



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİDEPRESAN İLAÇ KALINTILARININ ATIK SULARDA İZLENMESİ İÇİN
KROMATOĞRAFİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ**

MERVE SARIKAYA

20179150102

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

SİVAS-2020

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİDEPRESAN İLAÇ KALINTILARININ ATIK SULARDA İZLENMESİ İÇİN
KROMATOĞRAFİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

MERVE SARIKAYA

20179150102

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. HALİL İBRAHİM ULUSOY

SİVAS-2020

“Antidepresan İlaç Kalıntılarının Atık Sularda İzlenmesi İçin Kromatografik Yöntem Geliştirilmesi” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Analitik Kimya** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Selim ERDOĞAN _____

Üye Prof. Dr. Gültekin GÖKÇE _____

Üye (Danışman) Doç.Dr. Halil İbrahim ULUSOY _____

ONAY

Bu tez çalışması,.../.../...tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyde AKIN POLAT

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

YÖNERGE

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Merve SARIKAYA, 2020

Bende çok emeği olan aileme, nişanlıma, tez danışman hocama ve arkadaşlarıma...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca hem derslerimde, hem de tez çalışmalarında bana her daim yardımcı olan, anlayış gösteren, ilgi ve alakasını her zaman yanımda hissettiren, kendisini tanıdıkça sevdiğim, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum tez danışmanım, değerli ve saygı değer hocam Doç. Dr. Halil İbrahim ULUSOY'a en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, finansal olarak ECZ-063 kod numarası ile bu tez çalışmasını destekleyen Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Komisyon Başkanlığı'na,

Deneysel çalışmalar sırasında kullanılan katı faz destek maddesinin sentezi ve karakterizasyonu konusunda yardımlarını esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Erkan YILMAZ'a,

Bu yaşıma kadar maddi manevi her daim yanımda olan, yardımlarının ve varlıklarının bana verdiği huzuru her zaman yanımda hissettiğim canım annem Nurdan SARIKAYA, sevgili babam Mustafa SARIKAYA ve biricik kardeşlerim Ali SARIKAYA ve Furkan SARIKAYA'ya,

Yüksek lisans öğrenimimde içine düştüğüm her sıkıntıda benimle birlikte çözüm yolu arayan, bugüne kadar beni her zaman destekleyen, kayıtsız şartsız sevgisiyle hayatımın her sürecinde yanımda olan ve bu süreçte de desteğini esirgemeyen sevgili nişanım Hasan KARAGÜLMEZ'e

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

ANTİDEPRASAN İLAÇ KALINTILARININ ATIK SULARDA İZLENMESİ İÇİN KROMATOĞRAFİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

Merve SARIKAYA

Yüksek Lisans Tezi

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Halil İbrahim ULUSOY

2020, 52+xv sayfa

Bu tez çalışması kapsamında, kullanımı giderek artan antidepresan ilaçlardan olan Fluoksetin (FLU) ve Sitalopram (CIT)'ın atık su örneklerinde eser miktarlarının izlenmesi için Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu (MSFE) sonrasında kromatografik (HPLC-DAD) analizleri içeren yeni bir zenginleştirme ve tayin yöntemi geliştirilmiştir. Önerilen yöntemde FLU ve CIT analitleri pH 10.0'a tamponlanmış ortamda yeni sentezlenen manyetik temelli nano partiküller yardımıyla katı sorbent fazına çekilmiş ve kromatografik tayinler öncesinde asetonitril ile tekrar daha küçük bir hacme desorbe edilerek zenginleştirilmiştir. Analiz öncesi 0.45 µm gözenekli PTFE enjektör uclu filtre ile süzülerek viallere aktarılan örnekler HPLC cihazına yerleştirilmiştir. Etkileşim süresi, desorpsiyon çözgeni, pH gibi deneysel değişkenler optimize edildikten sonra doğrusal aralık, zenginleştirme faktörü ve tayin sınırı gibi analitik parametreler belirlenmiştir.

Geliştirilen yöntemde; FLU ve CIT molekülleri zenginleştirme sonrası, % 60 pH 3.0 fosfat tamponu, % 10 asetonitril ve % 30 metanol yürütücü fazlarının gradient elüsyonu ile DAD dedektör kullanılarak 238 ve 252 nm dalga boyunlarında analiz edilmiştir. Optimize edilen koşullar altında her bir antidepresan türü için elde edilen tayin ve nicelleştirme sınırları sırasıyla 1.43 ve 4.71 ng mL⁻¹ iken 100 ng mL⁻¹ ilaç etken maddelerini içeren model çözeltiler ile yapılan 3'er tekrarlı ölçümlerde % BSS değerleri % 3.50'in altında bulunmuştur. Son olarak geliştirilen yöntem sentetik idrar çözeltisi, atık su ve çevresel su örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmış ve geri kazanım deneylerinde kantitatif sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Fluoksetin, Sitalopram, HPLC, Manyetik Katı Faz Ekstraksiyon, Çevresel Su örnekleri

ABSTRACT

DEVELOPMENT A CHROMOTOGRAPHIC METHOD FOR DETERMINATION OF ANTIDEPRESANT DRUG RESIDUES IN WASTEWATERS

Merve SARIKAYA
Master Thesis
Department of Analytical Chemistry
Supervisor: Assoc. Prof. Halil İbrahim ULUSOY
2020, 52+xv pages

In this thesis, a new pre-concentration and determination method for trace determination of antidepressant drugs, Fluoxetine (FLU) and Citalopram (CIT), in waste waters, was developed based on HPLC-DAD analysis after Magnetic Solid Phase Extraction (MSPE). In the proposed method, FLU and CIT molecules were retained on new synthesized magnetic sorbent in the presence of pH: 10.0 buffer and then were desorbed into lower volume of acetonitrile phase prior to chromatographic determinations. Before HPLC analysis, all samples were filtrated through a 0.45 μm porous PTFE filter. Experimental parameters such as interaction time, desorption solvent, and pH were studied and optimized in order to find detection limit, linearity, enrichment factor, etc.

In the developed method; FLU and CIT molecules were analyzed by DAD detector at wavelengths of 238 and 252 nm by using a gradient elution of 60 % pH 3.0 buffer, 10 % acetonitrile and 30 % methanol. By using optimized conditions, the detection and quantification limits obtained for each paraben species were 1.43 and 4.71 ng mL^{-1} respectively, while 3 repeated BSS % values with model solutions containing 100 ng mL^{-1} pesticide were found to be less than 3.50 %. Finally, the method was successfully applied to synthetically urine and environmental water samples and quantitative results were obtained in recovery experiments.

Keywords: Fluoxetine, Citalopram, HPLC, Magnetic Solid Phase Extraction, Environmental Water samples

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

ONAY	iii
YÖNERGE.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER/TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
KISALTMALAR/SİMGELER	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi.....	1
1.2. Araştırmanın Amacı.....	1
1.3.Araştırmanın Hipotezi	2
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Antidepresanlar	3
2.1.1.Antidepresan İlaçların Kullanım Alanları.....	3
2.1.2.Antidepresan İlaçlarla Zehirlenmeler	4
2.1.3.Antidepresan İlaçlar ve Etkileri	5
2.1.4.Fluoksetin.....	5
2.1.5.Sitalopram	7
2.2. Zenginleştirme Yöntemleri	8
2.2.1.Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)	9
2.2.2.Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi (LLE)	14
2.2.3.Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE)	15
2.3.Kromatografik Ayırma Yöntemleri.....	15

2.3.1. Kromatografide Temel Parametreler	16
2.3.2.Kromatografinin Sınıflandırılması.....	16
2.3.3.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	17
3.MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1. Kullanılan Reaktifler	20
3.2. Kullanılan Cihazlar	20
3.3. Fluoksetin ve Sitalopram İçin Doğrudan Tayin Koşulları	21
3.4. Katı Faz Destek Maddesinin Sentezi	25
3.4.1.Hummer Metodu ile grafen oksit sentezi.....	25
3.4.2. Magnetit Grafen Oksit Sentezi	26
3.4.3.Magnetit grafen oksit-polipirol nanomateryalinin sentezi.....	26
3.4.4. Katı faz destek maddesinin karakterizasyonu.....	26
3.5. Önerilen Yöntem	30
3.6. Çevresel Su Örnekleri ve Sentetik İdrar Örneklerinin Hazırlanması.....	35
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	36
4.1. Deneysel Çalışmaların Temel Yaklaşımı.....	36
4.2. Geliştirilen Yöntemin Optimizasyonu	36
4.2.1. pH etkisi.....	36
4.2.2. Çalkalama süresi	37
4.2.3. Çözücü seçimi ve miktarı	38
4.2.4. Vorteksleme süresi.....	40
4.3.Yöntemin Analitik Performans Ölçütleri	41
5. SONUÇ ve DEĞERLENDİRME.....	46
6. KAYNAKLAR.....	48
7.ÖZGEÇMİŞ	51

ÇİZELGELER/TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1: HPLC çalışma koşulları	22
Çizelge 2: HPLC ile doğrudan tayin sonuçları.....	22
Çizelge 3: Önerilen yöntemin analitik parametreleri.....	43
Çizelge 4: Geliştirilen yöntemin literatürdeki benzer yöntemlerle kıyaslanması.....	45
Tablo 1: Geliştirilen yöntemin çevresel su örneklerine uygulanması.....	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1.Fluoksetin molekül formülü.....	7
Şekil 2.2.Sitalopram molekül formülü.....	8
Şekil 2.3.Farklı boyutlarda bulunan SPE kolonları ve diskleri.....	10
Şekil 2.4.Vakum manifoldu.....	10
Şekil 2.5.Katı faz ekstraksiyonu ile maddelerin ayrılması.....	11
Şekil 2.6.Manyetik katı faz ekstraksiyon yöntemi.....	13
Şekil 2.7.HPLC cihazı.....	18
Şekil 3.1.Fluoksetin ve sitalopram için SPE öncesi elde edilen kromatogram.....	21
Şekil 3.2.Sitalopram için zenginleştirme öncesi kalibrasyon verileri ve grafiği.....	23
Şekil 3.3.Fluoksetin için zenginleştirme öncesi kalibrasyon verileri ve grafiği.....	24
Şekil 3.4.Sitalopram için DAD dedektördeki UV-VIS Spektrumları.....	24
Şekil 3.5.Fluoksetin için DAD dedektördeki UV-VIS Spektrumları.....	25
Şekil 3.6.Geliştirilen malzemenin FT-IR spektrum.....	27
Şekil 3.7.SEM görüntüleri	28
Şekil 3.8.Raman spektroskopisi görüntüleri.....	29
Şekil 3.9.Önerilen yöntemin basamakları	31
Şekil 3.10.Önerilen yöntemin basamakları	32
Şekil 3.11.Önerilen yöntemin basamakları	33
Şekil 3.12.Önerilen yöntemin basamakları	34

Şekil 4.1.Önerilen yöntem üzerine pH etkisi.....	37
Şekil 4.2.Önerilen yöntem üzerine katı faz etkileşim süresinin etkisi.....	38
Şekil 4.3.Önerilen yöntem üzerine çözücü etkisi.....	39
Şekil 4.4.Önerilen yöntem üzerine seçilen çözücünün etkisi.....	40
Şekil 4.5.Önerilen yöntem üzerine seçilen manyetikten standartın salınım süresinin etkisi.....	41
Şekil 4.6.Optimum koşullar altında elde edilen Sitalopram ve Fluoksetin'in kalibrasyon doğruları.....	42

KISALTMALAR/SİMGELER

FLU: Fluoksetin

CIT : Sitaloprom

MAO: Mono amin oksidaz

SSRİ: Selektif Serotonin Geri-Alım İnhibitörleri

SGAİ:Seçici Geri Alım İnhibitörü

FDA:Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

SPE:Katı Faz Ekstraksiyonu

MSPE:Manyetik Temelli Katı Faz Ekstraksiyonu

LLE:Sıvı Sıvı Ekstraksiyonu

CPE: Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu

TLC:İnce Tabaka Kromatografisi

GC: Gaz Kromatografisi

LC:Sıvı Kromatografisi

HPLC:Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

UV:Ultraviyole

ODS:Oktadesilsilan

1. GİRİŞ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Antidepresanlar, antidepresif etkileri olan ilaçlardır. Antidepresanların birçoğu beyindeki norepinefrin ve serotonin maddelerinin geri alımını engelleyerek etki ederler. Yapıları incelendiğinde birçoğunun trisiklik veya tetrasiklik çekirdeğe sahip olduğu görülür. Bu ilaçlar genellikle ruhsal çöküntü (depresyon) hallerinde tedavi amaçlı kullanılır. Günümüzde toplumun birçok kesiminde bir sağlık sorunu haline gelen depresyon, hayatın birçok alanında verimlilik ve iş gücü kaybına neden olmaktadır. Bazı durumlarda da tedavi süreciyle birlikte ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Pek çok ilaç etken maddesinde olduğu gibi hem tedavi edici dozun izlenmesi hem de kullanım sonrası atılım ürünlerinin takibi açısından bu tarz moleküllerin düşük derişimlerinin analiz edilebilmesi önemlidir. Bu analizlerde karşılaşılan iki temel problem çoğu durumda örnek matrisinin karmaşıklığı ve hedef molekül derişimlerinin analiz cihazlarının tayin sınırlarının altında kalmasıdır. Bu sorunların üstesinden gelmek için uygun bir taşıyıcı sistem ile ayırma ve zenginleştirme yöntemlerinin kullanımı tercih edilen bir uygulamadır. Antidepresanlar pek çok farklı moleküler yapıda yaygın olarak reçete edilmektedir. Bu tez çalışmasında ülkemizde en çok kullanılan antidepresan ilaçlardan iki tanesinin etken maddeleri üzerine yoğunlaşılacaktır. Bu etken maddeler fluoksetin ve sitalopramdır. Diğer antidepresan ilaçlara göre tolere edilebilir yan etkilere sahip olmaları amacıyla sıklıkla tercih edilmektedir. Çevresel ve biyolojik örneklerde tayinleri miktarları doğrudan ölçülebilecek seviyede ise kromatografik temelli yaklaşımlarla yapılabilmektedir.

1.2. Araştırmanın Amacı

Antidepresan ilaçların biyolojik örneklerle birlikte en çok izlendiği örnek grubu idrar ve atık su örnekleridir. Her iki örnek grubu antidepresanların yıkım ürünlerinin izlenmesi açısından son derece önemlidir. Çünkü karmaşık matrisleri ve ilaç etken maddelerinin doğrudan ölçülemeyecek kadar düşük derişimler ile karşımıza çıkmaktadır. Pahalı hibrit sistemlere sahip cihaz altyapıları ile bu tarz analizleri yapmak kimi zaman mümkün olsa da, bu cihazların hem kurulum hem de işletim maliyetleri oldukça yüksektir. Ayrıca hem analiz hem de sonuçların yorumlanması aşamalarında uzman kullanıcı bilgisine ihtiyaç duyulur. Antidepresanlar, uyuşturucu etki gösteren ilaçlar ve diğer birçok ilaç etken maddesi kullanım sonrası idrarla atılmakta ve kanalizasyona karışmaktadır. Atık su arıtma tesisleri ve şehir atık suları noktaları bu ilaçların kalıntılarını gözlemlmek için en belirgin yerlerdir.

Yapılan tez çalışmasının temel hedefi, fluoksetin ve sitalopram antidepresan etken maddelerinin düşük derişimlerini analiz edebilmek için manyetik temelli katı faz ekstraksiyon yöntemi geliştirilmesi ve daha sonra bu analizlerin HPLC kromatografisi ile tayin edilmesidir. Geliştirilecek yöntem katı faz ekstraksiyon destek maddesi ilk defa bu deney için sentezlenecek ve kullanılacaktır.

1.3.Araştırmanın Hipotezi

Araştırmanın temel hipotezi, hedef ilaç etken maddelerini ilgili olan bir manyetik nanopartikül sentezlenmesi ve bu sayede örnek ortamındaki fluoksetin ve sitalopram molekülleri matris ortamından uzaklaştırılarak daha küçük hacimdeki bir çözeltiye alınacağından derişimleri HPLC cihazının kolayca ölçebileceği seviyeye yükselmiş olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Antidepresanlar

Depresyon bir kişinin belli bir sürede değişmez biçimde üzüntülü, sıkıntılı, neşeli, taşkın ya da çökkün bir duygu içinde bulunmasıyla beraber düşünce, konuşma ve hareketlerde yavaşlama, fizyolojik işlevlerde bozukluk, durgunluk ve değersizlik, küçüklük, güçsüzlük, isteksizlik, karamsar duygu ve düşünceleri ile ortaya çıkan bir sendromdur. Depresyonun tedavisi çok önemlidir. Bu tedavi kişinin güvenliğinin garanti altına alınması, rahatsızlığın tam bir teşhisi hastanın içinde bulunduğu durum ve hastanın daha sonraki durumuna da hitap edebilen bir tedavi süreci başlatılmalıdır. Tedavi, hastaya uygulanan ilaç tedavisini ve psikoterapiyi kapsar şekilde olmalıdır. Tedavinin en başında doktor tavsiyesi ve kontrolünde verilen birtakım ilaç grupları vardır ve bu ilaçlara antidepresan ilaçlar denilmektedir. Antidepresan ilaçlar, başta depresyon olmak üzere birçok duygu durum bozukluğu ve madde bağımlılığı tedavisinde yaygın ve etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca uyku, yeme bozuklukları, ağrı sendromları tedavilerinde de kullanılmaktadır (Çubukçu, D.2016).

2.1.1.Antidepresan İlaçların Kullanım Alanları

İnsanlarda morhibite (hastalık hali) ile ilişkili olan hastalıklardan biri depresyondur. Her 10 depresyon tedavisi gören hasta insanda intihar girişimi görülmektedir. Bu girişim ise depresyon tedavisinde verilen ilaçların yüksek dozda alınmasıyla gerçekleşir (Salkım, D.2008). İlaç kullanımı bedensel ve ruhsal hastalıklarda tedavi sağlması amacıyla bilinçsiz şekilde artmaktadır. İşte bu tür hastalıklarda etkisini gösteren ilaçlar antidepresanlar olarak adlandırılmaktadır. Vücuda sağladığı etkilere karşılık antidepresan ilaçlarda her dozda kullanımın güvenilirliği çok fazla önem arz etmektedir (Üstüner, D.2010).

