

**MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN HAZIRLANMASI VE  
ANALİTİK UYGULAMALARI**

**Merve BERBER**

**Bülent Ecevit Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalında  
Yüksek Lisans Tezi  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK  
Aralık 2014**

**KABUL:**

Merve BERBER tarafından hazırlanan "MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN HAZIRLANMASI VE ANALİTİK UYGULAMALARI" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 25/12/2014

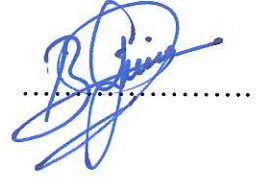
Başkan: Yrd. Doç. Dr. Şevket ATA  
Bülent Ecevit Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan ÇABUK  
Bülent Ecevit Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Berrin GÜRLER  
Bülent Ecevit Üniversitesi



**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. ....../....../2015

Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



*“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”*



Merve BERBER

## **ÖZET**

**Yüksek Lisans Tezi**

### **MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN HAZIRLANMASI VE ANALİTİK UYGULAMALARI**

**Merve BERBER**

**Bülent Ecevit Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Şevket ATA**

**Aralık 2014, 83 sayfa**

Bu çalışmada, biyolojik örneklerdeki beş antidepresan ilacın (venlafaksin, essitalopram, paroksetin, sertralin ve fluoksetin) ultraviyole dedektörlü sıvı kromatografisi (LC-UV) ile birleştirilmiş manyetik katı faz ekstraksiyon tekniği (MSPE) kullanılarak belirlenmesi için seçici ve hassas bir yöntem geliştirilmiştir. Antidepresanların ekstraksiyon verimini etkileyen bazı faktörler, merkezi kompozit tasarımına dayalı deneysel dizayn ve optimizasyon yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Çalışmada, üç parametre (adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH'sı ve desorpsiyon çözücü hacmi) bağımsız değişken olarak belirlenmiştir. Optimum koşullar; adsorbent miktarı 12.5 mg, ekstraksiyon pH'sı 7.4 ve desorpsiyon çözücü hacmi 1.3 mL olarak bulunmuştur. En küçük kareler yöntemi kullanılarak regresyon katsayıları belirlenmiş olup merkezi kompozit tasarımdan elde edilen polinomal denkleme göre cevap yüzey grafikleri oluşturulmuştur. ANOVA analizi (varyans analizi) % 95 güven aralığında yapılmış, tahmin edilen ve deneysel bulgular arasındaki uyum belirlenmiştir.

## ÖZET (devam ediyor)

Optimize edilen ekstraksiyon koşullarında, tüm antidepresanlar için metodun lineerliği 10-1000 ng/mL konsantrasyon aralığında incelenmiş ve korelasyon katsayılarının ( $R^2$ ) 0.9986 ile 0.9994 arasında değiştiği gözlenmiştir. Antidepresan ilaçların algılama limitinin 1.73 ile 5.17 ng/mL arasında, tayin limitinin ise 2.88 ile 8.62 ng/mL arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Bu yöntem farklı standart konsantrasyonlarında gerçek biyolojik numunelerin analizi için başarıyla uygulanmış, geri kazanımların %72 ile % 115 arasında değiştiği ve bağıl standart sapmanın % 4.75' ten düşük olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Manyetik nanokompozitler, antidepresanlar, merkezi kompozit tasarım, sıvı kromatografisi (LC), biyolojik örnekler

**Bilim Kodu:** 405.03.01

## **ABSTRACT**

**M. Sc. Thesis**

### **PREPARATION OF MAGNETIC NANOCOMPOSITES AND ANALYTICAL APPLICATIONS**

**Merve BERBER**

**Bülent Ecevit University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry**

**Thesis Advisor: Asst. Prof. Şevket ATA**

**December 2014, 83 pages**

In this study, a selective and sensitive method has been developed for the determination of five antidepressants (venlafaxine, escitalopram, paroxetine, sertraline and fluoxetine) in biological samples by using magnetic solid phase extraction (MSPE) method combined with liquid chromatography-ultraviolet detection (LC-UV). The some factors influencing the extraction efficiency of antidepressants were optimized by using experimental design and optimization method based on central composite design. For this study three parameters; adsorbent amount, extraction pH and desorption solvent volume were selected as independent variables. The optimum conditions were found to be adsorbent amount: 12.5 mg, extraction pH: 7.4 and desorption solvent volume: 1.3 mL. The regression coefficients were obtained by the least squares method and the response surface plots were generated according to polynomial equation which is derived from central composite design. The ANOVA (analysis of variance) data were carried out in 95 % confidence level and checked to fitting of experimental value and predicted value.

## **ABSTRACT (continued)**

Under the optimal extraction conditions, linearity of method was examined in the concentration range of 10-1000 ng/mL for all antidepressants and correlation coefficients ( $R^2$ ) observed in the range from 0.9986 to 0.9994. The limit of detection and limit of quantification for the antidepressant drugs were found to be in the range of 1.73 – 5.17 and 2.88 – 8.62 ng/mL, respectively. This method was successfully applied to analyze real biological samples at different spiked concentrations and the obtained recoveries ranged from 72 to 115 % with the relative standard deviations (RSDs) below than 4.75 %.

**Keywords:** Magnetic nanocomposites, antidepressants, central composite design, liquid chromatography (LC), biological samples

**Science Code:** 405.03.01

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, destek ve yardımlarıyla yanımda olan ve bana yol gösteren danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Şevket ATA' ya sonsuz şükranlarımı sunarım.

Güzel dostluklarından dolayı BEÜ Fen Edebiyat Fakültesindeki arkadaşlarıma ve maddi desteklerinden dolayı BEÜ Araştırma Fonuna çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi tez çalışmalarım boyunca da maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme minnet duygularıyla teşekkür ederim.





## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ .....	1
1.1 NANOTEKNOLOJİ .....	1
1.1.1 Nanoteknolojinin Tarihçesi .....	2
1.1.2 Nanoteknolojinin Amaçları.....	3
1.1.3 Nanoteknolojinin Uygulama Alanları .....	4
1.1.4 Analitik Kimya ve Nanoteknoloji .....	5
1.2 NANOMALZEMELER .....	6
1.2.1 Nanopartiküller .....	7
1.2.2 Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri .....	8
1.3 MANYETİK NANOPARTİKÜLLER.....	9
1.3.1 Manyetit.....	10
1.3.2 Manyetik Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri .....	10
1.3.3 Birlikte Çöktürme Yöntemi .....	11
1.3.4 Birlikte Çöktürme Yönteminin Avantajları .....	12
1.3.5 Manyetik Nanopartiküllerin Kullanım Alanları.....	12
1.4 MANYETİK NANOKOMPOZİTLER.....	12

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
1.5 ANTİDEPRESAN İLAÇLAR.....	13
1.5.1 Antidepresan İlaçların Tarihsel Gelişimi.....	13
1.5.2 Antidepresan İlaçların Sınıflandırılması.....	14
1.6 ANTİDEPRESAN İLAÇLARIN ANALİZLERİ.....	15
1.6.1 Örnek Hazırlama Yöntemleri .....	15
1.6.1.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi .....	16
1.6.1.2 Katı-Faz Ekstraksiyon Yöntemi .....	16
1.6.1.3 Manyetik Katı-Faz Ekstraksiyon Yöntemi (MSPE).....	17
1.6.2 Kromatografik Analiz Yöntemleri.....	17
1.7 YÜKSEK PERFORMANS SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC).....	17
1.7.1 HPLC' nin Avantaj ve Dezavantajları .....	18
1.8 ÇALIŞMANIN AMACI VE ÖNEMİ.....	19
BÖLÜM 2 DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....	21
2.1 KULLANILAN MADDE VE MALZEMELER .....	21
2.2 ÖRNEKLERİN TOPLANMASI .....	24
2.3 STANDART ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI .....	24
2.4 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -MgSiO <sub>3</sub> MANYETİK NANOKOMPOZİTİNİN HAZIRLANMASI.....	24
2.5 KROMATOĞRAFİK ANALİZ .....	25
2.5.1 Kromatografik Analiz Şartları.....	26
2.6 KROMATOĞRAFİK SİSTEMİN KALİBRASYONU.....	27
2.7 KROMATOĞRAFİK SİSTEMİN TEKRARLANABİLİRLİĞİ .....	28
2.8 HAZIRLANAN MANYETİK NANOKOMPOZİTİN KARAKTERİZASYONU .....	29
2.8.1 Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR).....	29
2.8.2 X-ışını Kırınımı Yöntemi (XRD, X-Ray Diffraction) .....	30
2.8.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) .....	31
2.9 ÖRNEKLERİN EKSTRAKSİYON İŞLEMİ.....	32
2.10 KEMOMETRİK OPTİMİZASYON YAKLAŞIMI .....	33

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 3 SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRMELER .....	37
3.1 MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN KARAKTERİZASYONU .....	37
3.2 DENEYSEL DİZAYN VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	42
3.2.1 Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design, CCD).....	42
3.3 ANALİTİK METOT VALİDASYONU .....	66
3.4 ÖNERİLEN METODUN DİĞER METOTLARLA KARŞILAŞTIRILMASI .....	68
3.5 ÖRNEK ANALİZİ.....	70
3.6 GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER.....	72
KAYNAKLAR .....	75
ÖZGEÇMİŞ .....	83



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Nanomalzemelerle boyut karşılaştırması.....	6
1.2 Nanopartiküllere ait elektron mikroskobu görüntüleri.....	8
1.3 Nanopartikül üretiminde kullanılan yaklaşımlar.....	8
1.4 Manyetit.....	10
2.1 Fluoksetinin moleküler yapısı.....	21
2.2 Sertralinin moleküler yapısı.....	22
2.3 Paroksetinin moleküler yapısı.....	22
2.4 Essitalopramın moleküler yapısı.....	23
2.5 Venlafaksinın moleküler yapısı.....	23
2.6 Antidepresan karışımının (20 µg/mL) analizinden elde edilen LC-UV kromatogramı ..	26
2.7 Antidepresanların kromatografik analizleri.....	27
2.8 X-ışınlarının kristal yapıda kırınımı.....	31
2.9 Biyolojik örneklerden antidepresanların ekstraksiyonu.....	33
2.10 Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler.....	34
3.1 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartikül (a) ve Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -MgSiO <sub>3</sub> manyetik nanokompozite (b) ait XRD diyagramları.....	38
3.2 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartikül (a) ve Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -MgSiO <sub>3</sub> manyetik nanokompozite (b) ait FT-IR spektrumları.....	40
3.3 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartikülü (a) ve Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -MgSiO <sub>3</sub> manyetik nanokompozitinin (b) EDX ile birlikte SEM görüntüsü.....	41
3.4 Venlafaksin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.....	48
3.5 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen venlafaksin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyükselti alanları ..	49
3.6 Essitalopram için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.....	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
3.7 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen essitalopram pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyükselti alanları.....	53
3.8 Paroksetin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.....	56
3.9 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen paroksetin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyükselti alanları.....	57
3.10 Sertralin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.....	60
3.11 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen sertralin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyükselti alanları .....	61
3.12 Fluoksetin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.....	64
3.13 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen fluoksetin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyükselti alanları.....	65
3.14 Standart eklenmemiş insan serum örneğinin LC-UV kromatogramı.....	70
3.15 Standart eklenmemiş insan idrar örneğinin LC-UV kromatogramı .....	71
3.16 İlaçlarla tedavi gören hastaların biyolojik sıvılarının LC-UV kromatogramları. ....	71

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Nanomalzeme türleri .....	7
1.2 Fiziksel durumlarına göre nanopartikül üretim yöntemleri .....	9
1.3 Antidepresan ilaçların sınıflandırılması.....	15
2.1 HPLC sistemi ile ilgili özellikler ve analiz koşulları. ....	25
2.2 Hareketli faz bileşiminin zamanla kademeli değişimi.....	26
2.3 Kalibrasyon işlemlerine ait denklemler, $R^2$ ve LOD değerleri (y: pik alanı, x: konsantrasyon). ....	28
2.4 Antidepresan analizleri için kromatografik sistemin tekrarlanabilirliği.....	29
3.1 $Fe_3O_4$ and $Fe_3O_4-MgSiO_3$ 'ün XRD verileri.....	37
3.2 Deneysel tasarımda kullanılan merkezi kompozit tasarım faktörleri, değişkenlerin deneysel aralık ve düzeyleri (kodlanmış ve kodlanmamış). ....	44
3.3 Üç bağımsız değişkenle CCD (Merkezi kompozit tasarım) modeline göre oluşturulan deney tasarımı. ....	45
3.4 Venlafaksin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları.....	46
3.5 Venlafaksin için kullanılan modelin regresyon katsayıları, T-testi ve $p$ -değerleri. ....	47
3.6 Essitalopram ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları. ....	50
3.7 Essitalopram için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve $p$ -değerleri. ....	51
3.8 Paroksetinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları. .	54
3.9 Paroksetin için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve $p$ -değerleri. ....	55
3.10 Sertralinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları. ....	58
3.11 Sertralin için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve $p$ -değerleri.....	59
3.12 Fluoksetinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları. .	62
3.13 Fluoksetin için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve $p$ -değerleri.....	63
3.14 Serum ve idrar örneklerinde antidepresan ilaçların analizi için optimum deneysel koşullar. ....	66
3.15 Biyolojik örneklerde antidepresanların belirlenmesi için önerilen metodun analitik performansı. ....	67



## ÇİZELGELER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
3.16 Farklı seviyelerde biyolojik örneklere standart olarak eklenen antidepresanlar için önerilen metodun geri kazanımı (%) ve tekrarlanabilirliği (RSD).....	68
3.17 Önerilen metodun diğer metotlarla karşılaştırılması. ....	69
3.18 Serum ve idrar örneklerinde belirlenen antidepresanların istatistiksel sonuçları. ....	72

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$b_0$	: Sabit
$b_1, b_2, b_3$	: Lineer katsayılar
$b_{11}, b_{22}, b_{33}$	: Kuadratik katsayılar
$b_{12}, b_{13}, b_{23}$	: Etkileşim katsayıları
DF	: Serbestlik derecesi (Degree of freedom)
F	: F-testi için test istatistiği
MS	: Kareler ortalaması (Mean square)
$p$	: F-testi için anlamlılık değeri
$R^2$	: Belirleme katsayısı
SS	: Kareler toplamı (Sum of squares)
T	: T-testi değeri
$y_i$	: Cevap (Response)
X	: Ortalama pik alanı
$X_1, X_2, X_3$	: Bağımsız değişkenlerin kodlanmış değerleri
$\varepsilon$	: Deneysel hata

## KISALTMALAR

AA	: Atomik absorpsiyon
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskopu
ANOVA	: Varyans analizi (Analysis of variance)
CCD	: Merkezi kompozit tasarım (Central Composite Design)
CE	: Kapiler elektroforez
CYP	: Sitokrom enzimleri
DLLME	: Dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon
ECD	: Elektrokimyasal dedektör
FT- IR	: Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
GC	: Gaz kromatografisi

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

GC-MS	: Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi
5- HT	: Serotonin (5-hidroksitriptamin)
HPLC	: Yüksek performans sıvı kromatografisi
HPLC- DAD	: Yüksek performans sıvı kromatografisi- Diode array dedektörü
ISGUM	: İş sağlığı ve güvenliği müdürlüğü
LC	: Sıvı kromatografisi
LC- FL	: Sıvı kromatografisi - floresans dedektörü
LC-MS/ESI	: Sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi/ Elektrosprey iyonlaşma
LC- UV	: Ultraviyole dedektörlü sıvı kromatografisi
LLE	: Sıvı-sıvı ekstraksiyon
LLE/NACE	: Sıvı- sıvı ekstraksiyon/ Susuz kapiler elektroforez
LOD	: Algılama limiti (Limit of detection)
LOQ	: Tayin limiti (Limit of quantitation)
MAOI	: Monoamin oksidaz inhibitörleri
MNPs	: Manyetik nanopartiküller
MS	: Kütle spektrometresi
MSPE	: Manyetik katı faz ekstraksiyon (Magnetic solid phase extraction)
MSPE/LC-UV	: Manyetik katı faz ekstraksiyon/ Ultraviyole dedektörlü sıvı kromatografisi
NaSSA	: Noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresanlar
NDRI	: Noradrenalin ve dopamin gerialım inhibitörleri
NNI	: Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (National Nanotechnology Initiative)
NRI	: Seçici noradrenerjik gerialım inhibitörleri
PAH	: Polisiklik aromatik hidrokarbon (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)
RSD	: Bağlı standart sapma
RSM	: Yanıt yüzey metodu (Response surface methodology)
SBSE	: Manyetik karıştırma çubuğu ile ekstraksiyon
SD	: Standart sapma (Standard deviation)
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SNRI	: Serotonerjik ve noradrenalin gerialım inhibitörleri
S / N	: Sinyal/gürültü (Signal/noise)
SPE	: Katı faz ekstraksiyon
SSRI	: Seçici serotonin gerialım inhibitörleri

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)**

- STM : Taramalı tünelleme mikroskobu  
TCA : Trisiklik antidepresanlar  
US EPA : Amerikan Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency)  
WHO : Dünya Sağlık Örgütü  
XRD : X-ışını kırınımı yöntemi (X-Ray Diffraction)



## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

#### 1.1 NANOTEKNOLOJİ

Günümüzde teknoloji, sürekli hafifleşme ve boyutlarda küçülme yönündeki gelişmelerle karşımıza çıkmaktadır. Bu gelişmelerin temelleri de malzemelerin özelliklerini iyileştirmeye yönelik olan “nanoteknoloji” ye dayanmaktadır. “Mikroteknolojiden daha küçük teknoloji” olarak da adlandırılan nanoteknoloji; atomik ölçekte malzemelerin işlenmesi teknolojisidir (Akdoğan ve Küçükyıldırım 2006). Bir başka ifadeyle nanoteknoloji; materyalleri nanometrelerle ölçülebilecek düzeyde işleyen, pek çok çalışma alanını ya da disiplini birleştiren uygulamalı multidisipliner bir teknolojidir (Yula ve Deveci 2010). Nanoteknoloji, klasik mekanik ve kuantum mekaniği arasında açıkça anlaşılmayan bir konuda uygulama alanına sahip teknoloji olarak da tanımlanabilmektedir (Naschie 2006, Celep 2007).

Nanoteknoloji, her ne kadar yeni bir alan olarak görülse de doğada birçok ortamda uygulama alanına sahiptir. Doğada var olan bu uygulamalar bilim adamları için birer yol gösterici olmuştur. Lotus (beyaz nilüfer) çiçeği, köpek balığı derisi ve gecko kertenkelesi nanoteknoloji uygulamalarının görüldüğü örneklerden sadece birkaçıdır. Lotus çiçeği, çamurlu ve kirli ortamlarda yaşayan ancak yaprakları sürekli temiz kalan bir bitki çeşididir. Yaprığın yüzeyinde bulunan mikro ve nano boyutlarındaki hidrofobik yapılar sayesinde, yaprak üzerine düşen su damlaları yüzeyde tutunamamakta, yaprağın toprağa doğru eğimli olması sebebiyle de aşağı doğru kayarken toz, kir vb. maddeleri beraberinde götürmektedir. Dolayısıyla nano ve mikro seviyesindeki bu yapılar sayesinde lotus çiçeği sürekli olarak temiz kalmaktadır. Lotus çiçeğinin bu özelliği, nanobilim ile uğraşan araştırmacıları boyaların, kumaşların, camların ve diğer birçok yüzeyin kuru kalması ve kendi kendini temizleyebilme özelliği kazanmasına yönelik çalışmalar yapmaya yöneltmiştir (Özer 2008).

Doğada kendiliğinden var olan nanoteknoloji uygulamaları, yakın bir gelecekte bilim adamlarının yoğun çalışmaları kapsamında başta nanomalzemeler, nanoelektronik, ve nanobiyoteknoloji olmak üzere birçok alanda kendini göstermeye başlayacaktır (Özer 2008).

### **1.1.1 Nanoteknolojinin Tarihçesi**

Maddenin atomik katmanda işlenebilmesi olasılığını ilk kez Richard Feynman dile getirmiştir. Feynman 1959 yılında yaptığı konuşmasında, “There is Plenty of Room at the Bottom (Aşağıda daha çok yer var) ” diyerek nanoteknolojiyi bilim dünyasına kazandırmış; atom ve moleküler boyutta üretim yapılabilirse birçok yeni keşiflerin olabileceğini, bu kapsamda öncelikle nano ölçekte özel ölçme ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini belirtmiştir. Feynman, gelişmiş mikroskoplar ve yeni üretim metotlarının geliştirilmesi yönünde öngörülerde bulunmuş, doğal yaşamdan örnekler vererek çok küçük bir hacme ne kadar çok fonksiyon ve bilginin sığdırılabileceğini göstermiştir (Özer 2008).

Nanoteknoloji, 1970’li yılların sonunda geleceğin anahtar teknolojileri arasında görülmeye başlanmıştır. Nanoteknoloji terim olarak ilk defa Japon bilim adamı Norio Taniguchi’nin “Nanoteknolojinin Temel Konsepti Üzerine (On the Basic Concept of Nanotechnology)” adlı makalesinde kullanılmıştır. 1986 yılında Eric Drexler’in “ Engines of Creation: The coming Era of Nanotechnology-Motorların Yaratılışı: Nanoteknolojinin Yaklaşan Çağı” isimli kitabında Feynman’ın fikirleri daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır (Hunt and Mehta 2006). Drexler, atomlarla, canlı hücrelerden çok daha küçük, mevcut makinelerden çok daha güçlü, hafif ve kendi kendini kopyalayan nano ölçek seviyesinde makineler üretilebileceğini iddia etmiştir (Özer 2008).

1981 yılında Heinrich Rohrer ve Gerd Binnig tarafından IBM Zürih Araştırma Laboratuvarlarında elektron mikroskopuyla görülemeyen atom parçacıklarını 2.000 kez büyütme özelliği bulunan ve atomik ölçekte çözünürlük sağlayan Taramalı Tünelleme Mikroskobu (STM) geliştirilmiştir. Bu icat, 1986 yılında H. Rohrer ve G. Binnig’e fizik alanında Nobel ödülü kazandırmıştır. Aynı yıl, G. Binnig, Calvin Quate ve Christoph Gerber tarafından STM mikroskobunun bir türevi olan Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) geliştirilmiştir. 1989 yılında ise ilk ticari atomik kuvvet mikroskobu piyasaya sürülmüştür (Özer 2008).

1985 yılında, Robert F. Curl Jr., Harold W. Kroto ve Richard E. Smalley, yeni nano-yapılı karbon modifikasyonu olan ve “buckyball” olarak da adlandırılan, futbol topu biçimindeki fullerenleri keşfetmişlerdir (Menceloğlu ve Kırcı 2008). 1990 yılında ise, Don Eigler ve Erhard Schweizer isimli bilim adamları, 35 Xenon atomunu işleyerek nikel bir yüzeye “IBM” logosunu yazmışlardır (Özer 2008). 1991 yılında Japon fizikçi Sumio Iijima, fullerenlerle ilgili çalışmalarının sonucunda, temelde kenarları silindir oluşturacak şekilde yuvarlanmış grafit tabakalardan oluşan ve olağanüstü özellikleri nedeniyle elektronik ve malzeme mühendisliğinde uygulama potansiyeli olduğu öngörülen karbon nanotüpünü keşfetmiştir (Menceloğlu ve Kırcı 2008).

2000 yılı, ABD ve nanoteknolojinin geleceği açısından önemli bir yıl olmuştur. ABD, ilk resmi hükümet programı olan Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI, National Nanotechnology Initiative)’ni başlatmıştır. Bu program, nanoteknoloji alanında araştırma, geliştirme ve ticarileştirme faaliyetlerinin hızını artırma amacını taşımaktadır. 21. yüzyılın küresel teknoloji yarışında önlerde yer almak için Japonya, Tayvan, Singapur, Çin, İsrail ve İsviçre benzer programlar başlatarak çalışmalarına hız vermişlerdir (Erat vd. 2010).

### **1.1.2 Nanoteknolojinin Amaçları**

Nanoteknoloji, içinde bulunduğumuz yüzyılda hayatın her alanında devrim niteliğinde değişikliklere sebep olacak önemli bir teknolojik alandır. Nanoteknolojinin geçtiğimiz yüzyılda antibiyotik, plastik, televizyon, nükleer teknoloji ve bilgisayar teknolojisinin sebep olduğu köklü değişimlere benzer şekilde değişimler yaratacağı kabul edilmektedir (Celep 2007). Nanoteknolojinin amaçları (Erat vd. 2010);

1. Nanometre ölçekli yapıların analizi,
2. Nanometre boyutunda yapıların fiziksel özelliklerinin anlaşılması,
3. Nanometre ölçekli yapıların imalatı,
4. Daha az malzeme ve enerji kullanımı,
5. Nano ölçekli ve hassasiyetli cihazların geliştirilmesi,
6. Uygun yöntemler bulunarak nanoskopik ve makroskopik dünya arasındaki bağın kurulması şeklinde sıralanabilir.

Bu amaçlar doğrultusunda nanoteknoloji; fizik, kimya, biyoloji, sağlık, malzeme bilimi, elektronik, tekstil gibi bütün bilimlerin içerisinde yer almıştır.



### 1.1.3 Nanoteknolojinin Uygulama Alanları

Yeni sanayi ve teknoloji devrimi olarak nitelendirilen nanoteknoloji ile maddeler atomik ve moleküler seviyelerde kontrol edilerek maddeye ihtiyaç duyulan ve istenilen özellikler kazandırılmaktadır. Bu kapsamda nanoteknoloji hayatın her alanında yer almakta ve nanoteknoloji uygulamaları giderek yaygınlaşmaktadır (Çıracı 2008, Kayır ve Baççıl 2010). Nanometre ölçeklerinde malzemelerin sahip oldukları üstün fiziksel özellikleri kullanarak çeşitli alanlarda (endüstri, bilişim ve iletişim, elektronik, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp, savunma, tekstil, makine ve inşaat sanayileri vb.) teknolojik devrim niteliğinde yeni ürünler elde edilebilmektedir ve bu ürünlerden önemli ölçüde kazanç sağlanabilmektedir (Başaran 2002, Özdoğan vd. 2006).

Nanoteknoloji, endüstriyel alanda çoğunlukla teknolojik materyallerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Endüstriyel ekipmanların daha küçük boyutlara indirilmesi ile uygulamada daha az yer kaplaması ve daha çok talep görmesi mümkündür. Endüstriyelde nanoteknoloji; mikrosensörlerin, mikromakinaların ve optoelektronik elemanların imalatı gibi alanlarda kullanılmaktadır (Erat vd. 2010).

Nanoteknolojinin bir başka uygulama alanı ise tıp alanıdır. Tıp alanında nanoteknoloji, hastalıkların tanılarının konulmasını kolaylaştırmakta ve var olan bir hastalığın tedavisinin bireye zarar vermeyecek şekilde gerçekleşmesini sağlamaktadır. Canlı organizmalar ile etkileşime geçebilecek boyutlarda araçlar üretilerek birçok yeni teşhis ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi mümkündür. Sadece hastalığın bulunduğu veya yayıldığı bölgelere saldırarak ilaç veren cihazlar, insan vücudu içinde hareket edilmesine imkan sağlayan teşhis araçları, nanoteknolojinin tıp ve sağlık sektörü üzerindeki potansiyel uygulamaları olarak gösterilebilir (Özdoğan vd. 2006). Nanoteknoloji sayesinde geliştirilen nanostent, kalp hastalarının iyileşme sürecine yardımcı olur ve kanın pıhtılaşmasını önler (Naschie 2006). Medikal alanda kullanılışıyla ilgili; mikro cerrahi (göz, beyin vb.), diagnostik kitler ve kanser tedavileri örnek olarak gösterilebilir.

Nanoteknoloji her alanda olduğu gibi savunma alanında da yoğun bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Nanoteknolojinin kısa vadede en önemli askeri uygulamalarından birisi asker kayıplarının azaltılması için akıllı üniformaların tasarlanıp üretilmesidir. Esnek ve yıkanabilen nanosensörlerin ve aygıtların kumaş içerisine entegre edilmesiyle, üniformalar yeni boyutlar

kazanacaktır. Üniforma gerektiğinde çok sert bir zırha dönüşebileceği gibi, askerin ihtiyacı olacak enerjiyi güneşten sağlayacaktır (Bayındır 2009).

Nanoteknolojinin, enerjinin verimli kullanılmasında, depolanmasında ve üretilmesinde de önemli etkileri vardır. Çevre sorunlarının gözlenmesinde ve bu sorunların giderilmesinde kullanılabilen, çeşitli kaynaklardan gelen atıklar önlenemekte, daha az atık çıkaran üretim sistemleri geliştirilebilmektedir. Gelecekte yaşamsal bir ihtiyaç haline gelecek olan temiz suyun elde edilmesinde nanofiltreler kullanılabilir (Özgür vd. 2007). Enerji ve çevreyle ilgili başka bir örnek ise güneş enerjisi ile ilgilidir. Nanoteknoloji, kötü görünüşlü ve çok yer kaplayan güneş panelleri yerine ince tabaka şeklinde nanopanelerin üretilmesine olanak sağlayacaktır. Bu nanopaneler sayesinde güneş enerjisini kullanmak belki fosil yakıtlar kadar hesaplı olacaktır (Bayındır 2009).

Nanoteknoloji gıda ve ambalaj sektöründe de birçok gelişmeye ön ayak olmuştur. Gıda maddelerinin, nanoteknoloji ile sağlığa uygun ve taze tutulmasının yanı sıra gömülü nanoalgılayıcılar sayesinde gıda içindeki tüm değişimler izlenebilmektedir. Ambalaj sanayinde, özellikle gelişmiş sanayi ülkeleri büyük araştırma yatırımları yapmakta ve nanoteknolojide yaşanan gelişmelerle gıda ve içecek maddelerinin kalitesinin artırılmasıyla gıda sanayindeki üretim ve pazar payları da artmaktadır (Akbaba vd. 2006).

Sayıdığımız alanlar dışında nanoteknolojinin başka kullanım alanları da vardır. Örneğin, nanorobotlar, 0.5 - 3 mikron arasında değişen çok küçük boyutlarda olan ve insan vücudunu patojenlere karşı etkin bir biçimde savunmak için tasarlanan cihazlardır. Nanorobotların bakteri ve virüs enfeksiyonlarının tedavi edilmesi, kanser hücrelerini saptayıp yok etmesi, dolaşım sistemindeki zararlı maddeleri temizlemesi, hasarlı dokulara oksijen sağlaması ve çeşitli hastalıkların izlenmesi ve teşhisinde kullanımı amaçlanmaktadır (Gümüşderelioğlu 2002).

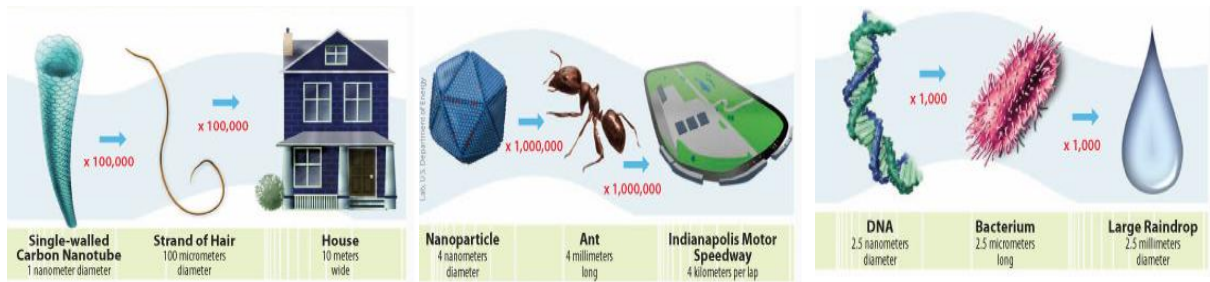
#### **1.1.4 Analitik Kimya ve Nanoteknoloji**

Nanoteknolojinin biyonanoteknoloji (nanotıp), nanomateryaller, nanoelektronik ve nanosensörler / nanoaygıtlar olmak üzere dört büyük uygulama alanı vardır. Nanosensörler / nanoaygıtlar, ürünlerin üretim süreçlerinin izlenmesi, karakterizasyonu ve kullanımında önemli bir rol oynayan analitik bilim ile doğrudan bağlantılıdır. Bununla birlikte, nanomalzemelerin analitik proseslerde kullanımı artmaktadır. Şu anda analitik biliminde kullanılan en yaygın

nanopartiküller; silis nanopartiküller, karbon nanopartiküller (özellikle fulleren ve karbon nanotüpler), organik polimer nanopartiküller (örneğin, moleküler baskılı polimerler), metal nanopartiküller (kuantum noktalar, altın nanopartiküller vb.) ve supramoleküler kümeler (nanomiseller vb.)’dir. Kimyasal tepkimelerin kontrolü, kinetiği, biyokatalitik (enzimatik) olayların yönlendirilmesi, kristal düzeni, yüzey kimyası ve yüzeyin araştırılması, bu tekniklere uygun analiz ve kontrol tekniklerinin geliştirilmesi çağımız kimyacılarını, özellikle analitik kimyacıları nanoteknolojiye yönelmeye zorlamıştır (Valcarcel et al. 2008).

