



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ NESİL ELEKTROKİMYASAL
SENSÖRLERİN HAZIRLANMASI VE BAZI
SEFALOSPORİN GRUBU ANTİBİYOTİKLERİN
ELEKTROANALİTİK ANALİZLERİNDE
KULLANIMI**

Büşra KAYNAR

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Dilek KUL

TRABZON-2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ NESİL ELEKTROKİMYASAL
SENSÖRLERİN HAZIRLANMASI VE BAZI
SEFALOSPORİN GRUBU ANTİBİYOTİKLERİN
ELEKTROANALİTİK ANALİZLERİNDE
KULLANIMI**

Büşra KAYNAR

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Dilek KUL

TRABZON-2021

ONAY

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Büşra KAYNAR'ın hazırladığı “Yeni Nesil Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması ve Bazı Sefalosporin Grubu Antibiyotiklerin Elektroanalitik Analizlerinde Kullanımı” başlıklı çalışma Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26.11.2021



Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne/...../20..... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

20/09/2021

Büşra KAYNAR

İthaf

Bu doktora tezimi, canım kızım Beren'e ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Analtik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her açıdan desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımda yön gösterici olan danışmanım Prof. Dr. Dilek KUL'a; çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve imkânlarını benimle paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Fatma AĞIN'a; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, dostlukları ve sonsuz destekleri için Arş. Gör. Gökçe ÖZTÜRK ve Nazende Seyhan HADİMLİ'ye; laboratuvar imkânlarından dolayı KTÜ Eczacılık Fakültesi Dekanlığı'na teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tüm hayatım boyunca ilgi ve sevgiyle bana olan desteklerini esirgemeyen aileme ve hayatımı olduğu gibi bu süreci de inancı ve sabrıyla benimle paylaşan değerli eşim Emre KAYNAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Büşra KAYNAR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İç Kapak Sayfası

ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

vi

TABLolar DİZİNİ

x

ŞEKİLLER DİZİNİ

xiii

RESİMLER DİZİNİ

xviii

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xix

ÖZET

xxi

ABSTRACT

xxii

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

3

2.1. Elektrokimya

3

2.2. Elektrokimyasal Sistemler

3

2.3. Elektrokimyasal Hücre Sistemleri

4

2.3.1. Galvanik (Voltaik) Hücreler

4

2.3.2. Elektrolitik Hücreler

5

2.4. Kütle Aktarımı

5

2.5. Elektrokimyasal Yöntemler

6

2.5.1. Potansiyometri

6

2.5.2. Potansiyometrik Titrasyon

7

2.5.3. Voltametri ve Polarografi

7

2.5.3.1. Doğrusal Voltametri

9

2.5.3.2. Dönüşümlü Voltametri

9

2.5.3.3. Puls Yöntemleri

11

2.5.3.4. Sıyırma Yöntemleri

14

2.5.4. Kulometri

15

2.5.5. İletkenlik Ölçümü

15

2.6. Voltametrik Hücreler	16
2.6.1. Çalışma Elektrodu (İndikatör Elektrot)	16
2.6.1.1. Cıva Kökenli Elektrotlar	17
2.6.2.2. Katı Elektrotlar	17
2.6.2.3. Modifiye Elektrotlar	18
2.6.2. Referans Elektrot	19
2.6.3. Karşıt Elektrot	19
2.7. Polimerler	20
2.8. Karbon Nanotüpler	21
2.9. Sefalosporinler	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Kullanılan Maddeler	26
3.1.1. İlaç Etken Maddelerinin Stok Çözeltileri	26
3.1.2. Serum Stok Çözeltileri	26
3.1.3. Sodyum Hidroksit Çözeltisi	27
3.1.4. Britton-Robinson Tampon Çözeltisi	27
3.1.5. Fosfat Tampon Çözeltisi	27
3.1.6. Asetat Tampon Çözeltisi	28
3.1.7. Potasyum Nitrat Çözeltisi	28
3.1.8. Asetonitril	28
3.1.9. Bromkrezol moru	28
3.1.10. Alüminyum Hidroksit	28
3.1.11. Dimetil Formamid	29
3.2. Kullanılan Cihazlar	29
3.2.1. Potansiyostat	29
3.2.2. Elektrot Sistemi	29
3.2.3. pH Metre	30
3.2.4. Saf Su/Ultra Saf Su Cihazı	30
3.2.5. Ultrasonik Banyo	30
3.2.6. Analitik Terazî	30
3.2.7. Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı	30
3.2.8. Vorteks	31
3.2.9. Buzdolabı	31

3.2.10. Mikropipet	31
3.3. Modifiye Elektrotların Hazırlanması	31
3.3.1. CK/PBM Elektrodun Hazırlanması	31
3.3.2. CK/ÇDKNT Elektrodun Hazırlanması	31
3.3.3. CK/PBM/ÇDKNT Elektrodun Hazırlanması	32
3.3.4. CK/ÇDKNT/PBM Elektrodun Hazırlanması	32
3.3.5. Karbon Pasta Elektrodun Hazırlanması	32
3.3.5.1. KP/PBM Elektrodun Hazırlanması	32
3.3.5.2. KP/ÇDKNT Elektrodun Hazırlanması	33
3.4. Voltametrik Çalışmalar	33
3.4.1. Modifiye Elektrodun Seçilmesi ve Deneysel Parametrelerin Belirlenmesi	33
3.4.2. pH Taraması	34
3.4.3. Hız Taraması	34
3.4.4. Kalibrasyon Çalışması	34
3.4.5. İlaç Etken Maddelerinin Farmasötik Dozaj Formlarından Tayini	37
3.4.6. Serum Çalışması	38
4. BULGULAR	40
4.1. Modifiye Elektrodun Seçilmesi	40
4.1.1. Camsı Karbon Elektrot ile Elde Edilen Bulgular	40
4.1.2. Karbon Pasta Elektrot ile Elde Edilen Bulgular	42
4.1.3. CK/PBM Elektrot için Deneysel Parametrelerin Belirlenmesi	45
4.2. pH Taraması	51
4.3. Hız Taraması	61
4.4. Kalibrasyon Çalışması	66
4.5. Farmasötik Dozaj Formlarından Tayin ve Geri Kazanım Çalışması	76
4.6. Serum Çalışması	81
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	94
5.1. Modifiye Elektrodun Seçilmesi	94
5.2. pH Taraması	96
5.3. Hız Taraması	97
5.4. Kalibrasyon Çalışması	98
5.5. Farmasötik Dozaj Formlarından Tayin ve Geri Kazanım Çalışması	103
5.6. Serum Çalışması	104

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	106
7. KAYNAKLAR	109
8. ÖZGEÇMİŞ	124



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Farklı tampon ortamlarında DV kullanılarak gerçekleştirilen bromkrezol morunun elektropolimerizasyonunda elde edilen polimer pik akım oranları	49
Tablo 2. 0.1 M KNO ₃ içerisinde bromkrezol morunun elektropolimerizasyonunda farklı monomer konsantrasyonları için elde edilen polimer pik akım oranları	51
Tablo 3. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	70
Tablo 4. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	70
Tablo 5. CK/PBM elektrot kullanılarak STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	70
Tablo 6. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10 ⁻⁷ M SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	71
Tablo 7. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10 ⁻⁷ M SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	72
Tablo 8. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10 ⁻⁷ M SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	73
Tablo 9. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10 ⁻⁷ M SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	74
Tablo 10. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10 ⁻⁷ M STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	75
Tablo 11. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10 ⁻⁷ M STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	76
Tablo 12. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen farmasötik dozaj formlarından tayin verileri	77
Tablo 13. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen farmasötik dozaj formlarından tayin verileri	78
Tablo 14. CK/PBM elektrot kullanılarak STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen farmasötik dozaj formlarından tayin verileri	79

Tablo 15. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen geri kazanım verileri	80
Tablo 16. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen geri kazanım verileri	80
Tablo 17. CK/PBM elektrot kullanılarak STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen geri kazanım verileri	81
Tablo 18. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT içeren pH 3.0 FT içerisindeki serum çözeltilerinden DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	85
Tablo 19. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ içeren pH 3.0 FT içerisindeki serum çözeltilerinden DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	85
Tablo 20. CK/PBM elektrot kullanılarak STR içeren pH 3.0 FT içerisindeki serum çözeltilerinden DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	85
Tablo 21. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	86
Tablo 22. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	87
Tablo 23. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	88
Tablo 24. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	89
Tablo 25. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	90
Tablo 26. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	91
Tablo 27. CK/PBM elektrot kullanılarak 1.0×10^{-6} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen geri kazanım verileri	92
Tablo 28. CK/PBM elektrot kullanılarak 1.0×10^{-6} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen geri kazanım verileri	92
Tablo 29. CK/PBM elektrot kullanılarak 1.0×10^{-6} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen geri kazanım verileri	93

Tablo 30. SFT için bu tez çalışması ile elde edilmiş kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması	100
Tablo 31. SFZ için bu tez çalışması ile elde edilmiş kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması	101
Tablo 32. STR için bu tez çalışması ile elde edilmiş kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması	102



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.	Galvanik bir hücrenin şematik gösterimi	4
Şekil 2.	Elektrolitik bir hücrenin şematik gösterimi	5
Şekil 3.	Doğrusal voltametrde uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği	9
Şekil 4.	Dönüşümlü voltametrde uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği	10
Şekil 5.	Dönüşümlü voltametri ile elde edilmiş (A) tersinir ve (B) tersinmez voltamogramlar	11
Şekil 6.	Normal puls voltametrde (A) uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram	12
Şekil 7.	Diferansiyel puls voltametrde (A) uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram	13
Şekil 8.	Kare dalga voltametrde uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram	14
Şekil 9.	Bromkrezol morunun kimyasal yapısı	21
Şekil 10.	(A) Tek duvarlı ve (B) çok duvarlı karbon nanotüpler (71)	22
Şekil 11.	(A) Sefotaksim, (B) seftazidim ve (C) seftriakson etken maddelerinin kimyasal yapıları	24
Şekil 12.	pH 4.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT için (a) CK, (b) CK/PBM, (c) CK/ÇDKNT/PBM, (d) CK/ÇDKNT ve (e) CK/PBM/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları	40
Şekil 13.	pH 4.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ için (a) CK, (b) CK/PBM, (c) CK/ÇDKNT/PBM, (d) CK/ÇDKNT ve (e) CK/PBM/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları	41

Şekil 14.	pH 4.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR için (a) CK, (b) CK/PBM, (c) CK/ÇDKNT/PBM, (d) CK/ÇDKNT ve (e) CK/PBM/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları	41
Şekil 15.	pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT için (a) KP, (b) KP/PBM, (c) KP/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları	42
Şekil 16.	pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ için (a) KP, (b) KP/PBM, (c) KP/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları	43
Şekil 17.	pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR için (a) KP, (b) KP/PBM, (c) KP/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları	43
Şekil 18.	pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR için (a) KP ve (b) CK/PBM elektrotları kullanılarak elde edilen DP voltamogramları	44
Şekil 19.	pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR için (a) KP ve (b) CK/PBM elektrotları kullanılarak elde edilen KD voltamogramları	45
Şekil 20.	pH 6.0 FT içerisindeki 0.5 mM bromkrezol moru kullanılarak (A) 50 mV s^{-1} ve (B) 100 mV s^{-1} tarama hızı ile elde edilen 50 döngülü DV eğrileri	46
Şekil 21.	(A) pH 5.0 AT, (B) pH 6.0 FT ve (C) pH 7.0 FT içerisindeki 50 döngülü DV eğrileri (Bromkrezol moru konsantrasyonu: 0.5 mM ve tarama hızı: 100 mV s^{-1})	47
Şekil 22.	(A) 0.1 M KNO_3 , (B) 0.01 M KNO_3 ve (C) 0.01 M KNO_3 içeren pH 6.0 FT ortamlarındaki 50 döngülü DV eğrileri (Bromkrezol moru konsantrasyonu: 0.5 mM ve tarama hızı: 100 mV s^{-1})	48
Şekil 23.	0.1 M KNO_3 içerisindeki (A) 0.2 mM, (B) 0.5 mM ve (C) 0.8 mM bromkrezol morunun 50 döngülü DV eğrileri (Tarama hızı: 100 mV s^{-1})	50

Şekil 24.	(a) pH 2.0 BRT, (b) pH 3.0 FT, (c) pH 4.5 AT, (d) pH 6.0 FT ve (e) pH 8.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin CK/PBM elektrot ile alınmış DV eğrileri (Tarama hızı 100 mV s^{-1})	52
Şekil 25.	(a) pH 2.0 BRT, (b) pH 3.0 FT, (c) pH 4.5 AT, (d) pH 6.0 FT ve (e) pH 8.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin CK/PBM elektrot ile alınmış DP voltamogramları	53
Şekil 26.	(a) pH 2.0 BRT, (b) pH 3.0 FT, (c) pH 4.5 AT, (d) pH 6.0 FT ve (e) pH 8.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin CK/PBM modifiye elektrot ile alınmış KD voltamogramları	54
Şekil 27.	(A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT'nin pH'ya karşı pik potansiyel değişimi	55
Şekil 28.	(A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ'nin pH'ya karşı pik potansiyel değişimi	56
Şekil 29.	(A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR'nin pH'ya karşı pik potansiyel değişimi	57
Şekil 30.	(A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT'nin pH'ya karşı pik akım grafikleri	59
Şekil 31.	(A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ'nin pH'ya karşı pik akım grafikleri	60
Şekil 32.	(A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR'nin pH'ya karşı pik akım grafikleri	61
Şekil 33.	pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin tek döngülü DV eğrileri (Tarama hızı: 200, 150, 100, 75, 50, 25, 10, 5 mV s^{-1})	62

Şekil 34.	pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M SFT için DV ile elde edilen (A) tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p), (B) tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) ve (C) tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafikleri	63
Şekil 35.	pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M SFZ için DV ile elde edilen (A) tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p), (B) tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) ve (C) tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafikleri	64
Şekil 36.	pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M STR için DV ile elde edilen (A) tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p), (B) tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) ve (C) tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafikleri	65
Şekil 37.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 4.0×10^{-8} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M SFT'nin voltamogramları	67
Şekil 38.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 8.0×10^{-8} , (c) 2.0×10^{-7} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M SFZ'nin voltamogramları	67
Şekil 39.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 8.0×10^{-8} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M STR'nin voltamogramları	68
Şekil 40.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri kullanılarak pH 3.0 FT içerisindeki SFT konsantrasyonuna karşı pik akımı grafikleri	68
Şekil 41.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri kullanılarak pH 3.0 FT içerisindeki SFZ konsantrasyonuna karşı pik akımı grafikleri	69
Şekil 42.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri kullanılarak pH 3.0 FT içerisindeki STR konsantrasyonuna karşı pik akımı grafikleri	69

Şekil 43.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 4.0×10^{-7} , (c) 1.0×10^{-6} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen voltamogramlar	82
Şekil 44.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 6.0×10^{-7} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 1.0×10^{-6} , (e) 2.0×10^{-6} ve (f) 4.0×10^{-6} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen voltamogramlar	82
Şekil 45.	(A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 4.0×10^{-7} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 1.0×10^{-6} , (e) 2.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen voltamogramlar	83
Şekil 46.	Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki SFT konsantrasyonuna karşı (A) DPV ve (B) KDV ile elde edilen pik akım grafikleri	83
Şekil 47.	Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki SFZ konsantrasyonuna karşı (A) DPV ve (B) KDV ile elde edilen pik akım grafikleri	84
Şekil 48.	Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki STR konsantrasyonuna karşı (A) DPV ve (B) KDV ile elde edilen pik akım grafikleri	84

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim No</u>	<u>Sayfa</u>
Resim 1. Potansiyostat cihazı	29
Resim 2. (A) Camsı karbon veya karbon pasta elektrot, (B) Ag/AgCl referans elektrot, (C) platin tel karşıt elektrot ve (D) üçlü elektrot sistemi	30



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AT	Asetat tamponu
BM	Bromkrezol moru
BRT	Britton–Robinson tamponu
%BSS	Yüzde bağıl standart sapma
CK	Camsı karbon
ÇDKNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
DV	Dönüşümlü voltametri
DP	Diferansiyel puls
DPV	Diferansiyel puls voltametri
FT	Fosfat tamponu
KD	Kare dalga
KDV	Kare dalga voltametri
KP	Karbon pasta
PBM	Poli(bromkrezol) moru
pH	Hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
S	Standart sapma
SFT	Sefotaksim
SFZ	Seftazidim
STR	Seftriakson
TAS	Tayin alt sınırı
TS	Teşhis sınırı
UK	Birleşik Krallık

Simgeler

A	Amper
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
μ	Mikro
Ω	Ohm

$\bar{X}$	Ortalama değer
E_p	Pik potansiyeli
I_p	Pik akımı
s	Saniye
V	Volt
Formüller	
Ag/AgCl	Gümüş/gümüş klorür
Al(OH)₃	Alüminyum hidroksit
CH₃COOH	Asetik asit (glasiyal)
DMF	N,N-dimetil formamid
H₃BO₃	Borik asit
KNO₃	Potasyum nitrat
H₃PO₄	Fosforik asit
Na₂HPO₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NaH₂PO₄.2H₂O	Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat

ÖZET

Yeni Nesil Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması ve Bazı Sefalosporin Grubu Antibiyotiklerin Elektroanalitik Analizlerinde Kullanımı

Sefalosporin grubu antibiyotiklerden sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun elektrokimyasal analizi poli(bromkrezol moru) ile modifiye edilen camı karbon elektrot kullanılarak gerçekleştirildi. Bunun için öncelikle bromkrezol morunun camı karbon elektrot yüzeyi üzerindeki elektrokimyasal polimerizasyonu için deneysel şartlar optimize edilerek en uygun elektrot modifikasyonu belirlendi. Ardından, sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun kalitatif ve kantitatif analizi dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri yöntemleri kullanılarak yükseltgenme yönünde yapıldı. Dönüşümlü voltametri ile farklı tampon ortamlarında yapılan analizlerde sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun redoks reaksiyonlarının tersinmez olduğu belirlendi. Dönüşümlü voltametri ile yapılan hız taraması çalışmaları, bu ilaç etken maddelerin redoks reaksiyonlarının difüzyon kontrollü olduğunu gösterdi. İlaç etken maddelerin kantitatif analizi için diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri yöntemleri kullanıldı. Elde edilen kalibrasyon grafiklerinin doğrusallık aralıkları sefotaksim için diferansiyel puls ve kare dalga voltametri ile $8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$ M (korelasyon katsayısı 0.998) olarak sırasıyla 1.18×10^{-9} ve 1.46×10^{-9} M teşhis sınırları ile; seftazidim için diferansiyel puls voltametri ile $1.0 \times 10^{-8} - 6.0 \times 10^{-6}$ M (korelasyon katsayısı 0.999) ve kare dalga voltametri ile $8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$ M (korelasyon katsayısı 0.998) olarak sırasıyla 2.03×10^{-9} ve 1.77×10^{-9} M teşhis sınırları ile; seftriakson için diferansiyel puls ve kare dalga voltametri ile $8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$ (korelasyon katsayısı 0.998 ve 0.999) olarak sırasıyla 1.52×10^{-9} ve 1.51×10^{-9} M teşhis sınırları ile belirlendi. Kullanılan yöntemlerin kesinliği tekrar edilebilirlik çalışmaları ile incelendi. Son olarak, ilaç etken maddelerin farmasötik dozaj formlarından ve insan serumundan kantitatif analizi herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan gerçekleştirildi. Sonuç olarak, bu ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal analizleri için duyarlılığı ve seçiciliği yüksek, etkin ve ekonomik modifiye elektrot elde edildi.

Anahtar Sözcükler: Bromkrezol moru, Modifiye elektrot, Sefotaksim, Seftazidim, Seftriakson, Voltametri

ABSTRACT

Preparation of New Generation Electrochemical Sensors and Their Use in Electroanalytical Analysis of Some Cephalosporin Group Antibiotics

Electrochemical analysis of cephalosporin group antibiotics cefotaxime, ceftazidime and ceftriaxone was performed using a glassy carbon electrode modified with poly(bromocresol purple). For this, first of all, the most suitable electrode modification was determined by optimizing the experimental conditions for the electrochemical polymerization of bromocresol purple on the glassy carbon electrode surface. Then, qualitative and quantitative analysis of cefotaxime, ceftazidime and ceftriaxone was performed in the direction of oxidation using cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and square wave voltammetry methods. It was determined that the redox reactions of cefotaxime, ceftazidime and ceftriaxone were irreversible in the analyzes performed in different buffer media by cyclic voltammetry. Scan rate studies performed by cyclic voltammetry showed that the redox reactions of these drug active substances were diffusion-controlled. Differential pulse voltammetry and square wave voltammetry methods were used for the quantitative analysis of the drug active substances. The linearity ranges of the obtained calibration graphs were $8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$ M (correlation coefficient 0.998) for cefotaxime by differential pulse and square wave voltammetry with the detection limits of 1.18×10^{-9} and 1.46×10^{-9} M, respectively; for ceftazidime, $1.0 \times 10^{-8} - 6.0 \times 10^{-6}$ M (correlation coefficient 0.999) by differential pulse voltammetry and $8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$ M (correlation coefficient 0.998) by square wave voltammetry with the detection limits of 2.03×10^{-9} and 1.77×10^{-9} M, respectively; for ceftriaxone, $8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$ M (correlation coefficients 0.998 and 0.999) by differential pulse and square wave voltammetry with the detection limits of 1.52×10^{-9} and 1.51×10^{-9} M, respectively. The precision of the methods used was examined by repeatability studies. Finally, quantitative analysis of the drug active substances from pharmaceutical dosage forms and human serum was performed without any purification. As a result, an efficient and economical modified electrode with high sensitivity and selectivity was obtained for the electrochemical analysis of these drug active substances.

Keywords: Bromocresol purple, Cefotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone, Modified electrode, Voltammetry

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kimyanın bir dalı olan elektrokimya, meydana gelen kimyasal tepkimeleri elektrik enerjisi ve değişkenleri aracılığıyla inceler. Akım, potansiyel, iletkenlik gibi kavramlardan yararlanarak, hem madde karakterizasyonunu hem de gerçekleşen kimyasal tepkimenin karakterizasyonunu yapar. Günümüzde elektrokimyadan pek çok alanda faydalanılmaktadır ve elektrokimya kapsamında geliştirilmiş yöntemlere olan ilgi gün geçtikte artmaktadır.

Voltametrik yöntemler, elektrokimyasal yöntemlerin başında gelmektedir ve çalışma alanı oldukça geniştir. Özellikle yüksek hassasiyetle çalışılması gereken kimyasal madde ve ilaç analizlerinde tercih edilmekte, hızlı ve kesin sonuçlar vermektedir. Bunun için gereken en temel unsur, analiz edilmek istenen maddenin elektroaktif olmasıdır.

Elektroaktif ilaç etken maddelerinin voltametrik yöntemlerle incelenmesi sonucunda reaksiyon mekanizmasının belirlenmesi ve hem ilaç dozaj formlarından hem de biyolojik numulardan miktar tayininin yapılması günümüzde çok önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca elektrokimyasal yöntemlerde, çalışma çözeltilerinin karmaşık ve zaman alıcı ön hazırlık aşamaları gerektirmeden kullanılabilmesi bu yöntemlerin kromatografik ve spektroskopik yöntemlere göre bir üstünlüğü olarak ifade edilebilir (1).

Tez çalışması kapsamında bazı sefalosporin grubu antibiyotiklerin elektrokimyasal analizinin hassas, hızlı ve ucuz bir şekilde yapılması planlanmıştır. Sefalosporin grubu antibiyotikler günümüzde hem oral hem de paranteral yolla oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin yüksek oranda kullanımı hem antibiyotik direncini hem de yan etkilerin görülme sıklığını artırmaktadır. Bu nedenle tedavi etkinliğinin kontrolü ve böylece tedavi programının belirlenebilmesi açısından biyolojik numunelerden antibiyotiklerin hassas ve hızlı bir şekilde analizinin yapılması önemlidir.

Bu tez çalışmasında, camısı karbon elektrot ve karbon pasta elektrot gibi yaygın şekilde kullanılan karbon esaslı elektrotlar, karbon nanotüpler ve polimer filmlerle modifiye edilmiştir. Karbon nanotüp ve polimer filmler elektrotların yüzeylerine üstüste kaplanarak birbirinden farklı modifiye elektrotlar elde edilmiştir (1-3). Ardından, sefalosporin grubuna ait elektrokimyasal olarak aktif bazı ilaç etken maddelerinin (seftriakson, sefotaksim ve seftazidim) analizleri hazırlanan elektrotlarla voltametrik teknikler kullanılarak yapılmıştır. Seçilen ilaç etken maddeleri için bu elektrotlar kullanılarak alınan sonuçlar karşılaştırılmış ve kaydedilmiştir. Bu amaçla, kullanılacak tampon çözelti türü, pH ve potansiyel tarama hızı gibi parametreler her bir ilaç etken maddesi için araştırılmıştır. Parametrelerin

optimizasyonundan sonra dönüşümlü voltametri ile ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal davranışları incelenmiş, ardından herbir etken madde için duyarlılığı en yüksek olan modifiye elektrot seçilerek diferansiyel puls ve kare dalga voltametri teknikleri ile kantitatif analizleri yapılmıştır.

Çalışmada son olarak, valide edilmiş yöntemler kullanılarak seçilen ilaç etken maddelerinin farmasötik dozaj formlarından ve insan serumundan doğruluk çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmayla, basit, hızlı ve ucuz bir şekilde hazırlanarak elde edilen modifiye elektrotlar ve geliştirilen voltametrik yöntemler sayesinde seçilen ilaç etken maddelerinin literatürdeki çalışmalara oranla daha düşük tayin sınırına sahip ve duyarlılığı yüksek analizlerinin gerçekleştirilmesi ve bu etken maddelerin biyolojik numunelerden tayininde kullanılabilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrokimya

Elektrokimya, kimya ve elektrik arasındaki ilişkiyi inceleyen, elektriksel değişkenlerin ölçümünü ve bu ölçümleri kimyasal parametrelerle ilişkilendirebilen bir kimya dalıdır (1, 2). Elektrokimyasal yöntemler, gün geçtikçe kullanım alanı artan ve diğer yöntemlere göre daha çok tercih edilmeye başlanan yöntemlerdir.

Elektrokimyasal yöntemlerde reaksiyon elektrot ve çözelti ara yüzeyinde gerçekleşir. Farklı elektrokimyasal yöntemlerin oluşmasının sebebi, elektrik sinyalinin yõteme göre değişmesidir. Bu yöntemlerde reaksiyon sonucu elde edilen sinyaller pek çok alanda yüksek hassasiyet ile yorumlanabilir ve değeriendirilebilir. Bu nedenle özellikle hassas ölçümlerin yapılmasına imkân sağlayan elektrokimyasal yöntemlere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bunun bir sebebi de yüksek hassasiyetle yapılabilen bu ölçümlerin, çok kısa sürede ve az maliyetle gerçekleştirilebiliyor olmasıdır (1).

Elektroanalitik yöntemlerde potansiyometrik ve potansiyostatik olmak üzere iki çeşit metot vardır. Potansiyometri, akımın sıfır olduğu durumda potansiyelin belirlendiği, yalnızca potansiyel ölçümüne dayanan bir yöntemdir. Akım geçişi olmadan elektrokimyasal değişim açıklanır. Potansiyostatik yöntemlerde ise akım ölçümü yapılır. Elektrot ve çözelti arasındaki yük transferine bakılarak gerçekleştirilen akım ölçümü ile reaksiyon açıklanır. Burada önemli olan ölçülen akımın kantitatif olarak analit hakkında bilgi verebilmesi, analit derişiminin belirlenmesine olanak sağlamasıdır (1).

2.2. Elektrokimyasal Sistemler

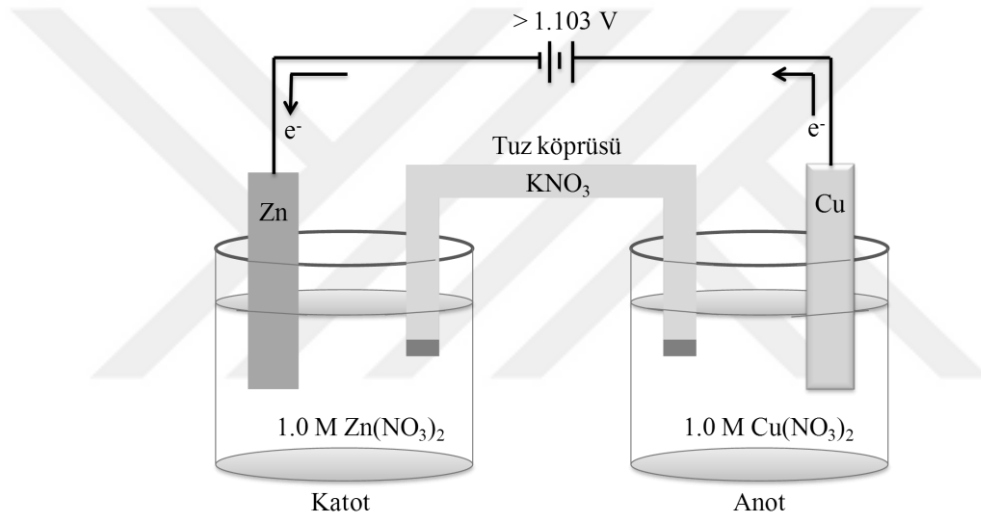
Elektrokimyasal sistemler, elektrokimyasal yöntemlerin kullanılabilmesine imkân tanıyacak şartlarda hazırlanmış sistemlerdir.

Burada, bir elektrokimyasal hücre, hücre içerisinde ise bir elektrolit çözeltisi bulunur. Bu elektrolit çözeltisinde daldırılmış bulunan üçlü veya ikili elektrot sistemi vardır. Üçlü elektrot sistemi bir çalışma elektrodu, bir referans elektrot ve bir yardımcı (karşıt) elektrottan oluşur. İkili elektrot sisteminde ise karşıt elektrot bulunmaz, sadece çalışma elektrodu ve referans elektrot bulunur. Çalışma elektrotları, yüzeyinde indirgenme/yükseltgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği elektrotlardır (1). Elektrot sistemlerinin voltametriadaki çeşitliliği ve açıklamaları tezin içeriğinde mevcuttur (Bölüm 2.6).

2.3.2. Elektrolitik Hücreler

Elektrolitik bir hücrenin çalışması için dışarıdan elektrik enerjisi alması gereklidir. Burada reaksiyonlar kendiliğinden oluşmaz, yani istemli değildir.

Elektrolitik hücrelerde sistem galvanik hücrelerin tam tersidir. Katot çözeltisi anot, anot çözeltisi katot olmuştur. Yapısal olarak galvanik hücrelere çok benzerler. Aynı şekilde anot ve katot arasındaki elektron geçişini sağlamak için tuz köprüsü konumlandırılmıştır. Buradaki fark, dışarıdan belli bir miktarda potansiyel uygulanması ve hücredeki devrenin bu sayede tamamlanmasıdır (1). Şekil 2’de elektrolitik bir hücre şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. Elektrolitik bir hücrenin şematik gösterimi

2.4. Kütle Aktarımı

Elektrokimyasal tepkimelerin elektrot yüzeyinde gerçekleşmesi için elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine bazı yollarla taşınması gerekir. Bu taşınma işlemi kütle aktarımı ve bazı elektron aktarımı sağlayan süreçlerle gerçekleşmektedir. Deneyin seyrini etkileyen bu yollardan hangisinin gerçekleşeceği deneyde kullanılan elektroaktif maddenin türüne, deneyin yapıldığı ortama ve bunların dışında pek çok değişkene bağlıdır.

Kütle taşınması difüzyon, konveksiyon ve elektriksel göç (migrasyon) olmak üzere üç farklı yolla gerçekleşir (1):

- Difüzyon, kendiliğinden gerçekleşen bir kütle taşınmasıdır. Bu yolda yüksek konsantrasyonda madde içeren bölgeden düşük konsantrasyondaki bölgeye kendiliğinden madde geçişi olur. Bu da çözeltilerden elektroda doğru kütle aktarımı ile gerçekleşir. Difüzyon, konsantrasyon farkına, yükseltgenen/indirgenen maddenin ve çözücünün türüne bağlıdır. Difüzyon hızı (D) Cottrell eşitliği ile verilir (1):

$$i = nFAC \sqrt{D} / \sqrt{\pi t} \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Burada i difüzyon akımı (μA), n elektron sayısı, F faraday sabiti (96 500 C), A elektrot alanı (cm^2), C çözelti derişimi ($mol L^{-1}$), D difüzyon sabiti ($cm^2 s^{-1}$) ve t zaman (s)'dir.

- Konveksiyon, kütle aktarımında kütlenin taşınmasının kendiliğinden olmadığı, belli bir karıştırma ya da titreşim sağlanarak elektrot yüzeyine madde taşınmasının sağlandığı bir yoldur.

- Elektriksel göç (migrasyon), anot ile katot arasındaki gerilim farkından dolayı oluşan elektriksel alanda iyonların zıt yüklü elektrotlara doğru göç etmesidir. Burada iyonun yükü ve büyüklüğü önemlidir.

2.5. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler, elektrik akımı ve potansiyelinden yararlanılarak farklı yapıdaki bir çok maddenin kalitatif ve kantitatif ölçümüne imkan sunan oldukça kullanışlı yöntemlerdir. Elektrokimyasal yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen analizlerin çok kısa sürede sonuç vermesi, yüksek hassasiyet ve duyarlılıkla gerçekleştirilebilmesi de bu yöntemlerin farklı alanlarda kullanılmasını sağlamaktadır (1, 3).

Elektrokimyasal yöntemler başlıca potansiyometri, potansiyometrik titrasyon, voltametri, kulometri ve iletkenlik ölçümü olarak sınıflandırılabilir.

2.5.1. Potansiyometri

Potansiyometri, elektrokimyasal bir hücreden akım geçmediği durumdaki potansiyel ölçümüne dayanan elektrokimyasal bir yöntemdir. Potansiyel ölçümü referans elektrottan faydalanılarak yapılır ve elektrokimyasal hücredeki akım sıfırdır.

Potansiyometrik yöntemlerin en önemli özelliği potansiyel ölçümü sayesinde analiz edilen maddenin kalitatif ve kantitatif analizine imkan sağlamasıdır. Yapılan analiz oldukça

hassas ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilebildiğinden, bu durum geçmiş yıllardan günümüze potansiyometrik yöntemlerin ilaç analizlerinde tercih edilmesine sebep olmuştur (3, 4).

Potansiyometri sayesinde sadece potansiyel değişimi incelenerek, çözeltide gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonlar ve değişimler açıklanabilmektedir.

2.5.2. Potansiyometrik Titrasyon

Potansiyometrik titrasyon, titrant ilavesi yapılarak çözeltilerin potansiyelinin ölçümüne dayalı bir potansiyometri yöntemidir (3). Belli miktarlarda titrant eklenerek çözeltinin gerilim değeri ölçülür ve eklenen titrant hacmine karşı gerilim değeri grafiğe geçirilir. Buradan da diğer titrasyon yöntemlerinde olduğu gibi dönüm noktası tayini yapılır.

Dönüm noktası tayininin doğru bir şekilde yapılabilmesi için eşdeğerlik noktasının yakınlarında titrant ilavesi çok hassas bir şekilde yapılmalıdır. Dönüm noktası tayini hassas olarak yapılabildiğinden bu yöntem kullanılarak elde edilen sonuçların doğruluk ve kesinlik değerleri oldukça yüksektir ve bu nedenle potansiyometrik titrasyon yöntemi ilaç analizlerinde de kullanılmaktadır (5).

2.5.3. Voltametri ve Polarografi

Voltametri, akım şiddeti ve derişim ilişkilerinin çeşitli elektrotlar kullanılarak incelenmesine dayanan ve elektroaktif maddelerin karakterizasyonunun yapılmasını sağlayan bir elektroanalitik yöntemdir.

Voltametrik tekniklerde çok düşük konsantrasyondaki maddelerin kalitatif ve kantitatif tayini hassas, duyarlı ve çok kısa sürede yapılabilir (6). Bunun yanı sıra bu yöntemler kullanılarak analizler çok daha düşük maliyetle gerçekleştirilebilmekte ve karışımların analizleri hiçbir ön ayırma işlemi gerektirmeksizin yapılabilir. Son yıllarda voltametrik tekniklerin sıkça kullanılmasının ve bu tekniklere olan ilginin günden güne artmasının temel sebepleri bunlardır.

Voltametri, elektroaktif maddelerin uygun koşullarda ve hedeflenen amaç doğrultusunda akım-potansiyel eğrilerini inceler. Bu teknikte ikili ya da üçlü elektrot sistemi bulunur. İkili elektrot sistemlerinde elektrokimyasal hücrede bir çalışma elektrodu bir de buna referans olarak kullanılacak bir referans elektrot bulunur. Bu şekilde yapılan ölçüme *doğrudan ölçüm* denir.

Üçlü elektrot sistemlerinde ise bir çalışma elektrodu, bir referans elektrot, bir de önceki sisteme ek olarak yardımcı (karşıt) elektrot bulunur. Günümüzde yapılan analizlerde genellikle üçlü elektrot sistemi kullanılır. Yapılan analiz ile akım ölçülür. Ölçülen akım değeri, uygulanan potansiyel değerine karşı grafiği çizilir. Bu yöntemle oluşturulan eğrilere *voltamogram* denir.

Voltametrik teknikler pek çok çeşit analizde tercih edilmektedir. Bu tekniklerin en önemli özelliği çok düşük konsantrasyondaki maddelerin (10^{-10} - 10^{-12} M) tayinine olanak tanımasıdır (3). Özellikle çok düşük konsantrasyonlara inilebilmesi, duyarlı, hassas ve hızlı bir şekilde analizin gerçekleştirilmesi ve sonuçların güvenilirliği ilaç analizleri gibi doğrudan insan sağlığıyla ilgili analizler için çok önemlidir. Tüm bu avantajlar doğrultusunda son yıllarda ilaçlardaki etken maddeler üzerindeki çalışmalarda voltametrik teknikler önemli bir yer tutmaktadır (7-10).

Voltametrik tekniklere olan ilginin artışının temel nedenleri analizlerin oldukça kısa sürede, az numune kullanılarak, düşük maliyetle ve yüksek duyarlılıkla gerçekleştirilebilmesidir (11). Ayrıca, bu analizler yapılırken numuneleri ön işleme tabi tutmak gerekmemekte, karışımların analizi ise hiçbir ayırma işlemi gerekmeksizin yapılabilmektedir. Genel olarak bakıldığında bu teknikler hem uygulama kolaylığı hem de zaman açısından üstünlüğe sahip olduğundan son yıllarda sıklıkla tercih edilmektedir. Voltametrik teknikler doğrusal voltametri, dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri olarak dört başlık altında incelenebilir.

Polarografi, voltametrde çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlarda kullanılan voltametrimin en önemli alt dallarından biridir. Polarografik yöntemlerde polarize olan çalışma elektrodu kullanılarak uygulanan potansiyele karşı akım grafikleri elde edilir ve bu grafiklere *polarogram* denir. Polarogramlar incelenip yorumlanarak kısa sürede hassas ve doğru sonuçlar elde edilir.

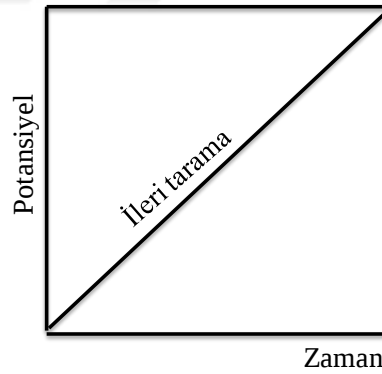
Polarografik yöntemlerde en çok kullanılan elektrot damlayan cıva elektrottur. Belli aralıklarla, belli bir hızda damlatılan cıva elektrot kullanılarak ölçülen akım, kalitatif ve kantitatif analizlerin gerçekleştirilmesini sağlar. Damlayan cıva elektrot her damla ile yeni bir elektrot yüzeyi oluşturduğundan elektrodun davranışı daha önceki durumdan bağımsız olur. Bu elektrodun aksine diğer katı metal elektrotları, yüzeylerinde adsorplanmış veya birikmiş safsızlıkların bulunması durumunda oldukça düzensiz davranış gösterirler.

Bazı tayinler için en iyi yöntem olmasına rağmen polarografinin birkaç sınırlaması bulunmaktadır. Bunların en önemlisi, cıvanın $+0.2$ V'dan yüksek potansiyellerde oksidasyona uğraması ve bu nedenle pozitif potansiyel bölgesinde çalışmaya uygun olmamasıdır. Ayrıca cıvanın toksik etkilerinden ve biyolojik numunelerle çalışılırken damlayan cıva elektrodun proteinlerle reaksiyon vererek tıkanmalara neden olmasından dolayı son yıllarda bu elektrodun kullanımı oldukça sınırlanmıştır (12-15).

2.5.3.1. Doğrusal Voltametri

Doğrusal voltametri, elektrokimyasal hücreye belli bir süre uygulanan potansiyelin doğrusal bir şekilde arttırıldığı voltametrik yöntemidir. Doğrusal voltametri ilk bulunan ve uygulanan voltametri çeşididir. Uygulama kolaylığı ve çalışma mekanizması bakımından diğer voltametrik yöntemlere göre çok daha basittir. Doğrusal olarak arttırılan potansiyelin sonucu olarak elde edilen akım değerleri, zamana karşı kaydedilir. Böylece zamana karşı potansiyel grafikleri (Şekil 3), yani voltamogramlar elde edilir (1, 3).

Önceki dönemlerde sıklıkla tercih edilen doğrusal voltametri, zamanla geliştirilmiş alternatif kullanışlı yöntemler nedeniyle eskisi kadar kullanılmamaktadır.

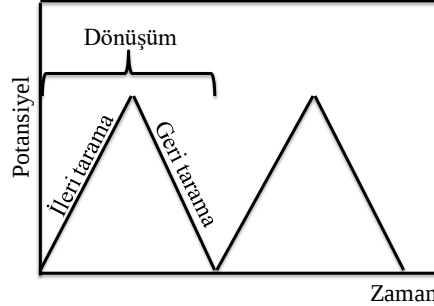


Şekil 3. Doğrusal voltametriye uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği

2.5.3.2. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri (DV), elektroanalitik yöntemlerde sıklıkla kullanılan önemli bir tekniktir. Dönüşümlü voltametri yöntemiyle potansiyel belli bir değere çıkarılır ve ardından ya ilk değere ya da başka bir değere döndürülür. Burada, uygulanan potansiyele karşı akım ölçülür. Ölçülen değerlerden faydalanan potansiyel-akım grafiği elde edilir.