Depresyona girmiş hastalarda beyinde salgılanan serotonin, noradrenalin, dopamin gibi duygu ve düşünce hayatını düzenleyen maddeler azalmıştır. Bu durumlarda antidepresan ilaç kullanımı devreye girer (Yüksel, N.2003). Hastanın durumu her ne kadar ciddi olursa olsun antidepresan ilaçlar için önerilen kullanım süresi 6 ay ile 1 yıl arasındadır. Depresyona girmiş hastaların % 70 veya % 80'i hiçbir müdahaleye gerek kalmadan önerilen sürede antidepresan ilaç kullanarak tedavi edilmektedir. Geri kalan kısımda ise ilaç kullanım süresi etki göstermeyenlerde dahil psikolojik destek alınımı gibi ekstra yöntemlere ihtiyaç duyulur (Merey, G.2016).

Trisiklik antidepresanların kullanımı sağlıklı ve gönüllü olan bireylerde kalp hızı değişe bilirliğini azaltarak kroner arter hastalığında (kalp damar hastalığı) kalp krizi sonrası

ani ölümle sonuçlanmasına sebebiyet verebilir. Kalp hastalarında genel olarak uygun görülmemektedir. Tedaviye başlangıçta 2-3 haftada etkili olan ilaç grubudur ve mutlak zorunluluk olmadıkça kullanılmamalıdır.

Özgül serotonin geri alım engelleyicileri son zamanlarda tercih edilmeye başlanmıştır. Bu grup ilaçların kullanımının güvenilirliği konusunda kanıtlar artmaktadır. Antikolinerjik (salgıların azaltılması) ve $\alpha 1$ adrenerjik (düz kas kasılma, mesane gevşeme... vs.) etkileri yoktur. Risk etkenlerini arttırıcı özelliği yoktur. Ancak etkileşme olasılığı yüksektir.

Mono amin oksidaz inhibitörlerinde trisiklik antidepresanlara benzer şekilde kullanımı doktor tavsiyesi gerektirir. Hastalık halinin ilk 6 ayında önerilmemektedir. Mono amin oksidaz inhibitörleri diyet kısıtlaması olası etkileşmeler ve ani baş dönmesi nedeni ile önerilmemektedir.

2.1.2. Antidepresan İlaçlarla Zehirlenmeler

Çok eski zamanlardan beri ve günümüzde de hala etkisi en çok görülen sağlık sorunlarının çözümünde önemli adımlar atan batı toplumları, bireyin sorunlarını çözmede aynı oranda başarılı olamamışlardır. Bu ve birçok sebeplerden dolayı toplumlarda bilinçsiz ilaç kullanımı ve intihar sayıları yükselmiştir. İntihar girişimi, toplumlarda farklı oranlarda görülen önemli bir ölüm nedenidir (İnal V. Yamancı L.H. Kartal Ö. 2004). Antidepresan ilaçlarla zehirlenmelerde bu durumların başında gelmektedir. Bu durumlar büyük oranda intihar amacıyla yüksek doz ilaç alımı veya yanlış kullanım sonucunda oluşmaktadır.

İntihar girişiminde bulunanların % 95'inde tanı konabilen bir ruhsal bozukluk bulunduğu bildirilmektedir. Bu grubun % 80'ini ise depresif bozukluklar oluşturmaktadır. Başka bir deyişle depresif bozukluklar intiharın en önemli nedenini oluşturmaktadır. Geçmişte depresif bozuklukların büyük ölçüde fark edilmediği ve bu nedenle de önemli bir kısmının tedavi edilemediği bilinmektedir (Salkım, D.2008).

İntihar eğilimi olanlar açısından en kolay intihar yollarından biri, mevcut ilaçların yüksek dozda alınmasıdır. Bazı hastaların bir süre ilaç kullanıp kısmen iyileştikten sonra intihar edecek gücü bulabilmesi, depresif bozuklukları tedavi eden tüm hekimlerin dikkat etmesi gereken bir konudur. Aşırı doz alımında öldürücü olabilen antidepresanlar için reçete verilirken en fazla on günlük doz yazılması aşırı dozdan ölümleri önleyebilir.

2.1.3. Antidepresan İlaçlar ve Etkileri

İlaçlar etki mekanizmaları, farmakolojik etki profilleri ve kimyasal yapıları bakımından yedi gruba ayrılırlar. Bunlar mono amin oksidaz inhibitörleri, trisiklik inhibitörleri, seçici serotonin geri alım inhibitörü, serotonerjik ilaçlar, seçici noradrenerjik geri alım inhibitörü, noradrenalin ve dopamin geri alım inhibitörü, serotonerjik ve noradrenalin geri alım inhibitörüdür. Bizim inceleyeceğimiz grup : Selektif Serotonin Geri-Alım İnhibitörleridir.

Selektif Serotonin Geri-Alım İnhibitörleri (SSRİ)

Vücudumuz serotonin hormonu yani "mutluluk hormonu" dengesini ayarlar. Bu hormon doğal olarak her vücudun kendi kendine ürettiği bir hormondur. Depresyon hallerinde genelde vücut kendi ürettiği serotoninden tam anlamıyla faydalanamaz halde olduğundan, bu tarz ilaçlar bunu düzene sokar, gerektiği kadarından faydalanmayı sağlarlar. Bu ilaçları kullanırken dışardan vücuda serotonin verilmiyor, sadece vücudumuzdaki serotonimizi en efektif şekilde kullanmamızı sağlar. Bu tür antidepresanların etkisi sadece "rahatlatıcı" değil, aynı zamanda "tedavi edici"dir. Özellikle ilk kez bu tür ilaç kullanmaya başlayanlarda, ilk 15-20 gün içinde şiddetli yan etkiler görülmesi gayet olagan durumlardır, hatta beklenen bir durumdur. En sık yan etki olarak: bulantı, mide-barsak sorunları, çarpıntı, daralma hissi, uyku bozuklukları görülür. Bu noktada yapılması gereken en önemli şey, tüm bu etkilerin gayet normal olduğunu ve ilacı kullanmaya devam edildiğinde de en geç 15-20 günde tedavinin cevap verdiği gözlemlenmiştir.

Bu tür ilaçlarda minimum tedavi süresi 6 aydır. Rahatlama hissi oluşur ama 3-5 ayda hiçbir "iyileştirici sonuç" beklememek gerekir. İlaç kullanım süresi dolsa dahi bu tür ilaçların doktor kontrolünde bırakılması tavsiye edilir (Örsel, S. 2004).

(SSRİ İlaçlar; fluoksetin, sertralin, paroksetin, fluvoksamin, sitalopram, essitalopram ve SSRİ-Benzeri İlaçlar; mirtazapin, venlafaksin, reboksetin, atomoksetin, milnasipran, duloksetin, St.John'wort bitkisi ekstresi).

2.1.4. Fluoksetin

Fluoksetin ile yapılan çalışmaların fazlalığından dolayı kullanımını en çok olan Seçici Geri Alım İnhibitörü (SGAİ)'dir. Depresyon, adet öncesi sendromunda kullanımını için FDA onayı vardır. Panik bozuklukta, sosyal kaygı bozukluğunda, mevsimsel affektif bozuklukta, postmenapozal sıcak basmalarında, alkol ve sigara kesilmesinde ek tedavi olarak etkindir.

Fluoksetin, nöroleptikler ve trisiklik antidepresanlar gibi CYP2D6 enzimi tarafından metabolize edilir. Sözü edilen bu ilaçlar CYP2D6 enzimini inhibe eden ilaçlardır. Fluoksetin bu ilaçlarla birlikte kullanıldığında, CYP2D6 enzimi daha çok inhibe edileceğinden, uygulamada dikkatli olunmalıdır (Yüksel, N.1999).

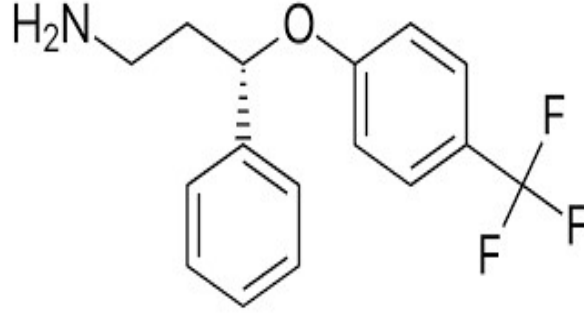
Fluoksetin, oral yolla büyük oranda emilir. Bir bölümü ilk geçiş metabolizmasına uğrar. Biyo yararlanımı % 90 kadardır ve doza bağlı olarak artar. Emilimi, kapsül ve solüsyon formülasyonları yönünden önemli bir farklılık göstermez. Dağılım hacmi, lipofilik diğer ilaçlar gibi çok geniştir (14-100 L/kg). Genelde karaciğerde etkileştiğinden, karaciğer işlev bozukluğunda metabolizma etkilenir. Vücuttan atılım yavaşlar. Bu nedenle karaciğer hastalarında dikkatle kullanılmalıdır. Tıpkı karaciğer hastalarında olduğu gibi böbrek yetmezliği olan hastalarda da birikim gerçekleştirip organın işlevini bozacağından dolayı dozu az olacak şekilde kullanıma sunulmalıdır.

Fluoksetinin tek dozda yarı ömrü 48 saat iken, yineleyen uygulamalarda 4 güne dek uzar. Fluoksetin kullanımı diğer kullanılan ilaç varsa etkileşim durumu ve ara verme olduğunda yan etki durumları göz önüne alınarak kullanılmalıdır. Aynı zamanda uzun süreli kullanımlarında, vücutta birikerek haftalarca vücutta kaldığı gerçekleşmiş gözlemler arasındadır. İlacın kesilmesi ile aktif ilacın vücuttan tamamen atılması 1-2 ay zaman alabilir. Yüksek oranda idrarla, düşük oranda da dışkıyla atılır. 20-80 mg/gün dozlarında ve sabah tok karına alınması önerilmektedir (Nevado B., Salcedo M., Llerena V., Nuevo A., 2000).

Fluoksetin etken maddesini içeren ilaçlarla tedavi sırasında, mide bulantısı, baş ağrısı, uykusuzluk, ishal, yorgunluk gibi güvenli yan etkileri vardır. Bunların dışında baş ağrısı, ciddi dikkat dağınıklığı, hafıza problemleri, mantıklı düşünememe, epilepsi nöbetleri ve denge kaybı gibi belirtiler, intihar düşüncesi, göğüste sıkışma ve ağrı, nefes kesilmesi, kanlı kusma , idrarda kan, öksürükle gelen anormal kanama durumları, durdurulamayan kanama durumları, ciddi alerjik reaksiyonlar...vb. etkiler de gözlemlenebilir.

Ama bu etkiler nadir görülenler arasında yer alır. Kalp atışında hızlanma, halüsinasyonlar, ciddi baş dönmesi, mide bulantısı, kusma, ishal, kas seğirmeleri, nedeni bilinmeyen ateş ve şeker hastalarının kan şekeri seviyesi fazla değişimi kullanım sırasında görülür görülmez doktora başvurmaları gerekmektedir (Salkım, D. 2008).

2.1.4.1. Fluoksetin' in Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri



Şekil 2.1.Fluoksetin molekül formülü

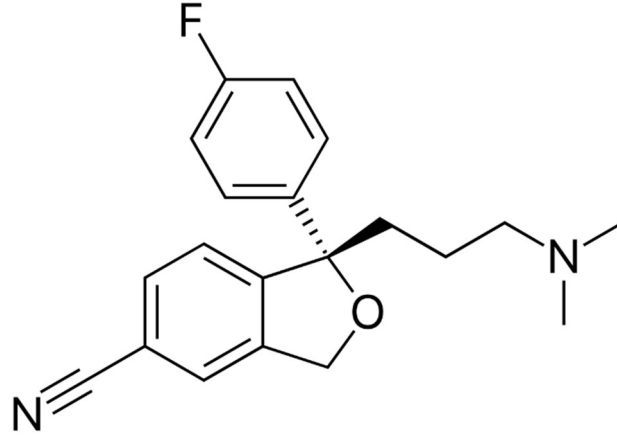
Fluoksetin' in kapalı kimyasal formülü $C_{17}H_{18}F_3NO$ dur. Kimyasal olarak ise N-metil-3-Fenil-3-propilami adlandırılmaktadır. Molekül ağırlığı 309.3 g/mol olup yarı ömrü 48saat ve beyaz renkli, kristal yapılıdır. Erime Sıcaklığı: 157.5-158.7°C sıcaklık aralığındadır. Çözünürlüğü 25°C'de suda 50 mg/ml, metanol'de 250 mg/ml, kloroform'da 125 mg/ml dir. Heksan, etilasetat ve benzende çözünmez.

2.1.5.Sitalopram

Cipram olarakta bilinen geri alım inhibitörüdür. Depresyon tedavisinde kullanılan serotoninin en seçici molekülüdür. Hastanın kendini daha iyi hissetmesini sağlamak ve depresyon belirtilerinin tekrarlanmasını önlemede yardımcı amaçlı kullanılır. Benzer etki gösteren hastalık tedavisinde kullanılan ilaçları SSRI olarak bilinen antidepresan ilaç gurubuna aittir. Mesela mono amin oksidaz inhibitörleri (MAOI) ile kullanılmadan önce bunların kullanımı üzerinden 2 haftadan fazla süre geçmesi tavsiye edilmektedir.

Her iki ilaçta tavsiye edilen sürelerden önce kullanılırsa serotonin sendromu denilen kas sertleşmesi, kalp ritmi, kan basıncında ani değişimler, bayılmalar, zihin bulanıklıklarına neden olur. Doktor kontrolünde kullanım sağlanırsa karaciğer sitokrom enzimi ile az etkileşir. Bu yüzden ilaç etkileşimlerinden az etkilenir. Kalp ritmi bozukluğu ve ani ölümle sonuçlanan etkileri intihar girişimi gibi yan etkiler çok seyrek görülür. Ama birkaç gün yada hafta süren mide bulantısı, sinir, halsizlik, titreme, uyku bozukluğu, kabızlık, sık idrara çıkma, burun kanaması gibi etkiler sitalopramın olası yan etkileri olarak sınıflandırılabilir.

2.1.5.2.Sitalopram'ın Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri



Şekil 2.2.Sitalopram molekül formülü

Mol kütlesi 324.392 g/mol ve moleküler ağırlığı 324.392 g/mol olarak bilinmektedir. Yarılanma ömrü 35 saat ve kapalı kimyasal formülü C₂₀H₂₁FN₂O'dur. Görünümü katı ve toz halde olup renk ve erime noktası sıcaklığına dair mevcut veri yoktur.

2.2. Zenginleştirme Yöntemleri

Son yıllarda eser elementlerin analizinde hassas ölçüm yapan cihazlarla doğru ve hızlı ölçüm yapmak hedeflenmektedir. Analizlerde hassasiyeti fazla olan bu cihazlar bulunmasına rağmen cihazların matriks ortamda tayinlerde yeterli olmadığı görülmektedir. Çünkü analitlerin buldukları örnekler içerisinde çok düşük derişimlerde bulunmaları ve içerisinde buldukları ortamın çok karmaşık bir yapıya sahip olması aletli analiz yöntemleriyle tayinlerini zorlaştırmaktadır (Alver, 2012)(Altun, F. 2013).

Matriks ortamdan analitleri ayırma, deriştirme gibi ön işlem uygulanması gerekmektedir. Ayırma ve zenginleştirme işlemleri genelde damıtma, bir katı yüzeyine adsorpsiyon ve ekstraksiyon gibi işlemler yapılarak gerçekleştirilir. Ayırma, bir maddenin temasta bulunan iki faz arasında değişik oranda dağılması kuralına dayanır. Bütün ayırma yöntemlerinde katı-sıvı, sıvı-sıvı, sıvı-gaz ve katı-gaz şeklinde olabilen iki faz bulunmaktadır (Aydemir, N. 2009). Bu işlemler uygulanırken yabancı maddeler örneğe eklendiği ve ilk örneklerdeki bazı maddeler ayrıldığı için orijinal matriks, tayini daha kolay olan bir matrikse dönüştürülür (Sarıdal, K. 2018).

Fazlardan birinde analiz edilecek madde diğerinde ise bozucu etki yapan madde toplanır. Bu iki faz birbirinden fiziksel yöntemler ile ayrıldığı zaman bozucu etki yapan türlerin derişimi analiz edilecek maddenin gerçekleştirdiği, analizde temel olan tepkimeleri etkilemeyecek seviyeye indirgenir (Henden, 2002).

Zenginleştirme, büyük hacimdeki eser bileşenlerin daha küçük hacme alınması işlemidir (Gökkaya, 2014). Analitik tekniğin gözlenebilme sınırının örnekteki analitin derişimine göre daha büyük olması durumunda, başlangıç derişimine göre analit derişimi arttırılır.

Zenginleştirme analitik amaçlı olduğu gibi endüstride ya da laboratuvarlarda madde elde etme amaçlı da yapılır. Diğer bileşenlerin gruplar halinde veya seçici olarak ana bileşenden ayrılmasıyla yapılabileceği gibi ana bileşen diğer bileşenlerden ayrılarak da yapılabilir (Çıtak, D. 2010).

Eser element analizinde yaygın kullanılan zenginleştirme yöntemlerini iyon değiştirme, elektrolit zenginleştirme, adsorpsiyon ile zenginleştirme, birlikte çöktürme, uçurma yöntemi ve bulutlanma noktası ekstraksiyon yöntemleridir (Atalay, 2012). Bu çalışmamızda ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan manyetik temelli katı faz ekstraksiyonu yönteminden yararlanıldı.

2.2.1.Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

1970’li yıllarda ve öncesinde klasik metotlar kullanılıyordu. 1970’li yılların ortalarında örnek hazırlamada zamandan ve maliyetten kazanarak daha basit yöntem olan katı faz ekstraksiyonu geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır (Çıtak, D. 2010). SPE absorbanların tek kullanımlık kolonlara doldurulması ve pratik örnek hazırlama düzeneği tasarlanması ile birlikte en etkili ve laboratuvarlarda en çok kullanılan örnek hazırlama yöntemi halini almıştır (Atalay, E.D 2012).