## 1.2 NANOMALZEMELER

Nanoteknoloji sayesinde malzemelerin nano ölçek boyutlarında geliştirilebilmesi, özelliklerinin anlaşılması ve kontrol edilmesi ile çeşitli özelliklere, fonksiyonlara ve uygulamalara sahip yeni malzemeler elde etmek mümkündür. Nanomalzeme, 1 ile 100 nm arasındaki boyutlarda bulunan metal, seramik ve organik moleküller, polimerik ya da kompozit malzemelere verilen genel bir isimdir. Nanomalzemeleri geleneksel malzemelerden ayıran en önemli parametre, tanecik yapılarının büyüklüğüdür. Geleneksel malzemelerin çapları mikrondan milimetreye kadar uzanırken nanomalzemelerin çapları 1-100 nanometre arasında değişmektedir (Özer 2008). İnsan saç teli çapının yaklaşık 100.000 nanometre olduğu düşünülürse ne kadar küçük bir ölçekten bahsedildiği daha kolay anlaşılmaktadır. Atomlar bakterilerin, bakteriler ise bir sivrisineğin on binde bir büyüklüğündedirler. Şekil 1.1’ de nanometre boyutunu anlatan örnekler verilmiştir.



Şekil 1.1 Nanomalzemelerle boyut karşılaştırması (NNI 2014).

Nanometrik boyutta malzemeler hem atomik hem de makroskopik özellikler göstererek, hiç bilmediğimiz yeni bir dünyayı bize sunmaktadır. Günümüzde maddeyi nanometre seviyesinde işleyerek ve ortaya çıkan değişik özellikleri kullanarak, nano-ölçekte yeni teknolojik aygıtlar ve malzemeler yapmak mümkündür. Nanoboyuttaki bazı malzeme türleri Çizelge 1.1’ de gösterilmektedir.

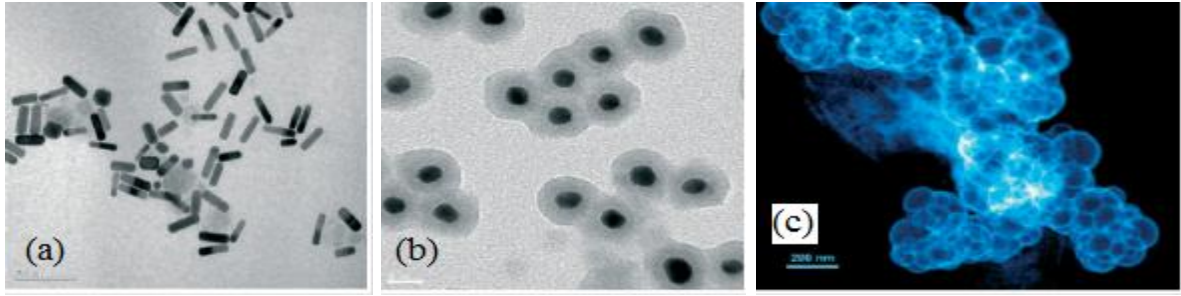
Çizelge 1.1 Nanomalzeme türleri (İSGUM 2014).

Materyaller	Boyut (yaklaşık)	Örnekler
Nanokristaller veya kuantum noktalar	1-10 nm	Metaller, yarı iletkenler, manyetik materyaller
Nanopartiküller	1-100 nm	Metaller, seramik oksitler
Nanoteller	1-100 nm	Metaller, yarı iletkenler, oksitler, nitritler
Nanotüpler	1-100 nm	Karbon
Nano gözenekli katılar	0,5-10 nm (gözenek yarıçapı)	Zeolitler, alümina
İki boyutlu nanopartiküller	Birkaç $\text{nm}^2$ - $\mu\text{m}^2$	Metaller, yarı iletkenler, manyetik materyaller
İnce filmler	1-1000 nm (kalınlık)	Yarı iletkenler

### 1.2.1 Nanopartiküller

Boyutları 100 nm ve altında kalan tozlar olarak tanımlanan nanopartiküller, nanoboyutlu malzemelerin dolayısıyla nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır (Rao et al. 2004, Miller et al. 2005, Gürmen ve Ebin 2008). Bu partiküller diğer ticari malzemelerden genelde farklı ve üstün kabul edilen özellikler göstermektedir. Nano boyuttaki partiküller, geniş yüzey alanına sahip olmaları ve kuantum etkilerinden dolayı daha büyük ebatlardaki taneciklere nazaran daha yüksek verimlilik göstermektedirler (Qian and Hinestroza 2004).

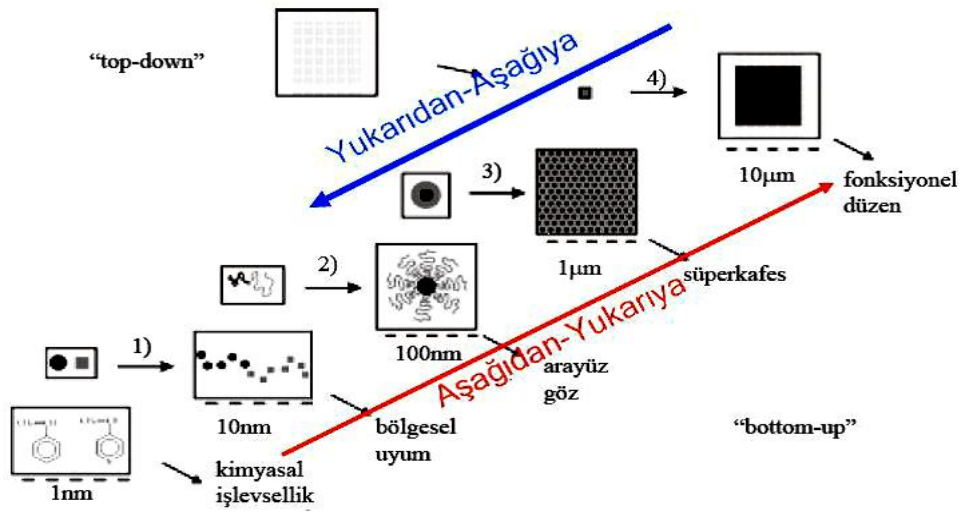
Nanopartikül sentezi bu yapıların sergiledikleri olağandışı özellikler sebebiyle yüksek aktiviteli katalizörler, optik uygulamalar için özel teknolojik malzemeler ile birlikte süper iletkenler, yüzey aktif maddeler, ilaç taşıyıcılar ve özel teşhis cihazları gibi birçok teknolojik ve farmakolojik ürünlerin hazırlanmasının önünü açmıştır. Bunların yanı sıra, malzemelerin nanoboyut seviyesinde kontrolü nano taşıyıcılar, sensörler, nano makinalar ve yüksek yoğunluklu veri depolama hücreleri gibi kendine özgü işlevselliğe sahip minyatürleştirilmiş aygıtların gerçekleştirilmesine izin vermektedir (Goldstain 1997, Rao et al. 2004, Miller et al. 2005, Gürmen ve Ebin 2008). Nano yapılı malzemelerin ve cihazların tasarlanması, üretimi ve işlevsel olarak kullanımını kapsayan nanoteknoloji alanındaki yeni gelişmeler için ilk adımın nanopartiküllerin üretimi olduğu açıkça görülmektedir. Nanoteknolojik malzemelerin çıkış noktasını oluşturan nanopartiküller, geniş bir kimyasal aralık ve morfolojide üretilebilirler. Günümüzde çekirdek-kabuk, katkılı, sandviç, boşluklu, küresel, çubuk benzeri ve çok yüzlü gibi farklı morfolojilere sahip metal, metal alaşımı, seramik ve polimer esaslı veya bunların karışımından istenilen özelliklere sahip nanopartiküller hazırlanabilmektedir (Gürmen ve Ebin 2008) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Nanopartiküllere ait elektron mikroskobu görüntüleri (a) altın nanoçubuklar, (b) altın çekirdek silika kabuk nanopartiküller ve (c) iç boşluklu platin nanopartiküller (Gürmen ve Ebin 2008).

### 1.2.2 Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

Nanopartiküllerin üretiminde temel olarak kullanılan yöntemler; Şekil 1.3'ten de görüldüğü gibi, "Aşağıdan yukarı (Bottom Up)" ve "Yukarıdan aşağı (Top Down)" olarak adlandırılan iki ana yaklaşım altında incelenmektedir.



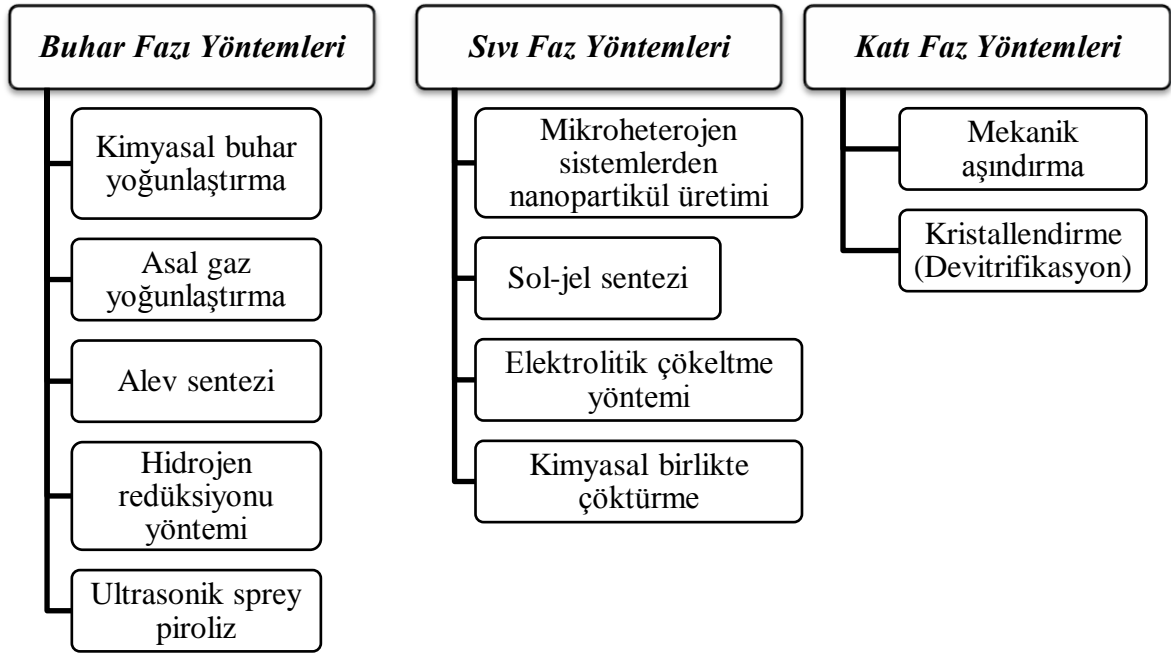
Şekil 1.3 Nanopartikül üretiminde kullanılan yaklaşımlar (Birtane 2009).

*Aşağıdan yukarı yaklaşımı*; organik veya inorganik yapıları, maddenin en temel birimi olan atomlardan başlayarak atomik veya moleküler boyuttaki yapıların inşa edilmesi esasına dayanır (Birtane 2009). Nano kristalin metal ve alaşımlarının üretiminde kullanılan ilk yöntem olan gaz yoğunlaştırma tekniği aşağıdan yukarıya yaklaşımıyla çalışmaktadır. Kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, sol jel, kimyasal birlikte çöktürme ve sprey piroliz yöntemleri de bu yaklaşımın en çok bilinen diğer uygulamalarıdır (Gürmen ve Ebin 2008).

*Yukarıdan aşağı yaklaşımı*; hacimsel malzemeye dışarıdan mekaniksel ve/veya kimyasal işlemler ile enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar inebilecek küçük parçalara ayrılmasını esas almaktadır. Yukarıdan-aşağıya (büyükten küçüğe) üretim yöntemi kapsamında birçok farklı yöntem uygulanmaktadır. Bu yöntemler; mekanik yöntemler (öğütme, sıkıştırma, ısıl prosesler vb.), yüksek enerji yöntemi, ısıl (termik) yöntem, kimyasal yöntem, litografik (baskı) yöntem ve doğal yöntemler gibi genellikle fiziksel esaslara dayanan yöntemlerdir. Teknolojinin bugünkü seviyesi nedeni ile yapılan çalışmaların birçoğu yukarıdan aşağıya (top-down) sınıfında değerlendirilebilir (Birtane 2009).

Nano yapıdaki malzemeler fiziksel durumlarına bakarak da hazırlanabilirler. Nano yapı malzemeler, başlangıç malzemelerinin katı, sıvı ve buhar oluşlarına göre üç grupta sınıflandırılabilir. Buna göre; nanopartikül üretim yöntemleri Çizelge 1.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2 Fiziksel durumlarına göre nanopartikül üretim yöntemleri (Sayılı 2011).



### 1.3 MANYETİK NANOPARTİKÜLLER

Boyutları 0,1-100 nm arasında olan manyetik özelliğe sahip metal ve metal oksitlerden oluşan toz parçalarına manyetik nanopartikül (MNPs) denir. Doğada kendiliğinden manyetik özellik gösteren metaller; demir, nikel ve kobalttır. Bu metallerin bazı bileşikleri de manyetik özellik gösterebilirler. Örneğin;  $Fe_3O_4$  (manyetit),  $Fe_2O_3$ ,  $NiO.Fe_2O_3$ ,  $CaO.Fe_2O_3$  vb (Sayılı 2011).

### 1.3.1 Manyetit

Manyetit (mıknatıs taşı olarak da adlandırılır), yeryüzünde bilinen en eski ve en genel demir oksit bileşimidir. Doğal haliyle en güçlü manyetik etkiyi gösteren mineral olup saf halde % 72 Fe ihtiva eder. Doğa araştırmaları insandan bakteriye çok sayıda türün manyetit üretebildiğini ortaya çıkarmıştır. Örneğin magnetotaktik bakteri, dünyanın manyetik alanından aldığı hareketle kendi doğal ortamında oksijence zayıf alanlara doğru yollar bulabilmektedir. Manyetit aynı zamanda kuş, balık ve arı gibi hayvanlarda da bulunarak onlara pusula vazifesi yapmaktadır. Kirschvink et al. (1992) yaptıkları çalışmada, temiz-laboratuar ortamında ultra-hassas bir süper-iletken manyetometre kullanılarak, insan beyindeki çeşitli dokularda manyetit kristallerinin varlığını tespit etmişlerdir. Manyetit mineralinin doğada bir çok kullanım alanına sahip olması, araştırmacıların dikkatini çekmiş ve bilinçli olarak manyetit kristallerinin sentezine önem verilmiştir (Beyaz 2009). Şekil 1.4'te manyetit mineralinin yapısı gösterilmektedir.



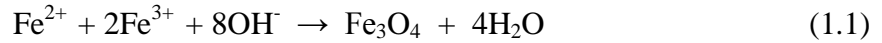
Şekil 1.4 Manyetit (Wikipedia 2014).

### 1.3.2 Manyetik Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

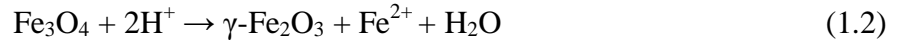
Yüksek kalitede manyetik nanopartiküllerin sentezine yönelik kimyasal birlikte çöktürme (Jiang et al. 2004), termal parçalanma ve/veya indirgeme, hidrotermal sentez (Fan et al. 2001), mikroemülsiyon (Zhang et al. 2008) ve lazer piroliz tekniklerini içeren birçok popüler yöntem bulunmaktadır (Lu et al. 2007, Chen et al. 2009, Shen et al. 2011). Bu yöntemler içerisinde en sık kullanılan yöntem demir tuzlarının kimyasal birlikte çöktürme tekniğidir (Lee et al. 2004, Martinez-Mera et al. 2007, Petcharoen and Sirivat 2012).

### 1.3.3 Birlikte Çöktürme Yöntemi

Birlikte çöktürme tekniği, manyetik nanopartiküllerin elde edilmesinde en basit ve en etkili kimyasal yoldur. Demir oksitler ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ya da  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) genellikle sulu bir ortamda  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  tuzlarının stokiometrik karışımı ile hazırlanır. Uygun oranlarda karıştırılan  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  iyonları bazik ortamda güçlü karıştırıcı altında çöktürülür. Bu yöntemle elde edilen parçacıkların boyutları,  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  oranı, pH, karıştırma hızı, sıcaklık, baz tipi, iyonik şiddet ve ortamın niceliğinden etkilenir. Birlikte çöktürme yöntemi oda sıcaklığında ya da yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilebilir (Lu et al. 2007).  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  oluşumunun kimyasal reaksiyonu Eşitlik 1.1' deki gibi yazılabilir.



Eşitlik 1.1' deki termodinamik reaksiyona göre, 2:1 ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ) stokiometrik oranında olan  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ' ün tamamen çökmesi oksijensiz ortamda 8 ile 14 arasındaki bir pH değerinde olmaktadır (Jolivet et al. 2004). Ancak, manyetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) çok kararlı değildir ve oksitlenmeye duyarlıdır. Manyetit oksijen varlığında maghemite ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) dönüşmektedir (Eşitlik 1.2).



Maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) oluşmaması için manyetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) sentezlenirken oksijensiz ortamda çalışılması gerekmektedir. Eşitlik 1.2'den de anlaşılacağı gibi yalnızca havadan kaynaklanan oksidasyon manyetiti maghemite dönüştürmez aynı zamanda süspansiyonun pH'sına bağlı olarak çeşitli elektron veya iyon transferleri de bu dönüşüme neden olur. Asidik ve anaerobik şartlar altında yüzeydeki  $\text{Fe}^{2+}$  iyonları çözültide hekza-aqua kompleksleri şeklinde desorbe olurken bazik şartlarda manyetit oksidasyonu manyetitin yüzeyinde yükseltgenme-indirgenme şeklinde gerçekleşir.  $\text{Fe}^{2+}$  'nin yükseltgenmesi, her zaman yük dengesini sağlayan katyonik boşlukların oluşturulması, kristal örgüsü boyunca katyonların göçü ve maghemitin yapısıyla ilişkilidir (Laurent et al. 2008).



### 1.3.4 Birlikte Çöktürme Yönteminin Avantajları

Birlikte çöktürme yöntemi diğer metotlara göre birçok avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlar; düşük maliyetli olması, partikül boyutu ve bileşiminin kolaylıkla kontrol edilebilmesi, yöntemin basit olması ve hızlı hazırlanması, yüksek saflık ve yüksek kimyasal homojenlik sağlaması, düşük sıcaklıkta sentez olanağı ve seri üretim kolaylığıdır.

Birlikte çöktürme yönteminin en büyük avantajı, çok miktarda nanoparçacık sentezlenebilmesidir. Bu yöntem kullanılarak süperparamanyetik demir oksit parçacıklarının ilk kontrollü sentezi Massart (1987) tarafından gerçekleştirilmiştir. Massart'ın sentezinde manyetit kabaca küreseldir ve boyutu XRD verilerine göre 8 nm olarak hesaplanmıştır.

### 1.3.5 Manyetik Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Manyetik nanopartiküller günümüzde bir çok alanda kullanılmaya başlanmıştır. Bu kullanım alanlarından bazıları;

1. Biyoteknolojide etiketleme (Gound 2006),
2. Enzim ve protein ayırımı (Faye 2004),
3. Amaçlanan yere ilaç salımı (Yang et al. 2004),
4. Manyetik rezonans görüntüleme (Hong et al. 2008, Medeiros et al. 2011),
5. Manyetik bilgi depolama ortamları (Frias et al. 2006),
6. Yazıcı mürekkepleri,
7. Kimyasal saflaştırma, ayırma, zenginleştirme şeklinde sıralanabilir.

## 1.4 MANYETİK NANOKOMPOZİTLER

Birden fazla aynı veya farklı tür malzemelerin bir araya getirilmesiyle elde edilen ve yeni üstün özellikler taşıyan malzemelere "kompozit malzeme" denilmektedir. Kompozit malzeme oluşturmadaki amaç; fiziksel, mekanik ve termal olarak daha sağlam ve daha dayanıklı yapılar oluşturabilmektir. Eğer oluşturulan yeni yapıda bileşenlerden en az bir tanesi nano boyutta ise oluşan kompozit yapı "nanokompozit malzeme" olarak adlandırılmaktadır.  $Fe_3O_4$  veya  $Fe_2O_3$  ile organik ve/veya inorganik maddelerin nanokompozitlerine ise "manyetik nanokompozit" denilmektedir.

Wu et al. (2011) yaptıkları çalışmada kimyasal birlikte çöktürme yöntemi ile grafen-bazlı manyetik nanokompozit (G-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) sentezlemiş ve sulu çözeltide bazı karbamat kalıntılarını incelemişlerdir. MSPE tekniği ve HPLC-DAD ile analizlerine yönelik yeni ve son derece hassas bir yöntem geliştirmişlerdir. Kalantari et al. (2013) yaptıkları çalışmada katı bir substrat olarak talk mineralinin dış yüzey tabakası üzerinde demir oksit nanopartiküllerinin birlikte çöktürme yöntemi ile talk/ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanokompoziti sentezlemişlerdir. Singh et al. (2011) ise yaptığı çalışmada sulu çözeltiden kristal mor boya adsorpsiyonu için yeni bir manyetik karbon-demir oksit nanokompozit geliştirmiş ve karakterize etmiştir. Bu çalışmada manyetik nanokompozit ile sulu çözeltiden kristal morunun ayrılmasını sağlamak için yanıt yüzey metodu (RSM) ile birlikte dört faktörlü merkezi kompozit tasarımı (CCD) kullanılmıştır.

## **1.5 ANTİDEPRESAN İLAÇLAR**

Klinikte kullanılan tüm antidepresanlar (timoleptik ilaçlar olarak da adlandırılır), doğrudan veya dolaylı olarak dopamin, norepinefrin ve/veya serotoninin beyindeki etkilerini arttırarak etki gösterirler (Yüce 2012). Antidepresan ilaçlar etkilerini oluştururken merkezi sinir sisteminde ağırlıklı olarak noradrenerjik ve serotonerjik sistemlerle etkileşirler. Bunların büyük çoğunluğu noradrenalin veya serotoninin birinin veya ikisinin birlikte sinaptik aralıkta gerilimini bloke ederek etkinliklerini arttırırlar. Bu ilaçların sinaptik aralıkta serotonin veya noradrenalin gerilimini bloke edici etkileri ile antidepresan etkinlikleri arasında bir ilişki bulunmaktadır. Bunun dışında antidepresanların noradrenerjik, serotonerjik, kolinerjik ve histaminerjik reseptörleri bloke edici özellikleri de bulunmaktadır (Uzbay 2007).

### **1.5.1 Antidepresan İlaçların Tarihsel Gelişimi**

1950'lerin başında, monoamin oksidaz inhibitörlerinin (MAOI) duygudurum düzenleyici etkisi, etkili bir antitüberküloz tedavisinin geliştirilmeye çalışılması sırasında keşfedilmiştir (Crane 1957, Yüce 2012). Bu bileşikler ve trisiklik antidepresanlar (TCA) üzerine devam eden araştırmalar, beyin ve duygudurum kimyası üzerine erken teorilerin oluşmasına yol açmıştır. 1950 ve 1960'lardaki bu keşifler antidepresan ilaç tedavisi ve depresyon şikâyeti bulunan hastalar için yeni ve daha iyi tedavilerin geliştirilmesine olan ilgiyi arttırmıştır (Ferguson 2001, Yüce 2012). Seçici serotonin gerilim inhibitörlerinin (SSRI) bulunmasına kadar geçen sürede diğer tüm psikotrop tedaviler iyi gözlemlenmeler sonucu rastlantısal olarak

bulunmuştur. SSRI sınıfı ilaçların ortaya çıkışı sonrası depresyon tedavisinin şekli önemli ölçüde değişmiştir. SSRI'lar hızlı bir şekilde daha eski olan trisiklik antidepresanların yerini alıp depresyon tedavisinde ilk sırada kullanılan ilaç sınıfı olmuştur. SSRI sınıfı ilaçlar, TCA'ların da ortak özelliği olan serotoninin (5-HT) nöronal geri alım pompasının inhibisyonu için geliştirilmiştir. Ancak bu sınıftaki ilaçlar, TCA'ların etkilediği diğer çeşitli nöroreseptörler (histamin, asetilkolin ve adrenerjik reseptör vb.) üzerinde etkili değildir. SSRI'ların geliştirilmesinin asıl nedeni, diğer bölgelerle bağlanma ve etkileşimi engellemektir; bu doğrultuda SSRI sınıfı ilaçlar ile TCA'ların farmakolojik benzerlik ve farklılıkları daha iyi anlaşılabilir (Vaswani et al. 2003, Yüce 2012).

1983 yılında fluvoksaminin İngiltere'de bulunmasından sonra 1988 yılında fluoksetin ABD'de bulunmuştur ve yaygın bir kullanıma sahip olmuştur (Hiemke 2000, Ferguson 2001, Yüce 2012). Bunu paroksetin, sitalopram ve sertralin takip etmiştir (Preskorn 1996, Yüce 2012). Günümüzde depresyon tedavisi ve diğer duygudurum bozukluklarının tedavisinde kullanılmak amacıyla 6 SSRI (fluvoksamin, fluoksetin, paroksetin, sertralin, sitalopram, essitalopram) piyasada bulunmaktadır.

### **1.5.2 Antidepresan İlaçların Sınıflandırılması**

Antidepresan ilaçlar, enzim ya da reseptör inhibitörleri ve geri alım engelleyicileri olarak etkilerini gösterirler. Çizelge 1.3'te Türkiye'de bulunan antidepresan ilaçlar yer almaktadır (Örsel 2004).

Geri alım inhibitörleri ve ikili etki gösteren (serotonin-noradrenalin) antidepresan ilaçlar, TCA ve MAOI'lerine göre daha iyi yan etki profiline sahiptir. SSRI'lar antidepresan etkinlikleri açısından farklılık göstermezken metabolizma, yarı-ömür, yaşa bağlı metabolik değişiklikler ve sitokrom enzimleri (CYP) açısından farmakokinetik değişiklikler göstermektedir. Bu gruptaki ilaçlar, kardiyak ileti üzerine etkilerinin olmaması, antikolinergik etkilerinin çok az olması ve yan etki açısından daha kolay tolere edilebilmeleri nedeniyle daha çok tercih edilmektedir (Feighner and Cohn 1985, Fredericson et al. 1985, Reynolds 2000, Yüce 2012). İkili serotonerjik ve noradrenerjik geri alım inhibitörleri (SNRI) olarak adlandırılan diğer sınıf ise, benzer klinik etki profili olan TCA'lardan farklı olarak diğer reseptör sistemlerini etkilememektedir. Dolayısıyla yan etkileri daha azdır. Bu sınıfta venlafaksin, milnasipran ve duloksetin yer almaktadır (Örsel 2004).

Çizelge 1.3 Antidepresan ilaçların sınıflandırılması (Örsel 2004).

<b>Sınıf</b>	<b>İlaç Örnekleri</b>
Monoamin Oksidaz İnhibitörleri (MAOI)	<i>Moklobemid, Fenelzin</i>
Trisiklik Antidepresanlar (TCA)	<i>Opipramol, Klomipramin, İmipramin, Amitriptilin</i>
Seçici Serotonin Gerilim İnhibitörleri (SSRI)	<i>Sertralin, Fluoksetin, Paroksetin, Fluvoksamin, Sitalopram, Essitalopram</i>
$\alpha$ 2 Adrenoreseptör Antagonistleri (Noradrenerjik ve Spesifik Serotonerjik Antidepresanlar (NaSSA))	<i>Mianserin, Mirtazapin</i>
Serotonerjik ve Noradrenalin Gerilim İnhibitörleri (SNRI)	<i>Venlafaksin, Milnasipran, Duloksetin</i>
Seçici Noradrenerjik Gerilim İnhibitörleri (NRI)	<i>Reboksetin, Maprotilin</i>
Noradrenalin ve Dopamin Gerilim İnhibitörleri (NDRI)	<i>Bupropion</i>
Serotonerjik ilaçlar	<i>Nefazodon, Trazodon, Tianeptin, Gepiron</i>

## 1.6 ANTİDEPRESAN İLAÇLARIN ANALİZLERİ

Biyolojik, gıda ve çevre örneklerindeki antidepresanlar çeşitli analitik yöntemler ile kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmektedir. Biyolojik örneklerde antidepresan ilaçların belirlenmesi için analitik yöntemler sadece klinik toksikoloji alanını değil aynı zamanda genellikle zehirlenme vakalarındaki adli soruşturmaları da ilgilendirmektedir.

### 1.6.1 Örnek Hazırlama Yöntemleri

Kimyasal analizi yapılacak plazma, serum, idrar gibi biyolojik numuneler, genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karışık bir matriks içerirler. Bu nedenle örnek hazırlama; özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC), gaz kromatografi (GC), gaz kromatografi-kütle spektrofotometresi (GC-MS) gibi cihazlar yardımıyla yapılan analizler öncesinde uygulanması gereken çok önemli bir basamaktır. Örnek hazırlama işlemi, örneklerin istenmeyen bileşenlerden temizlenmesi ve yoğunlaştırılması amacıyla yapılmaktadır. Temizleme işlemi ile matriksten analizin yanlış sonuçlanmasına neden

olabilecek, aranan maddenin tespit edilmesini engelleyebilecek veya analiz cihazlarının kirlenmesine neden olabilecek kirliliklerin uzaklaştırılması sağlanmaktadır (Stevenson 2000, Zief 2005, Yavuz ve Aksoy 2006).

Biyolojik numunelerdeki antidepresan ilaçların analizinde en önemli basamak örnek hazırlama basamağıdır. Bu amaçla, genellikle, sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) (Farag et al. 2013), manyetik karıştırma çubuğu ile ekstraksiyon (SBSE) (Chaves et al. 2007), katı faz ekstraksiyon (SPE) (Papoutsis et al. 2012), katı faz mikroekstraksiyon (SPME) (Chaves et al. 2009), dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) (Shamsipur et al. 2014) gibi çok sayıda örnek hazırlama teknikleri uygulanmaktadır. Günümüzde en etkili örnek hazırlama yöntemlerinden biri olan SPE, özellikle ilaç ve diğer farmasötik maddelerin analizinde kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir (Hennion 1999, Stevenson 2000, Liljegren 2005).

#### **1.6.1.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi**

Bir sıvının ayırma hunisi kullanılarak organik bir çözücü ile çalkalanması esasına dayanan ekstraksiyon yöntemidir. Bu yöntemde fazla çözücü ve zaman harcanması, maliyetli olması, suda yüksek çözünürlüğe sahip polar maddelerin analizlerinin düşük verimle yapılmasından dolayı daha pratik, ekonomik, seçici ve hassas yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır (Yavuz ve Aksoy 2006).

#### **1.6.1.2 Katı-Faz Ekstraksiyon Yöntemi**

Geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamalarının fazla miktarda çözücü harcanması, çok zaman alması ve yüksek maliyetli olması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca bu yöntemler, gerekli saflığa sahip olmayan ekstraktlar elde edilmesi, çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması ve duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi gibi istenmeyen durumlara da neden olabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı bu metoda alternatif olarak 1970'li yılların ortalarında yeni bir teknik olan katı faz ekstraksiyonu (SPE) metodu kullanılmaya başlanmıştır. SPE yöntemi, temel olarak küçük, tek kullanımlık ekstraksiyon kolon veya disklerine çeşitli tutucu maddelerin (adsorbanlar) doldurulması ve sıvı örneklerini istenmeyen bileşenlerden ayırma (temizleme), deriştirme ve ileriki analiz aşamaları için örnek matriks yapısının değiştirilmesi amaçlarıyla hazırlanmış olan kolon ve disklerden geçirilmesi esasına dayanmaktadır (Hennion 1999, Zief 2005).

