

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROPIFENAZON, ASETAMİNOFEN VE KAFEİNİN EŞ ZAMANLI TAYİNİNE
YÖNELİK ELEKTROKİMYASAL NANOSENSÖR TASARIMI

Ayça URÇUK

KİMYA ANABİLİM DALI

ANKARA
2024

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROPIFENAZON, ASETAMİNOFEN VE KAFEİNİN EŞ ZAMANLI TAYİNİNE YÖNELİK ELEKTROKİMYASAL NANOSENSÖR TASARIMI

Ayça URÇUK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zehra YAZAN

Bu çalışmada, propifenazon (PRO), asetaminofen (AS) ve kafeinin (KAF) eşzamanlı elektrokimyasal tayini için hassas, düşük maliyetli, kullan-at teknolojisine uygun bir modifiye kalem grafit elektrot (KGE) hazırlanmıştır. Bu modifiye elektrot, L- sistinin (L-Sis) elektropolimerizasyon yöntemiyle polimerleştirilmesi ve altın nanopartiküllerinin (AuNp) elektrokimyasal biriktirme yöntemi kullanılarak kaplanmasıyla geliştirilmiştir. Geliştirilen nanosensörün karakterizasyonu dönüşümlü volatametri (DV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile yüzey morfolojisi ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX) ile incelenmiştir. Geliştirilen modifiye elektrot için optimizasyon çalışmaları yapılarak uygun koşullar belirlenmiştir. Hazırlanan modifiye elektrotlarda AS, PRO ve KAF'in elektrokimyasal davranışı kare dalga voltametrisi (KDV) ile incelenmiştir. Optimum koşullar altında AS, PRO ve KAF için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ve LOD (Gözlenebilme Sınırı) – LOQ (Kantitatif Tayin Sınırı) değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca girişim yapan türler varlığında geliştirilen yöntemin etkinliği araştırılmıştır. Son olarak farmasötik ilaç formları ve sentetik insan serumu kullanılarak gerçek numunelerdeki uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

Haziran 2024, 70 sayfa

Anahtar Kelimeler: Propifenazon, asetaminofen, kafein, metal nanoparçacık, biyopolimer, kalem grafit elektrot, elektroanaliz

ABSTRACT

Master Thesis

ELECTROCHEMICAL NANOSENSOR DESIGN FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PROPYPHENAZONE, ACETAMINOPHEN AND CAFFEINE

Ayça URÇUK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Zehra YAZAN

In this study, a sensitive, low-cost, disposable modified pencil graphite electrode (PGE) was prepared for the simultaneous electrochemical determination of propyphenazone (PRO), acetaminophen (AS) and caffeine (CAF). This modified electrode was developed by polymerizing L-cystine (L-Cystine) by electropolymerization and coating gold nanoparticles (AuNp) by electrochemical deposition. The characterization of the developed nanosensor has been investigated by cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and surface morphology by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive x-ray spectroscopy (EDX). Optimization studies were carried out for the developed modified electrode and suitable conditions were determined. The electrochemical behavior of AS, PRO and KAF at the prepared modified electrodes was investigated by squarewave voltammetry (SWV). Calibration curves were generated for AS, PRO and KAF under optimum conditions and LOD (Limit of Detection) – LOQ (Limit of Quantification) values were calculated. In addition, the efficiency of the developed method in the presence of interfering species was investigated. Finally, its applications in real samples were realized using pharmaceutical drug forms and synthetic human serum.

June 2024, 70 pages

Key Words: Propyphenazone, acetaminophen, caffeine, metal nanoparticle, biopolymer, pencil graphite electrode, electroanalysis

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olarak, bilgisi ve emeğiyle bana yol gösteren, desteğini hiçbir zaman üzerimden çekmeyen kıymetli danışmanım Prof. Dr. Zehra YAZAN'a (Ankara Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı),

Her zaman desteğini, emeğini ve bilgisini benimle paylaşan, hiç sıkılmadan yorulmadan bana yol göstererek ilerlememe yardımcı olan kıymetli hocam; Doç. Dr. Dilek ESKİKÖY BAYRAKTEPE'ye ve Ceren YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı),

Hep yanımda olarak, beni destekleyen ve her zaman çok seven, maddi manevi her desteği gösteren, lisan ve yüksek lisans eğitimim sürecimde bana destek olan çok kıymetli ailem; canım annem, Hüsniye URÇUK'a, canım babam, Nedim URÇUK'a ve canım abim, Alpcan URÇUK'a

Tüm hocalarım ve ekip arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayça URÇUK

Ankara, Haziran 2024

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Propifenazon (PRO).....	4
2.2 Asetaminofen (AS)	5
2.3 Kafein (KAF)	6
2.4 Elektroanalitik Yöntemler	7
2.5 Voltametri	8
2.5.1 Diferensiyal puls voltametrisi (DPV).....	8
2.5.2 Kare dalga voltammetrisi (KDV)	9
2.5.3 Dönüşümlü voltametri (DV).....	9
2.5.4 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS).....	12
2.6 Elektrotlar.....	13
2.6.1 Elektrot modifikasyonu	14
2.6.2 Taramalı elektron mikroskopu (SEM).....	17
2.6.3 Enerji dağılımlı X-Işını spektroskopisi (EDX)	17
2.7 Kaynak Özetleri	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1 Kullanılan Cihazlar, Elektrotlar ve Malzemeler.....	22
3.2 Çözeltilerin Hazırlanması.....	22
3.2.1 Standart AS, PRO ve KAF'in stok çözeltilerinin hazırlanması.....	22
3.2.2 0,01 M H ₂ SO ₄ çözeltisinin hazırlanması	23
3.2.3 Girişim etkisi bulunan türlerin hazırlanması.....	24
3.3 Modifiye Elektrodun Hazırlanması.....	24
3.4 Gerçek Numunelerin Hazırlanması.....	25
3.5 Voltametrik Ölçümlerin Yapılışı	26
3.5.1 pH etkisi	26
3.5.2 Kalibrasyon çalışması	26
3.5.3 Girişim etkisi	27
3.5.4 Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik.....	27
3.5.5 Empedans ölçümleri	27
3.6 SEM Ölçümlerinin Yapılışı	28

4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	29
4.1 Modifiye KGE'ların Hazırlanması.....	29
4.2 Modifiye Elektrot Bileşimin Optimizasyonu	29
4.2.1 Optimum L-Sistin derişiminin belirlenmesi	29
4.2.2 Optimum H_{Au}Cl₄ derişiminin belirlenmesi	30
4.2.3 Döngü sayısının belirlenmesi.....	31
4.2.4 Tarama hızının belirlenmesi	33
4.2.5 Modifiye KGE'ların elektrokimyasal karakterizasyonu.....	36
4.2.6 Modifiye KGE'ların SEM ile incelenmesi.....	38
4.3 pH Etkisi	40
4.3.1 Hazırlanan elektrotların karşılaştırması	45
4.4 AS, PRO ve KAF'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	46
4.5 KDV Yöntemi ile Kalibrasyon Grafiklerinin Oluşturulması	50
4.6 Girişim Çalışması.....	55
4.7 Gerçek Numunelerde Uygulama Çalışması.....	56
4.8 Poli(L-Sis)/AuNp/KGE'un Ömür Çalışması	57
5. SONUÇ.....	59
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ.....	70

SİMGELER DİZİNİ

%BSS	Yüzde bağıl standart sapma
E_p^a	Anodik pik potansiyeli
E_p^k	Katodik pik potansiyeli
i_p^a	Anodik pik akımı
i_p^k	Katodik pik akımı
Δip	Akım Farkı
μA	Mikro amper
v	Tarama hızı

Kısaltmalar

A	Elektrot yüzey alanı
AA	Askorbik asit
AS	Asetaminofen
AuNp	Altın nanopartikülleri
BRT	Britton rabinson tamponu
D	Difüzyon katsayısı
DOP	Dopamin
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
DV	Dönüşümlü voltametri
E	Potansiyel
EDX	Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi
EIS	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
GLİ	Glikoz
GLİS	Glisin
KAF	Kafein
KDV	Kare dalga voltametrisi
KGE	Kalem grafit elektrot
LSV	Lineer sıyırma voltametrisi
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Kantitatif tayin sınırı
L-Sis	L-Sistin
n	Elektron sayısı
m	Eğim
NSAİİ	Non-Steroid antiinflatuar ilaç
PRO	Propifenazon
Rct	Yük transfer direnci
Rp	Polarizasyon direnci
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
ÜA	Ürik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Propifenazonun kimyasal yapısı	4
Şekil 2.2 Asetaminofen kimyasal yapısı	5
Şekil 2.3 Kafeinin kimyasal yapısı.....	6
Şekil 2.4 a.) Simetrik sinyal akımlarını gösteren DPV diyagramı (Mendoza 2015) b.) Kare dalga voltametriyi sinyal şeması (Mirceski 2007).....	9
Şekil 2.5 Dönüşümlü voltametri (Mendoza 2015).....	10
Şekil 2.6 a) Nyquist diyagramı b.) Randles devre şeması (Wang 2006)	13
Şekil 2.7 L-Sistin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 3.1 Çıplak KGE'nin modifikasyon ile kaplama prosesi	25
Şekil 4.1 AS, PRO ve KAF'e ait farklı L-Sistin derişimlerinde kaplanan KG elektrotların KDV sinyalleri (pH:2 0,01 M H ₂ SO ₄ , 10 ⁻⁴ M AS, 10 ⁻⁵ PRO, 5x10 ⁻⁴ M KAF).....	30
Şekil 4.2 AS, PRO ve KAF'e ait farklı H _{Au} Cl ₄ derişimlerinde kaplanan KG elektrotların KDV sinyalleri (pH:2 0,01 M H ₂ SO ₄ , 10 ⁻⁴ M AS, 10 ⁻⁵ PRO, 5x10 ⁻⁴ M KAF).....	31
Şekil 4.3 Farklı döngü sayılarında kaplanan elektrotlarda AS, PRO ve KAF'e ait KDV sinyalleri a.) 0,10 mM L-Sis ile b.) 0,05 mM H _{Au} Cl ₄ (pH:2 0,01 M H ₂ SO ₄ , 10 ⁻⁴ M AS, 10 ⁻⁵ PRO, 5x10 ⁻⁴ M KAF).....	32
Şekil 4.4 Farklı tarama hızında kaplanan elektrotlarda AS, PRO ve KAF'e ait KDV sinyalleri a.) 0,10 mM L-Sis ile b.) 0,05 mM (pH:2 0,01 M H ₂ SO ₄ , 10 ⁻⁴ M AS, 10 ⁻⁵ PRO, 5x10 ⁻⁴ M KAF).	33
Şekil 4.5 0,10 mM L-Sist monomerinin pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi içinde polimerizasyonunu gösteren DV voltammogramları. İç grafik: ilk döngü. (Tarama hızı; 75 mV/s)	34
Şekil 4.6 0,05 mM H _{Au} Cl ₄ 'ün CV voltamogramları. (0,01 M H ₂ SO ₄ , pH:2,0 tarama hızı; 50 mV/s).....	35
Şekil 4.7 KGE, poli(L-Sis)KGE, AuNp-KGE ve poli(L-Sis)/AuNp/KGE'a ait a.) DV voltammogramları b.) Nyquist eğrileri (5,0 mM [FeCN ₆] ^{-3/-4} 0,1 M KCl)	37
Şekil 4.8 a.) Çıplak KGE b.) poli(L-Sis)/KGE c.) AuNP/ KGE d.) poli(L- Sis)/AuNP/KGE' a ait SEM görüntüleri e.) poli(L- Sis)/AuNP/KGE'nin EDX spektrumu	39
Şekil 4.9 0,01 mM, H ₂ SO ₄ destek elektrolit ortamında farklı pH değerlerinde KDV yöntemi ile alınan ölçüm sonuçları a.) Akım grafiği b.) KDV voltammogramları (100,0 µM AS, 10,0 µM PRO, 500,0 µM KAF).....	41