Şekil 2.3. Farklı boyutlarda bulunan SPE kolonları ve diskleri

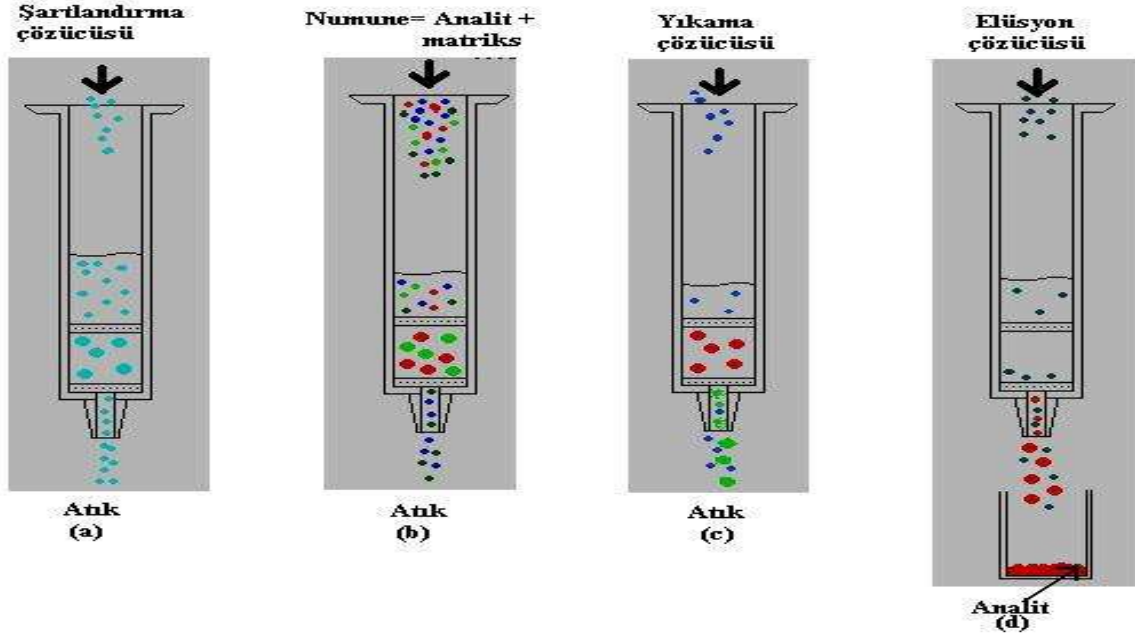


Şekil 2.4. Vakum manifoldu

SPE'deki amaç sıvı örneğin istenmeyen bileşenlerden temizlenip, örneğin değişimini ve zenginleştirmeyi sağlamaktır. Kolonlardan geçirilen örnek yer çekimi etkisiyle yada vakum manifoldları yardımıyla yapılabilir (Shulamit , L.2005).

Örnek içindeki iyonlarıSSn bozuculuk, cihaz kirliliği vb. olumsuz etkilerinin giderilmesi için kimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Örneğin içindeki analit iyonlarının saflaştırılmış ve derişmiş olarak matriksten ayrılıp kompleks yapıdan kullanıma elverişli yapı oluşması sağlanmıştır (Yavuz, Aksoy 2006).

Bir katı faz ekstraksiyonu yöntemi ile maddelerin ayrılması 4 temel adımı içerir ve bu adımlar Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Katı faz ekstraksiyonu ile maddelerin ayrılması

İlk basamakta safsızlık ve dolgu maddesinin ıslatılmasını sağlamak için katı fazın uygun çözütücü ile şartlandırması yapılır. Bu basamakta fonksiyonel gruplar solvatize olur ve katı faz üzerindeki kirlilikler giderilir. Şartlandırma işlemi yapılırken hava olan bazı kısımların yani boş hacimlerin çözütücü ile dolması sağlanır. Analitlerden uygun geri kazanım almak için katı fazın kurumaması ve kurduğunda tekrar şartlandırılması gerekir. İkinci basamak katı fazın içinden örneğin süzülmesidir. Örnek kolondan yerçekimi, pompalama veya vakum yardımıyla geçirilir. Bu işlem zaman kaybını en aza indirecek şekilde ve analitlerin tutunmasını sağlayacak kadar yavaş yapılması gereken bir işlemdir. Üçüncü basamak kolonun analitler kolondan uzaklaşmadan, katı faz üzerindeki ortam bileşenlerinin uzaklaştırılması amacıyla uygun çözütücüyle yıkanması işlemidir. Dördüncü basamak ortam bileşenlerini bertaraf edecek şekilde kolondan uygun çözütücü geçirilerek analit iyonları ile elüsyon sağlama basamağıdır. Burada çözütücünün akış hızı ile çözütücü analitle etkileşimini sağlayacak şekilde hacminin ayarlanması gereklidir. Katı faz ekstraksiyon yönteminde katı faz olarak, adsorblama kapasitesi yüksek absorbanlar kullanılır (Aksoy, Yavuz 2006).

Absorban seçiminde önemli parametreleri:

- Geniş bir pH aralığında çok sayıda analitin seçimli olarak ayrılması,
- Kantitatif adsorpsiyon ve desorpsiyon sağlaması,
- Kinetik açıdan hızlı adsorpsiyon ve desorpsiyon mekanizmaları oluşumu sağlaması,
- Rejenere edilebilir olması,
- Yüksek tutunma kapasitesi,
- Mekaniksel ve kimyasal kararlılığının olmasıdır.

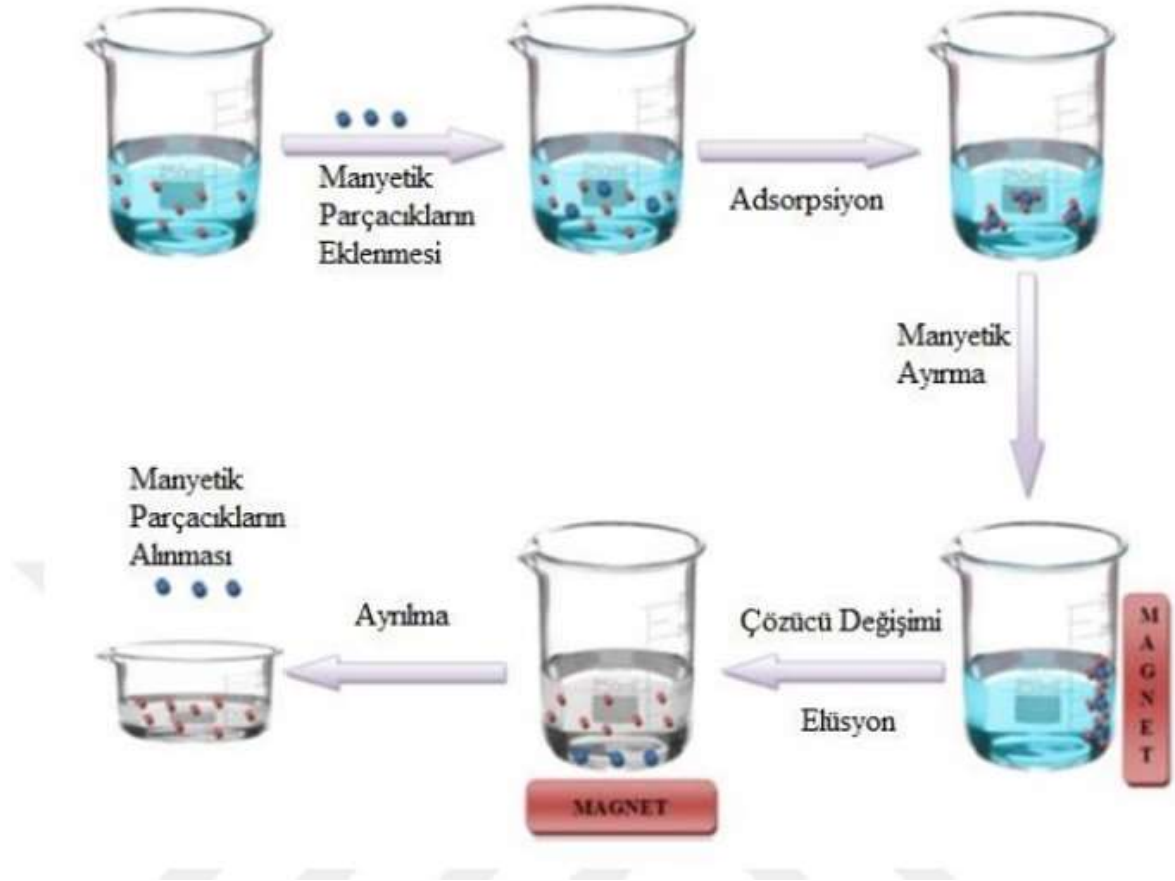
2.2.1.1. Manyetik Temelli Katı Faz Ekstraksiyonu (MSPE)

Son yıllarda manyetik özellik taşıyan absorban madde kullanımına dayalı katı faz ekstraksiyonu yöntemine ilgi duyulmaya başlanmıştır. Manyetik ayrılma ilk önce 1973'de Robinson ve arkadaşları tarafından manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE) terimi olarak dile getirilmiştir. Analitik amaçlı olarak da 1999 yılında Safarikova ve Safarik tarafından kullanılmıştır (Safarikova & Safarik, 1999).

MSPE, Şekil 2.6'da görüldüğü gibi reaksiyon çözeltisine manyetik partiküllerin eklenmesini içermektedir. Bu manyetik partiküller genellikle magnetit (Fe_3O_4) ve türevlerinden oluşur ve sol-jel tekniği kullanılarak silika ve alümina oksitlerle kaplanır. Uygun fonksiyonel gruplar polimerizasyon ile hareketsiz hale getirilebilir. İlgili hedef analitler manyetik partiküllerin yüzeyine adsorbe edilir. Daha sonra harici bir manyetik alan (mıknatıs) ile sulu çözeltiden ayrılır. Birden fazla matriks çözeltilerinin bulunduğu durumlarda bu yöntem tercih edilebilmektedir.

Manyetik partiküllerin uygulanması geleneksel SPE tekniklerine kıyasla daha basittir. Çünkü MSPE'de dolgu maddesi ile doldurulan bir kolona ihtiyaç yoktur. Matriks çözelti içerisindeki hedef analit ile diğer bileşenlerin ayrımı, harici bir manyetik alan (mıknatıs) uygulanarak hızlı ve kolay bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Manyetik nanopartiküllerin kullanılması SPE'deki ekstraksiyon prosedüründeki adım sayısını azalttığı için analitlerin izolasyonunu kolaylaştırır ve zaman tasarrufu sağlar.

Bu teknikte harici bir manyetik alan kullanılması, dolgu maddesi yüzeyinde adsorbe edilen analitlerin ayrılmasını kolaylaştırır. MSPE bunun dışında yeşil kimya ilkelerine uyarak organik çözücülerin kullanımını azaltır. Toksik ve tehlikeli atıkların oluşumunu azaltabilir (Spiegel, Marcinkowski, Guardia & Namiesnik, 2013).



Şekil 2.6. Manyetik katı faz ekstraksiyon yöntemi(Kayıkçı, S., 2019)

2.2.1.2.Katı Faz Ekstraksiyon Yönteminin Uygulanışı

Katı faz ekstraksiyon yönteminin iki tür uygulanışı vardır. Bunlardan kolon tekniğinde işlem öncesinde benzer çözücü ile şartlandırma yapılır. Absorbanın özelliğini kaybetmemesi şartıyla kolon alt ve üst kısmına cam pamuğu konulur. Gerekli ön işlemlerden sonra absorban işleminde yıkama yapılır. İstenmeyen ortam bileşenleri bu işlem yapılırken göz ardı edilmez ve buna göre yıkama işlemi yapılır. Katı fazda bulunan analit iyonları uygun çözücü kullanılarak zenginleştirildikten sonra derişim tayini yapılır (Çıtak D.2010, Kırış T.2012, Atalay 2012).

Çalkalama Tekniğinde (Batch Metodu) tutunma dengesi sağlanana kadar çözelti ve içindeki katı madde çalkalanır. Çözelti çalkalanması tamamlandıktan sonra denge sağlanınca katı faz süzme veya aktarma işlemi ile çözülden ayrılır. Bu teknik dağılma katsayısı büyük olan element zenginleştirilmesinde kullanılır.

2.2.1.3. Katı Faz Ekstraksiyonu Avantajları(SPE)

SPE metodunun daha fazla tercih edilmesinin nedenleri ve avantajları şu şekilde özetlenebilir:

- Hızlı sonuç verir. Kullanımı kolay ve pratik bir metottur.
- Daha az çözücü ve ayıraç madde kullanılır.
- Geri kazanım oranı yüksektir ve istenilen yoğunlukta örnekler elde edilebilir.
- Örnek, tutucu madde ve çözücüler arasında çapraz bulaşma riski düşük olduğundan yüksek doğrulukta sonuçlar alınabilir .
- Miktarı azda olsa örnek işlenebilir, emülsiyon oluşma problemi yoktur .Kararlı örnek oluşur.
- Miktarı az olan çözücü ve örnek kullanılarak zehirli madde teması, az cam malzeme kullanımı olduğu için güvenli ve çevreye zararı az olan bir metottur.
- Birden fazla örneği aynı anda işleyebilme özelliğinden dolayı otomasyonu kolaydır (Şahinbaş, 2011).

2.2.2.Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi (LLE)

Uygun bir çözücü içerisinde çözülmüş maddelerin başka bir sıvı faz içerisine alınarak ayırma ve önderiştirme amacıyla kullanılan en eski yöntem sıvı-sıvı ekstraksiyonu denir. Basit ve hızlı olması nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Eser element analizi uygulamalarında kullanılan fazlardan birisi su, diğer faz ise su ile karışmayan bir organik çözücüdür. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu yöntemi iki şekilde uygulanır. İlk yöntemde ana bileşenler organik faza alınır ve eser elementler sulu fazda kalır ve tayini yapılır. İkinci yöntemde ise eser elementin uygun bir ligand ile şelatı oluşturulur ve organik faza alınır. İkinci yöntem ilk yöntemle göre genellikle daha çok tercih edilir. Eğer organik faz tayini zorlaştırmıyorsa eser elementin analizi yapılır. Organik faz eğer tayini zorlaştırıyorsa bu faz uzaklaştırıldıktan sonra eser elementin analizi gerçekleştirilir. Kompleksleştirici seçimindeki en önemli faktörlerden biri, seçilen kompleksleştiricinin söz konusu elementlerin tümüyle kompleks oluşturmasıdır (Evangelos vd. 2005).

2.2.3.Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE)

Bulutlanma noktası ekstraksiyonu organik bileşiklerin ayırma ve zenginleştirilmesinde kullanıldığı gibi metallerin zenginleştirilmesinde de sıkça kullanılmaktadır. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu basit, güvenilir, düşük maliyetli ve çevreci bir yöntemdir. Ayrıca sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında yüksek zenginleştirme faktörüne sahiptir. Metal analizlerinden, çevresel çalışmalara, biyolojik alandan tıpa kadar birçok alanda bulutlanma noktası ekstraksiyonu uygulamaları ile sıkça karşılaşılmaktadır.

Bulutlanma noktası ekstraksiyonu ayrılması istenilen metal iyonunu içeren çözelti ortamına kompleksleştirici ilave edilerek metal iyonlarının kompleksi oluşturulur. Ardından ortama konulan yüzey aktif madde aracılığı ile su içerisinde hidrofobik hücreler oluşturulur. Ayırımı yapılacak olan maddeye bağlı olarak oluşturulan özel şartların (pH, sıcaklık, vb.) ardından hedef yapı miseller içerisinde hapsedilerek çözeltide bulunan yüzey aktif maddenin yapısına göre bulutlanma noktası değerine kadar çözelti ortamı ısıtılır. Bulutlanma noktasına ulaşıldığında çözelti santrifüjlenerek iki faza ayrılır. Bu iki fazdan biri yüzey aktif madde bakımından zengin olan faz, diğeri ise sulu fazdır. Santrifüj işleminden sonra bir buz banyosunda veya buzdolabında soğutulur. Böylece fazlar arasındaki viskozluk farkı büyür ve fazların birbirinden ayrılması kolaylaştırılmış olur. Bu sayede hedef yapı ortamdan ayrılmış, ilk etapta bulunduğu çözelti hacmine göre çok daha küçük bir hacim içerisinde hapsedilmiş yani zenginleştirilmiş olur (Hinze, 1999).

2.3.Kromatografik Ayırma Yöntemleri

Kromatografi, birçok ayırma metotlarını ve tekniklerini kapsar. Bu nedenle kromatografinin tam bir tanımını yapmak oldukça zordur. Bir karışım içinde bulunan farklı fiziksel veya kimyasal özelliklere sahip maddelerin bir hareketli faz yardımıyla sabit bir faz üzerinden geçirilmesi ile bu iki fazda farklı dağılma katsayılarına bağlı olarak ayrılması yöntemidir (Çıtak,2010). “Kromatografinin temeli, Rus bilim adamı botanikçi Michael Tswett tarafından atılmıştır. Tswett yeşil yapraklardan elde ettiği çözeltiyi toz haldeki kalsiyum karbonat doldurulmuş cam bir kolondan geçirerek, çözeltide bulunan klorofil, ksantofil gibi renkli maddeleri kolonda ayırmayı başarmıştır. Sonuçta elde ettiği renkli tabakalardan esinlenerek yaptığı ayırmaya kromatografi adını vermiştir” (Ağar,2017).

2.3.1. Kromatografide Temel Parametreler

Alıkonma zamanı (t_R) ve kapasite faktörü (k): Kromatografide bir pik, alıkonma zamanı ile tanımlanır. Kromatografik karşılaştırmalarda alıkonma zamanı yerine sıklıkla kapasite faktöründen yararlanılır. Analizi yapılan türlerin kolon içinde geç etme hızı, kapasite faktörü olarak ifade edilir. Kapasite faktörü; uygulanan yöntem, her maddenin fiziksel ve kimyasal yapısına bağlı olarak farklılıklar gösteren bir değerdir.

Kromatografik parametrelerin optimizasyonu dikkat edilmesi gereken en önemli parametrelerden biridir. Bileşenin kolonda iyi tutulması durumunda kapasite faktörü değeri büyük olur yani bileşen kolon boyunca yavaş ilerliyor demektir. Kapasite faktörü değeri küçük ise bileşen mobil faza ilgi duyuyor yani bileşen kolon boyunca hızlı ilerliyor demektir. HPLC çalışmalarında kapasite faktörü mümkün olduğu kadar 1 ile 10 arasında tutulmalıdır. Kapasite faktörü çok küçük olursa, bileşik çözücü pikinden ayıramaz; çok büyürse ayırma işlemi çok zaman alır. Kapasite faktörü değerinin bu aralıkta olması, mobil faz ve durgun faz bileşimlerinin değiştirilmesi ile sağlanır.

