TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİVİRAL İLAÇ ETKEN MADDESİ TENOFOVİR'İN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI İÇİN NANOSENSÖR TASARIMI

Göksu ÖZÇELİKAY

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

ANKARA
2016

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİVİRAL İLAÇ ETKEN MADDESİ TENEFOVİR'İN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI İÇİN NANOSENSÖR TASARIMI

Göksu ÖZÇELİKAY

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

ANKARA
2016

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum ''Antiviral İlaç Etken Maddesi Tenofovir' in Elektrokimyasal Davranışı İçin Nanosensör Tasarımı'' başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikri tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Göksu Özgezikay

Tarih: 05.08.2016

İmza:

ANKARA Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda Göksu ÖZÇELİKAY tarafından hazırlanan ''Antiviral İlaç Etken Maddesi Tenofovir'in Elektrokimyasal Davranışı için Nanosensör Tasarımı'' adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05.08.2016

Prof.Dr. Nilgün G. GÖĞER

Gazi Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

Ankara Üniversitesi

ÜYE

Prof. Dr. Bengi USLU

Ankara Üniversitesi

ÜYE

Tez hakkında alınan jüri kararı Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	ix
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xiv
Çizelgeler	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. AIDS Hastalığı	3
1.2. AIDS Tedavisinde Kullanılan Antiretroviral İlaçlar	4
1.2.1. Nükleozid Revers Transkriptaz İnhibitörleri	5
1.2.2. Nükleotid Revers Transkriptaz İnhibitörleri	5
1.2.3. Non-Nükleozid Revers Transkriptaz Enzim İnhibitörleri	5
1.2.4. Proteaz İnhibitörleri	5
1.2.5. Füzyon İnhibitörleri	6
1.2.6. Ko-reseptör İnhibitörleri	6
1.2.7. İntegraz İnhibitörleri	6
1.3. Tenofovir Disoproksil Fumarat	6
1.3.1. Farmakokinetik Özellikleri	7
1.3.1.1. Emilim	7
1.3.1.2. Dağılım	7
1.3.1.3. Eliminasyon	8
1.3.1.4. Metabolizma	8
1.3.1.5. Yan Etkileri	8
1.4. Tez Maddesi ile Yapılmış Literatür Çalışmaları	8
1.4.1. Ayırma Teknikleri ile Yapılmış Tenofovir Çalışmaları	8
1.4.2. Elektrokimyasal Yöntem ile Yapılmış Tenofovir Çalışması	10
1.4.3. Spektrofotometrik Yöntemler ile Yapılmış Tenofovir Çalışmaları	10

2. GEREÇ VE YÖNTEM 12
2.1. Elektrokimya 12
2.1.1. Elektrokimyasal Hücreler 13
2.1.2. Elektrokimya'da Kütle Aktarımı 14
2.1.3. Voltametri ve Polarografi 17
2.1.3.1. Polarografi Yöntemi 18
2.1.3.2. Voltametri Yöntemi 20
2.1.3.3.Elektrokimyasal hücrede kullanılan elektrotlar 21
2.1.3.3.1. Referans Elektrot 21
2.1.3.3.2. Yardımcı Elektrot 22
2.1.3.3.3. Çalışma Elektrodu 22
2.1.3.3.3.1. Katı Elektrotlar 22
2.1.3.3.3.2. Karbon Elektrotlar 24
2.1.3.3.3.3. Modifiye Elektrotlar 29
2.1.3.3.3.4. Mikroelektrotlar 30
2.1.4.Voltametride Kullanılan Elektrotlara Yapılan Ön İşlemler 30
2.1.5. Voltametride Kullanılan Uyarma Sinyalleri 31
2.1.5.1. Dönüşümlü Voltametri 32
2.1.5.2. Diferansiyel Puls Polarografisi ve Voltametrisi 33
2.1.5.3.Kare Dalga Polarografisi ve Voltametrisi 34
2.1.6. Sıyırma Voltametrisi 36
2.1.6.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi 37
2.1.6.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi 38
2.1.6.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi 39
2.1.6.4.Potansiyometrik sıyırma Voltametrisi 40
2.2. Nanoteknoloji 40
2.2.1. Nanomateryallerin Özellikleri 41
2.2.2.Nanomateryallerin Sınıflandırılması 41
2.2.3. Nanoparçacıkların üstünlükleri ve sakıncaları 43
2.3. Elektrokimyasal Alanda Nanoparçacıkların Etkisi 43
2.3.1. Elektrokimyasal Reaksiyon Katalizi 43
2.3.2. Elektron Transferini Destekleme 43
2.3.3. Reaktant olarak Davranma 43

2.3.4. Biyomoleküllerin İmbolizasyonu 44
2.3.5. Biyomolekülleri Etiketleme 44
2.4. Elektrokimyasal Sensörler 45
2.5. Elektrokimyasal sensörlerde yaygın olarak kullanılan nanomateryaller 46
2.5.1. Nanoparçacıklar 46
2.5.2. Karbon bazlı nanotüpler 48
2.5.3. Nanotabaka 50
2.6. Nanosensör 50
2.6.1. Nanosensör Çeşitleri 50
2.6.1.1.Yapısına göre Nanosensörler 50
2.6.1.1.1.Optik nanosensörler 50
2.6.1.1.2.Elektrokimyasal nanosensörler 51
2.6.1.2.Uygulamalarına Göre Nanosensörler 51
2.6.1.2.1.Kimyasal nanosensörler 51
2.6.1.2.2.Taşınabilir (Deployable) nanosensörler 51
2.6.1.2.3.Elektrometre 51
2.6.1.2.4.Biyosensörler 51
2.7.Elektrokimyasal Yöntemlerde Validasyon 52
2.7.1. Seçicilik 53
2.7.2. Doğrusallık 53
2.7.3. Aralık 54
2.7.4.Teşhis Sınırı 54
2.7.5. Tayin Alt Sınırı 54
2.7.6. Kesinlik 55
2.7.7. Doğruluk 56
2.7.8. Sağlamlık 57
2.7.9. Tutarlılık 57
2.7.10. Çözelti Stabilitesi 58
2.7.11. Duyarlılık 59
2.8. Sürfaktanların Elektrokimyasal Alanda Kullanımı 59
2.9. NaCl çözeltisinin Nanoparçacıkların Stabilitesine Etkisi 60
2.10. Kullanılan Araç ve Gereçler 61
2.11. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler 62

2.12. Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 63
2.12.1. Destek Elektrolitlerinin Hazırlanması 63
2.12.2. Standart Maddenin Stok Çözeltisi 63
2.12.3. Tablet Çözeltisinin Hazırlanması 64
2.12.4. Geri Kazanım Çalışmaları için Çözeltilerin Hazırlanması 64
2.12.5. Karbon Nanotüp (TDKNT- ÇDKNT) Süspansiyonlarının Hazırlanması 64
2.12.6. İndirgenmiş Grafen Oksit Süspansiyonunun Hazırlanması 64
2.12.7. Kitosan/Karbon Nanotüp Süspansiyonunun Hazırlanması 65
2.12.8. Nanoparçacık/ Karbon Nanotüp Süspansiyonunun Hazırlanması 65
2.12.9. Layer-by-Layer Yötemi 65
2.12.10. Gümüş Nanoparçacıkların Farklı Ortamlar ile Çözeltisinin Hazırlanması 65

3. BULGULAR 66
3.1. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Voltametrik Teknikler ile İncelenmesi 66
3.1.1. Camsı Karbon Elektrot ile Tenofovir'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle İncelenmesi 66
3.1.2. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Diferansiyel Puls Voltametrisi ile İncelenmesi 81
3.1.3. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi 86
3.2. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir için Yapılan Analiz Çalışmaları 91
3.3. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir için Geliştirilen Yöntemlerin Tablet Formülasyonlarına Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları 96
3.4. Camsı Karbon Elektrot ile Yapılan Model İlaç Çalışmaları 97
3.4.1. Camsı Karbon Elektrotla Adenin'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi 98
3.4.2. Camsı Karbon Elektrotla Adenin'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi 102
3.4.3. Camsı Karbon Elektrotla Adefovir'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi 104
3.4.4. Camsı Karbon Elektrotla Adefovir'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi 107
3.5. Camsı Karbon Elektrot Kullanılarak Geliştirilen Yöntem ile Yapılan Girişim Çalışmaları 109

3.6. Modifiye edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Voltametrik Çalışmaları 110

3.6.1. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi 118

3.6.2. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Diferansiyel Puls Voltametrisi ile İncelenmesi 119

3.6.3. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi 123

3.7. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot ile Yapılan Tenofovir Analiz Çalışmaları 130

3.8. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot ile Geliştirilen Yöntemin Tenofovir için Tablet Formülasyonlarına Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları 134

4. TARTIŞMA 135

5. SONUÇ ve ÖNERİLER 141

ÖZET 142

SUMMARY 143

KAYNAKLAR 144

ÖZGEÇMİŞ 151

ÖNSÖZ

Tenofovir antiviral bir ilaç olup, İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) ve hepatit B (HBV) virüslerine karşı kullanılmaktadır. Tenofovir elektroaktif bir ilaç etken maddesi olup, bu tez kapsamında yükseltgenme yönünde verdiği cevabı incelenmiştir. Tez kapsamında tenofovir etken maddesinin tayini için analitik açıdan belirlenen ortamda geliştirilen yöntemin parametreleri optimize edilmiş, etken maddenin kalibrasyon doğrusu oluşturulmuş ve validasyon parametreleri incelenmiştir.

Uygun elektrokimyasal yöntem ve ortam belirlendikten sonra geliştirilen yöntemle tenofovir'in farmasötik dozaj formunda analizi yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca çalışmalarımın bilimsellik dahilinde yürümesini sağlayan ve her konuda bana destek ve cesaret veren danışman hocam sayın Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim süresince engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Bengi USLU'ya çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen, her konuda bana hoşgörü ve sabırla yardımcı olan kıymetli hocam Doç.Dr. Burcu DOĞAN-TOPAL'a çok teşekkür ederim.

Anabilim dalımız öğretim üyelerine yardımları ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim. Yüksek Lisans öğrenimim boyunca değerli katkılar sağlayan ve bu süre zarfında bana sıcak bir aile ortamı sağlayan bölümümüzün araştırma görevlilerinden Dr. Burçin BOZAL-PALABIYIK, Nurgül KARADAŞ-BAKIRHAN, Sevinç TUNÇAĞIL, Dr. Mehmet GÜMÜŞTAŞ'a teşekkür ederim.

Ve desteklerini her zaman hissettiğim, her anımda yanımda olan bana hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen biricik aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa (transfer katsayısı)
A	Amper
AdSDPV	Adsorpsif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi
AdSKDV	Adsorpsif sıyırma kare dalga voltametrisi
AgNp	Gümüş Nanoparçacık
AIDS	Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
ALT	Alaninaminotransferaz enzimi
ASV	Anodik sıyırma voltametrisi
AuNp	Altın Nanoparçacık
BAK	Bütilamonyumklorür
BKKE	Bor ile katkılandırılmış elmas elektrot
BH	Bağıl hata
BR	Britton-Robinson
BSS	Bağıl standart sapma
C	Coulomb
CD 4	Başkalaşım Kümesi 4
ÇDKNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
CKE	Camsı karbon elektrot
cm	Santimetre
C_o	O parçacığının derişimi
DAD	Diod-array dedektör
DCE	Damlayan Civa Elektrodu
dk	dakika
DKE	Doymuş Kalomel Elektrot
DMF	Dimetilformamid
DNA	Deoksiribonükleik asit
Do	Difüzyon Katsayısı
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
DV	Dönüşümlü voltametri
E^0	Standart potansiyel

$E_{1/2}$	Yarı dalga potansiyeli
Eb	Bozunma Potansiyeli
E_p	Pik potansiyeli
F	Faraday sabiti
*f*ÇDKNT	COOH ile fonksiyonlandırılmış çok duvarlı karbon nanotüp
f_d	Kimyasal kuvvet
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Fİ	Füzyon İnhibitörleri
f_k	Mekanik kuvvet
f_m	Elektriksel kuvvet
g	Gram
HBV	Hepatit B
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
iv	İntravenöz
ICH	Uluslararası Harmonizasyon Konferansı
I_d	Difüzyon akımı
I_f	Faradayik akım
İNİ	İntegraz İnhibitörleri
i_p	Pik akımı
iR	Ohmik direnç
$J_O(x,t)$	O parçacığının akısı
k^0	Hız sabiti
KDV	Kare dalga voltametrisi
KNT	Karbon nanotüp
KPE	Karbon pasta elektrot
KRI	Ko-reseptör İnhibitörleri
KS	Kütle spektroskopisi
L	Litre
m	Eğim
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre

mm	Milimetre
mM	Milimolar
ms	Milisaniye
mV	Milivolt
n	Elektron sayısı/Veri sayısı
nm	Nanometre
NNRTI	Non-Nükleozid Revers Transkriptaz Enzim İnhibitörleri
NRTI	Nükleozid Revers Transkriptaz İnhibitörleri
NtRTI	Nükleotid Revers Transkriptaz İnhibitörleri
Pİ	Proteaz İnhibitörleri
PSV	Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi
QD	Kuantum Noktası
R	Gaz Sabiti
r	Korelasyon katsayısı
s	Saniye
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SHE	Standart hidrojen elektrot
SK	Sıvı Kromatografisi
SPKE	Perde Baskılı Karbon Elektrotlar
ss	Standart Sapma
STAB	Setil trimetil amonyum bromür
t	Zaman
T	Kelvin cinsinden sıcaklık
$t_{1/2}$	Yarı ömür
TAS	Tayin alt sınırı
TDF	Tenofovir Disoproksil Fumarat
TDKNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
TS	Teşhis Sınırı
t_{sq}	Dalga döngüsünün süresi
USP	United States Pharmacopeia (Birleşik Devletler Farmakopesi)
UV	Ultraviyole
v	Tarama hızı
V	Volt

WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ΔE_{sq}	Gerilim şiddetindeki değişim
µA	Mikroamper
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
µs	Mikrosaniye
τ	puls periyodu

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	HIV'ın yapısı	4
Şekil 1.2.	TDF'nin molekül yapısı	7
Şekil 2.1.	Elektrokimyasal hücre şeması	13
Şekil 2.2	Damlayan Civa Elektrodu ile elde edilen voltamogram	19
Şekil 2.3.	Camsı karbon elektrodun yapısı	25
Şekil 2.4.	Karbon pasta elektrodun şematik gösterimi	26
Şekil 2.5.	Bor ile katkılandırılmış elmas elektrodun yapısı	27
Şekil 2.6.	Kalem grafit elektrodun şematik gösterimi	28
Şekil 2.7.	Perde baskılı elektrodun şematik gösterimi	29
Şekil 2.8.	Voltametride kullanılan uyarma sinyalleri	31
Şekil 2.9.	Tipik bir dönüşümlü voltamogram	33
Şekil 2.10.	Diferansiyel puls polarografisinde uyarma sinyali	33
Şekil 2.11.	Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali	35
Şekil 2.12.	Sıyırma yöntemi ile uyarma sinyali	38
Şekil 2.13.	Duvar sayılarına göre, Tek duvarlı karbon nanotüp (SWNT) ve çok duvarlı karbon nanotüp (MWNT) olarak sınıflandırılması	49
Şekil 2.14.	Karbon Nanotüplerin şekillerine göre sınıflandırılması	49
Şekil 3.1.	TDF'nin kimyasal yapısı	66
Şekil 3.2.	4×10^{-5} M tenofovir'in 0,1 M H_2SO_4 ortamında incelenen dönüşümlü voltamogramı	67
Şekil 3.3.	4×10^{-5}M tenofovir'in pH 2,0 (a), 3,0 (b), 4,0 (c), 5,0 (d), 6,0 (e), 7,0 (f), 8,0(g), 9,0(h) BR tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları	68
Şekil 3.4.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 3,7 (a), 4,7 (b), 5,7 (c) asetat tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları	69
Şekil 3.5.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 6,0 (a), 6,5 (b), 7,0 (c) fosfat tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları	70
Şekil 3.6.	4×10^{-5} M tenofovir'in dönüşümlü voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli(A) ve pik akımı(B) üzerine etkisini gösteren eğriler	71
Şekil 3.7.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında 5–1000 mV s^{-1} aralığında yapılan tarama hızı-pik akımı (A), hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler	73-74

Şekil 3.8.	4×10^{-5} M tenofovir'in 4,0 BR tamponunda 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının tarama hızı- pik akımı (A), tarama hızının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C), tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler	76-77
Şekil 3.9.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponunda 5–1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B), tarama hızının logaritması- pik potansiyeli (C) ve tarama hızı- pik akımı (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler	79-80
Şekil 3.10.	4×10^{-5} M tenofovir'in 0,03 M(a), 0,1 M(b), 0,3 M(c) H_2SO_4 aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları	81
Şekil 3.11.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 2,0 (a), 3,0 (b), 4,0 (c), 5,0 (d), 6,0 (e), 7,0 (f), 8,0(g), 9,0(h), 10,0(ı), 11,0(j) BR tamponu aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları	82
Şekil 3.12.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 3,7 (a), 4,7 (b), 5,7 (c) asetat tamponu aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları	83
Şekil 3.13.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 6,02 (a), 6,5 (b), 7,0 (c), 7,5 (d) fosfat tamponlarında incelenen diferansiyel puls voltamogramları	84
Şekil 3.14.	4×10^{-5} M tenofovir'in diferansiyel puls voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B) üzerine etkisini gösteren eğriler	85
Şekil 3.15.	4×10^{-5} M tenofovir'in 0,3 M (a), 0,1 M (b), 0,03 M (c) H_2SO_4 pH aralığında incelenen kare dalga voltamogramları	86
Şekil 3.16.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 2,0 (a), 3,0 (b), 4,0 (c), 5,0 (d), 6,0 (e), 7,0 (f), 8,0 (g), 9,0 (h) BR tamponlarında incelenen kare dalga voltamogramları	87
Şekil 3.17.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 3,7 (a), 4,7 (b), 5,7 (c) asetat tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramları	88
Şekil 3.18.	4×10^{-5} M tenofovir'in pH 6,0 (a), 6,5 (b), 7,0 (c), 7,5 (d) fosfat tamponu aralığında incelenen kare dalga voltamogramları	89
Şekil 3.19.	4×10^{-5} M tenofovir'in kare dalga voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B) üzerine etkisini gösteren eğriler	90
Şekil 3.20.	4×10^{-6} M tenofovir'in AdSDPV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri.	91
Şekil 3.21.	4×10^{-6} M tenofovir'in KDV ile elde edilen basamak potansiyeline karşı akım (A); puls yüksekliğine karşı akım (B); frekansa karşı akım (C) grafikleri	92

Şekil 3.22.	4×10^{-6} M tenofovir'in AdSKDV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri	93
Şekil 3.23.	pH 4,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir'in bazı derişimlerindeki AdSDPV (A) ve AdSKDV (B) ile elde edilen voltamogramları	94
Şekil 3.24.	Tenofovir'in $6x10^{-7}$-$6x10^{-5}$M derişim aralığında pH 4,7 asetat tamponu içerisinde AdSDPV (A) ve AdSKDV (B) teknikleri ile elde edilen kalibrasyon grafikleri	95
Şekil 3.25.	Adenin (A) ve Adefovir (B) etken maddelerinin kimyasal yapıları	98
Şekil 3.26.	pH 4,7 asetat tampon içerisinde $4x10^{-5}$M Adenin(1), $4x10^{-5}$M Tenofovir (2), $4x10^{-5}$M Adefovir(3)'e ait diferansiyel puls voltamogramları	98
Şekil 3.27.	4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR (a), 4,7 asetat (b), 7,0 BR (c) tamponlarında incelenen dönüşümlü voltamogramı	99
Şekil 3.28.	4×10^{-5} M adenin'in dönüşümlü voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler.	100
Şekil 3.29.	4×10^{-5} M Adenin'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli(C) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.	101
Şekil 3.30.	4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR tamponu (a), 4,7 asetat tamponu (b), 7,0 BR (c) tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramı	102
Şekil 3.31.	4×10^{-5} M Adenin'in kare dalga voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler	103
Şekil 3.32.	4×10^{-5} M Adefovir'in pH 2,0 BR (a), 4,7 asetat (b) ve 7,0 BR(c) tampon içerisinde incelenen dönüşüm voltamogramları	104
Şekil 3.33.	4×10^{-5} M adefovir'in dönüşümlü voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler	105
Şekil 3.34.	4×10^{-5}M Adefovir'in pH 4,7 asetat ortamında 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli(C) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler	106
Şekil 3.35.	4×10^{-5} M Adefovir'in pH 2,0 BR (a), 4,7 asetat (b) ve 7,0 BR (c) tampon içerisinde incelenen kare dalga voltamogramları	107

Şekil 3.36.	4×10^{-5} M adefovir'in kare dalga voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler	110
Şekil 3.37.	pH 4,7 asetat ortamında $4x10^{-6}$M tenofovir'in *f*ÇDKNT(1), AgNP(2), *f*TDKNT(3), rGO(4), β-CD(5) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların AdSKDV yöntemiyle elde edilen voltamogramları	112
Şekil 3.38.	pH 4,7 asetat ortamında $4x10^{-6}$M tenofovir'in AgNP(1), *f* ÇDKNT (2), AgNP/ *f* ÇDKNT (3) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların AdSKDV yöntemiyle elde edilen voltamogramları	112
Şekil 3.39.	$4x10^{-6}$M tenofovir'in pH 4,7 asetat ortamında AdSDPV(a) ve AdSKDV(b) yöntemleri ile elde edilen AgNP: *f*ÇDKNT karışımı elektrot yüzeyine farklı damlatma miktarına karşılık akım değerlerini gösteren grafik	113
Şekil 3.40.	$4x10^{-6}$M tenofovir'in pH 4,7 asetat ortamında AdSKDV yöntemi ile elde edilen AgNP elektrot yüzeyine farklı damlatma miktarına karşılık akım değerlerini gösteren voltamogramları	113
Şekil 3.41.	*f*ÇDKNT /AgNP(1), AgNP/*f*ÇDKNT(2) , *f*ÇDKNT /AgNP(3) modifikasyonları ile hazırlanan elektrot ile $4x10^{-6}$M Tenofovir'in pH 4,7 asetat ortamında elde edilen voltammogramları	114
Şekil 3.42.	AuNP (1), AuNP:*f*ÇDKNT (2) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların $4x10^{-6}$M tenofovir'in pH 4,7 asetat ortamında AdSKDV yöntemiyle elde edilen voltamogramları	115
Şekil 3.43.	pH 4,7 asetat ortamında $4x10^{-6}$M tenofovir'in *r*GO(1), *f* TDKNT (2), AgNP: *f*ÇDKNT karışımı (3), CKE(4), *f* ÇDKNT(5), AgNP(6) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların AdSDPV yöntemiyle elde edilen voltamogramları	115
Şekil 3.44.	AgNP:$1x10^{-2}$M BAC(1), AgNP:su(2), AgNP:%10 PEG400(3), AgNP:$1x10^{-4}$M BAC(4), AgNP:$1x10^{-6}$M BAC(5) ile modifiye edilmiş GCE kullanılarak elde edilen Tenofovir sinyaline ilişkin voltamogramları	117
Şekil 3.45.	4×10^{-6} M tenofovir'in pH 5,0(a), 6,0(b) BR tamponu aralığında incelenen dönüşümlü voltamogramları	118
Şekil 3.46.	4×10^{-6} M tenofovir'in 4,7 (a); 5,7(b) asetat tamponlarında incelenen dönüşümlü voltamogramları	119
Şekil 3.47.	4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,0 (a), 4,0 (b), 5,0 (c), 6,0 (d), 7,0 (e) BR tamponu aralığında incelenen AdSDP voltamogramları	120
Şekil 3.48.	4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,7(a), 4,7(b), 5,7(c), asetat tamponu aralığında incelenen AdSDP voltamogramı	121
Şekil 3.49.	4×10^{-6} M tenofovir'in diferansiyel puls voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B)	122

üzerine etkisini gösteren eğriler

Şekil 3.50. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,0(a), 4,0(b), 5,0(c), 6,0 (d), 7,0 (e), 8,0 (f) 9,0(g) BR tamponu aralığında incelenen AdSKD voltamogramı 123

Şekil 3.51. 4×10^{-6} M tenofovir'in 3,7(a), 4,7(b), 5,7(c) asetat tamponu aralığında incelenen AdSKD Voltamogramı 124

Şekil 3.52. 4×10^{-6} M tenofovir'in 6,0 fosfat tamponunda incelenen AdSKD voltamogramı 125

Şekil 3.53. 4×10^{-6} M tenofovir'in AdSKD voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli(A) ve pik akımı(B) üzerine etkisini gösteren eğriler 126

Şekil 3.54. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında 5 – 1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının tarama hızı-pik akımı (A), tarama hızının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C), tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler 128-129

Şekil 3.55. 1×10^{-6} M tenofovir'in AdSDPV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) (60 s) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri 130

Şekil 3.56. 1×10^{-6} M tenofovir'in AdSKDV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri 131

Şekil 3.57. pH 5,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir'in bazı derişimlerindeki AdSKDV ile elde edilen voltamogramları 132

Şekil 3.58. Tenofovir'in sırasıyla $6x10^{-8}$-$1x10^{-6}$M derişim aralığında pH 5,7 asetat tamponu içerisinde AdSKDV ile elde edilen kalibrasyon grafiği 133

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Tenofovir için çeşitli yöntemler ile yapılan çalışmalar	9-10
Çizelge 2.1.	Elektrokimyasal sensörde kullanılan nanoparçacıkların etkisi	44
Çizelge 2.2.	Tez kapsamında kullanılan araç ve gereçler	61
Çizelge 2.3.	Tez kapsamında kullanılan kimyasal maddeler	62
Çizelge 3.1.	BR tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	69
Çizelge 3.2.	Asetat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	70
Çizelge 3.3.	Fosfat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	71
Çizelge 3.4.	H_2SO_4 çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	81
Çizelge 3.5.	BR tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	83
Çizelge 3.6.	Asetat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	84
Çizelge 3.7.	Fosfat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	84
Çizelge 3.8.	H_2SO_4 çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	86
Çizelge 3.9.	BR tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	88
Çizelge 3.10.	Asetat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	89
Çizelge 3.11.	Fosfat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	89

Çizelge 3.12.	Camsı karbon elektrot ile tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri	96
Çizelge 3.13.	pH 4,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir içeren Viread® elde edilen analiz bulgularının sonuçları	97
Çizelge 3.14.	Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M adenin'in farklı pH değerlerinde dönüşümlü voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri	99
Çizelge 3.15.	Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M adenin'in farklı pH değerlerinde kare dalga voltametrisi ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri	102
Çizelge 3.16.	Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M adefovir'in farklı pH değerlerinde dönüşümlü voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri	104
Çizelge 3.17.	Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M adefovir'in farklı pH değerlerinde kare dalga voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri	107
Çizelge 3.18.	Tenofovir etken maddesinin girişim çalışmalarından elde edilen veriler	109
Çizelge 3.19.	$4x10^{-6}$ M Tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde farklı modifikasyonlar ile geliştirilen elektrotlarla AdSKDV (0V, 60s) ve AdSDPV (0V, 60s) teknikleri ile elde edilen sinyallerin karşılaştırılması	111
Çizelge 3.20.	Farklı derişimlerde çeşitli sürfaktanlar'ın $4x10^{-6}$M Tenofovir akımına etkisine ilişkin sonuçlar	116
Çizelge 3.21.	Farklı derişimlerde sürfaktan içeren AgNP ile modifiye edilmiş CKE kullanılarak elde edilen Tenofovir sinyaline ilişkin sonuçlar	117
Çizelge 3.22.	Modifiye edilmiş karbon elektrotla $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde dönüşümlü voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	119
Çizelge 3.23.	BR tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde diferansiyel puls ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	121
Çizelge 3.24.	Asetat tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-5}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde diferansiyel puls ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	122
Çizelge 3.25.	BR tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde kare dalga ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik	124

potansiyeli değerleri

Çizelge 3.26. Asetat tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde kare dalga ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri 125

Çizelge 3.27. Modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri 133

Çizelge 3.28. pH 5,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir içeren Viread® elde edilen analiz bulgularının sonuçları 134

1. GİRİŞ

A. Volta'nın ilk defa 1793 yılında kimya ve elektrik üzerinde yaptığı çalışmalar ile başlayan elektrokimya günümüze kadar sürekli gelişme göstermiştir. A. Volta'nın yaptığı ilk deneylerde suyun elektrolizi için basit bir pil kullanmıştır ve sudaki oksijen ve hidrojen atomlarının elektrik yükleri ile ilişkisi ve atomlar arası bağların temelini oluşturmuştur (Zoski, 2007).

Elektrik enerjisinin kimyasal dönüşümdeki rolünü inceleyen M. Faraday, 1832 yılında bulduğu kanun ile elektroliz ürününün miktarı ile çözeltiden geçen elektrik yükü arasındaki bağlantıyı inceleyerek, elektrokimyanın temelini oluşturmuştur.

Nobel ödülüne sahip Jaroslav Heyrovsky 1922 yılında ortaya koyduğu polarografi yöntemi sayesinde elektroanalitik kimyada büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Böylece elektroaktif özelliğe sahip maddelerin davranışları ve onların bu özellikleri nedeniyle kalitatif ve kantitatif analizler yapılmıştır (Wang ve ark., 2006).

Elektrokimya günümüzde piller, yakıt hücreleri, korozyon, elektroliz ve sensör geliştirme gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Nişli ve ark., 2013). Günümüzde elektrokimyasal çalışmalarda elektrot yüzeyinin yapısal olarak tanımlanmış olması, yüzeyin atomik boyutta yapısının ve etkinliğinin araştırılmasında önemli rol oynamaktadır.

Nanoteknoloji hayatın her alanında büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda elektrokimyasal çalışmalarda da nanomalzemeler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu malzemeler, elektrokimyasal sistemlerde yüksek duyarlılık ve daha düşük pozitif çalışma potansiyeli sağlamaktadır. Elektrokimyasal sensörler, çeşitli biyolojik bileşiklerin ve ilaç etken maddelerinin daha seçici ve duyarlı kantitatif tayinleri için önemlidir. Bu maddelerin in vitro ortamda elektrokimyasal mekanizmalarının aydınlatılması, geliştirilen ilaçların etkinliğinin arttırılması açısından büyük bir öneme sahiptir.

Bir çok nanoparçacık, yüksek yüzey enerjisi, iletkenlik, boyut, kimyasal aktiflik, biyouyumluluk, geniş yüzey alanı ve kolayca modifiye edilmesinden dolayı elektrokimyasal sensörlerde kullanılır ve nanosensörlerin kullanılması önemli ölçüde duyarlılığı arttırır (Magnussen, 2006).

İnsan sağlığını tehdit eden enfeksiyon hastalıklarından biri olan AIDS dünyada çok sık görülmektedir. Bu hastalığın tedavisinde kullanılan bir çok yöntem vardır. Bu tez kapsamında da hastalığın tedavisinde kullanılan antiviral ilaç etken maddelerinden Tenofovir Disoproksil Fumarat (TDF)'ın geliştirilen nanosensör ile farmasötik dozaj şeklinden elektrokimyasal olarak analizi amaçlanmıştır.

Duyarlılığın arttırılabilmesi için kullanılan elektrotlar çeşitli nanomalzemeler ile modifiye edilmiş ve çalışılan madde için en iyi sonucu veren nanomalzeme ile modifiye edilmiş elektrot miktar tayini için kullanılmıştır.

Tez kapsamında Giriş bölümünde yapılan çalışmaya ilişkin ön bilgi verilmesinin ardından "Gereç ve Yöntem" kısmı yer almaktadır. Bu kısımda çalışmada kullanılan yöntemler ve malzemeler ile ilgili bilgi verilmiştir. Elektrokimya'nın temeli, elektrokimyasal hücreler, elektroanalitik yöntemler hakkında bilgi verilmesinin ardından elektrokimyanın diğer ayırma tekniklere göre üstünlüklerinden ve dezavantajlarından bahsedilmiştir. Elektrokimyada kullanılan çeşitli elektrotlar hakkında bilgi verilmiştir.

Elektrotların tanım ve sınıflandırılmasının ardından voltametrik teknikler incelenmiştir. Ayrıca dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV), kare dalga voltametrisi (KDV) tanımları yapılmış ve bu teknikler hakkında bilgi verilmiştir. Sıyırma voltametrisi ve adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) tekniklerinden bahsedilmiştir.

Ayrıca elektrokimyasal sensörler konusuna yer verilmiştir. Tez kapsamında geliştirilmesi amaçlanmış daha hassas ve daha duyarlı nanosensörler için kullanılan farklı nanomalzemeler hakkında detaylı bilgi verilmiştir. Nanoteknoloji, nanomalzemelerin sınıflandırılması, nanomalzemelerin özellikleri, nanoparçacıkların çeşitleri, nanoparçacıkların üstünlükleri ve sakıncaları, elektrokimya alanında nanoparçacıkların etkisi hakkında bilgi verilmiştir.

Nanomalzemeler ile modifiye edilmiş elektrotların, modifiye edilmemiş elektrotlara göre üstünlükleri incelenmiştir.

Yüzey aktif maddenin tanımı ve çeşitleri açıklanmıştır. Validasyon (yöntem geçerliliği) kavramı açıklanmış ve herhangi bir geliştirilen analiz yönteminin güvenilirliğinin hangi paramatreler ile değerlendirildiği konusunda ayrıntılı bilgi verilmiştir.

"Gereç ve yöntem" bölümünün ardından tez kapsamında yapılan deneysel veriler "Bulgular" kısmında ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur.

Tenofovir Disoproksil Fumarat ilaç etken maddesinin camsı karbon elektrot ve modifiye edilerek geliştirilmiş elektrot kullanılarak dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV), kare dalga voltametrisi (KDV) ve adsoptif sıyırma voltametrisi (AdSV) teknikleri ile elektrokimyasal davranışları çeşitli tamponlar içerisinde ve farklı pH değerlerinde incelenmiştir. Dönüşümlü voltametri yöntemiyle hız taraması deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda belirlenen yöntem ile ilaç etken maddesinde ve tablet dozaj şeklinde miktar tayini ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. İlaç etken maddesi üzerinde girişim çalışmaları da yapılmıştır.

Tezin son bölümünde ise elde edilen veriler daha önce yapılmış çalışmalar ile karşılaştırılıp, sonuçlar "Tartışma" kısmında değerlendirilmiştir.

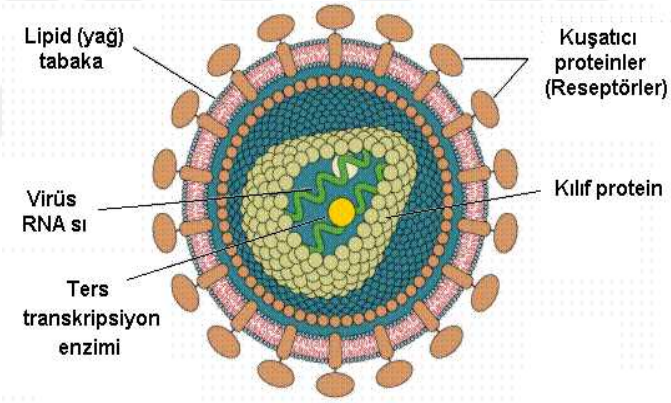
1.1. AIDS Hastalığı

Enfeksiyon hastalıklarından biri olan AIDS dünyada çok sık görülmektedir. AIDS, bağışıklık sisteminin etkisiz hale gelmesi ile oluşur. AIDS'e neden olan HIV, bağışıklık sistemine zarar vermektedir. HIV, bağışıklık sistemine ait CD4 lenfositlerini etkileyerek, CD4 hücrelerini azaltarak bağışıklık sisteminin zayıflamasına neden olur. Böylece bağışıklık sistemin zayıflaması sonucunda AIDS hastalığı görülmektedir (Bozal ve ark., 2011).

AIDS hastalığı temel düzeyde korunma ile önlenebilmesine karşılık her yıl milyonlarca insanın zarar görmesine neden olmaktadır. 2009 yılında yayımlanan Dünya'daki AIDS hastalığı verilerine göre, ortalama 35 milyon HIV taşıyıcısı bulunmaktadır (WHO, 2009).

HIV, retrovirüs ailesine ait bir virüs türüdür. AIDS virüsü 1982 yılında bulunmuş ve 1986 yılında İnsan İmmün yetmezlik Virüsü (HIV) olarak isimlendirilmiştir.

Sferik yapıya sahip HIV, 100-120 nm çapındadır (Şekil 1). Virüslerin temel yapısında nükleik asit ve lipid membrana sahip nükleokapsid olarak adlandırılan protein kılıfı bulunmaktadır. Ters transkriptaz enzimi aracılığı ile genetik materyellerini çift sarmallı DNA'ya çevirip konakçı kromozomuna bağlanırlar (Sulukan ve ark., 2009).



Şekil 1.1. HIV'ın yapısı (http://www.baharkilic.org/post/2011/03/08/HIV-virusu-ve-evrim.aspx, Erişim tarihi 08.06.2016)

1.2. AIDS Tedavisinde Kullanılan Antiretroviral İlaçlar

HIV, kan yoluyla, organ nakilleri ve cinsel ilişki aracılığıyla çok kısa sürede bulaşır.

HIV ile yapılan çalışmalar sonucunda antiretroviral ilaçların etkili olduğu belirlenmiştir. Bu hastaların ilaçları viral çoğalmayı yavaşlattığı için yaşam boyunca kullanmaları gerekmektedir. Bu ilaçların kullanım amacı, immünolojik fonksiyonları korumak, iyileştirmek, HIV'e bağlı mortaliteyi azaltmaktır.

HIV'ın çoğalmasını engelleyen antiretroviral ilaçlar 7 gruba ayrılır;

1.2.1. Nükleozid Revers Transkriptaz İnhibitörleri (NRTI)

Bu ilaçlar, HIV'de bulunan revers transkriptaz enziminin katalitik bölgesi ile bağlantı kurmaktadır ve 2′,3′- dideoksinükleozid (ddN) analoglarına sahiptir. NRTI'lerin etki mekanizmaları birbirine benzerdir. Zidovudin (AZT), didanozin (ddl), zalsitabin (ddC), stavudin (d4T), lamivudin (3TC), abakavir (ABC) ve emtrisitabin ((-) FTC) bu grupta yer alan ilaçlara örnektir (Bozal ve ark., 2011).

1.2.2. Nükleotid Revers Transkriptaz İnhibitörleri (NtRTI)

Nükleotid analog olan NtRTI'ler, NRTI grubunda yer alan ilaçların işleyiş mekanizmaları ile benzerlik göstermektedir. Bu gruptaki ilaçlar da, HIV virüsündeki revers transkriptaz enziminin katalitik bölgesi ile etkileşen ilaçlardır. Tez maddesi olan tenofovir disoproksil fumarat (TDF), bu grupta yer almaktadır. TDF, 2008'den itibaren kronik hepatit B enfeksiyonlarının tedavisi için sıklıkla kullanılan bir ilaçtır. (Bozal ve ark., 2011).

1.2.3. Non-Nükleozid Revers Transkriptaz Enzim İnhibitörleri (NNRTI)

Bu grupta yer alan ilaçlar HIV-1'in özel inhibitörleridir. Bu ilaçlar HIV-1 revers transkriptazın allosterik bölgesi ile etkileşime girmektedir. Bu grupta nevirapin, delavirdin, efavirenz, etravirin ve rilpivirin gibi ilaçlar bulunmaktadır. (Bozal ve ark., 2011).

1.2.4. Proteaz İnhibitörleri (Pİ)

Bu grupta bulunan ilaçlar HIV proteazın işlevini bloke etmektedir. HIV enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan proteaz inhibitöleri arasında sakuinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, atazanavir, fosamprenavir, tipranavir ve darunavir ilaçları yer almaktadır. (Bozal ve ark., 2011).

1.2.5. Füzyon İnhibitörleri (Fİ)

Yapılan çalışmalar sonucunda HIV'in hedef hücreye füzyonunu bloke etmek için enfuvirtit kullanılmaya başlanmıştır. (Bozal ve ark., 2011).

1.2.6. Ko-reseptör İnhibitörleri (KRI)

Ko-reseptör inhibitörleri, hedef hücrelere girmek için HIV virüslerince kullanılan ko-reseptörler CCR5 veya CXCR4 ile etkileşirler. Bu etkileşim dış hücre membran füzyonunun engellenmesini sağlar. CCR5 antagonisti olan Maravirok bu inhibitörlere örnektir. (Bozal ve ark., 2011).

1.2.7. İntegraz İnhibitörleri (İNİ):

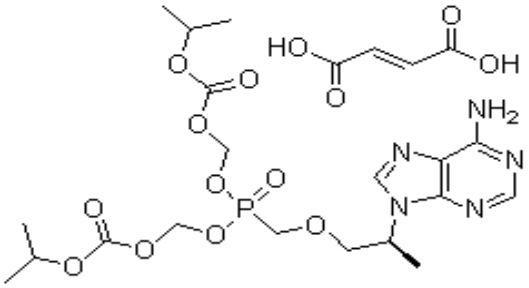
Bu grupta yer alan raltefravir 2007 yılında ilk integraz inhibitörü olarak kabul edilmiş ve HIV'in iplik transfer reaksiyonunu hedeflemiştir. Elvitegravir ile benzer etkiye sahiptir. (Bozal ve ark., 2011).

1.3. Tenofovir Disoproksil Fumarat (TDF)

TDF ilk defa 1976 yılında Antonin Holy tarafından bulunmuştur. Bu ilacın enfeksiyon tedavisinde kullanımından dolayı 1985 yılında patentini almıştır. 1993 yılında Erik De Clercq ve arkadaşları HIV olan hastalarda TDF'nin tedavisini incelemiştir. Tenofovir disoproksil fumarat 2001 ve 2008 yıllarında kronik HIV ve hepatit B tedavisi için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onay almıştır (Calcagno ve ark., 2016).

Tenofovir disoproksil, tenofovirin ester türevi olan bisizoproksikarboniloksimetil fumarik tuzudur ve moleküler ağırlığı 635,52 g/mol'dür.

Tenofovir disoproksil fumaratın kimyasal adı 9(R)2 [[bis [[(izopropoksikarbonil) oksi] metoksi]fosfonil] metoksi] propil] adenin fumarat (1:1); kimyasal formülü $C_{19}H_{30}N_5O_{10}P•C_4H_4O_4$



Şekil 1.2. TDF'nin molekül yapısı

Tenofovir disoproksil fumarat (TDF) bir antiviral ilaç olup, HIV ve hepatit B (HBV) virüslerine karşı kullanılmaktadır. Tenofovir HIV-1 ters transkriptazına karşı etki gösterir ve virüslerin kendi kendine üretimini sağlayan enzimin bloke edilmesinde kullanılır. TDF, hızla emilerek tenofovire dönüştürülür ve yaklaşık iki saat sonra kandaki maksimum seviyeye ulaşır. TDF'ın yarı ömrü 17 saattir. Monoterapi ve kombine ilaç tedavilerinde yaygın bir biçimde kullanılan bir ilaçtır (Kurt ve ark., 2015).

1.3.1. Farmakokinetik Özellikleri

1.3.1.1. Emilim

HIV ile enfekte hastalarda tenofovir disoproksil fumaratın alımını takiben TDF hızla emilir ve tenofovire dönüştürülür. Aç karnına ya da yemekle birlikte alınan doz ile birlikte TDF derişiminin maksimum değeri iki saatte görülmüştür. Biyoyararlanımı çok yağlı yemeklerle alındığında ortalama %40'dan fazla, düşük yağlı yemeklerle birlikte alındığında ise önemli ölçüde bir etkisi görülmemiş ve aç karnına alınması durumunda hastalarda yaklaşık %25 olarak belirlenmiştir (Droste ve ark., 2005).

1.3.1.2. Dağılım

TDF'in kararlı durum dağılım hacminin i.v uygulama ile ortalama 800 ml/kg olduğu düşünülmektedir. Oral uygulanmasında ise böbrek, karaciğer ve bağırsak gibi birçok dokuya TDF maksimum derişimde dağılmaktadır. TDF'nin hücre içi yarı ömrü yaklaşık 17 saat veya 10-50 saat aralığındadır (Kurt ve ark., 2015).

1.3.1.3. Eliminasyon

TDF eliminasyonununda, toplam klerens 300 mL/dk ve renal klerens 210 mL/dk olduğu düşünüldüğü için etkin tübüler sekresyonuna dikkat edilmesi gereklidir. Tenofovirin %32'si 10-24 saat içerisinde idrar yoluyla vücuttan atılır. TDF'nin dördüncü dozunun ardından 72 saat içinde geri kazanımı %70-80 arasında olmuştur (Droste ve ark., 2005).

1.3.1.4. Metabolizma

TDF adenozin monofosfatın bir asiklik nükleosit fosfonat diester analoğudur. TDF diester bağlarının hidrolizi sonucunda tenofovire dönüşür. Oluşan tenofovir hücresel enzimler tarafından fosforile edilerek tenofovir difosfat oluşturulur. Tenofovir difosfat virüs DNA'sı ile birleştikten sonra DNA zincir terminazasyonu yolu ile HIV-1 trifosfat aktivitesini inhibe eder (Sulukan ve ark., 2011).

1.3.1.5. Yan Etkileri

TDF'nin yan etkileri; baş dönmesi, bulantı-kusma, karında pankreas enflamasyonuna neden olan ağrı, ishal, ALT yüksekliği, uyuşukluk, deri döküntüsü, böbrek sorunları, kas ağrısı gibi durumlar görülmektedir. TDF ciddi yan etkilere de neden olabilir. Laktik asidoz (kanda asit birikmesi) ve bunun artması durumunda pankreatit, karaciğer yetmezliği veya böbrek yetmezliği meydana gelebilir (Calcagno ve ark., 2016).

1.4. Tez Maddesi ile Yapılmış Literatür Çalışmaları

Tenofovir için literatür araştırmaları yapıldığında ayırma teknikleri, spektrofotometrik ve elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalara rastlanmıştır.

1.4.1. Ayırma Teknikleri ile Yapılmış Tenofovir Çalışmaları

Ayırma teknikleri ile yapılan çalışmalar Çizelge 1.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.1. Tenofovir için çeşitli yöntemler ile yapılan çalışmalar

Analit	**Yöntem**	**Sabit Faz**	**Hareketli Faz**	**Doğrusal Aralık** (μg/mL)	**Teşhis-Tayin Sınırı** (μg/mL)	**Uygulama**	**Kaynak**
TDF-Emtricitabine	Ters Faz YPSK-DAD	Zorbax-C8 (4,6x 250 mm)	Na_2HPO_4: C_2H_3N(50:50)	0.3-100	0,114	Tablet	Ashenafi ve ark., 2013
TDF Lamivudine	YPSK-UV	Kromasil C8 (150x 4.6 mm)	Metanol:fosfat tamponu(70:30)	1-6	0,1	Tablet	Rao ve ark., 2015
TDF	YPSK	Hypersil BDS C18	KH_2PO_4 : C_2H_3N(50:50)	25-150	0,418	Tablet	Altaf ve ark., 2015
Abacavir TDF	SK-KS	ZorbaxC18 (2,1μmx150 mmx 1,8μm)	C_2H_3N:su(50:50)	0,12-4,48	0,12	İnsan saçı	Shah ve ark., 2013
TDF	YPSK(SK-KS)	SunFire C18	CF_3CO_2H : C_2H_3N: N: $NH_4CH_3CO_2$	0,019-1,567		Kan	Takahashi ve ark., 2007
TDF Entecavir	YPSK	C18 Hypersil (150x4.6 mm)	Na_2HPO_4:Metanol (85:15)	0,025-1,0	0,0125	Kan, Tablet	Reddy ve ark., 2015
TDF	SK-KS	Waters Symmetry C18	HCOOH: CH_3CN(30:70)	4,9-317,7	2,47	-	Sriveena ve ark., 2014
TDF	YPSK-DAD	150x4.6 mm	MeOH:su(60:40)	0,004-0,4	0,0022	Atık su	Abdelhay ve ark., 2015
TDF	SK-KS	150x4.6 mm	MeOH:su(50:50)	0,391-100	TS 0,391 TAS 0,195	İdrar	Simiele ve ark., 2015
TDF Emtricitabine	Ters Faz-YPSK-DAD	Zorba XSB-C8 kolonu	Na_2HPO_4: CH_3CN (50:50)	0,3-100	TS 0,034 TAS 0,114	Tablet	Abdelhay ve ark., 2015
TDF Emtricitabine Elvitegravir Cobicistat	Ters Faz-YPSK	ODS kolonu (250x 4,6 mm)	KH_2PO_4: CH_3CN (55:45)	3-18	TS 0,13 TAS 0,40	Tablet	Runja C ve ark., 2016
TDF Emtricitabine	Ters Faz-YPSK-PDA	Inertsel C18 (250x 4,6 mm)	%0,1 OPA: MeOH (55:45)	30-90	TS 0,0773 TAS 0,154	Tablet	Dubey ve ark., 2015

TDF Lamivudine Dolutegravir	Ters Faz-YPSK	C18 kolonu (250x 4,6)	Na_2HPO_4: CH_3CN (30:70)	27-162	TS 0,427 TAS 1,296	Tablet	Rao ve ark.,2015
TDF Emtricitabine	Ters Faz-YPSK-UV	Inertsil ODS-C18 kolonu (250x 4,6 mm)	%0,1 TFA: MeOH (39:61)	30-150	TS 0,56 TAS 1,89	Tablet	Purnima ve ark.,2015
TDF Emtricitabine	Ters Faz-YPSK	Phenomene Luna C18 (150x 4,6 mm)	Na_2HPO_4: CH_3CN: MeOH (30:20:50)	3-15	TS 0,19 TAS 0,581	Tablet	Viswanath ve ark.,2013

1.4.2. Elektrokimyasal Yöntem ile Yapılmış Tenofovir Çalışması

Jain ve Sharma (2013), antiviral tenofovir'in pH 2,5-12,0 aralığında damlayan civa elektrotla dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve katodik adsorptif sıyırma voltametrisi ile elektrokimyasal indirgenmesini incelemişlerdir. pH 3,8 Britton-Robinson tamponunda katodik adsorptif sıyırma voltametrisiyle miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir. Kalibrasyon aralığını 0,5-5,0 µg/mL, teşhis sınırı 0,39 µg/mL olarak bulmuşlar. Geliştirdikleri yöntemi tablet dozaj şekli ve serumda uygulamışlardır.

1.4.3. Spektrofotometrik Yöntemler ile Yapılmış Tenofovir Çalışmaları

Atul ve ark. (2009), tenofovir'i UV spektrofotometriyle analiz etmişlerdir. Farmasötik dozaj şeklinden tenofovir'in miktar tayini için basit, hızlı ve oldukça duyarlı bir yöntem geliştirdiklerini belirtmişlerdir. Dalga boyu 260 nm kullanılarak tenofovir'in absorbans değerlerini incelemişlerdir. Absorbans tenofovir konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilince 5,0-40,0 $\mu g.mL^{-1}$ aralığında doğrusallık saptanmıştır. Korelasyon katsayısı 0,999, standart sapma %0,297, tayin limiti 0,510µg/mL, geri kazanım %99,62 – 100,15 arası bulunmuştur.

Srujani ve ark. (2015), tenofovir'i UV spektrofotometriyle analiz etmişlerdir. Dalga boyu 260 nm kullanılarak tenofovir'in absorbans değerlerini incelemişlerdir. Absorbans tenofovir konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilince 5,0-25,0 $\mu g.mL^{-1}$

aralığında doğrusallık saptanmıştır. Korelasyon katsayısı 0,996, teşhis sınırı 2,2 µg/mL, geri kazanım %98,0 – 102,0 arası bulunmuştur.

Himaja ve ark. (2014), tenofovir'i UV spektrofotometriyle analiz etmişlerdir. Dalga boyu 273 nm kullanılarak tenofovir'in absorbans değerlerini incelemişlerdir. Absorbans tenofovir konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilince 4,0-24,0 $\mu g.mL^{-1}$ aralığında doğrusallık saptanmıştır. Korelasyon katsayısı 0,999, teşhis sınırı 0,792 µg/mL, tayin alt sınırı 1,942 µg/mL ve geri kazanım %98,6 – 99,8 arası bulunmuştur.

Abdelhay ve ark. (2013), tenofovir'i UV spektrofotometriyle analiz etmişlerdir. Dalga boyu 251,5 nm kullanılarak tenofovir'in absorbans değerlerini incelemişlerdir. Absorbans tenofovir konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilince 0,5-4,0 $\mu g.mL^{-1}$ aralığında doğrusallık saptanmıştır. Korelasyon katsayısı 0,999, teşhis sınırı 0,010 µg/mL, tayin alt sınırı 0,031 µg/mL ve geri kazanım %99,2 – 101,15 arası bulunmuştur.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Elektrokimya

Elektroanalitik kimyada yaygın olarak uygulanan teknikler (voltametri, potansiyometri, kulometri ve iletkenlik ölçümü); duyarlılık, hızlılık, numune hazırlama kolaylığı, seçicilik, düşük tayin sınırı ve ekonomiklik gibi önemli avantajları nedeniyle, spektroskopi ve kromatografi gibi diğer tekniklere göre son yıllarda daha hızlı gelişmekte ve uygulama alanı bulmaktadır. İlave olarak günümüzde bu teknikler, spektroskopik ve kromatografik tekniklere iyi bir alternatif olup çoğu zaman tercih edilmektedir.

Maddenin elektrik enerjisi ile etkileşmesi sonucu ortaya çıkan kimyasal dönüşümler ile fiziksel değişiklikleri ve kimyasal enerjilerin elektrik enerjisine çevrilmesini inceleyen bilim dalı elektrokimya olarak adlandırılır (Yıldız ve ark., 1997, 285).

Elektrokimyasal yöntemleri sınıflandırmada en akılcı yol, analitik sinyali doğuran olayların gerçekleştiği konumun dikkate alınmasıdır. Böylelikle ana çözeltiye (bulk) ilişkin olaylar ve elektrot-çözelti ara yüzeyindeki gelişen olayları içeren yöntem grupları ortaya çıkmıştır. İletkenlik ölçümünde çözeltinin bütünündeki çözünmüş iyonların tümünün katkısı gözlenirken, akım, potansiyel ve yük değişimlerinin incelendiği tekniklerde ise elektrot-çözelti ara yüzeyindeki olaylar sinyal üzerinde etkindir. Bu yönüyle elektrokimya diğer analitik yöntemlerden daha farklı bir zenginlik taşımaktadır; az miktardaki maddenin analizi, ön saflaşlaştırma işlemine gerek olmaksızın kolay hazırlanabilmesi, fazla çözücü gerektirmemesi, ucuz olması ve hassas bir yöntem olması gibi üstünlüklere sahiptir.

Elektrokimya'nın başlıca odak noktası; farklı iki faz arasında yüklü taneciklerin uğradığı elektron alışverişine dayalı tepkimelerdir. Bu fazlardan biri genellikle metalik yapılı elektrot, diğeri ise elektrolit adını alan iletken nitelikli bir çözeltidir (Nişli ve ark., 2013). Elektrotlarda tepkimeye giren her bir tür, dış devrede belli sayıda elektronun iletilmesine neden olur. Metallerde bulunan değerlik elektronları, bir örgü düzeni içinde bulunan ve belli bir frekans ile titreşen metal iyonları arasında serbestçe hareket ederek yükü taşırlar.