Şekil 4.10 Fosfat tamponu ortamında farklı farklı pH değerlerinde, KDV yöntemi ile alınan ölçüm sonuçları a.) Akım grafiği b.) KDV voltammogramları (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM KAF).....	42
Şekil 4.11 Britton-Rabinson tampon (BRT) çözeltisi ortamında farklı pH değerlerinde, KDV yöntemi ile alınan ölçüm sonuçları a.) Akım grafiği b.) KDV voltammogramları (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM).....	43
Şekil 4.12 Farklı H_2SO_4 derişimlerinde AS, PRO ve KAF'e ait KDV sonuçları. (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM pH:2,0 H_2SO_4).....	43
Şekil 4.13 Farklı destek elektrolit çözeltiğinde alınmış AS, PRO ve KAF'e ait KD voltammogramlarının karşılaştırılması. (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM).....	44
Şekil 4.14 Farklı destek elektrolit çözeltiğinde alınmış AS, PRO ve KAF'e ait KD voltammogramlarının Ep-pH grafikleri a.) AS b.) PRO c.) KAF. (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM).....	44
Şekil 4.15 100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM KAF çözelti içinde, farklı modifiye elektrotlarla alınmış KD voltammogramları (pH:2,0, 0,01 M H_2SO_4).....	45
Şekil 4.16 100,0 μM AS, 10,0 μM PRO ve 500,0 μM KAF'in farklı tarama hızlarında DV voltammogramları (0,025 V/s – 0,10 V/s tarama hızı aralığında 0,01 M pH:2 H_2SO_4).....	46
Şekil 4.17 a.) 10,0 μM PRO, b.) 100,0 μM AS ve c.)500,0 μM KAF'in $\log i_p - \log v$ grafikleri (0,025 V/s – 0,10 V/s tarama hızı aralığında 0,01 M pH:2 H_2SO_4).....	47
Şekil 4.18 Poli(L-Sis)/AuNP/KG elektrodu üzerindeki AS, PRO ve KAF'in DV voltammogramları (Tarama hızı: 0,1 Vs^{-1} 0,01 M pH:2 H_2SO_4).....	48
Şekil 4.19 Asetaminofen'in olası elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması (Sawant vd. 2019).	49
Şekil 4.20 Kafein'in olası elektrooksidasyon mekanizması şeması (Habibi vd. 2012).....	49
Şekil 4.21 Propifenazon'un olası yükseltgenme mekanizması şeması (Silva 2017).....	49
Şekil 4.22 AS'e ait KDV voltammogramları 0,01- 80,0 μM AS (PRO 0,50 μM , KAF 50,0 μM , pH:2 0,01 M H_2SO_4) İç grafik; AS için kalibrasyon grafiği	50
Şekil 4.23 0,005 – 50,0 μM PRO'e ait KDV voltammogramları (AS; 50, μM , KAF 100,0 μM , pH:2 0,01 M H_2SO_4) İç grafik; PRO için kalibrasyon grafiği	51
Şekil 4.24 1,0 – 900,0 μM KAF'e ait KDV voltammogramları (AS; 50,0 μM , PRO 0,5 μM pH:2 0,01 M H_2SO_4) İç grafik; KAF için kalibrasyon grafiği	51

Şekil 4.25	0,001 – 90,0 μM AS, 0,005 – 30,0 μM PRO ve 0,5 – 600,0 μM KAF'e ait KDV voltammogramları (pH:2,0 0,01 M, H_2SO_4).....	52
Şekil 4.26	0,001 – 90,0 μM AS, 0,005 – 30,0 μM PRO ve 0,5 – 600,0 μM KAF'e ait kalibrasyon grafikleri	52
Şekil 4.27	1,0 μM AS, PRO ve KAF'e göre 1:1 oranında girişim yapan maddelerin KDV sinyallerine ait grafik. (pH:2, 0,01 M, H_2SO_4)	56
Şekil 4.28	1,0 μM AS, 1,0 μM PRO ve 10,0 μM KAF'ine ait gün içi akım grafiği. (pH:2, 0,01 M H_2SO_4).....	57
Şekil 4.29	1,0 μM AS, 1,0 μM PRO ve 10,0 μM KAF'ine ait günler arası akım grafiği. (pH:2, 0,01 M, H_2SO_4)	58



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	7
Çizelge 4.1 DV yöntemi kullanılarak 5,0 mM $[\text{FeCN}_6]^{-3/-4}$ 0,10 M KCl çözeltisinde çıplak KGE ve modifiye KGE'lerin hesaplanan yüzey alanları.....	38
Çizelge 4.2 Poli(L-Sis)/AuNP/KGE sensörü üzerindeki AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı kalibrasyon çizgilerine ilişkin regresyon.....	53
Çizelge 4.3 Farmasötik form ve insan serum örneklerinde geri kazanım sonuçları	57
Çizelge 5.1 AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizi için geliştirilen yöntemin, literatürde yer alan elektrokimyasal çalışmalarla karşılaştırılması.	60

1. GİRİŞ

Ağrı kesici ve ateş düşürücü ilaçlar, her yaş grubunun sıkça tercih etmiş olduğu ilaçlardır. Özellikle kuvvetli etkileşimleri nedeniyle kombine olarak piyasada bulunan analjezik antipiretik ilaçlar bu kuvvetli tesirleri nedeniyle çokça tüketilmektedirler. Propifenazon (PRO), Asetaminofen (AS) ve Kafein'in (KAF), üçlü kombine hali bu kuvvetli etkisi olan ilaçlar arasında en yaygın olanıdır. Bu kombine ilaçların belirtilen biçimde ve dozda kullanılması oldukça önem taşımaktadır. Doz aşımı, insan sağlığını negatif etkilemektedir sadece uygun doz ve biçimde kullanılmaları niteliğinde çoğu zaman güvenlidirler. Ancak, tavsiye edilen dozun aşılması niteliğinde zararlı olabilirler. Bu nedenle, sıkça kullanılan analjezik ve antipiretik ilaçların düşük maliyetli, hızlı ve düşük gözlenme sınırına sahip ve eş zamanlı analize uygun bir yöntem ile incelenmesi çok önemlidir. Elektrokimyasal yöntemler, hassas, hızlı, düşük maliyetli ve düşük gözlenme sınırına sahip olmaları nedeniyle eş zamanlı ilaç analizlerinde sıkça kullanılmaktadır.

Eş zamanlı ilaç analizleri; birden fazla analitin birden fazla analit için daha kısa genel analiz süreleri sağlayabilir, daha düşük numune hacmi gerektirir, daha düşük maliyetle çalışır ve gelişmiş seçicilik sunmaktadır (Jadon vd. 2016, Sen ve Lazenby 2024). Ayrıca birden fazla analitin eş zamanlı tespiti hastalık tanı-tedavi ve doz aşımından kaynaklanan zehirlenmelerin hızlı ve hassas tespitinde, gıda güvenliğinde, klinik teşhislerde ve çevresel izlemede çoklu analitin eş zamanlı analiz önemli rol oynamaktadır (Grabowska vd. 2021, Pakchin 2017).

Elektrokimyasal yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotlarının modifiye edilmesiyle daha gelişmiş daha hızlı ve hassas bir analiz mümkün olmaktadır. Özellikle elektrot yüzeyini modifiyesinde kullanılan nanoparçacıklar avantajları sebebiyle çokça tercih edilmektedirler. Daha düşük gözlem sınırlarına düşülebilmesi bu avantajların başında gelmektedir (Hernández-Santos vd. 2002). Ayrıca nanoparçacıklar elektrokimyasal çalışma elektrotlarının duyarlılığını, seçiciliğini ve performansını artırmada önemli bir rol oynar. Bu da daha güvenilir ve etkili analiz yöntemi geliştirmeye olanak tanır. Nanoparçacık olarak sıklıkla metaller (AuNP, PtNP v.b.), metal oksit nanoparçacıkları

(TiO₂, ZnO, SnO₂ vb.), karbon bazlı nanotüpler sıklıkla kullanılmaktadır. Metal nanoparçacıklar, yüksek elektriksel iletkenlik, geniş yüzey alanı, katalitik aktiviteleri ve düşük yük transfer direncine sahip olmaları nedeniyle çalışma elektrodunun duyarlılığını, seçiciliğini ve performansını artırabilir. Metal nanoparçacıklar bir elektrot yüzeyi üzerinde sabitlendiğinde, redoks reaksiyonları için aktif alanlar sağlayarak daha hızlı reaksiyon ve artırılmış verimlilik sağlarlar. Bu metaller arasında altın, nanoparçacıkları elektrot yüzey alanını iyi bir şekilde artırması ve hızlı elektron transferi yapabilmesi gibi kullanışlı özelliklerinden dolayı özellikle elektrokimyada sıklıkla kullanılmaktadır.

Elektrokimyasal yöntemlerde kullanılan elektrot modifikasyonlarında aminoasit kullanımı da çok yaygın olarak görülmektedir. Biyouyumluluk, yüksek stabilite ve yeniden kullanılabilirlik, tıbbi tanı ve biyoteknolojik araştırmalarda biyolojizasyon ve biyosensör uygulamalarında önemli bir rol oynar. Ayrıca aminoasitler, elektrot yüzeyi ile kimyasal bağ oluşturarak daha homojen ve kararlı bir yüzey oluşmasını sağlamaktadırlar. Tiyol (-SH), amino (NH₂) ve siyano (CN) gibi fonksiyonlu grup içeren aminoasitler metal nanoparçacıklarının homojen ve düzenli bir şekilde elektrot yüzeyini kaplamasına olanak sağlar. Özellikle tiyol grupları, altın yüzeyler için yüksek bir afiniteye sahiptir ve altın atomları ile kolayca güçlü kimyasal bağlar oluşturur (Demirtaş 2021). Altın nanoparçacıkları ve tiyol grupları arasındaki etkileşim, tiyol grubundaki hidrojen atomunun nanoparçacık yüzeyindeki bir altın atomu tarafından yer değiştirmesi ile gerçekleşir, bu da kükürt atomu ile altın arasında bir kovalent bağ oluşmasına neden olur (Giljohann vd. 2010). Bu tez çalışmasında AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizi için yeni bir elektrokimyasal yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Kullan-at teknolojisine uygunluğu, düşük maliyeti, hızlı ve hassas olması nedeniyle bu tez çalışmasında kalem grafit elektrot (KGE) kullanılmıştır. KGE elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak önce aminoasit L-Sistin'in dönüşümlü voltametri (DV) ile elektrot yüzeyinde polimerleşmesi sağlanmıştır, ardından DV yöntemi ile altın nanoparçacıklarının (AuNP) L-Sistin kaplı elektrot yüzeyine elektrobiriktirme yöntemi ile homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. L-Sis, AuNP'lerinin derişimi ve DV yöntemi parametreleri optimum koşullara getirilerek çalışma elektrodunun kaplama işlemi tamamlanmıştır. Hazırlanan modifiye elektrodun yüzey karakterizasyonu DV ve

elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Yüzey morfolojisinin incelenmesinde ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre modifiye elektrot optimizasyonu belirlenerek AS, PRO ve KAF'in elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Geliştirilen yöntem, Parol Plus tabletlerinde ve insan serumunda başarıyla uygulanmıştır. Tez çalışmasının sonuçları, son yıllarda literatürde yer alan benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

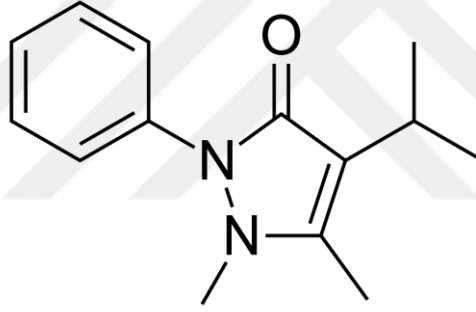
Bu tez çalışmasının sonuçları, benzer araştırmalarla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir ve çalışmanın bulgularının geçerliliği daha iyi anlaşılmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Propifenazon (PRO)

Propifenazon, güçlü analjezik ve antipiretik aktiviteye sahip, düşük antiinflatuar etkisi olan pirazolon türevi bir bileşiktir. (Himly 2003, Silistreli vd. 2011). Non-steroidal antiinflatuar (NSAİİ) ilaç olan PRO öncelikle hafif ila orta şiddette ağrının giderilmesi ve ateşin düşürülmesi için kullanılır. $C_{14}H_{18}N_2O$ kapalı formülüne, 230,311 g/mol molekül ağırlığına sahiptir. Yapısal olarak aminofenazon ile ilişkilidir. Kafeinin, PRO'nun ağrı kesici özelliğini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir, bu sebeple piyasada sıklıkla kombine olarak satılmaktadırlar (Emre 2006).



Şekil 2.1 Propifenazonun kimyasal yapısı

Molekül kütlesi: 230,311 g/mol

Kimyasal Yapısı: $C_{14}H_{18}N_2O$

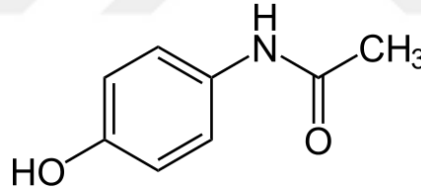
IUPAC Adı: 1,2-Dihidro-1,5-dimetil-4-(1-metiletil)-2-fenil-3H-pirazol-3-on

Erime Sıcaklığı: 103°C

2.2 Asetaminofen (AS)

En sık kullanılan analjezik, antipiretik etkiye sahip non-steroid antiinflatuar, para-aminofenol grubundan bir ilaçtır. $C_8H_9NO_2$ kapalı formülüne ve 151,17 g/mol molekül ağırlığına sahiptir. Yaygın adıyla parasetamol olarak bilinen asetaminofen, hafif ve orta şiddetli ağrıları hafifletmek amacıyla kullanılmaktadır ayrıca ateş düşürücü etkisi de bulunmaktadır (Kanbur 2009). Asetaminefen 1980’li yıllarda çocuklarda reye sendromu ile ilişkilendirilen aspirinin yerine kullanılan analjezik ve antipiretik haline gelmiştir.

Doz aşımı olmadığı sürece insan için bir tehdit oluşturmamaktadır ve hamilelikte, çocuklarda, yaşlılarda, hafif baş ağrıları, kas-iskelet sistemi rahatsızlıklarına sahip olanlar da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda ağrı tedavisi ve antipiretik etkisi için güvenle kullanılmaktadır (Prescott vd. 2000). Ancak aşırı dozda alımı karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasına ve akut karaciğer yetmezliğine sebep olabilmektedir (Ramachandran ve Jaeschke 2018, Thomas 1993, Yayla 2013).