### **1.6.1.3 Manyetik Katı-Faz Ekstraksiyon Yöntemi (MSPE)**

Son yıllarda, nispeten SPE' nin yeni bir türü olan manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE) farklı örneklerden çeşitli inorganik ve organik bileşiklerin ekstraksiyon ve zenginleştirilmesinde klasik metotlara alternatif olarak kullanılmaktadır (Safarikova et al. 1999). Ayrıca, bu yöntem güçlü bir dış manyetik alan kullanılarak yüksek hacimli örneklerde klasik ekstraksiyon tekniklerine nazaran ilave santrifüjleme ya da süzme işlemi olmaksızın hızlı bir ekstraksiyon ve kolay ayırma gibi önemli avantajlar sağlar. Şimdiye kadar, bu teknik, biyolojik, gıda ve çevre örneklerinde PAH, pestisit, asidik ve bazik ilaçlar, mantar ilaçları ve metal iyonlarının analizi için kullanılmıştır (Song et al. 2007, Zhang et al. 2010, Wu et al. 2011, Wierucka and Biziuk 2014).

### **1.6.2 Kromatografik Analiz Yöntemleri**

Biyolojik örneklerde antidepresan ve metabolitlerinin belirlenmesi için literatürde birçok çalışma yapıldığı görülmektedir. Literatürde yer alan bu çalışmalara göre yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) (Chaves et al. 2007, Mercolini et al. 2010, Shamsipur et al. 2014), kapiler elektroforez (CE) (Catai et al. 2009), gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) (Papoutsis et al. 2012, Farag et al. 2013) ve sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (LC-MS) (Halvorsen et al. 2003, Juan et al. 2005) gibi çeşitli analiz yöntemleri antidepresanların analizleri için kullanılmaktadır. Antidepresanların biyolojik örneklerden ekstraksiyonunun ardından kromatografik analiz basamağında en yaygın kullanılan yöntem ultraviyole (UV), kütle spektrometre (MS), elektrokimyasal (ECD), kemilüminesans veya floresans (FL) dedektörler ile birleştirilen sıvı kromatografisi (LC) yöntemidir (Saka ve Şahin 2013).

## **1.7 YÜKSEK PERFORMANS SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC)**

Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi, sıvı kromatografisi (LC) yönteminin özel bir uygulaması olup bir sıvıda çözülmüş bileşenlerin bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile etkileşime girmesi ve kolon içinde değişik hızlarla hareket etmeleri sonucu bileşenlerin farklı zamanlarda kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılması temeline dayanır. HPLC, günümüzde geniş bir kullanım alanına sahip olup kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp, bitki kimyası, tarım ve kimya mühendisliğini içeren alanlarda ayırma ve analiz için vazgeçilmez bir kromatografik yöntemdir. Ayrıca bu yöntem aminoasitler, proteinler, nükleik asitler, karbohidratlar, ilaçlar

ve pestisit gibi çok farklı gruptaki moleküllerin analizinde kullanılan başlıca kromatografik yöntem olmuştur. HPLC, yaklaşık olarak 30 yıllık bir teknik olmasına rağmen, kısa bir gelecekte bu tekniğin yerini alabilecek çok az sayıda rakip teknoloji bulunmaktadır.

Standart HPLC donanımı temel olarak 4 bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenler sırasıyla pompa, enjektör, kolon (sabit faz) ve dedektördür. HPLC donanımında temel bir bileşen olan pompa, hareketli fazı oluşturan çözücü karışımlarının kolon ve dedektör içerisinde belirli, sabit veya değişken bir hızda, belirli basınç altında geçmesini sağlamaktadır (Skoog et al. 1997). Enjektörler ise numunenin kolon öncesinde hareketli faza enjekte edilmesi için kullanılmaktadır. HPLC yönteminde ölçmenin kesinliğini belirleyen faktör, enjeksiyonun tekrarlanabilirliğidir. Numune enjeksiyonu yüksek basınçta yapılmaktadır. Enjekte edilen numune, yüksek basınçta hareketli faza karışmakta ve hareketli fazda çözünmüş halde kolona ulaşmaktadır (Gündüz 2005). HPLC donanımının dört temel yapı taşından birisi olan kolon, karmaşık örneklerde bileşenlerin birbirlerinden iyi çözünürlükle ayırımından sorumlu sabit fazdır. Kolonlar paslanmaz çelikten, teflon veya camdan yapılmaktadır (Skoog et al. 1997). Modern sıvı kromatografi sistemlerinin gelişmesindeki en büyük paylardan birisi de, kolonu terk eden hareketli fazın sürekli olarak taranmasına izin veren akışlı-küvetlere sahip dedektörler olmuştur. Özellikle HPLC sistemlerinde olmak üzere kromatografi sistemlerinde kullanılan dedektörler, sürekli akış koşulları altında kullanılırlar ve dedektör ile belirlenecek olan analitler, her zaman elüsyon sıvısı içerisinde çözünürler. Elüsyon sıvısındaki belirlenecek olan analitin dedektörde bulunan gerçek miktarı ise nanogram düzeyindedir (Tuncer 2008).

### **1.7.1 HPLC' nin Avantaj ve Dezavantajları**

HPLC, bütün ayırma teknikleri arasında en yaygın kullanılan kromatografik yöntemdir. Bu tekniğin yaygın olarak kullanılmasını sağlayan avantajlar ise hızlı olması, yüksek çözünürlük sağlaması, yüksek duyarlılık (femtogram-nanogram düzeyinde) ve tekrarlanabilirliği ( $\pm\%1$ ), paslanmaz çelik kolonların uzun süre tekrar tekrar kullanılabilmesi, doğruluğu, yüksek oranda geri-kazanım sağlaması, kantitatif tayinlere kolaylıkla uygulanabilir olması, uçucu olmayan türlerin ve ısıya dayanıklı olmayan türlerin ayrılmasına uygun olmasıdır (Skoog et al. 1997, Tuncer 2008).

HPLC tekniğinin sunmuş olduğu bütün bu avantajlara rağmen, bu tekniğin yaygın olarak kullanılmasını sınırlayan bazı faktörler de bulunmaktadır. Bu faktörler; HPLC sisteminin maliyetli olması, bazı bileşikler için duyarlılığın düşük olması, sistemin kompleks olması, bazı durumlarda seri analizin zor olması, kolon materyaline geri-dönüşümsüz olarak adsorplanan bileşiklerin belirlenememesi ve elüsyonları birlikte olan bileşiklerin belirlenmesindeki zorluklar şeklinde açıklanabilir (Tuncer 2008).

## 1.8 ÇALIŞMANIN AMACI VE ÖNEMİ

Yapmış olduğumuz bu çalışmanın amacı,  $Fe_3O_4$  içeren manyetik nanokompozitlerin hazırlanması ve bu malzemelerin biyolojik, gıda ve çevre örneklerindeki çeşitli organik maddelerin analizlerinde adsorbent olarak kullanılmasıdır.

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Örgütü (US EPA); kimyasalların veya kimyasal proseslerin çevreye olumsuz etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak amacıyla yapılan çalışmaları “yeşil kimya” (Green Chemistry) olarak nitelendirmekte ve bu tür çalışmaları desteklemektedir. Son yıllarda, yeni kimyasalların dizaynı, üretimi, kullanımı ve kullanım sonrası çıkabilecek olumsuzlukları bertaraf eden veya azaltan yeni teknolojilerin geliştirilmesi için farklı disiplinlerin bir araya geldiği çalışmalar yapılmakta ve bu çalışmaların önemi her geçen gün artmaktadır. Yeşil kimyanın en yoğun çalıştığı alanlardan birisi de aşırı ve gereksiz olan uçucu, yanıcı ve toksik çözücüler veya ayırıcı yardımcı kimyasalların kullanımından kaçınarak, çevre ve insan sağlığı açısından daha az zararsız olanların tercih edilmesidir. Özellikle malzeme bilimi ile kimyanın ortak çalışmaları sonucunda nanoteknoloji alanındaki ilerlemeler, çeşitli ortamlardan madde izolasyonunda kullanılan aşırı ve zararlı organik çözücülerin yerine yeni nano yapıları adsorbentlerin üretilmelerine ve kullanılmasına imkân sağlamıştır.

Bu çalışmada hazırlanan manyetik nano malzemeler, serum ve idrar gibi biyolojik örneklerden çeşitli organik maddelerin ekstraksiyon işlemlerinde fazladan çözücü kullanımına gerek kalmadan, kolay, hassas ve hızlı bir ayırım yapılabilmesine imkân vermektedir. Bu tez çalışmasında uygulanan analitik metot; ekonomik olması, ekstraksiyon kısmında hiçbir toksik organik çözücü kullanılmaması ve bu sebeple çevre ve insan sağlığının korunmasına katkı sağlamasından dolayı önem taşımaktadır.





## BÖLÜM 2

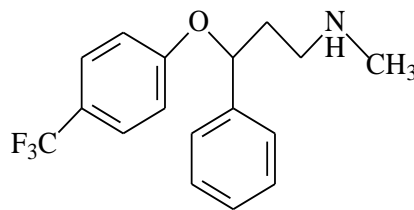
### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 2.1 KULLANILAN MADDE VE MALZEMELER

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Sigma- Aldrich ve Merck firmalarından temin edilmiştir. Florisil ( $MgSiO_3$ , 60-100 mesh),  $\geq$  % 99.99 saflıkta amonyum hidroksit çözeltisi ( $NH_4OH$ ),  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  ( $\geq$  % 98),  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  ( $\geq$  % 99) ve LC analizlerinde kullanılan  $\geq$  % 99,9 saflıkta asetonitril Sigma- Aldrich firmasından, hidroklorik asit ( $HCl$ , % 37) ve etil alkol ( $EtOH$ ,  $\geq$  % 99,5) Merck firmasından satın alınmıştır. Ayrıca, bu çalışmada Türkiye’ de ticari olarak temin edilebilen beş farmasötik ilaç (Lustral, Prozac, Efexor, Losiram ve Paxil) analiz edilmiştir. Lustral (50 mg tablet, son kullanma tarihi 09/2018) ve Efexor (37.5 mg kapsül, son kullanma tarihi 04/2016) Pfizer firmasından, Paxil (20 mg tablet, son kullanma tarihi 08/2016) Glaxo Smith Kline firmasından, Prozac (20 mg kapsül, son kullanma tarihi 08/2016) Lilly firmasından ve Losiram (10 mg tablet, son kullanma tarihi 10/2014) Bilim firmasından temin edilmiş olup söz konusu ilaçların içerdikleri etken maddelerin kimyasal yapıları ve özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

#### Fluoksetin

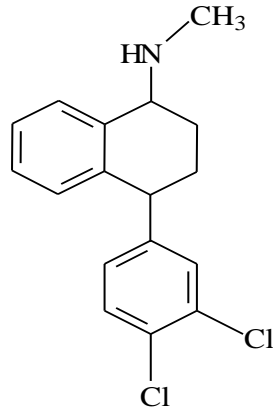
Fenilpropilamin türevi olan fluoksetin (Şekil 2.1) piyasaya ilk çıkan seçici serotonin geri alım inhibitörüdür. Merkezi nöronlarda serotonin geri alımını inhibe ederek antidepresan etkinlik gösterdiği düşünülmektedir. Fluoksetin, seçici olarak bu maddenin geri alımını engeller; fakat noradrenalin ve dopamin geri alımını etkilemez. Piyasada PROZAC® (fluoksetin hidroklorür) markasıyla bulunmaktadır.



Şekil 2.1 Fluoksetinin moleküler yapısı.

## Sertralin

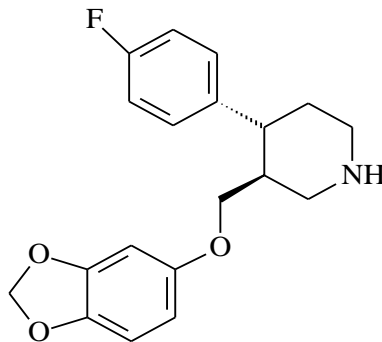
Naftilamin türevi olan sertralin (Şekil 2.2) serotonin (5-HT) geri alımı bakımından ikinci en kuvvetli inhibitördür. Ayrıca noradrenalin geri alımı bakımından ikinci en selektif 5-HT blokörüdür (Vaswani et al. 2003). Piyasada ZOLOFT® ve LUSTRAL® (sertralin hidroklorür) markalarıyla bulunmaktadır.



Şekil 2.2 Sertralinin moleküler yapısı.

## Paroksetin

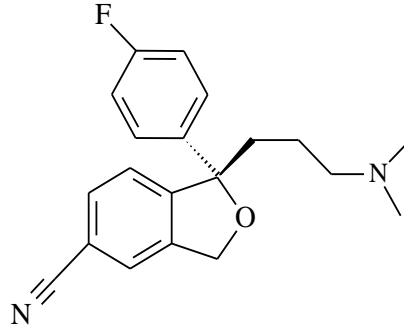
Paroksetin (Şekil 2.3); fluoksetin, fluvoksamin ve sertralinden daha seçici bir serotonin geri alım inhibitörüdür. Yapıca fluoksetine benzemektedir. Diğer SSRI' lardan farklı olarak yüksek dozlarda norepinefrin geri alımını inhibe eder. Piyasada PAXİL® (paroksetin hidroklorür) markasıyla bulunmaktadır.



Şekil 2.3 Paroksetinin moleküler yapısı.

## Essitalopram

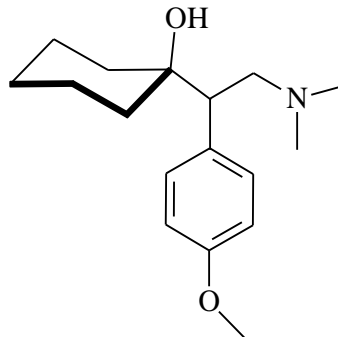
Sitalopramın S-enantiomeri olan essitalopramın (Şekil 2.4) majör depresyon tedavisinde etkili olduğu birçok klinik çalışma ile kanıtlanmıştır. Deneysel ve klinik çalışmaların sonuçları essitalopramın sitaloprama eşdeğer dozlarda ondan daha güçlü antidepresan etki gösterdiğine işaret etmektedir (Auquier et al. 2003, Lepola et al. 2003, Sánchez et al. 2004, Uzbay 2007). Piyasada LOSİRAM® ve CİPRALEX® (essitalopram oksalat) markasıyla bulunmaktadır.



Şekil 2.4 Essitalopramın moleküler yapısı.

## Venlafaksin

Feniletilamin türevi olan venlafaksin (Şekil 2.5), çift etkili bir serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörü (SNRI)'dür. Merkezi sinir sistemindeki sinapslarda selektif olarak hem serotonin hem de noradrenalin gerialımını bloke ederek serotonerjik ve noradrenerjik aşırımı artırmak suretiyle antidepresan etki oluşturur (Schatzberg et al. 2003, Uzbay 2007). Karaciğerde sitokrom enzimleri ile metabolize olurlar. Piyasada EFEXOR® (venlafaksin hidroklorür) markasıyla bulunmaktadır.



Şekil 2.5 Venlafaksinin moleküler yapısı.

Örnek hazırlama aşamasında santrifüj işlemi için Nüve FN 200 santrifüj cihazı, deneysel işlemler sırasında Hamilton mikro enjektör (100µL), Axygen Fully Autoclavable mikro pipet (100-1000µL), Millipore Direct-Q3 UV su arıtma sistemi ile damıtılan saf su ve çeşitli teknik cam malzemeler kullanılmıştır. Yıkanan cam malzemeler Nüve FN 500 etüvde kurutulmuştur. LC-UV cihazı ile yapılan kromatografik analizlerde çözücülerin içindeki hava kabarcıklarını gidermek için zaman ayarlı Transsonic 660/H ultrasonik banyo kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinde Velp Scientifica vorteks cihazı, katı fazı sıvı fazdan ayırmak için neodim mıknatıs (Ne-Fe-B), sulu çözeltilerin pH'larının ayarlanmasında Crison GLP22 cam elektrotlu pH metre, tartım işlemlerinde 0,0001 duyarlılıkta Kern Abs analitik terazi ve antidepresan ilaçların kromatografik analizinde Thermo Finnigan HPLC sistemi kullanılmıştır.

## **2.2 ÖRNEKLERİN TOPLANMASI**

Serum ve idrar örnekleri, bu çalışmadaki ilaçları kullanan ve hiç kullanmamış kişilerden alınmıştır. Alınan serum ve idrar numuneleri analiz edilinceye kadar -20 °C' de saklanmıştır. Numuneler oda sıcaklığında 10 dakika boyunca 3000 rpm' de santrifüj edilmiş ve süpernatant kısım ekstraksiyondan önce ultra damıtılmış su ile üç kez seyreltikten sonra süzölmüştür.

## **2.3 STANDART ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI**

Bu çalışmada kullanılan sertralin (0.5 mg/mL), venlafaksin (0.375 mg/mL), paroksetin (0.2 mg/mL), essitalopram (0.10 mg/mL) ve fluoksetin (0.2 mg/mL) uygun miktarda suda çözölerek primer standart stok çözeltileri hazırlanmış olup tüm stok çözeltiler analizlerden önce 0.25 µm polipropilen filtre kâğıdından süzölmüştür. Standart çözeltilerin seyreltilmesi için ultra saf su kullanılmıştır. Hazırlanan tüm standart çözeltiler -4 °C' de buzdolabında saklanmıştır.

## **2.4 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> MANYETİK NANOKOMPOZİTİNİN HAZIRLANMASI**

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> manyetik nanokompoziti MgSiO<sub>3</sub> varlığında bazik ortamda Fe<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+3</sup> ün kimyasal olarak birlikte çöktürölmesi ile sentezlenmiştir. Fe<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+3</sup> ün molar oranları 1:2 olarak alınmıştır. Manyetik nanokompozit azot gazı altında 50 °C' de 2.54 g FeCl<sub>2</sub> ve 3.25 g FeCl<sub>3</sub> içeren 100 mL çözeltiye 0.5 g MgSiO<sub>3</sub> süspanse edilmesi ile hazırlanmıştır. Çözelti 10 dk boyunca ultrasonik banyoda (200 W, 40 kHz) tutulduktan sonra demir oksitleri çöktürmek için

10 mL 8M NH<sub>4</sub>OH sulu çözeltisi damla damla ilave edilmiştir. Çözeltinin renginin turuncudan siyaha döndüğü gözlenmiştir. Son karışımın pH'sı 11 olarak ayarlanmıştır. Nanopartikül kristallerinin tamamen oluşmasını sağlamak için reaksiyon sabit mekanik karıştırma altında 30 dakika boyunca 60°C' de gerçekleştirilmiştir. Sistem oda sıcaklığında soğutulduktan sonra çöken madde güçlü bir mıknatıs yardımıyla manyetik alanda ayrılmış ve süpernatant kısmı dekantasyon yöntemi ile çökelekten uzaklaştırılmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> nanokompoziti içindeki yabancı maddeler (reaksiyona girmeyen kimyasallar ve amonyak gibi) ultra saf su ile yıkanarak uzaklaştırılmış ve çökelek mıknatıs yardımıyla izole edilmiştir. Elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> nanokompoziti 10 mL saf etil alkol ile üç kez yıkanmıştır. Daha sonra, elde edilen ürün, vakum altında kurutularak yaklaşık 5 g Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> elde edilmiştir.

## 2.5 KROMATOĞRAFİK ANALİZ

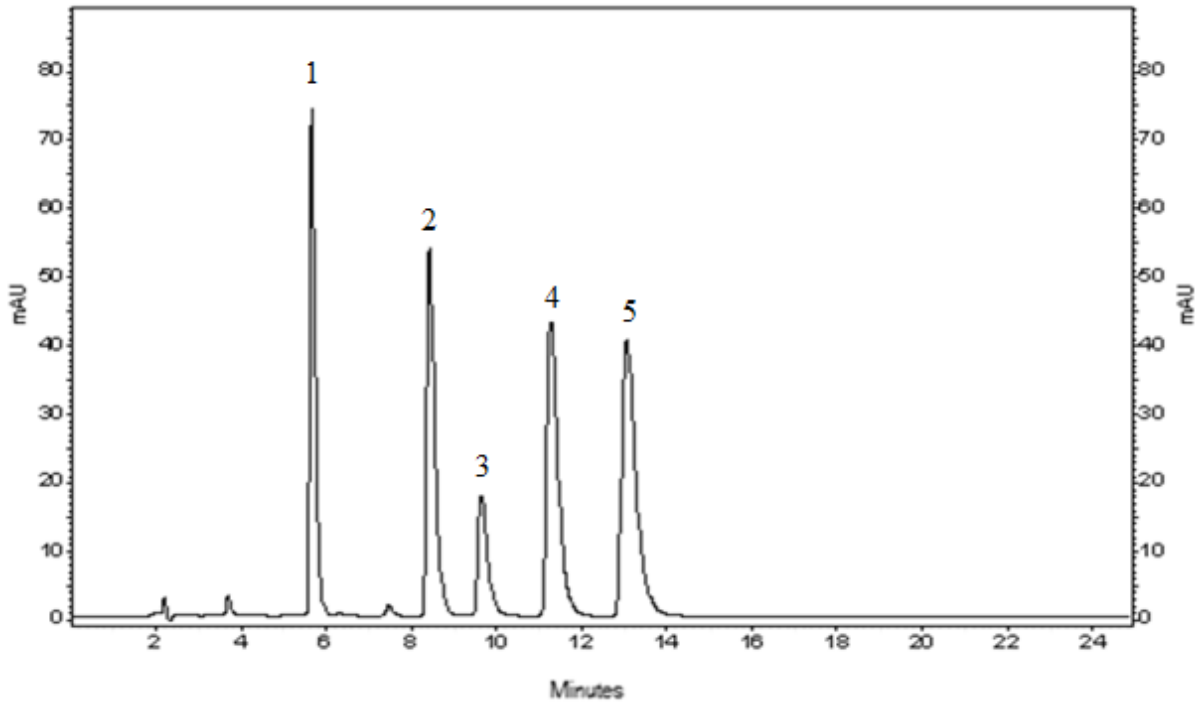
Antidepresan ilaçların kromatografik analizleri UV dedektörlü yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC-UV) ile yapılmıştır. Yaptığımız çalışmada kullanılan HPLC-UV sistemi ile ilgili özellikler ve analiz koşulları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 HPLC sistemi ile ilgili özellikler ve analiz koşulları.

Sistem Parametreleri	Sistem Model ve Özellikleri
Pompa sistemi	Thermo Finnigan P1000
Enjeksiyon sistemi	Thermo Finnigan AS 3000 Autosampler
Degazör	Thermo Finnigan SCM 1000
Dedektör	Thermo Finnigan UV1000
Kontrol sistemi	Thermo Finnigan SN 4000
Yazılım	ChromQuest
Kolon	Phenomenex Max-RP, 250x4,6 mm, 4µm
Hareketli faz	Asetonitril ve Su
Akış hızı	1 mL/dk
Basınç	1500-3000 psi
Sıcaklık	Ortam sıcaklığı
Enjeksiyon miktarı	20 µL
Dalga boyu	222 nm

### 2.5.1 Kromatografik Analiz Şartları

Hareketli fazı oluşturan çözücü bileşimi, analiz süresince çözücü bileşiminin kademeli değişimi, dalga boyu ve akış hızı gibi parametreler ile ilgili deneysel çalışmalar yapılmış ve en uygun kromatografik analiz şartları belirlenmiştir. Bu çalışmalarda antidepresan stok çözeltilerinden seyreltmeyle hazırlanan karışım (20 µg/mL) kullanılmış ve karışımı oluşturan antidepresanların en iyi şekilde birbirlerinden ayrılmaları ve hassasiyetin artırılması hedeflenmiştir. Yapılan LC-UV analizleri sonucu en uygun dalga boyunun 222 nm olduğu belirlenmiş olup tüm çalışma boyunca aynı dalga boyu kullanılmıştır. Belirlenen analiz şartlarında, antidepresan karışımının (20 µg/mL) analizinden elde edilen LC-UV kromatogramı Şekil 2.6’da verilmiştir. Belirlenen hareketli faz bileşiminin zamanla değişimi ve akış hızları Çizelge 2.2’de gösterilmiştir.



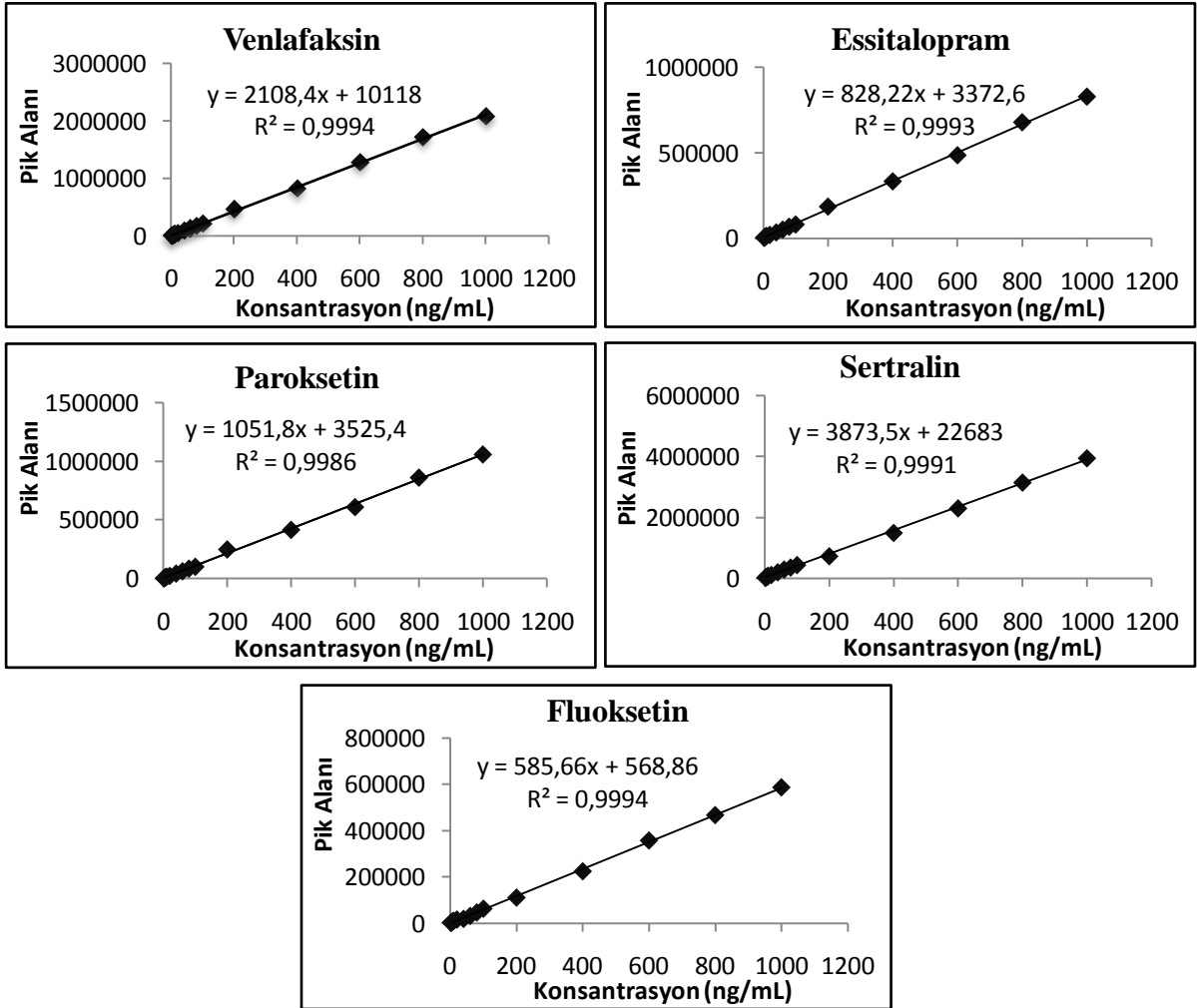
Şekil 2.6 Antidepresan karışımının (20 µg/mL) analizinden elde edilen LC-UV kromatogramı. (1).Venlafaksin, (2).Essitalopram, (3).Paroksetin, (4).Sertralin, (5).Fluoksetin.

Çizelge 2.2 Hareketli faz bileşiminin zamanla kademeli değişimi.

Zaman (dk)	Asetonitril (%)	Su (pH: 5; 40 mmol/L NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) (%)	Akış hızı (mL/dk)
0	45	55	1
10	45	55	1
20	100	0	1

## 2.6 KROMATOGRFİK SİSTEMİN KALİBRASYONU

Antidepresan kalibrasyon karışımından seyreltmeyle hazırlanan değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerin LC-UV ile analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarından, her bir bileşiğe ait pik alanı değerleri konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri hazırlanmıştır. Kalibrasyon grafikleri her bir madde için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Hazırlanan kalibrasyon grafikleri Şekil 2.7’de verilmiştir. Yapılan kalibrasyon işlemlerine ait denklemler ve belirleme katsayıları ( $R^2$ ) Çizelge 2.3’te verilmiştir. Bununla birlikte, her bir madde için sinyal/gürültü (S/N) oranı 3 alınmış ve antidepresanların algılama limitleri (LOD) hesaplanmıştır. LOD değerlerinin hesaplanmasında, konsantrasyonu 100 ng/mL olan standart antidepresan çözeltilerinin analizinden elde edilen sinyal/gürültü oranları kullanılmıştır. Örneğin, standart antidepresan çözeltilerinin (100 ng/mL) analizinden, venlafaksin için S/N oranı 152 olarak bulunmuştur. Venlafaksin için LOD değeri, venlafaksin konsantrasyonunun 3 ile çarpılıp S/N değerine bölünmesiyle hesaplanmıştır (100 ng/mL x 3/152=1,97 ng/mL). Antidepresanlar için hesaplanan LOD değerleri Çizelge 2.3’te verilmiştir.



Şekil 2.7 Antidepresanların kromatografik analizleri.



Çizelge 2.3 Kalibrasyon işlemlerine ait denklemler, R<sup>2</sup> ve LOD değerleri (y: pik alanı, x: konsantrasyon).

Antidepresanlar	Lineer Aralık (ng/mL)	Kalibrasyon Denklemi	R <sup>2</sup>	LOD (ng/mL)
Venlafaksin	10-1000	y = 2108,4x + 10118	0.9994	1.97
Essitalopram	10-1000	y = 828,22x + 3372,6	0.9993	2.83
Paroksetin	10-1000	y = 1051,8x + 3525,4	0.9986	5.17
Sertralin	10-1000	y = 3873,5x + 22683	0.9991	1.83
Fluoksetin	10-1000	y = 585,66x + 568,86	0.9994	1.73

## 2.7 KROMATOĞRAFİK SİSTEMİN TEKRARLANABİLİRLİĞİ

Kromatografik sistemin tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla, her bir antidepresan 50 ng/mL konsantrasyonda gün içi ve günler arası analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen pik alanı değerleri kullanılarak kromatografik sistemin tekrarlanabilirliği % bağlı standart sapma (RSD) olarak hesaplanmıştır. RSD değerlerinin hesaplanmasında Eşitlik 2.1 kullanılmıştır. Antidepresan analizleri için kromatografik sistemin hesaplanan gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik sonuçları Çizelge 2.4' te verilmiştir.

$$RSD (\%) = \frac{SD}{X} 100 \quad (2.1)$$

RSD = Bağlı standart sapma (%)

SD = Standart sapma

X = Ortalama pik alanı

Çizelge 2.4 Antidepresan analizleri için kromatografik sistemin tekrarlanabilirliği.

Antidepresanlar	Tekrarlanabilirlik RSD (%)	
	Gün içi (n=5)	Günler arası (n=5)
Venlafaksin	3.79	4.17
Essitalopram	2.08	2.39
Paroksetin	3.32	2.41
Sertralin	4.90	2.23
Fluoksetin	2.97	2.40

(n: analiz sayısı)

Elde edilen sonuçlara göre antidepresan analizleri için gün içi tekrarlanabilirlik değerleri % 2.1 (Essitalopram) ile % 4.9 (Sertralin), günler arası tekrarlanabilirlik değerleri ise % 2.2 (Sertralin) ile % 4.2 (Venlafaksin) arasında değişim göstermiştir.