Elektrokimyasal tepkimeler, yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir. Elektrokimyasal işlemler, elektrokimyasal hücrelerde gerçekleştirilir (Kelter ve ark., 2009) .

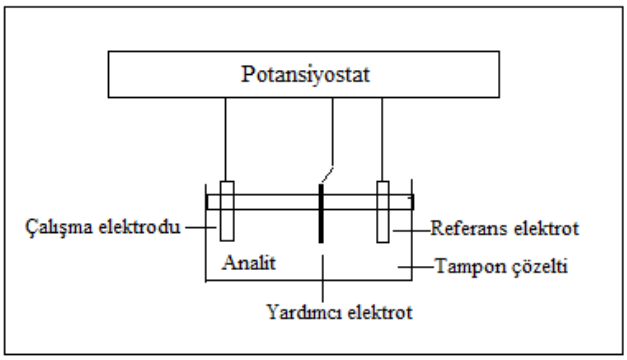
Bu tepkimelerin oluştuğu hücreler;

- Kimyasal reaksiyonlar sonucunda elektrik akımı meydana gelen galvanik hücreler

- Dışarıdan elektrik akımı uygulanması sonucunda kimyasal reaksiyonların meydana geldiği elektroliz hücrelerdir.

2.1.1. Elektrokimyasal Hücreler

Elektrokimyasal hücreler 3 temel bölümden oluşmaktadır. (1) Analit içeren bir çözelti ya da erimiş tuz, (2) Maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrotlar ve (3) bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devre.



Şekil 2.1. Elektrokimyasal hücre şeması (Doğan Topal, 2011, 9).

Bir elektrokimyasal hücrede indirgenmenin olduğu elektrot katot, yükseltgenmenin olduğu elektrot anot olarak adlandırılmıştır. Elektrotları birbirine bağlayan dış devrede elektrik yükü elektronlar ile taşınır. Elektrik akımı elektrik yükünün akışı nedeniyle oluşur. Çözeltide ise elektrik yükünün taşınması bu ortamlarda bulunan iyonlar tarafından gerçekleştirilir. Bir devredeki iki elektrot arasında elektrik akımının akması için bu iki elektrot arasında bir elektriksel gerilimin var olması gerekir (Wang ve ark., 2006).

Elektrot tepkimelerinin termodinamik ve kinetik özellikleriyle ilişkili olarak, elektriksel çift tabakada oluşan yük dengesizliği bir potansiyel farkına yol açar. Ara yüzeyin bu potansiyel farkı ikinci bir elektrot yardımıyla ölçülebilir.

Elektrokimyasal deneyler yürütülürken tek bir elektrodun yüzeyinde gerçekleşen olaylara yoğunlaşılır. Devreyi tamamlamada kullanılan elektroda karşılaştırma(referans) elektrodu denir. Bu elektrodun kararlı bir potansiyele sahip olması gerekir ve bu da elektrot tepkimesindeki iyonun derişiminin sabit olması ile mümkündür. Bu amaçla genellikle bu iyonun doygun çözeltisini içeren sistemler kullanılır (Girault ve ark., 2004).

Analit çözeltisinin içerisindeki bir iyon ya da bir grup iyonun derişimindeki değişmelere göre hızlı ve tekrar edilebilir bir şekilde cevap veren elektrotlar çalışma elektrodu olarak isimlendirilir (Bard ve ark., 2001).

Elektrokimyasal hücrelerde en sık kullanılan hücreler iki ve üç elektrotlu hücrelerdir. İki elektrotlu hücrelerde elektrotlar çalışma ve referans elektrodudur. Akım okumalarında yalnızca çalışma ve referans elektrodundan oluşan sistemler özellikle yüksek dirençli çözeltilerde ohmik direnç *(iR)* nedeniyle sağlıklı cevap vermediğinden, akım geçişi sırasında daha güvenilir olması için üçüncü bir elektroda gereksinim vardır. Bu amaçla karşıt elektrot kullanılır (Wang ve ark., 2006, 17). Elektrokimyasal hücrede 3 elektrot bulunması durumunda, referans elektrot çalışma elektroduna yakın tutulur; böylece çözelti direnci azaltılmış olur (Chen, 2007, 35).

2.1.2. Elektrokimya'da Kütle Aktarımı

Elektrokimyasal hücrede kütle taşınımı difüzyon, konveksiyon ve migrasyon (göç) olmak üzere üç yöntem ile sağlanır. Çözeltideki bir taneciğe etki eden kuvvetin türü kimyasal, elektriksel ve mekaniksel olabilir.

Göç olayı yüklü iyonların elektrostatik alan etkisiyle hareketine bağlıdır. Homojen yük dağılımı bozulduğunda oluşan elektriksel alanın oluşturduğu elektriksel kuvvetten(f_m) etkilenen iyonların hareketine migrasyon denir (Gökçel ve ark., 2013).

Destek elektrolit olarak çalışılan potansiyel aralığında indirgenmeyen, safsızlık içermeyen ve iyon şiddeti yüksek bir tuz, tampon ya da asit çözeltisi kullanılabilir. Bu şekilde hem çözelti direnci hem de göç akımın analit iyonu tarafından taşınan miktarı azalmış olur.

Konveksiyon, çözeltinin herhangi bir kesitindeki tüm bileşenlerin aynı hızla hareket etmesi anlamına gelir ve çözeltinin karıştırılması, elektrodun döndürülmesi, ya da çözeltinin aktarılması için uygulanan mekanik kuvvet (f_k) nedeniyle oluşur.

Bir türün çözelti içindeki derişiminin bölgesel olarak farklılaşmasından ortaya çıkan kuvvete kimyasal kuvvet (f_d) denir. Bunun etkisi ile oluşan kütle taşınımına da difüzyon denir. Difüzyon olayının gerçekleşmediği bir sistem oluşturmak mümkün değildir (Monk ve ark., 2001).

Difüzyon, derişimi yüksek olan bölgeden düşük olan bölgeye doğru telafi amacıyla kendiliğinden oluşan bir harekettir ve elektrot yüzeyinde redoks çiftlerinin derişimi ana çözeltiden farklı olduğu zaman meydana gelir. Taneciklerin difüzyonu kinetik bir olaydır ve matematiksel olarak Fick kanunu ile açıklanmaktadır.

Kütle akışına dik doğrultudaki birim yüzeyden birim zamanda geçen tanecik sayısı ile derişim gradient arasındaki ilişki I. Fick yasası olarak bilinen formül ile açıklanabilir.

$$-J_0(x,t) = D_0 \frac{\partial C_0(x,t)}{\partial x}$$

Bu formüle göre bir parçacığın (O) akısı, elektrottan uzaklık (x [cm]) ve zamana (t [sn]) göre derişimindeki değişimin (C_O [mol cm^{-3}]) bir fonksiyonudur. Bu formülde $J_O(x,t)$ [mol cm^{-2} sn^{-1}] O parçacığının akısını, D_O [cm^2 sn^{-1}] ise difüzyon katsayısını ifade eder.

Difüzyon akısı, derişim gradienti ile doğru orantılıdır. Difüzyon iki bölge arasındaki derişim gradient sıfır oluncaya kadar devam eder.

I. Fick yasasında, derişim gradienti zamandan bağımsızdır ve difüzyon koşullarında bu yasada bir değişiklik olmaz. Derişimin dolayısıyla akımın zamana (t) ve uzaklığa bağlı derişimi ise II. Fick yasası olarak adlandırılır. Bu yasa;

$$\frac{\partial C_0(x,t)}{\partial t} = D_0\left(\frac{\partial^2 C_0(x,t)}{\partial x^2}\right)$$

biçiminde tam diferansiyel olmayan ikinci dereceden bir denklemdir (Skoog ve ark., 2004).

Elektrokimyasal olaylar sonucu oluşan akım, Faraday yasaları gereği, elektrotlarda dönüşüme uğrayan madde miktarlarıyla orantılıdır. Nicel analizde madde miktarını hassas ve duyarlı bir şekilde tespit etmek için, daha küçük derişimli çözeltilerde daha büyük akım değerine ulaşılması amaçlanmıştır. Böylece daha duyarlı yöntemlerin geliştirilmesi için; artık akım değerinin küçültülmesi ya da yok edilmesi, elektron aktarımının kolaylaştırılması ve arttırılması için elektrot modifikasyonlarının geliştirilmesi ve elektrot yüzeyine kütle taşınımının da etkin bir şekilde artırılması gereklidir (Gökçel ve ark., 2013).

Elektrokimyasal hücrede iki elektrot arasına potansiyel uygulanarak, elektrotlarda yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri oluşturulur. Günümüzde çok düşük yüzey alanına sahip elektrotlar kullanılarak yeterince yüksek potansiyel altında bir türün elektrot yüzeyinde indirgenmesi ve yükseltgenmesi işlemine elektroliz denir (Bockris ve ark., 1977).

Birim zamanda değişime uğrayan kimyasal maddenin her molü başına bir mol elektron aldığı ya da verdiği düşünülmektedir. Bir mol elektronun Faraday sabiti (F=96500C) kadar yük taşıdığı da dikkate alınmaktadır (Skoog ve ark., 2004).

Potansiyel taraması tepkimenin henüz gerçekleşmediği daha düşük bir potansiyel değerinden başlatılır ve negatif veya pozitif yöne doğru belli hızda doğrusal ya da zamanla düzenli değişen bir modda taranır. Bu taramaya karşılık devreden geçen akım grafiğe geçirildiğinde uygulanan potansiyel tarama tekniği ile farklı voltamogramlar oluşur.

Elektriksel Çift Tabaka modeli iyonik bir ortamın yüklü bir yüzey ile çevrelendiği durumu gösterir. Bu model yüklü bir taneciğin iyonik gruplar tarafından çevrelenmesi veya bir elektrolit ile temastaki metalik bir elektrodun yüzeyinde zıt yüklü iyonların dizilmesiyle oluşur. Yüklü taneciklerin çevresinde iç tabaka ve dışında da difüzyon tabakası bulunur.

Aynı şekilde, sulu çözeltiye daldırılan bir metalin yüzeyindeki elektron zenginliği nedeniyle polar su molekülleri yüzeye tutunur ve pozitif ve negatif yüklerin sıralandığı ince iki tabaka biçiminde elektriksel çift tabaka oluşturur (Bard ve ark., 2001).

2.1.3. Voltametri ve Polarografi

Elektrolit çözeltisine daldırılmış çalışma elektrodunun polarize olduğu koşullarda düzenli olarak değişiklik gösteren potansiyele bağlı olarak değişen akımın izlendiği yöntemdir. Düzenli değişen potansiyel ile çalışma elektrodundan geçen akımdaki değişimler incelenmektedir.

Bu alandaki ilk çalışmalar 1922 yılında Çek bilim adamı J. Heyrovski'nin polarografi tekniği geliştirilmesi ile başlamıştır. Modern teknolojinin ilerlemesi ile birlikte farklı ölçüm teknikleri geliştirilmiştir. Rutin analizlerde çok duyarlı ölçümler gerçekleştirilmiştir (Skoog ve ark., 2004, 685).

Farmasötik alanda ve klinik araştırmalarda voltametrik ve polarografik yöntemin kullanılmasının başlıca nedenleri;

- Biyolojik sıvıda ya da farmasötik dozaj şekillerinde düşük derişimde analizlerin yapılması,
- Kullanımının kolay ve ucuz olması,
- İlaç formülasyonunda kullanılan yardımcı maddelerin elektroaktif özelliğine sahip olmamasından dolayı ayırma işlemine gerek olmaksızın elektroaktif özelliğe sahip etken maddenin analizinin yapılabilmesi (herhangi bir ön işleme gerek duyulmaması),

- Analiz yapılacak numunenin az miktarı ile kolayca ölçüm yapılabilmesi ve böylece yeşil kimya açısından önemli olmasıdır(Brezina ve Zuman, 1958; Zuman ve Brezina, 1962).

Pek çok saf ilaç etken maddesi ile birlikte birçok karışımın analizi son derece duyarlı bir şekilde voltametrik veya polarografik yöntemlerle yapılabilmektedir.

Polarografik yöntem damlayan civanın kolayca yükseltgenmesi nedeniyle daha çok indirgenme olaylarının, voltametri ise katı elektrotlar yardımı ile hem yükseltgenme hem de indirgenme olaylarının incelenmesinde kullanılmaktadır. Karbon elektrotlarla yapılan voltametri özellikle -1,8- +1,8 V gibi geniş bir çalışma aralığına olanak tanımaktadır. (Tunçel ve ark., 1984).

2.1.3.1. Polarografi Yöntemi

Polarografi yönteminde çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrodu kullanılmaktadır. Civa elektrodu olarak farklı çeşitleri vardır. Bunlar; damlayan civa elektrot, asılı damlayan civa elektrot, durağan civa damla elektrot ve civa ince film elektrottur. En yaygın olarak kullanılan damlayan civa elektrodudur.

Bu mikroelektrot iç çapı 0,05-0,08 mm ve 10-15 cm aralığında olan cam bir kapiler borudan oluşmaktadır. Belli büyüklüğe gelerek hidrostatik basınç ile koparak çözelti içerisine damlar. Böylece her civa damlası ile elektrot yüzeyi yenilenmekte ve platin tel ile akım sinyali ölçülebilmektedir. Referans elektrot olarak Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrot kullanılmaktadır.

Civa kimyasal açıdan inerttir ve civa hidrojen indirgenmesine karşı gösterdiği yüksek aşırı gerilimden dolayı bağıl olarak büyük negatif gerilimlerde kullanılabilir ve bu elektrotla birçok indirgenme tepkimesi incelenebilir. Elektrodun pasifleşmesi veya zehirlenmesi gibi olaylar meydana gelmez. Başka bir deyişle reaksiyonlar tekrarlanabilir türdendir (Skoog ve ark., 2004).

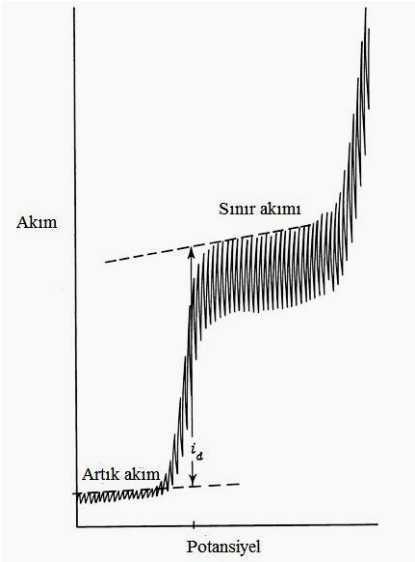
Polarogramda yükseltgenmenin/ indirgenmenin başladığı potansiyele bozunma potansiyeli (E_b) denir. Bozunma potansiyelinden sonra potansiyel değişiminin az olmasına rağmen, akımda hızlı bir artış gözlenir. Belli bir potansiyelden sonra akım

sabit kalır. Bu akıma sınır akım denir. Elektrokimyasal hücrede herhangi tepkime olmadığı durumda bile küçük de olsa bir akım gözlenir. Bu akıma artık akım denir.

Analiz edilmesi amaçlanan analit dışında çözelti içerisinde bulunan daha elektroaktif safsızlıkların redoks tepkimesi ile oluşan faradaik akım ve elektrot yüzeyine adsorbe olmuş safsızlıkların elektrot-elektrolit arayüzeyindeki elektriksel çift tabaka kapasitansına etki etmesi sonucu oluşan kapasitif akım bu artık akımın oluşmasına neden olur.

Difüzyon akımı değerinin, akım değerinin iki katına eşit olduğu potansiyele ise yarı- dalga potansiyeli adı verilir ve $E_{1/2}$ simgesi ile gösterilir. Bu potansiyel, elektroaktif maddenin derişiminden bağımsızdır; ayrıca her madde için spesifik olmasından dolayı polarografide hem kantitatif analizlerde hem de kalitatif analizlerde de uygulanır (Zutshi, 2006, 51).

Damlayan civa elektroduna uygulanan potansiyele karşı akım değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile polarogram adı verilen voltamogramlar oluşmaktadır. Damlayan civa elektrodu ile elde edilen akım-gerilim eğrisi Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Damlayan Civa Elektrodu ile elde edilen voltamogram (http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c801.html. Erişim tarihi: 10/7/2016).

Damlayan civa elektrodu (DCE)'nun avantajı;

Katodik yönde geniş bir potansiyel aralığa sahiptir. Civa üzerinden hidrojen çıkışı için aşırı gerilim gerektiğinden indirgenme yönünde akım sinyalleri gözlenir. Böylece Zn ya da Cd gibi iyonlar asidik ortamda H_2 gazı çıkarmaksızın indirgenebilir.

Elektrot yüzeyi her damlayan civa ile tazelendiğinden bozunma gibi bir durum gözlenmez. Böylece akım- gerilim eğrilerini kolaylaştırır.

Damlayan civa elektrodu (DCE)'nun sakıncaları;

Civanın insan sağlığı üzerinde zararlı etkisi olması nedeniyle elektrot malzemesi olarak kullanımı sınırlanmıştır. Ayrıca elektroaktif maddelerin civa ile etkileşime girmesi ve uygulama ile ilgili sorunlar yaşanmıştır. Yüksek sıcaklıkta civa elektrodunun yapısı değişir. DCE faradayik olmayan artık akım ve yükleme akımı verebilir ve hassasiyet azalır. Kapiler tıkanabilir.

Civa elektrodun belirtilen sakıncaları olduğu için katı elekrotların kullanımına yönelinmiştir Böylece polimerik, metal oksit ve kompozit yapılı modifiye elektrot türleri kullanılmaya başlanmıştır.

2.1.3.2. Voltametri Yöntemi

Elektrokimyasal hücrede karşılaştırma elektrodu, referans elektrot ve çalışma elektrodu olmak üzere üç farklı elektrot kullanılır. Voltametrik hücre çözelti ortamında çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması amacıyla azot ya da argon gibi inert bir gazın geçişine izin veren bir düzenekle tamamlanır. Hücre içerisindeki çözeltinin 5-20 mL arasında olması ölçümün daha doğru olmasını sağlar. Analitin derişimi genellikle 0,1 – 5 mM aralığında olmalıdır.

2.1.3.3. Elektrokimyasal Hücrede Kullanılan Elektrotlar

2.1.3.3.1. Referans Elektrot

Referans elektrodun özellikleri;

1. Tersinir olması
2. Nernst eşitliğine uygun olması
3. Sabit potansiyele sahip olması
4. Kolay hazırlanabilmesi
5. Sıcaklık değişiminden kolay etkilenmesi

Çeşitleri;

- *Doygun Kalomel Elektrotlar (DKE):* Civa(I) klorür (kalomel) ile temasta olan civadan oluşur ve belli derişimde potasyum klorür içerir. Doygun kalomel elektrodun 25°C'deki potansiyeli 0,2444 V'dur.

  Hg_2Cl_2 (k) + $2e^-$ $\rightleftharpoons$ 2Hg (s) + $2Cl^-$ (sulu)

- *Gümüş/Gümüş Klorür Elektrotlar (Ag/AgCl):* Gümüş klorür ile doyurulmuş potasyum klorür çözeltisine gümüş elektrodun daldırılmasıyla elde edilir. Ag/AgCl elektrodun standart potansiyeli 0,2223 V olarak bulunmuştur.

  $AgCl + e^- \rightleftharpoons Ag + Cl^-$

Ag/AgCl elektrotlarının kalomel elektrotlarda olmayan üstünlüğü, 60°C üstündeki sıcaklıkta kullanılabilir olmasıdır. Böylece Ag/AgCl elektrodu geniş sıcaklık aralığında ve susuz ortamlarda kullanılabilir. Ayrıca civa(I) iyonları gümüş iyonlarına göre daha az numune bileşeni ile reaksiyona girer. Bu tür reaksiyonlar elektrotla analit çözeltisi arasında kılcal borunun tıkanmasına neden olabilir.

2.1.3.3.2. Yardımcı Elektrot

Karşıt Elektrodun (Yardımcı Elektrot) Özellikleri;

Bir elektrokimyasal hücrede çözelti içinden geçen elektrik akımının çalışma elektroduna aktarılmasını sağlayan elektrotlardır. İletken ve kimyasal tepkimeye girmeyen malzemelerden üretilmiştir. Karşıt elektrot yüzeyindeki istenmeyen maddelerin çalışma elektrodunu etkilememesi nedeniyle uzak mesafeye yerleştirilir.

Çalışma elektrodu ile karşılaştırıldığında yardımcı elektrodun yüzeyinin daha geniş olması beklenir. Platin tel veya civa havuzu yardımcı elektrot olarak kullanılan elektrotlardandır *(Bard ve ark., 2008, 36)*.

2.1.3.3.3. Çalışma Elektrodu

Çalışma elektrodunun özellikleri;

1. Analitin iyon aktivitesindeki değişimlerine hızlı ve tekrarlanabilir cevaplar vermesi
2. Geniş potansiyel aralığa sahip olması
3. Ohmik Direnci düşük olması
4. Elektrot yüzeyinin kolay temizlenebilmesi
5. Sinyal/gürültü oranının yüksek olması
6. Elektrodun alanının küçük olması böylece elektrodun birim yüzeyine düşen akım şiddetinin büyük olması
7. Kimyasal ve elektrokimyasal olarak tepkimeye girmemesi
8. Artık akımın düşük olması
9. Düşük maliyet ve düşük toksisiteye sahip olması *(Merkoçi ve Alegret, 2007, 143)*.

2.1.3.3.3.1. Katı Elektrotlar

Katı elektrotlarla yapılan voltametrik analizler, etken maddenin mekanizmasının aydınlatılması ve maddenin farmakolojik aktivitesi hakkında bilgi verir. Katı elektrodun modifiye edilmesi ile geliştirilen daha duyarlı elektrotlar ile seçici, hassas kantitatif tayinler yapılabilmektedir.

Katı elektrotların civa esaslı elektrotlara göre mekaniksel dayanımı fazla ve hidrojen çıkışı daha pozitif potansiyellerde gözlendiği için anodik çalışma bölgesi daha geniştir (Uslu ve Özkan, 2007).

- ***Membran Elektrotlar***

Yüksek iyon seçici özelliğe sahiptir. Elektrot ucundaki membran, sadece kendi ile etkileşebilen iyonların derişimine bağlı olarak elektrot potansiyelinde de değişim gösterir. Bu tip elektrotlar p-iyon elektrotlar olarak da adlandırılır. En yaygın kullanılan membran elektrot cam elektrottur. Bu elektrot pH ölçümlerinde yaygın olarak kullanılır (Swain, 2007, 143).

• Cam-Membran

pH ölçümü için 1930'lardan beri kullanılan en uygun yöntem, sabit asitlikte bir referans çözeltisinin analit çözeltisini ayıran bir cam membranın iki yüzü arasındaki potansiyel farkın ölçümüdür. Cam elektrot; H^+ iyonlarına duyarlı elektrottur.

- ***Metalik Elektrotlar***

Tersinir olarak yükseltgenerek iyonlarını oluşturan Ag, Cu, Cd gibi elementler kendi iyonlarının tayininde kullanılır. Pt, Au, Pd veya diğer soymetallerden yapılan elektrotlar genellikle yükseltgenme/indirgenme sistemleri için kullanılır. İnert elektrot çözeltideki redoks sisteminden elektron alır veya sisteme elektron verir. Genellikle pozitif yönde olan potansiyellerde Pt, Au ve C elektrotlar kullanılır. Bu metal elektrotları, pozitif potansiyel yönünde sulu çözeltilerde kısmen yükseltgenir. Au ve Pt elektrot yüzeyi üzerinde ince oksit tabakaları oluşur.

Tekrarlanabilir sonuçlar alabilmek için elektrodun aktif yüzeyinin kararlı olması gerekmektedir. Bu nedenle ölçüm yapılmadan ön işlemler ve parlatma işlemleri yapılmalıdır. Elektrodun yapısı, yüzey enerjisi, yüzeyin katalitik etkisi ve oluşan birikimin yapısı yükseltgenme/indirgenme tepkimelerinde elektron transfer kinetiği açısından önemlidir. Ayrıca yük taşıma kapasitesi, elektrot yüzeyinin temizliği ve mikro yapısı elektron transfer kinetiği için son derece önemlidir.

Soy metal elektrotların yüzeyinde oluşan oksit tabakası nedeniyle sıyırma analizlerinde kullanımı sınırlıdır. Ayrıca anodik çalışma aralıkları geniş olmasına karşın katodik potansiyellerde civa esaslı elektrotlar daha kullanışlıdır (Wang ve ark., 2006).

Gümüş elektrot voltametride ilk kullanılan elektrot olmasına karşın, dar çalışma aralığı nedeniyle kullanılması tercih edilmez. Ayrıca özellikle eser düzeyde halojen tayininde kullanılan gümüş elektrotlar işlem görmeksizin birçok defa kullanılabilir. Bu elektrodun yüzeyi çeşitli modifikasyonlar için uygundur (Wang ve ark., 2006).

Altın elektrotlar özellikle civa analizlerinde döner disk veya altın film elektrot biçiminde kullanılır. Asidik ortamda altına ilişkin anodik sınır +1.5 V düzeyinde olmakla birlikte, uygulamada bu sınır elektrot yüzeyinde oksit oluşumu nedeniyle +0.8 V olarak belirlenmiştir. Klorür varlığında ise bu sınır daha negatif değelere kayar. Bu nedenle kullanım öncesi parlatma ve elektrokimyasal temizleme işlemleri yapılması gerekir.

Soy metal yapısına sahip elektrot yüzeylerinin fiziksel ve kimyasal davranışları metallerle modifiye edildiğinde değişmektedir. Son yıllarda soy metal elektrotlar üzerine katalitik aktiviteyi artıran metallerin Nernst denge potansiyelinden daha pozitif potansiyellerde biriktirilmesine dayalı yöntemler sıklıkla kullanılır. Bu modifiye elektrotlar glikoz, metanol, karbon monoksit gibi moleküllerin elektrokimyasal tepkimelerini incelemeye elverişlidir. Bunlara ek olarak soy metallerin tozları jel veya polimer bir matriks içerisinde dağıtılarak elektrokataliz tepkimelerine elverişli bir şekle dönüştürülebilir(Gireult ve ark., 2004).

2.1.3.3.3.2. Karbon Elektrotlar

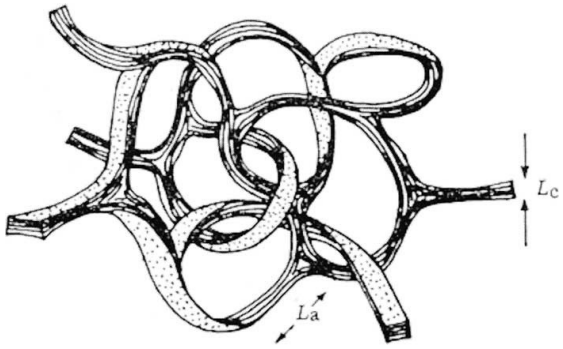
Karbon elektrotlar geniş bir potansiyel aralığında yanıt verir. Elektriksel direnci ve artık akım değeri de düşük olduğu için birçok çalışmada kullanılır. Ayrıca; Karbon elektrotlar iletkendir, kimyasal olarak inerttir, maliyeti düşüktür ve çeşitli etken maddelerin ve biyolojik sıvıların analizinde yaygın olarak kullanılır.

Karbon elektrotlar homojen ve heterojen olmak üzere ikiye ayrılabilir. Homojen karbon elektrotlar; camsı karbon, perde-baskılı, elmas; heterojen karbon elektrotlar; karbon pasta ve modifiye karbon elektrotlar olarak örneklendirilebilir (Uslu ve Özkan, 2007).

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan elektrotların tercih edilmesindeki belli başlı parametreler; zemin akımının düşük olması, potansiyel aralığının geniş olması, elektron transfer kinetiği, kararlılık ve tekraredilebilirliktir. Bir diğer parametre adsorpiyondur fakat kontrol edilebilir olması gerekir aksi takdirde elektrodun yüzeyi çabuk kirlenir ve anlamlı olmayan ölçümler elde edilir. (Uslu ve Özkan, 2007).

- ***Camsı Karbon Elektrotlar:***

Camsı karbon elektrotlar (CKE) Yamada ve Sato tarafından 1962 yılında ilk defa bulunmuştur. Camsı karbon elektrokimya da en yaygın kullanılan elektrotlardan biridir. Camsı karbon, ince grafit benzeri tabakaların kurdeleler gibi birbiri içinden geçmesinden meydana gelir (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. Camsı karbon elektrodun yapısı (http://www.ijcambria.com/Glassy%20Carbon. htm.Erişim tarihi: 12/06/2016)

Saf karbondan oluşan ve gözenek büyüklüğü azaltılarak elde edilen camsı karbon elektrotlar (CKE) voltametrik analizlerde geniş uygulama alanına sahiptir. Camsı karbon fenol formaldehit reçinelerin inert bir atmosferde ısıtılması ile elde edilir.

Yüksek sıcaklığı ve kimyasallara karşı dirençlidir. Elektrik iletkenliği yüksektir. Fiziksel olarak dayanıklı ve serttir (Bard ve ark. 2008, 310).

Camsı karbon elektrodun yüzeyini aktive etmek ve ölçümden önce analitik performansını arttırmak için bazı ön işlem yapılması gerekmektedir. Bu işlem alümina yardımıyla parlatma pedi yüzeyinde mekanik cilalama yoluyla yapılır. Böylece yüzeyde kalmış safsızlıklar temizlenmiş olur. Ayrıca yüzeyin aktivitesini arttırmak için elektrokimyasal, kimyasal, ısısal veya lazer uygulamaları da ön işlem olarak uygulanabilir (Wang ve ark., 2006, 131).

- ***Karbon pasta elektrotlar (KPE):***

Karbon pasta;

- Yüksek saflıkta ve μm boyutlarında parçacıklara sahip grafit tozu
- İnert ve elektroinaktif, yüksek viskositeye sahip bağlayıcı mineral yağlar (parafin, nujol ve uvasol gibi yağlar) karıştırılarak hazırlanır.

Ayrıca hazırlama sırasında kimi reaktifler eklenerek, karbon pasta elektrot modifiye edilebilir ve seçici hale getirilebilir. Pastanın hazırlanmasında kullanılan bağlayıcı miktarı elektrodun reaktifliğini etkiler, bağlayıcı miktarı arttıkça elektron transfer hızı azalır; reaktiflik artar (Wang, 2006, 131-132).

Karbon pasta çeşitli elektrotların, sensörlerin ve dedektörlerin hazırlanmasında kullanılır.

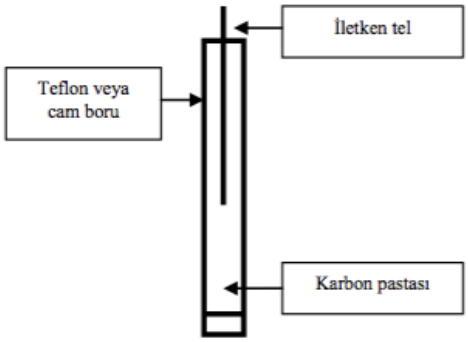
Karbon pasta elektrot ilk kez 1958 yılında Ralph Norman Adams ve çalışma grubu tarafından geliştirilmiştir.

Avantajları:

- Hazırlanması kolay ve pratik
- Pasta yüzeyi kolayca yenilenebilir dolayısıyla ön işleme gerek duyulmaz
- Düşük maaliyet

Dezavantajı:

- Tekrarlanabilirliği düşüktür (Sanghavi ve ark., 2015)

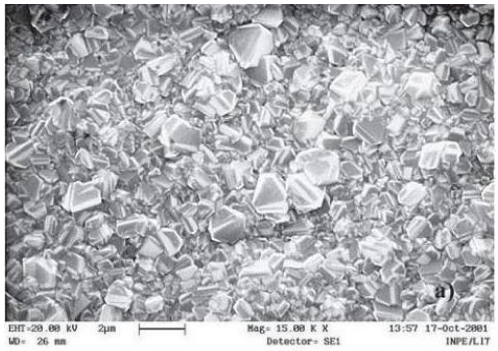


Şekil 2.4. Karbon pasta elektrodun şematik gösterimi (Doğan Topal, 2011, 38)

- Bor Katkılı Elmas Elektrot (BKEE):

- Elmas elektrot optik özellikleri, öziletkenlik, elektriksel karakteri ve yüksek atomik yoğunluğu bakımından diğer elektrotlara göre üstünlük sağlar.
- Elmas elektrot yalıtkandır fakat elmas içerisine yüksek derişimde bor katkılanması sonucu iletkenlik artar.
- Bor katkılı elmas elektrotlar yüksek sıcaklıkta kimyasal buhar biriktirme yöntemiyle polikristal elmastan yapılmıştır.
- Bor katkılı elmas elektrotların temel avantajı sulu elektrolit içerisinde organik bileşiklerin yükseltgenmesine izin veren geniş elektrokimyasal potansiyel aralığıdır.
- İnertliği ve kararlı olmasından dolayı güçlü asidik ortamlarda bu elektrot tercih edilebilir.

- Tekrarlanabilirliği yüksektir (Kısacık, 2010, 9).



Şekil 2.5. Bor ile katkılandırılmış elmas elektrodun yapısı (Diniz ve ark., 2002)

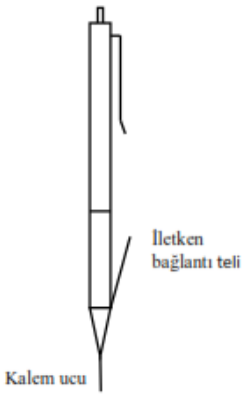
- ***Kalem grafit elektrotlar:***

Katı elektrotlarla çalışırken safsızlıkların elektrot yüzeyine ince bir film şeklinde birikmesiyle analitik yanıtı ve tekrar edilebilirliği olumsuz etkilemektedir. Bu sorunu ortadan kaldıran elektrotlardan biri tek kullanımlık kalem grafit elektrotlardır (Şekil 2.6).

1990'lı yıllardan itibaren kalem grafit (kalem ucu) elektrotlar (KGE) camsı karbon ve karbon pasta elektrotlara alternatif olmuşlardır.

Avantajları;

- Maliyeti düşük, ölçümün hızlı ve kolay olması
- Farklı sertlik ve çapta ticari mekanik kurşun kalemlerin kolaylıkla temin edilebilmesi (Ebbing ve Gammon, 2008, 540).
- Yüksek elektrokimyasal reaktifliğe sahip olması
- Elektrokimyasal uygulamalarda mekaniksel sağlamlık
- Kolay modifiye edilebilir olmaları (Vu ve ark., 2013/2014).
- Tek kullanımlık olduğu için elektrot yüzeyini temizlenmesi konusunda herhangi bir ön işlem uygulanmamasıdır.



Şekil 2.6. Kalem grafit elektrodun şematik gösterimi (Doğan Topal, 2011, 44)

- ***Perde Baskılı Karbon (Grafit) Elektrotlar(SPKE):***

Son yıllarda tek kullanımlık perde baskılı karbon elektrotlar çok yaygın olarak kullanılmaktadır.

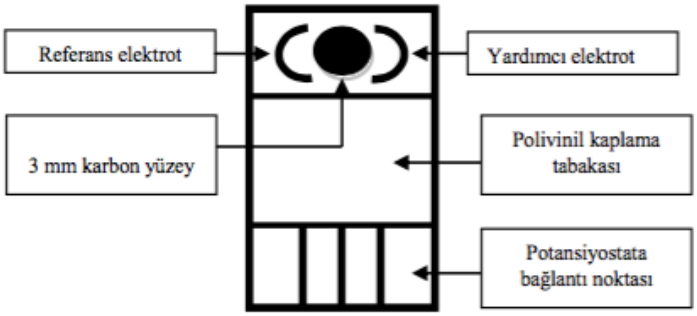
Elektrokimya alanında çok önemli olan perde baskılı karbon elektrotlarının tüm çeşitlerinde yüzeylerinin düzgün bir şekilde hazırlanması gereklidir.

Avantajları;

- Kolay hazırlanması ve modifiye edilebilmesi (Metters ve Banks, 2013, 96)
- Tek kullanımlık olmasından dolayı temizleme işleminin yapılmasına gerek duyulmaması
- Biyosensör tasarımında kullanılması (Bagni ve Mascini, 2010, 253).

Dezavantajı:

- Elektrot yüzeyindeki mekanizmayı yeterli aydınlatamaması (Hart, 1997).



Şekil 2.7. Perde baskılı elektrodun şematik gösterimi (Doğan Topal, 2011, 44)

2.1.3.3.3.3. Modifiye Elektrotlar

Etken maddenin analizi için elektrot malzemesinin cinsine, yüzeyine uygulanan potansiyele ya da çözelti ortamına göre kullanılacak olan elektrodun tercih edilmesi gerekmekteydi. Son yıllarda geliştirilen modifiye elektrotlar ile istenilen şekilde en uygun elektrot tasarlanıp, analiz için kullanılabilmektedir.

Böylece modifiye edici elektrodun performansının gelişmesinde, seçiciliğin artmasında, analiz edilecek maddenin elektrot yüzeyine daha iyi adsorplanmasında, elektrodun katalitik özelliğinin arttırılmasında ve karmaşık örneklerde girişimin azalması bakımından son derece önem kazanmıştır (Gooding ve ark., 2009, 1).

Bu elektrotların yüzeylerinin çeşitli malzemeler ile modifiye edilmesi sonucunda daha önce yaşanan problemlerin giderilmesi, yeni analitik uygulamaların ortaya çıkması ve farklı türlerin algınlanması için yeni cihazlar geliştirilmesini kolaylaştırmıştır.

Tez kapsamında karbon elektrodun çeşitli nanomalzemeler ile modifikasyonu sonucunda elde edilen nanosensör ile antiviral etken maddesi olan Tenofovir Diproksil Fumarat'ın elektrokimyasal analizi yapılacaktır.

2.1.3.3.3.4. Mikroelektrotlar

Çalışma elektrotlarının minyatür hale getirilmesi son yıllarda elektrokimyanın en önemli çalışma alanlarından biridir. Bu çerçevede en azından boyutlarından biri 25 mikrometrenin altında olan elektrotlara mikroelektrot adı verilmektedir. Bu elektrotların küçük boyutlarının mikroskopik alanların incelenmesi, bölgesel derişim problemlerinin ölçülmesi, mikro akış sistemlerinin tayini ve çok küçük miktarlarda (μL) örnekle çalışılabilmesi gibi önemli avantajları vardır. Bu elektrotlarda çok küçük toplam akımlarda bile oldukça duyarlı sonuçlar almak mümkündür. Dahası büyük oranda küçültülmüş çift-tabakalarında yüksek hızlı voltametrik deneylerin çok kısa sürede (μs) sonuçlanmasını sağlarlar. Son olarak, bu elektrotlar kütle aktarım hızını da büyük ölçüde arttırırlar ve mükemmel sinyal-gürültü nitelikleri gösterirler. Kısacası mikroelektrotlar elektrokimyada gelecek vadeden elektrot türlerindendir (Wang, 2006, 150-151).

2.1.4. Voltametride Kullanılan Elektrotlara Yapılan Ön İşlemler

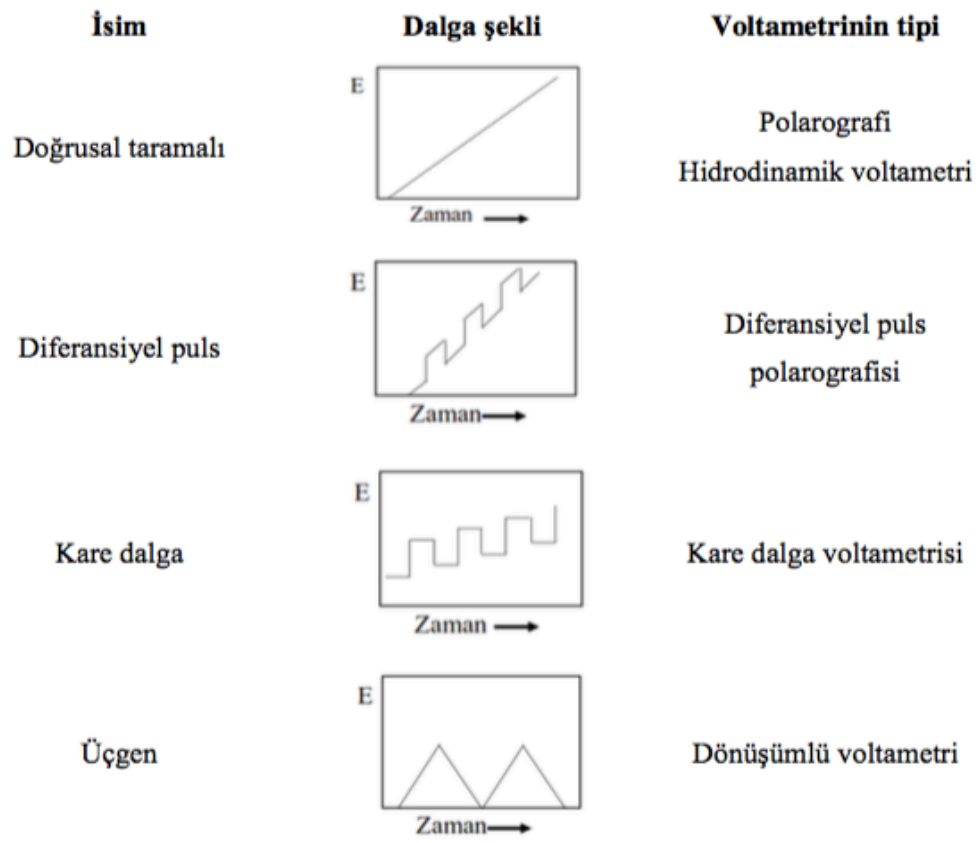
Camsı karbon elektrot (CKE) gibi katı elektrotlarda karşılaşılan en önemli sorunlardan biri, bir önceki ölçümden kalan safsızlıklar ve kalıntıların yüzeyle etkileşmesi sonucunda ölçüm sinyallarindeki sapmalardır. Bu nedenle elektrot yüzeyinin giderek aktifliğini kaybetmesi, elektrodun yüzey aktivitesini azaltarak

incelenen tepkimesinin elektron aktarım katsayısında farklılık oluşmasına neden olur. Bu nedenle ölçüm öncesinde elektrot parlatılmalıdır (Zoski, 2007).

Parlatma işlemi için alüminyum oksit tozundan bir miktar su ile ıslatılarak, parlatma pedi üzerinde karıştırılır ve elektrot yüzeyi keçe üzerinde dairesel şekilde sürtülerek, parlatılır. Daha sonra etanol-su (1:1) karışımında ve saf su da 5 er dakika ultrasonik banyoda tutularak yüzeydeki kalıntıların ve çözünmüş gazların uzaklaştırılması sağlanır (Swain, 2007, 111) .

2.1.5. Voltametride Kullanılan Uyarma Sinyalleri

Voltametride, bir mikroelektrot içeren elektrokimyasal hücreye değiştirilebilir bir potansiyel uyarma sinyali uygulanır. Bu uyarma sinyalinde yöntemin dayandığı karakteristik bir akım cevabı oluşturulur. Voltametride en çok kullanılan uyarma sinyallerinin bir kısmı Şekil 2.8'de yer almaktadır.



Şekil 2.8. Voltametride kullanılan uyarma sinyalleri (Skoog ve ark., 2004, 462)

Klasik voltametrik uyarma sinyali, hücreye uygulanan doğru akım potansiyelinin zamanın fonksiyonu ile birlikte arttığı Şekil 2.8'de Doğrusal-taramalı voltametri ile belirtilmiştir. Elektroaktif maddenin derişimi azaldıkça sinyal artık akım düzeyine kadar inecek ve yöntemin duyarlık sınırını bu akım değeri belirleyecektir.

2.1.5.1. Dönüşümlü Voltametri (DV)

Elektrokimyasal çalışmalarda özel bir yere sahiptir. DV yöntemi 1960 yıllarında Nicholson ve Shain tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemin kullanılmasıyla, heterojen elektron transferinin, yük aktarımı basamağı veya homojen kimyasal süreçlerin hızı ile pik gerilimi ve pik akımının ölçülmesi amaçlanmıştır (Marken ve ark., 2010, 58).

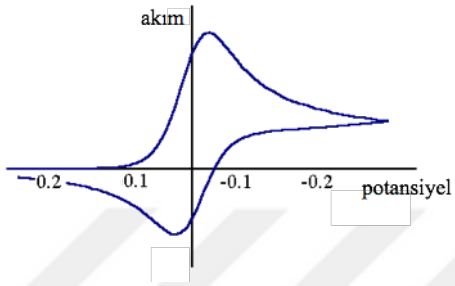
Bu teknik, diğer voltametrik teknikler gibi analitik duyarlılığı artırmaya yönelik çalışmalarda değil, daha çok elektrokimyasal mekanizmanın aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda kullanılır. Bu teknikte küçük ve durağan yöndeki potansiyel taraması belli bir değerde sonlandırılarak, geri yönde tarama yapılır. Potansiyelin ileri yönde bir değerden geriye döndürülmesinden hareketle bu tekniğe dönüşümlü voltametri adı verilmektedir (Skoog ve ark., 2004, 694).

DV'de başlangıç potansiyeli olarak genellikle redoks tepkimesinin henüz gerçekleşmediği bir potansiyel değeri seçilir ve potansiyel redoks tepkimesinin gerçekleştiği yönde E_1 ve E_2 sınırları arasında belli bir hızla taranır. Bu yöntemi doğrusal taramalı voltametriden ayıran özelliği E_2 potansiyeline geldiğinde taramanın tersine çevilmesidir.

DV'de elektrokimyasal tepkimelerin niteliği hakkında hızlı bilgi sağlayabilmesi ve bu nedenle incelemelerde ilk başvurulan tekniktir.

DV'de çalışma elektrodunda gerçekleşen elektrokimyasal tepkimeler sonucunda oluşan akım, uyarıcı sinyal olan potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Potansiyel tarama hızı sabit olduğunda aynı zamanda bu eksen zaman eksenidir. Tarama hızı birkaç mV/s- birkaç yüz V/s aralığındadır(Pelit ve ark., 2013).

DV'de akım-potansiyel değişimi pik şeklindedir. Genellikle bu piklerin yüksekliği ve potansiyel değerleri üzerinde çalışılan potansiyel aralığında tarama hızının etkisi izlenir. Pik yüksekliklerinin tarama hızına bağlı olmasından dolayı, adsorpsiyon, difüzyon ve kimyasal tepkimelerin rolü açıklanabilir. İlk ve daha sonra olan döngülerden elde edilen veriler mekanizma ile ilgili bilgi verir (Bard ve Faulkner, 2001).

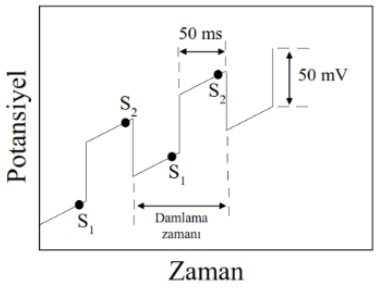


Şekil 2.9. Tipik bir dönüşümlü voltamogram (http://www.ceb.cam.ac.uk/research/groups/rg-eme/teaching-notes/cyclic-voltammetry-the-investigation-of. Erişim tarihi 12.6.2016)

2.1.5.2. Diferansiyel Puls Polarografisi ve Voltametrisi (DPV)

Diferansiyel puls yönteminde bir puls ile bir basamaklı sinyal üst üste çakıştırılır. Civa damlasının ömrünün son 50 ms'si içinde 50 mV'luk bir puls uygulanır. Bu noktada damla ile puls arasında uyum sağlamak için, damla belli bir anda mekanik olarak düşürülür.

Bu bileşenin ölçülen akımdaki payını daha da azaltmak ve seçimliliği arttırmak için puls artışından önce ve pulsun sonuna doğru ölçülen akımlar arasındaki fark uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak kaydedilir (Skoog ve ark., 2004).



Şekil 2.10. Diferansiyel puls polarografisinde uyarma sinyali (Skoog ve ark., 1996, 486).

İki tane akım ölçümü yapılmaktadır. Bunlardan ilki doğru akım pulsundan S_1 ms önce, diğeri ise pulsun sonundan S_2 ms sonra yapılır. Puls başına akımdaki fark(Δi) doğrusal olarak artan potansiyelin fonksiyonu kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup, yüksekliği derişim ile doğru orantılıdır. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli yarı-reaksiyonun standart potansiyeline yaklaşık olarak eşittir.

Diferansiyel puls yönteminin yüksek duyarlı olmasının iki nedeni vardır; Bunlardan birincisi, faradayik akımın artması, ikincisi ise faradayik olmayan yükleme akımının azalmasıdır.

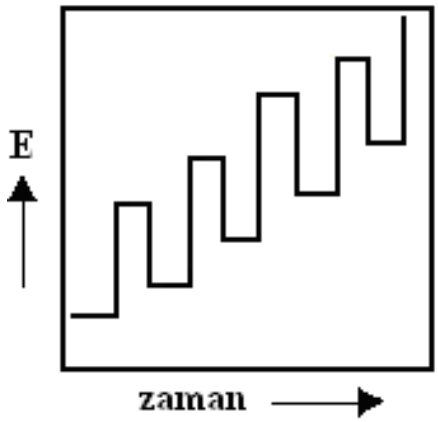
Elektroda potansiyel pulsu ilk uygulandığında, damla üzerindeki yük arttığı için faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur. Bu akım zamanla üstel olarak azalır ve yüzey alanının çok az değiştiği damla ömrünün sonuna doğru sıfıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçüldüğünde faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal/gürültü oranı artar. Böylece duyarlılık artmış olur.

Bu yöntemin en önemli avantajı da çok küçük derişimlerde (10^{-8} M) ölçümü ve eser miktarda analizi yapılabilmesidir (Bard ve ark., 2008, 516; Cummings, 2010, 333).

2.1.5.3. Kare Dalga Polarografisi ve Voltametrisi

Kare dalga voltametrisi hızlı ve duyarlı olarak ilk defa Barker tarafından geliştirilmiştir (Barker ve Jenkins 1952). Kare dalga voltametrisinin sabit elektrotlarda potansiyel-zaman dalgası simetrik kare dalgalarından oluşmaktadır (Şekil 2.12). Basamaklı sinyalde her basamağında boyu ve puls periyodu (τ) birbirine eşittir ve yaklaşık olarak 5 ms'dir. Kare dalgalar birbirini takip etmektedir. İki dalga arasındaki yükseklik farkına basamaklı adım yüksekliği adı verilir ve ΔE_S ile gösterilir. Basamaklı sinyalin ΔE_S değeri yaklaşık olarak 10 mV'dur. Pik potansiyeli doğru akım polarografisinin yarı dalga potansiyeline denk gelir. Kare dalga voltametrisi, çok hızlı bir gerilim tarama hızı ile ölçüm süresinin kısa olmasına imkan sağlar.

Bu gerilimin şiddetindeki değişim (ΔE_{sq}), 50 mV olarak ölçülür ve bu gerilim basamaklı bir gerilim rampası üzerine 10 mV'luk gerilim basamakları şeklinde uygulanır (Skoog, 2004).



Şekil 2.11. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali (Skoog ve ark., 1996, 488).

Tersinir bir indirgeme reaksiyonunda bir pulsun boyutu, ileri tarama sırasında oluşan ürünün, geri tarama sırasında yükseltgenmeye yetecek kadar büyüktür. İleri puls bir katodik akımı (i_1), geri puls da bir anodik akımı(i_2) oluşturur. Voltamogramları elde etmek için bu akımların farkı(Δi) grafiğe geçirilir. Bu fark derişimle doğru orantılıdır. Kare dalga voltametresinin tayin sınırları 10^{-7} ile 10^{-8} M arasındadır.

Kare dalga voltametrisi ile ilgili birçok çalışmalar yapılmıştır. Amerikalı kimyacı Robert Osteryoung'ın geliştirdiği yöntem en sık kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde her bir ileri potansiyel pulsunda doğru akım elektrodu aynı yöne küçük bir ilerleme kaydeder; böylece doğru akım merdiven rampasında bir basamak elde edilmiş olur (Bard ve ark., 2008, 475). Heyrovský'nin de asistanlığını yapmış olan Rus kimyacı Mirko Kalousek bu uygulamada kare dalganın sadece ters yarı döngülerindeki akım ölçülerek daha küçük frekanslar elde etmiştir (Bard ve ark., 2008, 380).

2.1.6. Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma teknikleri ilk olarak 1950'li yıllarda Kemula'nın asılı civa damla elektrodunun geliştirilmesi ile ortaya çıkmıştır.

Sıyırma tekniklerinin duyarlılığının iyi olması, tayin edilebilecek maddenin elektrot yüzeyine küçük bir hacimde biriktirilmesinden ileri gelmektedir. Analit genellikle karıştırılan bir çözeltide önce bir mikroelektrot üzerine biriktirilir. Hassas bir şekilde ölçülen bir süre sonunda, elektroliz va karıştırma durdurulur ve birikmiş analit, voltametrik yöntemlerden biri ile tayin edilir.

Analizin bir sonraki basamağında analit mikroelektrot yüzeyinden çözülür veya sıyrılır; bu yüzden sıyırma yöntemleri olarak adlandırılır. Sıyırma tekniklerinin hasas olması, tayin edilecek maddenin elektrot yüzeyinde küçük bir hacimde biriktirilmesinden kaynaklanır. Bu ön biriktirme işlemi genellikle elektroda uygulanan potansiyel altında ve çözelti karıştırılarak yürütülür. Potansiyelin anodik veya katodik yönde taranması ile ön biriktirme uygulanan maddeye ilişkin akım-potansiyel eğrileri elde edilir.

Kullanılan tekniğe göre süre (30s-480s) değişkenlik gösterebilir. Her ne kadar ön biriktirme daha düşük tayin sınırlarına ulaşmaya imkân tanısa da sürecin uzunluğu pratik bazı zorluklar yaratmaktadır (von Wandruszka, 1992, 134).

Sıyırma voltametrisi çok farklı alanlarda uygulanabilmektedir. En çok kullanılan alanlar ilaç analizi ve klinik uygulamalar olmuştur. Tablet içerisinde etken maddenin elektrokimyasal analizlerinde; insan kanından, serumdan, idrardan ilaç etken maddesinin analizinde ve metal analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca çevremizde bulunan birçok metal atıkların, sudaki analizinin yapılması mümkündür.

Sıyırma voltametrisinin dört farklı çeşidi vardır;

- Anodik sıyırma voltametrisi,
- Katodik sıyırma voltametrisi,
- Adsorptif sıyırma voltametrisi
- Potansiyometrik sıyırma voltametrisi

2.1.6.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi (ASV)

Miktroelektrot biriktirme basamağı sırasında bir katot olarak; analitin ilk haline tekrar yükseltgendiği sıyırma basamağında ise anot olarak davranır. Belli bir negatif potansiyel altında indirgenerek toplanmış olan türlerin, potansiyelin pozitif yönde taranması sonucu çözülmesi işlemine anodik sıyırma denir. Ön biriktirme işleminin yürütüldüğü biriktirme aşamasında genellikle karıştırılan çözeltilerde ve belli bir potansiyel altında çalışılır. Biriktirme potansiyeli, ölçülen metal iyonunun indirgenebilmesi için yarı dalga potansiyelden 0,3 veya 0,5 V daha negatif değerlerde seçilmelidir.

Biriktirme aşamasında çalışma elektrodu olarak civa esaslı elektrotlar kullanılıyorsa, amalgam oluşumu metal iyonunun civa içinde çözünürlüğüne bağlıdır ve bu değer arttıkça o metal için duyarlılık artar.

