

DENEY NO: 1

KANDA ETİL ALKOL TAYİNİ

A) Genel Bilgi:

- **Etil Alkol:** Etil alkol, alkollü içkilerde, içkinin türüne göre değişen miktarlarda (örn. birada %4-6, şarapta %8-12, rakı ve viskide %40-55) bulunabilir. Alkolün fatal ve akut toksik dozu, alınan içki cinsi ve bireysel faktörlere göre değişmektedir. Oral yolla alınan etil alkol, az miktarda oral ve gastrik mukoz membrandan, önemli bir kısmı ise ince bağırsaktan absorbe olur. Absorpsiyon sonrasında, homojen olarak tüm vücut sıvılarında dağılır. Organizmada metabolizma hızlı olarak gerçekleşir: Öncelikle, asetaldehite, daha sonra da asetik asite oksitlenir; asetik asit de başlıca CO₂ ve suya oksitlenir. Absorbe olan etil alkolün, %90'ı oksitlenir; geri kalan ise, idrar, solunum havası ve diğer vücut sıvıları ile atılır.

Etil alkol, potent bir merkezi sinir sistemi depresanıdır. Akut alkol zehirlenmesinde görülen belirtiler, kandaki alkol konsantrasyonuyla ilişkili olarak artar. Etil alkol, koroner ve cilt damarlarını da genişletir; serebrospinal sıvı sekresyonunu artırıcı ve basıncını yükseltici etkisi vardır. Düşük konsantrasyonlarda solunumu hızlandırmasına karşın, ağır zehirlenmelerde deprese edici etkisi vardır.

Akut alkol zehirlenmesinin başlıca belirtileri:

Bulantı, kusma, baş dönmesi, nefes ve kusmakta etil alkol kokusu, konuşurken dil dolaşması, terleme, refleks ve hareket koordinasyonunda bozukluk, kişilik değişikliği, deride kan damarlarının dilatasyonu sonucunda ısı kaybı (üşüme), nabızda yavaşlama, solunum kollapsı ve koma. Ölüm nedeni, solunum depresyonu.

Alkol zehirlenmesinin etkisi geçtiğinde, asidozis, beyinde ödem, karaciğer ve böbrekte şişme görülür. Sarhoşluktan sonra yaşanan baş ağrısı, serebral ödeme bağlanmaktadır.

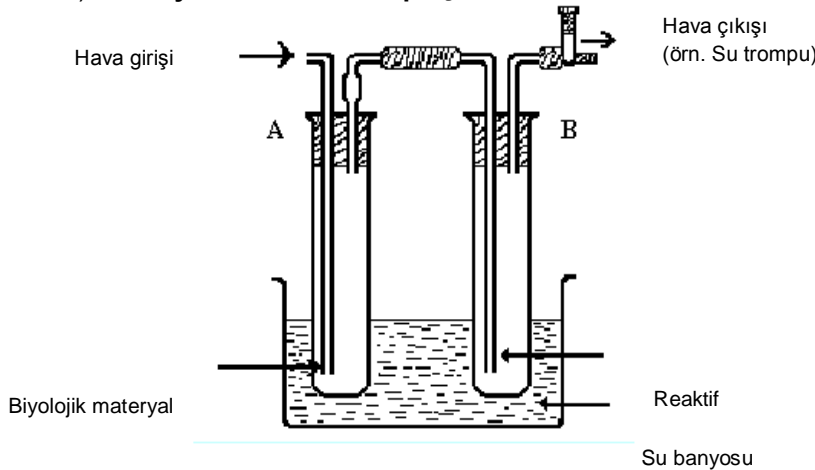
- **Biyolojik Materyalde Etil Alkol Tayini ve Önemi:**

Etil alkolün gün geçtikçe artan miktarlarda tüketimi, gerek sağlık gerekse ekonomi açısından büyük bir risk oluşturan sosyal bir sorun özelliği taşımayı sürdürmektedir. Özellikle, trafik kazaları ve kaza sonucu ölümlerde, alkol etkisinde araç kullanmanın önemli rolü olduğu bilinmektedir.

- Birçok ülkede, alkol etkisinde iken araç kullanmak yasaklanmıştır. Bunun için de, sürücünün kandaki alkol düzeyi, belirli bir limitin üstünde olduğunda trafik suçu olarak kabul edilmektedir. Örneğin; Norveç'te %0.05 g, İsveç'te %0.08 g, Danimarka'da %0.10 g üstünde alkol saptanması, sarhoşluk belirtisidir ve bu şekilde araba kullanmak bir suçtur.
- Ülkemizde ticari araç sürücüleri ve kamu hizmetinde çalışan sürücülerin alkollü olarak trafiğe çıkmaları tümüyle yasaklanmış (eser miktarda alkole dahi müsaade edilmemektedir); diğer sürücüler içinse yasal sınır olarak bir litre kanda 0.5 gram (0.5 g/L = 0.05 g/100 mL = %0.05g) alkole eşit olan, 0.5 Promil belirlenmiştir. Yasal olarak kabul edilen bu değer, çeşitli ülkelerde değişiktir. (**PROMİL: 1/1000 anlamına gelir. 1 g alkol / 1000 mL kan**)

Yasal açıdan bağlayıcı sonuçları da dikkate alındığında, etil alkolün duyarlı ve kesin olarak tayininin, analitik toksikolojide önem taşıdığı görülmektedir.