Şekil 2.2 Asetaminofen kimyasal yapısı

Molekül kütlesi: 151,17 g/mol

Kimyasal Yapısı: $C_8H_9NO_2$

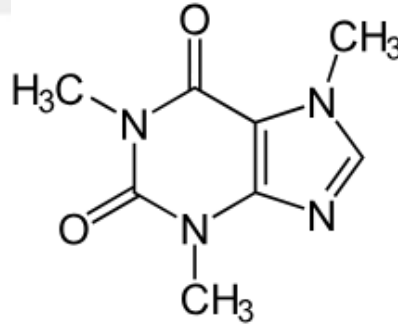
IUPAC Adı: N-(4-Hidroksifenil)asetamid veya 4’-Hidroksiasetanilid

Erime Sıcaklığı: 170,5°C

2.3 Kafein (KAF)

Kafein psikoaktif özellikte, kapalı formülü $C_8H_{10}N_4O_2$ ve molekül ağırlığı 194,19 g/mol olan içecek ve gıda sektöründe önemli yere sahip, ksantin türevi bir bileşiktir (Švorc 2013). Merkezi sinir sisteminin uyarılması, kardiyovasküler sisteme etkisi, diürez ve mide asidi salgılanması gibi pek çok farmakolojik etkisi bulunmaktadır. Gıda ve içecek sektöründe önemli ölçüde kullanılan kafein, ilaç formülasyonlarında da sıkça kullanılmaktadır. Uyanıklık ve dikkati artırır ancak sağlıklı bireylerde yüksek dozda alındığı takdirde anksiyete oluşturabilmektedir, panik atak hastalarında ise tetikleyici olabilmektedir. (Klevebrant ve Frick 2022).

Son yıllarda kafein, steroid olmayan antiinflamatuvar etkiye sahip ilaçlarla kombine olarak satılmaya başlamıştır. Bunun sebebi kafeinin non-steroid özellikteki ilaçların; özellikle asetaminofen, aspirin, propifenazon gibi etken maddelerin ağrı kesici etkisini arttırdığı, adjuvan etki yaptığı tespit edilmiştir (Sawynok 2011, Engelhardt vd. 1997).



Şekil 2.3 Kafeinin kimyasal yapısı

Molekül kütlesi: 194,19 g/mol

Kimyasal Yapısı: $C_8H_{10}N_4O_2$

IUPAC Adı: 3,7-Dihidro-1,3,7-trimetil-9H-purin-2,6-dion

Erime Sıcaklığı: 238°C

İlaç etken maddeleri her ne kadar insan sağlığı için önemli olsa da yanlış ve aşırı dozda kullanımları insan sağlığı için tehlikeli olabilmektedir. Bu nedenle ilaç etken maddelerinin eş zamanlı, hızlı ve eser miktarlarda bile hassas analizi çok önemlidir.

Bu tez çalışmasında da AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı hassas tayini için bir elektrokimyasal nano platform geliştirilmiştir.

2.4 Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemler, çeşitli yöntemleri kapsamaktadır. Tüm bu yöntemlerin ortak noktası bir analitin derişimi ya da miktarı fiziksel bir sinyale (voltaj, akım, iletkenlik, radyasyon, ısı, basınç, ağırlık vb.) dönüştürülür ve bu daha sonra elektrotlar ile uygun bir elektrik sinyaline dönüştürülür (Hauser 1998).

Elektroanalitik yöntemler; analizi yapılacak maddeyi içeren bir elektrokimyasal hücredeki potansiyeli (volt) ve/veya akımı (amper) ölçerek inceleyen bir teknikler grubunu ifade etmektedir. Bu yöntemler, hücrenin kontrol edilen yönlerine ve hangilerinin ölçüldüğüne bağlı olarak farklı kategorilere ayrılmaktadırlar (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

Elektroanalitik Yöntemler	
A. Dinamik Yöntemler	B. Statik Yöntemler
1. Potansiyel Kontrollü	1. Potansiyometri
2. Akım Kontrollü	2. Potansiyometrik Titrasyon
3. Yük Kontrollü	3. İyon Seçici Elektrot
	4. Sabit Potansiyel Uygulamaları
1. Potansiyel Kontrollü Teknikler	
i. Voltametri	
ii. Kronoamperometri/Kronokulometri	
iii. Potansiyel Kontrollü Kulometri	
Voltametri	
a. Hidrodinamik Voltametri	
b. Dönen disk elektrot Voltametrisi	
c. Puls Voltametrisi	
d. Sabit Elektrot Voltametrisi	
e. Dönüşümlü Voltametri	
f. Sıyırma Voltametrisi	

Voltametri, düşük gözlem sınırı, basit ve eş zamanlı analize uygun olması nedeniyle ekonomik bir seçenek sunmaktadır. Ayrıca biyolojik örneklerle bir ön işlem gerektirmeden uygulanabilir olması nedeniyle özellikle ilaç etken maddelerinin eş zamanlı, hassas analizlerinde sıkça kullanılmaktadır (Jadon vd. 2016).

2.5 Voltametri

Voltametri, elektroanalitik yöntemler arasında en sık kullanılan yöntemidir. Bu yöntem, elektroda belirli bir potansiyel (E) uygulanması ve üretilen akımın ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Genellikle potansiyel değişikliği uygulanarak ya da belirli bir süre boyunca akım izlenerek gerçekleştirilir (Kounaves 1997). Elektrot içeren hücreye uygulanan bir potansiyel uyarma sinyalinin cevabı olarak akım oluşur; bu akım-potansiyel grafiğine ise voltammogram adı verilir. Hassas, hızlı, ucuz, düşük gözleme sınırı ve eş zamanlı analiz seçeneği sunma gibi avantajlarıyla öne çıkan bir yöntemdir.

Voltametrimin, diferansiyel puls voltametrisi (DPV), dönüşümlü voltametri (DV), kare dalga voltametrisi (KDV), doğrusal taramalı voltametri (LSV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) olmak üzere farklı analiz yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler aşağıdaki gibi özetlenmiştir;

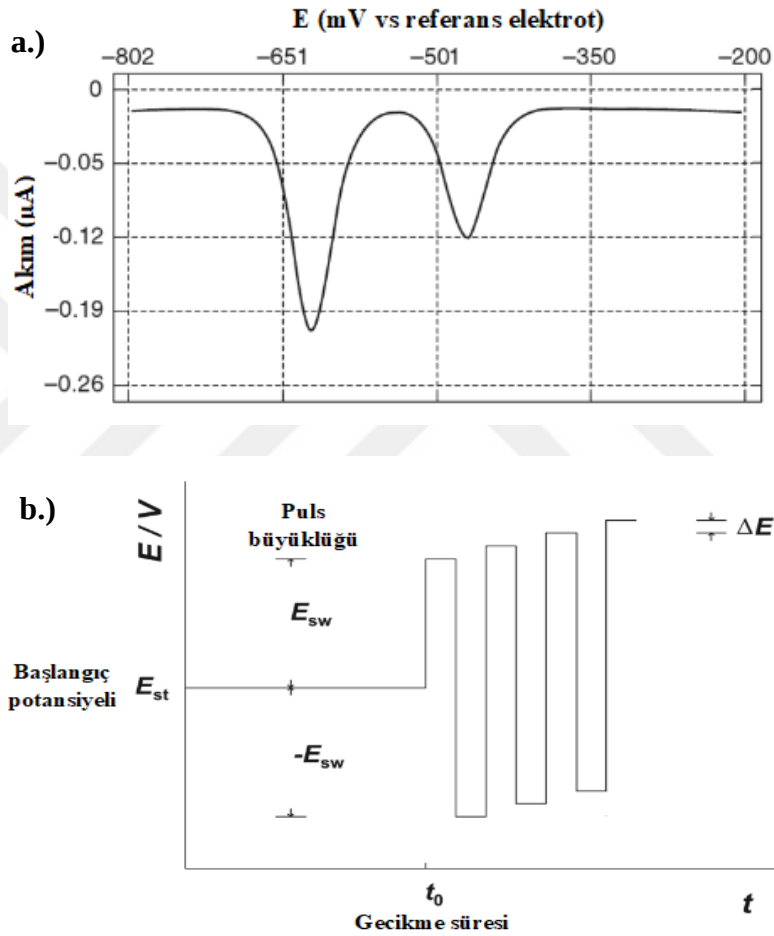
2.5.1 Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)

DPV yönteminde; doğrusal bir potansiyel düzlemindeki sabit büyüklükteki pulslar, düşüşün bitiminden hemen önce çalışma elektroduna uygulanır. Akım iki kez örneklenir; ilki puls uygulamasından hemen önce diğeri puls ömrünün sonlarındadır. Birinci akım ikinciden çıkarılır ve (ΔI_{puls}) akım farkının potansiyele karşı geçirildiği bu diferansiyel puls voltammogramında sinyallere karşılık gelen analitlerin derişimiyle doğrudan orantılı olan akım tepe noktalarından oluşur (Wang 2006).

İnorganik ve organik türlerin eser düzeylerdeki derişimlerinin tespiti için son derece faydalı bir tekniktir.

2.5.2 Kare dalga voltammetrisi (KDV)

Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel kademeli olarak zamanla artan kare dalgalar veya basamaklar şeklindedir. Her döngüde ileri yöndeki puls ile geri yöndeki pulsun sonunda olacak şekilde akım, iki kere ölçülür. Hızlı, hassas, duyarlı olması sebebiyle üstün bir yöntemdir.

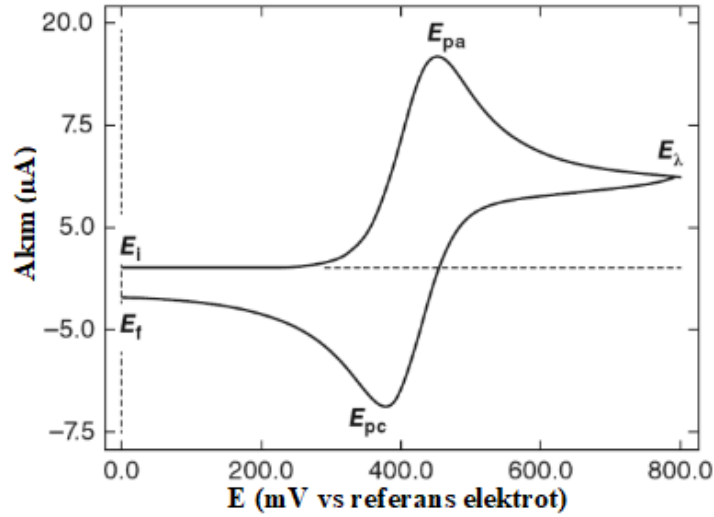


Şekil 2.4 a.) Simetrik sinyal akımlarını gösteren DPV diyagramı (Mendoza 2015) b.) Kare dalga voltammetrisi sinyal şeması (Mirceski 2007)

2.5.3 Dönüşümlü voltametri (DV)

Belirli bir tarama hızında çalışma elektroduna, önce katodik yönde daha sonra anodik yönde bir potansiyelin uygulanması temeline dayanmaktadır. Tekli ya da çoklu

döngüler alınabilmektedir. Potansiyel taraması yapılarak ölçüm alınır, bu potansiyel taraması belirlenen başlangıç ve bitiş noktaları arasında uygulanan potansiyelin hücrede oluşturduğu akımı ölçmesi ile sonuç elde edilir. Genellikle çalışma elektrodunun yüzeyi hakkında bilgi edinmek amaçlı kullanılan bir yöntemdir. Doğrusal taramalı voltametri de aynı mantıkta çalışan bir yöntemdir.



Şekil 2.5 Dönüşümlü voltametri (Mendoza 2015)

DV’de tarama hızı düşükten yükseğe değiştirilerek reaksiyonun olağan mekanizması ile ilgili bilgi edinilebilir. Tarama hızının değişimi ile pik akımının değişimine bakılarak analiz edilen türün reaksiyonun adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olduğu tespit edilebilir.

Analiz edilen elektroaktif tür ile çalışma elektrodu arasındaki elektron transferi difüzyon kontrollü ya da adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleşebilir. Eğer çözelti ve elektrot ara yüzeyinde elektron transferi meydana geliyorsa difüzyon kontrollü, elektrot yüzeyinde elektron transferi meydana geliyorsa adsorpsiyon kontrollü olarak değerlendirilir. (González-Velasco 1994).

Tarama hızının artmasıyla pik akımı doğrusal olarak artıyorsa ve tarama hızının logaritmasının ($\log v$ (mVs^{-1})) -pik akımının ($\log i_p$ (μA)) logaritmasına karşı çizilen grafikte elde edilen eğim (m) 1,0’ e yakın ise reaksiyon adsorpsiyon kontrollü olarak

gerçekleşir ancak eğim 0,5' e yakın ise reaksiyon difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir. Çalışma elektrodunun yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonlar tersinir, yarı tersinir ve tersinmez olarak sınıflandırılır (Wang 2006).