$M^{n+} + ne \rightleftharpoons M(Hg)$

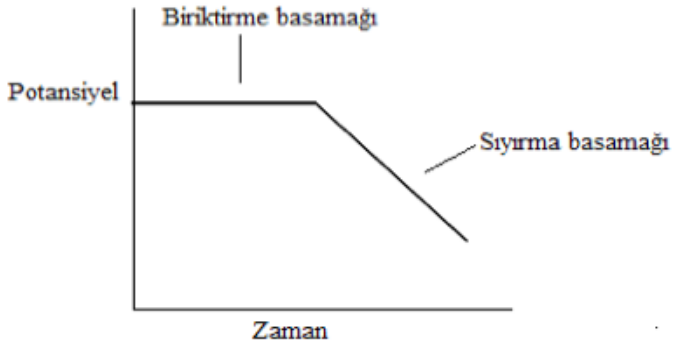
Potansiyelin yanı sıra, biriktirme süresi de analiz sonuçları üzerinde çok etkindir. Bu süre örnek derişimine bağlı olarak değişir.

Sıyırma aşamasında ise elektrot potansiyeli anodik yönde taranır böylece yüzeyde metalik olarak toplanan türün yükseltgenmesi ve çözeltiye geri difüzyonu gerçekleşir.

$M(Hg) \rightleftharpoons M^{n+} + ne$

Elde edilen sıyırma voltamogramındaki yükseltgenme pikinin potansiyeli türün niteliği hakkında bilgi verir.

Başlangıçta mikroelektrota sabit bir katodik potansiyel uygulanarak, iyonların elektrot yüzeyine biriktirilmesi sağlanır. Elektrotta iyonların yeterli miktarda toplanmasını sağlamak için elektrot bir kaç dakika bu potansiyelde tutulur. Belli bir süre sonra karıştırma durdurulur. Daha sonra hücredeki akım, zamanın veya potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilirken, elektrot potansiyeli doğrusal olarak düşürülür. Tipik sıyırma yöntemi profili Şekil 2.13 'de sunulmuştur.



Şekil 2.12. Sıyırma yöntemi ile uyarma sinyali (Yıldız ve ark,1997)

Sıyırma yöntemleri, eser elementin çok düşük derişim tayininde önemli bir yere sahiptir, çünkü elektrolizdeki önbiriktirme basamağı ile eser miktardaki bir analitin basit ve hızlı yöntemle 10^{-6}-10^{-9} M aralığında çözeltilerinin analizi yapılabilir. Bu teknik özellikle hava, su, gıda, toprak ve biyolojik örneklerde eser miktarda metallerin saptanmasında sıklıkla tercih edilen bir tekniktir (Cummings, 2010, 312-313).

2.1.6.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi (KSV)

Mikroelektrot biriktirme sırasında bir anot, sıyırma sırasında da bir katot gibi davranır. Biriktirme basamağında, analit elektrokimyasal olarak bir ön biriktirme işlemine uğrar; yani mikroelektrot yüzeyindeki analit derişimi, yığın çözeltideki derişimden çok daha büyüktür.

Pozitif potansiyellerde az çözünen bir tuz oluşturan iyonların elektrot yüzeyinde toplanması ve ardından potansiyelin negatif yönde taranmasıyla yüzeyde ön biriktirme maddesinin indirginmesi yoluyla oluşur.

Sıyırma yöntemleri bütün voltametrik işlemlerden en düşük gözlenebilme sınırlarını veren yöntemlerdir. KSV genellikle organik ve inorganik bileşiklerin ölçümünde kullanılır. Bu yöntemin uygulamaları halojenürler, molibdat ve tungstat iyonlarının ve tiyol grubu içeren organik moleküllerin elektrot olarak kullanılan metalik civa ya da gümüşün yükseltgenmesinin ardından çözünürlüğü az olan bir tuzu biçiminde yüzeyde toplanması ile sınırlıdır(Skoog ve ark., 2004).

2.1.6.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (AdSV)

ASV ve KSV'ye benzer bir voltametridir. Kullanılan elektrodu, analitin karıştırılan bir çözeltisine birkaç dakika süre ile daldırılır. Adsorpsiyon süresi biriktirilecek maddenin türüne bağlıdır. Bu süre 1-5 dk arasında olabilmektedir.

Elektrot yüzeyinde analitin birikmesinin elektrokimyasal olmasının aksine fiziksel adsorpsiyonla meydana gelir. Birikme işlemi tamamlandıktan sonra karıştırma sona ererek birikmiş madde çeşitli voltametrik ölçümler (DV, DPV, KDV) ile tayin edilir. Diğer bir deyişle önce analizi yapılacak madde elektrot üzerinde yükseltgenir ve çözünmeyen bir film oluşturur (ön derişim basamağı); ardından bu madde negatif bölgede indirgenerek ölçümü yapılır (sıyırma basamağı).

$$A^{n-} + Hg \rightarrow HgA + ne^{-}$$

Bu yöntem ile biyolojik sıvılar, ilaçlar nanomolar(nM) düzeyde oldukça hassas sonuçlara ulaşılabilir. AdSV yöntemi elektrokimyasal olarak biriktirilemeyen inorganik ve organik bileşiklerin eser analizinde kullanılır (Bard ve ark., 2008, 17).

Adsorptif sıyırma voltametrisinde analitin kendisi elektrot yüzeyine adsorbe olabilir ya da bir metal iyonu ile bir ligandın tepkimesi sonucunda oluşan kompleks de adsorbe olabilir.

Elektrot yüzeyine adsorpisyon maksimum düzeyde sağlanmalıdır. Bunun için ise, optimum koşullar denenerek sağlanmalıdır.

Optimum koşullar elektrot malzemesi, biriktirme zamanı, biriktirme potansiyeli, çözücü, bileşiğin yüzey özellikleri, elektrot alanı, iyonik şiddet, pH ve sıcaklık gibi birçok değişkenin optimizasyonu ile sağlanır (Zuhri ve Voleter., 1998).

2.1.6.4. Potansiyometrik sıyırma voltametrisi (PSA)

Bu yöntem özellikle ön biriktirme aşaması anodik sıyırma voltametrisine benzer. Ön biriktirme basamağında metal katyonlarının yeterince negatif potansiyelde metalik halde toplanmasını içerir. Yükseltgenmeyi sağlamak için kimyasal olarak yükseltgeyici ve miktarı belirli bir çözelti eklenir (Pickering, 2002, 26-27).

Sıyırma aşamasında ise diğerlerinden farklı olarak elektrot yüzeyinde ön biriktirme yapılmış metallerin yükseltgenmesi elektrokimyasal olarak değil, kimyasal olarak yürütülür ve bu süreçte çalışma elektrodunun potansiyelinde oluşan değişimler zamana karşı kaydedilir.

Bu yöntemde genellikle civa film elektrodu kullanılır. Bu amaçla ortamda Hg^{+2} iyonları katıldıktan sonra çalışma elektroduna yeterince negatif potansiyel uygulandığında, hem civa filminin oluşumu ve hem de analiz ortamında metal katyonlarının indirgenmesi aynı anda gerçekleştirilir.

2.2. Nanoteknoloji

'Nano' kelimesinin kökeni Yunancadan gelmektedir ve cüce anlamında kullanılmaktadır. Metrenin milyarda biri nanometre (nm) uzunluğudur. İnsan saç telinin onbinde biri, bir nanometre kalınlığına sahiptir. https://ninithi.com /nanomaterials/ (Erişim tarihi 9.3.16)

Ulusal nanoteknoloji girişimcileri (NNI)'ne göre nanoteknolijiyi ''en az bir boyutunun büyüklüğü 1'den 100 nanometreye kadar olan maddenin kontrolü'' olarak tanımlar http://www.nano.gov (Erişim tarihi 9/3/16).

Nanoteknoloji; atomların ve moleküllerin en küçük birimlerini ifade etmek ve maddeyi atomik boyutu ile kontrol etmek amacı ile kullanılmaktadır. Atom üstüne atom koyarak yeni maddeler oluşturmayı ve mevcut maddelerin moleküler yapısını değiştirerek yeni maddeler oluşturma çalışmalarını içermektedir (Kocaefe, 2007).

Günümüzde fizik, kimya, biyoloji, bilgisayar, malzeme bilimi, elektronik gibi alanlarda kullanımının yanında, tıp alanında da oldukça çarpıcı gelişmelere imkan sağlamaya başlamıştır.

Önümüzdeki yıllarda nanoteknolojinin birçok alan için ne kadar vazgeçilmez olduğu daha iyi anlaşılmaya başlanacaktır. Özellikle sağlık, savunma, tekstil, enerji, elektronik ve fotonik gibi alanlarda elde edilecek katma değeri yüksek ürünler insanoğlunun hayatını kolaylaştıracaktır (Arivalagan ve ark., 2011).

2.2.1. Nanomalzemelerin Özellikleri

Nano boyutlu malzemeler, yığın malzemelere göre spesifik özelliklere sahiptir. Bunlar; yapısal olarak boyutları 1-100 nm aralığındadır. Sertlik, dayanıklılık, aşınma direnci gibi mekanik özelliklere sahiptir. Geniş yüzey alanlarından dolayı, geçiş element oksitlerden oluşan nanoparçacıklar farklı katalitik özellik gösterir. Altın ve platin gibi metaller modifiye edilerek katalizi arttırabilir (Sperling ve Parak, 2015).

Manyetik nanoparçacık süperparamagnetik davranış gösterirler. Sabit bir manyetik momente sahiptirler ve dışarıdan düzgün bir manyetik alan uygulandığında manyetik alanla aynı yönde yönelime geçme eğilimindedirler (Xu ve Wang, 2012). Bu özellikler, superparamagnetik nanoparçacıkları biyomedikal uygulamalar için oldukça ilgi çekici yapmaktadır. Gelen ışık demeti nanomalzemeler üzerine yansır, absorbe edilir, saçılır ve malzeme içinden geçerler. Kovalent bağ titreşimlerinden dolayı termal iletkenlik ve kararlılığı yüksektir. Termodinamik özelliğine bakıldığında ise maddenin ısı kapasitesini arttırır, yüksek sıcaklıkta stabil olmasını sağlar (Su ve ark., 2012).

2.2.2. Nanomalzemelerin Sınıflandırılması

Son 20 yıldır yüzlerce yeni nano boyutlu malzeme elde edilmiştir. Bu nedenle yeni bir sınıflandırılmaya ihtiyaç duyulmuştur. İlk sınıflandırma 1995 yılında H. Gleiter ve daha sonra 2000 yılında V. Skorokhod tarafından yapılmıştır. Ama 0, 1, 2 boyutlu olarak sınıflandırmayı Fulleren, nanotüp, nanoçiçek (Nanoflower) şeklinde tanımladıkları için yeterli olmamıştır.

V. Pokropovyny, nano boyutlu malzemeler için sınıflandırma üzerinde değişiklik yapmıştır ve 0B, 1B, 2B, 3B olucak şekilde sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırma da en önemli kriter boyutlarıdır (Tiwari ve ark., 2012).

0-B nanomalzemelerin boyutları istenilen şekilde kontrol edilebilir. Üç boyutu da nanoölçek içerisinde bulunan malzemelerdir. Kuantum noktaları (QDs) özellikle her alanda çok yaygın kullanılır.

1-B nanomalzemeler, fonksiyonel gruplarına bağlı olarak boyut ve büyüklüklerini araştırmak ve nanoboyuttaki yeni oluşumları keşfetmek için ideal bir sistemdir. Bir boyutu nanoölçeği içerisinde bulunan nanomalzemelerdir.

Nanotüplerin S. Iijima tarafından 1991 yılında farkedilmesi üzerine 1-B nanomalzemeler büyük ilgi çekmiştir. 1-B nanomalzemeler nanoelektronik, nanoaraçlar ve nanokomposit sistemlerde, alternatif enerji yakıtlarında ve güvenlik alanında önemli rol oynamaktadır.

2-B nanomalzemeler, belli bir geometriye sahiptir. 2 boyutu da nanoölçek içerisinde bulunan malzemelerdir. Nanoaraçların ana bileşiği olarak yaygın kullanılır. Bu malzemeler nanoyapılı maddelerin mekanizmasının aydınlatılmasında ve sensörler, fotokatalizler, nanoreaktörlerde yeni uygulamaların geliştirilmesinde kullanılır. Çoklu veya tekli tabakalar halinde, amorf ya da kristal yapıda bulunabilirler. Çeşitli kimyasal bileşiklerden oluşur. Substratlar ile integre olabilir ve metalik, seramik ve polimerik yapısına sahiptir.

3-B nanomalzemeler, spesifik yüzey alanı ve yığın malzemeler ile karşılaştırıldığında kuantum etkisi gibi spesifik özelliğinden dolayı bir çok araştırmada önemli rol oynamaktadır. Morfolojisi, boyutu, şekline bağlı olarak nanomalzemelerin özellikleri farklılık gösterir. Bazı 3-B poröz yapılı malzemeler moleküllerin daha iyi transferine neden olurlar. Üç boyutlu nanomalzemelerin herhangi bir boyutu nanoölçeği içerisinde değildir. Nanokristallerin dizilmesiyle oluşmuşlardır (Tiwari ve ark., 2012).

2.2.3. Nanoparçacıkların üstünlükleri ve sakıncaları

Nanomalzemeler günümüzde her alanda çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun sebebi ise geniş yüzey alanı, kolay hazırlanabilir olması, dayanıklı ve hafif olması, boyutlarının küçük olmasından dolayı organlara ve hücrelere ulaşabilir olmasıdır. Kontrol edilebilir büyüklük, şekil, yüzeyin yüklenmesi gibi fiziksel, kimyasal ve biyouyumlu özelliğe sahip olması ve yüzey alanının geniş olması ve yüzeyin adsorpsiyonun yüksek olmasından dolayı eser miktardaki maddeyi tayin etme gibi birçok üstünlükleri vardır. Sakıncaları ise, boyutları çok küçük olduğu için çok hızlı agregat oluştururlar ve kararlı değildir buna bağlı olarak da tekrarlanabilirliği düşüktür (Pekdemir, 2011).

Elektrokimya günümüzde piller, yakıt hücreleri, korozyon, elektroliz ve sensör geliştirme gibi alanlarda rol oynamaktadır.

2.3. Elektrokimyasal Alanda Nanoparçacıkların Etkisi

2.3.1. Elektrokimyasal Reaksiyon Katalizi

Bazı nanoparçacıklar özellikle metal nanoparçacıklar yüksek katalitik özelliğe sahiptir. Analitik açıdan önemli elektrokimyasal reaksiyonlarda yüksek potansiyel değerini azaltır (Luo ve ark., 2006).

2.3.2. Elektron Transferini Destekleme

Enzimlerin aktif merkezi protein ile çevreli olduğundan elektrot ile elektriksel iletişimi zordur. Elektrot ve aktif merkez arasındaki elektron transferine engel olmasından dolayı metal (Au, Ag) nanoparçacıklar, oksit nanoparçacıklar (ZrO_2, Fe_3O_4, MnO_2), yarı iletken (SiO) nanoparçacıklar elektron transferine yardımcı olur.

2.3.3. Reaktant olarak Davranma

Bazı nanoparçacıkların kimyasal özellikleri diğer malzemelerden farklıdır. Nanoparçacıklar yüksek yüzey enerjilerinden dolayı kimyasal olarak daha aktiftir.

2.3.4. Biyomoleküllerin İmmobilizasyonu

Geniş spesifik yüzey alanı ve yüksek serbest enerjisinden dolayı, nanoparçacık biyomoleküllere güçlü bir şekilde adsorplanır ve biyosensör yapımında biyomoleküllerin immobilizasyonunda önemli rol oynar.

Nanoparçacıkların biyouyumlu olmasından dolayı biyomoleküllerin nanoparçacıkların yüzeyine adsorplanması biyoaktiflik sağlar. Pt, Ag, TiO_2, ZrO_2, SiO_2 gibi nanoparçacıklar kolay hazırlanması ve biyouyumlu olmasından dolayı enzimlerin immobilizasyonu için kullanılır.

2.3.5. Biyomolekülleri Etiketleme

İmmünosensör ve DNA sensörlerinde metal nanoparçacık etiketlemesi yaygın kullanılır. Nanoparçacık ile etiketlenmiş olan antijen, antikor ve DNA gibi biyomoleküller, hassas biosensörlerin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Bunlar biyoaktif olarak kalır ve etkileşime kolayca girebilirler. Böylece analitlerin derişimleri ve miktarı tayin edilir.

Çizelge 2.1. Elektrokimyasal sensörde kullanılan nanoparçacıkların etkisi

Özellikleri	**Kullanım Amacı**	**Nanoparçacıklar**	**Sensör Avantajları**
Elektrokimyasal reaksiyon analizi	Yüksek yüzey enerjisi	Metal Np(Au,Pt)	Duyarlılığın artması
Elektron transferini desteklemesi	İletkenlik, küçük boyut	Metal Np(Au,Ag) Oksit Np (TiO_2,ZrO_2)	Duyarlılığın artması
Reaktant olarak davranması	Kimyasal aktiflik	Oksit Np(MnO_2)	Yeni cevap mekanizması
Biyomoleküllerin immobolizasyonu	Biyouyumlu, geniş yüzey alanı	Metal Np(Au,Ag) Oksit Np(TiO_2,ZrO_2)	Stabiliteyi arttırma
Biyomolekülleri etkileme	Küçük boyut, modifikasyon	Yarıiletken Np(CdS,PbS) Metal Np(Au,Ag)	Duyarlılığın artması

Elektrokimyasal sensörler, çeşitli biyolojik bileşiklerin ve ilaçların duyarlı tespiti bakımından önemlidir. Birçok nanoparçacıklar yüksek yüzey enerjisi, iletkenlik, boyut, kimyasal aktiflik, biyouyumlu, geniş yüzey alanı ve kolayca modifiye edilmesinden dolayı elektrokimyasal sensörlerde kullanılır. Böylece önemli ölçüde duyarlılığı arttırır (Luo ve ark., 2006).

2.4. Elektrokimyasal Sensörler

Elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler çeşitli biyolojik ve farmasötik bileşiklerin hassas tayininden dolayı büyük ilgi çekmektedir. Nano boyutlu malzemeler keşfedildiğinden beri onların mekanik, elektriksel ve katalitik özelliklerinden dolayı elektrokimyasal sensör alanında yaygın olarak kullanılır (Erdem, 2010, 19).

İdeal sensörün sahip olması gereken özellikler:

- Seçicilik

Hedef analit dışında ortamda var olan diğer elektroaktif türler sensörün cevabını etkilememelidir. Çalışılan potansiyelde sadece analizlenmesi istenilen türe duyarlık göstermelidir. Bu yüzden ortamda girişim yapabilecek girişimi engelleyecek önlemler alınmalıdır.

- Duyarlık

Duyarlık, hedef analitin derişimine bağlı olarak sensör cevabındaki doğrusal değişimin gözlenmesi ile belirlenir. İdeal bir sensörün analiz edilecek maddeye karşı yüksek duyarlık göstermesi istenir.

- Doğrusal çalışma aralığı ve gözlenebilme sınırı

Doğrusal çalışma aralığının geniş, gözlenebilme sınırının düşük olması istenir.

- Kararlılık

İdeal bir sensörün uzun süre performansını koruması istenir. Bu sayede analiz maliyetleri azalır ve kullanım süresi artar.

- Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Analiz edilen maddenin aynı modifiye edilmiş elektrot ile ard arda alınan ölçümlerden elde edilen duyarlıklar o sensörün tekrarlanabilirliğini gösterir. Bu yapılan analizlerin güvenilirliğinin ve doğruluğunun anlaşılması için önemlidir.

2.5. Elektrokimyasal Sensörlerde Yaygın Olarak Kullanılan Nanomalzemeler

Elektrokimyasal sensörlerde elektrodun yüzeyine farklı türdeki nanomalzemeler ile modifikasyonlar yapılabilir. En yaygın kullanılan nanomalzemeler nanoparçacıklar, karbon bazlı nanotüpler, nanotabakalar ve fullerenlerdir (Küçükyıldırım ve ark., 2012).

- Nanoparçacıklar
  - Metal Np
  - Manyetik Np
  - Yarı iletken Np-Kuantum Noktaları
  - Oksit Np
- Karbon bazlı nanotüpler
  - Çok duvarlı karbon nanotüpler
  - Tek duvarlı karbon nanotüpler
- Nanotabaka
  - Grafen
- Fulleren (buckyball,C60)

2.5.1. Nanoparçacıklar

İlaç etken maddesi sensörü, enzim sensörleri, immünosensörler ve DNA sensörleri gibi farklı elektrokimyasal sensör sistemlerinde çeşitli nanoparçacıklar önem taşırlar (Merkoçi, 2013).

- **Metal Nanoparçacıklar**, Elektriksel iletkenliği yüksek ve geniş yüzey alanına sahiptirler. Elektron transferini ve elektrokimyasal reaksiyonların hızını arttırmak için katalitik özellik gösterirler (Au, Ag, Pt) (Erdem, 2012,9).

  Gümüş Nanoparçacıklar (Ag Np)

  Metaller arasında en yüksek termal ve elektriksel iletkenliğe sahip metallerdir. Altın nanoparçacıklara göre daha ucuzdur ve farklı formlarda oluşturulabilir. Katalitik özelliği yüksek olduğu için elektrokimyasal analizde modifikasyon amaçlı kullanılır (Wang ve ark., 2009).

Çalışma elektrodunu modifiye ederek daha hassas ve duyarlı bir elektrot haline getirmek için gümüş nanoparçacıklardan yararlanılır. Modifikasyon sırasında elektrokimyasal ve kimyasal olmak üzere iki farklı yöntem uygulanabilir. Elektrokimyasal yöntem ile gümüş yüzeye indirgenir ve böylece kolloidal ya da dağınık nanoparçacıklar oluşur. Kimyasal yöntem ile nanoparçacıklar yüzeye bağlanmaktadır.

Ayrıca Ag/AgCl referans elektrodu olarak elektrokimyasal analizde çok yaygın bir şekilde kullanılır.

Altın Nanoparçacıklar (Au Np)

Geniş yüzey alanı ve iyi elektronik özelliklere sahip olmalarıyla elektrokimyasal sensörlerin ve biyosensörlerin yapımında kullanımı yaygındır.

Elektrokimyasal sensörün geliştirilmesinde, Au Np'lerin yüzey morfolojisi, elektrot malzemesi, nanoparçacıklar arasındaki uzaklık ve elektrot yüzeyi önemli parametrelerdir.

Au nanoparçacıklar en kararlı nanoparçacıktır. Kimyasal dayanıklılığı yüksek ve yüzey oksidasyonuna dirençlidir. Altın nanoparçacıkların elektrokimyasal sinyaller üzerindeki etkisi yüksektir.

Au Np 3-200 nm aralığında değişik boyutlarda, farklı şekillerde, genellikle yüzey enerjisinden dolayı küresel yapıda sentezlenmektedir (Zhao ve ark., 2011).

- **Metal Oksit Nanoparçacıklar**, spinel yapıdadırlar ve aktif, ucuz ve termodinamik olarak kararlı olmaları nedeniyle elektrokatalitik açıdan önemlidir.

Metal oksit nanoparçacıklar boyutlarına bağlı olarak geniş yüzey alanı ve düşük direnç gösterirler. Bazı nanoparçacıkların enzimler ve proteinler ile birlikte kullanımı oldukça yaygındır. Biyouyumlu olduklarından dolayı immobolize biyomolekül olarak kullanılır (TiO_2,ZnO) (Forloni G, 2012).

- **Yarı-iletken Nanoparçacıklar** ise, elektrokimyasal analiz için etiketleme ya da izlemede kullanılır (SiO_2, Kuantum noktarı; CdSe, InAs, CdS, GaN, InGeAS, CdTe, PbS, PbSe, ZnS)(Tokul ve ark., 2013).

- **Manyetik Nanoparçacık**, bir sıvı içersinde süperparamanyetik dispersiyonlar oluşturan manyetik parçacıklar 1'den 100 nm boyuna kadar değişen boyutlarda metal ve metal oksitlerden oluşmaktadır. Bu metal ve metal oksitler Ni, Co, Fe, Fe_3O_4 ve Fe_2O_3'den oluşmaktadır.

  En yaygın kullanılan paramanyetik nanoparçacıklar Fe_3O_4'tür, çünkü bilgi depolama, renk görüntüleme, tıbbi tanı ve hücre ayırma gibi uygulamalarda çeşitlilik göstermektedir.

  Fe_3O_4 Np biyouyumlulukları, güçlü süperparamanyetizmi, düşük toksisitesi ve hazırlık sürecinin kolaylığı nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle enzimatik uygulamalarda kullanılabilir (Li ve ark., 2008).

2.5.2. Karbon bazlı nanotüpler

Karbonun tüp şeklinde yapı oluşturabileceği, ilk defa 1991 yılında, S. Lijima tarafından bulunmuştur. Mekaniksel, optik, magnetik, katalitik özelliklerine sahip yapısından dolayı nanoelektronik, biyomedikal mühendisliği, biyosensör ve biyoanaliz içeren çeşitli uygulamalarda kullanılır.

Grafitten "arc-discharge" buharlaştırma yöntemiyle elde edilen tüpler, Grafit plakasının kıvrılarak silindir şekline gelmesiyle oluşmuştur (Gürmen ve Ebin, 2007).

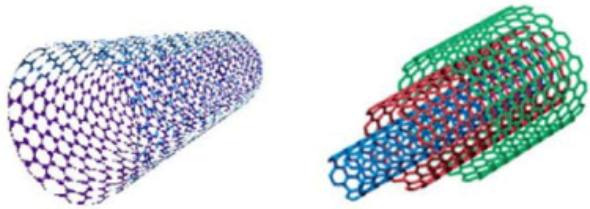
Karbon nanotüpler, geometrilerine bağlı olarak yarı-iletken ve metalik özellik gösterirler. Nanotüpün, geometrik parametrelerinin değiştirilmesiyle, elektronik özellikleri de değiştirebilir (Palabıyık, 2015).

Çok hafif olması, dayanıklılık, elektrik iletkenliği, yüksek elastikiyate sahip olması ve bilinen en dayanıklı fiber olması ihtimalleri, Karbon Nano Tüplerin (KNT) en önemli özelliklerindendir (Ghoreishi ve ark., 2015).

Elektrokimyasal reaksiyonlarda elektrot malzemesi olarak kullanıldığında elektron transfer reaksiyonunu arttırır.

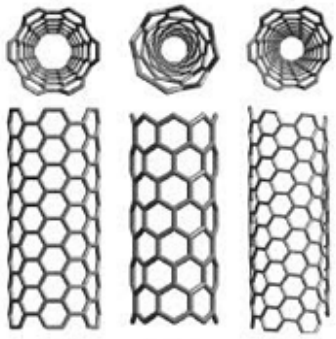
KNT'ler duvar sayılarına ve kristal yapılarına göre iki farklı şekilde sınıflandırılmaktadır.

Duvar sayılarına göre, Tek duvarlı karbon nanotüp (SWNT) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWNT) olarak sınıflandırılır. Tek bir grafen şeridinin silindirik hale getirilmesiyle tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNT) oluşur. Bunların pek çoğunun içi içe geçmiş şekline çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) denir. Nanotüplerin uzunluğu yüzlerce nanometre'den mikrometreye kadar uzanmaktadır. Boyutları ise tek duvarlı nanotüplerin 0.2-2 nm ve çok duvarlı nanotüplerin 2-100 nm aralığındandır.



Şekil 2.13. Duvar sayılarına göre, Tek duvarlı karbon nanotüp (SWNT) ve çok duvarlı karbon nanotüp (MWNT) olarak sınıflandırılması (Küçükyıldırım ve ark., 2012)

Kristal yapılarına göre, koltuk, zigzag ve kiral olmak üzere 3'e ayrılırlar. Nanotüpün, geometrik parametrelerinin değiştirilmesiyle, elektronik özellikleri de değiştirebilir.



Şekil 2.14. Karbon Nanotüplerin şekillere göre sınıflandırılması(Terrone, 2003)

2.5.3. Nanotabaka

Grafen:

Elektron iletkenliği fazla (grafen: 250,000 cm^2/ V•s, Si: 1360 cm^2/ V•s), düzenli kristalin yapı, kimyasal olarak reaktif değil, yüksek geçirgenlik, yüksek sıcaklık direnci (-75 ile +200℃ arasında) ve gerilme direnci, mükemmel termal ve kimyasal kararlılık özelliğine sahiptir.

Fulleren:

Karbon atomlarından oluşan kafes yapısındaki moleküllerdir. Fullerenler, 20 altıgen ve 12 beşgen şeklinde dizili 60 karbondan oluşur. Fullerenler, ilk olarak grafitin laserle buharlaştırılması ile oluşan karbon buharının yoğunlaşması ile oluşturulmuştur. Fullerenler elektriksel ve optik özelliğe sahiptir. Bu da önemli bir nano yapısı olduğunu göstermektedir.

2.6. Nanosensör

Elektrokimyasal sensörler (elektrokimyasal algılayıcı sistemler) Analitik Kimya'da oldukça yaygın kullanım alanı bulmaktadır. IUPAC 'a göre;

Kimyasal bileşiklere ya da iyonlara seçici ve tersinir şekilde cevap veren ve derişime bağımlı elektriksel sinyaller oluşturan cihazlara elektrokimyasal sensörler denir (Agrawal ve Prajapati, 2012).

2.6.1. Nanosensör Çeşitleri

Nanosensörler uygulamalarına ve yapısına göre ikiye ayrılırlar;

2.6.1.1. Yapısına göre Nanosensörler

2.6.1.1.1. Optik nanosensörler

Optiksel ölçümler absorpsiyon, floresans, fosforesans, raman, dispersiyon, refraktrometre, girişim spektroskopisi ölçümlerini içerir. Amplitude, enerji, polorizasyon, alıkoyma süresi/fazı ölçülen özellikler arasındadır.

2.6.1.1.2. Elektrokimyasal nanosensörler

Elektrokimyasal dönüşüm mekanizmaları amperometrik ve potansiyometrik iken kütle dönüşüm mekanizması yüzey akustik dalgaları, mikrodengeyi içerir.

2.6.1.2. Uygulamalarına Göre Nanosensörler

2.6.1.2.1. Kimyasal nanosensörler

Biyolojik moleküller ya da kimyasal yapılı bileşiklerin tayini için yeterli hassasiyettedir. pH, çeşitli iyon derişimi gibi özellikleri incelemek için çeşitli optik kimyasal nanosensörler kullanılır.

2.6.1.2.2. Taşınabilir (Deployable) nanosensörler

Askeri güvenlik alanında çoğu zaman kullanılan sensörlerdir. Nano özelliğe sahip Sniffer STAR sensörü, insansız hava aracına integre edilmiştir. Bu sensör hafif, nanomalzemeler ile dizayn edilen taşınabilir kimyasal tayin sistemlerdir. Bu sistemler insan yaşamını tehlikeye atmaksızın havadaki kimyasalları kolaylıkla tayin eder.

2.6.1.2.3. Elektrometre

Nanosensör çeşitlerinden bir diğeri ise elektrometredir. tayin elektrottan ve mekaniksel çift yüklemede kullanılan elektrotlardan oluşan nano boyutlu mekaniksel elektrometrelerdir.

2.6.1.2.4. Biyosensörler

Nanosensör çeşitleri arasında en yaygın kullanılan biyosensörlerdir. Erken kanser ve diğer hastalıkların teşhisinde kullanımı oldukça fazladır. DNA'nın spesifik türlerini tayin etmek için de kullanılır. Dendrimer gibi sentetik polimerlerden ve 5 nmden daha küçük kürede tabaka tabaka (layer by layer) yöntemiyle üretilmiştir. Parçacık büyüklüğünün küçük olmasından dolayı deri altına transdermal olarak kullanılabilir.

2.7. Elektrokimyasal Yöntemlerde Validasyon

Validasyon, genel olarak bir cihazın, yöntemin veya sistemin performans özelliklerinin belirlenen koşullara uygun olduğunu gösterme işlemidir. Bunun için önceden belirlenmiş performans özellikleri ile ilgili testler ve/veya ölçümler yapılarak değerlendirilir. Yöntem validasyonu, kullanılan yöntemin (numune alma, hazırlama, veri alma ve değerlendirme vb.) hedeflenen amaca uygun sonuç verdiğini belirli parametreleri (validasyon parametreleri) inceleyerek gösterme işlemidir (Özkan, 2012).

İlaç ve kimya endüstrisinde uygulanan tüm yöntem ve işlemlerin kontrol ve analizlerin doğru, güvenilir ve yeterli bir düzeyde seçilebilir ve uygulanabilir olması önemlidir. Kısaca bir yöntemle yapılmak istenenin yapıldığının dokümanlarla kanıtlanmasını sağlayan bir işlem olarak da tanımlanabilir. Genel olarak yöntem validasyonu parametreleri;

- Seçicilik
- Doğrusallık
- Aralık
- Teşhis Sınırı
- Tayin Alt Sınırı
- Kesinlik
    - Tekrarlanabilirlik
    - Gün içi tekrar edilebilirlik
    - Günler arası tekrar edilebilirlik
- Doğruluk
- Sağlamlık
- Tutarlılık
- Çözelti stabilitesi
- Duyarlılık

2.7.1. Seçicilik

Analizi yapılacak maddenin numunede bulunan, girişim yapma ihtimali olan diğer yardımcı veya etken maddeler yanında miktarının tam ve doğru olarak tayin edilebileceğini gösteren bir parametredir. Stabilite tayinlerinde mutlaka yapılması gereken bir parametredir.

Seçicilik uygulamada tanımlama ve analit/girişimci oranı testi olarak iki ayrı katagoride incelenir. Tanımlama çalışmalarında birbirine yakın yapı ya da özellikteki iki maddenin sinyallerinin birbirinden ayrılabildiği veya her bir sinyalin bağımsız olarak okunabildiği bir çalışmadır.

Analit/girişimci oranı testinde ise girişimci maddenin ölçülen sinyali, önemli derece analitin derişimini değiştirmediği zamanki oranı belirlenmeye çalışılır. Genellikle girişimci yok iken ölçülen sinyal, girişimci varlığında ölçülene göre %5'den az ise girişim yok demektir (Özkan, 2012).

2.7.2. Doğrusallık

Analitin tayini için, analit derişimi ile orantılı olarak değişen bir sinyali ölçülmeli ve bu değişim doğrusal olmalıdır. Doğrusallık aralığının alt ve üst sınırı derişimleri de dahil olmak üzere, çalışma aralığında en az 6 derişim noktası olmalıdır. Değişimin doğrusal olup olmadığının sayısal ifadesi olarak korelasyon katsayısı r ya da tayin katsayısı r^2 kullanılmaktadır. Elektroanalitik cevabın derişime göre kalibrasyonunun grafiksel gösterimi doğrusal bir çizgi oluşturmaya yakınsa ve korelasyon katsayısı $r = 0{,}999$ ve üzerinde ise o zaman doğrusallıktan söz edilebilir. Derişim aralığı içerisinde kalibrasyon standart noktaları birbirine eşit aralıklarda olucak şekilde seçilmelidir. Kalibrasyon standartları en az 5 defa ölçülmelidir (Nakiboğlu, 2013).

2.7.3. Aralık

Doğrusal aralığı, kalibrasyon eğrisinde tayin sınırı ile doğrusallık sınırı arasındaki derişim aralığıdır. Bu aralığa derişim aralığı da denilmektedir. Analiz edilen maddenin derişimin %50'sinden az ve %150'sinden fazla olacak aralıkta değerler seçilmelidir.

2.7.4.Teşhis Sınırı (TS)

Analizi yapılan örneğin belirdiği fakat nicel sınırlar içerisine girmediği en alt derişimdir. Bu değerin hesaplanmasında iki farklı yöntem vardır;

- Görerek değerlendirmeye dayalı yöntem ile belli derişimde seyreltik bir seri analit çözeltisinin sinyalleri ölçülür ve analit sinyalinin görülebildiği en küçük derişim teşhis sınırı kabul edilir.

- Sinyal/Gürültü oranına dayalı yaklaşımda belli ve düşük derişimdeki analit çözeltileri ve kör çözeltilerin sinyalleri ölçülerek karşılaştırılır ve sinyal/gürültü oranı 3 esas alınarak bu oranı sağlayan analit derişimi teşhis sınırı olarak kabul edilir. Bu yaklaşım yalnızca pik şeklindeki sinyaller için uygulanır.

- Standart sapma ve eğiminden giderek hesaplamaya dayalı yaklaşımlarda, TS=3,3 *ss*/m formülü ile teşhis sınırı hesaplanır (*ss*:standart sapma ve m: kalibrasyon grafiğinin eğimi).

2.7.5. Tayin Alt Sınırı (TAS)

Bir yöntemin teşhis sınırı, kabul edilebilir bir doğrulukla tayin edilebilecek en düşük madde miktarı ya da analit derişimi olarak tanımlanmaktadır. TAS değerinin bulunmasında da TS değerinde olduğu gibi üç farklı yöntem kullanılır (Eurochem,1998).

- Görerek değerlendirmeye dayalı yöntem, ölçüm yapılan cihazlarda gerçekleşir. Analizi yapılacak maddenin belli miktarlarda seyreltik derişimlerinden yapılan analizler sonucu yeterli doğruluk ve kesinlikle maddenin tayininin yapılacağı derişim TAS olarak hesaplanır.

- Sinyal/Gürültü oranına dayalı yöntemler, analitin belli düşük derişimdeki çözeltilerden elde edilen cevaplar, kör çözelti cevapları ile karıştırılır. Sinyal/ gürültü oranının 10 olduğu derişim TAS olarak kabul edilir.

- Cevabın standart sapması ve eğim kullanılarak hesaplama yöntemiyle teşhis sınırı (TS) değerinin hesaplanmasında kullanılan formüldeki 3,3 teorik değerin yerine TAS değerini bulmak için kullanılan formülde 10 değeri yazılarak hesaplanır (Özkan, 2012).

$$TAS = 10\ ss/m$$

2.7.6. Kesinlik

Bir numuneye aynı yöntem birden fazla sayıda uygulandığında analit için bulunan sonuçların birbirine yakınlığının bir ölçüsüdür. Kesinlik ifadesinde tekrarlanabilirlik, orta kesinlik ve tekrar edilebilirlik kavramları önemlidir.

Tekrarlanabilirlik: Aynı laboratuvarda, aynı çözeltilerle, aynı cihaz ya da düzenekle, aynı kişi tarafından küçük bir zaman dilimi içerisinde yapılan tekrarlı ölçümlerin uyumunu ifade eder. Bu analitten en az 10 ölçüm alınması gerekir. Kesinlik çalışması ile elde edilen sonuçlar %BSS ile belirtilir. %BSS değeri 1,0 değerine eşit ya da küçük olmalıdır.

Orta Kesinlik: Farklı gün, farklı analizci ve farklı aletler ile laboratuvar içi değişimlerden elde edilen sonuçlardır. Bu kesinlik parametresini sağlayan sonuçlar, diğer parametreleri de doğrudan sağlamış olurlar. Bu hazırlanan çözeltilerden en az 3 tekrar ölçüm alınmalıdır. Elde edilen sonuçların %BSS 2'ye eşit ya da altında olmalıdır (Özkan, 2012).

Tekrar Edilebilirlik: Laboratuvarlar arası işbirliği veya yeterlilik çalışmalarından elde edilen sonuçların uyumunu gösterir ve farklı laboratuvarda farklı çözeltilerle, farklı cihazlarla, farklı analizciler tarafından farklı zamanlarda yapılan ölçümler ile elde edilen ve deneysel farklılıkları belirten bir kesinlik derecesidir. Çözeltilerden en az 3 tekrar ölçümü alınmalıdır. Elde edilen sonuçların %BSS 2'ye eşit ya da altında olmalıdır.

Kesinliğin sayısal ölçütleri standart sapma (s), varyans (s^2), aralık (R), bağıl standart sapma (BSS) ve ortalamanın standart hatasıdır.

Standart sapmanın veya aralığın değerinin küçük olması kesinliğin daha iyi olduğunun göstergesidir (Özkan, 2012).

2.7.7. Doğruluk

Ölçümle bulunan bir değerin ölçülenin gerçek değerine yakın olma özelliğidir bir diğer ifade ile bir analitik yöntemin doğruluğu, elde edilen değerin gerçek değere veya referans olarak kabul edilmiş olan değere yakınlığının ölçüsüdür.

Doğruluk parametresi geri kazanım sonuçları ile ilişkilidir. Geri kazanım, bir örneğe bilinen miktarda analit ilavesinden sonra o örnekte tayin edilen analit miktarının kesri olarak tanımlanabilir ve yüzde geri kazanım olarak ifade edilir. Değerin %100'e yakın çıkması o yöntemin ne kadar doğru olduğunu gösterir.

Geri kazanım çalışmalarında 3 farklı yöntem kullanılır;

- Referans bir standart ile karşılaştırma

  Daha önce çalışılmış kaynaklardan yararlanılarak standart belirlenip, karşılaştırma yapılır. Analiz edilen maddenin farklı derişimlerinde en az 6 nokta belirleyerek ölçüm yapılır. Bu ölçümler ile yüzde geri kazanım değerleri bulunarak, yöntemin doğruluğu hakkında bilgi verilir.

- Kör matriks ortamında analiz edilen maddeyi ilave etmek

Bu yöntemde analiz edilen madde boş matrikse farklı derişimlerde eklenir ve safsızlıklardan, yardımcı maddelerden etkilenip etkilenmediği incelenir. Genellikle belli oranlarda(%50, 75, 100, 125, 150) madde ilave edilir ve en az 3'er tekrarlı ölçüm alınır. Elde edilen sonuçlar yüzde geri kazanım değeri, % bağıl standart sapma (%BSS) ve % bağıl hata (%BH) değerleri bulunur.

- Standart ekleme yöntemi ile saf madde eklenmesi:
  Analiz yapılacak madde, belli ve farklı miktarlarda matriks içerisinde yer alan ve miktarı bilinmeyen veya daha önce tayin edilmiş aynı maddenin üzerine ilave edilir. Genellikle analiz yapılacak maddenin %25, 50 ve 100 oranlarında madde ilave edilir ve 3'er tekrarlı ölçüm yapılır. Sonuçlar ilave edilen ve ölçülen madde miktarları ile ifade edilir. Ayrıca yüzde geri kazanım, %BSS, %BH değerleri hesaplanmalıdır (Özkan, 2012).

2.7.8. Sağlamlık

Bir elektroanalitik işlemin sağlamlığı deney sonunda elde edilen değerlerin elektroanalitik şartlardaki küçük değişiklikler karşısında etkilenmeden kalabilme kapasitesi olarak tanımlanabilir (ICH Rehberi, 2005,13).

Bir başka ifade ile yöntemin optimum parametrelerinden uzaklaşıldığında gerçekliğin ve kesinliğin ne kadar etkilendiğinin bir ölçütüdür. Yöntemdeki belirlenen parametreler, yöntemin gerçeklik ve sağlamlık sonuçlarına göre seçilir. Eğer, belirlenen parametrelerdeki küçük değişiklik, yöntemin gerçeklik ve sağlamlık sonucunu kayda değer ölçüde etkilemiyorsa bu yöntemin sağlamlığını gösterir.

2.7.9. Tutarlılık

Değişik koşullar altında elde edilen sonuçların birbiri arasındaki uyumudur ve %BSS değeri ile gösterilir. Orta kesinlik ile ilişkilidir. ICH e göre yapılması gereken zorunlu bir parametre değildir (ICH Rehberi, 2005,16).

- Farklı analizciler tarafından aynı yöntemi kullanarak,
- Aynı olmayıp benzer cihazları kullanarak,
- Farklı markaların reaktif ve çözücülerini kullanarak,

- Farklı sıcaklıkta ve farklı günlerde aynı yöntem ile çalışılarak tutarlılık parametresi değerlendirilir ve %BSS olarak ifade edilir.

2.7.10. Çözelti Stabilitesi

Belli bir süre içerisinde numune, standart madde ve çözücülerden alınan ölçümlerin tekrar edilebilir ve güvenilir sonuçlara göre stabilite değerlendirmesi yapılır. Stabilite çalışmalarında istenilen ve kullanılan maddelerin özelliklerine göre çalışma sıcaklık aralığı ve süreler (saat, gün, hafta ve ay) belirlenir.

Geliştirilen yöntem sırasında kullanılan maddelerin zamanla miktarında bir değişim ya da bozunma olup olmadığı dair bilgi verir.

Stabilite çalışmaları dört farklı yöntem ile yapılabilir;

- *Dondurma- çözme stabilitesi:* Öncelikle düşük ve yüksek derişim olmak üzere en az üç farklı noktada çözelti hazırlayıp 24 saat dondurulur daha sonra da oda koşullarında kendiliğinden çözülmesi için beklenir. Çözelti çözündükten sonra 12-24 saat süreyle tekrar dondurulur. Bu döngü üç defa yapılır ve döngü tamamlandıktan sonra tayin işlemi yapılır.

- *Uzun süreli stabilite:* Deney kapsamında kullanılan maddelerin ilk kullanımından son kullanımı arasında geçen süreyi kapsar. Faklı derişimlerde (en az 3 farklı derişim) alınan numunelerin miktarında değişim ve bozunma olup olmadığına dair çalışmalar yapılır. Elde edilen sonuçlar taze hazırlanmış stok çözelti veya ilk toplandığı andaki sonuçlar ile karşılaştırılarak stabilite tayin edilmiş olur (Özkan, 2012, 330; Swartz ve Krull, 2012, 148).

- *Kısa süreli stabilite: B*u yöntemde düşük ve yüksek derişimlerden seçilerek en az 3 farklı derişimdeki numuneler oda sıcaklığında çözülür ve bu sıcaklıkta belli saat aralığında (4-24 saat) tutulur ve analiz edilir ve sonuçlar taze stok çözelti ile karşılaştırılarak stabilite tayin edilmiş olur (Özkan, 2012, 330; Swartz ve Krull, 2012, 148).

- *Bozunma Çalışmaları:* Çevre koşulları değiştirilerek farklı derişimlerde olan numune çözeltisi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu çevre koşulları;
    - *Sıcaklık*: Her 10^{o}C'lik sıcaklık artışının etkisi
    - *Nem:* Nemlilik oranının (%75'ten fazla veya ona eşit) analitin üzerine etkisi
    - *Hidroliz:* Analit 8 saat süreyle ayrı ayrı 0,1 N HCl ve 0,1 N NaOH çözeltilerinde bekletilir ve bozunma ürünlerinin ortaya çıkıp çıkmadığı
    - *Oksidasyon:* %3–30 oranında H_2O_2 kullanılarak
    - *Işık:* Analitin UV, floresan ve/veya beyaz ışığa maruz bırakılması

2.7.11. Duyarlılık

Duyarlılık, çalışma analitinin derişimine bağlı olarak cevabın ne kadar değiştiğini gösteren bir parametredir.

Doğrusallığın geçerli olduğu aralıktaki doğru denkleminin eğimidir. Doğrusallık çalışmalarında ölçülerek doğrusallıktan sapmaların teşhisi için kullanılır (Özkan, 2012, 308).

Bir yöntemin duyarlılığı ne kadar yüksekse seçiciliği o kadar düşüktür. İyi bir analitik yöntemde duyarlılık orta seviyelerde tutulurken seçiciliğin yüksek seviyede olması beklenir. TAS olarak da tanımlanmaktadır. TAS ne kadar küçükse yöntem o derece duyarlıdır (Aboul-Enein ve ark., 2000, 85).

2.8. Surfaktanların Elektrokimyasal Alanda Kullanımı

Surfaktanların analitik sinyale olan etkilerini araştırmak için anyonik (Sodyum dodesil sülfat (SDS)), noniyonik (Bütilamonyumklorür (BAK)) ve katyonik surfaktanlar (Setiltrimetilamonyum bromür (STAB)) kullanılmıştır. Kullanılan surfaktanlardan STAB, BAK ve SDS analitik sinyali pozitif etkilemiştir. Çalışmalarda analitik sinyali en fazla etkileyen BAK olmuştur.

Nötr surfaktan olan BAK modifikasyon işlemi için elektrodun bileşiminde yer almıştır. Gümüş nanoparçacık ile belli deşimlerde surfaktan karıştırılarak elektrodun yüzeyi modifiye edilmiştir (Shehata ve ark., 2016).

Elektrokimyasal çalışmalarda surfaktanın en önemli etkileri:

- Sulu ortamda surfaktan moleküllerinin varlığı elektriksel çift tabakanın yapısını, yük transfer hız sabitini, difüzyon sabitini modifiye eder. Sonuçta analitin yükseltgenme geriliminde önemli kaymalar olur.

- Surfaktanlar seçici olarak maskeleme özelliği gösterirler ve elektrokimyasal analizlerde seçiciliği ve duyarlığı artırabilirler.
- Surfaktanlar radikalleri ve ara tepkime ürünlerini stabilize ederler.
- Surfaktanlar hidrofobik bileşikleri kolaylıkla çözerek elektrokimyasal çalışmalarda susuz ortam çözücülerinden gelecek problemleri ortadan kaldırırlar.

2.9. NaCl Çözeltisinin Nanoparçacıkların Stabilitesine Etkisi

Radziuk ve ark. (2007)'nın yaptığı çalışmada nanoparçacıkların boyutlarının küçük olmasından dolayı meydana gelen agregatlardan dolayı elektrokimyasal alanda tekrar edilebilir ölçümlerde sorun yarattığı görülmüştür ve böylece çeşitli polimerlerin içerisinde nanoparçacıkları hapsederek farklı derişimlerde NaCl çözeltisinin elektrokimyasal sinyaller üzerine etkisi incelenmiştir (Radziuk ve ark, 2007, 28). Tez kapsamında gümüş nanoparçacıkların stabilitesini korumak için farklı derişimlerde NaCl çözeltisi ile çalışılmıştır.

2.10. Kullanılan Araç ve Gereçler:

Çizelge 2.2 Tez kapsamında kullanılan araç ve gereçler

Elektrokimyasal Analizör		BAS 100W
Deney Hücresi		Tek bölmeli voltametrik hücre (BASi MR 1208)
Elektrotlar	Çalışma Elektrodu	Camsı karbon elektrot (BASi MF 2070)
	Yardımcı Elektrot	Platin tel elektrot (BAS, MF 4130)
	Karşılaştırma Elektrodu	Ag/AgCl (3M KCl) (BAS MF 2021)
Manyetik karıştırıcı-ısıtıcılı		Ikamag RH (Jange and Kungel IKA-Labor Technic)
Hassas terazi		Labor Alliance ve Shimadzu Libror AEG –220
pH metre		Model 538 (WTW, Austria)
Ultrasonik banyo		
Farklı hacimlerde balonjoje, kapaklı, hacmi belirli deney tüpleri, cam ve porselen havan, beherler		İnterlab
Parlatma pedleri		BASi MF 1040

2.11. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çizelge 2.3 Tez kapsamında kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	**Firma**
Asetik Asit(%99-100)	Sigma-Aldrich
Hidroklorik asit(%37)	Sigma-Aldrich
Sülfürik Asit	Merck
Fosforik Asit	Sigma-Aldrich
Potasyum dihidrojen fosfat	Sigma-Aldrich
Sodyum klorür	Sigma-Aldrich
N,N-dimetilformamid (DMF)	Merck
Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)	DropSens
Tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNT)	DropSens
Metanol (MeOH)	Merck
Etanol (EtOH)	Merck
Setiltrimetilamonyum bromür (STAB)	Sigma-Aldrich
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma-Aldrich
Bütilamonyumklorür (BAK)	Sigma-Aldrich
Nafion	Sigma-Aldrich
Kitosan	Sigma-Aldrich
Polietilenglikol(PEG400)	Sigma-Aldrich
İndirgenmiş grafen oksit(rGO)	Sigma-Aldrich
Au ve Ag nanoparçacık çözeltileri (10 nm)	Nanocs
Mili Q distile su	

2.12. Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması:

2.12.1. Destek Elektrolitlerinin Hazırlanması

Deneysel çalışmalarda destek elektroliti olarak, analizi yapılacak maddeleri kolayca çözebilen, çalışılabilecek pH aralığı sağlayan ve oldukça düşük akım veren çözeltiler seçilmiştir.

Çalışmalarda destek elektroliti olarak 0,1 M H_2SO_4 ve 0,5 M H_2SO_4 ve farklı içeriklerde asidik ve bazik tampon çözeltileri (fosfat, asetat, borat ve Britton-Robinson tamponları) hazırlanmıştır.

-Asetat tamponunun hazırlanışı: Asetat tamponu hazırlamak için glasiyel asetik asit distile suda çözülerek 1 M stok çözelti hazırlanmış ve 5 M NaOH ile pH 3,7 – 5,7 aralığında üç farklı pH değerine ayarlanmıştır.

-Fosfat tamponunun hazırlanışı: Fosfat tamponu hazırlamak için her bir pH da H_3PO_4 ve $NaH_2PO_4.2H_2O$'dan belli miktarda tartıp distile suda çözerek pH 6,0-8,0 aralığında 5 farklı pH değerlerine ayarlanmıştır.

-Borat tamponunun hazırlanışı: Borat tamponu hazırlamak için uygun miktarda borik asit tartılarak distile suda çözülmüştür ve bu stoktan hareketle 5 M NaOH kullanılarak pH 9,0 – 10,0 aralığında çözeltiler hazırlanmıştır.

-Britton-Robinson tamponunun hazırlanışı: Britton – Robinson (BR) tamponu hazırlamak için 2,47 g borik asit, 2,7 mL derişik fosforik asit ve 2,3 mL glasiyel asetik asit içeren 1000 mL çözelti distile su kullanılarak hazırlanmıştır ve 5 M NaOH çözeltisi ile istenen pH değerlerine (2,0 – 12,0) ayarlanmıştır.

2.12.2. Standart Maddenin Stok Çözeltisi

TDF suda çözünen bir etken maddedir. $1x10^{-3}$M derişimde stok çözeltileri, 63,5 mg etken madde hassas şekilde tartılıp distile suda çözülerek 100 mL'ye balon jojede tamamlanarak hazırlanmıştır. Farklı derişimlerde standart maddeler, hazırlanan stok çözeltilerden destek elektrolitleri ile seyreltme yapılarak elde edilmiştir.

2.12.3. Tablet Çözeltisinin Hazırlanması

TDF içeren tablet çözeltisi hazırlanışı: 5 adet Viread® tablet hassas olarak tartılmış (3,6240 g) ve havanda toz haline getirilmiştir. Bu tozdan $1x10^{-3}$ M tenofovir'e eşdeğer miktarda (76,8 mg) tam tartılmış ve uygun tampon (pH 4,7 ve pH 5,7 Asetat tamponu) çözeltisinde çözünerek balon jojede 50 mL'ye tamamlanmış ve ultrasonik banyoda 1 saat karıştırılmıştır.

Tablet çözeltisi hazırlandıktan sonra, bütün maddeler için uygulanan işlem üstteki berrak çözeltiden uygun miktarda alıp, destek elektroliti ile gerekli hacme tamamlamaktır. Hazırlanan çözeltilerin standart çözeltilerle aynı koşullarda voltamogramları alınmıştır.