B) Deneyin Prensipleri ve Yapılışı:



Aparey:

Yandaki şekilde görüldüğü gibi, 30x210 mm boyutunda iki tüpe iki-delikli mantar geçirilir. Giriş ve çıkış boruları yerleştirildikten sonra, ara bağlantılar temiz lastik boru ile yapılır. Aparey, kaynar su banyosuna daldırılır ve hava akımı su trompu ile sağlanır.

- **Prensip:** Kan, idrar, serebrospinal sıvı veya mide içeriğindeki alkol, distilasyonla serbest hale geçer ve ikinci tüpte (B tüpü) bulunan reaktif (**Ansties reaktifi:** $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$) tarafından tutulur ve reaksiyona girerek **yeşil renk** meydana gelir ($K_2Cr_2O_7$ 'taki Cr^{+6} , Cr^{+3} 'e indirgenir. Cr^{+6} , sarı-turuncu, Cr^{+3} ise yeşil renklidir). Yeşil rengin şiddeti, etil alkol miktarı ile orantılıdır. Deney koşullarında ve 4 mL kanla çalışıldığında, %0.05 - %0.30 g etil alkol, Lambert-Beer kanununa uyar. Bu metod, %0.01 g alkole kadar duyarlıdır.

Yeşil renkli çözeltinin absorbansı, kör (blank) deneye karşı 605 nm'de spektrofotometrede okunur. Sonuç, daha önce standart etil alkolle hazırlanmış kalibrasyon grafiğinden okunur.

- **Deneyin yapılışı:**

- A tüpüne 4 mL etil alkol tayin edilecek biyolojik materyal (kan, idrar, mide içeriği), 2 mL doymuş NaOH ve 2 mL doymuş $HgCl_2$ ilave edilir. Gerekliyorsa, köpük önleyici madde de katılır. B tüpüne ise, 9 mL Ansties reaktifi konur.
- Tüplerin ağzı derhal sıkıca kapatılır ve kaynar su banyosunda 20 dakika bekletilir. Bu sırada, trompla uygun hava akımı sağlanır.
- 20 dakika sonunda, su banyosundan çıkarılan B tüpü soğutulur ve dikkatle 10 mL'lik cam kapaklı bir mezüre boşaltılır. Eksik hacim su ile tamamlanır.
- Deney, aynı şartlarda, içinde alkol bulunmadığı bilinen biyolojik madde ile de yapılır. (Spektrofotometrede, kör olarak kullanılır)
- Renk şiddeti, spektrofotometrik yöntem ile belirlenecektir. Bunun için, mezür içinde, tam 10 mL'ye seyreltilmiş renkli çözelti spektrofotometre küvetine konur. Blank (kör deney) olarak hazırlanmış çözelti de diğer bir küvete boşaltıldıktan sonra 605 nm'de renkli çözeltinin absorbansı köre karşı okunur. Bu sonuç, önceden hazırlanan kalibrasyon grafiğinden değerlendirilerek etil alkol miktarı %g olarak bulunur.

Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması:

Önce, kesin olarak %2'lik (ağırlık olarak) standart etil alkol çözeltisi hazırlanır. Bunun için tam 2.53 mL mutlak alkol, 50 mL su içeren 100 mL'lik bir balonjojeye bir pipet veya büret yardımıyla ilave edilir. Hacim, balonjojede su ile 100 mL'ye tamamlanarak karıştırılır ve ağzı sıkıca kapatılır.

Alkol içermediği bilinen 4 mL'lik kan numunelerine, sırası ile 0 ile 0.8 mL arasında bu standart alkol çözeltisinden ilave edilir. Yukarıda açıklandığı şekilde, Modifiye Bogen usulü distilasyona tabi tutulur. Standartların, Ansties reaktifi ile verdiği rengin optik dansitesi blank'a karşı 695 nm'de spektrofotometrede okunur. Bu absorbans değerleri ve karşılık geldiği alkol konsantrasyonu bir grafik kağıdında işaretlenerek kalibrasyon grafiği hazırlanır.

Aşağıda alınan alkol standardı miktarına (mL) göre kanda (%g) karşılık geldiği alkol miktarı gösterilmiştir (4 mL kanda çalışıldığına göre)

Alınan alkol miktarı (mL) %2'likten	Kanda karşılık geldiği %g alkol
0	Negatif
0.1	%0.05
0.2	%0.10
0.3	%0.15
0.4	%0.20
0.5	%0.25
0.6	%0.30
0.7	%0.35
0.8	%0.40