hollister vd., 1961). Günümüzde, benzodiazepinler, yasal ve yasadışı uyuşturucular arasında yüksek bağımlılık riski altında sıralanmış olmalarına rağmen (Nutt vd., 2010), bağımlılığı konusundaki araştırmaların ve toplumsal farkındalığın artırılması hala önemli bir ihtiyaçtır. Bu bağlamda, benzodiazepinlerin kontrollü ve bilinçli kullanımı, sağlık profesyonelleri ve toplum için önemli bir konudur ve bu konuda daha fazla araştırma ve eğitim önem arz etmektedir (Lugoboni vd., 2014).



Şekil 1. Benzodiazepinlerin yapısal formülü (NEUROtiker, 2007).

2.1.1. Lorazepam

3-hidroksi-1,4-benzodiazepin olan lorazepam, sedatif, anksiyolitik ve hipnotik özellikleri nedeniyle klinik uygulamada yaygın olarak kullanılır. Diazepamdan farklı olarak lorazepam, aktif metabolitler oluşturmadan glukuronik asitle doğrudan konjugasyona uğrar ve bu da daha öngörülebilir ve hepatik fonksiyondan veya hasta yaşından daha az etkilenen bir farmakokinetik profil ile sonuçlanır. Daha düşük lipofilikliği nedeniyle lorazepam daha yavaş bir etki başlangıcına sahiptir; ancak, daha lipofilik benzodiazepinlere kıyasla genellikle tek bir dozdan sonra daha uzun süreli klinik etki gösterir. Terapötik uygulamaları arasında akut ve kronik anksiyete bozukluklarının, uykusuzluğun ve ameliyat öncesi sedasyonun yönetimi yer alır. Lorazepam ayrıca panik ataklarının tedavisinde ve mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda sedasyon ve kas gevşemesi için yardımcı olarak kullanılır. Klinik çalışmalar, yan etki profili (esas olarak doza bağlı merkezi sinir sistemi depresyonu) genellikle hafif ve geri dönüşümlü olduğu için, plaseboya göre etkinliğini tutarlı bir şekilde desteklemektedir



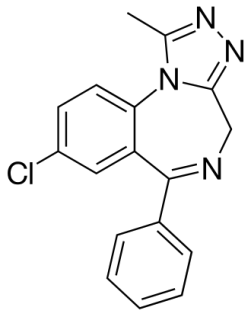
Şekil 2. Lorazepam'ın yapısal formülü (Calvero, 2007).

Farmakokinetik olarak, lorazepam oral uygulamadan sonra etkili bir şekilde emilir ve dozdan yaklaşık iki saat sonra en yüksek plazma derişimlerine ulaşır ((Rutgers & Shearer, 1981). İlaç, yaklaşık 12 saatlik nispeten kısa bir eliminasyon yarı ömrüne sahiptir ve bu, kısa süreli kullanım için uygunluğuna katkıda bulunur. Birincil metabolik yol,

farmakolojik olarak inaktif lorazepam-glukuronid konjugatını oluşturan glukuronidasyonu içerir. Bu metabolit, ağırlıklı olarak böbrek yoluyla atılır ve uygulanan dozun yaklaşık %70 ila %75'i idrarda geri kazanılır. Aktif ara metabolitlerin yokluğu ve yaşın veya karaciğer bozukluğunun metabolizması üzerindeki minimum etkisi, lorazepamı çeşitli hasta popülasyonlarında güvenilir bir seçim haline getirir. Benzodiazepin farmakoterapisinde radikal bir yeniliği temsil etmese de, lorazepam olumlu etkinlik-güvenlik dengesi ve farmakolojik öngörülebilirliği nedeniyle klinik olarak değerli bir ajan olmaya devam etmektedir (Rosebush vd., 1990).

2.1.2. Alprazolam

Alprazolam ($C_{17}H_{13}ClN_4$; 8-kloro-1-metil-6-fenil-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-α][1,4]benzodiazepin), yaygın anksiyete bozukluğu, panik ataklar ve depresyon dahil olmak üzere çeşitli psikiyatrik durumların tedavisi için yaygın olarak reçete edilen bir benzodiazepin türevidir (Şekil 2). 1,4-benzodiazepin ailesine aittir ve yüksek oral aktivitesine, güçlü terapötik etkinliğe sahiptir. Alprazolam kan-beyin bariyerini kolayca geçer ve merkezi sinir sistemindeki gama-aminobütirik asit (GABA)-benzodiazepin reseptör kompleksine yüksek afiniteyle bağlanır. Bu bağlanma, nöronlara klorür iyonlarının girişini artırarak birincil inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın etkisini artırır ve bunun sonucunda sedatif, anksiyolitik, kas gevşetici ve antikonvülsan etkiler ortaya çıkar (Verster & Volkerts, 2004).



Şekil 3. Alprazolam'ın yapısal formülü (Vaccinationist, 2015).

Daha eski benzodiazepinlerle karşılaştırıldığında, alprazolam sağlıklı bireylerde yaklaşık 10 ila 12 saatlik bir ara eliminasyon yarı ömrüne sahiptir ve oral uygulamadan sonra hızla emilir ve bir ila iki saat içinde en yüksek plazma derişimlerine ulaşır. Karaciğerde yoğun bir şekilde metabolize edilir ve öncelikle aktif bir metabolit olarak α-hidroksialprazolam üretir, ancak plazma seviyeleri genellikle klinik olarak anlamlı olmak için çok düşüktür. Dozun yaklaşık %20'si değişmeden atılırken, %80'i 72 saat içinde

idrarla geri kazanılır. Terapötik denemeler, alprazolamın günlük dozları tipik olarak 0,25 ila 3,0 mg arasında değişen etkili bir anksiyolitik olduğunu ve etkinliğinin en azından diazepam, klordiazepoksit ve lorazepam ile karşılaştırılabilir olduğunu göstermiştir; bazı çalışmalarda uyuşukluk insidansının daha düşük olduğu bildirilmiştir. Özellikle, alprazolam hem hayvan hem de insan çalışmalarında orta düzeyde antidepresan aktivite göstermiştir ve karşılaştırmalı denemeler, unipolar depresyonu tedavi etmedeki etkinliğinin, bazı durumlarda daha erken başlamasının ek faydasıyla, imipramininkine benzer olabileceğini öne sürmektedir. Bu bulgular, karışık anksiyete ve depresif semptomları olan hastalarda potansiyel kullanımını vurgulamaktadır; ancak antidepresan rolünü tam olarak belirlemek için daha iyi tasarlanmış denemelere ihtiyaç vardır (Dawson vd., 1984).

Olumlu terapötik profiline rağmen, alprazolam, bağımlılık, yoksunluk semptomları ve uyuşukluk ve baş dönmesi gibi olası yan etkiler de dahil olmak üzere diğer benzodiazepinlere benzer riskler taşır; bu yan etkiler yaşlı veya güçsüz hastalarda daha belirgin olabilir. Plasentadan geçme ve anne sütüne geçme potansiyeli nedeniyle hamilelik ve emzirme döneminde kullanımı önerilmez. Yan etkileri en aza indirmek ve yoksunluk belirtilerini önlemek için dozaj dikkatlice kişiselleştirilmeli, tipik olarak günde üç kez 0,25-0,5 mg ile başlanmalı ve yaşlı yetişkinler için daha düşük başlangıç dozları önerilmelidir. Günlük doz, gün boyunca bölünerek maksimum 4 mg'a kadar kademeli olarak titre edilebilir ve başlangıç dozları genellikle gündüz sedasyonunu azaltmak için yatmadan önce uygulanır. Genel olarak, alprazolam anksiyete ve panik bozuklukları için değerli bir farmakolojik seçenek olmaya devam ederken - ve muhtemelen belirli depresif durumlar için - reçete edilmesi, kötüye kullanım, bağımlılık ve ani kesilme risklerini azaltmak için dikkatli izleme ve hasta eğitimi gerektirir (Dawson vd., 1984).

Yaygın olarak reçete edilen bir benzodiazepin olan alprazolam, güçlü sakinleştirici, kaygı giderici ve amnezik özellikleri nedeniyle ilaçla kolaylaştırılmış cinsel saldırı vakalarında suçlanmıştır. Hızlı sakinleştirme, bilişsel işlevi bozma ve hafıza kaybına neden olma yeteneği, faillerin kurbanları etkisiz hale getirmek için bu etkilerden faydalanması nedeniyle bu suçlarda kötüye kullanılan bir ilaç haline getirir. İlacın nispeten hızlı etki başlangıcı ve toplumdaki yaygınlığı, bu bağlamda bulunabilirliğini ve kötüye kullanım potansiyelini artırır. Sonuç olarak, alprazolamın bu tür saldırılara dahil olması, artan adli teyakkuzun önemini ve araştırmalar sırasında biyolojik örneklerde varlığını tespit etmek

için hassas analitik yöntemlere olan ihtiyacı vurgular (Dumestre-Toulet & Eysseric-Guérin, 2014; Orts vd., 2023).

2.2. SPEKTROSKOPİK ANALİZLER

Benzodiazepin bileşiklerinin artan kötüye kullanımı, bunların tespiti ve miktar tayini için çeşitli analitik tekniklerin geliştirilmesine yol açmıştır. En yaygın kullanılan yöntemler arasında gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS) ve ultraviyole dedeksiyonla birleştirilmiş sıvı kromatografisi (LC-UV) bulunmaktadır. GC-MS, yüksek hassasiyeti, birden fazla bileşeni aynı anda analiz edebilme yeteneği ve güçlü ayırt etme gücüyle özellikle dikkat çekmektedir. Örneğin, Papoutsis ve ark. (2010), bu tekniği kullanarak kan örneklerinde 23 farklı benzodiazepin tespit etmeyi başarmıştır (Papoutsis vd., 2010). Bununla birlikte, GC-MS'nin de sınırlamaları vardır; yüksek işletme maliyetleri gerektirir, eğitimli personel gerektirir, uçucu olmayan bileşiklerle mücadele eder ve yoğun emek gerektiren numune hazırlama ve analiz gerektirir. Sonuç olarak, uygulanabilirliği hedef analitlerin fizikokimyasal özellikleri ve hazırlama prosedürlerinin karmaşıklığı nedeniyle kısıtlanabilir.

Kromatografik tekniklere ek olarak, RIA, EMIT ve FPIA gibi immünokimyasal analizler hipnotik benzodiazepinlerin taranmasında sıklıkla kullanılır (Dixon vd., 1979; Jolley, 1981). Bu analizler, mikrogram derişimlerinde bileşikleri tespit edebilir ancak antikor çapraz reaksiyonu nedeniyle ana ilaçlar, metabolitleri ve yapısal olarak benzer analogları arasında ayrım yapmak zorlaşır. İnce tabaka kromatografisi de ekonomik bir tarama yöntemi olarak önerilmiştir (Haefelfinger, 1979), ancak düşük duyarlılığı akut zehirlenme vakalarına uygulanmasını sınırlar (Boukhabza vd., 1991). Gaz ve sıvı kromatografisi, yüksek duyarlılık sağlamasına rağmen, genellikle hem zamanı hem de uzmanlık gereksinimlerini artıran hidroliz veya türevlendirme adımlarını gerektirir (de Boer vd., 1978; Kangas, 1977). Hidroklorik veya sülfürik asit kullanılarak yapılan hidroliz benzofenon türevleri verir ancak özgüllüğü tehlikeye atabilir (Cailleux et al., 1981; de Bruyne et al., 1984). Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), hassasiyeti, duyarlılığı ve çeşitli dedektörlerle (UV, MS, floresan) uyumluluğu nedeniyle oldukça etkili bir teknik olarak kabul edilir. Chang vd. (1999) tarafından yapılan çalışmalar gibi çalışmalar, birden fazla benzodiazepin türevini tanımlamada etkinliğini göstermiştir (Chang vd., 1999). Ancak HPLC aynı zamanda kaynak yoğun bir yöntemdir ve bazı analitlerin düşük termal ve fotostabilitesi nedeniyle uzman personel, hassas numune

hazırlama ve dikkatli kullanım gerektirir (Swartz, 2010). Bu teknik ve ekonomik engeller, kaynakların kısıtlı olduğu laboratuvar ortamlarında kullanımını sınırlayabilir (Corradini vd., 1998; Samanidou vd., 2009).

UV-Gör spektroskopisi, benzodiazepinlerin nitel ve nicel analizi için hızlı, basit ve uygun maliyetli bir yaklaşım sunar; türev spektroskopisi, spektral çözünürlüğü iyileştirerek ve örtüşen tepe noktalarını ayırt ederek analitik hassasiyeti daha da artırır ve floresans spektroskopisi üstün hassasiyet ve seçicilik sağlayarak, karmaşık matrislerde eser miktarda benzodiazepinlerin tespitinde oldukça etkili hale getirir.

2.2.1. UV Türev Spektroskopisi

Ultraviyole-Görünür bölge (UV-Gör) absorpsiyon spektroskopisi hem gelişmiş hem de rutin laboratuvar ortamlarında yaygın olarak kullanılan köklü bir analitik tekniktir. Moleküler enerji seviyeleri arasındaki elektronik geçişlerle üretilen absorpsiyon spektrumlarını ölçme prensibiyle çalışır. UV-Gör spektrumunda bir absorpsiyon bandının konumu geçiş enerjisine karşılık gelirken, molar absorpsiyon katsayısı geçişin yoğunluğunu yansıtır. Atomik geçişlerin aksine, moleküler geçişler çözücü etkileşimleri ve titreşim ve dönme enerji seviyelerinin örtüşmesi nedeniyle daha yayvan bantlar (Katkar vd., 2022; O'Haver, 1979; Talsky vd., 1978). Türev spektroskopisi, UV-Gör absorpsiyon spektroskopisinin hassasiyetini artırmak için 1950'lerde ortaya çıkmıştır. Ancak, türev spektrumlarını manuel olarak hesaplamanın zorluğu nedeniyle uygulaması başlangıçta sınır kalmıştır. 1970'lerde mikrobilgisayarların ortaya çıkışı bu sınırlamayı ortadan kaldırarak türev spektroskopisini daha erişilebilir ve yaygın olarak kullanılır hale getirdi.

Türev spektroskopisi, UV-Gör spektral verilerine matematiksel farklılaştırma uygulanmasını içerir ve daha ayrıntılı yorumlama sağlar. UV-Gör bölgesinde gerçekleştirilen absorpsiyon spektroskopisinde temel ilişki,

$$A(\lambda) = log_{10}\frac{I_0}{I} = \varepsilon(\lambda) \times l \times c \quad (1)$$

ifadesiyle tanımlanmaktadır. Burada çözeltinin derişimi (c) ve ışık yolu (l) sabit tutulduğunda, absorbans (A), yalnızca molar ekstinksiyon katsayısının dalga boyuna (λ) bağlı bir fonksiyonu hâline gelir. Bu bağıntının türev alınmasıyla, absorbansın dalga boyuna göre birinci türevi,

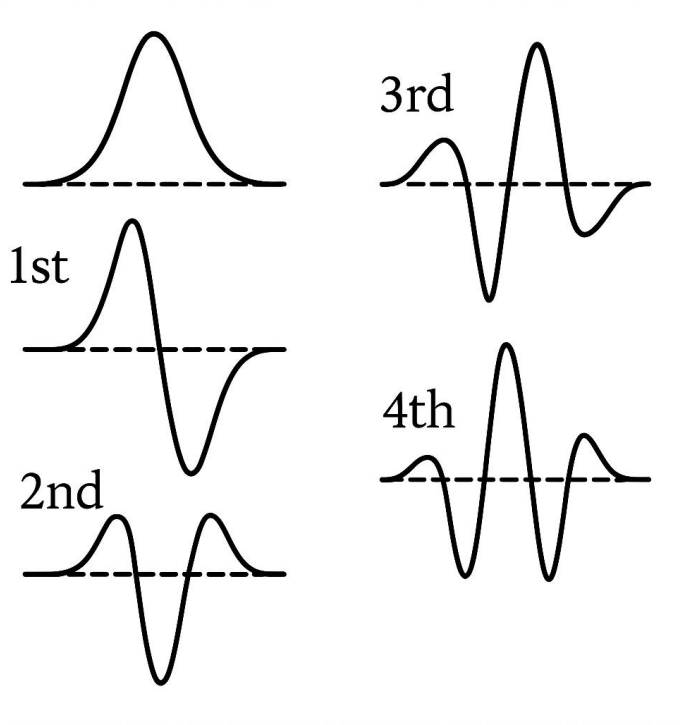
$$\frac{dA}{d\lambda} = \frac{d\varepsilon(\lambda)}{d\lambda} \times c \times l \quad (2)$$

şeklinde elde edilir. Aynı yaklaşımın ardışık olarak uygulanması, n'inci türev için genel ifadeyi sağlar:

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \varepsilon(\lambda)}{d\lambda^n} \times c \times l \quad (3)$$

Bu genel eşitlikten hareketle, herhangi bir dalga boyunda türev absorpsiyon değerinin doğrudan çözeltinin derişimi ile orantılı olduğu anlaşılır. Dolayısıyla, türev spektroskopisi yöntemiyle kantitatif analiz gerçekleştirilebilmektedir; zira özgün spektral bilgilerin karakteristik özellikleri, belirli oranlar korunarak türev spektrumlarına yansıtılmaktadır.

Türev spektroskopisi, analitik kimyada çeşitli avantajları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemin başlıca kullanım amaçları arasında; türev spektrumlarının, geleneksel absorpsiyon spektrumlarına kıyasla daha dar spektral bant genişliğine sahip olması yer alır. Bu özellik, benzer spektral profillere sahip maddeler arasında küçük farkların ayırt edilmesine olanak tanıyarak spektral çözünürlüğü artırır. Aynı zamanda türev spektrumları, spektral bantların maksimumlarının daha doğru belirlenmesini sağlamakta ve üst üste binen bantların ayrılabilirliğini iyileştirmektedir. Bununla birlikte, türev spektrumları, zemin (arka plan) absorpsiyonunu düzeltme amacıyla da kullanılabilir. Bu işlem pratikte hızlı, basit ve ekonomik bir çözüm sunar. Ayrıca türev spektroskopisi; seçicilik, özgüllük ve duyarlılığı artırarak analitlerin ayrı bir ayırma işlemine gerek kalmadan, çoklu bileşenlerin kantitatif analizine imkân tanıyan hızlı bir analitik yöntem olarak da değerlendirilmektedir. Özellikle klasik tekniklerin yetersiz kaldığı durumlarda, alternatif bir yöntem olarak ön plana çıkar.



Şekil 4. Bilgisayar ortamında simüle edilen Gauss tipi absorpsiyon bandına ait birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü türev spektrumları.

2.2.2. Floresans Spektroskopisi

Floresans spektroskopisi, maddelerin dışarıdan alınan ışık enerjisini kısa bir süre sonra daha uzun dalga boyunda ışık olarak geri yayma (fotolüminesans) özelliğine dayanan bir analiz yöntemidir. Uyarıcı ışık kaynağı ile belirli dalga boyunda uyarılan moleküllerden yayılan floresans ışını ölçülerek, maddeye özgü kantitatif ve kalitatif değerlendirmeler yapılabilir. Yöntemin en belirgin avantajlarından biri, oldukça düşük derişimlerde bile analiz yapılabilmesine olanak tanıyan yüksek duyarlılığıdır. Ayrıca floresans spektroskopisi, seçiciliği yüksek bir yöntem olması nedeniyle karmaşık numune matrislerinde bile güvenilir analiz sonuçları verebilmektedir. Küçük miktarda numune ile çalışılabilmesi, çok sayıda fiziksel parametre hakkında bilgi sağlayabilmesi ve kullanım kolaylığı gibi avantajları sayesinde diğer spektroskopik teknikler arasında ön plana çıkmaktadır. Ancak yöntemin bir sınırlayıcı özelliği, çevresel koşullara (pH, sıcaklık, çözücü yapısı gibi) karşı oldukça hassas olmasıdır. Bu durum kullanım amacına bağlı olarak avantaj ya da dezavantaj olarak (Bose vd., 2018).

Son yıllarda floresans spektroskopisinin kullanım alanlarının genişlediği görülmektedir. Özellikle biyolojik sistemlerde floresan probların kullanımı artmakta olup, ilaç sektöründe ve çevre analizlerinde de yaygın olarak uygulanmaktadır (Naresh, t.y.)

2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER

Bu araştırmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi amacıyla çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemlerinden yararlanılmıştır. Çalışma kapsamında farklı parametrelerin aynı anda değerlendirilmesini ve örnekler arasındaki benzerlik ile farklılıkların belirlenmesini sağlamak üzere uygun istatistiksel yaklaşımlar tercih edilmiştir. Özellikle yüksek boyutlu veri setlerinin anlamlı bir yapıya indirgenmesi, gruplar arası ilişkilerin daha açık bir biçimde ortaya konması ve sonuçların görselleştirilmesi amacıyla Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis, PCA) ile Hiyerarşik Kümeleme Analizi (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) yöntemleri kullanılmıştır.

Uygulanan bu analiz yöntemleri sayesinde hem değişkenler arasındaki temel ilişki desenleri belirlenmiş, hem de benzer özellik gösteren örneklerin gruplanması sağlanmıştır. Çok değişkenli analiz tekniklerinin kullanılması, verilerin bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmesine ve daha doğru sonuçlara ulaşılmasına katkı sağlamıştır. Bu doğrultuda, araştırma kapsamında gerçekleştirilen istatistiksel işlemler, çalışmanın güvenilirliğini ve yorum gücünü artırmayı amaçlamaktadır**.**

Spektroskopik yöntemlerle elde edilen çok boyutlu veri setlerinin doğrudan analiz edilmesi, özellikle veri yoğunluğunun yüksek olduğu durumlarda oldukça güçleşmektedir. Bu tür karmaşık veri setlerinin daha anlaşılır bir yapıya dönüştürülmesi ve yorumlanabilmesi için Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis- PCA) yaygın olarak kullanılmaktadır. PCA, çok sayıda değişken içeren veri setlerini, aralarındaki ilişkileri koruyarak daha az sayıda yeni bileşen ile ifade etmeyi mümkün kılan istatistiksel bir yöntemdir. Bu sayede veriler arasında baskın olan desenler ve değişim kaynakları tespit edilebilmekte; ayrıca sınıflandırma ve görselleştirme işlemleri kolaylaşmaktadır.

PCA uygulamasında temel amaç, yüksek boyutlu veriyi temsil eden yeni değişkenler (temel bileşenler) aracılığıyla veri setini sadeleştirmek ve ana varyasyon kaynaklarını belirlemektir. İlk temel bileşen (PC1), veri setinde bulunan en yüksek varyansı açıklayan bileşen olup, örnekler arasındaki genel farklılıkları temsil eder. İkinci temel bileşen (PC2)

ise PC1'e dik olacak şekilde hesaplanır ve daha özgün varyasyonları yansıtır. Her bir örneğe ait spektral veri, belirlenen temel bileşenlerin uygun doğrusal kombinasyonu şeklinde ifade edilebilir. Bu yaklaşım sayesinde örnekler arasında objektif ve tekrarlanabilir bir sınıflandırma yapılabilmektedir.

Korelasyon matrisinden elde edilen özdeğerler, her bir temel bileşenin açıklayabildiği varyansı temsil eder. Özdeğerlerin büyüklüğüne göre yapılan sıralama ile veri setindeki temel varyasyon kaynakları önceliklendirilir. Özdeğerlerin yüzde toplamı ise belirlenen temel bileşenlerin, orijinal veriyi ne derece temsil ettiğini gösterir. Genellikle ilk birkaç temel bileşenin toplam varyansın büyük bir kısmını açıklaması yeterli kabul edilir.

PCA yöntemi yalnızca kimyasal analizlerde değil; adli bilimler, biyomedikal araştırmalar ve çevresel izleme gibi birçok farklı alanda da kullanılmaktadır. Örneğin Sáiz ve arkadaşları (2014), benzodiazepin içeren 63 farklı içecek örneğini kapiler elektroforez ile analiz etmiş ve ortaya çıkan elektroferogramları PCA ve SIMCA teknikleriyle değerlendirerek, ilaç türlerini üç boyutlu grafiklerde ayırt edebilmişlerdir (Sáiz vd., 2014). Bu yaklaşımla, benzodiazepinlerin standart madde kullanımı olmaksızın elektroforetik profillerine dayalı olarak tespit edilmesi sağlanmış; ayrıca adli laboratuvarlarda elektroforetik parmak izi veri tabanlarının oluşturulması için yeni bir yöntem önerilmiştir. Bu yönleriyle PCA, spektral verilerin özetlenmesi, sınıflandırılması ve yorumlanmasında etkin bir çok değişkenli analiz aracı olarak değerlendirilmektedir.

Hiyerarşik Kümeleme Analizi (Hierarchical Clustering Analysis- HCA), çok değişkenli veri setlerinde yer alan örneklerin birbirlerine olan benzerlik veya uzaklıklarına göre gruplandırılmasını sağlayan istatistiksel bir yöntemdir. Yöntemde, her örnek başlangıçta bağımsız bir küme olarak kabul edilir. Daha sonra örnekler arasındaki mesafeler veya benzerlik değerleri kullanılarak bir uzaklık matrisi oluşturulur ve seçilen algoritmaya göre en yakın kümeler aşamalı olarak birleştirilir. Her birleştirme işleminden sonra uzaklık matrisi güncellenir ve işlem, belirlenen küme sayısına ulaşıncaya kadar devam eder.

Kümeler arasındaki uzaklıklar Öklidyen mesafesi, Manhattan mesafesi veya korelasyon tabanlı ölçütlerle hesaplanabilir. Bağlama (linkage) yöntemi olarak ise genellikle tek bağlama, tam bağlama veya ortalama bağlama yöntemleri tercih edilmektedir. Seçilen mesafe ve bağlama algoritması, kümelerin yapısını doğrudan etkiler. HCA sonuçları dendrogram adı verilen ağaç diyagramları ile görselleştirilir. Dendrogramlar, örnekler arasındaki benzerlik ilişkilerini ve kümelenme aşamalarını grafiksel olarak göstermeye

olanak tanır. Bu yöntem, özellikle karmaşık veri setlerinde örnekler arasında yapısal benzerliklerin belirlenmesi ve veri sınıflandırmasının görselleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Granato vd., 2018; Lee & Yang, 2009)

BÖLÜM II

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Donanım

Çalışmanın tamamında örneklerin UV-Gör absorpsiyon ve floresans emisyon ölçümleri, 150 W gücünde xenon lambaya sahip Edinburgh Instruments Spectrofluorometer FS5 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. UV türev ve floresans emisyon türev spektrumları fluoracle adlı cihazın yazılımının bir özelliği olarak ölçümden elde edilen spektrumlardan oluşturulmuştur. Ölçümler sırasında 1 cm optik yola sahip kuvars küvet kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan saf suyun temininde Millipore Direct-Q5 saf su sistemi kullanılmıştır. Numune hazırlığı aşamalarında Isolab marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcıdan yararlanılmıştır. Xanax® tablet içeriğindeki alprazolam (ALP) ve Ativan® tablet içeriğindeki lorazepam (LORA) bileşenlerinin varlığı, BİLTAM laboratuvarında bulunan Thermo Scientific Q Exactive Focus marka orbitrap tabanlı LC-MS/MS sistemi kullanılarak doğrulanmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Materyaller

Çalışmada benzodiazepin türevlerinden alprazolam ve lorazepam kaynağı olarak piyasada bu etken maddeleri içeren ilaçlar kullanılmıştır. Alprazolam etken maddesi içeren tabletler piyasada Xanax® (Viatris) adıyla bilinirken, çalışmada "ALP tablet" olarak adlandırılmıştır. Lorazepam içeren tabletler ise ticari olarak Ativan® (Pfizer) ismiyle satılmakta olup, çalışmada "LORA tablet" olarak ifade edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan metanol çözeltisi %99,8 saflıkta olup Isolab firmasından temin edilmiştir. ALP ve LORA analizlerinde beyaz şarap (Kavaklıdere®), roze şarap (Kavaklıdere®), votka (Gilbey’s®), gazoz (Sarıyer®) ve maden suyu (Beypazarı®) olmak üzere çeşitli alkollü ve alkolsüz içecekler kullanılmıştır. Tüm deneysel uygulamalarda çift damıtılmış saf su tercih edilmiştir. Hazırlanan tüm stok çözeltiler ve içecek örnekleri +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.3. Örneklerin Hazırlanması

Çalışmalarda kullanılacak ALP tablet stok çözeltisi her tablette 1 mg alprazolam içeren Xanax® tabletler ile hazırlandı. Analizlerde referans olarak kullanılmak üzere 1 mg/mL derişimindeki stok çözelti, 10 mg etken madde içeren tabletlerin toz haline getirilip 10 mLhacimce %30'luk metanol içerisinde çözülmesiyle hazırlandı. Daha sonra 41 numaralı filtre kâğıdı ile süzülerek tabletten gelen ve metanolde çözünmeyen safsızlıklar ortamdan uzaklaştırıldı. ALP-içecek çözeltileri de benzer şekilde toz halindeki tabletlerin ölçümlerde kullanılacak içeceklerde çözünmesi ile hazırlandı.

LORA tablet stok çözeltileri 2,5 mg lorazepam içeren Ativan® tabletleri kullanılarak hazırlandı. Analizlerde referans olarak kullanılmak üzere 1 mg/mL derişimindeki stok çözelti, 10 mg etken madde içeren tabletlerin toz haline getirilip 10 mL hacimce %30'luk metanol içerisinde çözülmesiyle hazırlandı.

Hazırlanan LORA stok çözeltilerinden, sırasıyla 6,7; 12,5; 25; 50; 100; 200; 300 ve 400 µg/mL derişimlerinde çalışma çözeltileri günlük olarak hazırlanmıştır. Her bir çözeltide toplam hacim 2 mL olacak şekilde ayarlanmış ve bu hacmin 1mL'si hacimce %30'luk metanol (referans çözelti çözücüsü) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen çözeltilerin absorpsiyon değerleri ölçüldükten sonra floresans emisyonları ölçülmüştür.

ALP için floresans emisyon ölçümleri 330–650 nm aralığında, 310 nm dalga boyunda uyarılarak gerçekleştirilmiştir. LORA için ise 335–650 nm aralığında alınan ölçümde uyarma 315 nm'de yapılmıştır. Tüm floresans ölçümlerinde slit aralığı sabit olarak 10 nm'de tutulmuştur.

3.4. LC-MS/MS Çalışmaları

Xanax® tablet içeriğindeki ALP ile Ativan® tablet içerisinde bulunan LORA'nın varlığı, BİLTAM laboratuvarında yer alan Thermo Scientific - Q Exactive Focus model, orbitrap teknolojisine sahip LC-MS/MS cihazı ile analiz edilerek doğrulanmıştır. Analiz sürecinde kullanılan cihaz özellikleri ve parametreler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. LC-MS/MS analizlerine ait parametreler

Örnek	15 Xanax® tablet (her tablet 1 mg ALP içerir) tek tek tartıldı ve bir tablet için ortalama kütle hesaplandı. Tabletler ezilerek toz haline getirildi. 10 mg ALP'ye eşdeğer miktarda alınıp 10 mL %30'luk metanolde çözüldü ve filtrelendi (1,0 mg/mL). Elde edilen bu çözeltiden 25 µg/mL'lik ALP çözeltisi hazırlandı. Ativan ® tablet (her tablet 2,5 mg LORA içerir) ezilerek 5 mL %30'luk metanolde çözüldü ve filtrelendi (1,0 mg/mL). Elde edilen bu çözeltiden 25 µg/mL'lik LORA çözeltisi hazırlandı.
Kolon	BioBasic-18, (50 x 2,1 mm, 5 µm)
UHPLC koşulları (Sofalvi vd., 2020)	Mobil fazlar (MF): A: % 0,1(v/v) formik asit ve 2 mmol/L amonyum formatlı su B: % 0,1(v/v) formik asit ve 2 mmol/L amonyum formatlı asetonitril Hız: 0,25 mL/dk Enjeksiyon hacmi: 20 µL Kolon sıcaklığı: 50 °C Autosampler sıcaklığı: 4 °C Akış profili: 0-0,5 dakikada %5 MFB, 0,5-1,5 dakikada %30 MFB, 1,5-4,5 dakikada %70 MFB, 4,5-7,5 dakikada %100 MFB'ye, 7,5-10 dakikada %100 MFB, 10-10,01 dakikada %5 MFB'ye ve 10,01-14 dakikada %5 MFB'den oluşmuştur.
MS koşulları (Abarca & Gerona, 2023; Sofalvi vd., 2020)	Spray Voltage: 3.5 kV Capillary temp.: 350 °C Aux gas heater temp.: 350 °C Spektrofotometrik kütle tayini, elektrosprey iyonizasyon (ESI) ile pozitif iyonizasyon modunda gerçekleştirildi. Numune, full MS ve PRM (parallel reaction monitoring) ile analiz edildi.

3.5. Deney Sonuçlarının İstatistiksel İncelemesi

Bu çalışmada UV-Vis absorpsiyon spektrumlarına ait istatistiksel analizler ve görselleştirmeler R programlama dili (R Core Team, 2024) kullanılarak yapılmıştır. Analiz sürecinde korelasyon matrisi, Temel Bileşenler Analizi (PCA) ve bu analizlerin grafiksel sunumları için R paketlerinden yararlanılmıştır.

PCA sonuçlarının yorumunu güçlendirmek amacıyla “k-means” kümeleme algoritması uygulanmıştır. Bu yöntem, verileri önceden belirlenen küme merkezlerine olan uzaklıklarına göre sınıflandırarak benzer özellikteki gözlemleri bir araya getirmektedir. Basit yapısı ve hızlı çalışması nedeniyle özellikle büyük veri setlerinde yaygın kullanılan bir yöntemdir.

Ayrıca UV-Gör spektrumlarına ait çapraz korelasyon matrisi, farklı örneklerin spektral benzerlik düzeylerini ortaya koymuştur. Matris değerleri +1 ile -1 arasında değişmekte olup, +1’e yakın katsayılar yüksek benzerliği, 0’a yakın katsayılar zayıf ilişkiyi, -1’e yakın katsayılar ise ters yönlü ilişkiyi ifade etmektedir.

4. DENEYSEL SONUÇLAR

4.1. LC-MS/MS Sonuçları

İlaç etken maddelerinin analitik doğrulaması için yüksek duyarlılık ve özgüllük sunan LC-MS/MS (Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, özellikle karmaşık matrikslerde bile hedeflenen analitlerin kesin kimyasal tanımlamasına olanak tanıması nedeniyle farmasötik analizlerde altın standart olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmada, alprazolam (ALP) ve lorazepam (LORA) etken maddeleri tablet örneklerinden ekstrakte edilerek LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir.

Tablo 2. LC-MS/MS ile yapılan ALP VE LORA tayinine ait sonuçlar

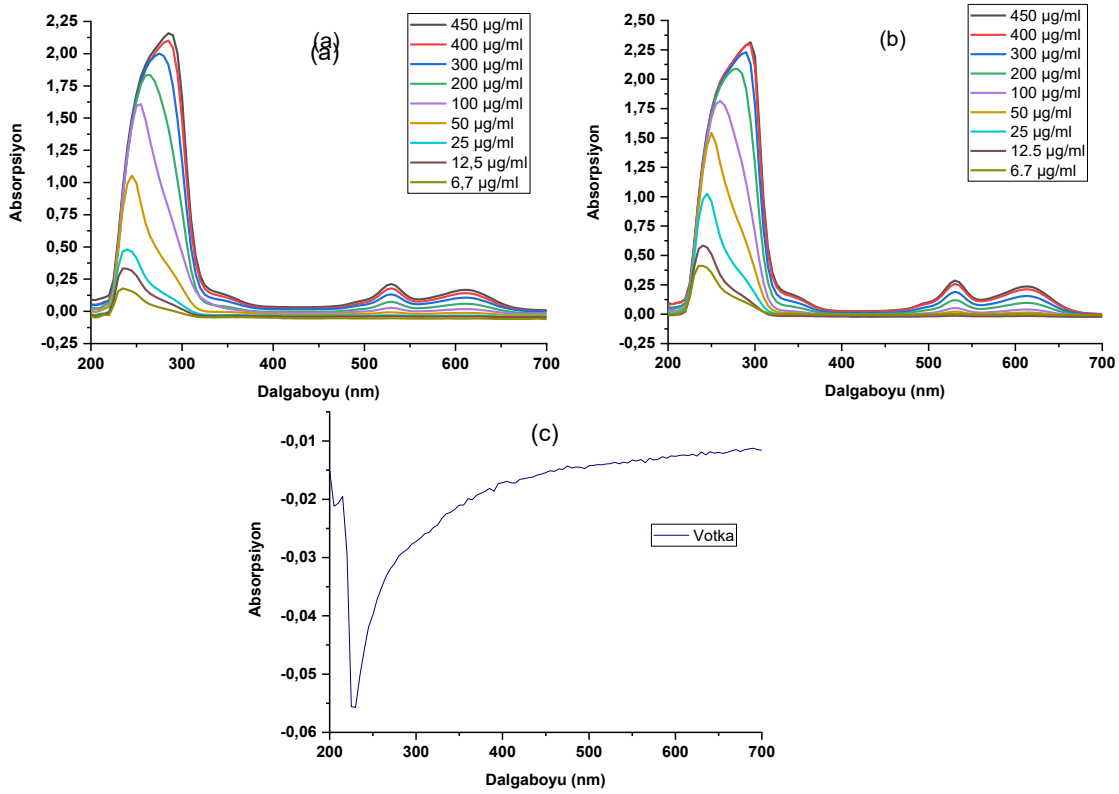
No	**Analit**	**Kimyasal formül**	**Beklenen kütle (Da, m/z)**	**Ölçülen kütle (Da, m/z)**	**Kütle doğruluğu (ppm)**	**Alıkonma süresi (dak)**	**Adduct**
1	ALP	$C_{17}H_{13}ClN_4$	309,09015	309,091 (309,0902)	2,76	6,04	Hidrojen (M + H)
2	LORA	$C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$	321,01921	321,0189 (321,0192)	-0,9	6,03	Hidrojen (M + H)

Yapılan analizler sonucunda, ALP ve LORA tablet örneklerinden elde edilen kütle spektrumlarının (Ek-Şekil 1, Ek-Şekil 2) standart ALP ve LORA bileşenlerine ait spektrumlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgu, tabletlerdeki ALP ve LORA varlığının LC-MS/MS yöntemiyle doğrulandığını göstermektedir.

4.2. UV-Gör Absorpsiyon Spektroskopisi Sonuçları

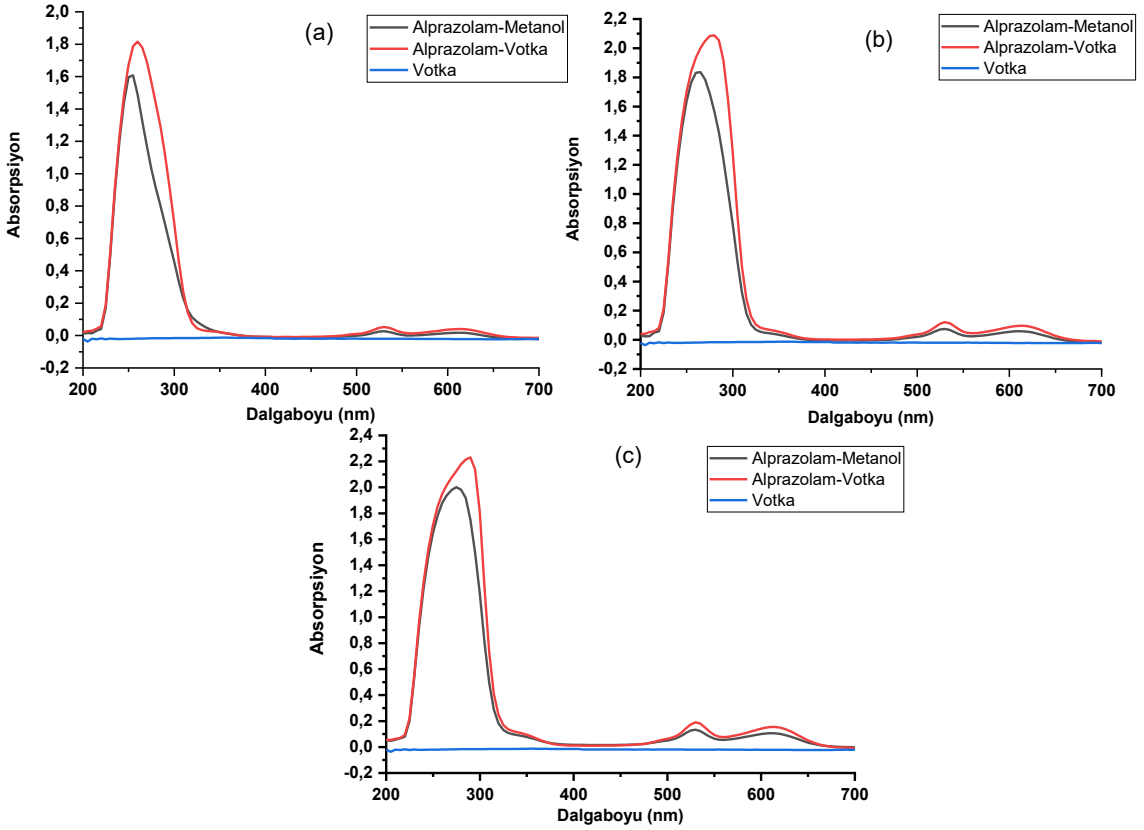
4.2.1. ALP-Votka UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

ALP'nin UV-Gör absorpsiyon özellikleri ile derişim ve çözücünün absorpsiyon özellikleri üzerindeki etkisi detaylı olarak incelendi. ALP tablet stok çözeltisi ve votka içerisinde değişen derişimlerde ALP absorpsiyon ölçümleri alındı. Aşağıda Şekil 5'te referans çözelti ve votka içerisinde elde edilen ALP UV-Gör absorpsiyon spektrumları ile votkaya ait absorpsiyon spektrumu görülmektedir.



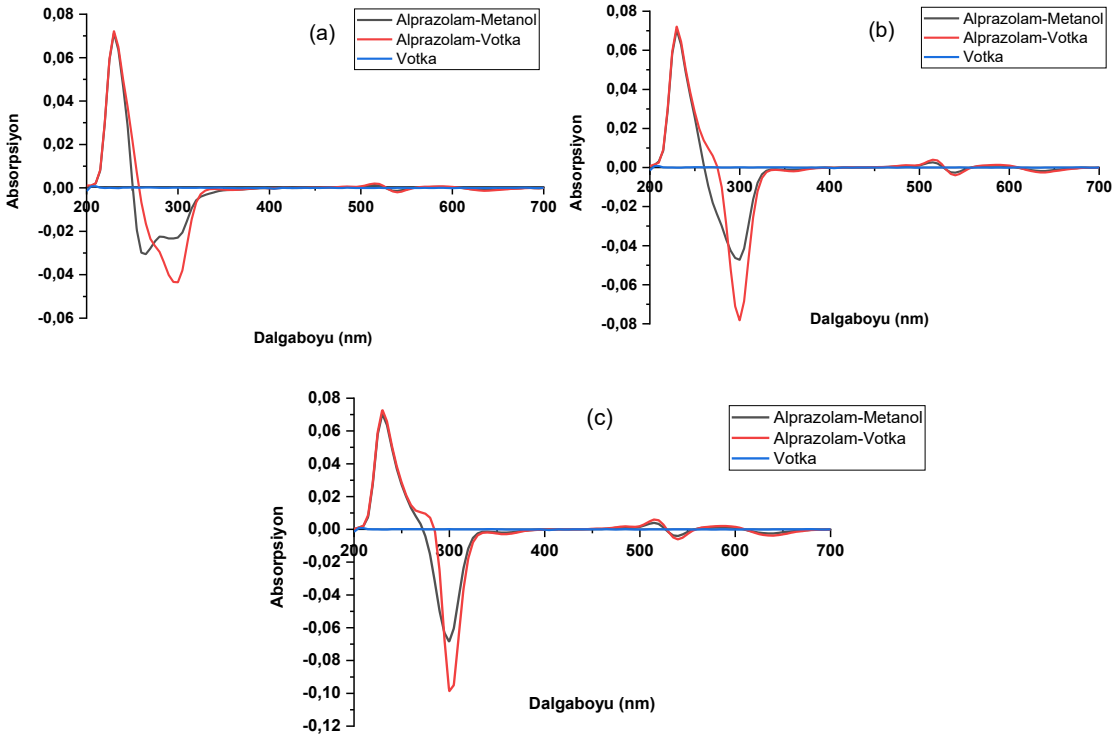
Şekil 5. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) votkada farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) votkanın absorpsiyon spektrumu.

Şekil 5 (a)'da ALP tabletin referans çözeltisinde üç ayrı absorpsiyon bandı gözlenmiştir. Bu bantlar, sırasıyla 210–325 nm, 500–550 nm ve 570–660 nm aralıklarında yer almakta olup hem spektral şekilleri hem de absorpsiyon maksimumlarının dalga boyları bakımından belirgin özellikler taşımaktadır. Artan derişimle birlikte 210-325 nm arasında gözlenen ve absorpsiyon şiddeti en yüksek olan bandın şeklinde değişiklik, absorpsiyon maksimumunda ise kırmızıya kayma görülmektedir. Şekil 5 (b)'de, ALP tabletin votka içerisindeki absorpsiyon spektrumları da benzer şekilde 210–325 nm, 500–550 nm ve 570–660 nm aralıklarında olmak üzere üç karakteristik absorpsiyon bandı göstermiştir. Bu bulgu, ALP'nin votka içerisindeki elektronik geçişlerinin metanol içerisindeki geçişlerle aynı olduğuna işaret etmektedir. Şekil 5 (c)'de ise votka örneğine ait absorpsiyon ölçümü yer almakta olup, belirgin bir absorpsiyon bandı görülmemiştir. Elde edilen sinyal negatif bölgede olduğu için daha çok gürültü olarak değerlendirilmiştir. Bu durum, votkanın spektral özelliklerinin ALP'nin absorpsiyonu üzerinde bir etkisi olmadığını ortaya koymaktadır.



Şekil 6. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

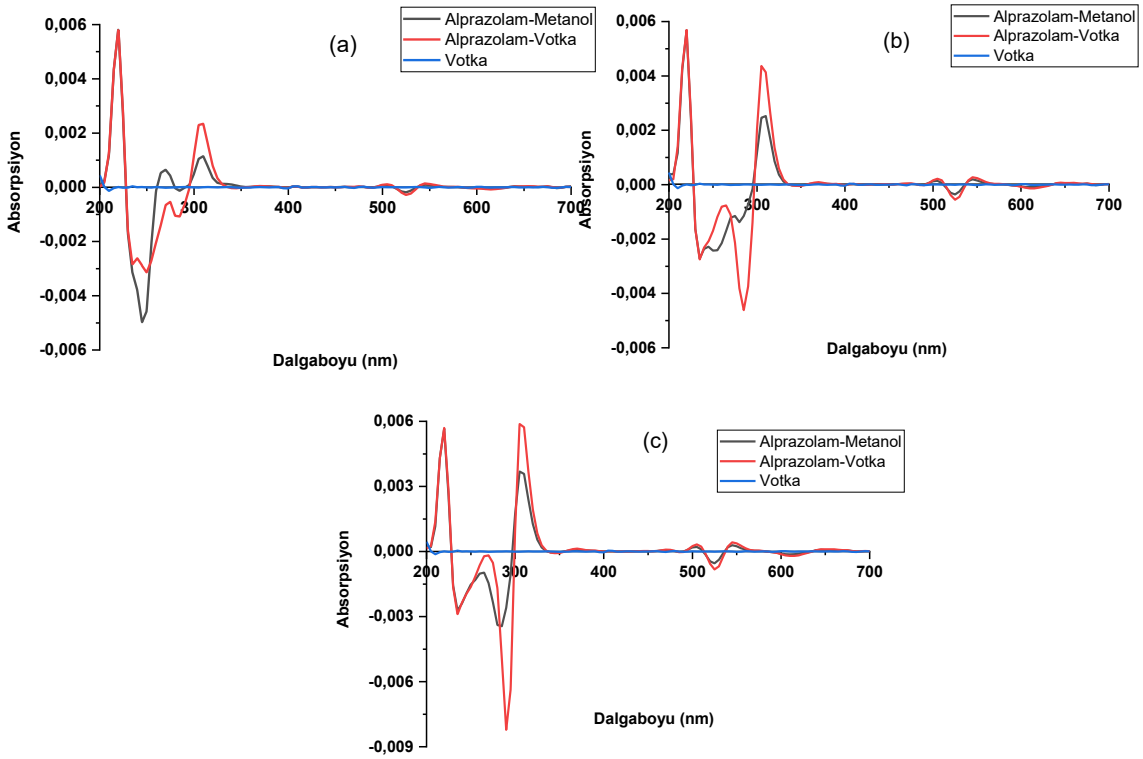
Şekil 6'da ALP'nin votkadaki UV-Gör absorpsiyon spektrumları üç farklı derişimde referans çözelti absorpsiyonları ile karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Üç farklı derişimde de 210–325 nm arasında yer alan kuvvetli bir absorpsiyon bandı gözlenmiş, bu bandın spektral şekli ve maksimumu iki çözeltide büyük ölçüde benzerlik göstermiştir. Özellikle artan derişimle birlikte absorpsiyon şiddetinde belirgin bir artış gözlenmiş, bu artış metanol ve votka ortamlarında paralel şekilde gerçekleşmiştir. Her iki çözelti sisteminde 500–550 nm ve 570–660 nm bölgelerinde düşük şiddetli absorpsiyonlar da dikkat çekmekte olup, bunlar daha çok yüksek derişimlerde görünür hâle gelmiştir. Spektrumlar arasındaki genel benzerlik, ALP'nin elektronik geçişlerinin her iki çözücüde de benzer davranış gösterdiğini ve çözücü matrisinin spektral profile anlamlı bir etki yapmadığını düşündürmektedir.



Şekil 7. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 7 ALP tabletin referans çözelti ve votka içerisindeki birinci dereceden absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Birinci türev spektrumlarında da absorpsiyon bantları genel anlamda benzerliğini korumuş, bunun yanı sıra referans çözeltisi ve votka içerisindeki ölçümlerde özellikle 210–325 nm bölgesindeki sıfırıncı derece absorpsiyon spektrumlarında gözlenmeyen küçük spektral farklılıklar ortaya çıkmıştır. Sıfırıncı

dereceden spektrumlarda daha düşük şiddette gözlenen 500–550 nm ve 570–660 nm aralıklarındaki absorpsiyon bantlarının türev spektrumlarında daha belirgin hale geldiği gözlenmiştir. Örneklerde derişimin artışı ile paralel absorpsiyon şiddetlerinde de artış gözlenmiştir. Her üç derişimde de spektral profil korunmuş, votka içerisindeki ALP tabletin referans ile uyumlu absorpsiyon bandı olduğu ve votkanın ALP absorpsiyonuna bir girişim oluşturmadığı görülmüştür.



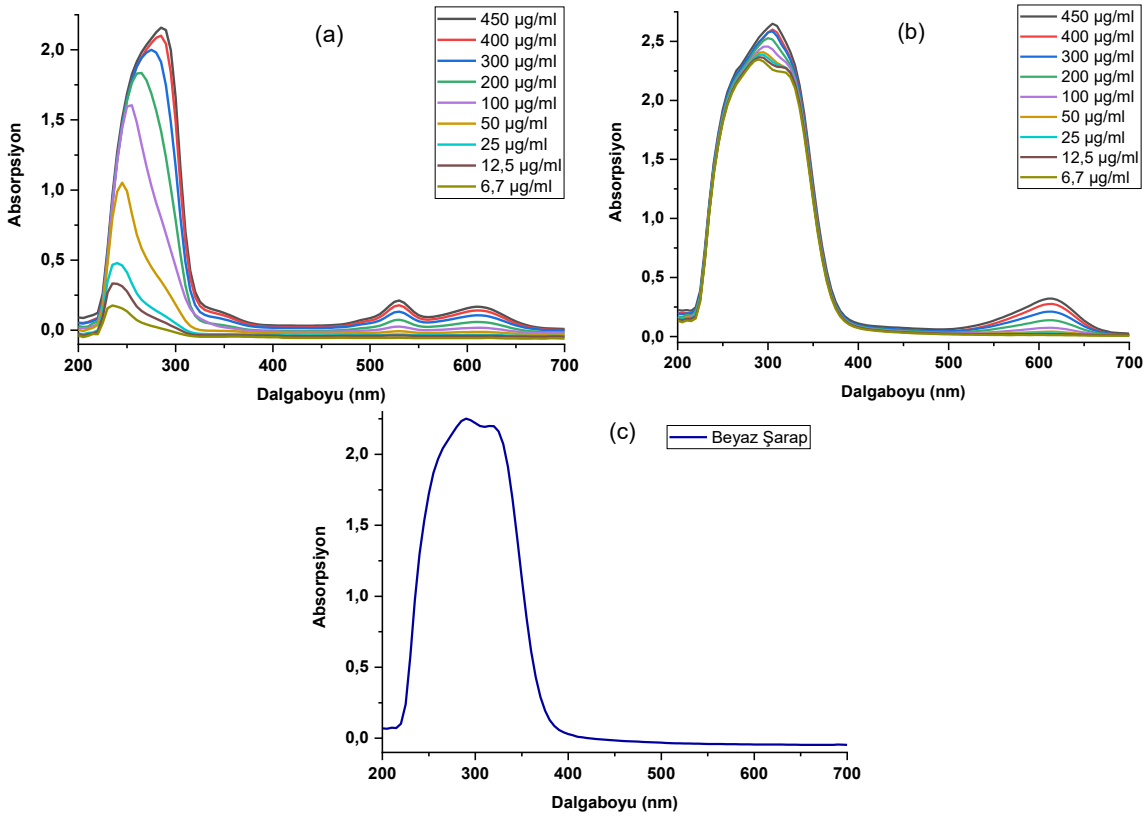
Şekil 8. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

ALP tabletin referans çözelti ve votka içerisindeki ikinci dereceden absorpsiyon türev spektrumları Şekil 8'de görülmektedir. İkinci türev spektrumlarında da absorpsiyon bantları genel anlamda benzerliğini korumuş, derişim artışı ile birlikte ALP tablet-votka spektrumu ile referans çözelti spektrumu arasındaki örtüşme nispeten artmıştır. 500–700 nm arasındaki absorpsiyon bantlarının daha belirgin hale geldiği gözlenmiştir. Tüm derişimlerde spektral profil korunmuş, votka içerisindeki ALP tabletin referans ile uyumlu absorpsiyon bandı olduğu ve votkanın ALP absorpsiyonuna bir girişim oluşturmadığı görülmüştür.

Örneklerin üçüncü ve dördündü dereceden türev spektrumları da incelenmiş ve ALP tayininde kullanılabilecek spesifik bir bant içermediği gözlenmiştir. Tüm içecek örneklerinde üçüncü ve dördüncü dereceden türev spektrumları ekte sunulmuştur (EK-Şekil 3-12).

4.2.2. ALP-Beyaz Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

ALP tabletin UV-Gör bölgesindeki absorpsiyon karakteristikleri ile farklı derişim ve çözücülerin bu özellikler üzerindeki etkileri ayrıntılı biçimde değerlendirilmiştir. Referans çözelti, beyaz şarap içerisinde elde edilen ALP absorpsiyon spektrumları ve beyaz şaraba ait absorpsiyon spektrumları Şekil 9'da görülmektedir.