2.12.4. Geri Kazanım Çalışmaları için Çözeltilerin Hazırlanması

Tablet içerisindeki katkı maddelerinin girişim yapıp yapmadığını anlamak amacıyla bütün etken maddelerin tabletlerinden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla tablet stoğunun bilinen miktarı ve belirli miktarda o tablet içinde bulunan saf madde karışımı destek elektroliti ile seyreltilip, tabletlere uygulanan işlemler aynen bu çözeltilere de uygulanmış ve voltamogramları kaydedilmiştir. Bu verilerden tabletlerde bulunan etken madde miktarı çıkartılarak, tartılan saf madde miktarının ne kadarının tayin edilebildiği yani ne kadarının geri kazanılabildiği hesaplanmıştır.

2.12.5. Karbon Nanotüp(TDKNT- ÇDKNT) Süspansiyonlarının Hazırlanması

Karbon nanotüpten 0,5 mg alınarak 1 mL DMF çözeltisi içerisine ilave edilip, ultrasonik banyoda 2 saat karıştırılmıştır.

2.12.6. İndirgenmiş Grafen Oksit Süspansiyonunun Hazırlanması

1,0 mg indirgenmiş grafit oksit hassas olarak tartılıp, 1 mL DMF çözeltisine ilave edilip, ultrasonik banyoda 2 saat karıştırılmıştır.

2.12.7. Kitosan/Karbon Nanotüp Süspansiyonunun Hazırlanması

100 µL Kitosan Çözeltisi ve Bölüm 2.12.5'de belirtilen karbon nanotüp çözeltisinden 100 µL alınarak, 1:1 oranında ultrasonik banyoda 2 saat karıştırılmıştır.

2.12.8. Nanoparçacık/ Karbon Nanotüp Süspansiyonunun Hazırlanması

100 µL gümüş/altın nanoparçacık çözeltisi ve Bölüm 2.12.15 'de belirtilen karbon nanotüp çözeltisinden 100 µL alınarak 1:1 ve 1:2 oranında ultrasonik banyoda 2 saat karıştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 1:1 oranında yapılan karıştırma daha iyi sonuç vermiştir.

2.12.9. Layer-by-Layer (Tabaka-Tabaka) Yöntemi

Bu yöntemde farklı modifiye edicilerin elektrot yüzeyine tabaka halinde üst üste damlatma işlemidir. Damlatma arasında belli sürelerde (yaklaşık 1 saat) kurutma işlemi için bekletilir. AgNP ve karbon nanotüp ile tabaka-tabaka tekniği ile çalışma yapılmıştır. İstenilen düzeyde bir sonuç alınamamıştır.

2.12.10. Gümüş Nanoparçacıkların Farklı Ortamlar ile Çözeltisinin Hazırlanması

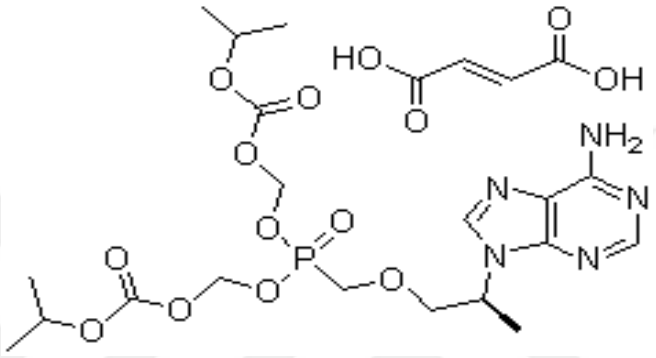
Gümüş nanoparçacıkların katalik özelliğini arttırmak için surfaktanlar, polimer ve saf su ile birlikte çalışmalar yapılmıştır. Tez kapsamında surfaktan olarak bütilamonyumklorür (BAK) kullanılmış, polimer olarak PEG 400 kullanılmıştır. 10 µL AgNp çözeltisi ile 2,5 µL BAK, PEG 400 ve saf su ayrı ayrı ultrasonik banyonda 2 saat karıştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre surfaktan ile karıştırılan çözeltinin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür.

Farklı derişimde (10^{-2} M; 10^{-4} M; 10^{-6} M) bütilamonyumklorür (BAK) ile AgNp karıştırılıp camsı karbon elektrot yüzeyine damlatılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 2,5 µL 10^{-4} M BAK çözeltisi ve 10 µL AgNp çözeltisi karıştırılıp 10 µL elektrot yüzeyine damlatıldıktan sonra elektrokimyasal analizin sonucunda sinyallerin daha iyi olduğu saptanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Voltametrik Teknikler ile İncelenmesi

Tenofovir'in camsı karbon elektrot ile voltametrik çalışmasında, dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV), kare dalga voltametrisi (KDV) ve adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) teknikleri kullanılmıştır.

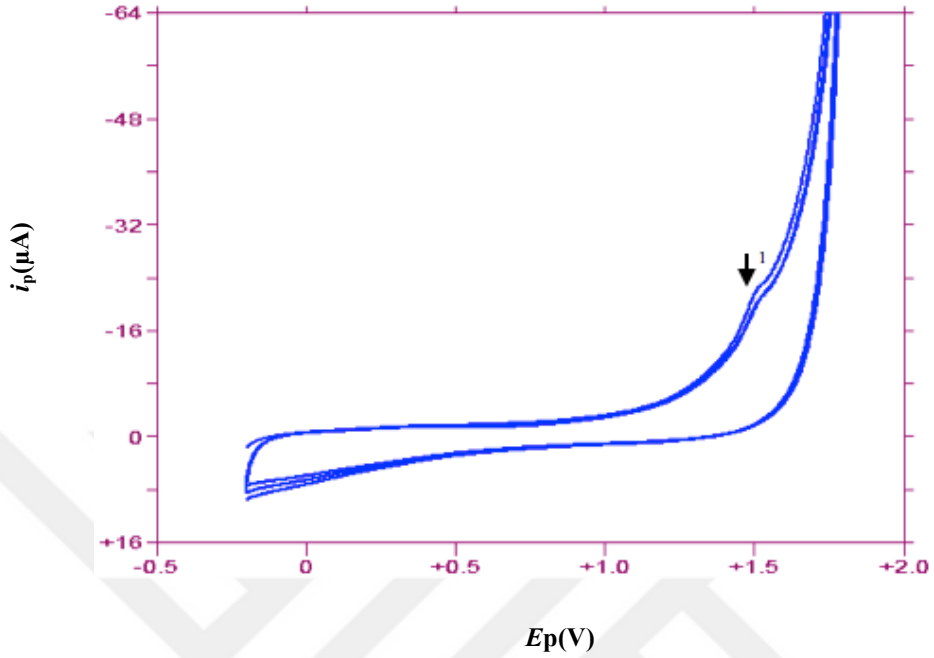


Şekil 3.1 TDF'nin kimyasal yapısı

3.1.1. Camsı Karbon Elektrot ile Tenofovir'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle İncelenmesi

4×10^{-5} M Tenofovir'in yükseltgenme davranışı camsı karbon elektrot ile 0,1 M H_2SO_4, pH 2,0 – 9,0 BR tamponu, pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ve pH 6,0 – 7,0 fosfat tamponu ortamlarında DV tekniği kullanılarak pH taraması yapılmıştır. Ayrıca bu teknik 4×10^{-5} M Tenofovir için pH 4,7; 5,7 asetat tamponu ve pH 4,0 BR tamponu içerisinde hız taraması çalışmaları için de kullanılmıştır. Çalışılan pH değerlerinde elde edilen voltamogramlarda geri dönüş yönünde çalışılan potansiyel aralığında herhangi bir pik veya dalga görülmemiştir.

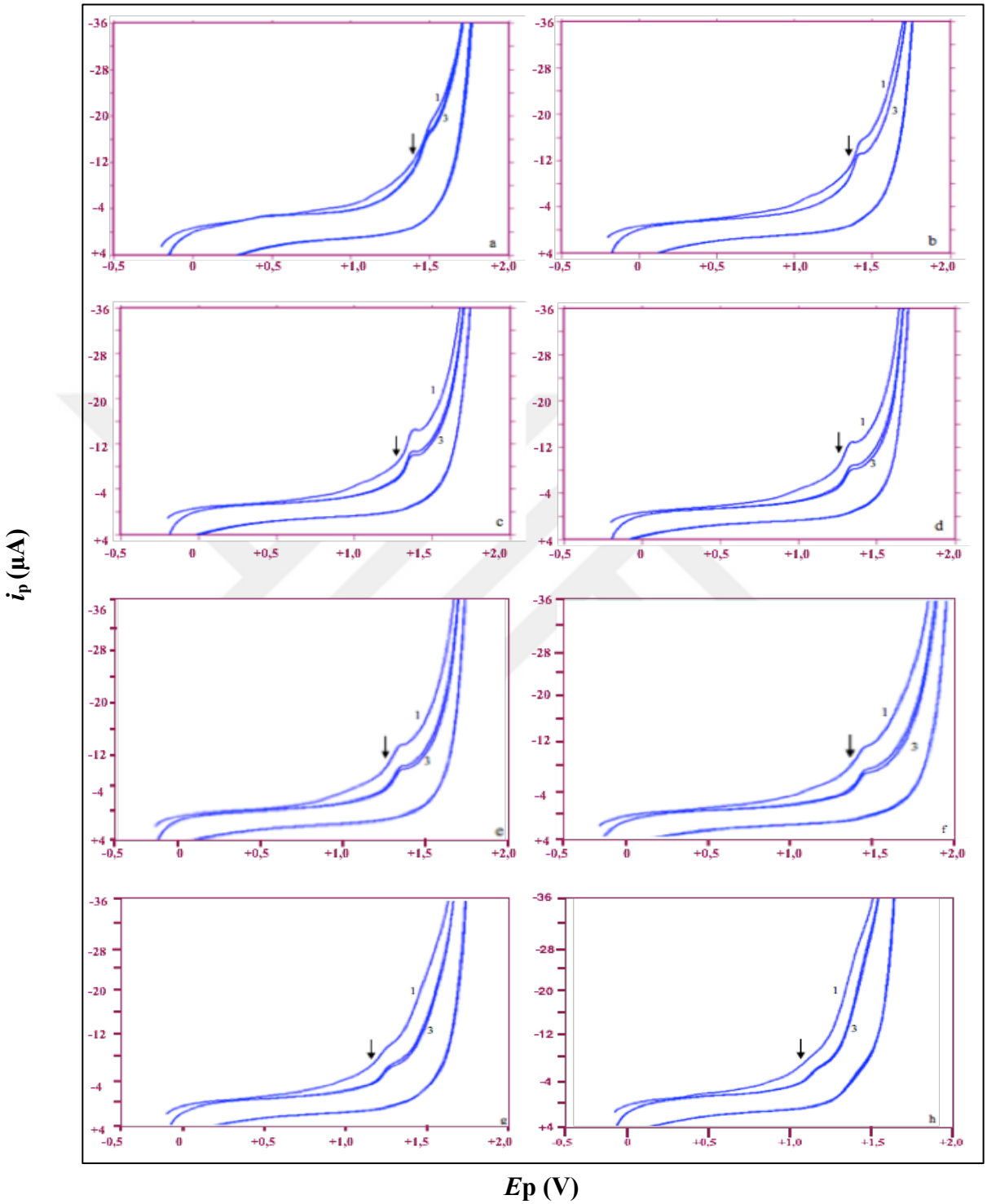
4×10^{-5}M Tenofovir'in 0,1 M H_2SO_4 ortamında incelenen dönüşümlü voltamogramı Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. 4×10^{-5} M tenofovir'in 0,1 M H_2SO_4 ortamında incelenen dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}.

Camsı karbon elektrotla $4x10^{-5}$M Tenofovir'in 0,1 M H_2SO_4 ortamında dönüşümlü voltametri ile elde edilen pik akımı değeri 0,997 µA ve potansiyel değeri 1514,8 mV olarak bulunmuştur.

4×10^{-5} M Tenofovir'in pH 2,0 – 9,0 aralığında BR tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.3'de görülmektedir.

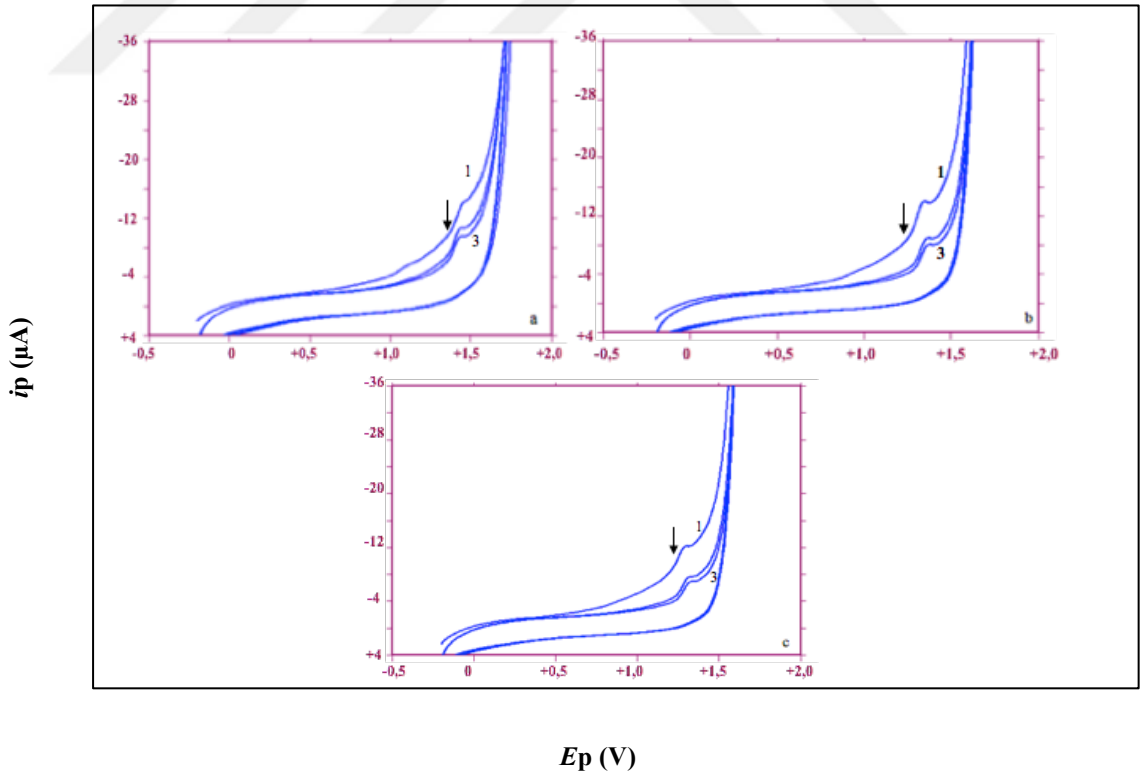


Şekil 3.3. 4×10^{-5}M tenofovir'in pH 2,0 (a), 3,0 (b), 4,0 (c), 5,0 (d), 6,0 (e), 7,0 (f), 8,0(g), 9,0(h) BR tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}.

Çizelge 3.1. BR tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
2,00	1,800	1500,4
3,00	2,176	1432,8
4,00	2,705	1380,3
5,00	2,366	1332,6
6,00	2,155	1290,3
7,00	1,457	1256,9
8,00	0,398	1200,0
9,00	0,229	1126,0

4×10^{-5} M Tenofovir'in pH 3,7- 5,7 asetat tamponu aralığında incelenen dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.4'de verilmiştir.

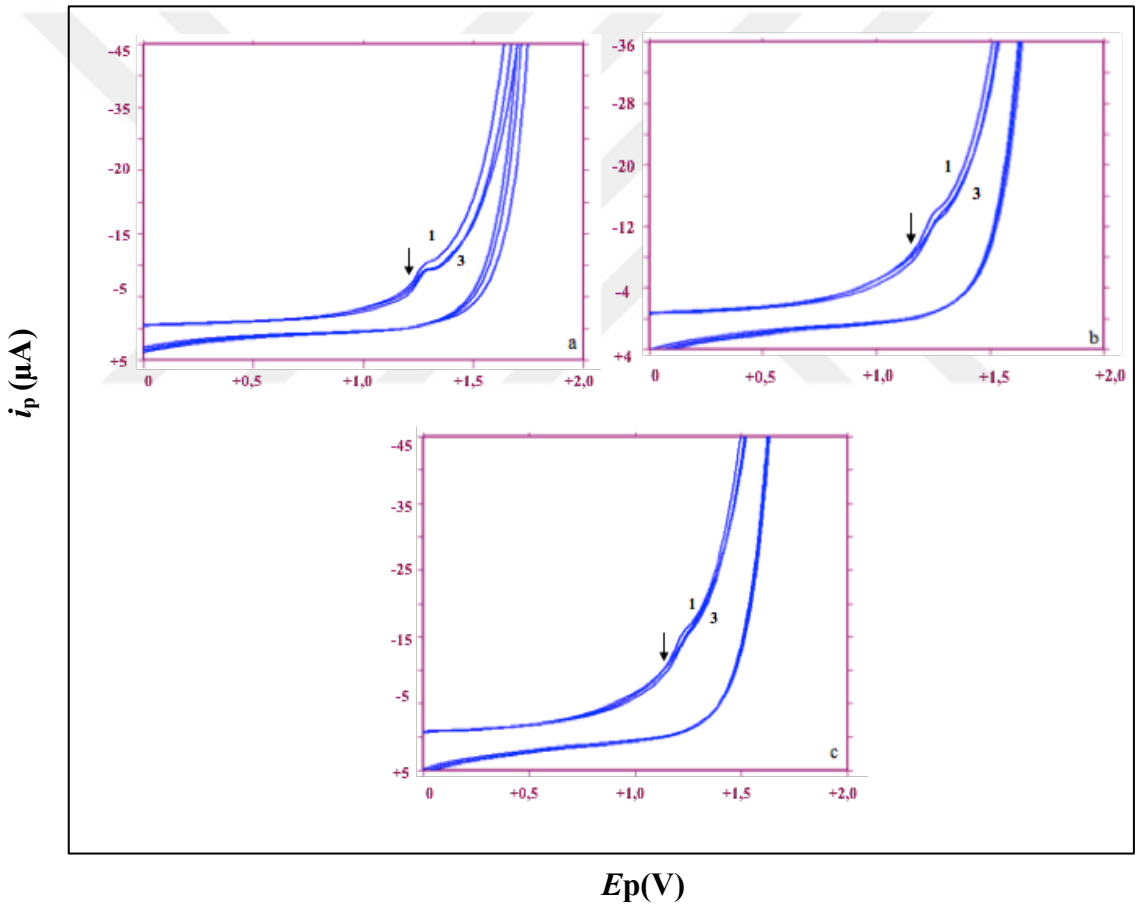


Şekil 3.4. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 3,7 (a), 4,7 (b), 5,7 (c) asetat tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}

Çizelge 3.2. Asetat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
3,7	2,051	1447,7
4,7	2,288	1336,5
5,7	1,952	1295,2

4×10^{-5}M Tenofovir'in pH 6,02- 7,0 fosfat tamponu aralığında incelenen dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.5'de verilmiştir.



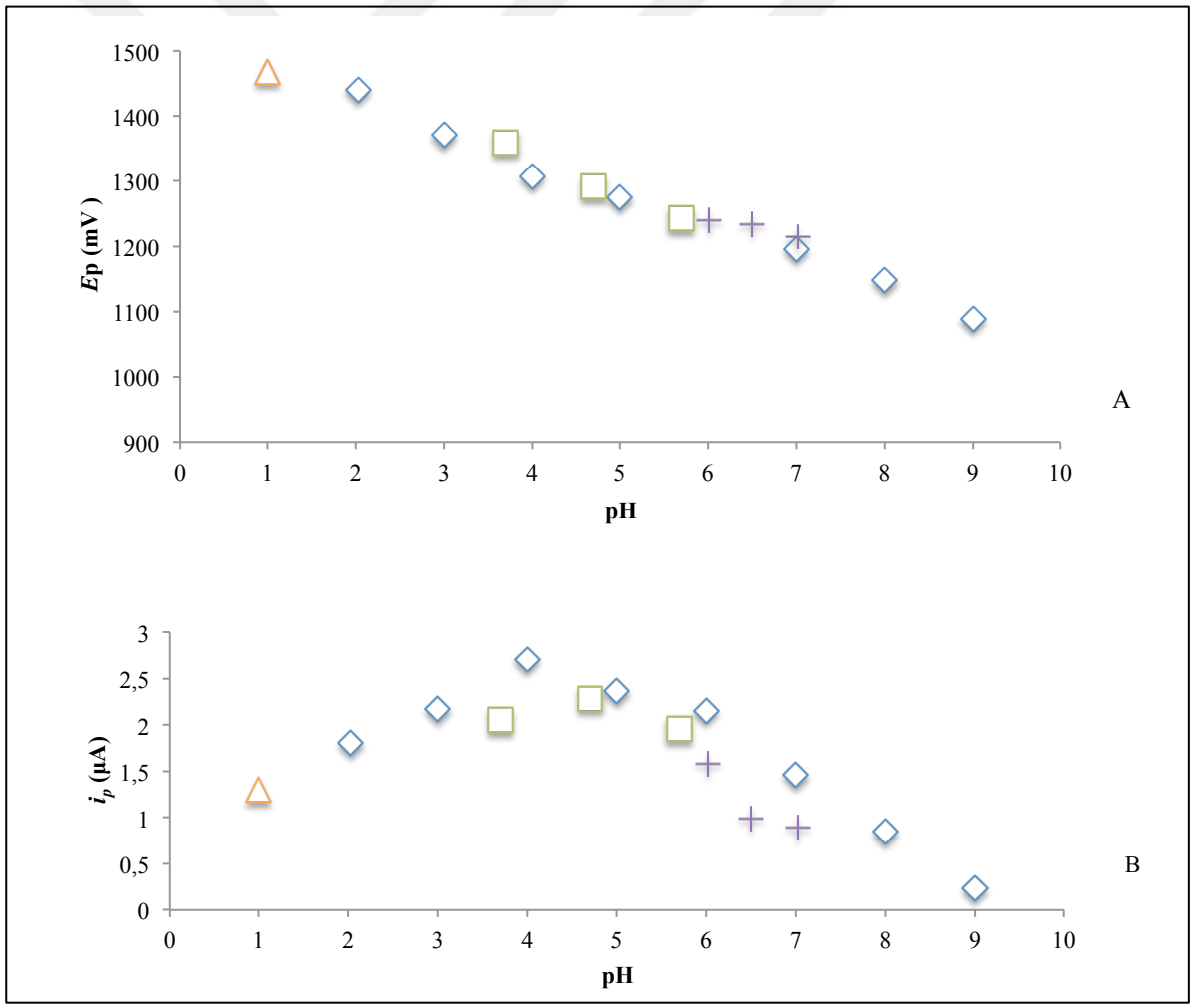
Şekil 3.5. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 6,0 (a), 6,5 (b), 7,0 (c) fosfat tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}

Çizelge 3.3. Fosfat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı(µA)	Pik Potansiyeli (mV)
6,02	1,584	1274,7
6,50	0,988	1274,2
7,0	0,891	1248,2

Dönüşümlü voltametri yöntemi ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça tenofovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.6). E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

Ep(mV)=-47,781pH+1517,8; r=0,994 (pH 1,0-9,0)



Şekil 3.6. 4×10^{-5} M tenofovir'in dönüşümlü voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B) üzerine etkisini gösteren eğriler. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}. (Δ):H_2SO_4,(□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu, (+): Fosfat tamponu.

pH taraması sonuçlarına göre tenofovir'in dönüşümlü voltamogramları incelendiğinde pik akımı ve pik şekli açısından analitik çalışmalar için uygun olan ortamlar pH 4,7 asetat tamponu, 5,7 asetat tamponu, 4,0 BR tampon olarak seçilmiştir. Bu tamponlar içerisinde $4x10^{-5}$ M derişimde 5-1000 mV s^{-1} aralığında hız taraması yapılmıştır.

4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında tarama hızı ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu,

i_p (µA) = 0,0134v (mVs^{-1}) + 1,0864 (r: 0,993 ; n: 10)

denklemi ile verilmiştir.

Aynı ortamda tarama hızının kare kökü ile pik akımı arasında bir ilişki olduğu,

i_p (µA) = 0,453$v^{1/2}$ (mVs^{-1}) – 1,238 (r: 0,989 ; n:10)

denklemi ile verilmiştir.

Tenofovir için pH 4,7 asetat tamponu içerisinde log v – log i_p eğrisinin eğim değeri 0,655 olarak bulunmuştur; buradan elde edilen doğru denklemi,

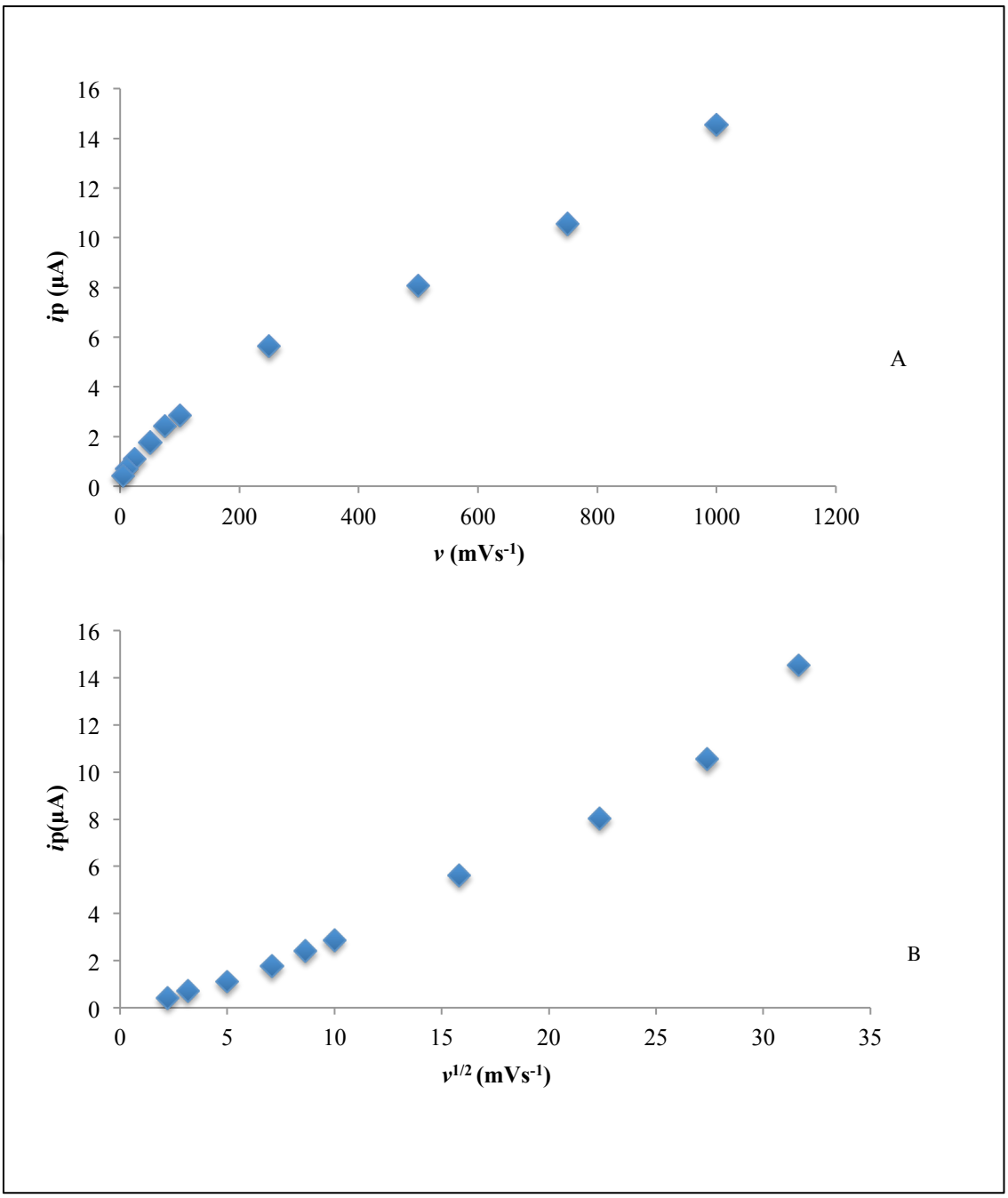
log i_p (µA) = 0,655log v (mVs^{-1}) – 0,843 (r: 0,999 ; n: 10)

ile verilmiştir.

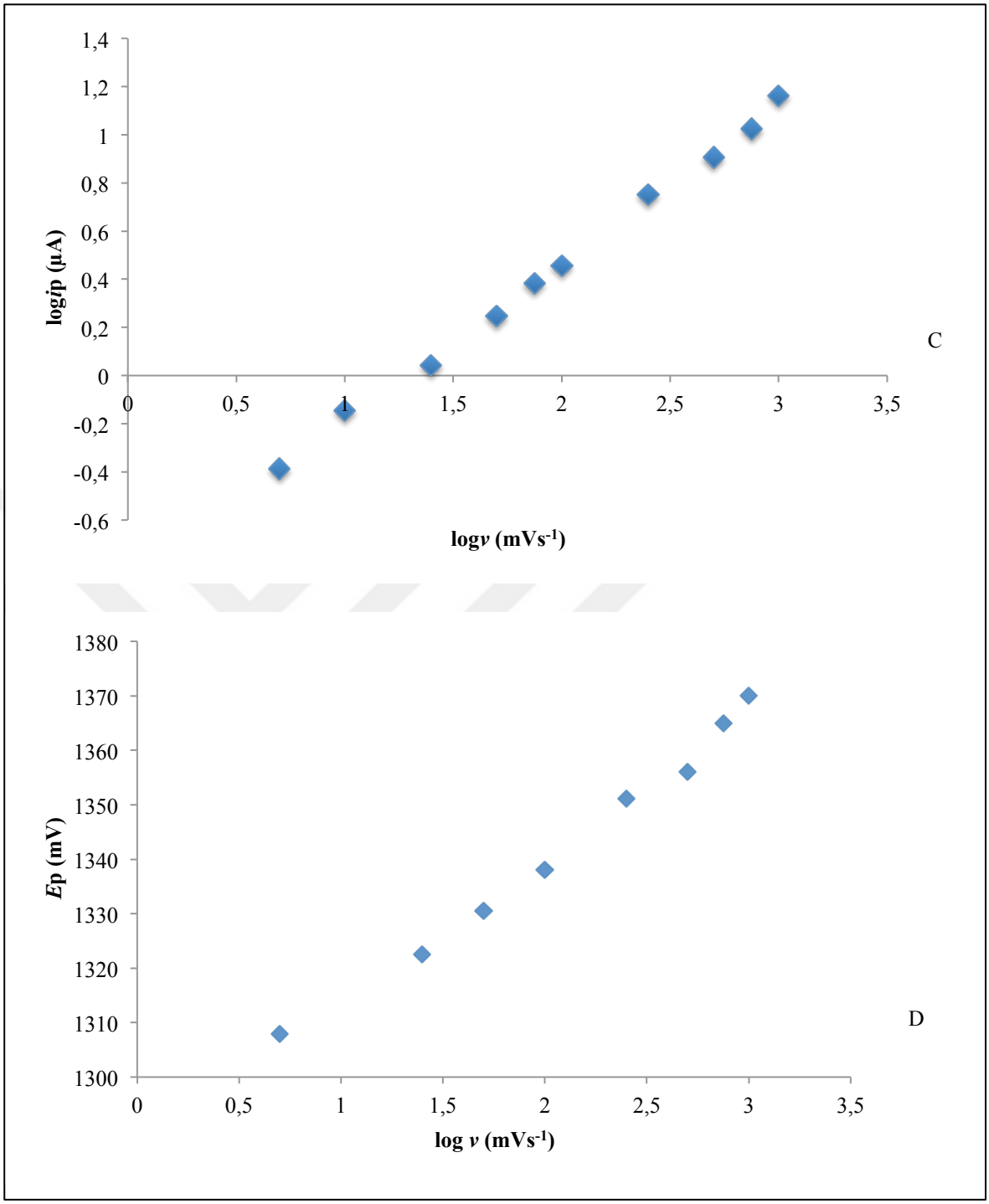
Tenofovir için CKE ile yapılan hız taraması sonuçlarına göre çizilen E_p – log v eğrisine ait eğim değeri 26,54 olarak bulunmuştur, buradan elde edilen doğru denklemi,

E_p (mV) = 26,871 log v (mV s^{-1}) + 1283,1 (r = 0,994 n = 8) şeklindedir.

4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında elde edilen tarama hızının kare kökü- akım eğrisi, log v – log i_p eğrisi, tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli eğrisi ve tarama hızı - pik akımı eğrisi sırasıyla Şekil 3.7A, Şekil 3.7B, Şekil 3.7C ve Şekil 3.7D'de verilmiştir.



Şekil 3.7. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında 5–1000 mV s^{-1} aralığında yapılan tarama hızı-pik akımı (A), hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.



Şekil 3.7. (devam) 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında 5–1000 mV s^{-1} aralığında yapılan tarama hızı-pik akımı (A), hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

Teorik olarak log v –log i_p eğrisinden elde edilen eğim değerleri 0,5'e yakınsa reaksiyon difüzyon kontrollü, 1'e yakın ise adsorpsiyon kontrollü olmaktadır (Laviron ve ark., 1980). 0,655 olarak elde edilen eğimin bahsedilen teorik değerler arasında olması reaksiyonun adsorpsiyonunda etkili olabildiği difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Böylece, hız taraması çalışmasında tarama hızı- pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu Şekil 3.7A'da verilmiştir. 5–1000 mV s^{-1} tarama hızı aralığında potansiyelin hız artışıyla birlikte 69,4 mV daha pozitif potansiyele kaymıştır.

4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,0 BR tamponu ortamında 5–750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasında tarama hızı ile pik akımı arasında ilişki,

i_p (μA) = 0,0087 v (mVs^{-1}) + 1,256 (r: 0,978 ; n: 10)

denklemi ile verilmiştir.

pH 4,0 BR tamponu ortamında tarama hızının kare kökü ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu,

i_p (μA) = 0,290$v^{1/2}$ (mVs^{-1}) – 0,255 (r: 0,996 ; n: 9)

denklemi ile verilmiştir.

Aynı ortamda log v – log i_p eğrisinin eğim değeri 0,583 olarak bulunmuştur; buradan elde edilen doğru denklemi,

log i_p (μA) = 0,583 log v (mVs^{-1}) – 0,765 (r: 0,997 ; n: 9)

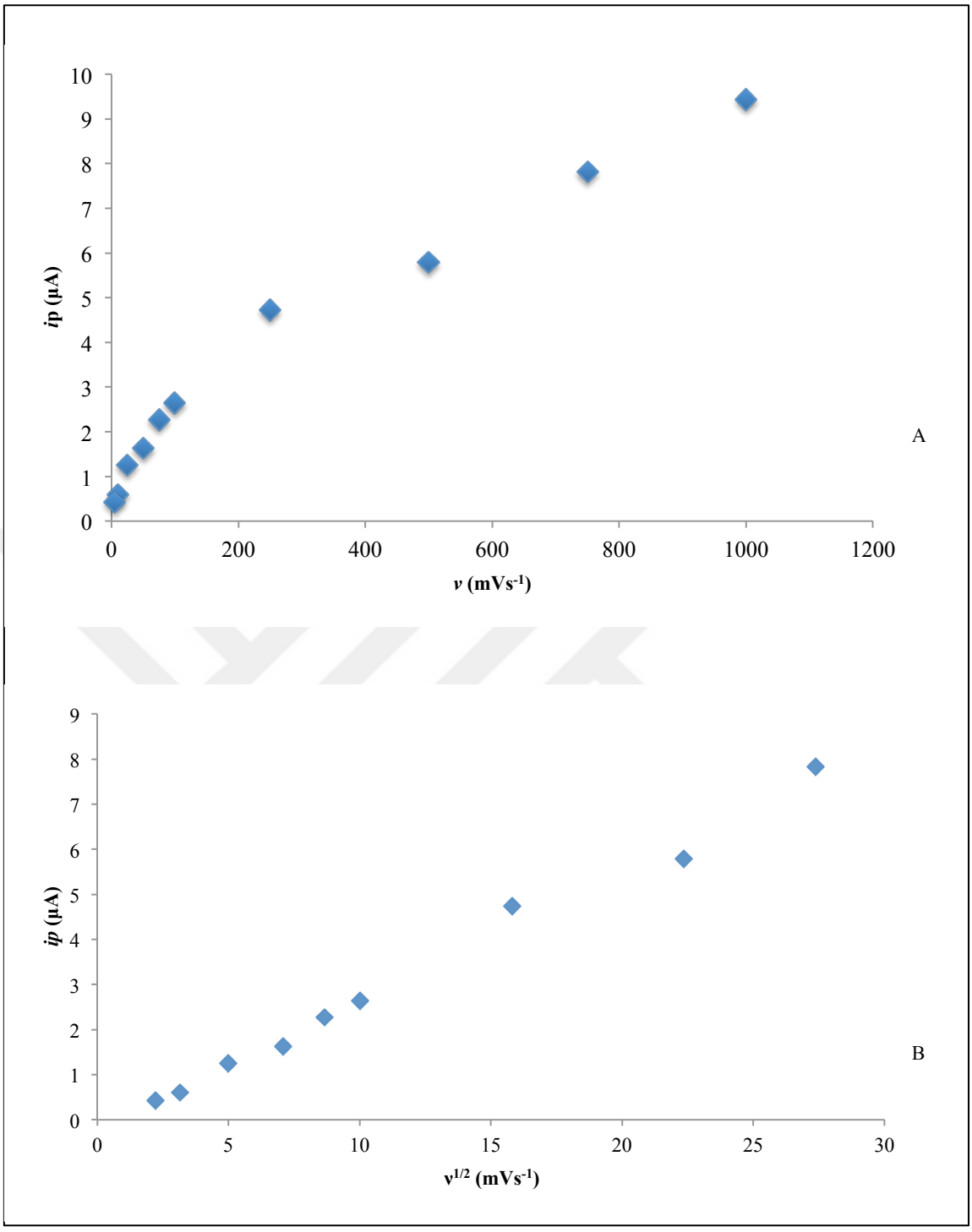
ile verilmiştir.

Tenofovir için pH 4,0 BR tamponu içerisinde CKE ile yapılan hız taraması sonuçlarına göre çizilen E_p – log v eğrisine (Şekil 3.8C) ait eğim değeri 47,58 olarak bulunmuştur, buradan elde edilen doğru denklemi,

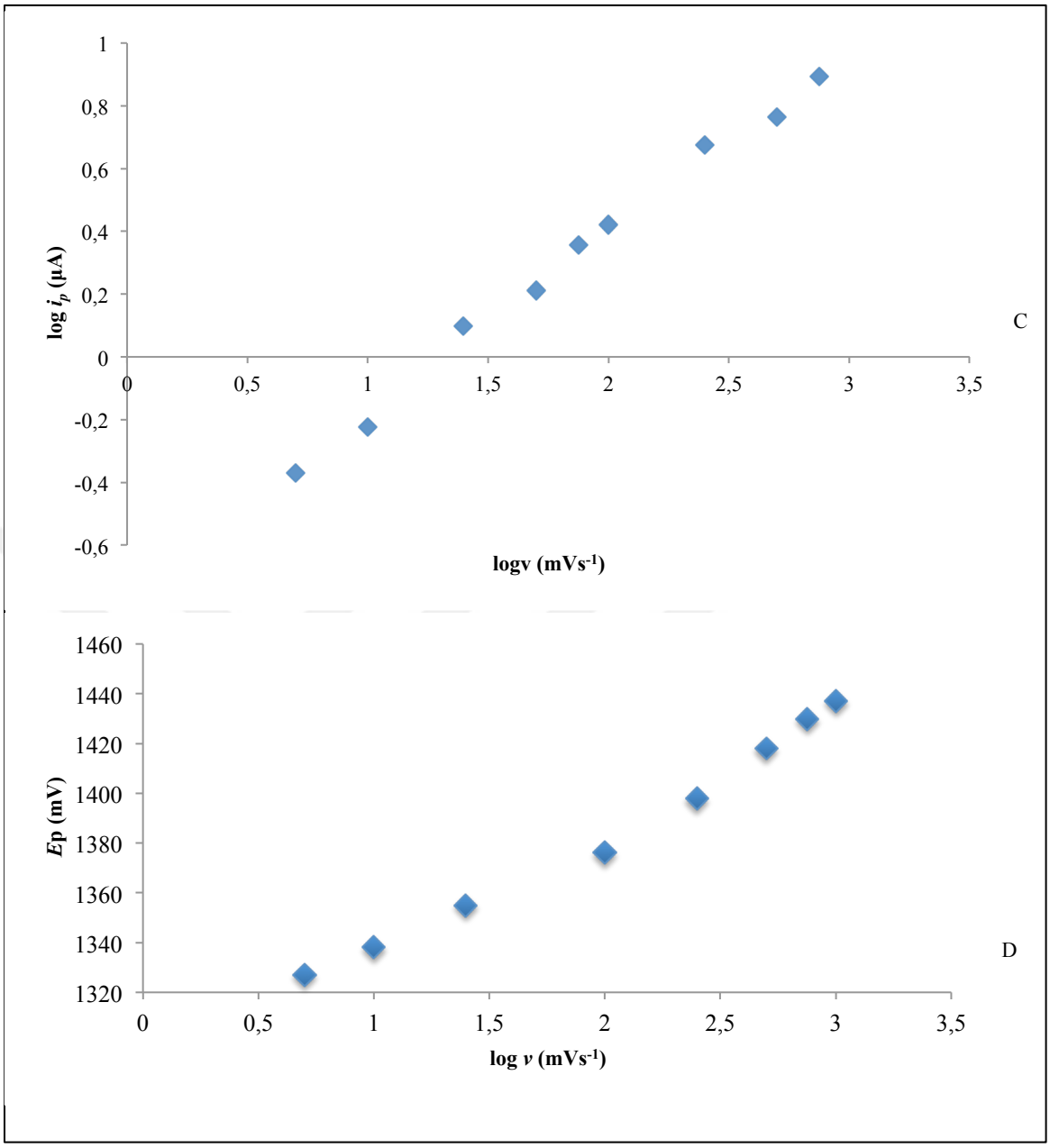
E_p (mV) = 47,583 log v (mV s^{-1}) + 1289,3 (r = 0,994 n = 8)

olarak bulunmuştur.

4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,0 BR tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında elde edilen tarama hızı- pik akımı eğrisi (Şekil 3.8A), tarama hızının kare kökü- akım eğrisi (Şekil 3.8B), log v – log i_p eğrisi (Şekil 3.8C), tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli eğrisi (Şekil 3.8D) eğrisi verilmiştir.



Şekil 3.8. 4×10^{-5} M tenofovir'in 4,0 BR tamponunda 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının tarama hızı- pik akımı (A), tarama hızının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C), tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.



Şekil 3.8. (devam) 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 4,0 BR tamponu ortamında 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının tarama hızı- pik akımı (A), tarama hızının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

log v – log i_p eğrisinden elde edilen eğimin 0,583 olması, bu değerin teorik olarak 0,5'e yakın olmasından dolayı reaksiyonun bu ortamda difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Laviron ve ark., 1980). 5–750 mV s^{-1} tarama hızı aralığında potansiyelin hız artışıyla birlikte 80,5 mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı sonucuna varılmıştır.

4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında 5 – 1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasında tarama hızı ile pik akımı arasında ilişki

$$i_p\ (\mu A) = 0{,}0039\ v\ (mVs^{-1}) + 0{,}6528\ (r: 0{,}964\ ;\ n: 10)$$

denklemi ile verilmiştir.

pH 5,7 asetat tamponu ortamında tarama hızının kare kökü ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu,

$$i_p\ (\mu A) = 0{,}135 v^{1/2}\ (mVs^{-1}) - 0{,}052\ \ (r: 0{,}996\ ;\ n: 10)$$

denklemi ile verilmiştir.

Aynı ortamda log v – log i_p eğrisinin eğim değeri 0,526 olarak bulunmuştur; buradan elde edilen doğru denklemi,

$$\log i_p\ (\mu A) = 0{,}526 \log v\ (mVs^{-1}) - 0{,}948\ \ (r: 0{,}998\ ;\ n: 10)$$

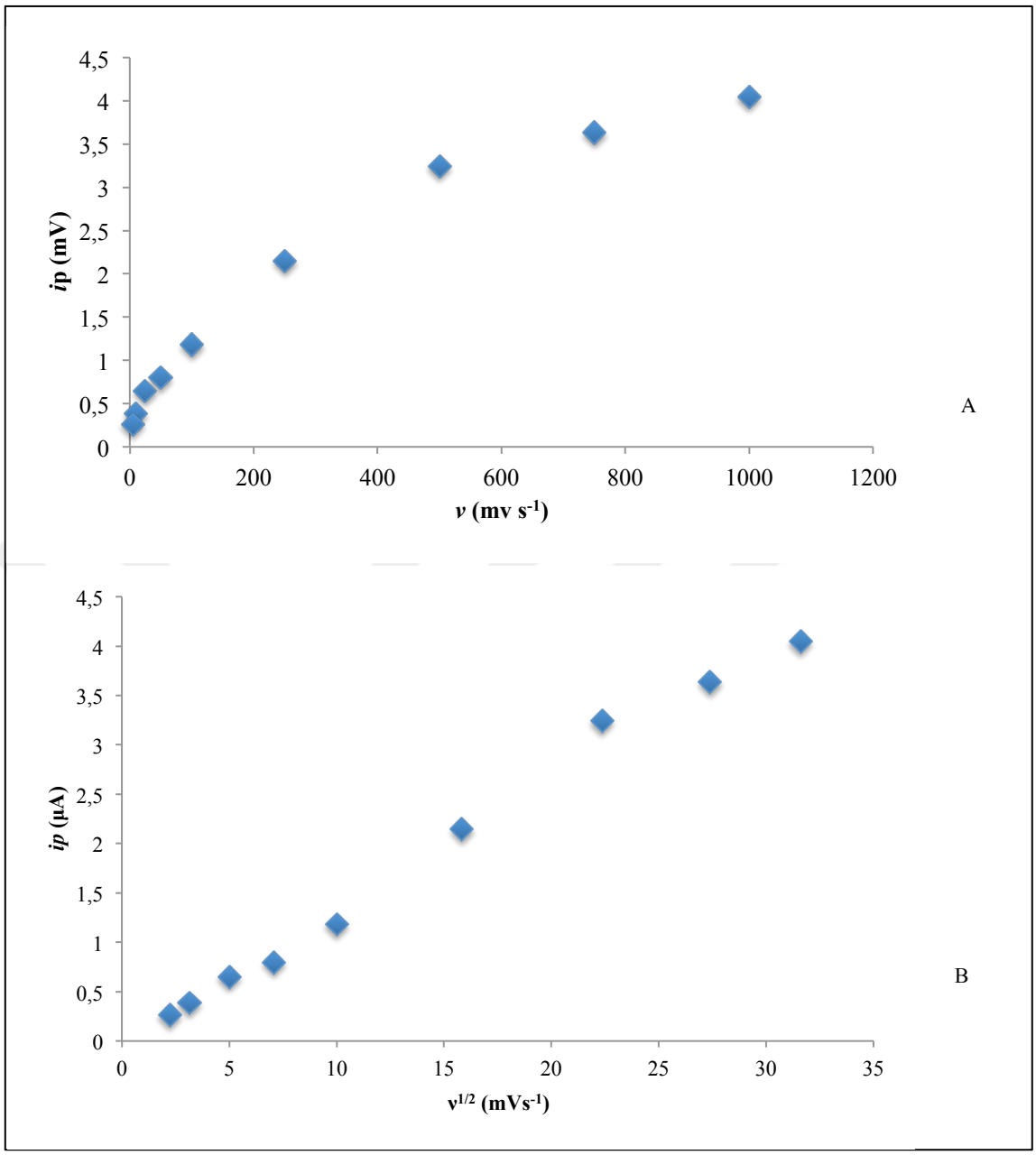
ile verilmiştir.

Tenofovir için pH 5,7 asetat tamponu içerisinde CKE ile yapılan hız taraması sonuçlarına göre çizilen E_p – log v eğrisine (Şekil 3.9D) ait eğim değeri 25,02 olarak bulunmuştur, buradan elde edilen doğru denklemi,

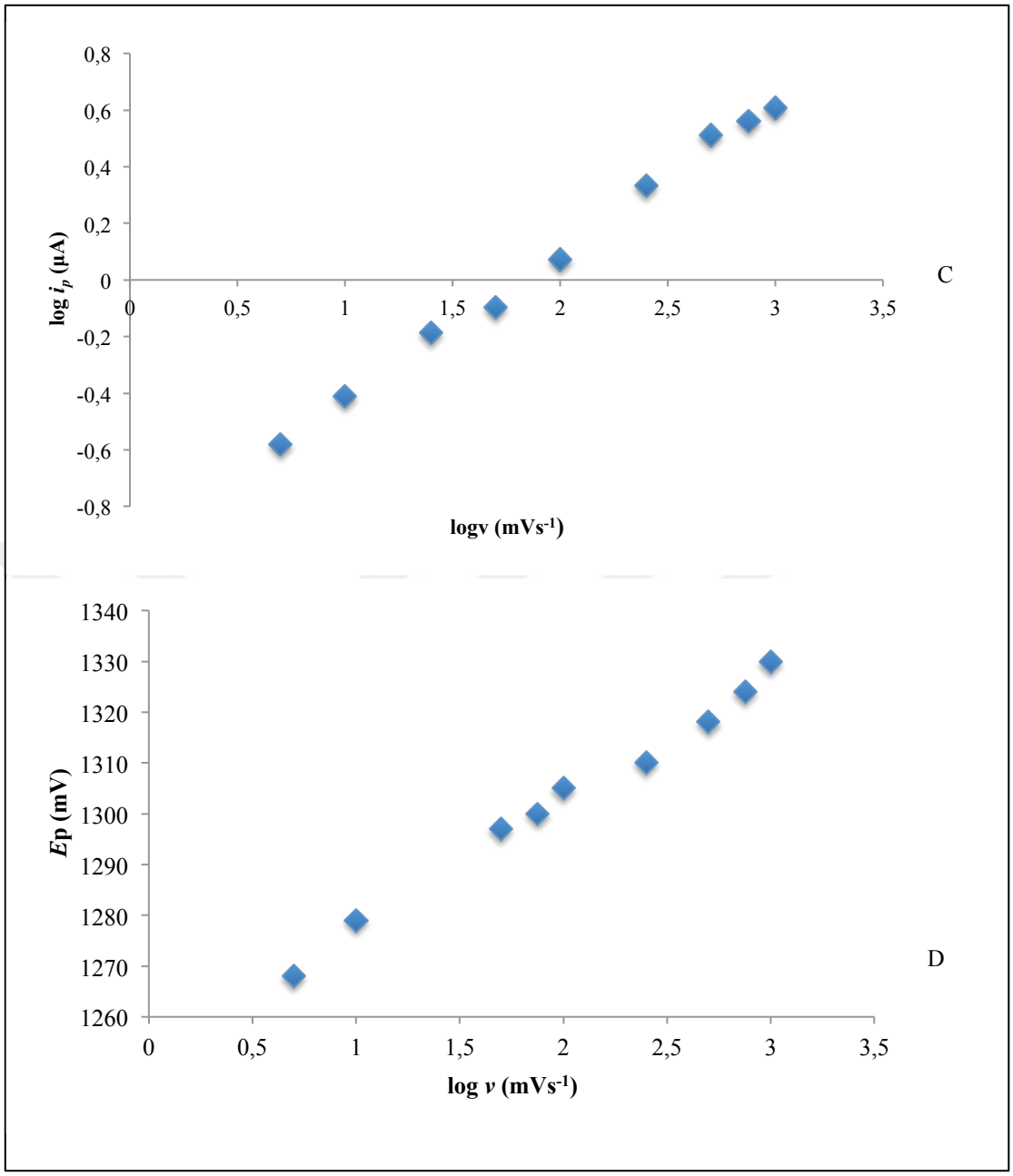
$$E_p\ (mV) = 25{,}025 \log v\ (mV\ s^{-1}) + 1252{,}7\ (r = 0{,}995\ n = 9)$$

olarak bulunmuştur.

4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında elde edilen tarama hızı- pik akımı (Şekil 3.9A), tarama hızının kare kökü- akım eğrisi (Şekil 3.9B), log v – log i_p eğrisi (Şekil 3.9C) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli eğrisi (Şekil 3.9D) eğrisi verilmiştir.



Şekil 3.9. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponunda 5–1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B), tarama hızının logaritması- pik potansiyeli (C) ve tarama hızı- pik akımı (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.



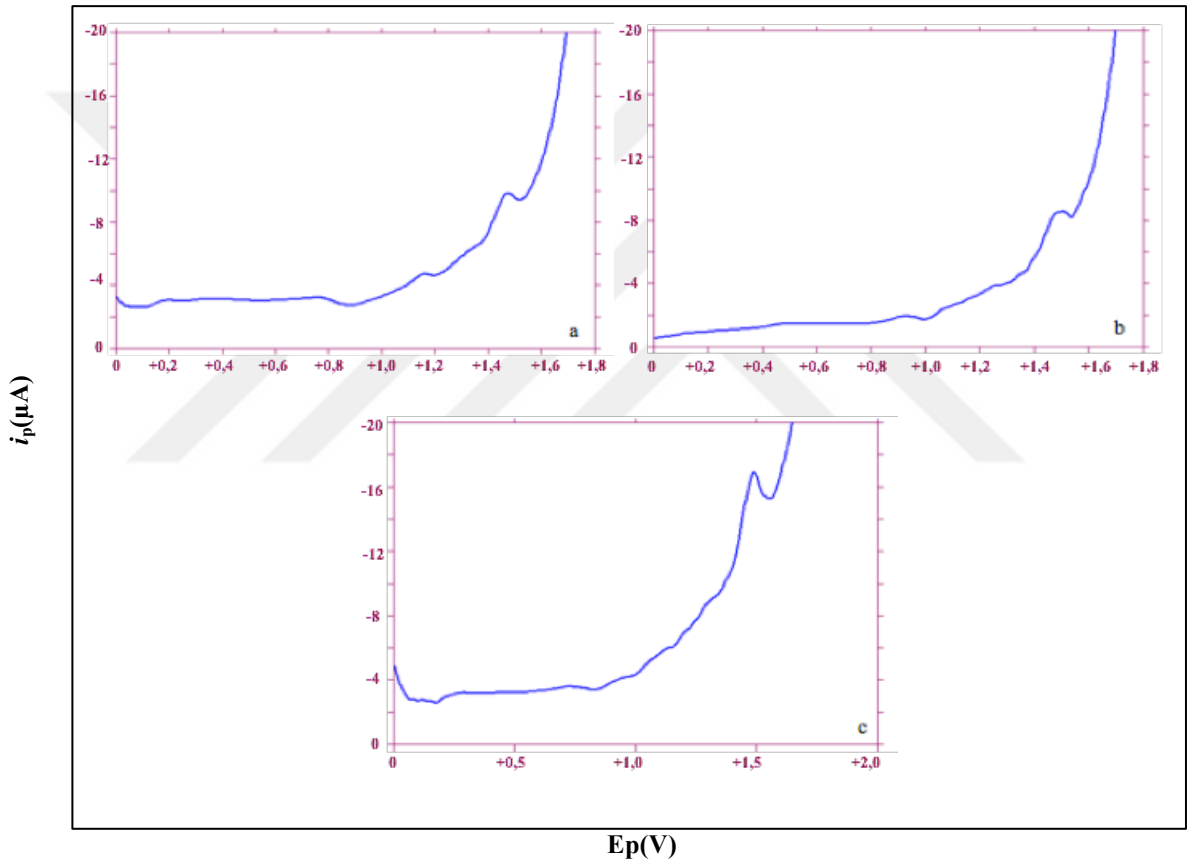
Şekil 3.9. (devam) 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponunda 5–1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B), tarama hızının logaritması- pik potansiyeli (C) ve tarama hızı- pik akımı (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

log v – log i_p eğrisinden elde edilen eğimin (0,526), teorik olan 0,5'e yakın olması reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Laviron ve ark., 1980). 5 – 1000 mV s^{-1} tarama hızı aralığında potansiyelin hız artışıyla birlikte 56 mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı sonucuna varılmıştır.