## 2.8 HAZIRLANAN MANYETİK NANOKOMPOZİTİN KARAKTERİZASYONU

Sentezlenen  $Fe_3O_4$  nanopartikülü ve  $Fe_3O_4$ - $MgSiO_3$  manyetik nanokompozitin FT-IR analizi Perkin Elmer Spectrum 100 model FT-IR spektrometre cihazı; XRD ölçümleri, Cu-K $\alpha$  (60 mA, 40 kV) radyasyonunda çalışılan PANalytical Empirical X-ışını difraktometresi ile gerçekleştirilmiştir. Söz konusu maddelerin SEM analizleri ise FEI Quanta 450 Environmental taramalı elektron mikroskobu (yüksek çözünürlüklü FE-ESEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 2.8.1 Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR)

IR spektroskopisi, görünür bölge ile mikrodalga bölgesi arasında kalan enerjinin moleküller veya kimyasal gruplar tarafından soğurulmasının ölçümüne dayanan bir yöntemdir (Tarımcı 2002, Acar 2012). IR bölgesine karşılık gelen elektromanyetik ışının enerjisi, bileşiklerin atomları arasında bağ uzunluklarının ve konumlarının değişmelerine (titreşim) ve olası dönmelere neden olmaktadır. IR bölgesindeki ışının enerjisi ile bileşikteki bağların titreşim veya dönme hareketi yapabilmesi için, bileşikteki bağların dipol momentinde bir değişme meydana gelmesi gerekmektedir. Diğer bir deyişle, bileşiklerin infrared bölgesinde aktif olabilmesi için polar bağlara sahip olmaları gerekir. Bileşiği oluşturan atomların kütlelerinin

farklılığı, bağların gücü ve bileşiğin geometrisi, bağların polar olmasına yani dipol momentinin farklı olmasına neden olan etkilerdir. IR bölgesi; 0,80  $\mu\text{m}$  - 2,50  $\mu\text{m}$ → Yakın infrared (IR) bölgesi; 2,50  $\mu\text{m}$  - 25  $\mu\text{m}$ → Infrared (IR) bölgesi (Orta infrared (IR) bölgesi) ve 25  $\mu\text{m}$  - 1000  $\mu\text{m}$ → Uzak infrared (IR) bölgesi olmak üzere üç bölgeye ayrılır. Bu bölgelerden, en çok infrared bölgesine (Orta infrared bölgesi) karşılık gelen 4000  $\text{cm}^{-1}$  ile 400  $\text{cm}^{-1}$  frekans ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) aralığı bölgesi kullanılır. Uzak infrared bölgesi de koordinasyon bileşikleri ile ilgili yapılarının aydınlatılması için kullanılır (Ersöz 2010).

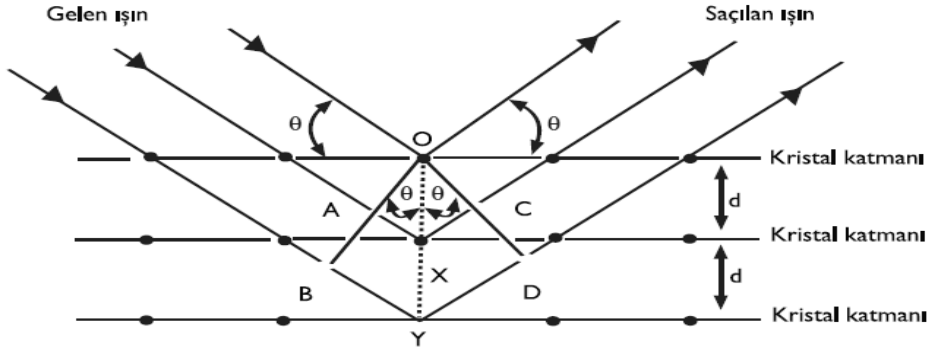
Moleküldeki bağ elektronları, titreşme ve dönme enerji seviyelerinin enerji absorplayarak uyarılması sonucu moleküler titreşim hareketi yapar. Moleküler titreşim hareketi; gerilme titreşimi ve eğilme titreşimi olmak üzere iki türdür (Ersöz 2010).

1. *Gerilme (stretching) titreşimleri*: Bir gerilme titreşimi iki atom arasındaki uzaklığın, atomların bağ eksenini boyunca sürekli olarak değişmesiyle ilişkilidir. Kendi içinde asimetrik gerilme ve simetrik gerilme olmak üzere ikiye ayrılır.
2. *Eğilme (bending) titreşimleri*: Eğilme titreşimleri iki bağ arasındaki açının değişmesi ile tanımlanır ve makaslama (scissoring), sallanma (rocking), burulma (twisting) ve dalgalanma (wagging) olmak üzere dört tiptir.

### 2.8.2 X-ışını Kırınımı Yöntemi (XRD, X-Ray Diffraction)

Kristal malzemelerin karakterizasyonunda kullanılan yöntemlerden biri X-ışını kırınımı yöntemidir. Bu yöntem, malzemenin kristal yapıda olup olmadığı, kristal yönelimleri, ortalama tanecik boyutları, kristal kusurları gibi özellikleri hakkında bilgi verir. X-ışınları elektromanyetik diyagramın 0.02 Å ile 100 Å ( $1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$ ) arasındaki dalga boyuna karşılık gelir (Yalçın 2005, Acar 2012). X-ışını kırınımı, özet olarak bir kristal düzlemine gönderilen X-ışınlarının kristalin atom düzlemlerine çarpılarak yansımaları olayıdır. Fakat buradaki yansıma ışığın bir ayna düzleminden yansımaları olarak anlaşılmalıdır. Kırınım olayında gelen X-ışınları kristal yüzeyinin altındaki atom düzlemlerine ulaşır, yani kırınım yüzeyde gerçekleşmez. Kırınımına uğrayan X-ışınlarının aynı fazda olması durumunda difraksiyon diyagramı oluşur. Difraksiyon diyagramı elde edebilmek için; X-ışınlarının atom düzlemlerine çarpma açısı ( $\theta$ ), atom düzlemleri arasındaki uzaklık ( $d$ ) ve gelen X-ışınlarının dalga boyu ( $\lambda$ ) arasında belirli bir bağıntının bulunması gerekir. Bir X-ışını demetinin

birbirine paralel atom düzlemlerine ( $\theta$ ) açısı altında çarpması durumunda kırınım meydana gelir. X- ışınlarının kristal yapıda kırınımı Şekil 2.8’ de gösterilmiştir (Acar 2012).



Şekil 2.8 X-ışınlarının kristal yapıda kırınımı (Ersöz 2010).

Kristal yüzeyine  $\theta$  açısı ile gelen ışın demetinin girişim yapma şartı,

$$n\lambda=2d\sin\theta$$

eşitliği ile gösterilir ve bu eşitlik Bragg denklemi olarak bilinir (Ersöz 2010).

### 2.8.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

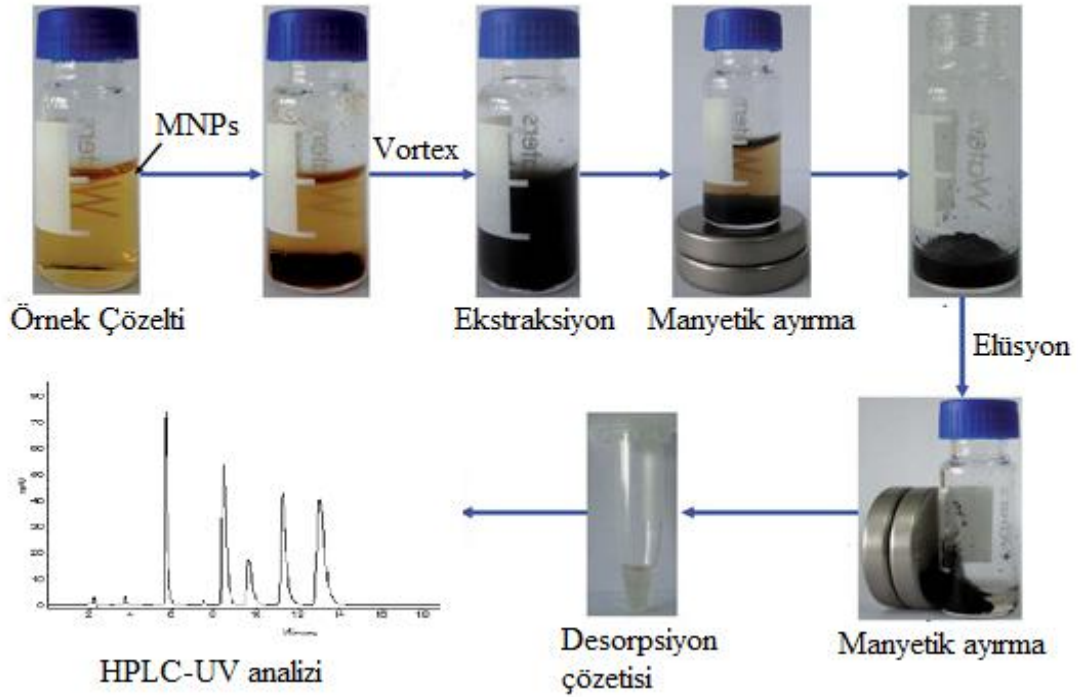
Taramalı elektron mikroskobu, katı örneklerin mikro yapılarının karakterizasyonu ve analizlerinin yapılması amacı ile yaygın olarak kullanılan elektron mikroskobudur (Acar 2012). SEM’ de görüntü, bir elektron demeti tarafından yüzeyin taranması ile oluşturulur. Yöntem, elektron demetindeki elektronların örnek yüzeyindeki atomlar ile yaptığı fiziksel etkileşimler sonucu ortaya çıkan sinyallerin görüntüye dönüştürülmesi temeline dayanır. Bu sinyallerin kaynağı, ikincil elektronlar (secondary electrons), geri saçılmış elektronlar (backscattered electrons), Auger elektronları ve X-ışınları fotonlarıdır. Yüksek gerilim altında hızlandırılan elektron demetindeki elektronların örnek yüzeyindeki atomlar ile çarpışması esnek olabileceği gibi esnek olmayan çarpışmalar da söz konusudur. Esnek çarpışma sonucunda, demetteki elektronların enerjileri önemli ölçüde değişmezken, esnek olmayan çarpışmada elektronlar enerjilerini kısmen veya bazen tamamen örneğe aktarabilirler. Esnek olmayan çarpışma sonucu örneğe ait karakteristik X-ışınları ve Auger elektronları ile birlikte, örnek atomlarının dış yörüngelerindeki elektronların fırlatılmasıyla ikincil elektronlar oluşur. İkincil elektronlar düşük enerjilidirler (<50 eV) ve örnek yüzeyinin en fazla 10 nm derinliğinden gelebilirler. Diğer yandan daha yüksek enerjili geri saçılmış elektronlar ikincil

elektronlara göre örnek yüzeyinin daha derin bölgelerinden fırlatılırlar ve bu elektronlardan elde edilen görüntünün çözünürlüğü düşük olur. Bu nedenle geri saçılmış elektronlar yaklaşık 2000 büyütme kadar olan yüzey analizlerinde kullanılırlar (Ersöz 2010).

SEM ile en kolay incelenebilecek örnekler elektriksel olarak iletken olanlardır. Yüzeyinde biriken elektronların toprağa akışının hızlı ve sürekli olması nedeniyle iletken örnekler için görüntüler hatasızdır. Bu tür örnekler, genellikle ısıyı da iyi iletirler ve analiz sırasında ısıl olarak bozunma olasılıkları düşüktür. Diğer yandan polimerik malzemeler gibi çoğunlukla iletken olmayan örnekler analiz öncesinde mutlaka iletken bir metal film ile kaplanmalıdır. Kaplama tabakasının kalınlığı, örneğin detay kıvrımlarını kapatmayacak kadar ince olmalıdır (Ersöz 2010).

## **2.9 ÖRNEKLERİN EKSTRAKSİYON İŞLEMİ**

Antidepresanların ekstraksiyon işleminde manyetik katı faz ekstraksiyon (MSPE) tekniği kullanılmıştır. Manyetik katı faz ekstraksiyon işlemi Şekil 2.9'da gösterilmiştir. İlk olarak, 5'er mL (her bir ilaç 100 ng/mL) antidepresan ilaç içeren sulu çözelti 10 mL'lik cam test tüpüne alınmış ve bu tüplere 12.5 mg  $Fe_3O_4$ - $MgSiO_3$  nanokompoziti eklenmiştir. 1M  $Na_2HPO_4$ 'ün damla damla ilave edilmesiyle sulu fazın pH değeri 7.4'e ayarlanmıştır. Karışım oda sıcaklığında 2 dk. süreyle vortekste karıştırılmıştır. Daha sonra,  $Fe_3O_4$ - $MgSiO_3$  adsorbenti güçlü bir mıknatıs yardımıyla solüsyondan izole edilmiştir. Supernatan kısım atılarak 1.3 mL hafif asidik metanol (pH: 4.5) içeren çözelti elüent olarak ilave edilmiş ve elüsyon 2 dk boyunca vortekste karıştırılmasıyla tamamlanmıştır. Son olarak  $Fe_3O_4$ - $MgSiO_3$  mıknatıs yardımıyla tekrar çöktürülmüş ve desorpsiyon çözeltisi 2 mL'lik mikro santrifüj tüpüne alınmıştır. Ardından 20  $\mu$ L'lik kısmın kromatografik analizi için LC sistemine enjekte edilmiştir.

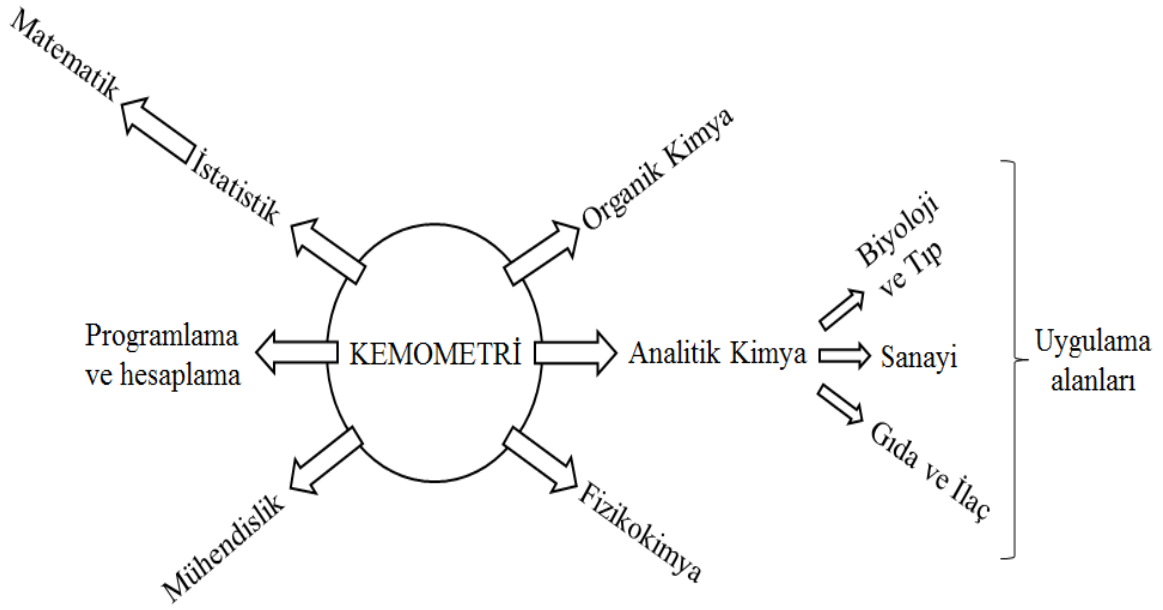


Şekil 2.9 Biyolojik örneklerden antidepresanların ekstraksiyonu.

## 2.10 KEMOMETRİK OPTİMİZASYON YAKLAŞIMI

Günümüzde bilgisayar, istatistik, yazılım ve uygulamalı matematik alanlarındaki gelişmeler özellikle analitik kimyada olmak üzere kimya alanında kompleks sistemlerin çözümü için kemometri olarak adlandırılan yeni bir disiplinin doğuşuna neden olmuştur. Kemometri kavramı, 1972 yılında Svante Wold ve Bruce R. Kowalski tarafından ileri sürülmüş ve 1974 yılında kemometri bir kimya disiplini olarak ilan edilmiştir. Kemometrik yöntemler kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilgi veya saklı bilgileri açığa çıkarabilmesi, analiz işlemlerinde istenmeyen etkileri minimize edebilmesi veya ortadan kaldırabilmesi, bütün analitik cihazlardan elde edilen çok değişkenli ve çok boyutlu analitik verilere uygulanabilmesi, klasik yaklaşımla hesaplanması mümkün olmayan veya uzun zaman alan analiz işlemlerinin doğru ve hızlı bir şekilde yapabilmesi, analiz işlemlerinde klasik yöntemlere göre daha doğru, daha kesin ve daha güvenilir sonuçlar vermesi ve bir yöntemin uygulanmasında optimal deneysel analiz koşullarını saptayabilmesi açısından tercih edilmektedir (Dinç 2007).

Tanımlayıcı ve açıklayıcı istatistik (descriptive and inference statistics), sinyal işleme (signal processing), deneysel tasarım (experimental design), modelleme (modeling), kalibrasyon (calibration), optimizasyon (optimization), yapı tanıma (pattern recognition), sınıflandırma (classification), yapay akıl yöntemleri (Artificial intelligence methods), resim işleme (image processing), bilgi ve sistem kuramı (information and system theory) gibi kavram ve uygulamalar kemometrinin konularını oluşturmaktadır. Kemometrik yöntemlerin en büyük kullanıcısı analitik kimyacılar olmakla birlikte, laboratuvar ve analiz çalışması yapan diğer branşlarda da kullanıldığı gözlenmektedir. Kemometrinin farklı disiplinler ile ilişkisi Şekil 2.10'da gösterilmektedir (Dinç 2007).



Şekil 2.10 Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler (Dinç 2007).

Kemometri; analitik kimya, adli tıp, biyoloji, gıda kimyası, çevre kimyası, arkeoloji gibi alanlarda kullanılmaktadır. Analitik çalışmalarda kemometrik yöntemlerin uygulamaları inorganik analiz, organik analiz, ilaç analizleri, klinik ve biyolojik numunelerin analizi, gıda ve su analizleri, çevre analizleri ve stabilite tayinleri, çözünme hızı testleri şeklinde sıralanabilir. Biyolojik sıvılar, çok kompleks ve düşük konsantrasyon seviyesinde bileşikler ile karakterize edilirler. Genellikle biyolojik sıvıların doğrudan spektrofotometrik analizinde duyarlılık ve seçicilik, klinik amaçlar için düşüktür. Spektral olarak kemometrik yöntemlerin biyolojik sıvıların analizinde kullanımında ekstraksiyon, zenginleştirme, sıvı veya katı faz ekstraksiyonu gibi ön işlemler gereklidir. Bütün bu güçlüklerle rağmen spektral olarak kemometrik yöntemler ile biyolojik sıvıların analizi çalışmaları vardır. Biyolojik sıvıların analizinde HPLC-kemometrik uygulamalarına ait çalışmalarda gözlenmektedir (Dinç 2007).

Geleneksel analitik çalışmalarda, tek değişkenli ve zamanlı optimizasyonlar uzun zaman ve çok sayıda deney gerektirir ve üstelik deneysel çalışmalarda olası faktör etkileşimleri dikkate alınmaz. Bu nedenle, faktör etkileşimleri ile birlikte tüm faktörlerin etkileri göz önüne alındığında deneysel tasarım ve optimizasyon, sağlam bir analitik metot ya da kimyasal işlemin kurulumunun yanı sıra daha iyi deney koşullarının belirlenmesine imkan tanımaktadır (Dinç vd. 2010). Bu tez çalışmasında deney şartlarının optimize edilmesi için kemometrik metot validasyonu yöntemi kullanılmıştır. Biyolojik numunelerde antidepresanların analizi için LC-UV yöntemi uygulanmadan önce ekstraksiyon koşullarının belirlenmesinde merkezi kompozit dizayn (CCD) yöntemine dayalı deneysel tasarım ve optimizasyon yöntemleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiş ve bu değerler kullanılarak metodun validasyonu yapılmıştır. Tüm deneysel çalışmalarda gerçek örnekler kullanılmıştır.

Kemometrik uygulamaların çoğu kompleks hesaplamalar içermektedir. Bu hesaplamaları elle veya basit hesap makinalarıyla gerçekleştirmek mümkün olmadığı için bilgisayar ve yazılımlara ihtiyaç vardır. Kemometrik hesaplamalarda genellikle EXCEL, MATLAB ve amaca göre diğer basit m-file algoritmalar yazmak veya paket programlar kullanmak gereklidir (Dinç 2007). Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında kemometrik hesaplamalar için STATISTICA programı kullanılmıştır.





## BÖLÜM 3

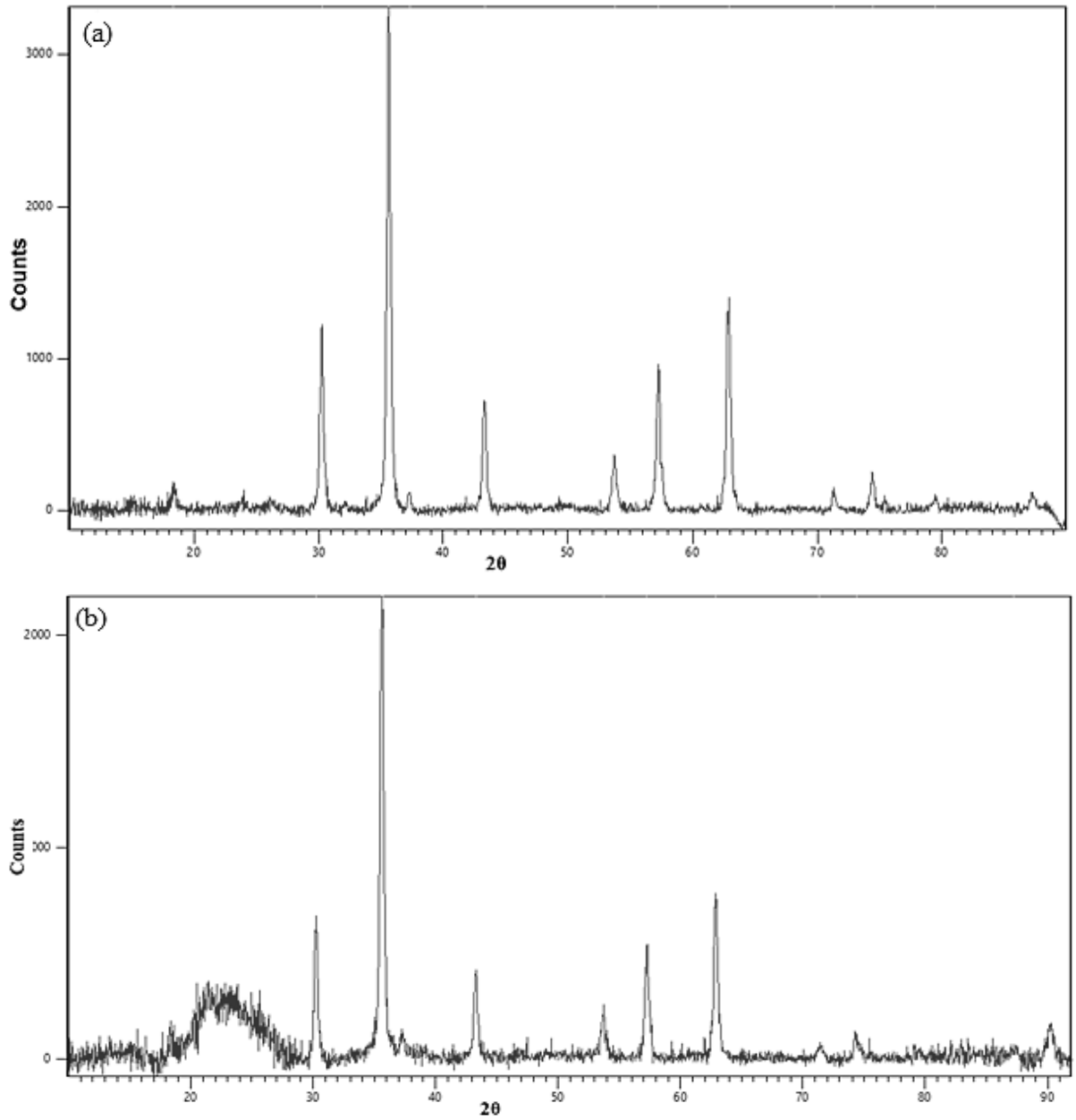
### SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRMELER

#### 3.1 MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN KARAKTERİZASYONU

X-ışını kırınımı ölçümleri, Cu-K $\alpha$  radyasyonunda çalışılan PANalytical Emperial X-ışını difraktometresi ile gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler, sentezlenen manyetik nanokompozit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub>) ve standart Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>'ün yapısını aydınlatmak için yapılmıştır. Standart Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub>'e ait XRD diyagramları Şekil 3.1'de verilmiştir. Deneysel olarak elde edilen grafikler standart Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ile Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> nanokompozitinin karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub>'ün XRD analizinden elde edilen Bragg kırınım açısı (2 $\theta$ ), atomik kafes uzaklığı (d) ve *hkl* miller indeks değerlerine ait teorik ve deneysel veriler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub>'ün XRD verileri.

<i>hkl</i>	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>				Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -MgSiO <sub>3</sub>	
	d (deneysel)	d (teorik)	2 $\theta$ (deneysel)	2 $\theta$ (teorik)	d	2 $\theta$
111	4.84	4.82	18.31	18.40	-	-
220	2.95	2.95	30.25	30.27	2.95	30.24
311	2.52	2.52	35.62	35.66	2.52	35.61
222	2.41	2.40	37.27	37.30	-	-
400	2.09	2.09	43.30	43.34	2.09	43.29
442	1.70	1.70	53.78	53.78	1.70	53.69
511	1.61	1.61	57.26	57.33	1.61	57.27
440	1.48	1.48	62.88	62.96	1.48	62.89
620	1.32	1.32	71.34	71.45	1.32	71.36
533	1.27	1.27	74.43	74.51	1.27	74.40
444	1.21	1.20	79.44	79.52	-	-



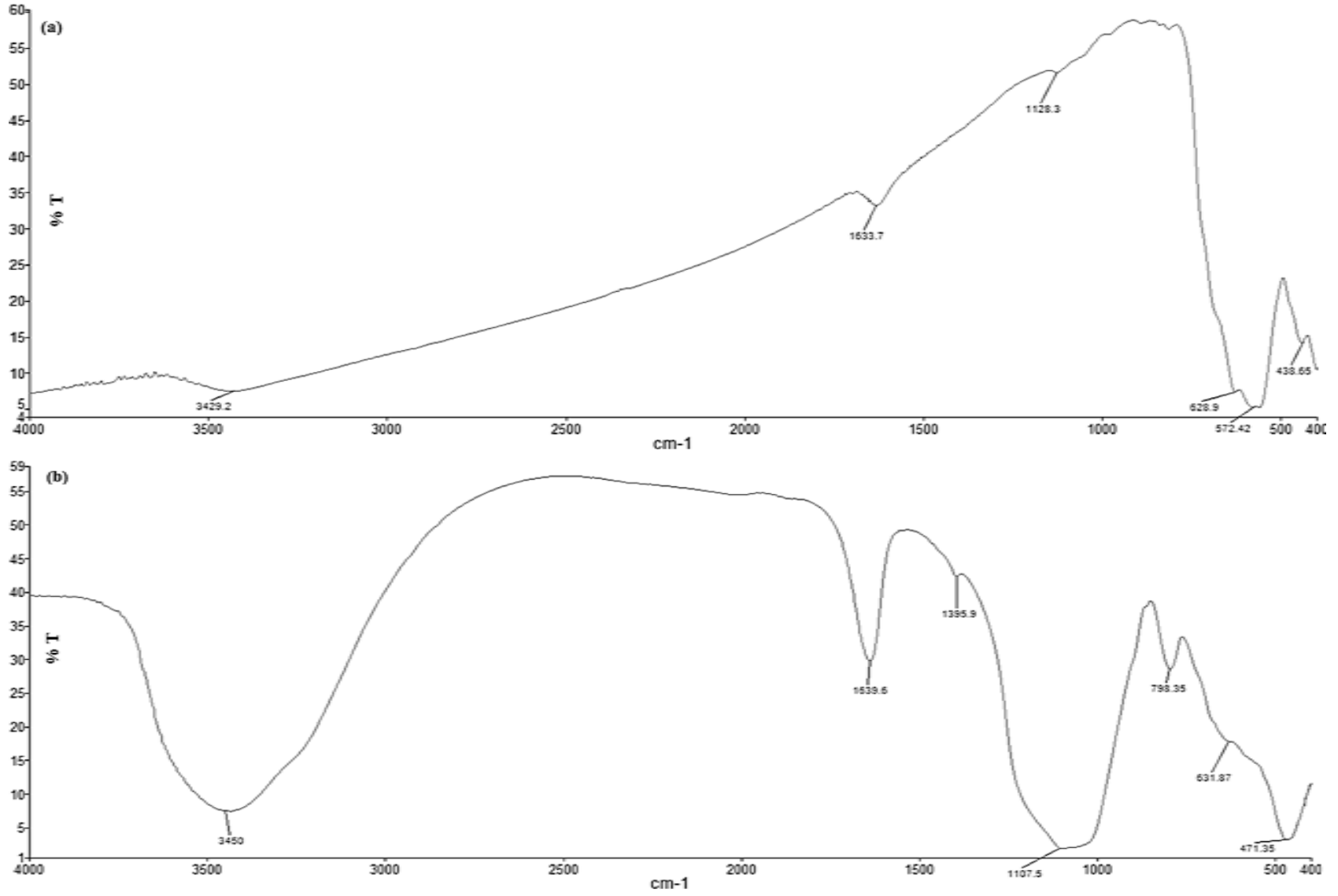
Şekil 3.1 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül (a) ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> manyetik nanokompozite (b) ait XRD diyagramları.