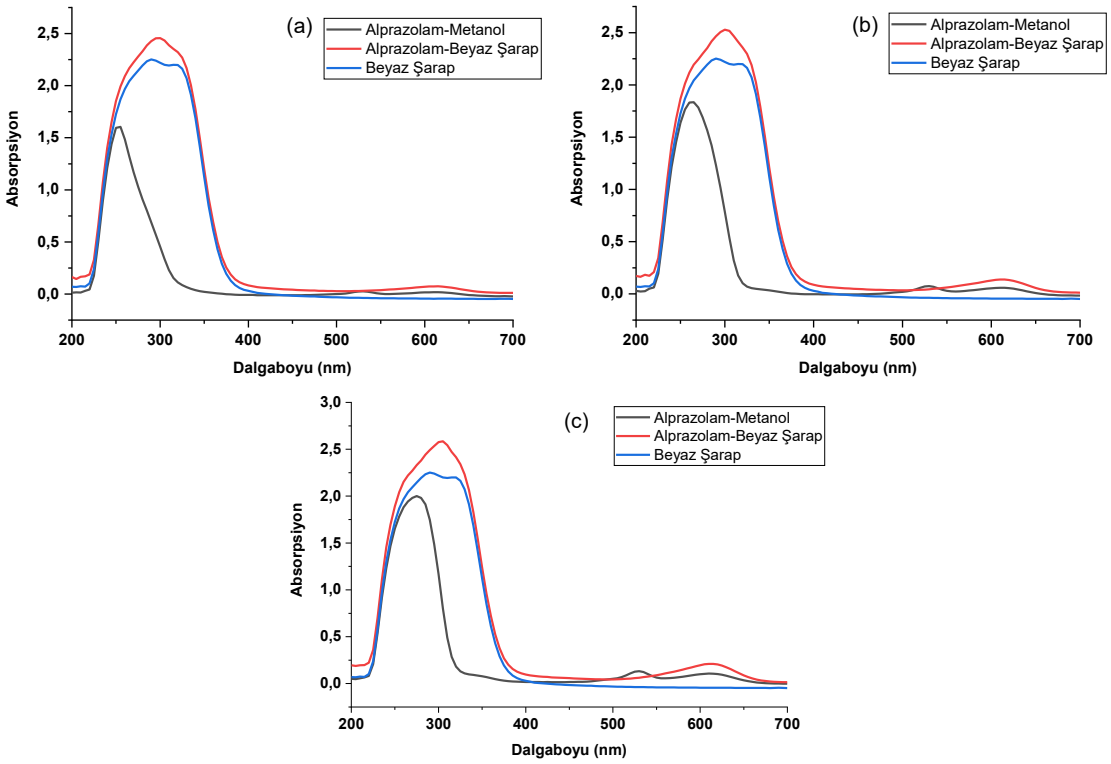


Şekil 9. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) beyaz şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) beyaz şarabın absorpsiyon spektrumu.

Şekil 9'da ALP tabletin beyaz şarap içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen absorpsiyon spektrumları referans çözeltisinin absorpsiyon spektrumları ile karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Şekil 9 (a)'da ALP'nin referans çözeltisinde üç ayrı absorpsiyon bandı gözlenmiştir. Bu bantlar sırasıyla 210–325 nm, 500–550 nm ve 570–660 nm

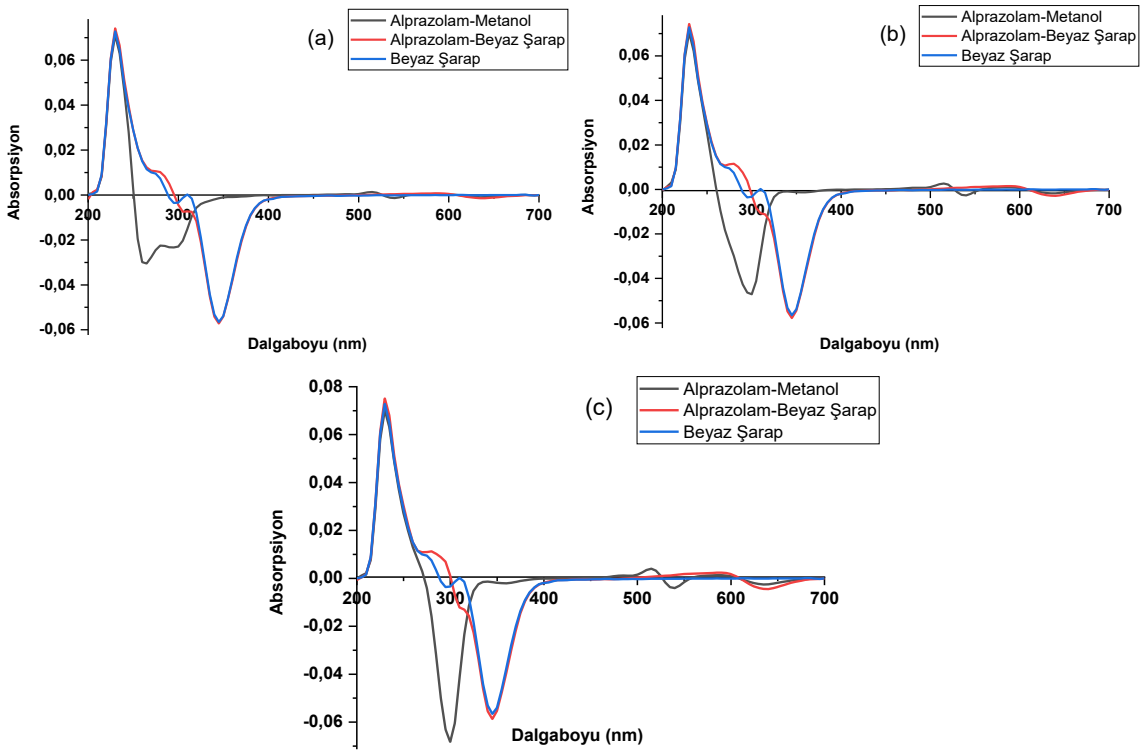
aralıklarında yer almaktadır. Özellikle 210–325 nm aralığında yoğun absorpsiyon şiddetiyle öne çıkan bantta, derişim arttıkça absorpsiyon şiddetinin arttığı ve maksimumunda hafif kırmızıya kayma olduğu gözlenmiştir. Şekil 9 (b)'de ALP'nin beyaz şarap içerisindeki absorpsiyon spektrumları yer almaktadır. Bu spektrumlarda 210–400 nm ve 530–660 nm bir belirgin bant gözlenmiştir. Şekil 9 (c)'de ise yalnızca beyaz şaraba ait absorpsiyon spektrumu sunulmuş olup, 210–400 nm aralığında yayvan ve belirgin bir absorpsiyon bandı mevcuttur. 210-400 nm arasındaki hem ALP örneklerinde hem de ALP içermeyen beyaz şarapta absorpsiyon gözlenmiştir. Referans çözeltide daha dar ve daha düşük şiddette gözlenen ALP absorpsiyonunun daha geniş ve yayvan olan beyaz şarap absorpsiyon bandı ile örtüşmekte ve beyaz şarap bandı tarafından kapatılmaktadır. Beyaz şarap içerisinde 210-400 nm arasında gözlenen yüksek şiddetli absorpsiyon bandı ALP tablet ve beyaz şarap absorpsiyonlarının toplamından kaynaklanmaktadır. Buna karşılık, 530–660 nm aralığındaki ikinci bant, yalnızca ALP içeren çözeltilerde gözlendiği için ALP'ye özgü absorpsiyon geçişlerini yansıttığı değerlendirilmektedir.

Beyaz Şarap içerisinde ALP tablet analizlerinde daha belirgin ayrımın gözlenmeye başladığı 100 µg/mL ile absorpsiyon maksimumunda nispeten kayma olmadığını kabul edebileceğimiz 200 ve 300 µg/mL içeren örnekler referans ile karşılaştırılarak absorpsiyon spektrumları ve türev spektrumları incelenmiştir. Çalışmada analizi yapılan bütün içeceklerde aynı yaklaşım kullanılarak spektrumlar incelenmiştir.



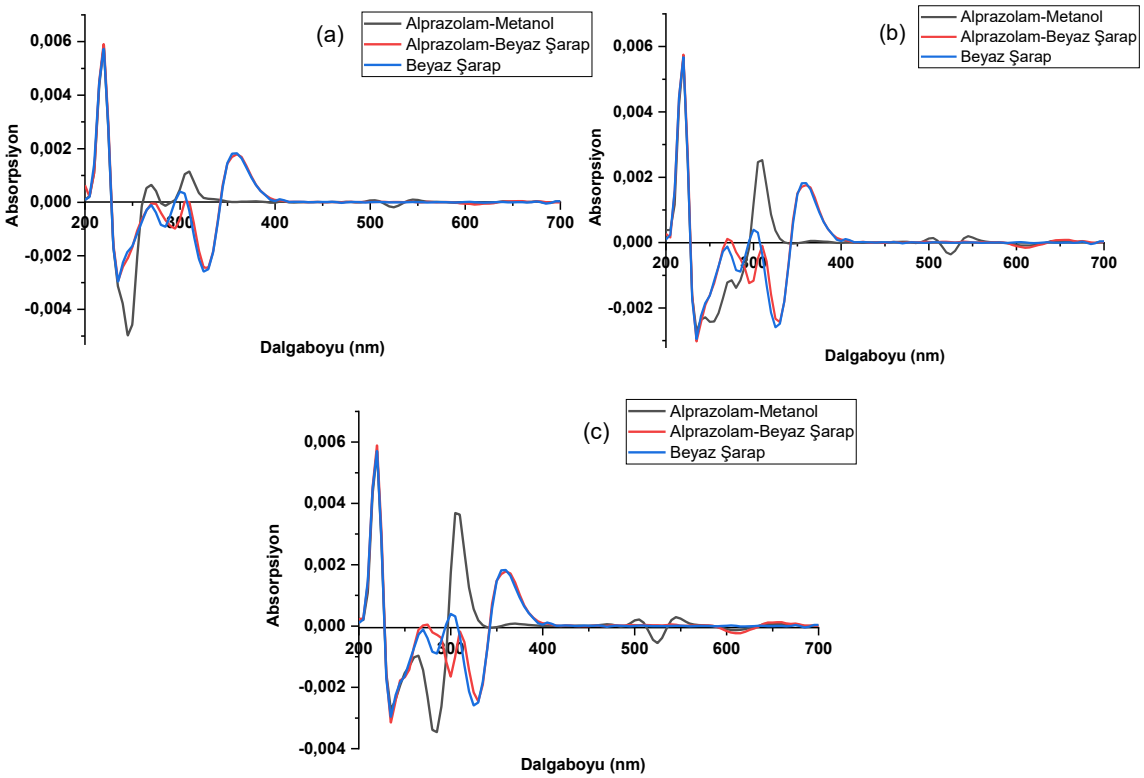
Şekil 10. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Referans çözeltide derişim arttıkça absorpsiyon şiddetinde belirgin bir artış görülürken, ALP'nin beyaz şaraptaki spektrumlarında belirgin bir artış gözlemlenmemiştir. Her iki çözeltide de 560–660 nm bölgelerinde düşük şiddetli absorpsiyon bantları gözlenmekte olup artan derişim ile absorpsiyon şiddetlerinde artış gözlenmiştir. Bu bölgedeki absorpsiyon bantları referans çözeltide 500–700 nm arasında ikili bant olarak gözlenirken ALP'nin beyaz şaraptaki spektrumlarında 530-700 nm arasında daha yayvan tekli bant olarak gözlenmiştir.



Şekil 11. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 11, ALP tabletin referans çözelti ve beyaz şarap içerisindeki absorpsiyon spektrumlarının birinci derece türev absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Birinci türev spektrumlarında 210–400 nm arasında yer alan beyaz şaraba ait kuvvetli bir absorpsiyon bandı ile ALP tablet-beyaz şarap örneğine ait absorpsiyon bandı arasında küçük şekilsel değişiklikler ve bant kaymaları gözlense de analitik açıdan iki örneği birbirinden ayırt edecek yeterlilikte değildir. Buna karşılık sıfırıncı dereceden spektrumlarda gözlenen 560–700 nm aralığındaki absorpsiyon bandının artan derişimle birlikte referans çözelti ile ALP tablet-beyaz şarap örneklerinde örtüşme oranının arttığı gözlenmiştir.

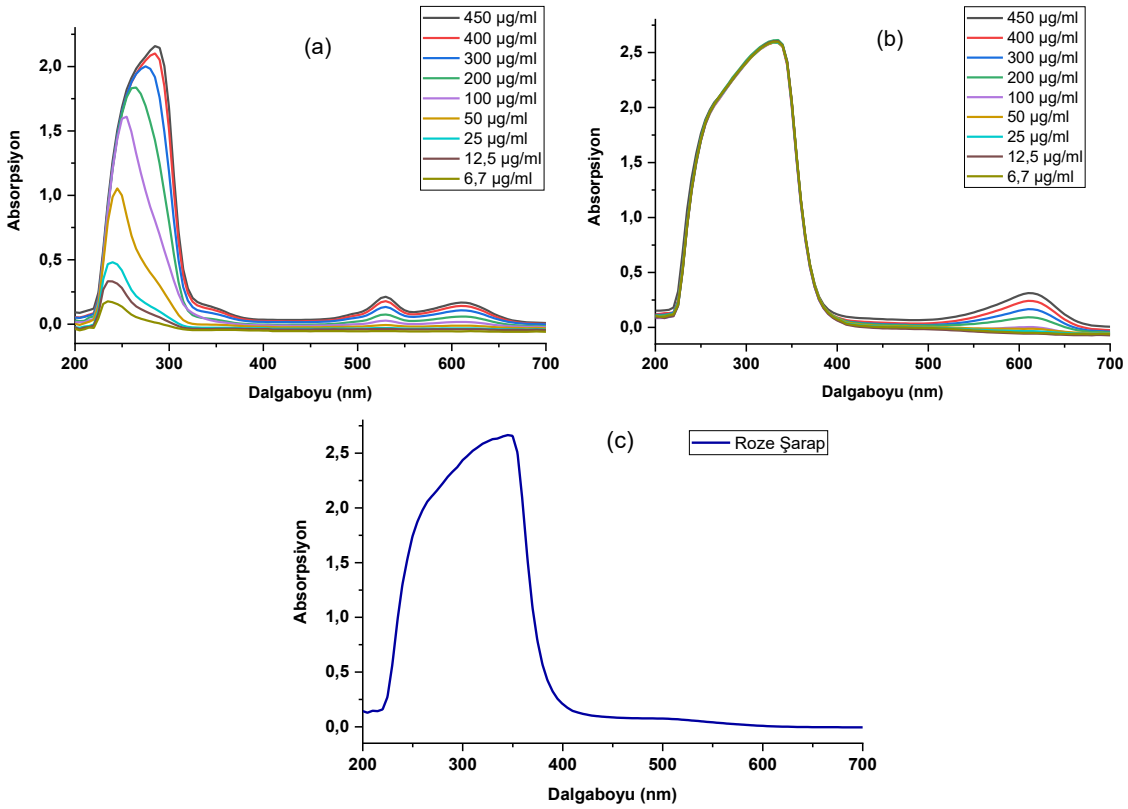


Şekil 12. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

İkinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları incelendiğinde ALP tablet-beyaz şarap örnekleri ile beyaz şarap örneklerinin 200-400 nm arasındaki bölgede ortamdaki artan ALP oranı birlikte ayrışmaya başladığını görmekteyiz. Ancak ALP tablet- beyaz şarap örnekleri ile referans ALP örnekleri arasında önemli bir örtüşme olmadığından bu bölge ikinci dereceden türev spektrumlarında da tayin için uygun olmamaktadır. Buna karşın 560-700 nm arasında gözlemlenen absorpsiyon bandında ise belirgin bir örtüşme gözlenmiş ve ALP tayini için ikinci türev spektrumlarında kullanılabileceği öngörülmüştür.

4.2.3. ALP-Roze Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

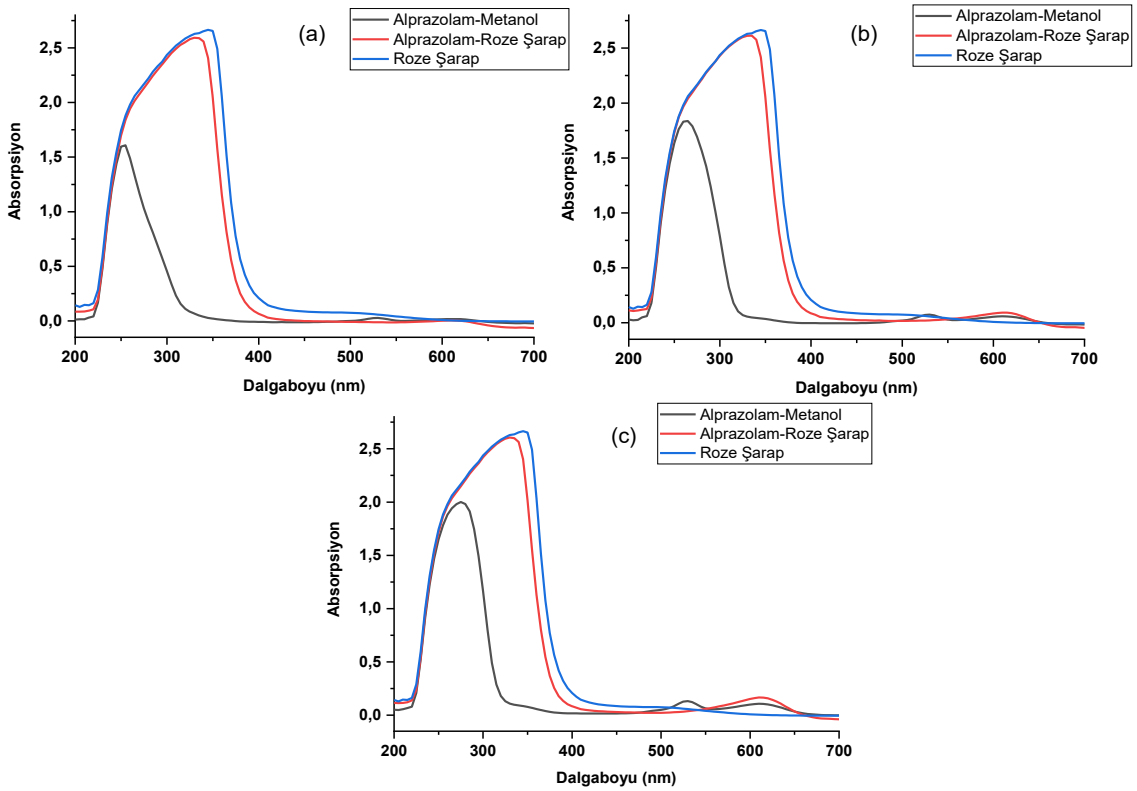
ALP tabletin UV-Gör bölgesindeki absorpsiyon karakteristikleri ile farklı derişim ve çözücülerin bu özellikler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Referans çözelti ve roze şarap içerisinde elde edilen ALP absorpsiyon spektrumları ile roze şaraba ait absorpsiyon spektrumu Şekil 13'te sunulmaktadır.



Şekil 13. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) roze şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) roze şarabın absorpsiyon spektrumu.

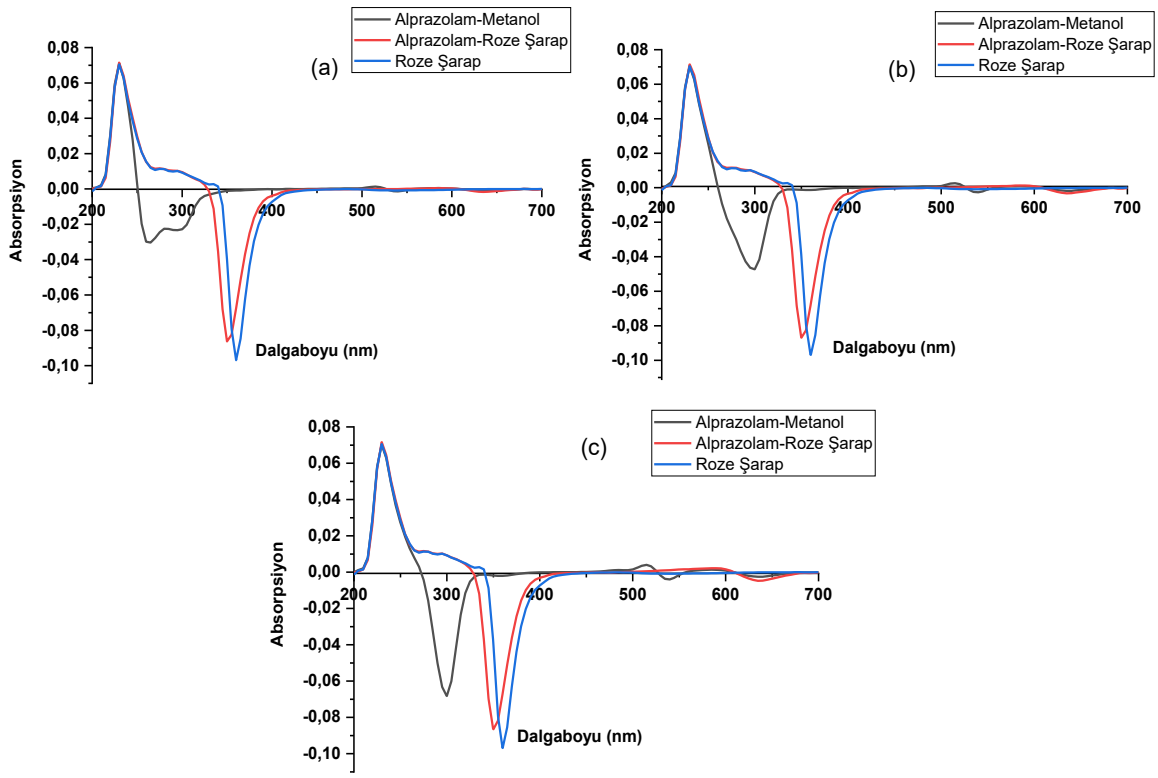
Şekil 13 (a)'da ALP'nin referans çözeltisindeki absorpsiyon değerleri görülmektedir. Şekil 13 (b)'de ALP'nin roze şarap içerisindeki absorpsiyon spektrumları yer almaktadır ve bu spektrumlarda 210–400 nm ve 530–700 nm aralıklarında iki bant gözlenmiştir. Şekil 13 (c)'de roze şaraba ait absorpsiyon spektrumunda 210–400 nm aralığında ALP tablet-roze şarap absorpsiyon spektrumunda bu bölgede gözlenen bant ile aynı görüntüde bir absorpsiyon bandı gözlenmiştir. 530-700 nm aralığında hem ALP içeren örneklerde absorpsiyon bandı gözlenirken roze şarabın kendisinde bu bölgede bant gözlenmemektedir. Referans çözeltideki 210-400 nm aralığındaki ALP absorpsiyon bandının roze şarabın absorpsiyon bandına göre daha dar ve düşük şiddetli olduğu

görülmektedir. Bu nedenle ALP tablet-roze şarap örneklerinde bu bölgedeki bant şarap ve ALP absorpsiyonunun toplamını gösterse de ALP absorpsiyonunu şarabın absorpsiyon bandının domine ettiği görülmektedir. Buna karşın, yalnızca ALP içeren çözeltilerde ortaya çıkan 530–660 nm aralığındaki ikinci bandın, ALP tablete özgü karakteristik bir geçiş olduğu değerlendirilmiştir.



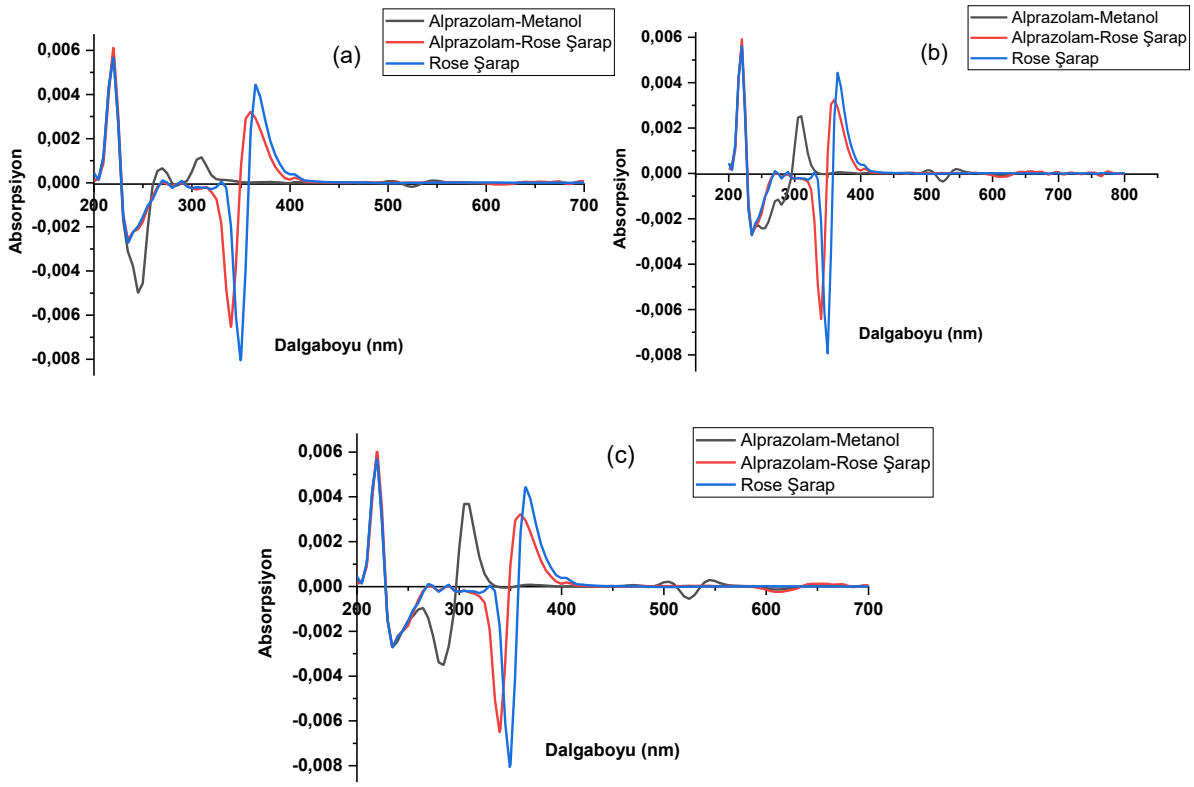
Şekil 14. ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Şekil 14'da ALP referans ve ALP tablet- roze şarap örneklerinin absorpsiyonlarının 3 farklı derişimde kıyası görünmektedir. Referans çözeltide derişimin artışıyla birlikte absorpsiyon şiddetinde belirgin bir yükseliş gözlenirken ALP'nin roze şarap içerisindeki spektrumlarında benzer düzeyde bir artış izlenmemiştir. Beyaz şarapta olduğu gibi roze şarapta da 500–660 nm aralığında düşük şiddetli absorpsiyon bandı referans absorpsiyon bandından farklı olarak tekli ve yayvan bir bant olarak gözlenmiştir. Yine diğer içeceklerde olduğu gibi artan derişimle birlikte absorpsiyon şiddetlerinde anlamlı artışlar meydana gelmiştir.



Şekil 15. ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 15, ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarap içerisindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Türev spektrumlarında 210–400 nm aralığında roze şaraba ait belirgin absorpsiyon bandı ile ALP tablet-roze şarap örneklerine ait bant arasında sınırlı düzeyde şekilsel farklılıklar ve bant kaymaları izlenmiş olsa da bu farklılıklar analitik ayrım için yeterli düzeyde değildir. Sıfırıncı derece spektrumlarda 560–700 nm aralığında gözlenen absorpsiyon bandının, artan derişimle birlikte referans çözeltisi ile ALP tablet-roze şarap örnekleri arasında daha yüksek örtüşme gösterdiği belirlenmiştir.

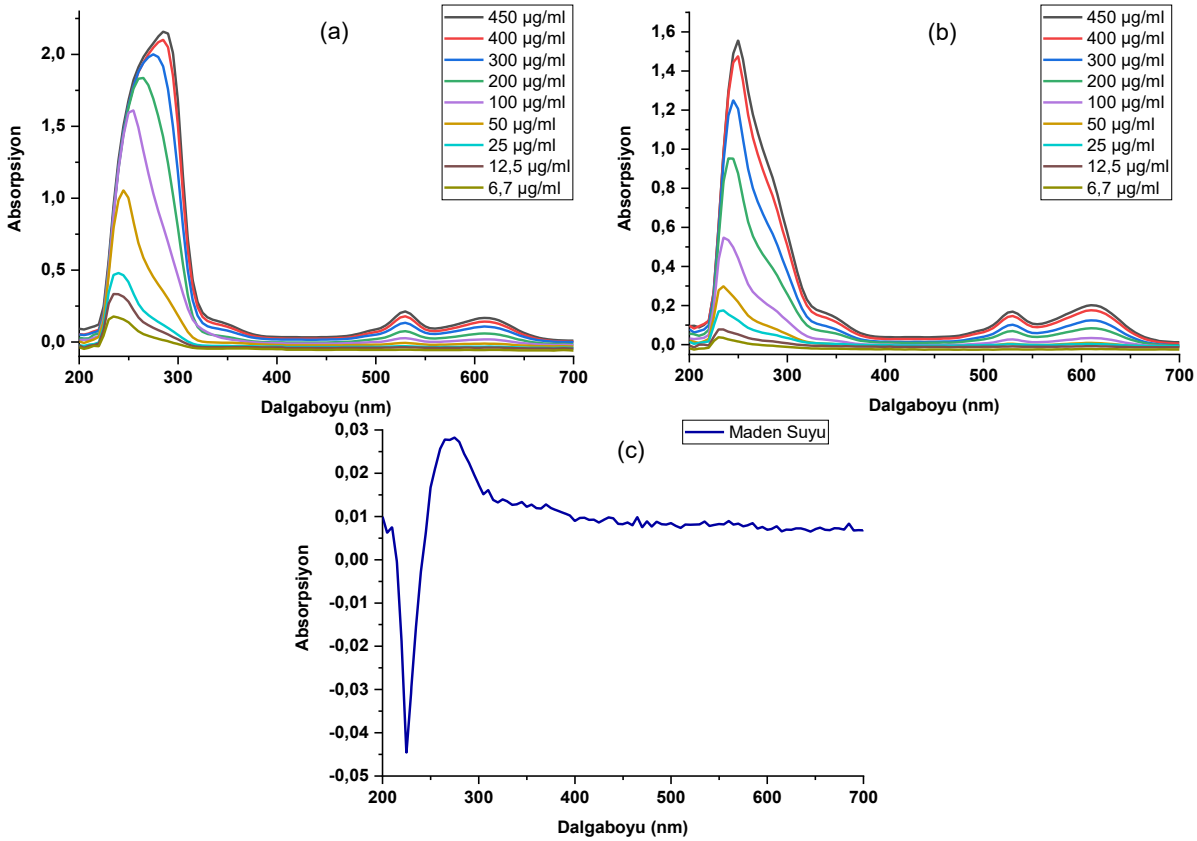


Şekil 16. ALP tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 16'de sunulan ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları incelendiğinde, ALP tablet içeren roze şarap örnekleri ile yalnızca roze şaraba ait spektrumların 200–400 nm aralığında önemli bir ayrışma göstermediği görülmektedir. Ayrıca referans çözelti ile yeterli benzerlik de göstermediği için analitik değerlendirme açısından yetersiz kalmaktadır. Buna karşılık, 560–700 nm aralığında ALP tablet içeren çözeltiler ile referans çözeltinin belirgin şekilde örtüştüğü gözlenmiştir.

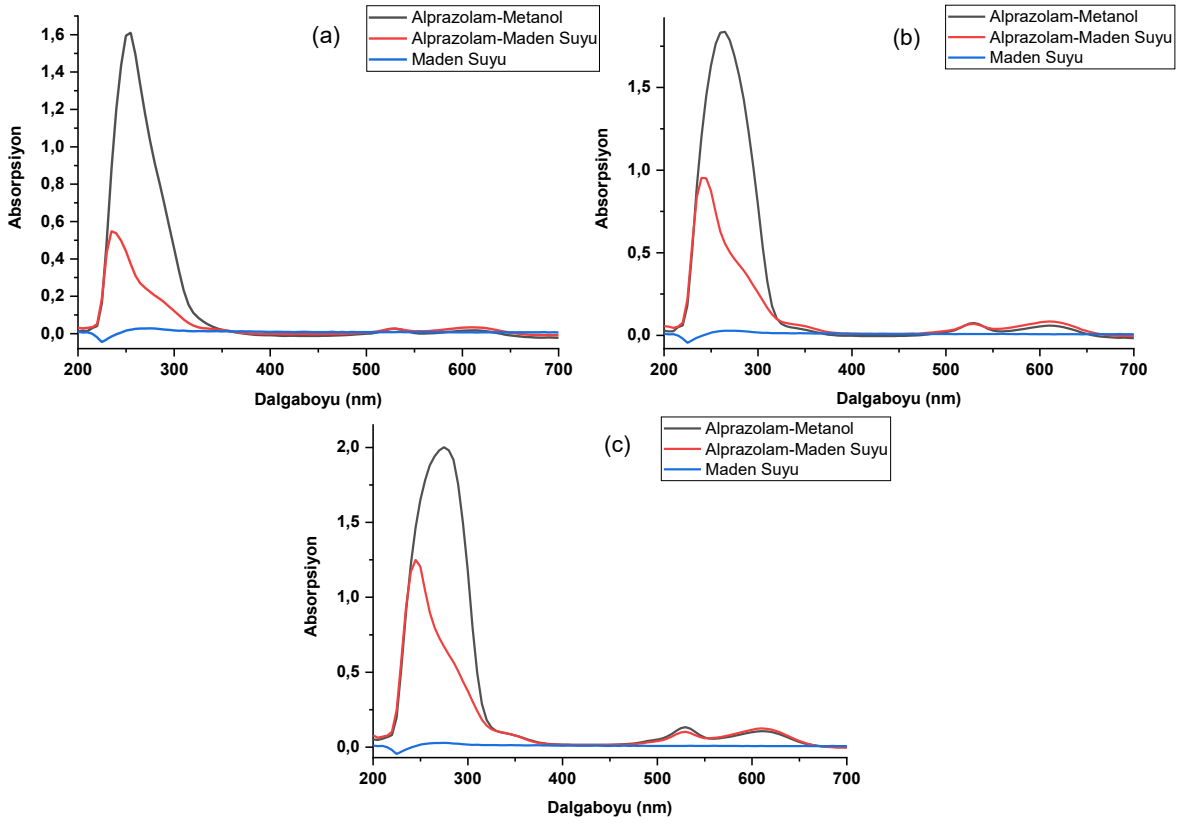
4.2.4. ALP-Maden Suyu UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

Alprazolam'ın maden suyu içerisindeki absorpsiyon karakteristikleri ve absorpsiyon özelliklerinin maddenin tayininde kullanılma olasılığı incelenmiştir. Şekil 17'de ALP tabletin referans çözelti ve maden suyu içerisindeki farklı derişimlerde absorpsiyon spektrumları ve maden suyunun kendi spektrumu görülmektedir.



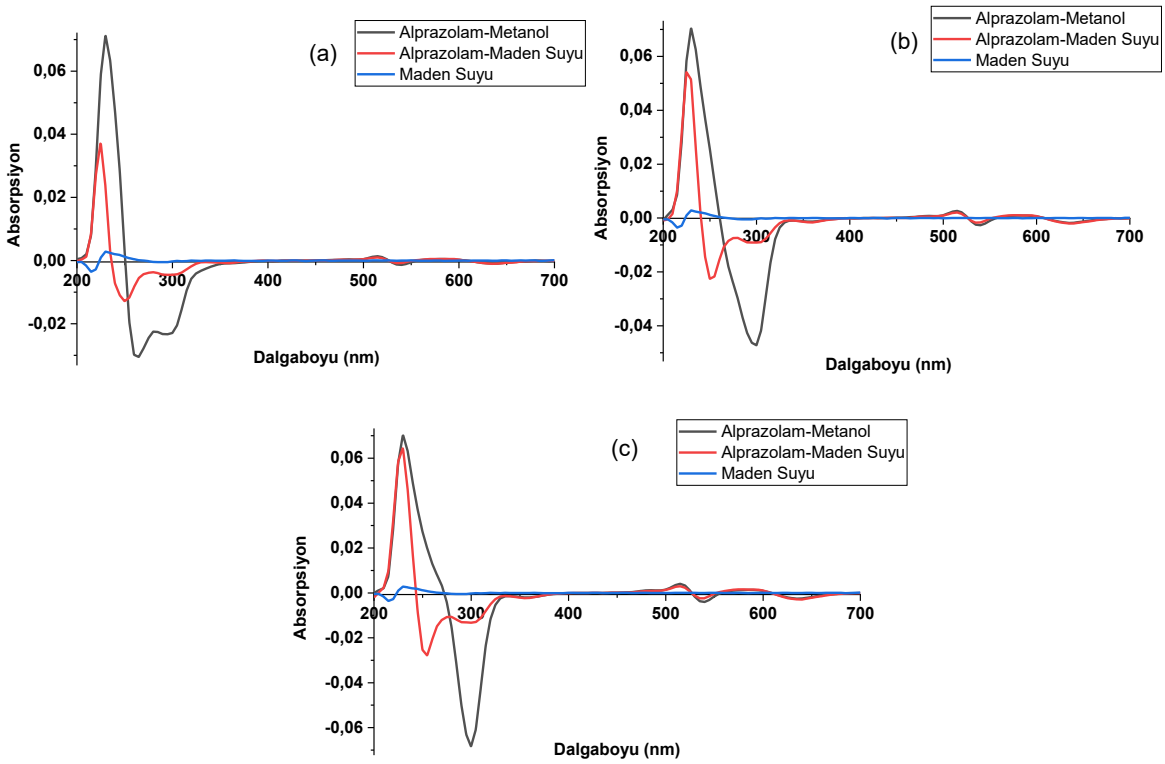
Şekil 17. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) maden suyunda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) maden suyunun absorpsiyon spektrumu.

Şekil 17 (a)'da görülen referans ölçümlerin spektrumları daha önceki içeceklerde kullanılan spektrumlardır. Şekil 17 (b)'de ALP tabletin maden suyu içerisindeki spektrumları gösterilmiş olup, referans çözeltisi ile benzer spektral özellikler sergilemiştir. Özellikle 210–325 nm aralığında kuvvetli bir absorpsiyon bandı gözlenmiş, bu bandın artan derişimle birlikte şiddeti artmıştır. Ayrıca 500–550 nm ve 570–660 nm bölgelerinde düşük şiddetli absorpsiyon bantları da tespit edilmiştir. Bu durum, ALP'nin maden suyu ortamında da karakteristik elektronik geçişlerinin sürdüğünü göstermektedir. Şekil 17 (c)'de maden suyuna ait absorpsiyon ölçümü yer almakta olup, belirgin bir absorpsiyon bandı görülmemiştir. Elde edilen sinyal negatif bölgede olduğu için daha çok gürültü olarak değerlendirilmiştir. Maden suyunun ALP tablet absorpsiyon ölçümlerinde etkisinin votka ile benzer olduğu, spektral özelliklerinin ALP'nin absorpsiyonu üzerinde bir etkisi olmadığı görülmüştür.



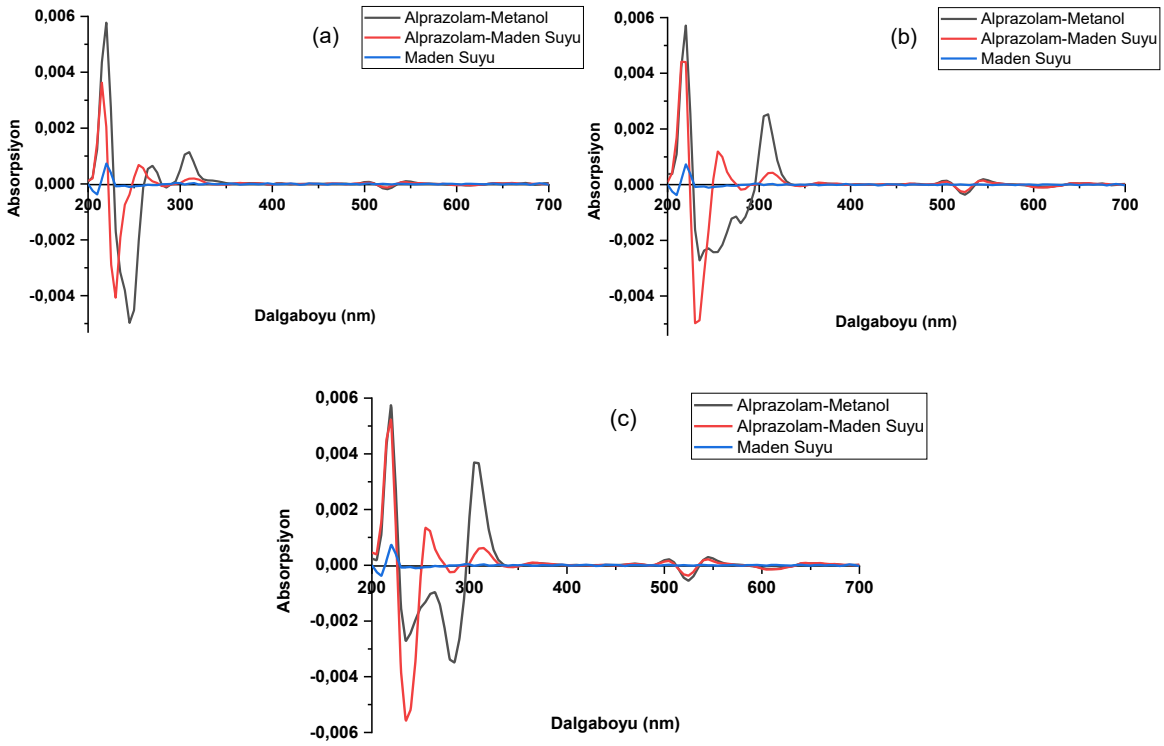
Şekil 18. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Şekil 18'de ALP'nin maden suyundaki UV-Gör absorpsiyon spektrumları üç farklı derişimde referans çözelti absorpsiyonları ile karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. ALP tablet-maden suyu örneklerinde 210–325 nm arasında yer alan absorpsiyon bant şeklinin ALP tablet referans çözeltinin daha düşük derişimli çözeltilerindeki bant şekline benzediği görülmektedir. Bu görüntü maden suyunun ALP absorpsiyonuna referans çözelti çözücüsü olan metanolden daha az bozucu etki yaptığı izlenimini doğurmaktadır.



Şekil 19. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 19, ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyu içerisindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Türev spektrumlarında genel bant yapıları korunmuş olmakla birlikte, 210–325 nm bölgesinde sıfırıncı derece spektrumlarda ayırt edilemeyen bazı spektral farklılıklar daha görünür hâle gelmiştir. Sıfırıncı derece spektrumlarında olduğu gibi 500–550 nm ve 570–660 nm aralıklarındaki absorpsiyon bantlarının türev spektrumlarında da artan derişim ile daha belirgin hale geldiği gözlenmiştir. Genel olarak her üç derişim düzeyinde spektral profil korunmuş, maden suyu içerisindeki ALP'nin karakteristik bantlarının referans çözelti ile türev spektrumunda da örtüştüğü görülmektedir.



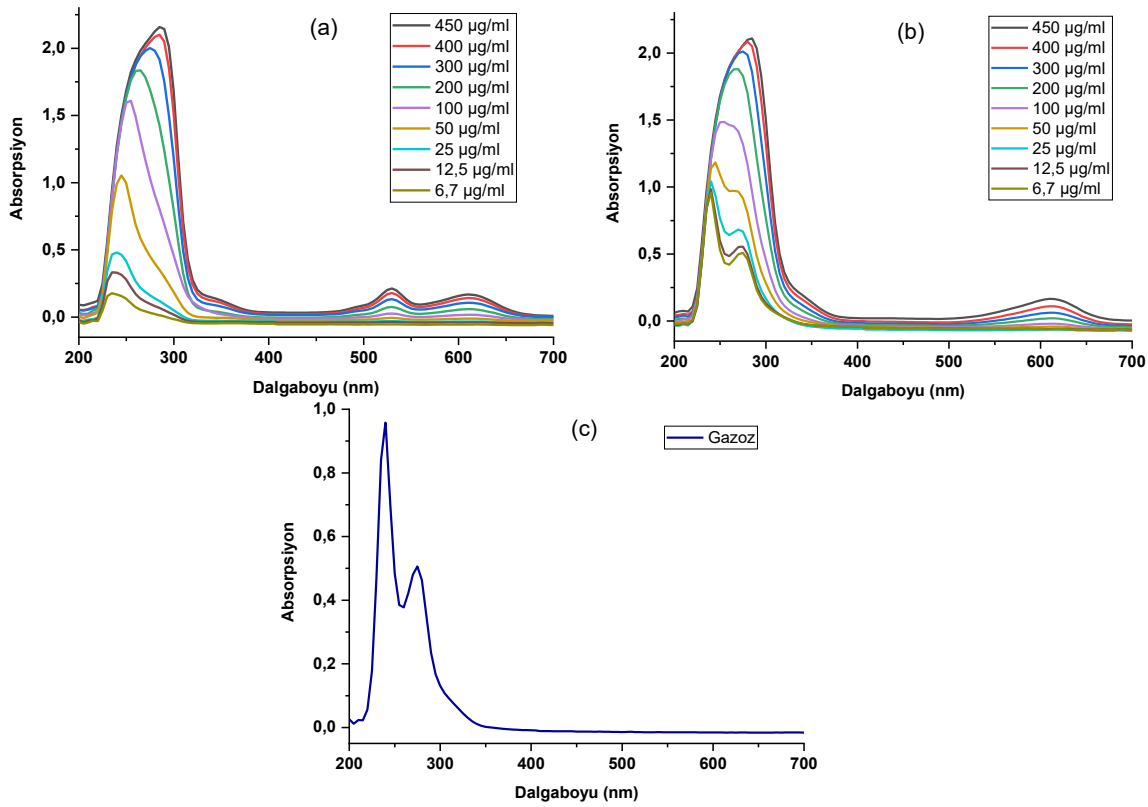
Şekil 20. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

İkinci dereceden türev spektrumlarında 210-400 nm aralığındaki absorpsiyon bantlarında farlılık oranı artmış 500-660 nm aralığındaki bantlarda ise tam örtüşme gözlenmiştir (Şekil 20).

Üçüncü dereceden absorpsiyon türev spektrumlarında da ikinci derece ile benzer sonuç elde edilmiştir. ALP tablet- maden suyu örnek ölçümleri ile referans çözelti ölçümleri arasında 200-400 nm aralığındaki bantlarda farklılaşma oranı artarken 500-700 nm arasında tam örtüşme görülmektedir.

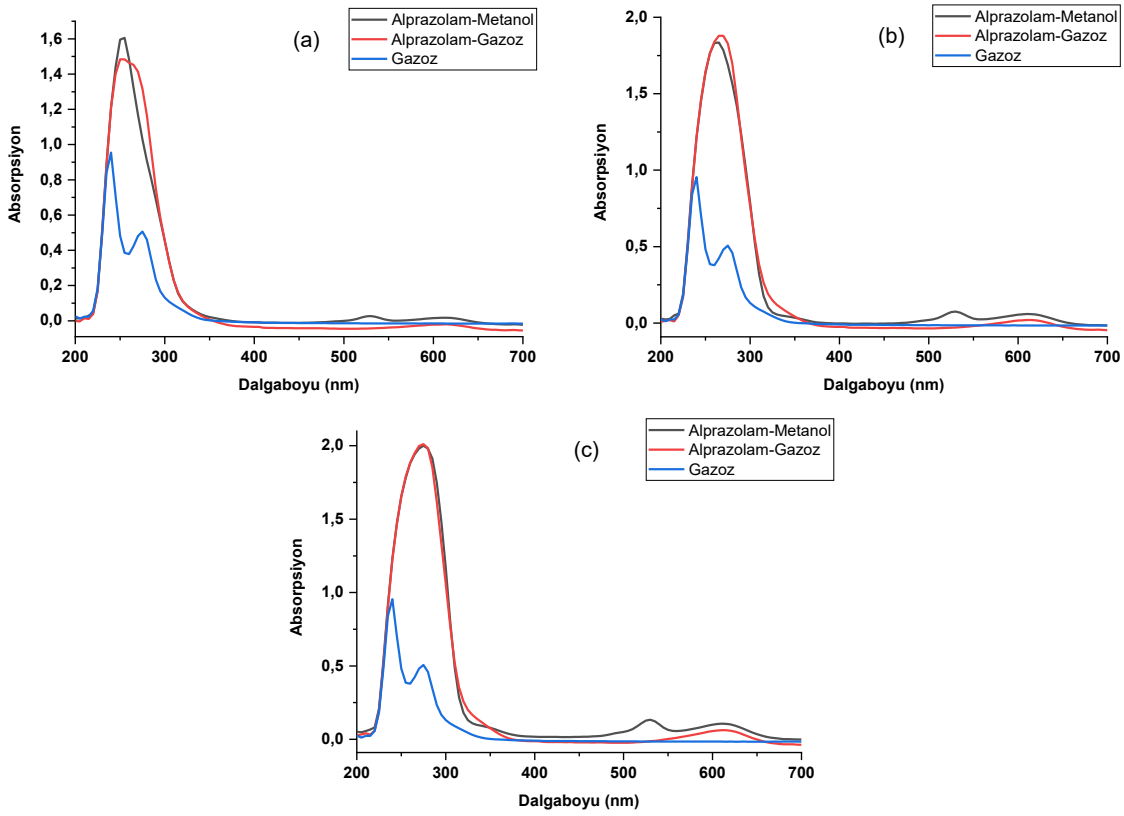
4.2.5. ALP-Gazoz UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

Alprazolamın UV-Gör absorpsiyonunun gazoz içerisindeki karakteristikleri ve madde derişiminin bu karakteristiklere etkisi incelendi. Şekil 21'te referans çözelti ve gazoz içerisinde elde edilen ALP'ye ait UV-Gör absorpsiyon spektrumları ile birlikte gazozun absorpsiyon spektrumu görülmektedir.



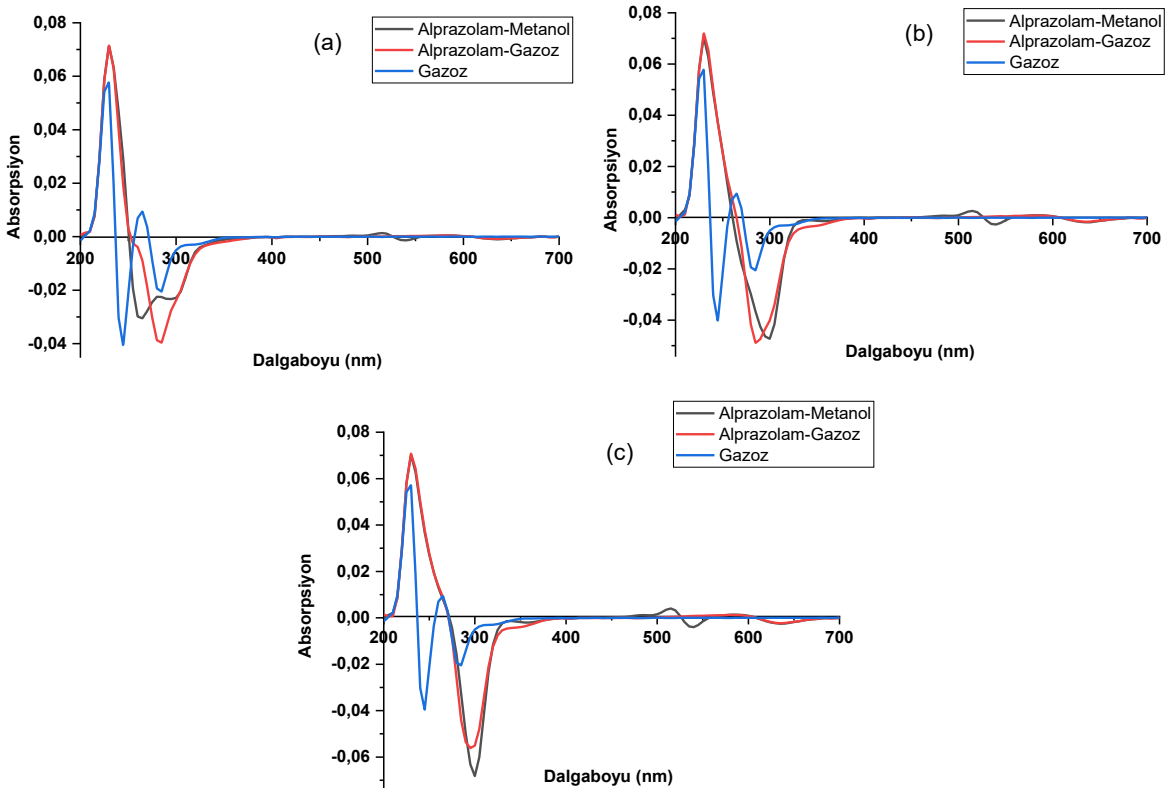
Şekil 21. ALP tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) gazozda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) gazozun absorpsiyon spektrumu.

Şekil 21 (a)'da ALP tabletin diğer içecek analizlerinde olduğu gibi referans çözeltisi içerisinde elde edilen absorpsiyon spektrumları yer almaktadır. Şekil 21 (b)'de ALP tabletin gazoz içerisinde elde edilen spektrumları yer almakta olup, 210–325 nm aralığında düşük derişimlerde ikili bant gözlenirken derişim arttıkça tekli banda dönüşmektedir. Referans çözeltide ikili absorpsiyon bandı gözlenen 500–700 nm aralığındaki bölgede yayvan tekli bir bant gözlenmektedir. Şekil 21 (c) görülen gazoza ait absorpsiyon spektrumunda ALP tablet-gazoz örneği ile hemen hemen aynı görünen ikili belirgin bir absorpsiyon bandı görülmektedir. Sıfırıncı dereceden absorpsiyon ölçümlerinde düşük derişimlerde örneklerin absorpsiyon karakteristiğinde gazozun absorpsiyon özelliklerinin ortamı domine ettiği, yüksek derişimlerde ise ALP tablet absorpsiyon bandı görünümünün baskın olduğu görülmektedir.



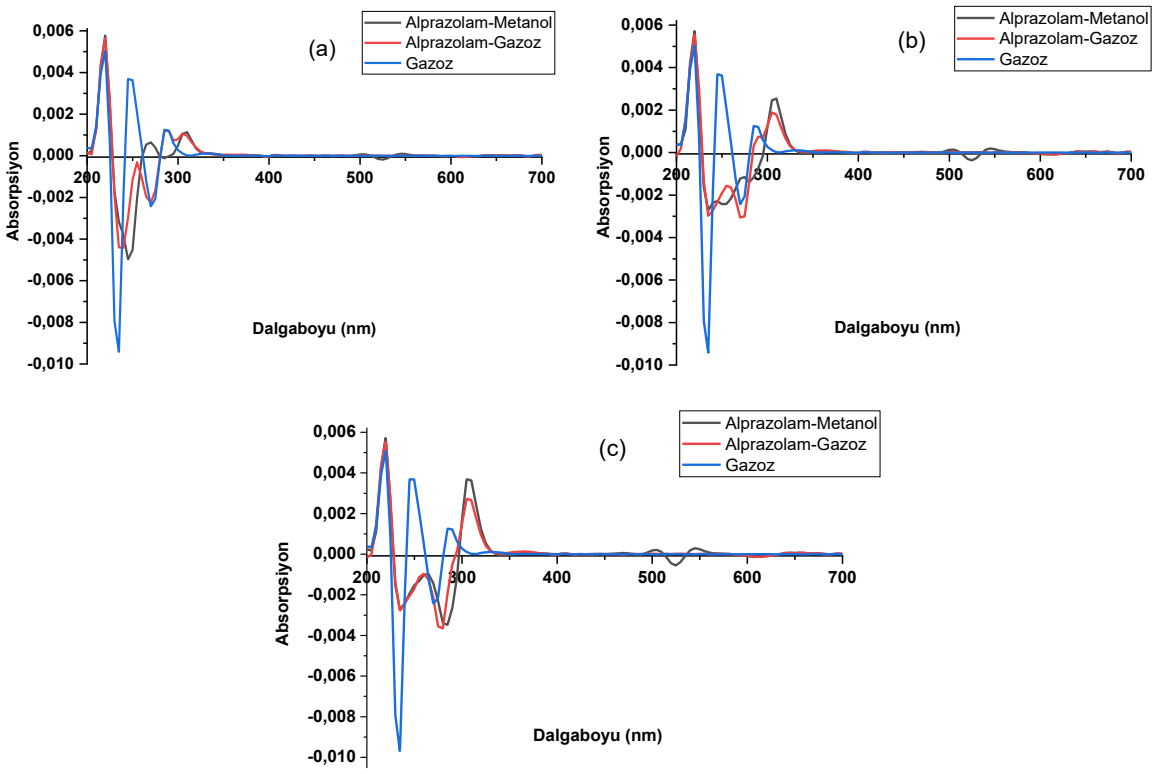
Şekil 22. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Şekil 22'de ALP'nin gazozdaki UV-Gör absorpsiyon spektrumları üç farklı derişimde referans çözelti ile karşılaştırması görülmektedir. ALP tablet-gazoz örneklerinde 210–325 nm arasında yer alan absorpsiyon bant şeklinin ALP tablet referans çözeltinin bant şekline benzediği görülmektedir. Bu görüntü gazozun ALP absorpsiyonuna referans çözelti çözücüsü olan metanolden daha az bozucu etki yaptığı izlenimini doğurmaktadır.