3.1.2. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Diferansiyel Puls Voltametrisi ile İncelenmesi

4×10^{-5} M Tenofovir'in yükseltgenme davranışı camsı karbon elektrot ile 0,03-0,3 M H_2SO_4, pH 2,0 – 12,0 BR tamponu, pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu, pH 6,0 – 8,0 fosfat tamponu ortamlarında DPV tekniği kullanılarak incelenmiştir.

4×10^{-5} M Tenofovir'in 0,03 – 0,3 M H_2SO_4 aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları Şekil 3.10'da görülmektedir.

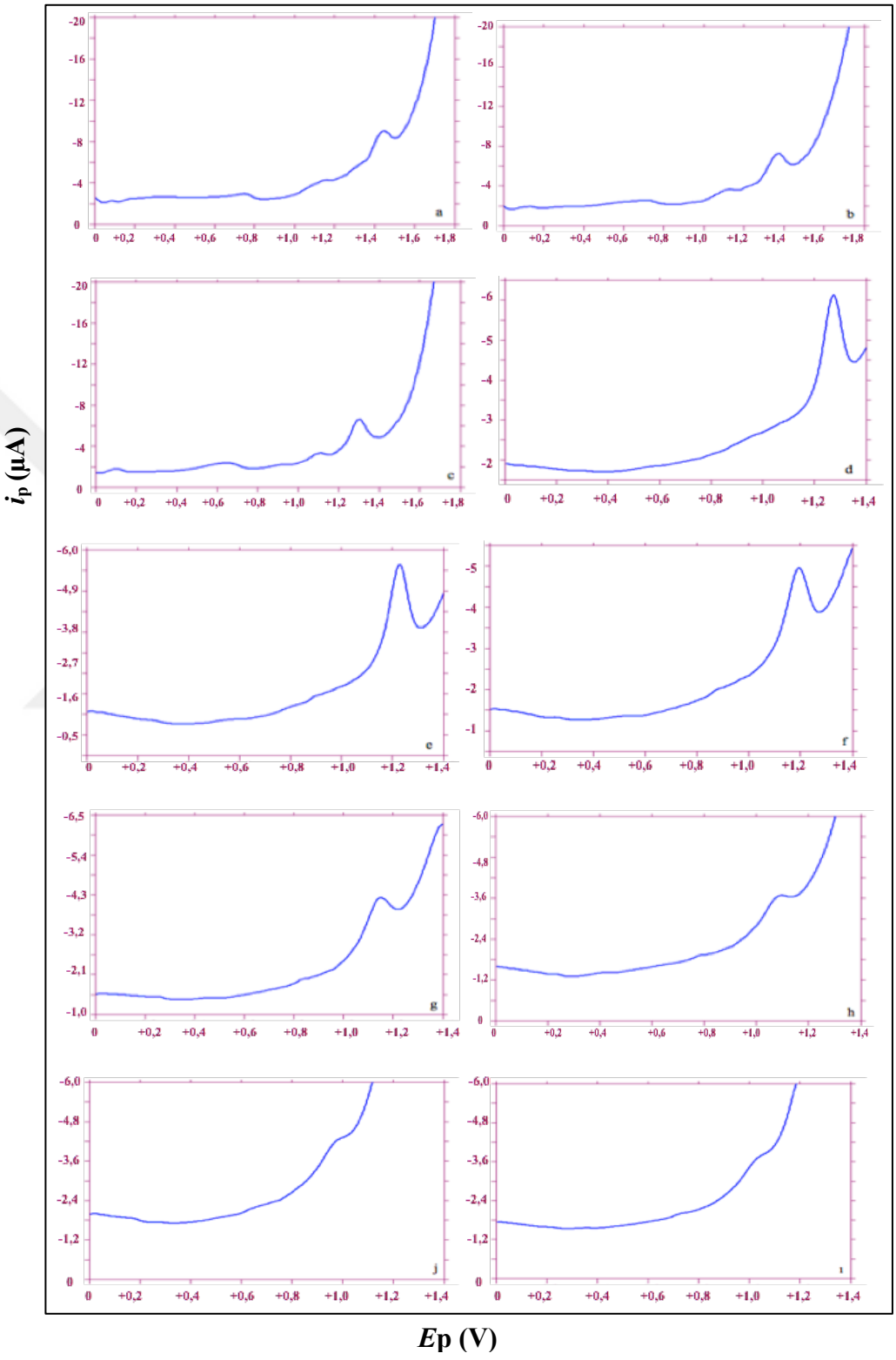


Şekil 3.10. 4×10^{-5} M tenofovir'in 0,03 M (a), 0,1 M (b), 0,3 M (c) H_2SO_4 aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları

Çizelge 3.4. H_2SO_4 çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

Derişim (H_2SO_4)(M)	pH	Pik Akımı(µA)	Pik Potansiyeli(mV)
0,3	0,7	1,831	1506,1
0,1	1	1,534	1468,1
0,03	1,65	1,323	1461,6

4×10^{-5} M Tenofovir'in BR tamponu içerisinde pH 2,0 – 12,0 aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramlarının bazı seçilmiş örnekleri Şekil 3.11'de görülmektedir.

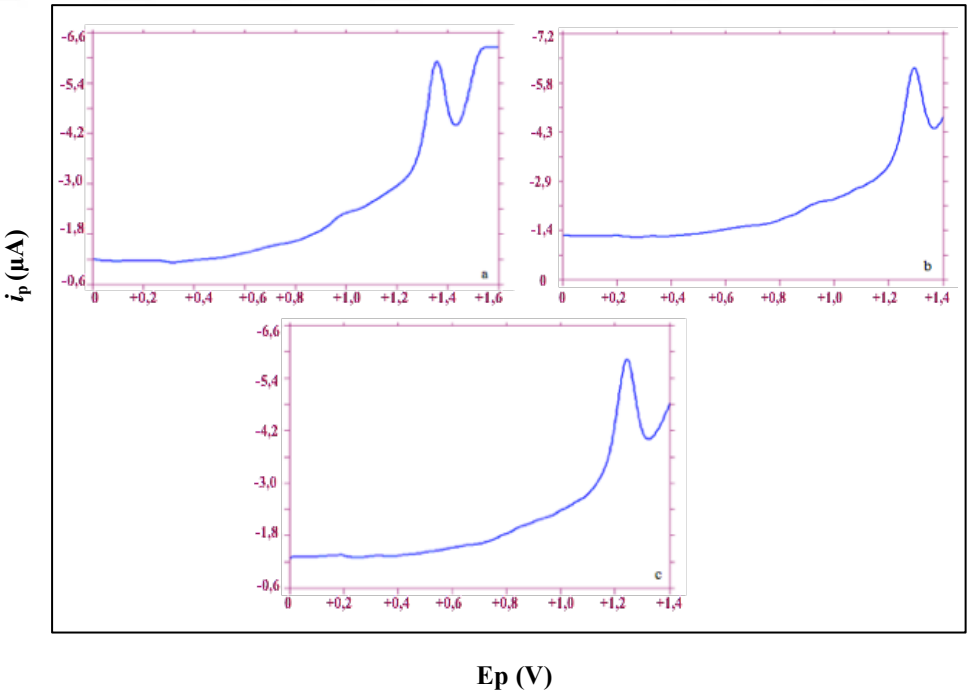


Şekil 3.11. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 2,0 (a), 3,0 (b), 4,0 (c), 5,0 (d), 6,0 (e), 7,0 (f), 8,0(g), 9,0(h), 10,0(ı), 11,0(j) BR tamponu aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları.

Çizelge 3.5. BR tampon çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
2,00	1,799	1440,3
3,00	2,292	1432,8
4,00	2,868	1380,3
5,00	2,328	1332,6
6,00	2,156	1290,3
7,00	1,557	1256,9
8,00	0,845	1200,0
9,00	0,438	1126,0
10,0	0,175	1034,5
11,0	0,175	972,1
12,0	0,175	904,2

4×10^{-5}M Tenofovir'in pH 3,7- 5,7 asetat tamponu aralığında incelenen diferansiyel puls dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.12'de verilmiştir.

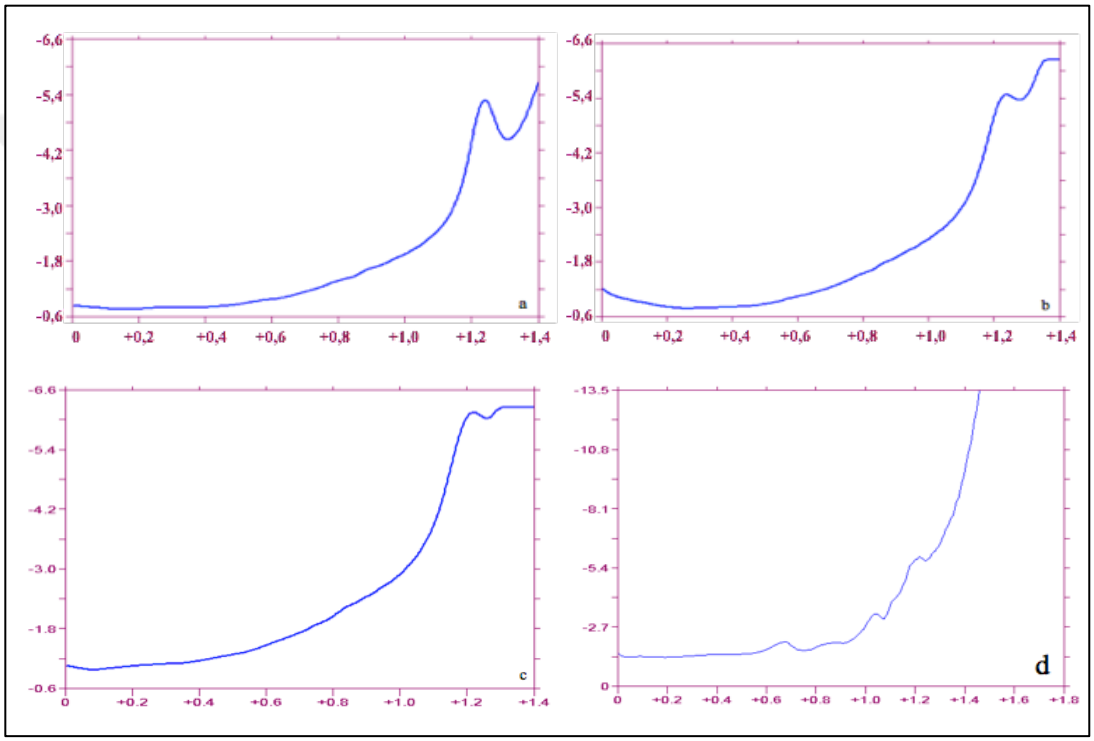


Şekil 3.12. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 3,7 (a), 4,7 (b), 5,7 (c) asetat tamponu aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları.

Çizelge 3.6. Asetat tampon çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
3,7	2,284	1358,9
4,7	2,316	1291,4
5,7	2,301	1243,0

4×10^{-5} M Tenofovir'in pH 6,0- 7,5 fosfat tamponu aralığında incelenen diferansiyel puls voltamogramları Şekil 3.13'de verilmiştir.



Şekil 3.13. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 6,02 (a), 6,5 (b), 7,0 (c), 7,5 (d) fosfat tamponlarında incelenen diferansiyel puls voltamogramları.

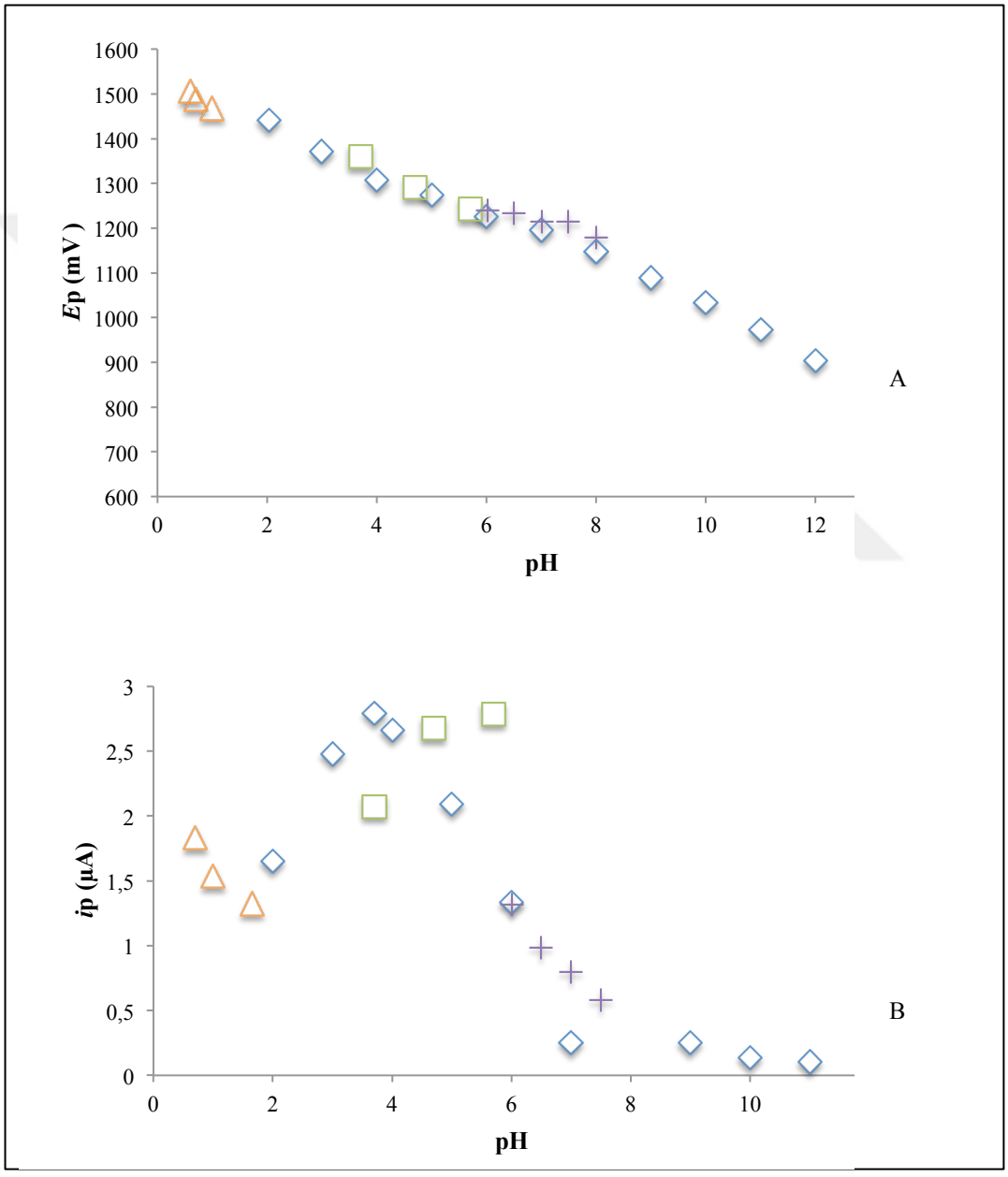
Çizelge 3.7. Fosfat tampon çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
6,0	1,584	1239,6
6,5	0,926	1233,8
7,0	0,700	1215,1
7,5	0,540	1214,3

Diferansiyel puls voltametri ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça tenofovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyele kaydığı görülmüştür (Şekil 3.14).

E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

Ep (mV)=-49,35pH+1530,6; r = 0,994 (pH 0,7 – 12,0)

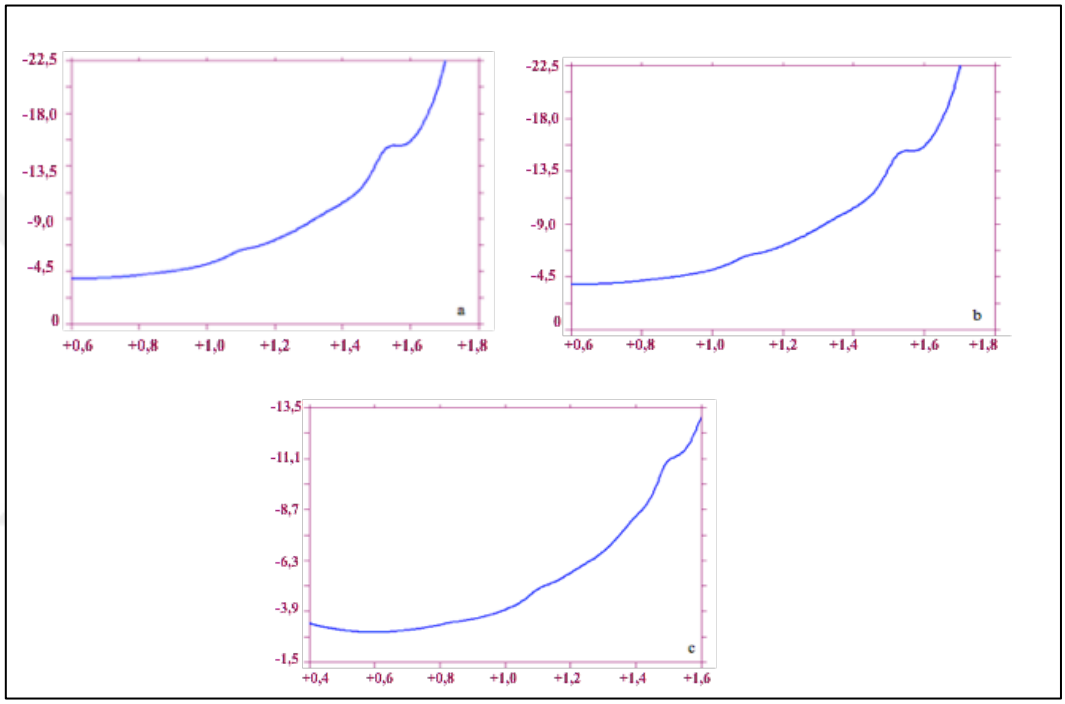


Şekil 3.14. 4×10^{-5} M tenofovir'in diferansiyel puls voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B) üzerine etkisini gösteren eğriler. (Δ):H_2SO_4, (□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu, (+): Fosfat tamponu.

3.1.3. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi

4×10^{-5} M Tenofovir'in yükseltgenme davranışı camsı karbon elektrot ile 0,03-0,3 M H_2SO_4, pH 2,0 – 7,0 BR tamponu, pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ve pH 6,0 – 7,5 fosfat tamponu ortamlarında KDV tekniği kullanılarak incelenmiştir.

4×10^{-5} M Tenofovir' in 0,03 – 0,3 M aralığında H_2SO_4 çözeltisi içerisinde incelenen kare dalga voltamogramları Şekil 3.15'de verilmiştir.

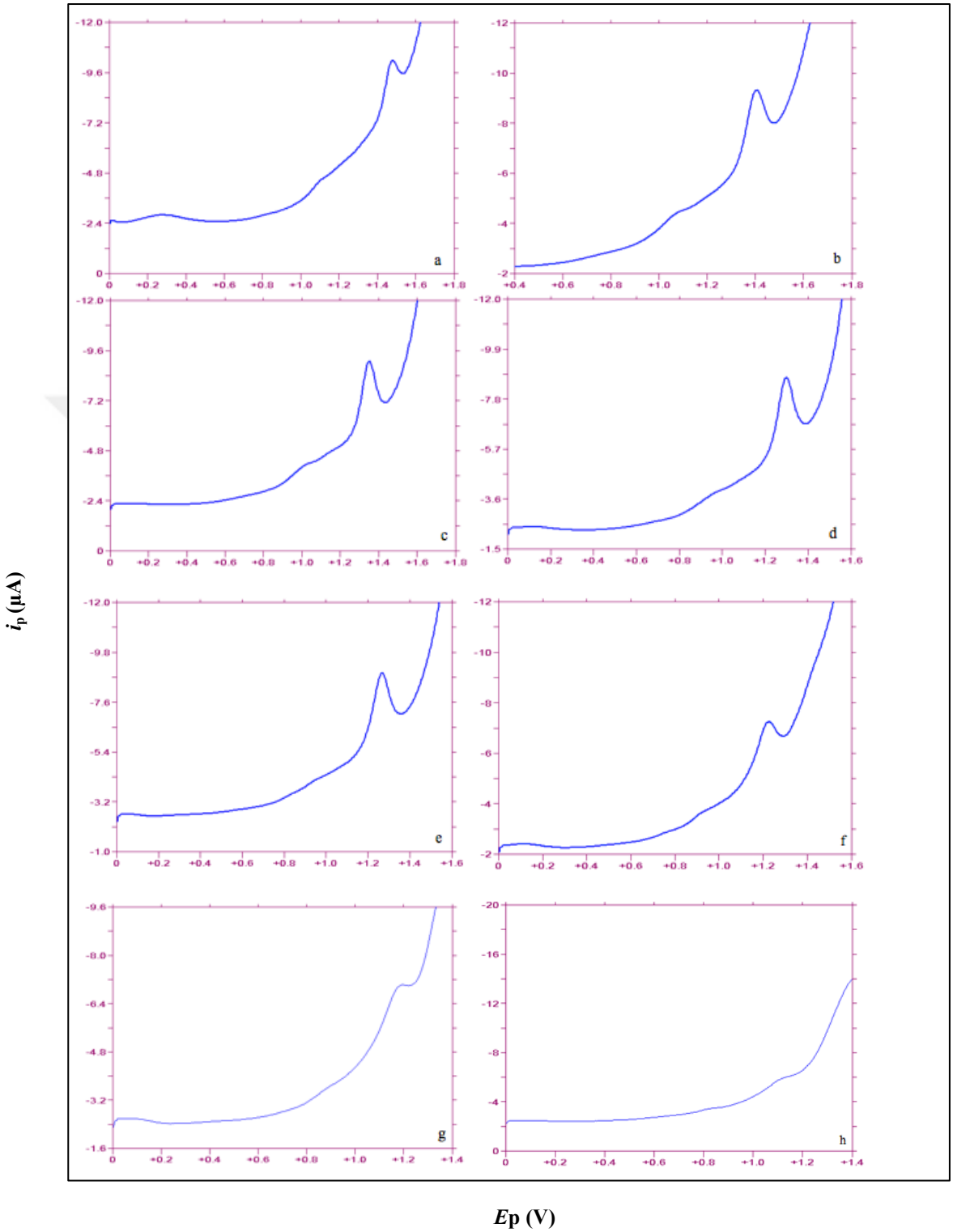


Şekil 3.15. 4×10^{-5} M tenofovir'in 0,3 M (a), 0,1 M (b), 0,03 M (c) H_2SO_4 pH aralığında incelenen kare dalga voltamogramları.

Çizelge 3.8. H_2SO_4 çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

Derişim (H_2SO_4) (M)	pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
0,3	0,7	1,569	1551,3
0,1	1	1,740	1512,5
0,03	1,65	1,650	1500,6

4×10^{-5} M Tenofovir'in BR tamponu içerisinde pH 2,0 – 7,0 aralığında incelenen kare dalga voltamogramları Şekil 3.16'da verilmiştir.

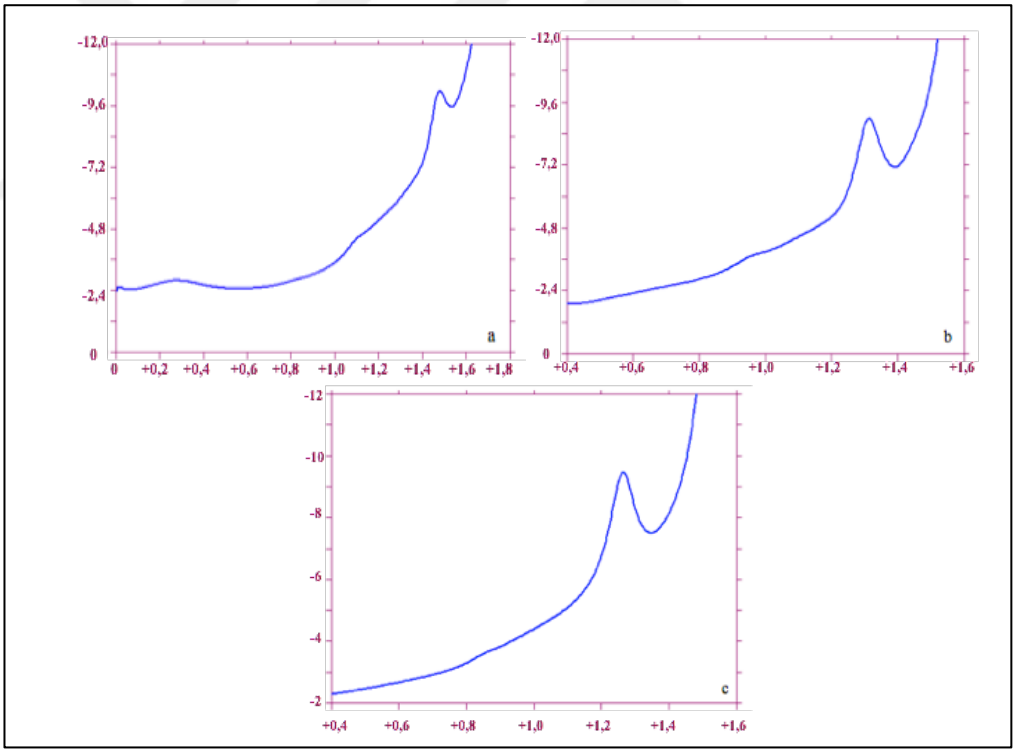


Şekil 3.16. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 2,0 (a), 3,0 (b), 4,0 (c), 5,0 (d), 6,0 (e), 7,0 (f), 8,0 (g), 9,0 (h) BR tamponlarında incelenen kare dalga voltamogramları.

Çizelge 3.9. pH 2,0- 11,0 BR tampon çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik potansiyeli (mV)
2,0	1,652	1478,7
3,0	2,479	1403,0
4,0	2,791	1349,8
5,0	2,661	1301,0
6,0	2,090	1261,2
7,0	1,331	1229,8
8,0	0,252	1187,3
9,0	0,250	1108,0
10,0	0,134	1060,0
11,0	0,102	1016,0

4×10^{-5} M Tenofovir'in pH 3,7- 5,7 asetat tamponu aralığında incelenen kare dalga voltamogramları Şekil 3.17'de verilmiştir.

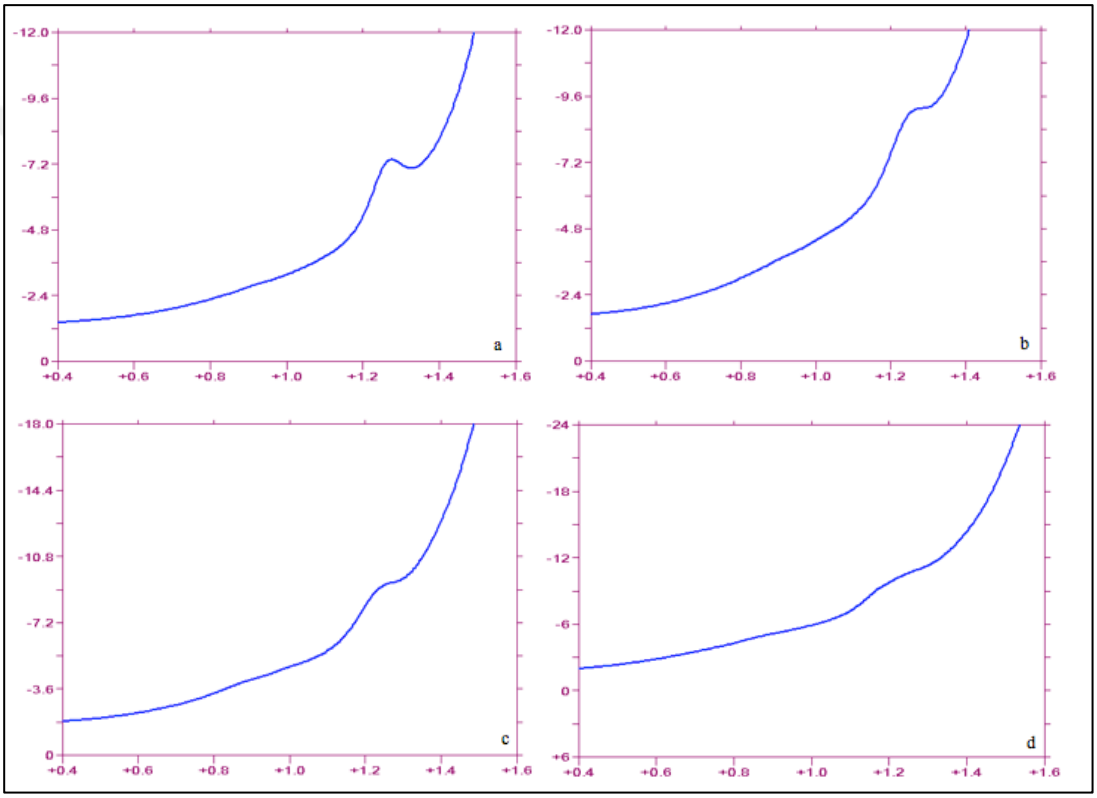


Şekil 3.17. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 3,7 (a), 4,7 (b), 5,7 (c) asetat tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramları.

Çizelge 3.10. Asetat tampon çözeltisi içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
3,7	2,072	1388,6
4,7	2,675	1310,3
5,7	2,786	1263,0

4×10^{-5}M Tenofovir'in pH 6,0- 7,5 fosfat tamponu aralığında incelenen kare dalga voltamogramları Şekil 3.18'de verilmiştir.



i_p (µA)

***E*p (V)**

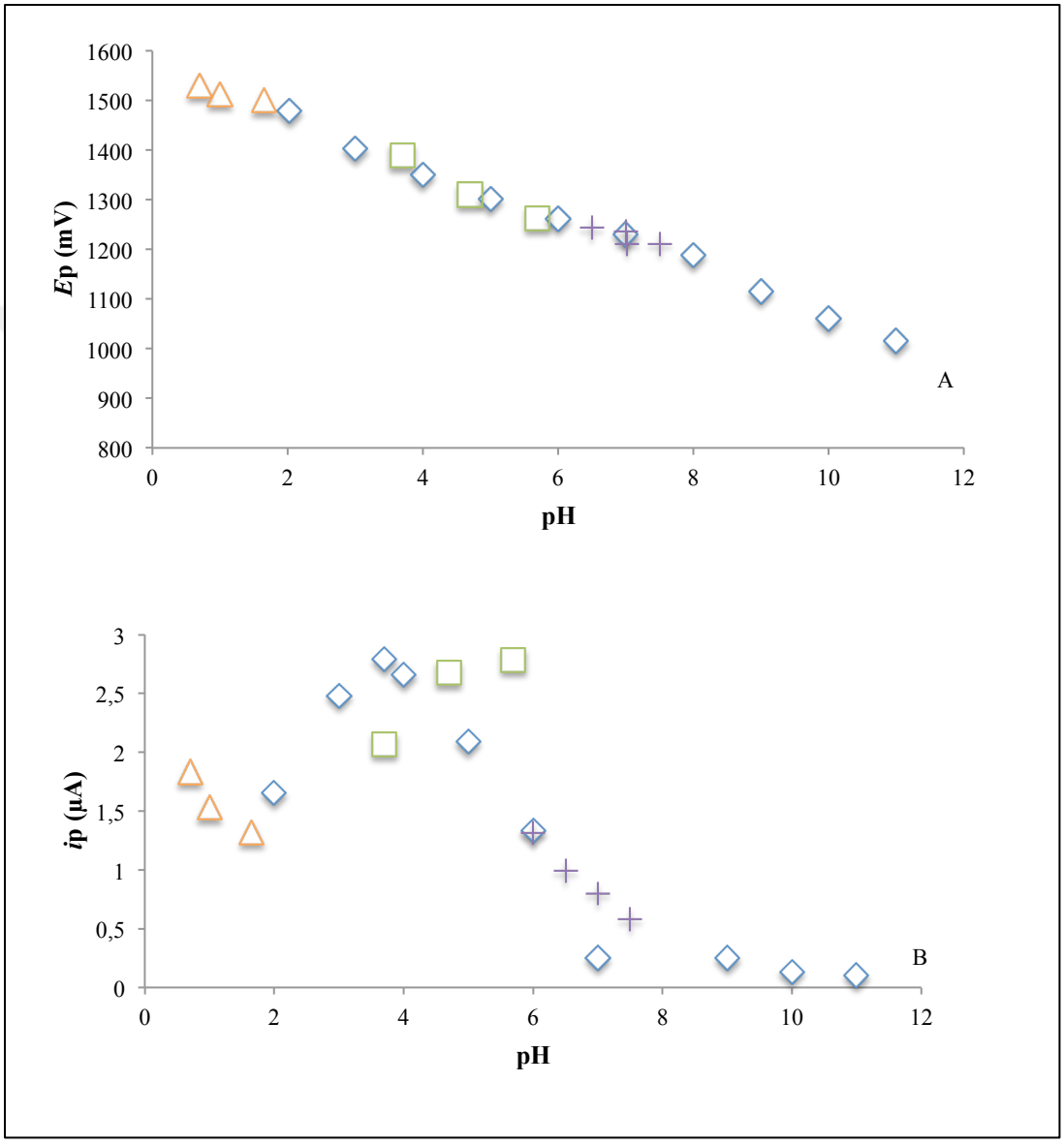
Şekil 3.18. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 6,0 (a), 6,5 (b), 7,0 (c), 7,5 (d) fosfat tamponu aralığında incelenen kare dalga voltamogramları

Çizelge 3.11. Fosfat tamponu içerisinde camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M tenofovir'in farklı pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
6,0	1,315	1255,9
6,5	0,987	1244,0
7,0	0,797	1235,4
7,5	0,581	1211,4

Kare dalga voltametri ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça tenofovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.19). E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

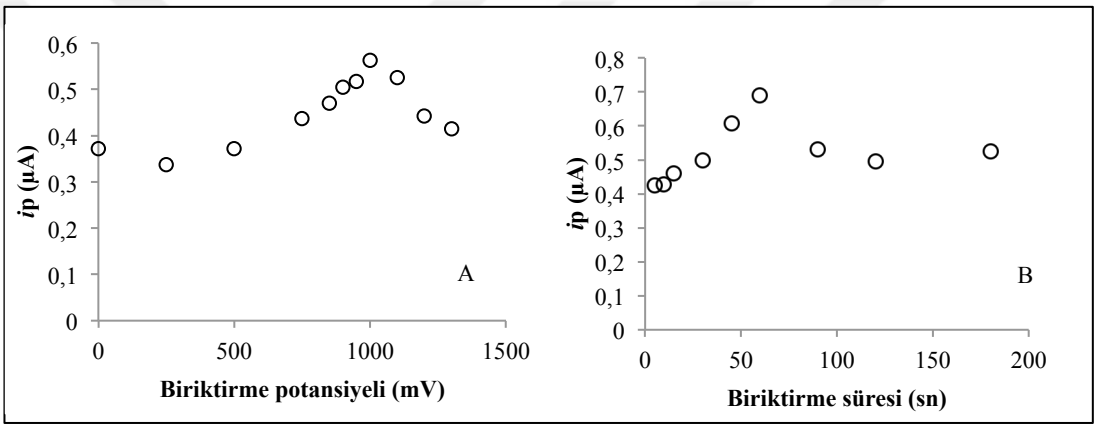
Ep(mV)=-49,631 pH+1563,9; r = 0,996 (pH 0,7 – 11,0)



Şekil 3.19. 4×10^{-5} M tenofovir'in kare dalga voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B) üzerine etkisini gösteren eğriler. (Δ):H_2SO_4, (□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu, (+): Fosfat tamponu.

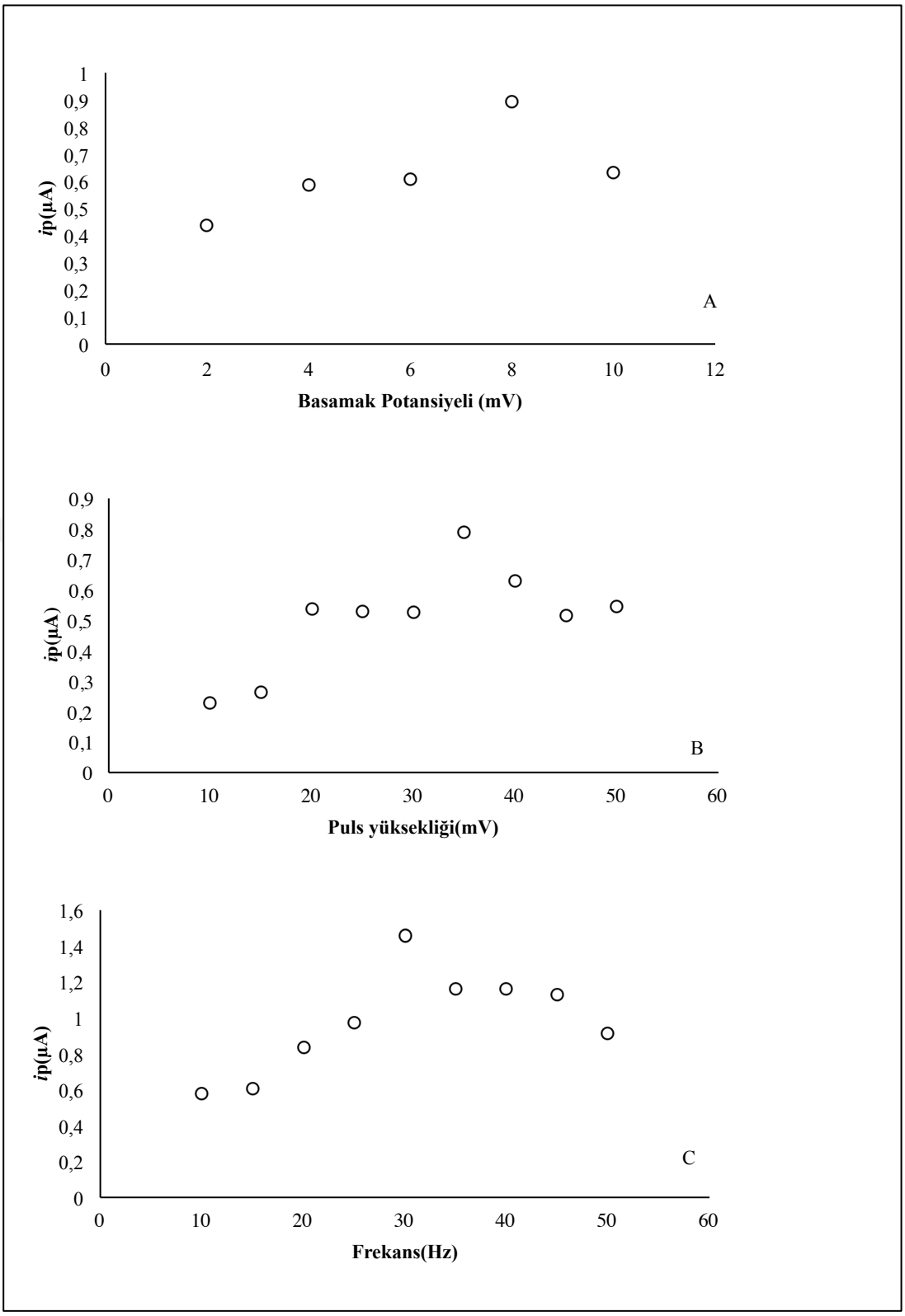
3.2. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir için Yapılan Analiz Çalışmaları

pH ve hız taraması çalışmaları sonucunda, Tenofovir'in miktar tayini çalışmaları için pH 4,7 asetat tampon ortamı seçilmiştir. Camsı karbon elektrotla miktar tayini AdSDPV ve AdSKDV teknikler kullanılarak incelenmiştir. AdSDPV tekniği için pH 4,7 asetat tamponu içerisinde biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi çalışmaları 4 $\times 10^{-6}$ M derişimde yapılmıştır (Şekil 3.20A). Biriktirme potansiyeli çalışmalarında biriktirme süresi olarak 60 s kullanılmıştır. En yüksek akım değerinin elde edildiği potansiyel 1,0 V olarak belirlendikten sonra 5–180 s aralığında biriktirme süresi optimizasyonu yapılmış ve en uygun değer 60 s olarak seçilmiştir (Şekil 3.20B).

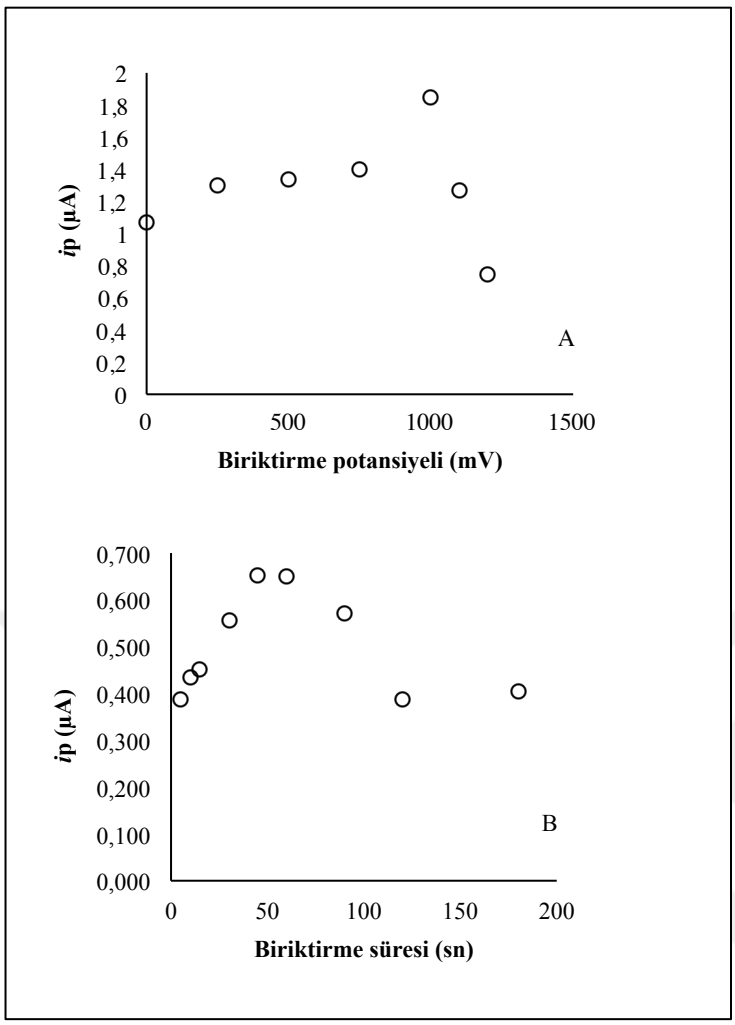


Şekil 3.20. 4×10^{-6} M tenofovir'in AdSDPV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri.

AdSKDV yönteminde basamak potansiyeli, puls yüksekliği ve frekans parametreleri optimize edilmiştir. 4×10^{-6} M tenofovir kullanarak en uygun değerler sırasıyla 8 mV, 35 mV ve 30 Hz olarak bulunmuştur (Şekil 3.21). Bu parametrelerin optimizasyonundan sonra biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi optimizasyonu yapılmıştır. Bu yöntemde biriktirme potansiyeli optimizasyonu 4×10^{-6} M derişimde 60 s biriktirme süresi uygulanarak bulunmuştur. En yüksek akım değerinin elde edildiği potansiyel 1,0 V olarak belirlendikten sonra 5–180 s aralığında biriktirme süresi optimizasyonu yapılmış ve en uygun değer 60 s olarak seçilmiştir (Şekil 3.22).



Şekil 3.21 4 ×10^{-6} M tenofovir'in KDV ile elde edilen basamak potansiyeline karşı akım (A); puls yüksekliğine karşı akım (B); frekansa karşı akım (C) grafikleri



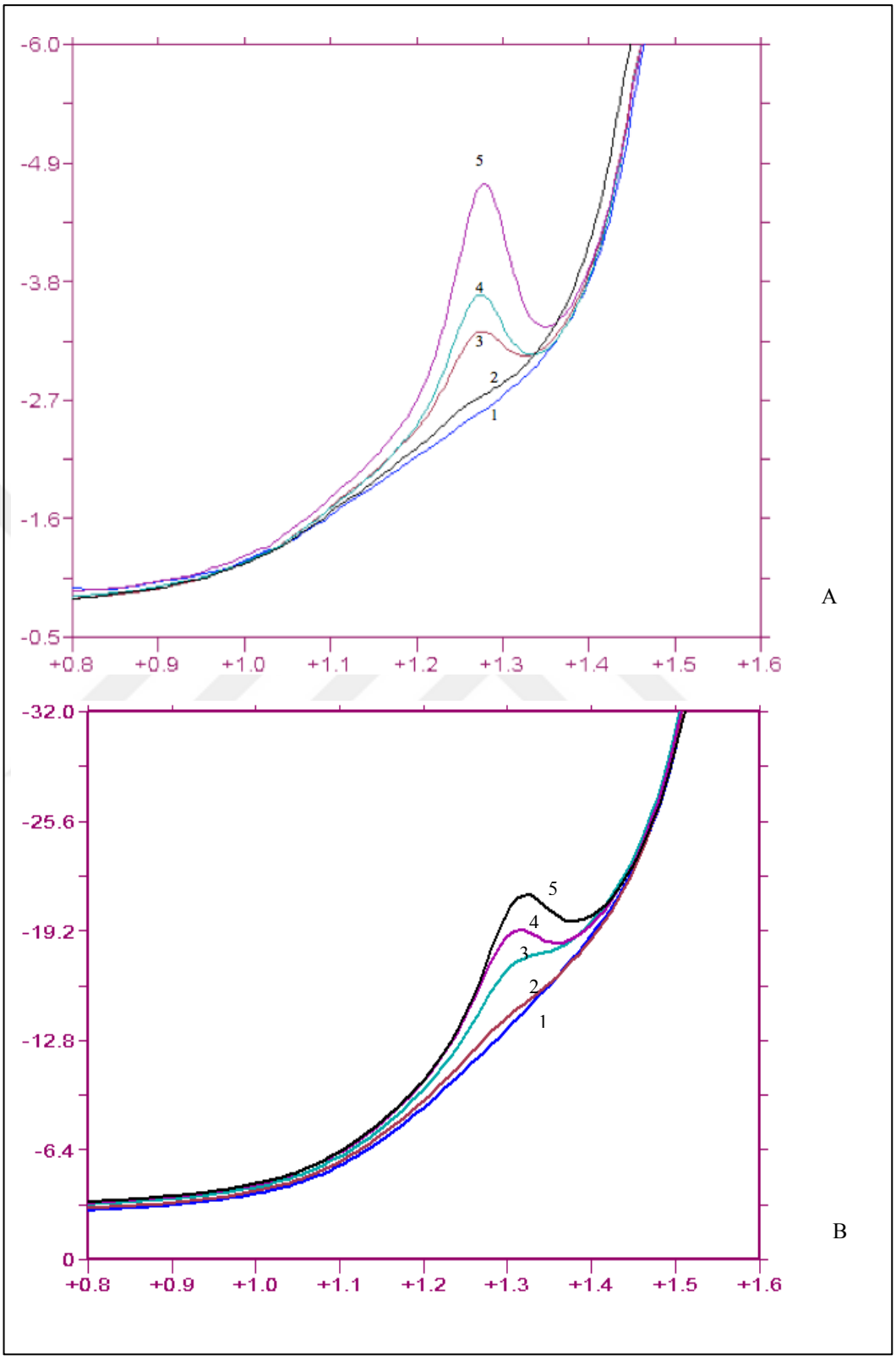
Şekil 3.22. 4×10^{-6} M tenofovir'in AdSKDV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri.

pH 4,7 asetat tamponu AdSDPV ve AdSKDV yöntemleri için $6x10^{-7}$-$6x10^{-5}$ M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. AdSDPV ve AdSKDV teknikleri ile tenofovir derişimi – pik akımı arasında elde edilen doğru denklemleri ve korelasyon katsayısı değerleri aşağıdaki gibidir:

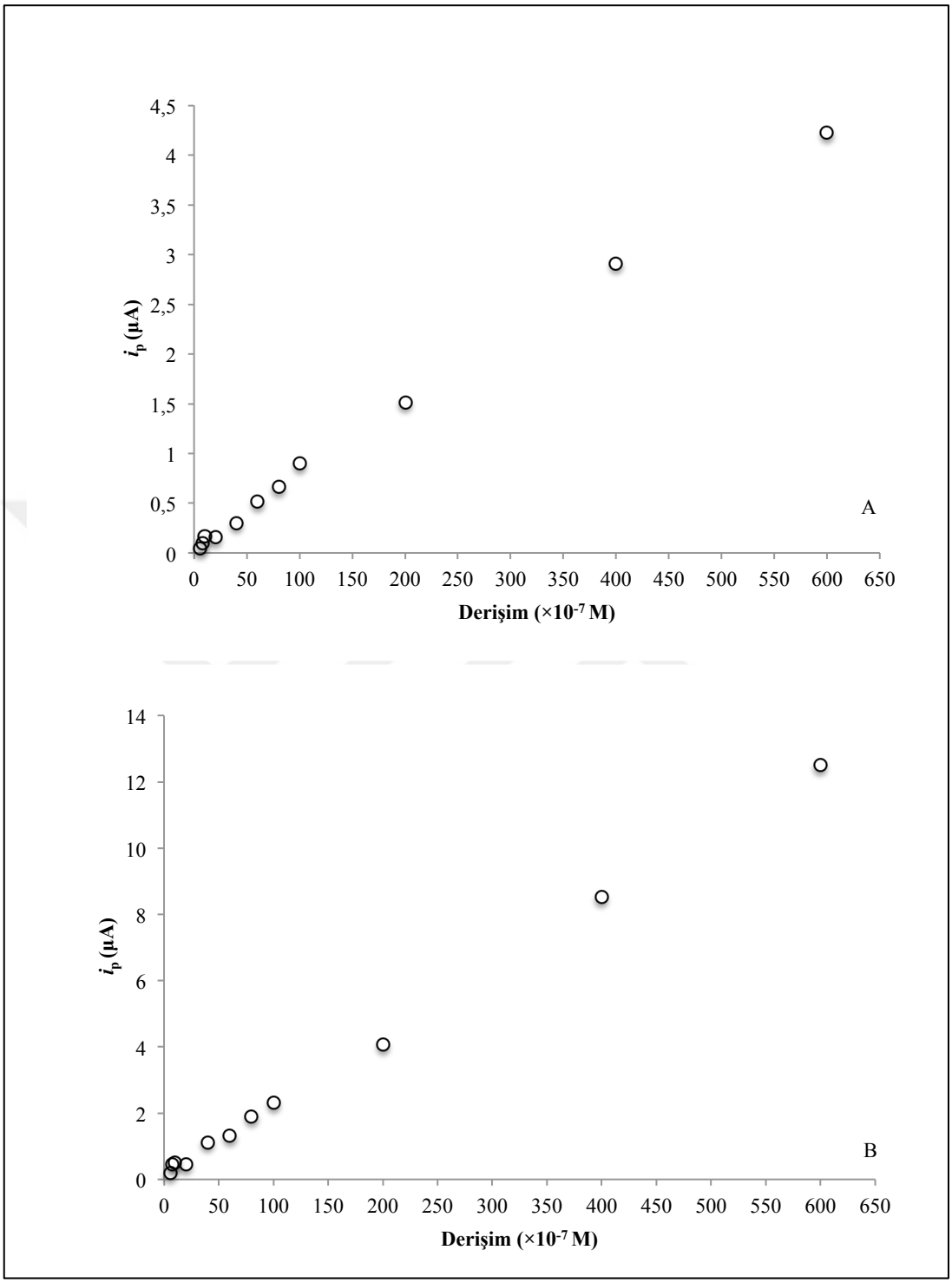
i_p (µA) = $7{,}010\times10^4$ C (M) + 0,073; r = 0,999 (n = 11) (AdSDPV)

i_p (µA) = $2{,}055\times10^5$ C (M) + 0,182; r = 0,999 (n = 11) (AdSKDV)

AdSDPV ve AdSKDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı seçilmiş voltamogramlar Şekil 3.23'de verilmiştir. Bu verilere ait kalibrasyon doğruları da Şekil 3.24'de verilmiştir.



Şekil 3.23 pH 4,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir'in bazı derişimlerindeki AdSDPV (A) ve AdSKDV (B) ile elde edilen voltamogramları. 1)Destek; 2) $8{,}0\times10^{-7}$ M; 3) $6{,}0\times10^{-6}$ M; 4) $1{,}0\times 10^{-5}$ M; 5) $2{,}0\times10^{-5}$ M



Şekil 3.24. Tenofovir'in 6x10^{-7}-6x10^{-5}M derişim aralığında pH 4,7 asetat tamponu içerisinde AdSDPV (A) ve AdSKDV (B) teknikleri ile elde edilen kalibrasyon grafikleri

AdSDPV ve AdSKDV yöntemi ile elde edilen veriler kullanılarak pH 4,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve hesaplanan validasyon parametreleri Çizelge 3.12'de özetlenmiştir.

Teşhis sınırı 3 *ss*/*m* ve tayin alt sınırı 10 *ss*/*m* formülleri ile hesaplanmıştır (ICH Rehberi, 2005). Formüllerde bulunan *ss*, kalibrasyonun en düşük derişimine ait üç tekrarlı ölçümün standart sapmasını, *m* ise kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir.

Çizelge 3.12. Camsı karbon elektrot ile tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri.

	AdSDPV	**AdSKDV**
Ölçüm potansiyeli (mV)	1336,4	1328,5
Doğrusal aralığı (M)	$6x10^{-7}$ -$6x10^{-5}$	$6x10^{-7}$ -$6x10^{-5}$
Eğim (µA/M)	$7,018x10^{4}$	$2,05x10^{5}$
Eğimin Standart Hatası	$1,04x10^{3}$	$2,13x10^{3}$
Kesişim(µA)	$7,34x10^{-2}$	$1,82x10^{-1}$
Kesişim Standart Hatası	$2,40x10^{-2}$	$4,91x10^{-2}$
Korelasyon katsayısı	0,999	0,999
Teşhis sınırı (M)	$1,017x10^{-7}$	$8,393x10^{-8}$
Tayin alt sınırı (M)	$3,390x10^{-7}$	$2,798x10^{-7}$
Akımın gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)*	0,197	0,290
Potansiyelin gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)	0,156	0,136
Akımın günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)*	0,242	0,330
Potansiyelin günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)*	0,206	0,232

*Akım ve potansiyel için yapılan tekraredilebilirlik çalışmaları 4×10^{-6} M derişime ait 5 değerden elde edilmiştir.

3.3. Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir için Geliştirilen Yöntemlerin Tablet Formülasyonlarına Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları

Tenofovir içeren Viread® tablet dozaj formu Bölüm 2.12.4'de belirtilen şekilde hazırlanarak Tenofovir'in miktar tayini için deneyler gerçekleştirilmiştir. Saf Tenofovir etken maddesi'nden elde edilen kalibrasyon denkleminden yararlanılarak tablet dozaj formundaki Tenofovir miktarı bulunmuştur.