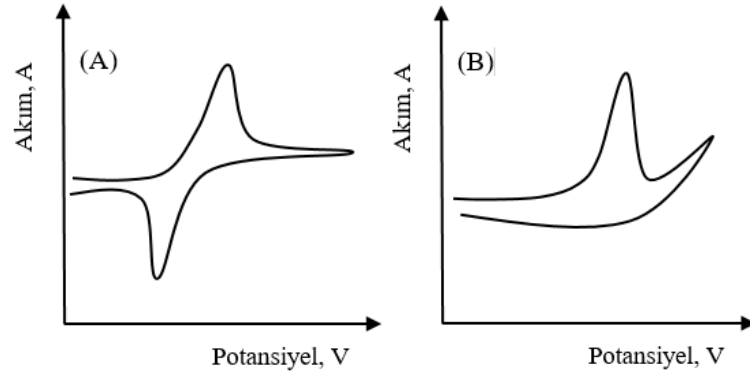
Şekil 4'te bu voltametrik teknik ile uygulanan potansiyelin zamanın fonksiyonu olarak değişimi gösterilmiştir (1, 3, 16).



Şekil 4. Dönüşümlü voltametriye uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği

Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elektron transferlerinin kinetiği gösterilebilmektedir. Bununla beraber bu teknik, adsorpsiyon süreçleri hakkında da bilgi verir. Reaksiyonun ilerleme yönünü, maddeye ait olduğu düşünülen pikin düzgün ve ölçülebilir olup olmadığını gösterir.

Bu voltametri yöntemi ile çalışılan madde pikinin anodik mi yoksa katodik mi olduğu kolayca anlaşılır. Ayrıca, elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun tersinir ya da tersinmez olduğu da belirlenir. Pozitif alanda çıkan pik daima anodik, negatif alanda çıkan pik ise daima katodiktir. Eğer sadece anodik ya da sadece katodik yönde pik varsa, bu tür bir reaksiyon tersinmez, yani geri dönüşümsüzdür. Hem anodik hem de katodik yönde pik varsa, reaksiyon tersinir, yani geri dönüşümlüdür. Böylece elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun mekanizması çözümlenebilir. Şekil 5'te dönüşümlü voltametri kullanılarak elde edilmiş örnek voltamogramlar gösterilmiştir (17). Şekil 5A'da verilen voltamogram hem anodik hem de katodik yönde pik vermiştir. Bu durum, elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun tersinir olduğunu gösterir, yani reaksiyon çift yönlüdür. Ancak ikinci voltamogramda (Şekil 5B) sadece anodik yönde pik bulunmaktadır. Bu durum ise reaksiyonun tersinmez, yani tek yönlü olduğunu gösterir.



Şekil 5. Dönüşümlü voltametri ile elde edilmiş (A) tersinir ve (B) tersinmez voltamogramlar

Dönüşümlü voltametri temelde kullanılan bir tekniktir ve analizini yapmak istediğimiz maddenin elektroaktif grup içerip içermediğini belirlemek için sıklıkla kullanılmaktadır. Sonucun oldukça hızlı bir şekilde elde edilmesi, bu yöntemin tercih edilmesinin en önemli nedenidir. Bu yöntem, puls yöntemlerine göre daha az hassasiyette olması nedeniyle genellikle maddelerin kalitatif analizlerinde kullanılır. Bu nedenle, bir maddenin hem kalitatif hem de kantitatif analizi için yeterli değildir. Gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonun niteliği hakkında bilgi vermesi, reaksiyon mekanizmasını açıklayabilmesi sebebi ile ön denemeler dahil tüm analiz süresince kullanılır ve pek çok açıdan yapılan deneyler süresince analize yol gösterir (3, 11).

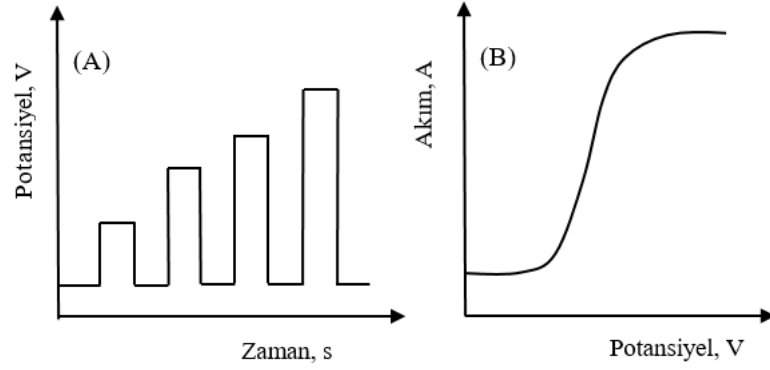
2.5.3.3. Puls Yöntemleri

Doğrusal taramalı voltametri metodunun yavaş ve düşük hassasiyette olması sebebiyle, bu metodun yerine kullanılması için geliştirilmiş yöntemlerdir. Bu teknikler ilk olarak damlayan cıva elektrot için geliştirilmiş, ardından diğer elektrotların kullanıldığı sistemlerde de uygulanmıştır.

Bu tekniklerde önemli olan, akımın uygulanan pulstan sonra ölçülmesidir. Başka bir deyişle, puls teknikleriyle artık akım giderilebilmektedir. Bu durum, yapılan analizin duyarlılığını artırmaktadır. Puls voltametri teknikleri temel olarak normal puls voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri olmak üzere üçe ayrılır (1).

- *Normal puls voltametri (NPV)* yönteminde bir başlangıç potansiyeli seçilir. Bu değerden itibaren belli aralıklarla basamak basamak pulslar uygulanır. Basamaklar arasındaki fark ise daima eşittir. Uygulanan pulslara karşı akım değerleri okunur. Uygulanan pulslar neticesinde elde edilen ardışık dalgalar bir süre sonra sabitlenir, yani akım değeri

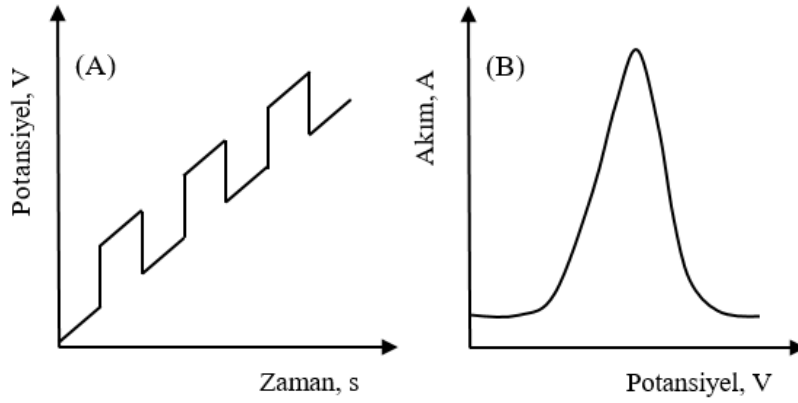
artmaz. Normal puls voltametrinde voltamogram dalga şeklinde ya da pik şeklinde alınabilir (Şekil 6).



Şekil 6. Normal puls voltametrinde (A) uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram

Bu voltametrik yöntem özellikle analiz edilmek istenen elektroaktif maddenin veya reaksiyon sonucu oluşan ürünün adsorpsiyon özelliği hakkında bilgi verir. Genel olarak bu metot, üzerinde çalışılan maddenin kullanılan çalışma elektrodunun yüzeyinde ne derece adsorbe olduğunun kesin olarak ve kolay bir şekilde belirlenmesine olanak sağlar. Bu yöntemin tek olumsuz tarafı ölçüm esnasında kapasitif akımın önemli ölçüde giderilip sıfıra yaklaşılması, ama buna rağmen tamamen giderilememesidir (3). Bu da yöntemin duyarlılığını az miktarda etkilemektedir.

- *Diferansiyel puls voltametri (DPV)*, NPV’de tam olarak giderilememiş olan kapasitif akımın giderilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu yöntemde akım iki kez ölçülmekte ve tüm puls tekniklerinde olduğu gibi belli bir aralıkla puls uygulanmaktadır. Tam olarak pulsun başladığı anda ve pulsun bitmesine yakın akım değerleri ölçülerek farkı alınır. Bu da duyarlılığı yüksek oranda arttırmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7. Diferansiyel puls voltametrinde (A) uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram

Diferansiyel puls voltametri kullanılarak uygulanan potansiyele karşı akım grafikleri çizilir. Elde edilen voltamogramın içerdiği pikler, pik potansiyelleri, piklerin şekli ve akım yükseklikleri gibi pek çok parametre incelenerek analiz edilen maddenin elektrokimyasal analizi kolaylıkla yapılabilir.

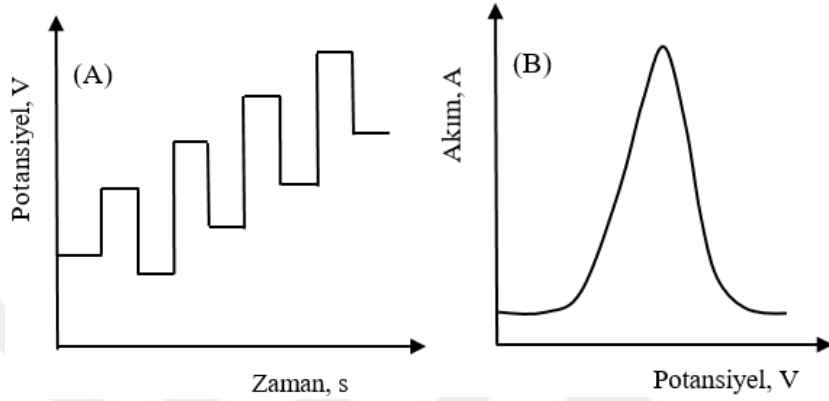
Diferansiyel puls voltametri yöntemi hem kalitatif hem de kantitatif ölçümlerde kullanılmaktadır ve günümüzde yapılan elektrokimyasal analizlerde yüksek oranda tercih edilmektedir. Bunun en önemli nedeni bu yöntemin yüksek duyarlılıkta olmasıdır. Özellikle ilaç analizleri gibi düşük madde konsantrasyonlarının önemli olduğu analizlerde sıklıkla kullanılmaktadır (18-21).

Diferansiyel puls voltametrinde elde edilen piklerin oldukça belirgin, simetrik ve düzgün olması gerekir. Bunun nedeni, kantitatif analiz yapılırken doğrudan pik yüksekliğinin ölçülmesidir. Bu teknikle, çözeltilerde oldukça düşük konsantrasyonda bulunan elektroaktif maddelerin miktarı yüksek duyarlılıkla pratik bir şekilde tayin edilebilmektedir.

- *Kare dalga voltametri (KDV)* pek çok yönden diferansiyel puls yöntemine benzer. Çalışma elektrodu üzerine simetrik kare dalgalar şeklinde bir potansiyel uygulanır. İleri ve geri yönde uygulanan pulsların bitişlerinde akım değerleri ölçülerek farkı alınır. Böylece kapasitif akım giderilmiş, duyarlık artırılmış olur (Şekil 8).

Kare dalga voltametrinin diferansiyel puls voltametriden en büyük farkı oldukça hızlı bir teknik olmasıdır. Diferansiyel puls voltametrinde voltamogramlar ortalama üç dakikada elde edilirken kare dalga voltametrinde birkaç saniye içinde elde edilebilmektedir. Çok düşük

konsantrasyonlarda bile hassas ve doğru analize olanak sağladığı için pek çok analizde tercih edilmektedir (22-25). Ayrıca, kare dalga voltametri yönteminde net akım hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyük olduğundan, voltametrik pik genellikle oldukça kolay okunmaktadır. Bu da, yöntemin doğruluğunu artırmakta ve diferansiyel puls voltametri yönteminden daha yüksek duyarlılığın elde edilmesini sağlamaktadır.



Şekil 8. Kare dalga voltametrinde (A) uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram

2.5.3.4. Sıyırma Yöntemleri

Sıyırma voltametrisi temel olarak elektroaktif bir maddenin elektrodun yüzeyinde biriktirilerek tayin edilmesi işlemini kapsamaktadır. Burada önemli olan, madde biriktirilirken uygulanacak potansiyelin hangi yönde taranması gerektiğidir. Sıyırma işlemi anotta olacaksa potansiyel anodik, katotta olacaksa katodik yönde taranır.

Anodik sıyırma voltametrisi genellikle metal tayinleri için oldukça kullanışlıdır. Bunun nedeni eser miktar ölçümlerine, yani oldukça düşük konsantrasyonlarda tayin yapılabilmesine olanak tanınmasıdır (26). Bu yöntemde negatif yönde potansiyel uygulanır ve tayin edilmek istenen analitin çalışma elektrodu üzerinde birikmesi sağlanır. Ardından da pozitif yönde potansiyel uygulanarak birikmiş ve toplanmış analitin elektrot yüzeyinden birikmiş türlerin oksidasyonu sağlanır. Bu işlemler yapıldıktan sonra voltamogramda çözelti içerisindeki analit konsantrasyonunun ölçülmesini sağlayacak olan pikler elde edilir. Elde edilen piklerin yüksekliği ölçülerek çözelti içerisinde bulunan elektroaktif maddenin kantitatif analizi oldukça hassas bir şekilde yapılır.

Katodik sıyırma voltametrisinde, anodik sıyırma voltametrisinde yapılan işlemin tersi yapılır. İlk önce pozitif yönde potansiyel uygulanır. Ölçülmek istenen analitin elektrot yüzeyinde tuz oluşturması sağlanır. Ardından, oluşan tuzun yüzeyden indirgenerek ayrılması için negatif yönde potansiyel uygulanır. Böylece sıyırma işlemi gerçekleştirilmiş olur (27, 28).

Adsorptif sıyırma voltametrisinde genelde modifiye elektrotlar kullanılır. Burada ölçülmek istenen maddenin elektrot yüzeyinde adsorplanmasının sağlanması çok önemlidir. Bunun için çalışma elektrodu sürekli karıştırılan bir analit çözeltisine daldırılır. Bu şekilde elektrot yüzeyinde analitin birikmesi, diğer sıyırma yöntemlerindeki gibi elektrolitik olarak değil, fiziksel adsorpsiyonla meydana gelir. Biriktirme basamağından sonra karıştırma durdurulur ve birikmiş madde doğrusal taramalı ya da puls voltametri tekniklerinden biri ile tayin edilir. Adsorptif sıyırma voltametrisi analizlerin modifiye elektrotlar yardımıyla çok daha yüksek hassasiyetle gerçekleştirilmesine imkân sağladığından, ilaç analizlerinde kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (29, 30).

2.5.4. Kulometri

Analitin nicel olarak farklı bir yükseltgenme basamağına dönüştürülmesi için gereken elektrik yükü miktarının ölçülmesine *kulometri*, bu yolla yapılan analiz yöntemlerine ise *kulometrik yöntemler* denir. Kulometrik yöntemlerde analiz yapılırken, analit kütlesi ile ölçülen büyüklük arasındaki orantı katsayısı fiziksel sabitlerden türetildiğinden bu yöntemlerde kalibrasyon standartlarına ihtiyaç duyulmamaktadır. Ayrıca kulometrik yöntemlerin en önemli avantajı oldukça hızlı ve doğru analize imkan tanınmasıdır.

Kulometrik yöntemler, voltametrik yöntemler kadar hassas analiz yapılmasına olanak vermeleri sebebiyle, yüksek duyarlılık gerektiren ilaç analizlerinde de kullanılmaktadır (31). Bunun yanı sıra, pek çok kimyasal madde ve metallerin miktar tayinleri için de kulometri yöntemi tercih edilmektedir (32-34).

2.5.5. İletkenlik Ölçümü

Bir maddenin akım taşıma kapasitesine *iletkenlik* denir. İletkenlik, elektriğin madde üzerinde taşınabilmesi, iletilmesi anlamına gelir. Elektrokimya, doğrudan elektrik enerjisi ile ilişkili olduğundan elektrokimyasal yöntemler için iletkenlik çok önemlidir. Çözeltilerin iletkenliği genel olarak, çözelti içindeki maddelerin yoğunluğuna ve pozitif ve negatif iyonların çözelti içindeki konsantrasyonlarına bağlıdır. Bunların dışında çözeltideki

maddelerin çözünme durumları ve sıcaklık gibi diğer faktörler de iletkenlik üzerinde etkilidir.

İletkenlik ölçümleri çözeltilerin analizi ve içerdikleri toplam tuz miktarı tayinleri için yapılmaktadır. Ayrıca elektrokimya kapsamındaki ilaç analizlerinde ilaçların kalitatif ve kantitatif tayinleri yapılırken HPLC ve elektroforez gibi yöntemlerde de iletkenlik ölçümlerinden yararlanılmaktadır (35, 36).

2.6. Voltametrik Hücreler

Voltametrik hücreler, elektrokimyasal ölçümlerin alınmasını sağlayan elektrot sistemi ve voltametik kabı içeren sistemlerdir. Yapılacak analize göre elektrot sistemi ikili veya üçlü sistem şeklinde kullanılabilmekte ve tüm elektrotlar analizlerin gerçekleşmesine olanak sağlayan bir voltametrik kap içerisinde bulunmaktadır.

Voltametrik kap, analitle reaksiyona girmemeli, adsorpsiyon özelliği olmamalı veya oldukça düşük olmalı ve yapılan analizin sonuçlarını etkilememelidir. Günümüzde elektrokimyasal analizlerde kullanılmak üzere cam, kuvars ve polietilen gibi farklı maddelerden yapılan voltametrik kaplar mevcut olup, hangi tür voltametrik kabın kullanılacağı yapılacak analize göre değişmektedir.

Elektroanalitik çalışmalarda kullanılan elektrotların çeşitliliği her geçen gün artmakta ve mevcut elektrotların özellikleri ise geliştirilmektedir. Bu sayede, yapılan analizlerin daha hızlı, doğru ve kesin sonuçlarla gerçekleştirilmesi mümkün olmaktadır. Voltametrik analiz hücreleri genellikle çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı elektrodu içeren üçlü elektrot sisteminden oluşmaktadır (1, 3).

2.6.1. Çalışma Elektrodu (İndikatör Elektrot)

Çalışma elektrodu, analiz süresince yüzeyinde yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının meydana geldiği elektrottur (1). Voltametrik analizlerde kullanılan polarize çalışma elektrotlarının elektroaktif yüzeyinin geniş olması, ölçümlerin daha duyarlı ve doğru olmasını sağlayacağından oldukça önemlidir.

Voltametrik analizlerde son yıllarda giderek artan çeşitlilikte çalışma elektrotları kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan, ticari olarak satın alınabilen elektrotların yanı sıra, modifiye elektrotlar da mevcuttur. Böylece, farklı elektrokatalitik özelliklere sahip çalışma elektrotları ile analizi yapılmak istenen maddelerin oldukça düşük konsantrasyonlarda doğru, hassas ve seçici bir şekilde tayin edilmesi mümkün olmaktadır.

Çalışma elektrotları çok çeşitli maddelerle modifiye edilebilmektedir. Bu sayede, elektroaktif yüzey alanları genişlemekte ve elektrokatalitik özellikleri artmaktadır. Böylece, analizi yapılmak istenen maddelerin daha hassas ve seçici bir şekilde tayin edilebilmeleri için o maddeye özgü modifiye elektrotların geliştirilebilmesi de mümkün olmaktadır.

Çalışma elektrotları genel olarak cıva kökenli elektrotlar, katı elektrotlar ve modifiye elektrotlar olmak üzere üç başlık altında toplanabilir.

2.6.1.1. Cıva Kökenli Elektrotlar

Cıva kökenli elektrotlar, geniş bir katodik çalışma aralığında sonuç veren ve oldukça yüksek potansiyellere çıkabilen elektrotlardır ve bu nedenle voltametrik analizlerde tercih edilmektedir (37-39).

Damlayan, asılı ve cıva film elektrot gibi çeşitli türleri bulunan cıva elektrotlardan hangisinin kullanılacağına, analizi yapılacak maddeye, voltametrik yöntem ve deney şartlarına göre karar verilmektedir.

Cıva elektrotların geniş bir çalışma aralığı sunmak ve özellikle metallerin tayininde oldukça hassas sonuçlar vermek gibi üstün özelliklerine rağmen, bazı dezavantajları nedeniyle zamanla kullanımı azalmıştır. Bu dezavantajlardan en önemlisi cıvanın toksik olması ve bu nedenle çevre kirliliğine sebep olarak insan sağlığına zarar vermesidir. Bunun haricinde, damlayan cıva elektrot kullanılarak oldukça hassas tayinlerin yapılması gereken analizlerde her ölçümde üretilen damla miktarının tam olarak aynı olmaması durumunda elde edilen verilerin güvenilirliğinde sorunlar oluşabilmektedir.

2.6.1.2. Katı Elektrotlar

Katı elektrotlar, platin ve altın gibi metal elektrotlar, karbon kökenli elektrotlar ve dönen disk elektrotlar olarak sınıflandırılabilir.

Metal elektrotlar iletkenlikleri oldukça yüksek olan elektrotlardır ancak, diğer katı elektrotlara göre daha pahalı olduklarından kullanımları sınırlıdır. Platin ve altın elektrotlar metal elektrotlar arasında günümüzde de en sık tercih edilen elektrotlardır. İletkenlikleri oldukça yüksek olan platin elektrotlar, oksitlenebilme durumlarından dolayı uzun süreli analizlerde kullanıma uygun değildir. Altın elektrotlar ise hem oldukça yüksek iletkenlik gösterirler hem de bunların oksitlenme sorunu platin elektrotlara kıyasla çok daha az oranda gerçekleşir. Tekrar edilebilirliği oldukça iyi olan altın elektrotlar bu avantajlarından dolayı

aynı zamanda yüzeyi modifiye edilerek de çeşitli hedef analitlerin tayininde sensör ve biyosensör olarak sıklıkla kullanılmaktadır (40).

Dönen disk elektrotlar, platin, cıva ve altın gibi çeşitli maddelerle yapılan kaplama işlemi sonucunda hazırlanan elektrotlardır. Bu elektrotlar deney esnasında sabit bir hızda dönerler ve böylece akım yoğunluğunun artmasını sağlayarak daha hassas ölçümler yapılmasına imkân sağlarlar (41, 42).

Karbon kökenli elektrotlar voltametrik analizlerde tercih edilmelerini sağlayacak çok sayıda avantajlara sahiptirler. Bu avantajlardan en önemlileri kullanımlarının basit olması, ucuz ve stabil olmaları ve çok çeşitli materyallerle kolayca modifiye edilebilmeleridir. En çok kullanılan karbon kökenli elektrotlardan biri olan camsı karbon elektrot, yüzey temizliğinin kolaylıkla gerçekleştirilebilmesi, tekrar edilebilirliğinin iyi olması ve geniş bir çalışma aralığı sunması nedeniyle öne çıkmaktadır (43, 44).

Karbon kökenli elektrotlardan biri olan karbon pasta elektrot, elektroanalitik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (45-47). Karbon pasta, grafit tozu ve su ile karışmayan organik bir sıvının belirli oranlarda karıştırılması ile hazırlanır. Organik sıvı olarak nujol, bromonaftalin ya da metil silikon tercih edilmektedir. Daha sonra, bu bileşim inert plastik yapıya bir elektrot gövdesinin alt kısmındaki boşluğa yerleştirilir ve iyice bastırılarak pastanın sıkışması sağlanır. Bu şekilde hazırlanan karbon pasta elektrotlar yalın halde kullanılabildikleri gibi uygun maddelerle modifiye edilerek de kullanılabilmektedirler. Karbon pasta elektrot yüzeyinin tekrar edilebilirliği iyi olmadığından, her ölçüm öncesinde elektroda doldurulmuş pastanın analit ile etkileşen dış kısmı ince bir spatül yardımıyla sıyrılır ve yeni pasta ile doldurulur. Bu şekilde yeni ve temiz bir yüzey oluşturulabilir.

Karbon kökenli elektrotlardan biri olan bor katkılı elmas elektrot, elmasın bor ile işlem görmesiyle elde edilir. Bu elektrot oksijen miktarındaki değişimlere karşı oldukça duyarsızdır ve sulu çözeltilerde veya organik çözücülerde iyileştirilmiş bir elektrokimyasal çalışma aralığı sunar. Bu üstünlüklerinden dolayı bor katkılı elmas elektrot voltametrik analizlerde sıklıkla tercih edilmektedir (11).

2.6.1.3. Modifiye Elektrotlar

Elektrokimyasal analizlerde kullanılan yöntemler ve uygulamalar günden güne farklılık göstermektedir. Mevcut ticari elektrotların çeşitli dezavantajlarının bulunması nedeniyle sahip oldukları özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla bu elektrotlar çeşitli

maddelerle modifiye edilmeye başlanmıştır. Elektrotların sürekli değişen ve gelişen şekillerde farklı maddelerle modifiye edilmeleri sonucunda daha seçici ve daha duyarlı analizler yapılabilir (48-50).

Modifikasyon işlemi voltametrik analizlerde çok önemli bir yere sahiptir. Kullanılan elektrotların sağlayamadığı çeşitli özelliklere ulaşmak için modifikasyon işleminin kullanımı zamanla artmıştır.

Modifiye elektrotlar, modifiye edilecek madde elektroda katılarak hazırlanabilir. Bu işlemle hazırlanan elektrotlara *kompozit elektrotlar* denir (51). Bir başka yöntem ise kimyasal modifikasyondur. Bu yöntemde elektrodun yüzeyine tutunması sağlanacak bir madde tutturulur ve elektrodun yüzey alanı genişletilerek yapılacak tayinin daha düşük konsantrasyonlarda gerçekleştirilmesine imkan sağlanır. Bununla beraber yapılan modifikasyon işlemleri maddeleri mekanik etkilere ve korozyona karşı korumak amacıyla da gerçekleştirilebilir (48, 52, 53).

2.6.2. Referans Elektrot

Referans elektrodun görevi sabit bir gerilim oluşturmaktır. Polarize olmayan bu elektrodun potansiyel değeri analitin türü ve derişimden bağımsız olup sadece sıcaklıkla değişebilmektedir. Çalışma elektrodu polarizedir ve potansiyeli referans elektroda karşı değişir. Referans elektrot her voltametrik hücrede bulunur. Günümüzde referans elektrot olarak en çok gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) ve doymuş kalomel elektrot (Hg/HgCl_2) kullanılmaktadır (54).

Gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot, ucu AgCl ile kaplanmış bir gümüş telin potasyum klorür ile doyurulmuş 1 M AgCl çözeltisi içerisine daldırılmasıyla hazırlanır. Bu elektrodun tercih edilmesinin en önemli sebebi, çalışılabildiği sıcaklık aralığının geniş olması ve toksik olmamasıdır. Doymuş kalomel elektrot ise, kalomel (Hg_2Cl_2) ve cıvadan (Hg) oluşan bir karışımın, metalik cıva ve potasyum klorürden oluşan bir çözeltiye daldırılması sonucunda hazırlanır (1, 3). Bu elektrodun potansiyeli sıcaklık ile değişmesine rağmen, akım değişimlerine karşı oldukça dayanıklıdır.

2.6.3. Karşıt Elektrot

Karşıt elektrot, üçlü elektrot sistemlerinde üçüncü bileşen olarak bulunur. Yardımcı elektrodun kullanılmadığı durumlarda, yüksek akım geçirilmesi durumunda çalışma elektrodu polarlanır ve bu potansiyel de deneyi etkiler. Bu elektrodun bulunduğu elektrot

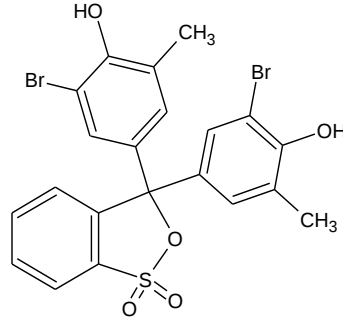
sistemlerinde ise, akım yardımcı elektrot üzerinden geçirildiğinden polarlanma durumu önlenmiş olur. Yardımcı elektrotlar çoğunlukla platin ve tungsten gibi soy metallerden yapılır. En çok kullanılan yardımcı elektrot platinden yapılmış tel ya da levha elektrottur (1).

2.7. Polimerler

Elektrokimyada çalışma elektrodu için gerçekleştirilen modifikasyon işlemleri arasında karşımıza sıklıkla çıkan bir diğer seçenek polimerlerdir. Elektroaktif polimerlerle modifikasyon işlemi yapılmış elektrotların incelenip geliştirilmesi ve bu elektrotların karakterizasyonunun yapılması ile ilgili çalışmalar literatürde oldukça fazladır ve gün geçtikçe artmaktadır (55-57).

Elektroanalitik yöntemlerde polimerlerin kullanılmasının temel nedeni polimerlerin tutuculuk özelliğidir. Polimerin içine iyon veya moleküller hapsedilerek elektrot yüzeylerine istenen özellik kazandırılabilir. Bununla beraber polimer doğrudan elektrot yüzeyine modifiye edilerek kullanılabilir. Elektroanalitik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda elektrotların yüzeyinde gerçekleştirilen modifikasyon işlemi analiz süresince ve sonucunda pekçok avantaj sağladığı için polimerler kullanılarak yapılan modifikasyon işlemine de ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Polimerlerin modifikasyon amacıyla kullanımı ile ilgili literatürde oldukça fazla sayıda çalışma bulunmaktadır (58-60).

Bazı boyar maddeler (fenazinler, fenoksazinler, fenotiyazinler, trifenilmetanlar ve azo boyar maddeler gibi) elektrot yüzeyine elektrokimyasal olarak kolaylıkla polimerleştirilebilirler (48, 55). Bu polimer filmler redoks arayüzeyi olarak davranarak elektrodun elektrokatalitik özelliklerini artırır ve bu özellikleri nedeniyle sıklıkla kullanılırlar. Bu tez çalışmasında kullanılan bromkrezol moru, kapalı formülü $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ olan (4,4'-(1,1-dioksido-3H-2,1-benzoksatiol-3,3-diil)-bis(2-bromo-6 metilfenol), trifenilmetan grubuna ait bir boyar maddedir ve katı elektrot yüzeyinde elektrokimyasal olarak polimerleştirilebilir (Şekil 9). Bromkrezol moru aynı zamanda bir pH indikatörüdür ve tıbbi laboratuvarlarda albümin ölçümü gibi farklı alanlarda da kullanılmaktadır (61, 62). Poli(bromkrezol moru) modifiyeli elektrotların kullanıldığı bazı analiz çalışmaları da literatürde mevcuttur (63-68).



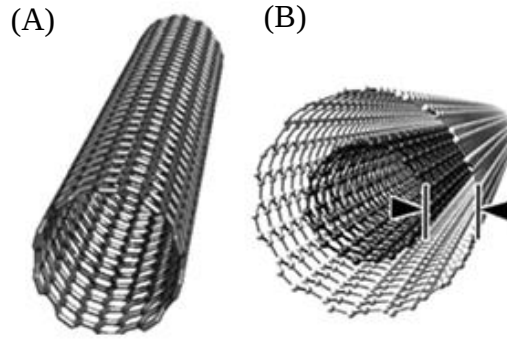
Şekil 9. Bromkrezol morunun kimyasal yapısı

2.8. Karbon Nanotüpler

Nanoteknolojiye olan ilginin günden güne artmasıyla nanoteknoloji kullanılarak geliştirilen analiz yöntemleri ve üretilen farklı yapıdaki nanopartiküller de gün geçtikçe değer kazanmaktadır. Özellikle yüksek kararlılıkları, elastik, oldukça dayanıklı ve hafif olmaları gibi pek çok avantaja sahip olmaları sebebiyle karbon nanotüplerin kimyasal analizlerdeki önemi büyüktür (69-72). Çapları nanoboyutta olan bu nanopartiküller, asidik ve bazik çözelti ortamlarında oldukça dayanıklı olmaları sebebiyle geniş bir pH aralığında çalışılabilmesine imkân sağlamaktadır.

Nanopartiküller çeşitli özelliklerine göre karbon bazlı, metal bazlı ve yarı iletken bazlı olmak üzere üç gruba ayrılır. Günümüzde en çok kullanılan nanopartiküller karbon bazlı nanopartiküllerdir.

Karbon nanotüpler üzerindeki çalışmalar günümüzde hala devam etmekte ve üretimlerinde farklılıklar ve yenilikler meydana gelmektedir. Ancak, genel olarak karbon nanotüpler tek duvarlı (TDKNT) ve çok duvarlı (ÇDKNT) olarak iki türdür ve yapıları Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. (A) Tek duvarlı ve (B) çok duvarlı karbon nanotüpler (71)

Karbon nanotüpler kararlı olmaları, çeşitli elektrotları modifiye etmek için uygun olmaları ve oldukça hassas sonuçlar elde edilmesini sağlamaları nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadırlar. Karbon nanotüpler neredeyse tüm çözücülerde çözünmezler, oldukça hafiftirler ve kuvvetli bağ yapabilme özelliğine sahiptirler. Tamamıyla karbon yapılı olan karbon nanotüpler elektroaktivite göstermediklerinden dolayı hedef analitin analiz sonuçlarını etkilemezler. Karbon nanotüplerin sağladığı en önemli avantaj, elektrotların yüzey alanlarını genişleterek elde edilen sonuçların duyarlılığını artırmalarıdır. Modifikasyonda kullanılan karbon nanotüp miktarı değiştirilerek aynı elektrot için farklı yüzey alanları kolaylıkla elde edilebilmektedir (73-75).

Karbon nanotüplerin modifikasyon işlemleri yapılırken maddeye, deneye ve ortam şartlarına uygun elektrotlar seçilir. Karbon nanotüpler sayesinde çok daha düşük konsantrasyonlarda doğru ölçüm yapılabilmekte, analitin tayin alt limiti önemli derecede düşmektedir. Özellikle ilaç analizleri için konsantrasyonların doğru tayin edilmesi çok önemli olduğundan karbon nanotüplerin bu çalışmalarda kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (76-78).

2.9. Sefalosporinler

İlaç etken maddelerinin analizleri yapılarında bulunan elektroaktif fonksiyonel gruplar sayesinde elektrokimyasal yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. İlaç etken maddelerinin güvenilir olarak tayin edilmeleri sağlığımız açısından oldukça önemli olduğundan ve voltametrik yöntemler hassas ve yüksek duyarlılıkla analiz edilmelerine imkan sağladığı için voltametrik yöntemlerin ilaç etken maddelerinin analizlerinde kullanılmalarına günden güne daha sık rastlanmaktadır (79-81). Üstelik bu tayinlerde ilaç

etken maddeleri farmasötik dozaj formlarından ve biyolojik sıvılardan ön ayırma işlemine gerek duyulmadan hassas bir şekilde tayin edilebilmekte ve ilaç etken maddelerinin redoks reaksiyonlarına bakılarak etki mekanizmaları aydınlatılabilmektedir (3, 11).

Sefalosporinler bakterisid etki oluşturan sefem ve oksasefem türevi β -laktam kemoterapötiklerdir (82, 83). Bu bakterisid etkiyi bakteri hücre duvarının sentezinin son basamağını inhibe ederek ve bakterideki otolitik enzimleri aktive ederek oluştururlar. Bu özellikleri ile yüksek oranda penisilinlere benzerler ve penisilinler gibi alerjik reaksiyon gösterebilirler. Ancak penisilinlere kıyasla dokulara çok daha iyi nüfuz ederler (84, 85).

Sefalosporin grubu β -laktam antibakteriyeller, genel olarak birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler olarak sınıflandırılabilir. Birinci kuşak sefalosporinler (sefalekssin, sefaloglisin vb.) diğer kuşaklara göre oldukça dar spektrumludur. İkinci kuşak sefalosporinler (sefaklor, sefuroksim vb.), beta laktamazlara daha dayanıklı olduklarından spektrumları daha geniştir. Ayrıca birinci kuşaklardan farklı olarak anaeroblara da etkilidirler. Üçüncü kuşak sefalosporinler (sefotaksim, seftazidim vb.), beta laktamazlara en dayanıklı gruptur ve oldukça geniş spektrumludurlar. Dördüncü kuşak sefalosporinler ise, gram negatif ve gram pozitif mikroorganizmalar üzerinde, üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha geniş antibakteriyel etkinliğe sahip olmakla beraber, beyin omurilik sıvısından geçişleri kolay olduğundan menenjit tedavisinde kullanılmaktadırlar.

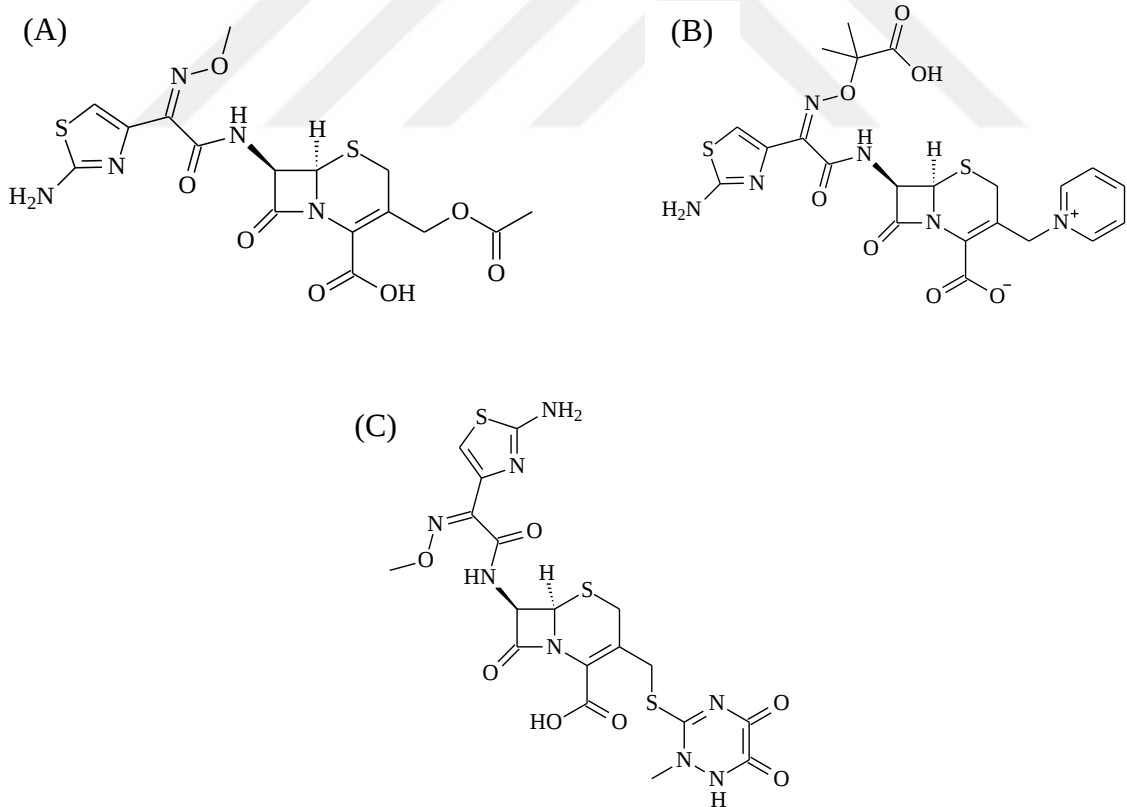
Sefalosporinler üst solunum yolları enfeksiyonlarında, deri enfeksiyonlarında, idrar yolu enfeksiyonlarında, safra enfeksiyonunda, menenjit hastalığında, bazı kulak enfeksiyonlarında ve sinüzit gibi hastalıkların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (86). Ameliyat gereken durumlarda, operasyon sırasındaki enfeksiyonları önlemede de faydalıdır. Sefalosporinlerin alerjik reaksiyonlar, lokal tahriş, hipotrombinemi ve süperenfeksiyon gibi çeşitli yan etkileri olabilir. Penisilinle ortak noktalar bulundurduklarından, kullanım öncesinde alerji testinin yapılması tavsiye edilir. Ayrıca sefalosporinler, metiltetratiazol yan zinciri taşıyan bazı üyeler dışında dikkate alınacak yan etkilere sebep olmazlar (87-89). Sefalosporinlerin fazla dozda kullanımı böbrek yetmezliğine varan bir böbrek hasarına neden olabildiğinden, bazı durumlarda tedavi sırasında kullanılan miktarın takibi önem kazanmaktadır. Bu takip için özellikle yatan hastalarda hızlı ve duyarlı analizin yapılması etkin bir tedavi için önemlidir.

Bu tez kapsamında hazırlanan yeni nesil modifiye elektrotlarla elektrokimyasal olarak analizinin yapıldığı üçüncü nesil sefalosporinlerden seçilen üç etken madde şunlardır:

Sefotaksim (SFT) ((6R,7R,Z)-3-(asetoksimetil)-7-(2-aminotiyazol-4-il)-2-(metoksiimino)asetamido)-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilik asit) oda sıcaklığında toz ve katı halde bulunur ve kimyasal yönden kararlılığı yüksektir (90). Güçlü oksitleyici ajanlarla uyuşmaz ve serbest halde suda çözünür.

Seftazidim (SFZ) ((6R,7R,Z)-7-(2-(2-aminotiyazol-4-il)-2-(2-karboksipropan-2-iloksiimino)asetamido)-8-okso-3-(pridinyum-1-ilmetil)-5-tiya-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat) oda sıcaklığında sefotaksime benzer şekilde toz ve katı halde bulunur (91). Ancak suda çözünürlüğü sefotaksime kıyasla düşük olup metanolde az çözünür.

Seftriakson (STR) ((6R,7R,Z)-7-[(2-(2-aminotiyazol-4-il)-2-metoksiimino)asetil]amino)-3-[(2-metil-5,6-diokso-1,2,5,6-tetrahidro-1,2,4-triazin-3-il)tiyo]metil)-8-okso-5-tiya-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilik asit) da diğer iki madde gibi oda sıcaklığında toz ve katı halde bulunur (92). Suda serbest çözünür. Bu üç etken madde de fiziksel ve kimyasal özellikleri olarak benzer olup, Şekil 11’de kimyasal yapıları görülmektedir.



Şekil 11. (A) Sefotaksim, (B) seftazidim ve (C) seftriakson etken maddelerinin kimyasal yapıları

Tez çalışmasında analizi yapılan ilaç etken maddelerinin analizi için literatürde HPLC (93-97) ve spektrofotometri (98-101) gibi bazı yaygın yöntemler kullanılmıştır. Ayrıca bu maddelerin elektrokimyasal determinasyon çalışmaları ile ilgili bazı çalışmalar literatürde mevcuttur (102-112). Ancak, bu tez kapsamında yapıldığı şekilde gerçek numunelerden herhangi bir ön işlem gerektirmeden bu etken maddelerin analiz edilebileceği polimer modifiyeli sensörler ile yapılan analiz çalışması literatürde mevcut değildir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Maddeler

3.1.1. İlaç Etken Maddelerinin Stok Çözeltileri

Elektrokimyasal olarak analiz edilecek olan ilaç etken maddeleri (sefotaksim, seftazidim ve seftriakson) ve bu etken maddelerin intramuskuler / intravenöz kullanımlık flakonlar halinde farmasötik dozaj formları üç madde için de ayrı ayrı temin edildi.