Seçicilik (α): Kolonda daha uzun süre tutulan bileşene ait kapasite faktörünün, daha kısa süre tutulan bileşenin kapasite faktörüne oranı seçiciliği verir.

Teorik tabaka sayısı (N): Kolondan çıkan pikin sivri ve dar olması ve piklerin birbirlerinden iyi ayrılması ile ilgili olması münasebetiyle kolonun en önemli parametresidir. N'nin sayısal değeri, analizi yapılan maddenin cinsine bağlı olduğu gibi, deney koşullarına, (akış hızı, sıcaklık, kolon kalitesi gibi) dolumun tek biçimliliği gibi çeşitli faktörlere de bağlıdır. Tavsiye edilen değer $N > 2000$ dir.

Ayırma gücü (R_s): Bir numunede bulunan bileşenlerin ne derece ayrıldıklarını gösteren kantitatif terimdir. Bir kromatografik ayırmada en az ayrılan pikler, kritik pik çifti olarak adlandırılır. Sıvı kromatografide metod geliştirmede tüm pikler için ayırma gücünün $R_s \geq 1,5$ olması gerekmektedir.

Kuyruklanma faktörü: Kromatografide bir diğer önemli faktör de kuyruklanma faktörüdür. Pik yüksekliğinin % 5'inde hesaplanır. Pikin simetrik davranışını ifade eder. Simetrik bir pikte bu faktör 1'e eşittir. Rakamın 1 den farklı olması, kuyruklanmayı gösterir.

2.3.2. Kromatografinin Sınıflandırılması

Analizde etkin olan mekanizmalara göre çeşitli kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Birbirlerinden farklı yöntemler olsalar da kromatografik yöntemlerde

genellikle ayrımı yapılacak karışım; bir hareketli ve bir de sabit faz ile etkileştirilerek bileşenlerine ayrılır. Bu nedenle kromatografi kısaca sabit ve hareketli fazların yarışı olarak özetlenebilir. Bu yarışta sabit faza konulan karışım; üzerinden hareketli faz geçirilirken, bu iki faz ile farklı şekil ve miktarlarda fiziksel ve kimyasal etkileşimlere girer. Bu etkileşimler sonucunda karışımdaki bileşenler, hareketli faz tarafından sürüklenirken sabit faz tarafından tutulmaya çalışılır, böylece karışımdaki bileşenler sabit fazı farklı sürelerde terk ederler ve birbirinden ayrılmış olurlar.

Kromatografik yöntemler sınıflandırılırken farklı kriterler dikkate alınır. Bunlardan biri sabit ve hareketli fazların fiziksel temasına göre kolon ve düzlemsel kromatografidir. Kolon kromatografisi; sabit faz ince bir kolona doldurularak, hareketli faz basınç altında bu sabit fazın içinden geçmeye zorlanır. Düzlemsel kromatografi; sabit faz düz bir plaka üzerine veya bir kağıdın gözenekleri arasına tutturulur ve bu durumda hareketli faz sabit fazın arasından kapiler veya yerçekimi etkisiyle hareket eder. Bu hareketin kullanım yöntemleri kendi arasında da sınıflara ayrılır; İnce tabaka kromatografisi, kağıt kromatografisi, elektroforez, elektrokromatografidir (Şeker, M.E. 2006).

Kromatografik yöntemlerde başka bir sınıflandırma ise ayırma mekanizmasına göre yapılır. Bunlar ise; adsorpsiyon, dağılma, iyon değiştirici, jel kromatografisidir. Kromatografinin en temel sınıflandırması kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımı sağlayan dengelerin cinslerine göre yapılır. Bunlar; sıvı, gaz, süper kritik akışkanlı kromatografidir. Bu kromatografilerin hepsinin ortak yönü kolonlarda gerçekleşmesidir. Sadece sıvı kromatografisi hem kolon hemde düz yüzeylerde gerçekleştirilir.

2.3.3.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) birçok alandaki analiz ve ayırma için tercih edilen bir yöntemdir. Çözülebilir hemen hemen her şey farklı tipteki HPLC kolonları ile ayrılabilir. HPLC ile analiz edilecek madde miktarı piko gram ve nanogramdan mikrogram ve miligrama ve hatta multigram kadar değişebilir. Bu yöntemle uçucu bileşikler veya türevleri ile basit bir filtreleme sonrasında sulu örnekler doğrudan analiz edilebilir. Geniş bir polarite aralığındaki çeşitli bileşikler tek bir aşamada analiz edilebilir. Termal olarak kararsız bileşiklere uygulanmaktadır (McMaster, 2007).

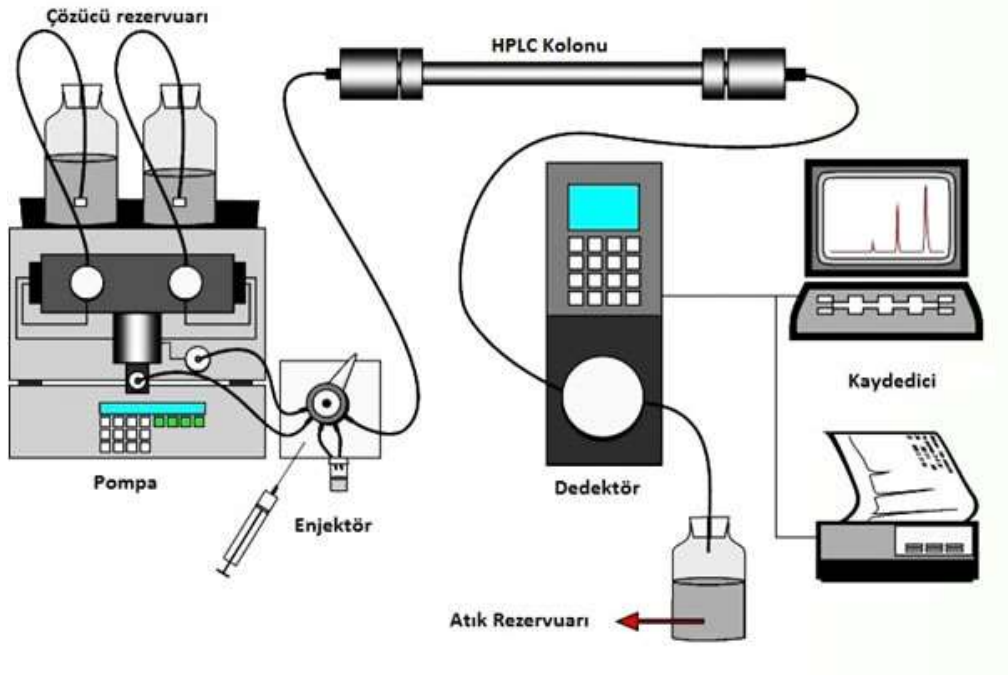
HPLC metodunun genel uygulamaları, fizyolojik örneklerdeki amino asitler, nükleik asitler ve proteinlerin miktarının belirlenmesi, farmosatik dozaj şeklindeki aktif ilaçlar,

sentetik yan ürün veya bozunma ürünleri düzeylerinin ölçülmesi, pestisit ve insektisitlerin kantitatif tayinleri, çevresel örneklerin izlenmesi, karışımdaki bileşenlerin saflaştırılması, polimerlerin ayrılması ve molekül ağırlıklarına göre tayinleridir (Settle, 1997).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi genellikle birbirlerini destekleyen ve tamamlayan ayırma metotlarını içerir. Bu metotlar; (1) dağılma (sıvı-sıvı) kromatografisi, (2) adsorpsiyon (sıvı-katı) kromatografisi, (3) iyon değişirme kromatografisi ve (4) boyut eleme (jel filtrasyon) kromatografisidir.

2.3.3.1. HPLC cihazı

Modern sıvı kromatografisi sistemlerinde tanecik boyutu 2-10 μm arasında olan dolgu maddeleri ile doldurulmuş kolonlarda uygun sıvı akış hızları elde edebilmek için, yüzlerce atm'lik pompa basınçlarına gerek vardır. Bu yüksek basınç uygulaması nedeniyle, yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazları diğer kromatografisi cihazlarına göre daha pahalı ve daha karmaşıktır (Skoog ve diğ. 1998). Bir HPLC cihazında bulunan parçalar Şekil 2.7 de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. HPLC cihazı

2.3.3.2.HPLC Türleri

Normal Faz Kromatografi: Normal faz sıvı kromatografisinde sabit faz ,polaritesi hareketli faz polaritesinden daha yüksektir. Sabit faz genellikle silika veya alümina, kullanılan hareketli fazlar ise hekzan, metilen klorür, kloroform, dietil eter ve bunların karışımıdır.

Silika jelin üzerine kimyasal bağlarla -CN, -NO₂ veya -NH₂ gibi polar fonksiyonel gruplar bağlanarak farklı normal fazlar elde edilir. Normal faz ayırımlarında polaritesi yüksek olan maddeler, polar olan sabit faz ile daha fazla etkileşmekte, buna bağlı olarak kolonu daha geç terk etmektedir (Karim,K.J.2003).

Ters Faz Kromatografisi: Ters faz sıvı kromatografi, hidrofobik karakterli kimyasal bağlı durgun faz ve bundan daha polar mobil faz ile gerçekleştirilen bir dağılma/adsorpsiyon kromatografisi türüdür. Mobil faz olarak suyun metanol, asetonitril gibi çözücüler ile karışımları kullanılır. Bu tip bir çalışmada, durgun faz apolardır ve genelde hidrokarbondur. 18 karbonlu bir n-alkan olan kimyasal bağlı oktadesilsilan (ODS) en yaygın olarak kullanılan durgun fazdır. Bunun yanı sıra C8 ve kısa alkil zincirleri ve aynı zamanda sikloheksil ve fenil grupları alternatif olarak kullanılmaktadır. Dolayısı ile apolar bileşikler, bu tip durgun fazla daha etkin etkileşerek daha yavaş hareket ederler. Daha polar bileşikler, kolonu hızla terk ederler.

Ters-faz sıvı ve normal-faz sıvı kromatografisinde madde, polaritesinin sabit faz polaritesine yakınlığına göre kolonda alıkonulur ve hareketli faz polaritesine yakın olan maddeler kolonu önce terk eder.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Reaktifler

Deneyler sırasında kullanılan tüm reaktifler analitik saflıkta olup, Sigma veya Merck firmalarından satın alındı. Kullanılan tüm çözeltiler MP Minipure Dest Up cihazından elde edilen 18.2 MΩ.cm dirence sahip ultra saf su ile hazırlandı.

- **pH 2.0-12.0 Britton Robinson (BR) tamponu:** Her birinden 0.05 M içerecek şekilde H_3BO_3 , H_3PO_4 ve CH_3COOH asitlerini içeren stok BR çözeltisi hazırlandı. Asitlik sabitlerine göre uygun pH aralıklarında istenen tampon çözelti hazırlamak için bir pH metre yardımıyla kontrol edilerek 0.1 M NaOH damla damla eklendi ve istenilen pH'a ayarlandı.

- **Fluoksetin ve sitalopram stok çözeltisi, 500 mg L⁻¹:** Analitik saflıktaki fluoksetin ve sitalopram (Sigma Aldrich)'den 50 mg tartılarak balon jöjeye alındı ve 50 mL metil alkol ile çözülüp 100.00 mL'ye tamamlandı ve koyu renkli cam şişeye aktarılarak, +4⁰C'de saklandı.

- **% 50 Metil alkol stok çözeltisi:** Mezür yardımıyla 50 mL metil alkol ve 50 mL saf sudan alınarak cam şişeye aktarıldı.

- **Sentetik idrar çözeltisi:** 6.25 g üre, 0.27 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.25 g NH_3Cl , 0.4 g KCl, 0.35 g Na_2SO_4 , 0.35 g KH_2PO_4 , 0.73 g NaCl tartılarak bir miktar distile suda çözülüp hacmi balon jöjede 250 mL'ye tamamlandı. Daha sonra çözeltinin pH'ı 0.1 M HCl ve 0.1 M NaOH çözeltileriyle pH= 6'ya ayarlandı. Amber renkli şişeye aktarıldı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

- Tüm Kromatografik ölçümlerde Shimadzu (Prominence) HPLC (Kyoto, Japan) cihazı kullanıldı. Kullanılan HPLC cihazı; LC 20 AD kuaterner pompa, SPD-M20 A PDA dedektör, DGU-20A vakum gaz giderici ve CTO-10 AS VP kolon firmı donanımlarına sahiptir. Tüm ayırma ve tayinler ters faz C18 kolonu (Inertsil ODS-3, 250 mm×4.6 mm ×5µm) üzerinde yapıldı. Kromatogramların değerlendirilmesi LC Solution 2.0 yazılımı üzerinden yapıldı.

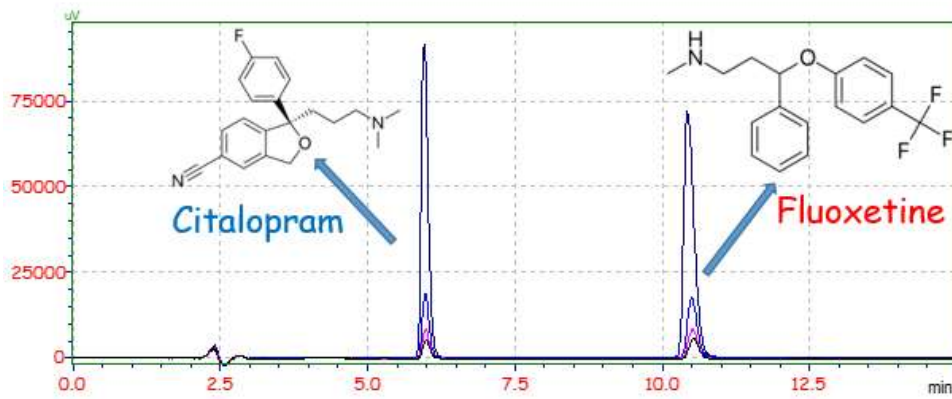
- pH metre (METTLER TOLEDO, Leicester UK) S220-K Masa üstü pH
- Orbital Çalkalayıcı (BIOSAN OS-10, Korea)
- Vortex (Jeotech, Korea)

3.3. Fluoksetin ve Sitalopram İçin Doğrudan Tayin Koşulları

Fluoksetin ve Sitalopram türlerinin HPLC cihazı ile doğrudan tayin edilebilmesi için literatür bilgilerinden faydalanıldı ve parametreler optimize edildi. LUNA OMEGA C-18 kolonu en uygun sabit faz olarak seçildi. İdeal yürütücü faz bileşimlerini de tayin edebilmek için organik karakterli yürütücü fazların farklı pH'lardaki tamponları içeren sulu çözeltileri ile farklı yürütücü faz bileşimleri kullanıldı. Faz bileşimleri izokritik ve gradient elüsyon modlarında birçok deneme yapılarak en doğru sonuç elde edebilmek hedeflendi.

Fluoksetin ve sitalopram türlerinden elde edilen en belirgin pikler gradient elüsyon şeklinde olup, pH:10.0 Britton Robinson Tamponu ve asetonitril hareketli fazlardan oluşmaktadır. Bunlar belirlendikten sonra Fluoksetin ve Sitalopram türlerinin standartları hazırlanarak HPLC cihazına yerleştirildi kalibrasyon grafiği hazırlandı ve ardından zenginleştirme işlemlerine başlandı.

Optimizasyon sonrasında elde edilen ideal HPLC çalışma koşulları Çizelge 1'de verilmiştir. Doğrudan tayin yöntemi ile ilgili koşullar belirlendikten sonra Fluoksetin 2-50 ppm, Sitalopram 2-50 ppm arasında içeren kalibrasyon grafiği hazırlandı. Sitalopram kalibrasyon eğrisi Şekil 3.2'de, Fluoksetin'in kalibrasyon grafiği Şekil 3.3'de gösterilmektedir. Kalibrasyon parametreleri Çizelge 2'de standartların yürütülmesi ile elde edilen ideal piklerini gösteren kromatogram da Şekil 3.1'de görülmektedir. DAD detektördeki UV-VIS spektrumları Sitalopram için Şekil 3.4' de, Fluoksetin için Şekil 3.5 'de gösterilmektedir.