Tablet içerisinde yardımcı maddelerin etken madde sinyaline etkisi olup olmadığına dair sonuçlar da % geri kazanım çalışmaları ile elde edilmiştir.

Tenofovir içeren Viread® tabletin pH 4,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen analiz sonuçları Çizelge 3.13'te verilmiştir.

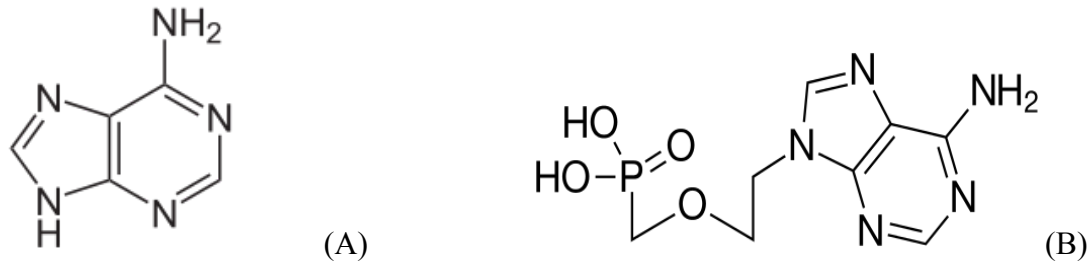
Çizelge 3.13. pH 4,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir içeren Viread® elde edilen analiz bulgularının sonuçları

	AdSDPV	**AdSKDV**
Etiket miktarı (mg)	245,00	245,00
Bulunan madde miktarı (mg)*	245,01	246,40
% BSS	1,12	1,77
% Bağıl hata	-0,040	-0,571
İlave edilen madde miktarı(mg)	20,00	20,00
Bulunan madde miktarı (mg)*	20,07	20,10
% Ortalama geri kazanım*	100,35	100,50
% BSS	1,69	1,50
% Bağıl Hata	-0,35	-0,5

*5 değer üzerinden hesaplanmıştır.

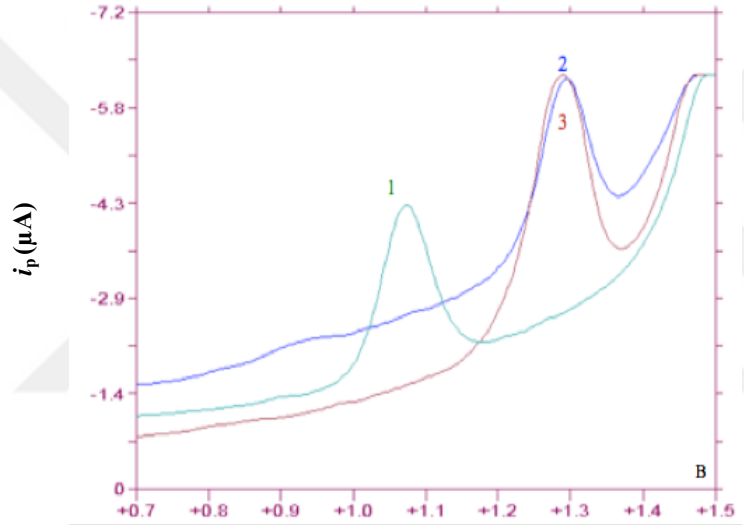
3.4. Camsı Karbon Elektrot ile Yapılan Model İlaç Çalışmaları

Tenofovir ile benzer kimyasal yapıya sahip olan Adenin (A) ve Adefovir (B) etken maddelerinin kimyasal yapısı Şekil 3.25'te verilmiştir. Bu etken maddelerin pH taraması ve hız taraması çalışmaları yapılmıştır. Çalışılan pH değerlerinde elde edilen voltamogramlarda geri dönüş yönünde çalışılan pontasiyel aralığında herhangi bir pik veya dalga görülmemiştir.



Şekil 3.25 Adenin(A) ve Adefovir(B) etken maddelerinin kimyasal yapıları

pH 4,7 asetat tamponu içerisinde 4x10^{-5}M Tenofovir (1) etken maddesinin, Adefovir (2) ve Adenin (3) model ilaçların akım sinyalleri DV ile elde edilen voltamogramları Şekil 3.26'da incelenmiştir.

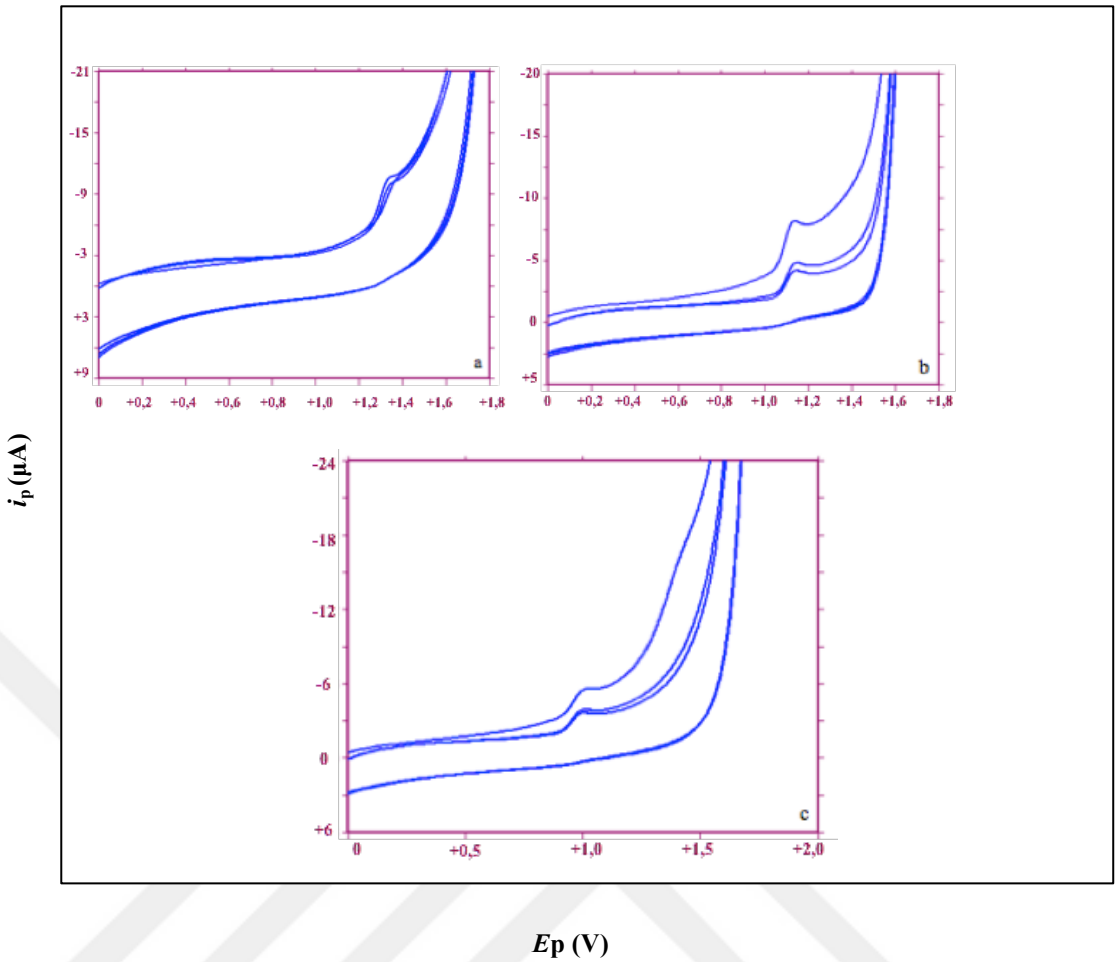


Şekil 3.26 pH 4,7 tamponu içerisinde 4x10^{-5}M Adenin (1), 4x10^{-5}M Tenofovir (2), 4x10^{-5}M Adefovir (3)'e ait diferansiyel puls voltamogramı

3.4.1. Camsı Karbon Elektrotla Adenin'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi

Hız taraması ve pH taraması için dönüşümlü voltametri kullanılmıştır. 4×10^{-5} M Adenin'in yükseltgenme davranışı camsı karbon elektrot ile pH 4,7; 5,7 asetat tamponu, 2,0 – 10,0 BR tamponu ve 6,5 fosfat tamponu ortamında DV tekniği kullanılarak pH taraması yapılmıştır.

4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR tamponu, 4,7 asetat tamponu ve 7,0 BR tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.27'de verilmiştir.



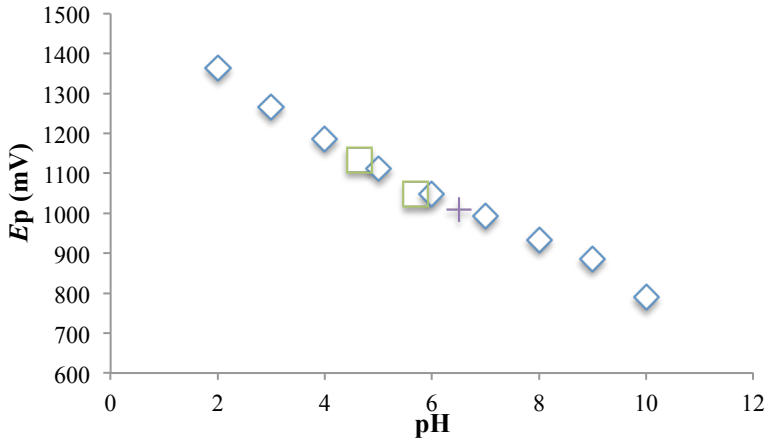
Şekil 3.27. 4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR tamponu (a), 4,7 asetat tamponu (b), 7,0 BR (c) tamponunda incelenen dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı: 100mV s^{-1}.

Çizelge 3.14. Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M Adenin'in farklı pH değerlerinde dönüşümlü voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri

pH	**Pik Potansiyeli (mV)**
2,0 BRT	1363,3
3,0 BRT	1266,0
4,0 BRT	1186,0
4,7 Asetat	1133,8
5,0 BRT	1112,0
5,7 Asetat	1048,0
6,0 BRT	1046,0
6,5 Fosfat	1012,4
7,0 BRT	992,6
8,0 BRT	934,0
9,0 BRT	851,0
10,0 BRT	790,0

Dönüşümlü voltametri ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça adenin'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.28). E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

Ep(mV)=-69,214pH+1469,5; r: 0,994 (pH 2,0-10,0)



Şekil 3.28. 4×10^{-5} M adenin'in dönüşümlü voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren grafik. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}. (□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu (Δ): fosfat tamponu.

Adenin'in dönüşümlü voltametri yöntemi ile pH 4,7 asetat tamponu içerisinde $4x10^{-5}$ M derişimde 5-750 mV s^{-1} aralığında hız taraması yapılmıştır.

4×10^{-5} M Adenin'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında tarama hızının kare kökü ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu,

i_p (μA) = 0,174$v^{1/2}$ (mVs^{-1}) + 0,374 (r: 0,996; n: 9)

denklemi ile verilmiştir.

Aynı ortamda log v – log i_p eğrisinin eğim değeri 0,435 olarak bulunmuştur; buradan elde edilen doğru denklemi,

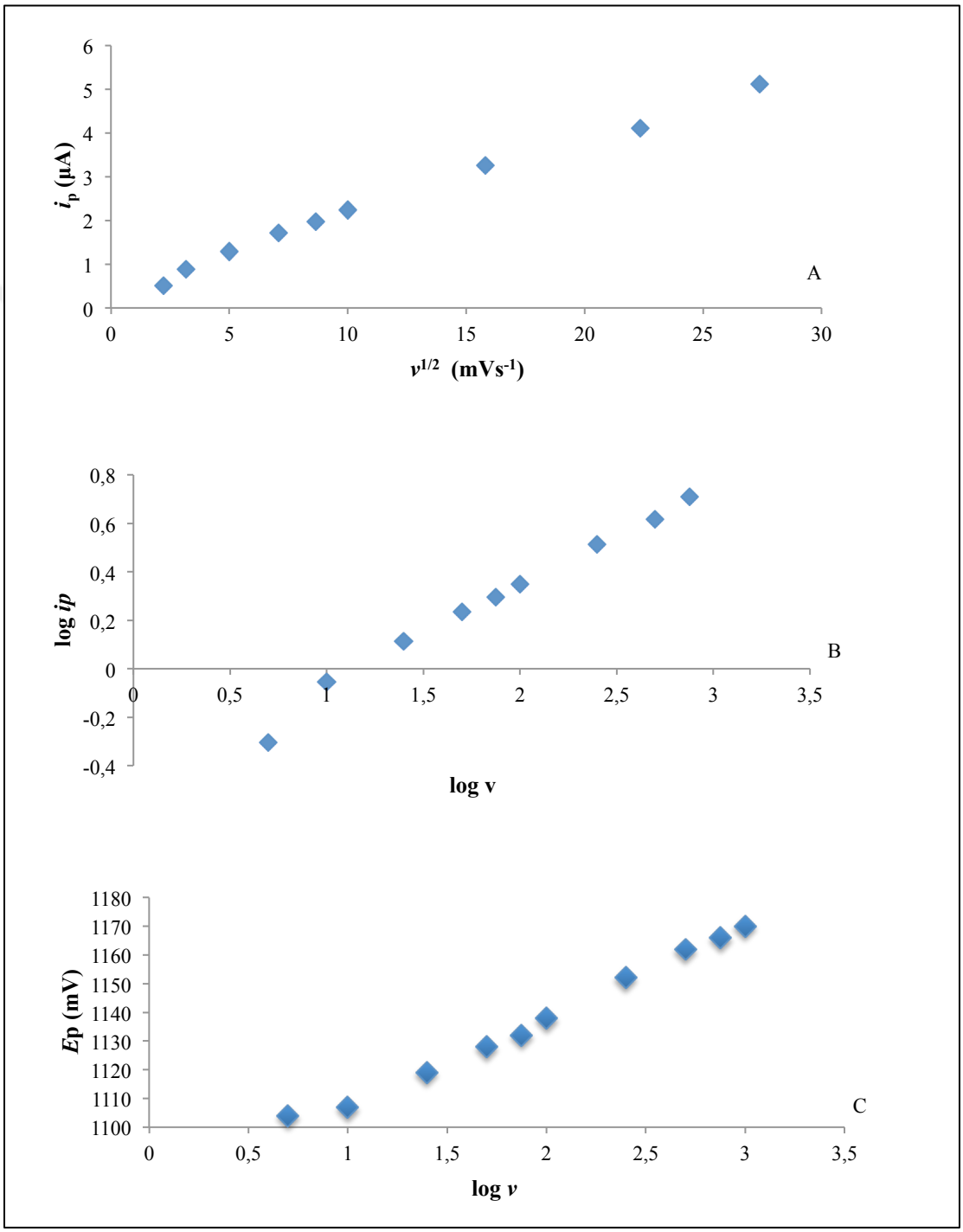
log i_p (μA) = 0,435 log v (mVs^{-1}) – 0,530 (r: 0,994; n: 9)

ile verilmiştir.

Adenin için pH 4,7 asetat tamponu içerisinde CKE ile yapılan hız taraması sonuçlarına göre çizilen E_p – log v eğrisine (Şekil 3.29C) ait eğim değeri 30,25 olarak bulunmuştur, buradan elde edilen doğru denklemi,

E_p (mV) = 30,25 log v (mV s^{-1}) + 1078,3; r = 0,995 (n = 9) şeklindedir.

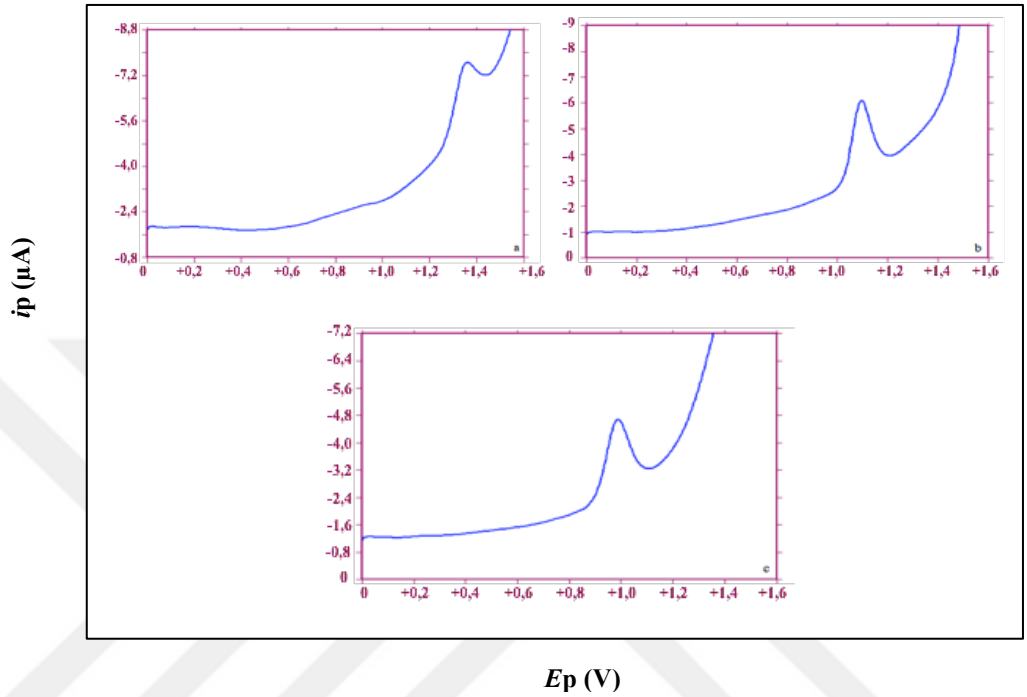
4×10^{-5} M adenin'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında elde edilen tarama hızının kare kökü- akım eğrisi, log v – log i_p eğrisi ve ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli(C) eğrisi sırasıyla Şekil 3.29A, Şekil 3.29B ve Şekil 3.29C'de verilmiştir.



Şekil 3.29. 4×10^{-5} M Adenin'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli(C) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

3.4.2. Camsı Karbon Elektrotla Adenin'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi

4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR tamponu, 4,7 asetat tamponu, 7 BR tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramı Şekil 3.30'de verilmiştir.



Şekil 3.30 4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR tamponu (a), 4,7 asetat tamponu (b), 7,0 BR (c) tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramı.

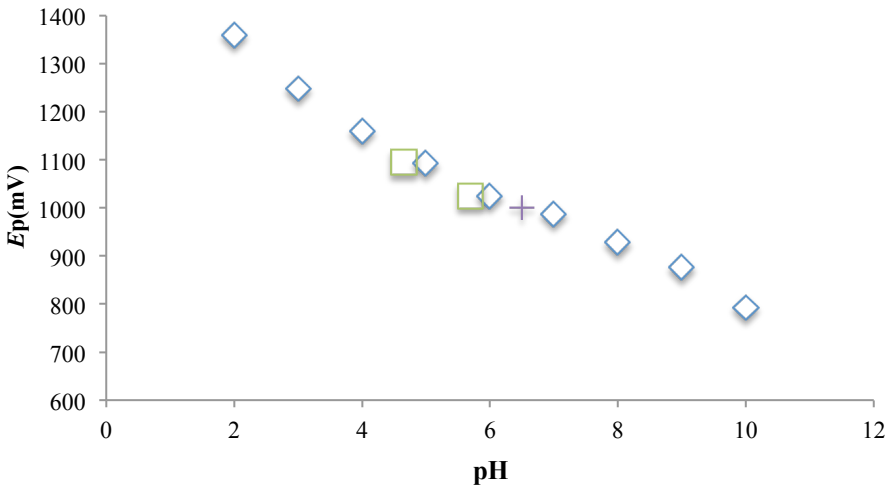
Çizelge 3.15. Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M Adenin'in farklı pH değerlerinde kare dalga voltametrisi ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Potansiyeli (mV)
2,0 BRT	1360,2
3,0 BRT	1248,0
4,0 BRT	1160,0
4,7 Asetat	1095,4
5,0 BRT	1092,0
5,7 Asetat	1024,0
6,0 BRT	1020,0
6,5 Fosfat	1006,4
7,0 BRT	986,9
8,0 BRT	928,0
9,0 BRT	886,0
10,0 BRT	792,0

Kare dalga voltametri ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça adenin'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.31).

E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

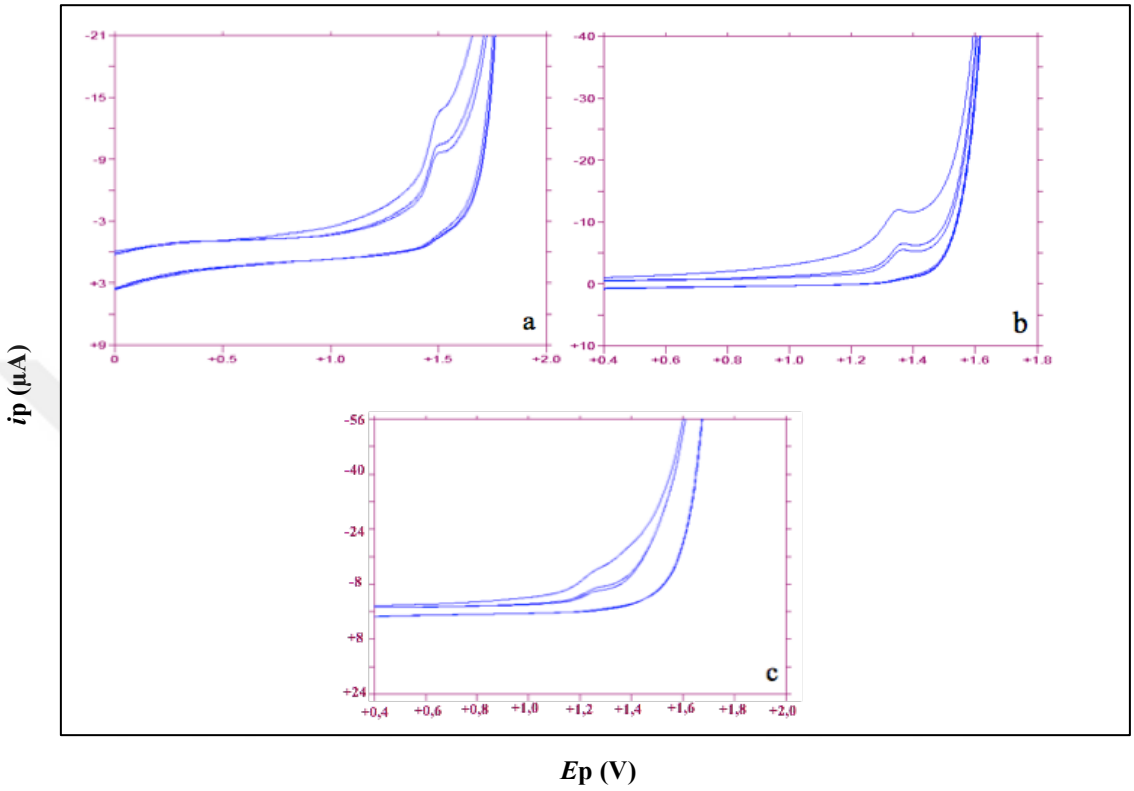
*E*p(mV)=-66,939 pH+1441,0; r: 0.985 (pH 2,0-10,0)



Şekil 3.31. 4×10^{-5}M Adenin'in kare dalga voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler. (□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu, (+): fosfat tamponu.

3.4.3. Camsı Karbon Elektrotla Adefovir'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi

4×10^{-5} M Adefovir'in pH 2,0 BR tamponu, 4,7 asetat tamponu ve 7,0 BR tamponu içerisinde incelenen dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.32'de verilmiştir.

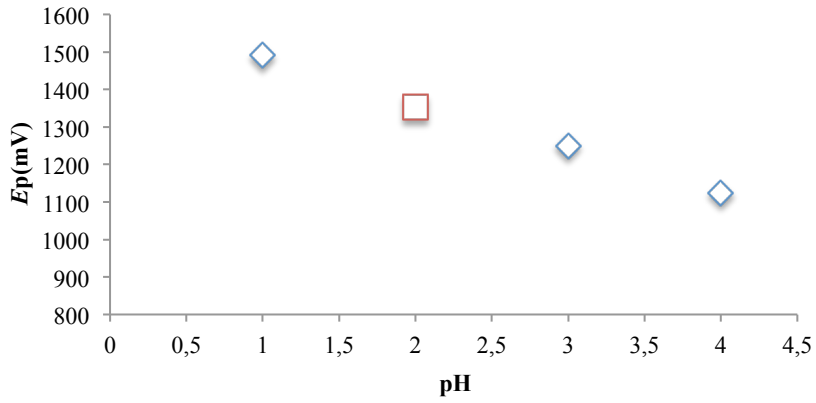


Şekil 3.32. 4×10^{-5} M Adefovir'in pH 2,0 BR tamponu(a), 4,7 asetat tamponu(b) ve 7,0 BR tamponu(c) içerisinde incelenen dönüşüm voltamogramları. Tarama hızı: 100mV s^{-1}.

Çizelge 3.16. Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M adefovir'in farklı pH değerlerinde dönüşümlü voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Potansiyeli (mV)
2,0 BRT	1490,4
4,7 Asetat	1352,9
7,0 BRT	1250,9
10,0 BRT	1123,8

Dönüşümlü voltametri ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça adefovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.33).



Şekil 3.33. 4×10^{-5} M adefovir'in dönüşümlü voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler. Tarama hızı: 100 mV s^{-1}. (◊):BR tamponu (□): Asetat tamponu.

Adefovir'in dönüşümlü voltametri ile pH 4,7 asetat tamponu içerisinde $4x10^{-5}$ M derişimde 5-1000 mV s^{-1} aralığında hız taraması yapılmıştır.

4×10^{-5} M Adefovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında tarama hızının kare kökü ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu,

i_p (μA) = 0,258$v^{1/2}$ (mVs^{-1}) + 0,004 (r: 0,999 ; n: 10)

denklemi ile verilmiştir.

Aynı ortamda log v – log i_p eğrisinin eğim değeri 0,510 olarak bulunmuştur; buradan elde edilen doğru denklemi,

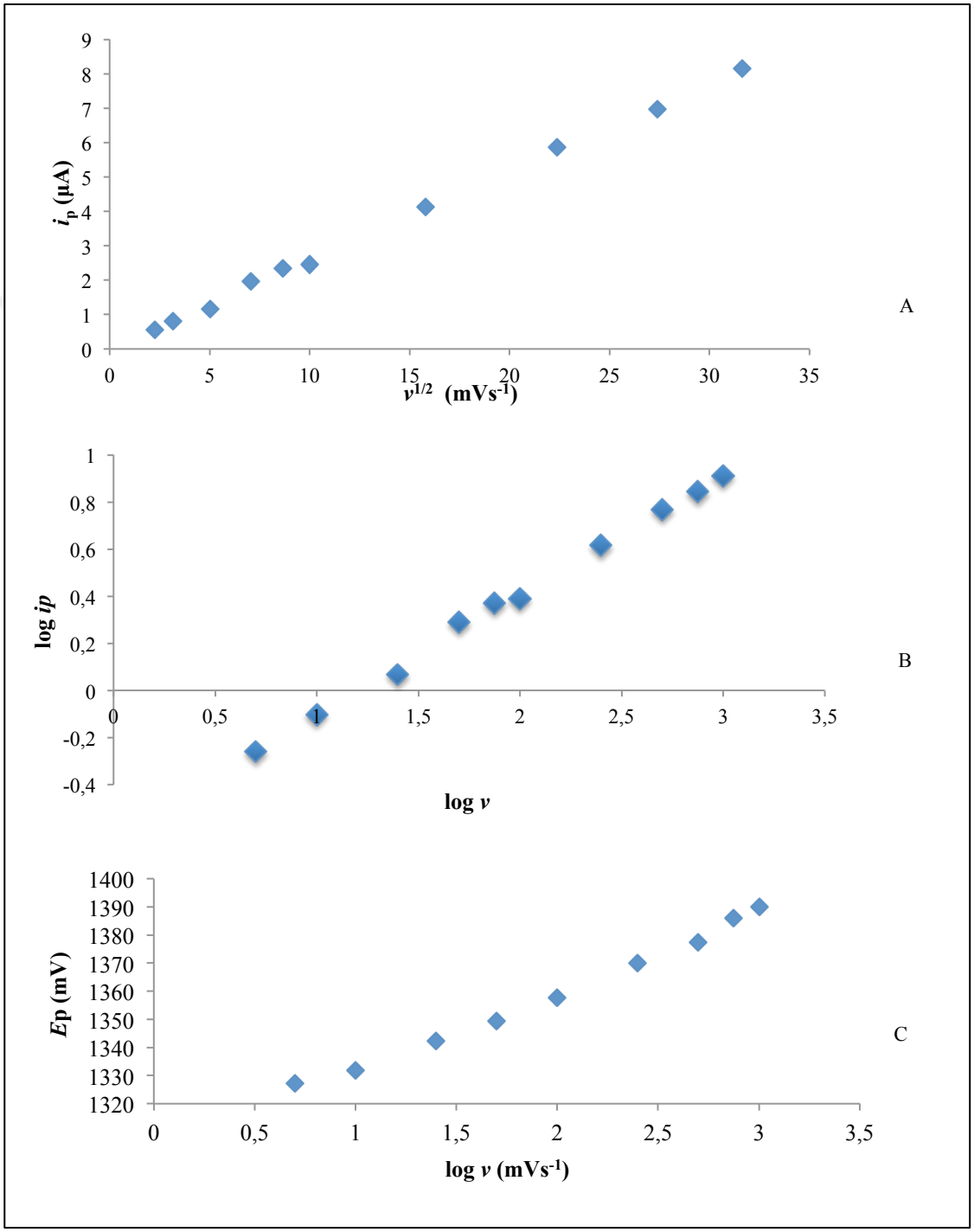
log i_p (μA) = 0,510 log v (mVs^{-1}) – 0,612 (r: 0,999 ; n: 10)

ile verilmiştir.

Adefovir için pH 4,7 asetat tamponu içerisinde CKE ile yapılan hız taraması sonuçlarına göre çizilen E_p–log v eğrisine (Şekil 3.29C) ait eğim değeri 17,69 olarak bulunmuştur, buradan elde edilen doğru denklemi,

E_p (mV) = 27,62 log v (mV s^{-1}) + 1304,5; r = 0,996 (n = 9) şeklindedir.

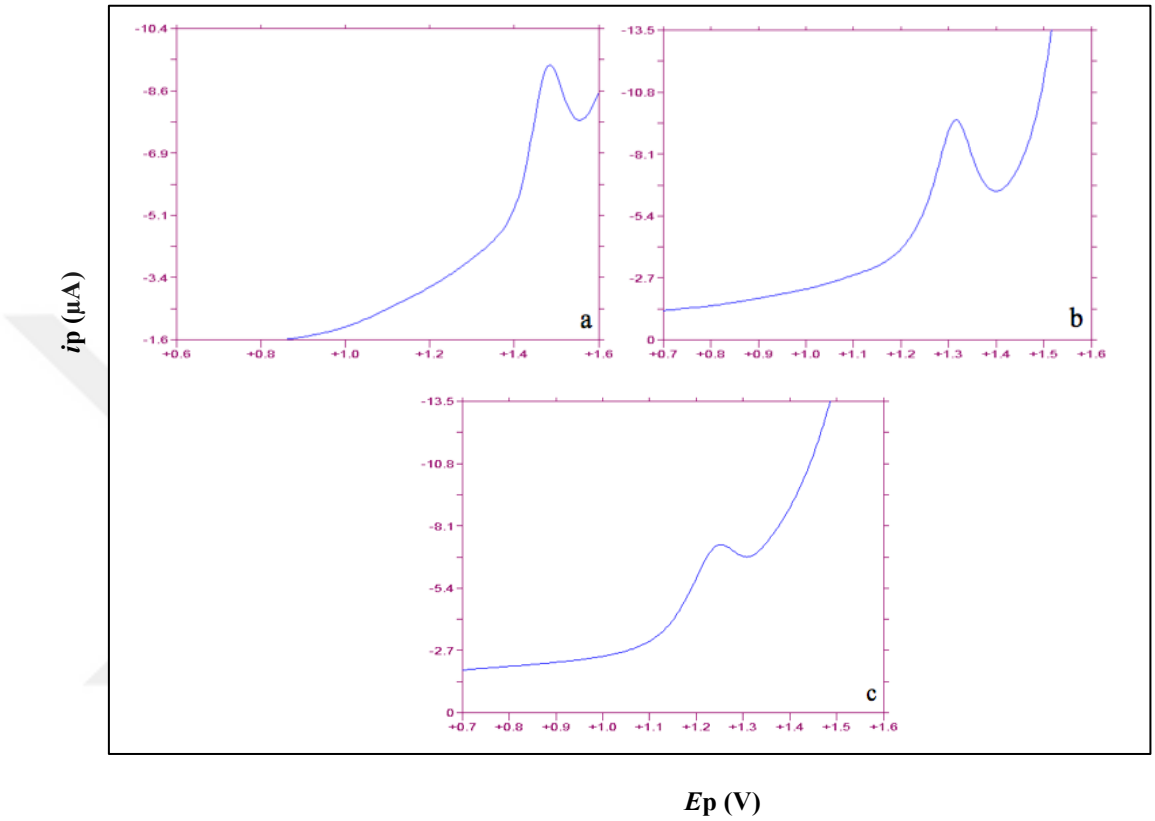
4×10^{-5} M adefovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında elde edilen tarama hızının kare kökü- akım eğrisi, log v – log i_p eğrisi ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli eğrisi sırasıyla Şekil 3.34A, Şekil 3.34B ve Şekil 3.34C'de verilmiştir.



Şekil 3.34. 4×10^{-5} M Adefovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında 5 – 750 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının kare kökü ile pik akımı (A), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (B) ve tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli(C) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

3.4.4. Camsı Karbon Elektrotla Adefovir'in Kare Dalga Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi

4×10^{-5} M Adenin'in pH 2,0 BR tamponu, 4,7 asetat tamponu ve 7,0 BR tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramları Şekil 3.35'de verilmiştir.

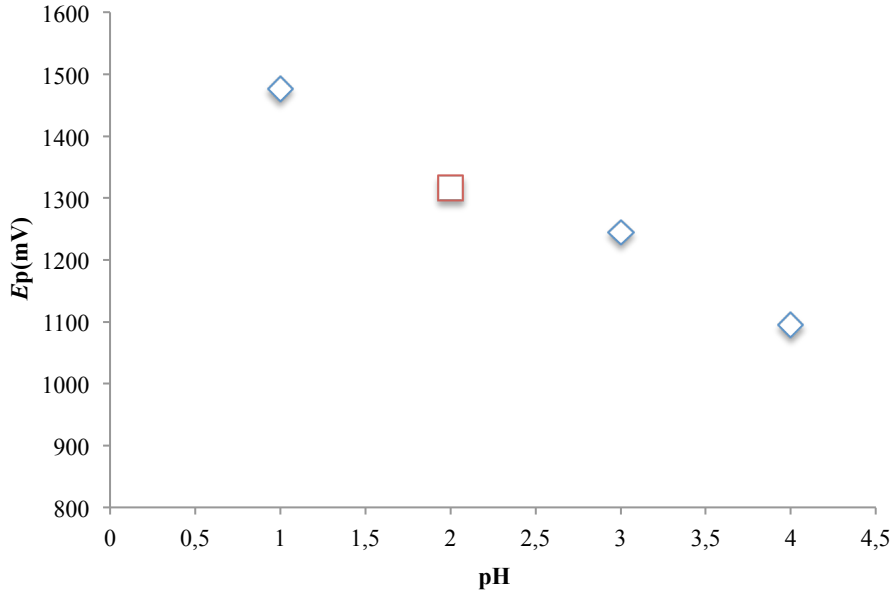


Şekil 3.35 4×10^{-5} M Adefovir'in pH 2,0 BR tamponu (a), 4,7 asetat tamponu (b) ve 7,0 BR(c) tamponu içerisinde incelenen kare dalga voltamogramları.

Çizelge 3.17. Camsı karbon elektrot ile $4x10^{-5}$ M adefovir'in farklı pH değerlerinde kare dalga voltametri yöntemi ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik potansiyeli değerleri

pH	**Pik potansiyeli (mV)**
2,0 BRT	1475,6
4,7 Asetat	1315,9
7,0 BRT	1243,9
10,0 BRT	1094,0

Kare dalga voltametri ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça adefovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür.



Şekil 3.36. 4×10^{-5} M adefovir'in kare dalga voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler. (◊):BR tamponu (□): Asetat tamponu

3.5. Camsı Karbon Elektrot Kullanılarak Geliştirilen Yöntem ile Yapılan Girişim Çalışmaları

İlaç etken maddesi Tenofovir'in sıkça kullanılan bazı maddeler ile etkileşip etkileşmediği incelenmiştir. Bu çalışmada ürik asit, askorbik asit, glukoz, dopamin, Na^+, Cl^- ve K^+ iyonlarının $4x10^{-6}$ M tenofovir'e etkisi camsı karbon elektrot kullanılarak AdSKDV yöntemiyle pH 4,7 asetat tamponu ortamında araştırılmıştır. Bu maddelerin ve iyonların farklı derişimlerinin tenofovir üzerindeki etkisine bakılmıştır.

Yapılan girişim çalışmaları değerlendirildiğinde $4x10^{-6}$ M Tenofovir derişimine göre Na^+, Cl^- ve K^+ iyonlarının derişimlerinin oranı 1:1 ve 1:10 olması durumunda tenofovirin cevabını %10'dan fazla etkilemezken, ürik asit, askorbik asit, glukoz, dopamin ile Tenofovir derişiminin 1:1 olduğunda tenofovirin cevabını %10'dan fazla etkilemezken, bu oran 1:10 olduğunda tenofovirin cevabını %10'dan fazla etkilemiştir. Bu sonuçlar Çizelge 3.18'de verilmiştir.

Çizelge 3.18. Tenofovir etken maddesinin girişim çalışmalarından elde edilen veriler

	TDF:AA (1:1)	**TDF:UA (1:1)**	**TDF:Glukoz (1:1)**	**TDF:NaCl (1:1)**	**TDF:KCl (1:1)**	**TDF:Dopamin (1:1)**
%Ortalama Geri Kazanım	98,37	99,48	98,64	101,42	100,14	100,029
%BSS	0,940	0,676	1,662	1,052	1,177	1,761
%BH	1,620	0,513	1,350	-1,422	0,146	0,029
	TDF:AA (1:10)	**TDF:UA (1:10)**	**TDF:Glukoz (1:10)**	**TDF:NaCl (1:10)**	**TDF:KCl (1:10)**	**TDF:Dopamin (1:10)**
%Ortalama Geri Kazanım	80,15	88,39	121,21	106,43	106,34	112,33
%BSS	1,296	2,160	1,961	1,531	0,739	1,960
%BH	19,85	11,600	-21,218	-6,431	-6,343	-12,330

3.6. Modifiye edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Voltametrik Çalışmaları

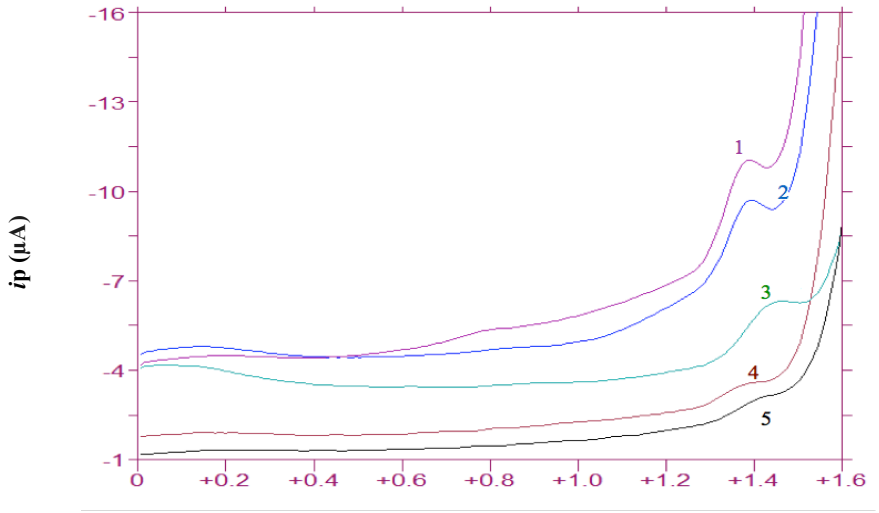
Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli modifikasyonlar uygulanarak Tenofovir etken maddesinin voltametrik sinyalleri incelenmiştir. Elektrokimyasal sensörlerde elektrodun yüzeyine farklı nanoparçacıklar ve polimerler ile modifikasyonlar yapılmıştır. Modifikasyon çalışmalarında nanoparçacıkların geniş yüzey alanı, kolay hazırlanabilir olması, dayanıklı ve hafif olması, elektriksel iletkenliğinin yüksek olması ve katalitik özelliğinden dolayı tercih edilmiştir.

Tenofovir'in modifiye edilmemiş ve çeşitli nanoparçacıklarla modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlarla pH 4,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen sonuçları Çizelge 3.19'da verilmiştir.

Çizelge 3.19. $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde farklı modifikasyonlar ile geliştirilen elektrotlarla AdSKDV (0V, 60s) ve AdSDPV (0V, 60s) teknikleri ile elde edilen sinyallerin karşılaştırılması.

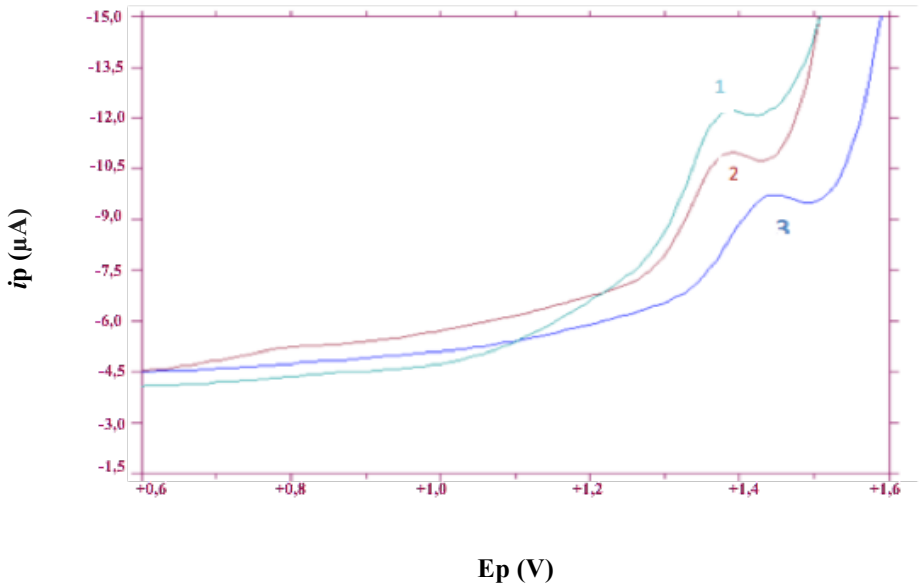
Elektrot	**Damlatma miktarı(µL)**	**AdSKDV**		**AdSDPV**	
		Potansiyel	**Akım**	**Potansiyel**	**Akım**
CKE		1336	0,659	1312	0,215
rGO	10	1368	0,193	1332	0,093
TDKNT	10	1416	0,118	1356	0,105
ÇDKNT	5	1368	1,072	1308	0,323
	10	1352	0,240	1292	0,082
Kitosan:ÇDKNT(1:1)	5	1360	0,537		-
Kitosan	5	1400	0,070		-
Beta-CD	10	1400	0,112		-
AgNP	5	1384	0,584	1340	0,211
	10	1368	1,749	1320	0,247
	15	1376	1,185	1328	0,282
ÇDKNT:AgNP(1:1)	2	1427	1,089	1368	0,432
	4	1400	1,350	1348	0,436
	5	1424	1,379	1364	0,625
	7	1424	1,378	1364	0,490
	10	1432	1,160	1364	0,539
	15	1416	1,702	1356	0,882
	20	1424	1,062	1364	0,600
ÇDKNT:AgNP(1:2)	15	1432	0,257	1384	0,405
AuNP	15	1368	0,467		-
AuNP:ÇDKNT(1:1)	15	1400	0,565	1356	0,393
ÇDKNT/AgNP	5/5	1384	0,338	1340	0,122
ÇDKNT/AgNP	5/10	1448	1,287	1380	0,519
AgNP/ÇDKNT	5/5	1376	0,763	1344	0,067
AgNP:$1x10^{-2}$M BAK(4:1)	10	1376	0,534	1340	0,102
AgNP:$1x10^{-4}$M BAK(4:1)	**10**	**1368**	**4,786**	**1308**	**0,629**
AgNP:$1x10^{-6}$M BAK(4:1)	10	1376	4,086	1316	0,596
AgNP:%10PEG400(4:1)	10	1376	2,733	1320	0,648
AgNP:su(4:1)	10	1368	1,316	1324	0,309

pH 4,7 asetat tamponu ortamında $4x10^{-6}$M tenofovir'in AdSKDV yöntemiyle elde edilen farklı malzemeler ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlarının voltamogramları Şekil 3.37' da verilmiştir.



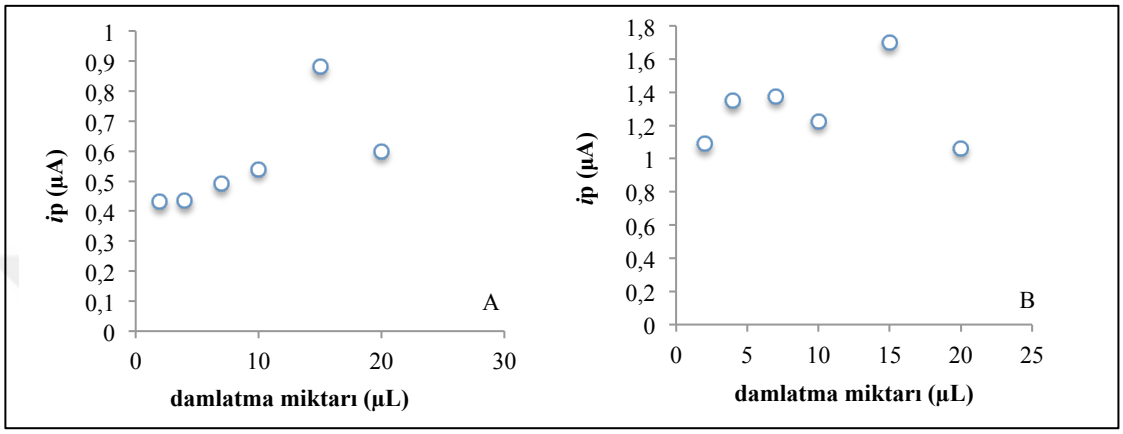
Şekil 3.37. pH 4,7 asetat tamponu ortamında 4x10^{-6}M tenofovir'in *f*ÇDKNT(1), AgNP(2), *f*TDKNT(3), rGO(4), β-CD(5) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların AdSKDV yöntemiyle elde edilen voltamogramları

4x10^{-6} M tenofovir'in Şekil 3.37'de belirtilen modifiye camsı karbon elektrotları ile elde edilen cevaplara göre *f*ÇDKNT(1) ve AgNP(2) malzemeleri ile cevabın daha yüksek ve daha az pozitif potansiyele kaydığı görülmüştür. *f*ÇDKNT, AgNP ve *f*ÇDKNT:AgNP karışımı ile yapılmış olan modifikasyon çalışmasının voltamogramları Şekil 3.38'de verilmiştir.



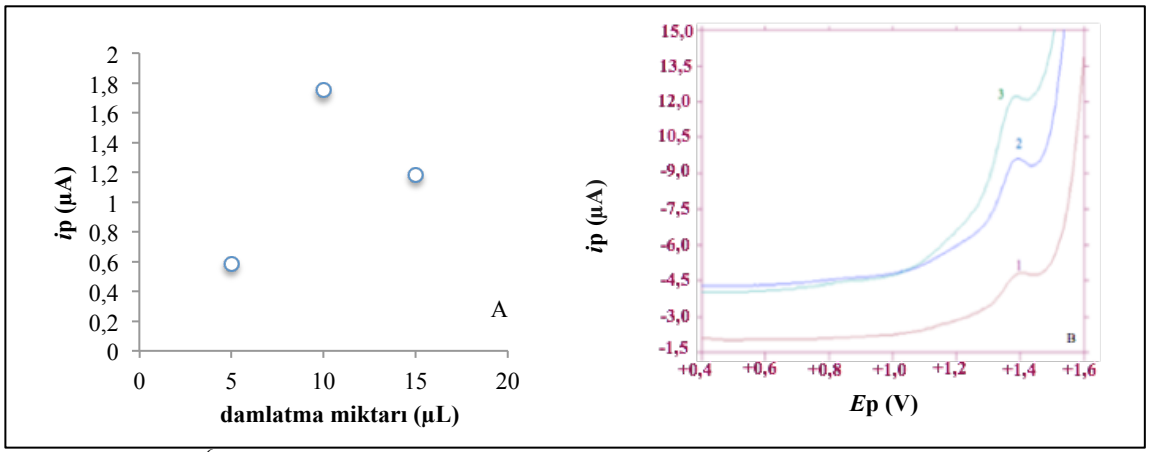
Şekil 3.38. pH 4,7 asetat tamponu ortamında 4x10^{-6}M tenofovir'in AgNP(1), *f* ÇDKNT (2), AgNP: *f* ÇDKNT (3) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların AdSKDV yöntemiyle elde edilen voltamogramlar

Şekil 3.38'de elde edilen voltamogramlarda karışımın daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. $4x10^{-6}$ M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında AdSDPV(a) ve AdSKDV(b) yöntemleri ile elde edilen AgNP: *f*ÇDKNT(1:1) karışımının elektrot yüzeyine farklı damlatma miktarına (2-20 µL) karşılık akım değerlerini gösteren grafik Şekil 3.39'da verilmiştir.



Şekil 3.39. $4x10^{-6}$M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında AdSDPV(a) ve AdSKDV(b) yöntemleri ile elde edilen AgNP: *f*ÇDKNT karışımı elektrot yüzeyine farklı damlatma miktarına karşılık akım değerlerini gösteren grafik

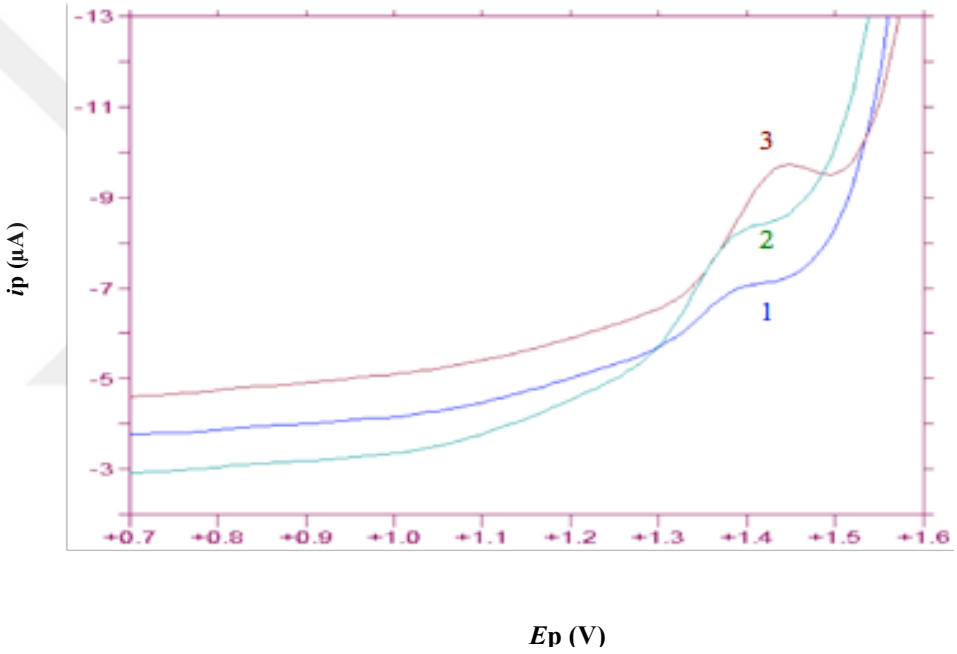
AgNP:ÇDKNT ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotta AdSKDV tekniği ile yapılan deneyler sonucunda akım sinyallerinin tekraredilebilirliği düşük çıktığı için çalışmalara AgNP ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile devam edilmiştir. $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında AdSKDV yöntemi ile camsı karbon elektrot yüzeyine farklı AgNP damlatma miktarına karşılık akım değerleri grafiği Şekil 3.40(a)'de ve voltamogramı Şekil 3.40(b)'da verilmiştir.



Şekil 3.40. $4x10^{-6}$M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında AdSKDV yöntemi ile elde edilen AgNP elektrot yüzeyine farklı damlatma miktarına karşılık akım değerlerini gösteren voltamogramları.

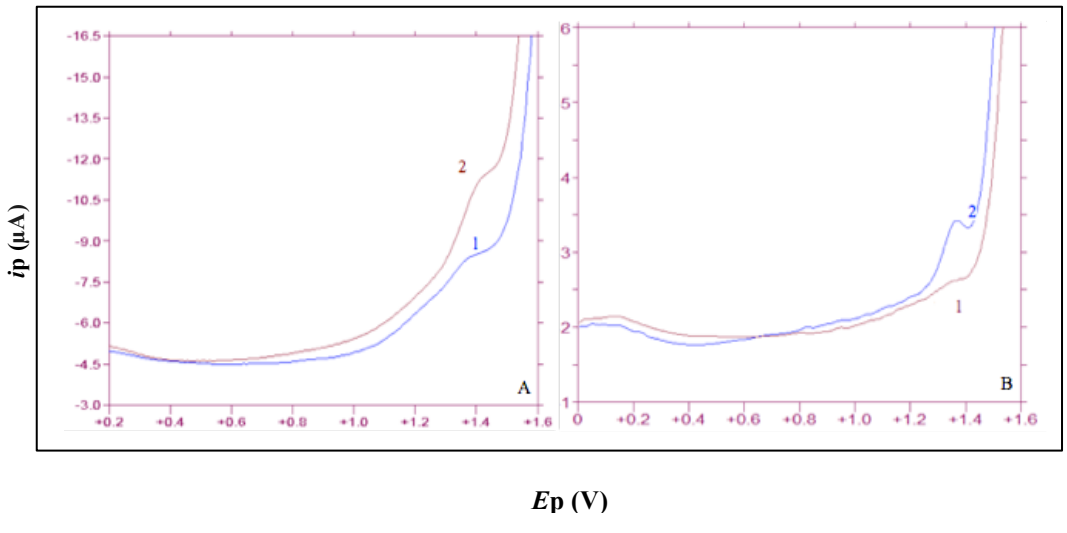
Modifikasyon (*layer-by-layer*) denemeleri sırasında camsı karbon elektrot yüzeyine sırasıyla *f*ÇDKNT ve AgNP malzemeleri damlatılmıştır. 1 numaralı modifikasyonda elektrot yüzeyine öncelikle *f*ÇDKNT (5 µL) damlatılmıştır, 45 dk kurutulduktan sonra AgNP (5 µL) damlatılmış ve kurutulmuştur. 2 numaralı modifikasyonda öncelikle AgNP(5 µL) damlatılmış, kurutulduktan sonra *f*ÇDKNT(5 µL) damlatılıp kurumaya bırakılmıştır. 3 numaralı modifikasyonda *f*ÇDKNT:AgNP karışımı (10 µL) yüzeye damlatılmış ve kurutulmuştur.