Sefotaksim saf etken madde ve onun farmasötik dozaj formu olan SEFOTAK® (1000 mg/flakon, Barkod No. 8699502270565) Zentiva Sağlık Ürünleri San. ve Tic. A.Ş.'den, seftazidim saf etken madde ve onun farmasötik dozaj formu olan ZİDİM® (1000 mg/flakon, Barkod No. 8699814270338) Tüm-Ekip İlaç A.Ş.'den ve seftriakson saf etken madde ve onun farmasötik dozaj formu olan NOVOSEF® (1000 mg/flakon, Barkod No. 8699502270640) Zentiva Sağlık Ürünleri San. ve Tic. A.Ş.'den tedarik edildi ve saflaştırılmadan aynen kullanıldı. İlaç etken maddelerinin 1.0×10^{-3} M'lık stok çözeltileri ultra saf su içerisinde çözülerek hazırlandı. Bu amaçla, sefotaksim stok çözeltisi için 4.8 mg sefotaksim, seftazidim stok çözeltisi için 5.5 mg seftazidim ve seftriakson stok çözeltisi için 6.0 mg seftriakson tartılıp ayrı ayrı 10 mL'lik balon jojelere alındı ve ultra saf su ile hacme tamamlandı. Maddelerin tamamen çözünebilmesi için balon jojeler beş dakika ultrasonik banyoda bekletildi. Çalışma çözeltileri, bu stoklardan belirlenen hacimlerde alınıp, uygun tampon çözelti ile istenen hacme tamamlanarak hazırlandı. İlaç etken madde çözeltileri günlük olarak taze hazırlandı ve kullanılabileceği kadar karanlıkta muhafaza edildi.

3.1.2. Serum Stok Çözeltileri

Serum çalışmasında kullanılan yapay insan serumu (Human serum from male AB plasma, sterile-filtered, ABD, Katalog No. H4522) Sigma-Aldrich'ten temin edildi.

Serum çalışması için öncelikle ilaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) 1.0×10^{-2} M'lık stok çözeltileri ultra saf su içerisinde çözülerek hazırlandı. SFT için 47.7 mg, SFZ için 54.6 mg ve STR için 59.8 mg etken madde tartılıp ayrı ayrı balon jojelerde 10 mL'ye ultra saf su ile tamamlandı.

Etken madde içeren serum ana stok çözeltileri etken madde derişimi 1.0×10^{-3} M olacak şekilde hazırlandı. Bunun için, 3.6 mL saf serum çözeltisinden, 5.4 mL asetonitril ve 1.0 mL 1.0×10^{-2} M'lık SFT stok çözeltisinden alınarak 10 mL'lik deney tüpüne aktarıldı ve böylece 1.0×10^{-3} M'lık SFT etken maddeli serum ana stok çözeltisi elde edildi. SFZ ve STR

etken maddelerinin serum ana stok çözeltileri de 1.0×10^{-2} M'lık SFZ ve STR stok çözeltileri kullanılarak aynı şekilde hazırlandı.

Destek (boş) serum ana stok çözeltisi için; 0.9 mL saf serum çözeltisi, 1.35 mL asetonitril ve 0.25 mL ultra saf su karıştırılarak 1.0×10^{-3} M derişimde 2.5 mL çözelti elde edildi.

3.1.3. Sodyum Hidroksit Çözeltisi

Hazırlanan tampon çözeltilerinin pH değerlerini ayarlamak için kullanıldı. Saflaştırılmadan aynen kullanılan, derecesi %98-100.5 olan Aldrich (Çekya, Katalog No. 1064821000) ürünü idi. Sodyum hidroksit çözeltisini (5.0 M NaOH) hazırlamak için 20 g NaOH tartıldı ve balon joje içerisinde ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.4. Britton-Robinson Tampon Çözeltisi

Britton-Robinson tampon (BRT) çözeltisi için 0.04 M fosforik asit (H_3PO_4 , %85, yoğunluğu 1.685 g mL^{-1} , Merck, Almanya, Katalog No. 345245), 0.04 M glasiyal asetik asit (CH_3COOH , ≥ 99.8 , yoğunluğu 1.049 g mL^{-1} , Merck, Almanya, Katalog No. 33209) ve 0.04 M borik asit (H_3BO_3 , ≥ 99.5 , Aldrich, ABD, Katalog No. B0394) karışımı ultra saf su kullanılarak 1.0 L'ye tamamlandı. Stok olarak hazırlanmış bu çözelti 100'er mL'lik bölümlere ayrılarak, istenen pH'lara (2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0 ve 12.0) 5.0 M NaOH çözeltisi kullanılarak ayarlandı. Tampon çözeltiler buzdolabında saklandı.

3.1.5. Fosfat Tampon Çözeltisi

Fosfat tampon (FT) çözeltisi H_3PO_4 (%85, yoğunluğu 1.685 g mL^{-1} , Merck, Almanya, Katalog No. 345245) ile hazırlandı. Bunun için, 13.7 mL H_3PO_4 ultra saf su ile 1.0 L'ye tamamlanarak 0.2 M'lık stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 100'er mL'lik kısımlar alındı ve pH değerleri 5.0 M NaOH ile 2.0 ve 3.0 olarak ayarlandı.

Daha yüksek pH değerlerine (6.0, 7.0 ve 8.0) sahip 0.2 M fosfat tampon çözeltileri $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (≥ 99 , Merck, Almanya, Katalog No. 1063420250) ve Na_2HPO_4 (≥ 99 , Aldrich, Almanya, Katalog No. S9763) kullanılarak hazırlandı. İlk olarak pH 6.0 için, 1.46 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 85 mg Na_2HPO_4 tartılarak tartılarak balon jojeye alındı ve hacmi ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlandı. Daha sonra pH 7.0 için, 0.95 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 0.55 g Na_2HPO_4 tartılarak balon jojeye alındı ve hacmi ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlandı. Son olarak pH 8.0 için, 0.22 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 1.22 g Na_2HPO_4 tartılarak balon jojeye alındı ve hacmi ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin

pH'ları 5.0 M NaOH çözeltisi kullanılarak ayarlandı. Tampon çözeltiler oda sıcaklığında hazırlandı ve buzdolabında bekletildi.

3.1.6. Asetat Tampon Çözeltisi

Asetat tampon (AT) çözeltisini 1.0 M konsantrasyonda hazırlamak için 57.4 mL CH_3COOH ($\geq 99.8\%$, yoğunluğu 1.049 g mL^{-1} , Merck, Almanya, Katalog No. 33209) bir balon jojeye alındı ve hacmi ultra saf su ile 1.0 L'ye tamamlandı. Daha sonra, 5.0 M NaOH kullanılarak istenen pH'lara (3.5, 4.0, 4.5, 5.0 ve 5.5) ayarlandı. Tampon çözeltiler oda sıcaklığında hazırlandı ve buzdolabında bekletildi.

3.1.7. Potasyum Nitrat Çözeltisi

Poli(bromkrezol moru) polimer filminin modifikasyonu için kullanılan potasyum nitrat çözeltisi (KNO_3 , $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, UK, Katalog No. 221295) için 1.01 g KNO_3 tartılarak balon jojeye alındı ve hacmi ultra saf su kullanılarak 100 mL'ye tamamlandı. Böylece 0.1 M KNO_3 çözeltisi hazırlanmış oldu.

3.1.8. Asetonitril

Asetonitril (CH_3CN , 99.8% , Sigma-Aldrich, UK, Katalog No. 271004) serum çalışmasında kullanılan stok çözeltilerini hazırlamak amacıyla ön saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

3.1.9. Bromkrezol Moru

Elektrot yüzeyinin modifikasyonu için kullanılan poli(bromkrezol moru) (PBM) polimer filminin elektrokimyasal olarak sentezi için toz halinde bromkrezol moru ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, UK, Katalog No. 1030250025) belirlenen miktarda tartılarak bir balon jojeye alındı ve 0.1 M KNO_3 çözeltisi ile hacme tamamlandı. Böylece istenen konsantrasyonda bromkrezol moru çözeltileri hazırlanmış oldu.

3.1.10. Alüminyum Hidroksit

Camsı karbon elektrot yüzeyinin cilalanmasında kullanılan pudra formunda saf Merck ($\text{Al}(\text{OH})_3$, Almanya, Katalog No. 1010911000) ürünü idi. Saflaştırılmadan aynen kullanıldı.

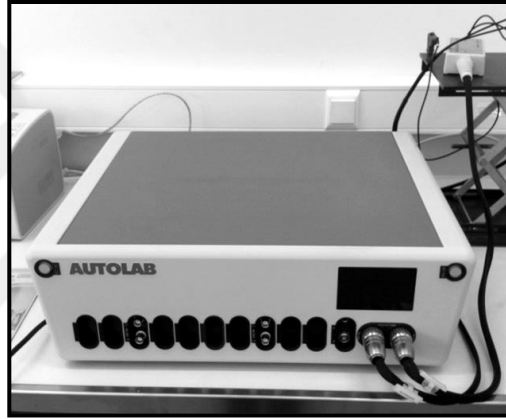
3.1.11. Dimetil Formamid

N,N-Dimetil formamid (DMF, $\geq 99.8\%$, Aldrich, Almanya, Katalog No. 319937) camısı karbon elektrot yüzeyine karbon nanotüplerin modifiye işlemi için süspansiyon hazırlamak amacıyla ön saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. Potansiyostat

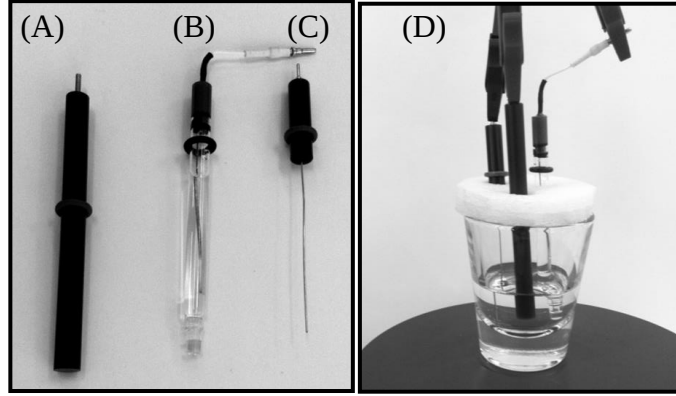
Yapılan bütün deneylerde Autolab marka ve PGSTAT128N model potansiyostat/galvanostat cihazı kullanıldı (Metrohm-Autolab, Hollanda). Cihaz Nova 1.10 programı ile kontrol edildi.



Resim 1. Potansiyostat cihazı

3.2.2. Elektrot Sistemi

Deneyler üç elektrotlu bir elektrokimyasal hücrede gerçekleştirildi. Tüm elektrotlar BASi (ABD) marka idi. Bu sistemde elektrotlardan biri camısı karbon elektrot (CK, yüzey çapı 3.0 mm, yüzey alanı 7.069 mm², Katalog No. MF-2012) veya karbon pasta elektrot (KP, iç çap 2.87 mm, Katalog No. MF-2010) olarak çalışma elektrodu idi. Diğerleri Ag/AgCl referans elektrot (Katalog No. MF-2052) ve platin tel karşıt elektrot (Katalog No. MW-1032) idi. CK elektrot yüzeyi, az miktarda Al(OH)₃ dökülmüş ve ıslatılmış BASi cilalama pedi üzerinde 25 kez sekiz çizilerek parlatıldı.



Resim 2. (A) Camşı karbon veya karbon pasta elektrot, (B) Ag/AgCl referans elektrot, (C) platin tel karşı elektrot ve (D) üçlü elektrot sistemi

3.2.3. pH Metre

Tampon çözeltilerinin pH'larının ayarlanmasında kullanılan Hanna HI2211 model (Romanya) masaüstü pH metre idi. Kullanılan pH metre her üç günde bir pH değerleri 4.0 ve 7.0 olan standart tampon çözeltileri (Merck, Almanya) ile kalibre edildi. Tüm ölçümler oda sıcaklığında yapıldı.

3.2.4. Saf Su/Ultra Saf Su Cihazı

Sartorius marka Arium 61316 model saf su ve Arium proUV model ultra saf su cihazı (Almanya) idi. Çözeltilerin hazırlanmasında direnç değeri $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ olan ultra saf su, bütün yıkama ve temizlik işlerinde saf su kullanıldı.

3.2.5. Ultrasonik Banyo

Sonica 3300MH model (İtalya) idi. Çözeltilerin karıştırılmasında ve cam malzemelerin temizliğinde kullanıldı.

3.2.6. Analitik Terazı

Ohaus PA214C model (ABD) idi. Çözeltilerin hazırlanması aşamasında katı maddelerin analitik hassasiyette tartılmasında kullanıldı.

3.2.7. Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı

Heidolph MR Hei Standart model (Almanya) idi. Çözeltilerin hazırlanması aşamasında homojen bir karışım elde etmek amacıyla kullanıldı.

3.2.8. Vorteks

Heidolph Reax Top model (Almanya) idi. Homojen karışımli çalışma çözeltileri elde etmek amacıyla kullanıldı.

3.2.9. Buzdolabı

Profilo BD2046W2NN model (Türkiye) idi. Tampon ve etken madde stok çözeltilerinin muhafazasında kullanıldı. Serum stok çözeltileri buzdolabının dondurucu kısmında -22°C'nin altında saklandı.

3.2.10. Mikropipet

Socorex (İsviçre) ve İsolab (Almanya) marka idi. İstenilen konsantrasyondaki hassas çözeltilerin hazırlanması amacıyla 0.5-10, 10-100 ve 100-1000 µL hacim aralıklarına sahip mikropipetler kullanıldı.

3.3. Modifiye Elektrotların Hazırlanması

3.3.1. CK/PBM Elektrodun Hazırlanması

Poli(bromkrezol moru) polimer filminin (PBM) CK elektrot yüzeyi üzerine polimerizasyonu için literatürde mevcut bulunan çalışmalardan da yararlanılarak hedef etken maddelerin en etkin şekilde analizinin yapılabileceği elektropolimerizasyon yöntemi seçildi (102, 103). Buna göre, bromkrezol morunun pH 6.0 FT içerisindeki 0.5 mM çözeltisi hazırlandı ve dönüşümlü voltametri ile -0.4 ila +1.6 V arasında 100 mV s⁻¹ tarama hızında 50 döngülü voltamogram alınarak PBM'nin CK elektrot yüzeyine polimerizasyonu gerçekleştirildi. Hazırlanan elektrot kullanılmadan 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı (64, 113). Daha sonra yöntem bu tez çalışması için tekrar optimize edildi.

3.3.2. CK/ÇDKNT Elektrodun Hazırlanması

Elektrot modifikasyonu, çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) kullanılarak cilalanmış CK elektrot yüzeyine yapıldı (48). Bunun için, ÇDKNT'ün DMF içinde ağırlıkça %0.2 ve %0.5'lik süspansiyonları hazırlanarak dört saat boyunca ultrasonik banyoda bekletildi ve buzdolabında muhafaza edildi. Ardından CK elektrot yüzeyine ayrı ayrı 2.0 ve 5.0 µL hacimlerde enjekte edilip 24 saat oda sıcaklığında kurutularak modifiye elektrotlar hazırlandı.

İlaç etken maddelerinin elektrokimyasal analizleri için en uygun elektrot modifikasyonunu belirlemek amacıyla pH değeri 5.0 olan 1.0 M AT içerisinde 8.0×10⁻⁵ M

ilaç etken maddelerinin çözeltileri hazırlandı ve dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri yöntemleri ile voltamogramları alınarak karşılaştırıldı. Buna göre ÇDKNT modifikasyonu için 2.0 µL ve %0.2'lik ÇDKNT/DMF süspansiyonu kullanıldı.

3.3.3. CK/PBM/ÇDKNT Elektrodun Hazırlanması

Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak CK elektrot yüzeyine Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde PBM kaplandıktan sonra, yüzey 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilerek kurutuldu. Ardından polimer film kaplanmış olan CK elektrot yüzeyine %0.2'lik ÇDKNT'ün DMF içindeki süspansiyonundan 2.0 µL enjekte edilip 24 saat oda sıcaklığında kurutularak CK/PBM/ÇDKNT modifiye elektrot elde edildi.

3.3.4. CK/ÇDKNT/PBM Elektrodun Hazırlanması

Camsı karbon elektrot yüzeyine %0.2'lik ÇDKNT'ün DMF içindeki süspansiyonundan 2.0 µL enjekte edilip 24 saat oda sıcaklığında kurutulmasının ardından, dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak ÇDKNT modifiye edilmiş CK elektrot yüzeyine Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde PBM kaplandı ve kuruması için 24 saat oda sıcaklığında bırakıldı.

3.3.5. Karbon Pasta Elektrodun Hazırlanması

Karbon pasta (KP) elektrodun gövdesine doldurulacak pasta, %25 mineral yağ (yoğunluk 0.84 g mL⁻¹, Aldrich, ABD, Katalog No. 330779) ve %75 grafit tozu (Merck, Almanya, Katalog No. 104206) oranında hazırlandı. Bunun için bir havan içinde 3 g grafit tozu ve 1.2 mL mineral yağ iyice karıştırıldıktan sonra elektrodun gövdesine sıkı bir şekilde dolduruldu (15). Elektrot yüzeyi temiz bir kâğıt üzerinde sekiz çizilerek parlatıldı. Her ölçümden önce doldurulan pastanın yüzeyi değiştirildi.

3.3.5.1. KP/PBM Elektrodun Hazırlanması

Karbon pasta elektrodun yüzeyine Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde polimer film kaplamak için öncelikle 2.7 mg bromkrezol moru toz halinde tartılarak pH 6.0 FT ile hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Ardından dönüşümlü voltametri ile elektropolimerizasyon yapılarak Bölüm 3.3.5'te anlatıldığı şekilde hazırlanan KP elektrodun yüzeyine kaplanması sağlandı.

3.3.5.2. KP/ÇDKNT Elektrodun Hazırlanması

Karbon pasta elektrodun gövdesine doldurulacak pastaya %0.1 oranında ÇDKNT homojen bir şekilde karıştırılarak Bölüm 3.3.5.'te anlatıldığı şekilde hazırlandı.

3.4. Voltametrik Çalışmalar

3.4.1. Modifiye Elektrodun Seçilmesi ve Deneysel Parametrelerin Belirlenmesi

Sefotaksim (SFT), seftazidim (SFZ) ve seftriakson (STR) ilaç etken maddeleri; CK elektrot, KP elektrot ve bu elektrotların çeşitli modifikasyonları yapılarak elde edilen modifiye elektrotlar kullanılarak voltametrik yöntemlerle farklı tampon ortamlarında çalışıldı ve sonuçları karşılaştırıldı. Bu amaçla, yalın CK elektrot, ÇDKNT modifiyeli CK elektrot (CK/ÇDKNT), PBM film modifiyeli CK elektrot (CK/PBM), PBM kaplı yüzey üzerine ÇDKNT damlatılarak modifiye edilmiş CK elektrot (CK/PBM/ÇDKNT) ve ÇDKNT kaplı yüzey üzerine PBM film kaplanarak modifiye edilmiş CK elektrot (CK/ÇDKNT/PBM) hazırlandı. Daha sonra voltametrik yöntemlerden dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) teknikleri kullanılarak voltamogramlar elde edildi (51-53). Her elektrot ile yapılan çalışmada hedef etken maddelerin pikleri, pik akımları ve potansiyelleri üzerinden karşılaştırıldı.

Camsı karbon elektrot ile denemeler tamamlandıktan sonra yalın KP elektrot, ÇDKNT ile modifiye edilmiş KP elektrot (KP/ÇDKNT) ve PBM film modifiyeli KP elektrot (KP/PBM) hazırlanarak seçilen etken maddeler ile denemeler yapıldı ve sonuçları CV, DPV ve KDV ile elde edilen voltamogramlar üzerinden karşılaştırıldı.

Yapılan çalışmalar sonucunda etken maddeler için en iyi sonuç veren modifiye elektrodun hazırlanması için deneysel parametreler optimize edildi. Böylece etken maddeler için en yüksek pik akımlarının elde edildiği, en simetrik ve düzgün pikleri veren parametreler seçilerek, çalışmanın kalanında kullanılacak elektrot modifikasyonu belirlendi.

İlaç etken maddelerinin elektrokimyasal analizleri için kullanılan DV, DPV ve KDV yöntemlerinin deneysel parametreleri her üç madde için de şu şekilde idi: DV için potansiyel tarama aralığı -0.8 ila +1.6 V arası, step potansiyel 5.0 mV ve tarama hızı 100 mV s⁻¹; DPV için potansiyel tarama aralığı +0.4 ila +1.4 V arası, modülasyon genliği 50 mV, bekleme potansiyeli 0 V, tarama hızı 10 mV s⁻¹, modülasyon zamanı 0.05 s, zaman aralığı 0.5 s ve step potansiyel 5.0 mV; KDV için potansiyel tarama aralığı +0.4 ila +1.4 V arası, frekans 25 Hz, step potansiyel 2.5 mV, tarama hızı 62.5 mV s⁻¹ ve genlik 50 mV.

3.4.2. pH Taraması

İlaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) elektrokimyasal analizi için en uygun tampon ortamının belirlenebilmesi için pH taraması yapıldı (9, 10, 48). Bütün voltametrik ölçümler daha önceki çalışmalar sonucunda seçilen CK/PBM elektrot ile gerçekleştirildi.

Maddelerin elektroanalitik analizlerinde pH etkisinin tayini için, pH değerleri 2.0, 3.0, 6.0, 7.0 ve 8.0 olan 0.2 M FT çözeltileri, pH'ları 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 ve 5.5 olan 1.0 M AT çözeltileri ve pH'ları 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0 ve 12.0 olan 0.04 M BRT çözeltileri kullanıldı. Konsantrasyonu 8.0×10^{-5} M olan ilaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) çalışma çözeltileri, 1.0×10^{-3} M stok çözeltilerinden 0.8 mL alınıp hacmi tampon çözelti ile 10 mL'ye tamamlanarak ayrı ayrı hazırlandı.

Potansiyel tarama aralığı DV yöntemi için -0.4 ila +1.6 V, DPV ve KDV yöntemleri için +0.4 ila +1.6 V olarak belirlendi. Her ölçüm sonrasında, etken madde içermeyen tampon çözelti içerisinde DV yöntemi kullanılarak -0.4 ila +1.6 V arasında 100 mV s^{-1} tarama hızında üç döngülü tarama yapıldı ve böylece elektrot yüzeyi elektrokimyasal olarak temizlendi. Sonuç olarak, pH taramasında elde edilen voltamogramlar incelendi. İlaç etken maddelerinin en simetrik ve en yüksek pik akımına sahip olduğu tampon ortamları her madde için seçildi ve bundan sonraki çalışmalar o tampon ortamlarında gerçekleştirildi.

3.4.3. Hız Taraması

İlaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) yükseltgenme/indirgenme reaksiyon karakterizasyonu, hız taraması çalışması ile belirlendi (9, 10, 48). Elde edilen sonuçlar, etken maddelerin CK/PBM elektrot yüzeyi üzerindeki redoks reaksiyonunun difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olduğu hakkında bilgi verdi. Bunun için, çalışılan üç madde için ayrı ayrı pH 3.0 FT içindeki 8.0×10^{-6} M çalışma çözeltileri hazırlandı ve DV yöntemi ile -0.4 ila +1.3 V potansiyel tarama aralığında sırasıyla 200, 150, 100, 75, 50, 25, 10 ve 5 mV s^{-1} tarama hızlarında tek döngü ile tarandı. Her bir tarama hızına karşılık elde edilen anodik piklerin akım değerleri okunarak hem tarama hızına hem de tarama hızının kareköküne karşı grafiğe geçirildi. Yapılan çalışma her bir etken madde için tekrarlandı.

3.4.4. Kalibrasyon Çalışması

İlaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) kantitatif analizi DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak yapıldı (9, 10, 48). Bu amaçla, +0.4 ila +1.3 V potansiyel tarama

aralığında elde edilen maddeye ait piklerin akım değerleri okunarak her bir madde için ayrı ayrı kalibrasyon çalışması yapıldı.

Kalibrasyon çalışmasında maddelerin pH 3.0 FT içerisinde 1.0×10^{-9} ila 8.0×10^{-5} M konsantrasyon aralığında 25 farklı çözeltisi hazırlandı. Hata payını en aza indirmek amacıyla 1.0×10^{-3} M etken madde ana stok çözeltisi ve konsantrasyonları 1.0×10^{-4} , 1.0×10^{-5} , 1.0×10^{-6} ve 1.0×10^{-7} M olan dört ara stok çözeltisi kullanıldı. Konsantrasyonu 1.0×10^{-4} M olan birinci ara stok, 1.0×10^{-3} M ana stoktan 1.0 mL alınıp ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Konsantrasyonu 1.0×10^{-5} M olan ikinci ara stok, 1.0×10^{-4} M birinci ara stoktan 1.0 mL alınıp ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Konsantrasyonu 1.0×10^{-6} M olan üçüncü ara stok, 1.0×10^{-5} M ikinci ara stoktan 1.0 mL alınıp ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Konsantrasyonu 1.0×10^{-7} M olan dördüncü ara stok, 1.0×10^{-6} M üçüncü ara stoktan 1.0 mL alınıp ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Etken madde çalışma çözeltileri ana ve ara stok çözeltileri kullanılarak pH 3.0 FT içerisinde hazırlandı. Bunun için ilk olarak, 1.0×10^{-5} , 2.0×10^{-5} , 4.0×10^{-5} , 6.0×10^{-5} ve 8.0×10^{-5} M SFT çözeltileri konsantrasyonu 1.0×10^{-3} M olan SFT ana stok çözeltiden; 1.0×10^{-6} , 2.0×10^{-6} , 4.0×10^{-6} , 6.0×10^{-6} ve 8.0×10^{-6} M SFT çözeltileri konsantrasyonu 1.0×10^{-4} M olan birinci ara stoktan; 1.0×10^{-7} , 2.0×10^{-7} , 4.0×10^{-7} , 6.0×10^{-7} ve 8.0×10^{-7} M SFT çözeltileri konsantrasyonu 1.0×10^{-5} M olan ikinci ara stoktan; 1.0×10^{-8} , 2.0×10^{-8} , 4.0×10^{-8} , 6.0×10^{-8} ve 8.0×10^{-8} M SFT çözeltileri konsantrasyonu 1.0×10^{-6} M olan üçüncü ara stoktan; 1.0×10^{-9} , 2.0×10^{-9} , 4.0×10^{-9} , 6.0×10^{-9} ve 8.0×10^{-9} M SFT çözeltileri konsantrasyonu 1.0×10^{-7} M olan dördüncü ara stoktan hazırlandı. Diğer etken maddelerin çalışma çözeltileri de SFT çalışma çözeltilerinin hazırlandığı şekilde maddelerin kendi ana ve ara stoklarından hazırlandı.

Kalibrasyon çalışması için, en düşük etken madde konsantrasyonuna sahip çalışma çözeltisinden (1.0×10^{-9} M) başlanarak sırasıyla en yüksek etken madde konsantrasyonuna sahip çalışma çözeltisine (8.0×10^{-5} M) kadar hem DPV hem de KDV yöntemleri kullanılarak voltamogramlar elde edildi. Elde edilen voltamogramlardaki SFT, SFZ ve STR piklerinin pik akım değerleri elde edildi ve ait oldukları maddenin konsantrasyonuna karşı her iki yöntem için ayrı ayrı grafiğe geçirildi.

İlaç etken maddelerinin teşhis sınırı (TS) ve tayin alt sınırı (TAS) değerleri DPV ve KDV yöntemlerinin kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak her iki yöntem için “Eşitlik 2 ve 3” kullanılarak hesaplandı (1).

$$TS = 3 \text{ (S/m)} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

$$TAS=10 \text{ (S/m)} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Eşitliklerde, S beş değer üzerinden elde edilen maddenin yükseltgenme pik akım değerlerinin standart sapması ve m ilgili yöntemin kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

Etken maddelerin analizleri için geliştirilen metodun kesinliği için tekrar edilebilirlik çalışmaları DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Tekrar edilebilirlik çalışmaları etken maddelerin hem pik akım değerleri hem de pik potansiyelleri için gün içi ve günler arası olmak üzere her madde için ayrı ayrı incelendi. Her ölçümden sonra etken madde içermeyen tampon içinde -0.4 ila +1.3 V potansiyel aralığında ve 100 mV s⁻¹ tarama hızında üç döngülü DV alınarak elektrot temizlendi.

Gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik çalışması için, 1.0×10⁻³ M SFT ana stok çözeltisi kullanılarak pH 3.0 FT içerisinde, konsantrasyonları 4.0×10⁻⁷ ve 8.0×10⁻⁷ M olan SFT çalışma çözeltilerinden üçer adet hazırlandı. Gün içi tekrar edilebilirlik değerleri için hazırlanan SFT çalışma çözeltilerinden aynı gün içerisinde elde edilen voltamogramlardan SFT'nin pik akımı ve pik potansiyeli verileri kullanıldı. Günler arası tekrar edilebilirlik verileri için bir hafta içerisinde üç farklı günde hazırlanan 4.0×10⁻⁷ ve 8.0×10⁻⁷ M'lık SFT çalışma çözeltileri kullanıldı. Her iki konsantrasyon için SFT'nin pik potansiyeli ve pik akım değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve yüzde bağıl standart sapmaları “Eşitlik 4” ile beş değer üzerinden hesaplandı. Diğer etken maddeler SFZ ve STR'nin tekrar edilebilirlik çalışmaları da aynı şekilde gerçekleştirildi.

$$\%BSS = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 / n - 1}}{\bar{X}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Eşitlikte, %BSS yüzde bağıl standart sapma, S standart sapma, $\bar{X}$ verilerin aritmetik ortalaması, n veri sayısı ve X_i ölçülen değerdir (1).

3.4.5. İlaç Etken Maddelerinin Farmasötik Dozaj Formlarından Tayini

SFT, SFZ ve STR etken maddelerinin farmasötik dozaj formlarından analizi için DPV ve KDV yöntemleri kullanıldı (9, 10, 48). Her ölçümden sonra etken madde içermeyen tampon içinde -0.4 ila +1.3 V potansiyel tarama aralığında ve 100 mV s^{-1} tarama hızında üç döngülü DV alınarak elektrot temizlendi.

Sefalosporin grubuna ait bu üç ilaç etken maddesinin analizi için SFT içeren SEFOTAK[®], SFZ içeren ZİDİM[®] ve STR içeren NOVOSEF[®] isimli ilaçlar kullanıldı. Flakonlar halinde temin edilen bu ilaçların ilaç stok çözeltileri enjeksiyonluk toz formları kutu içerisinde mevcut bulunan çözücü steril sıvıları içinde çözülerek $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ konsantrasyonda hazırlandı. Bu amaçla, SFT ilaç stok çözeltisi için toz formundan 2.4 mg SFT tartılıp içerisindeki çözücü sıvıyla 5 mL'ye tamamlandı. SFZ ilaç stok çözeltisi için 2.7 mg, STR ilaç stok çözeltisi için ise 3.0 mg tartılarak kendi ilaç kutularında mevcut olan çözücü sıvılarıyla hacimleri ayrı balon jojelerde 5 mL'ye tamamlandı. Her üç ilaç stok çözeltisi de tamamen çözünebilmesi için 5 dakika ultrasonik banyoda bekletildi.

Çalışma çözeltileri hazırlanırken hata payını en aza indirmek için konsantrasyonları 1.0×10^{-4} ve $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ olan ilaç ara stok çözeltileri hazırlandı. Konsantrasyonu $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ olan birinci ilaç ara stok çözeltisi, $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ 'lık ana stok çözeltiden 1.0 mL alınıp ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Konsantrasyonu $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ olan ikinci ilaç ara stok çözeltisi, $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 'lık birinci ilaç ara stok çözeltiden 1.0 mL alınıp ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Seçilen etken maddelerin farmasötik dozaj formlarından analizleri için çalışma çözeltisinin etken madde konsantrasyonu her üç madde için $8.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ olarak seçildi ve bu konsantrasyonda üçer adet çözelti hazırlandı. Öncelikle SFT çözeltileri, $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 'lık ikinci ilaç ara stoktan 0.8 mL alınıp pH 3.0 FT ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. SFZ ve STR çözeltileri de kendi ilaç ara stokları kullanılarak aynı şekilde hazırlandı. Her madde için ayrı ayrı DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak elde edilen voltamogramlardaki etken maddeye ait piklerin pik potansiyeli ve pik akımı değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve yüzde bağıl standart sapmaları "Eşitlik 4" kullanılarak beş değer üzerinden hesaplandı.

Stok çözeltiler ve daha sonrasında hazırlanan çalışma çözeltileri için herhangi bir ayırma ve süzme işlemi uygulanmadı. Böylece, SFT, SFZ ve STR etken maddelerinin

kullanıma hazır ilaç formlarındaki yardımcı maddelerin etken maddelerin elektrokimyasal analizini etkileyip etkilemediği araştırıldı.

SFT, SFZ ve STR etken maddelerinin elektrokimyasal analizi için geliştirilen yöntemin doğruluğu için DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla, farmasötik dozaj formlarından hazırlanan çözeltilere saf etken madde çözeltilerinden bilinen miktarda enjekte edildi. Her ölçümden sonra etken madde içermeyen tampon içinde -0.4 ila +1.3 V potansiyel tarama aralığında ve 100 mV s⁻¹ tarama hızında üç döngülü DV alınarak elektrot temizlendi.

Geri kazanım çalışması için ilk olarak bu bölümde daha önceden açıklandığı şekilde SFT, SFZ ve STR'nin farmasötik dozaj formlarından ana ve ara stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra, 1.0×10⁻⁵ M'lık ikinci SFT ilaç ara stoktan 0.8 mL alınıp bir balon jöjeye konuldu ve üzerine SFT etken maddesinden hazırlanmış 1.0×10⁻⁵ M ikinci ara stoktan 0.2 mL eklendi ve hacmi pH 3.0 FT ile 10 mL'ye tamamlandı. Böylece toplam SFT konsantrasyonu 1.0×10⁻⁶ M olan çözelti elde edildi. Bu çözeltiden üç adet hazırlanarak DPV ve KDV yöntemleri ile voltamogramları elde edildi. Voltamogramlardaki SFT pikinin pik akım değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve yüzde bağıl standart sapmaları "Eşitlik 4" ile beş değer üzerinden hesaplandı. Geri kazanım değerleri yüzde geri kazanım cinsinden hesaplandı. Diğer etken maddeler SFZ ve STR'nin geri kazanım çalışması da kendi ilaç ve saf etken madde ara stoklarından üçer adet çözelti hazırlanarak aynı şekilde gerçekleştirildi.

3.4.6. Serum Çalışması

Serum çalışması kalibrasyon, tekrar edilebilirlik ve geri kazanım olmak üzere üç aşamada ve çalışılan üç etken madde için ayrı ayrı gerçekleştirildi (9, 10).

SFT etken maddesinin serum kalibrasyon çalışmasında öncelikle, Bölüm 3.4.4'te kalibrasyon çalışmalarında belirlenen doğrusallık aralıkları dikkate alınarak artan konsantrasyonda SFT içeren serum çalışma çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak ölçümler alındı. SFT konsantrasyonuna karşı okunan pik akım değerleri grafiğe geçirilerek serum kalibrasyon grafikleri elde edildi. SFZ ve STR etken maddelerinin serum kalibrasyon çalışmaları için de kendilerine ait kalibrasyon çalışmalarında belirlenen doğrusallık aralıklarına göre artan konsantrasyonda etken madde içeren serum çalışma çözeltileri hazırlandı ve aynı şekilde bu çözeltilerden DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak ölçümler alındı.

İlaç etken maddelerinin tekrar edilebilirlik çalışması DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak SFT, SFZ ve STR maddeleri için ayrı ayrı gerçekleştirildi. Gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik çalışmaları için, pH 3.0 FT içinde 4.0×10^{-7} ve 8.0×10^{-7} M etken madde içeren üçer adet serum çalışma çözeltileri hazırlandı. Her iki konsantrasyon için maddelerin pik potansiyeli ve pik akım değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve yüzde bağıl standart sapmaları beş değer üzerinden “Eşitlik 4” ile hesaplandı.

Serum çalışma çözeltileri ile yapılan geri kazanım çalışmalarında SFT, SFZ ve STR için 1.0×10^{-6} M etken madde içerecek şekilde serum çalışma çözeltileri hazırlandı ve ölçümleri DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak yapıldı. Çalışma çözeltilerinin yüksek hassasiyette hazırlanması amacıyla 1.0×10^{-3} M etken madde içeren serum ana stok ve 1.0×10^{-4} M ve 1.0×10^{-5} M etken madde içeren serum ara stok çözeltileri kullanıldı. Ayrıca aynı konsantrasyonlarda, 1.0×10^{-4} M’lık ve 1.0×10^{-5} M’lık serum içermeyen etken madde ana ve ara stok çözeltileri de hazırlandı.

Geri kazanım çalışmalarında konsantrasyonu 1.0×10^{-6} M olan serum çalışma çözeltileri için, bir deney tüpüne 1.0×10^{-5} M etken madde içeren serum ara stok çözeltisinden 0.8 mL konuldu. Daha sonra üzerine konsantrasyonu 1.0×10^{-5} M olan saf etken madde ara stok çözeltisinden 0.2 mL eklendi ve pH 3.0 FT ile 10 mL’ye tamamlandı. Her üç maddenin çalışma çözeltileri üçer adet olmak üzere kendi ana ve ara stoklarından belirtilen şekilde hazırlanarak DPV ve KDV yöntemleri ile geri kazanım çalışması gerçekleştirildi. Bu yöntemler ile elde edilen voltamogramlarda SFT, SFZ ve STR maddelerinin pik akım değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve yüzde bağıl standart sapmaları “Eşitlik 4” ile beş değer üzerinden hesaplandı. Geri kazanım değerleri yüzde geri kazanım olarak verildi.

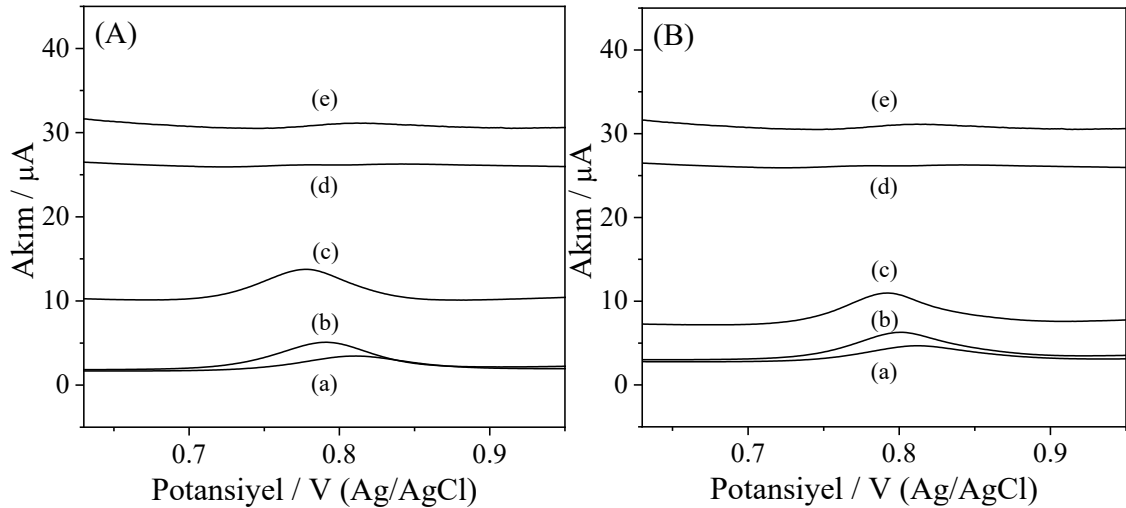
4. BULGULAR

4.1. Modifiye Elektrodun Seçilmesi

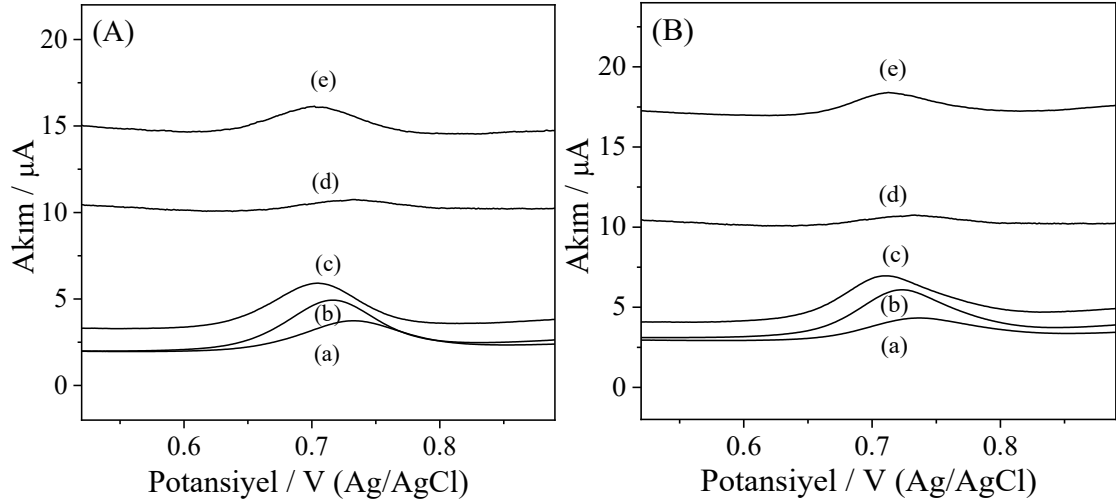
4.1.1. Camsı Karbon Elektrot ile Elde Edilen Bulgular

Sefotaksim (SFT), seftazidim (SFZ) ve seftriakson (STR) ilaç etken maddeleri, camsı karbon elektrot, çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli camsı karbon elektrot, poli(bromkrezol moru) polimer film modifiyeli camsı karbon elektrot, karbon pasta elektrot, çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli karbon pasta elektrot ve poli(bromkrezol moru) polimer film modifiyeli karbon pasta elektrot ile pH 4.0 AT ve pH 7.0 FT ortamlarında çalışıldı. Kullanılan elektrotlar Bölüm 3.3'te anlatıldığı şekilde hazırlandı. Çalışmalarda voltametrik yöntemlerden dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) teknikleri kullanılarak voltamogramlar elde edildi ve değerlendirildi.

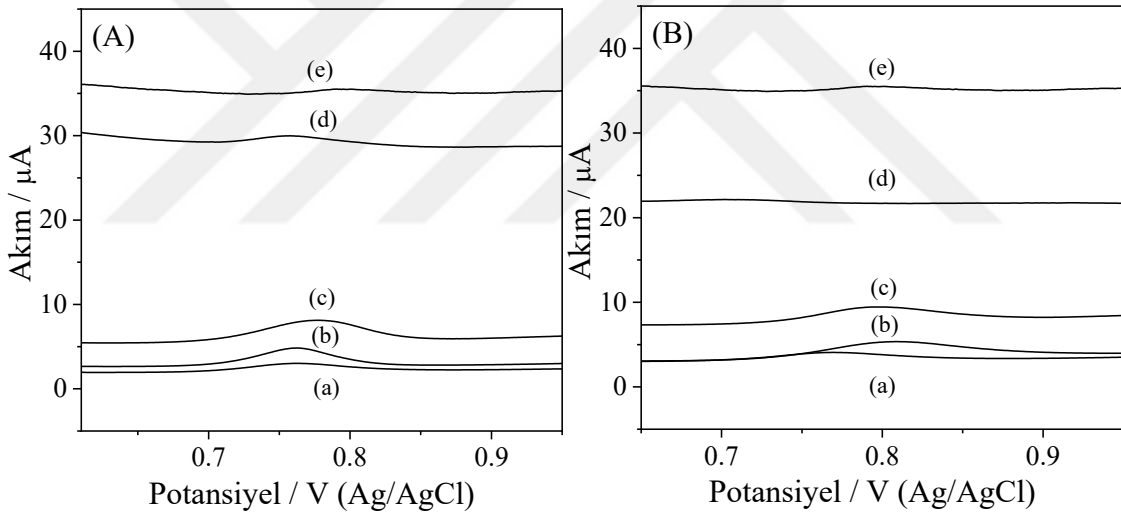
Tüm ilaç etken maddeleri için pH 4.0 AT ortamında alınan voltamogramlarda anodik pik akımları daha yüksek, daha keskin ve simetrik pikler elde edildi. pH 4.0 ve 7.0 için elde edilen sonuçlar birbiri ile uyumlu olduğundan Şekil 12-14'te etken maddelerin hazırlanan elektrotlarla sadece pH 4.0 AT içerisinde elde edilen DP ve KD voltamogramları gösterildi.