Şekil 23. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 23'de, ALP tabletin referans çözeltisi ile gazoz ortamındaki birinci derece türev absorpsiyon spektrumları üç farklı derişimde karşılaştırmalı olarak görülmektedir. 210–325 nm aralığında her iki ortamda da genel spektral yapının korunduğu, ancak bazı küçük biçimsel farklılıkların ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca sıfırıncı derece spektrumlarda görülen 560–660 nm bölgesindeki bantların, türev spektrumlarda daha belirgin bir şekilde ortaya çıktığı gözlenmektedir.

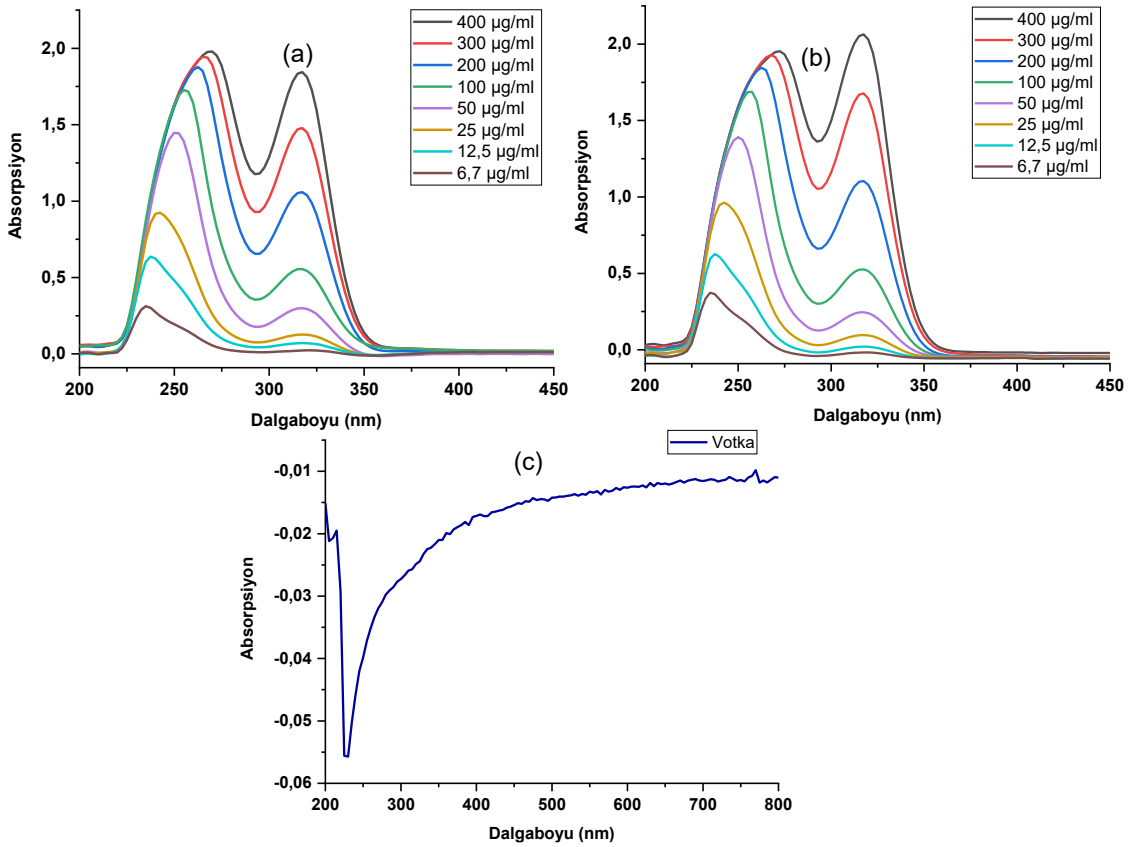


Şekil 24. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 24, ALP tabletin referans çözeltisi ve gazoz içerisindeki ikinci derece türev absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Türev spektrumlarında genel bant yapıları korunmuş olmakla birlikte, 210–325 nm ve 560–700 nm bölgelerindeki bazı spektral farklılıklar daha belirgin hâle gelmiştir. Genel olarak her üç derişim düzeyinde spektral profil korunmuş, gazoz içerisindeki ALP'nin karakteristik bantlarının referans çözelti ile büyük ölçüde örtüştüğü gözlenmiştir.

4.2.6. LORA-Votka UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

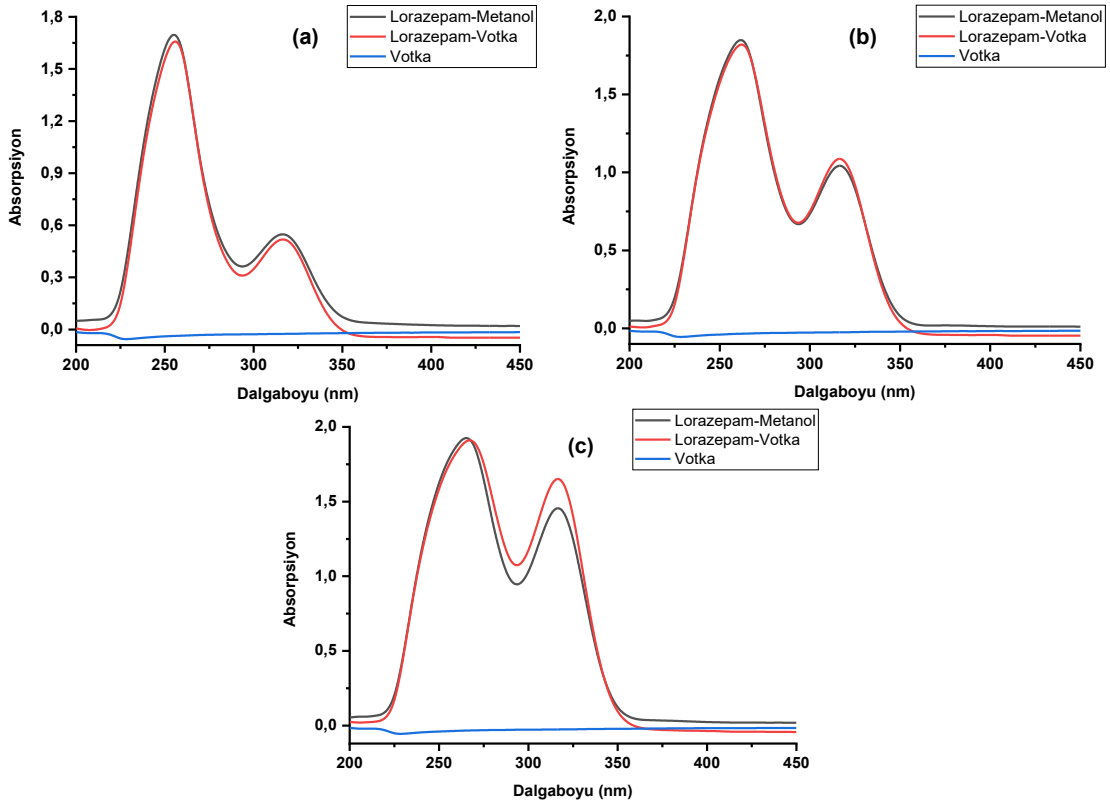
LORA tabletin UV-Gör absorpsiyonu hem referans çözeltide hem de votka içinde farklı derişimlerde incelenmiştir. Şekil 25'te, referans çözelti ile votka ortamında elde edilen LORA absorpsiyon spektrumları ve votkaya özgü spektrum karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir.



Şekil 25. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) votkada farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) votkanın absorpsiyon spektrumu.

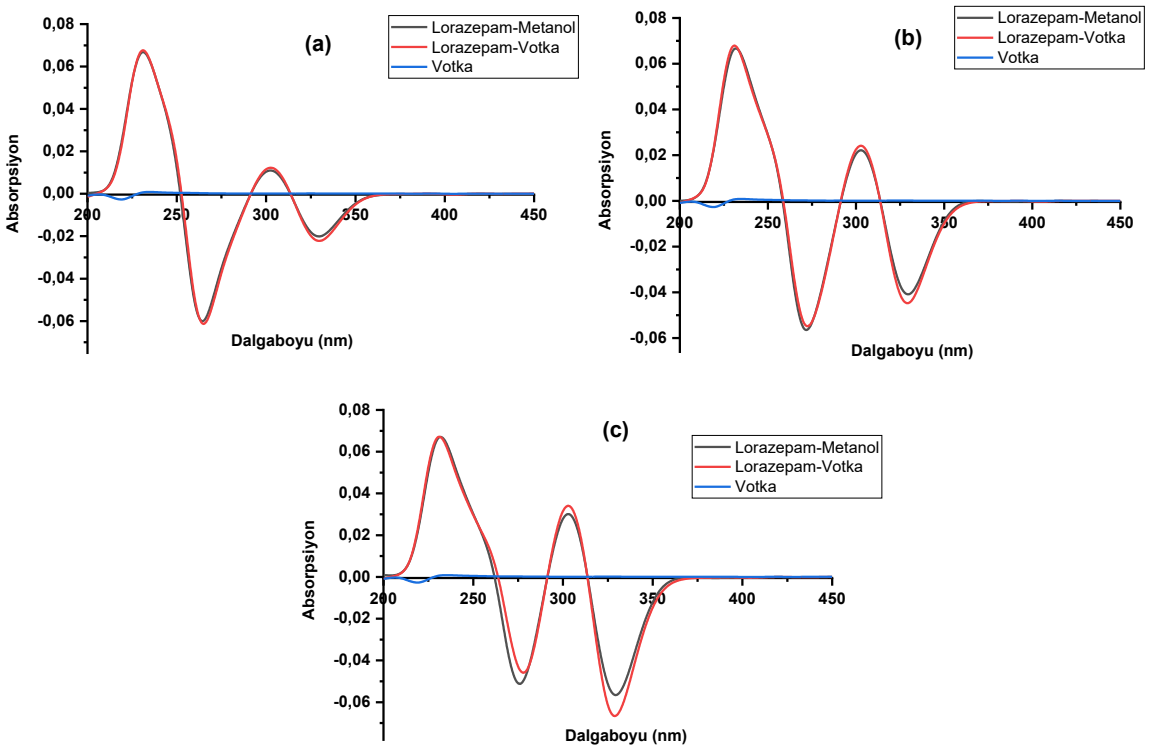
Şekil 25 (a)'da LORA tabletin referans çözeltisinde elde edilen absorpsiyon spektrumları sunulmuştur. Tüm LORA tablet içeren içecek analizlerinde karşılaştırma amacıyla bu referans çözeltisine ait spektrumlar esas alınmıştır. Referans ölçümlerde özellikle 210–400 nm aralığında iki belirgin absorpsiyon bandı gözlenmiş olup, bu bantlar spektral profilleri ve maksimum dalga boyları açısından karakteristik özellikler taşımaktadır. Derişimin artışıyla birlikte, 300 nm'den sonra gözlenen bant şiddetinde 200-300 nm arasında gözlenen banda göre daha yüksek oranda artış olmuştur. Yüksek derişimlerde bant şiddetleri yaklaşık aynı seviyede gözlenmektedir. Şekil 25 (b)'de, aynı tabletin votka içerisindeki absorpsiyon spektrumları yer almakta olup, referans çözelti ile benzer şekilde 210–400 nm aralığında ikili absorpsiyon bandı gözlenmiştir. Bu durum, LORA tabletin votka ortamındaki elektronik geçişlerinin referans çözelti ile benzer özellikler taşıdığını göstermektedir. Şekil 25 (c)'de votkaya ait absorpsiyon spektrumu gösterilmiş olup, bu spektrumda belirgin bir absorpsiyon bandı saptanmamıştır. Elde edilen sinyal genel olarak düşük şiddetli ve negatif bölgede yer almakta, bu nedenle spektral olarak anlamlı bir etki taşımadığı ve daha çok gürültü niteliğinde olduğu düşünülmektedir. Bu durum, votkanın

LORA tabletin UV-Gör absorpsiyon karakteristikleri üzerinde girişim oluşturmadığını göstermektedir.



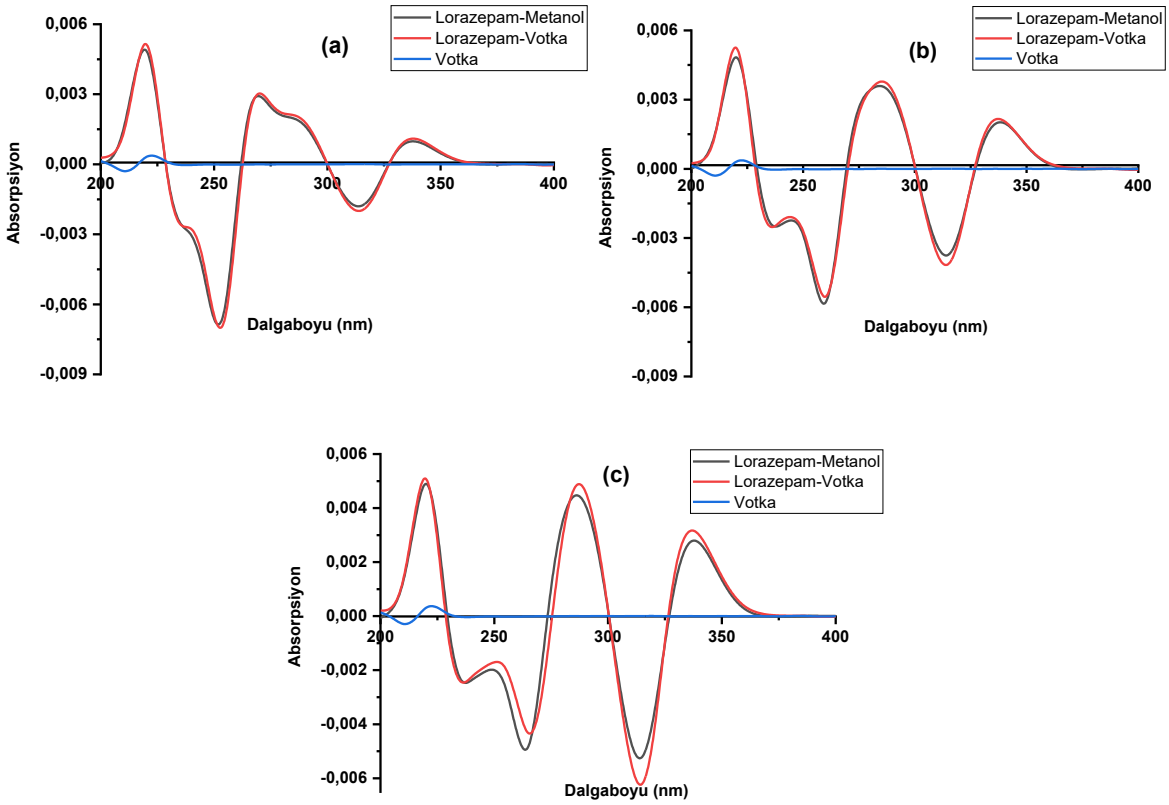
Şekil 26. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin 100, 200 ve 300 µg/mL derişimlerinde referans çözelti ile votka içerisindeki UV-Gör absorpsiyon spektrumları Şekil 26'da karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Her iki çözeltide de 230–400 nm aralığında yer alan karakteristik iki absorpsiyon bandının korunduğu ve spektral şekillerin büyük ölçüde örtüştüğü gözlenmiştir.



Şekil 27. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 27'de referans ve votka ortamında hazırlanan LORA tablet çözeltilerinin birinci derece türev spektrumları yer almaktadır. Bu spektrumlarda genel bant benzerliği korunmuş, votka örnekleri ve referans arasında. Aynı şekilde votkanın LORA absorpsiyonuna anlamlı bir girişim oluşturmadığı gözlenmiştir.



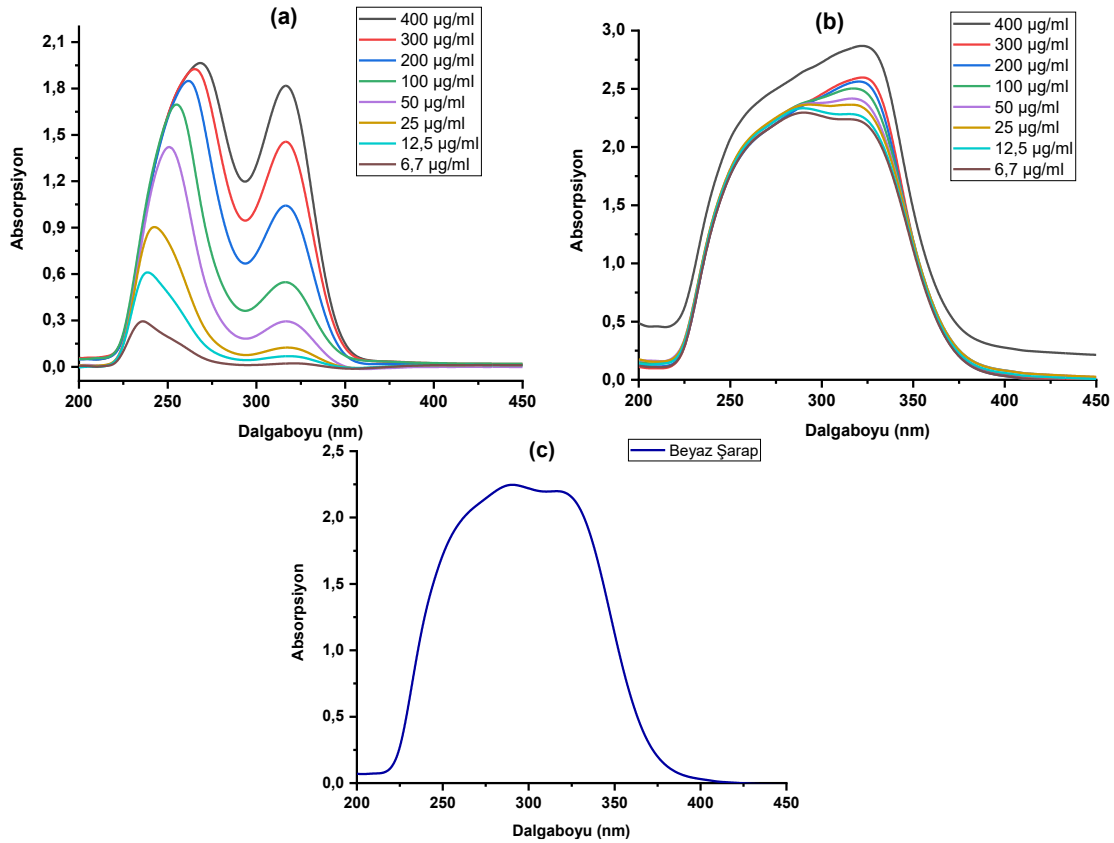
Şekil 28. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin referans çözelti ve votka içerisindeki ikinci derece türev absorpsiyon spektrumları Şekil 28'de gösterilmektedir. Türev spektrumlarda, özellikle 210–400 nm aralığında spektral profil genel olarak korunmuş olup, birinci türev spektrumlarında olduğu gibi örnekler ve referans arasında tam örtüşme gözlenmiştir.

Örneklerin üçüncü ve dördündü dereceden türev spektrumları da incelenmiş ve LORA tayininde kullanılabilecek spesifik bir bant içermediği gözlenmiştir. Tüm içecek örneklerinde üçüncü ve dördüncü dereceden türev spektrumları ekte sunulmuştur (EK-Şekil 13-22).

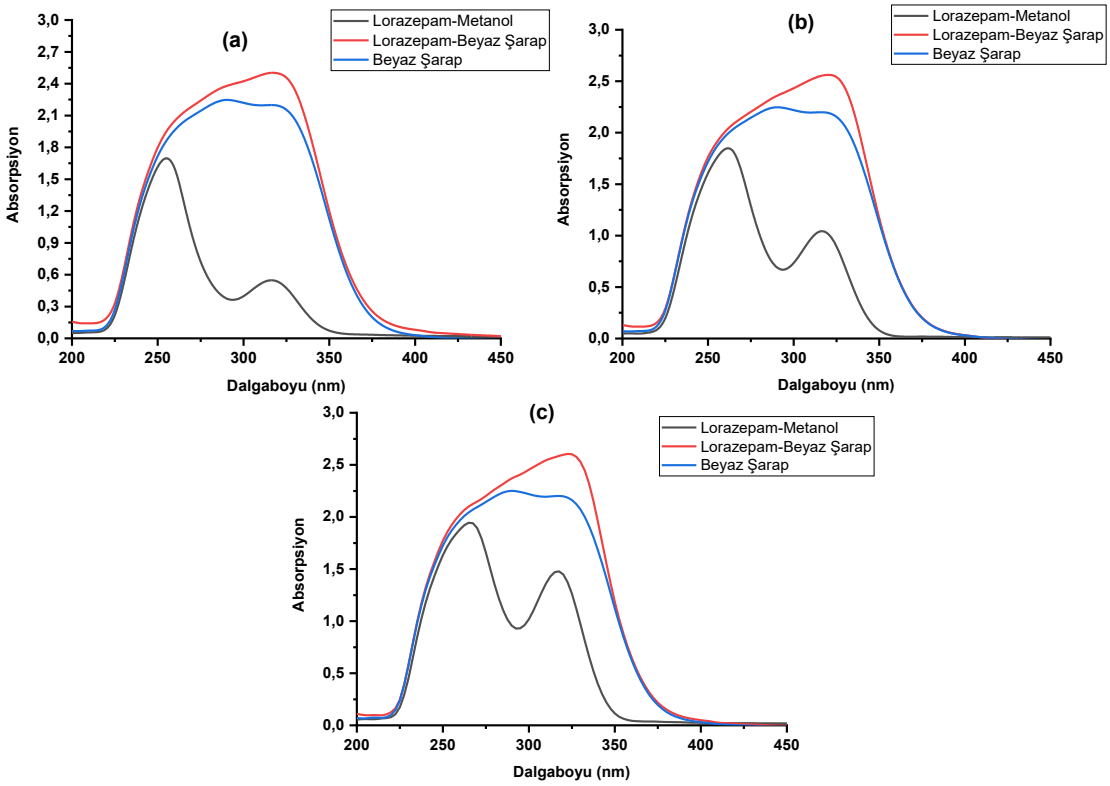
4.2.7. LORA-Beyaz Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

LORA tabletin farklı derişimlerdeki UV-Gör absorpsiyon spektrumları, referans çözeltisi ve beyaz şarap ile karşılaştırmalı olarak Şekil 29'da sunulmuştur.



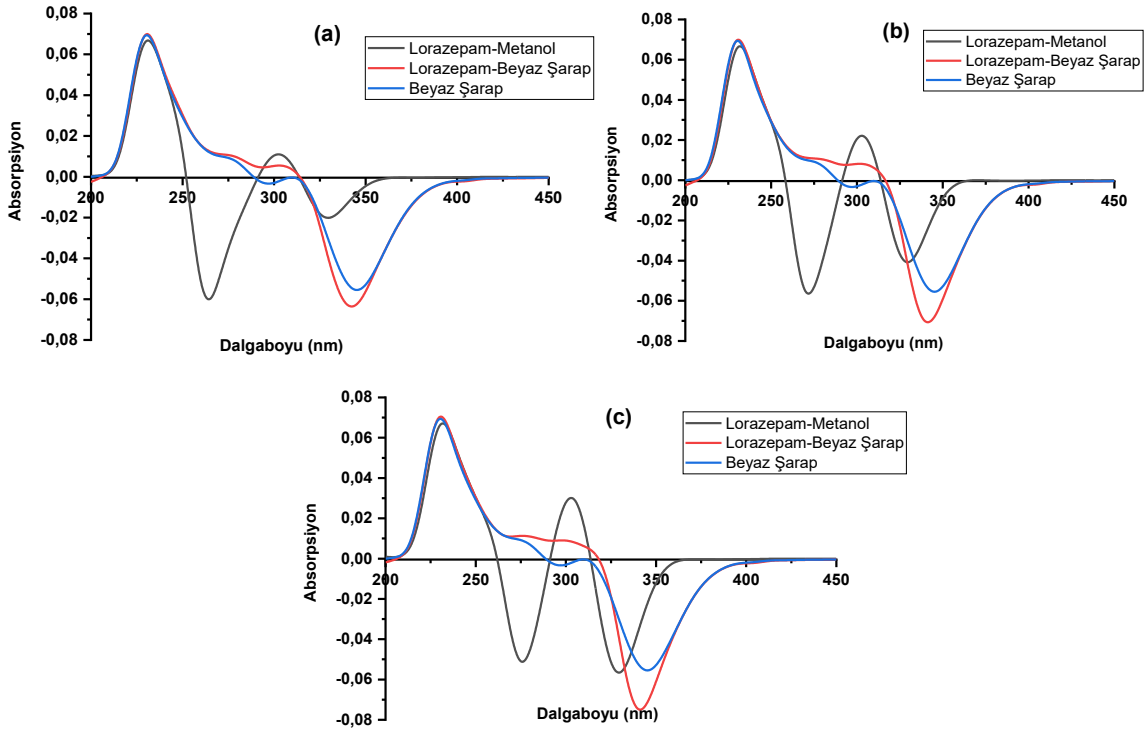
Şekil 29.LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) beyaz şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) beyaz şarabın absorpsiyon spektrumu.

Şekil 29 (a)'da LORA tabletin diğer içecek analizlerinde olduğu gibi referans çözeltisi içerisinde elde edilen absorpsiyon spektrumları yer almaktadır. Şekil 29 (b)'de, beyaz şarap içerisinde farklı derişimlerde hazırlanmış LORA çözeltilerine ait UV-Gör absorpsiyon spektrumları görülmektedir. Bu spektrumlarda 230–400 nm aralığında yer alan ve tüm derişimlerde ortak biçimde izlenen yayvan bir absorpsiyon bandı gözlenmiştir. Beyaz şarabın kendine ait absorpsiyon sinyalinin de bu aralıkta baskın olduğu dikkate alındığında, LORA'ya ait absorpsiyonun beyaz şarap tarafından kapatıldığı ve bu durumun analitik ayrımı engelleyebileceği düşünülmektedir. Şekil 29 (c)'de yalnızca beyaz şaraba ait absorpsiyon spektrumu sunulmuş olup, 210–400 nm aralığında yayvan ve yüksek şiddetli bir bant gözlenmektedir. Bu bölgedeki absorpsiyon hem LORA içeren hem de içermeyen örneklerde ortak olarak izlenmiş ve LORA'ya ait absorpsiyon beyaz şarabın yayvan spektral bandı ile örtüşmüştür.



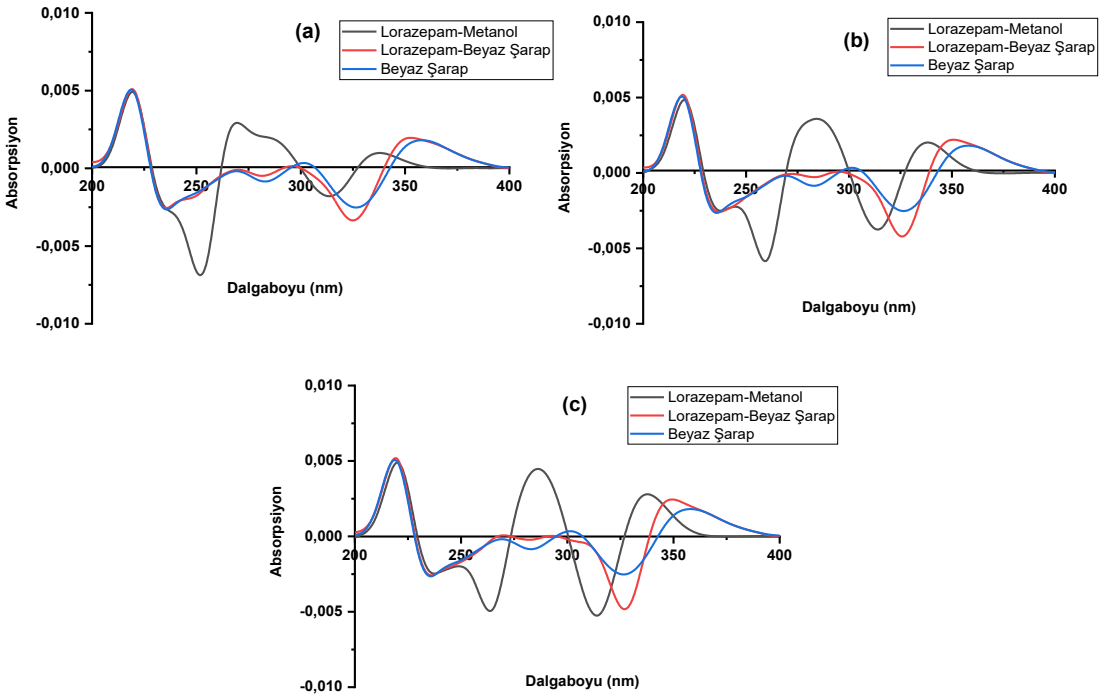
Şekil 30. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarap içerisindeki 3 farklı derişimde UV-Gör absorpsiyon spektrumları Şekil 30'da karşılaştırılmalı olarak görülmektedir. Her iki ortamda da 210–400 nm aralığında geniş ve yayvan bir absorpsiyon bandı izlenmiştir. Ancak beyaz şarap içerisindeki spektrumda bu bandın daha yayvan ve tekli yapıda oluştuğu, bu yönüyle referans çözeltiden belirgin biçimde ayrıştığı gözlenmiştir.



Şekil 31. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 31, LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarap içerisindeki birinci dereceden absorpsiyon türev spektrumlarını göstermektedir. 210–400 nm aralığında, beyaz şaraba ait yayvan absorpsiyon bandı ile LORA tabletin beyaz şarap örneklerindeki spektrumları arasında sınırlı düzeyde bant kaymaları ve şekilsel farklılıklar izlenmiştir. Örnekler ve referans arasında örtüşme tayin niteliğinde bir örtüşme gözlenmemiştir. Ancak gözlenen bu spektral değişimler, analitik düzeyde ayırt edici nitelikte değerlendirilememektedir.

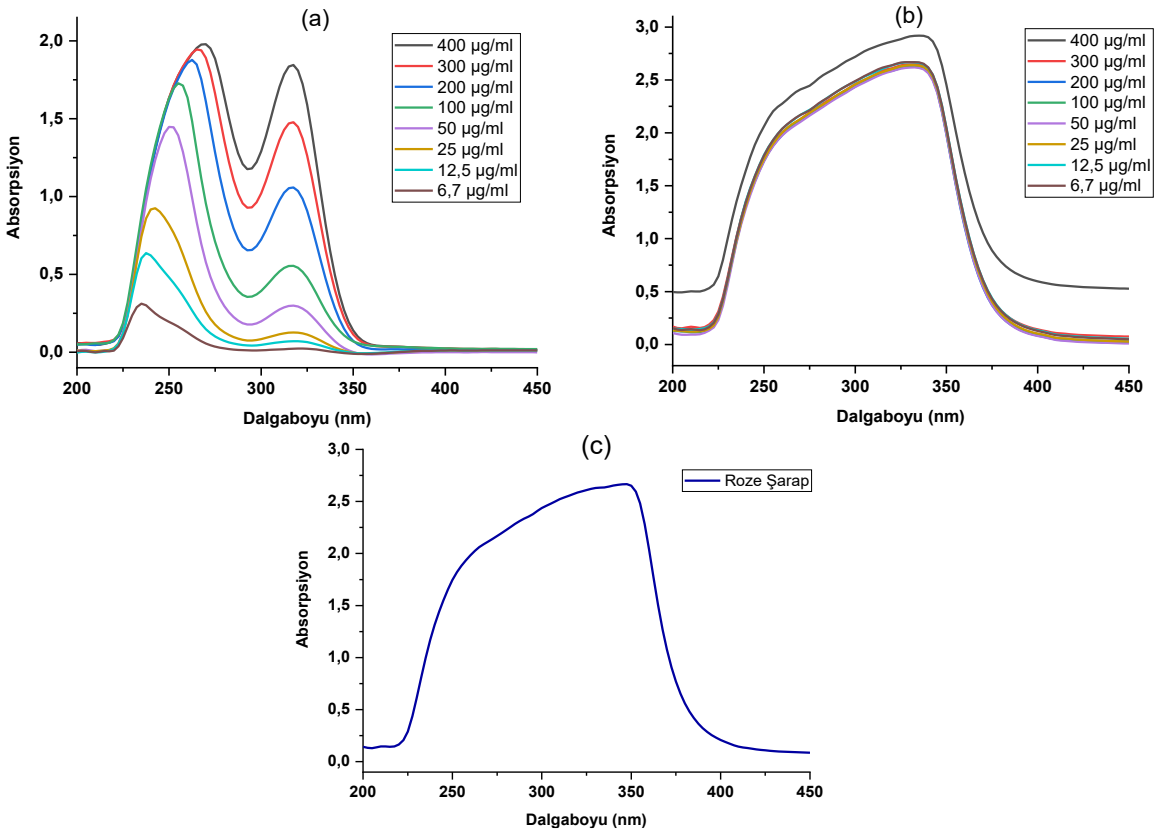


Şekil 32. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarap içerisindeki ikinci derece türev UV-Gör absorpsiyon spektrumları Şekil 32'de gösterilmektedir. Beyaz şarap örnekleri ile LORA içeren beyaz şarap spektrumları arasında belirli bölgelerde spektral örtüşmeler bulunmakta ancak referans ile örtüşme bulunmamaktadır. Bu farklılıklar LORA tabletin tayini açısından yeterli analitik ayrım sağlayamamaktadır.

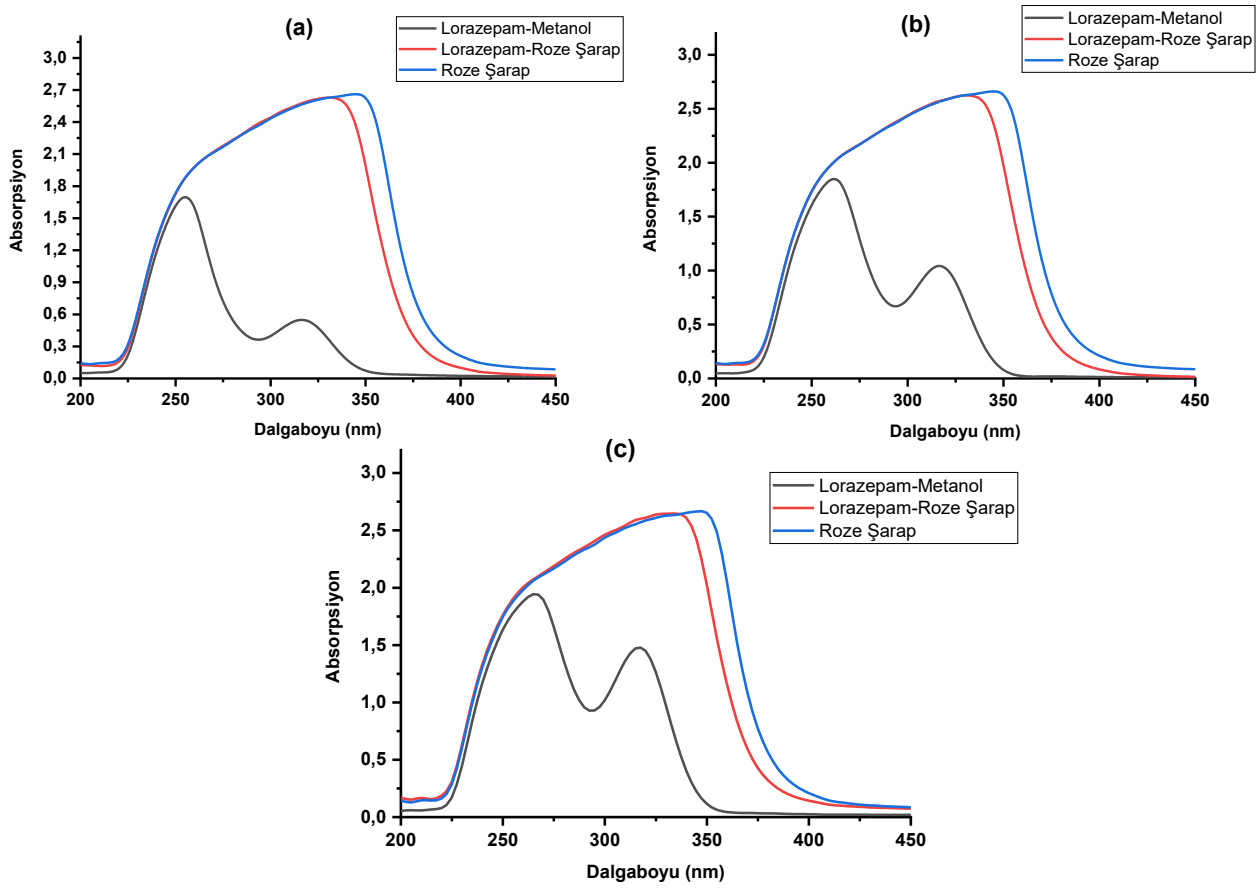
4.2.8. LORA-Roze Şarap UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

LORA tabletin farklı derişimlerdeki UV-Gör absorpsiyon spektrumları, referans çözeltisi ve roze şarap ile karşılaştırmalı olarak Şekil 33'te sunulmuştur.



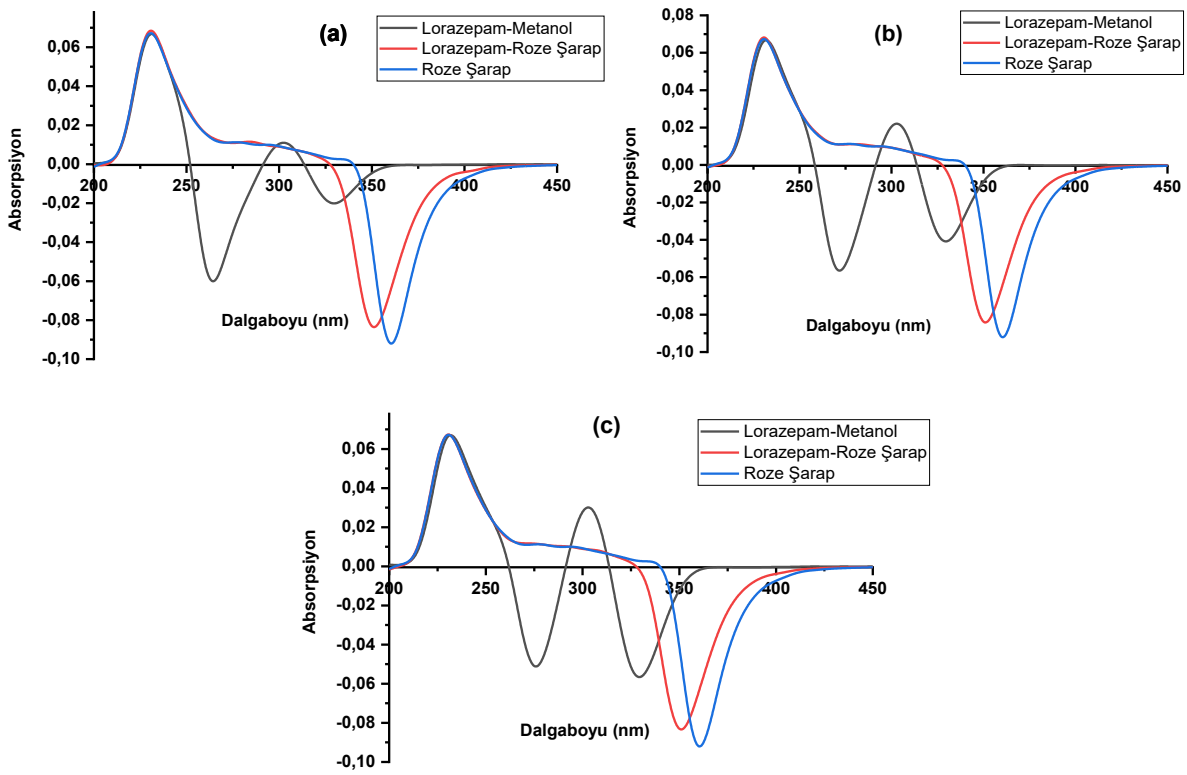
Şekil 33. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) roze şarapta farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) roze şarabın absorpsiyon spektrumu.

Şekil 33 (a)'da, LORA'nın metanol içerisindeki referans çözeltisine ait absorpsiyon spektrumları yer almaktadır. Roze şarapta hazırlanmış LORA tabletin farklı derişimlerdeki çözeltilere ait spektrumları Şekil 33 (b)'de sunulmuştur. Beyaz şarap örneğinde olduğu gibi roze şarapta da yayvan absorpsiyon bantları gözlenmiştir. Aynı spektral aralıkta roze şarabın da absorpsiyon verdiği göz önünde bulundurulduğunda, LORA'nın absorpsiyon bandının roze şarabın absorpsiyon bandı ile çakışabileceği ve bunun analitik ayrımı engelleyeceği değerlendirilmektedir. Şekil 33 (c)'de yalnızca roze şaraba ait spektrum yer almakta olup, 210–400 nm aralığında güçlü ve yayvan bir bant gözlemlenmiştir.



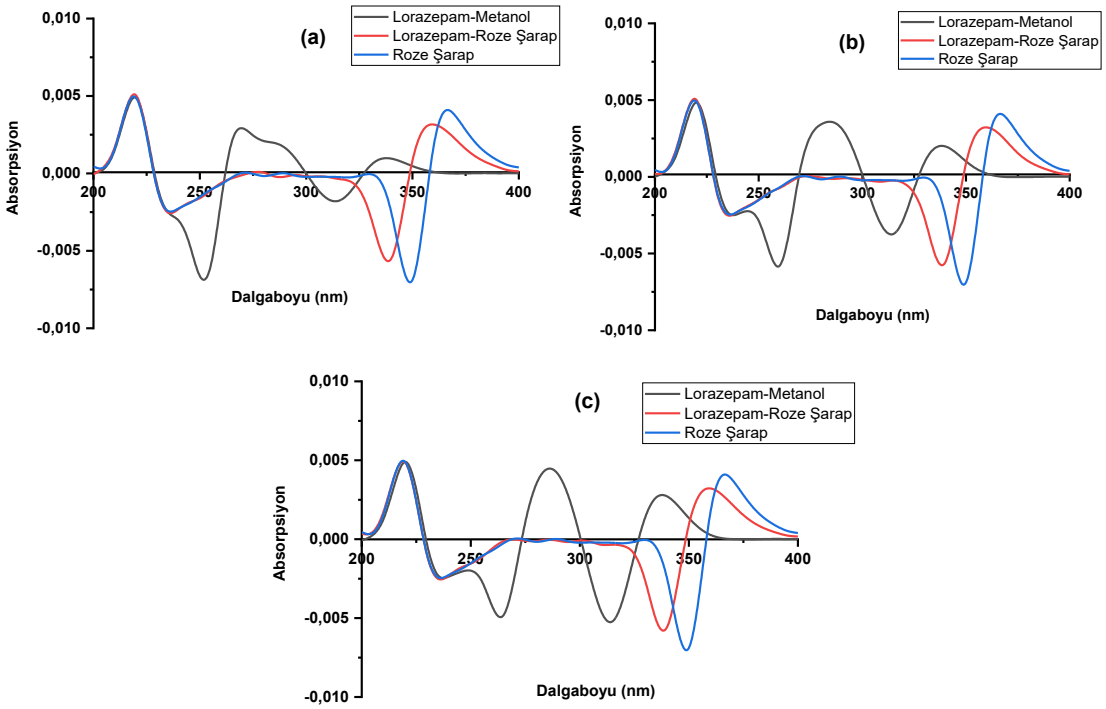
Şekil 34. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Şekil 34, LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarap içerisindeki UV-Gör absorpsiyon spektrumlarını karşılaştırmalı olarak göstermektedir. Her iki çözeltide de 210–400 nm aralığında geniş ve yayvan bir absorpsiyon bandı izlenmiştir. Beyaz şarap örneğinde olduğu gibi roze şarap ortamında gözlenen spektrumda şarap absorpsiyonu LORA'nın absorpsiyon bandını kapatmıştır.



Şekil 35. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarap içerisindeki birinci derece türev absorpsiyon spektrumları Şekil 35'te karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. 210–400 nm aralığında, roze şaraba ait yayvan bant ile LORA içeren roze şarap spektrumları arasında hafif bant kaymaları ve sınırlı biçimsel değişiklikler gözlenmiştir. Ancak bu varyasyonlar analitik ayrım için yeterli düzeyde değildir.

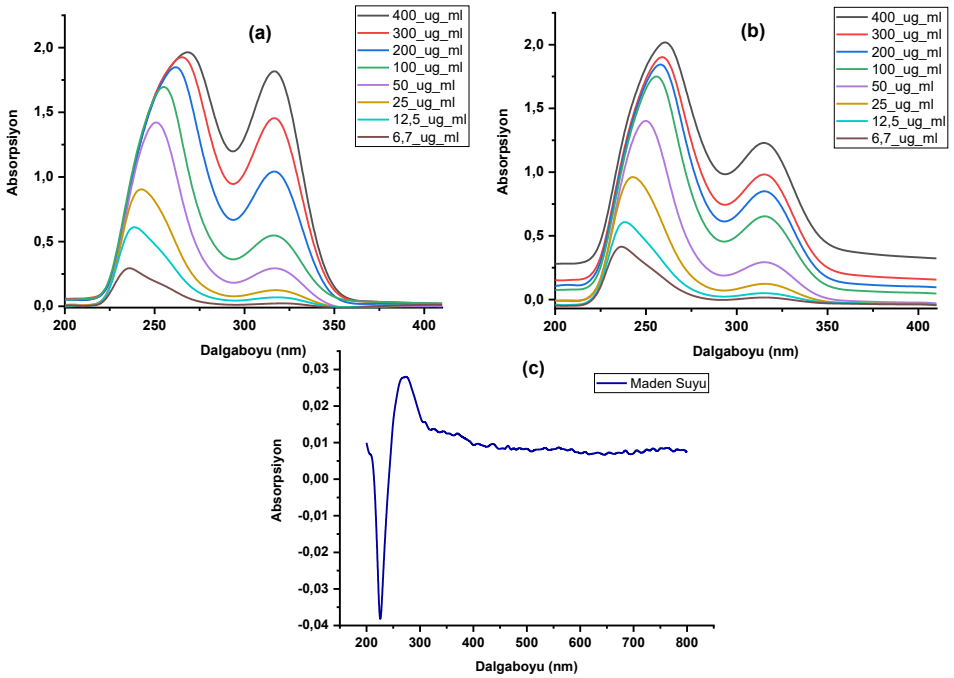


Şekil 36. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 36'da, LORA tabletin referans çözeltisi ile roze şarap içerisindeki ikinci dereceden absorpsiyon türev spektrumları görülmektedir. Birinci türevde de belirtildiği gibi 210–400 nm aralığında, roze şarap ve LORA içeren roze şarap örnekleri arasında belirli bölgelerde sınırlı bant kaymaları ve spektral farklılıklar izlenmiştir ve bu değişimlerin LORA'nın analitik tayini için yeterli ayırt ediciliğe sahip olmadığı düşünülmüştür.

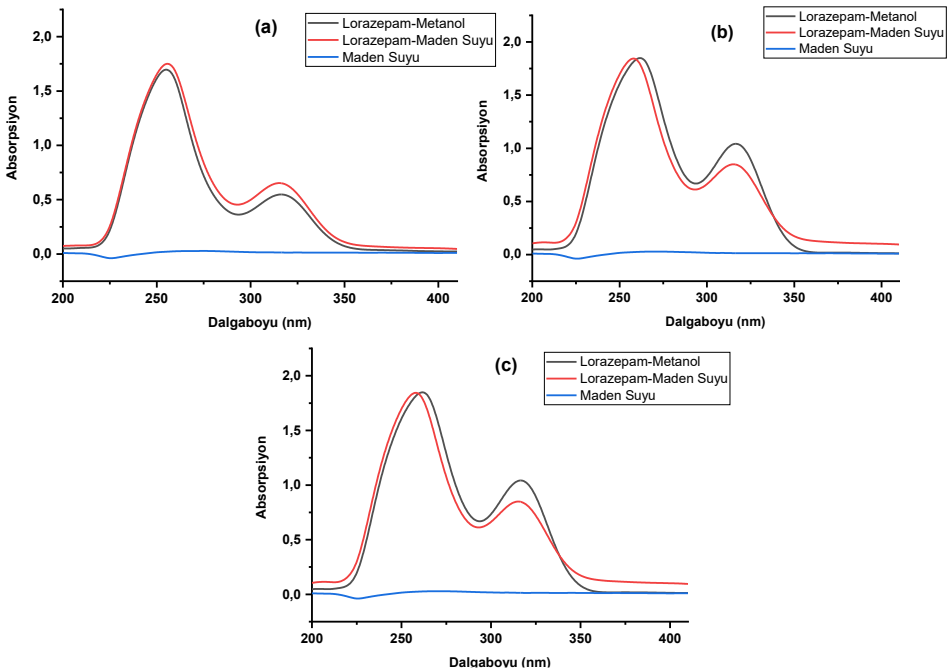
4.2.9. LORA-Maden Suyu UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

LORA tabletin farklı derişimlerdeki UV-Gör absorpsiyon spektrumları, referans çözeltisi ve maden suyu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 37'de sunulmuştur.



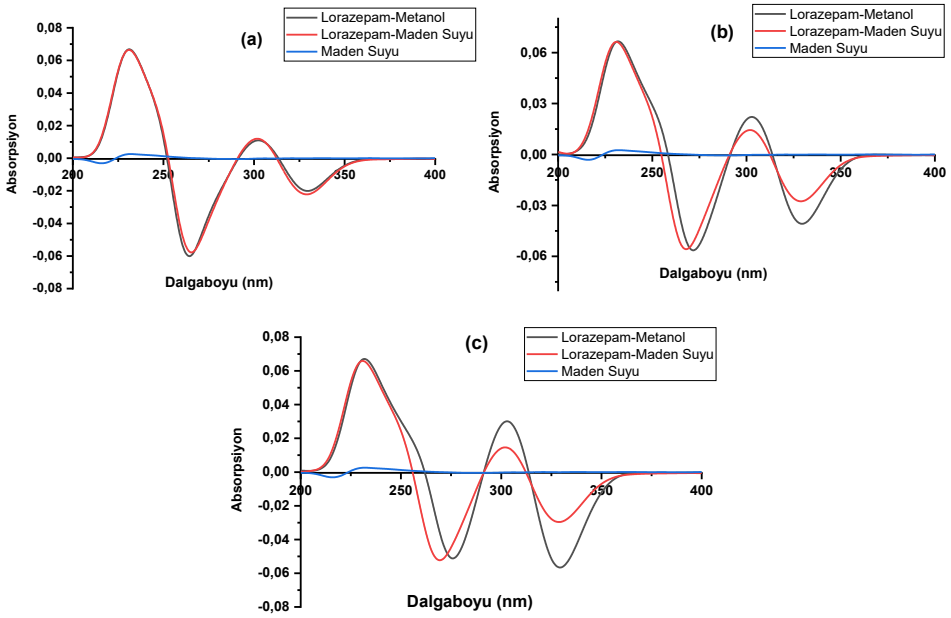
Şekil 37. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) maden suyunda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) maden suyunun absorpsiyon spektrumu.

Şekil 37 (a)'da LORA tabletin diğer içecek analizlerinde olduğu gibi referans çözeltisi içerisinde elde edilen absorpsiyon spektrumları yer almaktadır. Şekil 37 (b)'de, LORA tabletin maden suyu içerisindeki spektrumları verilmiştir. Bu spektrumlarda da benzer şekilde 210–400 nm aralığında ikili absorpsiyon bandı oluşmuştur. İkili banttan 280-350 nm aralığındaki bant görünümü referans çözeltiye göre düşük şiddette olsa da aynı spektral bölgede ve aynı şekilsel yapıya sahiptir. Referans çözeltisiyle gösterdiği bu benzerlik, LORA'nın maden suyu ortamındaki spektral davranışının önemli ölçüde değişmediğini göstermektedir. Şekil 37 (c)'de yalnızca maden suyuna ait spektrum yer almakta olup, bu spektrumda düşük şiddetli ve çoğunlukla negatif bölgede yer alan bir sinyal görülmektedir. Bu sinyalin spektral olarak anlamlı bir absorpsiyon içermediği düşünülmektedir. Bu durum, maden suyunun LORA'nın UV-Gör analizinde girişim oluşturmadığını göstermektedir.



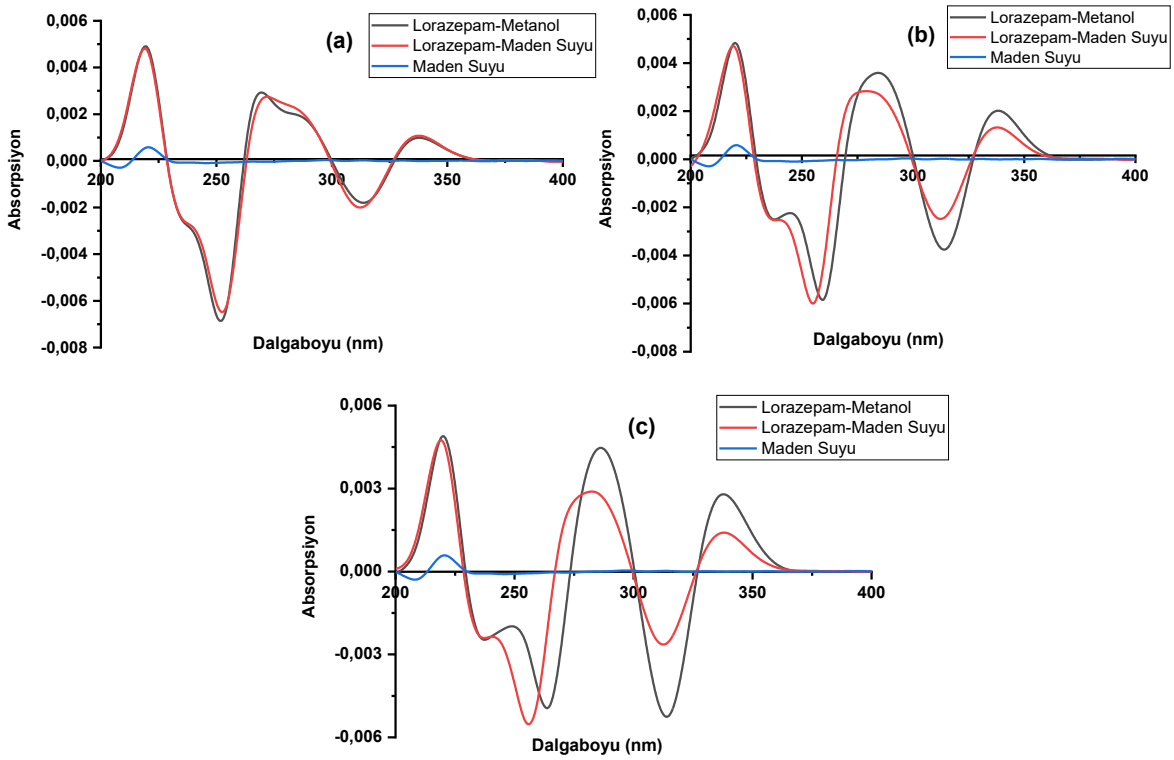
Şekil 38. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Şekil 38'de LORA tabletin 100, 200 ve 300 µg/mL derişimlerinde, referans çözeltisi ile maden suyu içerisindeki UV-Gör absorpsiyon spektrumları karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Her iki çözeltide de 230–400 nm aralığında karakteristik çiftli absorpsiyon bandının korunduğu gözlenmiştir. Özellikle 300 µg/mL'lik derişimde, maden suyu içerisindeki spektrumun, referans çözeltiye kıyasla absorpsiyon şiddetinde bir miktar azalma gösterdiği, ancak spektral profilin genel hatlarıyla aynı kaldığı gözlenmiştir. Daha düşük derişimlerde ise her iki çözeltideki bant yapıları örtüşmektedir. Maden suyuna ait spektrumun ise 230–400 nm aralığında belirgin bir absorpsiyon içermediği görülmektedir. Bu durum, maden suyunun LORA tabletin UV-Gör absorpsiyon özellikleri üzerinde belirgin bir spektral girişime neden olmadığını göstermekte ve analitik tayin açıdan örneklerin tayin edilebileceğini göstermektedir.