Modifiye edilen elektrotların $4x10^{-6}$M Tenofovir için pH 4,7 asetat tamponu ortamında verdiği sinyaller Şekil 3.41'de verilmiştir.



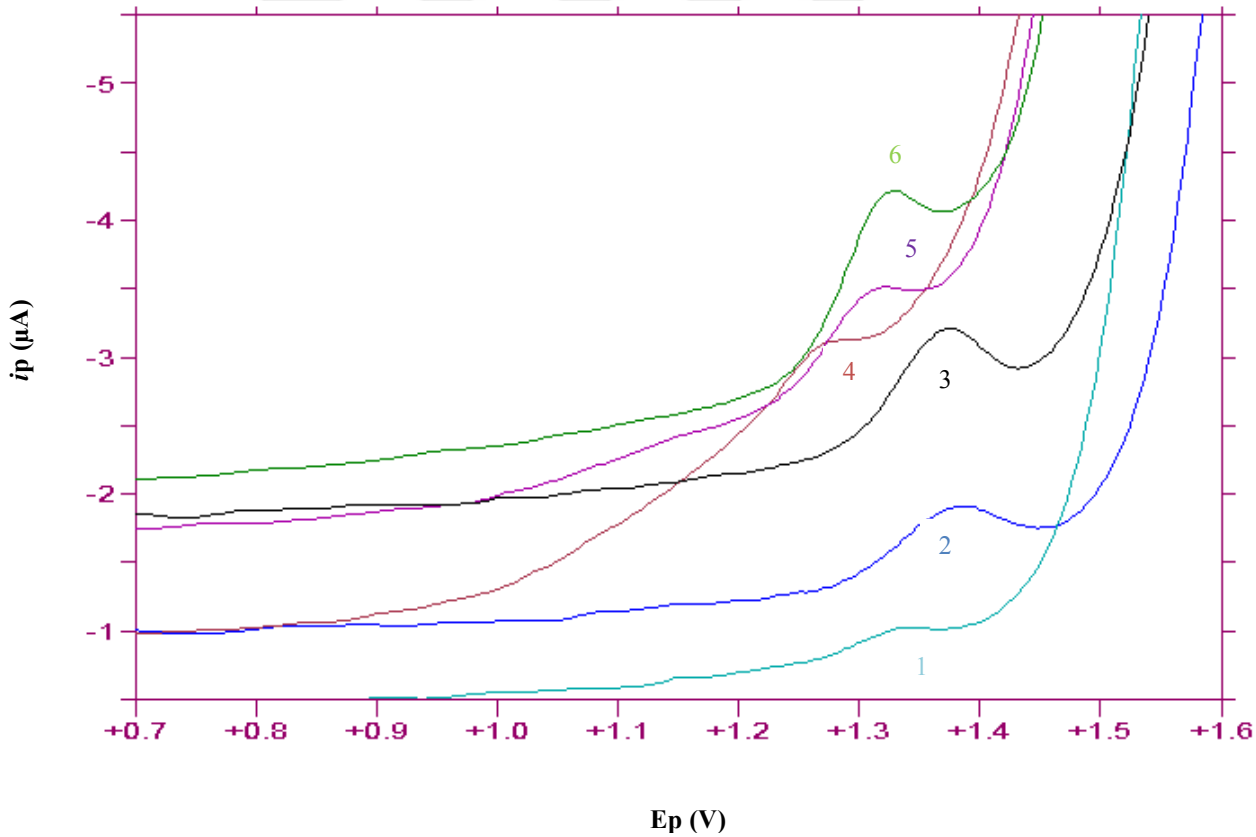
Şekil 3.41. *f*ÇDKNT/AgNP (1), AgNP/*f*ÇDKNT (2), *f*ÇDKNT :AgNP (3) karışımı modifikasyonları ile hazırlanan elektrot ile $4x10^{-6}$M Tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında elde edilen voltammogramları.

Şekil 3.42'de AuNP (1), AuNP:*f*ÇDKNT (2) karışımı ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların $4x10^{-6}$M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında AdSKDV ve AdSDPV yöntemleriyle elde edilen voltamogramlar verilmiştir.



Şekil 3.42. AuNP (1), AuNP:*f*ÇDKNT (2) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların 4x10^{-6}M tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu ortamında AdSKDV(A) ve AdSDPV(B) yöntemiyle elde edilen voltamogramları

Ayrıca, AdSDPV yöntemiyle de pH 4,7 asetat tamponu ortamında 4x10^{-6}M tenofovir'in elde edilen farklı malzemeler ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlarının voltamogramları Şekil 3.43' de verilmiştir.



Şekil 3.43. pH 4,7 asetat tamponu ortamında 4x10^{-6}M tenofovir'in *r*GO(1), *f* TDKNT (2), AgNP: *f*ÇDKNT karışımı (3), CKE(4), *f*ÇDKNT(5), AgNP(6) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotların AdSDPV yöntemiyle elde edilen voltamogramları

Camsı karbon elektrot yüzeyindeki çeşitli modifikasyon çalışmalarının sonucunda AgNP ile yapılan çalışmalarda $4x10^{-6}$M Tenofovir'in cevabının daha fazla arttığı görülmüştür. Böylece, AgNP ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile çalışmalara devam edilmiştir. Metal nanoparçacıkların katalitik özelliğinin olmasının yanı sıra tekrarlanabilirliği düşük olduğu için bu yönde iyileştirme çalışmaları yapılmıştır.

Surfaktanlar'ın (Yüzey aktif maddelerinin) tenofovir çözeltisine eklenmesi ile AgNP ile elde edilen modifikasyon sonuçlarının daha tekrarlanabilir olduğu yapılan deneylerden gözlenmiştir. pH 4,7 asetat tamponu ortamında $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in AgNP ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotta AdSKDV ve AdSDPV yöntemleri ile farklı derişimlerde surfaktanlar (STAB, BAK, SDS) ile elde edilen veriler Çizelge 3.20' de verilmiştir.

Çizelge 3.20. Farklı derişimlerde çeşitli surfaktanlar'ın $4x10^{-6}$M Tenofovir akımına etkisine ilişkin sonuçlar

	Surfaktan Derişimi	AdSKDV		AdSDPV	
		Potansiyel	Akım	Potansiyel	Akım
SDS	$1x10^{-3}$	1304	0,533	1260	0,270
	$1x10^{-4}$	1312	0,882	1260	0,292
	$1x10^{-6}$	1304	0,909	1288	0,271
STAB	$1x10^{-4}$	-	-	-	-
	$1x10^{-5}$	1352	0,556	1304	0,398
	$1x10^{-6}$	1352	0,951	1308	0,272
BAK	$1x10^{-4}$	1324	0,050	-	-
	$5x10^{-5}$	1324	0,078	1300	0,090
	$1x10^{-5}$	1330	0,278	1308	0,108
	$1x10^{-6}$	1336	0,602	1300	0,198
	$5x10^{-7}$	1336	0,688	1300	0,291
	$1x10^{-7}$	1336	0,690	1300	0,317
TDF		1336	0,659	1312	0,215

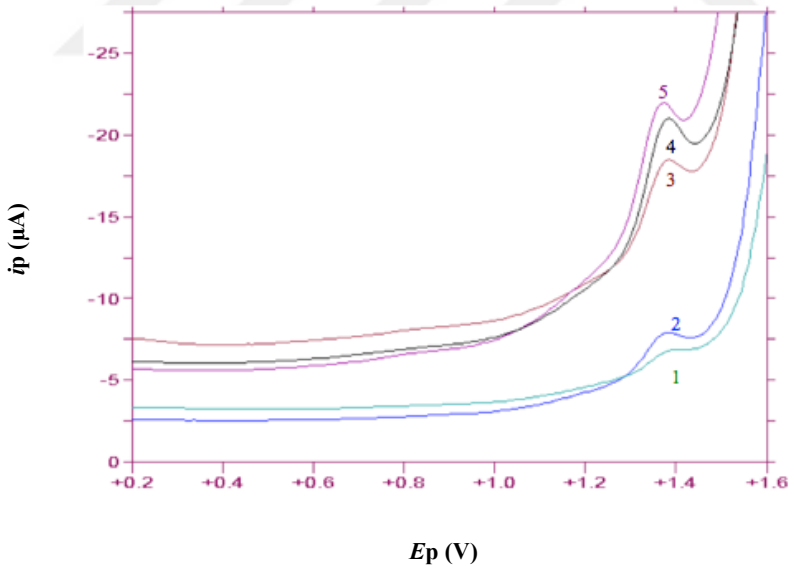
Camsı karbon elektrot kullanılarak çeşitli surfaktanlar'ın $4x10^{-6}$ M Tenofovir sinyali üzerine etkisi AdSKDV ve AdSDPV yöntemleri ile incelenmiştir. Surfaktanların elde edilen verilere göre tenofovir sinyaline surfaktanların akım artışı yönünden etkisi pek görülmezken, daha tekrar edilebilir sonuçlar elde edilmiştir.

Surfaktanların Ag nanoparçacık çözeltisine eklenmesi ile tenofovir sinyalinin hem daha tekrar edilebilir olduğu hem de sinyalinin arttığı gözlenmiştir. Farklı surfaktan miktarı içeren AgNP ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotta elde edilen Tenofovir sinyalleri Çizelge 3.21' de verilmiştir.

Çizelge 3.21. Farklı derişimlerde surfaktan içeren AgNP ile modifiye edilmiş CKE kullanılarak elde edilen $4x10^{-6}$ M tenofovir sinyaline ilişkin sonuçlar

Elektrot	**Damlatma Miktarı (µL)**	**AdSKDV**		**AdSDPV**	
		Potansiyel (mV)	**Akım (µA)**	**Potansiyel (mV)**	**Akım (µA)**
GCE		1336	0,659	1312	0,215
AgNP	10	1368	1,749	1320	0,247
AgNP:$1x10^{-2}$M BAK	10	1376	0,534	1340	0,102
AgNP:$1x10^{-4}$M BAK	**10**	**1368**	**4,786**	**1308**	**0,629**
AgNP:$1x10^{-6}$M BAK	10	1376	4,086	1316	0,596

Farklı derişimlerde çeşitli surfaktan içeren AgNP ile modifiye edilmiş CKE kullanılarak elde edilen tenofovir voltamogramları Şekil 3.47'de verilmiştir.



Şekil 3.44. AgNP:$1x10^{-2}$M BAK(1), AgNP:su(2), AgNP:%10 PEG400(3), AgNP:$1x10^{-4}$M BAK(4), AgNP:$1x10^{-6}$M BAK(5) ile modifiye edilmiş GCE kullanılarak elde edilen Tenofovir sinyaline ilişkin voltamogramlar

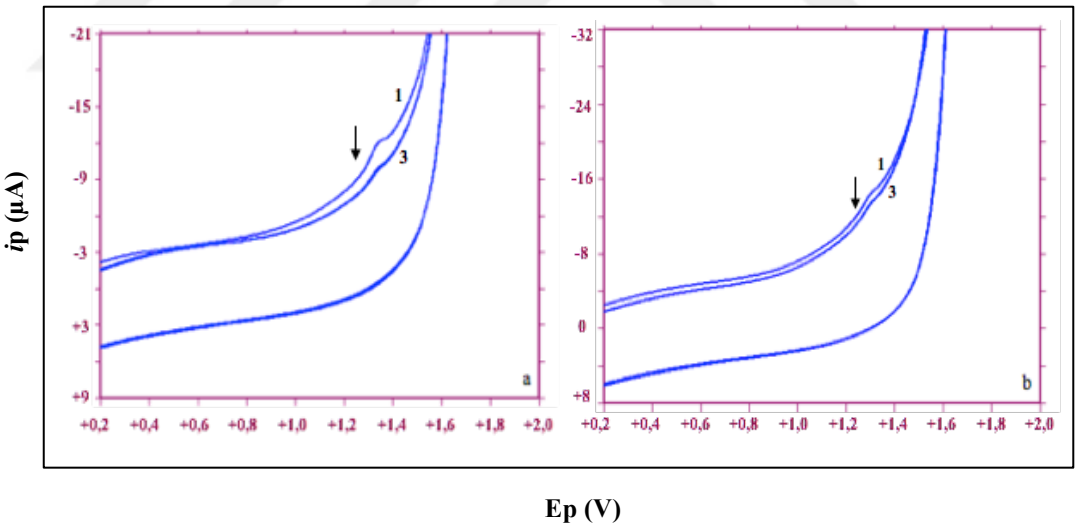
Elde edilen sonuçlara göre tenofovir sinyalinin en yüksek olduğu malzeme AgNP:$1x10^{-4}$ M BAK karışımı olarak bulunmuştur. Bu malzeme kullanılarak modifiye edilmiş CKE ile elde edilen $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in akım değeri 4,786' dır.

Ayrıca modifikasyon işlemi sırasında elektrot yüzeyinde AgNP lerinin topaklaşmasını engellemek için ölçüm çözeltisi içerisinde 0,01 M NaCl olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.6.1. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Dönüşümlü Voltametri Yöntemi ile İncelenmesi

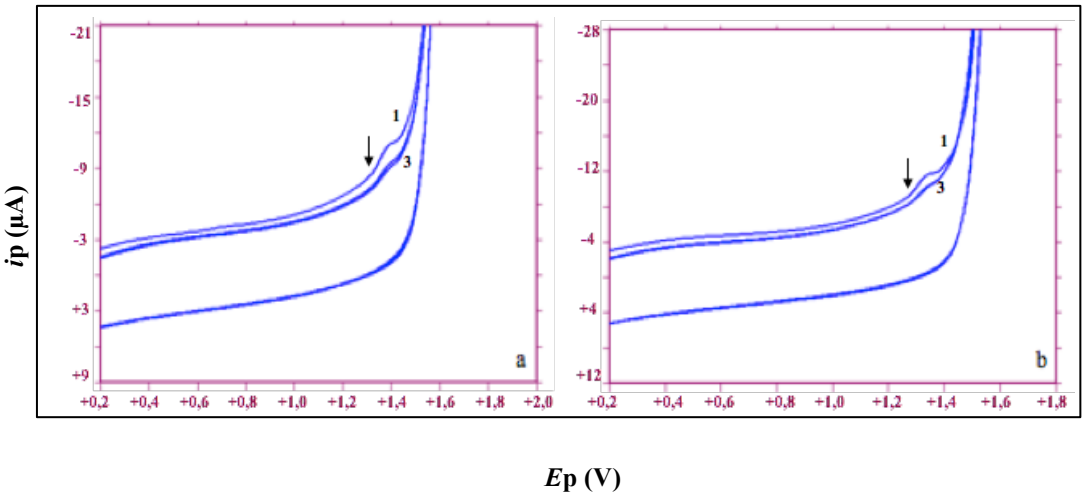
4×10^{-6}M Tenofovir'in yükseltgenme davranışı AgNP:$1x10^{-4}$ M BAK karışımı ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile incelenmiştir. pH 2,0 – 10,0 BR tamponu, pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ve pH 6,0 fosfat tamponu ortamlarında DV tekniği kullanılarak pH taraması yapılmıştır. Ayrıca bu teknik 4×10^{-6} M Tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu içerisinde hız taraması çalışmaları için kullanılmıştır. Çalışılan pH değerlerinde elde edilen voltamogramlarda geri dönüş yönünde çalışılan potansiyel aralığında herhangi bir pik veya dalga görülmemiştir.

4×10^{-6}M Tenofovir'in BR tamponu içerisinde pH 4,0 - 6,0 aralığında incelenen bazı dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.45'de verilmiştir.



Şekil 3.45. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 5,0 (a), 6,0 (b) BR tamponlarında incelenen dönüşümlü voltamogramları(DV). Tarama hızı: 100mV s^{-1}.

4×10^{-6}M Tenofovir'in pH 4,7; 5,7 asetat tamponlarında incelenen dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.46'da verilmiştir.



Şekil 3.46. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 4,7 (a); 5,7(b) asetat tamponlarında incelenen dönüşümlü voltamogramları (DV). Tarama hızı: 100mV s^{-1}.

Çizelge 3.22. Modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde dönüşümlü voltametri ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

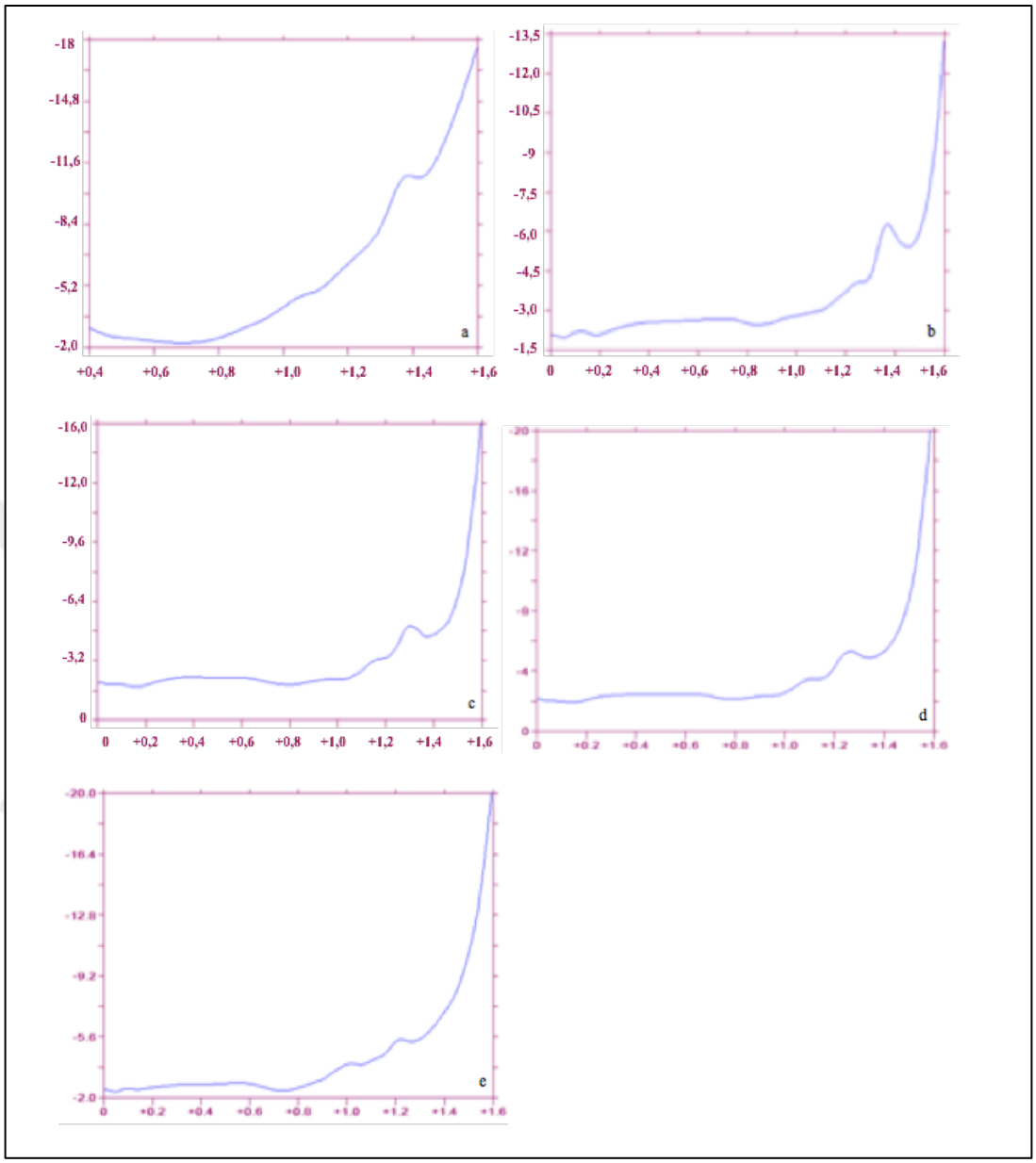
pH	**Pik Akımı (µA)**	**Pik potansiyeli (mV)**
4,0 BRT	0,351	1360,0
4,7 asetat tamponu	0,647	1350,0
5,0 BRT	0,733	1345,0
5,7 asetat tamponu	**0,735**	**1332,0**
6,0 BRT	0,783	1248,0

3.6.2. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Diferansiyel Puls Voltametrisi ile İncelenmesi

Modifiye elektrotta nanoparçacıklardan dolayı yüzeyde adsorpsiyon görüldüğü için adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) ile pH taraması yapılmıştır. pH taramasından önce puls teknikleri için potansiyel ve süre optimizasyonu yapılmış ve sırasıyla 0,75 V ve 90 s olarak bulunmuştur.

4×10^{-6}M Tenofovir'in yükseltgenme davranışı camsı karbon elektrot ile pH 2,0 – 8,0 BR tamponu ve pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ortamlarında AdSDPV tekniği kullanılarak incelenmiştir.

4×10^{-6} M Tenofovir'in BR tamponu içerisinde pH 2,0 – 8,0 aralığında incelenen bazı AdSDP voltamogramları Şekil 3.47'de görülmektedir.

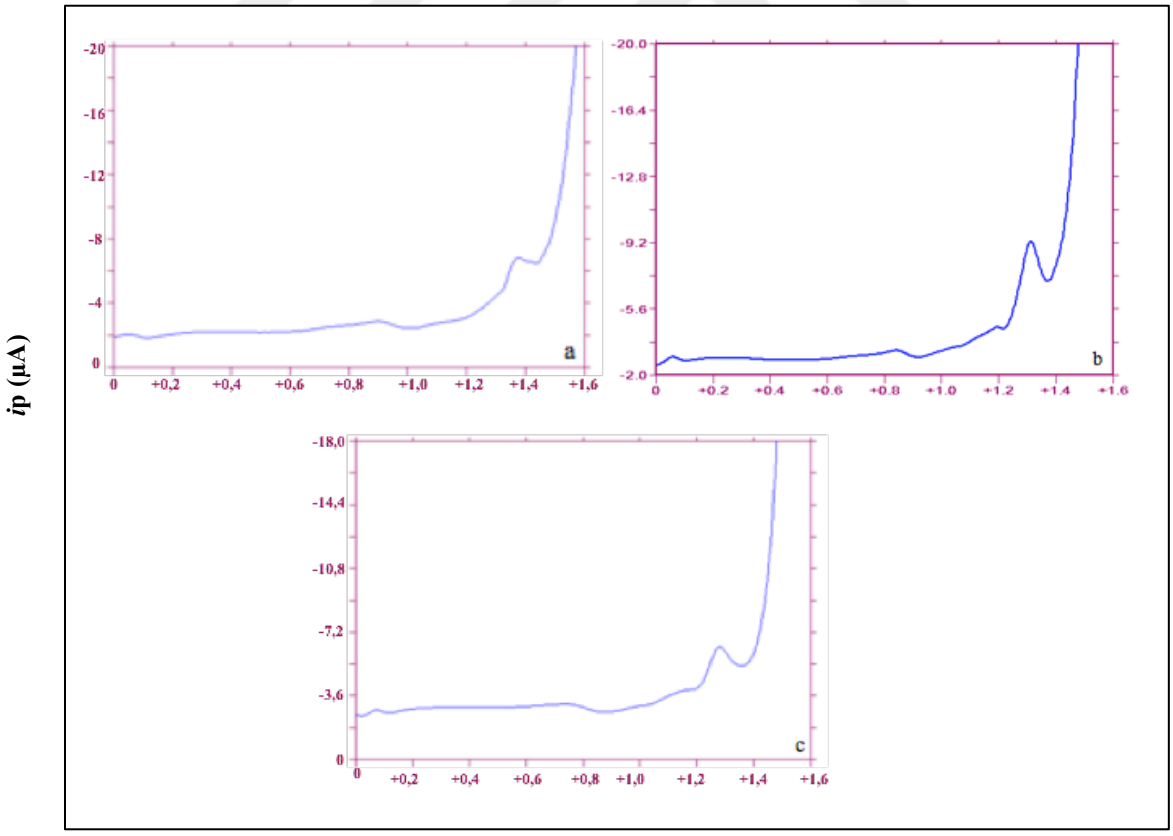


Şekil 3.47. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,0(a), 4,0(b), 5,0(c), 6,0(d), 7,0(e) BR tamponlarında incelenen AdSDP voltamogramları

Çizelge 3.23. BR tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla 4x10^{-6} M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde diferansiyel puls ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı(µA)	Pik potansiyeli(mV)
2,0	1,236	1436,0
3,0	1,750	1390,0
4,0	1,905	1360,0
5,0	1,823	1300,0
6,0	1,132	1248,0
7,0	0,998	1212,0
8,0	0,537	1160,0

4×10^{-6}M Tenofovir'in pH 3,7- 5,7 asetat tamponu aralığında incelenen AdSDP voltamogramları Şekil 3.48'de verilmiştir.



Şekil 3.48. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,7(a), 4,7(b), 5,7(c), asetat tamponlarında incelenen AdSDP voltamogramı

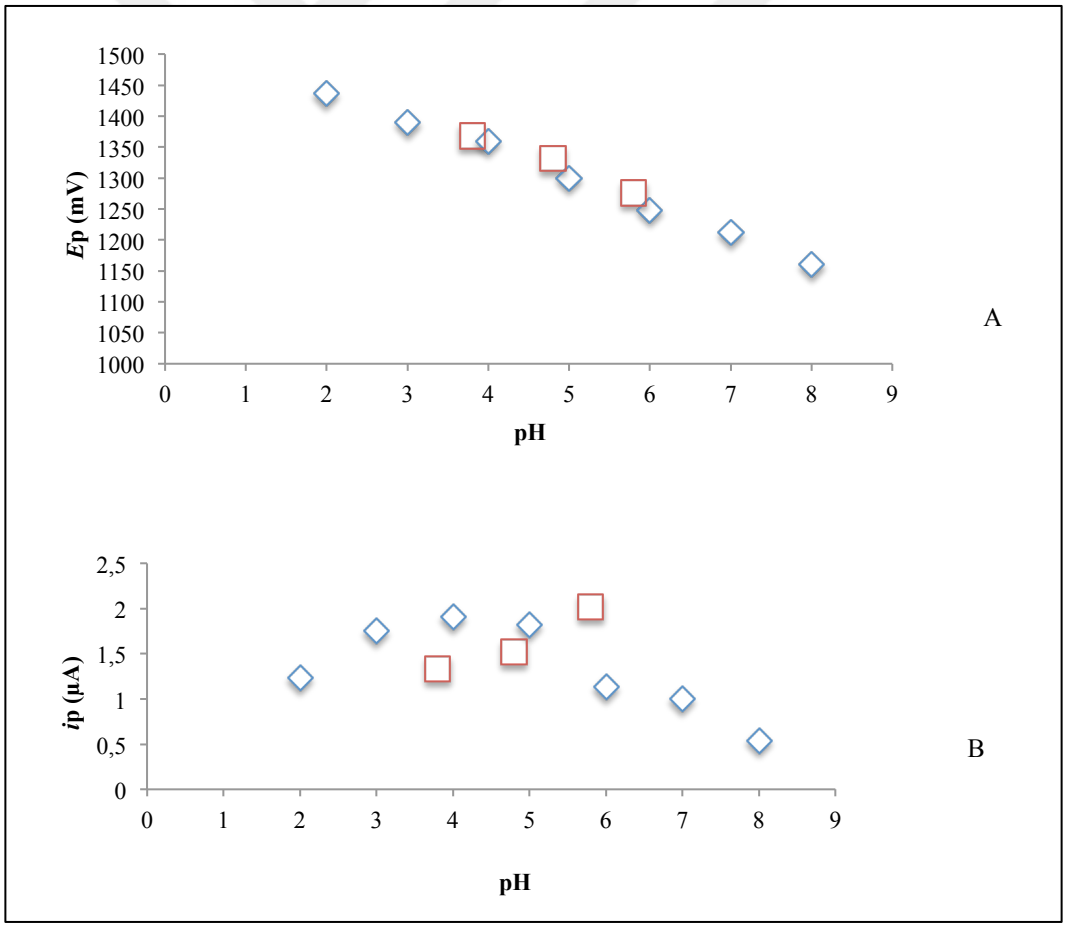
Çizelge 3.24. Asetat tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-5}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde diferansiyel puls ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı(µA)	Pik potansiyeli(mV)
3,7	1,332	1368,0
4,7	1,514	1332,0
5,7	**2,021**	**1276,0**

Diferansiyel puls voltametri yöntemi ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça tenofovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.49).

E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

$Ep(mV)=-46,286pH+1532,3$ $r = 0,998$ (pH 2,0 – 8,0)

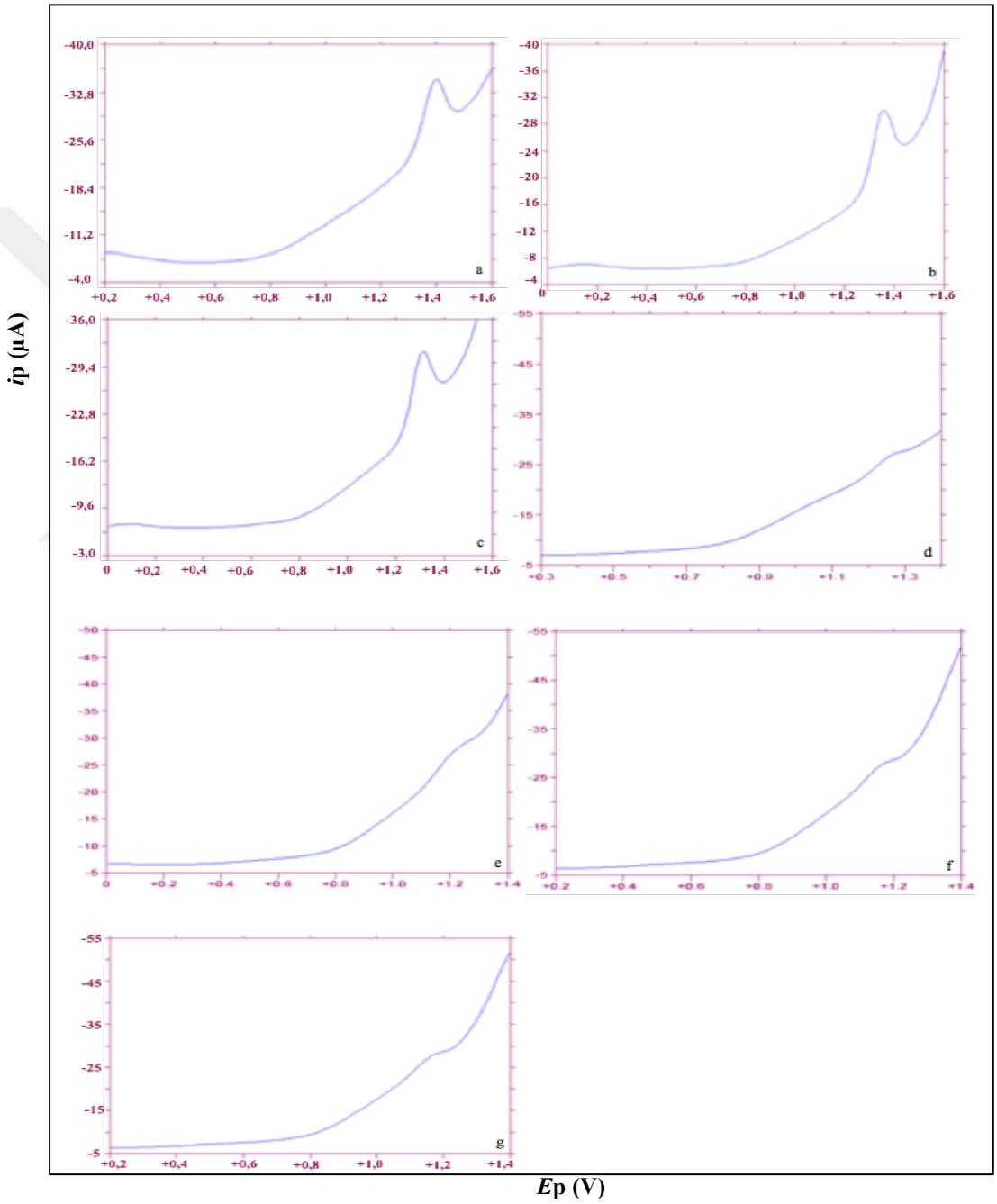


Şekil 3.49. 4×10^{-6} M tenofovir'in diferansiyel puls voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli (A) ve pik akımı (B) üzerine etkisini gösteren eğriler. (□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu

3.6.3. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotla Tenofovir'in Kare Dalga Voltametrisi ile İncelenmesi

4×10^{-6}M Tenofovir'in yükseltgenme davranışı modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile pH 3,0 – 10,0 BR tamponu, pH 6,0 fosfat tamponu ve pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ortamlarında AdSKDV tekniğiyle incelenmiştir.

4×10^{-6} M Tenofovir'in BR tamponu içerisinde pH 3,0 – 10,0 aralığında incelenen AdSKD voltamogramları Şekil 3.50'de verilmiştir.

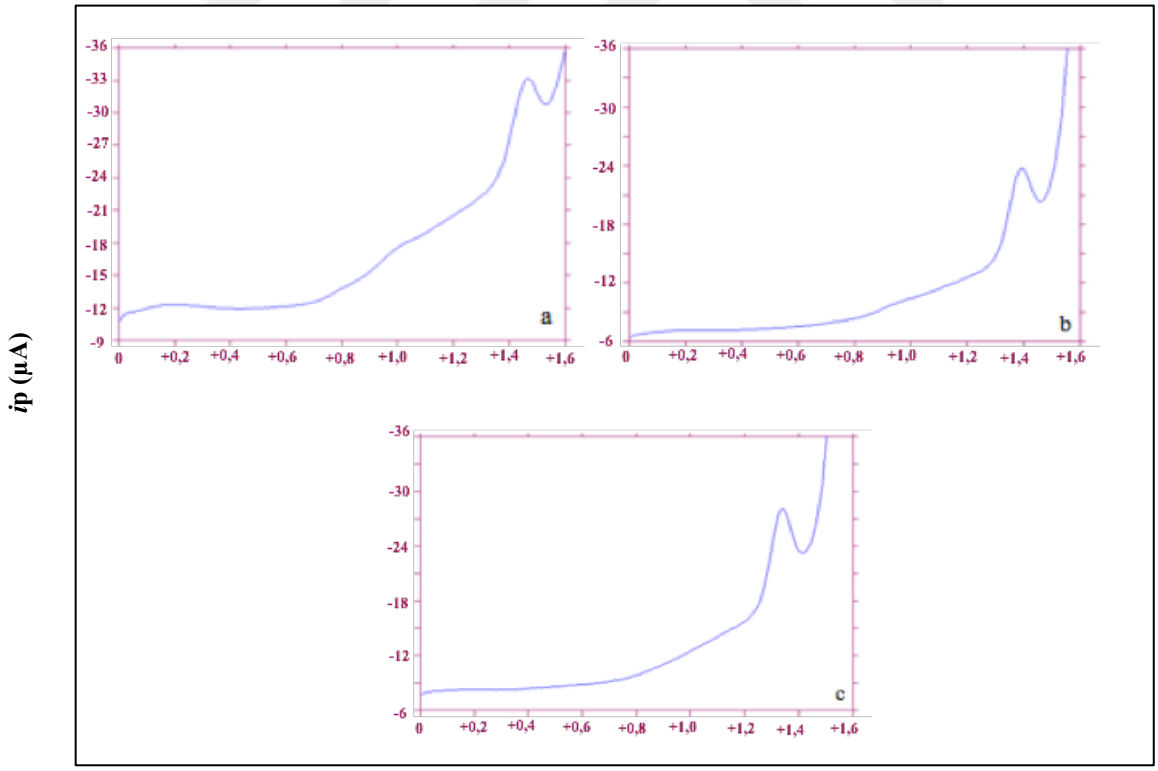


Şekil 3.50. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,0(a), 4,0(b), 5,0(c), 6,0 (d), 7,0 (e), 8,0 (f) 9,0 (g) BR tamponlarında incelenen AdSKD voltamogramları

Çizelge 3.25. BR tampon içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla 4x10^{-6} M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde kare dalga ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı (µA)	Pik Potansiyeli (mV)
3,0	7,9	1464,0
4,0	8,485	1392,0
5,0	9,006	1353,0
6,0	4,551	1334,0
7,0	3,600	1256,0
8,0	3,266	1216,0
9,0	1,315	1152,0
10,0	0,543	1068,0

4×10^{-6}M Tenofovir'in pH 3,7- 5,7 asetat tamponu aralığında incelenen AdSKD voltamogramları Şekil 3.54'de verilmiştir.

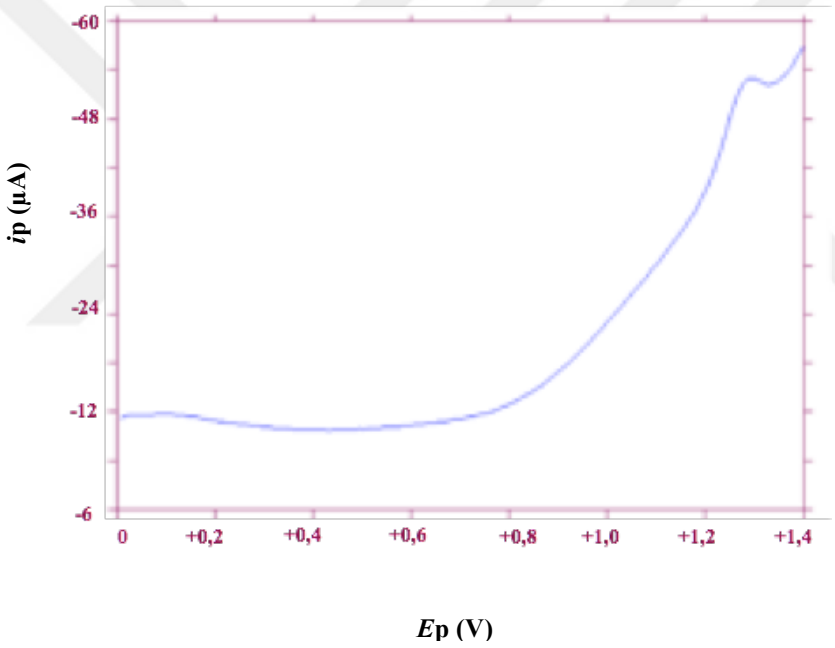


Şekil 3.51. 4×10^{-6} M tenofovir'in pH 3,7(a), 4,7(b), 5,7(c) asetat tamponu aralığında incelenen AdSKD Voltamogramı.

Çizelge 3.26. Asetat tamponu içerisinde modifiye edilmiş camsı karbon elektrotla $4x10^{-6}$ M Tenofovir'in farklı pH değerlerinde kare dalga ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Akımı(µA)	Pik potansiyeli(mV)
3,7	5,111	1456,0
4,7	5,987	1384,0
5,7	7,661	1336,0

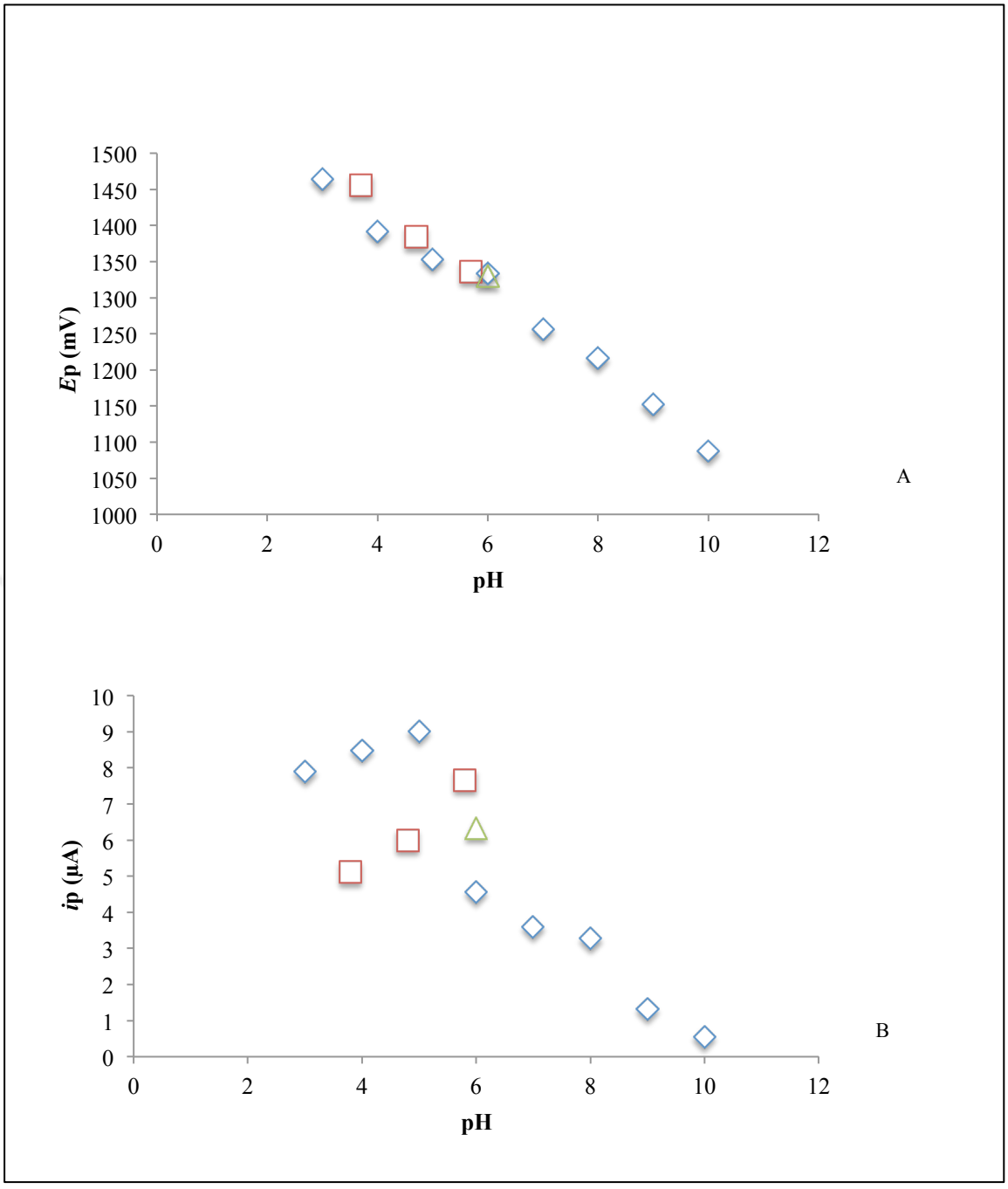
4×10^{-6}M Tenofovir'in pH 6,0 fosfat tamponu içerisinde incelenen AdSKD voltamogramı Şekil 3.52'de verilmiştir.



Şekil 3.52. 4×10^{-6} M tenofovir'in 6,0 fosfat tamponu içerisinde incelenen AdSKD voltamogramı

AdSKDV ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça tenofovir'e ait anodik pikin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür (Şekil 3.53). E_p – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

Ep(mV)=-51,083 pH+1610,2; r = 0,997 (pH 3,0 – 10,0)



Şekil 3.53. 4×10^{-6} M tenofovir'in AdSKD voltamogramlarına göre farklı pH değerleri için pik potansiyeli(A) ve pik akımı(B) üzerine etkisini gösteren eğriler. (Δ): fosfat tamponu, (□): Asetat tamponu, (◊):BR tamponu

pH taraması sonuçlarına göre Tenofovir'in AdSDPV ve AdSKDV ile ölçülen akım değerleri arasında yüksek ve uygun pik şeklinin olduğu ortam pH 5,7 asetat tamponu olarak belirlenmiştir. Bu tamponda $4x10^{-6}$ M derişimde 5-1000 mV s^{-1} aralığında hız taraması yapılmıştır.

4×10^{-6} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında tarama hızı ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki olduğu,

i_p (μA) = 2,28x$10^{-2}$$v$ (mVs^{-1}) + 1,274 (r: 0,992 ; n: 10)

denklemi ile verilmiştir.

pH 5,7 asetat tamponu ortamında tarama hızının kare kökü ile pik akımı arasında bir ilişki olduğu,

i_p (μA) = 0,770$v^{1/2}$ (mVs^{-1}) – 2,690 (r: 0,991 ; n: 10)

denklemi ile verilmiştir.

Aynı ortamda log v – log i_p eğrisinin eğim değeri 0,776 olarak bulunmuştur; buradan elde edilen doğru denklemi,

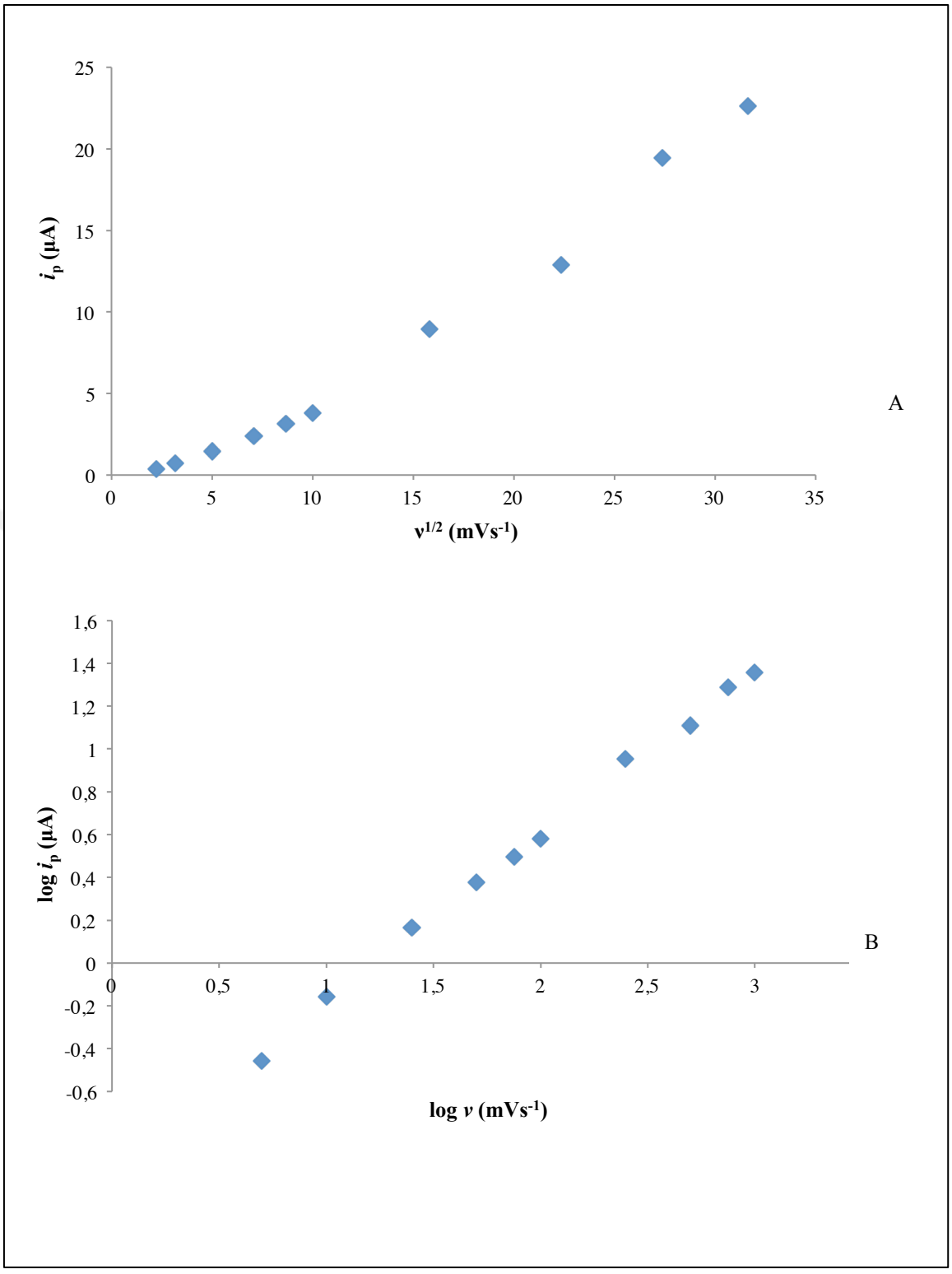
log i_p (μA) = 0,776 log v (mVs^{-1}) – 0,954 (r: 0,999 ; n: 10)

ile verilmiştir.

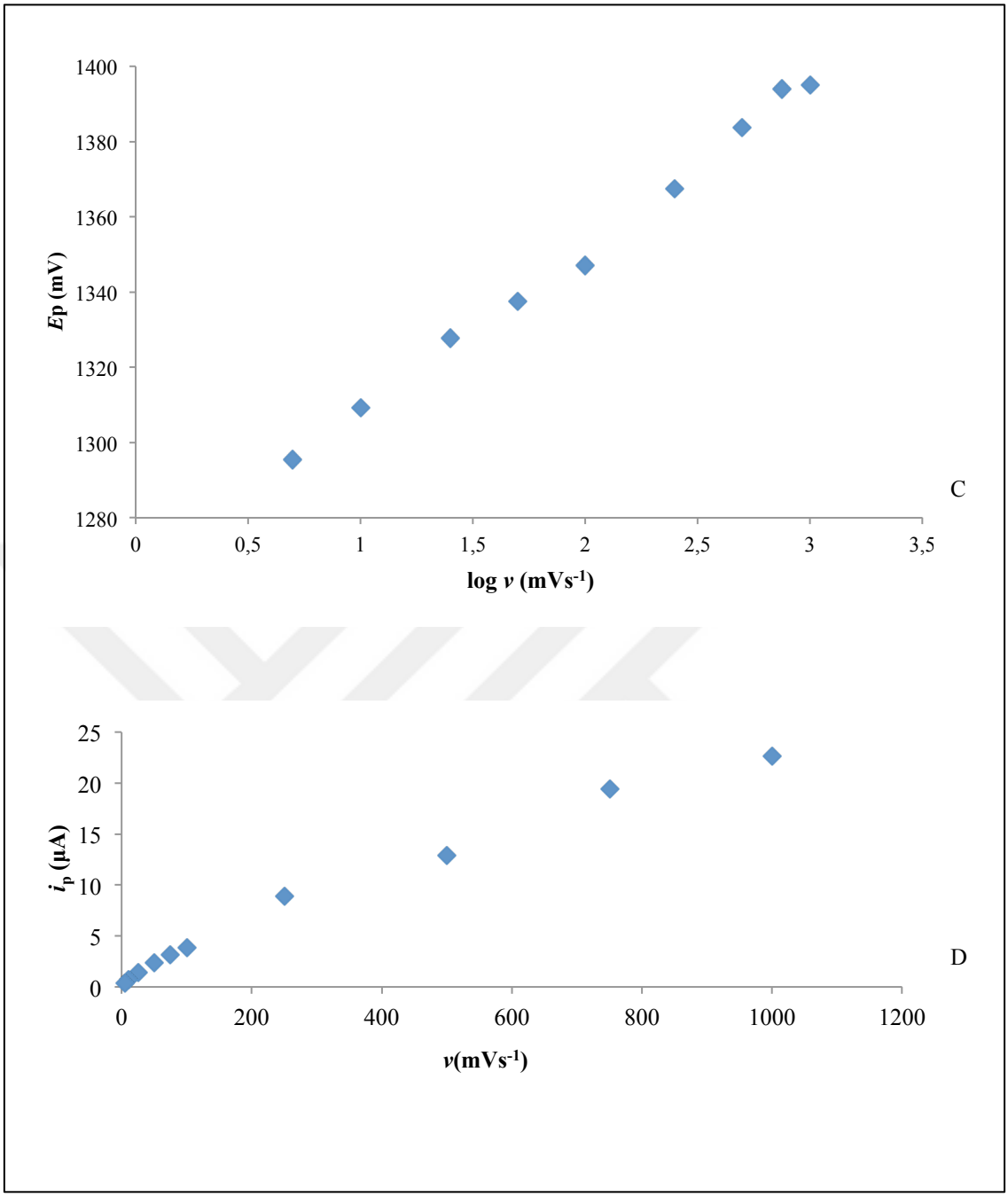
Tenofovir için pH 5,7 asetat tamponu içerisinde modifiye edilmiş CKE ile yapılan hız taraması sonuçlarına göre çizilen E_p – log v eğrisine (Şekil 3.54C) ait eğim değeri 43,77 olarak bulunmuştur, buradan elde edilen doğru denklemi,

E_p (mV) = 43,77 log v (mV s^{-1}) + 1264,0; r = 0,998 (n = 10) şeklindedir.

4×10^{-6} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında yapılan hız taraması çalışmasında elde edilen tarama hızının kare kökü- akım eğrisi, log v – log i_p eğrisi, tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli eğrisi ve tarama hızı-pik akımı sırasıyla Şekil 3.54A, Şekil 3.54B, Şekil 3.54C ve Şekil 3.54D'de verilmiştir.



Şekil 3.54. 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında 5 – 1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının tarama hızı-pik akımı (A), tarama hızının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C), tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

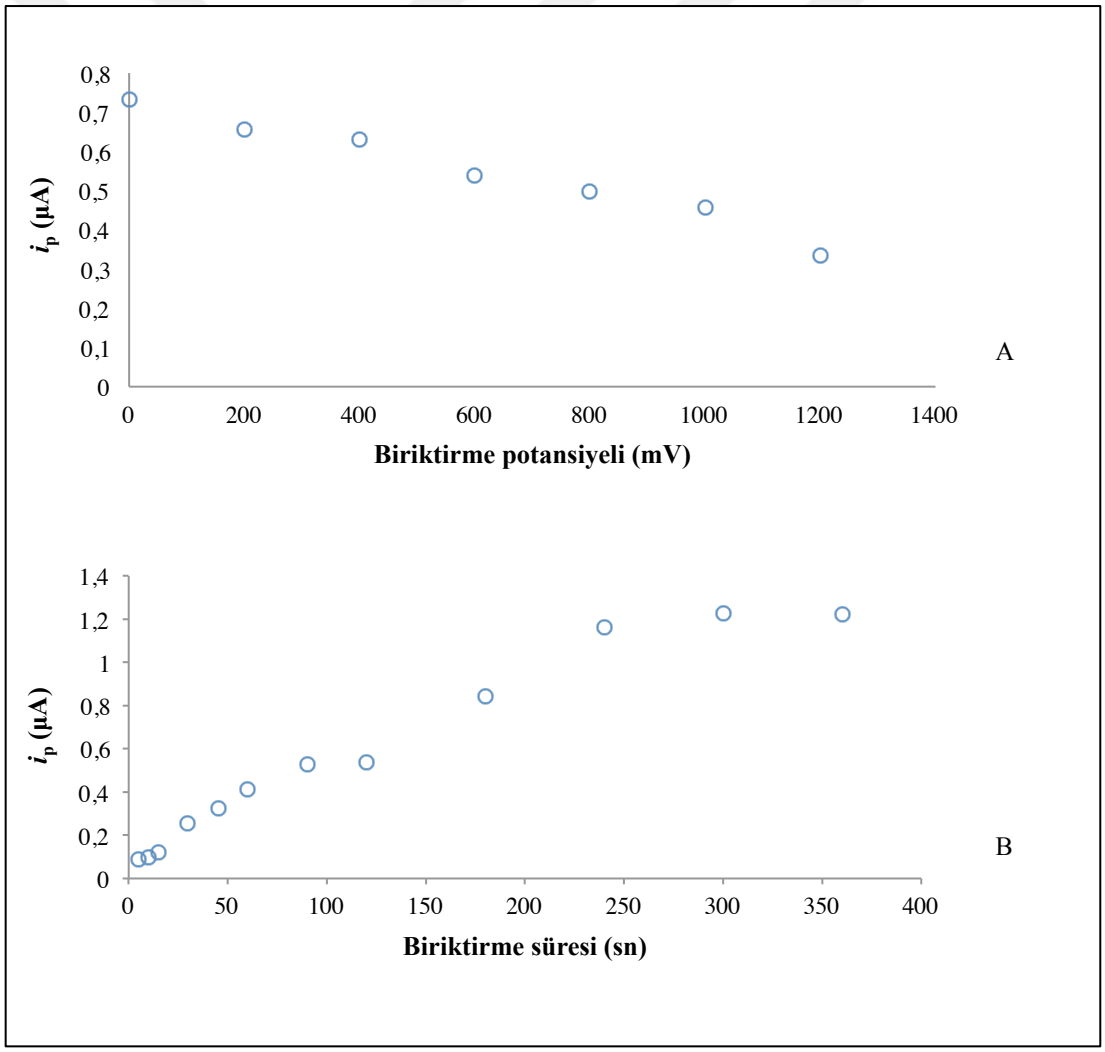


Şekil 3.54. (devam) 4×10^{-5} M tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu ortamında 5 – 1000 mV s^{-1} aralığında yapılan hız taraması çalışmasının tarama hızı-pik akımı (A), tarama hızının kare kökü ile pik akımı (B), tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması (C), tarama hızının logaritması ile pik potansiyeli (D) arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler.

log v – log i_p eğrisinden elde edilen eğimin 0,776 olması, reaksiyonun adsorpsiyon etkili olduğu difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Laviron ve ark., 1980). 5 – 1000 mV s^{-1} tarama hızı aralığında potansiyelin hız artışıyla birlikte 99,6 mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı saptanmıştır.