Tersinir bir redüksiyon tepkimesi;



Tepkimenin başlangıcında ortamda bir tek “A” maddesi bulunmaktadır ve bu sebeple sadece elektron aktarım reaksiyonu gerçekleşir ayrıca yüzeyde bir adsorpsiyon olayı meydana gelmez. Tarama hızı artırıldıkça pik akımı da doğru orantılı olarak artar.

Ters yönde uygulanan bir potansiyel taramasında “A” maddesinin indirgendiği potansiyelde, elektrot yüzeyinde bulunan “R” maddesi yükseltgenmeye başlayarak bir anodik pik oluşturacaktır. Nernst eşitliğine göre “R” maddesinin yüzeydeki derişimi ters potansiyel uygulandığı esnasında potansiyel pozitif kaydıka azalır. “R” maddesi çözeltiye doğru difüzenerek, katodik akım değeriinin ters tarama sırasındaki anodik akım değeriinden daha yüksek olmasına neden olur. Elektrot yüzeyindeki elektron akış hızı tersinir tepkimelerde kütle aktarım hızından daha büyüktür ve $[R] / [A]$ oranı Nernst eşitliğinde görüldüğü üzere potansiyele bağılıdır; (Marken 2010)

$$E = E^\circ - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[R]}{[A]} \quad (2.2)$$

Tersinir bir reaksiyonunun pik akımı 25°C sıcaklıkta Randles – Sevcik eşitliği ile verilir. (Kounaves vd.1997, Mabbott, vd. 1983).

$$i_{p(ters)} = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A D_o^{1/2} C_A v^{1/2} \quad (2.3)$$

Randles-Sevcik eşitliğinde yer alan semboller; i_p ; pik akımı, n ; aktarılan elektron sayısı, A ; elektrot yüzey alanı, cm^2 , D_0 ; Difüzyon katsayısı, cm^2s^{-1} C_A ; A türünün ana çözeltideki derişimi mol/cm^3 , v ; tarama hızı (mVs^{-1})

DV yönteminde, anodik ve katodik pik potansiyel farkı tersinir elektrot reaksiyonları için $59/n$ mV olarak hesaplanmaktadır. İlgili hesaplama eşitlik 2.4'te verilmiştir.

$$E_p^k - E_p^a = 2(1,11) \frac{RT}{nF} (25^\circ\text{C}) \quad (2.4)$$

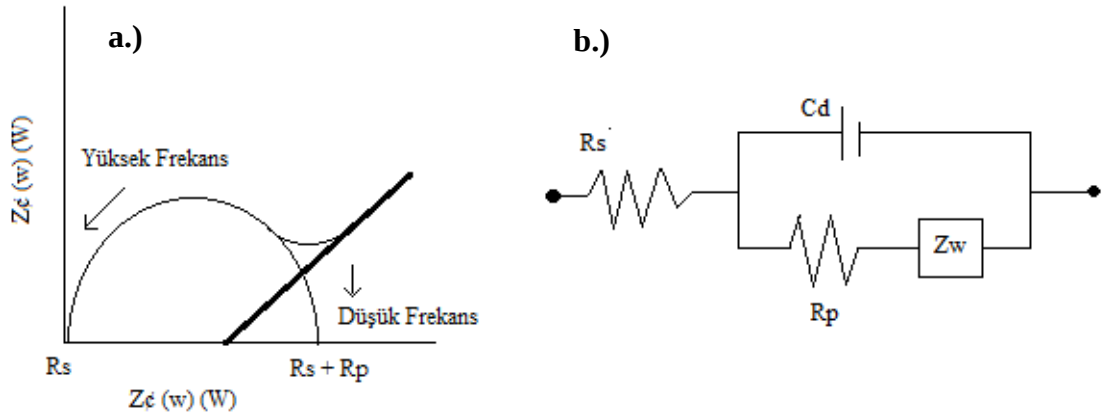
DV yöntemi kullanılarak bir reaksiyonun tersinirlik durumunun değerlendirilmesi mümkündür. Çizilen $i_p - v^{1/2}$ grafiğinin doğrusal olması ve grafiğin orijinden geçmesi sistemin tersinir olduğu göstermektedir.

Tersinmez tepkimelerde elektronun aktarım hızı yeterince büyük değilse Nernst eşitliği geçerli olmaz. Anodik pikin yani ters potansiyel taramasında bir pikin gözlenmeyişi tersinmez sistemlerin en önemli belirteçidir.

Ancak anodik pik bazı durumlarda gözlenmeyebilir, bu durum elektron aktarımının tersinmez olduğu anlamına gelmez. Elektron aktarımının daha hızlı bir şekilde meydana geldiği tepkimelerde elde edilen ürün hemen başka bir ürüne dönüşür ve bu durumda ters tarama aşamasında anodik pik gözlenmeyebilir. (Aydar 2019).

2.5.4 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS)

Çalışma elektrodunun yüzeyi, özellikleri ve elektron transfer süreci hakkında bilgi edinmek için sıklıkla başvurulanan bir yöntemdir (Wang vd. 2021, Chang ve Park 2010). Kısaca modifiye edilmiş çalışma elektrodunun incelenmesi için kullanılan bir yöntemdir. Nyquist eğrileri elektron transfer süreci hakkında bilgi verir. Bu eğrilerde yer alan yarım daire ne kadar küçükse o kadar iyi bir iletkenlik ve hızlı elektron transferi olduğu söylenebilir.



Şekil 2.6 a) Nyquist diyagramı b.) Randles devre şeması (Wang 2006)

Şekil 2.6 a' da gösterilen Randles devre modeli EIS tekniğinin en basit devre modelidir. Randles devre modeli elemanları; çift tabaka direnci (C_d), Warburg (W) devre elemanı, elektron transfer direnci (R_s), yük transfer direnci ya da polarizasyon direncinden (R_{ct} veya R_p) oluşmaktadır.

2.6 Elektrotlar

Elektrokimyasal hücreler, her biri elektrolit çözeltisine daldırılmış elektrot adı verilmiş katı iletkenler içerir. Voltametrik analizin yapıldığı elektrokimyasal hücre ise bir çalışma elektrodu, bir referans elektrodu ve karşıt elektrottan oluşur. Bu elektrotlar aşağıdaki gibi özetlenmiştir;

Çalışma elektrodu: Redox reaksiyonları bu elektrot yüzeyinde gerçekleşmektedir. Çalışma elektrodu kullanılan elektroaktif maddeye göre değişebilir, modifiye edilebilir. Bu elektrodun potansiyel, dış potansiyelden etkilenecek değişir.

Karşıt elektrot: Bu elektrot akım geçişinin daha güvenli olmasını sağlamak amacıyla kullanılır, genellikle platin tel (Pt) kullanılır.

Referans elektrot: Potansiyelde sabit kalır, çalışma elektrodunun ve ölçülen çözeltinin özelliklerinde bağımsız kalır. AgCl/Ag elektrotlar sıklıkla kullanılır, sulu çözeltiler için

kullanılan en yaygın elektrotlar ise kalomel elektrotlardır. Gümüş elektrotlar AgCl ile doyurulmuş KCl içerisine gümüş metalinin saldırılması ile elde edilirler.



Nanosensör tasarımında farklı tipte çalışma elektrotları sıklıkla kullanılmaktadır. Metal temelli; altın, gümüş, platin gibi elektrotlar iyi iletkenliği, kolay elektron transferi yapabilme gibi avantajlar sağlamaktadırlar. Ancak karbon temelli elektrotlar ucuz, hassas ve çevreci olması ile daha çok tercih edilmektedirler. Kalem grafit elektrotlar, camısı karbon elektrotlar (CKE) ve perde baskılı karbon elektrotlar (PBKE), pirolitik grafik elektrotlar (PGE) hızlı, hassas ve çevrecidirler ayrıca kolayca farklı materyallerle modifiye edilmektedirler.

2.6.1 Elektrot modifikasyonu

Elektrotların uygun materyallerle kaplanarak daha duyarlı, kararlı, hızlı ve hassas hale gelmesi sağlanır. Bu yöntem elektrot modifikasyonu denir. Kimyasal olarak yapılan elektrot modifikasyonu, materyalin karbon elektrot yüzeyine kimyasal bağlarla tutunması esasına dayanırken, elektrokimyasal olarak yapılan kaplamalarda DV yöntemi kullanılarak elektrot yüzeyinden belirli bir tarama hızında bir potansiyel geçirilir ve elektrot yüzeyinde bir tabaka oluşması sağlanır.

Kimyasal olarak polimerleştirme yönteminde nötral halde iletken polimer ürün elde etmek için güçlü indirgen veya yükseltgen maddelere ihtiyaç duyulur. Güçlü yükseltgenlerin kullanılması durumunda polimer aşırı yükseltgenerek parçalanabilir. Bu da kimyasal polimerleştirmenin en büyük dezavantajıdır. (Yoshino vd. 1984) Ayrıca kimyasal polimerleştirme sonucunda safsızlıklar elde edilmesi, yükseltgenme basamağının kontrol edilememesi gibi pek çok diğer dezavantajı da vardır.

Kimyasal, fotokimyasal, piroliz gibi polimerleştirme yöntemlerine kıyasla, elektropolimerizasyon, elektrot yüzeyinde meydana gelen polimer tabakasının akım ve potansiyel değiştirilerek istenen kalınlıkta yapılmasına izin vermesi, saf polimerin üretilmesi ve yan ürün oluşmaması, homojen bir tabaka sunması gibi üstünlüklere sahip bir polimerleştirme yöntemidir. (Friebe vd. 2012, Abdüloğlu 2018)

Bir diğer kaplama metodu olan elektrokimyasal biriktirme yöntemi metal nanopartikülleri, nanoteller, nanofilmlerin elektrot yüzeyine biriktirilmesi için kullanılan bir yöntemidir. Elektropolimerizasyon yönteminde olduğu gibi bu yöntemde de elektrottan belirli bir tarama hızında potansiyel uygulanması ile gerçekleştirilir. Kaplama işlemi elektrokimyasal sisteminin katodu olan hedefin yüzeyinde saf bir metalin elektro-birikmesi şeklinde gerçekleşir. Elektrokimyasal biriktirme, nano yapıları malzemelerin üretimi için yapı, bileşim ve özellikler üzerinde kontrol sağlayan önemli bir tekniktir ve böylece diğer tekniklerle elde edilemeyen gelişmiş özelliklere sahip yeni malzemelerin hazırlanmasını kolaylaştırır (Jayakrishnan 2012).

Bir monomerden yola çıkarak yapılan polimerleşmelerde aminoasitler, kullanılabilir (Kordasht vd. 2021). Aminoasitler yapılarında farklı fonksiyonlu gruplar içermesi sebebiyle elektrot modifikasyonunda avantaj sağlamaktadırlar. Özellikle tiyol (-SH), amino (NH_2) ve siyano (CN) grupları içeren aminoasitler farklı modifikasyon materyallerinin elektrot yüzeyine daha kolay tutunması ve homojen olarak yayılması için elektrot yüzeyinde uygun bir yatak oluşturmaktadır. Ayrıca amino asitler çoğunlukla suda çözünerek, yeşil ve sürdürülebilir elektrokimyayı destekler (Alhedabi 2017).

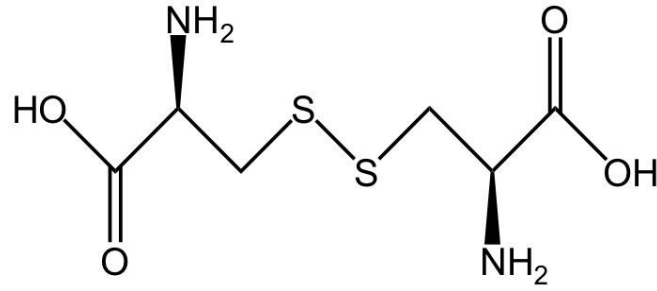
Metal nanoparçacıkları günümüzde hassas, hızlı, yüksek iletkenlik, düşük gözlenme sınırı sunabilmeleri gibi gelişmiş özellikleri sebepleriyle oldukça tercih edilmektedirler. Metal nanoparçacıkları sentezlenmesi kolay ve çeşitli şekillerde modifiye edilebilirler. Metal nanoparçacıkların fonksiyonlu gruplara olan afinitelerinden yararlanılarak kolayca elektrot yüzeyine tutunmasını sağlanabilmektedir (Mody 2010).

Sistin kükürt içeren amino asitlerdendir ve bu aminoasitlerin yalnızca L-izomeri doğal proteinlerde yaygın olarak bulunan yaklaşık 20 amino asitten oluşan bir grubun üyesidir. L-Sistin yapısında -S-S, -NH ve -OH grupları bulunmaktadır. Yapılarında bulunan tiyol ve amino gruplarının redoks özelliklerinden dolayı elektropolimerizasyonla elektrot yüzeyleri kaplanabilmektedir (Dehnavi ve Soleymanpour 2021). Bununla birlikte metal nanopartiküllerle elektrokimyasal biriktirme yoluyla elektrot yüzeyinde oluşturulmaktadır. Poli(L-Sistin) ile kaplanan yüzeylerde elektrokimyasal biriktirme ile elektrot yüzeyinde metal-S oluşumuna sebep olur ve bu da elektrodun hassasiyetini ve kararlılığını arttırmaktadır (Shaikshavali vd. 2017, Dokur vd. 2014). L-sistin, polimerizasyon sırasında stabil disülfid bağları (S-S) oluşturarak altın atomlarını koordine etmek için uygun ligandlar olarak görev yapar ve gözenekli yapısı sebebiyle altın nanoparçacıkların elektrot yüzeyine tutunmasında ve kararlı kalmasında matris görevi görerek daha fazla elektrokatalitik etkisi gösteren aktif bölge oluşturur (Ralph 2006).