XRD analizlerine göre Şekil 3.1a, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>' ün 111, 220, 311, 222, 400, 422, 511, 440, 620, 533 ve 444 seviyelerine karşılık gelen 2θ değerlerindeki (18.4°, 30.27°, 35.66°, 37.3°, 43.34°, 53.78°, 57.33°, 62.96°, 71.45°, 74.51° ve 79.52°) manyetik nanopartiküllerin karakteristik piklerini göstermektedir. Bu durum, oluşan partiküllerin saf Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> olduğunu göstermektedir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> nanokompozitinin XRD analizinden elde edilen sonuçlar, oluşan parçacıklar ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin benzer altı karakteristik pike sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 3.1b). Çizelge 3.1'den görüldüğü gibi tüm 2θ değerleri ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ile MgSiO<sub>3</sub>'e karşılık gelen atomik

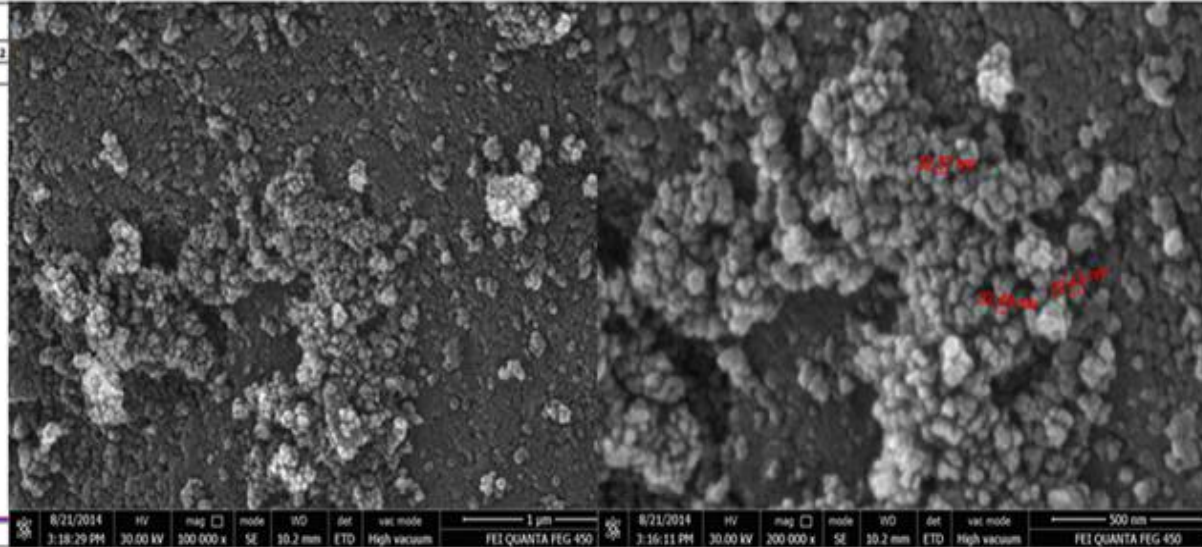
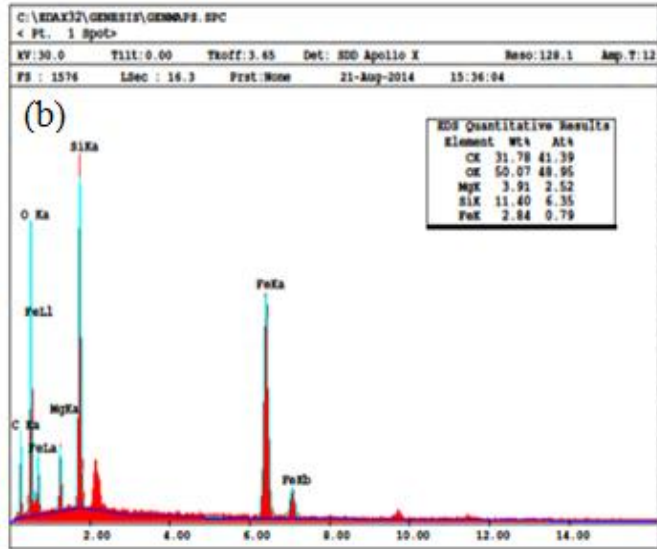
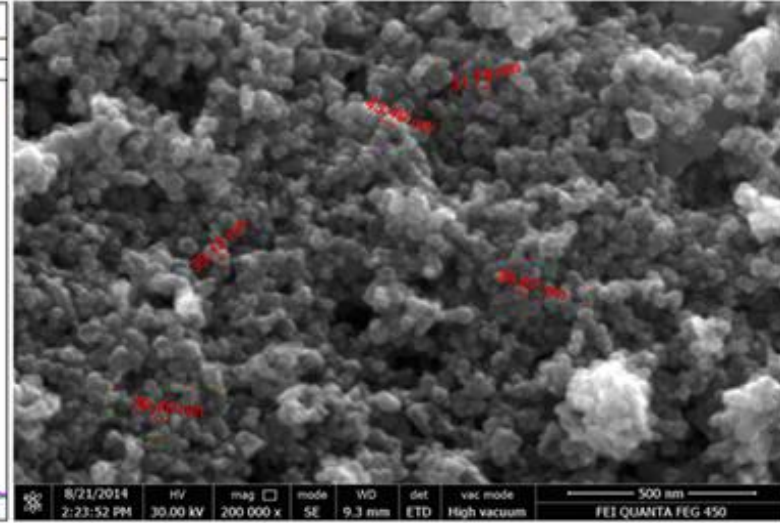
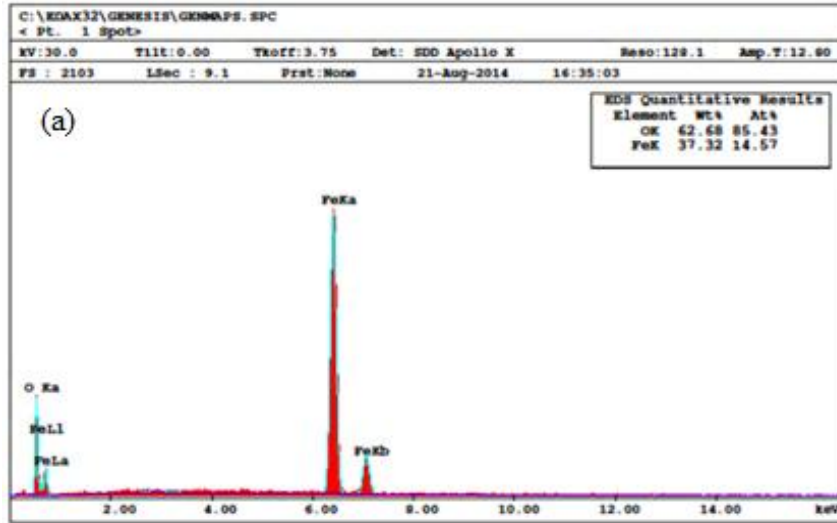
kafes uzaklık değerleri  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  manyetik nanokompozitinin oluştuğunu kanıtlamaktadır.  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  manyetik nanokompozitine ait XRD pikleri Zhou et al. (2012) yaptıkları çalışmada belirtilen değerler ile benzerlik göstermektedir. Şekil 3.1b’de görüldüğü gibi standart  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerin XRD diyagramı ile  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  nanokompozitinin XRD diyagramı arasındaki tek fark, amorf yapıdaki  $\text{MgSiO}_3$  parçacıklarının oluşturduğu kırınım pikleridir. XRD diyagramları  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  nanokompozitinin yaklaşık  $23^\circ$  deki  $2\theta$  değerinde yayvan bir pike sahip olduğunu ve diğer tüm kırınım piklerinin  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ’n ortorombik kristal fazına kolayca endekslenebileceğini göstermektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$ ’e ait FT-IR görüntüleri Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Şekil 3.2a ve 3.2b’de sırasıyla  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartikülleri ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  nanokompozitinin FT-IR spektrumlarının karşılaştırılması gösterilmektedir. Yaklaşık  $566\text{ cm}^{-1}$  deki titreşim bandı (Fe-O) rg titreşimi ile ilgilidir.  $1400\text{ cm}^{-1}$  ve  $1636\text{ cm}^{-1}$  deki titreşim bantları ise sırasıyla artık amonyak ve hidrat suyundan kaynaklanmaktadır.  $1107\text{ cm}^{-1}$ ’deki güçlü adsorpsiyon bandı Si-O-Si gerilme titreşimi ile ilişkili olup spektrumda yer alan geniş pik,  $\text{MgSiO}_3$ ’n dış tabakası ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  yüzeyindeki kısmi pozitif yük ile  $\text{H}_2\text{O}$ ’nun hidroksil grupları arasındaki Van der Waals etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır.  $798\text{ cm}^{-1}$ ’deki zayıf adsorpsiyon bandı (Si-OH) gerilme titreşimine karşılık gelmektedir. FT-IR spektrumu,  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  nanokompozitindeki silikat tabakaları ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartikülleri arasındaki bağ yapmamış kimyasal etkileşimleri ve bu silikat tabakalarının sertliğini göstermektedir.

Standart  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  nanokompozitin SEM görüntüleri, Şekil 3.3a ve 3.3b’de gösterilmektedir.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ’n SEM görüntüsü,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerinin tahmini olarak ortalama 39 nm çapında kre biçiminde morfoloji sergilediğini göstermektedir (Şekil 3.3a). Elde edilen  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgSiO}_3$  manyetik nanokompozitinin SEM görüntüsü (Şekil 3.3b) ise  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin amorf gri renkteki  $\text{MgSiO}_3$  kabuğunun yüzeyini başarılı bir Şekilde kapladığını göstermektedir. Sonuçlara göre,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerinin  $\text{MgSiO}_3$  tabakası üzerinde iyi bir Şekilde dağıldığı görülmektedir. Ayrıca Şekil 3.3a’da gösterilen EDX spektrumu, oksijen ve demirin yüzde ağırlıklarının sırasıyla 62.8 ve 37.2 olarak bulunduğunu göstermektedir. Şekil 3.3b’de % 50.07, % 31.78, % 11.40, % 3.91 ve % 2.84 oranlarında sırasıyla O, C, Si, Mg ve Fe elementleri belirlenmiştir. Karbonun numune tutucuyu çevreleyen yapışkan bantlardan kaynaklandığı görülmektedir.



Şekil 3.2 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül (a) ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> manyetik nanokompozite (b) ait FT-IR spektrumları.



Şekil 3.3 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülü (a) ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MgSiO<sub>3</sub> manyetik nanokompozitinin (b) EDX ile birlikte SEM görüntüsü.

### **3.2 DENEYSEL DİZAYN VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Bütün parametrelerin incelendiği bir araştırmada çok fazla sayıda deneysel çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Çok sayıda parametrenin sonuç üzerine etkili olduğu sistemler için, parametrelerin birbiri üzerine etkilerini ortaya koymak üzere çeşitli istatistiksel yöntemler geliştirilmiştir. İstatistiksel temele dayanan kullanılabilir yöntemlerin başında “response surface methodology” (RSM) gelmektedir. RSM, kompleks etkileşimlerin varlığında proses geliştirilmesinde, iyileştirilmesinde ve optimizasyonunda kullanılan istatistiksel ve matematiksel yöntemlerin bir kombinasyonudur. RSM ilk olarak 1951 yılında Box ve Wilson tarafından tanımlanmış ve geliştirilmiştir (Turan ve Altundoğan 2011). RSM ile kimyasal kaybına neden olmadan oldukça az sayıda deneysel kombinasyon kullanılarak gerçekte test edilmeyen faktör değeri ve bunların kombinasyonları hakkında tahmin yapılabilir. RSM genellikle, tasarım ve denemelerin gerçekleştirilmesi, regresyon ile yüzey modelleme ve optimizasyon olmak üzere 3 ana basamaktan oluşur.

RSM’ nin temel amacı, optimum veya kabul edilebilir çalışma şartlarının ve bölgelerinin belirlenmesidir. Adsorpsiyon proseslerinin geliştirilmesinde istatistiksel deneysel tasarım kullanılması zaman ve tüm diğer giderlerde tasarruf, proses esnekliği ve daha güvenilir sonuçlar sağlamaktadır (Acar 2012). Deneysel çalışmaların tasarlanması ve optimizasyonunda kullanılan birçok tasarım yöntemi vardır. Bunlardan bazıları; full faktöriyel tasarım, fraksiyonel faktöriyel tasarım, merkezi kompozit dizayn (CCD), Box-Behnken tasarımı, Doehlert tasarımı vb. şeklinde sıralanabilir (Bezerra et al. 2008). Bunlar arasında en çok kullanılan tasarım çeşidi merkezi kompozit dizayn yöntemi olarak da bilinen CCD’ dir (Dinç 2007).

#### **3.2.1 Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design, CCD)**

Merkezi kompozit tasarım, grafik oluşturmayı sağlayan genişletilmiş merkez noktaları içeren deneysel tasarım metodudur. CCD, ardışık deneysel çalışmalar için uygun bir yöntem olup çok sayıda deney yapmaya gerek olmadan deneylerin uygunluğu hakkında yeterli miktarda bilgi sağlar. Bu tasarım şu özellikleri taşımaktadır (Acar 2012):

1. Yapılacak deney sayısı,  $N = 2^k + 2k + c_p$  eşitliği ile bulunur. Burada; k faktör sayısı,  $c_p$  ise merkezdeki tekrar sayısıdır.
2.  $\alpha$  değeri değişken sayısına bağlı olan bir değerdir ve  $\alpha = 2^{(k-p)/4}$  eşitliği ile bulunur.
3. Bütün etkenler beş seviyede çalışılır. ( $-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$ )

Çalışmanın optimizasyon basamağında, sentezlenen  $Fe_3O_4-MgSiO_3$  manyetik nanokompoziti kullanılarak izolasyon metodunun optimal koşullarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada üç bağımsız değişken (adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH' sı ve desorpsiyon çözücü hacmi) 5 ayrı seviyeye ( $-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$ ) ayarlanarak merkez noktada dokuz tekrar olmak üzere 24 deney yapılmıştır. Gerekli verilerin elde edilmesi için üç değişkenin her birinin değer aralıkları adsorbent miktarı için 8-20 mg, ekstraksiyon pH'sı için 5 ila 9 ve çözücü hacmi için 1-3 mL olarak seçilmiştir. Örneğin; 1 numaralı çalışmada, örnek çözüldüden 1 mL alınıp çözeltinin pH'sı 5'e ayarlanmıştır. Bu çözültiyeye 8 mg adsorbent ( $Fe_3O_4-MgSiO_3$ ) ilave edilerek 1 dk ekstrakte edilmiştir. Kuvvetli bir miknatıs yardımıyla katı kısımdan sıvı kısım dekantasyon ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra katı kısmın üzerine 1 mL hafif asidik metanol (pH: 4.5) ilave edilerek 3 dk. vortekte karıştırılmıştır. Böylelikle tekrar sıvı kısma alınan bileşiklerin kromatografik analizi LC-UV ile yapılmıştır. Çizelge 3.2'de deneysel tasarımda kullanılan merkezi kompozit tasarım faktörleri, değişkenlerin deneysel aralık ve düzeyleri (kodlanmış ve kodlanmamış) gösterilmiştir. Bu çalışmada optimizasyon için CCD'ye göre tasarlanan tüm deneyler Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 ve 3.3'ye göre yapılan deney tasarımı sonucunda elde edilen verilerle en küçük kareler yöntemi ile regresyon analizi yapılmıştır. Optimum deney koşullarının belirlenmesinde ve cevap yüzey grafiklerinin oluşturulmasında kullanılan genel denklem Eşitlik 3.1'de verilmiştir. Denklemden  $a_0$  kesişme terimini,  $a_i$  lineer etkileri,  $a_{ii}$  ikinci dereceden etkileri,  $a_{ij}$  ise incelenen parametreler arasındaki ikili etkileşimleri göstermektedir. Üç değişken beş seviyeli bu tasarımın sonucunda elde edilen polinomal denkleme göre, Eşitlik 3.2 cevap yüzey grafiklerinin elde edilmesini sağlamıştır.

$$y_i = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ii} X_{ii}^2 + \sum a_{ij} X_i X_j \quad (3.1)$$

$$y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{33} X_3^2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 + \varepsilon \quad (3.2)$$



Burada  $y$  bağımlı bir değişken (LC-UV metodunun uygulanmasıyla elde edilen ilgili bileşiğin pik alanı),  $b_0$  bir sabit;  $b_1$ ,  $b_2$  ve  $b_3$  lineer katsayıları;  $b_{11}$ ,  $b_{22}$  ve  $b_{33}$  kuadratik katsayıları;  $b_{12}$ ,  $b_{13}$  ve  $b_{23}$  etkileşim katsayılarını;  $X_1$ ,  $X_2$  ve  $X_3$  bağımsız değişkenlerin kodlanmış değerlerini ve  $\varepsilon$  deneysel hataları belirtmektedir.

Çizelge 3.2 Deneysel tasarımda kullanılan merkezi kompozit tasarım faktörleri, değişkenlerin deneysel aralık ve düzeyleri (kodlanmış ve kodlanmamış).

Faktörler/Seviyeler	Değişkenler	$-\alpha$	-1	0	1	$\alpha$
Adsorbent miktarı (mg)	$X_1$	4.0	8.0	14.0	20.0	24.0
pH	$X_2$	3.6	5.0	7.0	9.0	10.4
Çözücü hacmi (mL)	$X_3$	0.3	1.0	2.0	3.0	3.7

3 Dizayn noktası: merkez (0), kübik (-1, 1), aksiyal ( $-\alpha$ ,  $\alpha$ )

Çizelge 3.3 Üç bağımsız değişkenle CCD (Merkezi kompozit tasarım) modeline göre oluşturulan deney tasarımı.

Deney No.	Kodlanmış/Kodlanmamış Değişkenler						Venlafaksin		Essitalopram		Paroksetin		Sertralin		Fluoksetin	
	X <sub>1</sub>		X <sub>2</sub>		X <sub>3</sub>		Deneysel değerler	Öngörülen değerler	Deneysel değerler	Öngörülen değerler	Deneysel değerler	Öngörülen değerler	Deneysel değerler	Öngörülen değerler	Deneysel değerler	Öngörülen değerler
1	-1	8,0	-1	5,0	-1	1,0	176688	171575	144809	144096	167845	165311	86315	89629	157817	159610
2	-1	8,0	-1	5,0	1	3,0	87698	86813	73149	74857	71457	71843	89720	87718	76970	77036
3	-1	8,0	1	9,0	-1	1,0	219267	215372	151428	153967	205933	206560	218954	212773	199784	194162
4	-1	8,0	1	9,0	1	3,0	138587	134919	146135	143094	94206	95901	125830	126163	92078	85498
5	1	20,0	-1	5,0	-1	1,0	121591	115916	243112	246839	128901	128169	129927	127627	171949	171920
6	1	20,0	-1	5,0	1	3,0	75241	69794	111211	109358	90505	90841	90471	94685	99365	98379
7	1	20,0	1	9,0	-1	1,0	181015	172558	185163	184140	209185	209763	193852	193887	219316	212641
8	1	20,0	1	9,0	1	3,0	134974	130744	103628	105026	151746	155244	81527	76246	121412	113010
9	-1.682	3,9	0	7,0	0	2,0	217685	221245	159954	159991	204568	204929	194348	196097	191926	194890
10	1.682	24,1	0	7,0	0	2,0	161279	170932	215382	214376	225323	223599	185041	186074	221995	228377
11	0	14,0	-1.682	3,6	0	2,0	58687	64362	129969	128594	66180	68158	30668	27802	67511	63824
12	0	14,0	1.682	10,4	0	2,0	144908	152444	132845	133251	160341	157001	110201	115849	92148	105182
13	0	14,0	0	7,0	-1.682	0,3	171006	180261	209786	207423	167800	169490	180718	182822	223577	226654
14	0	14,0	0	7,0	1.682	3,7	69867	73825	81279	82673	48101	45048	81612	82291	67169	73438
15	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253420	253195	306623	306254	214887	214764	220287	226309	308729	308563
16	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253422	253195	306635	306254	214768	214764	229083	226309	308732	308563
17	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253421	253195	306646	306254	214121	214764	227498	226309	308726	308563
18	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253435	253195	306641	306254	214887	214764	216969	226309	308719	308563
19	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253426	253195	306626	306254	215769	214764	229083	226309	308735	308563
20	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253428	253195	306635	306254	214121	214764	227486	226309	308724	308563
21	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253420	253195	306249	306254	212882	214764	229083	226309	308711	308563
22	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253431	253195	306327	306254	213765	214764	227498	226309	308715	308563
23	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253419	253195	303631	306254	214121	214764	229083	226309	308716	308563
24	0	14,0	0	7,0	0	2,0	253427	253195	306357	306254	218089	214764	227492	226309	308723	308563

Uygulanan modelde her bir faktörün ve bunların etkileşimlerinin istatistiksel önemini ve modelin söz konusu maddelerin analizinde uygulanabilirliğini belirlemek için güven aralığı % 95 ( $p \leq 0.05$ ) olacak şekilde ANOVA (varyans analizi) testi yapılmış ve venlafaksin, essitalopram, paroksetin, sertralin ve fluoksetin için sonuçlar ayrı ayrı tablolar halinde verilmiştir.

Venlafaksin için yapılan istatistiksel test sonucunda belirleme katsayısı ve düzeltilmiş  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.996 ve 0.992 olarak bulunmuştur.  $R^2$  değerinin 0.996 olması, uygulanan modelin % 95 güven aralığı sınırları içerisinde yer aldığını göstermektedir. Venlafaksin için uygulanan CCD modelinin ANOVA test sonuçları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir. Modelin istatistiksel değerini belirlemek için ANOVA testi içerisindeki F ve  $p$ -değerlerine bakılmıştır.

Çizelge 3.4 Venlafaksinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları.

<b>Kaynak</b>	<b>SS<sup>a</sup></b>	<b>DF<sup>b</sup></b>	<b>MS<sup>c</sup></b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Model	2,61482E+08	9	3,59651E+07	80,26	0,000
X <sub>1</sub>	3,055750E+09	1	3,055750E+09	84,964	0,000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	6,613201E+09	1	6,613201E+09	183,878	0,000
X <sub>2</sub>	9,365289E+09	1	9,365289E+09	260,399	0,000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	4,251267E+10	1	4,251267E+10	1182,052	0,000
X <sub>3</sub>	1,367503E+10	1	1,367503E+10	380,230	0,000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	3,227155E+10	1	3,227155E+10	897,301	0,000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	8,249059E+07	1	8,249059E+07	2,294	0,152
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	7,465055E+08	1	7,465055E+08	20,756	0,000
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	9,283740E+06	1	9,283740E+06	0,258	0,619
Hata	5,035119E+08	14	3,596514E+07		
Toplam	1,107968E+11	23	<b>R<sup>2</sup>: 0,996; Düzeltilmiş R<sup>2</sup>: 0,992</b>		

<sup>a</sup> Kareler toplamı;

<sup>b</sup> Serbestlik derecesi;

<sup>c</sup> Kareler ortalaması

F-değerlerinin F-kritik değerinden büyük ve  $p$ -değerlerinin 0.05 değerinden küçük olması, serum örneklerinden antidepresanların ekstraksiyonunda faktörler ve faktör etkileşimlerinin cevap değişkenleri üzerinde yüksek etkilere sahip olduğunu göstermektedir. ANOVA testi

sonuçları, önerilen deneysel tasarımın venlafaksinin biyolojik örneklerden ekstraksiyonunda seçilen faktörlerin optimizasyonu için etkin bir şekilde uygulanabilir olduğunu göstermiştir. Çizelge 3.4' ten görüldüğü gibi, adsorbent miktarı (mg) ( $X_1$ ), ekstraksiyon pH'sı ( $X_2$ ) ve desorpsiyon çözücü hacminin ( $X_3$ )  $p$ -değerleri çok düşüktür (0,000). Bu durum, ana faktörlerin cevap değişkenleri (kromatografik pik alanı) üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermektedir. Adsorbent miktarı ve desorpsiyon çözücü hacmi ( $X_1*X_3$ ) arasındaki etkileşimin  $p$ -değeri 0,0001'den düşüktür ve bu da bu etkileşimin model üzerinde anlamlı olduğunu gösterir. Öte yandan, adsorbent miktarı-ekstraksiyon pH'sı ( $X_1*X_2$ ) ve ekstraksiyon pH'sı-desorpsiyon çözücü hacmi ( $X_2*X_3$ ) ( $p$  değerleri sırasıyla 0.152 ve 0.619) arasındaki etkileşimler önemli değildir. Modelin 0,000 olan  $p$  değerleri için tüm kuadratik (ana etkilerin karesi) koşullar anlamlıdır.

Venlafaksin için önerilen modelin regresyon analizi Çizelge 3.5' te gösterilmiştir. Regresyon analizi sonucunda elde edilen katsayıların istatistiksel önem değerlendirilmesi "T-testi" ve " $p$ " değerleri ile yapılmıştır. Yüksek "T" değeri ve düşük " $p$ " değeri ilgili katsayının önemlilik değerini arttırmaktadır. Çizelge 3.5'ten de anlaşılacağı üzere, yüksek t değerleri ve adsorbent miktarı-ekstraksiyon pH'sı ( $X_1*X_2$ ) ve ekstraksiyon pH'sı-desorpsiyon çözücü hacmi ( $X_2*X_3$ ) arasındaki etkileşimler hariç 0.05'ten düşük  $p$ -değerleri, modelin tüm koşullarının ekstraksiyon verimine karşılık gelen pik alanları üzerinde güçlü etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

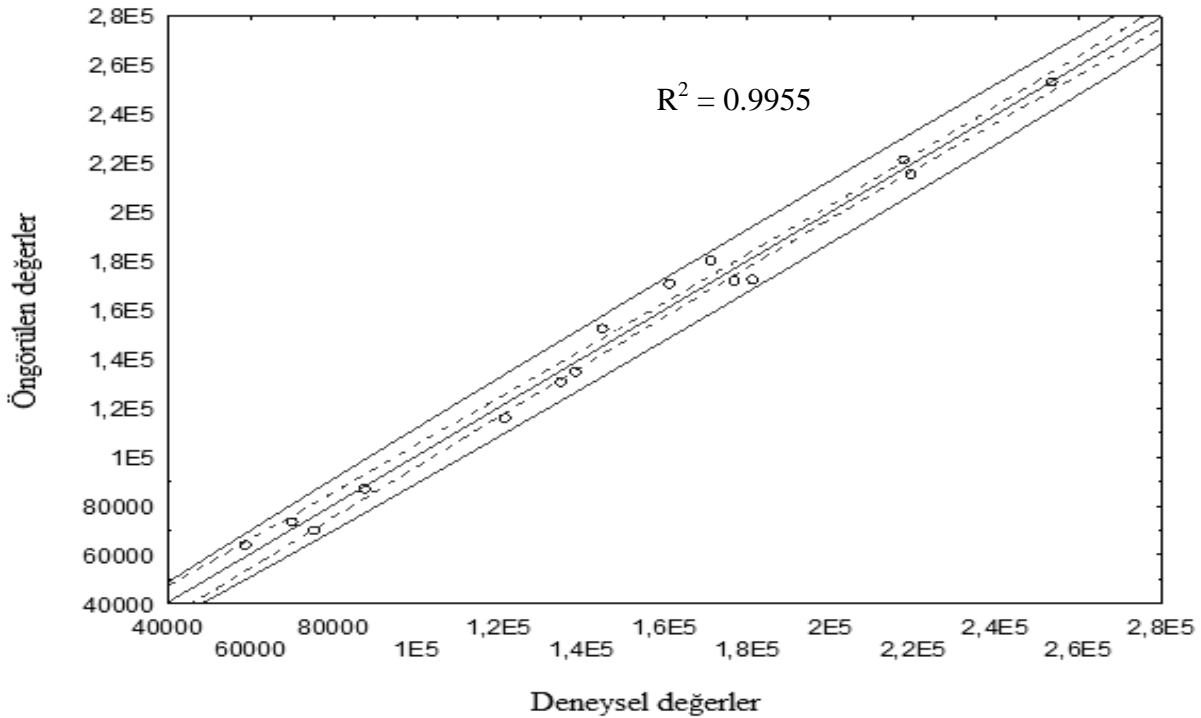
Çizelge 3.5 Venlafaksin için kullanılan modelin regresyon katsayıları, T-testi ve  $p$ -değerleri.

		<b>Regresyon Katsayıları</b>	<b>Std. Hata</b>	<b>T-testi</b>	<b><math>p</math>-değeri</b>
Model	$b_0$	-576858	32418,19	-17,7943	0,0000
$X_1$	$b_1$	8118	1855,69	4,3744	0,0006
$X_2$	$b_3$	187442	6199,31	30,2359	0,0000
$X_3$	$b_5$	120453	10846,82	11,1049	0,0000
$X_1^2$	$b_2$	-561	41,36	-13,5602	0,0000
$X_2^2$	$b_4$	-12798	372,24	-34,3810	0,0000
$X_3^2$	$b_6$	-44602	1488,96	-29,9550	0,0000
$X_1*X_2$	$b_7$	268	176,69	1,5145	0,1522
$X_1*X_3$	$b_8$	1610	353,38	4,5559	0,0005
$X_2*X_3$	$b_9$	539	1060,15	0,5081	0,6193

Deneyisel verilere çoklu regresyon analizi uygulanarak, venlafaksin için öngörülen cevap değerlerine (Y, yöntemin uygulanmasıyla elde edilen antidepresanların pik alanları) ait kuadratik polinom modeli aşağıda gösterilmiştir (kodlanmış değerler şeklinde):

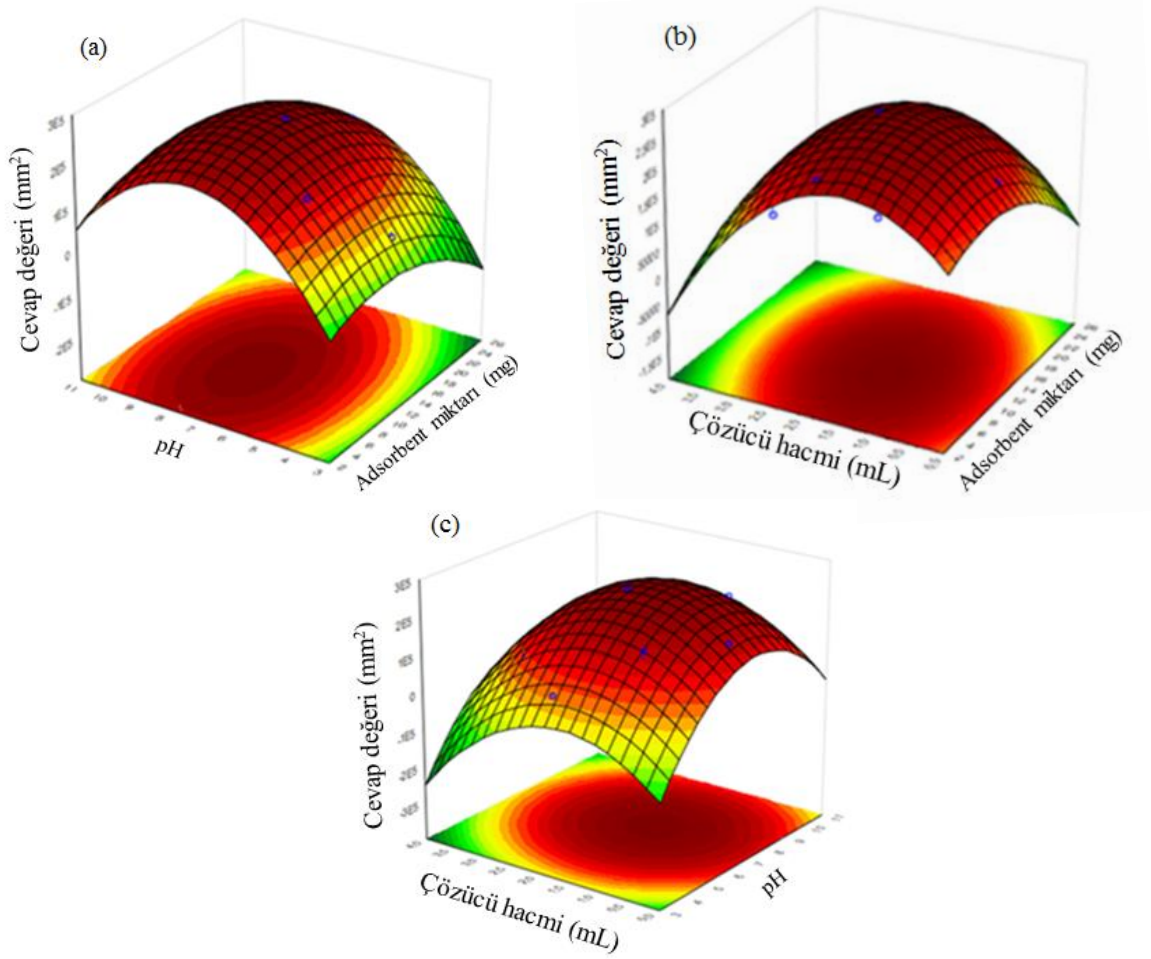
$$Y = -576858 + 8118X_1 + 187442X_2 + 120453X_3 - 561X_1^2 - 12798X_2^2 - 44602X_3^2 + 268X_1*X_2 + 1610X_1*X_3 + 539X_2*X_3$$

Gözlenen değerler ile modelin öngörülen değerleri arasındaki farklılıklar küçük ve sapma yoksa model genellikle bu verilere uymaktadır. Modelin uygulanabilirliği belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ile doğrulanmıştır. Öngörülen değerler ve deneysel sonuçlar arasındaki ilişki Şekil 3.4'te gösterilmektedir.  $R^2$  değerinin 0.9955 olması, regresyonun istatistiksel olarak önemli olduğunu ve ayrıca toplam değişkenlerin % 99,5'ten daha fazlasının bu modelle açıklanabileceğini göstermektedir. Deneysel ve öngörülen değerler arasındaki yüksek korelasyonlar bu çalışmada geliştirilen kuadratik modelin metodun optimum ekstraksiyon koşullarını belirlemek için uygun olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.4 Venlafaksin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.

Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler grafiksel olarak model tarafından oluşturulan yüzey grafikleri ve eşyüksekti alanları ile temsil edilmiştir (Şekil 3.5). Grafiksel gösterimler Eşitlik 3.2' den türetilmiştir.



Şekil 3.5 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen venlafaksin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyüksekti alanları. (a) Ekstraksiyon pH'sı ve adsorbent miktarının etkisi, (b) Çözücü hacmi ve adsorbent miktarının etkisi, (c) Çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sının etkisi.