Şekil 12. pH 4.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT için (a) CK, (b) CK/PBM, (c) CK/ÇDKNT/PBM, (d) CK/ÇDKNT ve (e) CK/PBM/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları



Şekil 13. pH 4.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ için (a) CK, (b) CK/PBM, (c) CK/ÇDKNT/PBM, (d) CK/ÇDKNT ve (e) CK/PBM/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları



Şekil 14. pH 4.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR için (a) CK, (b) CK/PBM, (c) CK/ÇDKNT/PBM, (d) CK/ÇDKNT ve (e) CK/PBM/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları

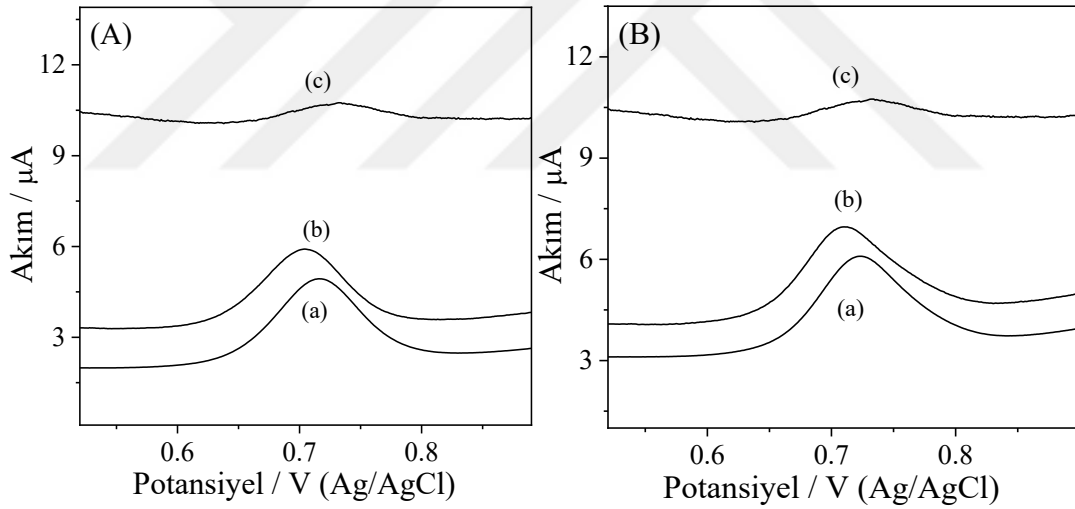
Yapılan karşılaştırma sonucunda her etken madde için en yüksek anodik pik akımına sahip en simetrik piklerin cilalanmış CK elektrot üzerine PBM film modifiyeli elektrot ile elde edildiği görüldü. Buna göre, CK/PBM elektrot ile elde edilen pik akım değerleri yalnız CK elektrot ile elde edilen değerlere göre SFT, SFZ ve STR için sırasıyla DPV ile 1.8, 1.6 ve 1.9 oranında; KDV ile sırasıyla 1.5, 1.6 ve 1.8 oranında arttı. ÇDKNT ile hazırlanan modifiye elektrotlar ile alınan voltamogramlarda elde edilen pik akım değerlerinin ise

düştüğü gözlemlendi (Şekil 12-14). Ayrıca, CK/PBM elektrodun, ÇDKNT modifiyeli elektrotlara göre daha stabil olduğu ve daha tekrarlanabilir sonuçlar verdiği gözlemlendi.

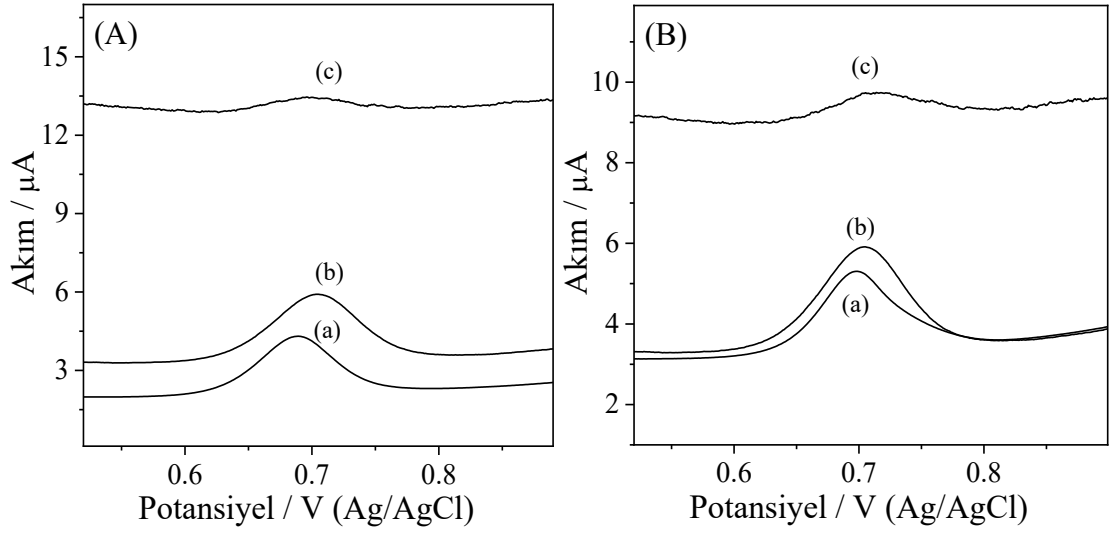
4.1.2. Karbon Pasta Elektrot ile Elde Edilen Bulgular

Seçilen ilaç etken maddelerinin karbon pasta (KP) elektrot, çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş karbon pasta (KP/ÇDKNT) elektrot ve poli(bromkrezol moru) modifiyeli karbon pasta (KP/PBM) elektrot kullanılarak DV, DPV ve KDV yöntemleri ile pH 5.0 AT ve pH 7.0 FT ortamlarında voltamogramları alındı ve sonuçlar CK/PBM elektrot kullanılarak elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldı.

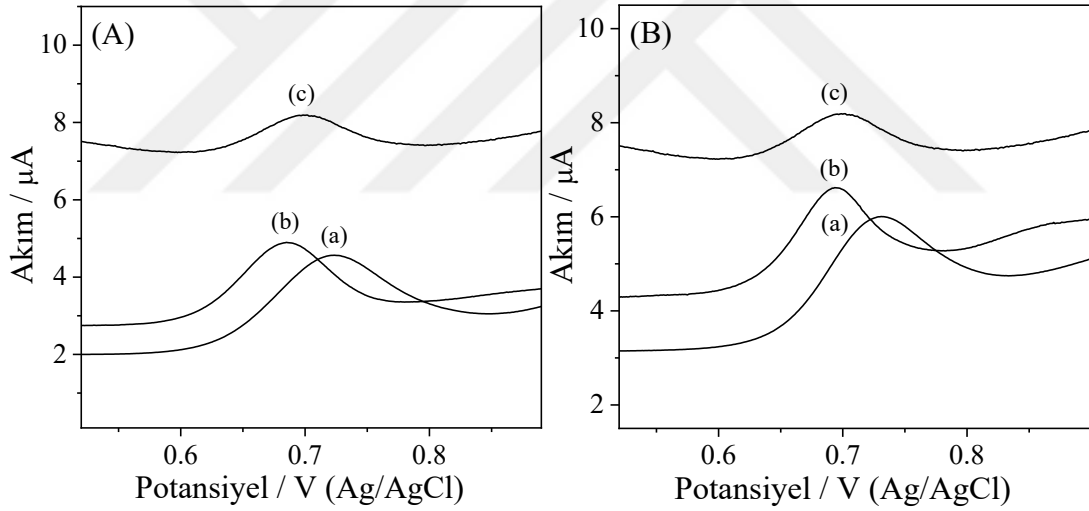
İlaç etken maddeleri için, KP elektrot ile pH 5.0 AT ortamında daha yüksek akım değerine sahip ve daha simetrik pikler elde edildi. Ancak, KP elektrodun PBM ve ÇDKNT ile yapılan modifikasyonları ile yalın KP elektrot ile elde edilenlerden daha yüksek pik akımları elde edilemedi (Şekil 15-17).



Şekil 15. pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT için (a) KP, (b) KP/PBM, (c) KP/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları

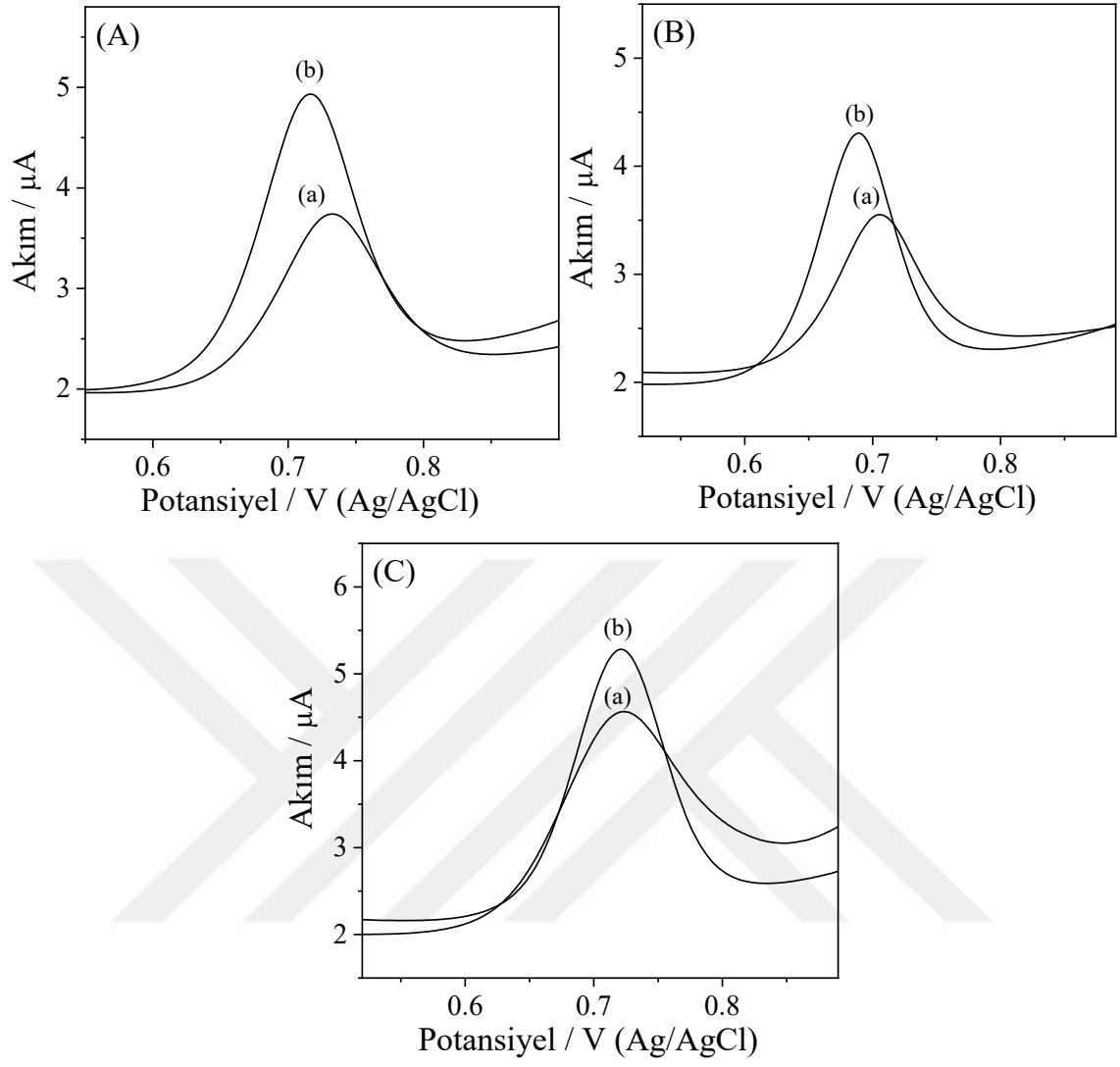


Şekil 16. pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ için (a) KP, (b) KP/PBM, (c) KP/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları

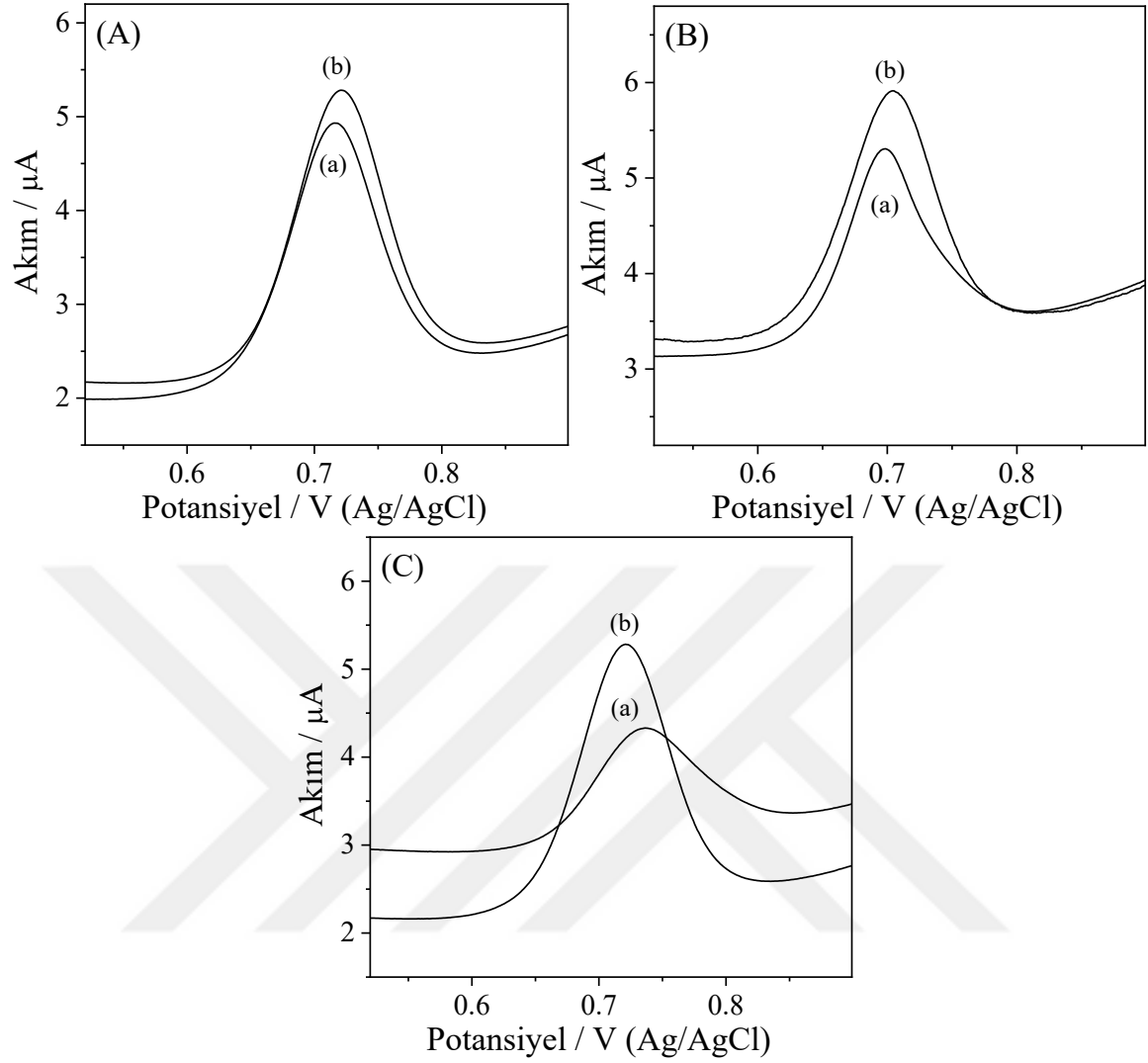


Şekil 17. pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR için (a) KP, (b) KP/PBM, (c) KP/ÇDKNT elektrotları kullanılarak elde edilen (A) DP ve (B) KD voltamogramları

Karbon pasta ve camı karbon elektrotlar ve bu elektrotların modifikasyonları ile yapılan denemeler sonucunda her üç etken madde için en yüksek pik akımlarının elde edildiği sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldı. Şekil 18 ve 19’da görüldüğü üzere, KP elektrot ile elde edilen voltamogramlardaki pikler daha yayvandı ve pik akımı değerleri de CK/PBM elektrot ile elde edilenlerden daha düşük idi. Bu sonuçlara göre, bundan sonraki çalışmalarda tüm etken maddeler için CK/PBM modifiye elektrodun kullanılmasına karar verildi.



Şekil 18. pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A)SFT, (B) SFZ ve (C) STR için (a) KP ve (b) CK/PBM elektrotları kullanılarak elde edilen DP voltamogramları



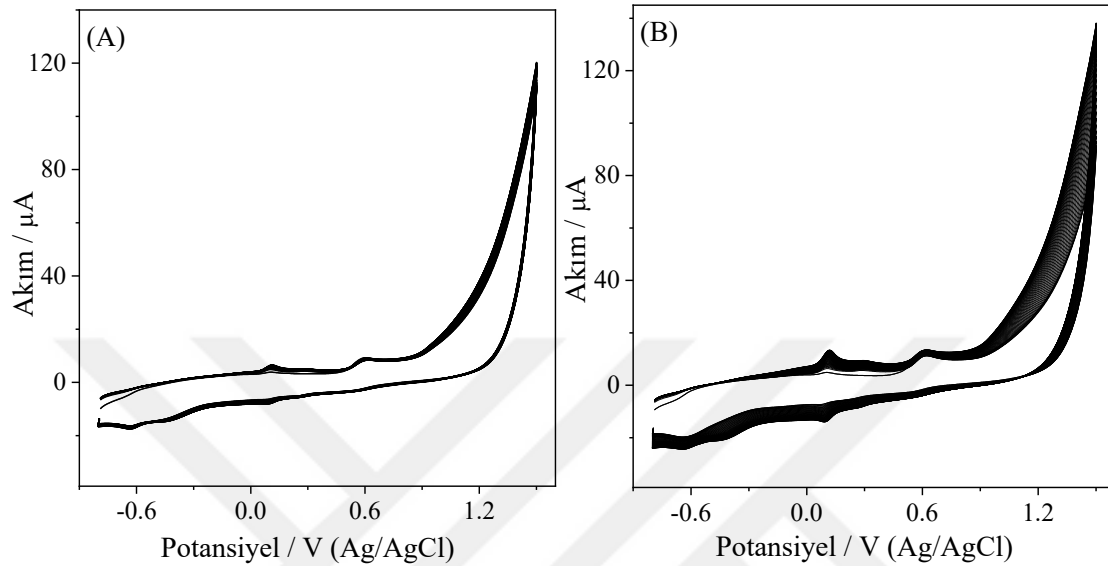
Şekil 19. pH 5.0 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR için (a) KP ve (b) CK/PBM elektrotları kullanılarak elde edilen KD voltamogramları

Kantitatif analiz çalışmalarında kullanılacak CK/PBM elektrodun stabilite çalışması DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla, hazırlanan CK/PBM elektrodun elektrokimyasal davranışının zamanla değişip değişmediği kontrol edildi. Buna göre, pH 5.0 AT çözeltisi içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT çözeltisinin aynı CK/PBM elektrot ile 2 ve 4 hafta sonra elde edilen voltamogramlarında SFT pik potansiyelleri değişmezken, pik akım değeri DPV ve KDV yöntemleri için sırasıyla 2 hafta sonra %3.3 ve 4.5 oranında ve 4 hafta sonra %4.2 ve 6.3 oranında azaldı.

4.1.3. CK/PBM Elektrot için Deneysel Parametrelerin Belirlenmesi

Camsı karbon elektrot yüzeyine PBM kaplanması için kullanılan dönüşümlü voltametri yöntemi için tarama hızı, destek elektrolit türü, pH değeri ve monomer

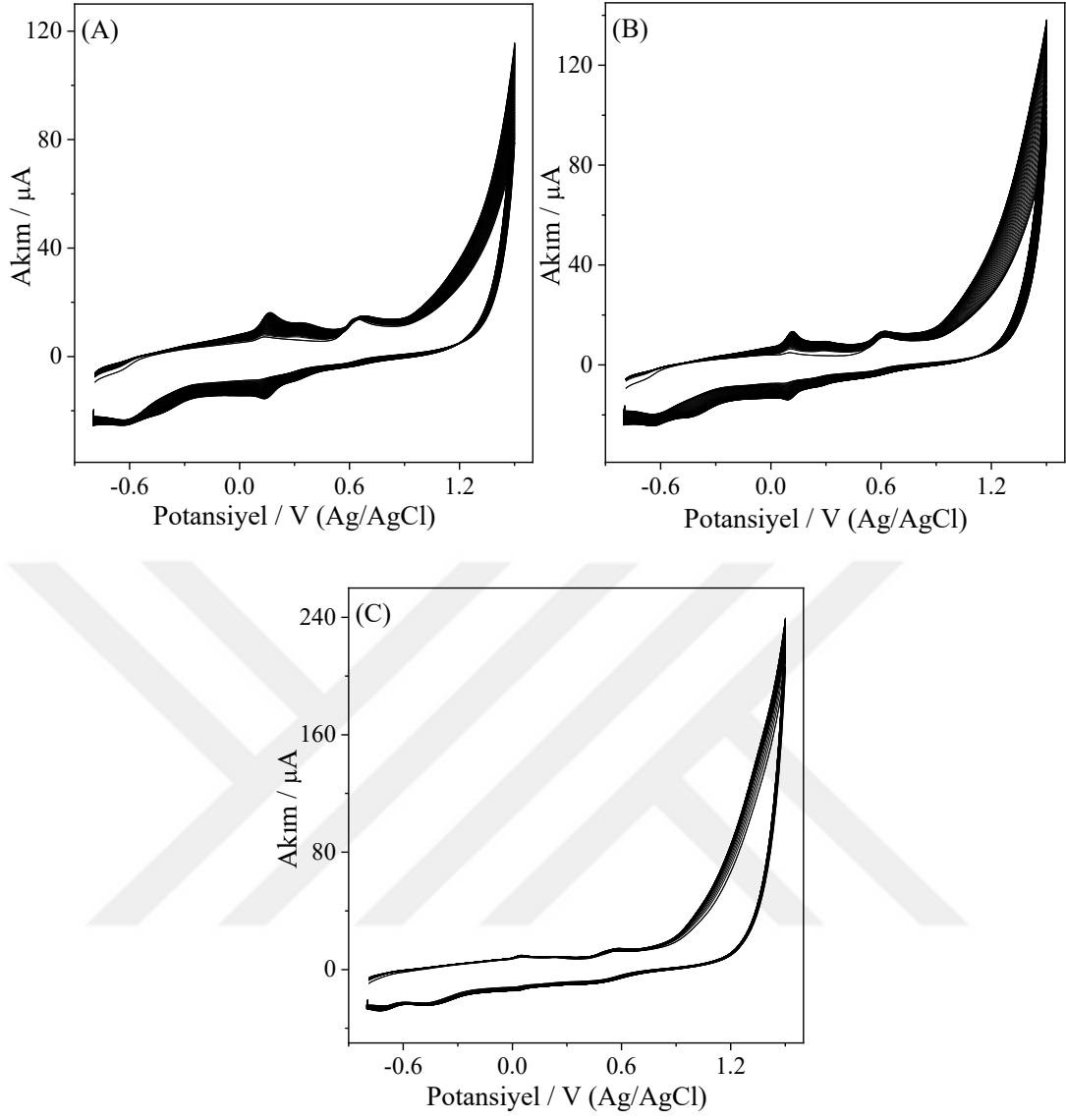
konsantrasyonu gibi bazı parametreler optimize edildi. Yapılan optimizasyon sonucunda en kontrollü ilerleyen polimerizasyon şartları belirlendi. İlk olarak DV'nin tarama hızı 50 ve 100 mV s^{-1} olarak değiştirilerek pH 6.0 FT ortamındaki voltamogramlar elde edildi (Şekil 20).



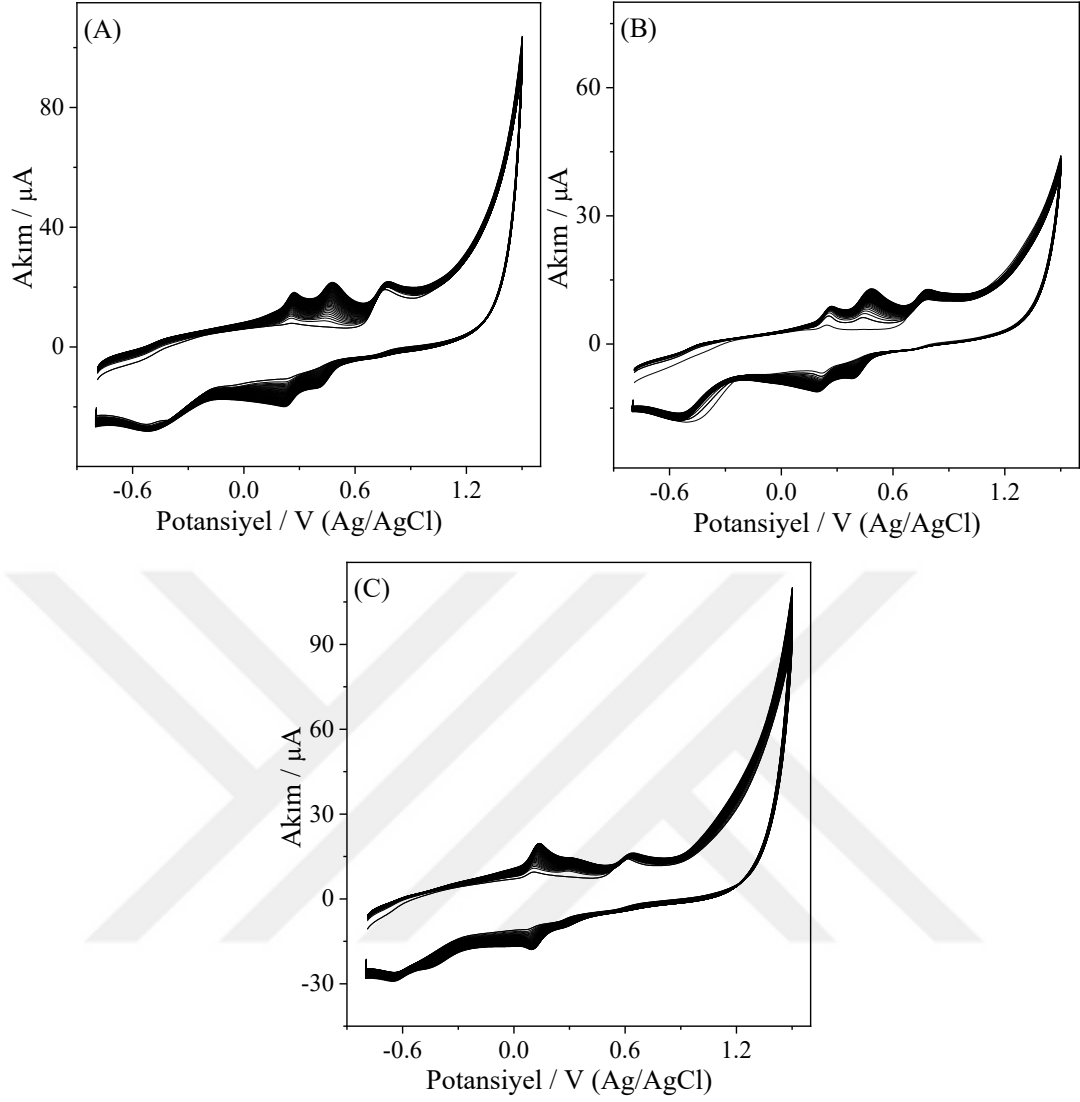
Şekil 20. pH 6.0 FT içerisindeki 0.5 mM bromkrezol moru kullanılarak (A) 50 mV s^{-1} ve (B) 100 mV s^{-1} tarama hızı ile elde edilen 50 döngülü DV eğrileri

Elde edilen voltamogramlara göre tarama hızı 100 mV s^{-1} olduğunda 0.12 V civarındaki bromkrezol moru polimerinin pik akımının daha yüksek olduğu ve polimer pikinin 50. döngüye kadar düzenli olarak arttığı gözlemlendi. Bu sonuca göre tarama hızı 100 mV s^{-1} olarak seçildi.

Tarama hızının belirlenmesinin ardından bromkrezol morunun elektropolimerizasyonu için tampon ortamı belirlendi. Bu amaçla; pH 5.0 AT, 6.0 FT ve 7.0 FT ve ayrıca 0.1 M KNO_3 , 0.01 M KNO_3 ve 0.01 M KNO_3 içeren pH 6.0 FT ortamlarında elektropolimerizasyon gerçekleştirildi. Elde edilen voltamogramlar Şekil 21 ve 22’de verildi. Bunun için her bir ortamda 50 döngülü DV alındı ve polimer piklerinin ilk döngüdeki ve 50. döngüdeki polimer pik akımı oranları hesaplandı (Tablo 1).



Şekil 21. (A) pH 5.0 AT, (B) pH 6.0 FT ve (C) pH 7.0 FT içerisindeki 50 döngülü DV eğrileri (Bromkrezol moru konsantrasyonu: 0.5 mM ve tarama hızı: 100 mV s⁻¹)



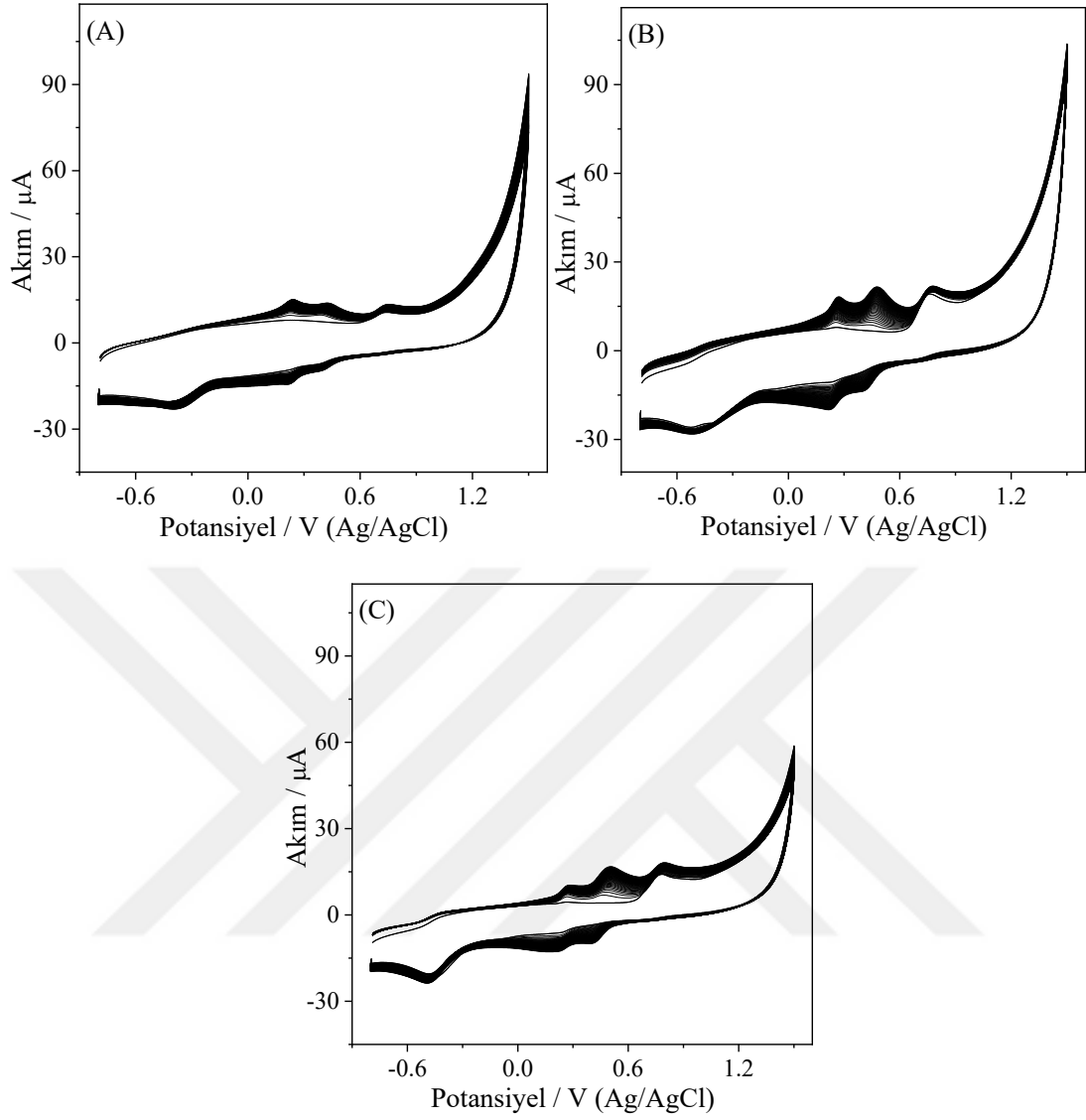
Şekil 22. (A) 0.1 M KNO₃, (B) 0.01 M KNO₃ ortamları ve (C) 0.01 M KNO₃ içeren pH 6.0 FT ortamındaki 50 döngülü DV eğrileri (Bromkrezol moru konsantrasyonu: 0.5 mM ve tarama hızı: 100 mV s⁻¹)

Şekil 21 ve 22'deki voltamogramlara ve Tablo 1'deki sonuçlara göre PBM polimer film modifikasyon işlemi için polimer pikiindeki artışın en yüksek olduğu 0.1 M KNO₃ ortamının kullanılmasına karar verildi.

Tablo 1. Farklı tampon ortamlarında DV kullanılarak gerçekleştirilen bromkrezol morunun elektropolimerizasyonunda elde edilen polimer pik akım oranları

Tampon	İlk Döngüdeki Polimer Pik Akımı (μA)	50. Döngüdeki Polimer Pik Akımı (μA)	Polimer Pik Akımı Oranı (50/1)
pH 5.0 AT	0.402	0.798	1.983
pH 6.0 FT	0.330	0.844	2.556
pH 7.0 FT	0.260	0.275	1.056
0.1 M KNO ₃	0.809	6.086	7.522
0.01 M KNO ₃	1.188	4.477	3.770
0.01 M KNO ₃ içeren pH 6.0 FT	0.459	0.829	1.804

Tampon ortamının belirlenmesinin ardından son olarak elektropolimerizasyon için en uygun monomer konsantrasyonu belirlendi. Bunun için bromkrezol morunun 0.1 M KNO₃ içerisinde 0.2 mM, 0.5 mM ve 0.8 mM’lık çözeltileri hazırlandı ve 50 döngülü DV alındı (Şekil 23). Elde edilen voltamogramlarda ilk ve 50. döngüdeki polimer pik akımı oranları hesaplandı ve en uygun monomer derişimi belirlendi (Tablo 2).



Şekil 23. 0.1 M KNO_3 içerisindeki (A) 0.2 mM, (B) 0.5 mM ve (C) 0.8 mM bromkrezol morunun 50 döngülü DV eğrileri (Tarama hızı: 100 mV s^{-1})

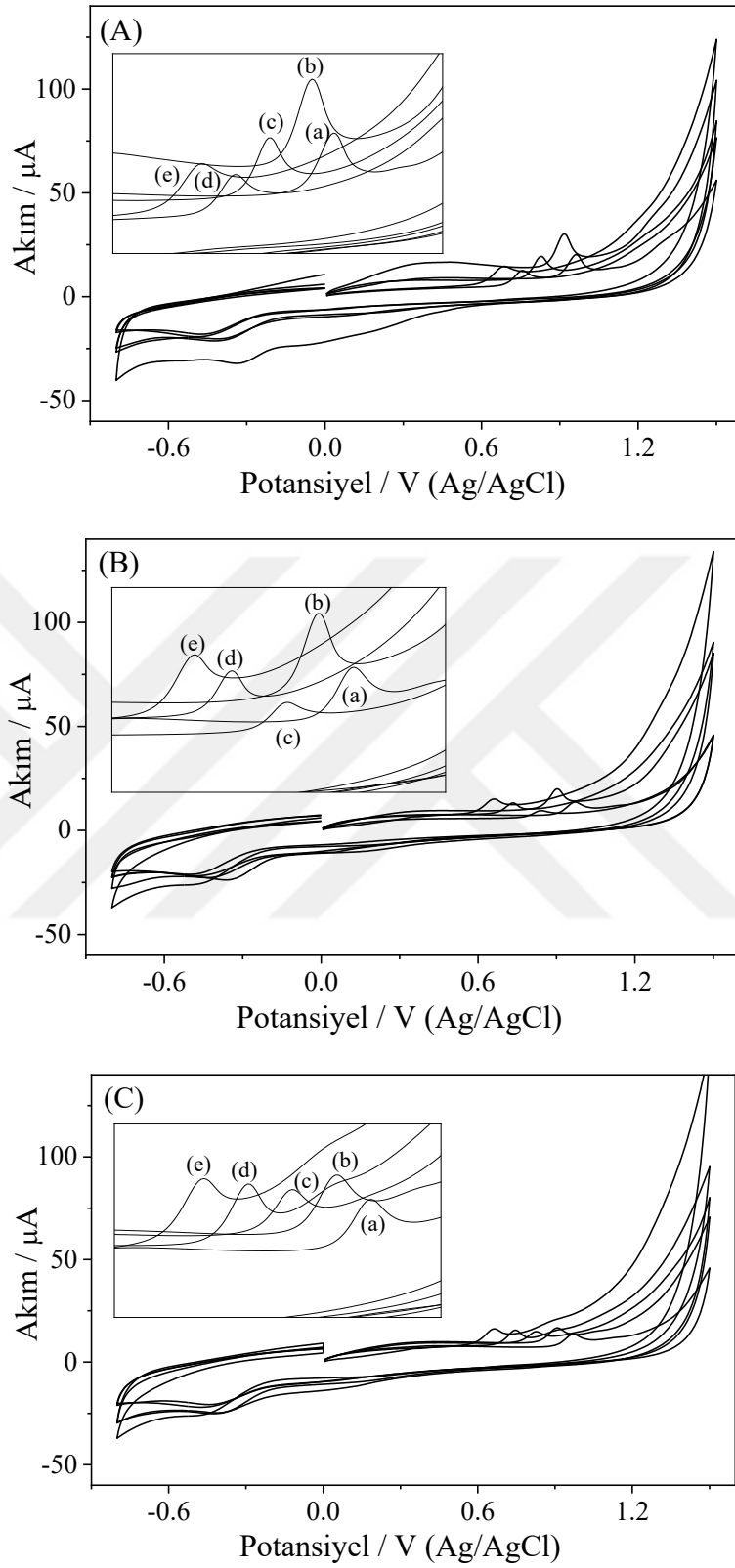
Tablo 2. 0.1 M KNO₃ içerisinde bromkrezol morunun elektropolimerizasyonunda farklı monomer konsantrasyonları için elde edilen polimer pik akım oranları

Bromkrezol Morunun Konsantrasyonu	İlk Döngüdeki Polimer Pik Akımı (µA)	50. Döngüdeki Polimer Pik Akımı (µA)	Polimer Pik Akımı Oranı (50/1)
0.2 mM	0.8576	1.7696	2.0634
0.5 mM	0.8091	6.0861	7.5221
0.8 mM	1.2175	5.2752	4.3328

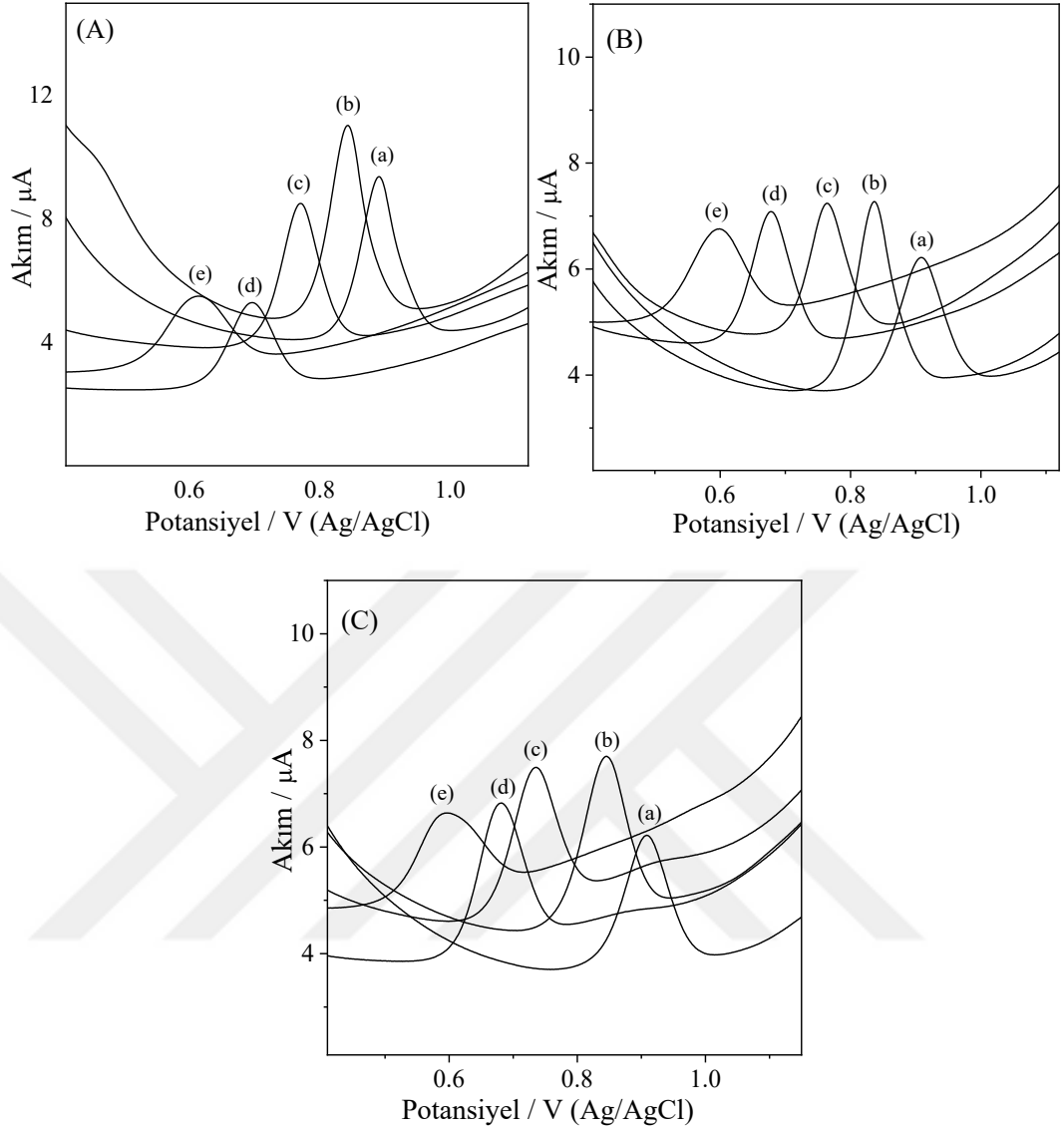
Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, CK elektrot yüzeyine PBM filminin kaplanması işlemi, 0.5 mM bromkrezol moru içeren 0.1 M KNO₃ içerisinde, -0.4 ila +1.6 V potansiyel aralığında 100 mV s⁻¹ tarama hızında 50 döngülü DV yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmanın devamında bu şekilde hazırlanan CK/PBM elektrot kullanıldı.