Altın nanoparçacıkları ve tiyol grupları arasındaki afinite sebebiyle (Au-S), elektrot yüzeyinde polimerleşen aminoasitin altın nanoparçacıkları üzerinde adsorpsiyon etkisi diğer aminoasitlerden daha fazla hale gelmektedir (Mocanu vd. 2019, Aryal vd. 2006). Bu afinite sayesinde ara yüzey kuvvetleri arasında Au-S etkileşimi en kuvvetli olandır dolayısıyla, bir aminoasit tarafından sunulan tiyollerin sayısı ne kadar fazlaysa, adsorpsiyon afinitesinin de o kadar yüksek olduğu ve altın nanopartiküllerinin yüzeyindeki dağılımının da o kadar büyük olduğu sonucuna varılabilir (Awotunde 2020).

Modifiye elektrotların yüzey morfolojileri SEM, EDX, EIS ve DV yöntemleri ile incelenerek elektrot yüzeyi, elektron transfer direnci hakkında daha iyi bilgi edinmek için sıklıkla başvurulacak yöntemlerdir.

Bu tez çalışmasında altın nano parçacıkları ve L-Sistin yapısında yer alan fonksiyonlu gruplar arasındaki etkileşimden yararlanılarak yeni bir modifikasyon geliştirilmiştir. Ayrıca bu tez çalışmasında elektrot yüzeyi SEM, EDX, DV ve EIS ile incelenmiştir.



Şekil 2.7 L-Sistinin kimyasal yapısı

2.6.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM malzeme yüzeyinin üç boyutlu görüntülerinin çekilmesinde, yüzey morfolojisini aydınlatmada sıklıkla başvurulmuş bir yöntemdir. Organik ve inorganik malzemelerin nanometreden mikrometreye (μm) kadar analiz edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Temel prensibi hızlandırılmış elektron demetinin malzeme üzerine odaklanması ve bu elektron demetinin malzeme yüzeyine yansıtılması ile görüntü elde eden bir elektron mikroskobudur. Gri tonlarda ayrıntılı görüntü şeklinde sonuçlar verir. Filament lambalarda ya da termal kaynaklarla elektronlar üretilir ve elektromıknatıslarla yönlendirilen elektronlar malzeme üzerine gönderilir dedektör aracılığıyla görüntü yakalanır ve ekrana yansıtılır (Azad ve Abdullah 2018).

Üç boyutlu görüntü elde etme ve malzeme görüntüsünün kesitlerinin kalınlığının tespitini yapabilme gibi avantajları sebebiyle çalışma elektrotlarının yüzey morfolojisinin incelenmesinde sıklıkla başvurulmuş bir yöntemdir.

2.6.3 Enerji dağılımlı X-Işını spektroskopisi (EDX)

EDX, element bileşiminin tahmini ve X-ışını haritalaması için kullanılan bir yöntemdir. Malzeme yüksek enerjili elektronlarla (X-ışını veya g-ışını) bombardıman edilir ve yüksek enerji dolan bu atomları son kabukta elektronu iç kabuğundan dışarı atar. İç kabukta bir elektron boşluğu oluşur ve ardından elektronun yüksek enerji seviyesi daha düşük bir enerji seviyesine aktarılır. Bu olay esnasında atom enerjisini, X-ışınları

şeklinde sağlar. Bu karakteristik X-ışınları EDX tarafından tespit edilir. Elementin karakteristik X-ışını enerjisini ve her bir X-ışınlarının yoğunluğunu ölçerek bir numunenin bileşimini tahmin edebiliriz (Mishra vd. 2017).

2.7 Kaynak Özetleri

Bu bölümde AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizi ile ilgili literatürde bulunan son 10 yıldaki kaynak araştırmaları incelenmiştir. AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı elektrokimyasal analizinin literatürde tek örneği bulunmaktadır. Ayrıca AS, PRO ve KAF'in farklı maddelerle ya da tek başlarına yapılan elektrokimyasal tayinleri ile ilgili bazı çalışmalar özetlenmiştir.

2014 yılında Habibi B. Ve arkadaşları AS ve KAF'in eş zamanlı analizi için tek duvarlı karbon nanotüpler (TDKN) kullanarak karbon seramik elektrot (KSE) modifiye etmişlerdir. Çıplak KS elektrodun yüzey alanı $0,119 \text{ cm}^2$ iken geliştirilen modifiye elektrodun yüzey alanı $0,330 \text{ cm}^2$ olarak hesaplanmıştır. DPV yöntemi ve $0,01 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ pH 1,7 destek elektrolit olarak kullanılmıştır. KAF'in yükseltgenme pik potansiyeli $1,38 \text{ V}$ iken AS'in yükseltgenme pik potansiyeli ise $0,71 \text{ V}$ 'ta görülmüştür. AS ve KAF için çalışma aralığı sırasıyla; $0,08\text{-}200,2 \text{ }\mu\text{M}$ ve $0,41\text{-}3000,0 \text{ }\mu\text{M}$ olarak seçilmiştir. LOD değerleri ise AS için $0,05 \text{ }\mu\text{M}$, KAF için $0,29 \text{ }\mu\text{M}$ olarak tespit edilmiştir. Şurup ve tablet formlarında geri kazanım çalışması yapılmıştır. AS için hesaplanan geri kazanım değerleri $\%97,23 - \%104,6$ arasında değişirken KAF için hesaplanan geri kazanım değerleri $\%97,3 - \%102,5$ arasında değişmektedir.

2015 yılında Khoshhesab Z. M. Ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada AS, KAF ve askorbik asidin (AA) eş zamanlı analizi için CuO nanopartikülleri/grafen nano tabakalarına dayanan yeni bir nanokompozit hazırlayarak karbon pasta elektrot (KPE) modifikasyonunda kullanılmışlardır. KPE elektrodun yüzey alanı $0,091 \text{ cm}^2$, CuO-Gr/KP elektrodun yüzey alanı ise $0,22 \text{ cm}^2$ olarak hesaplanmıştır. pH:3,5 Britton Robinson tamponunda (BRT) DPV yöntemi kullanarak çalışmışlardır. Bu çalışmada AS, KAF ve AA için LOD değerleri sırasıyla; $0,008 \text{ }\mu\text{M}$, $0,010 \text{ }\mu\text{M}$ ve $0,011 \text{ }\mu\text{M}$ olarak

tespit edilmiştir çalışma aralıkları ise AS, KAF ve AA için 0,025 – 5,30 μM olarak belirlenmiştir. Geri kazanım çalışmaları serum ve idrar örneklerinde gerçekleştirilmiştir. İdrarda yapılan çalışmada elde edilen değerler AS, AA ve KAF için; %103,5 %103 ve %98 serum için; %101, %98 ve %96,5 olarak tespit edilmiştir. Tablet formlarda yapılan çalışmalarda ise HPLC ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Sadok I. Ve arkadaşları 2016 yılında bizmut parçacıkları ve nafyon kaplı bor katkılı elmas elektrotta AS ve KAF'in eşzamanlı ve ayrı ayrı tespitine yönelik hassas ve seçici bir çalışma yapmışlardır. Çalışma elektrodunun modifiye aşamalarında, hacimce %3'lük nafyon çözeltisi elektrot yüzeyine 0,50 μL damlatılarak oda sıcaklığında kurutulmuştur. Bizmut nanoparçacıkları ise 0,10 mol/L H_2SO_4 destek elektrolit çözeltisi içinde 5 μM hazırlanarak eletrobiriktirme yöntemiyle 0,25–1,80V aralığında DPV yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada 0,1 mol/L H_2SO_4 destek elektrolit ortamında AS'in yükseltgenme pik potansiyeli 0,78 V KAF'in yükseltgenme pik potansiyeli ise 1,44 V'ta görülmüştür. AS ve KAF'in tek başlarına elde edilen LOD değerleri sırasıyla 0,0262 μM ve 0,00114 μM iken AS ve KAF'in eş zamanlı olarak tayininde elde edilen LOD değerleri 0,036 μM ve 0,0028 μM olarak tespit edilmiştir. Doğrusal çalışma aralığı AS için 0,2 -500 μM KAF için 0,01-20 μM olarak belirlenmiştir. AS ve KAF eş zamanlı olarak ilaç formüllerinde geri kazanım çalışması yapmışlardır. KAF için enerji içeceği, kahve, çay ve kola ürünlerinde geri kazanım çalışması yapılmıştır.

Silva W.P. Ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada, AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizi için iki farklı metodun performansı PRO, AS ve KAF için incelenmiştir. Biri geleneksel elektrokimyasal hücrenin kullanımına dayanırken diğer metot kesikli enjeksiyon analiz (BIA) hücresinin kullanımına dayanmaktadır. Her iki metot için KDV yöntemi seçilmiştir. 0,10 M H_2SO_4 destek elektrolit olarak kullanılmıştır ve çalışma elektrodu olarak bor katkılı elmas elektrot kullanılmıştır. AS +0,80 V, PRO +1,30 V ve KAF +1,55 V civarında yükseltgenme pikin potansiyeline sahiptir. Standart KDV yönteminde AS, PRO için doğrusal çalışma aralığı; 1-50 μM KAF için 1-40 μM iken BIA metodunda AS, PRO ve KAF için doğrusal çalışma aralığı; 2-50 μM olarak belirlenmiştir. AS, PRO ve KAF için LOD değerleri BIA metodu için sırayla; 1,98 μM ,

0,87 μM ve 1,54 μM , geleneksel elektrokimyasal metot için sırayla; 0,06 μM , 0,022 μM ve 0,031 μM olarak tespit edilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin performansları farmasötik örneklerde denenmiş ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile karşılaştırılmıştır

Bu çalışmada Kalaiyarasi ve arkadaşları 2017 yılında AS ve KAF'in eş zamanlı analizi için nafyon korumalı hallosit nanotüp ile modifiye edilmiş CKE kullanmışlardır. AS ve KAF için yükseltgenme pik potansiyeli sırasıyla 0,21 V ve 1,00 V olarak tespit edilmiştir. Asetat tamponu pH 4,5 destek elektrolit olarak kullanılmıştır ayrıca voltametrik yöntem olarak DPV yöntemi seçilmiştir. Modifiye elektrot 5 μL homojen hale getirilmiş hallosit kil pre-CKE üzerine damlatılarak oda sıcaklığında 10 dakika kurutulmuş ardından %1'lik 3 μL nafyon çözeltisi damlatılarak 30 dakika boyunca oda sıcaklığında kurutulmasıyla hazırlanmıştır. Doğrusal çalışma aralığı AS için 0,60 – 14,00 μM KAF için 0,60 – 20,00 μM ve LOD değerleri 0,011 μM ve 0,173 μM olarak tespit edilmiştir. Tablet formlarında geri kazanım çalışması yapılmıştır AS için %95,2 - %104,2 KAF için %98 - %101,2 olarak tespit edilmiştir.

Feyisa T. Y. Ve arkadaşları 2019 yılında KDV yöntemi kullanarak AS ve KAF'in eş zamanlı tayini için aktive edilmiş camı karbon elektrot (aCKE) kullanmışlardır. Çalışma elektrodunun hazırlanma aşamalarında elektrodun yüzeyi alümina ile parlatılmıştır daha sonra fosfat tamponu içerisinde 200 saniye boyunca 1750 mV potansiyel uygulanarak elektrot yüzeyi aktifleştirilmiştir. 0,10 M pH:7 fosfat tamponu destek elektrolit olarak kullanılmıştır. AS için 10-180 μM çalışma aralığı kullanılırken KAF için 10-95 μM aralığında çalışılmıştır. LOD değerleri AS için 2,55 μM iken KAF için 2,36 μM olarak tespit edilmiştir. Tablet formunda geri kazanım çalışması yapılarak AS için %96,6 KAF için %94,54 sonuç elde edilmiştir.

2023 yılında Wang J. Ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada AS ve KAF'in eş zamanlı analizi için kobalt bazlı zeolitik imidazolat (ZIF-67) kompozitlerine katkı yapan gümüş (Ag) nanopartikülleriyle (Ag-ZIF-67) bir Ag-ZIF-67 nano tabaka malzemesi elde ettiler. Elde edilen bu kompozit ile CKE yüzeyini modifiye ettiler. CK elektrodun yüzey alanı 0,020 cm^2 , ZIF-67/CK elektrodun yüzey alanı 0,065 cm^2 ve Ag-ZIF-67/CK elektrodun

yüzey alanı $0,088 \text{ cm}^2$ olarak hesaplanmıştır. DPV yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışmada AS ve KAF için doğrusal çalışma aralığı sırasıyla; $0,10 - 70 \text{ } \mu\text{M}$, $0,5 - 300 \text{ } \mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada hesaplanan LOD değerleri AS ve KAF için; $0,04 \text{ } \mu\text{M}$ ve $0,06 \text{ } \mu\text{M}$ olarak tespit edilmiştir. Destek elektrolit olarak pH:3,5 Britton-Rabinson tamponu kullanılmıştır. Standart ekleme metoduyla gerçek ilaç numunelerinde geri kazanım çalışması yapılmıştır ve hesaplanan sonuçlar %97,7 - %104,6 arasında olduğu tespit edilmiştir.