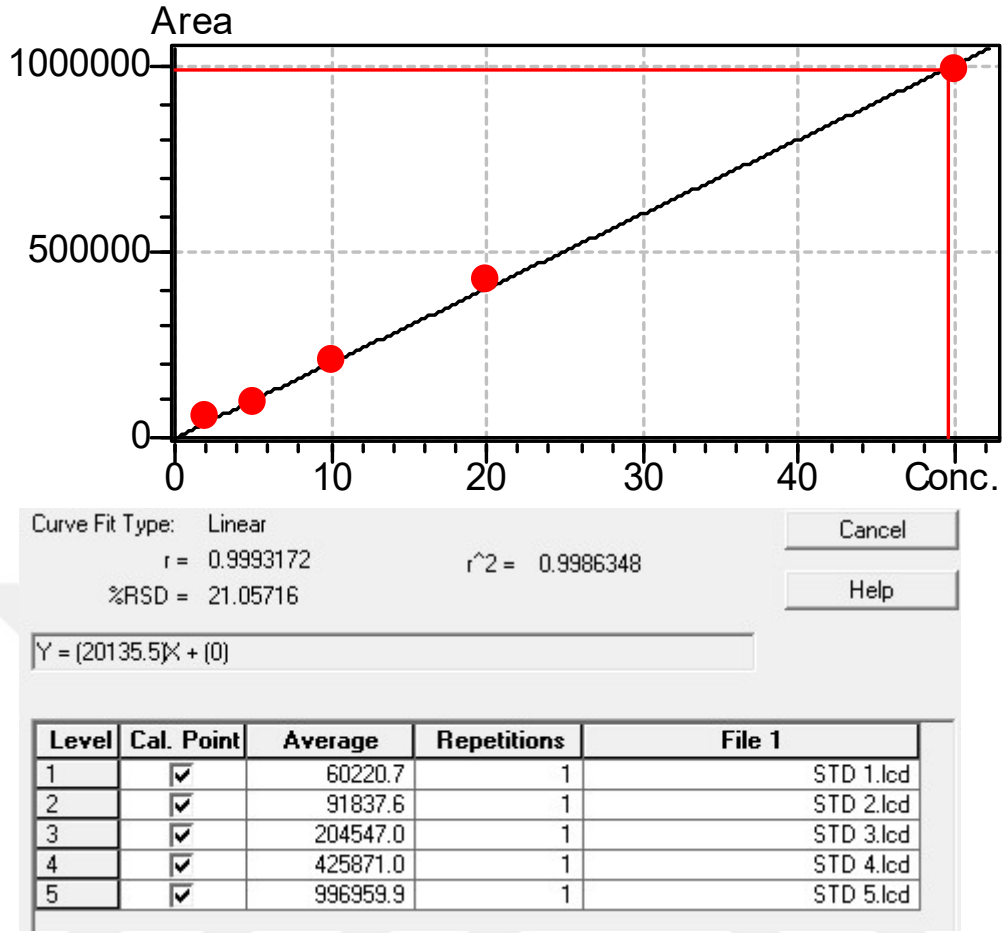
Şekil 3.1.Fluoksetin ve sitalopram için SPE öncesi elde edilen kromatogram

Çizelge 1: HPLC çalışma koşulları

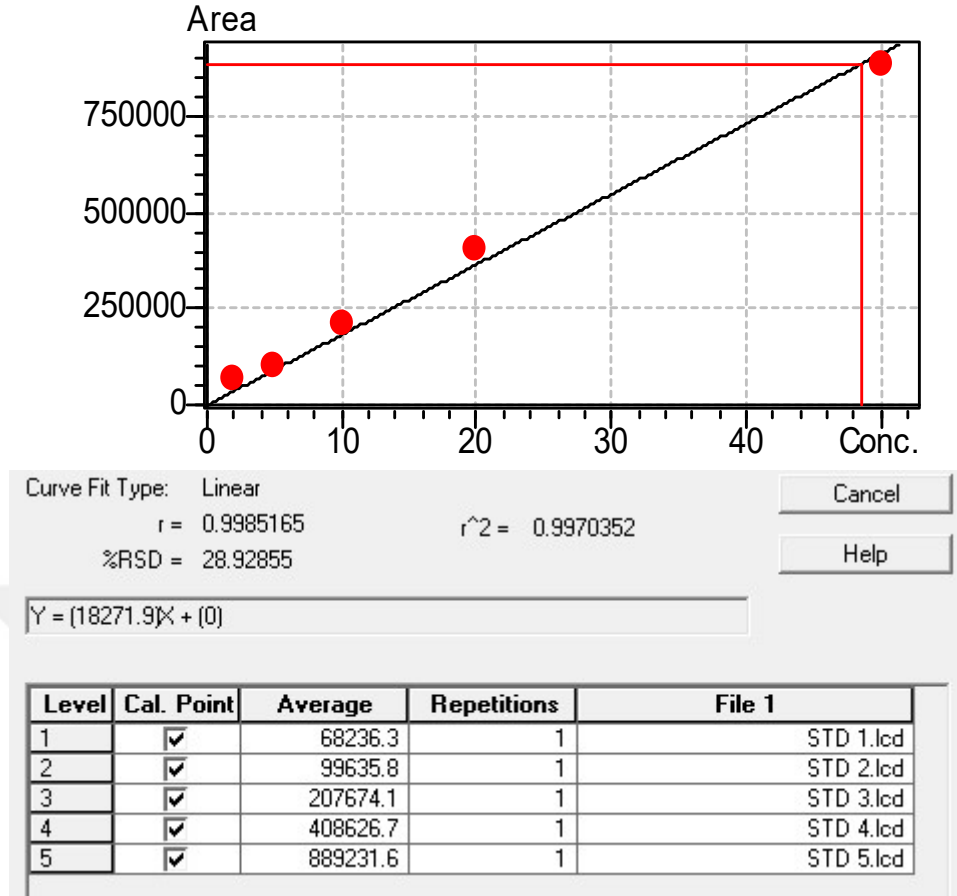
Parametre	Değer
HPLC Modu	İzokratik
Eluent	%10 Metil Alkol % 60 pH 3.0 Fosfat Tamponu (0.05 M KH ₂ PO ₄ 'den) % 30 Asetonitril
Eluent Akış Hızı	1.0 mL/dk
Yürütme Süresi	15 dk
Kolon	Luna® 15 µm Phenyl-Hexyl 100 Å, LC Column 250× 50 mm, AXIA™ Packed, Ea
Kolon Sıcaklığı	35 ° C
Enjeksiyon Hacmi	10 µL
Sistem Basıncı (yaklaşık)	110 bar

Çizelge 2:HPLC ile doğrudan tayin sonuçları

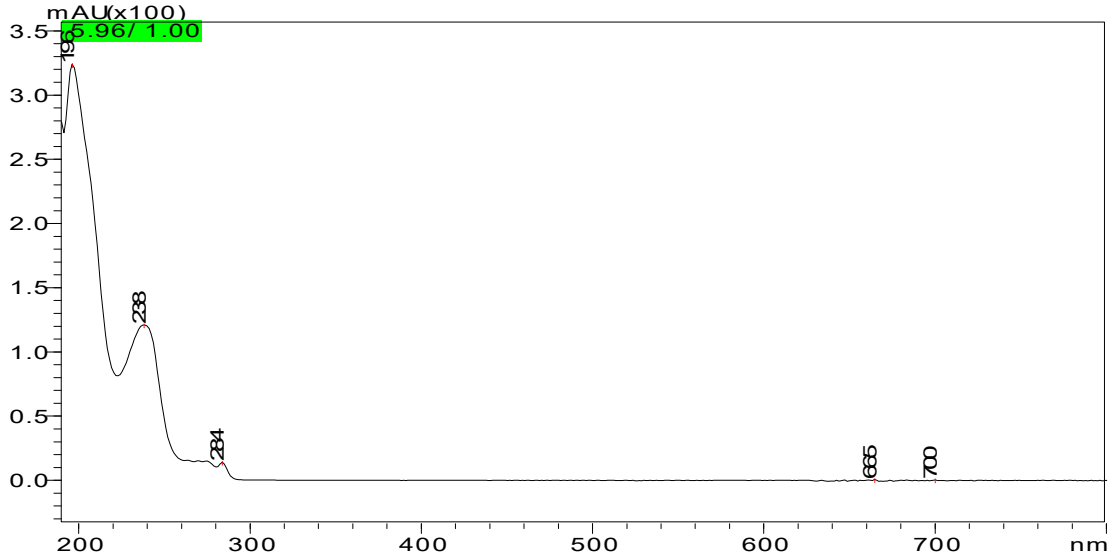
Parametre	Sitalopram	Fluoksetin
Alıkonma Süresi, dk	5.9	10.4
Maksimum Soğurum λ'ları	238, 284 nm	227, 258 nm
Kalibrasyon Aralığı	2-50 µg mL ⁻¹	2-50 µg mL ⁻¹
Tayin Sınırları	0.35 µg mL ⁻¹	0.35 µg mL ⁻¹
% BSS	2.65	3.15
R ²	0.9981	0.9979
Tekrar sayısı	3	3



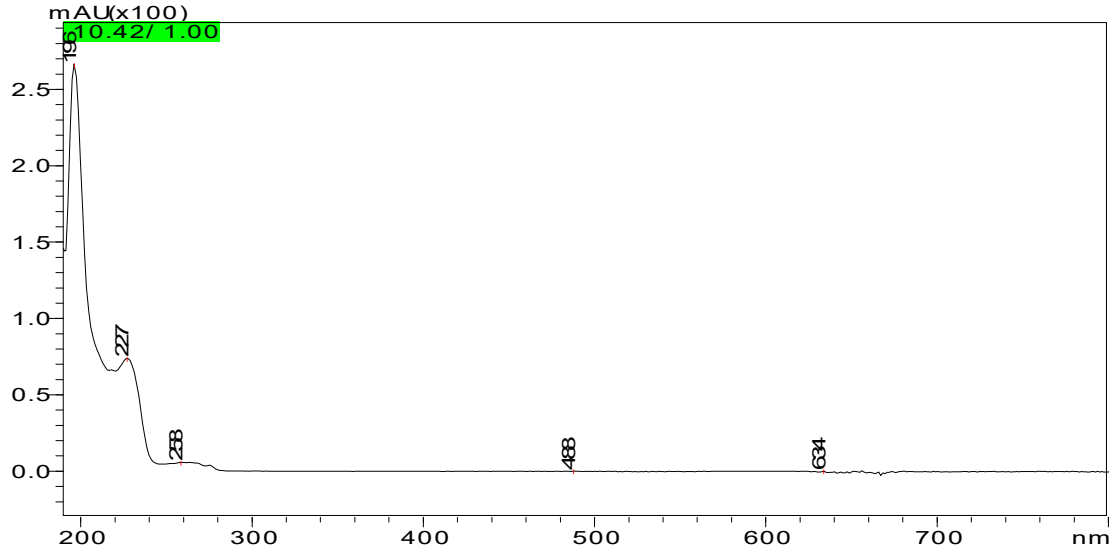
Şekil 3.2.Sitalopram için zenginleştirme öncesi kalibrasyon verileri ve grafiği



Şekil 3.3.Fluoksetin için zenginleştirme öncesi kalibrasyon verileri ve grafiği



Şekil 3.4.Sitalopram için DAD dedektördeki UV-VIS Spektrumları



Şekil 3.5.Fluoksetin için DAD dedektördeki UV-VIS Spektrumları

3.4. Katı Faz Destek Maddesinin Sentezi

Deneyisel çalışmalarda kullanılan manyetik katı faz destek maddesi üç basamakta aşağıda özetlendiği gibi sentezlendi.

3.4.1.Hummer Metodu ile grafen oksit sentezi

Buz banyosunda 0°C'ye kadar soğutulan ve içerisine daha önceden 70 mL H₂SO₄ eklenmiş şişeye üç gram grafit tozu, yavaş yavaş ilave edildi. Kuvvetli karıştırma altında, bu reaksiyon karışımına 9 g KMnO₄ ilave edildi ve reaksiyon sıcaklığı, 30 dakika boyunca 20°C civarında tutuldu. Reaksiyon karışımı daha sonra 40°C'de 30 dakika karıştırıldı. Karışıma 150 mL deiyonize su ilave edildi ve reaksiyon sıcaklığı 95°C'ye yükseltildi. Reaksiyon karışımının 95°C'de 15 dakika geri soğutucu uygulamasından sonra, reaksiyon karışımına 500 mL deiyonize su ve 15 mL % 30 H₂O₂ ilave edildi ve reaksiyon, 10 dakika boyunca takip edildi. Bu aşamadan sonra reaksiyon, oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Kahverengi-sarı renkli reaksiyon karışımı süzüldü ve reaksiyona girmemiş reaktifleri çıkarmak için % 10 HCl ile yıkandı. Elde edilen ürün daha sonra 24 saat boyunca 50°C'de bir etüv içerisinde kurutuldu.

3.4.2. Magnetit Grafen Oksit Sentezi

Bir önceki aşamada sentezi tamamlanan ve toz haline getirilen grafen oksitten 0.5 g tartıldı. Grafen oksitin üzerine, daha önceden 20 mL etilen glikolde homojenize edilmiş 0.5 g FeCl_3 ve 2.0 g NaCH_3COO karışımı eklendi. 10 dk ultrasonik banyoda bekletildikten sonra, Hidrotermal sentezi için otoklava aktarıldı. Hidrotermal ünitesi, 12 saat 180°C 'de reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon sonrası ürün 2 defa etanol ve bir kez deiyonize su ile yıkanarak 70°C 'de etüv içerisinde kurumaya bırakıldı.

3.4.3. Magnetit grafen oksit-polipirol nanomateryalinin sentezi

Sentezlenen magnetit grafen oksitten 0.5 g tartıldı ve 200 mL deiyonize su içerisinde dispers edildi. Daha sonrasında bir buz banyosu düzeneği içerisine alınan karışıma 500 μL pirol karışıma ilave edilip ve daha önceden 10 mL suda çözülmüş halde bulunan 1.6 g amonyumpersülfat çözeltisi, reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Reaksiyon tamamlanincaya kadar karıştırılmaya devam edildi. Çözeltinin yüzeyinde oluşan sentez ürünü, süzülerek karışımdan ayrıldı. Süzme işlemi sırasında 2 kez deiyonize su ile yıkandı. 70°C 'de etüv içerisinde kurumaya bırakıldı.

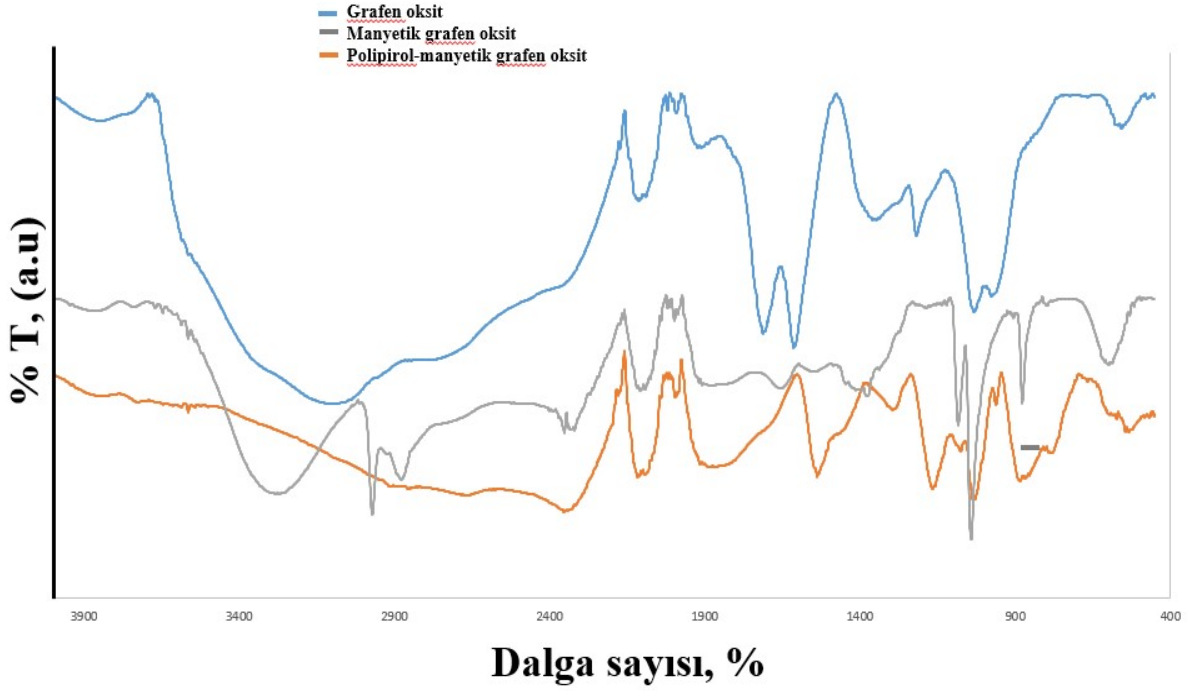
3.4.4. Katı faz destek maddesinin karakterizasyonu

3.4.1.1. FTIR

Magnetit grafen oksit-polipirol nanomateryaline materyalinin sentezi aşamasında kullanılan grafen oksit, manyetik grafen oksit ve polipirol magnetik grafen oksit bileşenlerine ait sonuçlar yukarıdaki grafikte verilmektedir. Grafen oksitin FTIR spektrumu, literatürde hâlihazırda mevcut diğer çalışmalarla uyum sağlamaktadır. Şekil 3.6'da görüldüğü gibi, Grafen oksite ait karakteristik pikler; (C–O–C) ($1230\text{--}1320\text{ cm}^{-1}$), sp^2 -melez C=C ($1500\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$, düzlem içi titreşimler), (COOH) ($1650\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$, 3530 cm^{-1} 'deki OH titreşimleri dahil) karboksil titreşim modlarını içerir.

Magnetik grafen oksite ait pikler, Fe-O karakteristik piki olarak bilinen 588 cm^{-1} ve simetrik gerilme titreşimi, 1651 cm^{-1} (C=O) simetrik gerilme titreşimi ve 1085 cm^{-1} de (C-O) asimetrik eğilim titreşim pikleri görülmektedir. Sentez son ürünü olarak manyetik grafen oksit-polipirol nanomateryaline ait FTIR analizinde, 3271 cm^{-1} dalgaboyunda N-H simetrik gerilme titreşimi, 3123 cm^{-1} (O-H) simetrik gerilim titreşimi, 1714 cm^{-1} , 1614 cm^{-1} C=O

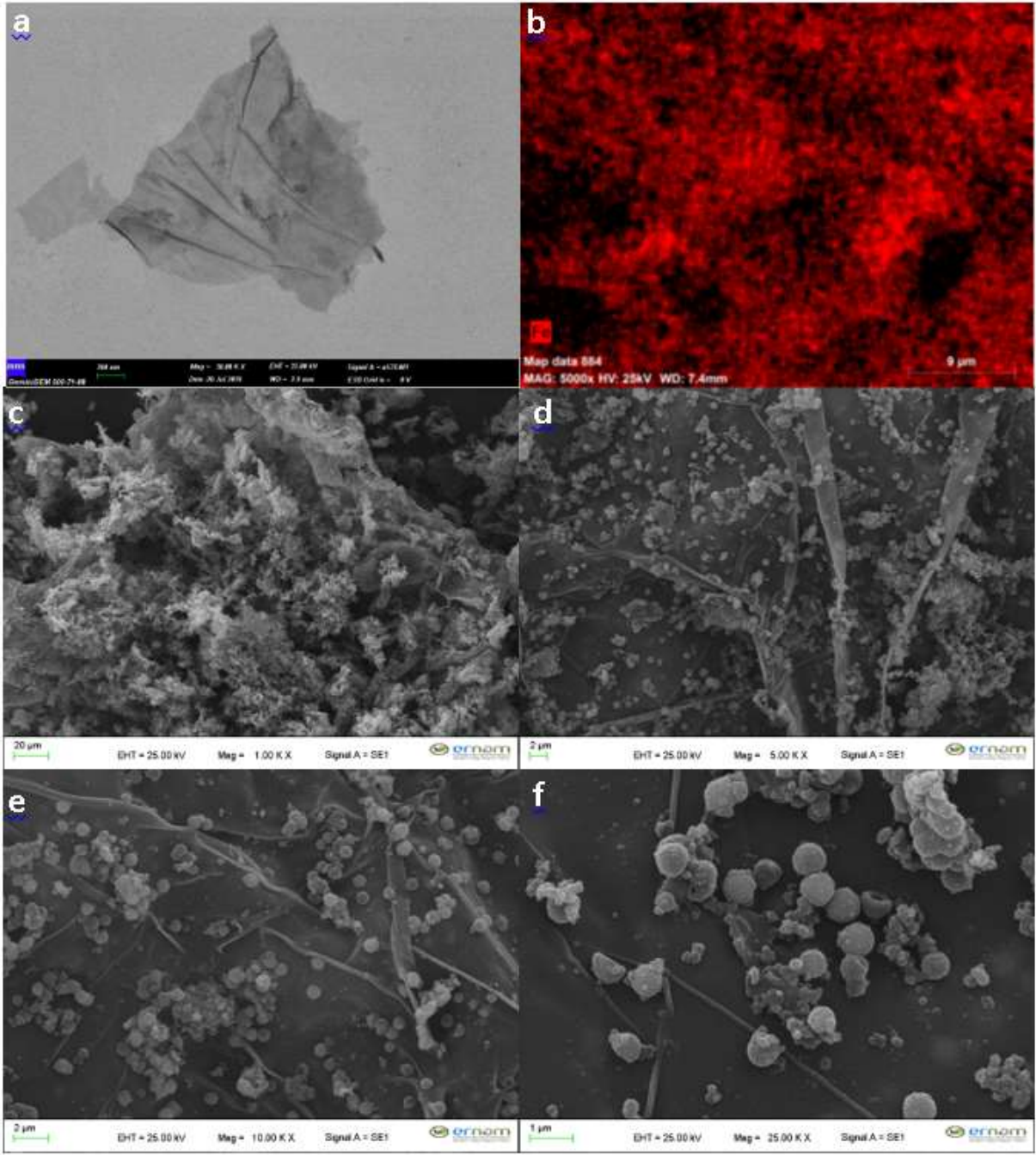
simetrik gerilme titreşimi ve 1219 cm^{-1} ve 978 cm^{-1} simetrik eğilme titreşimine sahip piklerin polipiroiden geldiği görülmüştür.