Şekil 3.5a  $Fe_3O_4$ - $MgSiO_3$  miktarı ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak LC-UV analizinden elde edilen venlafaksin için cevap değerindeki (kromatografik pik alanı) değişimi göstermektedir. Adsorbent miktarının 8'den 20'ye çıkması ile cevap değerinde artış olduğu görülmektedir. Adsorbent miktarının 8 mg'dan ve ekstraksiyon pH'sının 6'dan aşağıya düşmesiyle birlikte cevap değerinde kademeli bir düşüş görülmüştür. Bu durum ekstraksiyon pH'sı ve nanokompozit miktarının azalmasının venlafaksin adsorpsiyonuna negatif etki yaptığını göstermektedir. Şekil 3.5b, çözücü hacmi ve adsorbent miktarına bağlı olarak LC-UV analizinden elde edilen venlafaksin için cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Şekil 3.2b'den görüldüğü gibi adsorbent miktarının yaklaşık 12 mg ve çözücü hacminin 1.4 mL

olduğu bölgede bir plato oluşmakta ve elde edilen cevap değeri en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Şekil 3.5c' de verilen yüzey grafiği ise çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sına bağlı değişimin venlafaksin için cevap değeri üzerine etkisini göstermekte olup, adsorbent miktarının 12 mg civarında sabit tutulduğunda çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sının artması ile pik alanının arttığını göstermektedir.

Essitalopram için uygulanan kuadratik modelin istatistiksel olarak test edilmesinde varyans analizleri (ANOVA) kullanılmış olup sonuçlar Çizelge 3.6'da verilmiştir. Çizelge 3.6'dan görüldüğü üzere, belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ve düzeltilmiş  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.99967 ve 0.99946 olarak hesaplanmıştır. Kuadratik regresyon modelinde düzeltilmiş  $R^2$  değeri, toplam varyasyonların çok küçük ( $< \% 1$ ) bir kısmının model tarafından açıklanamadığını göstermektedir.

Çizelge 3.6 Essitalopram ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları.

Kaynak	SS <sup>a</sup>	DF <sup>b</sup>	MS <sup>c</sup>	F	p
Model	7,34582E+9	9	3,59651E+07	740,23	0,0000
X <sub>1</sub>	3,570198E+09	1	3,570198E+09	864,71	0,0000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	2,874962E+10	1	2,874962E+10	6963,20	0,0000
X <sub>2</sub>	2,618333E+07	1	2,618333E+07	6,34	0,0246
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	6,233675E+10	1	6,233675E+10	15098,05	0,0000
X <sub>3</sub>	1,878570E+10	1	1,878570E+10	4549,92	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	5,269708E+10	1	5,269708E+10	12763,31	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	2,633094E+09	1	2,633094E+09	637,74	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	2,328451E+09	1	2,328451E+09	563,95	0,0000
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	1,703324E+09	1	1,703324E+09	412,55	0,0000
Hata	5,780312E+07	14	5,780312E+07		
Toplam	1,768528E+11	23	<b>R<sup>2</sup>: 0.99967; Düzeltilmiş R<sup>2</sup>: 0.99946</b>		

<sup>a</sup> Kareler toplamı;

<sup>b</sup> Serbestlik derecesi;

<sup>c</sup> Kareler ortalaması

Çizelge 3.6' da ANOVA sonuçlarından görüldüğü gibi, adsorbent miktarı, pH ve desorpsiyon çözücü hacminin  $p$ -değerlerinin 0,05'ten küçük olması, tüm faktörlerin cevap değerleri (kromatografik pik alanı) üzerinde etkileri olduğunu; ikili etkileşimlerin (X<sub>1</sub>\*X<sub>2</sub>, X<sub>1</sub>\*X<sub>3</sub> ve X<sub>2</sub>\*X<sub>3</sub>)  $p$ -değerlerinin 0,000 olması ise bu etkileşimlerin de model üzerinde etkili olduklarını göstermektedir.

Essitalopram için önerilen modelin regresyon analizi Çizelge 3.7’de gösterilmiştir. Çizelge 3.7’de faktörlerin regresyon katsayıları incelendiğinde adsorbent miktarı ve çözücü hacminin arttırıcı yönde, ekstraksiyon pH’sı ise azaltıcı yönde modele etki ettiği görülmüştür. Ana etkilerin kareleri (kuadratik etkileşimler) incelendiğinde ise tüm faktörlerin istatistiksel olarak önemlilik taşıdığı görülmektedir.

Çizelge 3.7 Essitalopram için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve *p*-değerleri.

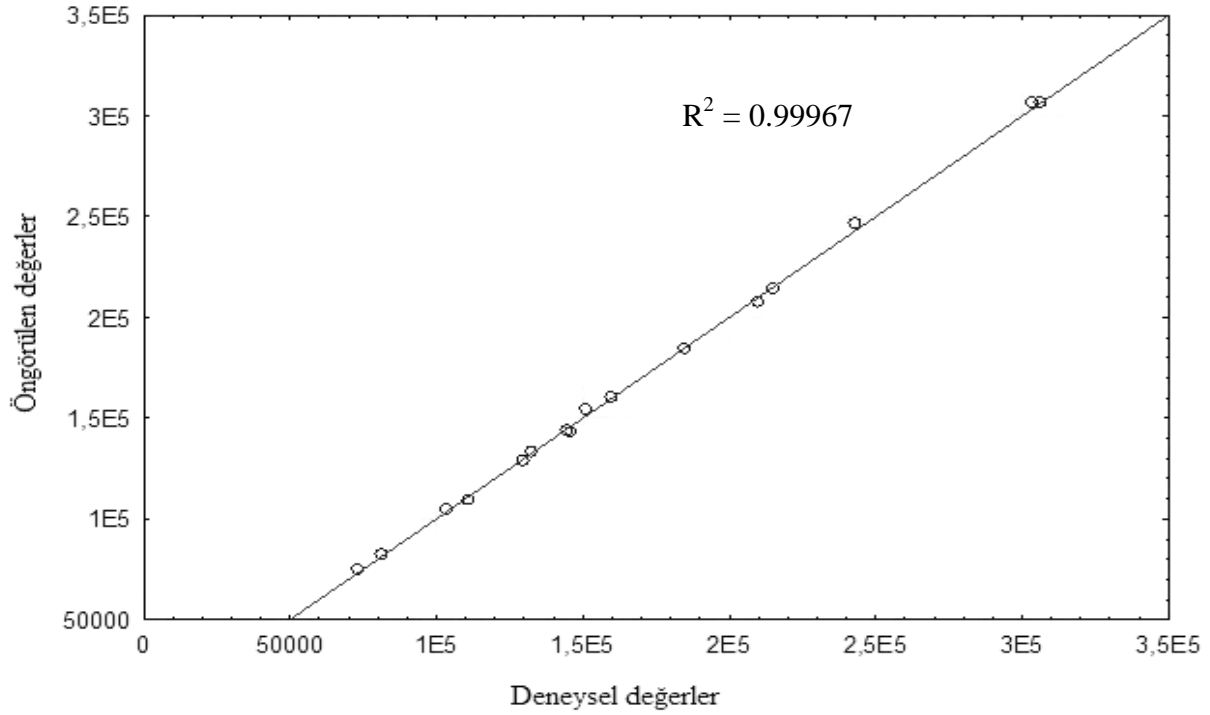
Model		<b>Regresyon katsayıları</b>	<b>Std. Hata</b>	<b>T-testi</b>	<b><i>p</i>-değeri</b>
	b <sub>0</sub>	-1004320	10983,98	-91,435	0,0000
X <sub>1</sub>	b <sub>1</sub>	51707	628,75	82,238	0,0000
X <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	-1169	14,01	-83,446	0,0246
X <sub>3</sub>	b <sub>5</sub>	224228	2100,46	106,752	0,0000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	b <sub>2</sub>	-15497	126,12	-122,874	0,0000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	b <sub>4</sub>	179628	3675,13	48,877	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	b <sub>6</sub>	-56995	504,49	-112,975	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	b <sub>7</sub>	-1512	59,87	-25,253	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	b <sub>8</sub>	-2843	119,73	-23,748	0,0000
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	b <sub>9</sub>	7296	359,20	20,311	0,0000

DeneySEL verilere çoklu regresyon analizi uygulanarak, essitalopram için öngörülen cevap değerlerine ait kuadratik polinom modeli aşağıda gösterilmiştir (kodlanmış değerler şeklinde):

$$Y = -1004320 + 51707X_1 - 1169X_2 + 224228X_3 - 15497X_1^2 + 179628X_2^2 - 56995X_3^2 - 1512X_1*X_2 - 2843X_1*X_3 + 7296X_2*X_3$$

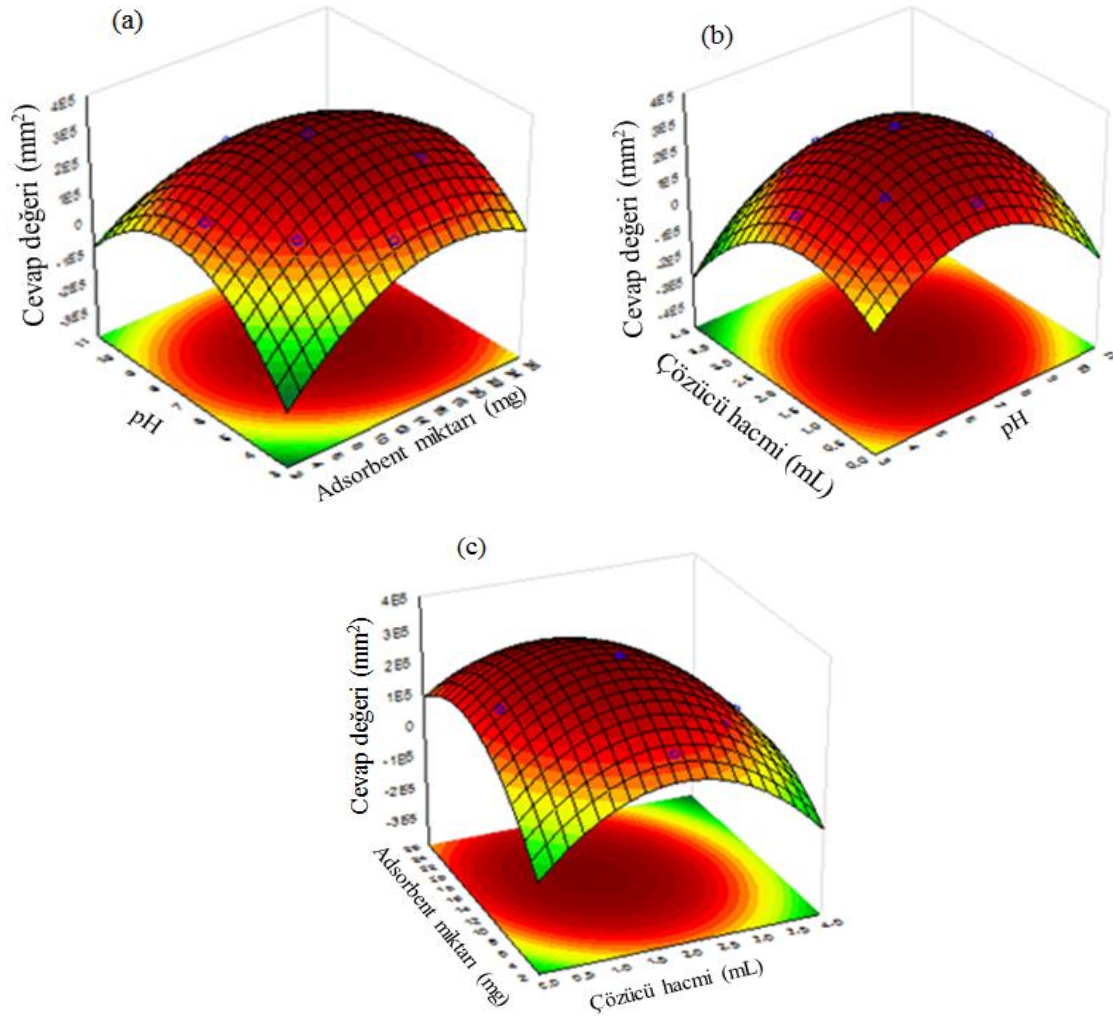


Örnekler üzerinde modelin uygulanabilirliği belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ile doğrulanmıştır. Öngörülen değerler ve deneysel sonuçlar arasındaki ilişki Şekil 3.6' da gösterilmektedir.  $R^2$  değerinin 0.99967 olması, modelin tahmin gücünün yüksek olduğunu ve ayrıca toplam değişkenlerin % 99,9'dan daha fazlasının bu modelle açıklanabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.6 Essitalopram için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.

Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler grafiksel olarak model tarafından oluşturulan yüzey grafikleri ve eşyükselti alanları ile temsil edilmiştir (Şekil 3.7). Grafiksel gösterimler Eşitlik 3.2' den türetilmiştir.



Şekil 3.7 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen essitalopram pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyüksele alanları (a) Ekstraksiyon pH'sı ve adsorbent miktarının etkisi, (b) Çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sının etkisi, (c) Çözücü hacmi ve adsorbent miktarının etkisi.

Şekil 3.4a, adsorbent miktarı ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak LC-UV analizinden elde edilen essitalopram için cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Şekil 3.7a'dan görüldüğü gibi ekstraksiyon pH'sının 7 civarında ve adsorbent miktarı yaklaşık 15 mg olduğu bölgede bir plato oluşmakta ve elde edilen cevap değeri en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Şekil 3.7b çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak essitalopram için cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Çözücü hacminin yaklaşık 1.5 mL olduğu bölgede maksimum cevap değerine karşılık gelen ekstraksiyon pH'sının yaklaşık 7 civarında olduğu görülmektedir. Şekil 3.7c'de verilen yüzey grafiği ise çözücü hacmi ve adsorbent miktarına bağlı değişimin essitalopram için cevap değeri üzerine etkisini göstermekte olup, adsorbent miktarının

yaklaşık 15 mg ve çözücü hacminin de 1.6 mL olduğu bölgede essitalopramın cevap değerinin maksimum olduğu görülmektedir.

Paroksetin için uygulanan kuadratik modelin istatistiksel olarak test edilmesinde varyans analizleri (ANOVA) kullanılmış olup sonuçlar Çizelge 3.8’ de verilmiştir. Çizelge 3.8’ den görüldüğü gibi, belirleme katsayısı ve düzeltilmiş  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.99907 ve 0.99847 olarak hesaplanmıştır. Kuadratik regresyon modelinde düzeltilmiş  $R^2$  değeri, toplam varyasyonların çok küçük (< %1) bir kısmının model tarafından açıklanamadığını göstermektedir.

Çizelge 3.8 Paroksetinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları.

<b>Kaynak</b>	<b>SS<sup>a</sup></b>	<b>DF<sup>b</sup></b>	<b>MS<sup>c</sup></b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Model	3,76034E+08	9	3,59651E+07	78,14	0,0000
X <sub>1</sub>	4,207326E+08	1	4,207326E+08	82,629	0,0000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	5,077102E+05	1	5,077102E+05	0,100	0,7568
X <sub>2</sub>	9,527806E+09	1	9,527806E+09	1871,186	0,0000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	2,117399E+10	1	2,117399E+10	4158,406	0,0000
X <sub>3</sub>	1,869293E+10	1	1,869293E+10	3671,144	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	2,343175E+10	1	2,343175E+10	4601,813	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	8,138192E+08	1	8,138192E+08	159,828	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	1,575850E+09	1	1,575850E+09	309,485	0,0000
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	1,477652E+08	1	1,477652E+08	29,020	0,0001
Hata	7,128594E+07	14	5,091853E+06		
Toplam	7,650814E+10	23	<b>R<sup>2</sup>: 0.99907; Düzeltilmiş R<sup>2</sup>: 0.99847</b>		

<sup>a</sup> Kareler toplamı;

<sup>b</sup> Serbestlik derecesi;

<sup>c</sup> Kareler ortalaması

Çizelge 3.8' de görüldüğü gibi, adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH'sı ve desorpsiyon çözücü hacminin *p*-değerlerinin 0,001'den küçük olması, tüm faktörlerin cevap değerleri (kromatografik pik alanı) üzerinde etkileri olduğunu; ikili etkileşimlerin ( $X_1 * X_2$ ,  $X_1 * X_3$  ve  $X_2 * X_3$ ) *p*-değerlerinin 0,0001'den küçük olması ise bu etkileşimlerin de model üzerinde etkili olduklarını göstermektedir.

Paroksetin için önerilen modelin regresyon analizi Çizelge 3.9' da gösterilmiştir. Çizelgede gösterilen sonuçlara göre faktörlerin adsorbent miktarı ve ekstraksiyon pH'sının azaltıcı yönde, çözücü hacminin ise arttırıcı yönde modele etki ettiği görülmüştür. Ana etkilerin kareleri (kuadratik etkileşimler) incelendiğinde ise tüm faktörlerin istatistiksel olarak önemlilik taşıdığı görülmektedir.

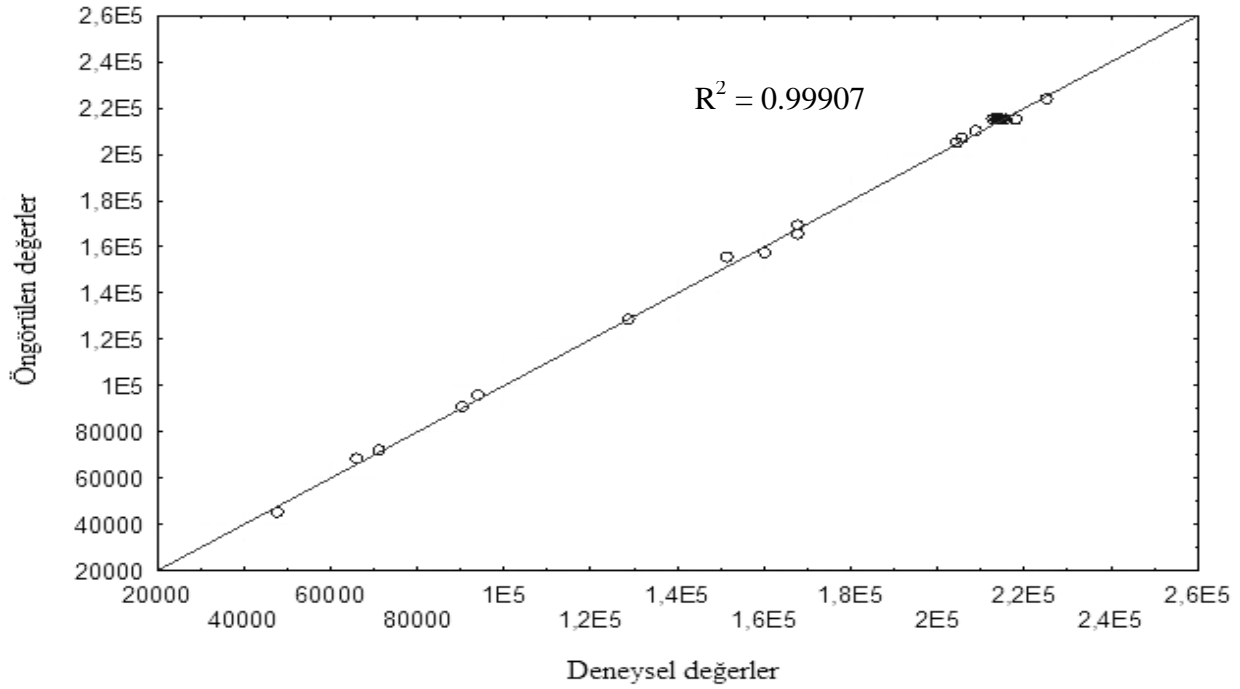
Çizelge 3.9 Paroksetin için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve *p*-değerleri.

Model		Regresyon katsayıları	Std. Hata	T-testi	<i>p</i> -değeri
	$b_0$	-294410	12197,92	-24,1361	0,0000
$X_1$	$b_1$	-9499	698,24	-13,6045	0,0000
$X_2$	$b_3$	-5	15,56	-0,3158	0,7568
$X_3$	$b_5$	132185	2332,60	56,6687	0,0000
$X_1^2$	$b_2$	-9032	140,06	-64,4857	0,0000
$X_2^2$	$b_4$	97318	4081,31	23,8449	0,0000
$X_3^2$	$b_6$	-38005	560,25	-67,8367	0,0000
$X_1 * X_2$	$b_7$	840	66,48	12,6423	0,0000
$X_1 * X_3$	$b_8$	2339	132,97	17,5922	0,0000
$X_2 * X_3$	$b_9$	-2149	398,90	-5,3870	0,0001

DeneySEL verilere çoklu regresyon analizi uygulanarak paroksetin için öngörülen cevap değerlerine ait kuadratik polinom modeli aşağıda gösterilmiştir (kodlanmış değerler şeklinde):

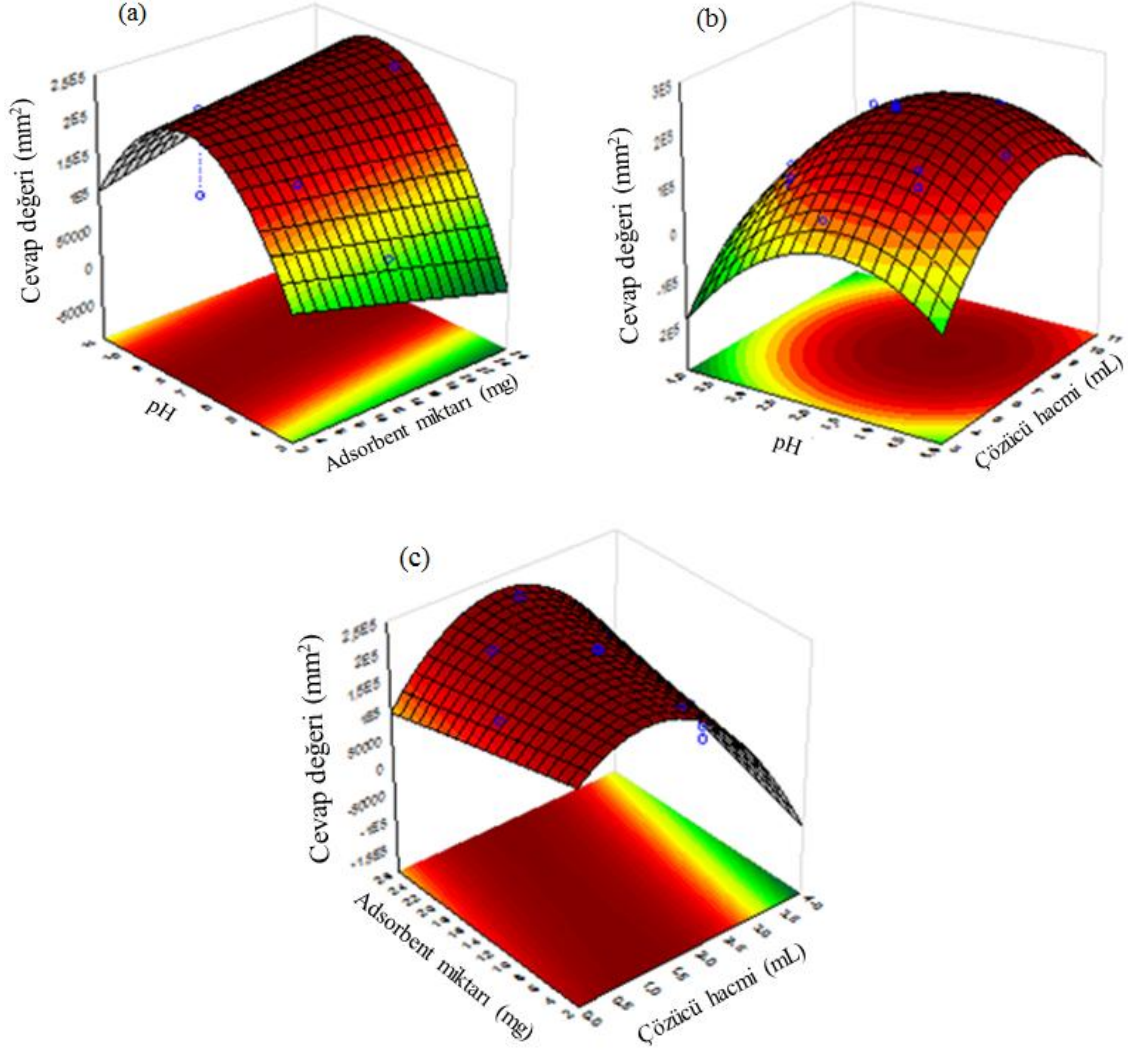
$$Y = - 294410 - 9499X_1 - 5X_2 + 132185X_3 - 9032X_1^2 + 97318X_2^2 - 38005X_3^2 + 840X_1 * X_2 + 2339X_1 * X_3 - 2149X_2 * X_3$$

Örnekler üzerinde modelin uygulanabilirliği belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ile doğrulanmıştır. Öngörülen değerler ve deneysel sonuçlar arasındaki ilişki Şekil 3.8’ de gösterilmektedir.  $R^2$  değerinin 0.99907 olması, modelin tahmin gücünün yüksek olduğunu ve ayrıca toplam değişkenlerin % 99,9’dan daha fazlasının bu modelle açıklanabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.8 Paroksetin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.

Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler grafiksel olarak model tarafından oluşturulan yüzey grafikleri ve eşyükselti alanları ile temsil edilmiştir (Şekil 3.9). Grafiksel gösterimler Eşitlik 3.2’ den türetilmiştir.



Şekil 3.9 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen paroksetin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyüksekti alanları (a) Ekstraksiyon pH'sı ve adsorbent miktarının etkisi, (b) Çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sının etkisi, (c) Çözücü hacmi ve adsorbent miktarının etkisi.

Şekil 3.9a adsorbent miktarı ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak paroksetinin LC-UV analizinden elde edilen cevap değerindeki değişimi göstermektedir. pH' nın yaklaşık 7.5 olduğu durumda adsorbent miktarının artışıyla birlikte elde edilen pik alanının doğrusal olarak artış gösterdiği görülmektedir. Şekil 3.9b çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak paroksetinin cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Şekil 3.9b'den görüldüğü gibi çözücü hacminin yaklaşık 1.3 mL ve ekstraksiyon pH'sının yaklaşık 7.5 civarında olduğu bölgede bir plato oluşmaktadır ve paroksetinin cevap değerinin maksimum olduğu görülmektedir. Şekil 3.9c' de verilen yüzey grafiği ise adsorbent miktarı ve çözücü hacmine bağlı değişimin paroksetin pik alanı üzerine etkisini göstermekte olup çözücü hacmi 2,5 mL'nin altında olduğunda adsorbent miktarının doğrusal olarak arttığını göstermektedir.

Sertralin için uygulanan kuadratik modelin istatistiksel olarak test edilmesinde varyans analizleri (ANOVA) kullanılmış olup sonuçlar Çizelge 3.10' da verilmiştir. Sertralin için yapılan istatistiksel test sonucunda belirleme katsayısı ve düzeltilmiş  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.9968 ve 0.9947 olarak bulunmuştur. Kuadratik regresyon modelinde düzeltilmiş  $R^2$  değeri, toplam varyasyonların çok küçük ( $< \% 1$ ) bir kısmının model tarafından açıklanamadığını göstermektedir.

Çizelge 3.10 Sertralinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları.

Kaynak	SS <sup>a</sup>	DF <sup>b</sup>	MS <sup>c</sup>	F	p
Model	1,1680E+08	9	3,59651E+07	10,14	0,0000
X <sub>1</sub>	1,212606E+08	1	1,212606E+08	5,419	0,0354
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	2,515795E+09	1	2,515795E+09	112,435	0,0000
X <sub>2</sub>	9,357769E+09	1	9,357769E+09	418,215	0,0000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	4,839339E+10	1	4,839339E+10	2162,783	0,0000
X <sub>3</sub>	1,219955E+10	1	1,219955E+10	545,219	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	1,782338E+10	1	1,782338E+10	796,557	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	1,617895E+09	1	1,617895E+09	72,306	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	4,814615E+08	1	4,814615E+08	21,517	0,0004
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	3,586960E+09	1	3,586960E+09	160,307	0,0000
Hata	3,132573E+08	14	2,237552E+07		
Toplam	9,776601E+10	23	<b>R<sup>2</sup>: 0.9968; Düzeltilmiş R<sup>2</sup>: 0.9947</b>		

<sup>a</sup> Kareler toplamı;

<sup>b</sup> Serbestlik derecesi;

<sup>c</sup> Kareler ortalaması

Çizelge 3.10' da görüldüğü gibi, adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH'sı ve desorpsiyon çözücü hacminin  $p$ -değerlerinin 0,05'ten küçük olması, tüm faktörlerin cevap değerleri (kromatografik pik alanı) üzerinde etkileri olduğunu; adsorbent miktarı ve çözücü hacmi arasındaki ikili etkileşim hariç diğer ikili etkileşimlerin (X<sub>1</sub>\*X<sub>2</sub> ve X<sub>2</sub>\*X<sub>3</sub>)  $p$ -değerlerinin 0,0001'den küçük olması ise bu etkileşimlerin de model üzerinde etkili olduklarını göstermektedir.

Sertralin için önerilen modelin regresyon analizi Çizelge 3.11’de gösterilmiştir. Çizelgede gösterilen sonuçlara göre ana etkilerden adsorbent miktarı ve çözücü hacminin arttırıcı yönde, ekstraksiyon pH’sının ise azaltıcı yönde modele etki ettiği görülmüştür. Kuadratik katsayılara bakıldığında ise tüm faktörlerin istatistiksel olarak önemlilik taşıdığı görülmektedir.

Çizelge 3.11 Sertralin için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve *p*-değerleri.