Şekil 39. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyu içerisindeki birinci derece türev UV-Gör spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 39'da verilmiştir. Türev spektrumları ile tüm derişimlerde referans çözeltisi ile maden suyu içerisindeki spektral benzerliğin devam ettiği ve örtüşen bant yapılarının daha ayırt edilebilir hâle geldiği gözlenmiştir.

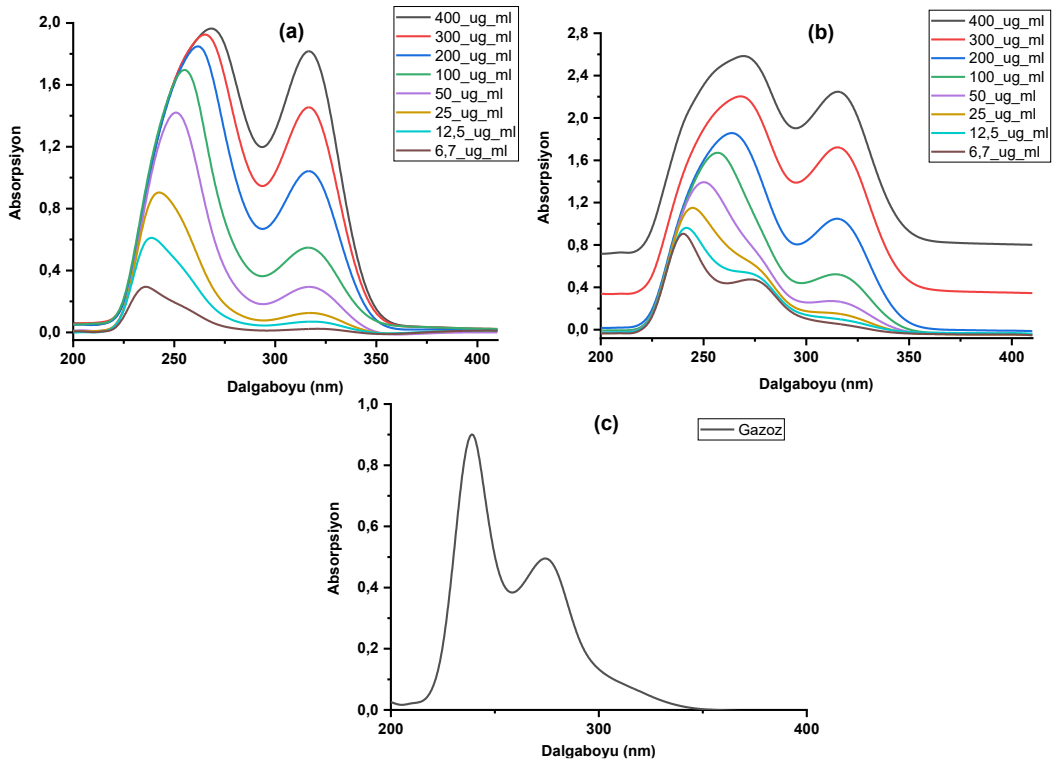


Şekil 40. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

Şekil 40'ta LORA tabletin maden suyu ve referans çözeltisi içerisindeki ikinci dereceden absorpsiyon türev spektrumları sunulmuştur. Spektral bant yapılarının incelenmesi sonucunda, tüm derişimlerde maden suyu ortamındaki spektrumların referans çözelti ile genel anlamda benzerlik gösterdiği gözlenmiştir. Artan derişimle birlikte örnek çözelti ile referansın bantları arasında dalga boyu kaymalarının oluştuğu gözlenmiştir.

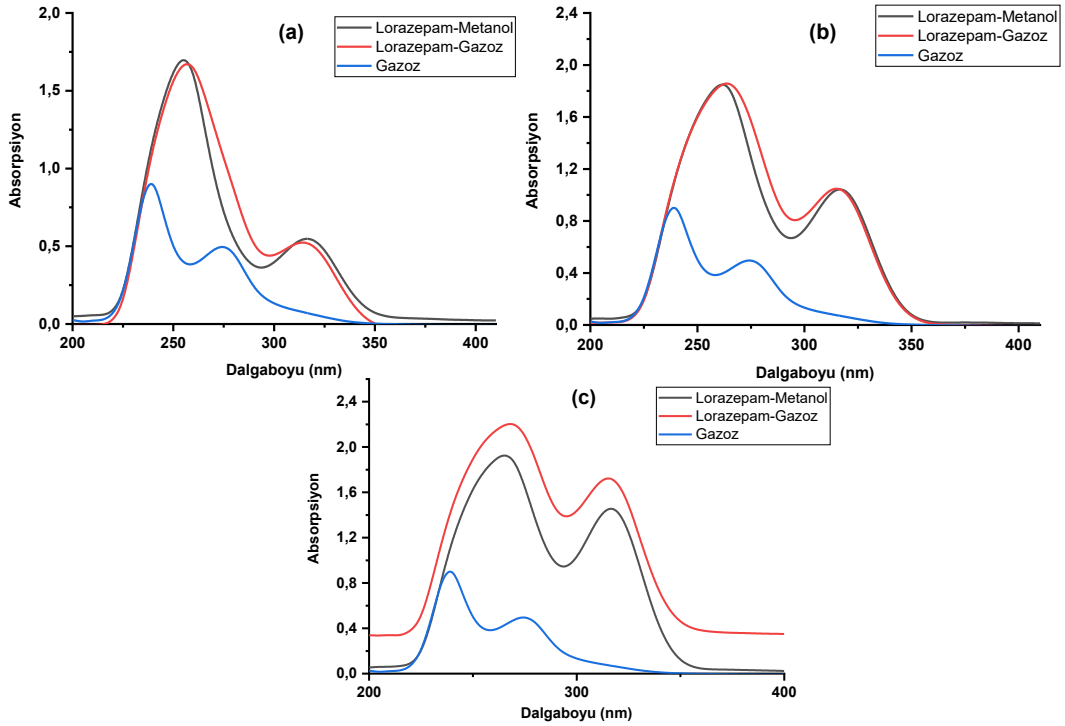
4.2.10. LORA-Gazoz UV-Gör Absorpsiyon Ölçümleri

Şekil 41'de LORA tabletin gazoz ve referans çözeltisi ortamındaki ikinci derece türev UV-Gör spektrumları karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Elde edilen spektrumlarda, tüm derişimlerde gazoz örneklerinin referans ile spektral benzerlik gösterdiği izlenmiştir.



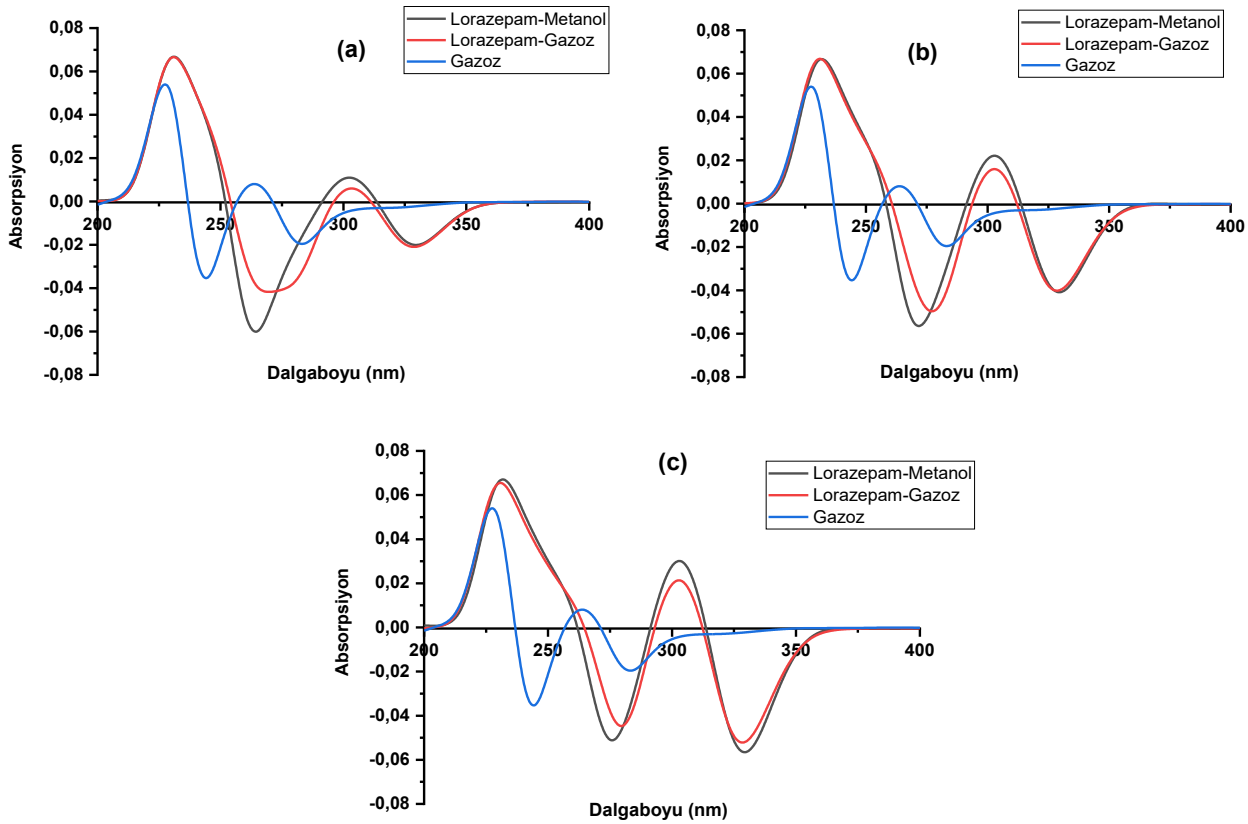
Şekil 41. LORA tabletin (a) referans çözeltisinde farklı derişimlerde; (b) gazozda farklı derişimlerdeki absorpsiyon spektrumları ve (c) gazozun absorpsiyon spektrumu.

Şekil 41(a)'da referans çözeltisinde elde edilen ve karakteristik çift bant yapısı sergileyen absorpsiyon spektrumları yer almaktadır. Şekil 41(b)'de, LORA tablet-gazoz örneklerinin spektrumları görülmektedir. Bu spektrumlarda da 210–400 nm aralığında iki belirgin absorpsiyon bandı gözlenmiş, özellikle 280–350 nm bölgesinde yer alan bant şekilsel açıdan referans çözeltiyle benzerlik göstermiştir. Şekil 41(c)'de yalnızca gazoz örneğine ait spektrum sunulmakta olup ikili bant yapısı gözlenmiştir.



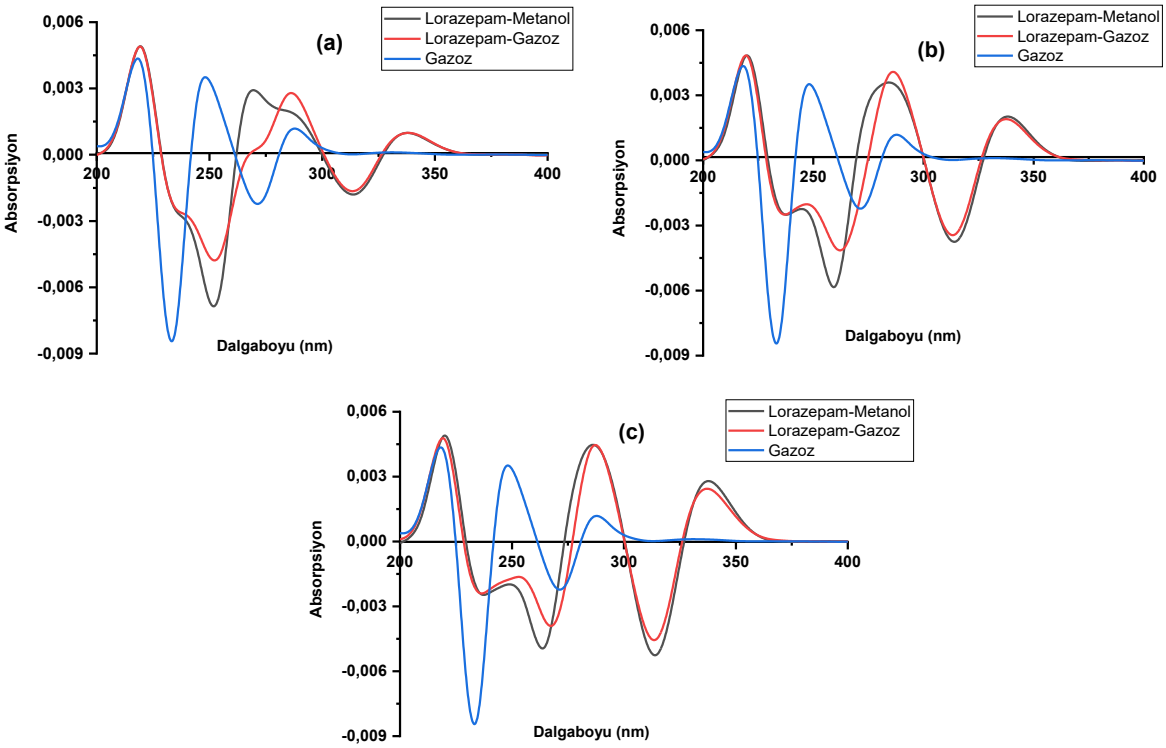
Şekil 42. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki absorpsiyon spektrumları.

Şekil 42'de sunulan spektrumlar, LORA tabletin farklı derişimlerdeki absorpsiyon davranışını referans çözeltisi ve gazoz ortamında karşılaştırmalı olarak göstermektedir. LORA tablet- gazoz spektrumları, özellikle 280–350 nm aralığında referans çözeltide gözlenen karakteristik bantlarla büyük ölçüde örtüşmektedir. Aynı bölgede gazozun da absorpsiyonu bulunmakla beraber daha düşük şiddette olduğundan LORA absorpsiyonunu domine etmemiştir. Ancak örneklerde ölçülen absorpsiyon değerinin gazoz ve LORA absorpsiyonunun toplamına eşit olduğunu göz önünde bulundurmak önemlidir.



Şekil 43. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki birinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

LORA tabletin 100, 200 ve 300 µg/mL derişimlerinde gazoz içerisindeki birinci dereceden absorpsiyon türev spektrumları, referans çözeltisi ile karşılaştırmalı olarak Şekil 43'te verilmiştir. Her üç derişimde de gazoz ortamında elde edilen türev spektrumlar ile referans spektrumlar arasında belirgin spektral benzerlik gözlenmiştir. Özellikle 280–350 nm aralığında türev pik konumlarının korunmuş olması, LORA'nın gazoz içindeki spektral karakteristiğini büyük ölçüde yansıttığını göstermektedir. Gazozun kendi türev spektrumu ise referanstan ve örneklerden belirgin farklılaşma göstermiştir.



Şekil 44. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki ikinci dereceden türev absorpsiyon spektrumları.

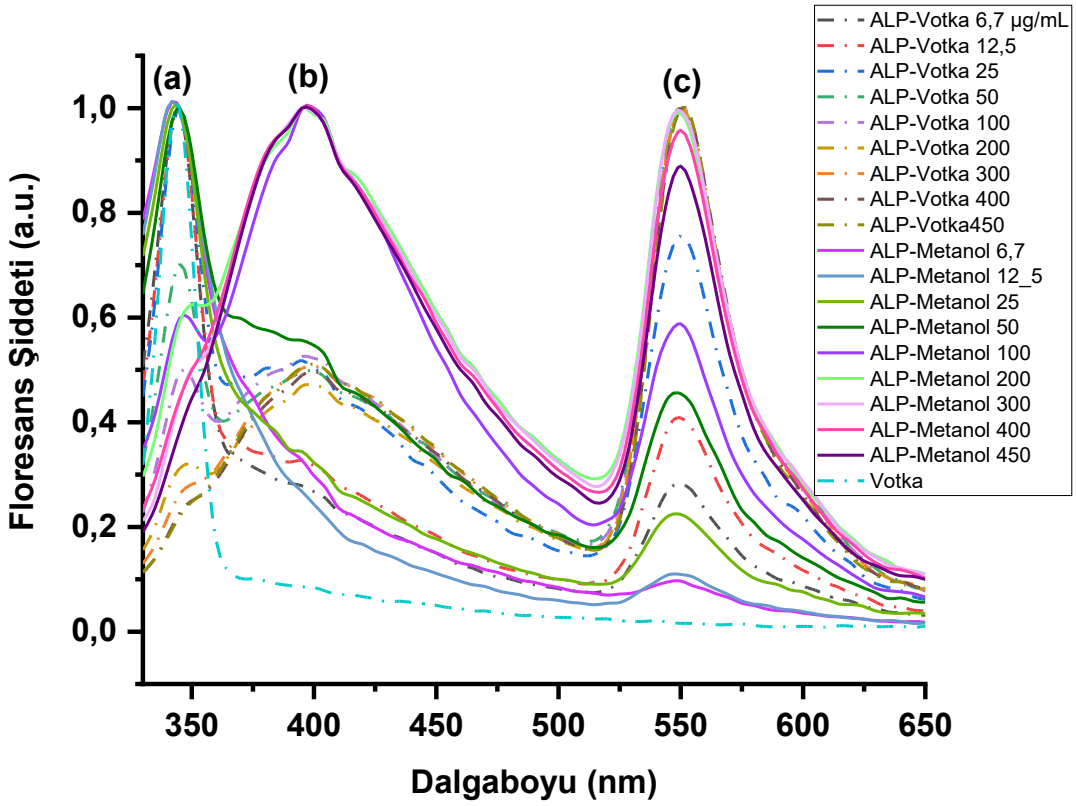
Şekil 44'te LORA tabletin gazoz ve referans çözelti ortamlarındaki ikinci dereceden absorpsiyon türev spektrumlarını karşılaştırmalı şekilde verilmiştir. Gazoz içerisindeki spektrumların genel şekil ve bant dağılımı itibarıyla referans çözeltiyle benzerlik gösterdiği gözlenmiştir. Bu bağlamda ikinci türev analizi, düşük şiddetli sinyallerin ayırt edilmesini kolaylaştırmıştır. Gazoz örneklerinde hem birinci hem ikinci türev spektrumlarının LORA tayininde kullanılabileceği görülmektedir.

4.3. Floresans Spektroskopisi Sonuçları

Floresans emisyon spektroskopisi UV- Görünür bölgede madde tayinleri ve madde etkileşimleri incelemelerinde yaygın kullanılan bir spektroskopi yöntemidir. Bu çalışmada UV-Gör absorpsiyon spektroskopisiyle birlikte benzodiazepinlerin farklı içecek ortamlarında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Aynı zamanda floresans emisyon spektrumlarının türev spektrumlarının da madde tayinlerinde kullanılabilme olasılığı araştırılmıştır.

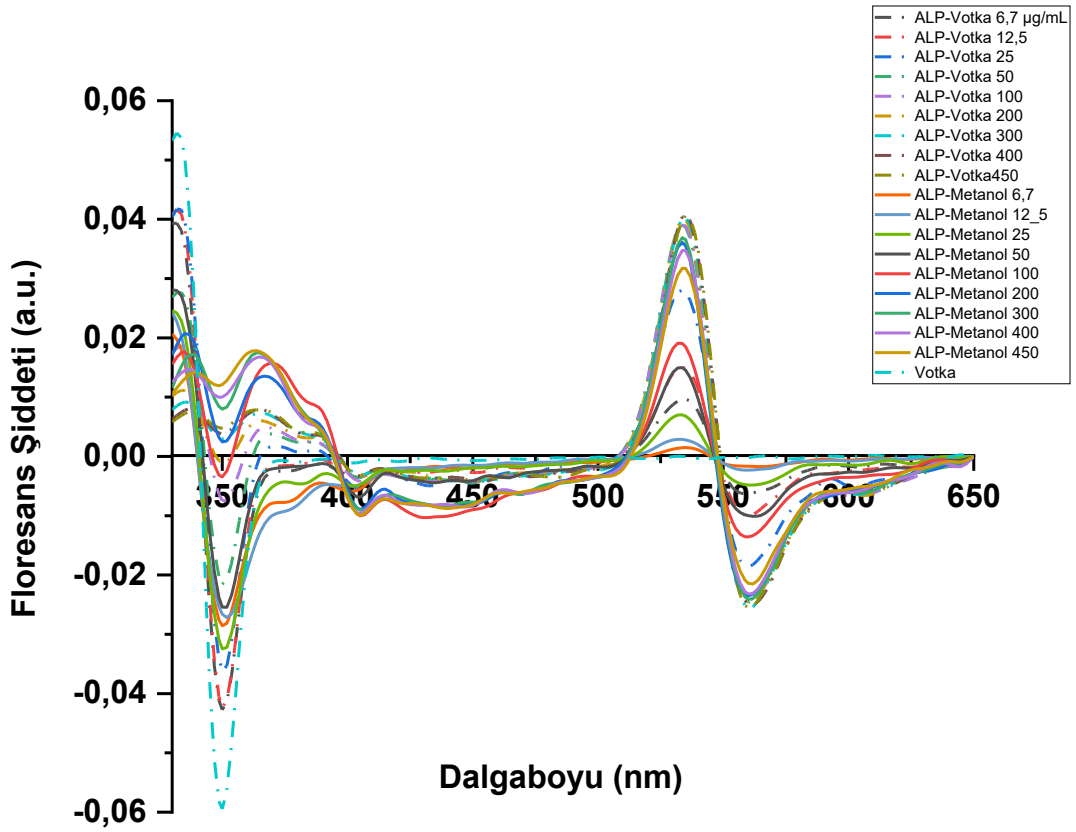
4.3.1 ALP-Votka Floresans Spektroskopisi Sonuçları

ALP tabletin votka içerisinde farklı derişimlerde alınan floresans emisyon ölçümleri ALP tabletin referans çözeltisinde aynı derişimdeki floresans emisyon ölçümleri ile karşılaştırılmıştır. Şekil 45'te hem referans çözelti floresans emisyonları hem de votka içerisindeki floresans emisyonları görülmektedir. Floresans emisyon karakteristiklerine baktığımızda votkanın yaklaşık 350 nm emisyon maksimumu olan tek bantlı bir emisyonu görülmektedir. ALP tabletin ise derişimine bağlı olarak floresans emisyon spektrumunda farklılık görülmektedir. Şekil 45'te (c) olarak adlandırılan emisyon bandı tüm derişimlerde ortak olmakla birlikte ALP tablet düşük derişimlerde, yaklaşık 25 µg/mL'ye kadar, (a) ve (c) bantlarının olduğu bölgede, 25 µg/mL'den yüksek derişimlerde ise (b) ve (c) bantlarının bulunduğu bölgelerde iki banttan oluşan emisyon bandına sahiptir. Votka içerisinde hazırlanmış örneklerin emisyon spektrumları incelendiğinde referans çözelti emisyon spektrumları ile aynı karakteristiğe sahip oldukları görülmektedir.

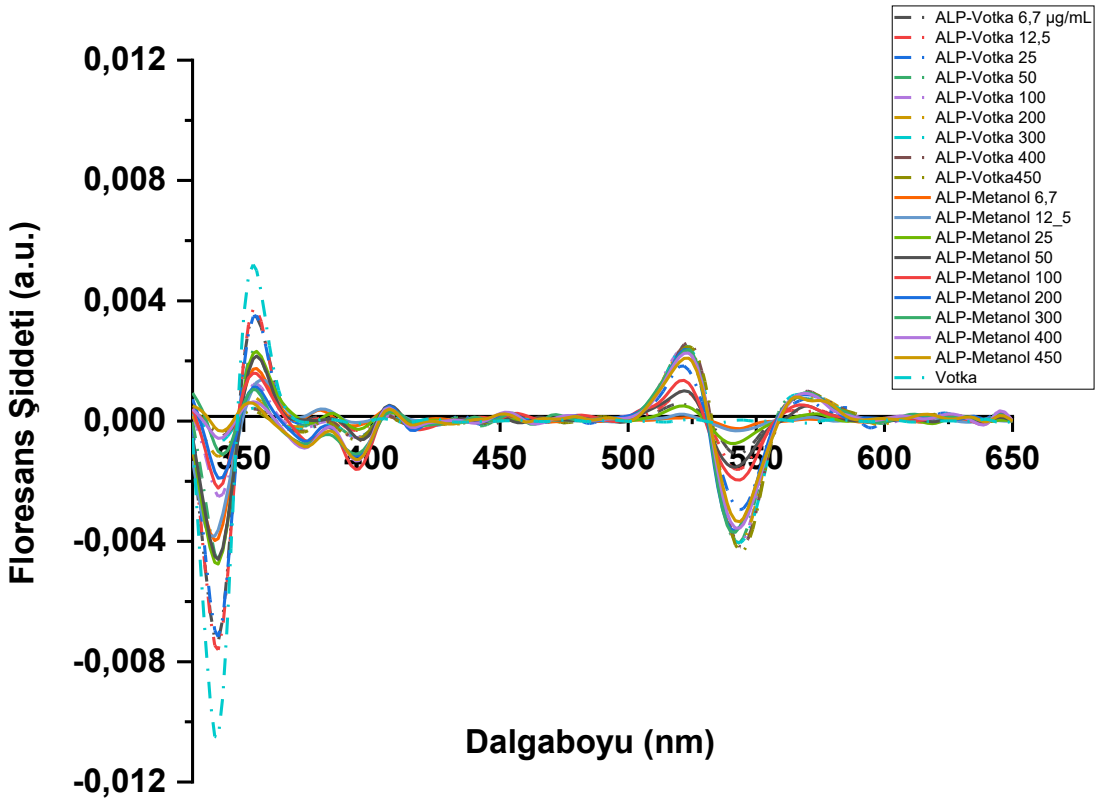


Şekil 45. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

Şekil 46, 47, 48 ve 49'da ALP tabletin farklı derişimlerde votkada ve referans çözeltide birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü dereceden floresans türev spektrumları görülmektedir. Türev spektrumları incelendiğinde votkanın kendisinin 375 nm'ye kadar bandı olduğu, bu değerden sonra bandı bulunmadığı görülmektedir. ALP tablet-votka örnekleri ile referans ölçümleri kıyaslandığında aynı derişimlerde aynı karakteristik davranışı gösterdiği görülmektedir. Birinci dereceden türev spektrumlarına baktığımızda 450 nm'ye kadar olan kısım uyumlu olmakla birlikte daha karmaşık bir görümdedir. 500-650 nm arasında görülen bantlar incelendiğinde hem örneklerde hem referans çözeltilerde derişim artışı ile şiddet artışı gösterdikleri, şekilsel olarak tüm derişimlerde tam uyum sağladıkları görülmektedir.

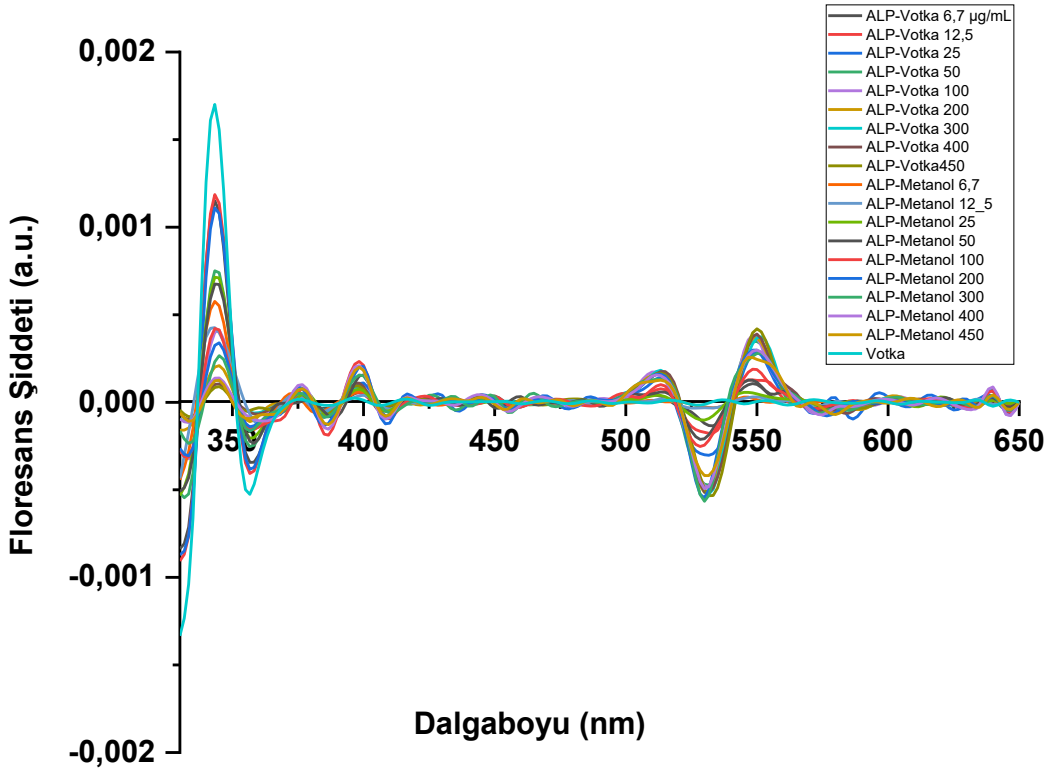


Şekil 46. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden floresans türev spektrumu.



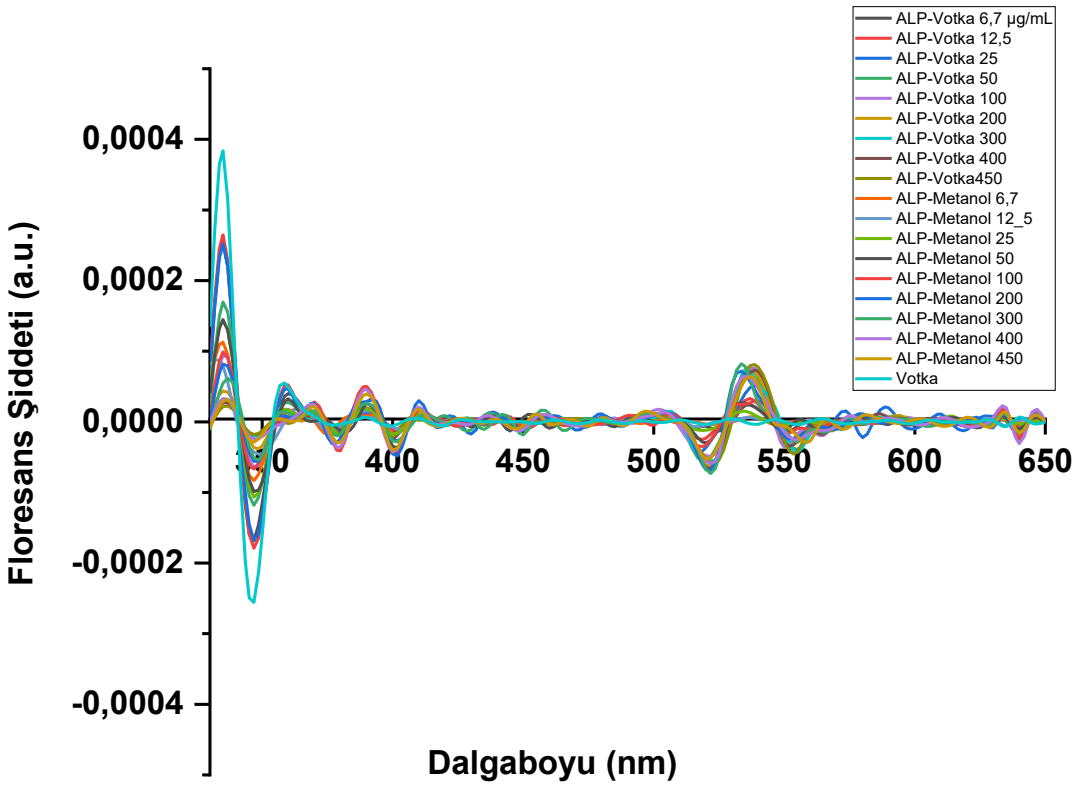
Şekil 47. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci türev floresans spektrumu.

İkinci dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde votkada aynı bant yapısı olduğu görülmektedir. ALP tablet-votka örnekleri ve referans ölçümlerine baktığımızda derişimden bağımsız olarak bantlarda tam örtüşme olduğu söylenebilir.



Şekil 48.ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden floresans türev spektrumu.

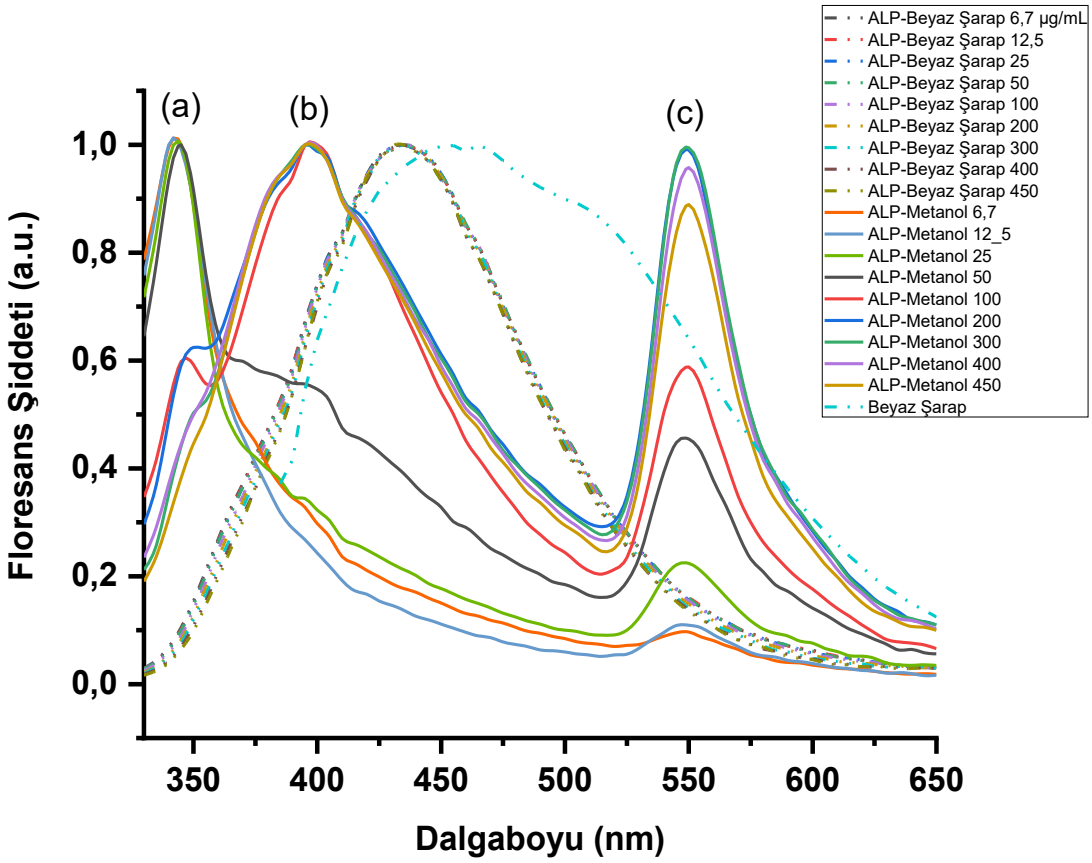
Şekil 48 ve 49'da görülen üçüncü ve dördüncü dereceden türev spektrumları incelendiğinde örnekler ve referans ölçümleri arasında bantlarda tam örtüşme görülmekle birlikte dördüncü dereceden türev spektrumlarında bant şiddetlerinde analitik değerlendirmeyi zorlaştıracak derecede azalma olduğu görülmektedir. Bu nedenle, ALP'nin diğer içki örnekleriyle yapılan çalışmalara ilişkin dördüncü türev spektrumları yalnızca Ek bölümünde verilmiştir (Ek-Şekil 23-26).



Şekil 49. ALP tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden floresans türev spektrumu.

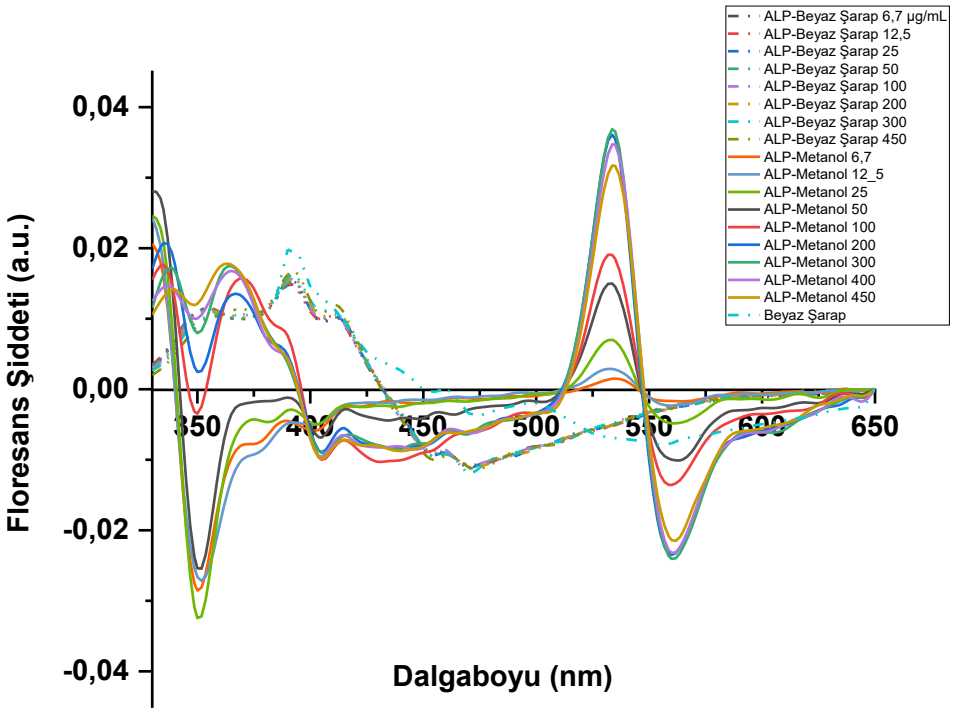
4.3.2 ALP-Beyaz Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları

ALP tabletin beyaz şarap içerisinde tayini için floresans emisyon spektroskopisi kullanılma olasılığı araştırıldığında en önemli etkenin beyaz şarabın kendi floresansı olduğunu gözlemlendi. Şekil 50'de beyaz şarap, ALP tablet referans ve ALP tablet-Beyaz şarap örneklerinin farklı derişimlerde floresans emisyon spektrumları görülmektedir. Votka analizlerinde referans çözelti değerlendirmesinde belirtildiği üzere ALP tablet madde miktarına bağlı olarak iki farklı floresans spektrumu göstermektedir. Beyaz şarap ise emisyon maksimumu yaklaşık 475 nm'de yayvan bir emisyon bandına sahiptir. Beyaz şarabın emisyon bandı yüksek derişimlerde gözlenen ALP tablet emisyon bantlarının ortasına düşmektedir. Yayvan bir bant olması nedeni ile de ALP tabletin her iki emisyon bandı ile de önemli oranda örtüşmektedir.



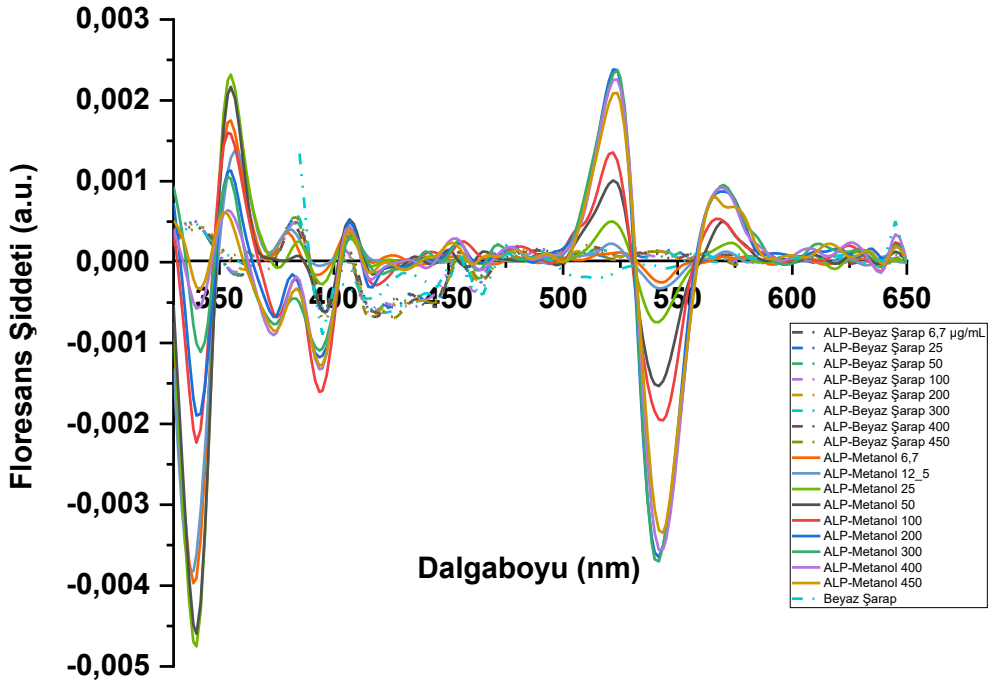
Şekil 50. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

Şekil 50'de şarabın kendi emisyonu ve şarap içeren örneklerin emisyonları kesikli çizgilerle gösterilmiştir. ALP tablet- beyaz şarap örneklerinde ALP tabletten önemli bir farkla tek emisyon bandı gözlenmiştir. Beyaz şarap emisyon bandı ile belirli oranda örtüşmekle beraber örnekler çok daha dar emisyon bantlarına sahiptir.



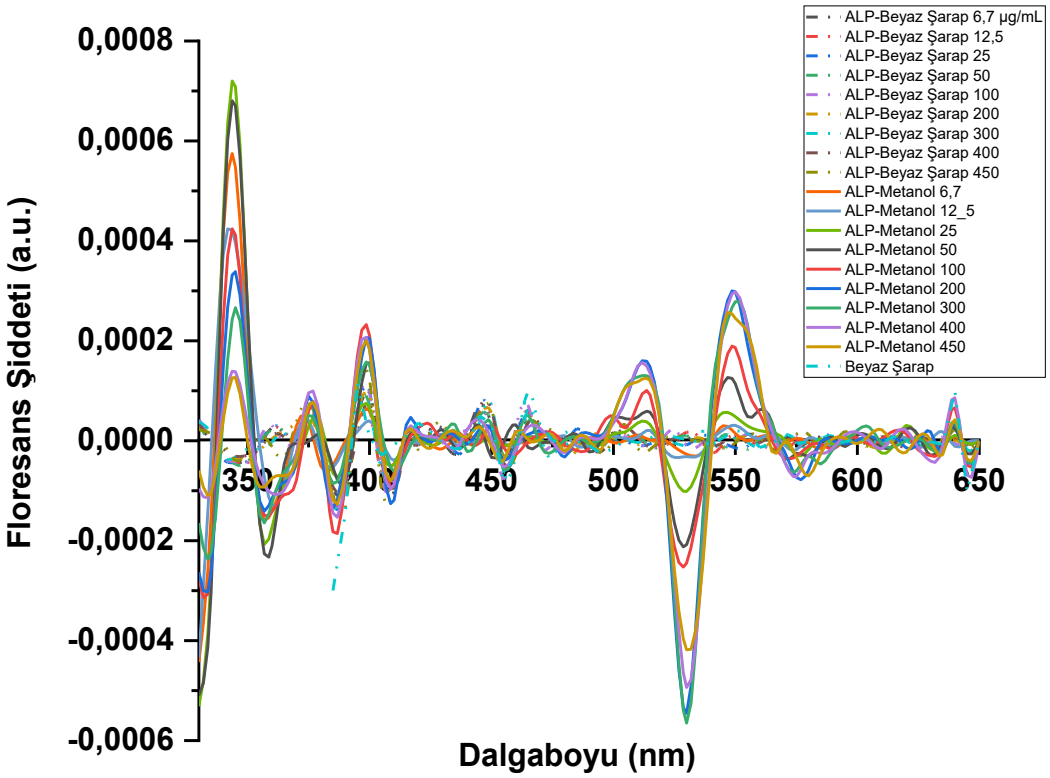
Şekil 51. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

ALP tablet- beyaz şarap örneklerinin birinci dereceden floresans türev spektrumlarına baktığımızda analitik açıdan referans ölçümlerle anlamlı bir örtüşme olmadığı görülmektedir.



Şekil 52. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.

ALP tablet -beyaz şarap örneklerinin ikinci dereceden floresans spektrumları incelendiğinde, özellikle 300-450 nm arasında ALP tablet - beyaz şarap örnekleri ile referans ölçümler arasında benzerlik oluşmaya başladığı ancak yine analitik açıdan anlamlı bir örtüşme olmadığı görülmektedir.

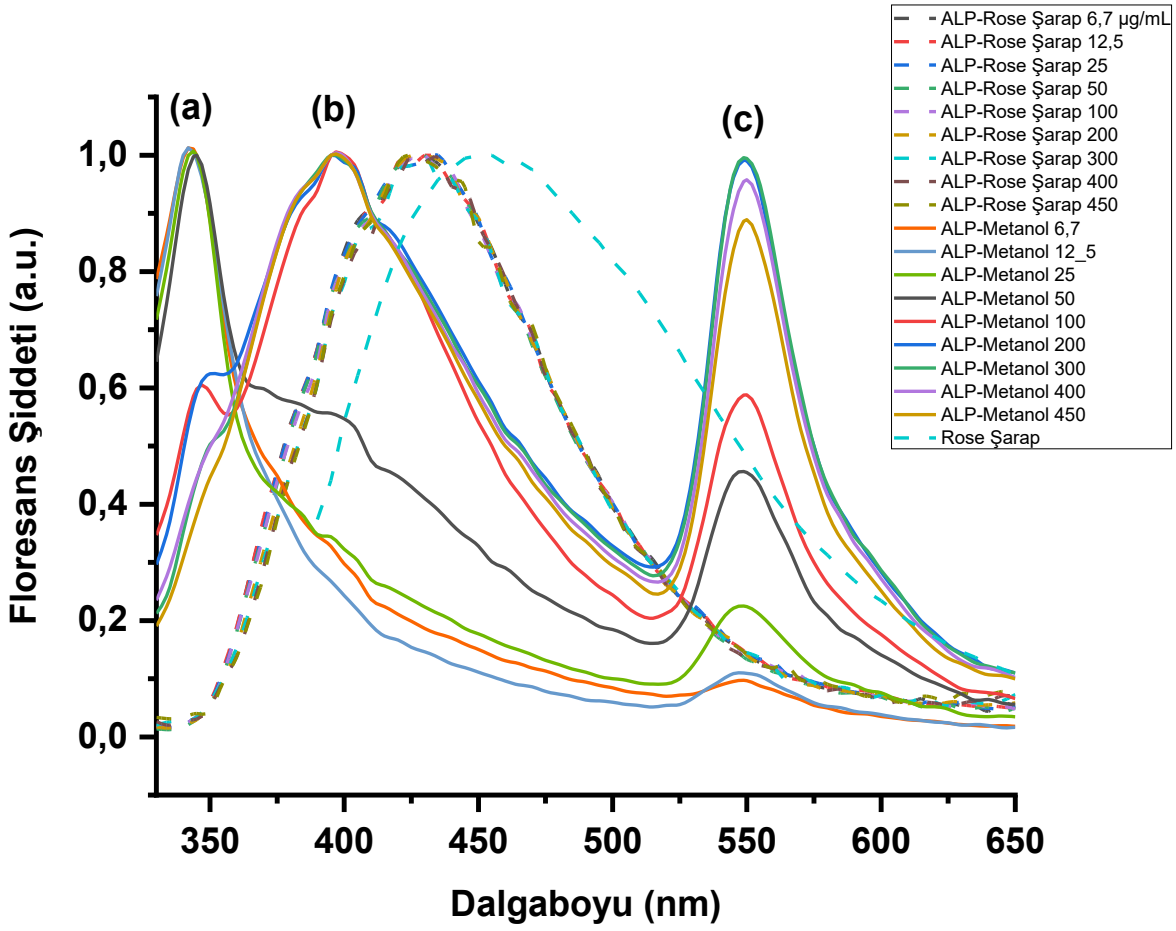


Şekil 53. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

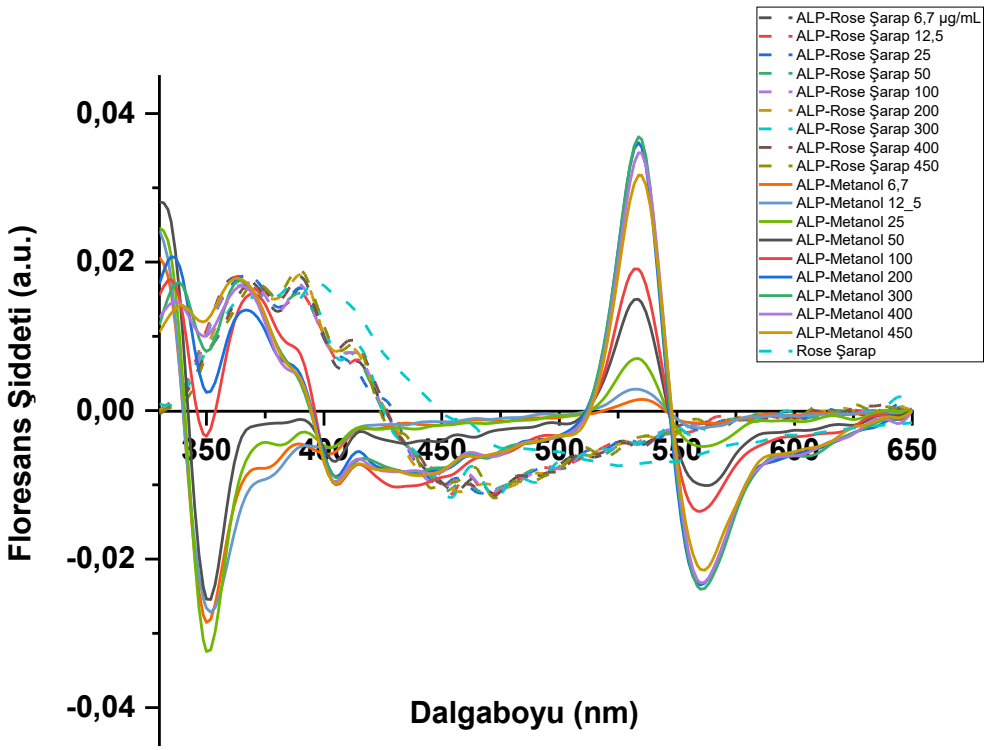
Şekil 53'te görülen ALP tablet-beyaz şarap örneklerinin üçüncü dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde de benzer bir durumun geçerli olduğu görülmektedir. ALP tablet- beyaz şarap örnekleri ile referans ölçümler arasında analitik açıdan anlamlı kabul edilebilecek bir örtüşme gözlenmediği ifade edilebilir.

4.3.3 ALP-Roze Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları

ALP tablet, roze şarap örneklerine ait floresans karakteristikleri incelendiğinde beyaz şaraba oldukça benzer sonuçlar gözlenmiştir. Şekil 54, 55, 56 ve 57'de ALP tablet roze şarap örneklerinin sırası ile floresans emisyon spektrumları ve 1. , 2. , 3. dereceden floresans türev spektrumları görülmektedir.

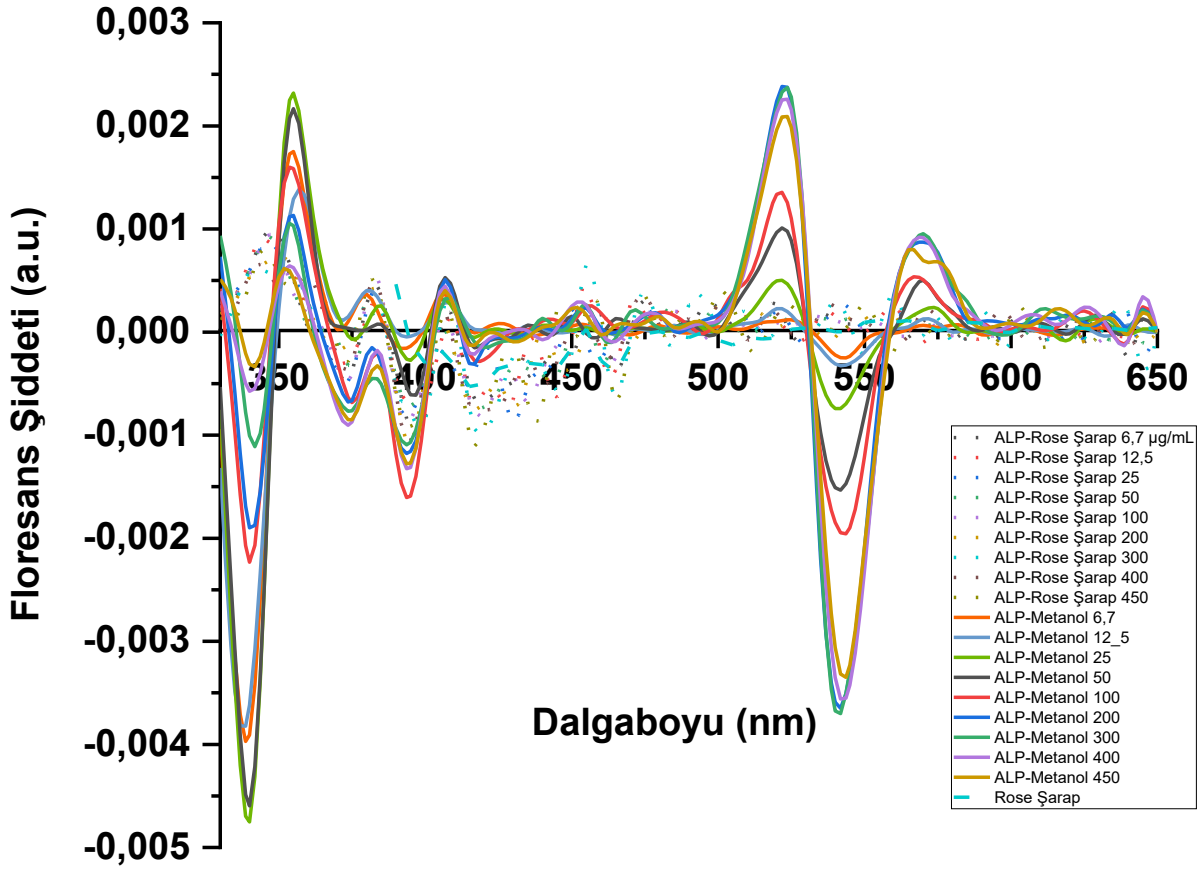


Şekil 54. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

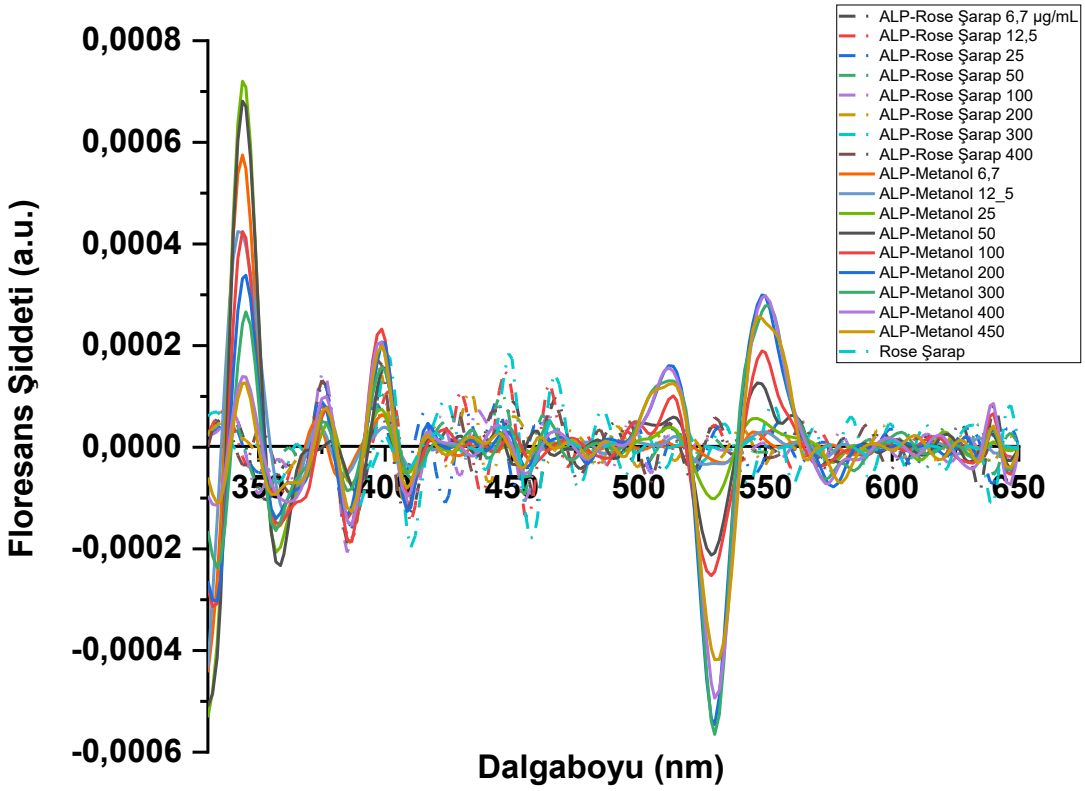


Şekil 55. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

ALP tablet- roze şarap örneklerinin birinci dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, 300-450 nm arasında tam olarak örtüşme görünmese de benzer karakteristiğe sahip bantlar olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra burada düşük derişimdeki ALP tablet referans çözeltilerinin farklı bir bant yapısı gösterdiği görülmektedir.