4.2. pH Taraması

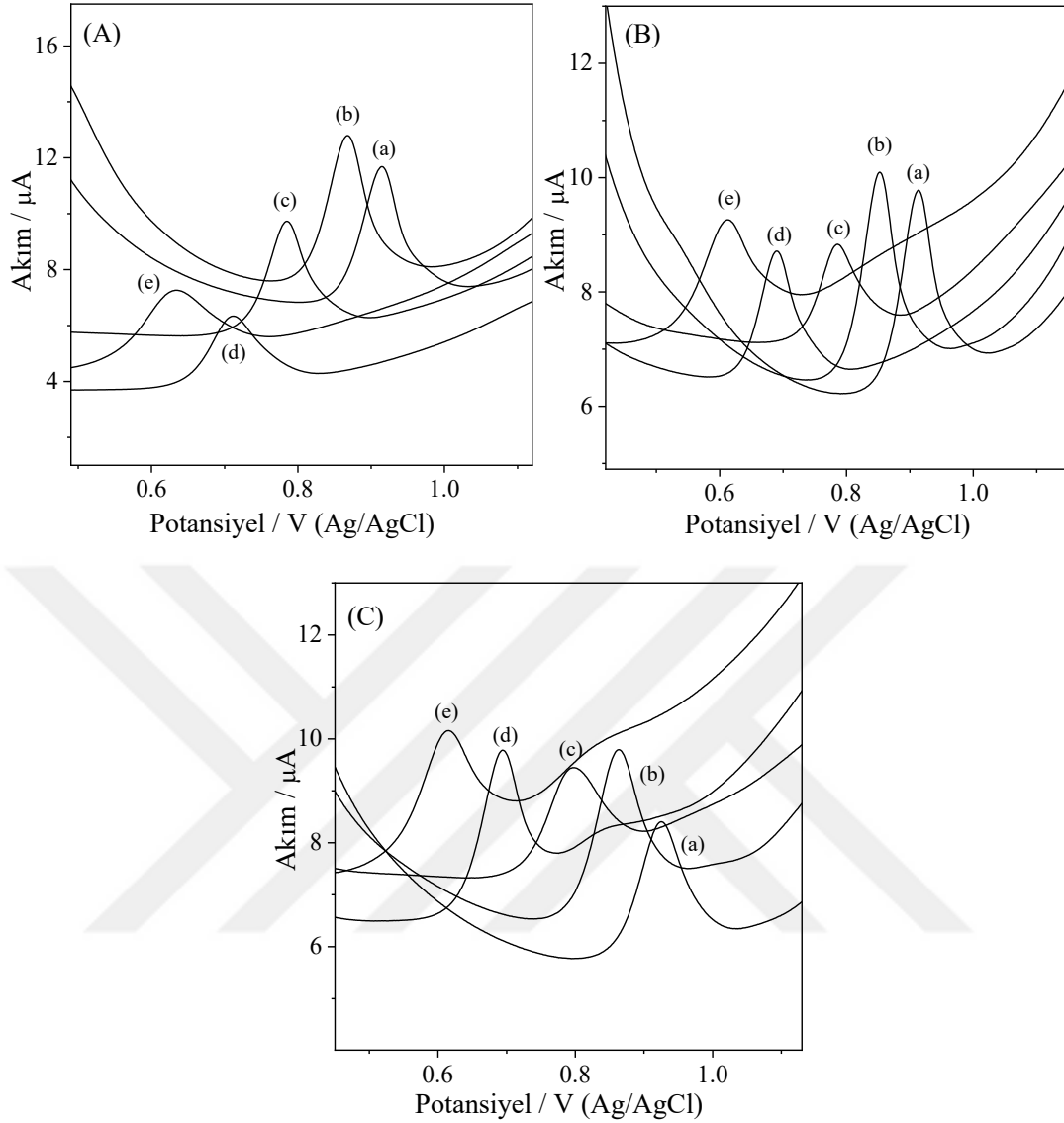
İlaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) CK/PBM elektrot ile elektrokimyasal analizi için en uygun tampon ortamının seçilebilmesi amacıyla pH taraması yapıldı. Bunun için, pH değerleri 2.0 ile 8.0 arasında değişen 0.2 M FT, 3.5 ile 5.5 arasında değişen 1.0 M AT ve 2.0 ile 12.0 arasında değişen 0.04 M BRT içerisinde 8.0×10⁻⁵ M ilaç etken madde içeren çözeltilerin DV, DPV ve KDV yöntemleri ile voltamogramları elde edildi. Şekil 24-26’te her üç madde için elde edilen voltamogramlar verilmiştir.



Şekil 24. (a) pH 2.0 BRT, (b) pH 3.0 FT, (c) pH 4.5 AT, (d) pH 6.0 FT ve (e) pH 8.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin CK/PBM elektrot ile alınmış DV eğrileri (Tarama hızı 100 mV s^{-1})

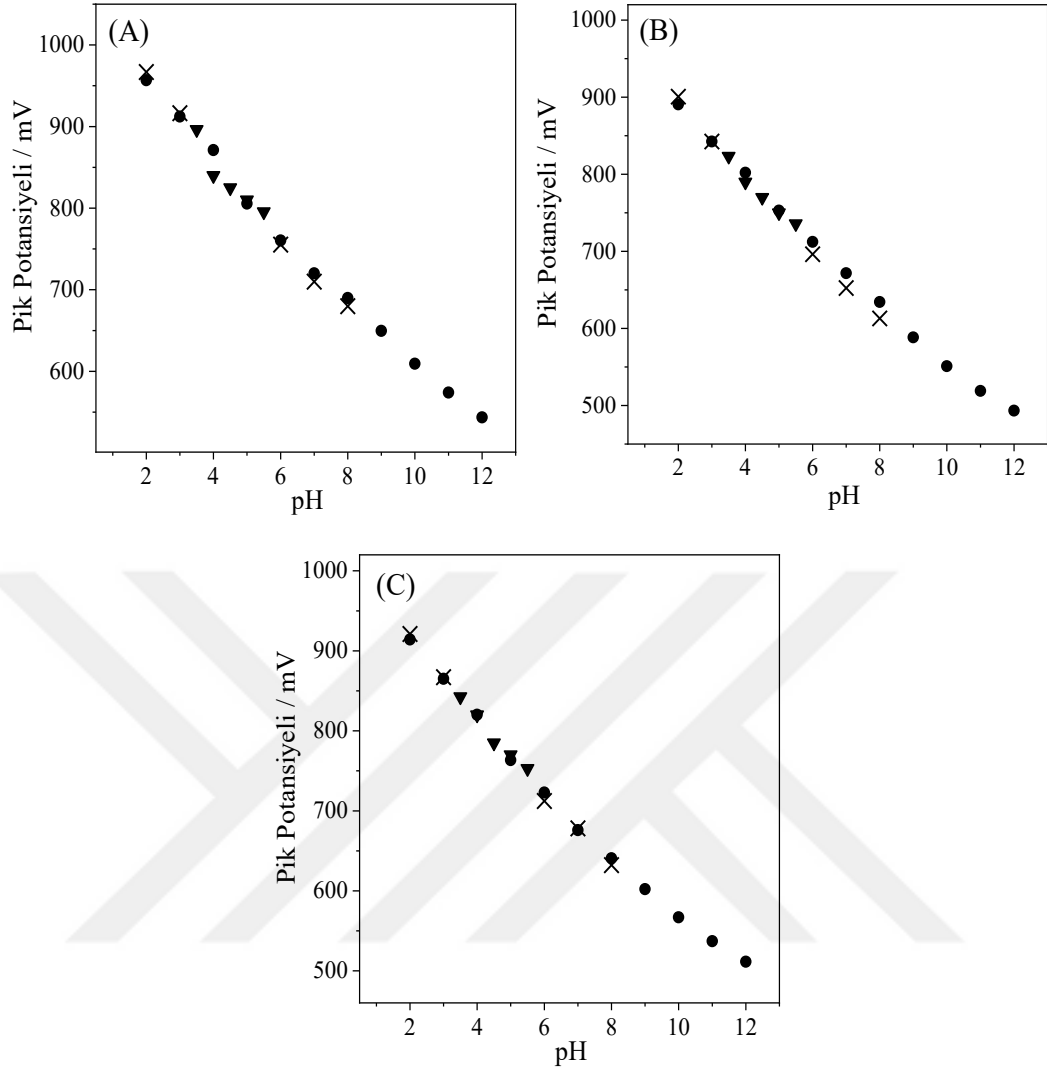


Şekil 25. (a) pH 2.0 BRT, (b) pH 3.0 FT, (c) pH 4.5 AT, (d) pH 6.0 FT ve (e) pH 8.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin CK/PBM elektrot ile alınmış DP voltamogramları

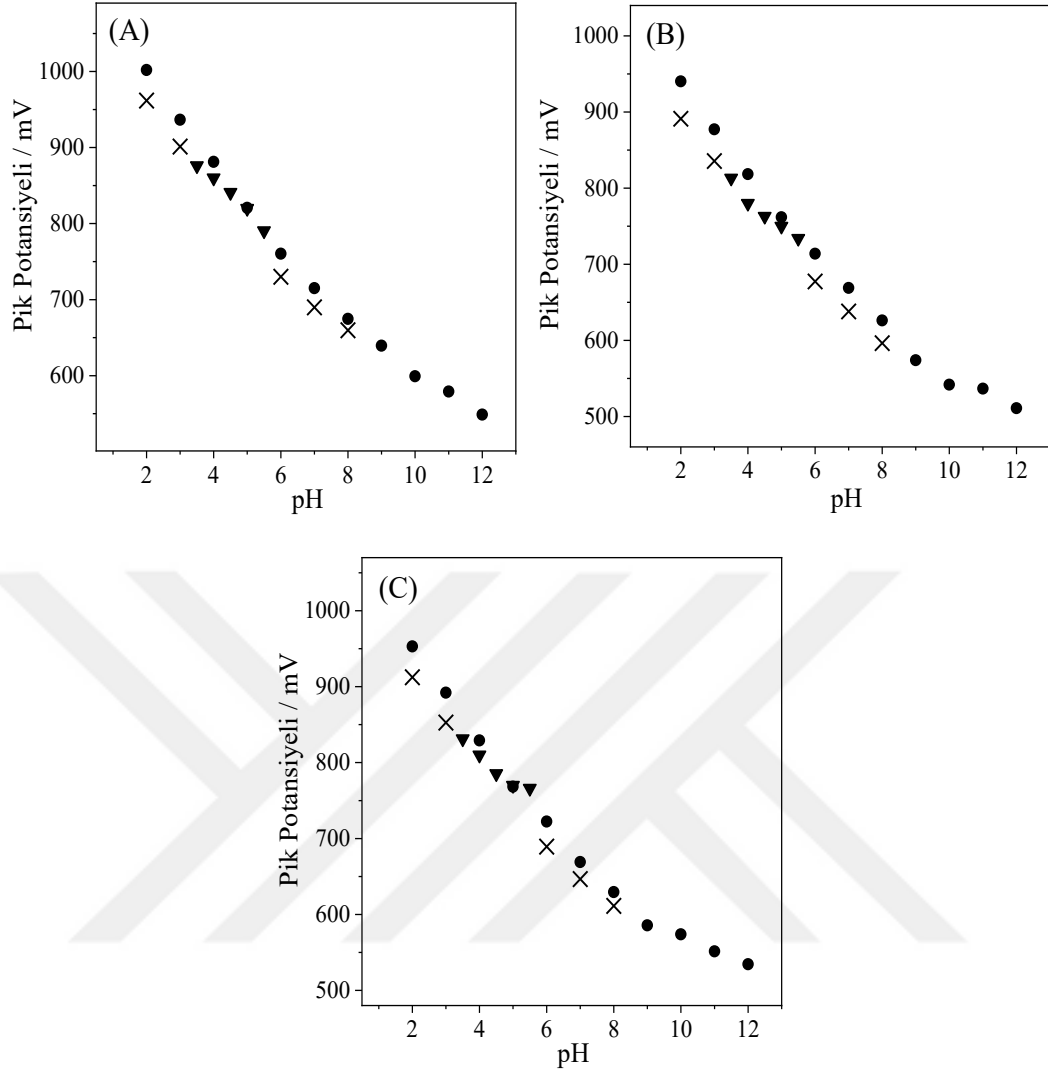


Şekil 26. (a) pH 2.0 BRT, (b) pH 3.0 FT, (c) pH 4.5 AT, (d) pH 6.0 FT ve (e) pH 8.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-5} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin CK/PBM modifiye elektrot ile alınmış KD voltamogramları

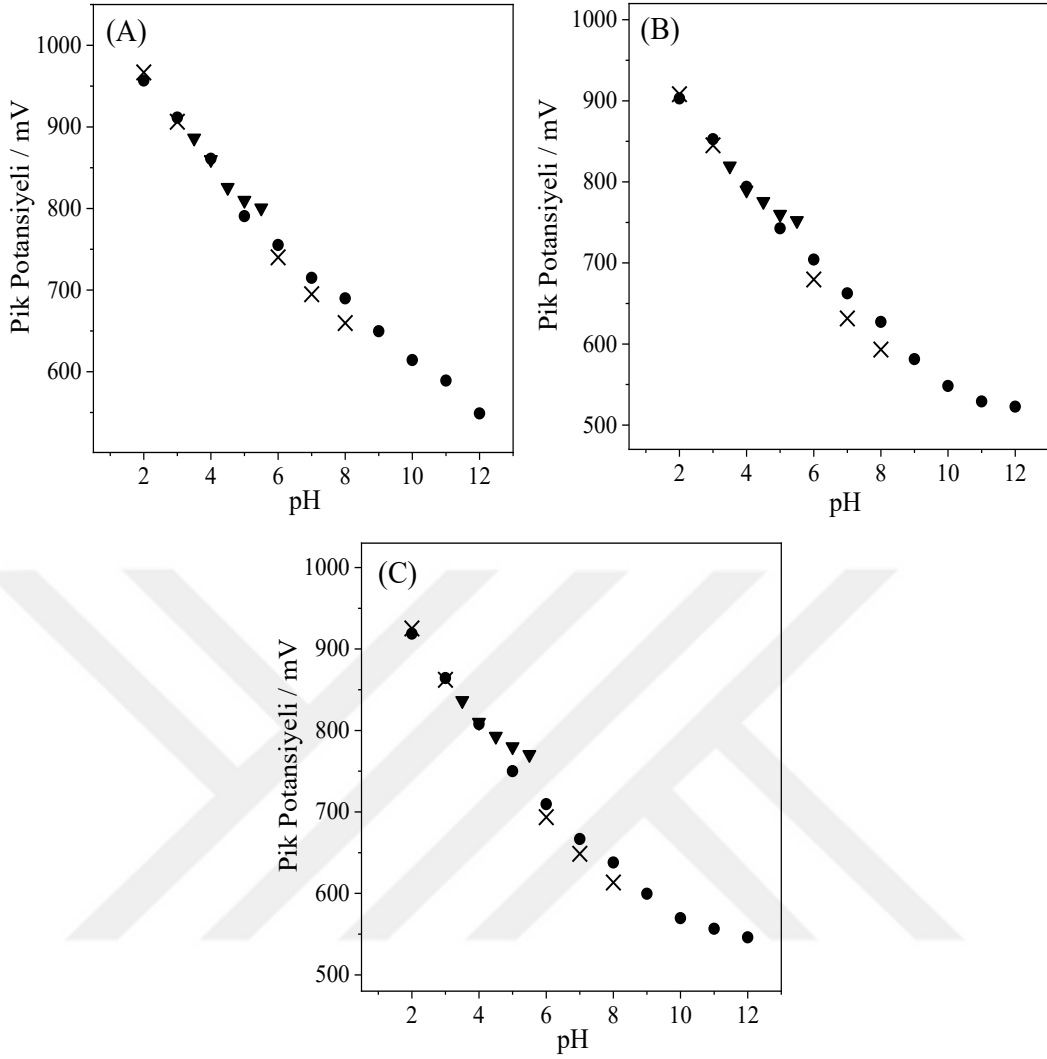
Konsantrasyonu 8.0×10^{-5} M olan SFT, SFZ ve STR çözeltileri için elde edilen yükseltgenme pik potansiyellerinin tampon pH'sına karşı değişimi Şekil 24, 25 ve 26'da verilmiştir. Buna göre, SFT için pik potansiyeli pH 2.0'dan 12.0'a DV yöntemi için 0.42 V, DPV yöntemi için 0.39 V ve KDV yöntemi için 0.40 V negatif yönde kaydı (Şekil 27). SFZ için pik potansiyeli pH 2.0'dan 12.0'a DV yöntemi için 0.45 V, DPV yöntemi için 0.43 V ve KDV yöntemi için 0.42 V negatif yönde kaydı (Şekil 28). STR için ise pik potansiyeli pH 2.0'dan 12.0'a DV yöntemi için 0.41 V, DPV yöntemi için 0.38 V ve KDV yöntemi için 0.37 V negatif yönde kaydı (Şekil 29).



Şekil 27. (A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (x), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT'nin pH'ya karşı pik potansiyel değişimi



Şekil 28. (A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (x), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ'nin pH'ya karşı pik potansiyel değişimi



Şekil 29. (A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (×), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR'nin pH'ya karşı pik potansiyel değişimi

Şekil 27-29'daki grafikler incelendiğinde SFT, SFZ ve STR'nin pik potansiyellerinde belli pH aralığında doğrusal bir azalma gözlemlendi. Doğrusallıkta görülen azalma sonrasında özellikle SFZ ve STR için daha belirgin olmak üzere belli bir pH'dan sonra pik potansiyelleri ortam pH'ından daha az etkilendi.

Buna göre, pik potansiyellerindeki doğrusallığın sona erdiği pH değerleri, SFT için pH 8.0, SFZ için pH 8.5 ve STR için pH 9.0 civarında gerçekleşti (Şekil 27-29). Bu grafiklerde doğrusallığın elde edildiği pH aralığının regresyon eşitlikleri "Eşitlik 5-13"te verilmektedir.

SFT için;

$$E_p \text{ (mV)} = 1048 - 46.3 \text{ pH (} r = 0.996 \text{)} \quad \text{DV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 5)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = 972.4 - 42.9 \text{ pH (} r = 0.999 \text{)} \quad \text{DPV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 6)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = 1003.1 - 46.3 \text{ pH (} r = 0.998 \text{)} \quad \text{KDV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 7)}$$

SFZ için;

$$E_p \text{ (mV)} = 1103.3 - 55.2 \text{ pH (} r = 0.998 \text{)} \quad \text{DV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 8)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = 1033.7 - 52.3 \text{ pH (} r = 0.997 \text{)} \quad \text{DPV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 9)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = 1052.7 - 54.4 \text{ pH (} r = 0.997 \text{)} \quad \text{KDV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 10)}$$

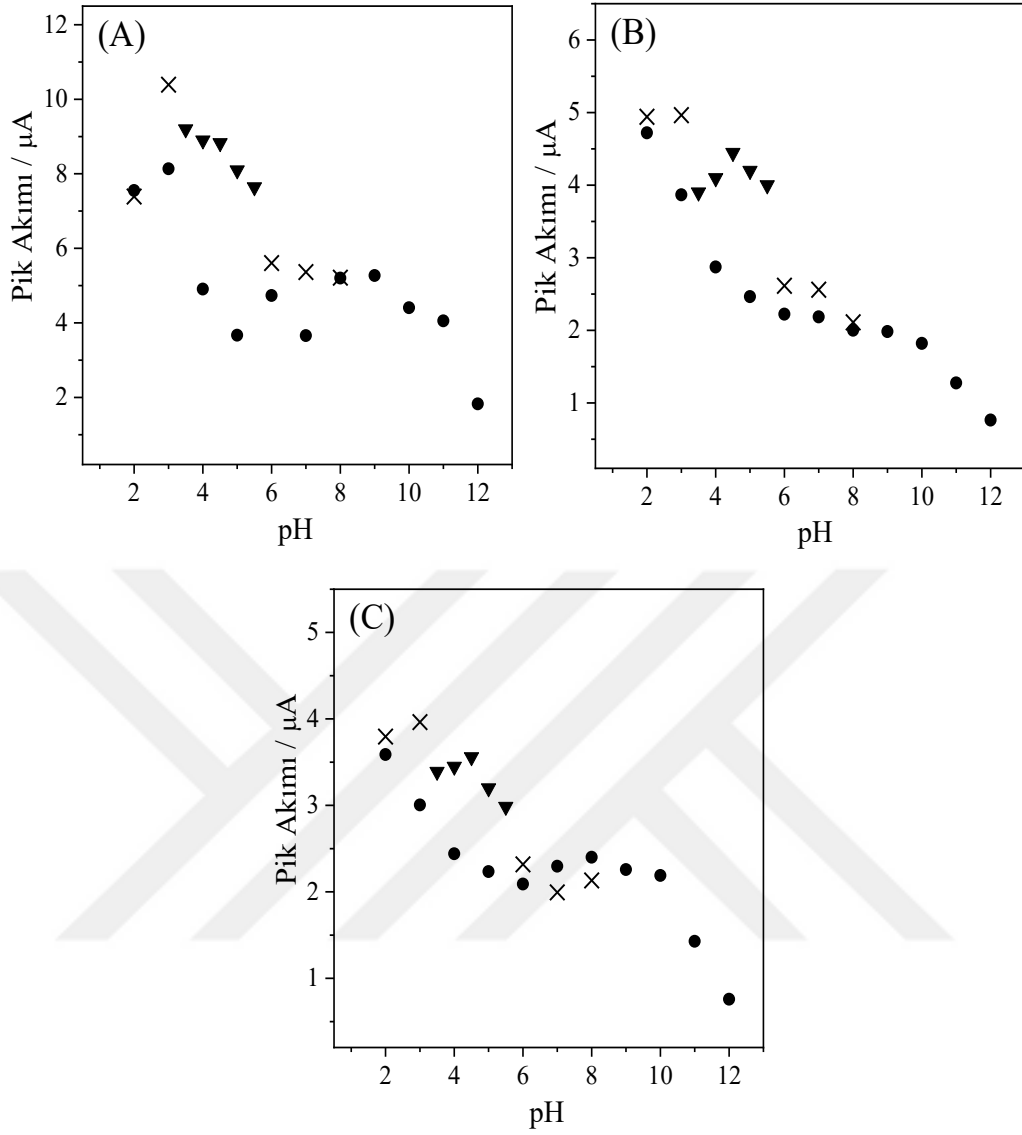
STR için;

$$E_p \text{ (mV)} = 1043.4 - 46.4 \text{ pH (} r = 0.994 \text{)} \quad \text{DV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 11)}$$

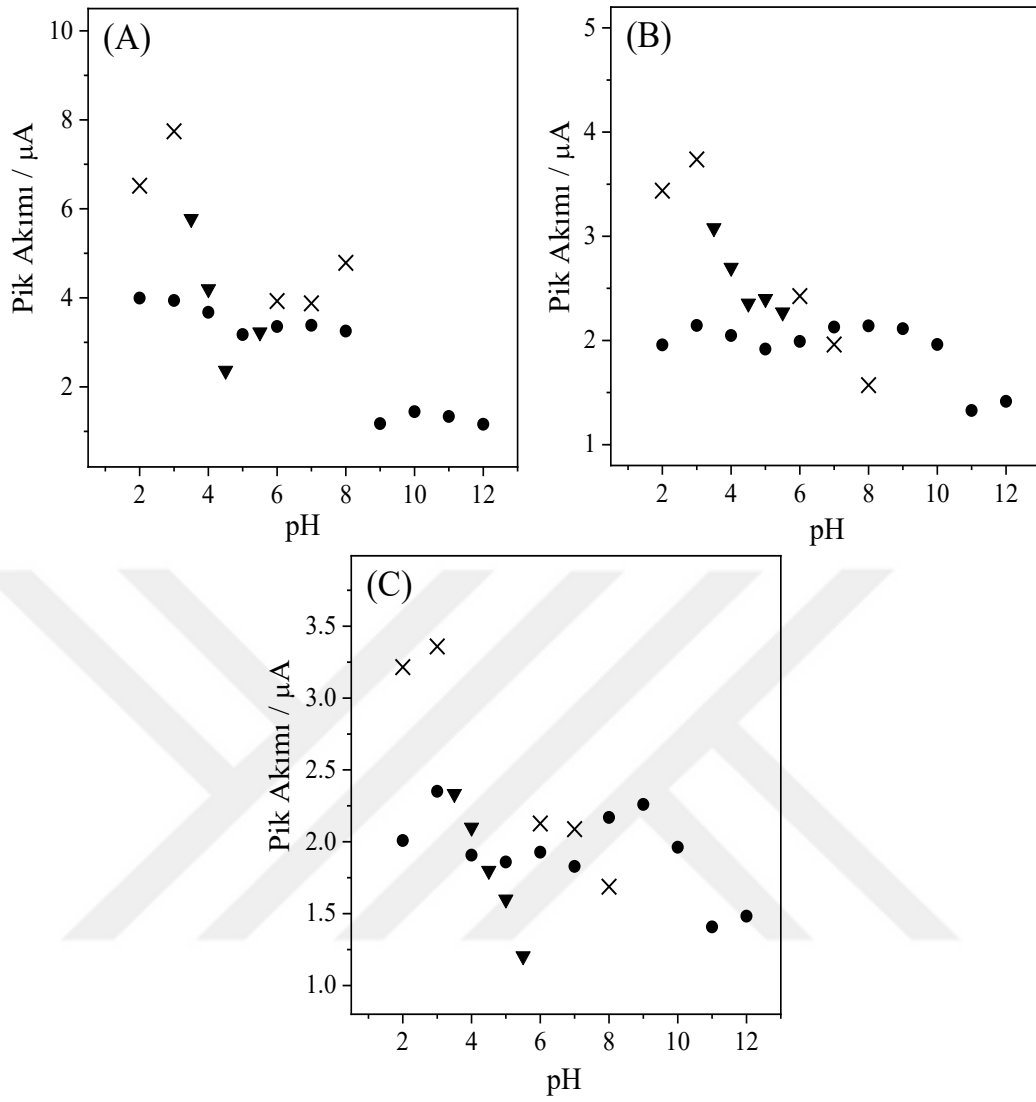
$$E_p \text{ (mV)} = 986.7 - 46.3 \text{ pH (} r = 0.996 \text{)} \quad \text{DPV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 12)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = 1003.7 - 47.7 \text{ pH (} r = 0.994 \text{)} \quad \text{KDV yöntemi} \quad \text{(Eşitlik 13)}$$

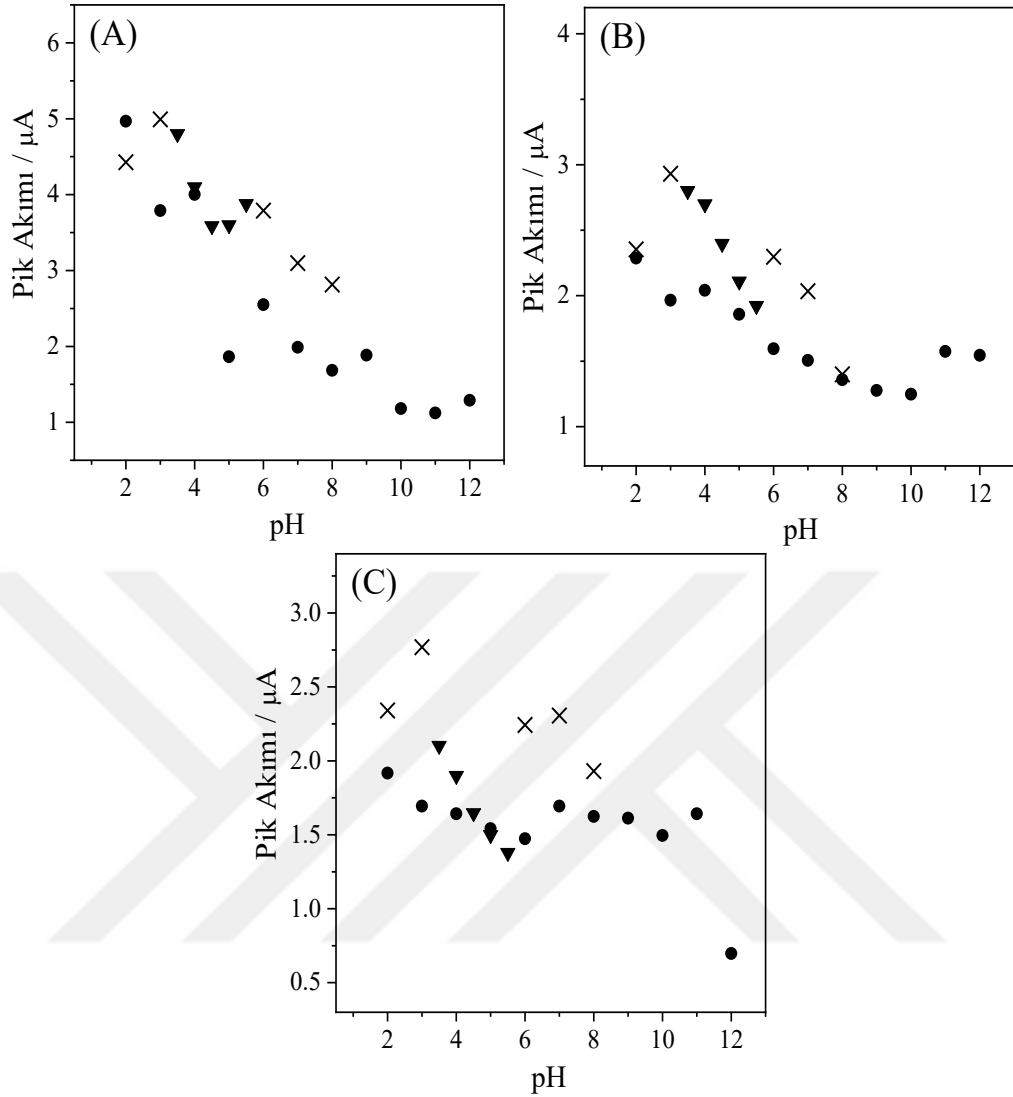
İlaç etken maddelerinin elektrokimyasal analizi için en uygun tampon ortamını belirlemek için DV, DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak pH 2.0 ile 12.0 arasında yapılan taramada elde edilen SFT, SFZ ve STR piklerinin pik akım değerlerine ve piklerin simetrilerine bakıldı. Yapılan değerlendirme sonucunda tüm etken maddeler için çalışma tampon çözeltisi olarak pH 3.0 FT seçildi (Şekil 30-32).



Şekil 30. (A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (x), 1.0 M AT ($\blacktriangledown$) ve 0.04 M BRT ($\bullet$) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFT'nin pH'ya karşı pik akım grafikleri



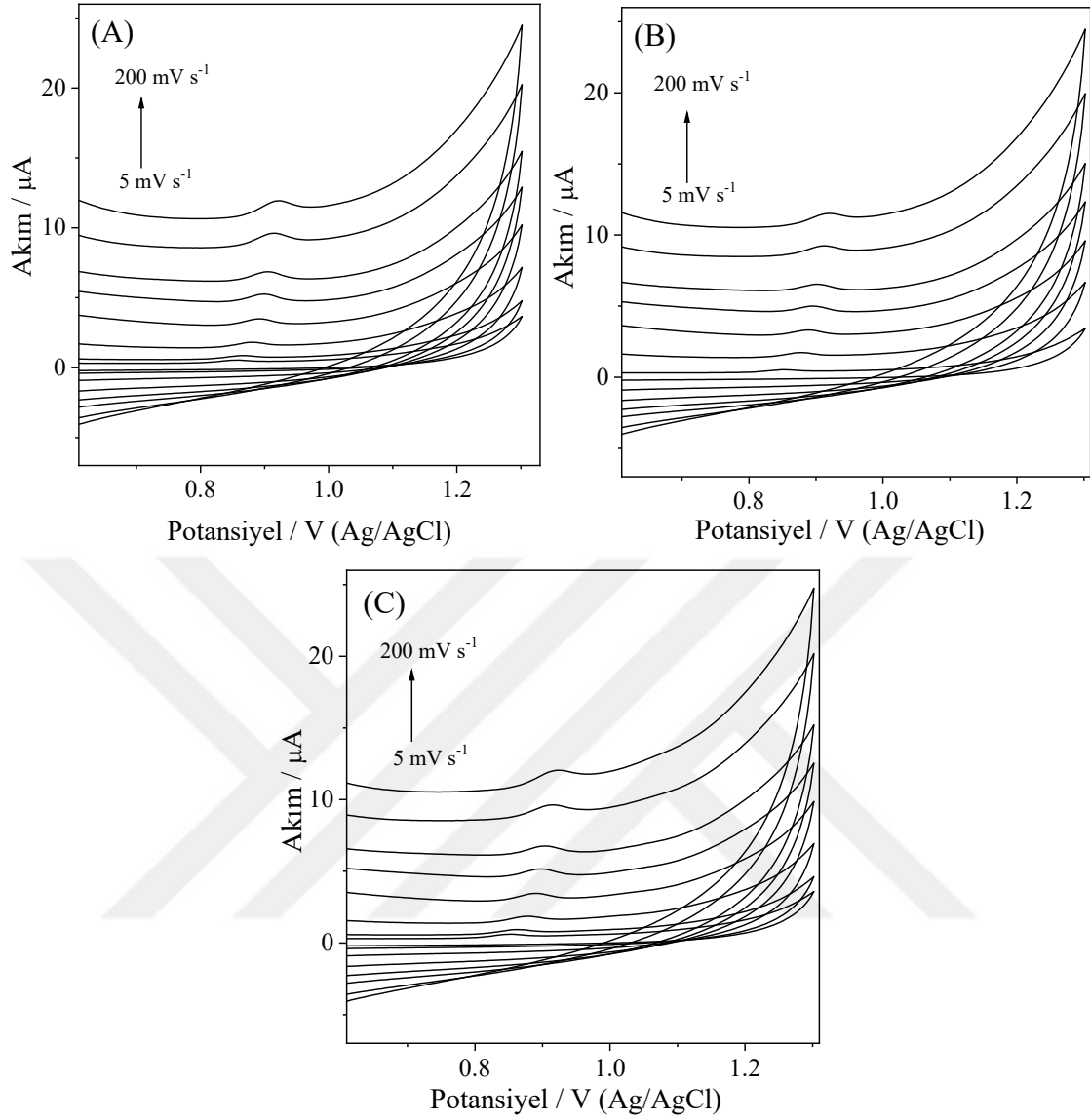
Şekil 31. (A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT ($\times$), 1.0 M AT ($\blacktriangledown$) ve 0.04 M BRT ($\bullet$) içerisindeki 8.0×10^{-5} M SFZ'nin pH'ya karşı pik akım grafikleri



Şekil 32. (A) DV, (B) DPV ve (C) KDV yöntemleri ile 0.2 M FT (x), 1.0 M AT (▼) ve 0.04 M BRT (●) içerisindeki 8.0×10^{-5} M STR'nin pH'ya karşı pik akım grafikleri

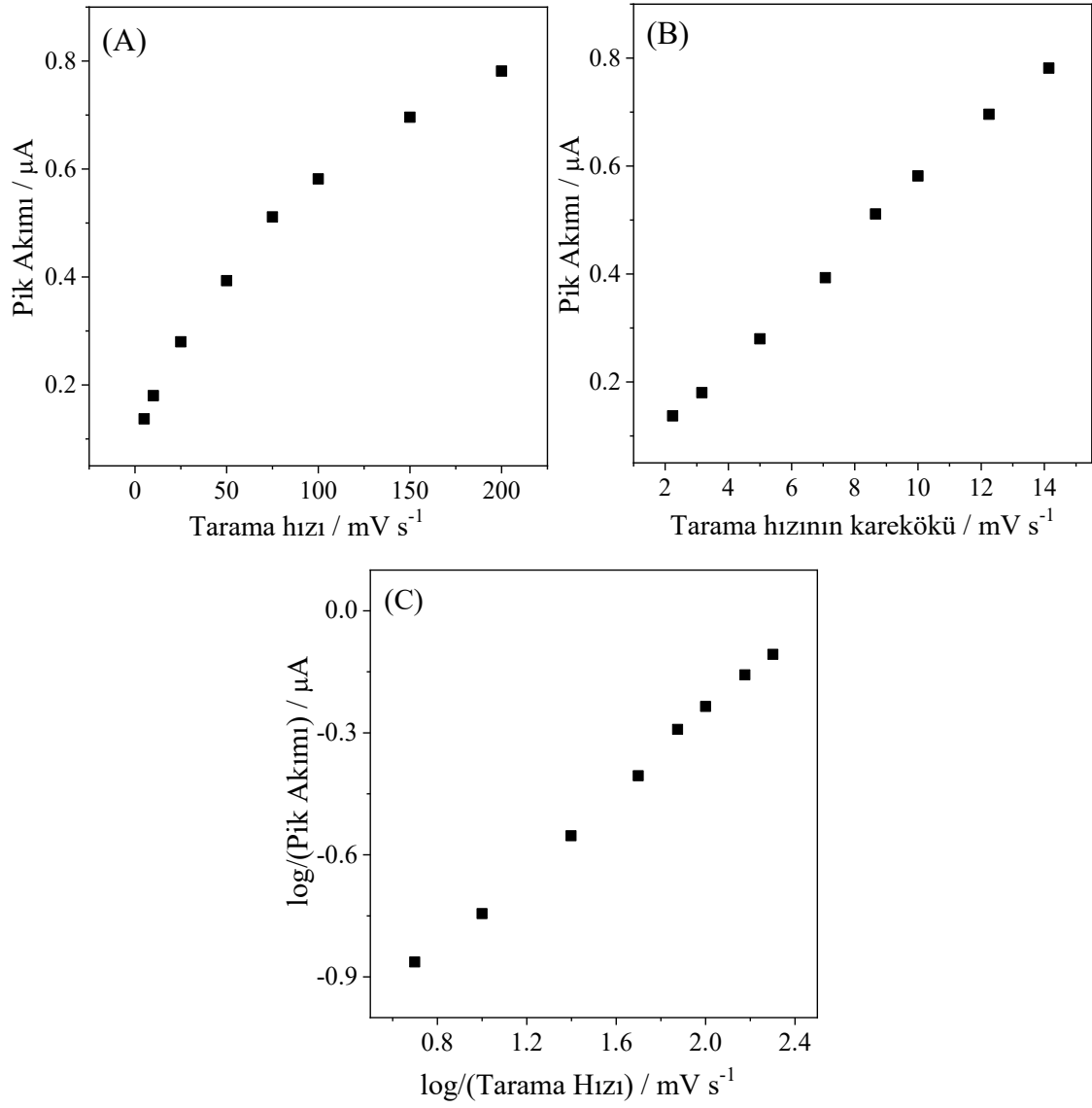
4.3. Hız Taraması

Hız taraması çalışması ile ilaç etken maddelerinin elektrot yüzeyindeki davranışları hakkında bilgi sahibi olundu. Bunun için, 8.0×10^{-6} M etken madde (SFT, SFZ ve STR) içeren pH 3.0 FT çözeltisinde 200 mV s^{-1} 'den 5 mV s^{-1} 'e değişen tarama hızlarında DV ile tek döngülü tarama yapıldı (Şekil 33).