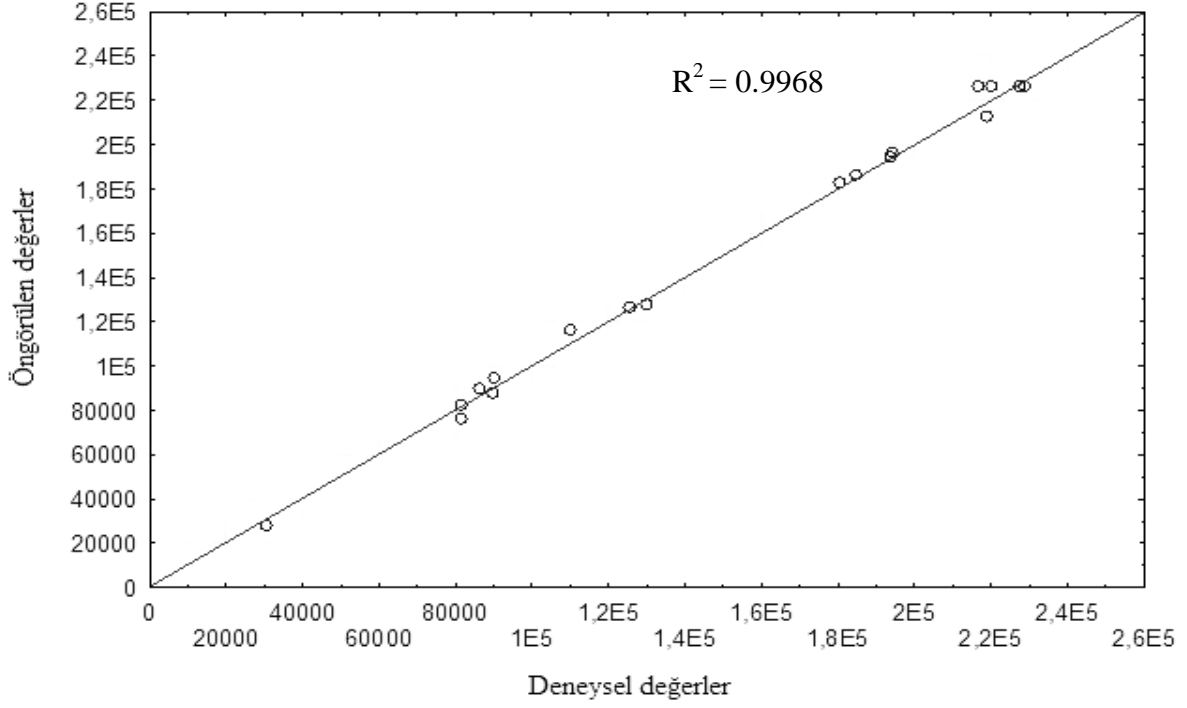
Model		<b>Regresyon katsayıları</b>	<b>Std. Hata</b>	<b>T-testi</b>	<b>P-değeri</b>
	b <sub>0</sub>	-968601	25570,22	-37,8800	0,0000
X <sub>1</sub>	b <sub>1</sub>	20071	1463,70	13,7123	0,0000
X <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	-346	32,62	-10,6035	0,0000
X <sub>3</sub>	b <sub>5</sub>	242017	4889,77	49,4945	0,0000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	b <sub>2</sub>	-13654	293,61	-46,5057	0,0000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	b <sub>4</sub>	194911	8555,55	22,7818	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	b <sub>6</sub>	-33146	1174,43	-28,2233	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	b <sub>7</sub>	-1185	139,37	-8,5033	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	b <sub>8</sub>	-1293	278,73	-4,6387	0,0004
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	b <sub>9</sub>	-10587	836,20	-12,6613	0,0000

DeneySEL verilere çoklu regresyon analizi uygulanarak sertralin için öngörülen cevap değerlerine ait kuadratik polinom modeli aşağıda gösterilmiştir (kodlanmış değerler şeklinde):

$$Y = -968601 + 20071X_1 - 346X_2 + 242017X_3 - 13654X_1^2 + 194911X_2^2 - 33146X_3^2 - 1185X_1*X_2 - 1293X_1*X_3 - 10587X_2*X_3$$

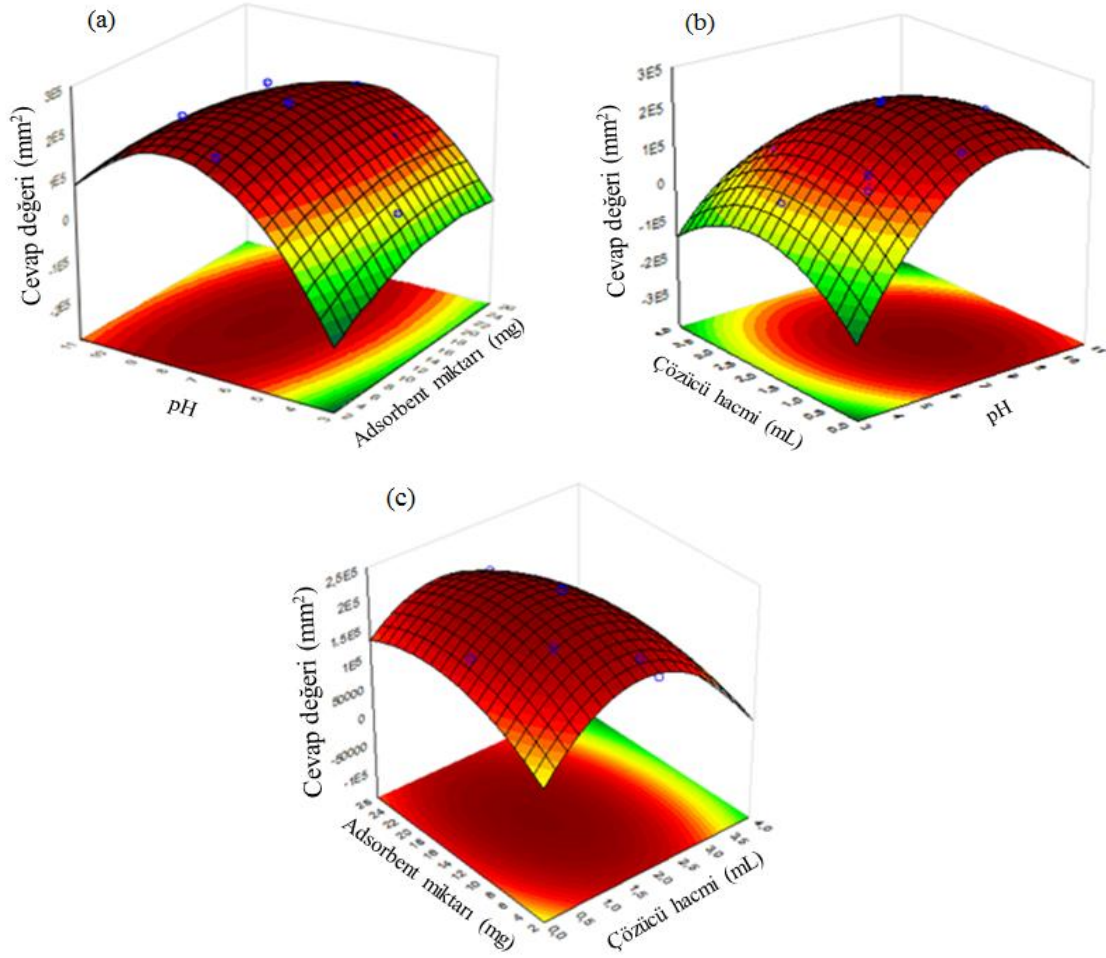
Örnekler üzerinde modelin uygulanabilirliği belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ile doğrulanmıştır. Öngörülen değerler ve deneysel sonuçlar arasındaki ilişki Şekil 3.10' da gösterilmektedir.  $R^2$  değerinin 0.9968 olması, regresyonun istatistiksel olarak önemli olduğunu ve toplam değişkenlerin % 99,5'tan daha fazlasının bu modelle açıklanabileceğini göstermektedir.





Şekil 3.10 Sertralin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.

Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler grafiksel olarak model tarafından oluşturulan yüzey grafikleri ve eşyükselti alanları ile temsil edilmiştir (Şekil 3.11). Grafiksel gösterimler Eşitlik 3.2' den türetilmiştir.



Şekil 3.11 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen sertralin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyüksele alanları (a) Ekstraksiyon pH'sı ve adsorbent miktarının etkisi, (b) Çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sının etkisi, (c) Çözücü hacmi ve adsorbent miktarının etkisi.

Şekil 3.11a, adsorbent miktarı ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak sertralinin LC-UV analizinden elde edilen cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Şekil 3.11a'dan görüldüğü gibi ekstraksiyon pH'sının yaklaşık 8 ve adsorbent miktarının 13 mg civarında olduğu bu bölgede bir plato oluşmakta ve elde edilen cevap değeri en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Şekil 3.11b çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak sertralinin cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Çözücü hacminin yaklaşık 1.5 mL olduğu bölgede maksimum cevap değerine karşılık gelen ekstraksiyon pH'sının yaklaşık 8 civarında olduğu görülmektedir. Şekil 3.11c'de verilen yüzey grafiği ise çözücü hacmi ve adsorbent miktarına bağlı değişimin sertralinin cevap değerindeki etkisini göstermekte olup, adsorbent miktarının yaklaşık 13 mg ve çözücü hacminin de 1.4 mL olduğu bölgede sertralinin cevap değerinin maksimum olduğu görülmektedir.

Fluoksetin için uygulanan kuadratik modelin istatistiksel olarak test edilmesinde varyans analizleri (ANOVA) kullanılmış olup sonuçlar Çizelge 3.12’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel test sonucunda belirleme katsayısı ve düzeltilmiş  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.9977 ve 0.9963 olarak bulunmuştur. Kuadratik regresyon modelinde düzeltilmiş  $R^2$  değeri, toplam varyasyonların çok küçük ( $< \%1$ ) bir kısmının model tarafından açıklanamadığını göstermektedir.

Çizelge 3.12 Fluoksetinin ekstraksiyonunda uygulanan kuadratik modelin ANOVA test sonuçları.

<b>Kaynak</b>	<b>SS<sup>a</sup></b>	<b>DF<sup>b</sup></b>	<b>MS<sup>c</sup></b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Model	1,246E+09	9	3,59651E+07	34,17	0,0000
X <sub>1</sub>	1,353598E+09	1	1,353598E+09	39,789	0,0000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,905163E+10	1	1,905163E+10	560,028	0,0000
X <sub>2</sub>	2,064769E+09	1	2,064769E+09	60,694	0,0000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1,018014E+11	1	1,018014E+11	2992,478	0,0000
X <sub>3</sub>	2,833684E+10	1	2,833684E+10	832,969	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	5,095347E+10	1	5,095347E+10	1497,791	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	1,903137E+07	1	1,903137E+07	0,559	0,4669
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	4,079303E+07	1	4,079303E+07	1,199	0,2919
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	3,403310E+08	1	3,403310E+08	10,004	0,0069
Hata	4,762673E+08	14	3,401909E+07		
Toplam	2,086575E+11	23	<b>R<sup>2</sup>: 0.9977; Düzeltilmiş R<sup>2</sup>: 0.9963</b>		

<sup>a</sup> Kareler toplamı;

<sup>b</sup> Serbestlik derecesi;

<sup>c</sup> Kareler ortalaması

Çizelge 3.12’ de görüldüğü gibi, adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH’sı ve desorpsiyon çözücü hacminin *p*-değerlerinin 0,05’ten küçük olması, tüm faktörlerin cevap değerleri (kromatografik pik alanı) üzerinde etkileri olduğunu; kuadratik etkileşimlerin *p*-değerlerinin 0,000 olması ise bu etkileşimlerin de model üzerinde etkili olduklarını göstermektedir.

Fluoksetin için önerilen modelin regresyon analizi ise Çizelge 3.13'te gösterilmiştir. Çizelge 3.13'te faktörlerin regresyon katsayıları incelendiğinde adsorbent miktarı ve çözücü hacminin arttırıcı yönde, ekstraksiyon pH'sının ise azaltıcı yönde modele etki ettiği görülmüştür. Ana etkilerin kareleri (kuadratik etkileşimler) incelendiğinde ise tüm faktörlerin istatistiksel olarak önemlilik taşıdığı görülmektedir.

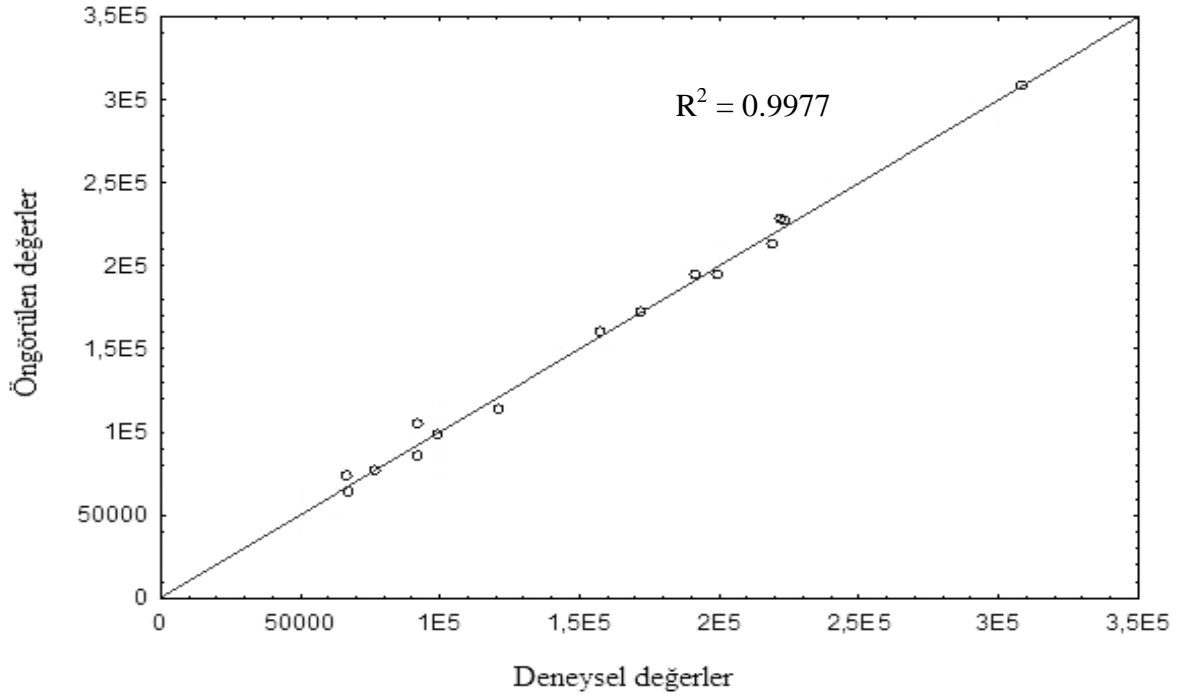
Çizelge 3.13 Fluoksetin için modelin regresyon katsayıları, T-testi ve *p*-değerleri.

Model		<b>Regresyon katsayıları</b>	<b>Std. Hata</b>	<b>T-testi</b>	<b><i>p</i>-değeri</b>
	b <sub>0</sub>	-1070288	31528,93	-33,9462	0,0000
X <sub>1</sub>	b <sub>1</sub>	26661	1804,79	14,7723	0,0000
X <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	-952	40,23	-23,6649	0,0000
X <sub>3</sub>	b <sub>5</sub>	288131	6029,25	47,7888	0,0000
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	b <sub>2</sub>	-19804	362,03	-54,7035	0,0000
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	b <sub>4</sub>	196184	10549,28	18,5969	0,0000
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	b <sub>6</sub>	-56044	1448,12	-38,7013	0,0000
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	b <sub>7</sub>	129	171,84	0,7480	0,4669
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	b <sub>8</sub>	376	343,69	1,0950	0,2919
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	b <sub>9</sub>	-3261	1031,07	-3,1629	0,0069

Deneysel verilere çoklu regresyon analizi uygulanarak fluoksetin için öngörülen cevap değerlerine ait kuadratik polinom modeli aşağıda gösterilmiştir (kodlanmış değerler şeklinde):

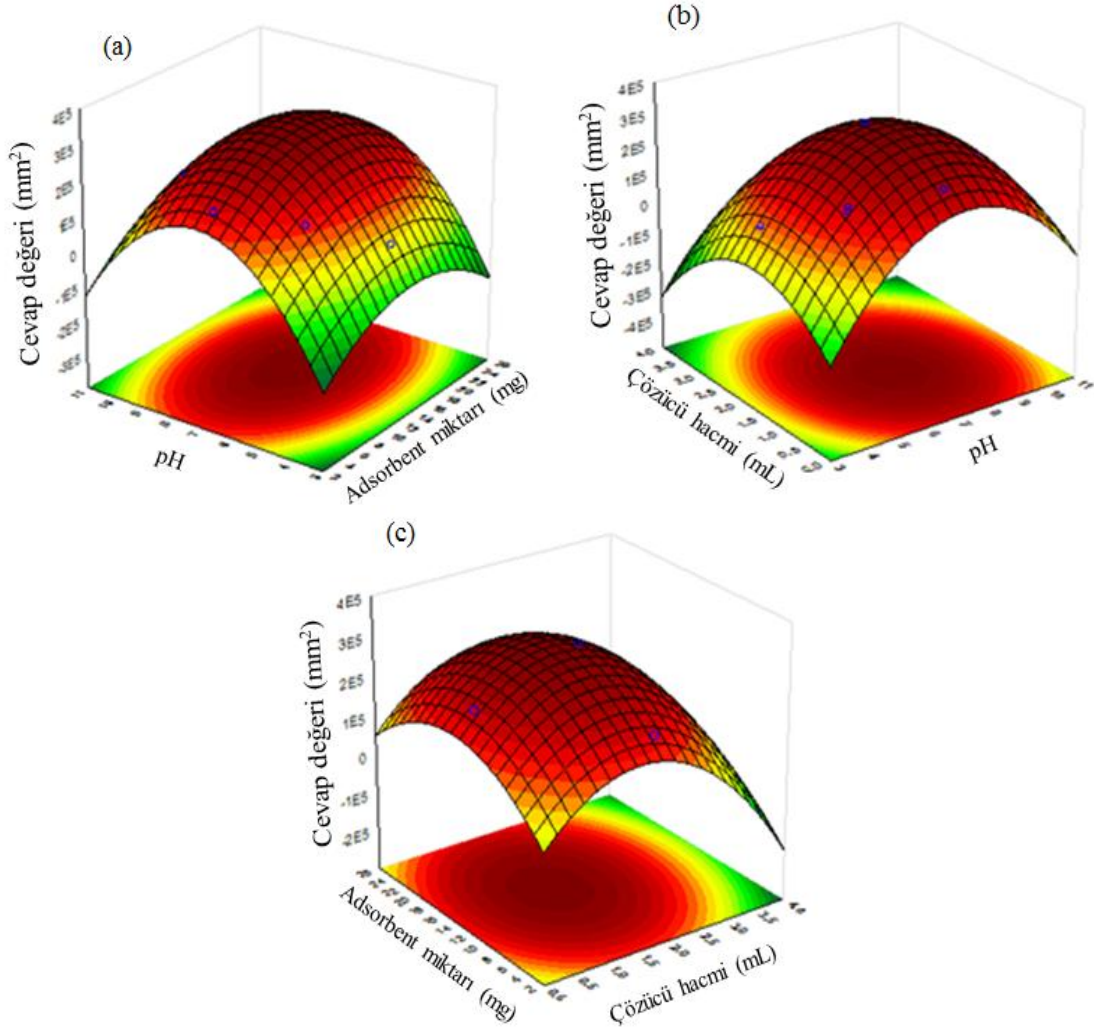
$$Y = -1070288 + 26661X_1 - 952X_2 + 288131X_3 - 19804X_1^2 + 196184X_2^2 - 56044X_3^2 + 129X_1*X_2 + 376X_1*X_3 - 3261X_2*X_3$$

Örnekler üzerinde modelin uygulanabilirliği belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ile doğrulanmıştır. Öngörülen değerler ve deneysel sonuçlar arasındaki ilişki Şekil 3.12' de gösterilmektedir.  $R^2$  değerinin 0.9977 olması, modelin tahmin gücünün yüksek olduğunu ve ayrıca toplam değişkenlerin % 99,9'dan daha fazlasının bu modelle açıklanabileceğini göstermektedir



Şekil 3.12 Fluoksetin için elde edilen deneysel değerler ve öngörülen değerler arasındaki ilişki grafiği.

Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler grafiksel olarak model tarafından oluşturulan yüzey grafikleri ve eşyükselti alanları ile temsil edilmiştir (Şekil 3.13). Grafiksel gösterimler Eşitlik 3.2'den türetilmiştir.



Şekil 3.13 İncelenen faktör değişkenlerinin etkileşimlerine karşı LC-UV yöntemi ile elde edilen fluoksetin pik alanlarına karşılık gelen 3D-cevap yüzeyi grafikleri ve eşyükselti alanları (a) Ekstraksiyon pH'sı ve adsorbent miktarının etkisi, (b) Çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sının etkisi, (c) Çözücü hacmi ve adsorbent miktarının etkisi.

Şekil 3.13a, adsorbent miktarı ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak fluoksetinin LC-UV analizinden elde edilen cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Şekil 3.13a'dan görüldüğü gibi ekstraksiyon pH'sının 7 olduğu bölgede adsorbent miktarı yaklaşık 15 mg olup bu bölgede bir plato oluşmaktadır ve fluoksetinin cevap değerinin maksimum olmaktadır. Şekil 3.13b çözücü hacmi ve ekstraksiyon pH'sına bağlı olarak fluoksetinin cevap değerindeki değişimi göstermektedir. Çözücü hacminin yaklaşık 1.5 mL olduğu bölgede ekstraksiyon pH'sının 7 civarında olduğu görülmektedir. Şekil 3.13c'de verilen yüzey grafiği ise çözücü hacmi ve adsorbent miktarına bağlı değişimin fluoksetinin cevap değerindeki etkisini göstermekte olup, adsorbent miktarının yaklaşık 15 mg ve çözücü hacminin 1.5 mL olduğu bölgede fluoksetin için elde edilen cevap değeri en yüksek seviyeye ulaşmaktadır.

Benzer şekilde, beş seviyede incelenen adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH'sı ve desorpsiyon çözücü hacmine karşılık gelen üç faktör değişkeninin kullanımına dayalı CCD yöntemi, idrar örneklerinden antidepresan ilaçların optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesinde de uygulanmıştır. Bu çalışmada, serum ve idrar örneklerinden venlafaksin, essitalopram, paroksetin, sertralin ve fluoksetinin maksimum ekstraksiyon verimi için gerekli optimum deneysel koşullar belirlenmiş olup ilgili bileşiklerin ortalama değerleri ile optimum ekstraksiyon verimi koşulları Çizelge 3.14' te özetlenmiştir.

Çizelge 3.14 Serum ve idrar örneklerinde antidepresan ilaçların analizi için optimum deneysel koşullar.

Örnekler	Faktörler (X)	Antidepresan İlaçlar					Ortalama Değerler
		Venlafaksin	Essitalopram	Paroksetin	Sertralin	Fluoksetin	
Serum	1	11.3	15.0	9.8	12.8	14.8	12.7
	2	7.5	6.9	7.6	7.7	7.1	7.4
	3	1.6	1.6	1.3	1.4	1.5	1.5
İdrar	1	11.1	15.1	10.2	11.5	13.4	12.3
	2	7.4	7.1	7.3	7.8	7.3	7.4
	3	1.3	1.4	1.4	1.2	1.1	1.2

X<sub>1</sub>: Adsorbent miktarı, X<sub>2</sub>: pH, X<sub>3</sub>: Çözücü hacmi

### 3.3 ANALİTİK METOT VALİDASYONU

Biyolojik örneklerdeki antidepresanların belirlenmesi için önerilen analitik metodun performansı optimize edilen deneysel koşullar altında değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede metodun lineerliği, belirleme katsayısı, algılama limiti, tayin sınırı, tekrarlanabilirliği ve ekstraksiyon geri kazanımı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.15'te verilmiştir. Çizelge 3.15'te görüldüğü gibi metodun lineerliği tüm antidepresanlar için 10-1000 ng/mL konsantrasyon aralığında incelenmiştir. Antidepresanlar için kalibrasyon grafiklerinden elde edilen belirleme katsayılarının ( $R^2$ ) 0.9986 ile 0.9994 arasında değişim gösterdiği bulunmuştur.

Çizelge 3.15'te verilen metot algılama limitleri (LOD), her bir antidepresan için sinyal/gürültü (S/N) oranı 3 alınarak, metot tayin limitleri (LOQ) ise S/N oranı 10 alınarak hesaplanmıştır. Antidepresanlar için LOD değerlerinin 1.73 – 5.17 ng/mL arasında, LOQ

değerlerinin ise 2.88 – 8.62 ng/mL arasında değiştiği bulunmuştur. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasında, 100 ng/mL konsantrasyonunda her bir antidepresan ilacı içeren standart çözeltinin analizinden elde edilen S/N oranları kullanılmıştır.

Çizelge 3.15 Biyolojik örneklerde antidepresanların belirlenmesi için önerilen metodun analitik performansı.

<b>Antidepresanlar</b>	<b>Lineer aralık (ng/mL)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>LOD (ng/mL)</b>	<b>LOQ (ng/mL)</b>
Venlafaksin	10-1000	0.9994	1.97	3.29
Essitalopram	10-1000	0.9993	2.83	4.72
Paroksetin	10-1000	0.9986	5.17	8.62
Sertralin	10-1000	0.9991	1.83	3.05
Fluoksetin	10-1000	0.9994	1.73	2.88

Metodun tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla, her bir antidepresan 50 ng/mL konsantrasyonda gün içi ve günler arası analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen pik alanı değerleri kullanılarak metodun tekrarlanabilirliği % bağıl standart sapma (RSD) olarak hesaplanmıştır. RSD değerlerinin hesaplanmasında Bölüm 2’de verilen Eşitlik 2.1 kullanılmıştır. Antidepresan analizleri için gün içi tekrarlanabilirlik değerlerinin % 2.1 ile % 4.9, günler arası tekrarlanabilirlik değerlerinin ise % 2.2 ile % 4.2 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuçlar metodun iyi bir tekrarlanabilirliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Optimize edilen analiz koşullarında antidepresanlar için ekstraksiyon geri kazanımları hesaplanmıştır. Ekstraksiyon geri kazanımları, gerçek örneklere 5, 10 ve 50 ng/mL konsantrasyon seviyelerinde standart çözeltinin ilave edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek için analizler 3’er kez tekrarlanmıştır. Analitlerin bağıl geri kazanımları ve RSD değerleri hesaplanmış olup sonuçlar Çizelge 3.16’da verilmiştir. Çizelge 3.16’da serum örnekleri için geri kazanımların % 72 ile % 113 arasında; idrar örnekleri için geri kazanımların ise % 75 ile % 115 arasında değişmekte olduğu ve tüm antidepresanların RSD değerlerinin % 4.75’ten düşük olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, metodun serum ve idrar gibi biyolojik örneklerdeki antidepresanların belirlenmesi için hassas ve spesifik bir metod olarak önerilebileceğini göstermektedir.



Çizelge 3.16 Farklı seviyelerde biyolojik örneklere standart olarak eklenen antidepresanlar için önerilen metodun geri kazanımı (%) ve tekrarlanabilirliği (RSD).

Antidepresanlar	İlave edilen konsantrasyon değeri (ng/mL)	Ölçülen konsantrasyon değeri (ng/mL)	Serum		İdrar	
			Geri	RSD	Geri	RSD
			kazanım (%)		kazanım (%)	
Venlafaksin	5	3.75	75	3.04	78	4.75
	10	8.72	87	2.69	92	2.90
	50	47.3	96	2.14	102	2.68
Essitalopram	5	4.16	83	3.08	85	4.22
	10	8.53	85	2.24	82	2.43
	50	44.52	89	1.53	87	1.64
Paroksetin	5	3.63	72	3.12	75	2.85
	10	7.71	77	2.86	81	3.14
	50	42.16	84	2.51	88	2.90
Sertralin	5	4.09	81	1.76	83	2.25
	10	8.83	88	1.42	91	2.89
	50	50.57	101	1.84	104	3.15
Fluoksetin	5	4.47	89	1.81	91	2.24
	10	9.66	97	1.63	103	2.45
	50	56.61	113	1.88	115	2.78

Deney sayısı: 5

### 3.4 ÖNERİLEN METODUN DİĞER METOTLARLA KARŞILAŞTIRILMASI

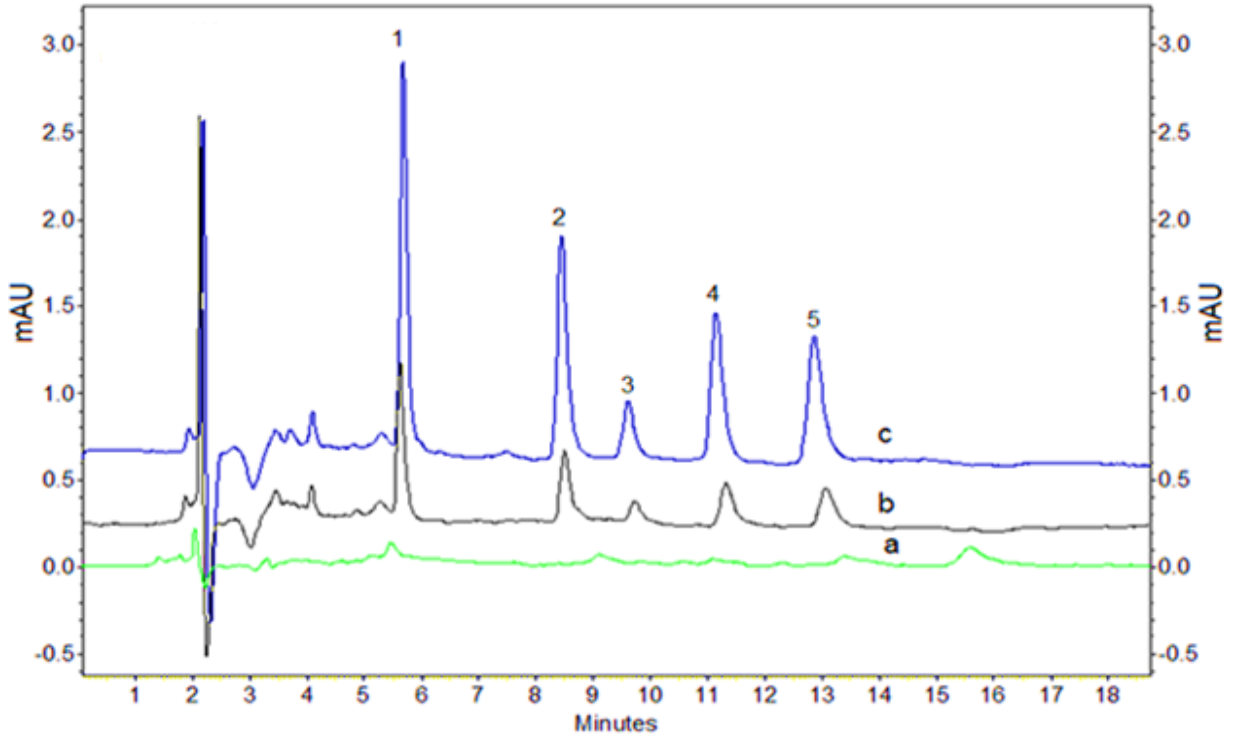
Önerilen MSPE metodu, literatürdeki antidepresanların biyolojik örneklerde tayini için kullanılan diğer metotlarla karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma yapılırken kullanılan lineer aralık, algılama limiti, tayin limiti ve tekrarlanabilirlik parametreleri dikkate alınmıştır. Karşılaştırma detayları Çizelge 3.17’de özetlenmiştir. Tüm parametreler açısından karşılaştırma yapıldığında bu çalışmada önerilen metot diğer metotlara göre daha iyi veya benzer performanslar göstermektedir. Sonuçlar göz önüne alındığında, önerilen bu metodun biyolojik örneklerdeki antidepresanların belirlenmesinde kullanılabilecek hassas, tekrarlanabilir, kullanımı kolay ve ekonomik bir metot olduğu ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 3.17 Önerilen metodun diğer metotlarla karşılaştırılması.