Şekil 56. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.



Şekil 57. ALP tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

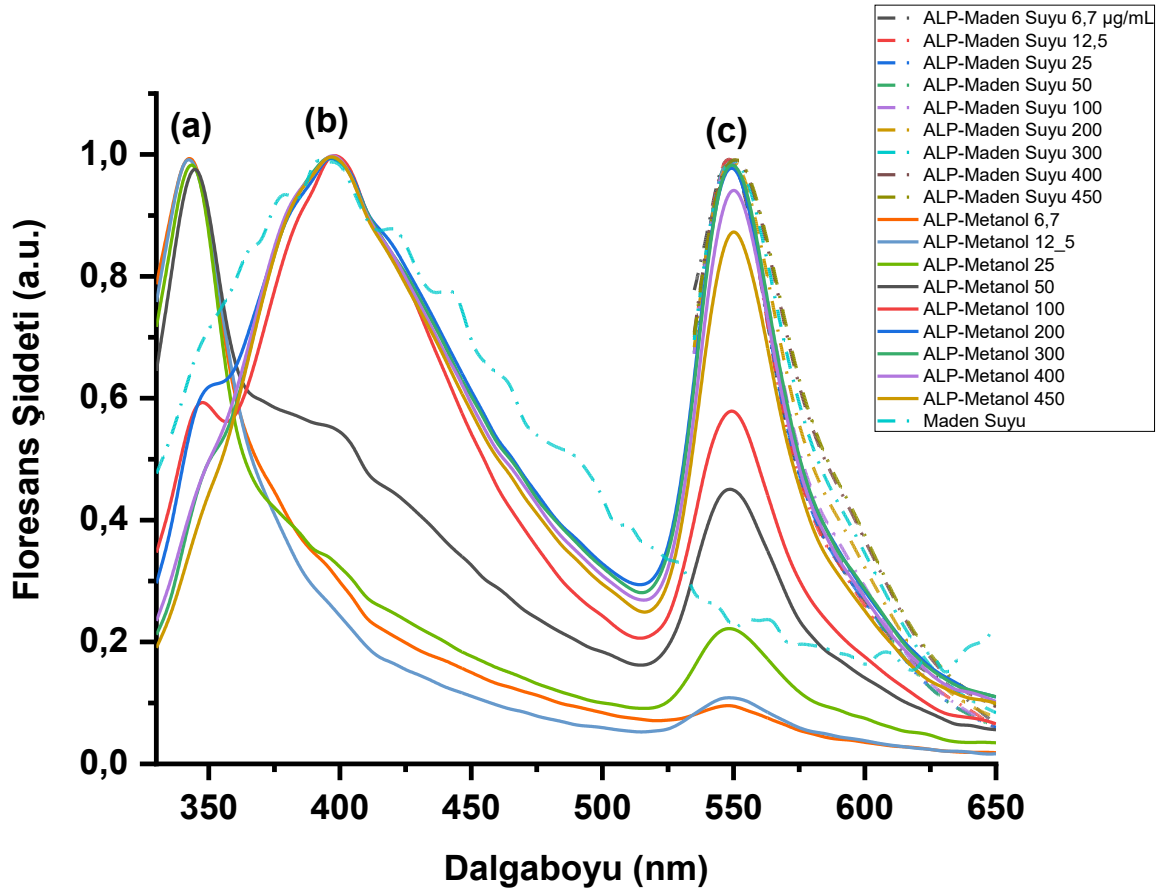
ALP tablet-roze şarap örneklerine ait ikinci ve üçüncü dereceden floresans türev spektrumları Şekil 56 ve 57'de görülmektedir. Spektrumlar incelendiğinde, 300–500 nm dalga boyu aralığında benzer yapının oluşmaya başladığı ve bantlardaki örtüşme oranının arttığı gözlemlenmiştir. Ancak roze şarap içerisindeki örneklerde bant şiddetlerinin oldukça düşük olması nedeniyle bu örtüşmenin analitik açıdan ne ölçüde anlamlı olduğu kesin olarak belirlenememektedir.

Bant şiddetlerinin oldukça düşük olması nedeniyle ALP tablet-roze şarap örneklerine ait dördüncü dereceden floresans türev spektrumları dikkate alınmamıştır.

4.3.4 ALP-Maden Suyu Floresans Spektroskopisi Sonuçları

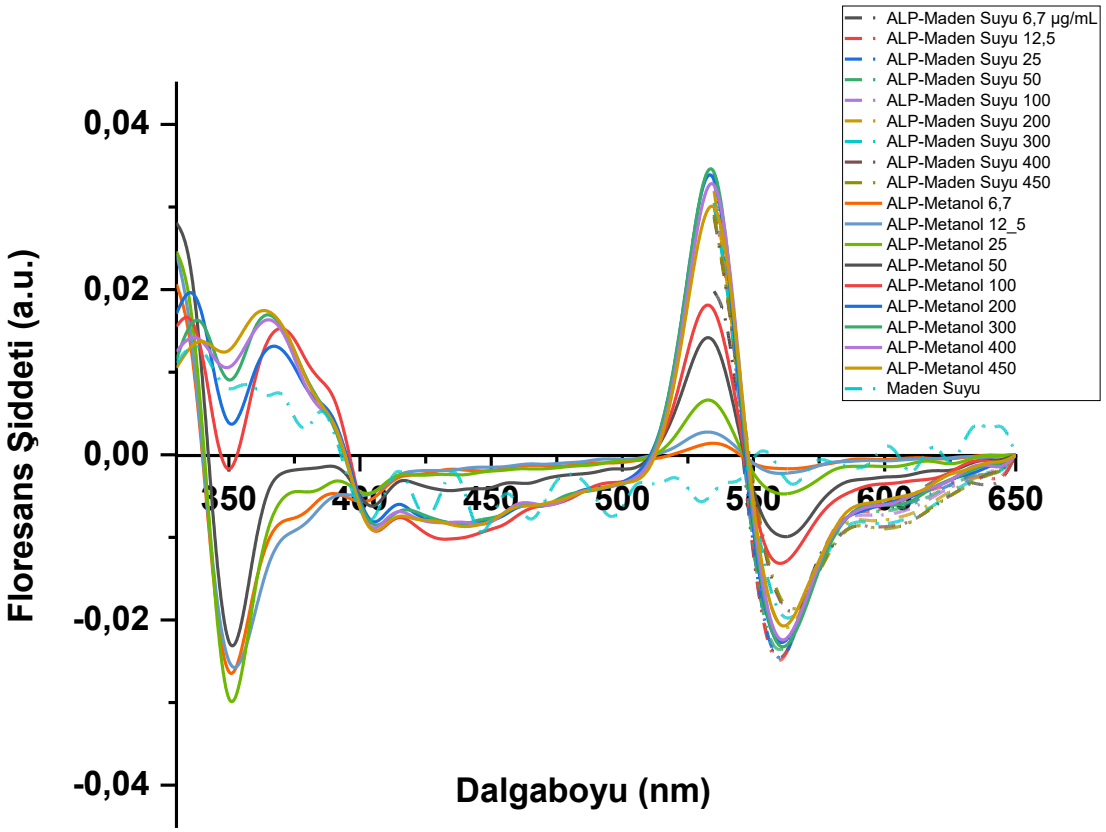
ALP tablet- maden suyu örneklerine ait floresans emisyon spektrumları incelendiğinde, daha önce incelenen içeceklerden farklı bir karakteristik sergilendiği belirlenmiştir. Maden suyunun yaklaşık 300–550 nm dalga boyu aralığında, ALP tablet referans çözeltisinin yüksek derişimlerinde elde edilen bantlardan biriyle tam örtüşen bir floresans emisyonu bandı olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, ALP tablet- maden suyu

örnekleri değerlendirildiğinde, ALP tablet referans çözeltilerinin daha uzun dalga boyundaki, yaklaşık 525–650 nm aralığında yer alan, emisyon bandıyla tam örtüşme gösteren bir emisyon bandının bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 58).

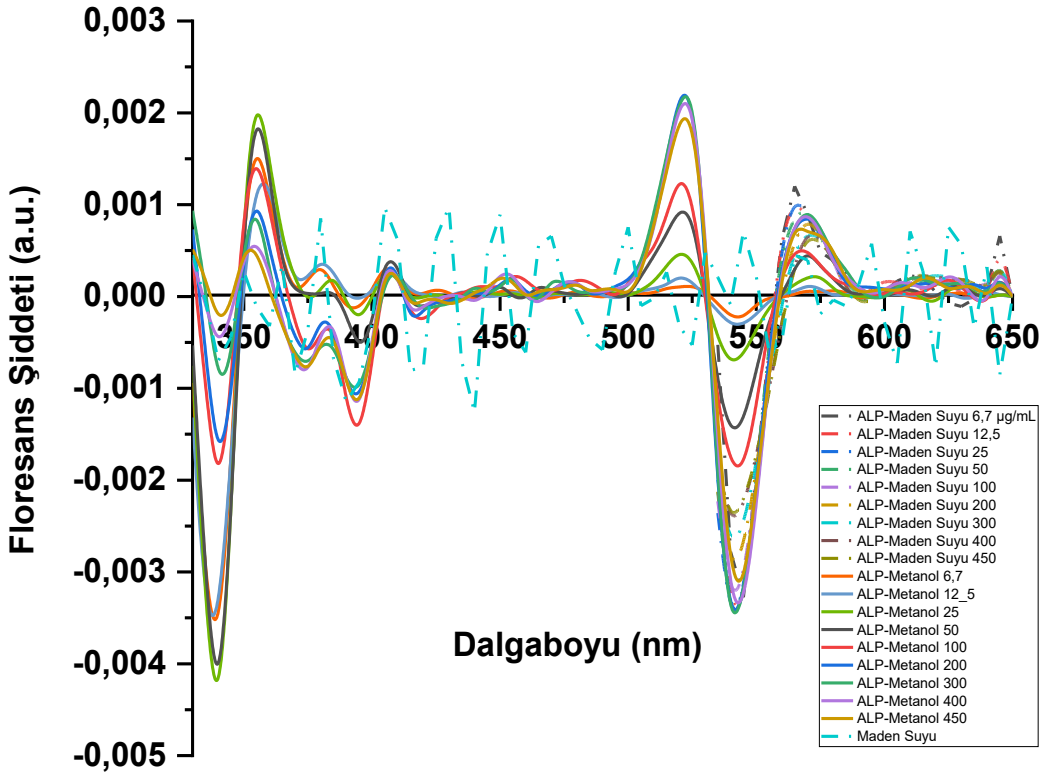


Şekil 58. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

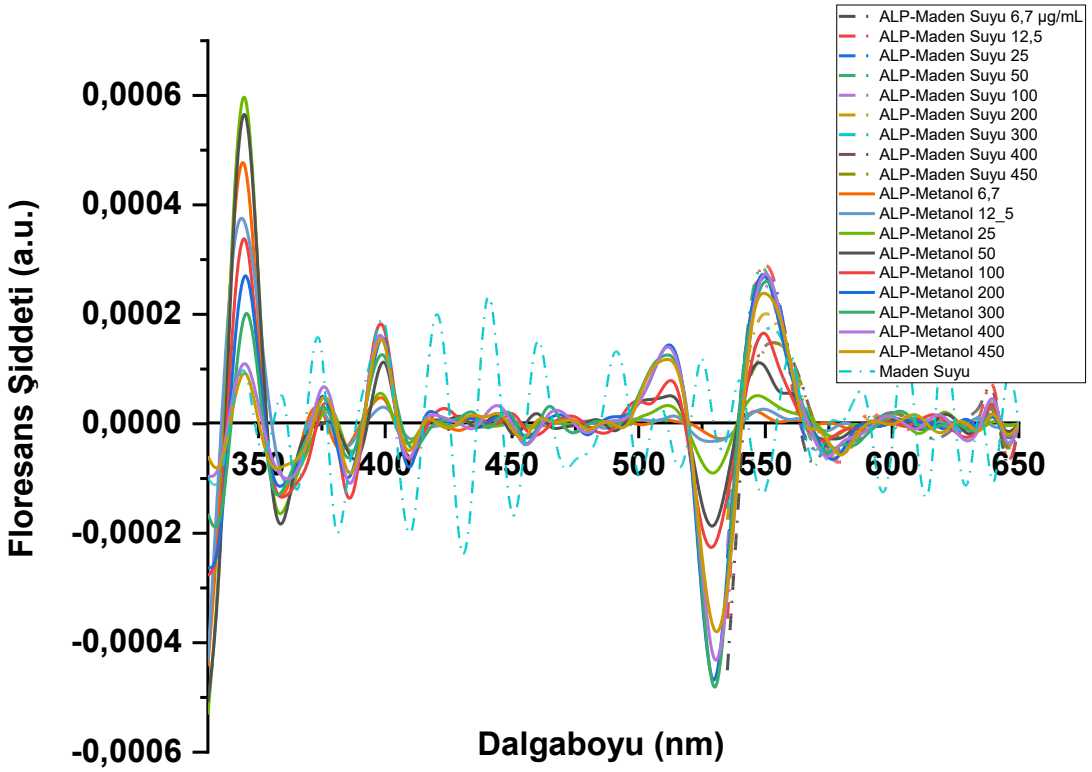
Şekil 58'de görülen ALP tablet- maden suyu örneklerinin birinci, ikinci ve üçüncü türev spektrumları incelendiğinde, yalnızca uzun dalga boyunda emisyon bandına sahip olmaları nedeniyle türev spektrumlarının 500–650 nm dalga boyu aralığında bantlar içerdiği görülmektedir (Şekil 59-61). Ayrıca bu bantların, ALP tablet referans çözeltisinin aynı dalga boyu aralığındaki bantları ile tam bir örtüşme gösterdiği belirlenmiştir. Bant şiddetlerinin çok düşük olması nedeni ile dördüncü dereceden floresans türev spektrumları kullanılmamıştır.



Şekil 59. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.



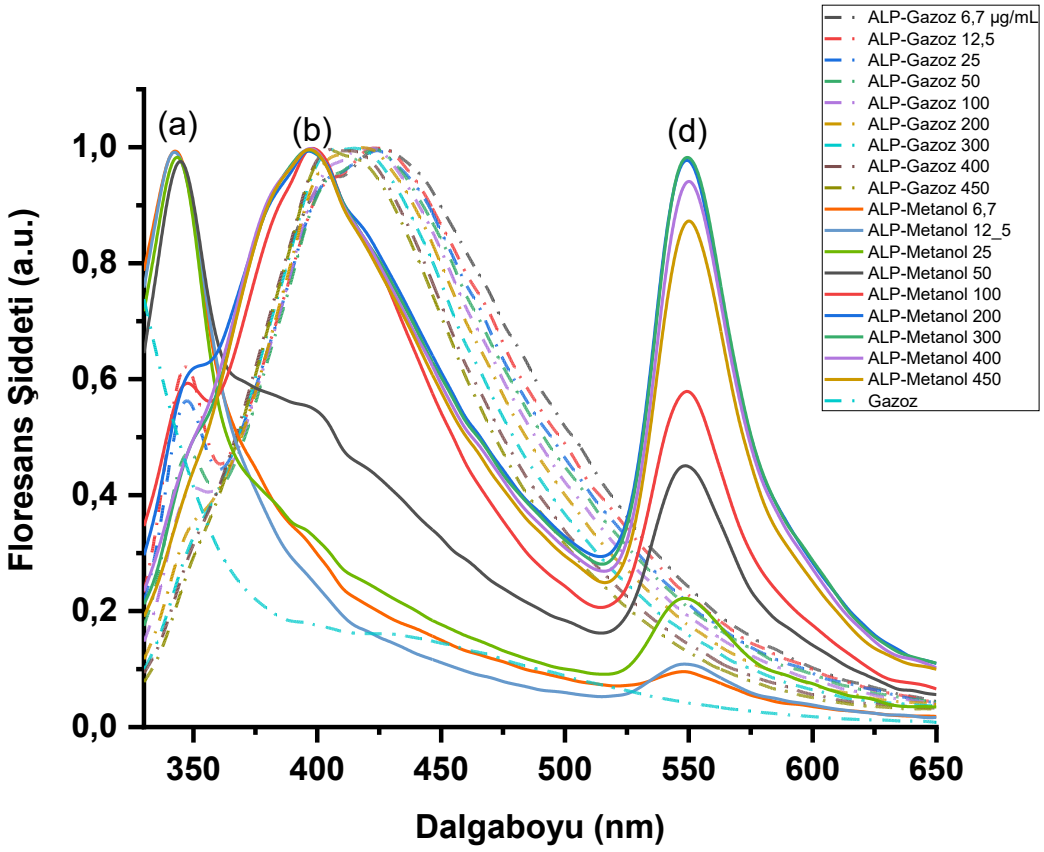
Şekil 60. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.



Şekil 61. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

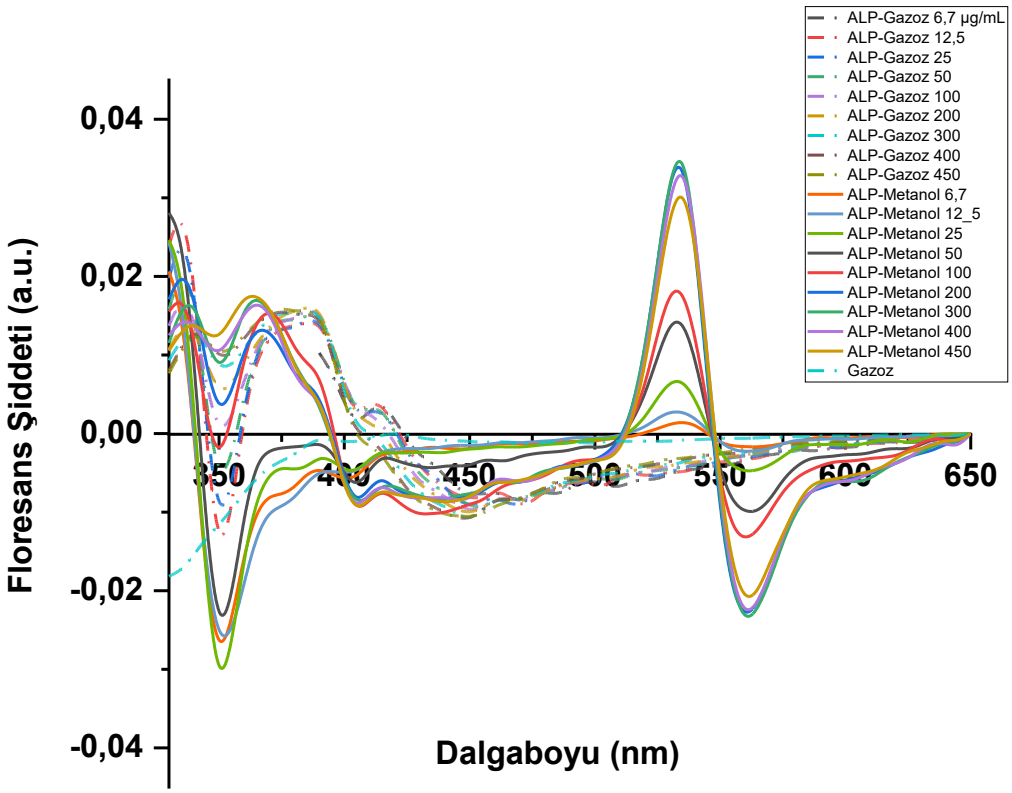
4.3.5 ALP-Gazoz Floresans Spektroskopisi Sonuçları

ALP tablet- gazoz örneklerinin floresans emisyon spektrumları, ALP tablet referans çözeltilerinin emisyon spektrumları ile karşılaştırmalı olarak Şekil 62'de sunulmuştur.



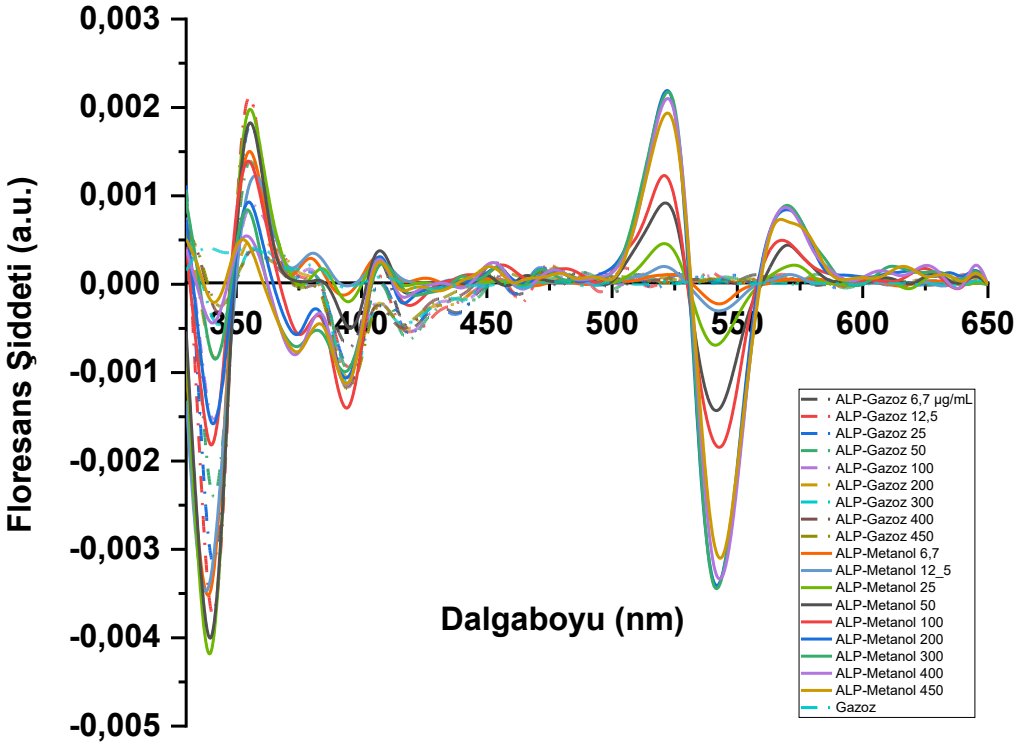
Şekil 62. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

ALP tablet- gazoz örneklerine ait floresans emisyon spektrumları incelendiğinde, ALP tablet referans örneklerinin yüksek derişimlerdeki çözeltilerinin kısa dalga boyu aralığında (300–550 nm) gözlenen bandı ile kısmen örtüşen ve şekilsel olarak büyük oranda benzerlik gösteren tekli emisyon bantları gözlenmiştir. ALP tablet- gazoz örneklerinin floresans emisyon spektrumlarında uzun dalga boyu aralığında (550–650 nm) yer alan banda rastlanmamıştır. Bununla birlikte, emisyon bantlarının değişen derişimle birlikte emisyon maksimumlarında kayma gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum, artan derişimle birlikte emisyon veren formun bir banttaki türden diğer banttaki türe geçiş yaptığını düşündürmektedir.

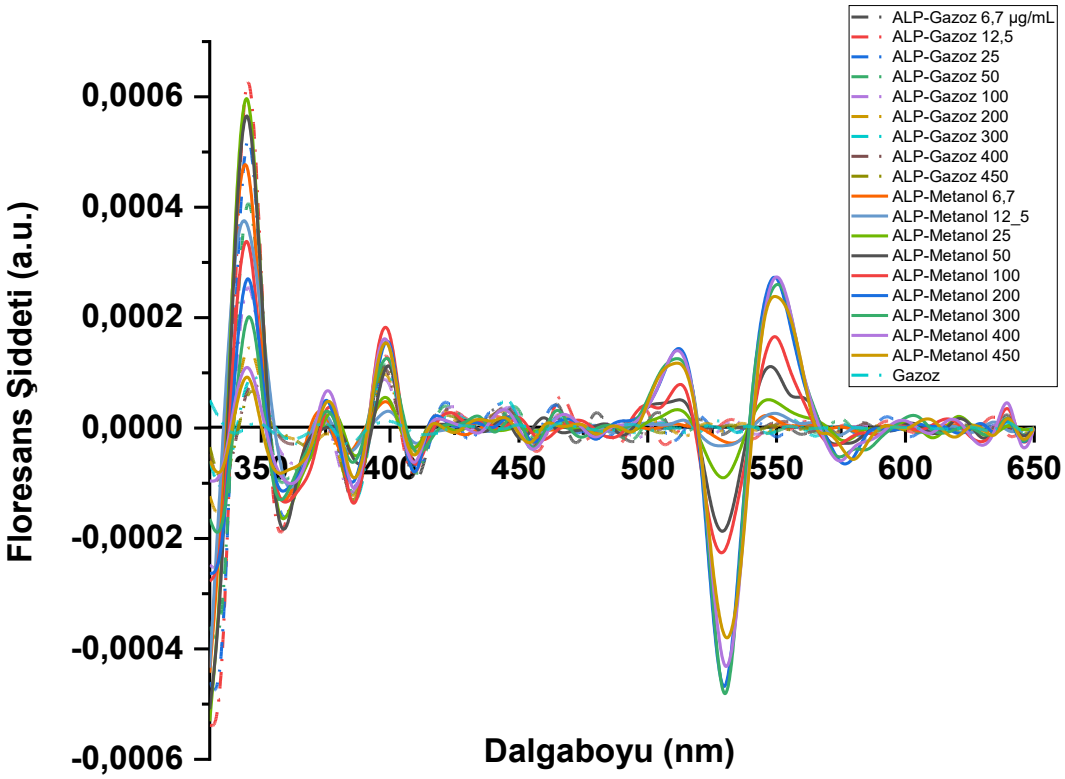


Şekil 63. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

ALP tablet- gazoz örneklerine ait birinci dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, 300–500 nm dalga boyu aralığında kısmen örtüşen bantların bulunduğu belirlenmiştir. Ancak uzun dalga boyunda emisyon gözlenmemesi nedeniyle 500–650 nm dalga boyu aralığındaki bantlarla doğal olarak örtüşen herhangi bir bant tespit edilmemiştir.



Şekil 64. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.

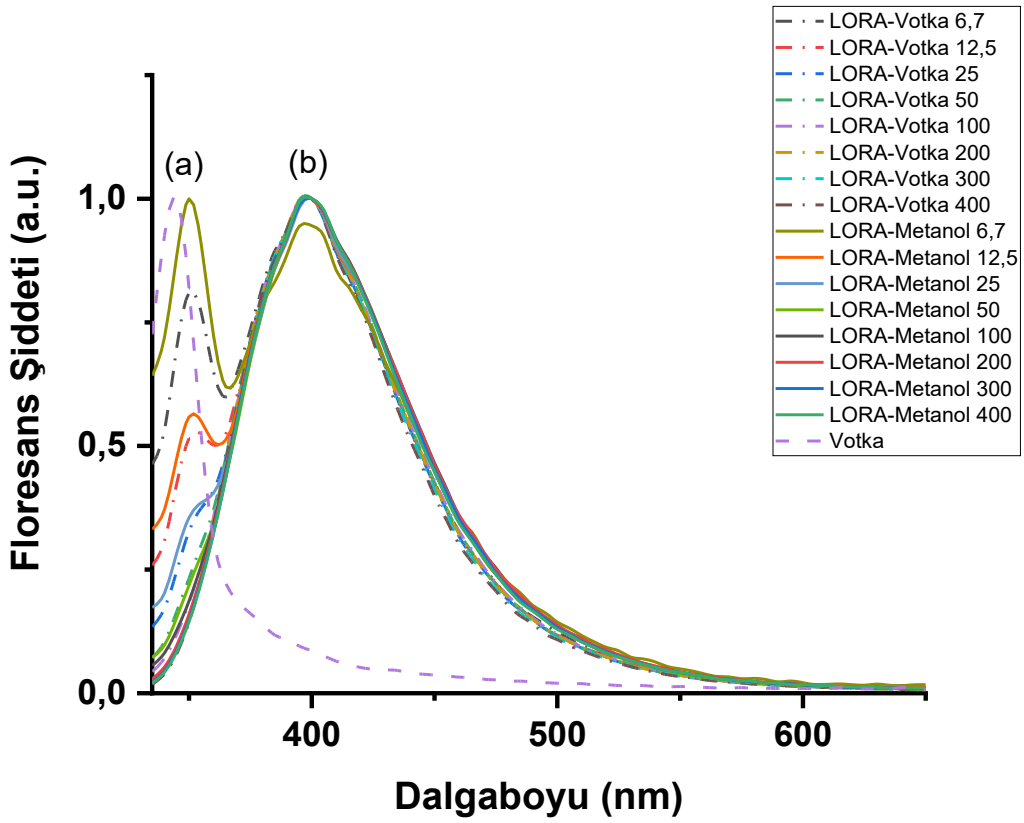


Şekil 65. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 64 ve 65'te sunulan ikinci ve üçüncü dereceden floresans Türev spektrumlarının incelendiğinde ALP tablet- gazoz örnekleri ile referans ölçümler arasında 300–450 nm aralığındaki bantlarda yüksek düzeyde bir örtüşme görülmektedir. Bant şiddetlerinin oldukça düşük olması nedeniyle ALP tablet- gazoz örneklerine ait dördüncü dereceden floresans türev spektrumu değerlendirmeye alınmamıştır.

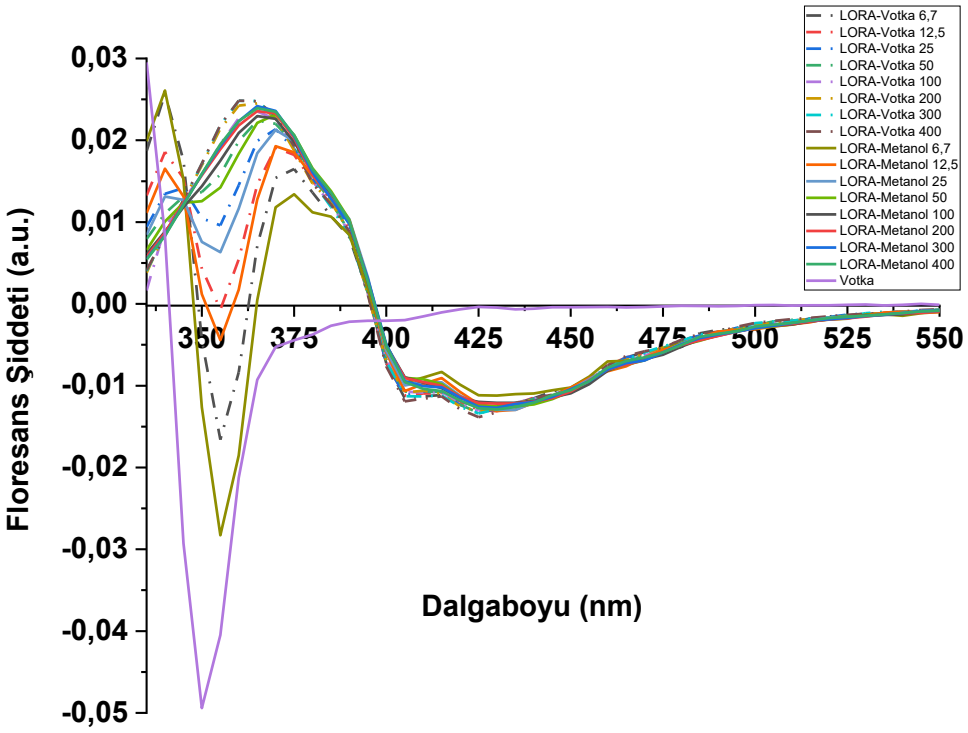
4.3.6 LORA-Votka Floresans Spektroskopisi Sonuçları

LORA tabletin votka ve referans çözelti ortamlarında farklı derişimlerde elde edilen floresans ve emisyon türev spektrumları değerlendirilmiştir. LORA tablet, derişime bağlı olarak floresans emisyon spektrumunda farklılık görülmektedir. Şekil 66'da (b) olarak adlandırılan emisyon bandı tüm derişimlerde ortak olmakla birlikte LORA tablet düşük derişimlerde, yaklaşık 25 µg/mL'ye kadar (a) olduğu bölgede iki banttan oluşan emisyon bandına sahiptir. Votka yaklaşık 350 nm maksimumlu bir emisyon bandına sahiptir. LORA tablet emisyon maksimumu 400 nm civarı olup votka emisyonu ile nitel tayini engelleyecek bir örtüşmeye sebep olmaz.



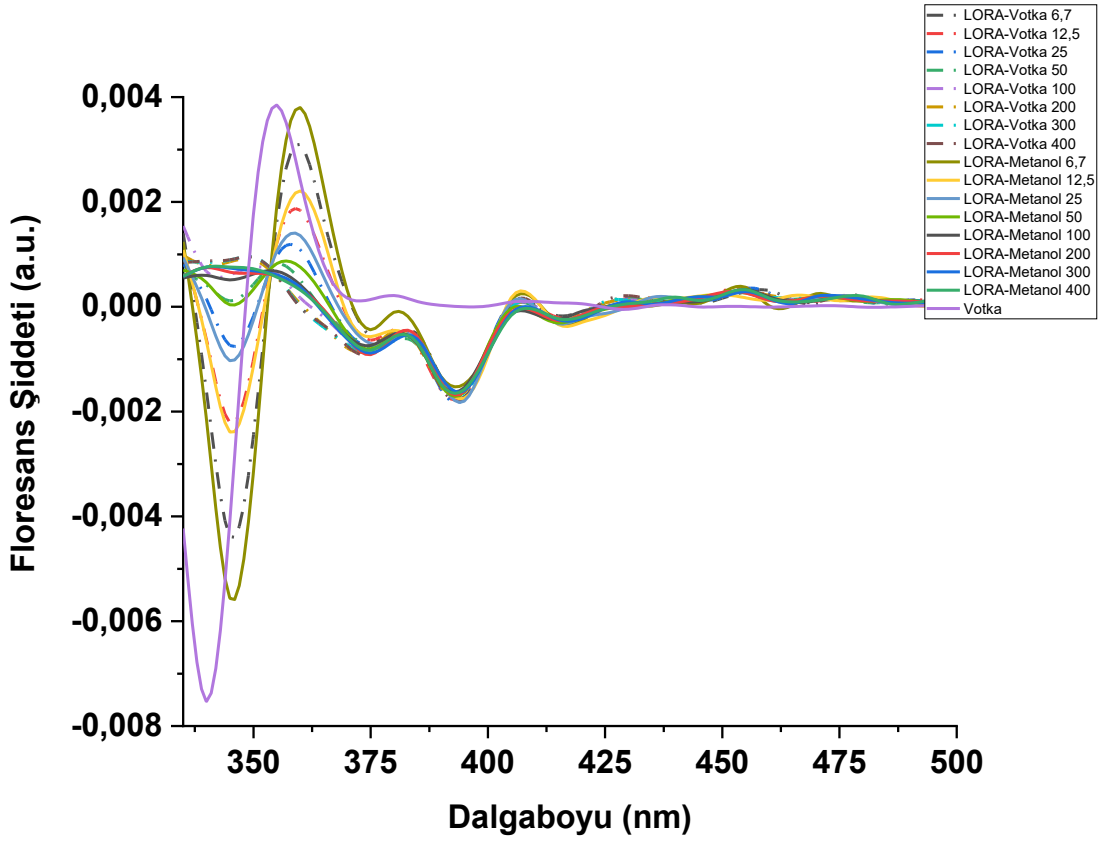
Şekil 66. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

LORA tablet-votka örnekleri referans ölçümler ile uyumludur. Düşük derişimlerde hem votka örneklerinde hem referans ölçümlerde kısa dalga boyunda bir bant daha görülmekte, derişim artışı ile bu bant kaybolup yalnızca 400 nm maksimumlu emisyon gözlenmektedir.



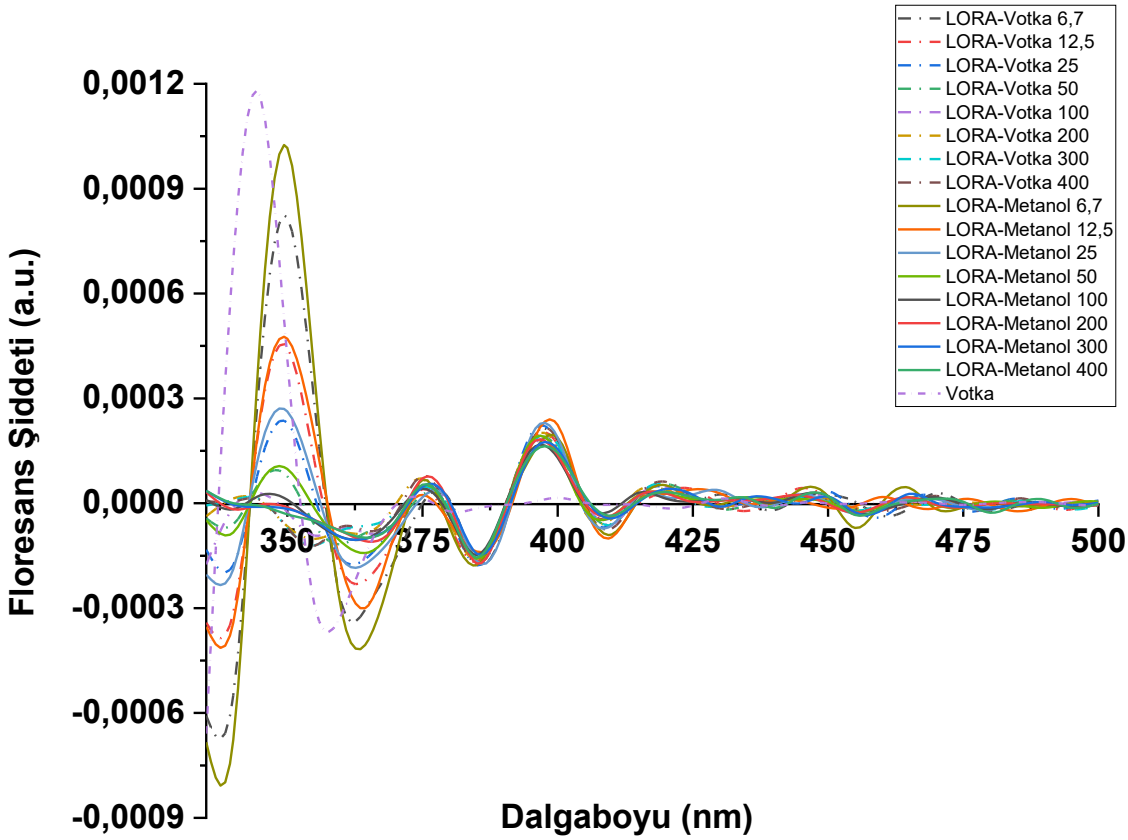
Şekil 67. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 67'de görülen örneklere ve referansa ait birinci türev spektrumları incelendiğinde 50 µg/mL'ye kadar 300-400 nm aralığında gözlenen karakteristik bantların hem örnekler hem referans için bu derişimin üzerinde farklılaştığı ve birbirleri ile uyumlu oldukları görülmektedir. 400 nm'den uzun dalga boyunda ise derişimden bağımsız tüm ölçümlerde aynı bant oluşmuştur. Votkanın bandında ise belirgin bir farklılaşma görülmektedir.



Şekil 68. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 68'de görülen LORA tablet-votka örneklerinin ikinci dereceden floresans türev spektrumlarını incelediğimizde derişime bağlı bant görüntüsünde değişimin azaldığı ancak 300-375 nm aralığında votka bandı ile de örtüşme olduğu gözlenmiştir. 375 nm'den uzun dalga boylarında ise votkaya ait bir bant olmadığı, örneklerin türev spektrumlarının referans türev spektrumları ile tam uyum içerişimde olduğu görülmektedir.

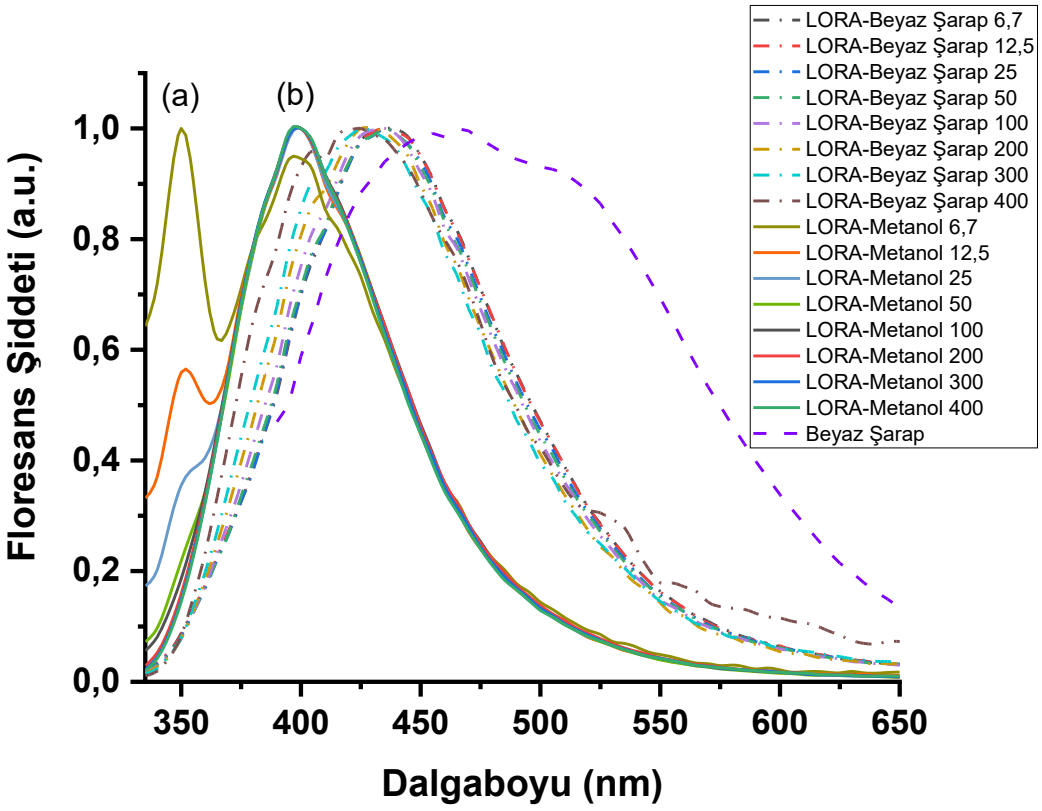


Şekil 69. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 69'da görülen LORA tablet-votka örneklerinin üçüncü dereceden floresans türev spektrumları ikinci türev spektrumları ile hemen hemen aynı özellikleri taşımaktadır. %0 µg/mL'nin üzerindeki derişimler için birinci dereceden türev spektrumu LORA tablet-votka örnekleri için ideal görünmektedir. Dördüncü türev spektrumlarının incelenmesi sonucunda, analitik açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Bu nedenle, LORA'nın tüm içki örneklerine ait dördüncü türev spektrumları yalnızca Ek bölümünde sunulmuştur (Ek-Şekil 27-31).

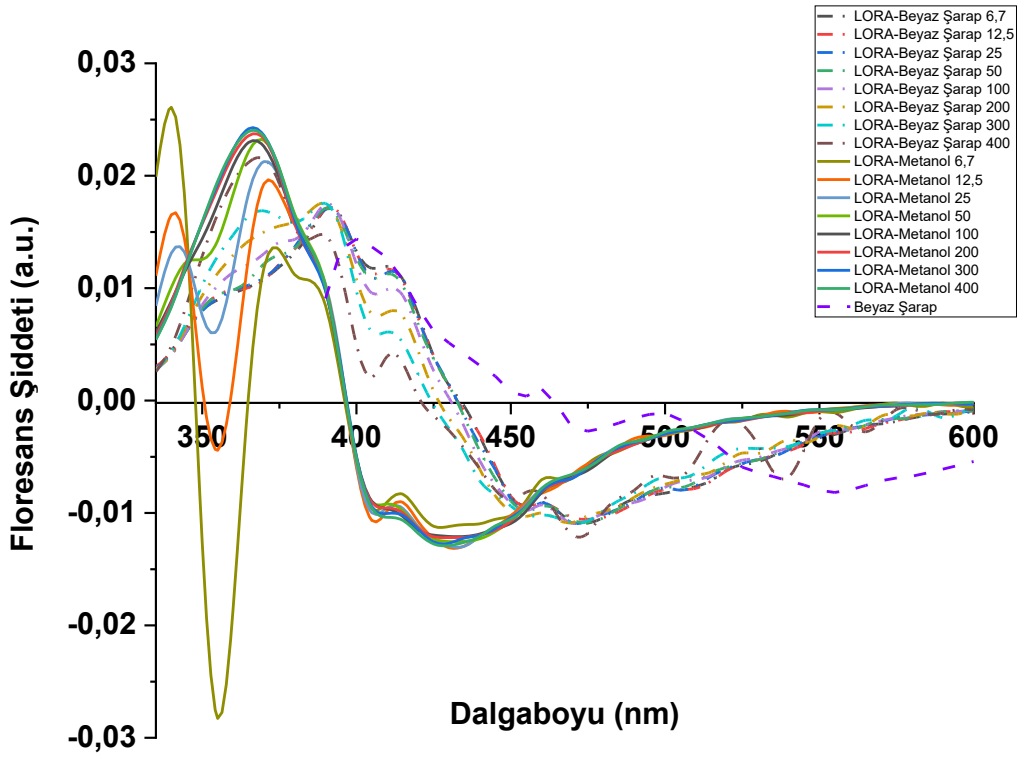
4.3.7 LORA-Beyaz Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları

LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti ortamlarında farklı derişimlerde elde edilen floresans ve emisyon türev spektrumları değerlendirilmiştir. Şekil 70'te LORA tablet-beyaz şarap ve referans çözelti ortamlarında farklı derişimlerde elde edilen floresans spektrumları görülmektedir.



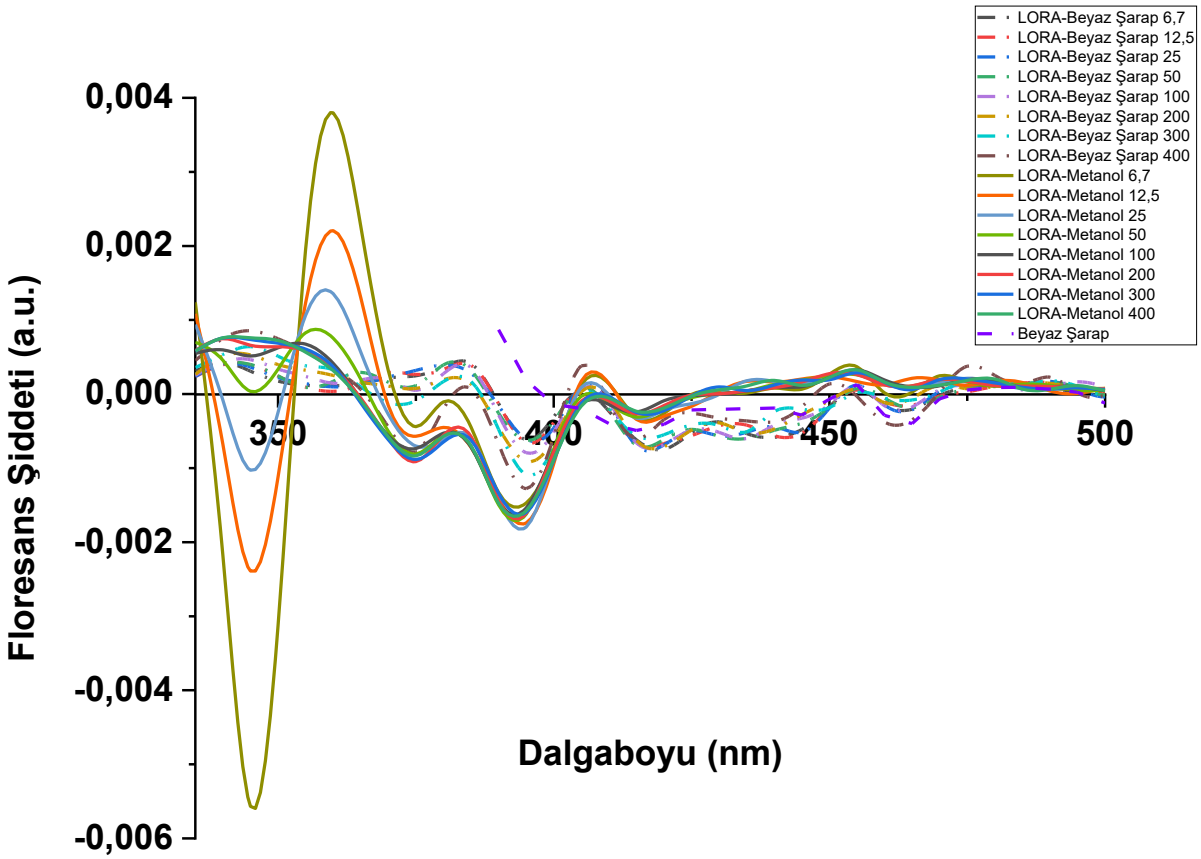
Şekil 70. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

LORA tablet– beyaz şarap karışımlarının 375–600 nm aralığında floresans emisyonu yaptığı görülmektedir. Beyaz şarabın kendisi ise 375–650 nm aralığında, 500 nm emisyon maksimumlu daha geniş bir emisyon bandına sahiptir. LORA tablet beyaz şarap içerisindeki emisyon bantları, beyaz şarabın kendi floresansına kıyasla daha dar ve daha kısa dalga boyu bölgesinde konumlanmıştır. Referans LORA tablet çözeltilerinde ise emisyon, 375–550 nm aralığında yoğunlaşmış olup, emisyon maksimumu 400 nm'dir.



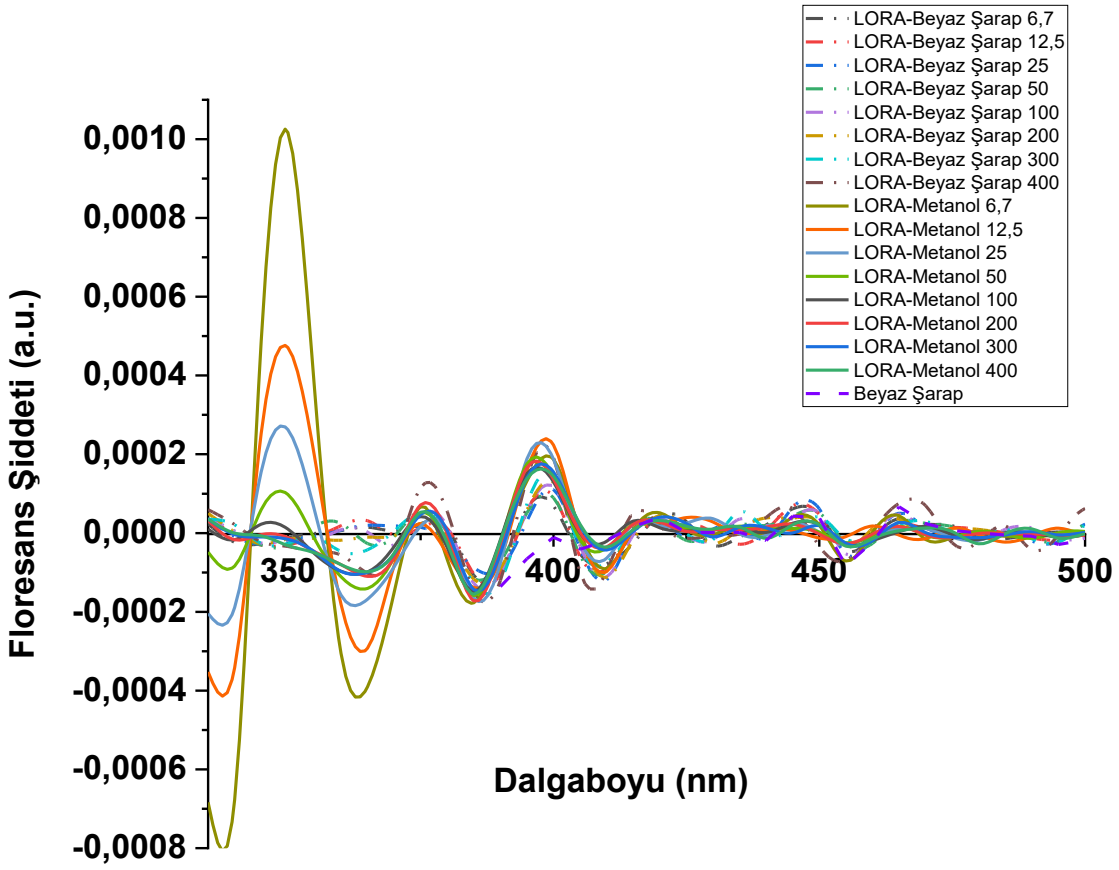
Şekil 71. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 71'de, LORA tablet- beyaz şarap örneklerinin birinci dereceden floresans türev spektrumları ile referans çözeltilerine ait birinci dereceden türev spektrumlarının karşılaştırması görülmektedir. LORA tablet- beyaz şarap örneklerine ait birinci dereceden floresans türev spektrumlarının analizi, referans çözeltileri ile karşılaştırıldığında bant şekillerinde yüksek derecede benzerlik, ancak absorpsiyon bantlarının dalga boyu konumlarında belirgin farklılıklar ortaya koymuştur. Hem LORA tablet- beyaz şarap örnekleri kendi içlerinde hem de referans çözeltileri kendi içlerinde dalga boyu konumları ve örtüşme bakımından yüksek bir tutarlılık sergilemiştir. Buna karşılık, beyaz şarap spektrumu her iki gruptan da belirgin şekilde ayrışmıştır. Elde edilen bu veriler, bantlarda tam dalga boyu örtüşmesi gözlenmemesine rağmen, LORA tablet örneklerinin referans çözeltileri ile yapısal olarak benzer davranış sergilediğini ve beyaz şaraptan net bir şekilde ayrıldığını göstermektedir. Bu bulgular, söz konusu spektrumların nitel analiz amacıyla potansiyel olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 72. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.