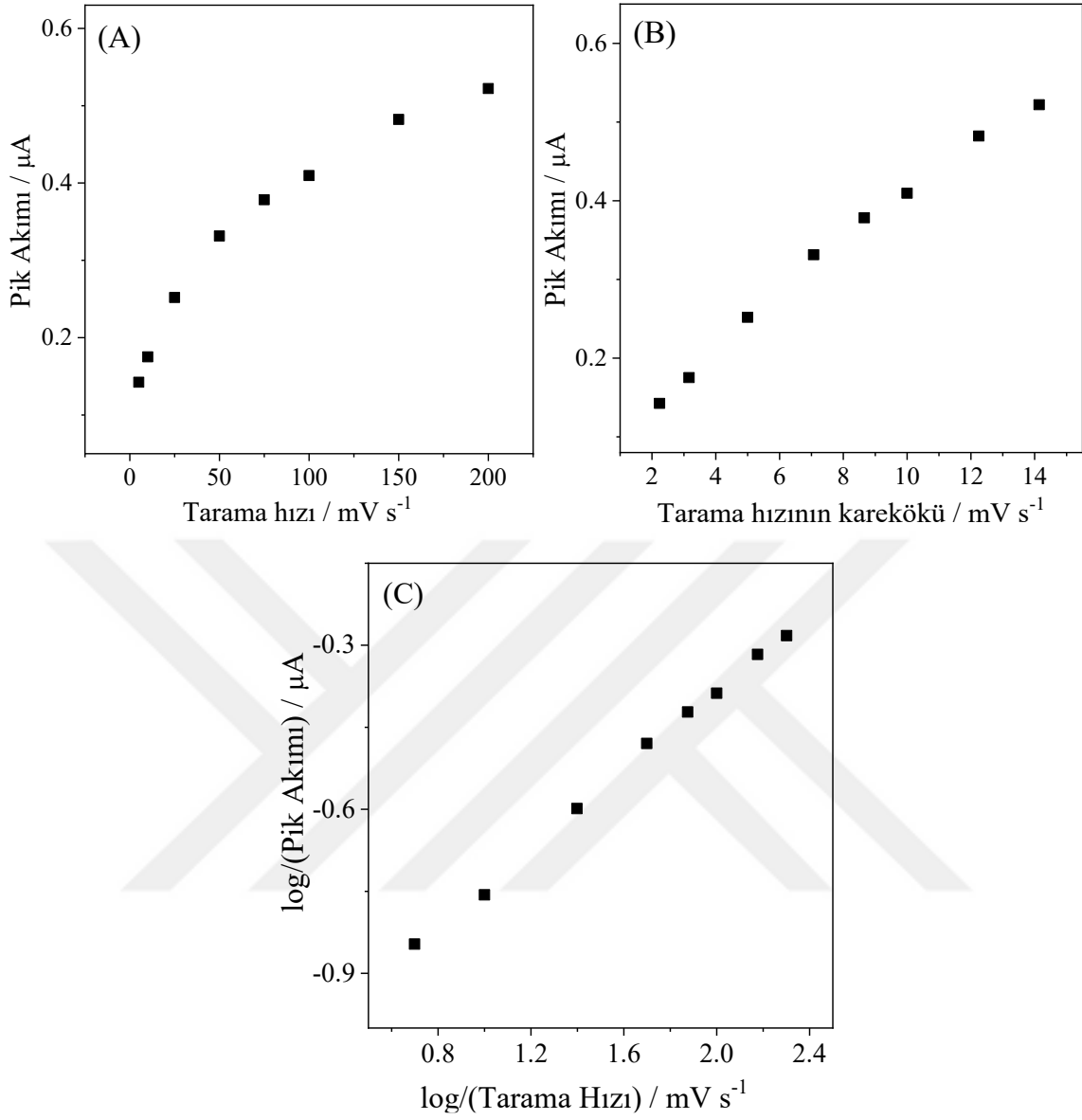


Şekil 33. pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M (A) SFT, (B) SFZ ve (C) STR'nin tek döngülü DV eğrileri (Tarama hızı: 200, 150, 100, 75, 50, 25, 10, 5 mV s^{-1})

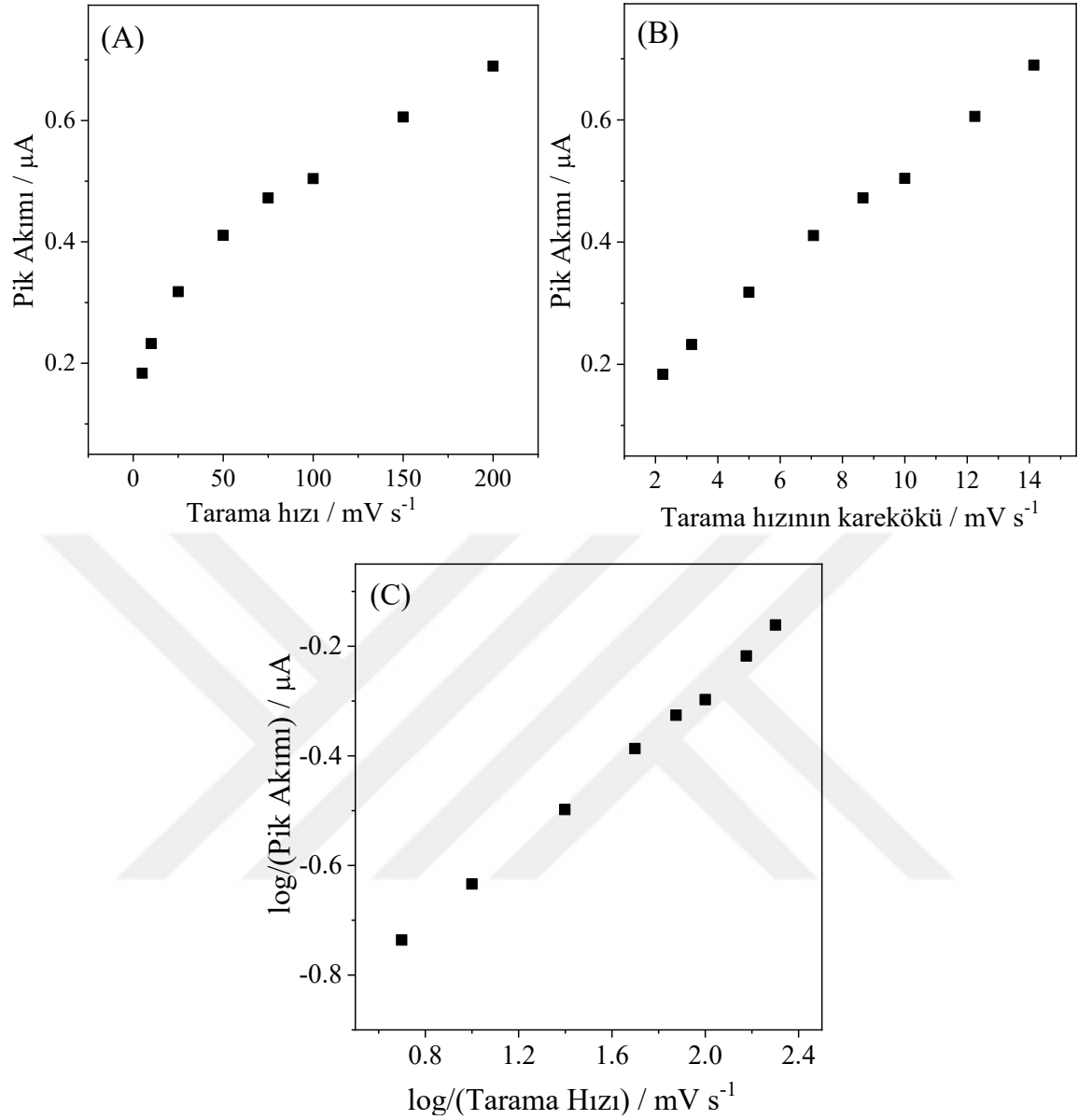
Şekil 33'te verilen voltamogramlardaki etken maddelerin anodik piklerinin potansiyel ve akım değerleri okundu. Buna göre, her bir etken madde için tarama hızına (ν) karşı pik akımı (I_p) (Şekil 34A, 35A ve 36A), tarama hızının kareköküne ($\nu^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) (Şekil 34B, 35B ve 36B) ve tarama hızının logaritmasına ($\log \nu$) karşı pik akımı logaritması ($\log I_p$) (Şekil 34C, 35C ve 36C) grafikleri çizilerek doğrusallığın görüldüğü grafiklerin regresyon denklemleri "Eşitlik 14-19'da verildiği şekilde elde edildi.



Şekil 34. pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M SFT için DV ile elde edilen (A) tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p), (B) tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) ve (C) tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafikleri



Şekil 35. pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M SFZ için DV ile elde edilen (A) tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p), (B) tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) ve (C) tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafikleri



Şekil 36. pH 3.0 FT içerisindeki 8.0×10^{-6} M STR için DV ile elde edilen (A) tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p), (B) tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) ve (C) tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafikleri

SFT için;

$$I_p (\mu A) = 0.06 v^{1/2} (mV s^{-1}) + 0.01 \quad (r = 0.998) \quad (\text{Eşitlik 14})$$

$$\log I_p (\mu A) = 0.49 \log v (mV s^{-1}) - 1.22 \quad (r = 0.999) \quad (\text{Eşitlik 15})$$

SFZ için;

$$I_p (\mu A) = 0.03 \nu^{1/2} (mV s^{-1}) + 0.08 \quad (r = 0.996) \quad (\text{Eşitlik 16})$$

$$\log I_p (\mu A) = 0.36 \log \nu (mV s^{-1}) - 1.10 \quad (r = 0.999) \quad (\text{Eşitlik 17})$$

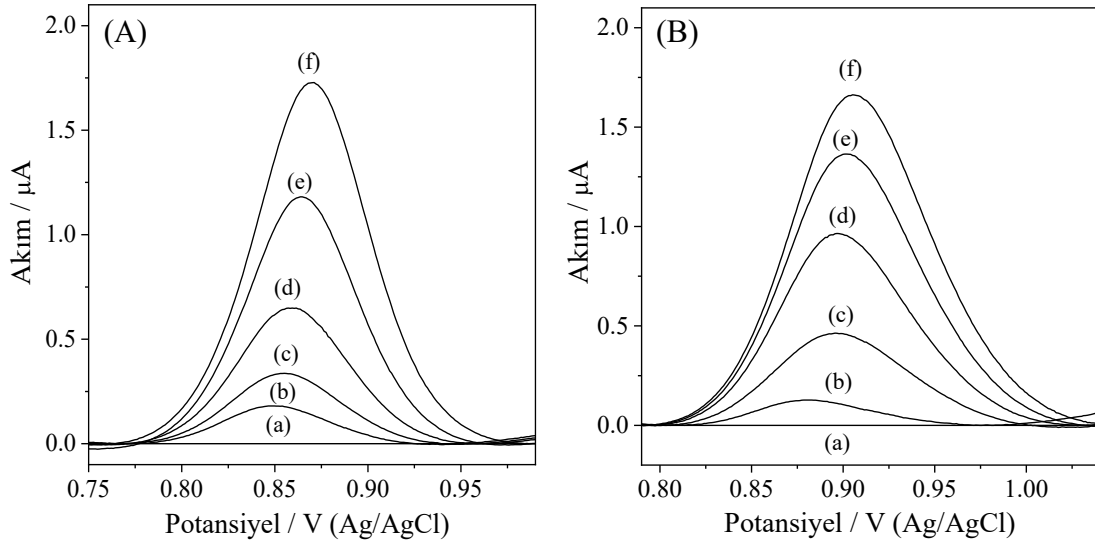
STR için;

$$I_p (\mu A) = 0.04 \nu^{1/2} (mV s^{-1}) + 0.10 \quad (r = 0.998) \quad (\text{Eşitlik 18})$$

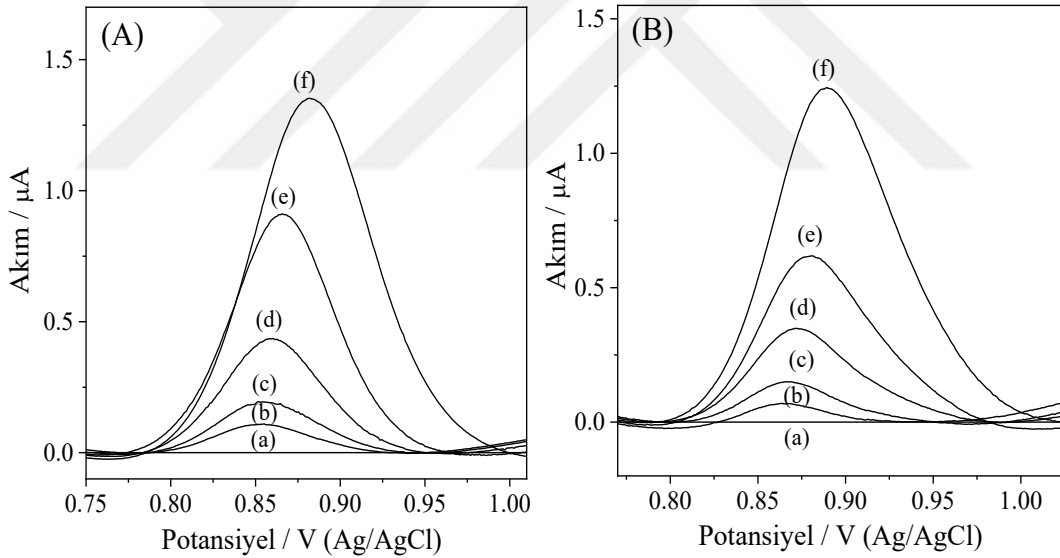
$$\log I_p (\mu A) = 0.35 \log \nu (mV s^{-1}) - 1.07 \quad (r = 0.999) \quad (\text{Eşitlik 19})$$

4.4. Kalibrasyon Çalışması

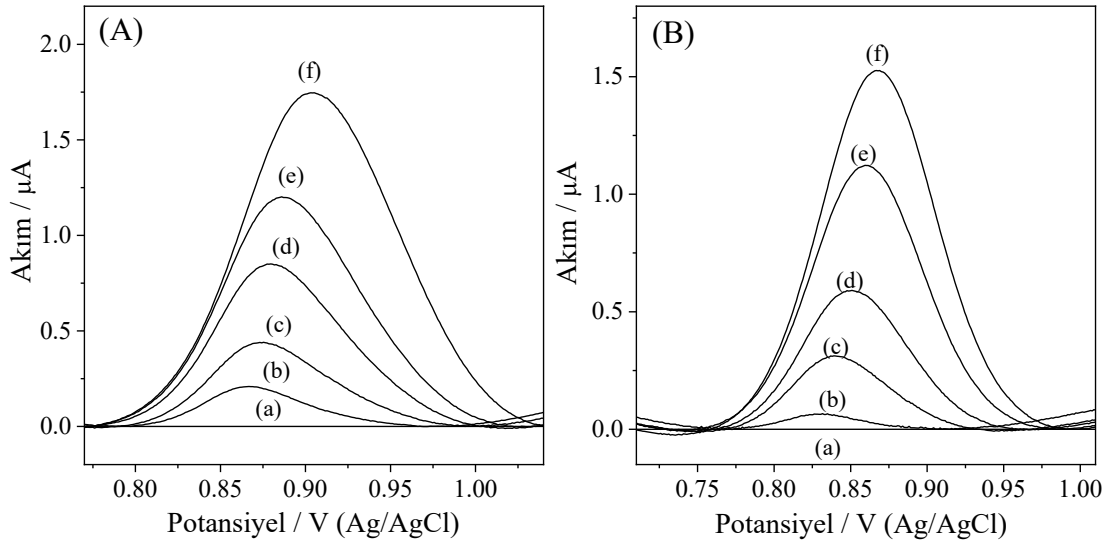
İlaç etken maddelerinin (SFT, SFZ ve STR) kantitatif analizinin DPV ve KDV yöntemleriyle yapılması için tüm deneysel parametreler belirlendikten sonra kalibrasyon çalışması gerçekleştirildi. Kalibrasyon deneyleri her bir etken madde için ayrı ayrı pH 3.0 FT içerisinde hazırlanan 1.0×10^{-9} ile 8.0×10^{-5} M konsantrasyon aralığındaki 25 farklı konsantrasyon için yapıldı. Buna göre, pik akımı okunabilen ilk SFT piki DPV ve KDV yöntemlerinin her ikisi için de 8.0×10^{-9} M'da gözlemlendi. Pik akımı okunabilen ilk SFZ piki DPV yöntemi için 1.0×10^{-8} M'da, KDV yöntemi için ise 8.0×10^{-9} M'da gözlenirken, okunabilen ilk STR piki ise her iki yöntem için de 8.0×10^{-9} M'da gözlemlendi. Şekil 37'de DPV ve KDV yöntemleri için SFT konsantrasyonundaki artış ile pik akımının değişimi verilmiştir. Benzer şekilde SFZ ve STR etken maddeleri ile ilgili voltamogramlar da sırasıyla Şekil 38 ve 39'da görülmektedir.



Şekil 37. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 4.0×10^{-8} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M SFT'nin voltamogramları

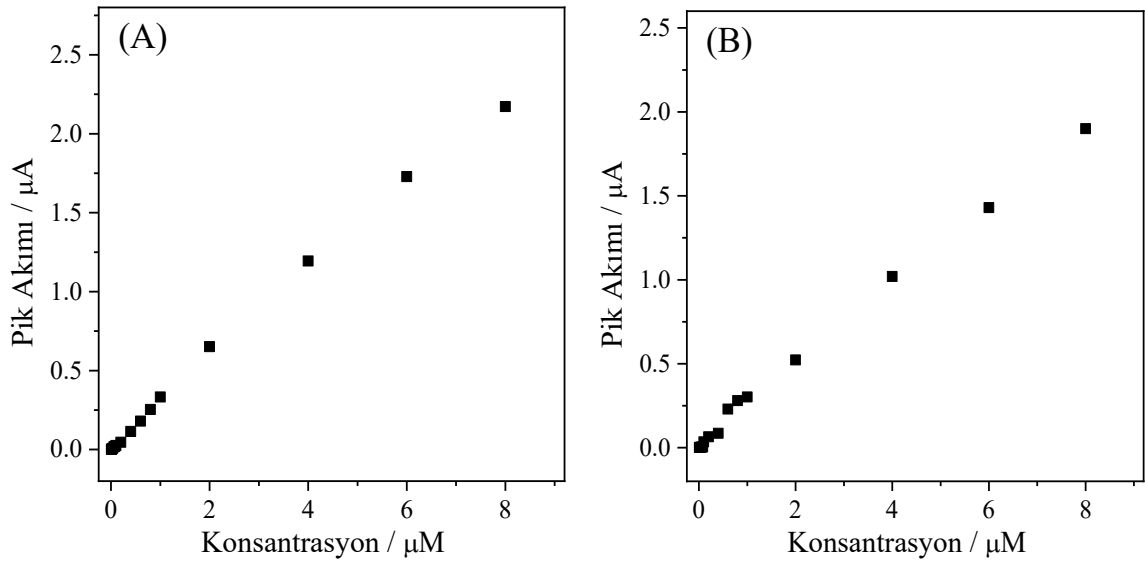


Şekil 38. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 8.0×10^{-8} , (c) 2.0×10^{-7} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M SFZ'nin voltamogramları

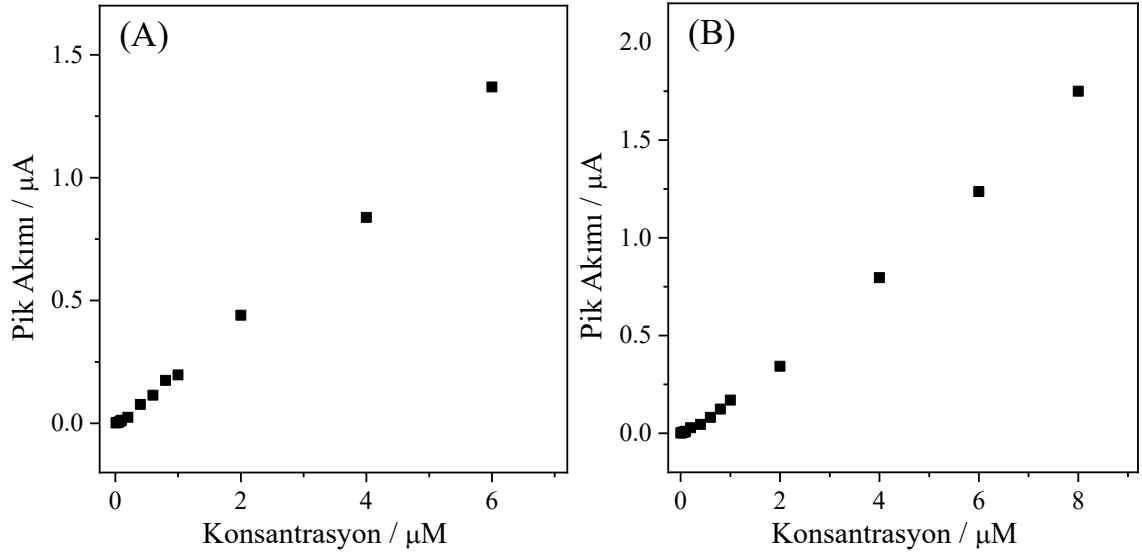


Şekil 39. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 8.0×10^{-8} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M STR'nin voltamogramları

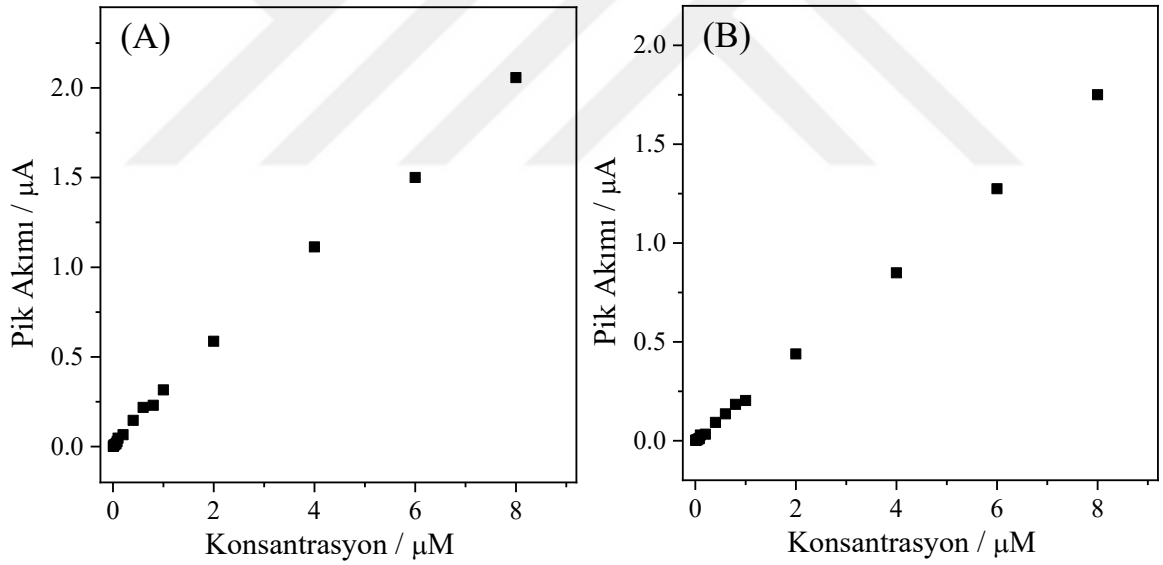
Elde edilen DPV ve KDV voltamogramlarındaki etken maddelerin anodik pik akım değerleri okunarak etken madde konsantrasyonuna karşı ayrı ayrı grafiğe geçirildi ve doğrusallığın görüldüğü konsantrasyon aralığı belirlendi (Şekil 40-42). Çizilen doğrusal kalibrasyon grafiklerinden elde edilen regresyon verileri SFT, SFZ ve STR için ayrı ayrı tablolar halinde verilmiştir (Tablo 3-5).



Şekil 40. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri kullanılarak pH 3.0 FT içerisindeki SFT konsantrasyonuna karşı pik akımı grafikleri



Şekil 41. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri kullanılarak pH 3.0 FT içerisindeki SFZ konsantrasyonuna karşı pik akımı grafikleri



Şekil 42. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri kullanılarak pH 3.0 FT içerisindeki STR konsantrasyonuna karşı pik akımı grafikleri

Tablo 3. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	850	870
Doğrusallık aralığı (M)	$8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$	$8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.28 ± 0.004	0.24 ± 0.004
Kesim noktası (μA)	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Korelasyon katsayısı, r	0.998	0.998
Teşhis sınırı, TS (M)	1.18×10^{-9}	1.46×10^{-9}
Tayin alt sınırı, TAS (M)	3.59×10^{-9}	4.42×10^{-9}

Tablo 4. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	850	870
Doğrusallık aralığı (M)	$1.0 \times 10^{-8} - 6.0 \times 10^{-6}$	$8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.22 ± 0.003	0.21 ± 0.003
Kesim noktası (μA)	-0.012 ± 0.006	-0.025 ± 0.009
Korelasyon katsayısı, r	0.999	0.998
Teşhis sınırı, TS (M)	2.03×10^{-9}	1.77×10^{-9}
Tayin alt sınırı, TAS (M)	6.17×10^{-9}	5.37×10^{-9}

Tablo 5. CK/PBM elektrot kullanılarak STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	860	880
Doğrusallık aralığı (M)	$8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$	$8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.26 ± 0.004	0.22 ± 0.003
Kesim noktası (μA)	0.024 ± 0.010	-0.002 ± 0.001
Korelasyon katsayısı, r	0.998	0.999
Teşhis sınırı, TS (M)	1.52×10^{-9}	1.51×10^{-9}
Tayin alt sınırı, TAS (M)	4.61×10^{-9}	4.58×10^{-9}

Geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin kesinliği için 4.0×10^{-7} ve 8.0×10^{-7} M SFT, SFZ ve STR'nin çalışma çözeltileri pH 3.0 FT içerisinde hazırlanarak gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik deneyi yapıldı. Aynı konsantrasyonda hazırlanan üç farklı çözeltiden elde edilen beş adet pik akımı ve pik potansiyeli değerlerinin yüzde bağıl standart sapmaları (%BSS) hesaplandı. Veriler ve sonuçlar SFT (Tablo 6 ve 7), SFZ (Tablo 8 ve 9) ve STR (Tablo 10 ve 11) etken maddeleri için ayrı ayrı verildi.

Tablo 6. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	861.04	851.90	860.37	864.64
		861.51	854.42	860.37	861.43
		861.51	855.49	863.57	864.64
		858.31	858.06	858.23	861.43
		861.51	858.06	860.37	867.55
	Ortalama (mV)	860.77	855.59	860.58	863.94
	Standart sapma	1.39	2.60	1.91	2.58
	%BSS	0.16	0.30	0.22	0.30
	Veriler (μ A)	0.0945	0.1001	0.0722	0.0653
		0.0943	0.1012	0.0724	0.0631
<u>Pik akımı</u>		0.0936	0.1011	0.0724	0.0626
		0.0947	0.1031	0.0726	0.0637
		0.0942	0.1028	0.0728	0.0632
	Ortalama (μ A)	0.0943	0.1017	0.0725	0.0636
	Standart sapma	0.0004	0.0010	0.0002	0.0010
	%BSS	0.45	1.20	0.32	1.63

Tablo 7. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	846.56	847.47	865.71	868.91
		846.41	848.54	865.71	867.84
		847.47	849.45	867.84	865.89
		849.61	851.45	866.78	869.22
		846.56	851.45	868.91	871.24
	Ortalama (mV)	847.32	849.67	866.99	868.62
	Standart sapma	1.35	1.77	1.39	1.96
	%BSS	0.16	0.21	0.16	0.23
	Veriler (μ A)	0.2444	0.2587	0.2145	0.1743
		0.2426	0.2629	0.2137	0.1780
<u>Pik akımı</u>		0.2411	0.2638	0.2144	0.1782
		0.2433	0.2577	0.2144	0.1735
		0.2432	0.2615	0.2163	0.1762
	Ortalama (μ A)	0.2429	0.2609	0.2147	0.1760
	Standart sapma	0.001	0.003	0.001	0.002
	%BSS	0.51	1.03	0.46	1.21

Tablo 8. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	868.84	877.38	887.07	882.80
		866.70	867.77	884.93	884.93
		867.77	870.51	884.93	884.93
		869.90	867.77	884.93	888.14
		866.70	871.44	882.80	887.51
	Ortalama (mV)	867.98	870.97	884.93	885.66
	Standart sapma	1.39	3.94	1.51	2.17
	%BSS	0.16	0.45	0.17	0.24
<u>Pik akımı</u>	Veriler (μ A)	0.0797	0.0778	0.0698	0.0720
		0.0779	0.0781	0.0698	0.0701
		0.0795	0.0775	0.0697	0.0710
		0.0798	0.0781	0.0694	0.0728
		0.0802	0.0774	0.0699	0.0711
	Ortalama (μ A)	0.0795	0.0778	0.0697	0.0716
	Standart sapma	0.0009	0.0003	0.0002	0.0008
	%BSS	0.40	1.11	0.25	1.13

Tablo 9. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

	<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
	Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	866.70	866.70	884.93
		865.63	866.70	888.14
		866.70	865.63	886.00
		867.77	866.70	882.80
		866.70	871.38	884.93
	Ortalama (mV)	866.70	867.42	885.36
	Standart sapma	0.76	2.26	1.94
	%BSS	0.09	0.26	0.22
	Veriler (μ A)	0.1396	0.1352	0.1424
		0.1399	0.1379	0.1427
<u>Pik akımı</u>		0.1408	0.1362	0.1440
		0.1408	0.1385	0.1421
		0.1392	0.1388	0.1423
	Ortalama (μ A)	0.1401	0.1373	0.1427
	Standart sapma	0.0007	0.0020	0.0008
	%BSS	0.49	1.13	0.54
				1.02

Tablo 10. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	854.27	856.64	867.84	872.44
		856.41	851.15	867.84	867.84
		856.41	849.61	868.91	867.84
		859.61	849.61	872.12	869.70
		857.47	857.47	871.05	874.20
	Ortalama (mV)	856.83	852.89	869.55	870.40
	Standart sapma	1.94	3.86	1.94	2.84
	%BSS	0.23	0.45	0.22	0.32
	Veriler (μ A)	0.1151	0.1261	0.0966	0.0958
		0.1156	0.1247	0.0966	0.0969
<u>Pik akımı</u>		0.1170	0.1271	0.0971	0.0960
		0.1167	0.1267	0.0965	0.0985
		0.1176	0.1291	0.0975	0.0970
	Ortalama (μ A)	0.1164	0.1269	0.0969	0.0968
	Standart sapma	0.0010	0.0020	0.0004	0.0010
	%BSS	0.88	1.24	0.45	1.11

Tablo 11. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		DPV		KDV	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
Pik potansiyeli	Veriler (mV)	859.22	856.62	886.00	882.50
		860.29	861.30	884.93	878.52
		861.36	861.30	882.80	876.12
		860.29	862.36	879.59	884.00
		858.87	864.18	879.59	876.24
	Ortalama (mV)	860.01	861.15	882.58	878.72
	Standart sapma	0.99	2.79	2.96	3.69
	%BSS	0.11	0.32	0.34	0.42
	Veriler (μ A)	0.2351	0.2341	0.1763	0.1748
		0.2364	0.2321	0.1779	0.1752
Pik akımı		0.2382	0.2365	0.1764	0.1778
		0.2348	0.2375	0.1785	0.1739
		0.2347	0.2339	0.1772	0.1733
	Ortalama (μ A)	0.2358	0.2348	0.1773	0.1750
	Standart sapma	0.001	0.002	0.001	0.002
	%BSS	0.64	0.93	0.53	0.97

4.5. Farmasötik Dozaj Formlarından Tayin ve Geri Kazanım Çalışması

İlaç etken maddelerinin farmasötik dozaj formları kullanılarak geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin doğruluğu, farmasötik dozaj formlarından tayin ve geri kazanım çalışmaları ile incelendi. Farmasötik dozaj formlarından tayin çalışması için, etken maddelerin farmasötik dozaj formlarında mevcut bulunan sıvı ile hazırlanmış 1.0×10^{-5} M çözeltilerinden pH 3.0 FT içerisinde ayrı ayrı hazırlanmış 8.0×10^{-7} M etken madde içeren üçer adet çözelti kullanıldı. Bu çözeltiler ile elde edilen voltamogramlardaki anodik pik potansiyeli ve pik akımı değerleri okundu. Pik akım değerlerinden hesaplanan etken madde miktarları ile farmasötik dozaj formlarında beyan edilen etken madde miktarları karşılaştırıldı. Ayrıca, elde edilen verilerden her bir etken madde için %BSS, %bağıl hata, *t*-testi ve F-testi de hesaplandı. Tüm veriler Tablo 12-14'te verilmiştir.

Tablo 12. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen farmasötik dozaj formlarından tayin verileri

	DPV	KDV
Flakonda beyan edilen SFT miktarı (g)	1.000	1.000
Bulunan SFT miktarları (g)	0.995	1.004
	1.004	1.004
	1.008	1.014
	1.006	0.994
	0.999	0.999
Bulunan ortalama SFT miktarı (g)	1.002	1.003
Standart sapma	0.006	0.008
%BSS	0.56	0.78
%Bağıl hata	-0.3	-0.3
<i>t</i> -testi*		0.89
F-testi*		0.53

*Teorik olarak *t*-testi: 2.31 ve F-testi: 6.39 (%95 güven seviyesi için)

Tablo 13. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen farmasötik dozaj formlarından tayin verileri

	DPV	KDV
Flakonda beyan edilen SFZ miktarı (g)	1.000	1.000
Bulunan SFZ miktarları (g)	1.010	0.991
	1.003	1.003
	1.001	1.007
	0.994	0.997
	0.999	1.004
Bulunan ortalama SFZ miktarı (g)	1.001	1.000
Standart sapma	0.006	0.006
%BSS	0.57	0.64
%Bağıl hata	-0.2	-0.07
<i>t</i> -testi*		0.80
F-testi*		0.83

*Teorik olarak *t*-testi: 2.31 ve F-testi: 6.39 (%95 güven seviyesi için)

Tablo 14. CK/PBM elektrot kullanılarak STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen farmasötik dozaj formlarından tayin verileri

	DPV	KDV
Flakonda beyan edilen STR miktarı (g)	1.000	1.000
Bulunan STR miktarları (g)	1.008	0.999
	0.995	0.994
	1.002	1.005
	1.012	1.007
	0.995	1.004
Bulunan ortalama STR miktarı (g)	1.002	1.002
Standart sapma	0.007	0.005
%BSS	0.74	0.54
%Bağıl hata	-0.2	-0.2
<i>t</i> -testi*	0.92	
F-testi*	0.55	

*Teorik olarak *t*-testi: 2.31 ve F-testi: 6.39 (%95 güven seviyesi için)

SFT, SFZ ve STR'nin elektrokimyasal analizi için geliştirilen yöntemin doğruluğu DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak yapılan geri kazanım çalışması ile belirlendi. Bu amaçla, her bir etken maddenin farmasötik dozaj formundaki enjeksiyonluk sıvısı ile hazırlanmış 1.0×10^{-5} M çözeltilerinden pH 3.0 FT içinde hazırlanan 8.0×10^{-7} M etken madde çözeltisi üzerine o etken maddenin toplam konsantrasyonu 1.0×10^{-6} M olacak şekilde saf etken madde çözeltisinden ilave edilerek en az üçer adet çözelti hazırlandı ve DPV ve KDV yöntemleri ile voltamogramları alındı. Voltamogramlardan elde edilen beş adet etken madde pik akım değerlerinden %BSS ve yüzde geri kazanım değerleri hesaplandı (Tablo 15-17). Yapılan doğruluk çalışmaları üç madde için de ayrı ayrı gerçekleştirildi.

Tablo 15. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen geri kazanım verileri

	DPV	KDV
İlave edilen SFT konsantrasyonu (μM)	0.2000	0.2000
Bulunan SFT konsantrasyonu (μM)	0.2013	0.2014
	0.1989	0.2018
	0.2001	0.1998
	0.1996	0.1985
	0.2011	0.1994
Bulunan ortalama SFT konsantrasyonu (μM)	0.2002	0.2002
Ortalama geri kazanım (%)	100.09	100.13
Standart sapma	0.50	0.65
%BSS	0.50	0.65
%Bağıl hata	-0.09	-0.13

Tablo 16. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen geri kazanım verileri

	DPV	KDV
İlave edilen SFZ konsantrasyonu (μM)	0.2000	0.2000
Bulunan SFZ konsantrasyonu (μM)	0.2014	0.2001
	0.1994	0.1992
	0.1990	0.2010
	0.1996	0.2003
	0.2020	0.2013
Bulunan ortalama SFZ konsantrasyonu (μM)	0.2003	0.2004
Ortalama geri kazanım (%)	100.14	100.18
Standart sapma	0.67	0.41
%BSS	0.67	0.41
%Bağıl hata	-0.14	-0.18

Tablo 17. CK/PBM elektrot kullanılarak STR'nin DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen geri kazanım verileri

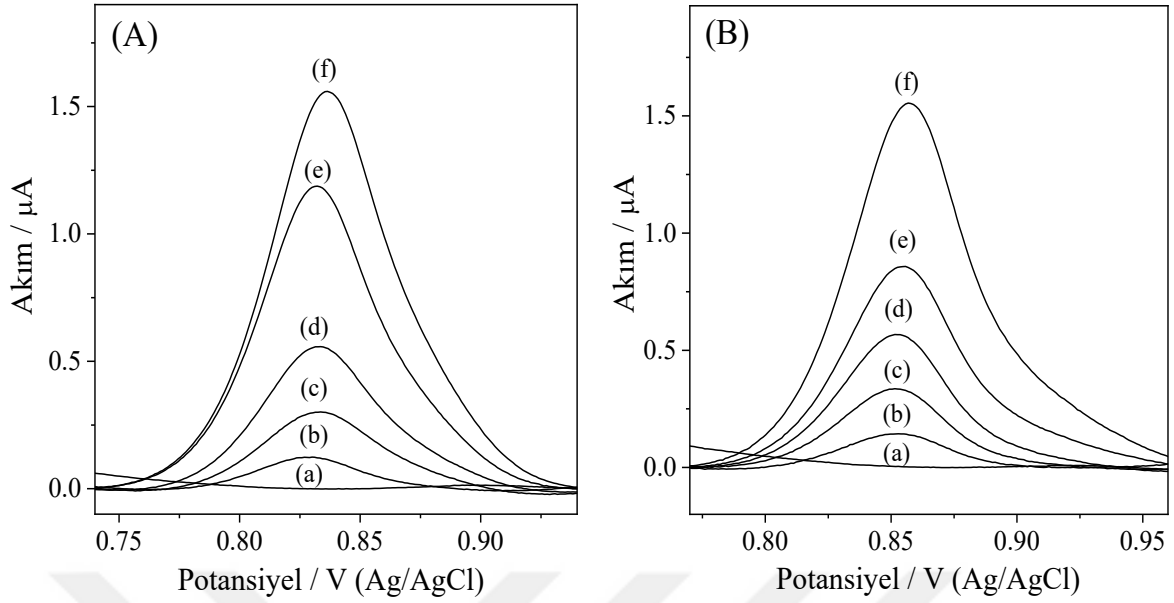
	DPV	KDV
İlave edilen STR konsantrasyonu (μM)	0.2000	0.2000
Bulunan STR konsantrasyonu (μM)	0.2014	0.1994
	0.1985	0.1997
	0.2002	0.2010
	0.1983	0.2006
	0.2008	0.2015
Bulunan ortalama STR konsantrasyonu (μM)	0.1998	0.2004
Ortalama geri kazanım (%)	99.92	100.21
Standart sapma	0.69	0.44
%BSS	0.70	0.44
%Bağıl hata	0.08	-0.21

4.6. Serum Çalışması

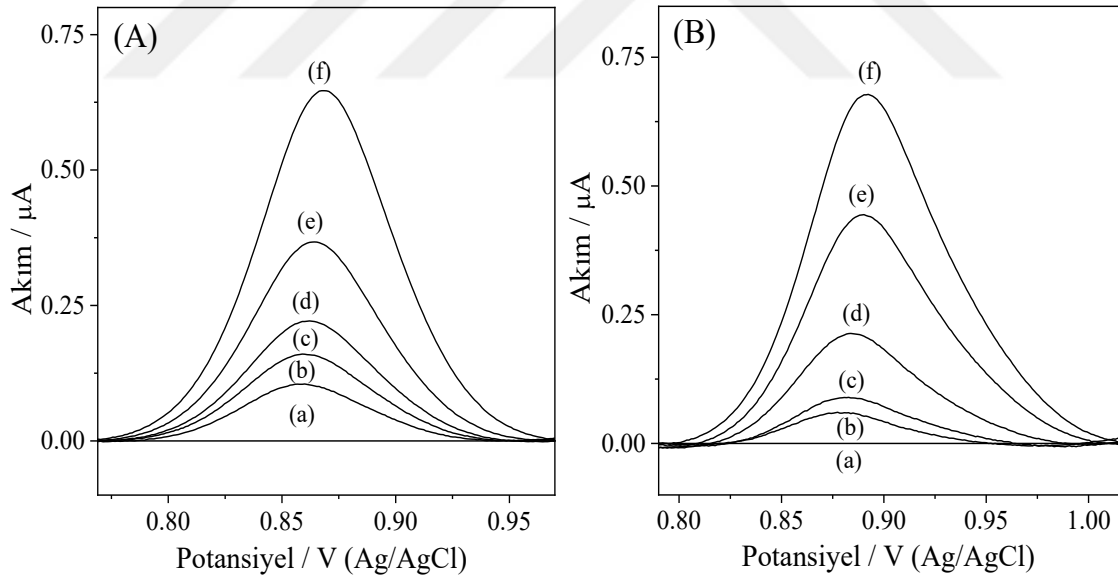
SFT, SFZ ve STR etken maddelerinin yapay insan serumundan kantitatif tayini için Bölüm 3.1.2'de belirtilen şekilde serum çözeltileri hazırlandı ve DPV ve KDV yöntemleri ile tayinler gerçekleştirildi.

Serum çalışmaları kalibrasyon, tekrar edilebilirlik ve geri kazanım olmak üzere üç aşamada, çalışılan üç etken madde için ayrı ayrı gerçekleştirildi. SFT, SFZ ve STR için yapılan kalibrasyon çalışmalarında olduğu gibi bu etken maddeleri içeren serum analizlerinde de destek elektrolit olarak pH 3.0 FT çözeltisi kullanıldı.

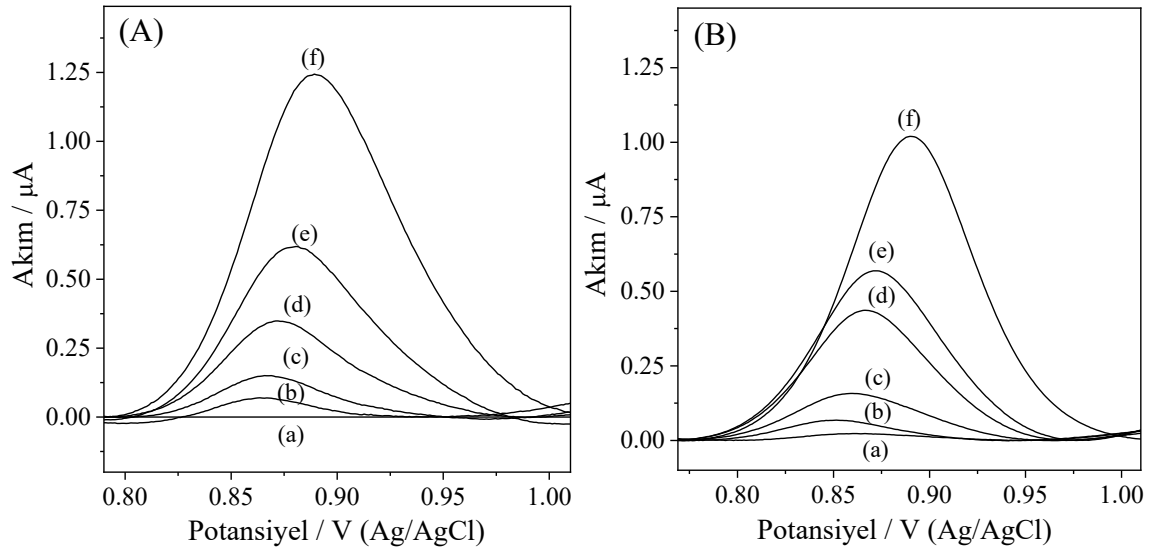
Kalibrasyon deneyleri için, serum içermeyen etken madde çözeltilerinin Tablo 3-5 te belirtilen doğrusallık aralığı konsantrasyon verileri dikkate alınarak, DPV ve KDV yöntemlerinin her ikisi için de 6.0×10^{-9} ile 1.0×10^{-5} M aralığında pH 3.0 FT içerisinde 18 farklı konsantrasyonda serum çalışma çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden elde edilen voltamogramlara göre pik akım değeri okunabilen en düşük konsantrasyonlar SFT için DPV ile 8.0×10^{-9} M ve KDV ile 1.0×10^{-8} M, SFZ için hem DPV hem de KDV ile 1.0×10^{-8} M, STR için ise DPV ile 8.0×10^{-9} M ve KDV ile 1.0×10^{-8} M olarak bulundu. Serum içeren etken madde çözeltileri ile elde edilen voltamogramlar Şekil 43-45'te verilmektedir.