Şekil 3.6. Geliştirilen malzemenin FT-IR spektrumu

3.4.1.2. SEM Görüntüleri

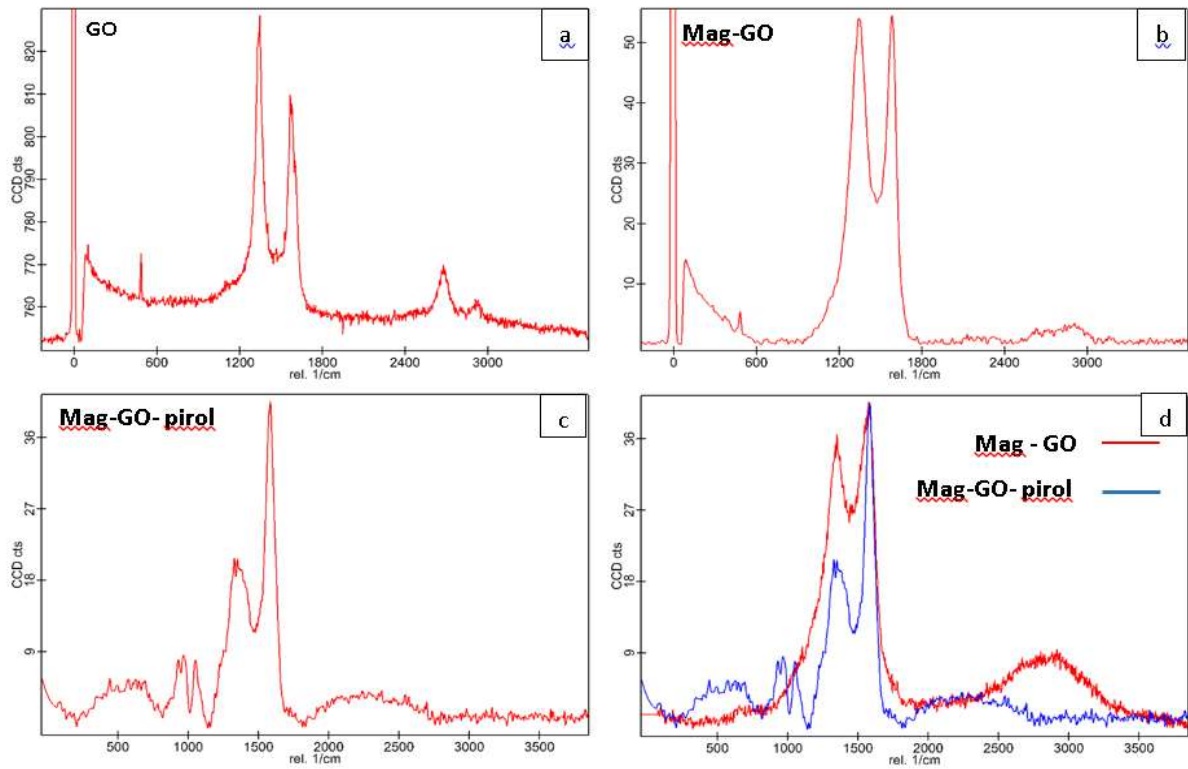
Manyetik grafen oksit-polipirol nanomateryaline ait Şekil 3.7’de verilen SEM görüntülerinde, literatürdeki çalışmalarla uyum sağladığı görülen ağ örtüsü şekline sahip tabaka, “grafen oksit” olarak bilinmektedir. Grafitten, az tabakalı grafen oksit’ in başarılı bir şekilde üretildiği transparan olan SEM görüntülerinden görülmektedir (Şekil 3.7-a). Fe_3O_4 manyetik partiküllerin oluşumu Fe’e ait SEM-Mapping analizi ile ispatlanmıştır (Şekil 3.7-b). Manyetik grafen oksit’in polipirol ile modifikasyonu sonucunda polipirol partiküllerin oluşumu gözlenmektedir (Şekil 3.7-c-f).



Şekil 3.7. SEM Görüntüleri

3.4.1.3. Raman Spektroskopisi

Şekil 3.8-a'da sentezlenen grafen oksite (GO) ait, literatürle de uyum sağlayan D ve G bantlarındaki karakteristik pikler görülmektedir. GO'nun D bandının, grafen oksidin grafitten başarıyla sentezlendiği G bandından daha baskın olduğu gerçeğinden kolayca anlaşılmaktadır. Şekil 3.8-b'de ise manyetik grafen oksite ait Raman spektrumu yer almaktadır. Spektrumda grafen oksitten magnetit grafen oksit sentezlendiğini D ve G bantlarındaki baskılanmanın piklerin birbirlerine oranındaki değişiminden rahatça görülebildiği gözlemlendi. Şekil 3.8-c'de pirol ile magnetit grafen oksit sentezine ait Raman spektrumu yer almaktadır. 978 cm^{-1} ve 1047 cm^{-1} dalga boylarındaki piklerin literatürde pirole ait olduğu ve bu spektrumda da pirolden kaynaklı bu piklerin oluştuğu ve sentez reaksiyonu sonucu istenen yapının elde edildiği gözlenmiştir. Şekil 3.8-d'de ise magnetit grafen oksit ve magnetit grafen oksit - pirol sentezine ait spektrumların karşılaştırılarak, Raman kaymalarının ve D ve G band oranlarındaki değişimin rahatça farklandırılabilirdiği görülmüştür.



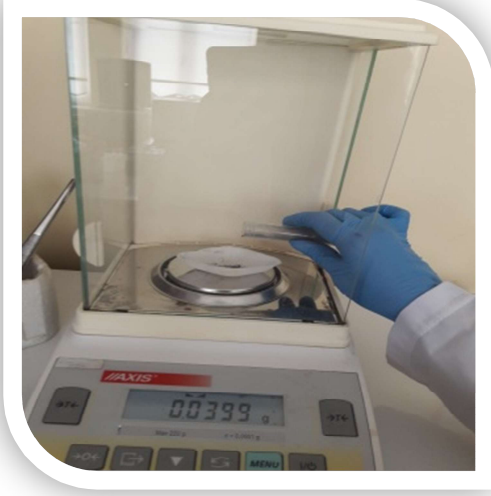
Şekil 3.8. Raman spektroskopisi sonuçları

3.5. Önerilen Yöntem

pH, vorteks süresi, çözücü ve çözücü miktarı gibi parametreler optimize edilerek optimum koşullar elde edilerek, bu koşullar altında da tayin edildi.

50 mg katı faz destek maddesi (Manyetik PPY/GO) tartıldı. 50 mL'lik falkon tüplere aktarıldı. 20 mL örnek çözelti alınarak üzerine 2 mL pH:10.0 BR tamponu ilave edildi. Daha sonra 200 µl 5.0-500.0 mg mL⁻¹ aralığında Fluoksetin ve sitalopram içeren örnek çözeltisi eklenip, tüpün hacmi saf su ile 50 mL'ye tamamlandı. Falkon tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak çalkalayıcı cihazına yerleştirildi. 100 rpm 20 dakikaya ayarlanarak cihaz çalıştırıldı. Süre bittikten sonra tüpler mıknatıslı düzeneğe yerleştirilerek sulu fazlarından pipet yardımıyla ayırma işlemi yapıldı. Sulu fazı ayırdıktan sonra katı faz üzerine 800 µl ACN eklenir ve tüpler 40 saniye vortekslendi. Bu işlem ile katı fazdan analitin ayrılması ve çözücü faza geçişi hedeflendi. Çözücü sıvı faz örnekleri enjektör içerisine manyetik yardımıyla alınıp, 0.45 µm'lik enjektör ucu filtreden geçirilerek viallere aktarılarak HPLC cihazına yerleştirildi. Bu şekilde zenginleştirilen Fluoksetin ve Sitalopram içerikli örnekler HPLC cihazı ile tayin edildi.

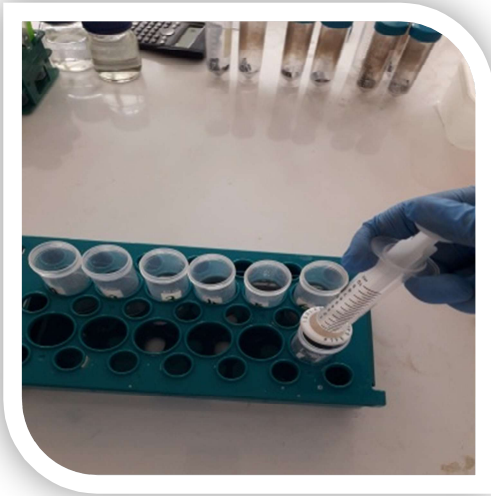
Önerilen yöntemin basamakları:



A. 50 mg katı faz maddesi
[Manyetik PPY/GO]falkon tüpe eklendi.



B. 20 mL örnek çözeltisi alındı.



C. 20 mL örnek çözelti membran
filtreden süzme işlemi yapılarak falcon
tüpüne aktarıldı.

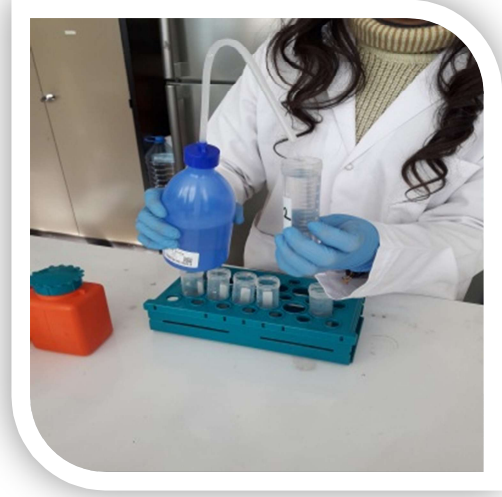


D. pH:10.0 BR tamponundan 2 mL
eklendi.

Şekil 3.9.Önerilen yöntem basamakları



E. Standart çözeltilisinden 200 μ L eklendi.

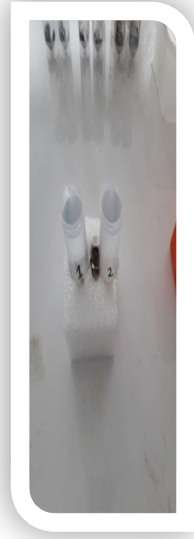
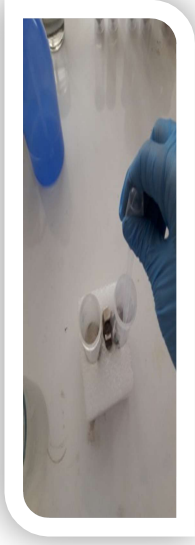


F. 50 mL'ye distile su ile tamamlandı.

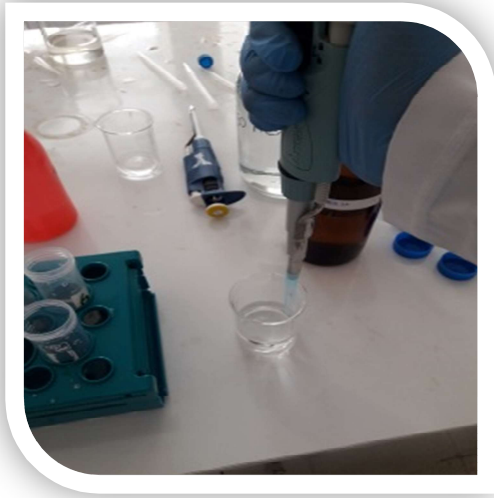


G. 100 rpm de 20 dakika shaker cihazında etkileşime bırakıldı.

Şekil 3.10. Önerilen yöntem basamakları



H. Miknatis yardımı ile sulu faz katı
fazından ayrıştırılarak atıldı .

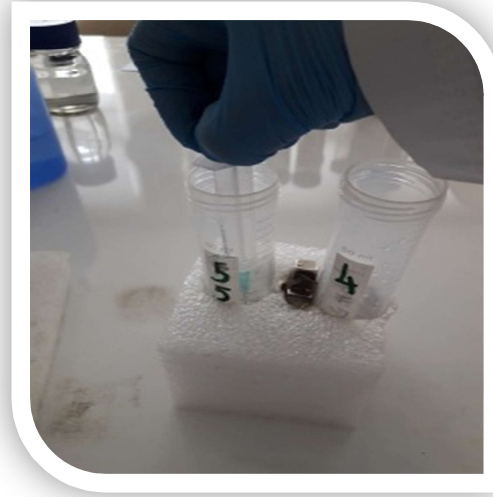
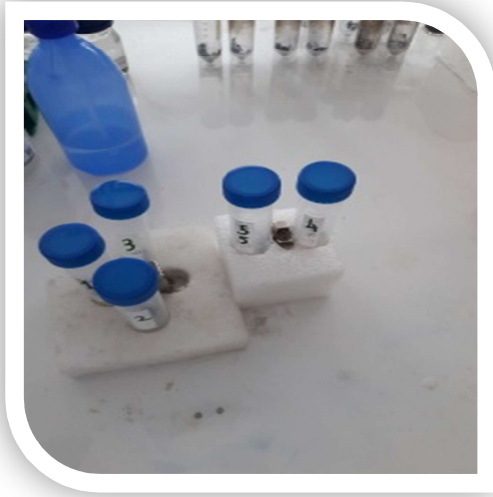


İ. 800 μ L ACN eklendi.



J. 40 saniye vorteksenerek manyetik
üzerinden çözündürüldü.

Şekil 3.11. Önerilen yöntem basamakları



K. Miknatis yardımı ile sulu faz katı fazından ayrıştırılarak atıldı.



L. Viallere 0.45 μm 'lik membran filtreden süzme işlemi yapılarak aktarıldı.

M. HPLC cihazına vialler yerleştirilerek okumaya bırakıldı.

Şekil 3.12.Önerilen yöntem basamakları

3.6. Çevresel Su Örnekleri ve Sentetik İdrar Örneklerinin Hazırlanması

Geliştirilen yöntemin uygulama alanı olarak biri atık su diğeri ırmak suyu olmak üzere iki farklı çevresel su örneği kullanıldı. Ayrıca geri kazanım verilerini görmek için literatür desteği ile hazırlanan sentetik idrar çözeltilisi Bölüm 3.1’de anlatıldığı gibi hazırlandı ve geliştirilen yöntem uygulanı. Laboratuvar ortamına getirilen örnekler +4°C’de karanlık ortamda saklandı. Daha sonra 0.45 µm’lik filtrelerden süzölen örneklere geliştirilen yöntem uygulandı.



4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1. Deneysel Çalışmaların Temel Yaklaşımı

Bu çalışmada; düşük derişimdeki fluoksetin ve sitalopramın tayin edilebilmesi için katı faz ekstraksiyonuna dayanan bir zenginleştirme işlemi kullanılarak HPLC-DAD sistemi yardımıyla tayin edilebilmesi için bir yöntem geliştirildi.

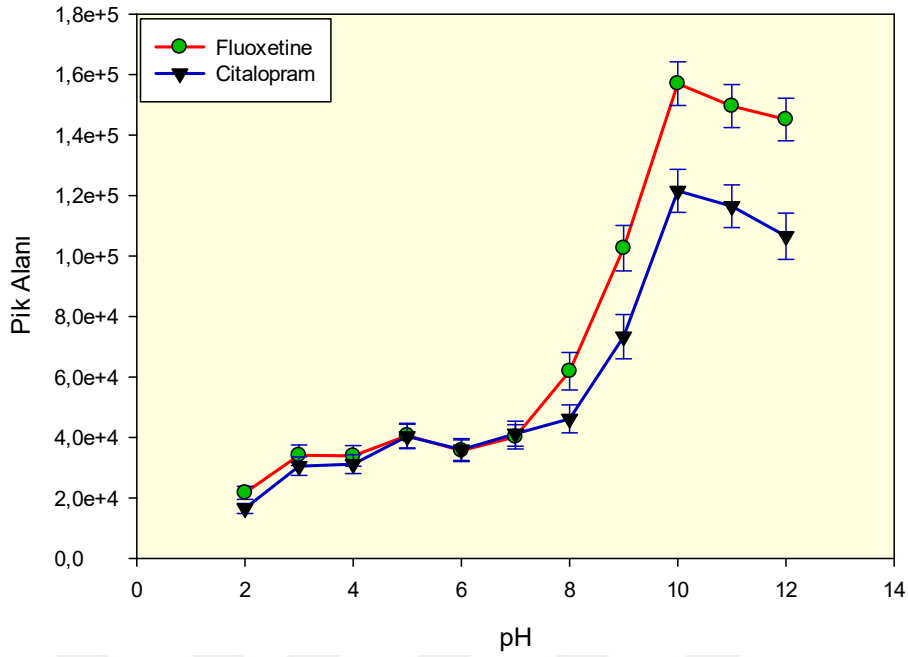
Hedef olarak analit türünün katı faza olabildiğince yüksek düzeyde tutulmasını sağlayarak ortamdaki diğer maddelerden ayırabilmek, ayırma işlemi sağlandıktan sonra ise katı fazdaki analitlerin tamamının çözücü içerisine geçmesidir. Bunu sağlayabilecek gerekli parametrelerin belirlenmesi için ön denemeler yapıldı. Hızlı ve kolay bir ayırma işlemi ve organik çözücünün olabildiğince az miktarda kullanılarak olabildiğince yüksek derişimde analit elde edebilmek amaçlandı. Böylece HPLC cihazının okuyabileceği derişim aralığına getirildi. Bu hedefler doğrultusunda tüm parametreler optimize edilerek kromatografik bir yöntem geliştirildi.