Stoytchevaa M. Ve arkadaşları 2023 yılında AS ve KAF'in eş zamanlı analizini çıplak grafit elektrot kullanarak (GE) gerçekleştirmişlerdir. Diferansiyel darbe adsorptif sıyırma voltametrisi (adsDPV) yöntemi kullanmışlardır. AS'in yükseltgenme pik potansiyeli $0,51 \text{ V}$ iken KAF'in yükseltgenme pik potansiyelinin $1,36 \text{ V}$ olduğu tespit edilmiştir. Sıyırma parametreleri 700 rpm hız ve 3 dakika olarak tespit edilmiştir. $0,1 \text{ M}$ pH:5,0 asetat tampon çözeltisi destek elektrolit olarak kullanılmıştır. AS ve KAF için doğrusal çalışma aralığı sırasıyla $5,00 - 150,00 \text{ } \mu\text{M}$, $5,00 - 60,00 \text{ } \mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir. LOD değerleri ise AS ve KAF için $0,20 \text{ } \mu\text{M}$ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada AS ve KAF'in tarama hızlarının ve pik akımlarının doğrusal olarak arttığı yani adsorpsiyon kontrollü olduğu tespit edilmiştir. İlaç numunelerinde %GK çalışmaları yapılmış ve %98,90 – %101,85 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Literatürler incelendiğinde yapılan çalışmalarda ilaç etken maddelerinin eş zamanlı analizlerinde daha çok karbon bazlı elektrotlar kullanılmaktadır. Bunun en büyük nedeni karbon elektrotların düşük maliyetli, güvenilir, hassas ve çevreci olmasıdır. Ayrıca elektrotların modifikasyonu için nanometaller kullanılmıştır. Nanometaller elektrot iletkenliğini artırma ve düşük Rct değerleri sunması açısından ön plana çıkmaktadırlar. Ancak aminoasitler ve içerdikleri fonksiyonlu grupların bağlanma afinitesini kullanarak elektrot modifikasyonu yapan çok az çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında tiyol grupları (S-S) içeren bir aminoasitten yola çıkılarak elektropolimerizasyon ile elektrot yüzeyinde polimer tabakası oluşturulmuştur. Oluşturulan bu polimer tabakası sayesinde AuNP'nin elektrot yüzeyinde daha büyük boyutlarda küresel biçimde dağılması sağlanmıştır. Bu sayede daha düşük Rct değeri yüksek iletkenlik ve hassas ölçüm seçeneği sunan yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma süresince kullanılan elektrokimyasal sistemler, elektrotlar, kullanılan kimyasalların ve analizi yapılan maddelerin nasıl hazırlandığı ve kullanıldıkları ile ilgili bilgilere bu bölümde yer ayrılmıştır.

3.1 Kullanılan Cihazlar, Elektrotlar ve Malzemeler

Bu tez çalışmasında tüm elektrokimyasal çalışmalar ve empedans ölçümleri PalmSens4 Potansiyostat/galvonastat analiz cihazında gerçekleştirilmiştir. Üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. 2B Faber Castel marka 0,7 mm kalem grafit elektrot çalışma elektrodu olarak (KGE) kullanılmıştır. BAS MF-2052 marka Ag/AgCl (3 M KCl) referans elektrot olarak kullanılmıştır. Son olarak BASİ MW-1032 marka Pt tel karşıt elektrot olarak kullanılmıştır. Kullanılan KDV yöntemine ait parametreler step height 0,005 V, amplitude 0,025 V ve frekans 25,00 Hz olarak belirlenmiştir.

Tüm çalışma boyunca hazırlanan çözeltilerde kullanılan deiyonize su mpMINIpure saf su sistemi ile elde edilmiştir. Ayrıca homojenliği sağlamak ve çözeltilerin çözülmesini sağlamak amacı ile ULTRASONIC LC 30 H marka ultrasonik banyo ve Instruments WN-2800 vorteks karıştırıcı kullanılmıştır.

HANNA HI2211 model pH/ORP metre ile tampon çözeltilerin pH değerleri tespit edilmiştir.

3.2 Çözeltilerin Hazırlanması

3.2.1 Standart AS, PRO ve KAF'in stok çözeltilerinin hazırlanması

KAF için 10^{-2} M stok çözeltisi saf su ile hazırlanmıştır, AS ve PRO 10^{-2} M stok çözeltileri ise yarı yarıya su-etil alkol karışımı ile hazırlanmıştır. Elektrot

modifikasyonu için kullanılan L-Sistin saf suya 1 damla derişik HCl damlatılarak hazırlanmıştır (Ralph ve Hitchman 1994), AuNP'leri ise 0,01 mM H₂SO₄ içinde 0,05 mM H_{Au}Cl₄'ün çözülmesi ile elde edilmiştir. Stok çözeltilerin hepsi ölçülü balon içerisinde hazırlanarak ultrasonik banyoda bekletilerek çözümleri sağlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiler +4 °C'ye ayarlı buzdolabında saklanmıştır. Deneyisel çalışmaların gerçekleştirildiği esnada stok çözeltiler uygun çözücülerde seyreltiler kullanılmıştır.

10⁻² M AS stok çözeltisi; Standart AS'den 7,558 mg alınarak 5,0 ml'ye tamamlanmıştır.

10⁻² M PRO stok çözeltisi; Standart PRO'dan 11,51 mg alınarak 5,0 ml'ye tamamlanmıştır.

10⁻² M KAF stok çözeltisi; Standart KAF'den 9,70 mg tartılarak 5,0 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.2 0,01 M H₂SO₄ çözeltisinin hazırlanması

Destek elektrolit olarak kullanılan 0,01 M H₂SO₄ çözeltisi; %95-97'lik H₂SO₄ çözeltisinden seyreltilerek 1 L'lik ölçülü balon içerisinde hazırlanmıştır. Destek elektrolitin pH'sı 0,10 M HCl ve 0,10 M NaOH ile ayarlanmıştır ve bu tampon çözeltinin pH'sı 1 ile 2,5 aralığında olacak şekilde değiştirilmiştir.

0,10 M NaOH çözeltisi molekül ağırlığı 40,0 g/mol olan katı NaOH'ten 2,0 gr tartılarak ölçülü balon jodede hacmi 50,0 ml'ye tamamlanmıştır.

0,10 M HCl çözeltisi, yoğunluğu 1,20 g/ml ve kütlece yüzdesi %37 olan hidroklorik asitten 411 µl alınarak ölçülü balonda hacmi 50 ml'ye tamamlanmıştır.

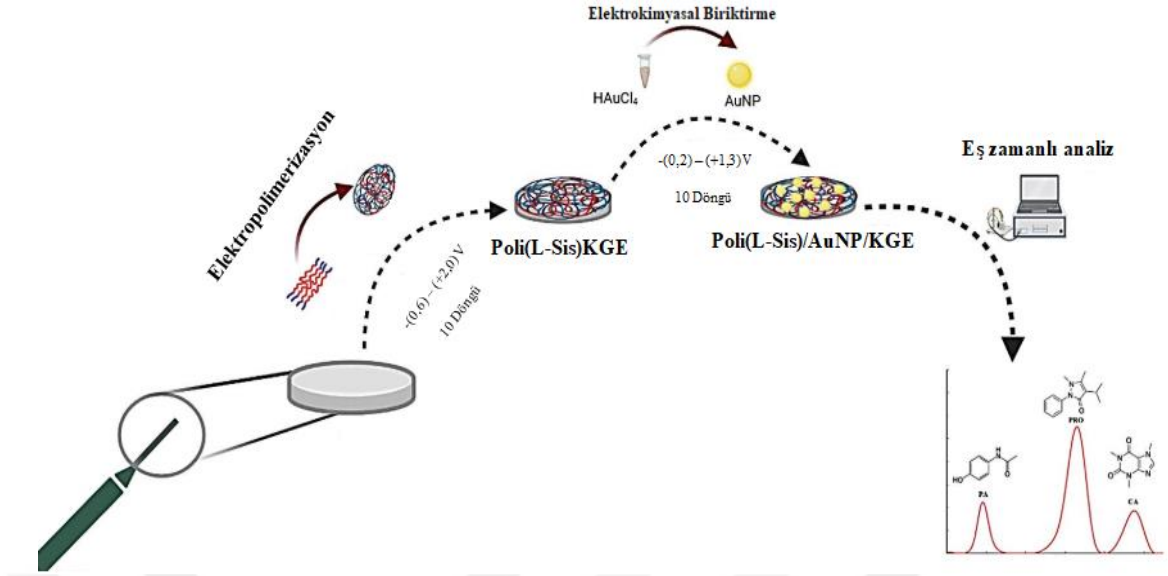
3.2.3 Girişim etkisi bulunan türlerin hazırlanması

Glikoz (GLİ), askorbik asit (AA), dopamin (DOP), ürik asit (ÜA), Na₃PO₄, Glisin (GLİS), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve potasyum klorür (KCl) bu tezde girişim çalışmasında kullanılmıştır. Girişim yapabilecek bu türler 1,0x10⁻² M olacak şekilde hesaplanarak hazırlanmıştır.

3.3 Modifiye Elektrodun Hazırlanması

Bu tez çalışmasında KGE kullanılmıştır. Elektrot modifikasyonu DV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çıplak elektrot önce 0,10 mM L-Sistin çözeltisine daldırılmıştır, ardından elektrottan DV yöntemi kullanılarak (-0,60 V) – (+2,0 V) arasında potansiyel uygulanarak 10 döngü alınmıştır. L-sistin elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon ile polimerleşmesi sağlanmıştır. İşlem tamamlandıktan sonra elektrot saf sudan geçirilmiştir.

Tiyol grupları içeren polimerleşmiş L-sistin kaplı elektrot, 0,05 mM altın çözeltisine daldırılarak DV yöntemi kullanılarak (-0,20 V) – (+1,30 V) potansiyel aralığında 10 döngü alınarak, elektrokimyasal biriktirme yöntemi ile AuNp'lerinin elektrot yüzeyinde homojen hale getirilmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra elektrot tekrar saf sudan geçirilmiştir. Elektrotun yüzey morfolojisi SEM ve EDX kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca modifiye elektrotlar ve çıplak elektrot karşılaştırmaları AS, PRO ve KAF varlığında KDV ile incelenmiştir. Modifiye elektrodun elektrokimyasal davranışı 5,00 mM [FeCN₆]^{-3/-4} 0,10 M KCl redoks probu hazırlanarak ile DV ve EIS yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.



Şekil 3.1 Çıplak KGE'nin modifikasyon ile kaplama prosesi

3.4 Gerçek Numunelerin Hazırlanması

Gerçek numunelerin hazırlanmasında piyasada ticari olarak satılmakta olan Parol Plus (Atabay Kimya) ve sentetik serum (Sigma Aldrich) kullanılmıştır. Parol Plus 250 mg AS, 150 mg PRO ve 50 mg KAF içermektedir. Bu tez çalışmasında kullanmak için 5 tablet havanda ezilerek homojen hale getirilmiştir. $1,60 \times 10^{-2}$ M AS $6,00 \times 10^{-3}$ M PRO ve $2,00 \times 10^{-3}$ M KAF'e karşılık gelen toz haline getirilmiş tabletlerin yeterli miktarları, 100 mL'lik balon jojeye aktarılarak deiyonize su ve metanol ile 1:1 oranda seyreltilmiştir. Karışım 15 dakika süreyle ultrasonik banyoda tutulmuştur. Yardımcı maddeler çöktükten sonra bilinen hacimlerdeki berrak kısım 10 mL'lik balon jojelere aktarıldı ve 0,01 mM H_2SO_4 destek elektroliti ile seyreltilmiştir.

Sentetik serum $-20^\circ C$ 'de saklanmıştır ve herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan kullanılmıştır. Numunelerin hazırlanması için, bilinen derişimdeki analitler, 0,01 mM H_2SO_4 çözeltisi içeren bir insan serum numunesine eklenmiştir. Bu stok solüsyonu kalibrasyon ve geri kazanım çalışmaları için kullanılmıştır.

3.5 Voltametrik Ölçümlerin Yapılışı

Ölçümler PalmSens4 galvanostat/potansiyostat/empedans analiz cihazı kullanılarak alınmıştır. Destek elektrolit içerisine AS, PRO ve KAF çözeltileri eklenmiştir ve hacim 10 ml olarak sabit tutulmuştur. Deney öncesi 30 saniye boyunca yüksek saflıktaki azot gazı çözelti içerisinde geçirilmiştir. Destek elektrolit içerisinde bulunan AS, PRO ve KAF'ın ölçümleri alınarak uygun bir potansiyel aralığı belirlenmiştir. Ölçümler bu potansiyel aralığına uygun olarak alınmıştır.