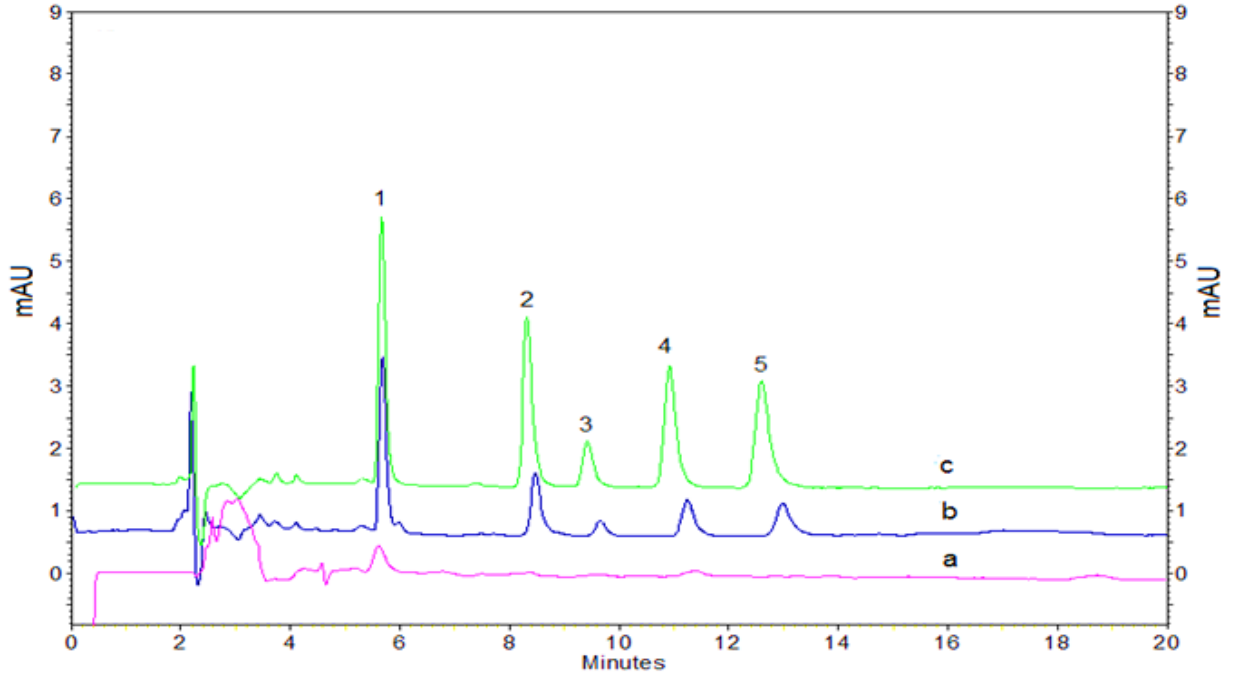
Analit	Metot	Matriks	Lineer aralık	R <sup>2</sup>	LOD (ng mL <sup>-1</sup> )	LOQ (ng mL <sup>-1</sup> )	RSD (%)	Referans
Paroksetin	LC-FL	İnsan plazması	2.5-100 ng mL <sup>-1</sup>	0.9988	1.2	2.5	3.3 - 5.4	Mandrioli et al. 2007
Fluoksetin	GC-MS	Kan	5-1000 µg L <sup>-1</sup>	≥ 0.995	0.3	1.0	4	Papoutsis et al. 2012
Venlafaksin				≥ 0.991	1.5	5.0	4.1	
Paroksetin				≥ 0.990	1.5	5.0	4.7	
Sertralin				≥ 0.996	0.3	1.0	3.6	
Fluoksetin	LC-MS/ESI	İnsan plazması	5-1000 ng mL <sup>-1</sup>	0.9995	0.5	-	3- 10	Juan et al. 2005
Paroksetin				0.9994	0.3		1- 4	
Venlafaksin				0.9981	0.1		1- 4	
Paroksetin	LLE/NACE	İnsan plazması	50-500 ng mL <sup>-1</sup>	0.9966	10	20	> 10.3	Catai et al. 2009
Sertralin				0.9980	10	20		
Fluoksetin				0.9981	5	15		
Venlafaksin	MSPE/LC-UV	Serum ve İdrar	10-1000 ng mL <sup>-1</sup>	0,9994	1.97	3.29	Serum örneklerinde 1.42- 3.12 İdrar örneklerinde 1.64 – 4.75	<b>Bu çalışma</b>
Essitalopram				0,9993	2.83	4.72		
Paroksetin				0,9986	5.17	8.62		
Sertralin				0,9991	1.83	3.05		
Fluoksetin				0,9994	1.73	2.88		

### 3.5 ÖRNEK ANALİZİ

Önerilen metot, serum ve idrar örneklerinde beş antidepresan ilacın konsantrasyonunun belirlenmesinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Matris etkisini azaltmak için, serum ve idrar örnekleri deiyonize olmuş su kullanılarak sırasıyla 1:1 ve 1:2 oranlarında seyreltilmiş ve daha sonra her bir gerçek numune önerilen izolasyon prosedürü uygulanarak optimum koşullarda ekstrakte edilmiştir. Elde edilen sonuçlar standart eklenmeyen gerçek numunelerde de metodun başarıyla uygulanabileceğini ve hedef analitler için gerekli validasyon işlemlerinin yapılabileceğini göstermiştir. Serum ve idrar örneklerinin LC-UV kromatogramları sırasıyla Şekil 3.14 ve 3.15'te gösterilmiştir. Örneklerin analizinden elde edilen kromatogramlar antidepresanlar ile birlikte girişim yapan yabancı maddelerin olmadığını göstermektedir.

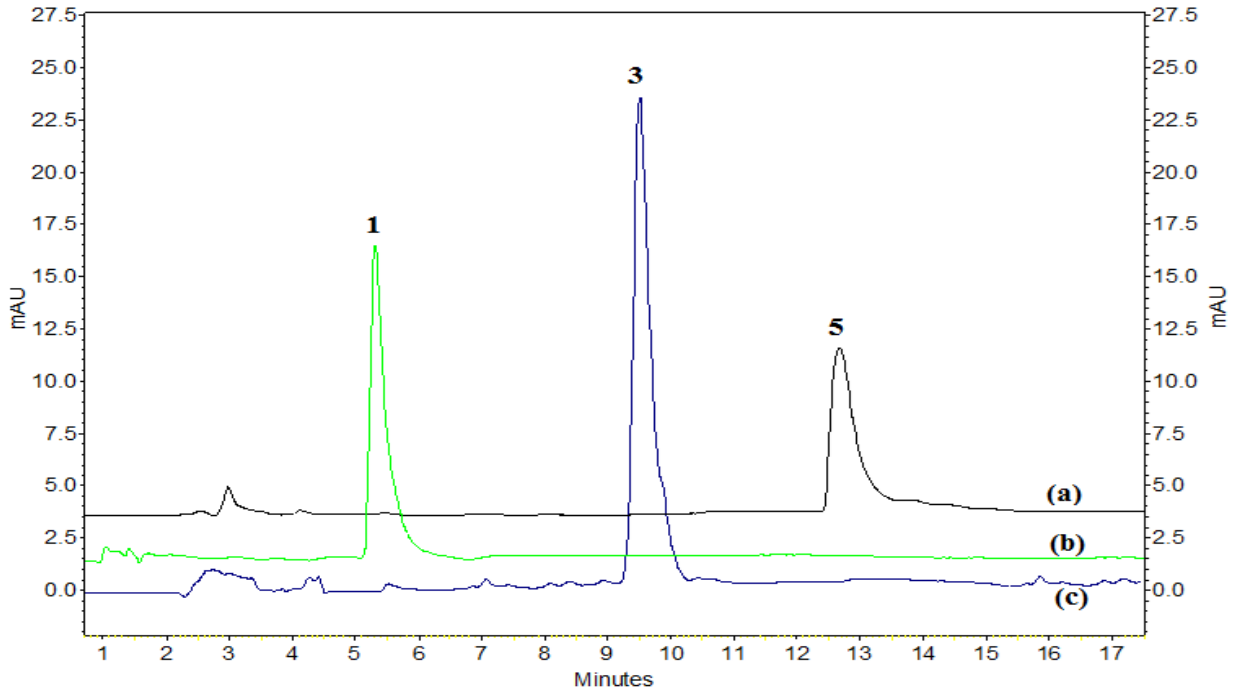


Şekil 3.14 Standart eklenmemiş insan serum örneğinin LC-UV kromatogramı (a); 10 ng/mL standart eklenen serum örneği (b); 20 ng/mL standart eklenen serum örneği (c).  
1. Venlafaksin, 2. Essitalopram, 3. Paroksetin, 4. Sertralın, 5. Fluoksetin.



Şekil 3.15 Standart eklenmemiş insan idrar örneğinin LC-UV kromatogramı (a); 10 ng/mL standart eklenen idrar örneği (b); 20 ng/mL standart eklenen idrar örneği (c).

Depresyon tedavisi gören ve doktor tarafından önerilen dozlarda her gün 37.5 mg venlafaksin, 20 mg paroksetin ve 10 mg fluoksetin kullanan hastalardan alınan serum ve idrar örneklerinin analizinden elde edilen antidepresanlara ait örnek LC-UV kromatogramları Şekil 3.16'da gösterilmiştir.



Şekil 3.16 İlaçlarla tedavi gören hastaların biyolojik sıvılarının LC-UV kromatogramları. (a) serum 1, (b) idrar ve (c) serum 2. (1) venlafaksin, (3) paroksetin, (5) fluoksetin.

Önerilen metodun uygulanabilirliğini doğrulamak için; tedavi amaçlı antidepresan ilaçların günlük farklı dozlarını kullanan depresyon tanısı konmuş hastaların serum ve idrar örnekleri analiz edilmiştir. 32 gerçek serum ve idrar örneği antidepresan içerikleri için önerilen metot ile her bir örnek üç kez analiz edilmiş ve hedef bileşiklerin çoğu belirlenmiştir. Serum ve idrar örneklerinde belirlenen antidepresanların standart sapmalar ile birlikte minimum, maksimum ve ortalama konsantrasyonları Çizelge 3.18’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.18 Serum ve idrar örneklerinde belirlenen antidepresanların istatistiksel sonuçları.

Bileşikler	Serum ng/mL						İdrar ng/mL					
	N	Min.	Maks.	Ort.	SD	Medyan	N	Min.	Maks.	Ort.	SD	Medyan
<b>Venlafaksin</b>	7	29,14	315,59	176,70	106,11	220,30	5	< LOD	238,77	205,76	38,59	225,35
<b>Essitalopram</b>	7	17,69	210,94	90,27	69,50	64,38	6	< LOD	101,22	46,80	36,21	32,34
<b>Paroksetin</b>	7	7,79	124,39	54,23	39,69	49,45	6	< LOD	65,62	24,06	21,69	15,83
<b>Sertralin</b>	5	< LOD	149,20	94,06	34,92	82,95	5	< LOD	195,79	100,20	57,51	83,43
<b>Fluoksetin</b>	6	< LOD	261,73	152,66	66,69	159,12	6	< LOD	140,73	65,22	47,36	59,13

N: Bileşiklerin belirlendiği örnek sayısı; SD: standart sapma; Min.: Minimum; Ort. : Ortalama Maks.:Maksimum

Söz konusu maddelerin farmakokinetiklerinin incelenmesi ve bu tür ilaçlarla meydana gelen zehirlenme ve intihar gibi adli olayların aydınlatılması için hassas ve spesifik olarak analizlerinin yapılması büyük önem taşımaktadır.

### 3.6 GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ne göre depresyon, tüm hastalıklar arasında görülme sıklığı açısından dördüncü sırada olan, tedavi edilmediğinde intihar gibi çok ciddi riskleri taşıyan ve yaşam kalitesini bozan önemli bir ruhsal bozukluktur. Depresyon tedavisi için birçok ilaç, bağımsız çalışma ile etkinlikleri kanıtlanarak antidepresan olarak ruhsat almıştır. İşte bu yüzden antidepresanlar yarım asırdan fazla bir süredir kullanılan ilaçlar arasındadır. Depresyonun en dramatik hali intihar olup depresyon vakalarının % 15 kadarı intihar ile sonuçlanmaktadır. Tüm intiharların % 70’i depresyon kaynaklıdır. ABD’ de ölüm nedenleri arasında intihar 7. sırada yer almaktadır. Seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanıldığı 1990 yılından sonraki dönemde intihar oranlarının anlamlı olarak düşmesi, antidepresan ilaç tedavisinin önemini ve antidepresan ilaçların depresyonda ne derece etkili

olduğunu göstermektedir. Antidepresanlar dolaylı ya da doğrudan beyinde noradrenalin, dopamin ve/veya serotoninin etkilerini inhibe ederler. Zehirlenme ve intihar gibi adli olaylarda antidepresanların miktarlarının ve çeşitliliklerinin belirlenmesi bu olayların aydınlatılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, son yıllarda kullanımı hızla yaygınlaşan seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) grubuna ait antidepresanlar olan sertralin, fluoksetin, paroksetin ve essitalopram ile bu gruptan farklı olarak serotonin-noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI) grubuna ait bir antidepresan olan venlafaksin kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında,  $Fe_3O_4$ - $MgSiO_3$  manyetik nanokompoziti, florisil varlığında bazik ortamda  $Fe^{2+}$  ve  $Fe^{3+}$  ün birlikte çöktürülmesi ile başarılı bir şekilde elde edilmiş olup elde edilen manyetik nanokompozit kendi özelliklerini kaybetmeksizin, birçok kez adsorbent olarak kullanılabilme özelliğe sahiptir. Biyolojik numunelerdeki antidepresan ilaçların (venlafaksin, essitalopram, paroksetin, sertralin ve fluoksetin) LC-UV ile analizlerinden önce kullanılan klasik ekstraksiyon metotlarına alternatif olarak bu çalışmada manyetik katı faz ekstraksiyon (MSPE) tekniği kullanılmıştır. Bu tekniğin diğer ekstraksiyon tekniklerine göre uygulansının daha basit ve hızlı olması, ekstra bir organik çözücü kullanılmamasından dolayı ekonomik olması, yüksek geri kazanımlara sahip olması, daha saf süzüntüler elde edilebilmesi ve çok sayıda örneğin aynı anda ve tekrarlanabilir şekilde işlenebilmesine olanak verecek şekilde otomasyon sağlayabilmesi açısından daha avantajlıdır.

Serum ve idrar örneklerinden söz konusu antidepresan ilaçların optimum ekstraksiyon koşullarının (adsorbent miktarı, ekstraksiyon pH'sı ve desorpsiyon çözücü hacmi) belirlenmesi için CCD yöntemine dayanan kemometrik metot kullanılmıştır. İzolasyon işleminde optimum ekstraksiyon koşulları matematiksel eşitliklerden elde edilen 3D cevap yüzeyi ve eşyükselti alanları kullanılarak belirlenmiştir. RSM ile çözülen kuadratik denklemlere göre izolasyon işleminin optimum koşulları; adsorbent miktarı 12.5 mg, ekstraksiyon pH'sı 7.4 ve desorpsiyon çözücü hacmi 1.3 mL olarak belirlenmiştir.

Geliştirilen metodun analitik performansı optimize edilen analiz koşullarında değerlendirilmiştir. Metodun doğrusallığı 10-1000 ng/mL konsantrasyon aralığında incelenmiş ve antidepresanlar için 0.9986 ile 0.9994 arasında değişen belirleme katsayıları ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Metodun algılama limiti (LOD) 1.73 – 5.17 ng/mL, tayin limiti (LOQ) ise 2.88 -8.62 ng/mL arasında değişim gösterdiği bulunmuştur.

Geliştirilen metodun insan serum ve idrar örneklerine uygulanabilirliği araştırılmıştır. Serum ve idrar örneklerine her bir antidepresan ilacın konsantrasyonu 5, 10 ve 50 ng/mL olacak şekilde standart çözelti ilavesi yapılmıştır. Standart çözelti ilavesi yapılan ve yapılmayan örnekler ayrı ayrı analiz edilmiş ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Antidepresanlar için metodun geri kazanım değerlerinin serum örneklerinde % 72 ile % 113, idrar örneklerinde % 75 ile % 115, bağıl standart sapma (RSD) değerlerinin ise serum örneklerinde % 1.42 ile % 3.12; idrar örneklerinde % 1.64 ile % 4.75 arasında değişim gösterdiği bulunmuştur.

Tüm yönleriyle optimize edilen metot, antidepresan ilaç kullanan ve kullanmayan kişilerden toplanan serum ve idrar örneklerine uygulanmış ve bu tür ilaçlardan hiç kullanmamış kişilerin serum ve idrar analizlerinde söz konusu maddelere rastlanmadığı görülmüştür. Ayrıca antidepresan kullanan hastaların çoğunda hedef bileşikler tespit edilmiş ve en yüksek konsantrasyonda belirlenen antidepresan ilacın venlafaksin olduğu bulunmuştur.

Serum ve idrar örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar, önerilen metodun klinik, çevre ve gıda çalışmalarında düşük seviyedeki antidepresanların analizi için güvenilir olarak kullanılabilmesini ortaya koymaktadır. Sentezlenen manyetik nanokompozit, gıda ve çevre gibi çeşitli örneklerdeki organik ve inorganik maddelerin analizinde de kullanılabilir. Ayrıca, hızlı ve uygulaması kolay olan birlikte çöktürme yöntemi ile yeni manyetik nanokompozitler sentezlenebilir. Bununla birlikte bu malzemelerin uygulama alanlarının genişletilebileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Acar M B** (2012) Aktif Karbon Katkılı Zirkonyum-Silisyum Karışık Oksit Jel Kürecikleri ile Stronsiyum Adsorpsiyonunun Merkezi Kompozit Tasarım Yöntemi Kullanılarak İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 98 s.
- Akbaba A, Ova D, Kazar G ve Ulutan S** (2006) Nanoteknolojinin Gıda Ambalajında Uygulanması. *Birinci Polimerik Kompozitler Sempozyumu ve Sergisi*, İzmir, 505-510.
- Akdoğan A ve Küçükıldırım B O** (2006) Nanomalzemeler ve Uygulamaları., *MakinaTek Dergisi*, Bilişim Yayıncılık ve Fuarcılık, 99: 114-117.
- Auquier P, Robitail S, Llorca P M and Rive B** (2003) Comparison of escitalopram and citalopram efficacy: a meta-analysis. *Int. J. Psychiatry Clin. Prac.*, 7: 259-268.
- Başaran E** (2002) Nanoteknoloji: Dünden bugüne Türkiye’de bilim-teknoloji ve geleceğin teknolojileri. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, 379-388.
- Bayındır M** (2009) Nanoteknoloji Hayatımızda. *Bilim ve Ütopya Dergisi*, 12-18.
- Beyaz S** (2009) Süperparamanyetik Nano-Manyetit İçeren Lateks Eldesi ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, 166 s.
- Bezerra M A, Santelli R E, Oliveira E P, Villar L S and Escaleira L A** (2008) Response Surface Methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76: 965-977.
- Birtane Y F** (2009) Sol-Jel Yöntemiyle Alümina/Silisyum Karbür Nanokompozitlerinin Üretimi ve Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 57 s.
- Catai A P F, Carrilho E, Lanças F M and Queiroz M E C** (2009) Fast separation of selective serotonin reuptake inhibitors antidepressants in plasma sample by nonaqueous capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 1216: 5779-5782.
- Celep Ş** (2007) Nanoteknoloji ve Tekstilde Uygulama Alanları. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana, 171 s.
- Chaves A R, Silva S M, Queiroz R H C, Lanças F M and Queiroz M E C** (2007) Stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with UV detection for determination of antidepressants in plasma samples. *J. Chromatogr. B*, 850: 295-302.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Chaves A R, Júnior G C and Queiroz M E C** (2009) Solid-phase microextraction using poly(pyrrole) film and liquid chromatography with UV detection for analysis of antidepressants in plasma samples. *J. Chromatogr. B*, 877: 587-593.
- Chen J, Wang F, Huang K, Liu Y and Liu S** (2009) Preparation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles with adjustable morphology. *J. Alloys Compd.*, 475: 898-902.
- Crane G E** (1957). Iproniazid (Marsilid) Phosphate: A therapeutic agent for mental disorders and debilitating disease. *Psychiatry Res. Rep.*, 8: 142-152.
- Çıracı S** (2008) *Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (UNAM): Türkiye'nin geleceği burada*. Bilkent Üniversitesi Türkiye'nin Nanoteknoloji Mükemmeliyet Merkezi: UNAM Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Enstitüsü.
- Dinç E** (2007) Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27(1): 61-92.
- Dinç E, Üstündağ Ö and Baleanu D** (2010) Simultaneous chemometric determination of pyridoxine hydrochloride and isoniazid in tablets by multivariate regression methods. *Drug Test Anal.*, 2: 383-387.
- Erat M, Öztürk Doğan H, Çiloğlu G, Fidan F ve Cengiz H** (2010) *Kimya alanında nanoteknoloji uygulamaları*. Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu, Düzce.
- Ersöz A (Ed.)** (2010) *Aletli Analiz*. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, 370 s.
- Fan R, Chen X H and Gui Z** (2001) A new simple hydrothermal preparation of nanocrystalline magnetite Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. *Mater. Res. Bull.*, 36: 497-502.
- Farag R S, Darwish M Z, Hammad H A and Fathy W M** (2013) Validated method for the simultaneous determination of some tricyclic antidepressants in human urine samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Int. J. Anal. Bioanal. Chem*, 3(2): 59-63.
- Feighner J P and Cohn J B** (1985) Double-blind comparative trials of fluoxetine and doxepin in geriatric patients with major depressive disorders. *J. Clin. Psychiatry*, 46: 20-25.
- Ferguson J M** (2001) SSRI antidepressant medications: Adverse effects and tolerability. *Primary Care Companion J Clin. Psychiatry*, 3(1): 22-27.
- Fredericson O K, Toft B, Christophersen L and Gylding-Sabroe J P** (1985) Kinetics of citalopram in elderly patients. *Psychopharmacol*, 86: 253-257.
- Frias J, Ma Y Q and Williams K J** (2006) Properties of a versatile nanoparticles platform contrast agent to image and characterize oftherosclerotic plaques by magnetic resonance imaging. *Nano Lett.*, 6: 2220- 2224.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Goldstain A** (1997) *Handbook of Nanophase Materials*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Gound P** (2006) Nanomagnetism shows in vivo potential. *Elsevier*, 1(4): 34-39.
- Gümüşderelioğlu M** (2002) Biyomalzemeler. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Yeni Ufuklara Eki, Temmuz, 20-21.
- Gündüz T** (2005) *İnstrumental Analiz*. 9. Basım, Gazi Kitabevi, Fersa Matbaacılık, Ankara, 1357 s.
- Gürmen S ve Ebin B** (2008) Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri-1. *Metalurji Dergisi*, No. 150, ISSN: 1300-4824, TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası.
- Halvorsen T G, Pedersen-Bjergaard S, Reubsaet J L E and Rasmussen K E** (2003) Liquid-phase microextraction combined with liquid chromatography-mass spectrometry. Extraction from small volumes of biological samples. *J. Sep. Sci.*, 26: 1520-1526.
- Hennion M C** (1999) Solid- Phase Extraction: Method Development, Sorbents and Coupling with Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A*, 856: 3-54.
- Hiemke C and Härtter S** (2000) Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology & Therapeutics*, 85: 11-28.
- Hong R Y, Feng B, Chen L L, Liu G H, Li H Z, Zheng Y and Wei D G** (2008) Synthesis, characterization and MRI application of dextran-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles. *Biochem. Eng. J.*, 42: 290-300.
- Hunt G and Mehta M D** (2006) Nanotechnology: Risk, ethics and law. London, Earthscan.
- ISGUM** (2014) Nanomalzemeler ve Tehlikeleri. (Çev.: M. İstif ve F. Işık Coşkunes) <[http://www.isgum.gov.tr/rsm/file/isgdoc/IG20-nanomalzemeler\\_ve\\_tehlikeleri.pdf](http://www.isgum.gov.tr/rsm/file/isgdoc/IG20-nanomalzemeler_ve_tehlikeleri.pdf) > (Erişim Tarihi: 12 Ekim 2014).
- Jiang W Q, Yang H C, Yang S Y, Horng H E, Hung J C and Chen Y C** (2004) Preparation and properties of superparamagnetic nanoparticles with narrow size distribution and biocompatible. *J. Magnet. Magnet. Mater.*, 283: 210-214.
- Jolivet J P, Chaneac C and Tronc E** (2004) Iron oxide chemistry: From molecular clusters to extended solid networks. *Chem. Commun.*, (5): 481-483.
- Juan H, Zhiling Z and Huandea L** (2005) Simultaneous determination of fluoxetine, citalopram, paroxetine, venlafaxine in plasma by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry (HPLC–MS/ESI). *J. Chromatogr. B*, 820: 33–39.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kalantari K, Bin Ahmad M, Shamelı K and Khandanlou R** (2013) Synthesis of talc/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanocomposites using chemical co-precipitation method. *Int. J. Nanomedicine*, 8(1): 1817-1823.
- Kayır Z Y ve Baççıl E G** (2010) Nanoteknoloji nedir? 15. Uluslararası Metalurji ve Malzeme Kongresi, İstanbul.
- Kirschvink J L, Kobayashi-Kirschvink A and Woodford B J** (1992) Magnetite biomineralization in the human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 7683-7687.
- Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Elst L V and Muller R N** (2008) Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem. Rev.*, 108: 2064-2110.
- Lee S J, Jeong J R, Shin S C, Kim J C and Kim J D** (2004) Synthesis and characterization of superparamagnetic maghemite nanoparticles prepared by co-precipitation technique. *J. Magn. Magn. Mater.*, 282: 147-150.
- Lepola U M, Loft H and Reines E H** (2003) Escitalopram (10-20 mg/day) is effective and well tolerated in a placebo controlled study in depression in primary care. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 18: 211-217.
- Liljegren G** (2005) Development and investigations of novel sample preparation techniques, electrochemical extraction and evaluation of miniaturized analytical devices coupled to mass spectrometry. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 54. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis.
- Lu A H, Salabas E L and Schüth F** (2007) Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization and Application. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46: 1222-1244.
- Mandrioli R, Mercolini L, Ferranti A, Furlanetto S, Boncompagni G and Raggi M A** (2007) Determination of the antidepressant paroxetine and its three main metabolites in human plasma by liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta*, 591: 141-147.
- Martinez-Mera I, Espinosa-Pesqueira M E, Perez-Hernandez R and Arenas-Alatorre J** (2007) Synthesis of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles without surfactants at room temperature. *J. Mater. Lett.*, 61: 4447-4451.
- Massart R and Cabuil V** (1987) Effect of some parameters on the formation of colloidal magnetite in alkaline medium: yield and particle size control. *J. Chim. Phys.*, 84:7.
- Medeiros S F, Santos A M, Fessi H and Elaissari A** (2011) Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications. *Int. J. Pharm.*, 403: 139-161.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Menceloğlu Y Z ve Kırca M B** (2008) *Uluslararası Rekabet Stratejileri: Nanoteknoloji ve Türkiye*. TÜSİAD Rekabet Stratejileri Dizisi-11, Yayın No. TÜSİAD-T/2008-11/474, ISBN: 978-9944-405-47-4.
- Mercolini L, Mandrioli R, Finizio G, Boncompagni G and Raggi M A** (2010) Simultaneous HPLC determination of 14 tricyclic antidepressants and metabolites in human plasma. *J. Sep. Sci.*, 33: 23–30.
- Miller J C, Serrato R, Represas-Cardenas J M and Kundahl G** (2005) *The handbook of nanotechnology: Business, policy, and intellectual property law*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Naschie M S E** (2006) Nanotechnology for the developing world. *Chaos Solitons&Fractals*, 30(4): 769-773.
- NNI** (2014) Size of nano scale. <<http://www.nano.gov/nanotech-101/what/nano-size>>. (Erişim Tarihi: 24 Eylül 2014).
- Örsel S** (2004) Depresyonda tedavi: Genel ilkeler ve kullanılan antidepressan ilaçlar. *Klinik Psikiyatri*, Ek 4: 17-24.
- Özdoğan E, Demir A ve Seventekin N** (2006) Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulamaları. *Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi*, 16(3): 159-163.
- Özer Y** (2008) Nanobilim ve Nanoteknoloji: Ülke Güvenliği/Etkinliği Açısından Doğru Modelin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kara Harp Okulu Savunma Bilimleri Enstitüsü, Teknoloji Yönetimi Anabilim Dalı, Ankara, 197 s.
- Özgür H, Gemici Z ve Bayındır M** (2007) Akıllı Nanoyüzeyler. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Nisan, 52-56.
- Papoutsis I, Khraiwesh A, Nikolaou P, Pistos C, Spiliopoulou C and Athanasis S** (2012) A fully validated method for the simultaneous determination of 11 antidepressant drugs in whole blood by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 70: 557-562.
- Petcharoen K and Sirivat A** (2012) Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. *Materials Science and Engineering B*, 177(5): 421-427.
- Preskorn S H** (1996) *Clinical Pharmacology of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*. Caddo: Professionals Communications, Inc.
- Qian L and Hinestroza J P** (2004). Application of nanotechnology for high performance textiles. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*, 4(1):1-7.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Rao C N R, Müller A and Cheetham A K** (2004) *The chemistry of nanomaterial: Synthesis, properties and applications*. Volume 1, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim.
- Reynolds C F** (2000) *Psychopharmacology: Antidepressants and mood stabilizers*. Kaplan and Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry, BJ Sadock, V Sadock (Ed), 7. Baskı, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, s.3090-3093.
- Safarikova M and Safarik I** (1999) Magnetic Solid-Phase Extraction. *J. Magn. Magn. Mater.*, 194: 108-112.
- Saka C ve Şahin Ö** (2013) Determination of serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor antidepressants in pharmaceuticals and biological material. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 43: 2-34.
- Sayılı G** (2011) Modifiye Edilmiş Silika Kaplı Manyetik Nano Partiküllerin Hazırlanması ve Adsorbent Olarak Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, 74 s.
- Schatzberg A F, Cole J O and DeBattista C** (2003) *Manuel of Clinical Pharmacology*. Fourth Edition, Washington DC, American Psychiatric Publishing, Inc.
- Shamsipur M and Mirmohammadi M** (2014) High performance liquid chromatographic determination of ultra traces of two tricyclic antidepressant drugs imipramine and trimipramine in urine samples after their dispersive liquid-liquid microextraction coupled with response surface optimization. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 100: 271-278.
- Shen W, Aizhi S, Fuqiang Z, Jin W, Wenhuan X, Qian Z and Alex A V** (2011) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles synthesis from tailings by ultrasonic chemical co-precipitation. *Mater. Lett.*, 65: 1882-1884.
- Singh K P, Gupta S, Singh A K and Sinha S** (2011) Optimizing adsorption of crystal violet dye from water by magnetic nanocomposite using response surface modeling approach. *J. Hazardous Materials.*, 186: 1462-1473.
- Skoog D A, Holler F J and Nieman T A** (1997) *Enstrümental Analiz İlkeleri*. 5. Basım, Bilim Yayıncılık, Özkan Matbaacılık, Ankara, 849 s.
- Song Y, Zhao S, Tchounwou P and Liu Y M** (2007) A nanoparticle-based solid-phase extraction method for liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometric analysis. *J. Chromatogr. A*, 1166: 79-84.
- Stevenson D** (2000) Immuno-Affinity Solid-Phase Extraction. *J. Chromatogr. B*, 745: 39-48.
- Tarımcı Ç** (2002) Spektral Analiz Yöntemleri. Ders Notu, Ankara Üniversitesi, Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Tuncer M** (2008) *Protein Saflaştırma 1: Kromatografik Teknikler*. 1. basım, Cem Matbaacılık, Mersin, 265 s.
- Turan M D ve Altundoğan H S** (2011) Use of response surface methods in hydrometallurgical researches. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü, Elazığ*, 50(3): 11-23.
- Uzbay İ T** (2007) *Nöropsikofarmakoloji Rasyonel İlaç Kullanımı*. Yorum Yayıncılık & İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul, 236 s.
- Valcárcel M, Simonet B M and Cárdenas S** (2008) Analytical nanoscience and nanotechnology today and tomorrow. *Anal Bioanal Chem.*, 391:1881–1887.
- Vaswani M, Linda F K and Ramesh S** (2003) Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: A comprehensive review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 27: 85-102.
- Wierucka M and Biziuk M** (2014) Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples. *Trend Anal. Chem.*, 59: 50–58.
- Wikipedia** (2014) Magnetite. <<http://en.wikipedia.org/wiki/Magnetite>> (Erişim Tarihi: 5 Kasım 2014).
- Wu Q, Zhao G, Feng C, Wang C and Wang Z** (2011) Preparation of a graphene-based magnetic nanocomposite for the extraction of carbamate pesticides from environmental water samples. *J. Chromatography A*, 1218: 7936-7942.
- Yalçın H** (2005) Malzeme Analiz Teknikleri. Ders Notu, Cumhuriyet Üniversitesi Jeoloji Mühendisliği Anabilim Dalı, Sivas.
- Yang H H, Zahang S Q, Chen X L, Zhuang Z X, Xu J G and Wang X R** (2004) Magnetite containing spherical silica nanoparticles for biocatalysis and bioseparations. *Anal. Chem.*, 76: 1316-1321.
- Yavuz O ve Aksoy A** (2006) Örnek hazırlamada katı faz ekstraksiyonu metodu. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, Samsun, 20(3): 259-269.
- Yula E ve Deveci Ö** (2010) Nanotıp, mikrodizilimler ve klinik mikrobiyolojide kullanımları. *Dicle Medical Journal*, 37(4): 422-428.
- Yüce N N** (2012) Depresyon Hastalarında Sertralin'in Farmakogenetik Yönden Araştırılması ve Plazma İlaç ve Metabolitinin Tayini. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, 200 s.
- Zief M** (2005) Solid phase extraction for sample preparation. *Phillipsburg: JT Baker*.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

**Zhang D E, Tong Z W, Li S Z, Zhang X B and Ying A L** (2008) Fabrication and characterization of hollow  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanosphere in a microemulsion. *Mater. Lett.*, 62: 4053–5.

**Zhang S, Niu H, Cai Y and Shi Y** (2010) Barium alginate caged  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @C18 magnetic nanoparticles for the pre-concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalate esters from environmental water samples. *Anal. Chim. Acta*, 665: 167–175.

**Zhou L, Ou Q, Zhao S, Geng H, Hao J, Xu Y, Chen H and Chen X** (2012) Self-Templated synthesis of bifunctional  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @ $\text{MgSiO}_3$  magnetic sub-microspheres for toxic metal ions removal. *J. Chem. Eng.*, 180: 121-127.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Merve BERBER, 1988 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Zonguldak'ta tamamladı. 2007 yılında Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazandı. 2012 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaya hak kazandı.

### **ADRES BİLGİLERİ**

Adres : Terakki Mah. Hilal Sok. No:6  
67100 Merkez / ZONGULDAK

Tel : (506) 383 36 67

E-posta : merve\_berber\_67@hotmail.com