LORA tablet- beyaz şarap örneklerinin ikinci dereceden floresans türev spektrumları ile referans çözeltilerine ait ikinci dereceden türev spektrumlarının karşılaştırması Şekil 72'de görülmektedir. LORA tablet- beyaz şarap örneklerinin ikinci dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, yaklaşık 350 nm'ye kadar referans spektrumları ile herhangi bir örtüşme gözlenmemiştir. Buna karşılık, 300 nm ile 470 nm arasındaki dalga boyu aralığında bantlarda tam bir örtüşme tespit edilmiştir. Beyaz şarap spektrumu incelendiğinde, yaklaşık 460 nm civarında başlayan bandın, bu dalga boyundan itibaren LORA tablet- beyaz şarap örnekleri ile tam bir örtüşme gösterdiği belirlenmiştir. Genel değerlendirmeye bakıldığında LORA tablet tayini için etkinliğinin oldukça sınırlı olduğu görünmektedir.

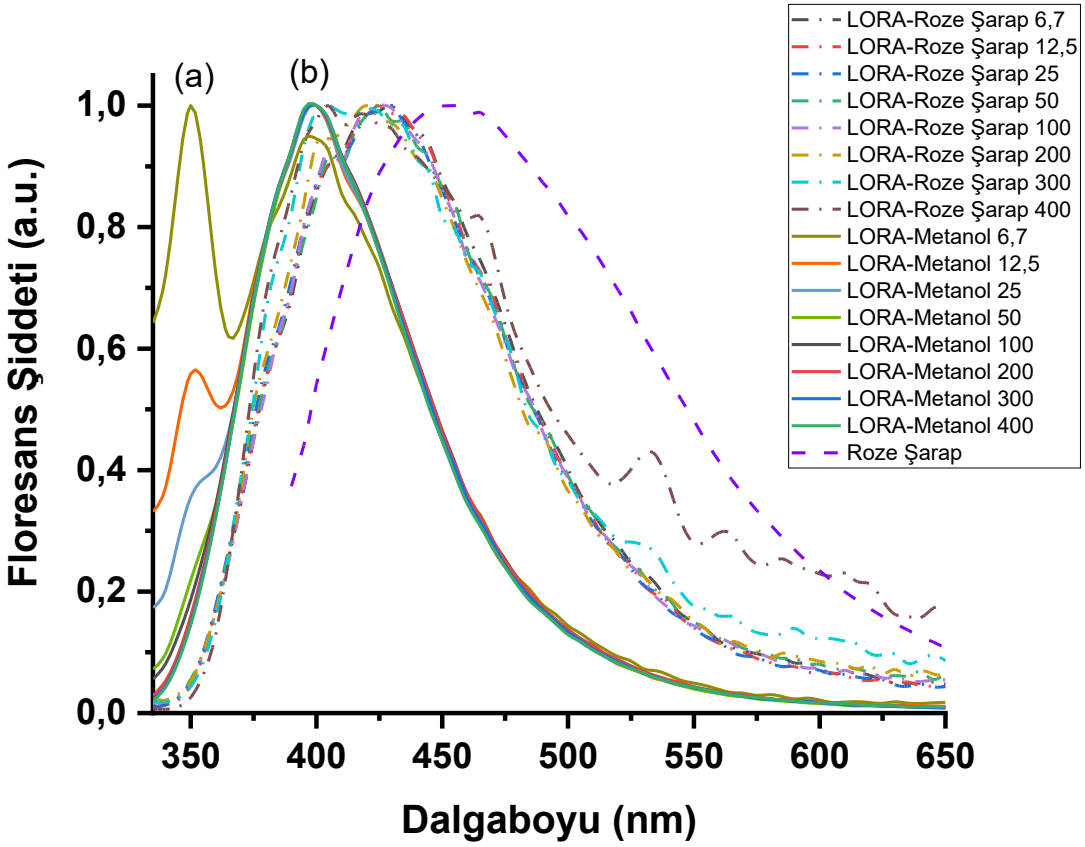


Şekil 73. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 73'te görülen üçüncü dereceden floresans türev spektrumlarında 350 nm'den itibaren beyaz şarap örneklerinin bantları ile referans ölçümlerin bantları arasında büyük oranda örtüşme gözlenmektedir. Bunun yanı sıra beyaz şarap bandı ile örtüşme olması tayin için uygun olmadığını göstermektedir.

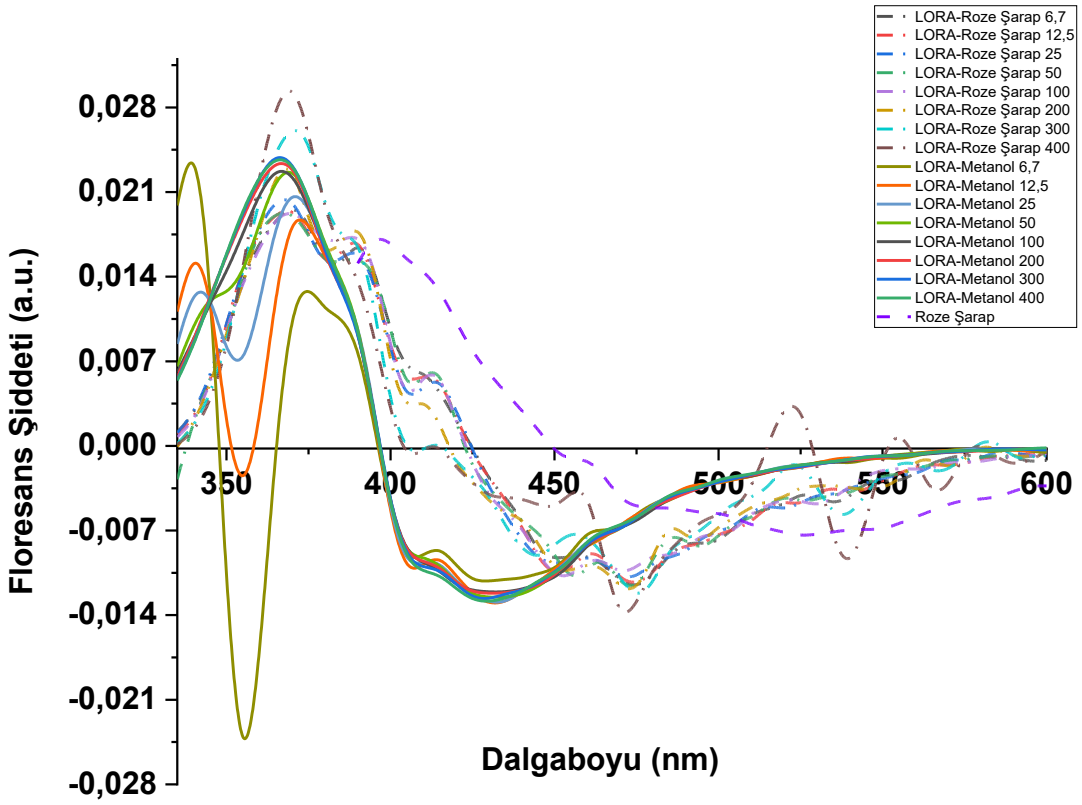
4.3.8 LORA-Roze Şarap Floresans Spektroskopisi Sonuçları

LORA tablet- roze şarap örneklerinin floresans emisyon spektrumları ve floresans türev spektrumları detaylı incelenerek LORA tablet tayininde kullanılma potansiyelleri araştırılmıştır.



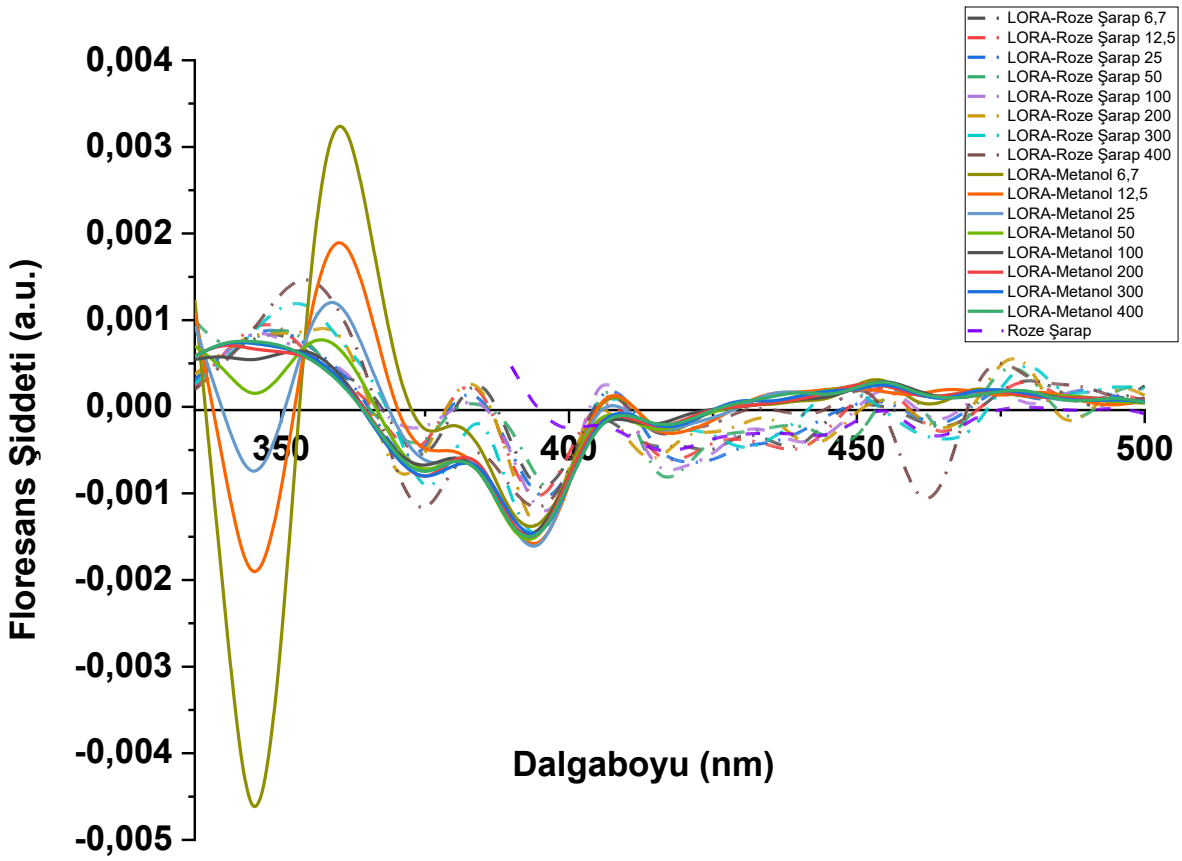
Şekil 74. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

Şekil 74'te, LORA tablet- roze şarap örneklerinin farklı derişimlerde elde edilen floresans emisyon spektrumları ile aynı derişimlerdeki referans çözeltilerine ait floresans emisyon spektrumları gösterilmektedir. LORA tablet- roze şarap örneklerinin floresans emisyon spektrumları incelendiğinde, beyaz şarap örnekleri ile benzer bir emisyon profili sergiledikleri görülmektedir. Ancak, iki spektrum arasındaki temel farklılık; roze şarabın kendisine ait emisyon bandının, beyaz şarabın emisyon bandına kıyasla daha dar olması ve emisyon maksimumunun, LORA tablet- roze şarap örneklerinin emisyon maksimumuna daha yakın bir dalga boyunda konumlanmasıdır.



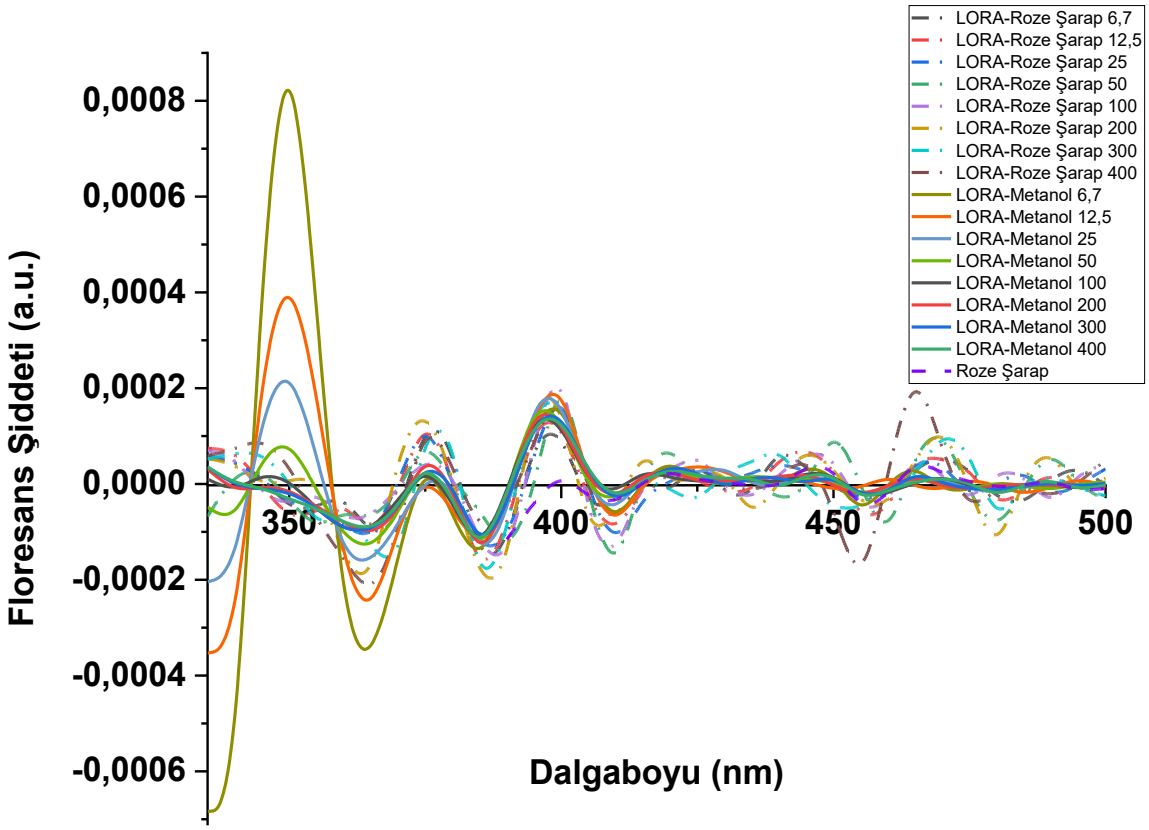
Şekil 75. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

LORA tablet- roze şarap örneklerinin birinci dereceden floresans türev spektrumları ile referans çözeltilerine ait birinci dereceden türev spektrumlarının karşılaştırması Şekil 75'te görülmektedir. LORA tablet- roze şarap örneklerinin birinci dereceden floresans türev spektrumları, referans çözeltilerin birinci dereceden floresans türev spektrumları ile karşılaştırıldığında; 300–425 nm aralığında beyaz şaraba kıyasla daha yüksek oranda örtüşme gösterdiği belirlenmiştir. 400–550 nm aralığında ise bant şekillerinin benzer olduğu, ancak emisyon maksimumlarının dalga boyu konumlarında farklılık bulunduğu görülmüştür. Bantların şekilsel benzerlikleri ve roze şarabın kendisine ait bantlarının belirgin farklılık sergilemesi birlikte değerlendirildiğinde, birinci dereceden türev spektrumların nitel tayinde kullanılabilir olabileceği öngörülmektedir.



Şekil 76. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 76'da gösterilen LORA tablet–roze şarap örneklerinin ikinci dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, 300–425 nm aralığında daha belirgin bir örtüşme sergiledikleri görülmektedir. 400 nm'den itibaren ise şaraba ait bantlar da görünmeye başlamış ve spektrumlar arasında kısmi örtüşme oluşmuştur. Bu bulgular, LORA tablet tayini için kullanılabilecek en uygun bölgenin, özellikle yüksek derişimlerde (50 µg/mL'nin üzerindeki derişimler) 350–400 nm aralığı olduğunu göstermektedir.

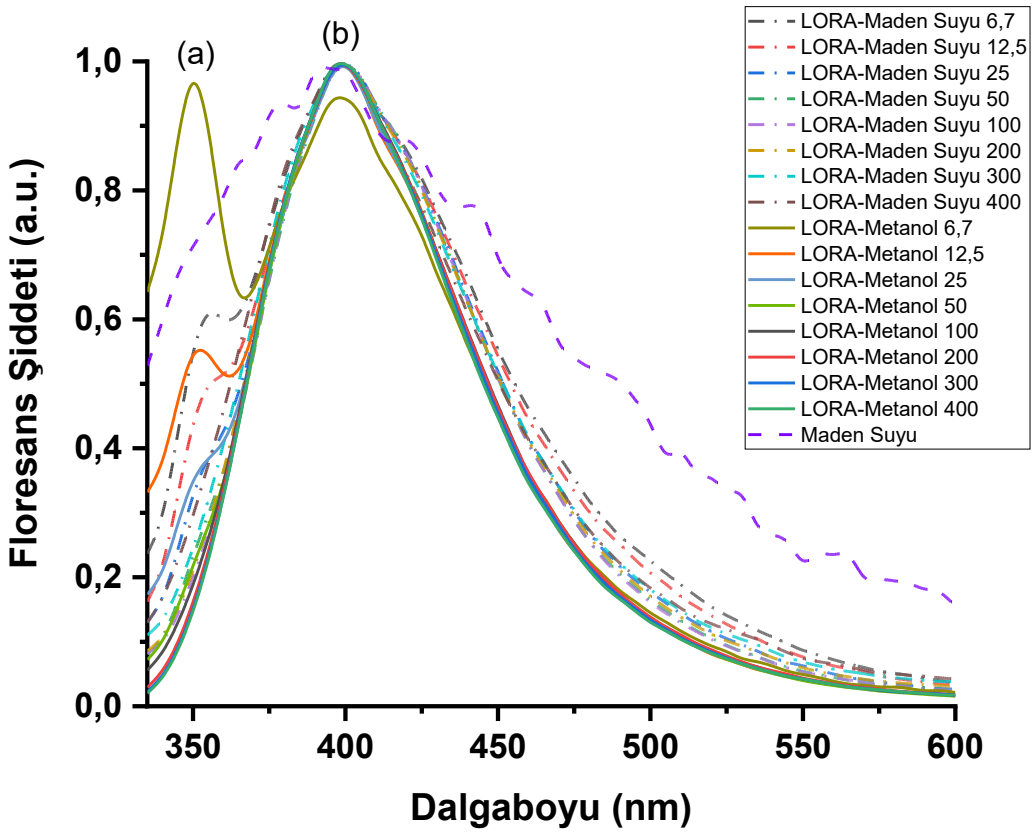


Şekil 77. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

Şekil 77'de görülen LORA tablet–roze şarap örneklerinin üçüncü dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, ikinci dereceden türev spektrumlarında gözlenen durumun burada da geçerli olduğu belirlenmiştir.

4.3.9 LORA-Maden Suyu Floresans Spektroskopisi Sonuçları

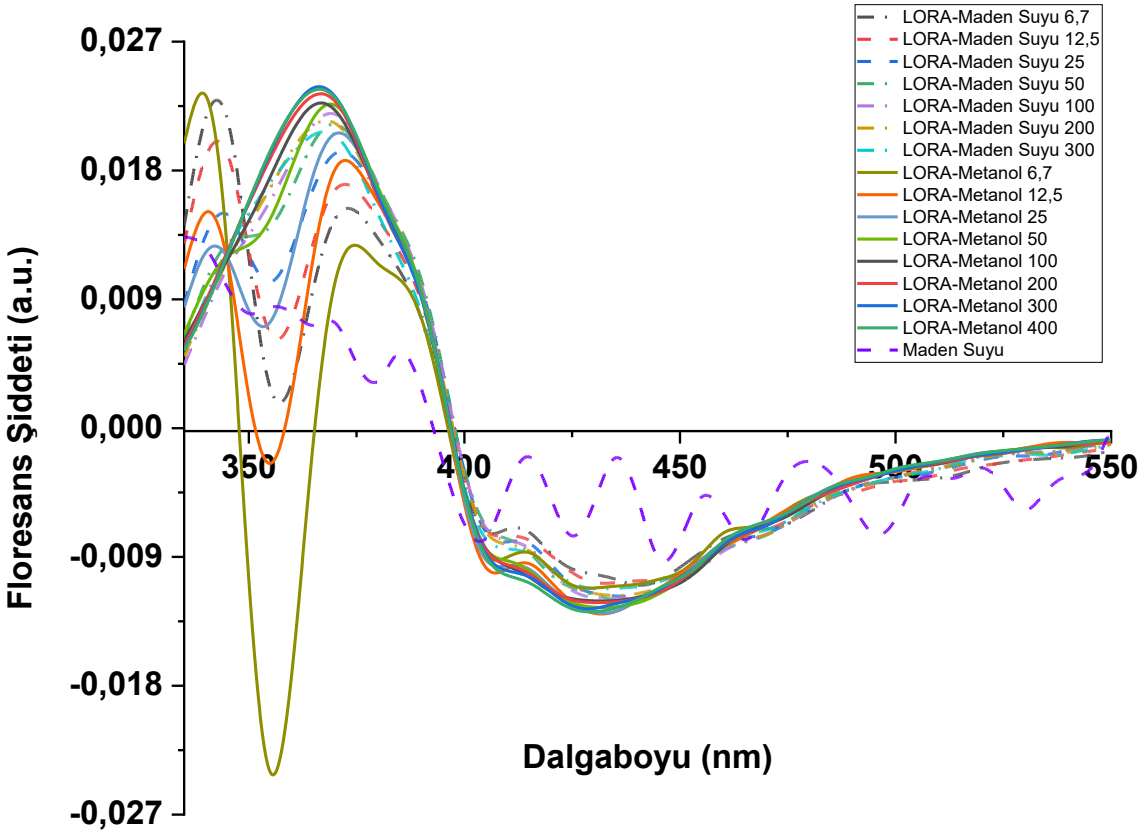
LORA tablet–maden suyu örneklerinin floresans emisyon spektrumları, aynı derişimlerdeki referans çözeltilerin floresans emisyon spektrumları ile karşılaştırılmıştır. Şekil 78'de, LORA tablet–maden suyu örneklerinin ve referans çözeltilerinin floresans emisyon spektrumları karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir.



Şekil 78. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

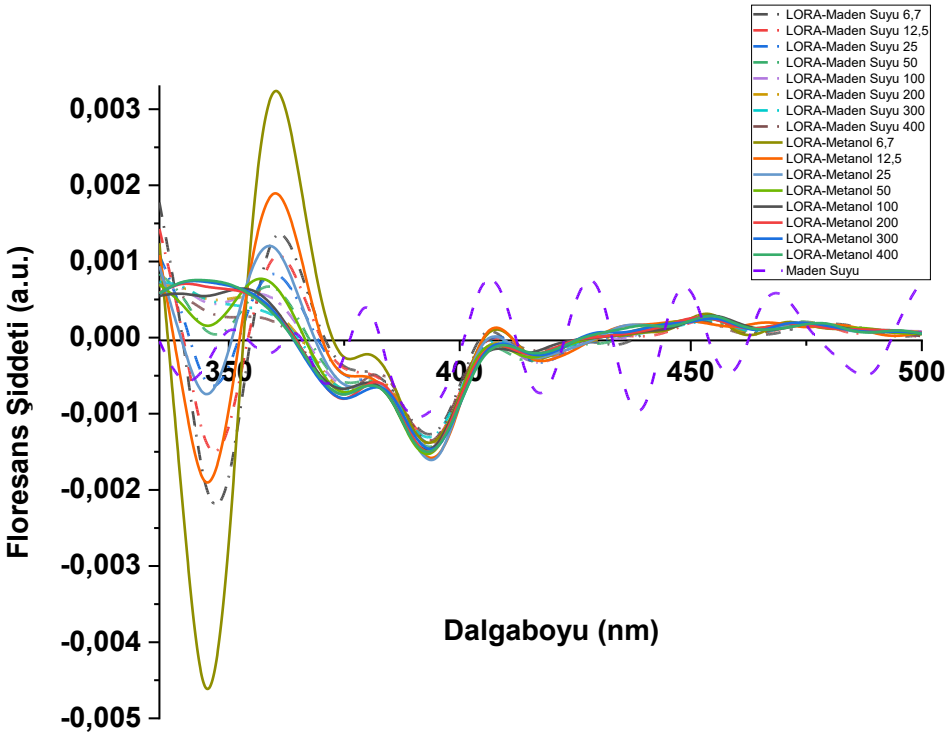
LORA tablet–maden suyu örnekleri, referans çözeltiler ve maden suyu örnekleri benzer floresans emisyon bantlarına sahiptir. Maden suyu spektrumu, diğerlerine kıyasla daha geniş bir emisyon bandı sergilemektedir. Bununla birlikte, düşük derişimli referans çözeltilerinde 350 nm'nin altında keskin bir bant gözlenmiş olup, bu bandın gürültü kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. 50 µg/mL'nin üzerindeki derişimlerde ise bu bant gözlenmemektedir.

Şekil 79, 80 ve 81'de, LORA tablet–maden suyu örneklerinin referans çözeltiler ile karşılaştırmalı olarak birinci, ikinci ve üçüncü dereceden floresans türev spektrumları gösterilmektedir.

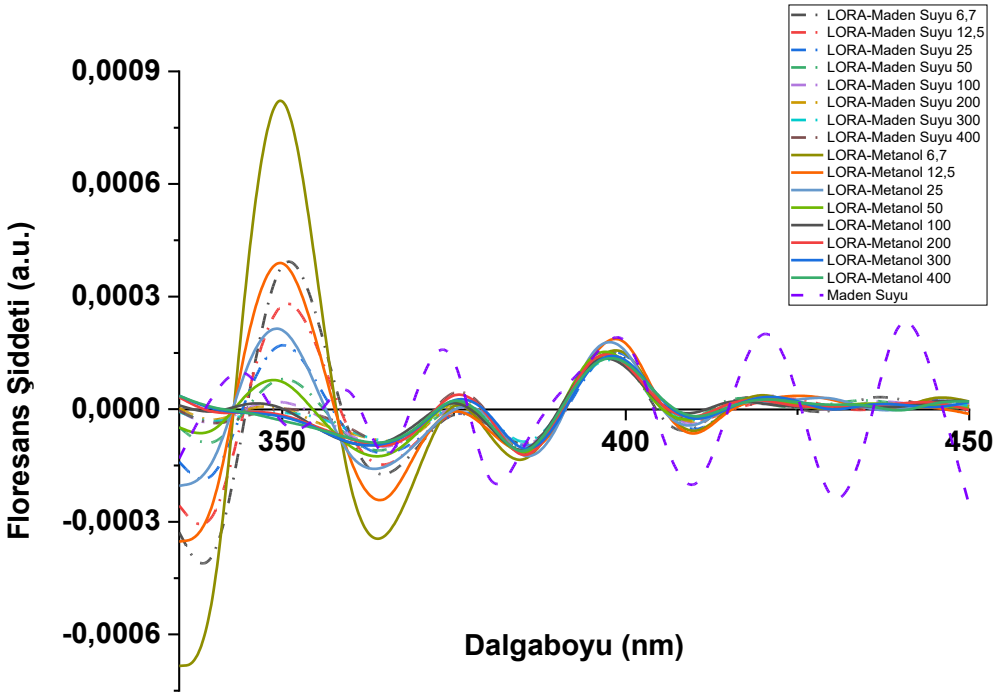


Şekil 79. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

LORA tablet–maden suyu örneklerinin birinci, ikinci ve üçüncü dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, düşük derişimli referans çözelti ölçümleri haricinde, tüm referans çözelti ölçümleri ile örneklerin yüksek uyum gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 79-81). Buna karşılık, maden suyunun türev spektrumları hem örneklerden hem de referanslardan belirgin şekilde farklılık sergilemiştir. Türev spektrumlarının genel değerlendirmesi, üç spektrum tipinin de LORA tablet–maden suyu örneklerinde tayin amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Pik şiddetlerinin daha yüksek olması nedeniyle birinci dereceden türev spektrumunun, ayrıca tayin amacıyla birinci veya ikinci dereceden türev spektrumlarının tercih edilmesinin uygun olacağı öngörülmektedir.



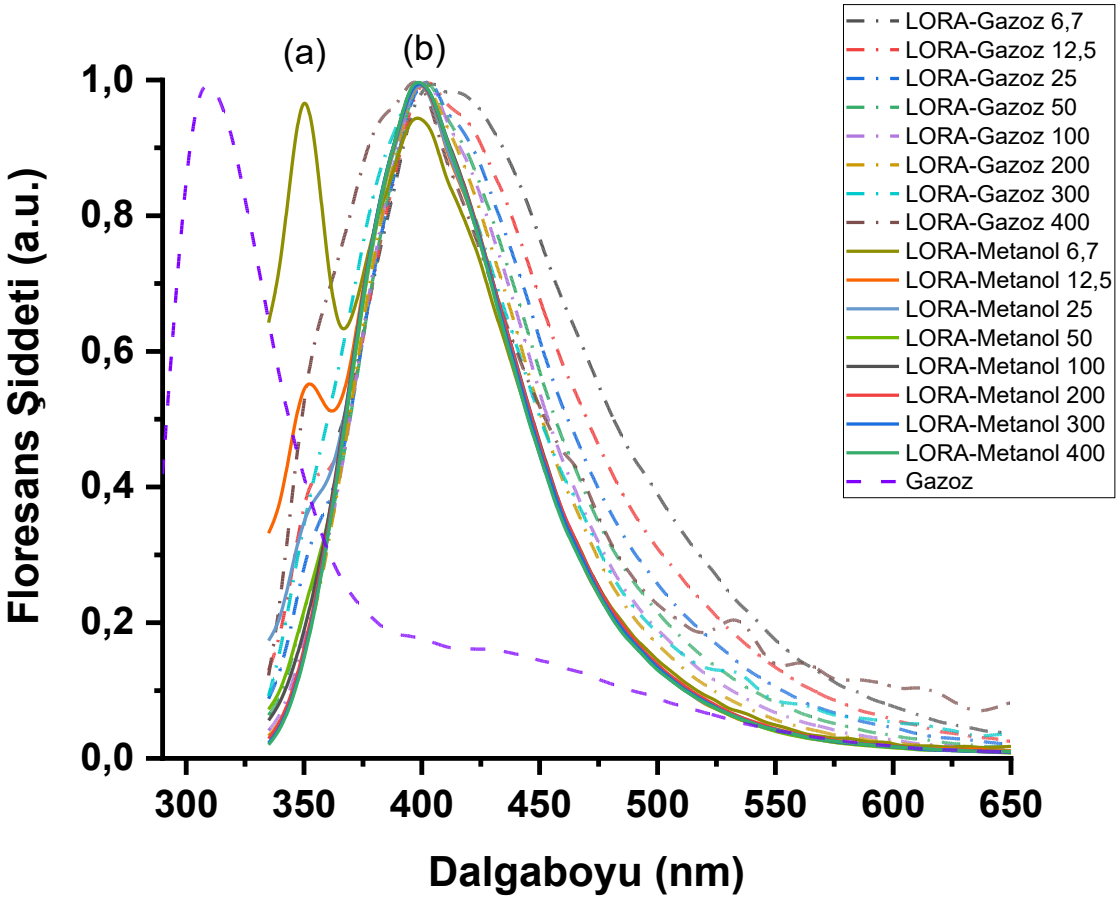
Şekil 80. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.



Şekil 81. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

4.3.10. LORA-Gazoz Floresans Spektroskopisi Sonuçları

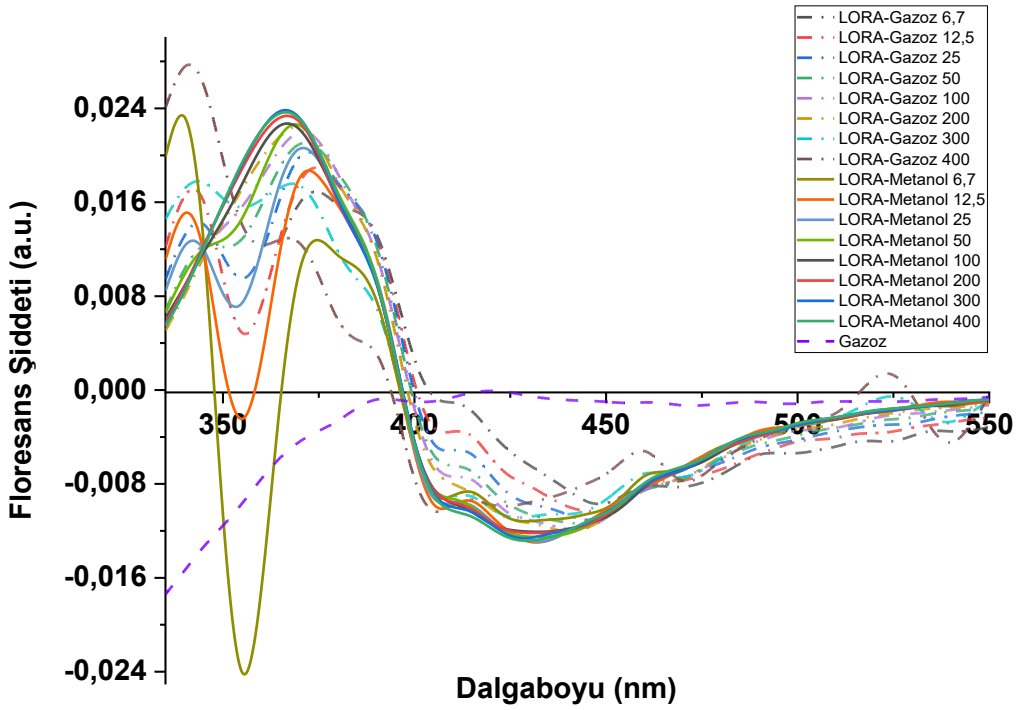
LORA tablet–gazoz örneklerinin analizinde floresans spektroskopisinin kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla, örneklerin floresans emisyon spektrumları ve floresans türev spektrumları incelenmiştir. Şekil 82'de LORA tablet–gazoz örneklerinin ve referans çözeltilerinin floresans emisyon spektrumları görülmektedir.



Şekil 82. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde floresans spektrumu.

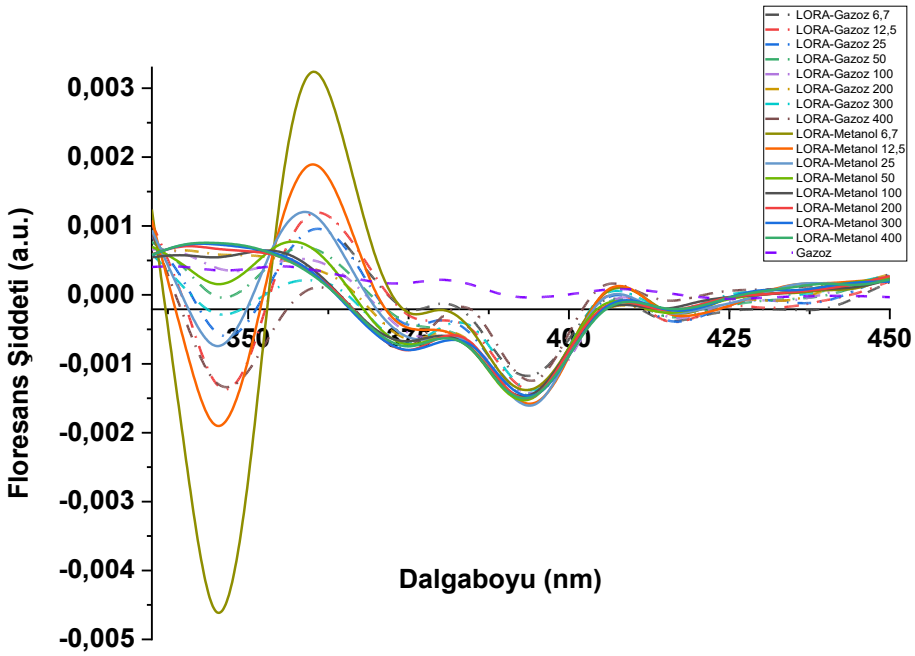
LORA tablet–gazoz örneklerinin floresans emisyon spektrumları incelendiğinde, referans çözeltiler ile tam uyumlu emisyon bantlarına sahip oldukları görülmektedir. Gazozun kendisine ait floresans emisyon spektrumu incelendiğinde ise 300–375 nm aralığında bir emisyon bandı sergilediği belirlenmiştir.

Şekil 83, 84 ve 85'te sırasıyla LORA tablet–gazoz örneklerinin ve bu örneklerle aynı derişimlerdeki referans çözeltilerin birinci, ikinci ve üçüncü dereceden floresans türev spektrumları gösterilmektedir.

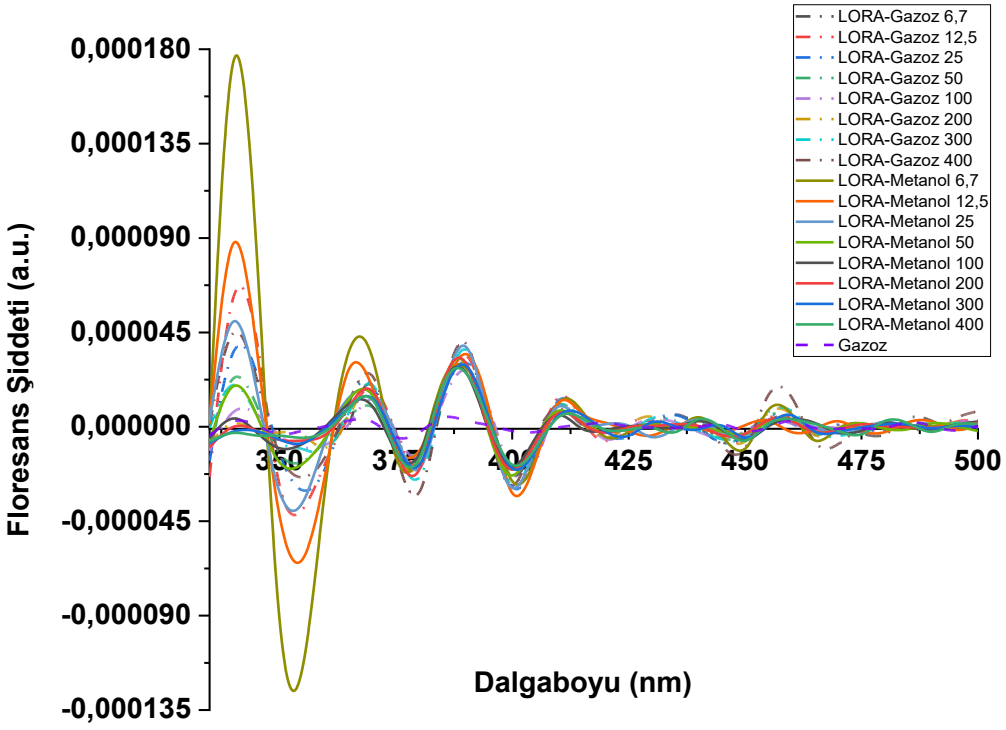


Şekil 83. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde birinci dereceden emisyon türev spektrumu.

Birinci, ikinci ve üçüncü dereceden floresans türev spektrumları incelendiğinde, 50 µg/mL ve üzerindeki derişimlerde, örnek çözeltilerin emisyon bantları arasında ve referans çözeltiler ile karşılaştırıldığında büyük oranda örtüşme gözlenmiştir. Gazoz ise her üç türev spektrumunda da hem örneklerden hem de referans çözeltilerden belirgin şekilde farklı bir davranış sergilemekte ve herhangi bir girişime neden olmamaktadır.



Şekil 84. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde ikinci dereceden emisyon türev spektrumu.



Şekil 85. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde üçüncü dereceden emisyon türev spektrumu.

Elde edilen sonuçlar, 50 µg/mL üzerindeki örneklerde her üç türev spektrumunun da LORA tablet–gazoz örneklerinin tayininde kullanılabileceğini göstermektedir. Bununla

birlikte, bant şiddetleri dikkate alındığında, üçüncü dereceden türev spektrumunun oldukça düşük sinyal verdiği belirlenmiştir. Bu nedenle, tayin amacıyla birinci ve ikinci dereceden türev spektrumlarının kullanımı daha uygun görünmektedir.

5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI

5.1. Korelasyon Matrisi Analizi

5.1.1. Alprazolam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi

Bu çalışmada, farklı ALP derişimlerinde hazırlanan örneklerin UV- Gör spektrumları karşılaştırılmış ve içecek, ALP-içecek ve ALP matrisleri arasındaki benzerlik düzeyleri korelasyon katsayıları kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalama korelasyon katsayılarının renklendirilmiş olarak sunulduğu Şekil 86-90'da, her bir ALP derişiminden elde edilen spektral verilerin birbirleriyle olan ilişkisi görsel olarak ortaya konmuştur. Spektrumlarda da gözlenen ikili bant yapıları (210–400 ve 500-660 nm) bu bölümde birinci ve ikinci bölge olarak adlandırılmıştır.

		ALP	6,7 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	12,5 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	25 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	50 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.5406	0.5590	0.0546	0.5564	0.5771	0.0546	0.5742	0.6173	0.0546	0.6248	0.6659	0.0546
	1. Der Türev	0.4419	0.4859	0.0501	0.4822	0.5192	0.0501	0.5083	0.5654	0.0501	0.5696	0.5898	0.0501
	2. Der Türev	0.2996	0.3616	0.0145	-0.3270	-0.2959	-0.0347	0.3883	0.4247	0.0145	0.4231	0.3704	0.0145
	3. Der Türev	0.3808	0.5037	0.1287	0.4908	0.5994	0.1287	0.5650	0.6604	0.1287	0.6595	0.5822	0.1287
	4. Der Türev	0.3838	0.5186	0.3765	0.5022	0.6254	0.3765	0.5829	0.6949	0.3765	0.6936	0.6041	0.3765
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6139	0.6924	0.5696	0.7097	0.6248	0.5696	0.7134	0.6357	0.5696	0.6754	0.6115	0.5696
	1. Der Türev	0.4261	0.4644	0.2305	0.4885	0.4730	0.2305	0.5146	0.4594	0.2305	0.5035	0.4387	0.2305
	2. Der Türev	0.3464	0.3581	0.2980	-0.1840	-0.1383	-0.1520	0.3829	0.3265	0.2980	0.3864	0.2817	0.2980
	3. Der Türev	0.4642	0.4686	0.4093	0.4920	0.4585	0.4093	0.4955	0.4766	0.4093	0.5406	0.4411	0.4093
	4. Der Türev	0.4811	0.4696	0.4368	0.5036	0.4343	0.4368	0.4964	0.4736	0.4368	0.5345	0.4546	0.4368

		ALP	100 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	200 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	300 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	400 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	450 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.6803	0.6896	0.0546	0.6934	0.6904	0.0546	0.6941	0.6859	0.0546	0.6909	0.6832	0.0546	0.6894	0.6822	0.0546
	1. Der Türev	0.5873	0.5856	0.0501	0.5823	0.5462	0.0501	0.5588	0.5120	0.0501	0.5342	0.4914	0.0501	0.5238	0.4854	0.0501
	2. Der Türev	0.3556	0.3590	0.0145	0.3589	0.3247	0.0145	0.3412	0.2784	0.0145	0.3098	0.2475	0.0145	0.2945	0.2395	0.0145
	3. Der Türev	0.6090	0.6632	0.1287	0.6745	0.5981	0.1287	0.6393	0.4593	0.1287	0.5529	0.3850	0.1287	0.5044	0.3682	0.1287
	4. Der Türev	0.6673	0.7188	0.3765	0.7247	0.6645	0.3765	0.7031	0.4758	0.3765	0.6104	0.3794	0.3765	0.5398	0.3612	0.3765
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6442	0.5942	0.5696	0.6139	0.5923	0.5696	0.6102	0.5899	0.5696	0.6071	0.5902	0.5696	0.6084	0.5884	0.5696
	1. Der Türev	0.4602	0.4282	0.2305	0.4363	0.4202	0.2305	0.4205	0.4177	0.2305	0.4157	0.4152	0.2305	0.4142	0.4142	0.2305
	2. Der Türev	0.3237	0.2637	0.2980	0.2732	0.2394	0.2980	0.2372	0.2334	0.2980	0.2277	0.2284	0.2980	0.2270	0.2251	0.2980
	3. Der Türev	0.5071	0.4170	0.4093	0.4299	0.3592	0.4093	0.3493	0.3448	0.4093	0.3255	0.3359	0.4093	0.3243	0.3251	0.4093
	4. Der Türev	0.5322	0.4485	0.4368	0.4643	0.3569	0.4368	0.3433	0.3307	0.4368	0.2986	0.3225	0.4368	0.2966	0.3007	0.4368

Şekil 86. ALP-Votka Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

Alp-Votka ölçümlerine dayanan analizlerde, içecek örneklerinin, ALP içeren tüm örneklerden düşük korelasyon değerleri ile ayrıştığı görülmüştür. Bu bulgu, içeceğin spektral profilinin ALP eklenmesiyle belirgin şekilde değiştiğini göstermektedir. Buna karşılık, farklı derişimlerdeki ALP örnekleri kendi aralarında yüksek korelasyon göstermiştir. Dolayısıyla hem birinci hem de ikinci bölge değerlendirmelerinde içecekler ile ALP içeren örnekler arasında net bir ayrım ortaya çıkmış, referans ALP gruplarının ise homojen bir spektral davranış sergilediği belirlenmiştir.

Öte yandan, ALP- içecek ile ALP örneklerinin ortalama korelasyon değerlerinin, özellikle ALP'nin miktarının artmasıyla birlikte önemli ölçüde yükselmiştir. Bu bulgu, artan ALP derişiminin UV-Gör spektrumu üzerinde daha baskın hale geldiğini ve içeceğin spektrumunu ALP spektral profiline yaklaştırdığını göstermektedir.

Beklendiği üzere, içecek ile referans ALP spektrumlarına ait ortalama korelasyon katsayıları her iki örnek grubu için de oldukça düşüktür. Bu durum, bu iki matrisin kimyasal bileşimlerinin birbirinden tamamen farklı olduğunu ve UV-Gör spektrumlarının da bu farklılığı yansıttığını göstermektedir.

		ALP	6,7 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	12,5 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	25 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	50 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.5406	0.6404	0.6338	0.5564	0.6376	0.6338	0.5742	0.6377	0.6338	0.6248	0.6376	0.6338
	1. Der Türev	0.4419	0.5357	0.5277	0.4822	0.5313	0.5277	0.5083	0.5302	0.5277	0.5696	0.5305	0.5277
	2. Der Türev	0.2996	0.3813	0.3770	0.3550	0.3788	0.3770	0.3883	0.3773	0.3770	0.4231	0.3803	0.3770
	3. Der Türev	0.3808	0.6600	0.6526	0.4908	0.6542	0.6526	0.5650	0.6483	0.6526	0.6595	0.6589	0.6526
	4. Der Türev	0.3838	0.7157	0.7105	0.5022	0.7057	0.7105	0.5829	0.6930	0.7105	0.6936	0.7102	0.7105
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6139	0.5362	0.4638	0.7097	0.5719	0.4638	0.7134	0.6408	0.4638	0.6754	0.6195	0.4638
	1. Der Türev	0.4261	0.0854	0.1953	0.4885	0.1083	0.1953	0.5146	0.2161	0.1953	0.5035	0.2649	0.1953
	2. Der Türev	0.3464	0.0949	0.3346	0.3707	0.0276	0.3346	0.3829	0.0292	0.3346	0.3864	0.1012	0.3346
	3. Der Türev	0.4642	0.1124	0.4562	0.4920	0.0068	0.4562	0.4955	-0.0539	0.4562	0.5406	0.0701	0.4562
	4. Der Türev	0.4811	0.1526	0.4839	0.5036	0.0681	0.4839	0.4964	-0.0244	0.4839	0.5345	0.1009	0.4839

		ALP	100 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	200 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	300 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	400 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	450 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.6803	0.6335	0.6338	0.6934	0.6315	0.6338	0.6941	0.6290	0.6338	0.6909	0.6259	0.6338	0.6894	0.6244	0.6338
	1. Der Türev	0.5873	0.5257	0.5277	0.5823	0.5200	0.5277	0.5588	0.5153	0.5277	0.5342	0.5111	0.5277	0.5238	0.5078	0.5277
	2. Der Türev	0.3556	0.3809	0.3770	0.3589	0.3737	0.3770	0.3412	0.3678	0.3770	0.3098	0.3652	0.3770	0.2945	0.3610	0.3770
	3. Der Türev	0.6090	0.6672	0.6526	0.6745	0.6472	0.6526	0.6393	0.6312	0.6526	0.5529	0.6305	0.6526	0.5044	0.6232	0.6526
	4. Der Türev	0.6673	0.7223	0.7105	0.7247	0.6937	0.7105	0.7031	0.6674	0.7105	0.6104	0.6743	0.7105	0.5398	0.6639	0.7105
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6442	0.5356	0.4638	0.6139	0.4680	0.4638	0.6102	0.4417	0.4638	0.6071	0.4138	0.4638	0.6084	0.4196	0.4638
	1. Der Türev	0.4602	0.2764	0.1953	0.4363	0.2877	0.1953	0.4205	0.2871	0.1953	0.4157	0.2843	0.1953	0.4142	0.2865	0.1953
	2. Der Türev	0.3237	0.0905	0.3346	0.2732	0.1473	0.3346	0.2372	0.1391	0.3346	0.2277	0.1335	0.3346	0.2270	0.1447	0.3346
	3. Der Türev	0.5071	-0.0098	0.4562	0.4299	0.1993	0.4562	0.3493	0.1851	0.4562	0.3255	0.1542	0.4562	0.3243	0.2116	0.4562
	4. Der Türev	0.5322	-0.0562	0.4839	0.4643	0.2084	0.4839	0.3433	0.1867	0.4839	0.2986	0.1433	0.4839	0.2966	0.2554	0.4839

Şekil 87. ALP-Beyaz şarap Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

ALP-beyaz şarap ölçümleri incelendiğinde hem birinci bölge hem de ikinci bölge örneklerinde UV-Gör spektrumları üzerinden elde edilen ortalama korelasyonlar, ALP'nin matrise etkisinin derişime bağlı olarak arttığını, ancak matrisin yapısal farklılıklarının bu etkiyi değiştirdiğini göstermektedir. İkinci bölge örnekleri daha düşük derişimlerde ayrışma gösterirken, birinci bölge örneklerinde spektral benzerlik daha uzun süre korunmaktadır.

		ALP	6,7 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	12,5 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	25 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	50 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.5406	0.5557	0.5144	0.5564	0.5543	0.5144	0.5742	0.5548	0.5144	0.6248	0.5542	0.5144
	1. Der Türev	0.4419	0.4561	0.4343	0.4822	0.4549	0.4343	0.5083	0.4558	0.4343	0.5696	0.4556	0.4343
	2. Der Türev	0.2996	0.3350	0.2883	0.3550	0.3327	0.2883	0.3883	0.3348	0.2883	0.4231	0.3334	0.2883
	3. Der Türev	0.3808	0.5191	0.4194	0.4908	0.5039	0.4194	0.5650	0.5136	0.4194	0.6595	0.5090	0.4194
	4. Der Türev	0.3838	0.5551	0.4468	0.5022	0.5232	0.4468	0.5829	0.5425	0.4468	0.6936	0.5366	0.4468
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6139	0.5849	0.5459	0.7097	0.5962	0.5459	0.7134	0.6440	0.5459	0.6754	0.6891	0.5459
	1. Der Türev	0.4261	0.2769	0.0034	0.4885	0.3177	0.0034	0.5146	0.4147	0.0034	0.5035	0.4678	0.0034
	2. Der Türev	0.3464	0.3354	0.0311	0.3707	0.3342	0.0311	0.3829	0.3450	0.0311	0.3864	0.3577	0.0311
	3. Der Türev	0.4642	0.4583	0.0105	0.4920	0.4462	0.0105	0.4955	0.4543	0.0105	0.5406	0.4690	0.0105
	4. Der Türev	0.4811	0.4875	-0.0033	0.5036	0.4667	-0.0033	0.4964	0.4797	-0.0033	0.5345	0.4867	-0.0033

		ALP	100 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	200 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	300 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	400 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	450 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.6803	0.5541	0.5144	0.6934	0.5559	0.5144	0.6941	0.5563	0.5144	0.6909	0.5557	0.5144	0.6894	0.5627	0.5144
	1. Der Türev	0.5873	0.4538	0.4343	0.5823	0.4549	0.4343	0.5588	0.4534	0.4343	0.5342	0.4520	0.4343	0.5238	0.4637	0.4343
	2. Der Türev	0.3556	0.3325	0.2883	0.3589	0.3325	0.2883	0.3412	0.3319	0.2883	0.3098	0.3330	0.2883	0.2945	0.3486	0.2883
	3. Der Türev	0.6090	0.5121	0.4194	0.6745	0.5087	0.4194	0.6393	0.5077	0.4194	0.5529	0.5154	0.4194	0.5044	0.5289	0.4194
	4. Der Türev	0.6673	0.5453	0.4468	0.7247	0.5424	0.4468	0.7031	0.5368	0.4468	0.6104	0.5520	0.4468	0.5398	0.5652	0.4468
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6442	0.7016	0.5459	0.6139	0.6189	0.5459	0.6102	0.5367	0.5459	0.6071	0.4910	0.5459	0.6084	0.4728	0.5459
	1. Der Türev	0.4602	0.4125	0.0034	0.4363	0.3505	0.0034	0.4205	0.3184	0.0034	0.4157	0.3059	0.0034	0.4142	0.2946	0.0034
	2. Der Türev	0.3237	0.3390	0.0311	0.2732	0.2889	0.0311	0.2372	0.2203	0.0311	0.2277	0.1860	0.0311	0.2270	0.1382	0.0311
	3. Der Türev	0.5071	0.4700	0.0105	0.4299	0.4652	0.0105	0.3493	0.4283	0.0105	0.3255	0.3606	0.0105	0.3243	0.1638	0.0105
	4. Der Türev	0.5322	0.4852	-0.0033	0.4643	0.4850	-0.0033	0.3433	0.4856	-0.0033	0.2986	0.4546	-0.0033	0.2966	0.1407	-0.0033

Şekil 88. ALP-Roze şarap Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

Şekil 88'de roze şarap verileri analiz edildiğinde UV-Gör ve birinci türev spektrumları, derişim arttıkça referans ALP giderek daha yüksek ortalama korelasyon göstermektedir. Özellikle 100 µg/mL ve üzeri derişimlerde, bu korelasyonlar 0.70 değerine yaklaşmakta, bu da ALP'nin spektral etkisinin baskın hale geldiğini göstermektedir. Aynı örneklerde içeceğe ait ortalama korelasyonlar genellikle düşük kalmakta (çoğu <0.35), bu da içecek matrisinin spektral etkisinin derişimle birlikte geri planda kaldığını düşündürmektedir. Üçüncü ve dördüncü türev spektrumları, genel olarak daha düşük korelasyon değerleri sunmaktadır. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, ikinci bölge incelemelerinde içecek ile olan düşük korelasyon ortalamalarının, bu bölgenin spektrumların ayrımında kullanılabilirliğini desteklediği görülmektedir. ALP-roze şarap ölçümleri incelendiğinde hem birinci bölge hem de ikinci bölge örneklerinde UV-Gör spektrumları üzerinden elde edilen ortalama korelasyonlar, ALP'nin matrise etkisinin derişime bağlı olarak arttığını göstermektedir.

İkinci bölge örnekleri daha düşük derişimlerde ayrışma gösterirken, birinci bölge örneklerinde spektral benzerlik daha uzun süre korunmaktadır. İkinci bölgede, örneklerde birinci bölgeye benzer bir eğilim gözlenmekle birlikte, referans ALP ile elde edilen ortalama korelasyon değerleri genellikle ilk bölgeye kıyasla daha düşüktür. UV absorbans korelasyon değerleri, yüksek derişimlerde çoğunlukla 0.68–0.71 aralığında seyretmiştir. Bu durum, ikinci bölgeye ait örnek matrislerinin spektral tepkisinin ALP'ye karşı daha dirençli veya daha karmaşık bir yapıya sahip olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, içecek ile ortalama korelasyon değerlerinin oldukça düşük —çoğu durumda 0.2'nin altında— kalması, matris karakteristiğinin yüksek değişkenlik gösterdiğini ve ALP'nin

etkisinin örnekten örneğe farklılık arz ettiğini ortaya koymaktadır. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, ikinci bölge incelemelerinde içecek ile olan düşük korelasyon ortalamalarının, bu bölgenin spektrumların ayrımında kullanılabilirliğini desteklediği görülmektedir.