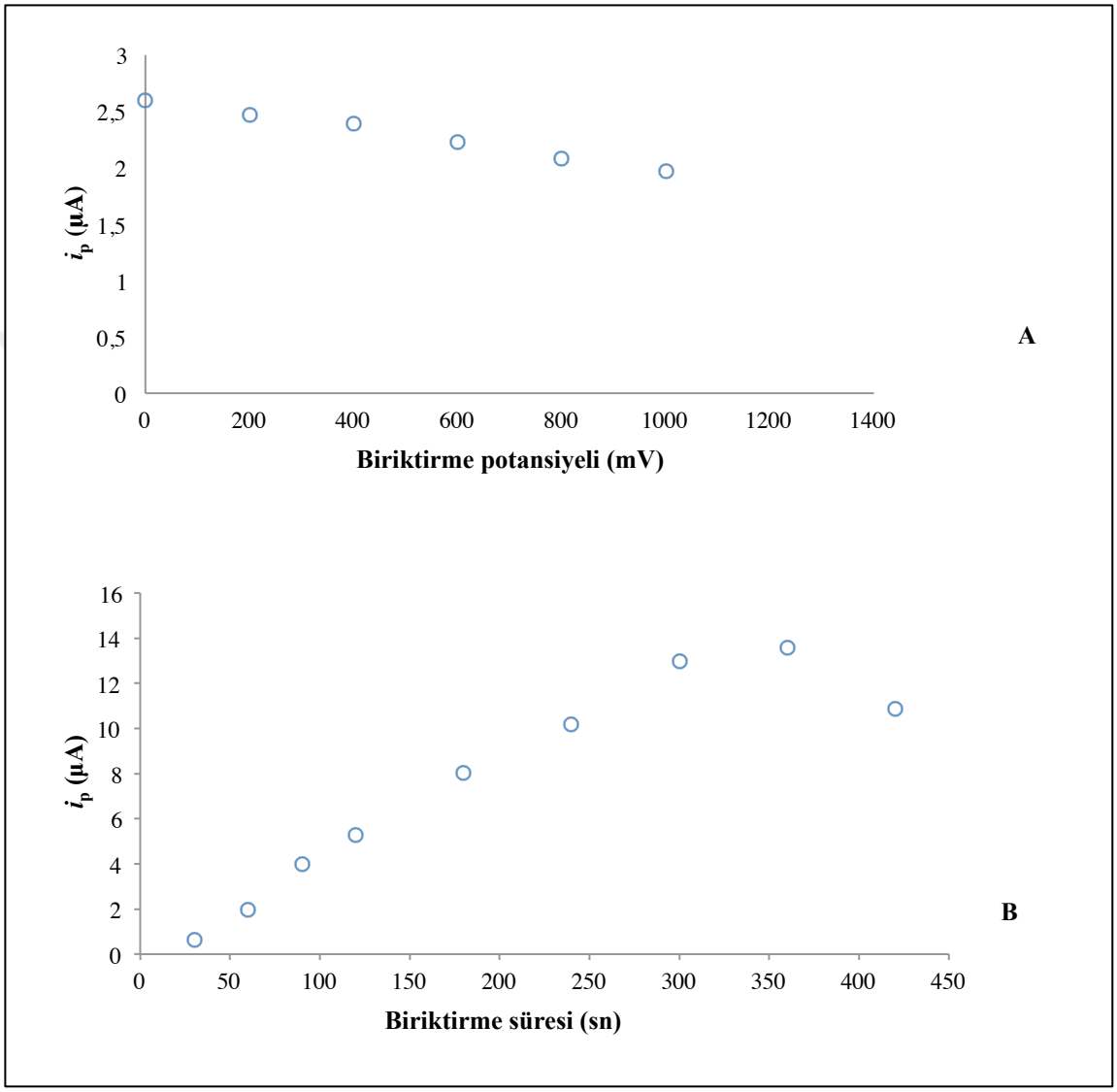
3.7. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot ile Yapılan Tenofovir Analiz Çalışmaları

Tenofovir'in analizi AgNP:1x10^{-4} M BAK karışımı ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotta AdSDPV ve AdSKDV teknikleri kullanılarak pH 5,7 asetat tamponu içerisinde incelenmiştir. AdSDPV tekniği için 5,7 asetat tamponu ortamında biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi çalışmaları 1×10^{-6} M derişimde yapılmıştır (Şekil 3.55). Biriktirme potansiyeli çalışmalarında biriktirme süresi olarak 60 s kullanılmıştır. AdSDPV yöntemi için en yüksek akım değerinin elde edildiği potansiyel 0 V (Şekil 3.55A) olarak belirlendikten sonra 5 – 360 s aralığında biriktirme süresi optimizasyonu yapılmış ve en uygun değer 240 s olarak seçilmiştir (Şekil 3.55B) .



Şekil 3.55. 1×10^{-6} M tenofovir'in AdSDPV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) (60 s) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri.

1×10^{-6} M tenofovir kullanarak AdSKDV yöntemi için ise en yüksek akım değerinin elde edildiği potansiyel 0 V (Şekil 3.56A) olarak belirlendikten sonra 5 – 420 s aralığında biriktirme süresi optimizasyonu yapılmış ve en uygun değer 300 s olarak seçilmiştir (Şekil 3.56B).



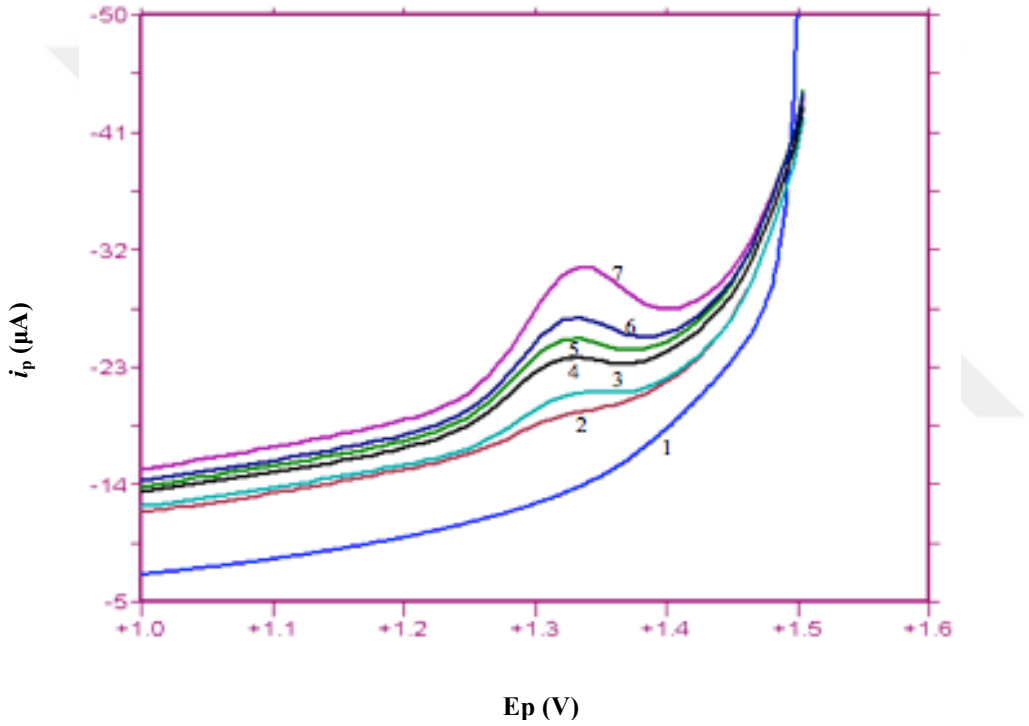
Şekil 3.56. 1×10^{-6} M tenofovir'in AdSKDV ile elde edilen biriktirme potansiyeline karşı akım (A) ve biriktirme süresine karşı akım (B) grafikleri.

Puls voltametri tekniklerinden AdSKDV yöntemi ile elde edilen sonuçlar analitik çalışmalar açısından daha uygun olduğundan bu yöntem ile çalışmalara devam edilmiştir.

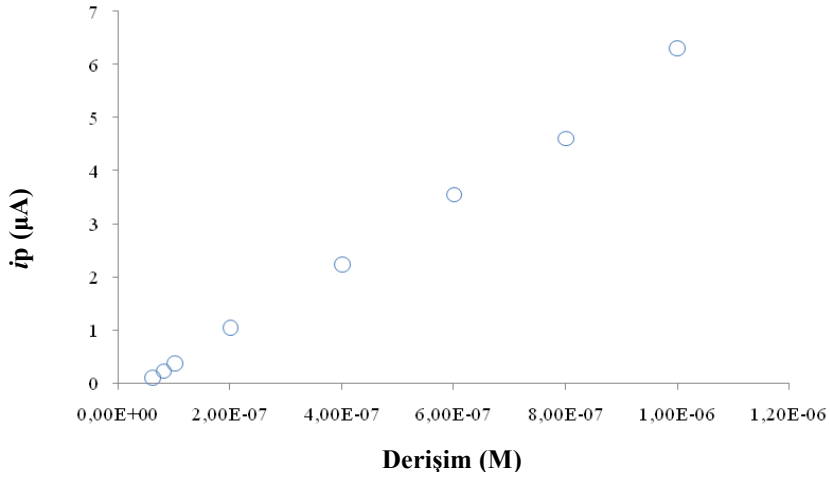
pH 5,7 asetat tamponu içerisinde AdSKDV için $6x10^{-8}$-$1x10^{-6}$M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. AdSKDV tekniği ile tenofovir derişimi – pik akımı arasında elde edilen doğru denklemleri ve korelasyon katsayısı değerleri aşağıdaki gibidir:

$$i_p\ (\mu A) = 6{,}403\times10^6\ C\ (M) - 0{,}288;\ r = 0{,}999\ (n = 7)\ (AdSKDV)$$

AdSKDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen voltamogramlardan bazıları Şekil 3.57'de verilmiştir. Bu verilere ait kalibrasyon doğrusu Şekil 3.58'de verilmiştir.



Şekil 3.57. pH 5,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir'in bazı derişimlerindeki AdSKDV ile elde edilen voltamogramları. 1)Destek; 2) $1{,}0x10^{-7}$ M; 3) $2{,}0x10^{-7}$ M; 4) $4x10^{-7}$ M; 5) $6x10^{-7}$M 6) $8x10^{-7}$ M 7) $1x10^{-6}$ M



Şekil 3.58. Tenofovir'in sırasıyla $6x10^{-8}$-$1x10^{-6}$M derişim aralığında pH 5,7 asetat tamponu içerisinde AdSKDV ile elde edilen kalibrasyon grafiği.

AdSDPV ve AdSKDV yöntemi ile elde edilen veriler kullanılarak pH 5,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait regresyon analizi sonuçları ve hesaplanan validasyon parametreleri Çizelge 3.27'de özetlenmiştir. Teşhis sınırı 3 *ss*/*m* ve tayin alt sınırı 10 *ss*/*m* formülleri ile hesaplanmıştır (ICH Rehberi, 2005). Formüllerde bulunan *ss*, kalibrasyonun en düşük derişimine ait üç tekrarlı ölçümün standart sapmasını, *m* ise kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir.

Çizelge 3.27 Modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu içerisinde elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri.

	AdSKDV
Ölçüm potansiyeli (mV)	1328,0
Doğrusal aralığı (M)	$6x10^{-8}$ -$1x10^{-6}$
Eğim (µA/M)	6403178
Eğimin Standart Hatası	$1,31x10^{5}$
Kesişim(µA)	0,2883
Kesişimin Standart Hatası	$6.92x10^{-2}$
Korelasyon katsayısı	0,999
Teşhis sınırı (M)	$2,39x10^{-9}$
Tayin alt sınırı (M)	$7,96x10^{-9}$
Akımın gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)*	0,057
Potansiyelin gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)	0,023
Akımın günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)*	0,603
Potansiyelin günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)*	0,333

*Akım ve potansiyel için yapılan tekraredilebilirlik çalışmaları 6×10^{-7} M derişime ait 5 değerden elde edilmiştir.

3.8. Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot ile Geliştirilen Yöntemin Tenofovir için Tablet Formülasyonlarına Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları

Tenofovir içeren Viread® tablet dozaj şekilleri Bölüm 2.12.4'de belirtilen şekilde hazırlanarak Tenofovir'in miktar tayini yapılmıştır. Saf Tenofovir maddesi'nden elde edilen kalibrasyon denkleminde akım değerleri yerine yazılarak tablet formundaki Tenofovir miktarı bulunmuştur.

Tablet içerisinde yardımcı maddelerin etken madde üzerinde etkisinin olup olmadığı % geri kazanım çalışmaları ile incelenmiştir.

Çizelge 3.28. pH 5,7 asetat tamponu içerisinde tenofovir içeren Viread® elde edilen analiz bulgularının sonuçları

	AdSKDV
Etiket miktarı (mg)	245.00
Bulunan madde miktarı (mg)*	244,10
% BSS	1,563
% Bağıl hata	0,367
İlave edilen standart madde miktarı (mg)	20,00
Bulunan madde miktarı (mg)*	20,26
% Ortalama geri kazanım*	101,33
% BSS	1,36
% Bağıl Hata	-1,33

*5 değer üzerinden hesaplanmıştır.

4. TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında AIDS hastalığı tedavisinde kullanılan tenofovir etken maddesinin duyarlı bir şekilde miktar tayininin yapılabilmesi için nanoparçacıklarla modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlar kullanılarak voltametrik teknikler geliştirilmiştir. Bu etken maddenin yükseltgenme davranışları incelenerek maddenin elektrokimyasal davranışı aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Tenofovir'in elektrokimyasal davranışı öncelikle bir karbon elektrot olan CKE kullanılarak incelenmiştir. Bu elektrotla 0,01 M, 0,03 M ve 0,3 M H_2SO_4, pH 6,0 – 7,5 aralığındaki fosfat tamponları, pH 3,7 – 5,7 aralığındaki asetat tamponları ve pH 2,0 – 12,0 aralığındaki BR tamponları ile DV, DPV, KDV ve adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) teknikleri kullanılarak tenofovir'in yükseltgenme davranışı incelenmiştir. Çalışılan pH değerlerinde tenofovir için anodik yönde bir pik gözlenmiştir.

E_p – pH eğrileri incelendiğinde potansiyeller pH değeri arttıkça daha az pozitif potansiyellere kaymıştır. DV, DPV ve KDV sonuçlarına göre sırasıyla pH 1,0 – 9,0; pH 0,7 – 12,0 ve pH 0,7 – 11,0 arasında doğrusallık elde edilmiştir. DV, DPV ve KDV teknikleri ile elde edilen bu doğru denklemlerinin eğim değerleri sırasıyla 47,781; 49,350; 49,631 olarak bulunmuştur. Bu eğim değerleri teorik değer olan 59 mV/pH'ye yakın olduğu için reaksiyona giren elektron ve proton sayısının eşit olduğu söylenebilir.

Tenofovir'in yükseltgenme davranışı üzerine farklı tarama hızlarının etkisi, DV tekniği ile 4,0 BR tamponu, 4,7 asetat tamponu ve 5,7 asetat tampon çözeltileri içerisinde 5 – 1000 mV s^{-1} aralığında incelenmiştir. 4,0 BR tampon ortamında yapılan hız taraması çalışmaları incelendiğinde log i_p – log v eğrisinin eğimi olan 0,583 değeri maddenin elektrot yüzeyine taşınmasının çoğunlukla difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir. pH 5,7 asetat tampon çözeltisi içerisinde yapılan hız taraması çalışmaları incelendiğinde log i_p – log v eğrilerinin eğim değeri 0,526 olarak

bulunmuş ve bu değer maddenin elektrot yüzeyine taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Laviron ve ark., 1980). Ayrıca pH 4,7 asetat tampon çözeltisi içerisinde yapılan hız taraması çalışmaları incelendiğinde log i_p – log v eğrilerinin eğim değerinin 0,655 olarak bulunması ve bu değer maddenin elektrot yüzeyine taşınmasında adsorpsiyonunda etkili olabildiği difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir.

4,0 BR tamponu içerisinde tarama hızı arttıkça E_p değeri 80,5 mV daha pozitif potansiyellere kaymıştır. pH 5,7 asetat tamponu içerisinde 56,0 mV daha pozitif potansiyellere kaydığı gözlenmiştir. 4,7 asetat tamponu içerisinde tarama hızı arttıkça E_p değeri 69,4 mV daha pozitif potansiyellere kaymıştır. DV çalışmalarında geri dönüşte çalışılan potansiyel aralığında herhangi bir pik ya da dalga saptanmamış olması bu maddenin geri dönüşümsüz yükseltgendiğini göstermektedir.

Camsı karbon elektrot kullanılarak $4x10^{-5}$ M Tenofovir'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde yapılan tarama hızı çalışmalarından faydalanarak elektron sayısı hesaplanmıştır. Bunun için geri dönüşümsüz reaksiyonlarda E_p – log v arasındaki aşağıdaki eşitlikten yararlanılmaktadır (Laviron, 1979);

$$E_p = E^{0'} - \frac{2.303RT}{\alpha nF}\log\frac{RTk^0}{\alpha nF} + \frac{2.303RT}{\alpha nF}\log v$$

α, k^0, n, υ, E^0, R, T ve F sırasıyla transfer katsayısı, hız sabiti, elektron sayısı, hız, formal potansiyel, gaz sabiti, sıcaklık ve Faraday sabitini ifade etmektedir. αn değeri E_p – log$v$ eğrilerinin eğiminden yukarıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanabilmektedir. E_p – log$v$ eğrilerinin eğim değeri 26,87 olarak bulunmuştur. α geri dönüşümsüz reaksiyonlarda 0,5 olarak kullanılmaktadır (Wu ve ark., 2003). Buradan yola çıkarak tenofovir'in yükseltgenme reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı 4,38 (~4) olarak hesaplanmıştır.

Camsı karbon elektrot kullanılarak $4x10^{-5}$ M Adenin'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde yapılan tarama hızı çalışmalarından faydalanarak elektron sayısı hesaplanmıştır. E_p – log$v$ eğrilerinin eğim değerleri 30,25 olarak bulunmuştur. α geri dönüşümsüz reaksiyonlarda 0,5 olarak kullanılmaktadır. Buradan yola çıkarak

adenin'in yükseltgenme reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı 3,94 (~4) olarak hesaplanmıştır. Bu değer CKE ile elde edilen tenofovir değeri ile uyumludur.

Camsı karbon elektrot kullanılarak $4x10^{-5}$ M Adefovir'in pH 4,7 asetat tamponu içerisinde yapılan tarama hızı çalışmalarından faydalanarak elektron sayısı hesaplanmıştır. E_p – logν eğrilerinin eğim değerleri 27,62 olarak bulunmuştur. α geri dönüşümsüz işlemlerde 0,5 olarak kullanılmaktadır. Buradan yola çıkarak adefovir'in yükseltgenme reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı 4,22 (~4) olarak hesaplanmıştır. Bu değer CKE ile elde edilen tenofovir değeri ile uyumludur.

Tenofovir'in CKE ile miktar tayini için DV'ye göre daha duyarlı teknikler olan AdSDPV ve AdSKDV voltametrisi teknikleri kullanılmıştır. Elde edilen voltamogramlar değerlendirildiğinde miktar tayini çalışmaları için pH 4,7 asetat tamponu seçilmiştir. CKE ile pH 4,7 asetat tampon içerisinde AdSDPV tekniği ve AdSKDV (basamak potansiyeli: 8 mV; puls yüksekliği 35 mV; frekans: 30 Hz) tekniği ile $6x10^{-7}$-$6x10^{-5}$ M derişim aralıklarında doğrusallık gözlenmiştir. TS ve TAS değerleri AdSDPV için sırasıyla $1,01x10^{-7}$ M ve $3,40x10^{-7}$ M; AdSKDV için sırasıyla $2,80x10^{-7}$ M ve $3,40x10^{-7}$ M bulunmuştur.

Saf Tenofovir'e uygulanan teknikler tenofovir içeren Viread® tabletlere de uygulanmış ve tablet içerisindeki yardımcı maddelerin geliştirilen yöntemleri etkileyip etkilemediğini göstermek için % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. %100,35 – 100,50 aralığında bulunmuş olan geri kazanım çalışması sonuçları, geliştirilen tekniklerin tablet yardımcı maddelerinden etkilenmediğini göstermiştir. Geliştirilen teknikler için yapılan validasyon çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde bu tekniklerin doğru, tekrar edilebilir, seçici, duyarlı ve uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

İlaç etken maddesi Tenofovir'in sıkça kullanılan bazı maddeler ile etkileşip etkileşmediği incelenmiştir. Bu çalışmada ürik asit, askorbik asit, glukoz, dopamin, Na^+, Cl^- ve K^+ iyonları ve maddelerin tenofovir'e etkisi camsı karbon elektrot kullanılarak AdSKDV yöntemiyle pH 4,7 asetat tamponu ortamında girişim çalışmaları yapılmıştır.

$4x10^{-6}$ M tenofovir derişimine göre Na^+, Cl^- ve K^+ iyonlarının derişimlerinin oranı 1:1 ve 1:10 olması durumunda tenofovirin cevabını %10'dan fazla etkilemezken, ürik asit, askorbik asit, glikoz, dopamin ile tenofovir derişiminin 1:1 olduğunda tenofovirin cevabını %10'dan fazla etkilemezken, bu oran 1:10 olduğunda tenofovirin cevabı %10'dan fazla etkilemiştir.

Tenofovir üzerinde yapılan çalışmanın ikinci kısmında ise modifiye elektrotlar kullanılmıştır. Bu amaçla farklı nanomalzemeler ile modifiye edilerek hazırlanmış CKE ve modifiye edilmemiş CKE $4{,}0\times10^{-6}$ M tenofovir derişimine verdikleri cevaplar karşılaştırılmıştır. Bu elektrotlar içinden en yüksek pik akımını sağlayan ve tekrar edilebilir sonuç veren Ag nanoparçacık ile modifiye edilmiş CKE seçilmiştir. Elektrokimyasal sinyalin artması amacıyla çeşitli surfaktanlar (BAK, STAB, SBS) Ag nanoparçacık çözeltisi içine katılarak elektrot yüzeyi modifiye edilmiştir. Sonuçların sinyal akımı ve tekrar edilebilirlik açısından değerlendirilmesinin ardından $1x10^{-4}$M BAK yüzey aktif madde (surfaktan) olarak seçilmiştir. Ayrıca, Ag Nanoparçacıkların kararlılığını arttırmak için analit çözeltisine 0,01 M NaCl eklenmiştir. Böylece tekrarlanabilir akım sinyalleri elde edilmiştir. AgNp:$1x10^{-4}$M BAK çözeltisinin camsı karbon elektrottun yüzeyine damlatma miktarı optimize edilmiştir. $1x10^{-4}$ M BAK içeren Ag nanoparçacık çözetisinden 10 µL elektrot yüzeyine damlatılarak modifiye edilmiştir ve voltametrik çalışmalar sürdürülmüştür.

Çok asidik ve bazik ortamların elektrot yüzeyine olumsuz etkisinden dolayı pH 2,0 – 8,0 BR tamponu ve pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ortamlarında AdSDPV tekniği, pH 3,0 – 10,0 BR tamponu, pH 6,0 fosfat tamponu ve pH 3,7 – 5,7 asetat tamponu ortamlarında AdSKDV tekniği kullanılarak $4{,}0\times10^{-6}$ M derişimde tenofovir'in yükseltgenme davranışı incelenmiştir. Çalışılan tüm ortamlarda tenofovir için modifiye edilmiş CKE ile yapılan voltametrik çalışmalarda anodik yönde bir pik gözlenmiş, katodik yönde ise pik gözlenmemiştir. AdSDPV ve AdSKDV teknikleri incelendiğinde miktar tayini için en uygun ortam olarak pH 5,7 asetat tamponu seçilmiştir.

E_p – pH eğrileri incelendiğinde pik potansiyeli pH değeri arttıkça daha az pozitif potansiyellere kaymıştır. DV, AdSDPV ve AdSKDV sonuçlarına göre

AdSDPV tekniği ile pH 2,0 – 8,0 arasında ve AdSKDV tekniği ile pH 3,0 – 10,0 arasında doğrusallık elde edilmiştir. E_p – pH grafiğindeki doğru denkleminden elde edilen eğimler AdSDPV ve AdSKDV teknikleri ile sırasıyla 46,28 ve 51,08 olarak bulunmuştur. Bu eğim değerleri teorik değer olan 59 mV/pH'ye yakın olduğu için reaksiyonda yer alan elektron ve proton sayısının eşit olduğu söylenebilir (Enache ve Oliveira-Brett., 2011).

Tenofovir'in yükseltgenme davranışı üzerine farklı tarama hızlarının etkisi, DV tekniği ile 4,0 $\times 10^{-6}$ M derişimde pH 5,7 asetat tamponu içerisinde 5 – 1000 mV s^{-1} aralığında incelenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda log i_p – log v eğrisinin eğiminin 0,7763 bulunması, maddenin elektrot yüzeyine taşınmasının hem difüzyon hem adsorpsiyon etkisinde olduğunu göstermektedir. Nanoparçacıkların sahip olduğu yapısal, mekanik ve elektronik özelliklerinden (Karadas ve ark., 2013) dolayı adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) ile daha duyarlı sonuçların alınacağı düşünülmüş ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

5 – 1000 mV s^{-1} tarama hızı aralığında hız artışıyla birlikte potansiyelin 99,6 mV daha pozitif potansiyel değerlerine kayması ve DV çalışmalarında geri dönüşte çalışılan potansiyel aralığında herhangi bir pik veya dalga saptanmamış olması bu maddenin geri dönüşümsüz yükseltgendiğini göstermektedir.

Modifiye edilmiş camsı karbon elektrot kullanılarak 4x10^{-5} M Tenofovir'in pH 5,7 asetat tamponu içerisinde yapılan tarama hızı çalışmalarından faydalanarak elektron sayısı hesaplanmıştır. Bunun için geri dönüşümsüz reaksiyonlarda E_p – log v arasındaki aşağıdaki eşitlikten yararlanılmaktadır (Laviron, 1979). E_p – log$v$ eğrilerinin eğim değerleri 43,77 olarak bulunmuştur. α geri dönüşümsüz işlemlerde 0,5 olarak kullanılmaktadır (Wu ve ark., 2003). Buradan yola çıkarak tenofovir'in yükseltgenme reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı 2,75(~3) olarak hesaplanmıştır..

Tenofovir'in modifiye CKE ile tayini için AdSDP ve AdSKD voltametrisi teknikleri kullanılmıştır. Miktar tayini pH 5,7 asetat tamponu seçilmiştir. Bu teknikler için öncelikle optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. AdSDPV için $4{,}0\times10^{-6}$ M derişimde tenofovir kullanılarak biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi optimize edilmiş, sırasıyla 0 V ve 240 s olarak bulunmuştur. AdSKDV için $4{,}0\times10^{-6}$ M derişimde tenofovir kullanılarak biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi 0 V ve 300 s en uygun değerler olarak bulunmuştur. Modifiye CKE ile pH 5,7 asetat tamponu içerisinde AdSKDV tekniği ile derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. AdSKDV tekniği ile $6\text{x}10^{-8}$ -$1\text{x}10^{-6}$ derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. AdSKDV için TS değeri $2{,}39\text{x}10^{-9}$ M; TAS değeri $7{,}96\text{x}10^{-9}$ olarak bulunmuştur.

Saf tenofovir ilaç etkin maddesi için geliştirilen teknikler tenofovir içeren Viread® tabletlere uygulanmış ve tablet içerisindeki yardımcı maddelerin geliştirilen yöntemleri etkileyip etkilemediğini göstermek için % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Modifiye CKE kullanılarak pH 5,7 asetat tamponu içerisinde AdSKDV kullanılarak geri kazanım çalışması yapılmıştır. %101,33 olarak bulunmuş olan geri kazanım çalışması, geliştirilen tekniklerin tablet yardımcı maddelerinden etkilenmediğini ve oldukça seçici olduğunu göstermiştir.

Geliştirilen teknikler için yapılan validasyon çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde bu tekniklerin doğru, tekrar edilebilir, seçici, duyarlı ve uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

CKE ve Modifiye CKE ile yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında TS ve TAS açısından AgNP:$1\text{x}10^{-4}$M BAK karışımı ile modifiye edilmiş CKE'nin daha duyarlı olduğu gözlenmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez kapsamında AIDS tedavisinde kullanılan tenofovir etken maddesinin daha duyarlı tayini için nanoparçacıklarla modifiye edilmiş elektrot (nanosensör) geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu etkin maddenin yükseltgenme davranışı, ortam pH'sı, destek çözeltisinin cinsi, tarama hızının etkisi açısından incelenmiştir.

Çalışmalarda pH 2,0 – 12,0 BR tamponu, pH 6,0 – 7,5 fosfat tamponu, pH 3,7 – 5,7 asetat tamponlarından ve 0,03 M-0,3 M sülfürik asit ortamından uygun olanlar seçilerek kullanılmıştır. Bu ortamlar içerisinde DV, DPV, KDV ve AdSV teknikleri ile voltamogramlar elde edilmiştir. CKE ve modifiye edilmiş CKE ile DV tekniğinde tenofovir'in katodik yönde herhangi bir pik gözlenmemiştir. Tenofovir'in farmasötik dozaj şekillerinden miktar tayini için modifiye edilmemiş CKE ile pH 4,7 asetat tamponunda; AgNP: $1x10^{-4}$ M BAK modifiye edilmiş CKE ile pH 5,7 asetat tamponunda çalışılmıştır.

Tenofovir'in elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri ile hız taramaları yapılarak incelenmiştir. log v – log i_p eğrilerinin eğimleri hesaplanarak CKE ve modifiye edilmiş CKE ile tenofovir için elektrot yüzeyine taşınma mekanizmasının adsorpsiyonunda etkili olduğu difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur.

Tenofovir için seçilen ortamlarda kalibrasyon eğrileri çizilmiş ve gerekli validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. CKE ile pH 4,7 asetat tamponu içinde teşhis sınırı değerleri $1,017x10^{-7}$ M (AdSDPV) ve $8,393x10^{-8}$ M (AdSKDV) olarak bulunmuştur. Modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ile pH 5,7 asetat tamponu içerisinde miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Bu yöntemlerin gerekli parametreleri analiz öncesinde optimize edilmiştir. AdSKDV yöntemi ile elde edilen teşhis sınırı değeri $2,39x10^{-9}$ M olarak bulunmuştur. Bu değerler, tez kapsamında çalışılan CKE ile elde edilen teşhis sınırlarından daha düşük olup, duyarlı bir nanosensör geliştirildiği sonucuna varılmıştır. Geliştirilen teknikler tablet dozaj şekline de uygulanmış ve % geri kazanım çalışmalarıyla yardımcı maddeler yanında tenofovir'in analizi seçici bir şekilde yapılabilmiştir.

ÖZET

Antiviral İlaç Etken Maddesi Tenofovir'in Elektrokimyasal Davranışı için Nanosensör Tasarımı

AIDS tedavisinde kullanılan tenofovir disoproksil fumarat ile modifiye edilmemiş elektrot ve nanosensörle elektrokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Bu maddenin yükseltgenme davranışı farklı destek elektrolitleri ve pH 0,7 – 12,0 arasındaki farklı pH değerlerinde DV, DPV, KDV ve AdSV teknikleri ile incelenmiştir. Tenofovir için, seçilen en uygun ortamlarda DV ile hız taraması çalışmaları yapılmıştır.

Analitik açıdan uygun ortamda tenofovir için geliştirilen yöntemlere bağlı olarak parametreler optimize edilmiş, kalibrasyon doğrusu çizilmiş ve gerekli validasyon parametreleri üzerinde çalışılmıştır.

Validasyon parametrelerine göre; modifiye edilmemiş elektrot ve nanosensörde teşhis sınırı değerleri sırasıyla $8{,}39 \times 10^{-8}$ M ve $2{,}39 \times 10^{-9}$ M olarak elde edilmiştir. Bu sonuç, geliştirilen nanosensörün daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Geliştirilen tekniklerin ve nanosensörün uygulanabilirliği farmasötik dozaj şeklinde analizi yapılarak gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Nanosensör, tenofovir, voltametri, yöntem validasyonu

SUMMARY

Nanosensor Design for Electrochemical Behaviour of Antiviral Active Compound Tenofovir

In this dissertation electrochemical behaviour is performed for tenofovir, which is used for the treatment of the AIDS. Non-modified electrodes and nanosensors are used for the studies of tenofovir. The oxidation behaviour of tenofovir analyzed with different supporting electrolytes between pH 0,7 – 12,0 by using CV, DPV, SWV and adsorptive stripping techniques. Scan rate studies are performed with CV technique under the optimum condition.

The parameters are optimized in accordance with the method developed for tenofovir at the most analytically appropriate media, the calibration curves are drawn and the required validation parameters are studied.

According to validation parameters, limit of detection values corresponding to the concentration of $8{,}39 \times 10^{-8}$ M and $2{,}39 \times 10^{-9}$ M are obtained with non-modified electrode and nanosensor, respectively. This result shows that the nanosensor is more sensitive.

The applicability of developed techniques and nanosensors are shown through analyzing from pharmaceutical dosage forms as well.

Keywords: Nanosensor, tenofovir, voltammetry, validation

KAYNAKLAR

ABDELHAY MH, GAZY AA, SHAALAN RA, ASHOUR HK (2013). Simple Spectrophotometric Methods for Determination of Tenofovir Fumarate and Emtricitabine in Bulk Powder and in Tablets. *Journal of Spectroscopy*, 1-7.

ABDELHAY MH, GAZY AA, SHAALAN RA, ASHOUR HK (2015). Selective RP-HPLC DAD method for determination of tenofovir fumarate and emtricitabine in bulk powder and in tablets. *Acta Chromatographica* **27**(1):41-54.

ABDELHAY MH, GAZY AA, SHAALAN RA, ASHOUR HK (2015). Selective RP-HPLC DAD Method for Determination of Tenofovir Fumarate and Emtricitabine in Bulk Powder and in Tablets. *Acta Chromatographica* **27**(1), 41–54

ABOUL-ENEIN HY, STEFAN RI, BAIULESCU GE (2000). Quality and Reliability in Analytical Chemistry. Boca Raton, FL: CRC Press.

AGRAWAL S, PRAJAPATI R (2012). Nanosensors and their Pharmaceutical Applications: A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology, **4**(4);1528-1534

AIDS Epidemic Updates (2009). WHO. Erişim Adresi: http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700_Epi_Update_2009_en.pdf. Erişim Tarihi: 12/7/2016.

ALTAF H, ASHRAF M, HAYAT MM (2015). HPLC Method for Simultaneous Determination of Entecavir and Tenofovir in Human Spiked Plasma and Pharmaceutical Dosage Forms. *Lat. Am. J. Pharm.* **34** (3):126-130

ARIVALAGAN K, RAVICHANDRAN S, RANGASAMY K, KARTHIKEYAN E (2011). Nanomaterials and its Potential Applications. *Int.J. ChemTech Res.,***3**: 534-538

ASHENAFI D, UNGERBOCK M, HOOGMARTENS J, ADAMS E (2013). Liquid Chromatographic Analysis of Various Formulations Containing Emtricitabine. *Chromatographia* **76**:1495-1503.

ATUL AS, CHARUSHILA HB, SANJAY SJ (2009). Application Of UV-Spectrophotometric Methods For Estimation Of Tenofovir Disoproxil Fumarate In Tablets. Pak J Pharm., **22** (1), 27-9.

AUBRY AF, TATTERSALL P, RUAN J (2009). Development of Stability Indicating Methods. In: *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development: Regulations, Methodologies, and Best Practices*. Ed.: Hyunh-Ba, K., New York, NY: Springer. 139–162.

BAGNI G, MASCINI M (2010). DNA Biosensor for Environmental Risk Assessment and Drugs Studies. In: *Sensors for Chemical and Biological Applications*. Ed.: Ram, M. K., Bhethanabotla, V.R., Boca Raton, FL: CRC Press. 249–276.

BARD AJ, FAULKNER LR (2001). Electrochemical Methods. Fundamental and Applications, 2nd Ed. John Wiley-Sons Inc.

BARD AJ, INZELT G, SCHOLZ F (2008). Electrochemical Dictionary. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag.

BOCKRIS JO, REDDY AKN (1977). Modern Electrochemistry 2. Planum Press. New York

BOZAL B, USLU B, OZKAN AS (2011). A Review of Electroanalytical Techniques for Determination of Anti-HIV Drugs. *International Journal of Electrochemistry*.

BREZINA M, ZUMAN P(1958). Polarography in Medicine. Biochemistry and Pharmacy. New York, Interscience Publishers

CALCAGNO A, PERRI G, BONORA S (2016). What do we know about tailoring treatment with tenofovir?.*Pharmacogenomics* **17**(6), 531–534

CHEN S (2007). Practical Electrochemical Cells. In: *Handbook of Electrochemistry*, Ed.: Zoski, C. G., Amsterdam: Elsevier, 33–56.

CUMMINGS WG (2010). Chemical Analysis: Introduction. In: *Instrumentation Reference Book*, Ed.: Boyes, W., 4th Ed. Burlington, MA: Butterworth-Heinemann. 303–317.

DINIZ AV, FERREIRA NG, CORAT EJ, TRAVA-AIROLDI VJ (2002). Boron doped diamond thin films on large area Ti6Al4V substrates for electrochemical application. *Mater Res*, **6:** 57–61.

DOGAN TOPAL B (2011). Bazı antiviral ve antineoplastik ilaç etken maddelerinin DNA ile etkileşimi ve elektrokimyasal analizleri, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

DROSTE JAH, WISSEN CPWGM, KEARNEY BP, BUFFELS R, VANHORSSEN PJ, HEKSTER YA, BURGER DM (2005). Pharmacokinetic Study of Tenofovir Disoproxil Fumarate Combined with Rifampin in Healthy Volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**(2):680-684.

DUBEY SS, DUGGIRALA D (2015). High performance liquid chromatography with PDA detector for combined determination of emtricitabine, tenofovir and efavirenz. *Der Pharmacia Lettre*, **7** (10):85-91

EBBING D, GAMMON SD (2008). General Chemistry. 8th Ed. Boston, MA: Houghton Mifflin Company.

ERDEM MM (2010). Elektrokimyasal DNA Sensörü için nanomalzelere dayalı elektrot materyallerin geliştirilmesi ve uygulanması, Doktora tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

EUROCHEM GUIDE (2011). *Terminology in Analytical measurement-Introduction to VIM*. 1th Ed.: Barwick V, Prichard E.

FORLONI G, Responsible nanotechnology development. Journal of Nanoparticle Research 14(8):1007-1019.

GHOREISHI SM, ATTARAN AM, AMIN AM, KHOOBI A(2015). Multiwall carbon nanotube-modified electrode as a nanosensor for electrochemical studies and stripping voltammetric determination of an antimalarial drug. *RSC Adv.* **5**:14407-

14415.

GIRAULT HH (2004). Analytical Electrochemistry, EPFL Press

GOKCEL İH, NAKIBOGLU N (2013), Elektrokimyasal olaylarda kütle taşınımı ve arayüzeydeki süreçler. I. Uluslararası Katılımlı Elektrokimya Çalıştayı. s.:39-57.

GOODING JJ, LAI LMH, GOON IY (2009). Nanostructured Electrodes with Unique Properties for Biological and Other Applications. In: *Chemically Modified Electrodes*, Ed.: Alkire, R.C., Kolb, D. M., Lipowski, J., Ross. P. N., Weinheim: Wiley-WCH. 1– 56.

GURMEN S, EBIN B (2007). Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1. s.:31-38

HART JP (1997). Recent developments in the design and application of screen printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analyses. *TrAC Trends in Anal Chem*, **16:** 89–103.

HIMAJA M, KALPANA J, ANBARASU C (2014). Validated Zero Order And First Order Derivative Spectrophotometric Methods For Invitro Analysis Of Tenofovir Disoproxil Fumarate Tablets Using Azeotropic Mixture. *Int J Pharm Pharm Sci,* **6**(6), 302-304.

http://www.baharkilic.org/post/2011/03/08/HIV-virusu-ve-evrim.aspx

http://www.ceb.cam.ac.uk/research/groups/rg-eme/teaching-notes/cyclic-voltammetry-the-investigation-of

http://www.ijcambria.com/Glassy%20Carbon. htm.

http://www.nano.gov

http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c801.html.

https://ninithi.com/nanomaterials/

ICH Harmonised tripartite guideline: Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)(2005)

JAIN R, SHARMA R (2013). Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetric Detection and Quantification of the Antiretroviral Drug Tenofovir in Human Plasma and a Tablet Formulation. J*ournal of The Electrochemical Society*, 160 (8) 489-493

KELTER P, MOSHER M, SCOTT A (2009). Chemistry: The Practical Science. Media Enhanced Edition. Boston/New York: Houghton Mifflin Company. Chapter 19.

KISACIK I(2010). Benzenin bor katkılı elmas (BDD) elektrot üzerinde elektrooksidasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana

KOCAEFE C(2007). NANOTIP: Yaşam Bilimlerinde Nanoteknoloji Uygulamaları. Hacettepe Tıp Dergisi, **38**:33-38

KUCUKYILDIRIM BO, EKER AA (2012). Karbon nanotüpler, sentezleme yöntemleri ve kullanım alanları. *TMMOB MMO Mühendis ve Makina Dergisi* **53**:34-44.

KURT K, DONBAK L, KAYRALDIZ A (2015). AIDS Tedavisinde Tenofovir Disoproksil Fumarat. *Archives Medical Review Journal* **24**(1):119-134 .

LAVIRON E, ROULLIER L, DEGRAND CA (1980) multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. Part II. Theory and application of linear potential sweep voltammetry for a simple reaction. *J Electroanal Chem*, **112:** 11–23.

LI J, GAO H (2008). A renewable potentiometric immunosensor based on Fe3O4 nanoparticles immobilized Anti-IgG. *Electroanalysis* **20**(8): 881-887.

LUO X, MORRIN A, KILLARDS AJ, SMYTH MR (2006) Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. *Electroanalysis* **18**(4) 319 – 326

MAGNUSSEN OM (2006). Electrochemistry as a Nanoscience. The Electrochemical Society Interface, Fall.

MARKEN F, NEUDECK A, BOND AM (2010). Cyclic Voltammetry. Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications, Ed.: Scholz, F., 2nd Ed. Heidelberg: Springer. 57–106.

MERKOCI A (2013). Nanoparticles based electroanalysis in diagnostic applications. *Electroanalysis* **25**(1):15-27

MERKOCI A, ALEGRET S (2007). Graphite-Epoxy Electrodes for Stripping Analysis. In: *Comprehensive Analytical Chemistry*, Ed.: Barcelo, D., Amsterdam: Elsevier. 143–162.

METTERS JP, BANKS CE (2013). Screen Printed Electrodes Open New Vistas in Sensing: Application to Medical Diagnosis. In: *Applications of Electrochemistry in Medicine*, Ed.: Schlesinger, M., Heidelberg: Springer. 83–120.

MONK P (2011), Fundamentals of Electroanalytical Chemistry, John Waley-Sons Inc.

NAKIBOGLU N (2013). Elektrokimyasal yöntemlerde validasyon. I. Uluslararası Katılımlı Elektrokimya Çalıştayı, 249-281.

NISLI G, ERTAS NF (2013). Elektrokimyanın Temel İlkeleri ve Nanoteknolojideki Rolü. I. Uluslararası Katılımlı Elektrokimya Çalıştayı. s:4-20.

OZKAN SA (2012). Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation. HNB Pub., USA, ISBN: 978-0-9664286-7-4.

PALABIYIK B (2015). Yeni nesil nanosensör tasarımı ve antiparkinson ilaç analizlerinde kullanımı, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

PEKDEMIR ME (2011). Manyetik nanopartiküller kullanılarak yüzeyde güçlendirilmiş raman spektrometrisi ile immunoassay sisteminin geliştirilmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

PELİT L, ANIK U, ERTAS NF (2013). Döngüsel Voltametri, I. Uluslararası Katılımlı Elektrokimya Çalıştayı. s.:147-163

PICKERING WF (2002). General Strategies for Speciation, In: *Chemical Speciation in the*

Environment, Ed.: Ure A, Oxford: Blackwell Science Ltd. 9-29

POKROPİVNY V (2007). Introduction to nanomaterials and nanotechnology. Erişim tarihi 30/06/2016

PURNIMA VB, REDDY VB, RAMACHANDRAN YS (2015). Simultanious Determination of Antiretroviral Drugs Emtricitabine and Tenofovir Desoproxil Fumerate by a Stability Indicating RP-HPLC Method. *Int J Pharm Pharm Sci*, **7**(9), 390-398

RADZIUK D, SKIRTACH A, SUKHORUKOV G, SHCHUKIN D, MOHWALD H (2007). Stabilization of silver nanoparticles by polyelectrolytes and Poly(ethylene glycol*). Macromol. Rapid Commun.* **28**:848-855

RAO MN, SANKAR DG (2015). Development and validation of stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of Lamivudine, Tenofovir, and Dolutegravir in bulk and their tablet dosage form. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* **1**:73-77

Rao NM, Sankar DG (2015). Development and validation of stability-indicating HPLC method for simeltaneous determination of Lamivudine, Tenofovir, and Dolutegravir in bulk and their tablet dosage form. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* **1**:73-77

REDDY AVB, JAAFAR J, ARIS AB, MAJID ZA, UMAR K, TALIB J, MADHAVI G (2015). Development and validation of a rapid ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of darunavir, ritonavir, and tenofovir in human plasma: Application to human pharmacokinetics. *J. Sep. Sci.*, ***38***, 2580–2587

RUNJA C, KUMAR PR, AVANAPU SR (2016). A Validated Stability Indicating RP-HPLC Method for the Determination of Emtricitabine, Tenofovir Disoproxil Fumarate, Elvitegravir and Cobicistat in Pharmaceutical Dosage Form. *Journal of Chromatographic Science*, **54**(5), 759–764.

SANGHAVI BJ, WOLFBEIS OS, HIRSCH T, SWAMI NS (2015). Nanomaterial-based electrochemical sensing of neurological drugs and neurotransmitters. *Microchim Acta* **182**:1-41

SHAH SAB, MULLIN R, JONES G, SHAH I, BARKER J, PETROCZI A, NAUGHTON DP (2013). Simultaneous analysis of antiretroviral drugs abacavir and tenofovir in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **74**:308–313

SHEHATA M, AZAB SM, FEKRY AM, AMEER MA (2016). Nano-TiO_2 modified carbon paste sensor for electrochemical nicotine detection using anionic surfactant. *Biosensors and Bioelectronics* **79**:589-592

SIMIELE M, CARCIERI C, NICOLO DA, ARIAUDO A, SCIANDRA M, CALCAGNO A, BONORA S, PIERRI GD (2015). A LC–MS method to quantify tenofovir urinary concentrations in treated patients. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **114**: 8–11.

SKOOG DA, WEST DM, HOLLER FJ, CROUCH SR (2004). Fundamentals of Analytical

Chemistry. 8th Ed. Belmont, CA: Brooks-Cole – Thomson Learning.

SKOOG DA, WEST DM, HOLLER FJ, CROUCH SR (2004). Fundamentals of Analytical Chemistry. 8th Ed. Belmont, CA: Brooks-Cole – Thomson Learning.

SPERLING RA, PARAK WJ (2015). Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. *Phil. Trans. R. Soc. A.* **368**:1333-1383.

SRIVEENA GS, RUNJA CL, SHARMA J, SOUMYA G, SANDEEP M (2014). Development and validation of stability indicating rp-hplc method for the estimation of tenofovir disoproxil fumarate in tablet dosage form. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research* **4**(2): 1249-1256.

SRUJANI C, SOWMYA DK, VARANASI SNM, PRAMEELARANI A (2015). Development and validation of stability indicating UV- spectrophotometric method for the estimation of tenofovir in its bulk and pharmaceutical dosage form. *Der Pharmacia Lettre*, 7 (9):177-185.

SU S, WU W, GAO J, LU J, FAN C (2012). Nanomaterials-based sensors for applications in environmental monitoring. *Mater Chem.*, **22**:18101–18110.

SULUKAN EE, KÜÇÜKOĞLU K, GUL IH (2009). AIDS ve Tedavisinde Kullanılan İlaçlar. *J. Fac. Pharm.* **38:** (1) 47- 78

SWAIN GM (2007). Solid Electrode Materials: Pretreatment and Activation. In: *Handbook of Electrochemistry*, Ed.: Zoski, C. G., Amsterdam: Elsevier. 111–154.

SWARTZ ME, KRULL I (2012). Handbook of Analytical Validation. Boca Raton, FL: CRC Press.

TAKAHASHI M, KUDAKA Y, OKUMURA N, HIRANO A, BANNO K, KANEDA T(2007). Determination of Plasma Tenofovir Concentrations Using a Conventional LC-MS Method. *Biol. Pharm. Bull.* **30**(9): 1784-1786.

TERRONES M (2003). Science and Technology of the XXI Century: Synthesis, Properties and Applications of Carbon Nanotube. *Annual Reviews of Materials Research* **33**, 419-501.

TIWARI JN, TIWARI RN, KIM SK(2012). Zero-dimensional, one-dimensional, two dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. *Progress in Materials Science* **57**: 724-803

TOKUL O, ÇEVİK S, ASLAN S, SULTAN SC, YAPIŞIK HU, TEPELI Y, ANIK U(2013). Bazı metal/metaloksit nanopartiküllerin kimyasal olarak sentezi ve karakterizasyonu. I. Uluslararası Katılımlı Elektrokimya Çalıştayı s.:416-423.

TUNÇEL N, AYRAL MN, BIRYOL I(1984). İn vivo ve in vitro elektrokimyasal oksijen tayini. Doğa Bilim Dergisi, **8**: 82-89

USLU B, OZKAN SA (2007). Solid Electrodes in Electroanalytical Chemistry: Present Applications and Prospects for High Throughput Screening of Drug Compounds. *Comb Chem High T Scr*, **10:** 495–513.

VISWANATH V, SHANMUGASUNDARAM P, RAVICHANDIRAN V (2013). RP-HPLC Method For The Simultaneous Estimation Of Tenofovir Disoproxil Fumerate and Emtricitabine In Combined Tablet Dosage Form. *Int.J.PharmTech Res*, **5**(3), 1186-1195.

VON WANDRUSZKA R (1992). Preconcentration by Electrochemical Means. In: *Preconcentration Techniques for Trace Elements*, Ed.: Alfassi, Z. B., Wai, C. M., Boca Raton, FL: CRC Press. 133–180.

VU DL, ERTEK B, CERVENKA L, DILGIN Y (2013/2014). Determination of insulin using a pretreated pencil graphite electrode. *Sensing in Electroanalysis*, **8(**30), 5–313.

WANG F, HU S (2009). Electrochemical sensors based on metal and semiconductor nanoparticles. *Microchim Acta*. **165**:1-22.

WANG J (2006). Analytical Electrochemistry. 3rd Ed. John Wiley and Sons

WILLETS P, WOOD R, (2000). A Critique on Available In-House Method Validation Documentation. In: *Principles and Practices of Method Validation*. Ed.: Fajgelj, A., Ambrus, A., Cambridge: Royal Society of Chemistry. 253–296.

XU Y, WANG E(2012). Electrochemical biosensors based on magnetic micro/nano particles. *Electrochimica Acta* **84**:62-73

YILDIZ A, GENÇ O, BEKTAŞ S (1997). Enstrumental Analiz Yöntemleri. 2 Baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 285-304

ZHAO W, KARP JM, FERRI M, SERDA R(2011). Bioengineering nanotechnology: towards the clinic. *Nanotechnology* **22**(49)201-204.

ZOSKI GC (2007). Handbook of Electrochemistry. 1st Ed. Elsevier.

ZUHRI AZA, VOLETER W (1998). Applications of adsorptive stripping voltammetry for the trace analysis of metals, pharmaceuticals and biomolecule. *Fresenius J. Anal. Chem.* 360, 1

ZUMAN P, BREZINA M (1962). Polarographic analysis in pharmacy progress in polarography. Vol. 2th Ed. P. Zuman, I.M. Kolthoff, New York, Intersence Publishers

ZUTSHI K (2006). Introduction to Polarography and Allied Techniques. New Delhi: New Age International Publishers.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Göksu

Soyadı: Özçelikay

Doğum yeri ve tarihi: Ankara, 22.07.1991

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: 10. cadde 72/16 Emek/ANKARA

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden-eskiye doğru)

Öğrenim Dönemi	Derece	Öğrenim Birimi	Öğrenim Alanı	Ünvan
2009-2013	Lisans	Hacettepe Üniversitesi	Fen Fakültesi/ Kimya Bölümü	Kimyager
2005-2009	Lise	Ümitköy Anadolu Lisesi	-	-

Yabancı dili: İngilizce

III- Bilimsel İlgi Alanları

Uluslararası kongre, sempozyum, çalıştay ve panel gibi bilimsel toplantılara ait bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

1. G. Ozcelikay, B. Dogan, Ozkan SA. Electrochemical Behaviour of Antiviral Drug Tenofovir on Glassy Carbon Electrode, 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (11th ISOPS), Ankara, Turkey, June 9-12, 2015, P-14.

IV- Bilimsel Etkinlikleri

Projeler:

1. "Antiviral ilaç etken maddesi Tenofovir'in elektroanalitik incelenmesi için nanosensör tasarımı" başlıklı Ankara Üniversitesi BAP Hızlandırılmış Destek Projesi, 16H0237005, Nisan 2016- , Araştırmacı.

2. "Tenofovir'in elektrokimyasal davranışının çeşitli voltametrik yöntemlerle incelenmesi" başlıklı Ankara Üniversitesi BAP Hızlandırılmış Destek Projesi, 16H0237009, Haziran 2016- , Araştırmacı.