Şekil 43. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 4.0×10^{-7} , (c) 1.0×10^{-6} , (d) 2.0×10^{-6} , (e) 4.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen voltamogramlar

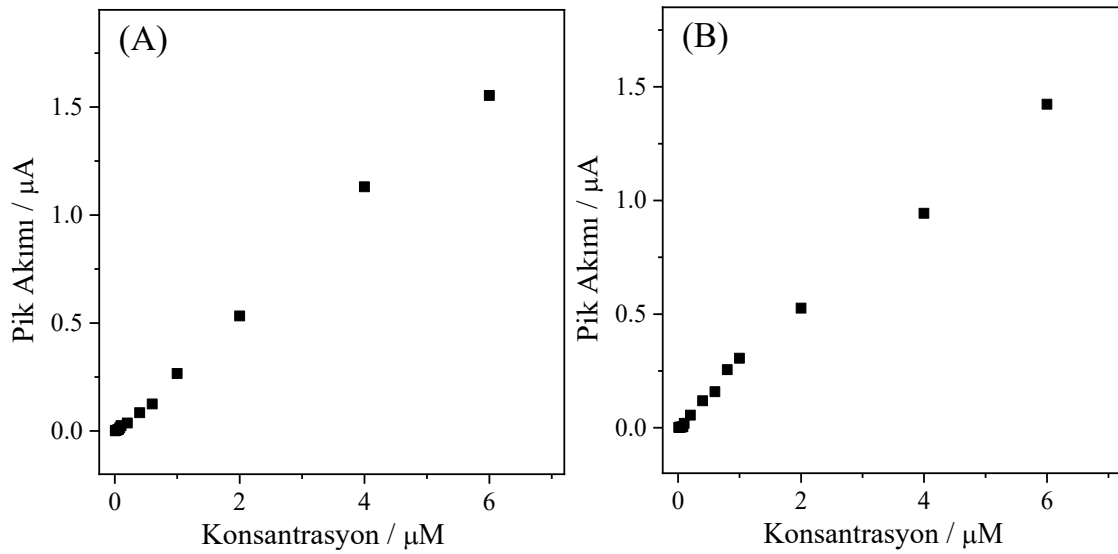


Şekil 44. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 6.0×10^{-7} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 1.0×10^{-6} , (e) 2.0×10^{-6} ve (f) 4.0×10^{-6} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen voltamogramlar

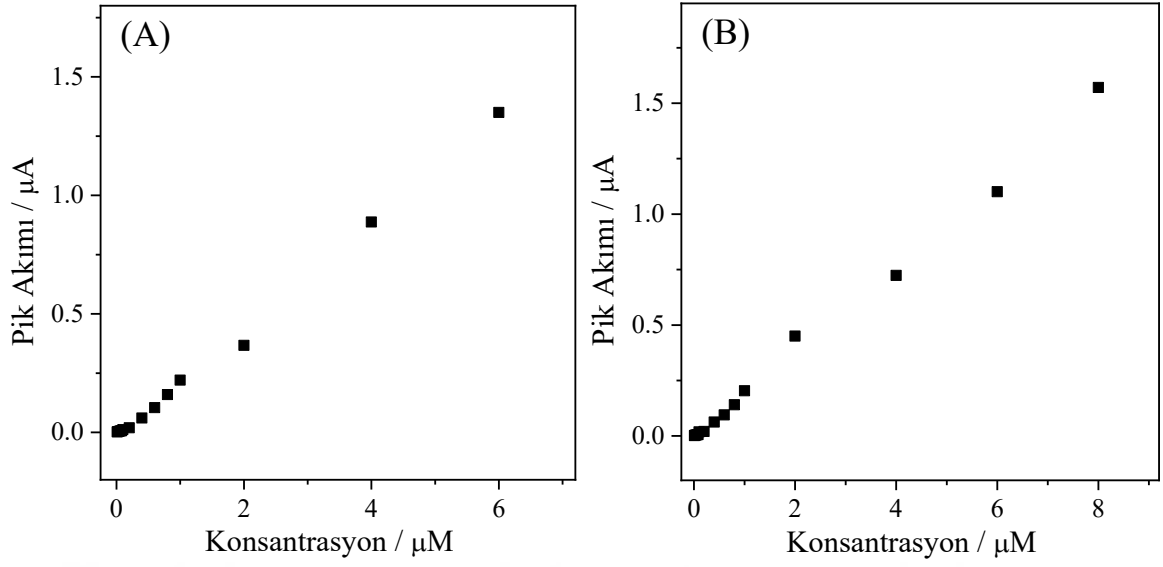


Şekil 45. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile temel çizgi düzeltmesi yapılarak elde edilen pH 3.0 FT içerisindeki (a) boş (kör), (b) 4.0×10^{-7} , (c) 8.0×10^{-7} , (d) 1.0×10^{-6} , (e) 2.0×10^{-6} ve (f) 6.0×10^{-6} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen voltamogramlar

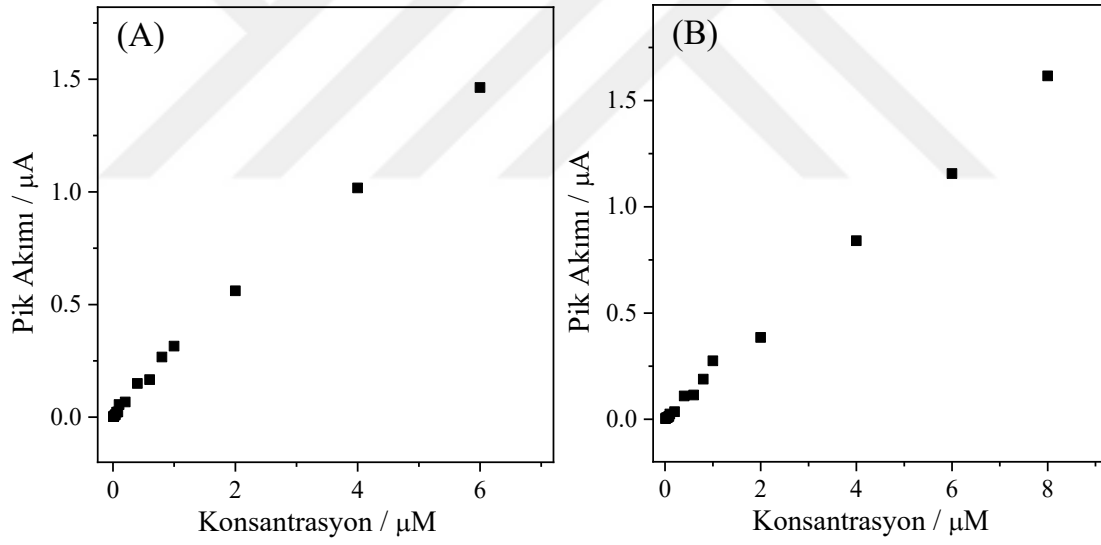
Elde edilen DPV ve KDV voltamogramlarında anodik pik akım değerleri okunarak etken madde konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirildi (Şekil 46-48). Kalibrasyon grafiklerinden elde edilen veriler SFT için Tablo 18, SFZ için Tablo 19 ve STR için Tablo 20’de verilmiştir.



Şekil 46. Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki SFT konsantrasyonuna karşı (A) DPV ve (B) KDV ile elde edilen pik akım grafikleri



Şekil 47. Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki SFZ konsantrasyonuna karşı (A) DPV ve (B) KDV ile elde edilen pik akım grafikleri



Şekil 48. Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki STR konsantrasyonuna karşı (A) DPV ve (B) KDV ile elde edilen pik akım grafikleri

Tablo 18. CK/PBM elektrot kullanılarak SFT içeren pH 3.0 FT içerisindeki serum çözeltilerinden DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	850	860
Doğrusallık aralığı (M)	$8.0 \times 10^{-9} - 6.0 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-8} - 6.0 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.27 ± 0.004	0.24 ± 0.005
Kesim noktası (μA)	-0.003 ± 0.008	0.012 ± 0.009
Korelasyon katsayısı, r	0.998	0.998
Teşhis sınırı, TS (M)	2.21×10^{-9}	2.23×10^{-9}
Tayin alt sınırı, TAS (M)	6.70×10^{-9}	6.77×10^{-9}

Tablo 19. CK/PBM elektrot kullanılarak SFZ içeren pH 3.0 FT içerisindeki serum çözeltilerinden DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	850	860
Doğrusallık aralığı (M)	$1.0 \times 10^{-8} - 6.0 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-8} - 8.0 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.22 ± 0.003	0.19 ± 0.003
Kesim noktası (μA)	-0.02 ± 0.007	-0.005 ± 0.009
Korelasyon katsayısı, r	0.998	0.998
Teşhis sınırı, TS (M)	2.49×10^{-9}	3.12×10^{-9}
Tayin alt sınırı, TAS (M)	7.54×10^{-9}	9.46×10^{-9}

Tablo 20. CK/PBM elektrot kullanılarak STR içeren pH 3.0 FT içerisindeki serum çözeltilerinden DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	850	870
Doğrusallık aralığı (M)	$8.0 \times 10^{-9} - 6.0 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-8} - 8.0 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.25 ± 0.004	0.20 ± 0.003
Kesim noktası (μA)	0.02 ± 0.009	0.01 ± 0.009
Korelasyon katsayısı, r	0.998	0.998
Teşhis sınırı, TS (M)	2.45×10^{-3}	2.53×10^{-3}
Tayin alt sınırı, TAS (M)	7.43×10^{-3}	7.65×10^{-3}

Serum içeren pH 3.0 FT içerisindeki 4.0×10^{-7} M ve 8.0×10^{-7} M etken madde çözeltilerinden ayrı ayrı üçer adet hazırlanarak DPV ve KDV yöntemleri ile tekrar edilebilirlik deneyleri yapıldı. Her iki yöntem için hazırlanan üçer çözeltiden elde edilen beş adet pik akımı ve pik potansiyeli değerlerinin gün içi ve günler arası %BSS'leri hesaplandı. Veriler ve sonuçlar Tablo 21-26'da gösterilmektedir.

Tablo 21. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	833.28	848.37	857.85	861.05
		833.28	835.58	858.23	845.46
		835.42	847.59	859.99	861.05
		832.21	845.44	857.85	852.88
		834.35	849.15	859.99	852.88
	Ortalama (mV)	833.71	845.23	858.78	854.66
	Standart sapma	1.22	5.57	1.11	6.57
	%BSS	0.15	0.66	0.13	0.77
	Veriler (μ A)	0.0975	0.1052	0.0808	0.0859
		0.0989	0.1061	0.0799	0.0877
<u>Pik akımı</u>		0.0981	0.1065	0.0809	0.0854
		0.0988	0.1072	0.0798	0.0863
		0.0985	0.1044	0.0806	0.0878
	Ortalama (μ A)	0.0984	0.1059	0.0804	0.0866
	Standart sapma	0.0005	0.0011	0.0005	0.0011
	%BSS	0.56	1.03	0.61	1.25

Tablo 22. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

	<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
	Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	836.49	855.71	857.85
		837.55	851.64	858.92
		836.49	852.51	859.99
		836.49	846.28	861.05
		834.35	841.49	861.05
	Ortalama (mV)	836.27	849.53	859.77
	Standart sapma	1.17	5.63	1.39
	%BSS	0.14	0.66	0.16
	Veriler (μ A)	0.1959	0.2066	0.1864
		0.1966	0.2101	0.1832
<u>Pik akımı</u>		0.1975	0.2055	0.1850
		0.1986	0.2112	0.1839
		0.1972	0.2069	0.1842
	Ortalama (μ A)	0.1972	0.2080	0.1845
	Standart sapma	0.0010	0.0024	0.0012
	%BSS	0.53	1.18	0.67
				1.21

Tablo 23. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	833.48	834.35	857.85	856.23
		833.28	842.23	857.85	862.12
		834.35	841.11	857.85	857.85
		836.03	836.03	852.12	857.85
		834.35	845.56	855.71	864.56
	Ortalama (mV)	834.30	839.85	856.27	859.72
	Standart sapma	1.08	4.60	2.50	3.48
	%BSS	0.13	0.55	0.29	0.40
	Veriler (μ A)	0.0745	0.0627	0.0586	0.0582
		0.0756	0.0637	0.0587	0.0581
<u>Pik akımı</u>		0.0745	0.0644	0.0589	0.0570
		0.0748	0.0649	0.0584	0.0585
		0.0748	0.0637	0.0592	0.0572
	Ortalama (μ A)	0.0749	0.0639	0.0588	0.0578
	Standart sapma	0.0004	0.0008	0.0003	0.0007
	%BSS	0.61	1.30	0.54	1.15

Tablo 24. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

	<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
	Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	835.42	842.26	856.78
		832.21	842.26	857.85
		836.49	835.61	856.78
		834.35	833.28	857.85
		833.28	836.49	855.71
	Ortalama (mV)	834.35	837.98	856.99
	Standart sapma	1.69	4.08	0.89
	%BSS	0.20	0.49	0.10
	Veriler (μ A)	0.1384	0.1298	0.1240
		0.1389	0.1283	0.1216
<u>Pik akımı</u>		0.1368	0.1281	0.1228
		0.1381	0.1276	0.1226
		0.1371	0.1265	0.1228
	Ortalama (μ A)	0.1378	0.1281	0.1228
	Standart sapma	0.0009	0.0012	0.0008
	%BSS	0.64	0.93	0.70

Tablo 25. CK/PBM elektrot kullanılarak 4.0×10^{-7} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		<u>DPV</u>		<u>KDV</u>	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
<u>Pik potansiyeli</u>	Veriler (mV)	835.42	854.44	851.44	865.21
		837.55	852.71	853.58	865.21
		836.49	845.65	852.51	871.18
		836.49	845.65	851.44	874.44
		837.55	852.69	853.58	871.18
	Ortalama (mV)	836.70	850.23	852.51	869.44
	Standart sapma	0.89	4.24	1.07	4.09
	%BSS	0.11	0.50	0.12	0.47
	Veriler (μ A)	0.1052	0.1187	0.0904	0.1069
		0.1064	0.1188	0.0903	0.1067
<u>Pik akımı</u>		0.1064	0.1148	0.0913	0.1044
		0.1050	0.1186	0.0909	0.1071
		0.1054	0.1172	0.0920	0.1063
	Ortalama (μ A)	0.1057	0.1176	0.0910	0.1062
	Standart sapma	0.0007	0.0017	0.0007	0.0011
	%BSS	0.63	1.44	0.79	1.02

Tablo 26. CK/PBM elektrot kullanılarak 8.0×10^{-7} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		DPV		KDV	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
Pik potansiyeli	Veriler (mV)	841.83	855.12	852.51	872.44
		839.69	854.23	853.58	865.53
		839.69	854.88	853.58	866.34
		839.69	866.18	852.51	871.52
		838.62	852.90	851.44	871.52
	Ortalama (mV)	839.90	856.66	852.72	868.73
	Standart sapma	1.17	5.39	0.89	3.24
	%BSS	0.14	0.63	0.10	0.37
Pik akımı	Veriler (µA)	0.2135	0.2073	0.1861	0.1823
		0.2153	0.2133	0.1883	0.1875
		0.2177	0.2096	0.1856	0.1829
		0.2164	0.2094	0.1873	0.1845
		0.2147	0.2122	0.1882	0.1852
	Ortalama (µA)	0.2155	0.2104	0.1871	0.1845
	Standart sapma	0.0016	0.0024	0.0012	0.0021
	%BSS	0.76	1.13	0.64	1.12

Geri kazanım çalışması için, etken madde içeren serum stok çözeltisi ve saf etken madde çözeltisi ile Bölüm 3.4.6'da açıklandığı gibi hazırlanan 1.0×10^{-6} M çalışma çözeltileri kullanıldı. Bu amaçla, her bir etken maddenin farmasötik dozaj formundaki enjeksiyonluk sıvısı ile hazırlanmış 1.0×10^{-5} M serum ara stok çözeltilerinden pH 3.0 FT içinde hazırlanan 8.0×10^{-7} M serumlu etken madde çözeltisi üzerine o etken maddenin toplam konsantrasyonu 1.0×10^{-6} M olacak şekilde saf etken madde çözeltisinden ilave edilerek en az üçer adet çözelti hazırlandı. DPV ve KDV yöntemleri ile alınan voltamogramlardan elde edilen beş adet etken madde pik akım değerlerinden %BSS ve yüzde geri kazanım değerleri hesaplandı (Tablo 27-29). Yapılan geri kazanım çalışmaları üç madde için de ayrı ayrı gerçekleştirildi.

Tablo 27. CK/PBM elektrot kullanılarak 1.0×10^{-6} M SFT içeren serum çözeltilerinden elde edilen geri kazanım verileri

	DPV	KDV
İlave edilen SFT konsantrasyonu (μM)	0.2000	0.2000
Bulunan SFT konsantrasyonu (μM)	0.1979	0.2003
	0.2006	0.2006
	0.1994	0.1980
	0.2008	0.2010
	0.2017	0.2015
Bulunan ortalama SFT konsantrasyonu (μM)	0.2001	0.2003
Ortalama geri kazanım (%)	100.04	100.14
Standart sapma	0.73	0.67
%BSS	0.73	0.67
%Bağıl hata	-0.04	-0.14

Tablo 28. CK/PBM elektrot kullanılarak 1.0×10^{-6} M SFZ içeren serum çözeltilerinden elde edilen geri kazanım verileri

	DPV	KDV
İlave edilen SFZ konsantrasyonu (μM)	0.2000	0.2000
Bulunan SFZ konsantrasyonu (μM)	0.1996	0.2016
	0.1976	0.2006
	0.2008	0.1994
	0.2004	0.1984
	0.2012	0.2016
Bulunan ortalama SFZ konsantrasyonu (μM)	0.1999	0.2005
Ortalama geri kazanım (%)	99.98	100.16
Standart sapma	0.72	0.70
%BSS	0.72	0.70
%Bağıl hata	0.02	-0.16

Tablo 29. CK/PBM elektrot kullanılarak 1.0×10^{-6} M STR içeren serum çözeltilerinden elde edilen geri kazanım verileri

	DPV	KDV
İlave edilen STR konsantrasyonu (μM)	0.2000	0.2000
Bulunan STR konsantrasyonu (μM)	0.1988	0.1991
	0.2020	0.2022
	0.2004	0.2088
	0.1994	0.2012
	0.2010	0.1980
Bulunan ortalama STR konsantrasyonu (μM)	0.2003	0.2002
Ortalama geri kazanım (%)	100.16	100.12
Standart sapma	0.62	0.83
%BSS	0.61	0.83
%Bağıl hata	-0.16	-0.12

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Modifiye Elektrodun Seçilmesi

Sefotaksim, seftazidim ve seftriakson ilaç etken maddelerinin voltametrik analizinin etkin ve hassas bir şekilde yapılabilmesi için, yalın camsı karbon ve karbon pasta elektrotlar ile bu elektrotların çok duvarlı karbon nanotüp ve poli(bromkrezol moru) ile farklı şekillerde modifiye edilmiş olanları hazırlandı ve pH 4.0 ve 7.0 FT ortamlarında çalışıldı. Çalışmalarda dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) teknikleri kullanılarak etken maddelerin voltamogramları elde edildi ve değerlendirildi.

Seçilen etken maddelerin analizi için en etkin elektrodun belirlenebilmesi amacıyla hem yalın hem de modifiye camsı karbon ve karbon pasta elektrotlar ile elde edilen sonuçlar karşılaştırıldı. Buna göre, ÇDKNT modifiyeli elektrotlarda tekrar kullanımda tekrarlanabilir sonuçlar elde edilemedi. Ayrıca, ÇDKNT ve PBM ile modifiye edilen elektrotlarda sürekli kullanımda ÇDKNT’de dökülmeler gözlemlendiğinden stabilitesi düşüktü. Buna ilaveten, ÇDKNT kullanılarak modifiye edilen tüm elektrotlar ile elde edilen voltamogramlardaki piklerin simetrisi iyi değildi ve pik akımları düşüktü. Bu nedenle üç etken madde için de CK, KP, CK/PBM ve KP/PBM elektrotlar ile elde edilen voltamogramlar değerlendirildi. Buna göre, etken maddeler için KP elektrodun PBM ile yapılan modifikasyonu ile elde edilen KP/PBM elektrot ile yalın KP elektroda göre daha yüksek pik akımlarının elde edilemediği görüldü. Yapılan karşılaştırmalar sonucunda seçilen her üç etken madde için en yüksek anodik pik akımına sahip en simetrik piklerin, cilalanmış CK elektrot yüzeyi üzerine PBM film kaplanmasıyla hazırlanan modifiye elektrot ile elde edildiği belirlendi (Şekil 12-19). Buna göre, PBM modifikasyonu ile etken maddelerin anodik pik akımları yalın CK elektroda göre 1.5 - 1.9 oranında arttı. Bu nedenle, etken maddelerin voltametrik analizleri için yapılacak tüm çalışmalarda CK/PBM modifiye elektrodun kullanılmasına karar verildi. Hazırlanan CK/PBM elektrot ile yalın CK elektroda göre daha yüksek pik akımları elde edilmesinin temel nedeninin PBM polimer filminin elektrokatalitik özelliğinden ve bir redoks ara yüzü olarak davranmasından ileri geldiği düşünüldü (114).

CK elektrot yüzeyi üzerine PBM modifikasyon işlemi için kullanılan DV yöntemi için tarama hızı, destek elektrolit türü ve pH’ı ve monomer konsantrasyonu gibi parametreler optimize edildi. Polimer pikinin her döngüde düzenli olarak artarak yüksek döngülere kadar devam etmesi, polimerizasyonun kontrollü bir şekilde gerçekleştiğini ve böylece tüm

elektrot yüzeyinin eşit bir kalınlıkta kaplanmasını sağlayacağından (114), parametreler belirlenirken bu durum göz önünde bulunduruldu. Buna göre, bromkrezol morunun CK elektrot yüzeyi üzerindeki elektrokimyasal polimerizasyonu 50. döngüye kadar düzenli olarak artarak devam ettiğinden (Şekil 20) DV tarama hızının 100 mV s^{-1} olmasına karar verildi. Polimerizasyonun gerçekleştirileceği destek elektrolit ortamına karar verilirken Şekil 21 ve 22'deki voltamogramlar ile Tablo 1'deki sonuçlar değerlendirildi. Buna göre, 0.12 V civarındaki polimer pikinin her döngüdeki artış oranına bakılarak en yüksek polimer pik akımını veren en kontrollü polimerizasyonun 0.1 M KNO_3 çözeltisi içerisinde gerçekleştiği görüldü ve bromkrezol morunun elektropolimerizasyonunda bu çözeltinin kullanılmasına karar verildi. Monomer konsantrasyonunun belirlenebilmesi için Şekil 23'deki voltamogramlar ve Tablo 2'deki sonuçlar değerlendirildiğinde, 0.2 mM monomer (bromkrezol moru) içeren 0.1 M KNO_3 çözeltisi ile gerçekleştirilen polimerizasyonda, monomer konsantrasyonunun düşük olması nedeni ile polimerizasyonun ilk döngülerde (15. döngü) sona erdiği ve bu nedenle CK elektrot yüzeyine kaplanan polimer film kalınlığının düşük olduğu gözlemlendi (Şekil 23A). Monomer konsantrasyonunun 0.8 mM olması durumunda polimerizasyonun ilk döngülerde hızlı bir şekilde meydana gelerek oluşan polimer filminin yüzeyi kapattığı ve böylece polimer oluşumunun 30. döngüde sona erdiği görüldü (Şekil 23C). Bromkrezol morunun 0.5 mM olması durumunda ise polimerizasyon her döngüde düzenli bir şekilde artarak 50. döngüye kadar devam etti ve en yüksek polimer piki bu monomer konsantrasyonu ile elde edildi (Şekil 23B).

Yapılan çalışmalar sonucunda bromkrezol morunun CK yüzeyine elektropolimerizasyonunun, 0.5 mM monomer içeren 0.1 M KNO_3 çözeltisi içerisinde, -0.4 ila +1.6 V potansiyel aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında 50 döngülü DV yöntemi ile gerçekleştirilmesine karar verildi.

Hazırlanan CK/PBM elektrodun zamana karşı stabilite çalışması DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Buna göre, pH 5.0 AT içerisindeki $8.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ SFT çözeltisinin aynı CK/PBM elektrot ile 2 ve 4 hafta sonra voltamogramları elde edildi. SFT'nin pik potansiyel değerlerinin değişmemesi ve pik akım değerlerinde her iki yöntem için ≤ 6.3 oranında gözlemlenen azalma, CK/PBM elektrodun 4 hafta boyunca tatmin edici düzeyde stabil olduğunu gösterdi.

5.2. pH Taraması

SFT, SFZ ve STR'nin elektrokimyasal davranışını ve kantitatif analizinin yapılacağı tampon ortamını belirleyebilmek için CK/PBM elektrot kullanılarak farklı tampon (fosfat, asetat ve Britton-Robinson tamponları) ve 2.0 ila 12.0 arasında değişen pH'larda voltametrik analizler gerçekleştirildi. Şekil 24'teki DV eğrilerinden de görüldüğü gibi tüm etken maddeler farklı pH'lardaki farklı tampon ortamlarında yükseltgenme yönünde pik verirken, indirgenme yönünde herhangi bir pik vermedi. Bu durum, seçilen ilaç etken maddelerinin tüm pH'larda tersinmez bir redoks reaksiyonuna sahip olduğunu gösterdi (115).

Farklı tampon çözeltileri ve pH değerleri için SFT, SFZ ve STR'nin DV, DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen voltamogramları kullanılarak (Şekil 24-26) pH'ya karşı pik potansiyelleri grafiğe geçirildi (Şekil 27-29). Grafiklerden de görüldüğü gibi, destek elektrolitin pH değeri arttıkça pik potansiyellerinde ~ 0.40 V civarında bir azalma gözlemlendi. SFT, SFZ ve STR'nin pik potansiyellerinde meydana gelen bu negatif yöndeki kayma, tampon pH'ının artışıyla hidronyum iyonu konsantrasyonunun azalması ile ilaç etken maddelerinin oksidasyonunun daha kolay gerçekleştiğini gösterdi. Bu sonuç, asidik karakterdeki etken maddelerin daha yüksek pH'larda daha kolay yükseltgenmesi ile açıklanabilir (116).

Şekil 28 ve 29'da SFZ ve STR etken maddeleri için tampon pH'ı arttıkça pik potansiyellerinde gerçekleşen azalmadaki doğrusallığın SFZ için pH 8.5 ve STR için pH 9.0 civarında sona erdiği görüldü. SFT için doğrusallıktaki bu azalmanın SFZ ve STR'deki kadar belirgin olmamakla birlikte pH 8.0 civarında olduğu gözlemlendi (Şekil 27). Bu pH'lardan sonra etken maddelerin pik potansiyelleri pH'dan daha bağımsız bir duruma geldi. Tamponun pH değeri ilaç etken maddelerinin pK_a 'larından daha büyük olduğunda oluşan konjuge baz tampon ortamında baskın durumdadır. Böylece, daha fazla konjuge baz oluşamaz ve yükseltgenme potansiyeli pH'dan bağımsız olur. Tamponun pH'ı 2.0'dan 8.5'e artarken ilaç etken maddelerinin pik potansiyelindeki azalma, bu bölgede bir asit-baz dengesinin kurulmakta olduğunu göstermektedir (116-119).

SFT, SFZ ve STR'nin pik potansiyellerine karşı çizilen pH grafiklerinde doğrusallığın görüldüğü pH aralığı için elde edilen regresyon denklemleri DV, DPV ve KDV yöntemleri için Bölüm 4.2'de "Eşitlik 5-13" ile verilmiştir. Yapılan regresyon analizi sonucunda, doğruların eğimlerinin SFT için 42.9 ila 46.3 mV/pH arasında, SFZ için 52.3 ila 55.2 mV/pH arasında ve STR için 46.3 ila 47.7 mV/pH arasında olduğu bulundu. Bu eğim

değerleri, her üç madde için de teorik -59 mV/pH değerine (120) yakındır. Bu sonuç, ilaç etken maddelerinin yükseltgenme reaksiyonundan sorumlu elektroaktif gruplarının elektron ve proton sayılarının eşit olduğunu göstermektedir (120, 121).

İlaç etken maddelerinin CK/PBM elektrot ile elektrokimyasal olarak kantitatif analizinin en hassas şekilde gerçekleştirilebilmesi için en uygun tampon ortamı DV, DPV ve KDV yöntemleri ile belirlendi. Buna göre, Şekil 30-32’de de görüldüğü üzere, üç etken madde için de en yüksek pik akımına sahip pikler pH 3.0 FT ortamında elde edildi. Ayrıca, etken maddelerin bu ortamda elde edilen anodik piklerinin keskin ve simetrik olduğu görüldü (Şekil 24-26). Bu nedenle SFT, SFZ ve STR için bundan sonra yapılacak çalışmalarda pH 3.0 FT ortamının kullanılmasına karar verildi.

5.3. Hız Taraması

SFT, SFZ ve STR etken maddelerinin yükseltgenme reaksiyonlarının karakterizasyonu için CK/PBM elektrot kullanılarak hız taraması çalışması yapıldı ve redoks reaksiyonlarının adsorpsiyon ya da difüzyon kontrollü olduğu belirlendi. Bunun için, 8.0×10^{-6} M etken madde (SFT, SFZ ve STR) içeren pH 3.0 FT çözeltisinde DV yöntemi ile +0.4 ila +1.6 V potansiyel aralığında ve 200 mV s^{-1} ila 5 mV s^{-1} tarama hızı arasında tek döngülü voltamogramlar alındı (Şekil 33). Tarama hızı azaldıkça etken maddelerin yükseltgenme pikleri SFT için 75 mV, SFZ için 76 mV ve STR için 81 mV negatif potansiyele doğru kaydı.

DV yöntemi ile uygulanan tarama hızına ve tarama hızının kareköküne karşı SFT, SFZ ve STR için elde edilen pik akımları grafiğe geçildi (Şekil 34-36). Buna göre, her üç madde için 200 ila 5 mV s^{-1} tarama hızı aralığında Şekil 34A, 35A ve 36A’da da görüldüğü üzere tarama hızına (v) karşı pik akımı (I_p) grafiklerinin doğrusal olmadığı, buna karşın Şekil 34B, 35B ve 36B’de de verildiği gibi tarama hızının kareköküne ($v^{1/2}$) karşı pik akımı (I_p) grafiklerinin ise yüksek korelasyon katsayıları (≥ 0.996) ile doğrusal olduğu belirlendi (Eşitlik 14, 16 ve 18). Bu durum, SFT, SFZ ve STR ilaç etken maddelerinin CK/PBM elektrot yüzeyindeki redoks reaksiyonlarının difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (122). Ayrıca, SFT, SFZ ve STR’nin tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akım değerlerinin logaritması ($\log I_p$) da grafiğe geçirildi (Şekil 34C, 35C ve 36C) ve çizilen doğrusal grafiklerin regresyon denklemleri elde edildi. Buna göre, SFT için “Eşitlik 15”de verilen doğrusal grafiğin eğimi $0.49 \mu\text{A s mV}^{-1}$, SFZ için “Eşitlik 17”de verilen doğrusal grafiğin eğimi $0.36 \mu\text{A s mV}^{-1}$ ve STR için “Eşitlik 19”da verilen doğrusal grafiğin eğimi

0.35 $\mu\text{A s mV}^{-1}$ olarak hesaplandı. Bu değerlerin, teorik 1.0 değerinden (123) oldukça uzak olması da, bu maddelerin redoks reaksiyonlarının difüzyon kontrollü olduğunu gösterdi (119).

5.4. Kalibrasyon Çalışması

SFT, SFZ ve STR ilaç etken maddelerinin kantitatif analizi, CK/PBM elektrot kullanılarak 25 farklı konsantrasyonda etken madde içeren pH 3.0 FT çözeltileri üzerinden her etken madde için ayrı ayrı yapılan kalibrasyon çalışmasıyla DPV ve KDV yöntemleriyle gerçekleştirildi (Şekil 37-39). Buna göre, doğrusallığın elde edildiği konsantrasyon aralıkları, SFT için DPV ve KDV yöntemlerinin her ikisi ile 8.0×10^{-9} - 8.0×10^{-6} M arasında ($r=0.998$), SFZ için DPV ile 1.0×10^{-8} - 6.0×10^{-6} M ($r=0.999$) ve KDV ile 8.0×10^{-9} - 8.0×10^{-6} M arasında ($r=0.998$), STR için ise DPV ve KDV yöntemlerinin her ikisi ile 8.0×10^{-9} - 8.0×10^{-6} M arasında (DPV için $r=0.998$ ve KDV için $r=0.999$) elde edildi. SFT'nin teşhis sınırı DPV için 1.18×10^{-9} M ve KDV için 1.46×10^{-9} M olarak, SFZ'nin teşhis sınırı DPV için 2.03×10^{-9} M ve KDV için 1.77×10^{-9} M olarak ve STR'nin teşhis sınırı DPV için 1.52×10^{-9} M ve KDV için 1.51×10^{-9} M olarak hesaplandı (Tablo 3-5).

SFT, SFZ ve STR'nin kalibrasyon çalışması ile elde edilen doğrusallık aralığı ve teşhis sınırı verileri literatürdeki diğer elektrokimyasal çalışmalardaki veriler ile karşılaştırıldı (Tablo 30-32). Buna göre, Tablo 30'da SFT için verilen sonuçlara göre bu tez çalışması ile hem DPV hem de KDV yöntemleri için elde edilen doğrusallık aralıkları, literatürdeki altın nanopartikül/poli(L-arjinin) modifiyeli karbon pasta elektrot (AuNPs/Parg/CPE) ile elde edilen çalışma (124) dışındaki tüm çalışmaların doğrusallık aralıklarından daha geniştir. Tablo 30'daki verilere göre en düşük teşhis sınırları da bu tez çalışması ile elde edilmiştir. CK/PBM elektrot ile elde edilene en yakın teşhis sınırı yine literatürdeki AuNPs/Parg/CPE elektrot ile elde edilmiştir (124), ancak bu tez çalışmasında kullanılan CK/PBM elektrot daha kısa sürede ve ucuza hazırlanabilme avantajına sahiptir.

Tablo 31'de SFZ için verilen sonuçlar karşılaştırıldığında literatürdeki palladyum-altın nanopartikül ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli camsı karbon elektrot (Pd-AuNPs-MWCNT/GCE) ile elde edilen doğrusallık aralığı (109) bu tez çalışmasında DPV ile elde edilenden daha geniş, KDV ile elde edilenle aynıdır. Pd-AuNPs-MWCNT/GCE ile elde edilmiş olan teşhis sınırı değeri (109), bu çalışmada CK/PBM elektrot ile elde edilen değerlere benzer şekilde nM seviyesinde olmakla birlikte biraz daha düşüktür, ancak Pd-AuNPs-MWCNT/GCE elektrodun hazırlanmasının daha zaman alıcı ve maliyetli olması

bir dezavantajdır. Tablo 31’deki diğer tüm çalışmaların doğrusallık aralıkları CK/PBM elektrot ile elde edilenden daha dar ve teşhis sınırları ise daha yüksektir.

Tablo 32’de STR için literatürdeki veriler karşılaştırıldığında daha zaman alıcı ve pahalı yöntemlerle hazırlanmış olan platin nanopartikül ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli camı karbon elektrot (PtNPs/MWCNT/GCE) (125) ile elde edilmiş doğrusallık aralığının CK/PBM elektrot ile elde edilenlerle aynı olduğu, ancak teşhis sınırının daha yüksek olduğu görüldü. Tablo 32’deki diğer çalışmalarda verilmiş olan doğrusallık aralıkları bu çalışma ile elde edilenlerden daha dar ve teşhis sınırları ise daha yüksektir.



Tablo 30. SFT için bu tez çalışması ile elde edilmiş kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması

Elektrot	Metot	Tampon	Doğrusallık aralığı (μM)	TS (μM)	Kaynak
GCE ^a	DPV	0.04 M BRT, pH 2.0	1.0 – 60.0	2.8×10^{-1}	(102)
	KDV	0.04 M BRT, pH 2.0	2.0 – 60.0	3.6×10^{-1}	
Fe ₃ O ₄ -np/GCE ^b	DV	0.04 M BRT, pH 3.0	0.07 – 1.0	-	(105)
	DPV	0.04 M BRT, pH 3.0	1.0 – 45.0	6.0×10^{-2}	
CPE ^c	DPV	0.2 M FT, pH 3.0	20.0 – 100.0	1.0×10^{-2}	(103)
GCE/ZnO ^d	DPV	-	0.3 – 0.7	2.0×10^{-1}	(104)
Nafion-GO/GCE ^e	DPV	0.2 M FT, pH 2.0	0.5 – 100.0	2.6×10^{-1}	(106)
AuNPs/Parg/CPE ^f	DPV	-	0.01 – 100.0	2.3×10^{-3}	(124)
CK/PBM	DPV	0.2 M FT, pH 3.0	8.0×10^{-3} – 8.0	1.18×10^{-3}	Tez
	KDV		8.0×10^{-3} – 8.0	1.46×10^{-3}	

^a Camsı karbon elektrot^b Demir (II,III) oksit nanopartikül modifiyeli camsı karbon elektrot^c Karbon pasta elektrot^d Çinko oksit nanorod modifiyeli camsı karbon elektrot^e Nafion-grafen oksit modifiyeli camsı karbon elektrot^f Altın nanopartikül/poli(L-arjinin) modifiyeli karbon pasta elektrot

Tablo 31. SFZ için bu tez çalışması ile elde edilmiş kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması

Elektrot	Metot	Tampon	Doğrusallık aralığı (μM)	TS (μM)	Kaynak
GCE ^a	DPV	0.1 M H ₂ SO ₄	4.0 – 80.0	6.0×10^{-1}	(107)
	KDV	0.1 M H ₂ SO ₄	4.0 – 80.0	10.0	
Pd-AuNPs-MWCNT/GCE ^b	DV	0.04 M BRT, pH 3.0	5.0×10^{-2} – 50.0	1.0×10^{-3}	(109)
NanoPt/PCV/GCE ^c	DPV	0.04 M BRT, pH 2.0	2.5×10^{-1} – 10.0	1.0×10^{-2}	(126)
Gr/GCE ^d	DV	-	2.5×10^{-1} – 10.0	1.0×10^{-1}	(127)
AgDs/MIP/c-MWCNT/GCE ^e	DV	-	2.0×10^{-3} – 5.0×10^{-1}	5.5×10^{-2}	(128)
CFT-Cu(II)/GCE ^f	DPV	0.04 M BRT, pH 8.0	-	2.36×10^{-1}	(129)
	KDV			1.60×10^{-1}	
CK/PBM	DPV	0.2 M FT, pH 3.0	1.0×10^{-2} – 6.0	2.0×10^{-3}	Tez
	KDV		8.0×10^{-3} – 8.0	1.77×10^{-3}	

^a Camsı karbon elektrot^b Palladyum-altın nanopartikül ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli camsı karbon elektrot^c Kristal viyole katkılı platin nanopartikül modifiyeli camsı karbon elektrot^d Grafen modifiyeli camsı karbon elektrot^e Çok duvarlı karbon nanotüp yüzeyine gümüş dendrit-moleküler baskılı polimer modifiyeli elektrot^f Camsı karbon elektrot (Bakır (II)-seftazidim kompleksi)

Tablo 32. STR için bu tez çalışması ile elde edilmiş kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması

Elektrot	Metot	Tampon	Doğrusallık aralığı (μM)	TS (μM)	Kaynak
GCE/CNT ^a	DV	0.2 M FT, pH 7.0	-	4.03	(110)
PtNPs/MWCNT/GCE ^b	DPV	0.04 M BRT, pH 2.0	0.01 – 10.0	9.0×10^{-3}	(125)
CPE ^c	DPV	0.2 M FT, pH 3.0	20.0 – 100.0	1.0×10^{-2}	(130)
Poly(EBT)/GCE ^d	DV	0.2 M FT, pH 2.48	5.0×10^{-1} – 2.0	-	(131)
nCH/PGE ^e	DV	-	2.0 – 72.0	5.4×10^{-1}	(132)
CK/PBM	DPV	0.2 M FT, pH 3.0	8.0×10^{-3} – 8.0	1.52×10^{-3}	Tez
	KDV		8.0×10^{-3} – 8.0	1.51×10^{-3}	

^a Karbon nanotüp modifiyeli camı karbon elektrot^b Platin nanopartikül ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli camı karbon elektrot^c Karbon pasta elektrot^d (Eriokrom siyahı T) polimer film modifiyeli camı karbon elektrot^e Bakır hekzasiyanoferrat nanoyapı modifiyeli kalem grafit elektrot

CK/PBM elektrot ile SFT, SFZ ve STR için elde edilen gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik verileri kullanılarak DPV ve KDV yöntemlerinin kesinliği belirlendi. Buna göre, her bir etken madde için pH 3.0 FT içerisinde doğrusallık aralığı içerisindeki iki farklı konsantrasyon (4.0×10^{-7} ve 8.0×10^{-7} M) seçildi. Her bir konsantrasyon için hazırlanan üçer adet çözeltinin DP ve KD voltamogramlarından elde edilen pik akımları ve pik potansiyelleri aynı gün içerisinde ve bir hafta içerisindeki üç ayrı günde okunarak tekrar edilebilirlik değerleri beş değer üzerinden %BSS olarak hesaplandı (Tablo 6-11). Pik potansiyellerinin gün içi ve günler arası %BSS değerleri her iki yöntem ile SFT için %0.16 ile %0.30 arasında, SFZ için %0.09 ile %0.45 arasında ve STR için ise %0.11 ile %0.45 arasında değişti. Pik akımlarının gün içi ve günler arası %BSS değerleri her iki yöntem ile SFT için %0.32 ile %1.63 arasında, SFZ için %0.25 ile %1.13 arasında ve STR için ise %0.45 ile %1.24 arasında değişti. Gün içi ve günler arası tekrar edilebilirliklerde %2'nin altında elde edilen bu veriler, CK/PBM elektrot ile yapılan SFT, SFZ ve STR analizi için geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin kesinliğinin iyi olduğunu gösterdi.

5.5. Farmasötik Dozaj Formlarından Tayin ve Geri Kazanım Çalışması

SFT, SFZ ve STR için CK/PBM elektrot kullanılarak geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin doğruluk, kesinlik ve seçiciliğinin kontrolü için ilaç etken maddelerinin farmasötik dozaj formlarından tayin ve geri kazanım çalışmaları yapıldı. SFT için 1.0 g/flakon olarak beyan edilen etken madde miktarı DPV ile 1.0024 g ve KDV ile 1.0030 g olarak sırasıyla %0.56 ve %0.78'lik %BSS değerleri ile bulundu (Tablo 12). SFZ için 1.0 g/flakon olarak beyan edilen etken madde miktarı DPV ile 1.0014 g ve KDV ile 1.0004 g olarak sırasıyla %0.57 ve %0.64'lük %BSS değerleri ile bulundu (Tablo 13). STR için ise 1.0 g/flakon olarak beyan edilen etken madde miktarı DPV ile 1.0024 g ve KDV ile 1.0018 g olarak sırasıyla %0.74 ve %0.54'lük %BSS değerleri ile bulundu (Tablo 14). Beyan edilen miktarlara oldukça yakın olarak elde edilen bu değerler, CK/PBM elektrot kullanılarak geliştirilen yöntemler ile SFT, SFZ ve STR'nin yüksek tekrar edilebilirlikler ile farmasötik dozaj formlarından tayin edilebildiğini gösterdi. Farmasötik dozaj formlarından yapılan tayin çalışmaları sonucunda Tablo 12-14'de verilen %bağıl hata değerlerinin tüm etken maddeler için her iki yöntem ile ≤ 0.3 'den düşük olarak hesaplanmış olması, gerçek değer ile bulunan değer arasındaki farkın oldukça düşük olduğunu gösterdi. Ayrıca, DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen pik akım değerleri kullanılarak bulunan etken madde miktarları ortalamalar ve kesinlikler bakımından Student *t*-testi ve F-testi ile %95 güven

seviyesi için istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Hesaplanan veriler teorik *t*-testi ve *F*-testi değerlerinden daha düşük çıktı. Bu da SFT, SFZ ve STR'nin kantitatif tayininde kullanılan her iki yöntemde ortalamalar ve kesinlikler açısından anlamlı bir fark bulunmadığını gösterdi (133).