		ALP	6,7 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	12,5 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	25 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	50 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.5406	0.5184	0.2864	0.5564	0.5338	0.2864	0.5742	0.5351	0.2864	0.6248	0.5452	0.2864
	1. Der Türev	0.4419	0.3006	0.2730	0.4822	0.3632	0.2730	0.5083	0.3684	0.2730	0.5696	0.4063	0.2730
	2. Der Türev	-0.1887	-0.1911	0.0184	-0.1932	-0.1952	0.0184	-0.1905	-0.1956	0.0184	-0.1520	-0.1950	0.0184
	3. Der Türev	0.3808	0.0390	0.5592	0.4908	0.2309	0.5592	0.5650	0.2098	0.5592	0.6595	0.3030	0.5592
	4. Der Türev	0.3838	0.0232	0.6419	0.5022	0.2294	0.6419	0.5829	0.2104	0.6419	0.6936	0.3173	0.6419
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6139	-0.2408	0.1890	0.7097	0.6119	0.1890	0.7134	0.6317	0.1890	0.6754	0.5553	0.1890
	1. Der Türev	0.4261	0.3049	0.0271	0.4885	0.4717	0.0271	0.5146	0.4753	0.0271	0.5035	0.4488	0.0271
	2. Der Türev	-0.0432	-0.1577	0.0027	-0.0044	-0.0308	0.0027	-0.0019	-0.0045	0.0027	-0.0058	-0.0233	0.0027
	3. Der Türev	0.4642	0.1832	0.0908	0.4920	0.3406	0.0908	0.4955	0.4106	0.0908	0.5406	0.3721	0.0908
	4. Der Türev	0.4811	0.1911	0.1106	0.5036	0.3413	0.1106	0.4964	0.3944	0.1106	0.5345	0.3577	0.1106

		ALP	100 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	200 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	300 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	400 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	450 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.6803	0.5875	0.2864	0.6934	0.6411	0.2864	0.6941	0.6667	0.2864	0.6909	0.6873	0.2864	0.6894	0.6964	0.2864
	1. Der Türev	0.5873	0.4865	0.2730	0.5823	0.5683	0.2730	0.5588	0.5949	0.2730	0.5342	0.6088	0.2730	0.5238	0.6137	0.2730
	2. Der Türev	-0.1002	-0.1916	0.0184	-0.0761	-0.1669	0.0184	-0.0682	-0.1421	0.0184	-0.0629	-0.1217	0.0184	-0.0597	-0.1157	0.0184
	3. Der Türev	0.6090	0.5078	0.5592	0.6745	0.6606	0.5592	0.6393	0.6456	0.5592	0.5529	0.6108	0.5592	0.5044	0.5948	0.5592
	4. Der Türev	0.6673	0.5400	0.6419	0.7247	0.7094	0.6419	0.7031	0.6782	0.6419	0.6104	0.6292	0.6419	0.5398	0.6136	0.6419
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6442	0.5701	0.1890	0.6139	0.5761	0.1890	0.6102	0.5676	0.1890	0.6071	0.5689	0.1890	0.6084	0.5696	0.1890
	1. Der Türev	0.4602	0.4361	0.0271	0.4363	0.4316	0.0271	0.4205	0.4272	0.0271	0.4157	0.4269	0.0271	0.4142	0.4253	0.0271
	2. Der Türev	-0.0101	-0.0190	0.0027	-0.0187	-0.0168	0.0027	-0.0196	-0.0178	0.0027	-0.0198	-0.0167	0.0027	-0.0194	-0.0167	0.0027
	3. Der Türev	0.5071	0.3403	0.0908	0.4299	0.3611	0.0908	0.3493	0.3485	0.0908	0.3255	0.3451	0.0908	0.3243	0.3329	0.0908
	4. Der Türev	0.5322	0.2940	0.1106	0.4643	0.3373	0.1106	0.3433	0.3416	0.1106	0.2986	0.3341	0.1106	0.2966	0.3120	0.1106

Şekil 89. ALP-Maden suyu Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

Şekil 89'da ALP-Maden suyu verilerinin analizinde derişim arttıkça spektral profilin referans ALP'ye daha çok yaklaştığını ve ALP'nin spektral katkısının baskın hale geldiğini göstermektedir. Buna karşın, içecek ile korelasyonlar genellikle düşük kalmaktadır (çoğunlukla <0.3). Üçüncü ve dördüncü türev spektrumlarında, korelasyonlar belirli bir seviyeye kadar çıkmakta ancak UV-Gör absorpsiyon ve birinci türev kadar güçlü bir eğilim sergilememektedir.

İkinci bölge örneklerinde benzer bir eğilim söz konusu olmakla birlikte, genel olarak korelasyon değerleri daha düşüktür. UV-Gör absorpsiyon ve birinci türev spektrumlarında, yüksek derişimlerde referans ALP ile korelasyonun 0.7 civarında sınırlı kaldığı (örneğin 0.68–0.72 arası) gözlemlenmiştir. Ayrıca, referans ALP ile korelasyonların burada da yüksek olduğu ve matrisin kendi spektral etkisinin zayıf kalmaya devam ettiği anlaşılmaktadır.

		ALP	6,7 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	12,5 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	25 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	50 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.5406	0.6228	0.6026	0.5564	0.6379	0.6026	0.5742	0.6588	0.6026	0.6248	0.6823	0.6026
	1. Der Türev	0.4419	0.4890	0.4563	0.4822	0.5140	0.4563	0.5083	0.5605	0.4563	0.5696	0.6061	0.4563
	2. Der Türev	0.2996	0.3523	0.3360	0.3550	0.3622	0.3360	0.3883	0.3745	0.3360	0.4231	0.3905	0.3360
	3. Der Türev	0.3808	0.5222	0.4935	0.4908	0.5363	0.4935	0.5650	0.5327	0.4935	0.6595	0.5558	0.4935
	4. Der Türev	0.3838	0.5275	0.4887	0.5022	0.5418	0.4887	0.5829	0.5172	0.4887	0.6936	0.5377	0.4887
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6139	0.5995	0.2827	0.7097	0.6364	0.2827	0.7134	0.5989	0.2827	0.6754	0.6292	0.2827
	1. Der Türev	0.4261	0.3284	0.1342	0.4885	0.3513	0.1342	0.5146	0.4005	0.1342	0.5035	0.4196	0.1342
	2. Der Türev	0.3464	0.3244	0.1999	0.3707	0.3252	0.1999	0.3829	0.3279	0.1999	0.3864	0.3417	0.1999
	3. Der Türev	0.4642	0.4421	0.2843	0.4920	0.4384	0.2843	0.4955	0.4425	0.2843	0.5406	0.4513	0.2843
	4. Der Türev	0.4811	0.4679	0.3307	0.5036	0.4640	0.3307	0.4964	0.4609	0.3307	0.5345	0.4703	0.3307

		ALP	100 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	200 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	300 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	400 µg/mL ALP+İçecek	İçecek	ALP	450 µg/mL ALP+İçecek	İçecek
İlk bölüm	UV absorbans	0.6803	0.6921	0.6026	0.6934	0.7000	0.6026	0.6941	0.7022	0.6026	0.6909	0.7013	0.6026	0.6894	0.7007	0.6026
	1. Der Türev	0.5873	0.6040	0.4563	0.5823	0.5789	0.4563	0.5588	0.5717	0.4563	0.5342	0.5615	0.4563	0.5238	0.5563	0.4563
	2. Der Türev	0.3556	0.3741	0.3360	0.3589	0.3361	0.3360	0.3412	0.3417	0.3360	0.3098	0.3363	0.3360	0.2945	0.3312	0.3360
	3. Der Türev	0.6090	0.5984	0.4935	0.6745	0.6061	0.4935	0.6393	0.6279	0.4935	0.5529	0.6154	0.4935	0.5044	0.5845	0.4935
	4. Der Türev	0.6673	0.6223	0.4887	0.7247	0.6414	0.4887	0.7031	0.6684	0.4887	0.6104	0.6740	0.4887	0.5398	0.6440	0.4887
İkinci bölüm	UV absorbans	0.6442	0.5382	0.2827	0.6139	0.4608	0.2827	0.6102	0.4305	0.2827	0.6071	0.4111	0.2827	0.6084	0.3858	0.2827
	1. Der Türev	0.4602	0.3842	0.1342	0.4363	0.3435	0.1342	0.4205	0.3202	0.1342	0.4157	0.3010	0.1342	0.4142	0.2822	0.1342
	2. Der Türev	0.3237	0.3416	0.1999	0.2732	0.3201	0.1999	0.2372	0.2759	0.1999	0.2277	0.2113	0.1999	0.2270	0.1256	0.1999
	3. Der Türev	0.5071	0.4449	0.2843	0.4299	0.4625	0.2843	0.3493	0.4428	0.2843	0.3255	0.4013	0.2843	0.3243	0.1116	0.2843
	4. Der Türev	0.5322	0.4551	0.3307	0.4643	0.4794	0.3307	0.3433	0.4546	0.3307	0.2986	0.4318	0.3307	0.2966	0.0653	0.3307

Şekil 90. ALP-Gazoz Ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

Şekil 90'da yer alan ALP-Gazoz ölçümlerinin UV spektrumlarına ait ortalama korelasyon değerleri incelendiğinde; ikinci bölge verilerine göre, 6.7 µg/mL'den 50 µg/mL'ye kadar olan derişim aralığında, UV-Gör absorpsiyon spektrumlarının referans ALP ve ALP-içecek örneklerinin diğer tüm ölçümlere olan ortalama korelasyonu orta düzeyde olup (açık kırmızı ve beyaz tonlar), içeceğin ortalama korelasyonları daha düşüktür (mavi tonlar). Bu durum, düşük ve orta düzeydeki derişimlerde spektrumun hem ALP'ye hem de matris etkisine kısmen duyarlı olduğunu göstermektedir. 100 µg/mL ve üzerindeki derişimlerde, UV-Gör ve 1. türev spektrumlarının referans ALP ile korelasyonlarının giderek arttığı ve koyu kırmızı tonlara ulaştığı görülmektedir. Bu, ALP'nin spektral profile baskın şekilde etki etmeye başladığını ve matrisi ikincil plana ittiğini göstermektedir. Aynı aralıkta referans ALP ile korelasyonlar belirgin şekilde düşük kalmakta veya mavi tonlara geçmektedir.

İkinci bölüm verileri incelendiğinde, daha düşük korelasyon değerleri gözlenmektedir. Özellikle UV-Gör absorpsiyon ve birinci türev verileri, yüksek derişimlerde bile referans ALP yeterince güçlü korelasyon göstermemektedir. Bu durum, ikinci bölümdeki matrisin ilaca karşı spektral olarak daha farklı tepki verdiğini ve belki de farklı katkı maddelerinin ya da ortam koşullarının etkili olduğunu düşündürmektedir. Özellikle üçüncü ve dördüncü türev spektrumlarında, genel olarak korelasyon düzeylerinin düşük kalması (baskın mavi tonlar) bu tür türevlerin spektral ayrımı güçleştirdiğini veya daha az belirgin yapılar oluşturduğunu göstermektedir.

5.1.2. Lorazepam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi

Lorazepam içeren örneklerin UV absorbans ve türev spektrumlarının farklı derişimlerde seviyelerinde üç farklı durum (referans LORA, LORA-İçecek karışımı ve içecek) için birbirleri ile olan benzerliği/farklılığı korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen ortalama korelasyon katsayıları renk skalasına göre görselleştirilmiş olup, veriler üzerinden derişim etkisi ve referans farklılıkları yorumlanmıştır (Şekil 91-95).

	LORA	6,7 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	12,5 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	25 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	50 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.4694	0.5062	-0.5453	0.5451	0.5493	-0.5453	0.5832	0.5903	-0.5453	0.6404	0.6362	-0.5453
1. Der. Türev	0.3513	0.3762	-0.0070	0.4570	0.4565	-0.0070	0.5206	0.5233	-0.0070	0.5474	0.5468	-0.0070
2. Der. Türev	0.3650	0.4190	0.2745	0.5258	0.5307	0.2745	0.6019	0.6067	0.2745	0.5321	0.5528	0.2745
3. Der. Türev	0.4162	0.4919	0.4204	0.6052	0.6116	0.4204	0.6698	0.6780	0.4204	0.5085	0.5579	0.4204
4. Der. Türev	0.4823	0.5710	0.5516	0.6801	0.6852	0.5516	0.7212	0.7359	0.5516	0.5545	0.6194	0.5516

	LORA	100 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	200 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	300 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	400 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.6786	0.6804	-0.5453	0.7038	0.7052	-0.5453	0.7001	0.6937	-0.5453	0.6877	0.6760	-0.5453
1. Der. Türev	0.5607	0.5626	-0.0070	0.5712	0.5765	-0.0070	0.5606	0.5524	-0.0070	0.5402	0.5256	-0.0070
2. Der. Türev	0.5114	0.5153	0.2745	0.4961	0.5124	0.2745	0.4736	0.4682	0.2745	0.4438	0.4431	0.2745
3. Der. Türev	0.4807	0.4957	0.4204	0.4815	0.5272	0.4204	0.4709	0.4828	0.4204	0.4337	0.4548	0.4204
4. Der. Türev	0.5060	0.5316	0.5516	0.5010	0.5826	0.5516	0.5252	0.5674	0.5516	0.4929	0.5275	0.5516

Şekil 91. LORA-Votka ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

Tüm veri türlerinde (özellikle UV absorbans, birinci ve ikinci türev), LORA derişiminin artmasıyla birlikte referans LORA'nın LORA-içecek ölçümleriyle olan ortalama korelasyon değerlerinde belirgin bir artış gözlemlenmektedir. En yüksek korelasyonlar, 300–400 µg/mL seviyelerinde UV absorbans (0.70–0.69) ve birinci türev spektrumlarında (0.56–0.54) elde edilmiştir. Bu eğilim, spektral profilin artan derişimle birlikte referans LORA'ya daha fazla benzediğini ve LORA etkisinin baskın hale geldiğini göstermektedir.

LORA-içecek olan matrislerde, ortalama korelasyon değerleri UV -Gör absorpsiyon ve birinci türev için genellikle yüksek ve tutarlıdır (örneğin 0.68–0.70 civarında). İkinci, üçüncü ve dördüncü türev spektrumlarında bu korelasyonlar daha düşüktür, ancak 4. türev özellikle bazı derişimlerde yüksek değerler göstermektedir (örneğin 0.73–0.74 aralığı). İçeceğe ait ortalama korelasyonlar negatif ya da düşük pozitif değerdedir. Bu durum kalan veri setlerinin (referans LORA ve LORA-içecek) içecekten sistematik olarak uzaklaştığını ve böylece LORA içeren matrislerde LORA'nın baskın özellik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

	LORA	6,7 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	12,5 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	25 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	50 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.4694	0.6533	0.6524	0.5451	0.6529	0.6524	0.5832	0.6506	0.6524	0.6404	0.6484	0.6524
1. Der. Türev	0.3513	0.5529	0.5537	0.4570	0.5524	0.5537	0.5206	0.5509	0.5537	0.5474	0.5473	0.5537
2. Der. Türev	0.3650	0.5889	0.5896	0.5258	0.5896	0.5896	0.6019	0.5914	0.5896	0.5321	0.5851	0.5896
3. Der. Türev	0.4162	0.6380	0.6378	0.6052	0.6380	0.6378	0.6698	0.6435	0.6378	0.5085	0.6303	0.6378
4. Der. Türev	0.4823	0.7020	0.7031	0.6801	0.6983	0.7031	0.7212	0.7081	0.7031	0.5545	0.6940	0.7031

	LORA	100 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	200 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	300 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	400 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.6786	0.6447	0.6524	0.7038	0.6403	0.6524	0.7001	0.6379	0.6524	0.6877	0.6393	0.6524
1. Der. Türev	0.5607	0.5441	0.5537	0.5712	0.5344	0.5537	0.5606	0.5292	0.5537	0.5402	0.5230	0.5537
2. Der. Türev	0.5114	0.5842	0.5896	0.4961	0.5571	0.5896	0.4736	0.5329	0.5896	0.4438	0.5154	0.5896
3. Der. Türev	0.4807	0.6352	0.6378	0.4815	0.5909	0.6378	0.4709	0.5480	0.6378	0.4337	0.5154	0.6378
4. Der. Türev	0.5060	0.6990	0.7031	0.5010	0.6535	0.7031	0.5252	0.6055	0.7031	0.4929	0.5578	0.7031

Şekil 92. LORA-Beyaz şarap ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri

LORA-beyaz şarap ölçümleri incelendiğinde; UV absorbans verisi tüm derişimlerde her üç matriste de benzer ortalama korelasyon değeri sunmaktadır (genellikle ~0.64–0.70 aralığında). İçeceğe ait ortalama korelasyonlar genellikle diğer referans LORA y ada LORA-içecek ölçümlerine çok yakındır, bu da UV spektrumunun genel profil açısından ayırt ediciliğinin sınırlı olduğunu düşündürebilir. Bu durum LORA ve içecek etkisini tek başına güçlü bir şekilde ayıramadığını göstermektedir.

Birinci türev, özellikle LORA-içecek karışımı verileri için daha tutarlı ve hafifçe yüksek korelasyonlar sağlamaktadır (0.52–0.58). İkinci türevde ise bu korelasyon biraz daha artmakta, ancak yine ölçüm setleri arasında ciddi bir ayrışma gözlenmemektedir. Bu iki türev, UV verisine kıyasla biraz daha fazla ayrım gücü sunmakla birlikte, özellikle derişim artışıyla birlikte korelasyonların sabitlenmesi, bu türevlerin spektral katkıyı sınırlı ölçüde yansıttığını göstermektedir.

	LORA	6,7 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	12,5 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	25 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	50 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.4694	0.6119	0.5808	0.4694	0.6119	0.5808	0.5832	0.6113	0.5808	0.6404	0.6115	0.5808
1. Der. Türev	0.3513	0.4842	0.4241	0.4570	0.4843	0.4241	0.5206	0.4814	0.4241	0.5474	0.4824	0.4241
2. Der. Türev	0.3650	0.4640	0.3879	0.5258	0.4654	0.3879	0.6019	0.4607	0.3879	0.5321	0.4648	0.3879
3. Der. Türev	0.4162	0.4800	0.4135	0.6052	0.4845	0.4135	0.6698	0.4806	0.4135	0.5085	0.4948	0.4135
4. Der. Türev	0.4823	0.5379	0.4545	0.6801	0.5456	0.4545	0.7212	0.5422	0.4545	0.5545	0.5730	0.4545

	LORA	100 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	200 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	300 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	400 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.6786	0.6112	0.5808	0.7038	0.6124	0.5808	0.7001	0.6114	0.5808	0.6877	0.6044	0.5808
1. Der. Türev	0.5607	0.4810	0.4241	0.5712	0.4803	0.4241	0.5606	0.4799	0.4241	0.5402	0.4772	0.4241
2. Der. Türev	0.5114	0.4596	0.3879	0.4961	0.4574	0.3879	0.4736	0.4524	0.3879	0.4438	0.4496	0.3879
3. Der. Türev	0.4807	0.4790	0.4135	0.4815	0.4774	0.4135	0.4709	0.4646	0.4135	0.4337	0.4677	0.4135
4. Der. Türev	0.5060	0.5426	0.4545	0.5010	0.5407	0.4545	0.5252	0.5204	0.4545	0.4929	0.5244	0.4545

Şekil 93. LORA-Roze şarap ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

LORA ve Roze şarap ölçümlerinde; UV absorbans değerleri tüm derişimlerde her üç veri setinde de yaklaşık olarak eşit ve orta-yüksek seviyede korelasyon göstermektedir (0.58–0.70 arası). Bu durum, UV spektrumunun hem LORA hem de içecek kaynaklı genel spektral yapıyı birlikte yansıttığını göstermektedir. Ancak, içecek ile olan korelasyonun da yüksek olması, UV verisinin ayırt ediciliğinin sınırlı olabileceğine işaret etmektedir.

Birinci türev spektrumu özellikle referans LORA'ya ait ortalama korelasyonlarda daha yüksek değerler sunmakta (0.48–0.57 arası) ve aynı zamanda içecek için düşük değerler elde edilmekte olduğu için LORA'nın etkisini daha iyi yansıttığı görülmektedir. İçeceğe ait korelasyonlar genel veri setine bakıldığında göreceli olarak düşük düzeyde kalmakta, bu da birinci türev spektrumunun spektral farklılıkları daha iyi ayırt ettiğini düşündürmektedir. Ayrıca LORA-içecek karışımının ortalama korelasyon değerlerinin UV absorbans ölçümlerine göre daha dengeli ve olduğu söylenebilir. İkinci türev spektrumunda ortalama korelasyon değerleri oldukça düşüktür (0.38–0.46), özellikle içecek ile korelasyonlar çok düşüktür. Referans LORA'ya ait korelasyonlar orta düzeyde kalmakta olup, derişim etkisine karşı duyarlılığı düşüktür. Üçüncü türev spektrumu ortalama korelasyon değerleri genellikle düşük-orta seviyededir (0.41–0.50). Spektral ayırt edicilik açısından birinci türev kadar güçlü olmasa da ikinci türeve göre daha dengeli bir yapı sunmaktadır. Bu türevde hem referans LORA hem de LORA-içecek benzer eğilim göstermektedir. Dördüncü türev spektrumunda, ortalama korelasyonlar 0.45–0.52 aralığında değişmekte, bu da üçüncü türevin biraz üstünde ancak birinci türevin altında bir performans göstermektedir. Derişimden bağımsız olarak sabit kalan bu korelasyon düzeyi, dördüncü türevin özellikle genel spektral katkıyı değil, seçici bazı bölgeleri yansıttığını düşündürmektedir.

	LORA	6,7 µg/ml LORA-içecek	İçecek	LORA	12,5 µg/ml LORA-içecek	İçecek	LORA	25 µg/ml LORA-içecek	İçecek	LORA	50 µg/ml LORA-içecek	İçecek
UV absorbans	0.4694	0.4544	0.2879	0.5451	0.5004	0.2879	0.5832	0.5601	0.2879	0.6404	0.6168	0.2879
1. Der. Türev	0.3513	0.3577	0.3414	0.4570	0.4279	0.3414	0.5206	0.5066	0.3414	0.5474	0.5348	0.3414
2. Der. Türev	0.3650	0.3850	0.4840	0.5258	0.4989	0.4840	0.6019	0.5933	0.4840	0.5321	0.5338	0.4840
3. Der. Türev	0.4162	0.4428	0.5859	0.6052	0.5805	0.5859	0.6698	0.6635	0.5859	0.5085	0.5113	0.5859
4. Der. Türev	0.4823	0.5131	0.6562	0.6801	0.6578	0.6562	0.7212	0.7153	0.6562	0.5545	0.5600	0.6562

	LORA	100 µg/ml LORA-içecek	İçecek	LORA	200 µg/ml LORA-içecek	İçecek	LORA	300 µg/ml LORA-içecek	İçecek	LORA	400 µg/ml LORA-içecek	İçecek
UV absorbans	0.6786	0.6705	0.2879	0.7038	0.7036	0.2879	0.7001	0.5347	0.2879	0.6877	0.3484	0.2879
1. Der. Türev	0.5607	0.5505	0.3414	0.5712	0.5734	0.3414	0.5606	0.0929	0.3414	0.5402	0.0295	0.3414
2. Der. Türev	0.5114	0.5025	0.4840	0.4961	0.5034	0.4840	0.4736	0.0056	0.4840	0.4438	0.0129	0.4840
3. Der. Türev	0.4807	0.4809	0.5859	0.4815	0.4964	0.5859	0.4709	-0.0114	0.5859	0.4337	0.0244	0.5859
4. Der. Türev	0.5060	0.5266	0.6562	0.5010	0.5316	0.6562	0.5252	-0.0326	0.6562	0.4929	0.0226	0.6562

Şekil 94. LORA-Maden suyu ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

UV absorbans verileri, referans LORA'da orta düzey korelasyonlar göstermektedir (ortalama ~0.60'a yaklaşmaktadır). Ancak LORA-içecek karışımına ait ortalama korelasyonlar biraz daha düşüktür (~0.50 civarı). İçeceğe ait korelasyon ise tüm derişimlerde çok düşüktür (~0.29). Bu durum, UV absorbans verisinin LORA etkisini yansıtma konusunda orta düzeyde etkili olduğunu, ancak içecekten önemli ölçüde ayrıştığını göstermektedir.

Birinci derece türev spektrumlarında referans LORA'ya ait ortalama korelasyonlar özellikle yüksek derişimlerde artış göstererek ~0.55–0.57 seviyelerine ulaşmaktadır. LORA-içecek karışımı ile olan korelasyonlar da benzer şekilde orta düzeyde (~0.50 civarında) kalmaktadır. İçeceğe ait korelasyonlar ise diğer veri setlerine kıyasla biraz daha yüksektir (~0.34), ancak belirgin bir ayrım gücü taşımamaktadır. Genel olarak birinci türev, UV-Gör'e kıyasla LORA'ya karşı daha duyarlı bir yapıya sahiptir ve özellikle derişim etkisinin spektral olarak takip edilmesinde işlevseldir.

	LORA	6,7 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	12,5 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	25 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	50 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.4694	0.6260	0.5976	0.5451	0.6451	0.5976	0.5832	0.6583	0.5976	0.6404	0.6726	0.5976
1. Der. Türev	0.3513	0.4514	0.3734	0.4570	0.5158	0.3734	0.5206	0.5665	0.3734	0.5474	0.5892	0.3734
2. Der. Türev	0.3650	0.4791	0.4199	0.5258	0.5316	0.4199	0.6019	0.5792	0.4199	0.5321	0.5964	0.4199
3. Der. Türev	0.4162	0.5514	0.5321	0.6052	0.5713	0.5321	0.6698	0.5730	0.5321	0.5085	0.5797	0.5321
4. Der. Türev	0.4823	0.5851	0.5965	0.6801	0.5920	0.5965	0.7212	0.5673	0.5965	0.5545	0.6008	0.5965

	LORA	100 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	200 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	300 µg/ml LORA-İçecek	İçecek	LORA	400 µg/ml LORA-İçecek	İçecek
UV absorbans	0.6786	0.6914	0.5976	0.7038	0.7039	0.5976	0.7001	0.6991	0.5976	0.6877	0.6978	0.5976
1. Der. Türev	0.5607	0.5894	0.3734	0.5712	0.5809	0.3734	0.5606	0.5701	0.3734	0.5402	0.5762	0.3734
2. Der. Türev	0.5114	0.5792	0.4199	0.4961	0.5228	0.4199	0.4736	0.4914	0.4199	0.4438	0.4964	0.4199
3. Der. Türev	0.4807	0.6060	0.5321	0.4815	0.5456	0.5321	0.4709	0.4983	0.5321	0.4337	0.4858	0.5321
4. Der. Türev	0.5060	0.6493	0.5965	0.5010	0.6289	0.5965	0.5252	0.5713	0.5965	0.4929	0.5144	0.5965

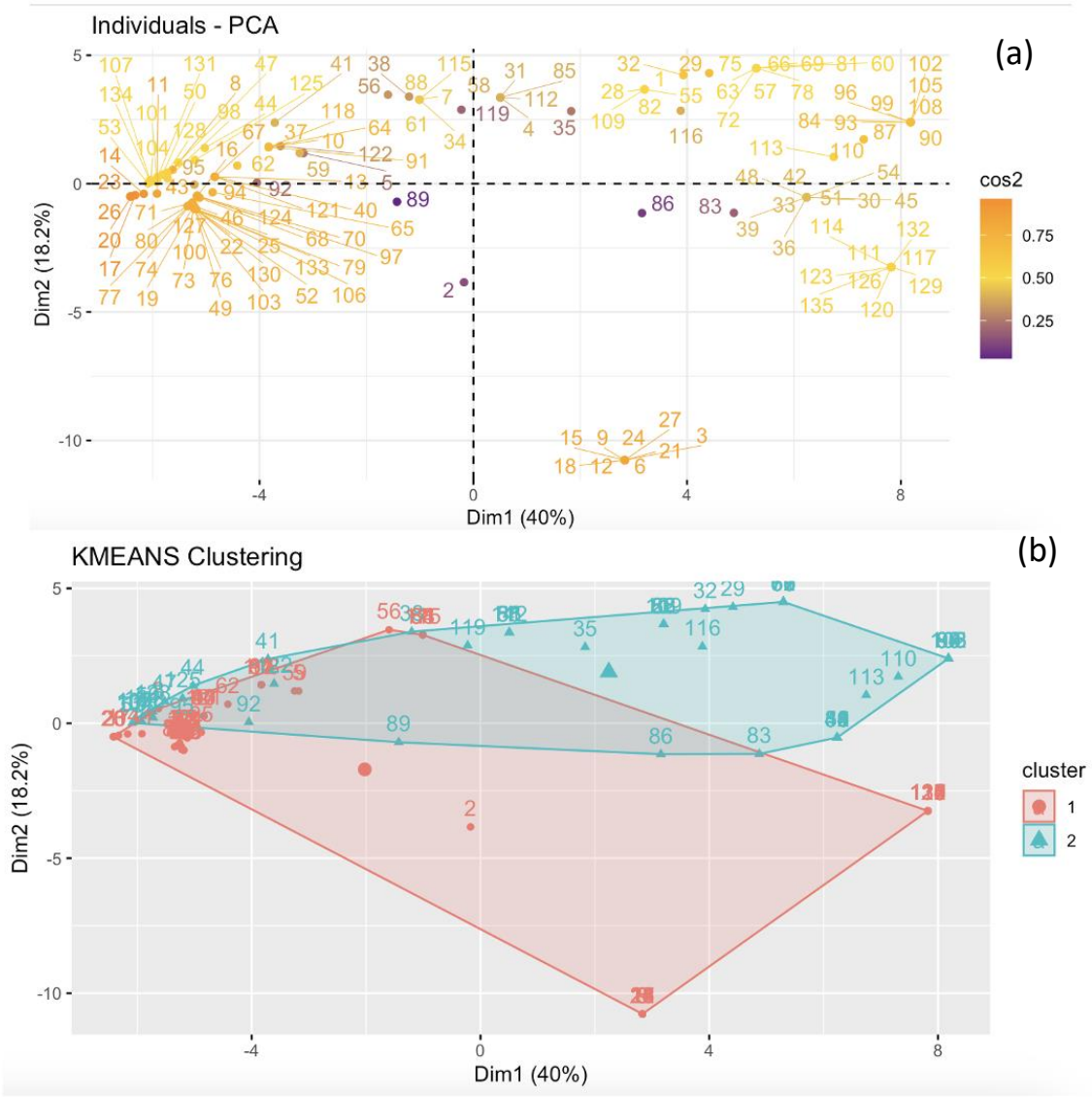
Şekil 95. LORA-Gazoz ölçümlerine ait ortalama çapraz korelasyon değerleri.

UV-gör ve birinci derece türev spektrumlarında 50-300 µg/mL derişimlerinde ayrım söz konusudur. Referans LORA'ya ait ortalama korelasyonlar özellikle yüksek derişimlerde artış göstermiştir. LORA-içecek karışımı ile olan korelasyonlar yüksektir. İçeceğe ait korelasyonlar ise düşüktür ve belirgin bir ayrım gücü taşımaktadır.

UV-Gör verisi genel spektral yapıyı yansıtmakta başarılıdır. Birinci türev, referans LORA ile LORA-içecek korelasyonlarında ve içeceklerin ayrışmasında en etkili spektral veri türü olarak öne çıkmaktadır.

5.2. Temel Bileşenler Analizi

5.2.1. Alprazolam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi



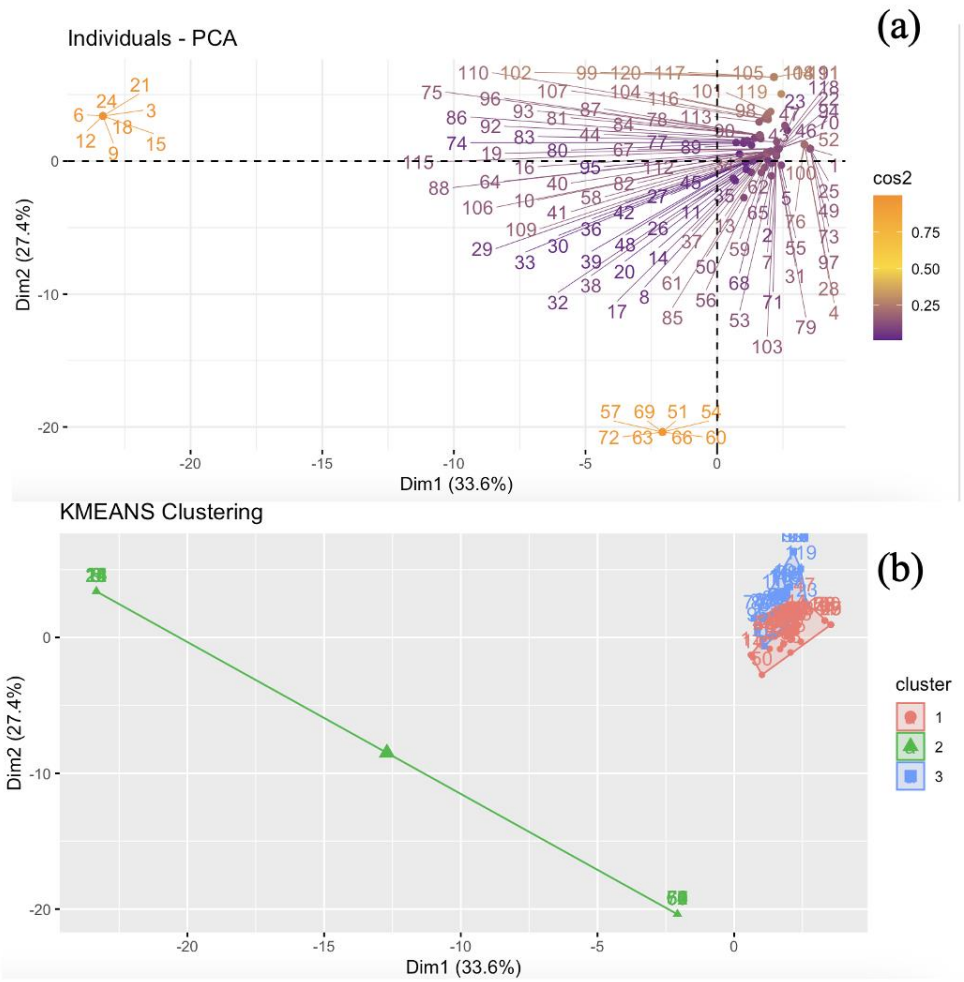
Şekil 96. ALP'in tüm içecekler ile yapılan UV spektrumlarının birinci derece türev ve ikinci bölge PCA analizi.

Şekil 96'da, UV-Gör absorpsiyon verilerinin temel bileşen analizi ve k-means kümeleme algoritması ile değerlendirilmesi sunulmuştur. PCA sonuçlarına göre, ilk iki ana bileşen toplam varyansın %58,2'sini açıklamaktadır (Dim1: %40; Dim2: %18,2). Bu oran, iki boyutlu düzlemin verideki varyansın büyük bir kısmını temsil ettiğini göstermektedir. Şekil 96 (a) 'da ölçümler, spektral benzerliklerine göre iki boyutlu düzlemde konumlandırılmış; nokta renkleri cos^2 değerlerine göre renklendirilmiştir. Cos^2 değeri yüksek olan bireyler (turuncuya yakın) iki bileşen düzleminde daha iyi temsil edilirken, mor renge yakın olanlar daha zayıf temsil edilmektedir. Grafik incelendiğinde ölçümlerin büyük çoğunluğunun merkez etrafında yoğunlaştığı, bazı ölçümlerin (örneğin: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 gibi) Dim1 ekseninde belirgin şekilde ayrıştığı görülmektedir. Bu

ölçümler her çalışmada içeceklerin spektrum verilerine denk gelmekte olup referans ve LORA-içecek karışımlarından PCA yöntemi ile belirgin bir şekilde ayrılabilmektedir. Şekil 97 (b)'de PCA eksenleri üzerine uygulanan k-means kümeleme analizi yer almaktadır. İki küme belirlenmiş olup, bireylerin dağılımı farklı kümelere ayrılmıştır. Küme 1 (kırmızı) merkezde yoğunlaşan ve geniş bir aralığa yayılan ölçümleri kapsamaktadır. Bu küme, spektral özellikler bakımından daha homojen olmayan, çeşitlilik gösteren bir grubu temsil etmektedir. Küme 2 (mavi/yeşil) daha belirgin bir yönelime sahip olup özellikle pozitif Dim1 değerlerinde kümelenmiş bireyleri içermektedir. Bu bireyler muhtemelen benzer UV spektral özellikler göstermekte ve kimyasal içerikleri açısından daha benzer yapıdadır.

Kümeler arasında görülen ayrışma, veri setinde belirgin grupların olduğunu ve örneklerin belirli spektral özelliklere göre sınıflanabildiğini ortaya koymaktadır. Özellikle 2, 86, 89 gibi bireylerin küme sınırlarının dışında veya kenarlarında konumlanması, bu bireylerin potansiyel olarak aykırı gözlem olabileceğini veya iki küme arasında geçiş özelliği taşıdığını düşündürmektedir. Bu sayısal veri sırası bakımından LORA-içecek verilerine denk gelmekte olup istatistiksel ve fiziksel açıdan sonuçlar birbirini doğrular durumdadır.

5.2.2. Lorazepam ve İçeceklerin UV Spektrum Analizi



Şekil 97. LORA'nın tüm içecekler ile yapılan UV spektrumlarının birinci derece türev PCA analizi.

Şekil 97'de, UV spektral verilerine uygulanan temel bileşen analizi (PCA) ve k-means kümeleme sonuçları sunulmuştur. PCA sonuçlarına göre, birinci bileşen (Dim1) varyansın %33.6'sını, ikinci bileşen (Dim2) ise %27.4'ünü açıklamaktadır. Bu iki bileşen birlikte verideki toplam varyansın %61'inden fazlasını yansıtarak, örnekler arası farkların iki boyutlu düzlemde başarılı şekilde temsil edildiğini göstermektedir.

Şekil 97 (a)'da veri setlerinin iki ana bileşen düzleminde dağılımı ve her veri setinin temsil kalitesi $\cos^2$ değerine göre renklendirilmiştir. Mor tonlar, bireylerin bu düzlemde düşük temsil edildiğini gösterirken; Turuncu tonlar, verinin ilgili eksenlerde yüksek temsil gücüne sahip olduğunu göstermektedir. Grafik incelendiğinde, bireylerin büyük çoğunluğunun sağ üst çeyrekte yoğunlaştığı, bazı bireylerin ise farklı bölgelerde gruptan ayrıştığı görülmektedir. Özellikle örnek 3, 6, 9, 12, 15 ve 60, 63, 66 gibi içeceklere ait

veri setleri diğerlerinden açık şekilde uzak konumlanmış ve yüksek varyansa katkı sağlayan ayırt edici örnekler olarak değerlendirilmiştir. Bu örnekler, diğer örneklerden belirgin bir şekilde farklı spektrum sunmaktadır. Bu durumda PCA gerçekleştirilirken birinci derece türev spektrumları kullanılarak içecekleri ayırt etmek mümkün olabilecektir.

BÖLÜM III

6. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, benzodiazepin grubu ilaçlar arasında yer alan alprazolam (ALP) ve lorazepam (LORA) etken maddelerinin, farklı içecekler içerisinde analitik düzeyde tayin edilebilirliğini araştırmak ve kapsamlı bir metodoloji oluşturmak amacıyla geliştirilmiştir. Çalışma kapsamında alkollü (beyaz şarap, roze şarap, votka) ve alkolsüz (gazoz, maden suyu) içecek ortamlarının UV-Gör absorpsiyon spektroskopisi, türev spektroskopisi ve floresans spektroskopisi gibi çeşitli analitik araçlar birlikte kullanılarak çok yönlü bir değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen spektral veriler, çok değişkenli istatistiksel analiz teknikleri olan Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis, PCA) ve Hiyerarşik Kümeleme Analizi (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) ile yorumlanmış; farklı içecek ortamlarının etken madde tayinine etkisi sayısal olarak değerlendirilmiştir. Bu bütüncül yaklaşım sayesinde, hem ilaçların içecek ortamlarındaki varlığının güvenilir şekilde saptanması sağlanmış hem de geliştirilen yöntemin farklı örnek türlerine uygulanabilirliği tartışılmıştır.

Tez kapsamında alprazolam (ALP) etken maddesi, referans çözelti ile birlikte alkollü ve alkolsüz içecek matrisleri içerisinde UV-Görünür ve türev spektroskopisi yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. UV-Gör spektrumlarında ALP, özellikle 230–400 nm aralığında karakteristik çift bant yapısı göstermiştir. Bu bantların özellikle beyaz şarap, maden suyu ve votka örneklerinde referans çözelti ile benzer profiller göstermesi, matriks etkisinin sınırlı düzeyde olduğunu ve ALP'nin ayırt edilebilirliğinin sürdürülebildiğini göstermiştir. Ancak gazoz ve bazı durumlarda roze şarap örneklerinde sinyal örtüşmeleri gözlenmiş; bu durum analiz hassasiyetini kısmen azaltmıştır. Birinci ve ikinci derece türev spektrumları, bu matrislerdeki olası örtüşmeleri azaltarak ALP'ye özgü sinyalleri daha belirgin hale getirmiştir.

Lorazepam (LORA) için elde edilen bulgular, LORA'nın UV-Gör spektrumlarında 210–400 nm aralığında ikili bantlı absorpsiyon özellikleri gösterdiğini ortaya koymuştur. Referans çözelti ile içecek örnekleri arasındaki benzerlik çoğunlukla korunmuştur. Roze ve beyaz şarap gibi içeceklerde ise, matrikse ait absorpsiyonun etkisiyle LORA'ya ait sinyallerin kısmen maskelendiği görülmüştür. Bu durum, LORA için türev tekniklerinin kullanımının daha büyük önem kazandığını göstermektedir. Özellikle ikinci derece türev spektrumları, düşük yoğunluklu LORA sinyallerini daha görünür hale getirerek analitik ayrımı kolaylaştırmıştır.

ALP ve LORA'nın floresans özellikleri incelendiğinde, her iki etken maddenin de referans çözeltilerinde karakteristik emisyon spektrumları sergilediği gözlenmiştir. İçki matrislerinde, LORA'nın floresans sinyali bazı örneklerde kısmen zayıflasa da genel olarak izlenebilirliğini korumuştur. Özellikle ALP için gazoz ve maden suyu gibi düşük girişimli ortamlarda emisyon spektrumları referans çözelti ile yüksek oranda örtüşmüştür. Bu bulgu, floresansın özellikle bu tür içeceklerde ilacın varlığının tespitinde etkili bir araç olabileceğini göstermektedir. Floresans spektrumlarında, ALP ve LORA etken maddelerinin artan derişimlerine bağlı olarak gözlenen bant kaymaları, doğrudan değerlendirmeyi zorlaştırmakla birlikte, türev floresans spektroskopisi sayesinde bu kaymalar minimize edilmiştir. Böylece spektral örtüşmelerin önüne geçilmiş, daha net ve karşılaştırılabilir sinyaller elde edilerek analitik değerlendirme yapılabilir hâle gelmiştir.

Genel korelasyon analizi bulguları değerlendirildiğinde, ortalama korelasyon katsayılarının ilaç derişimindeki değişimlere bağlı olarak spektral benzerliklerde meydana gelen farklılıkları etkin biçimde yansıttığı görülmüştür. Alprazolam (ALP) içeren örneklerde, 1. bölgeye ait spektral geçişlerin daha kademeli ve tutarlı bir şekilde gerçekleştiği; buna karşın 2. bölge örneklerinde geçişlerin daha ani ve dalgalı bir karakter sergilediği belirlenmiştir. Bu gözlem, farklı içecek matrislerinin ilaçla etkileşim potansiyelinin çeşitliliğini yansıtmakta olup, 2. bölge ölçümleri özellikle formülasyon stabilitesi ve ilaç-matris etkileşim düzeyinin araştırılması açısından ileri analizler için önemli bir zemin oluşturmaktadır.

Temel Bileşenler Analizi (PCA) ve k-means kümeleme analizleri birlikte değerlendirildiğinde, veride belirgin bir grup yapısının bulunduğu görülmüştür. Özellikle içecek örneklerine ait spektrumların bu grupların dışında yer alması, matris kaynaklı farklılıkların analitik ayırt ediciliğe yansıdığını göstermektedir. Bulgular, özellikle adli

toksikoloji ve adli kimya alanında, yoğun spektral verilerin temel bileşen analizleri ile sadeleştirilerek bilinmeyen örneklerin sınıflandırılması ve benzerlik değerlendirmelerinin yapılması açısından PCA'nın güçlü ve pratik bir istatistiksel araç olduğunu ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, bu tez kapsamında geliştirilen UV-Gör ve floresans temelli metodoloji, hem alprazolam hem de lorazepam'ın farklı içecek matrislerinde tespitine olanak tanıyan, hızlı, ekonomik, türevlendirme ile seçiciliği artırılmış ve istatistiksel açıdan da doğrulanmış bir analitik yaklaşım sunmuştur. Özellikle türev spektroskopisi, floresans ölçümleri ve PCA-HCA destekli analizlerle yöntemin güvenilirliği ve ayırt edici gücü artırılmış, bu yönüyle adli toksikoloji ve adli kimya analizlerinde pratik uygulamalar için potansiyel taşımaktadır.

KAYNAKÇA

Abarca, R., & Gerona, R. (2023). Development and validation of an LC-MS/MS assay for the quantitative analysis of alprazolam, α-hydroxyalprazolam and hydrocodone in dried blood spots. *Journal of Chromatography B*, *1220*, 123639. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2023.123639

Aşıcıoğlu, F. (Ed), Özgüç, A., Şahin, A., Şen Yılmaz, A., Çakmakkaya, B. Y., Ünal, B., Önder Gürpınar, B., Atamtürk Duyar, D., Salkım İşlek, D., Hülya Yükseloğlu, E., Şentürk, E., Mutlu, E., Polat, E., Çavuş Yonar, F., Çiçek, F., Ekim Çevik, F., Ersoy, G., Filoğlu, G., Üner, H. B., … Türkmen, Z. (2024). *Adli Bilimler*. İstanbul Üniversitesi–Cerrahpaşa Üniversite Yayınevi. https://doi.org/10.5152/0600

Aşırdizer, M. (2021). *Adli Bilimler ve Adli Tıbbın Tarihçesi*. Mahmut Aşırdizer.

Bose, A., Thomas, I., & Abraham, K. G. and E. (2018). Fluorescence spectroscopy and its applications: A Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, *1*(8), 1-8.

Boukhabza, A., Lugnier, A., & Mangin, P. (1991). Simultaneous HPLC Analysis of the Hypnotic Benzodiazepines Nitrazepam, Estazolam, Flunitrazepam, and Triazolam in Plasma. Içinde *Journal of Analytical Toxicology* (C. 15).

Cailleux, A., Turcant, A., Premel-Cabic, A., & Allain, P. (1981). Identification and Quantitation of Neutral and Basic Drugs in Blood by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, *19*(4), 163-178. https://doi.org/10.1093/chromsci/19.4.163

Calvero. (2007, Ocak). *Lorazepam*. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lorazepam.svg

Chang, T.-L., Chen, K.-W., Lee, Y.-D., & Fan, K. (1999). Determination of Benzodiazepines in Clinical Serum Samples:Comparative Evaluation of REMEDi System, aca Analyzer, andConventional HPLC Performance. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, *13*(3), 95-145.

Corradini, D., Eksteen, E., Eksteen, R., Schoenmakers, P., & Miller, N. (1998). *Handbook of HPLC* (D. Corradini, E. Eksteen (Katz), R. Eksteen, P. Schoenmakers, & N. Miller, Ed.). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9780203909751

Dawson, G. W., Jue, S. G., & Brogden, R. N. (1984). Alprazolam. *Drugs*, *27*(2), 132-147. https://doi.org/10.2165/00003495-198427020-00002

de Boer, A. G., Röst-Kaiser, J., Bracht, H., & Breimer, D. D. (1978). Assay of underivatized nitrazepam and clonazepam in plasma by capillary gas chromatography applied to pharmacokinetic and bioavailability studies in humans. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, *145*(1), 105-114. https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)81672-2

de Bruyne, M. M. A., Sinnema, A., & Verweij, A. M. A. (1984). Hydrolysis of clonazepam, flunitrazepam and nitrazepam by hydrochloric acid. Identification of some additional products. *Forensic Science International*, *24*(2), 125-135. https://doi.org/10.1016/0379-0738(84)90092-6

Dixon, R., Lucek, R., Young, R., Ning, R., & Darragh, A. (1979). Radioimmunoassay for nitrazepam in plasma. *Life Sciences*, *25*(4), 311-316. https://doi.org/10.1016/0024-3205(79)90260-1

Dumestre-Toulet, V., & Eysseric-Guérin, H. (2014). Case Reports in Drug-Facilitated Crimes. Içinde *Toxicological Aspects of Drug-Facilitated Crimes* (ss. 223-254). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416748-3.00009-8

Efeoğlu, P., Dağlıoğlu, N., Hilal, A., Gülmen, M. K., Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ç., & Tıp Anabilim Dalı, A. (2013). *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi Archives Medical Review Journal Cinsel Saldırılarda Kullanılan İlaçlar: Özellikleri ve Toksikolojik İncelemeleri Drugs Used in Sexual Assaults: Features and Toxicological Investigations*.

Granato, D., Santos, J. S., Escher, G. B., Ferreira, B. L., & Maggio, R. M. (2018). Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Technology*, *72*, 83-90. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.006

Grela, A., Gautam, L., & Cole, M. D. (2018). A multifactorial critical appraisal of substances found in drug facilitated sexual assault cases. *Forensic Science International*, *292*, 50-60. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.08.034

Haefelfinger, P. (1979). Determination of the 7-amino-metabolites of the 7-nitro-benzodiazepines in human plasma by thin-layer chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*, *2*(1), 39-42. https://doi.org/10.1002/jhrc.1240020112

Hall, J. A., & Moore, C. B. T. (2008). Drug facilitated sexual assault - A review. Içinde *Journal of Forensic and Legal Medicine* (C. 15, Sayı 5, ss. 291-297). https://doi.org/10.1016/j.jflm.2007.12.005

Hollister, L. E., Motzenbecker, F. P., & Degan, R. O. (1961). Withdrawal reactions from chlordiazepoxide (?Librium?). *Psychopharmacologia*, *2*(1), 63-68. https://doi.org/10.1007/BF00429621

Houck, M. M., & Siegel, J. A. (2009). *Fundamentals of Forensic Science* (Second). Academic Press.

Jickells, S., & Negrusz, A. (2008). Clarke's analytical forensic toxicology. *Annales de Toxicologie Analytique*, *20*(4), 233-234. https://doi.org/10.1051/ata/2009023

Jolley, M. E. (1981). Fluorescence Polarization Immunoassay for the Determination of Therapeutic Drug Levels in Human Plasma. *Journal of Analytical Toxicology*, *5*(5), 236-240. https://doi.org/10.1093/jat/5.5.236

Kangas, L. (1977). Comparison of two gas-liquid chromatographic methods for the determination of nitrazepam in plasma. *Journal of Chromatography A*, *136*(2), 259-270. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)86278-0

Katkar, A. V, Nagare, S. B., Sutar, S. B., Patil, S. V, Pharm, M., Year, nd, & Professor, A. (2022). *OVERVIEW OF UV SPECTROSCOPY DERIVATIVES*. www.ijcrt.org

Lader, M. (2011). Benzodiazepines revisited-will we ever learn? *Addiction*, *106*(12), 2086-2109. https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2011.03563.x

Lee, I., & Yang, J. (2009). Common Clustering Algorithms. Içinde *Comprehensive Chemometrics* (ss. 577-618). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-044452701-1.00064-8

Lugoboni, F., Mirijello, A., Faccini, M., Casari, R., Cossari, A., Musi, G., Bissoli, G., Quaglio, G., & Addolorato, G. (2014). Quality of life in a cohort of high-dose benzodiazepine dependent patients. *Drug and Alcohol Dependence*, *142*, 105-109. https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.06.020

Mercan, S., & Açıkkol, M. (2014). Madde Kullanımının Kolaylaştırdığı Suçlar: Maddeler ve Etkileri; Deliller ve Analizleri. *Turkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences*, *11*(2), 78-96.

Naresh, K. (t.y.). *National Level Workshop on Spectroscopic Techniques in Structural Elucidation Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences Applications of Fluorescence Spectroscopy*. www.jchps.com

NEUROtiker. (2007, Nisan 18). *Generic structure of benzodiazepines*. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Benzodiazepine.svg

Nutt, D. J., King, L. A., & Phillips, L. D. (2010). Drug harms in the UK: a multicriteria decision analysis. *The Lancet*, *376*(9752), 1558-1565. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61462-6

O'Haver, T. C. (1979). Derivative and wavelength modulation spectrometry. *Analytical Chemistry*, *51*(1), 91A-99A. https://doi.org/10.1021/ac50037a008

Ohshima, T. (2006). A case of drug-facilitated sexual assault by the use of flunitrazepam. *Journal of Clinical Forensic Medicine*, *13*(1), 44-45. https://doi.org/10.1016/j.jcfm.2005.05.006

Orts, M. P., van Asten, A., & Kohler, I. (2023). The Evolution Toward Designer Benzodiazepines in Drug-Facilitated Sexual Assault Cases. *Journal of Analytical Toxicology*, *47*(1), 1-25. https://doi.org/10.1093/jat/bkac017

Papoutsis, I. I., Athanaselis, S. A., Nikolaou, P. D., Pistos, C. M., Spiliopoulou, C. A., & Maravelias, C. P. (2010). Development and validation of an EI–GC–MS method for the determination of benzodiazepine drugs and their metabolites in blood: Applications in clinical and forensic toxicology. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *52*(4), 609-614. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.01.027

Rosebush, P. I., Hildebrand, A. M., Furlong, B. G., & Mazurek, M. F. (1990). Catatonic syndrome in a general psychiatric inpatient population: frequency, clinical presentation, and response to lorazepam. *The Journal of clinical psychiatry*, *51*(9), 357-362.

Rutgers, J. G., & Shearer, C. M. (1981). *Lorazepam* (ss. 397-426). https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60148-3

Sáiz, J., Ortega-Ojeda, F., López-Melero, L., Montalvo, G., & García-Ruiz, C. (2014). Electrophoretic fingerprinting of benzodiazepine tablets in spike drinks. *ELECTROPHORESIS*, *35*(21-22), 3250-3257. https://doi.org/10.1002/elps.201400015

Samanidou, V. F., Uddin, M. N., & Papadoyannis, I. N. (2009). Benzodiazepines: sample preparation and HPLC methods for their determination in biological samples. *Bioanalysis*, *1*(4), 755-784. https://doi.org/10.4155/bio.09.43

Schwartz, R. H., Milteer, R., & LeBeau, M. A. (2000). Drug-facilitated sexual assault ('date rape'). *Southern medical journal*, *93*(6), 558-561.

Sofalvi, S., Lavins, E. S., Kaspar, C. K., Michel, H. M., Mitchell-Mata, C. L., Huestis, M. A., & Apollonio, L. G. (2020). Development and Validation of an LC–MS-MS Method for the Detection of 40 Benzodiazepines and Three Z-Drugs in Blood and Urine by Solid-Phase Extraction. *Journal of Analytical Toxicology*, *44*(7), 708-717. https://doi.org/10.1093/jat/bkaa072

Stark, M. M., Wellst, D., Stark LLM, M. M., & Senior Lecturer, H. (1999). Drug-mediated sexual assault. Içinde *Journal of Clinical Forensic Medicine* (C. 6).

Swartz, M. (2010). HPLC DETECTORS: A BRIEF REVIEW. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, *33*(9-12), 1130-1150. https://doi.org/10.1080/10826076.2010.484356

Talsky, G., Mayring, L., & Kreuzer, H. (1978). High-Resolution, Higher-Order UV/VIS Derivative Spectrophotometry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, *17*(11), 785-799. https://doi.org/10.1002/anie.197807853

Vaccinationist. (2015, Haziran 4). *Structural Formula of Alprazolam*. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Alprazolam_structure.svg

Verster, J. C., & Volkerts, E. R. (2004). Clinical Pharmacology, Clinical Efficacy, and Behavioral Toxicity of Alprazolam: A Review of the Literature. *CNS Drug Reviews*, *10*(1), 45-76. https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2004.tb00003.x

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Fatma Nur Bayar

Uyruğu: T.C.