3.5.1 pH etkisi

Bu tez çalışmasında kullanılan destek elektrolitin pH değerinin AS, PRO ve KAF üzerindeki etkileri incelenmiştir. H_2SO_4 , BR ve fosfat tamponlarının pH değeri değiştirilerek AS, PRO ve KAF için en uygun değer ve destek elektrolit seçilmiştir. Destek elektrolitlerin pH'ı NaOH ve HCl kullanılarak ayarlanmış ve ölçümler alınmıştır. AS, PRO ve KAF'nin en yüksek pik akımına ve en iyi pik şekline sahip olduğu pH değeri belirlenmiştir ve sonrasında alının ölçümler bu pH değerine ayarlanarak alınmıştır.

3.5.2 Kalibrasyon çalışması

Kalibrasyon çalışması optimizasyon çalışması yapıldıktan sonra en uygun koşullar altına KDV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Önce her bir etken madde için, diğer etken maddeler sabit derişimde tutularak her bir etken madde için ayrı ayrı kalibrasyon grafiğı çizilmiştir. Daha sonra üç etken maddenin derişimi eş zamanlı olarak arttırılarak kalibrasyon grafiğı elde edilmiştir.

Elde edilen akım değerleri derişime karşı grafiğı geçirilmiş ve kalibrasyon grafiğı elde edilmiştir.

3.5.3 Girişim etkisi

AS, PRO ve KAF'e girişim etkisi olabilecek türler tespit edilerek girişim etkisi incelenmiştir. Girişim etkisi yapabilecek türler AS, PRO ve KAF ile 1:1 derişimde hazırlanmıştır. Ölçümler önce girişim etkisi olan tür eklenmeden sadece tayini yapılacak türler varlığında alınmıştır daha sonra girişim etkisi yapabilecek tür eklenmiştir ve aradaki % Akım farkı (Δip) değerleri her tür için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

3.5.4 Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Tez çalışmasında AS, PRO ve KAF için geliştirilen modifiye elektrotların tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik çalışmaları yapılmıştır. Tekrar üretilebilirlik çalışması için aynı deneysel şartlar altında 5 elektrot hazırlanmıştır ve bu elektrotlar belirli derişimde bulunan AS, PRO ve KAF çözeltisi içine daldırarak her biri için KDV yöntemi ile 5 farklı ölçüm alınmış ve bu ölçüm sonuçları kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlarla %BSS hesaplanmıştır.

Modifiye elektrodun tekrarlanabilirliğinin tespiti için bir elektrot hazırlanmıştır ve belirli derişimde AS, PRO ve KAF içeren çözelti içerisine daldırılarak gün içi günler arası ölçümler alınmıştır ve %BSS değeri hesaplanmıştır.

3.5.5 Empedans ölçümleri

AuNp/KGE, L-Sis/KGE, poli(L-Sis)/AuNp/KGE ve çıplak KGE 5,0 mM $[FeCN_6]^{-3/-4}$ 0,10 M KCl redoks probu içeren çözeltiye daldırılmıştır ve frekans 0,01 – 10^5 aralığında değiştirilerek çalışılmıştır. Sonuçlar kaydedilerek çıplak elektrot ve modifiye elektrot arasındaki fark incelenmiştir.

3.6 SEM Ölçümlerinin Yapılışı

AuNp/KGE, poli(L-Sis)/KGE, poli(L-Sis)/AuNp/KGE ve çıplak KGE hazırlanarak SEM görüntüleri Düzce Üniversitesinde Energy Dispersive Quanta FEG 250 modeli (FEI, Hollanda) marka cihaz kullanılarak alınmıştır. Her bir elektrodun bir kısım parçası alınarak yüzey görüntüleri çekilmiştir. Her bir elektrodun görüntüsü 1 μM 'lık kesitler 20 KeV hızlanma voltajı uygulanarak kaydedilmiştir. Elde edilen yüzey görüntüleri incelenerek modifiye ve çıplak KG elektrodun yüzey morfolojisi hakkında bilgi edinilmiştir.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Modifiye KGE'ların Hazırlanması

Modifiye KGE'lar DV yöntemi kullanılarak önce elektropolimerizasyon ile daha sonra elektrobiriktirme yöntemiyle hazırlanmıştır. Çıplak elektrotlar önce belirli bir miktar L-Sistin monomerleri içeren pH:7 fosfat tamponu çözeltisine daldırılarak DV yöntemi kullanılarak (-0,6 V) – (+2,0 V) potansiyel aralığında 10 döngü alınmıştır. L-Sistin, elektro polimerizasyon yöntemiyle elektrot yüzeyinde polimerleşmesi sağlanmıştır. Hazırlanan elektrot bir miktardan saf sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurutulmuştur.

L-Sistin ile kaplı elektrot belirli bir derişimde HAuCl_4 içeren pH:2,0 H_2SO_4 destek elektrolitinin içine daldırılmıştır. Elektrobiriktirme yöntemi ile elektrottan 10 döngü boyunca (-0,2V) – (+1,3V) aralığında potansiyel geçirilerek poli-L-Sistin kaplı elektrot yüzeyi altın nanoparçacıklarıyla kaplanmıştır. Son olarak elektrot bir miktar saf sudan geçirilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

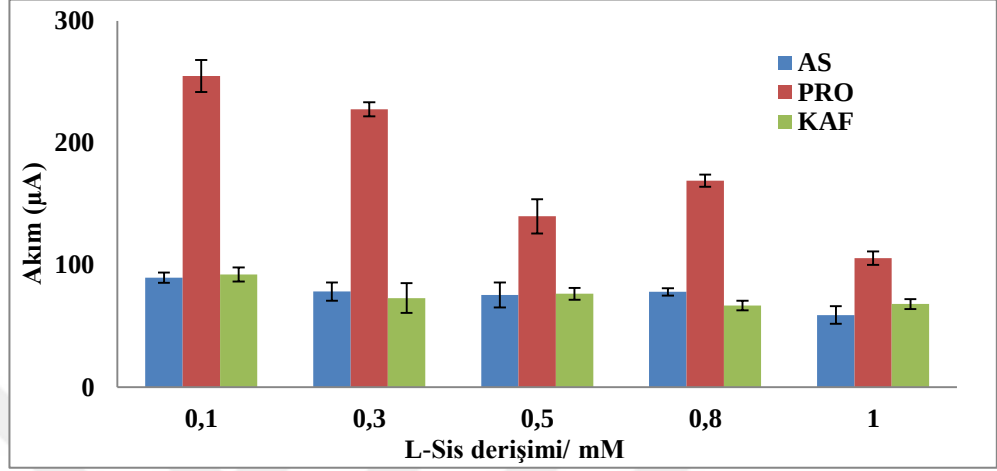
4.2 Modifiye Elektrot Bileşimin Optimizasyonu

AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı tayini için kullanılacak olan modifiye KG elektrotta üç maddenin yükseltgenme piklerini etkileyen AuNP derişimi, L-Sistin derişimi, tarama hızı ve döngü sayısı değiştirilerek optimum koşullara ulaşılmıştır.

4.2.1 Optimum L-Sistin derişiminin belirlenmesi

En uygun L-Sistin miktarını belirlemek amacıyla L-Sistin'in derişimi 0,10 mM – 1,0 mM aralığında değiştirilerek ölçümler alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre uygun derişim belirlenerek sonraki çalışmalar bu derişime göre yapılmıştır.

Öncelikle 100,0 μM AS, 10,0 μM PRO ve 500,0 μM KAF içeren çözelti içerisine, 0,10 mM – 1,0 mM aralığında değişen derişimlerde poli(L-Sis) kaplı elektrotlar daldırılarak KDV yöntemi ile ölçümler alınmıştır. (Şekil 4.1)

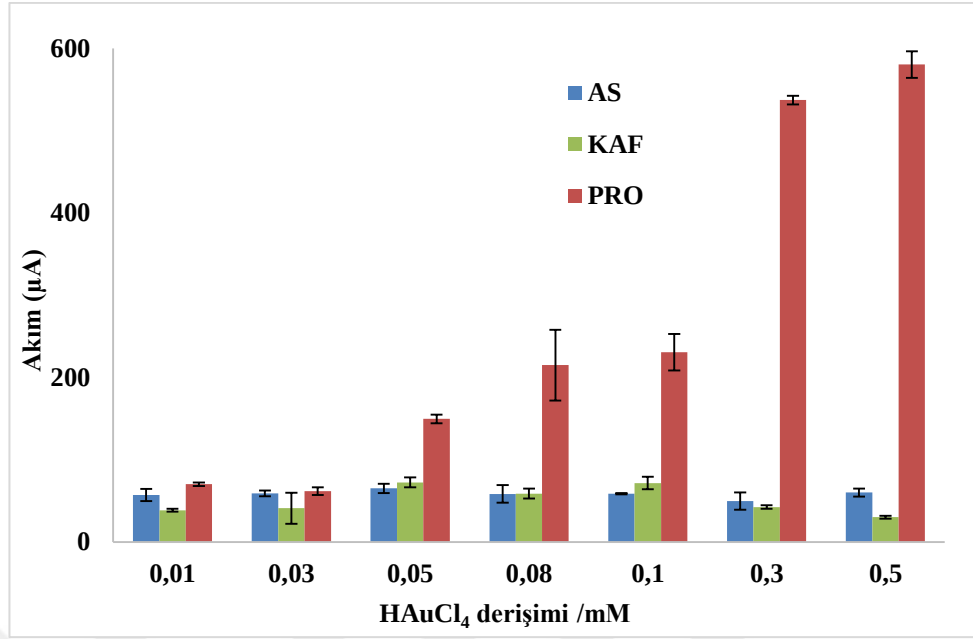


Şekil 4.1 AS, PRO ve KAF'e ait farklı L-Sistin derişimlerinde kaplanan KG elektrotların KDV sinyalleri (pH:2 0,01 M H_2SO_4 , 10^{-4} M AS, 10^{-5} M PRO, 5×10^{-4} M KAF).

Şekil 4.1'de görüldüğü üzere, AS, PRO ve KAF'in yükseltgenme pik akımları L-sistin monomerinin derişimi 0,1 mM'dan daha yüksek derişimlerde özellikle PRO'a ait pik akımının azaldığı görülmektedir. KAF ve AS'a ait pik akımları ise, monomer derişimi arttırılarak elde edilen elektrotlardan nispeten daha az etkilenmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, bileşiklerin yükseltgenme piklerinin en simetrik ve en düzgün olduğu monomer (L-Sistin) derişimi 0,10 mM olarak tespit edilmiştir.

4.2.2 Optimum HAuCl_4 derişiminin belirlenmesi

L-Sistin'in optimum derişimi belirlendikten sonra, HAuCl_4 derişimi 0,01 mM – 0,50 mM aralığında değiştirilerek KD voltammogramları kaydedilmiştir Şekil 4.2'de görüldüğü üzere HAuCl_4 derişimi arttıkça PRO'nun yükseltgenme pik akımı dikkat çeken bir şekilde artarken diğer iki bileşiğin pik akımları azalmaktadır. Her üç bileşik en uygun HAuCl_4 derişimi 0,05 mM olarak belirlenmiştir.

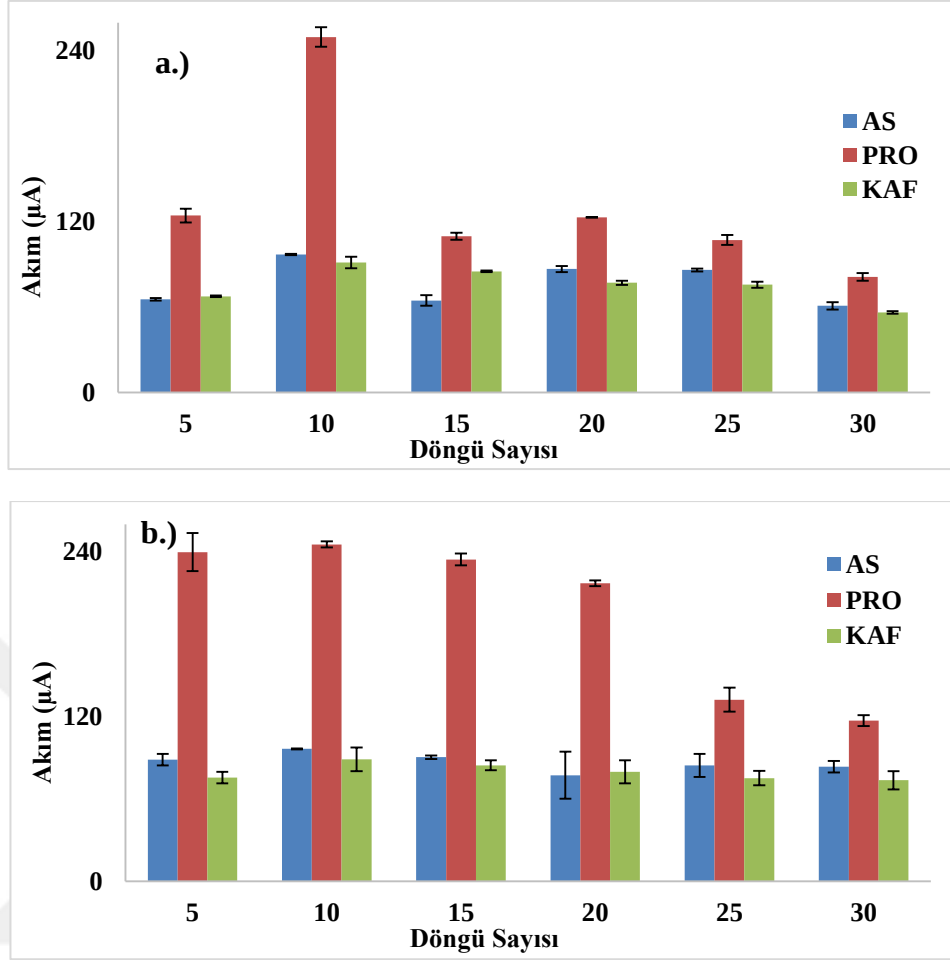


Şekil 4.2 AS, PRO ve KAF'e ait farklı HAuCl₄ derişimlerinde kaplanan KG elektrotların KDV sinyalleri (pH:2 0,01 M H₂SO₄, 10⁻⁴ M AS, 10⁻⁵ PRO, 5x10⁻⁴ M KAF).