4.2. Geliştirilen Yöntemin Optimizasyonu

4.2.1. pH etkisi

Ortam pH'sı analitin katı faza tutunmasını ve türler arasındaki tepkimeleri etkilemesinden dolayı önemli bir faktördür. Optimum pH'yı belirlemek için tüplerde bulunan katı faz maddesi(Manyetik PPY/GO) üzerine sırasıyla 20'şer mL antidepresanları içeren model çözelti; 2'şer mL pH 2-12 aralığında BR tamponu eklenip ultra saf su ile hacmi 50 mL'ye tamamlandı. 20 dk 100 rpm'de çalkayıcı cihazına bırakıldı. Daha sonra katı fazı manyetik düzenekte ayırarak üzerlerine 1 mL metil alkol ilave edildi ve 40 s vortekslendi. Bu işlemler sonunda katı faza tutunmuş olan analit bileşenlerinin çözücü metil alkole geçişi sağlandı ve bu çözücü sıvı faz örnekleri enjektör ile alınarak 0.45 µm'lik PTHE membran filtreden süzülüp viallere konuldu ve HPLC cihazına yerleştirildi.

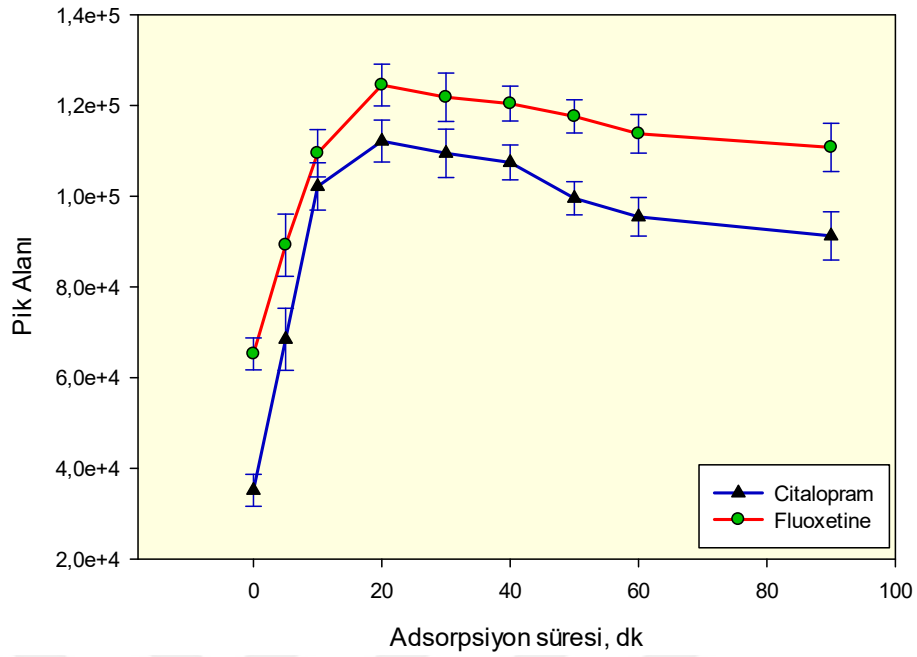
Analiz sonuçları Şekil 4.1'de gösterilmektedir. Bundan sonra yapacağımız zenginleştirme basamaklarına optimum pH değerinin pH:10.0 BR olduğu görülmektedir. Literatür taraması ile yapılan araştırmada fluoksetin için pKa değeri 8.70 iken sitaloprom için pKa değeri ise 9.50 dir(Lajeunesse A., Gagnon C., Sauvé S.,2008).



Şekil 4.1. Önerilen yöntem üzerine pH etkisi

4.2.2. Çalkalama süresi

Çalkalama süresinin analiz üzerindeki etkisi analitin bulunduğu ortamdan katı faz maddesine geçişidir. Katı fazın ortamdaki tüm bileşenleri ile teması zenginleştirme işlemi için en önemli parametrelerden biridir. Bu çalışmada 9 ayrı nokta için tüm parametreleri aynı olan çözeltiler hazırlanmıştır ve çalkalanma süresi hariç diğer parametreler sabit tutuldu. 0-90 dakika arasında farklı sürelerde çalışıldı ve 20 dakika çalkalama süresi olan tüp en iyi piklerin elde edildiği tüp olarak gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.2’de gösterilmektedir.



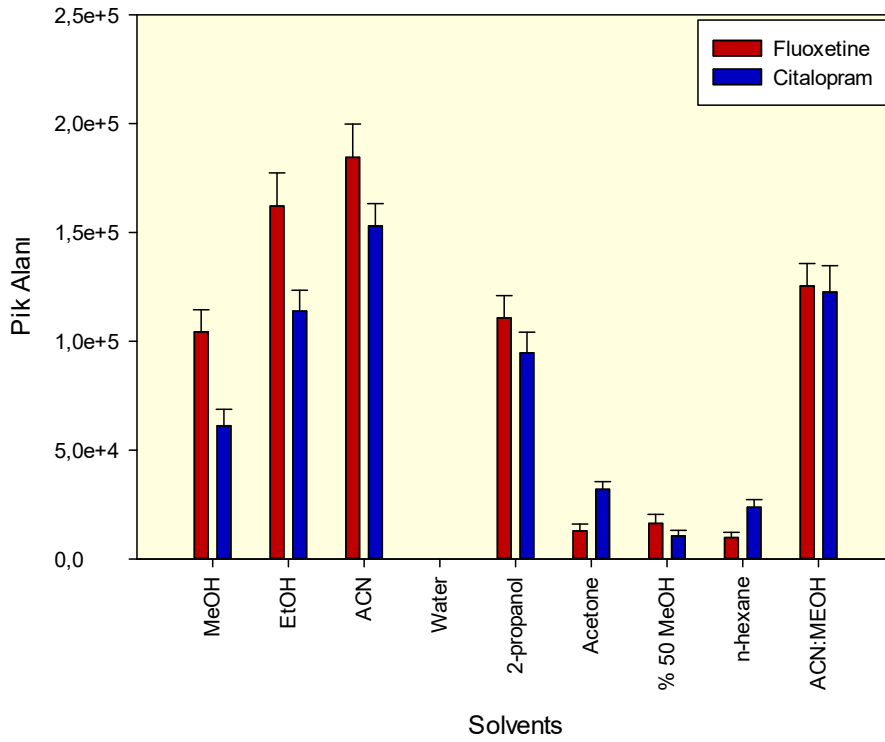
Şekil 4.2. Önerilen yöntem üzerine katı faz etkileşim süresinin etkisi

4.2.3. Çözücü seçimi ve miktarı

Çalkalanma işleminden sonra katı fazı sıvı fazdan ayırarak katı faza tutunmuş olan analit bileşenlerini tamamen çözebilecek ve HPLC cihazına zarar vermeden analit bileşenlerini tayin edebilecek bir çözücü kullanılmalıdır. Bu çalışmada bu amaç için kullanılan çözücülerin seçiminde HPLC sistemin yürütücü faza uygun olması ve katı faza tutunmuş olan bileşenleri kantitatif olarak çözebilecek kadar güçlü olması bakımından bazı çözücüler denendi.

Uygun çözücü için katı faz maddesi (Manyetik PPY/GO) üzerine sırasıyla 20'şer ultra saf su; 2 mL pH:10.0 BR tamponu; 200 µL 50 ppm fluoksetin ve sitalopram içeren standart çözelti eklenip distile su ile hacmi 50 mL'ye tamamlandı. 20 dk 100 rpm'de çalkalayıcı cihazına bırakıldı. Daha sonra katı fazı ayırarak sırasıyla üzerlerine 1 mL metil alkol, asetonitril, etil alkol, 2-propanol, % 50 metil alkol çözeltisi, aseton, su, n-hekzan çözeltisi, pH:10.0 BR tamponu ilave edilip 40 s vortekslendi. Katı faza tutunan analit bileşenlerinin çözücülere geçişi sağlandı ve bu çözücü sıvı faz örnekleri enjektör ile alınarak 0.45 µm'lik PTHE membran filtreden süzülüp viallere koyuldu ve HPLC cihazına verildi.

Optimizasyon sonuçları Şekil 4.3'de gösterilmektedir. Görüldüğü gibi, her iki ilaç etken maddesi için de en iyi sinyaller asetonitril çözücüsü ile elde edilmiştir. Bundan sonra yapacağımız zenginleştirme basamaklarına optimum çözücü asetonitril olduğu gözlemlendi.

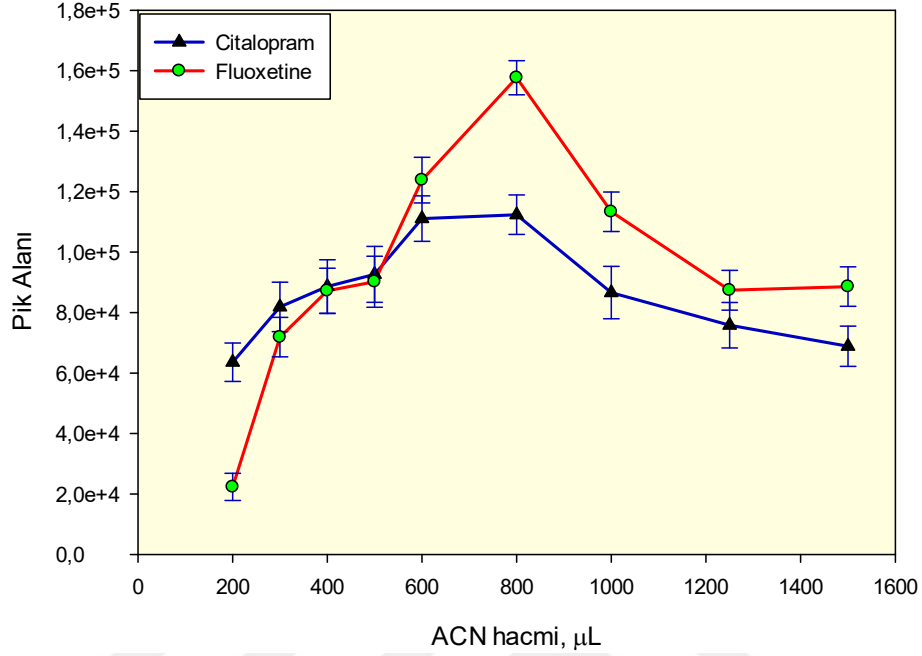


Şekil 4.3. Önerilen yöntem üzerine çözücü etkisi

Katı faza tutunan analit bileşenlerini çözmek amacıyla kullanılan çözücünün miktarı zenginleştirme faktörünü direkt etkileyeceği için kullanılan çözücünün hacmi önemlidir. Yüksek zenginleştirme katsayısına ulaşabilmek için çözen hacmi en düşük değerde olmalıdır. Aksi takdirde çözücü hacmi arttıkça zenginleştirme katsayısı azalır. HPLC cihazının mikro viallerine 100 µL örnek konulabilmektedir. Fakat düşük miktarlarda olan çözücü ile katı faza tutunmuş olan analit bileşenlerinin çözünmesi tamamlanamadığı gibi viallere koymadan önce süzme işlemi de yapılamamaktadır. Bu nedenle 200-1500 µL aralığında çözücü ilave edilerek hacim optimizasyonu yapıldı.

Uygun çözücü belirlendikten sonra optimum çözücü miktarını bulmak için tüplerde bulunan katı faz maddesi (Manyetik PPY/GO) üzerine sırasıyla 20'şer mL ultrasaf su; 2 mL pH:10.0 BR tamponu; 200 µL 50 ppm fluoksetin ve sitalopram içeren standart çözelti eklenip distile su ile hacmi 50 mL'ye tamamlandı. 20 dk 100 rpm'de çalkayıcı cihaza bırakıldı. Daha sonra katı fazı ayırarak sırasıyla üzerlerine 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1250, 1500 µL ACN çözeltisi ilave edilip 40 s vortekslendi. Bu işlemler sonunda katı faza tutunmuş olan analit bileşenlerinin çözücü asetonitril'e geçişi sağlandı ve bu çözücü sıvı faz örnekleri enjektör ile alınarak, 0,45 µm'lik PTHE membran filtreden süzülüp viallere konulup HPLC

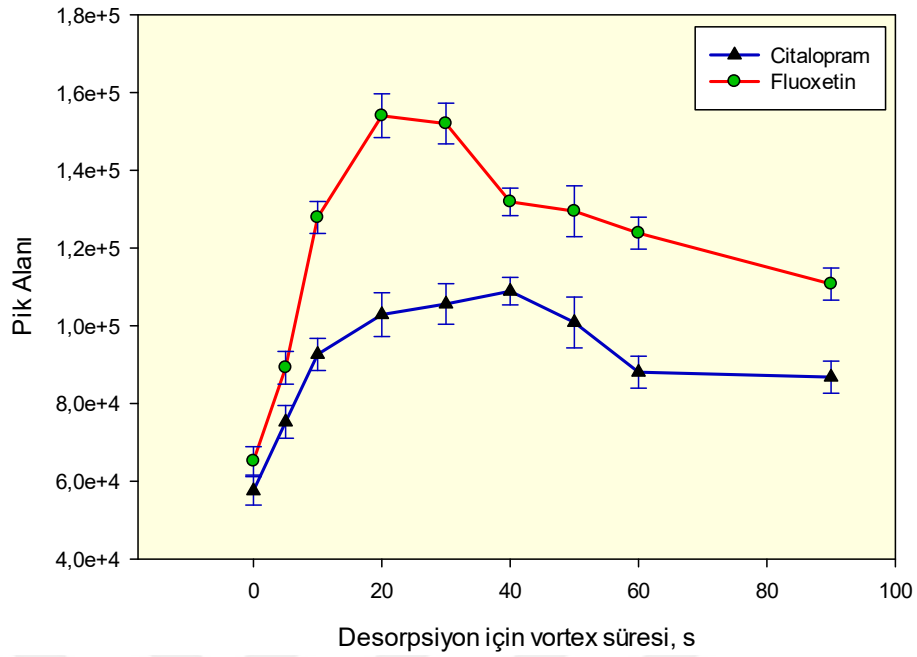
cihazına yerleştirildi. Çözücü seçimi ve miktarı 800 µL ACN olarak belirlendi. Şekil 4.4'de elde edilen sonuçlar verilmiştir.



Şekil 4.4. Önerilen yöntem üzerine seçilen çözücünün etkisi

4.2.4. Vorteksleme süresi

Çözücü içerisindeki analitin çözünme miktarı üzerinde etkili olan vorteksleme süresini tayin edebilmek için optimize edilmiş parametreleri kullanarak aynı koşullarda 5 ile 120 saniye arasında değişen vorteksleme süreleri uygulandı. En ideal piklerin elde edildiği vorteksleme süresi 40 saniye olarak belirlendi. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.5'da gösterilmektedir.

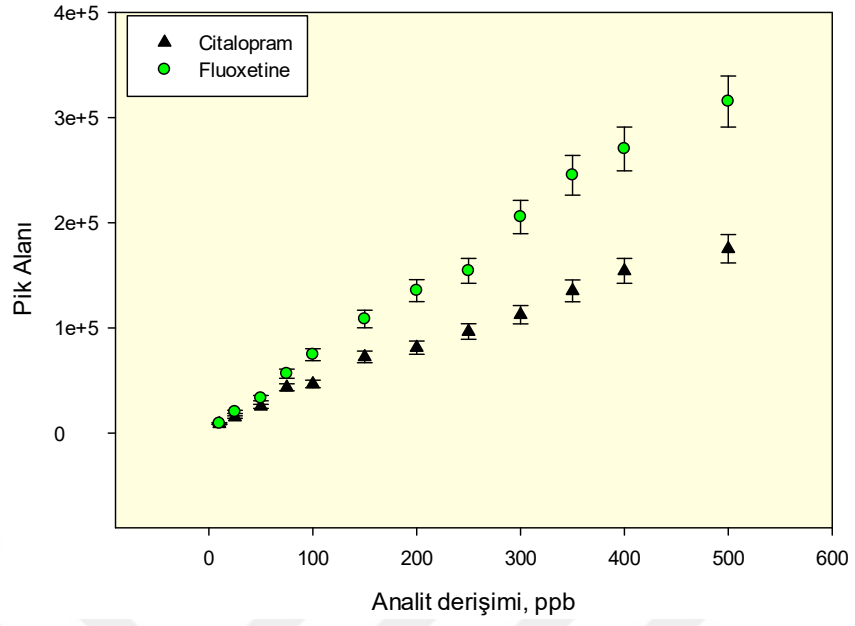


Şekil 4.5. Önerilen yöntem üzerine seçilen manyetikten standartın salınım süresinin etkisi

4.3.Yöntemin Analitik Performans Ölçütleri

Katı faz ekstraksiyonu için en uygun deneysel koşulların belirlenmesinin ardından, doğrusal çalışma aralığını belirlemek amacıyla, farklı derişimlerdeki Fluoksetin ve Sitalopram çözeltilerine zenginleştirme deneyleri uygulandı bunun sonucunda ölçülen sinyallerin Sitalopram 227 nm’de Fluoksetin için de 238 nm’de bulunan doğrusal çalışma aralıkları 2-50 mg mL⁻¹ aralığında doğrusal olarak değıştiği belirlendi.

Bu çözeltilere geliştirdiğimiz yöntemin uygulanmasıyla elde edilen kalibrasyon doğruları Fluoksetin ve Sitalopram için Şekil 4.6’da gösterilmektedir. Ayrıca, zenginleştirme sonrası görüldüğü gibi sinyaller derişimle orantılı olarak artmaktadır. Geliştirilen yöntemin bütün analitik parametreleri topluca Çizelge 3’de sunulmaktadır. Geliştirilen yöntemin çevresel su örneklerine uygulanması sonucu elde edilen veriler Tablo 1’de gösterilmektedir.