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Yılı
Lisans	İMÜ, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2022

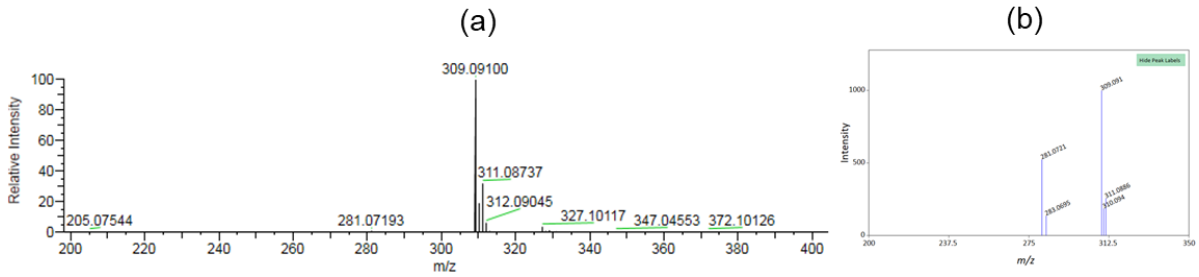
İŞ TECRÜBESİ

Tarih	Kurum	Görev
2022 Şubat	İMÜ, MBG, Hücre Kültürü Laboratuvarı	Stajyer (Gönüllü)
2023-2025	Önder Öğrenci Yurtları	Yönetim Memuru

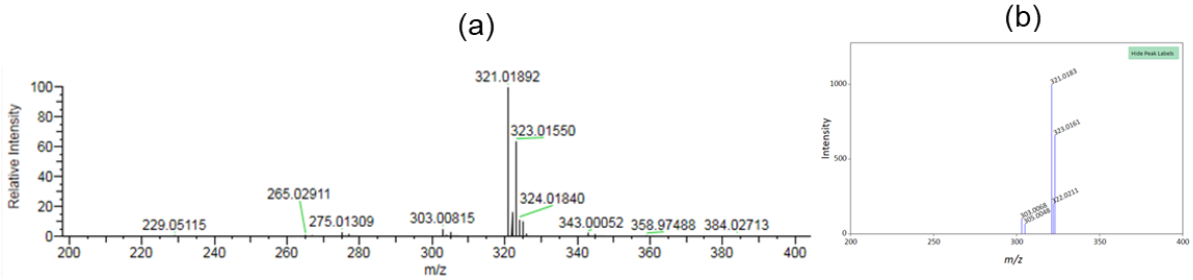
YABANCI DİLLER

Orta düzeyde İngilizce.

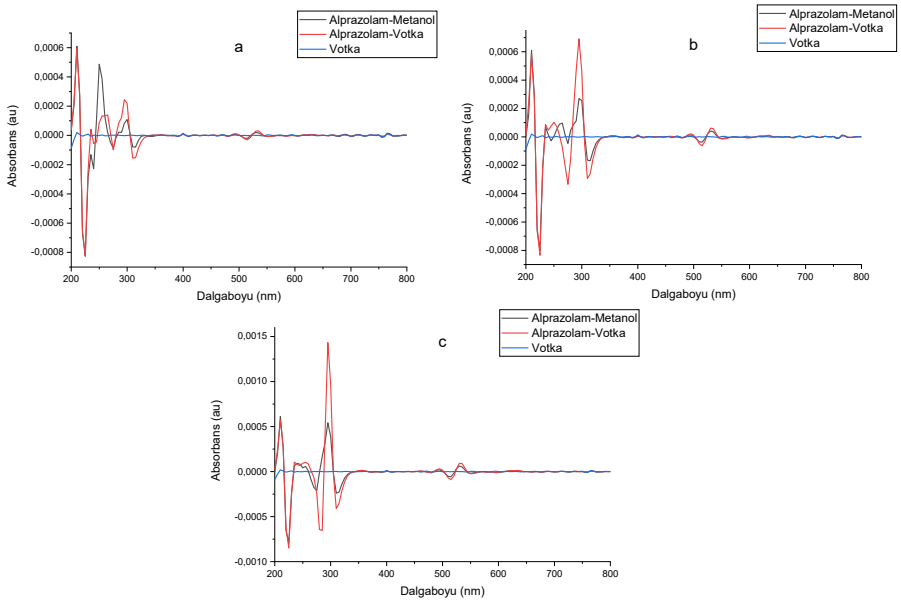
EKLER



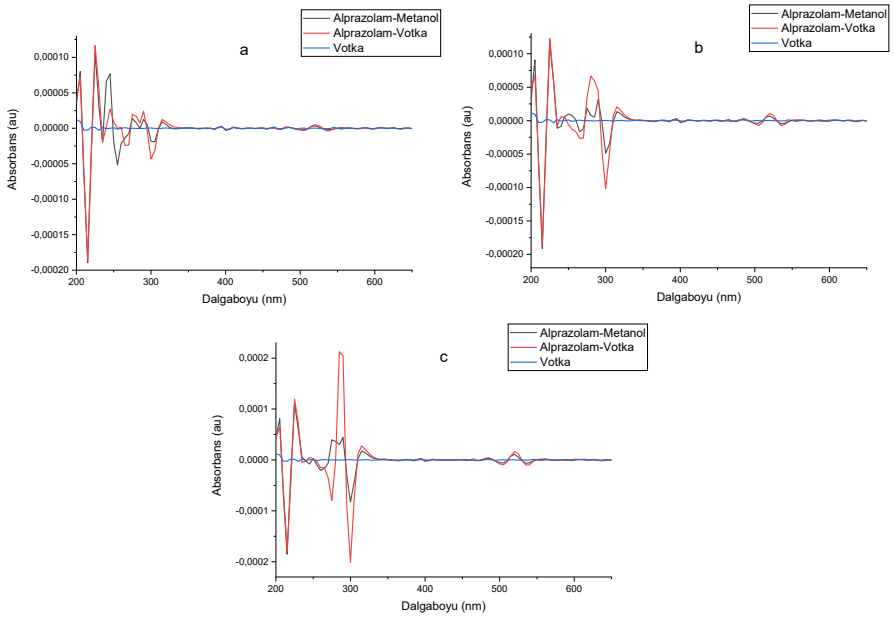
EK-Şekil 1. (a) Analiz sonucu elde edilen ALP MS spektrumu, (b) standart ALP MS spektrumu.



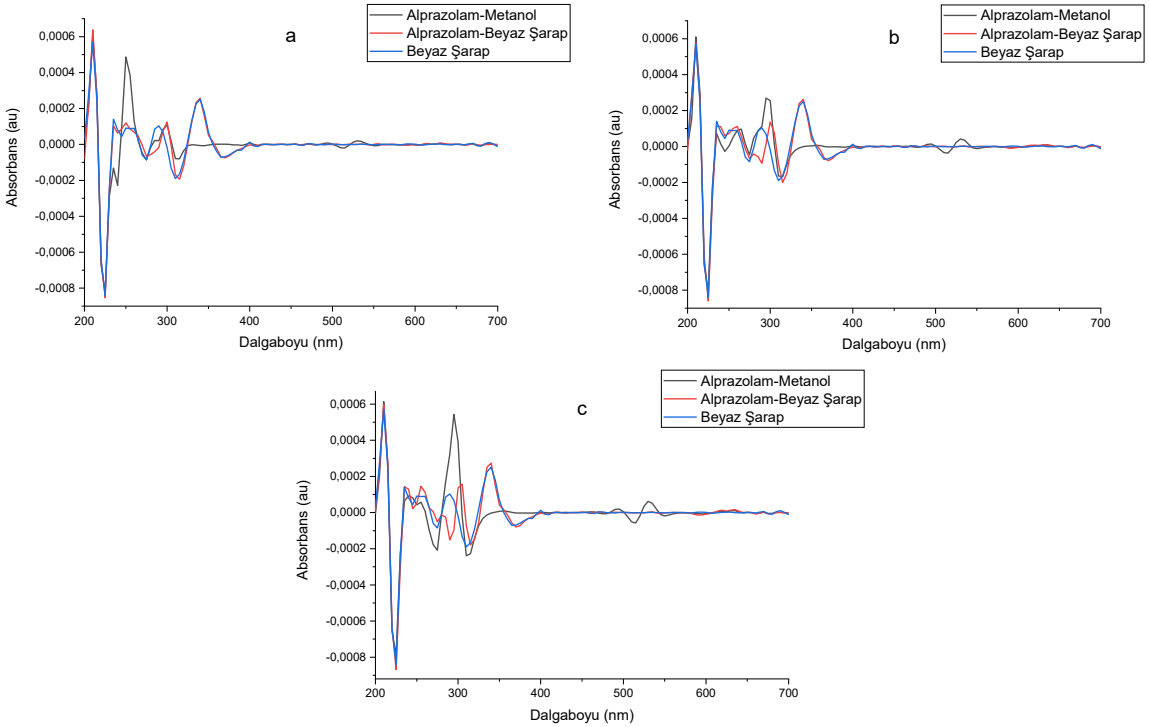
EK-Şekil 2. (a) Analiz sonucu elde edilen LORA MS spektrumu, (b) standart LORA MS spektrumu.



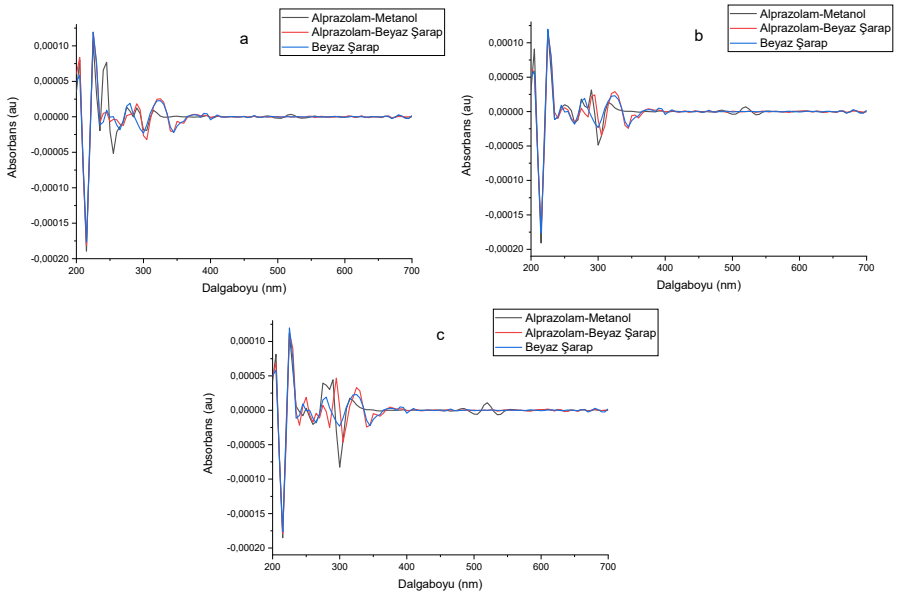
EK-Şekil 3. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



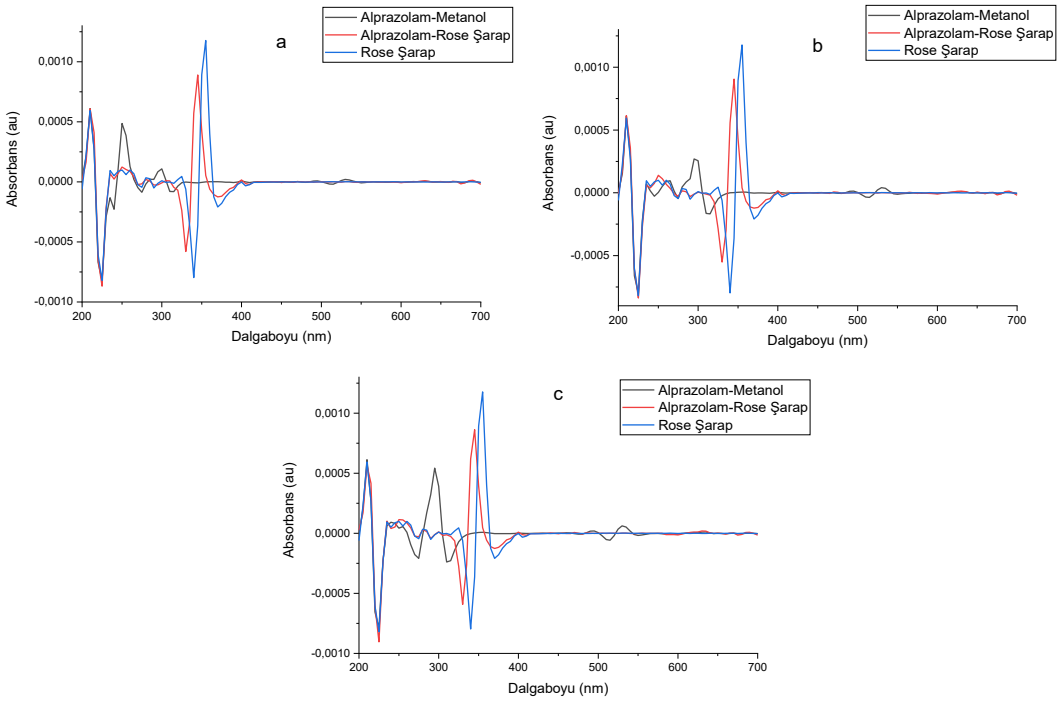
EK-Şekil 4. ALP tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



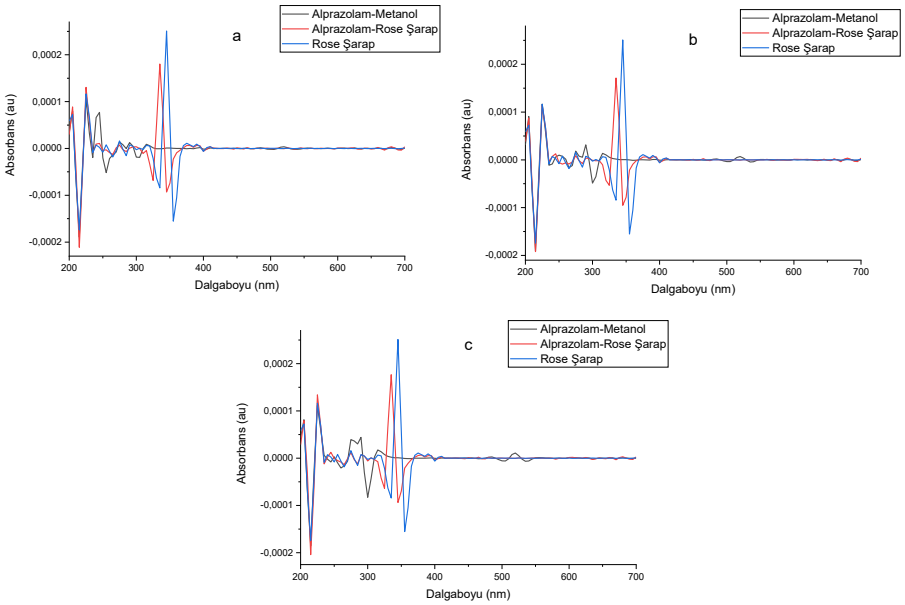
EK-Şekil 5. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



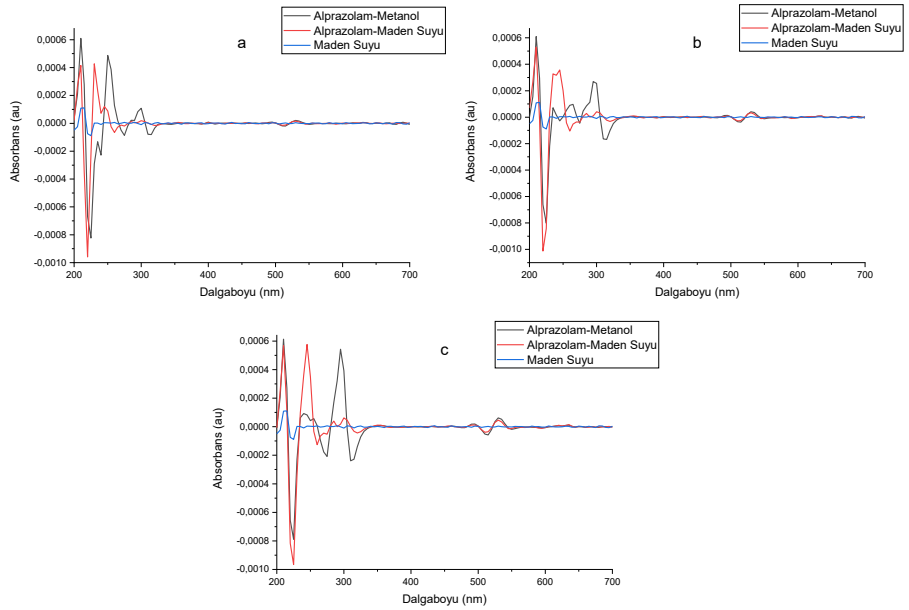
EK-Şekil 6. ALP tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



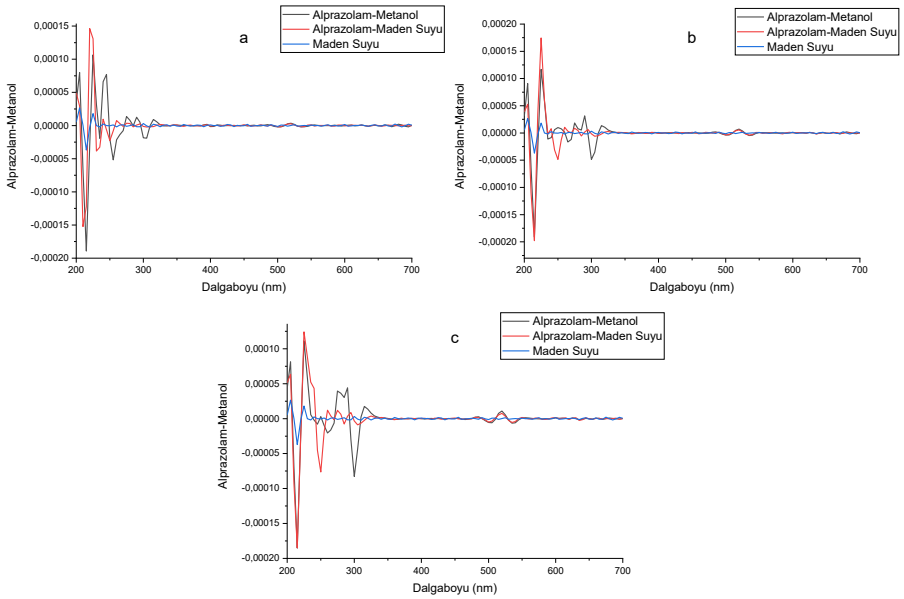
EK-Şekil 7. ALP tabletin referans çözeltisi ve rose şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



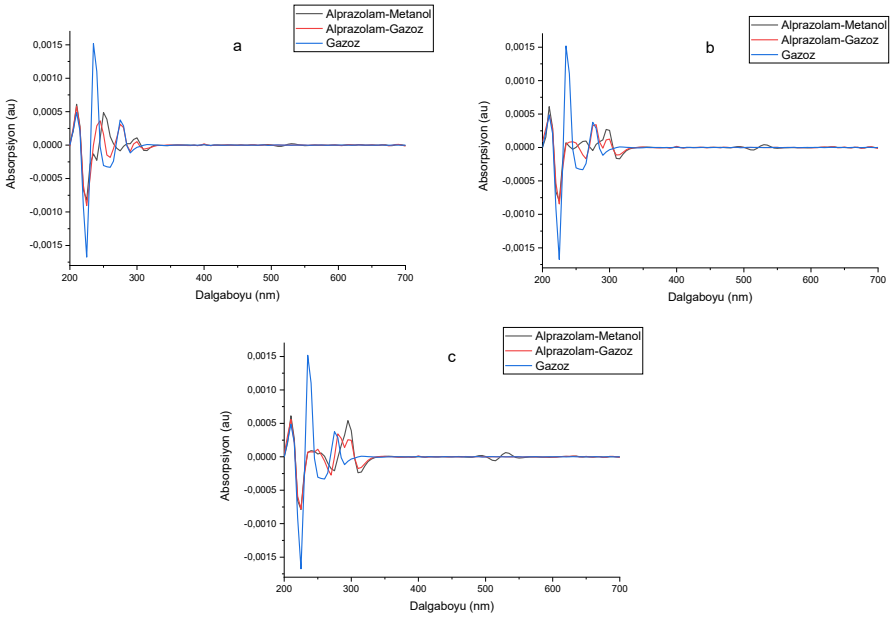
EK-Şekil 8. ALP tabletin referans çözeltisi ve rose şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



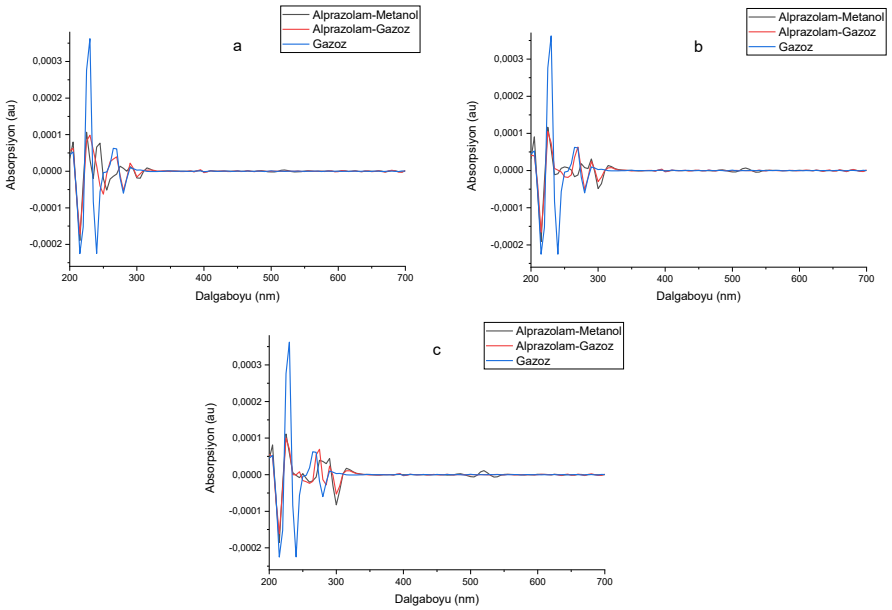
EK-Şekil 9. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



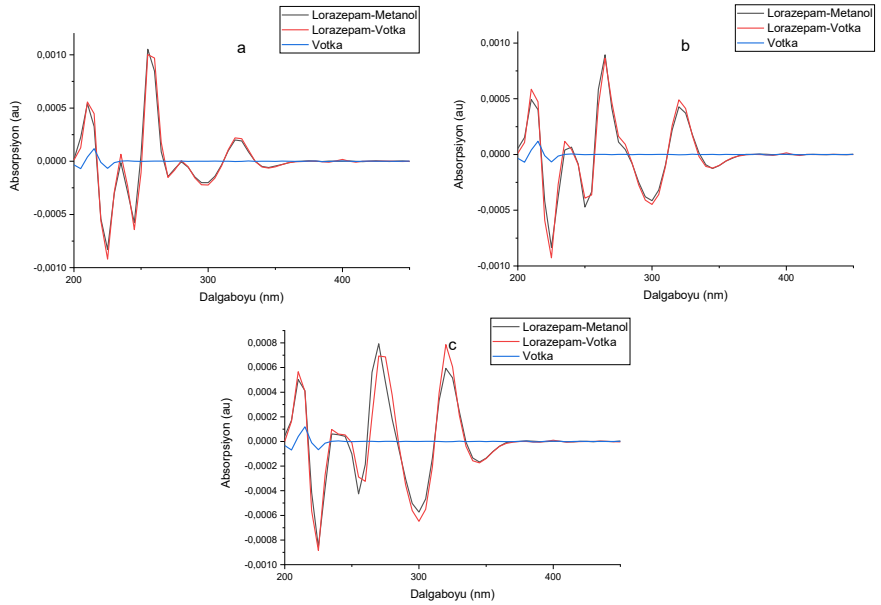
EK-Şekil 10. ALP tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



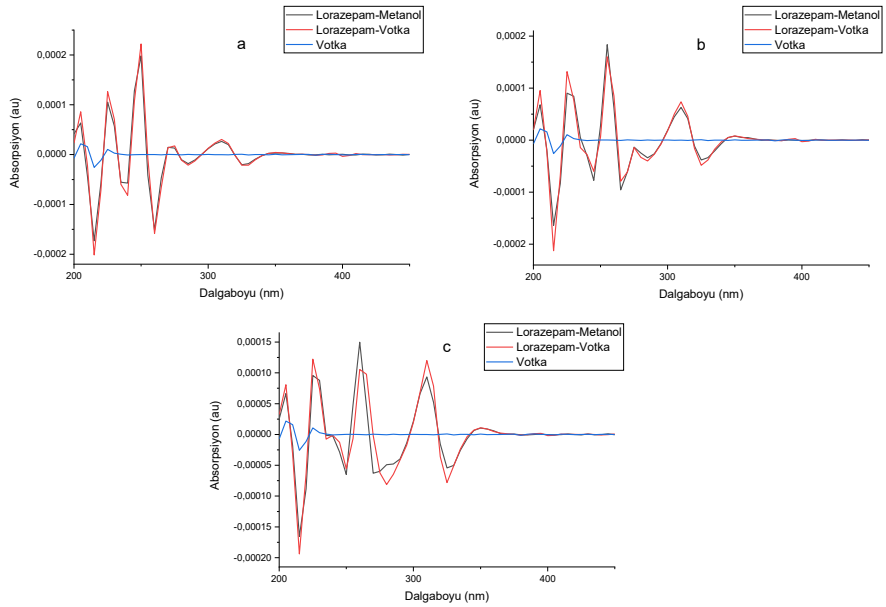
EK-Şekil 11. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



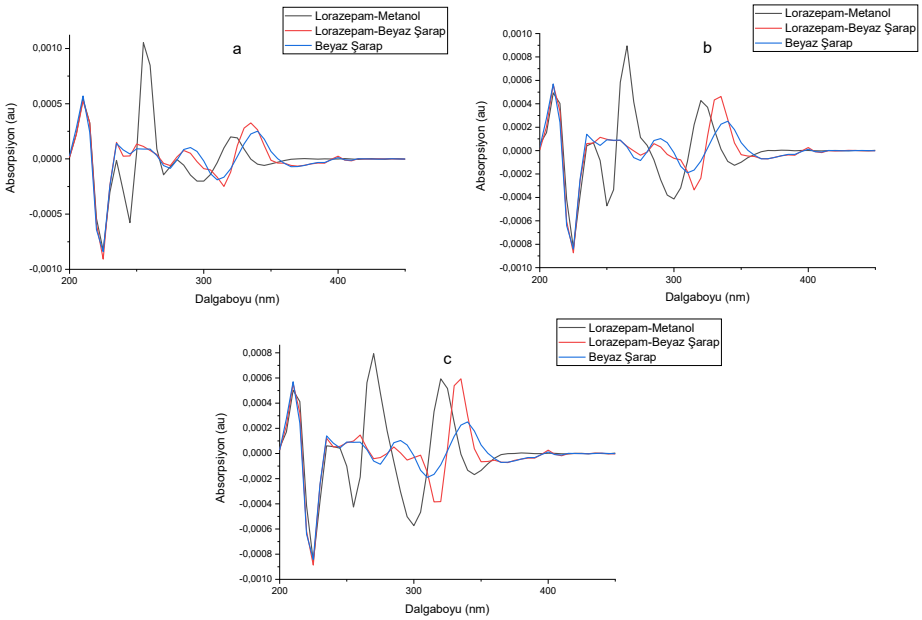
EK-Şekil 12. ALP tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



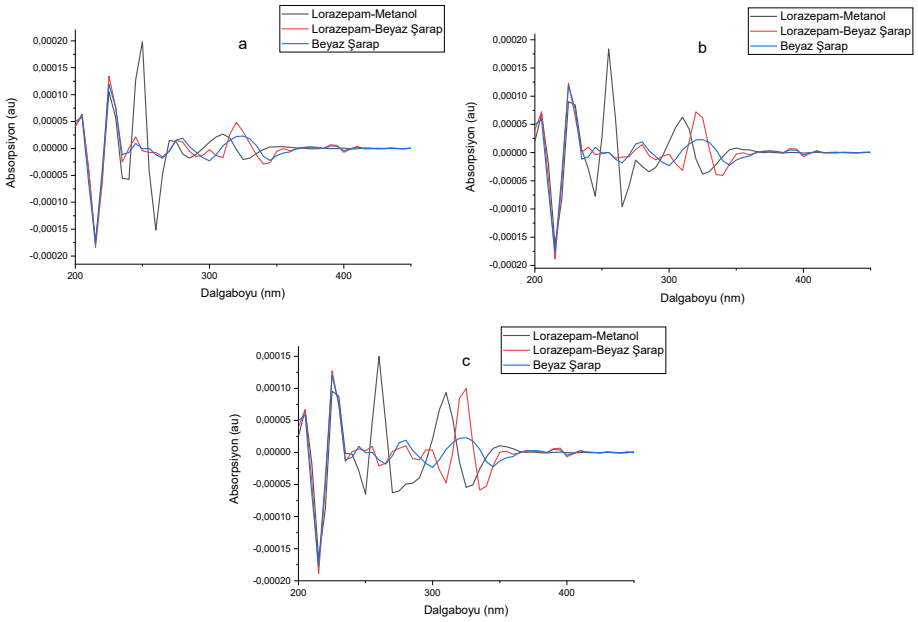
EK-Şekil 13. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



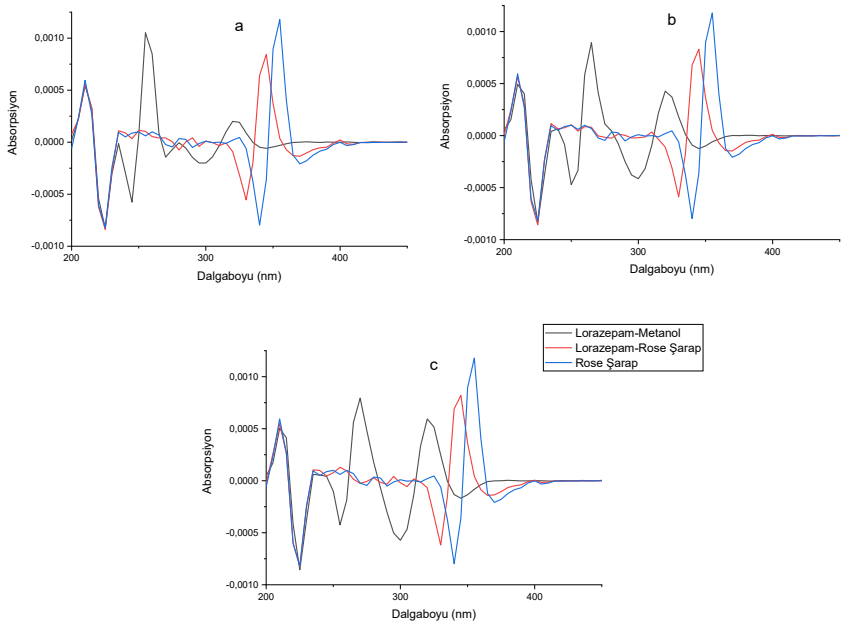
EK-Şekil 14. LORA tabletin referans çözeltisi ve votkada (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



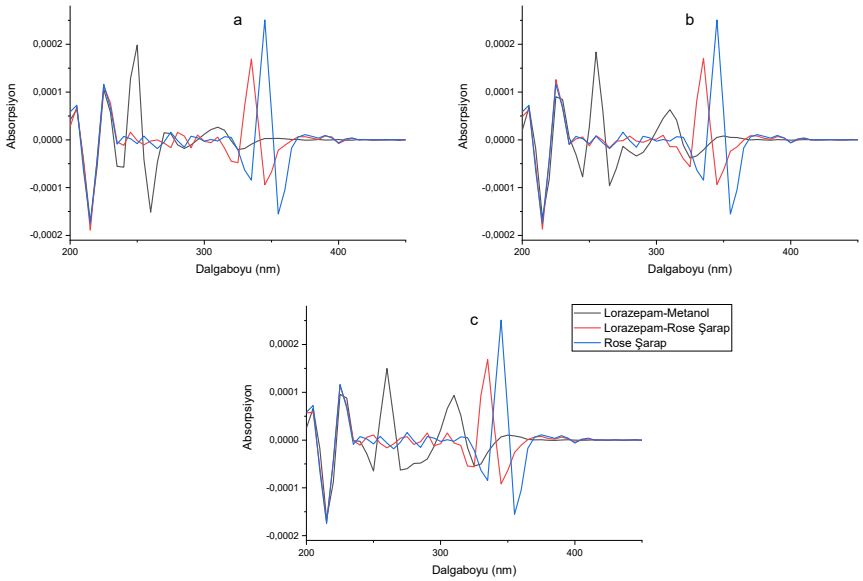
EK-Şekil 15. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



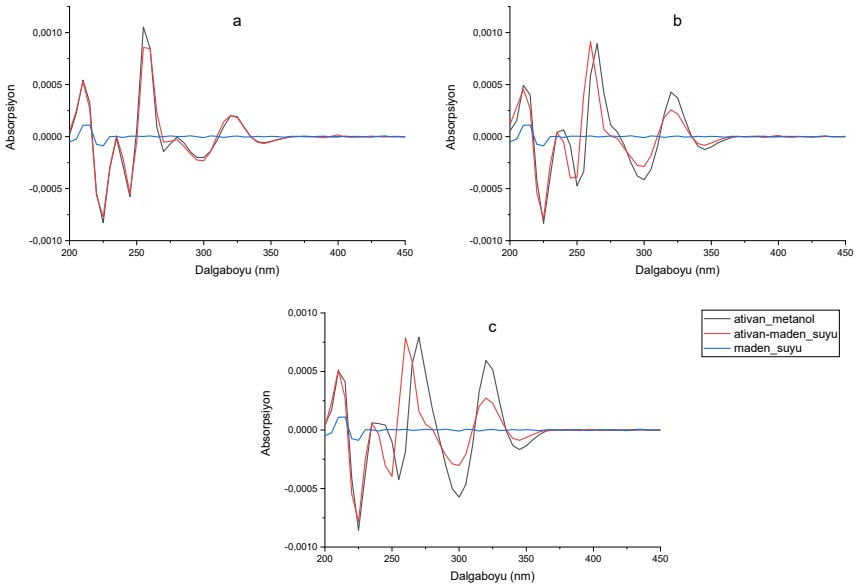
EK-Şekil 16. LORA tabletin referans çözeltisi ve beyaz şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



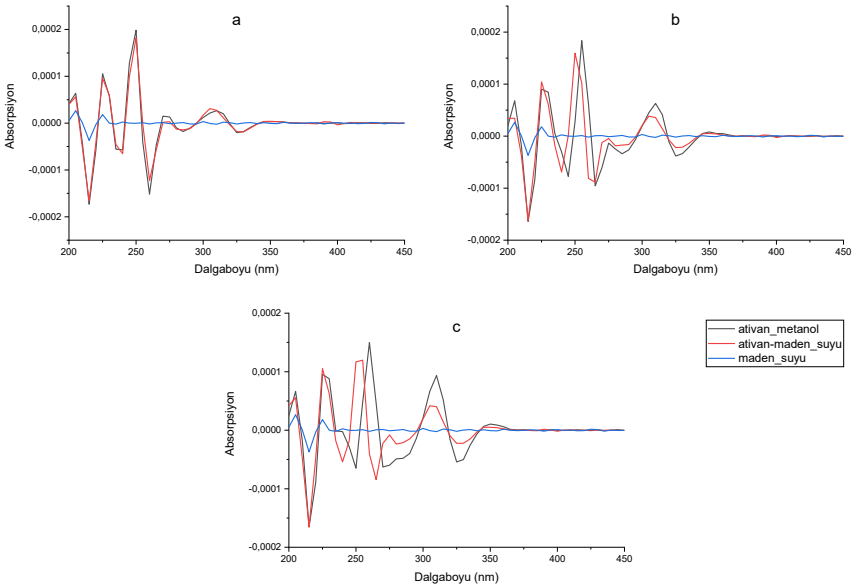
EK-Şekil 17. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



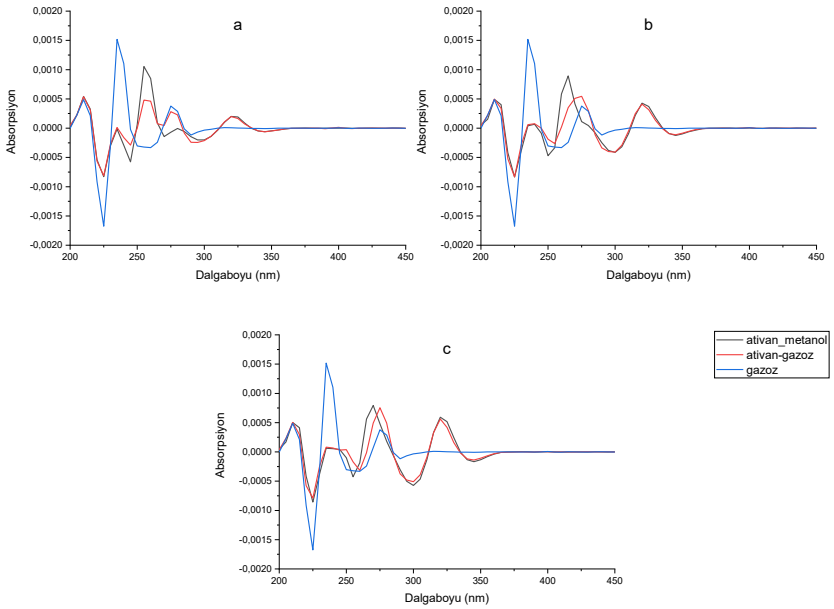
EK-Şekil 18. LORA tabletin referans çözeltisi ve roze şarapta (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



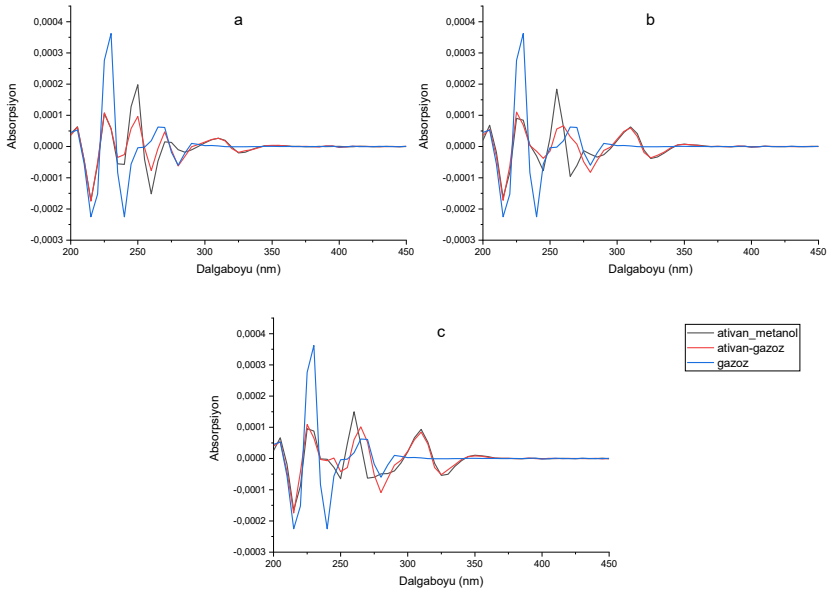
EK-Şekil 19. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



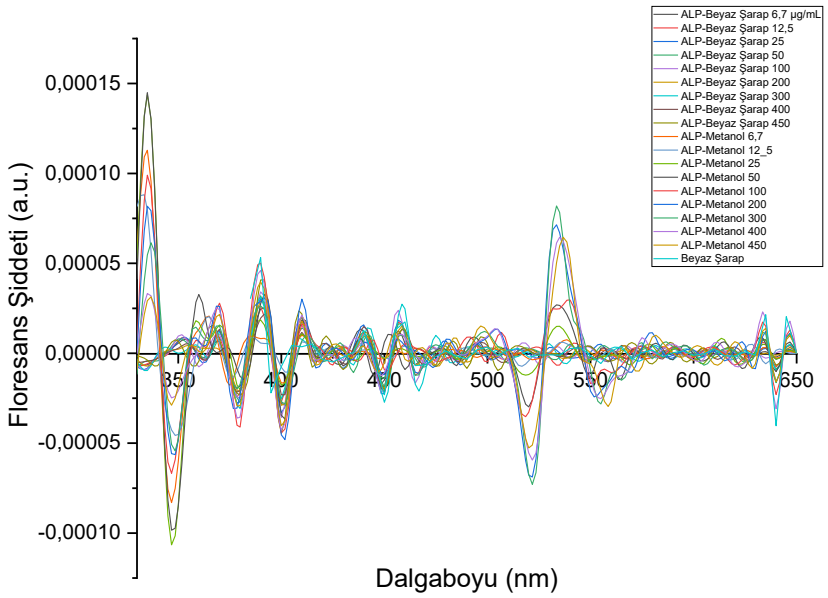
EK-Şekil 20. LORA tabletin referans çözeltisi ve maden suyunda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



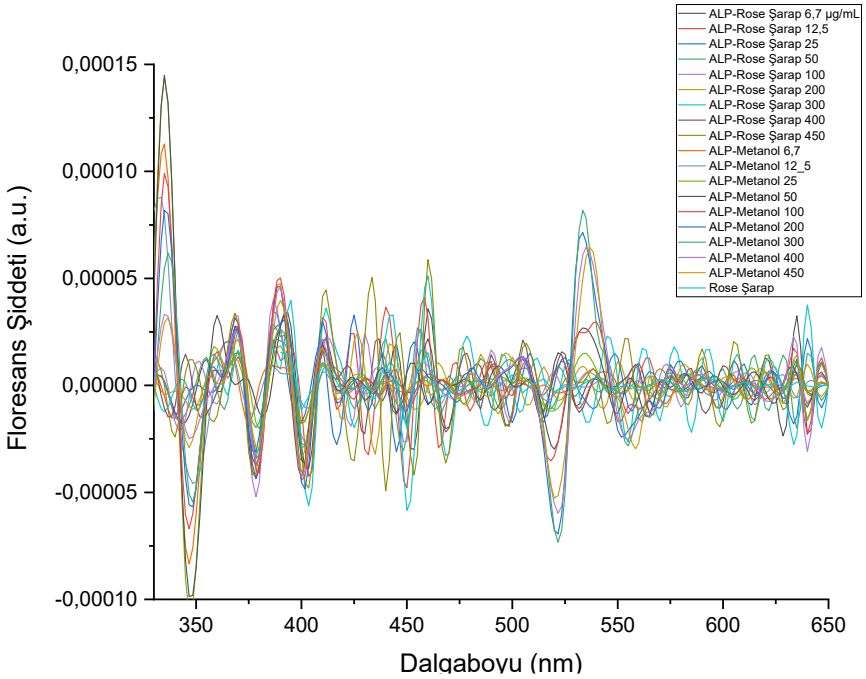
EK-Şekil 21. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki üçüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



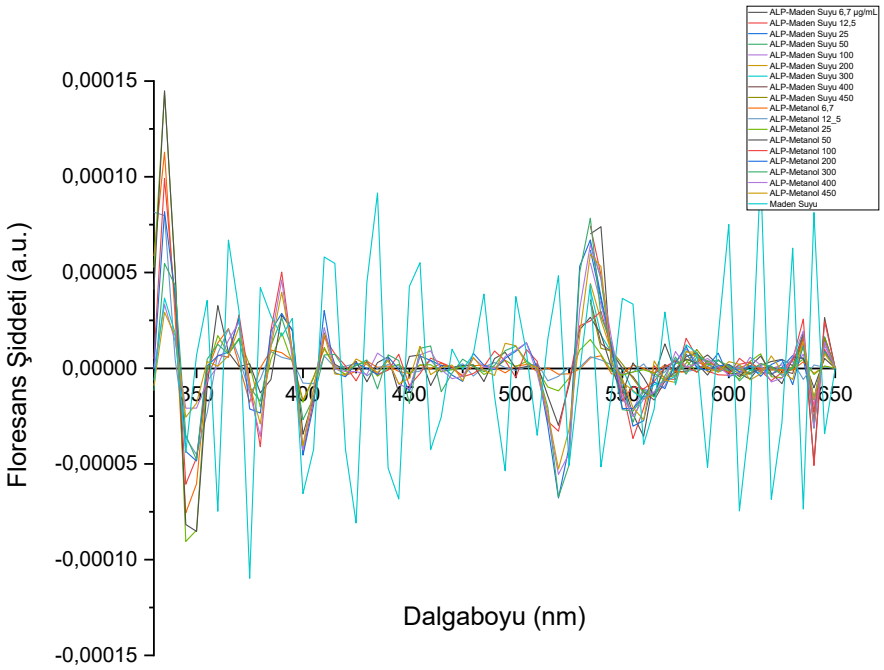
EK-Şekil 22. LORA tabletin referans çözeltisi ve gazozda (a) 100 µg/mL, (b) 200 µg/mL ve (c) 300 µg/mL derişimlerindeki dördüncü dereceden absorpsiyon spektrumları.



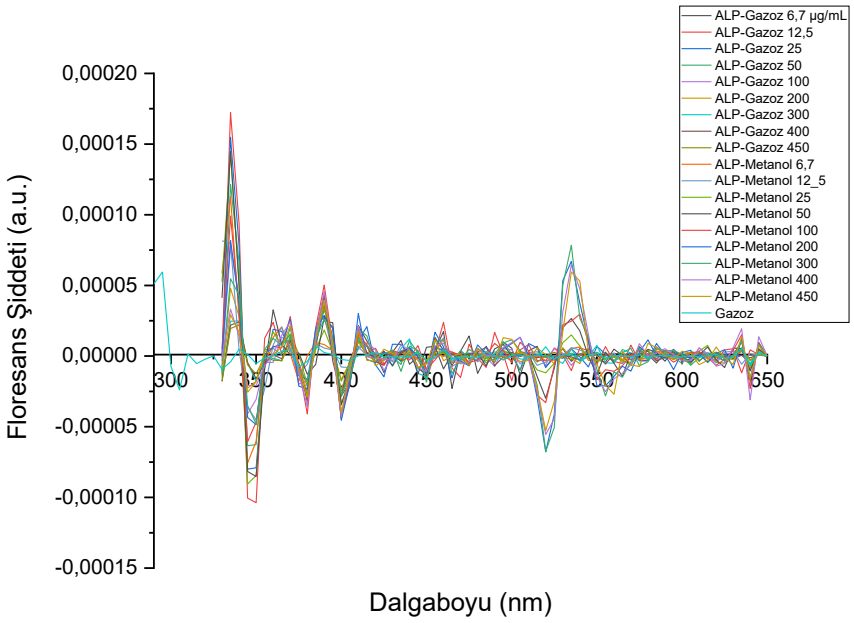
EK-Şekil 23. ALP tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



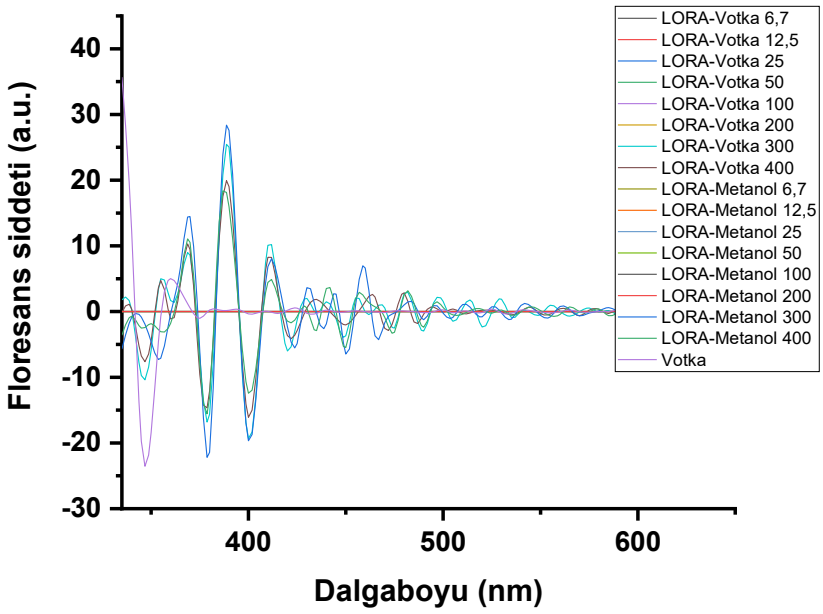
EK-Şekil 24. ALP tabletin rose şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



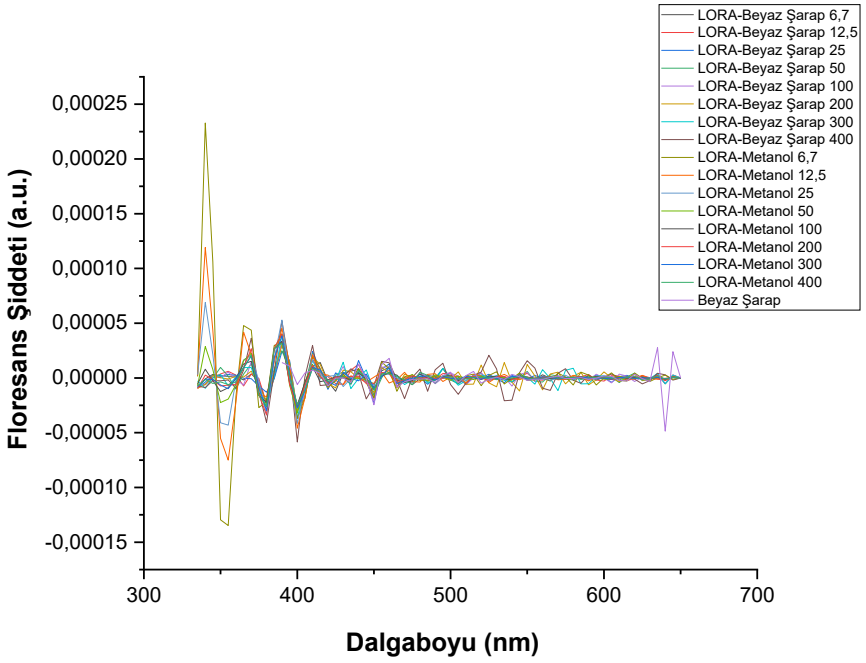
EK-Şekil 25. ALP tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



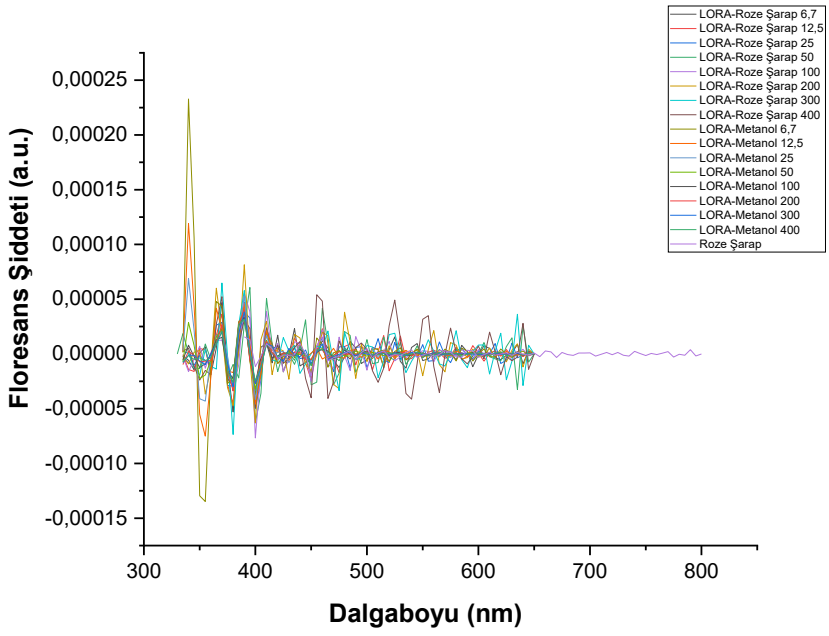
EK-Şekil 26. ALP tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



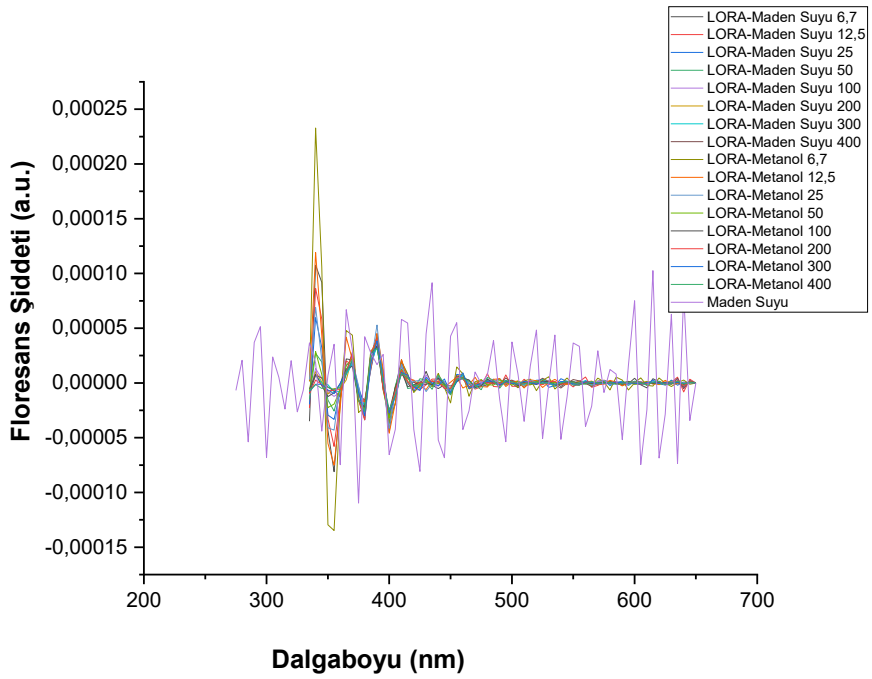
EK-Şekil 27. LORA tabletin votka ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



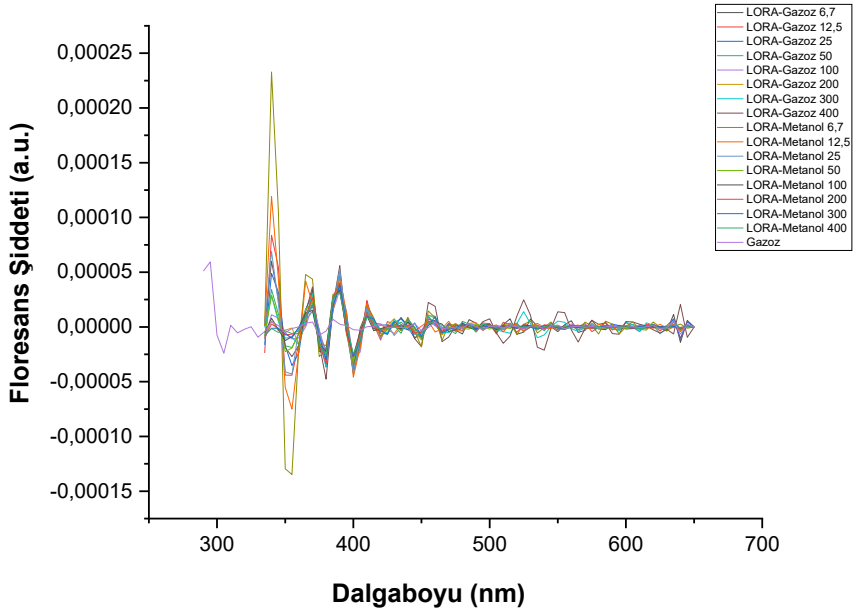
EK-Şekil 28. LORA tabletin beyaz şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



EK-Şekil 29. LORA tabletin roze şarap ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



EK-Şekil 30. LORA tabletin maden suyu ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.



EK-Şekil 31. LORA tabletin gazoz ve referans çözelti içerisindeki farklı derişimlerde dördüncü dereceden emisyon türev spektrumu.