SFT, SFZ ve STR'nin farmasötik dozaj formlarından hazırlanan çözeltileri üzerine ilave edilen saf etken madde çözeltileri ile her madde için ayrı ayrı geri kazanım çalışması gerçekleştirildi. İlave edilen etken maddelere karşılık, geliştirilen yöntem ile bulunan SFT miktarları DPV için %100.09 ve KDV için %100.13 (Tablo 15), bulunan SFZ miktarları DPV için %100.14 ve KDV için %100.18 (Tablo 16) ve bulunan STR miktarları ise DPV için %99.92 ve KDV için %100.21 (Tablo 17) olarak hesaplandı. %100'e oldukça yakın bulunan bu değerler, CK/PBM elektrot kullanılarak geliştirilen yöntemlerle ilave edilen etken maddelerin çözeltideki olası girişim yapıcı maddelerden etkilenmeden tayin edilebildiğini gösterdi. Ayrıca, Tablo 15-17'de verildiği üzere, geri kazanım çalışmalarındaki %BSS değerleri DPV ve KDV yöntemlerinin her ikisi ile SFT için en fazla %0.65, SFZ için en fazla %0.67 ve STR için en fazla %0.70 olarak hesaplandı. Geri kazanım çalışmalarının %bağıl hata değerleri de ≤ 0.21 olarak elde edildi. Bu değerlere göre, DPV ve KDV ile yapılan geri kazanım çalışmalarında yüksek tekrar edilebilirliklere ulaşıldı ve ilave edilen etken madde miktarları ile bulunan miktarlar arasındaki fark oldukça düşük olarak elde edildi.

5.6. Serum Çalışması

SFT, SFZ ve STR etken maddeleri CK/PBM elektrot kullanılarak valide edilen DPV ve KDV yöntemleri ile pH 3.0 FT içeren insan serumundan kantitatif olarak tayin edildi (Şekil 43-48). Tablo 18-20'de listelenen kalibrasyon verilerine göre elde edilen teşhis sınırı değerleri SFT için DPV ile 2.21×10^{-9} M ve KDV ile 2.23×10^{-9} M, SFZ için DPV ile 2.49×10^{-9} M ve KDV ile 3.12×10^{-9} M ve STR için DPV ile 2.45×10^{-9} M ve KDV ile 2.53×10^{-9} M olarak hesaplandı. Elde edilen teşhis sınırları değerleri saf etken maddelerle elde edilen teşhis sınırı değerleriyle uyumludur. Tablo 21-26'da verilen tekrar edilebilirlik sonuçlarına göre her iki yöntem için elde edilen gün içi ve günler arası %BSS verileri SFT'nin pik potansiyeli için %0.13 ile %0.80 arasında, SFZ'nin pik potansiyeli için %0.10 ile %0.58 arasında ve STR'nin pik potansiyeli için %0.10 ile %0.63 arasında idi. Pik akımı için elde edilen gün içi ve günler arası %BSS değerleri ise SFT için %0.53 ile %1.25 arasında, SFZ için %0.54 ile %1.30 arasında ve STR için %0.63 ile %1.44 arasında idi. Bu

sonuçlara göre elde edilen %2'den daha düşük %BSS değerleri, etken maddelerin serum içerisinde taini için geliştirilen yöntemlerin kesinliğinin iyi olduğunu gösterdi.

Serum içerisindeki ilaç etken maddelerinin doğruluk çalışmaları üç madde için de ayrı ayrı geri kazanım çalışmaları ile gerçekleştirildi (Tablo 27-29). Buna göre, serum çözeltisine ilave edilen SFT miktarı DPV için %100.04 ve KDV için %100.14, SFZ miktarı DPV için %99.98 ve KDV için %100.16 ve STR miktarı DPV için %100.16 ve KDV için %100.12 ortalama geri kazanım olarak elde edildi. Geri kazanım verilerinin %100'e oldukça yakın ve %BSS değerlerinin ≤ 0.83 olarak düşük bulunması, serum içerisinde SFT, SFZ ve STR ilaç etken maddelerinin CK/PBM elektrot ile tainine çözelti ortamındaki girişim yapabilecek türlerin herhangi bir etkisinin olmadığını gösterdi.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez kapsamında, sefalosporin grubu etken maddelerden sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun kalitatif ve kantitatif tayininin seçici, etkin ve hassas bir şekilde voltametrik yöntemlerle gerçekleştirilmesi amaçlandı. Seçilen üç etken maddenin analizi için literatürde başlıca kromatografik (93-97) ve spektrofotometrik (98-101) olmak üzere farklı yöntemler mevcuttur. Bu yöntemler tatmin edici hassasiyete ve seçiciliğe sahip olmalarına rağmen, numunenin hazırlanması için zahmetli ön işlemler gerektirmekte ve bu da analizi daha zaman alıcı, daha pahalı ve karmaşık bir hale getirmektedir.

Voltametrik teknikler, kromatografik ve spektrofotometrik analizlerde gerekli olan ön işlemlere gerek duyulmadan hedeflenen maddenin analizinin seçici, hassas ve oldukça hızlı bir şekilde yapılmasına imkân tanımasından dolayı tercih edilmektedir.

Literatürde tez çalışmasında kullanılan etken maddelerin bazı elektrokimyasal analiz çalışmaları mevcuttur. Bunlardan cıva elektrot ile yapılmış olan çalışmalar etken maddelerin katodik (indirgenme) yönündeki çalışmalarıdır ve bu tezde gerçekleştirilen anodik yöndeki çalışmalardan farklı bir redoks mekanizması ile gerçekleşmektedir. Ayrıca, sefotaksimin yalın camısı karbon elektrot (102-103), farklı maddelerle modifiye edilmiş camısı karbon elektrot (105, 134-137), moleküler baskılanmış elektrot (138), karbon pasta elektrot (103, 139) ve cıva elektrot (140) ile yapılmış çalışmaları vardır. Seftazidimin yalın camısı karbon elektrot (107), çok duvarlı karbon nanotüp elektrot (109), farklı şekillerde modifiye edilmiş camısı karbon elektrot (126-129), cıva elektrot (140-143) ve karbon pasta elektrot (144) ile yapılmış analiz çalışmaları mevcuttur. Seftriaksonun ise farklı şekillerde modifiye edilmiş camısı karbon elektrot (110, 125, 131), kalem grafit elektrot (132), karbon pasta elektrot (130) ve cıva elektrot (145-147) ile yapılmış bazı çalışmaları vardır. Ancak, bu tez çalışmasında yapıldığı şekilde poli(bromkrezol moru) ile modifiye edilmiş elektrot kullanılarak seçilen sefalosporin grubu etken maddelerin elektrokimyasal olarak analizlerinin yapıldığı bir çalışma literatürde mevcut değildir. Bu çalışma ile literatürdeki çalışmalara göre basit, hızlı ve ucuz bir şekilde modifiye edilen ve stabilitesi yüksek olan bir elektrodun hazırlanması, seçilen etken maddelerin kalitatif ve kantitatif tayinlerinin daha hassas, etkin ve seçici bir şekilde bu elektrot ile yapılması ve valide edilmiş olan yöntemlerin bu etken maddelerin biyolojik numunelerden tayininde kullanılabilmesi amaçlanmıştır.

Bu tez çalışmasında ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal analizleri için öncelikle, camısı karbon elektrot yüzeyine poli(bromkrezol moru) polimer filmi elektropolimerizasyon

ile kaplanarak duyarlılığı yüksek, ekonomik ve etkin bir modifiye elektrot elde edildi. Ardından, hazırlanan modifiye camı karbon elektrot ile sefalosporin grubu ilaç etken maddelerinden sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun elektrokimyasal analizleri valide edilmiş dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri yöntemleri kullanılarak yükseltgenme yönünde incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda etken maddelerin elektrokimyasal analizi için pH 3.0 FT kullanılmasına karar verildi.

Miktar tayini çalışmaları için, pH 3.0 FT içerisinde hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki etken madde çözeltileri kullanılarak, valide edilmiş diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri yöntemleri ile her madde için ayrı ayrı kalibrasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen veriler ile literatürdeki farklı elektrokimyasal çalışmalarda elde edilmiş olan veriler karşılaştırıldı ve bu tez çalışmasında geliştirilen voltametrik yöntemler ile yüksek hassasiyette, az maliyetli ve etkin sonuçlar elde edildiği görüldü. Böylece, hazırlanmış olan modifiye elektrot, ilaç etken maddelerinin yükseltgenme yönündeki kantitatif analizlerinin hızlı, hassas ve seçici bir şekilde yapılmasına imkan sağladı. Ayrıca, hazırlanan modifiye elektrot ile etken maddelerin farmasötik dozaj formlarından ve biyolojik sıvılardan (yapay insan serumu) analizleri de bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirildi. Süzme ve ayırma işlemleri uygulanmadan yapılan farmasötik dozaj formlarından tayin ve geri kazanım çalışmalarının sonucunda elde edilen veriler farmasötik dozaj formlarında beyan edilen miktarlarla uyum gösterdi. Ayrıca, yapay insan serumundan yapılan etken madde analizlerinde de %100'e yakın geri kazanım değerleri ve tekrar edilebilir sonuçlar elde edildi. Böylece hem farmasötik dozaj formlarından hem de yapay insan serumundan elde edilen bu sonuçlar, geliştirilen yöntemlerin analiz çözeltilerindeki olası girişim yapıcı maddelerden etkilenmeden etken maddelerin analizlerinin hassas ve seçici bir şekilde yapılabildiğini gösterdi.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında yapıldığı şekilde, seçilen üç etken maddenin poli(bromkrezol moru) film modifiyeli camı karbon elektrot ile yükseltgenme yönündeki voltametrik analizleri ilk kez çalışılmış olup, modifiye elektrodun hızlı, ucuz ve pratik bir şekilde hazırlanabilmesi ve etken maddelerin kantitatif analizlerinin farmasötik dozaj formlarından ve yapay insan serumundan hassas bir şekilde yapılabilmesi nedeniyle tatmin edici sonuçlara ulaşılmıştır. Böylece, sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun kalitatif ve kantitatif tayini için hızlı, ekonomik ve literatürdeki yöntemlere göre tercih edilebilecek hassas bir yöntem geliştirilerek literatüre katkıda bulunulmuştur. Bu tez çalışmasında

geliştirilen yöntemler, bu etken maddelerin farmakokinetik çalışmalarında kullanılabilir. Böylece, bu etken maddelerin hastalar üzerindeki uygulanma şekli belirlenebilir ve ilaçların hedeflenen etkileri ile olası yan etkileri kontrol edilebilir.



7. KAYNAKLAR

1. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR (2004). Fundamentals of Analytical Chemistry. Analitik Kimya Temel İlkeler. 8th ed. Çeviren: Kılıç E, Yılmaz H, Bilim Kitap Kırtasiye Ltd. Şti., Ankara, 487-706.
2. Bilgin C (2012). Çok duvarlı karbon nanotüp elektrot kullanılarak kare dalga voltametrisi ile 4-metiltiyo-3,5-ksilil metilkarbamat (metiyokarb) insektisitinin tayini. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
3. Kaya B (2014). Antipsikotik ilaç ketiapin fumaratın karbon nanotüp modifiyeli camı karbon elektrot ile elektrokimyasal analizi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
4. Atta-Politou J, Skopelitis I, Apatsidis I, Koupparis M (2001). In vitro study on fluoxetine adsorption onto charcoal using potentiometry. Eur J Pharm Sci 12: 311-319.
5. Mahmoud WG (2001). Iron ion-selective electrodes for direct potentiometry and potentiometric titrimetry in pharmaceuticals. Anal Chim Acta 436: 199-206.
6. Aşkın G (2008). İlaç ve bazı meyvelerdeki askorbik asit miktarının voltametrik tekniklerle belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Çanakkale.
7. Jain R, Sharma R (2012). Voltammetric quantification of anti-hepatitis drug Adefovir in biological matrix and pharmaceutical formulation. J Pharm Anal 2: 98-104.
8. Molero L, Faundez M, Valle MA, Río R, Armijo F (2013). Electrochemistry of methimazole on fluorine-doped tin oxide electrodes and its square-wave voltammetric determination in pharmaceutical formulations. Electrochim Acta 88: 871-876.
9. Dogan-Topal B, Kul D, Ozkan SA, Uslu B (2011). Anodic behavior of fulvestrant and its voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum on highly boron-doped diamond electrode using differential pulse adsorptive stripping voltammetry. J Appl Electrochem 41: 1253-1260.
10. Kul D, Uslu B, Ozkan SA (2011). Electrochemical determination of anti-hyperlipidemic drug ezetimibe based on its oxidation on solid electrodes. Anal Lett 44: 1341-1357.

11. Öztürk G (2016). Antibakteriyel ilaç sefepimin karbon esaslı elektrotlar ile elektrokimyasal oksidasyonu ve farmasötiklerden ve serumdan kantitatif tayini. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
12. Zuman P (2006). Principles of applications of polarography and voltammetry in the analysis of drugs. *FABAD J Pharm Sci* 31: 97-115.
13. Kalal HS, Ghadiri M, Beigi AAM, Sadjadi SAS (2004). Simultaneous determination of trace amounts of sulfite and thiosulfate in petroleum and its distillates by extraction and differential pulse polarography. *Anal Chim Acta* 502: 133-13.
14. Kariuki S, Morra MJ, Umiker KJ, Cheng JF (2001). Determination of total ionic polysulfides by differential pulse polarography. *Anal Chim Acta* 442: 277-285.
15. Stanić Z, Girousi S (2008). Electrochemical study of the interaction between dsDNA and copper (I) using carbon paste and hanging mercury drop electrode. *Talanta* 76: 116-121.
16. Vural T (2009). Karbon Nanotüp Esaslı Biyosensörlerin Geliştirilmesi. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
17. Karadeniz Technical University (2021). Library services electronic resources [online]. Available from: <http://www.cheng.cam.ac.uk/research/groups/electrochem/> [Accessed 28 May 2021].
18. Atta N, Galal A, Azab S (2011). Electrochemical morphine sensing using gold nanoparticles modified carbon paste electrode. *Int J Electrochem Sci* 6(10): 5066-5081.
19. Kocak C, Kocak S (2020). Electrochemical determination of catechol and hydroquinone based on Pd nanoparticles/poly(taurine) modified glassy carbon electrode. *Electroanalysis* 32: 358-366.
20. Taskin I, Gungor O, Titretir Duran S (2021). Voltammetric determination of florfenicol by using poly(3-methylthiophene) modified glassy carbon electrode. *Polymer Bull* 78: 4721-4741.
21. Apath D, Moyo M, Shumba M (2020). TiO₂ nanoparticles decorated graphene nanoribbons for voltammetric determination of an Anti-HIV drug nevirapine. *J Chem*: 3932715.

22. Kassa A, Amare M (2021). Poly(4-amino-3-hydroxynaphthalene-1-sulfonic acid) modified glassy carbon electrode for square wave voltammetric determination of amoxicillin in four tablet brands. *BMC Chemistry* 15: 10.
23. Li H, Zhao J, Zhao S, Cui G (2021). Simultaneous determination of trace Pb(II), Cd(II), and Zn(II) using an integrated three-electrode modified with bismuth film. *Microchem J* 168: 106390.
24. Erden S (2021). Square wave anodic adsorptive stripping voltammetric determination of cefpodoxime proxetil by using pencil graphite electrode. *Monatsh Chem* 152: 587-592.
25. Nagles E, Garcia-Beltran O (2018). Determination of allura red in the presence of cetylpyridinium bromide by square-wave adsorptive stripping voltammetry on a glassy carbon electrode. *Anal Sci* 34(10): 1171-1175.
26. Li Z, Chen L, He F, Bu L, Qin X, Xie O, Yao S, Tu X, Luo S, Luo S (2014). Square wave anodic stripping voltammetric determination of Cd^{2+} and Pb^{2+} at bismuth-film electrode modified with electroreduced graphene oxide-supported thiolated thionine. *Talanta* 122: 285-292.
27. Cheize M, Sarthou G, Croot PL, Bucciarelli E, Baudoux AC, Baker AR (2012). Iron organic speciation determination in rainwater using cathodic stripping voltammetry. *Anal Chim Acta* 736: 45-54.
28. El-Shahawi MS, Bashammakh AS, Al-Sibaai AA, Bahaidarah EA (2013). Analysis of spironolactone residues in industrial wastewater and in drug formulations by cathodic stripping voltammetry. *J Pharm Anal* 3: 137-143.
29. Ardila JA, Oliveira GG, Medeiros RA, Fatibello-Filho O (2013). Determination of gemfibrozil in pharmaceutical and urine samples by square-wave adsorptive stripping voltammetry using a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes within a dihexadecyl hydrogen phosphate film. *J Electroanal Chem* 690: 32-37.
30. Aşangil D, Taşdemir İH, Kılıç E (2012). Adsorptive stripping voltammetric methods for determination of aripiprazole. *J Pharm Anal* 2: 193-199.
31. Ziyatdinova G, Ziganshina E, Budnikov H (2012). Surfactant media for constant-current coulometry. Application for the determination of antioxidants in pharmaceuticals. *Anal Chim Acta* 744: 23-28.

32. Beinrohr E, Tschöpel P, Tölg G, Nemeth M (1993). Flow-through anodic stripping coulometry and anodic stripping coulometry with collection for the simultaneous absolute determination of copper, lead, cadmium and zinc. *Anal Chim Acta* 273: 13-25.
33. Marei MM, Roussel TJ, Keynton RS, Baldwin RP (2013). Electrochemical and microfabrication strategies for remotely operated smart chemical sensors: Application of anodic stripping coulometry to calibration-free measurements of copper and mercury. *Anal Chim Acta* 803: 47-55.
34. Palladino G, Ferri D, Manfredi C, Vasca E (2007). Potentiometric determination of the total acidity of humic acids by constant-current coulometry. *Anal Chim Acta* 582: 164-173.
35. Felix FS, Ferreira LMC, Rossini PO, Lago CL, Angnes L (2012). Quantification of terbinafine in pharmaceutical tablets using capillary electrophoresis with contactless conductivity detection and batch injection analysis with amperometric detection. *Talanta* 101: 220-225.
36. Vinković K, Drevenkar V (2008). Ion chromatography of azide in pharmaceutical protein samples with high chloride concentration using suppressed conductivity detection. *J Chromatogr B* 864: 102-108.
37. Lakshmi D, Sharma PS, Prasad BB (2007). Imprinted polymer-modified hanging mercury drop electrode for differential pulse cathodic stripping voltammetric analysis of creatine. *Biosens Bioelectron* 22: 3302-3308.
38. Jain R, Radhapyari K, Jadon N (2007). Adsorptive stripping voltammetric behavior and determination of anticholinergic agent oxybutynin chloride on a mercury electrode. *J Colloid Interface Sci* 314: 572-577.
39. Piech R, Baś B, Kubiak WW, Paczosa-Bator B (2012). Fast cathodic stripping voltammetric determination of elemental sulfur in petroleum fuels using renewable mercury film silver based electrode. *Fuel* 97: 876-878.
40. Wei J, Yang D, Chen H, Gao Y, Li H (2014). Stripping voltammetric determination of mercury(II) based on SWCNT-PhSH modified gold electrode. *Sens Actuators B Chem* 190: 968-974.

41. Nosek M, Weroński P, Nowak P, Barbasz J (2012). Voltammetric studies of colloidal particle monolayer on a gold rotating disk electrode. *Colloids Surf A* 403: 62-68.
42. Jorge EO, Rocha MM, Fonseca ITE, Neto MMM (2010). Studies on the stripping voltammetric determination and speciation of chromium at a rotating-disc bismuth film electrode. *Talanta* 81: 556-564.
43. Karaman Y (2014). Investigation of electrochemical behavior of Calmagite at a glassy carbon electrode. *Dyes Pigm* 106: 39-44.
44. Levent A, Altun A, Yardım Y, Şentürk Z (2014). Sensitive voltammetric determination of testosterone in pharmaceuticals and human urine using a glassy carbon electrode in the presence of cationic surfactant. *Electrochim Acta* 128: 54-60.
45. Jahani P, Jafari M, Gupta V, Agarwal S (2020). Graphene quantum dots/ionic liquid-modified carbon paste electrode-based sensor for simultaneous voltammetric determination of norepinephrine and acetylcholine. *Int J Electrochem Sci* 15(1): 947-958.
46. Teixeira M, Felix F, Thomasi S, Magriotis Z, da Silva J, Okumura L, Saczk A (2019). Voltammetric determination of organic nitrogen compounds in environmental samples using carbon paste electrode modified with activated carbon. *Microchem J* 148: 66-72.
47. Ramezani S, Ghobadi M, Bideh B (2014). Voltammetric monitoring of Cd(II) by nano-TiO₂ modified carbon paste electrode sensitized using 1,2-bis-[o-aminophenylthio]ethane as a new ion receptor. *Sens Actuators B Chem* 192: 648-657.
48. Kul D, Pauliukaite R, Brett CMA (2013). Development of an amperometric sensor for ascorbic acid based on Nile blue A and functionalised multi-walled carbon nanotube modified electrodes. *Talanta* 111: 76-84.
49. Deng P, Xu Z, Feng Y (2014). Acetylene black paste electrode modified with graphene as the voltammetric sensor for selective determination of tryptophan in the presence of high concentrations of tyrosine. *Mater Sci Eng C* 35: 54-60.
50. Gholivand MB, Shamsipur M, Dehdashtian S, Rajabi HR (2014). Development of a selective and sensitive voltammetric sensor for propylparaben based on a nanosized molecularly imprinted polymer-carbon paste electrode. *Mater Sci Eng C* 36: 102-107.

51. Kachoosangi RT, Compton RG (2013). Voltammetric determination of chromium (IV) using a gold film modified carbon composite electrode. *Sens Actuators B Chem* 178: 555-562.
52. Jain R, Rather JA (2011). Voltammetric determination of antibacterial drug gemifloxacin in solubilized systems at multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Colloids Surf B* 83: 340-34.
53. El Ries MA, Ghany MFA, Hussin LA, El-Anwar FM, Mohamed AM (2013). Voltammetric behavior of ketoconazole and its determination in cosmetic preparation using a β -cyclodextrin modified glassy carbon electrode. *Bull Fac Pharm (Cairo Univ)* 51: 49-55.
54. Çorbacioğlu F (2013). Kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin antioksidan kapasitelerinin elektrokimyasal yöntemle incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
55. Puskas Z, Inzelt G (2005). Formation and redox transformations of polyphenazine. *Electrochim Acta* 50: 1481-1490.
56. Farrell TP, Kaner RB (2014). Conducting polymers in encyclopedia of polymeric nanomaterials, Springer, New York: 1-9.
57. Das TK, Prusty D (2012). Review on conducting polymers and their applications. *Polymer Plast Technol Eng* 51: 1487-1500.
58. Yildirim H, Tokgoz S, Peksoz A, Kara A (2021). Electrochemically characterized energy storage properties of Ni foam/poly(EGDMA-Co-VPCA)/SWCNT composite electrode produced by surface polimerization method. *Mater Lett* 299: 130100.
59. Akarsu S, Karademir S (2019). Influence of bulk-fill composites, polimerization modes, and remaining dentin thickness on intrapulpal temperature rise. *Biomed Res Int*, ID: 4250284.
60. Ferrandiz M, Capablanca L, Bou E, Garcia D, Bonet MA, Luis B (2015). Microencapsulation of essential oils by interfacial polimerization using polyurea as a wall material. *JEAS* 5(4): 165-177.

61. Cai D, Wang C, Wang X, Hu J, Wang X (2020). Comparative study on the bromocresol green and bromocresol purple method for the detection of glycated albumin. *Xiandai Jianyan Yixue Zazhi* 35(5): 134-136.
62. Almadani EA, Adress HM, Kwakob S (2019). Using of the sea grasses fort he removal of some industrial organic dyes; bromocresol purple from aqueous solutions. *ETCE* 6(3): 29-36.
63. Barsan MM, Ghica ME, Brett CMA (2015). Electrochemical sensors and biosensors based on redox polymer/carbon nanotube modified electrodes: A review. *Anal Chim Acta* 881: 1-23.
64. Zhang R, Liu S, Wang L, Yang G (2013). Electroanalysis of ascorbic acid using poly(bromocresol purple) film modified glassy carbon electrode. *Measurement* 46: 1089-1093.
65. Zeybek DK, Demir B, Zeybek B, Pekyardımcı Ş (2015). A sensitive electrochemical DNA biosensor for antineoplastic drug 5-fluorouracil based on glassy carbon electrode modified with poly(bromocresol purple). *Talanta* 144: 793-800.
66. Koçak S, Aslışen B (2014). Hydrazine oxidation at gold nanoparticles and poly(bromocresol purple) carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Sens Actuators B Chem* 196: 610-618.
67. Yang G, Yan J, Qi F, Sun C (2010). High sensitivity and reproducibility of a bismuth/poly(bromocresol purple) film modified glassy carbon electrode for determination of trace amount of cadmium by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Electroanalysis* 22: 2729-2738.
68. Koçak S, Aslışen B, Koçak ÇK (2016). Determination of hydrazine at a platinum nanoparticle and poly(bromocresol purple) modified carbon nanotube electrode. *Anal Lett* 49: 990-1003.
69. Iijima S (2001). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354: 56-58.
70. Rivas GA, Rubianes MD, Rodriguez MC, Ferreyra NF, Luque GL, Pedano ML, Miscoria SA, Parrado C (2007). Carbon nanotubes for electrochemical biosensing. *Talanta* 74: 291-307.
71. Reilly RM (2007). Carbon nanotubes: Potential benefits and risks of nanotechnology in nuclear medicine. *J Nucl Med* 48: 1039-1042.

72. Fan S, Xiao F, Liu L, Zhao F, Zeng B (2008). Sensitive voltammetric response of methylparathion on single-walled carbon nanotube paste coated electrodes using ionic liquid as binder. *Sens Actuators B Chem* 132: 34-39.
73. Iijima S (2002). Carbon nanotubes: Past, present and future. *Physica B* 323: 1-5.
74. Dogan-Topal B, Bozal-Palabıyık B, Uslu B, Ozkan S (2013). Multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a voltammetric nanosensor for the sensitive determination of anti-viral drug valganciclovir in pharmaceuticals. *Sens Actuators B Chem* 177: 841-847.
75. Luo L, Zou X, Ding Y, Wu Q (2008). Derivative voltammetric direct simultaneous determination of nitrophenol isomers at a carbon nanotube modified electrode. *Sens Actuators B Chem* 135: 61-65.
76. Duarte EH, Santos WP, Hudari FF, Neto JLB, Sartori ER, Antonia LHD, Pereira AC, Tarley CRT (2014). A highly improved method for sensitive determination of amitriptyline in pharmaceutical formulations using an unmodified carbon nanotube electrode in the presence of sulfuric acid. *Talanta* 127: 26-32.
77. Dalmasso PR, Pedano ML, Rivas GA (2012). Electrochemical determination of ascorbic acid and paracetamol in pharmaceutical formulations using a glassy carbon electrode modified with multi-wall carbon nanotubes dispersed in polyhistidine. *Sens Actuators B Chem* 173: 732-736.
78. Deng P, Xu Z, Li J (2013). Simultaneous determination of ascorbic acid and rutin in pharmaceutical preparations with electrochemical method based on multi-walled carbon nanotubes–chitosan composite film modified electrode. *J Pharm Biomed Anal* 76: 234-242.
79. Shafaei S, Hosseinzadeh E, Kanberoglu GS, Khalilzadeh B, Mohammad-Rezaei R (2021). Preparation of cerium oxide-MWCNTs nanocomposite bulk modified carbon ceramic electrode: a sensitive sensor for tamoxifen determination in human serum samples. *J Mater Sci: Mater Electron* 32: 14601-14609.

80. Umesh N, Antolin JJ, Wang S, Vishnu N, Yang Y (2021). Novel voltammetric detection of norfloxacin in urine and blood serum using a flexible Ni foam based Ni-Co-MOF ultrathin nanosheets derived from Ni-Co-LDH. *Microchem J* 160: 105747.
81. Farjami F, Fasihi F, Alimohammadi F, Moradi SE (2019). Electrochemical behavior and highly sensitive voltammetric determination of doxepin in pharmaceutical preparations and blood serum using carbon ionic liquid electrode. *Iran J Pharm Sci* 18: 91-101.
82. Marshall W, Blair J (1999). The cephalosporins. *Mayo Clinic Proceed* 74:187-195.
83. El-Shaboury, Saleh G, Mohamed F, Rageh AH (2007). Analysis of cephalosporin antibiotics. *Analysis* 45: 1-19.
84. DePestel DD, Benninger MS, Danziger L, LaPlante KL, May C, Luskin A, Pichichero M, Hadley JA (2008). Cephalosporin use in treatment of patients with penicillin allergies. *J Am Pharm Assoc* 48: 530-540.
85. Singh J, Arrieta AC (1999). New cephalosporins. *Semin Pediatr Infect Dis* 10: 14-22.
86. Neu HC (1985). Advances in cephalosporin therapy. *Am J Med* 79: 114-118.
87. Macy E (2015). Adverse reactions associated with oral and parenteral use of cephalosporins: A retrospective population-based analysis. *J Allergy Clin Immunol* 135: 745-752.
88. Park MA, Klemawesch PJ, Markus PJ (2006). Increased adverse drug reactions to cephalosporins in patients with a positive penicillin skin test. *J Allergy Clin Immunol* 117: S222.
89. Tune BM, Fravert D (1980). Mechanisms of cephalosporin nephrotoxicity: A comparison of cephaloridine and cephaloglycin. *Kidney Int* 18: 591-600.
90. Karadeniz Technical University (2021). Library services electronic resources [online]. Available from: <http://go.drugbank.com/drugs/DB00493> [Accessed 28 May 2021].
91. Karadeniz Technical University (2021). Library services electronic resources [online]. Available from: <http://go.drugbank.com/drugs/DB00438> [Accessed 28 May 2021].
92. Karadeniz Technical University (2021). Library services electronic resources [online]. Available from: <http://go.drugbank.com/drugs/DB01212> [Accessed 28 May 2021].

93. Campos ML, Alonso JM, Martins ES, Oliveira JA, Hussni CA, Peccinin RG (2017). Ceftriaxone pharmacokinetics by new simple and sensitive ultra-high-performance liquid chromatography method. *Diagn Microbiol Infect Dis* 88: 95-99.
94. Ye G, Cai X, Wang B, Zhou Z, Yu X, Wang W, Zhang J, Wang Y, Dong J, Jiang Y (2008). Simultaneous determination of vancomycin and ceftazidime in cerebrospinal fluid in craniotomy patients by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 48: 860-865.
95. Dokladova J, Quercia GT, Stankewich JP (1983). High performance liquid chromatographic determination of cefoperazone in human serum and urine. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 276: 129-137.
96. Aleksic MM, Kapetanovic V, Atanackovic J, Jovic B, Zecevic M (2008). Simultaneous determination of cefotaxime and desacetylcefotaxime in real urine sample using voltammetric and high-performance liquid chromatographic methods. *Talanta* 77: 131-137.
97. Ranjane PN, Gandhi S, Kadukar S, Ranher S (2008). Simultaneous determination of cefuroxime axetil and ornidazole in tablet dosage form using reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chinese J Chromatog* 26: 763-765.
98. Zhao W, Zhang Y, Li Q (2008). Indirect spectrophotometric determination of sodium ceftriaxone with n-propyl alcohol-ammonium sulfate–water system by extraction flotation of copper(II). *Clin Chim Acta* 391: 80-84.
99. Hoang VD, Loan NT, Tho VT, Nguyen HMT (2014). UV spectrophotometric simultaneous determination of cefoperazone and sulbactam in pharmaceutical formulations by derivative, Fourier and wavelet transforms. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 121: 704-714.
100. Morelli B (2003). Derivative spectrophotometry in the analysis of mixtures of cefotaxime sodium and cefadroxil monohydrate. *J Pharm Biomed Anal* 32: 257-267.
101. El-Gindy A, El Walily AFM, Bedair MF (2000). First-derivative spectrophotometric and LC determination of cefuroxime and cefadroxil in urine. *J Pharm Biomed Anal* 23: 341-352.

102. Dogan B, Golcu A, Dolaz M, Ozkan SA (2009). Anodic oxidation of antibacterial drug cefotaxime sodium and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum. *Curr Pharm Anal* 5: 197-207.
103. Yılmaz N, Inci B (1998). Anodic voltammetry of cefotaxime. *J Pharm Biomed Anal* 17: 1335-1344.
104. Vasantharaghavan V, Cingaram R (2021). Voltammetry determination of cefotaxime on zinc oxide nanorod modified electrode. *Curr Pharm Anal* 17: 40-46.
105. Wang M, Yang J, Zhou Q, Chen L, Tao Z (2012). The electrocatalytic reduction and determination of cefotaxime sodium by a glass carbon electrode modified with nano- Fe_3O_4 particles. *Yingyong Huaxue* 29: 346-352.
106. Fan X, Fanghui W, Le C, Zhengyu C, Xianwen W (2016). Electrochemical determination of cefotaxime using nafion-graphene oxide modified electrode. *Asian J Chem* 28: 111-115.
107. Tarinc D, Dogan B, Golcu A, Ozkan SA (2014). Electrochemical investigation and determination of ceftazidime in pharmaceutical dosage forms and human urine. *J Anal Chem* 69: 899-908.
108. Aleksic MM, Kapetanovic V (2006). Voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of cefotaxime in urine. *J Electroanal Chem* 593: 258-266.
109. Shahrokhian S, Salimian R, Rastgar S (2014). Pd-Au nanoparticle decorated carbon nanotube as a sensing layer on the surface of glassy carbon electrode for electrochemical determination of ceftazidime. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 34: 318-325.
110. El-Maali NA, Ali AM, Ghandour MA (1993). Electrochemical reduction and oxidation of two cephalosporin antibiotics: ceftriaxone (rocephin) and cefoperazone (cefobid). *Electroanalysis* 5: 599-604.
111. Aleksic MM, Lijeskic N, Pantic J, Kapetanovic VP (2013). Electrochemical behavior and differential pulse voltammetric determination of ceftazidime, cefuroxime-axetil and ceftriaxone. *FU Phys Chem Tech* 111: 55-66.
112. Xiang H, Yang Y, Zhirong S (2016). Preparation and characterization of cerium-doped multiwalled carbon nanotubes electrode for the electrochemical degradation of low-concentration ceftazidime in aqueous solutions. *Electrochim Acta* 199: 80-91.

113. Wang Y, Tong L-li (2010). Electrochemical sensor for simultaneous determination of uric acid, xanthine and hypoxanthine based on poly(bromocresol purple) modified glassy carbon electrode. *Sens Actuators B Chem* 150: 43-49.
114. Pauliukaite R, Ghica ME, Barsan MM, and Brett CMA (2010). Phenazines and polyphenazines in electrochemical sensors and biosensors. *Anal Lett* 43: 1588–1608.
115. Ozkan SA, Dogan B, and Uslu B (2006). Voltammetric analysis of the novel atypical antipsychotic drug quetiapine in human serum and urine. *Microchim Acta* 153: 27-35.
116. Uslu B, Dogan Topal B, Ozkan S (2008). Electroanalytical investigation and determination of pefloxacin in pharmaceuticals and serum at boron-doped diamond and glassy carbon electrodes. *Talanta* 74: 1191-1200.
117. Demircan Ş, Kır S, Ozkan SA (2007). Electroanalytical characterization of verapamil and its voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum. *Anal Lett* 40: 1177-1195.
118. Ozkan SA, Uslu B, Senturk Z (2004). Electroanalytical characteristics of amisulpride and voltammetric determination of the drug in pharmaceuticals and biological media. *Electroanalysis* 16: 231-237.
119. Kul D, Gumustas M, Uslu B, Ozkan SA (2010). Electroanalytical characteristics of antipsychotic drug ziprasidone and its determination in pharmaceuticals and serum samples on solid electrodes. *Talanta* 82: 286-295.
120. Camposa R, Cestarollia D, Mulatob M, Guerraa E (2015). Comparative sensibility study of WO₃ pH sensor using EGFET and cyclic voltammetry. *Mat Res* 18: 15-19.
121. Kul D, Brett CMA (2014). Electrochemical investigation and determination of levodopa on poly(Nile blue-A)/multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrodes. *Electroanalysis* 26: 1320-1325.
122. Yılmaz S, Uslu B, Ozkan SA (2001). Anodic oxidation of etodolac and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum. *Talanta* 54: 351-360.
123. Karadas N, Ozkan SA (2014). Electrochemical preparation of sodium dodecylsulfate doped over-oxidized polypyrrole/multi-walled carbon nanotube composite on glassy

carbon electrode and its application on sensitive and selective determination of anticancer drug: Pemetrexed. *Talanta* 119: 248-254.

124. Zhang F, Gu S, Ding Y, Zhou L, Zhang Z, Li L (2013). Electrooxidation and determination of cefotaxime on Au nanoparticles/poly (L-arginine) modified carbon paste electrode. *J Electroanal Chem* 698: 25-30.
125. Shahrokhian S, Hosseini-Nassab N, Kamalzadeh Z (2014). Fabrication of an electrochemical sensor based on the electrodeposition of Pt nanoparticles on multiwalled carbon nanotubes film for voltammetric determination of ceftriaxone in the presence of lidocaine, assisted by factorial-based response-surface methodology. *J Solid State Electrochem* 18: 77-88.
126. Sun Y, Li X, Wang X, Zhangyu WT (2018). An electrochemical sensor for determination of ceftazidime based on poly(crystal violet) doped platinum nanoparticles modified electrode. *Int J Electrochem Sci* 13: 1859-1868.
127. Yanli S, Meifeng C, Liguang C, Xueliang W, Tao W (2019). Electrochemical behaviors of ceftazidime at Gr/GCE and its interaction with DNA studied by fluorescence and CV method. *Int J Electrochem Sci* 14: 6522-6531.
128. Torkashvand M, Gholivand MB, Malekzadeh G (2016). Construction of a new electrochemical sensor based on molecular imprinting recognition sites on multiwall carbon nanotube surface for analysis of ceftazidime in real samples. *Sens Actuators B Chem* 231: 759-767.
129. Muslu H, Golcu A, Ozkan S (2010). Electrochemical study of ceftazidime-copper(II) complex: synthesis, characterization, biological activity and analytical application to pharmaceutical dosage forms. *Curr Anal Chem* 6: 299-309.
130. Biryol I, Yilmaz N (1998). Anodic voltammetry of ceftriaxone. *Acta Pol Pharm* 55: 3-7.
131. Deepa MB, Mamatha GP, Sherigara BS, Arthobanaik Y (2012). Electrochemical studies of ceftriaxone on Eriochrome Black-T polymer film modified glassy carbon electrode. *Int J Res Chem Environ* 2: 153-159.

132. Majidi MR, Asadpour-Zeynali K, Hafezi B (2011). Electrocatalytic oxidation and determination of ceftriaxone sodium antibiotic in pharmaceutical samples on a copper hexacyanoferrate nanostructure. *Anal Methods* 3: 646-652.
133. Kul D (2014). Sensitive and selective determination of tolterodine tartrate and its electrochemical investigation on solid carbon based electrodes. *J Anal Chem* 69: 970–981.
134. Lue SF, Fei JJ (2003). Electrochemical behavior of cefotaxime at a multi-wall carbon nanotube-modified glassy carbon electrode and its analysis application. *Wuhan Daxue Xuebao, Lixueban* 49: 157-161.
135. Shahrokhian S, Rastgar S (2012). Construction of an electrochemical sensor based on the electrodeposition of Au-Pt nanoparticles mixtures on multi-walled carbon nanotubes film for voltammetric determination of cefotaxime. *Analyst* 137: 2706-2715.
136. Kim MK, Hahn Y (2006). Electrochemical behaviors and square wave voltammetric determinations of cefotaxime sodium and ceftriaxone sodium. *Yakhak Hoechi* 50: 40-46.
137. Ogorevc B, Krasna A, Hudnik V, Gomiscek S (1991). Adsorptive stripping voltammetry of selected cephalosporin antibiotics and their direct determination in urine. *Microchim Acta* 1: 131-144.
138. Yang G, Zhao F, Zeng B (2014). Electrochemical determination of cefotaxime based on a three-dimensional molecularly imprinted film sensor. *Biosens Bioelectron* 53: 447-452.
139. Nigam P, Mohan S, Kundu S, Prakash R (2009). Trace analysis of cefotaxime at carbon paste electrode modified with novel Schiff base Zn(II) complex. *Talanta* 77: 1426-1431.
140. Nikolic K, Aleksic MM, Kapetanovic V, Agbaba D (2015). Voltammetric and theoretical studies of the electrochemical behavior of cephalosporins at a mercury electrode. *J Serbian Chem Soc* 80: 1035-1049.
141. Ferreira VS, Zaroni M, Valnice B, Fogg AG (1999). Cathodic stripping voltammetric determination of ceftazidime with reactive accumulation at a poly-L-lysine modified hanging mercury drop electrode. *Anal Chim Acta* 384: 159-166.

142. Ferreira VS, Zandoni M, Valnice B, Furlan M, Fogg AG (1997). Differential pulse polarographic determination of ceftazidime in urine samples with and without prior extraction. *Anal Chim Acta* 351: 105-114.
143. Ferreira VS, Zandoni M, Valnice B, Fogg AG (1997). Cathodic stripping voltammetric determination of ceftazidime in urine at a hanging mercury drop electrode. *Microchem J* 57:115-122.
144. Shahla F (2014). A novel and low cost electrochemical sensor for ceftazidime and cefazoline as antibiotic drugs based on Nickel/SDS-poly(o-aminophenol) modified electrode. *Russ J Electrochem* 50: 468-475.
145. Altinoz S, Ozer D, Temizer A, Yuksel N (1994). Determination of ceftriaxone in aqueous humor and serum samples by differential-pulse adsorptive stripping voltammetry. *Analyst (Cambridge, United Kingdom)* 119: 1575-1577.
146. El Maali NA, Ali AM, Khodari M, Ghandour MA (1991). Cathodic stripping voltammetric determination of the cephalosporin antibiotic ceftriaxone at the mercury electrode in aqueous and biological media. *Bioelectrochem Bioenerg* 26: 485-492.
147. Altinoz S, Temizer A (1990). Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of ceftriaxone at a static mercury dropping electrode. *J Pharm Sci* 79: 351-353.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : Kaynar, Büşra
Uyruğu :
Doğum tarihi ve yeri :
Medeni hali :
E-Posta : busraka@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı	2014
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	2012
Lise	Bahçelievler Anadolu Lisesi	2007

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
Öğretim Görevlisi	Avrasya Üniversitesi	2016-2018

YABANCI DİL

İngilizce, Almanca