Şekil 4.6. Optimum koşullar altında elde edilen Sitalopram ve Fluoksetin'in kalibrasyon doğruları

Çizelge 3:Önerilen yöntemin analitik parametreleri

Parametre	Zenginleştirme Öncesi		Zenginleştirme Sonrası	
	Fluoksetin	Sitalopram	Fluoksetin	Sitalopram
Doğrusal aralık	1.0-20.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1.0-20.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	5.0-500.0 ng mL^{-1}	5.0-500.0 ng mL^{-1}
Tayin sınırı ^a	0.35 $\mu\text{g mL}^{-1}$	0.35 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1.43 ng mL^{-1}	1.43 ng mL^{-1}
Nicelleştirme sınırı ^b	1.88 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1.90 $\mu\text{g mL}^{-1}$	4.71 ng mL^{-1}	4.71 ng mL^{-1}
BSS (%)	4.7	3.8	3.2	3.5
Kalibrasyon Duyarlılığı	10.218	20.135	1425.14	1671.21
Korelasyon Katsayısı (R^2)	18.271	0.9986	0.9954	0.9873
Zenginleştirme Faktörü ^c	-	-	62.5	62.5
İyileştirme Faktörü ^d	-	-	78	83

^{a,b} Seçme sınırı en az 3 tekrarlı boş deneme sinyallerinden elde edilen standart sapmanın 3 katı kullanılarak, nicelleştirme sınırı da 10 katı kullanılarak hesaplandı.

^c Zenginleştirme faktörü; başlangıçtaki sulu faz hacminin (50 mL), zenginleştirme sonrası elde edilen hacme (0.4 mL) oranı alınarak hesaplandı.

Tablo 1: Geliştirilen yöntemin çevresel su örneklerine uygulanması

Örnekler ^a	Eklenen ng mL ⁻¹	Bulunan ^b ng mL ⁻¹		% BSS		% Geri Kazanım	
		Fluoksetin	Sitalopram	Fluoksetin	Sitalopram	Fluoksetin	Sitalopram
Sentetik İdrar Çözeltisi	0.0	<LOD	<LOD	-	-	-	-
	100.0	98.7±4.1	104.8±4.5	4.2	4.3	98.7	104.8
	250.0	255.1±12.5	240.5±11.5	4.9	4.8	102.0	96.2
Atık Su	0.0	<LOD	<LOD	-	-	-	-
	100.0	99.8±4.8	98.8±3.5	4.8	3.5	99.8	98.8
	250.0	242.5±11.2	255.9±12.8	4.6	5.0	97.0	102.4
Irmak Suyu	0.0	<LOD	<LOD	-	-	-	-
	100.0	103.5 ±3.6	104.5±3.7	3.5	3.5	103.5	104.5
	250.0	259.5±12.7	260.1±12.5	4.9	4.8	103.8	104.0

^aÖrnekler Bölüm 3.2 de anlatıldığı gibi hazırlandı.

^b 3 tekrarlı ölçümün ortalaması ± standart sapma

Çizelge 4: Geliştirilen yöntemin literatürdeki benzer yöntemlerle kıyaslanması

Analit Türler	Zenginleştirme Yöntemi	Tayin Yöntemi	Tayin Sınırı	Lineer Aralık	Uygulanan Örnekler	Kaynak
FLU	SPE	HPLC	25 ng mL ⁻¹	25-500 ng mL ⁻¹	İnsan plazma	(Fernandes, C., Dos,A.J., Neto, S., Rodrigues, J.C., Alves,C., Lanças,F.M. 2007)
CIT FLU	SPE	Kapiler sıvı faz kromatografisi	0.05 to 0.26 µM	0.05–5.0 Mm	İnsan plazma	(Molander, P., Thomassen, A., Kristoffersen, L., Greibrokk, T., Lundanes, E.,2002)
CIT FLU	SPE	LC–MS/MS	25 ng L ⁻¹	2–346 ng L ⁻¹	Kaynak suyu ve atık Su	(Lajeunesse, A., Gagnon, C., Sauvé, S.,2008)
FLU	Sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu	GC–MS	3 ng mL ⁻¹	10 - 500 ng mL ⁻¹	Plazma	(Oliveira, A.F.F.,Figueiredo, E.C.de dos Santos-Neto, A.J.,2013)
FLU	Stir Bar Sorptive Extraction	LC-MS	3 ng mL ⁻¹	10–500 ng mL ⁻¹	İnsan plazma	(Fernandes, C.,Jiayu, P.,Sandra, P., Lanças, F.M.,2006)
CIT	Mikro katı faz ekstraksiyonu	HPLC-UV	0.2–1.0 µg L ⁻¹	2-800 µg L ⁻¹	Biyolojik sıvılar	(Asgharinezhad, A.A., Karami, S., Ebrahimzadeh, H., Shekari, N., Jalilian, N.,2015)
CIT	SPE	Kiral HPLC Metodu	10 µg L ⁻¹	100-500 µg L ⁻¹	İnsan plazma	(Gupta, V.K.,Ali, I.,Agarwal, S.,2011)
CIT	Moleküler baskılı polimer ile SPE	HPLC	0.5 ng L ⁻¹	2–120 µg L ⁻¹	İnsan plazma ve idrar	(Abdouss, M., Azodi-Deilami, S., Asadi, E., Shariatinia, Z.,2012)
CIT FLU	Mikro katı faz ekstraksiyonu	HPLC	0.01 mg L ⁻¹	0.05 to 2 mg L ⁻¹	İnsan idrar örnekleri	(Unceta, N.,Gómez-Caballero, A., Sánchez, A., Millán, S.,2008)
CIT FLU	MSPE	HPLC	275 nm 2.98 ng mL ⁻¹ 358 nm 7.46 ng mL ⁻¹	10-1000 ng mL ⁻¹ 25-800 ng mL ⁻¹	Atık su, Sentetik İdrar	Geliştirilen Yöntem

5. SONUÇ ve DEĞERLENDİRME

1970'li yıllarda ortaya çıkan ayırma ve saflaştırma metodu olan katı faz ekstraksiyonu yaygın olarak kullanılan hızlı, basit ve duyarlı bir örnek hazırlama yöntemidir. Taşıdığı bu avantajlar sayesinde sıklıkla kullanılarak literatürde her yıl içerik olarak geniş yelpazeye sahip yüzlerce çalışma yayınlanmaktadır.

Bir analizde organik çözücü miktarının az kullanılması, hızlı ve ekonomik olması, örnek hazırlamanın kolay ve az zaman alması, verimli sonuçlar elde edilmesi, kullanılan organik çözücülerin çevre dostu olması hedeflenmektedir. Bu parametrelere uygun olan katı faz ekstraksiyon yönteminin temel amacı çözücü ortamında çözünmüş halde bulunan ve analiz edilmek istenen bileşenlerin katı bir faza ekstrate etmek ve daha düşük hacimdeki bir çözücü faza aktararak zenginleştirme yapmaktır. Böylece cihazların tayin edebileceği düzeyden daha düşük düzeydeki bileşenleri ölçülebilecek düzeylere deriştirilerek gelmesini sağlar.

Seçtiğimiz Fluoksetin ve Sitalopram türlerinin HPLC cihazı ile uygun derişimini belirleyerek kolay bir şekilde tayin edilmesi için yöntem geliştirmek hedeflendi. Kolay uygulanabilir, maliyeti düşük, organik çözücü miktarının düşük miktarda tüketimi, kesinliği ve doğruluğu yüksek olan bir zenginleştirme metodunun geliştirilmesi amaçlanarak gerekli parametreler valide edildi. Bu amaç doğrultusunda öncelikle literatürde bulunan bilgiler yardımı ile, C18 kolonu ile, kolon sıcaklığı, örnekleme hacmi, farklı yürütücü faz bileşimleri ve akış hızı denenerek en ideal tayin koşulları belirlendi. İdeal parametreler Çizelge 1 ve 2'de verildi.

Ortamın pH'sı ve ideal pH miktarı, katı faz destek maddesinin miktarı, uygun çözücü ve miktarı, etkileşim süresi, katı faz maddesinden bileşenin salıverilmesi için gerekli süreler olmak üzere tüm parametreler optimize edilerek yöntem geliştirildi.

Optimize edilmiş koşullar altında Fluoksetin için 2-50 mg mL⁻¹ doğrusal çalışma aralığı maksimum absorbans sinyali gösterdiği dalga boyu 227 nm olarak belirlendi ve Sitalopram için 2-50 mg mL⁻¹ aralığında maksimum absorbans sinyali gösterdiği dalga boyu 238 nm'de elde edildi. Geliştirilen yöntemin bütün analitik parametreleri Çizelge 3'de verildi.

Yeni geliştirilen bu yöntemin optimizasyonu tamamlanıp analitik parametreleri belirlendikten sonra çevresel su örnekleri ile uygulaması yapılarak elde edilen veriler Tablo 1’de verildi.

Sonuç olarak, analiz edilmesi hedeflenen Sitalopram ve Fluoksetin için en ideal tayin koşulları elde edildi. Uygun katı faz maddesi sentez edilerek katı faz ekstraksiyonu ile ayırma ve zenginleştirme yöntemi başarılı bir şekilde yanıt verdi. Böylece kromatografik yöntem ile eş zamanlı olarak tayini için zenginleştirme temelli analitik bir yöntem elde edilmiştir. Geliştirilen yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliğini test etmek için sentetik idrar çözeltileri ve çevresel su örnekleri ile standart ekleme yaparak geri kazanım çalışmaları yapıldı. Elde edilen sonuçlar kantitatif olup, yöntemin hem geri kazanım değerleri ile ifade edilen doğruluğu hem de bağıl standart sapma üzerinden verilen tekrarlanabilirlik değerleri kabul edilebilir seviyededir.

6. KAYNAKLAR

- Ağar, Ş.(2017). Sakarya çevresindeki su örneklerinde bazı anyonların tayininde iyon kromatografi metodunun kullanılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programı, Sakarya ,14-17.
- Altun, F.(2013). Zenginleştirme Yöntemleri İle Bazı Ağır Metallerin Tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programı, Denizli, 12-13.
- Alver, E. D.(2012). *Microextraction methods*. Sigma, 30, 75-90.
- Atalay, E.D.(2012). “Katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle endüstriyel atık sularındaki kromun tayini ve uzaklaştırılması”, *Doktora Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Isparta, 7-13.
- Asgharinezhad, A.A.,Karami, S., Ebrahimzadeh, H., Shekari, N., Jalilian, N.,(2015).Polypyrrole/magnetic nanoparticles composite as an efficient sorbent for dispersive micro-solid-phase extraction of antidepressant drugs from biological fluids, *Int. J. Pharm.* 494(1):102-120 .
- Abdous, M.,Azodi-Deilami, S., Asadi, E., Shariatinia, Z.,(2012). Synthesis of molecularly imprinted polymer as a sorbent for solid phase extraction of citalopram from human serum and urine, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 23:1543–1552.
- Ceyhan, T.(2017). Fenikol bileşiklerinin süt ürünlerinden baskılanmış polimerler ile katı faz ekstraksiyonu optimizasyonu ve LC-MS/GC-MS analizi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü , Kimya Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans tezi*, Edirne, 8-15.
- Çubukçu, D.(2016). “Serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörleri ile tedavi edilen majör depresyon hastalarında metabolik parametrelerdeki değişikliklerin araştırılması”.
- Çıtak, D.(2010). Katı Faz Ekstraksiyonu, Birlikte Çöktürme ve Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu ile Bazı Metallerin Zenginleştirilmesi ve Türlemesi, *Doktora Tezi*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Tokat, 13-14, .
- Evangelos ,K.P. Dimosthenis, L.G. Miltiades, I.K.(2005). Micelle-mediated separation and cloud-point extraction, *Trends in Analytical Chemistry*, 24: 426 - 436.
- Fernandes, C.,Jiayu, P., Sandra, P., Lanças, F.M.,(2006).Stir bar sorptive extraction-LC-MS for the analysis of fluoxetine in plasma, *Chromatographia*. 64: 517–521.
- Fernandes,C.,dosa.J., Neto, S., Rodrigues, J.C., Alves, C.,Lanças, F.M. (2007) Solid-phase microextraction-liquid chromatography (SPME-LC) determination of fluoxetine and norfluoxetine in plasma using a heated liquid flow through interface, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 847(2):217-23
- Gökkaya, N. (2014). Bazı eser metallerin bulutlanma noktası ekstraksiyonu ile tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı, Denizli, 6-11.
- Henden, E. Y.(2002). “Ayrırma Teknikleri ve Kromatografide Temel Kavramlar”, Kimyasal Eser Analiz Yaz Okulu II, E.Ü. Fen Fakültesi, İzmir.
- Hinze, W. L. (1993). A critical review of surfactant-mediated phase separations (cloud-point extractions): theory and applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 24(2), 133-177.

- İnal, V. Yamancı, L.H. Kartal, Ö.(2004). GATA Acil Servisine 2002 Yılı İçinde Başvuran İntihar Girişimi Olguları, *Adli Psikiyatri Dergisi* , Cilt/Sayı 1(2).
- Karim, K. J. Jin, Ji-Ye, Takeuchi, T. (2003). Simultaneous separation of inorganic anions and cations by using anion-exchange and cation-exchange columns connected in tandem in ion chromatography, *Journal of Chromatography A*, 995, 153-160.
- Kayıkçı, S.(2019). Glyphosate bileşiğinin sulu çözeltilerden moleküler baskılanmış katı faz ekstraksiyonu ve GC-MS analizi validasyonu , *Yüksek Lisans Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Edirne 14-17.
- Kırış, T.(2012). Bazı eser elementlerin katı-faz ekstraksiyonu ile zenginleştirilmesi ve AAS ile tayini, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Tokat, 6- 9.
- Lajeunesse, A., Gagnon,C., Sauvé, S.,(2008) Determination of basic antidepressants and their N-desmethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Anal. Chem.* 80(14):5325-5333.
- McMaster, M. C. (2007). HPLC A Practical User's Guide, Second Edition, John Wiley&Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Molander, P., Thomassen, A., Kristoffersen, L., Greibrokk, T., Lundanes, E.,(2002). Simultaneous determination of citalopram, fluoxetine, paroxetine and their metabolites in plasma by temperature-programmed packed capillary liquid chromatography with on-column focusing of large injection volumes, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 766(1):77-87.
- Merey, G.(2016). İlaç kimyası ve endüstriyel uygulamaları ders notu.
- Nevado, B. Salcedo, M. Llerena, V. Nuevo, A.(2000). Method development and validation for the simultaneous determination of fluoxetine and flvoxamine in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis, *Analytica Chimica Acta* 417: 169-176.
- Oliveira, A.F.F, E.C. de Figueiredo, dos Santos-Neto, A.J.,(2013) Analysis of fluoxetine and norfluoxetine in human plasma by liquid-phase microextraction and injection port derivatization GC-MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 73:53-58.
- Örsel, S.(2004). Depresyonda tedavi :kullanılan ilkeler ve antidepressan ilaçlar, *Klinik Psikiyatri ;Ek 4*:17-24.
- Safarikova, M. & Safarik, I.(1999). Magnetic solid-phase extraction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* 194(1-3), 108-112.
- Salkım, D.(2007). Fluoksetin ve metaboliti norfluoksetinin gaz kromatografisi- kütle spektroskopisi(GC-MS) yöntemi ile biyolojik materyalden(idrar) tayini, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, 3-12.
- Sarıdal ,K. (2018). Gıda örneklerinde tetrasiklin kalıntılarının izlenmesi için analitik yöntem geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı.
- Settle, F. A. (1997). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, Pirentice Hall PTR.
- Shulamit, L. “Solid phase extraction (SPE)” http://www.forumsci.co.il/HPLC/spe_abic.pdf/(2005.)
- Skoog, D. A. Holler, F. J. and Nieman, T. A.(1998). Principles of Instrumental Analysis, Fifth Edition, Harcourt Brace & Company, USA.

- Spietelun, A.Marcinkowski, L. Guardia, M. & Namiesnik, J.(2013).Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry. *Journal of Chromatography A*. 1321, 1-13.
- Şahinbaş, H. D.(2011). Katı Faz Ekstraksiyonu ile Bazı Metal İyonlarının Zenginleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Kayseri , 7-18.
- Şeker, M.E.(2006). Türkiyede bulunan bazı üzüm türlerinin çekirdeklerindeki e-vitamini miktarının HPLC ile tayini, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Tomruk, E.(2005). Yüksek performanslı sıvı kromatografisi için hidrofilik destek materyali sentezi ve kromatografik karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 10-14.
- Unceta, N.,Gómez-Caballero, A.,Sánchez, A., Millán, S., Sampedro, M.C., Goicolea, M.A., Sallés, J., Barrio,R.J.,(2008).Simultaneous determination of citalopram, fluoxetine and their main metabolites in human urine samples by solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.*46(4): 763-770.
- Üstüner , D.(2010). Fluoksetin'in sitogenetik olarak analizi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı*, Eskişehir, Cilt:3, Sayı:3, Sayfa:276 -281
- Gupta V.K., Ali I., Agarwal S. (2011). Enantiomeric analysis of citalopram in human plasma by SPE and chiral HPLC method, *Int. J. Electrochem. Sci.* 6:5639 - 5648
- Yavuz, O. Aksoy, A.(2006). Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu, *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi* , 20(3):259-269 .
- Yüksel, N.(2003). Genel tıpta antidepresan kullanımı, klinik psikiyatri, Ek 1:7-25

7.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Merve Sarıkaya
Doğum Yeri ve Tarihi	24/07/1993, İskenderun
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Bölümü, 58140-Sivas
E-posta Adresi	mrvsrky@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Lise	Atatürk Anadolu Lisesi,2010
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2015
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, devam ediyor

İş Tecrübesi

Milli Eğitim Bakanlığı	Fen Bilgisi Öğretmenliği(2015 2016)
Lise dershaneleri,Çocuk kulüpleri, Özel dersler	

Projeler

ECZ-063 CÜBAP PROJESİ

ANTİDEPRESAN İLAÇ KALINTILARININ ATIK SULARDA İZLENMESİ İÇİN KROMATOĞRAFİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

MERVE SARIKAYA	ANTİDEPRESAN İLAÇ KALINTILARININ ATIK SULARDA İZLENMESİ İÇİN KROMATOĞRAFİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ	CÜSBE SİVAS 2020
-----------------------	---	---------------------------------