4.2.3 Döngü sayısının belirlenmesi

Bu tez çalışmasında çıplak elektrodun modifikasyonunda kullanılan DV yöntemi için optimum koşullar belirlenmiştir. DV yönteminin optimizasyonu, döngü sayısının ve tarama hızının değiştirilmesi ile yapılmıştır.

Belirlenen HAuCl₄ ve L-Sis derişiminde DV yönteminde döngü sayısı 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 olarak değiştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre L-Sis ve AuNp'leri için en uygun döngü sayısının 10 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3 a,b).



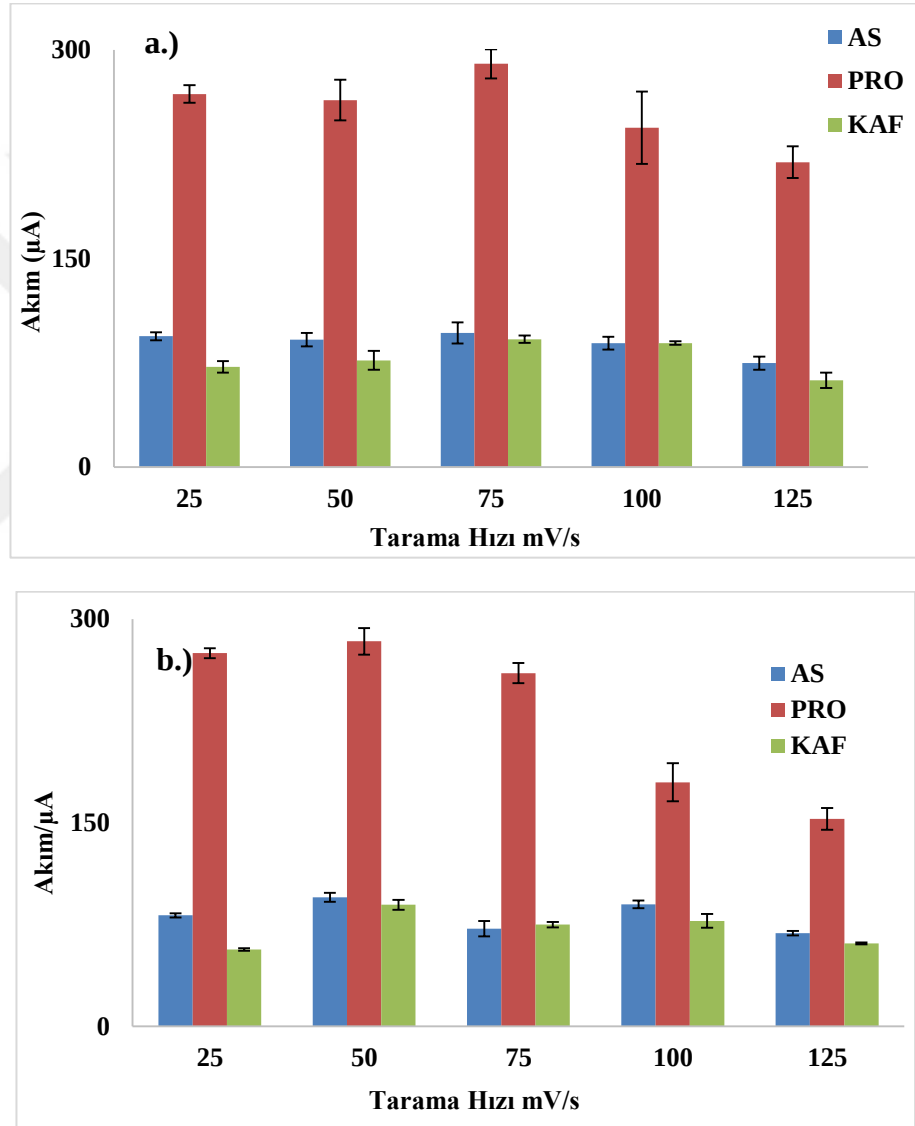
Şekil 4.3 Farklı döngü sayılarında kaplanan elektrotlarda AS, PRO ve KAF'e ait KDV sinyalleri a.) 0,10 mM L-Sis ile b.) 0,05 mM HAuCl₄ (pH:2 0,01 M H₂SO₄, 10⁻⁴ M AS, 10⁻⁵ PRO, 5x10⁻⁴ M KAF).

Şekil 4.3'te AS, PRO ve KAF'in, L-Sistin'in ve AuNp'lerinin elektrot yüzeyinde oluşturulmasında kullanılan DV yönteminde optimum belirlenen derişimde döngü sayısına bağlı olarak akım sinyallerinin değişimi verilmiştir. Pik akımlarının en iyi arttığı döngü sayısının, L-Sis ve AuNp'leri için 10 döngü olduğu belirlenmiştir. 10 döngüye kadar akımlar artmakta 10 döngüden sonra azalmaktadır.

Döngü sayısı değiştikçe AS ve KAF'in pik akımları hemen hemen aynı kalmıştır. Ancak döngü sayısı arttıkça PRO'nun pik akımı azalmaktadır. Bunun nedeni 10'dan fazla döngü, polimer/Au kaplama üzerindeki aktif bölgelerin sayısında bir azalmaya neden olmasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir.

4.2.4 Tarama hızının belirlenmesi

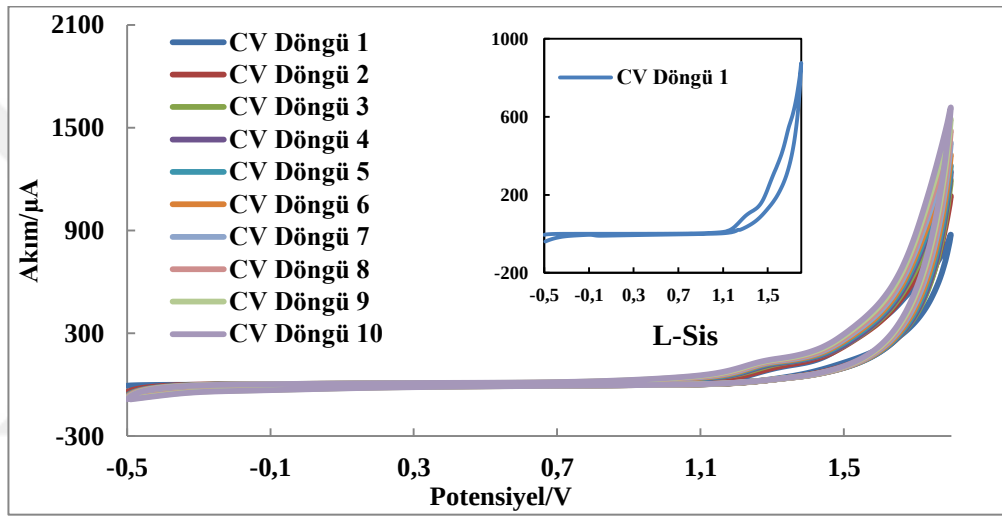
Belirlenen optimum koşullar altında tarama hızı değiştirilerek, AS, PRO ve KAF'in pik akımlarındaki değişim incelenmiştir. Tarama hızı; 25, 50, 75, 100 ve 125 mV/s olarak değiştirilerek elektrotlar kaplanmıştır. Kapanan elektrotlar AS, PRO ve KAF bulunan çözeltiye daldırılarak ölçümler alınmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4 Farklı tarama hızında kaplanan elektrotlarda AS, PRO ve KAF'e ait KDV sinyalleri a.) 0,10 mM L-Sis ile b.) 0,05 mM (pH:2 0,01 M H₂SO₄, 10⁻⁴ M AS, 10⁻⁵ PRO, 5x10⁻⁴ M KAF).

Şekil 4.4'te AS, PRO ve KAF'in, farklı tarama hızında kaplanmış modifiye elektrotlarla alınmış ölçüm sonuçları yer almaktadır. Elde edilen bu sonuçlara göre L-Sis için 75 mV/s, AuNp için 50 mV/s tarama hızı üç etken madde için de sinyalleri en iyi arttıran tarama hızı olarak seçilmiş ve optimum koşullar belirlenmiştir.

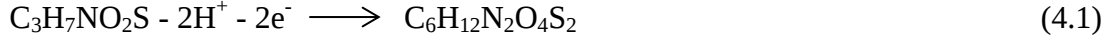
L-Sis ve HAuCl_4 kaplamaları için optimum koşullar belirlenmiştir ve L-Sis ve HAuCl_4 'e ait optimum koşullar altındaki sentezleri ile ilgili reaksiyonlar aşağıdaki gibi özetlenmiştir;



Şekil 4.5 0,10 mM L-Sist monomerinin pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi içinde polimerizasyonunu gösteren DV voltammogramları. İç grafik: ilk döngü (Tarama hızı; 75 mV/s)

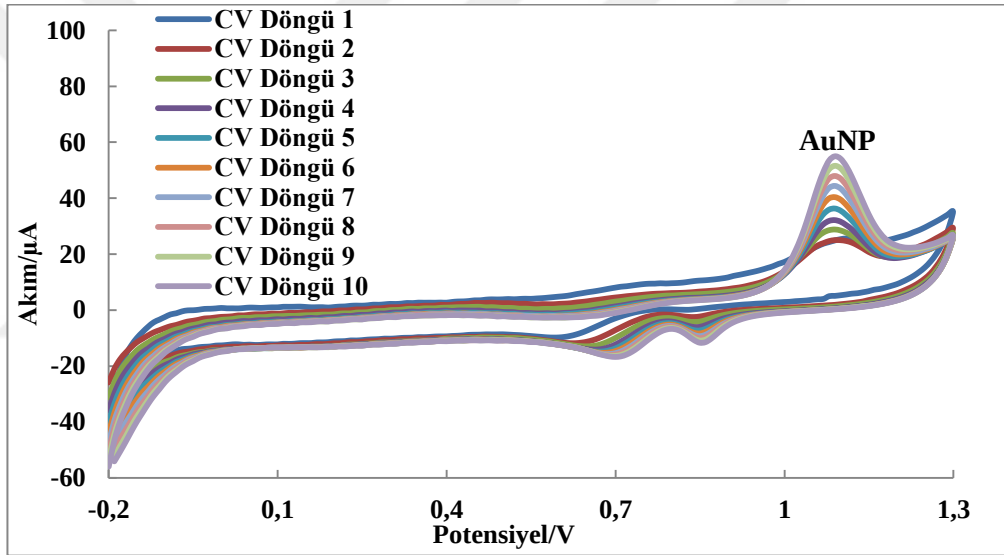
Şekil 4.5'te görüldüğü üzere polimer ile ilgili redoks davranışı 1,30 V potansiyelde gözlenmiştir. Yüksek pik akımı, geçici olarak radikal katyonlarının polimeri oluşturmak üzere birleşmesi olarak yorumlanabilir (Dokur, E., 2020 ve Shaikshavali, P., 2017). Tekrarlanan döngülerde katyon radikalleri birleşerek dimerleri, oligomerleri ve son olarak elektrot yüzeyindeki polimer filmi oluşturmaktadır; döngü sayısındaki artış, akım yoğunluklarında bir artışa neden olmaktadır.

L-Sistin, aminoasit L-Sisteinin yükseltgenmesiyle elde edilen bir aminoasittir ve redoks reaksiyonu aşağıdaki gibi özetlenmiştir; (Ramachandran, A., Jaeschke, H. 2018).



L-Sisten'in, L-Sistin'e yükseltgenme reaksiyonu (4.1) ve L-Sistin'in L-Sisteik aside yükseltgenmesi (4.2) ile ilgili reaksiyonlar yukarıdaki gibidir (Zor vd.2015).

L-Sistein/L-Sistin redoks reaksiyonun pH:7,4'te yüksek tersinirliğe sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebeple bu tez çalışmasında L-Sistin'in elektropolimerizasyonu pH:7 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir (Mimica vd. 2002).



Şekil 4.6 0,05 mM HAuCl₄'ün CV voltamogramları (0,01 M H₂SO₄, pH:2,0 tarama hızı; 50 mV/s).

AuNp'lerinin sentezinde ise Au(III), Au(0)'a indirgenmektedir ilgili reaksiyon aşağıda verilmiştir; (Zakaria vd. 2021)



İlk döngüden sonra alınan DV döngülerinde pozitif kayma görülmektedir bunun nedeni Au'n elektrobiriktirmesinin, ilk taramadan sonra oluşan nanopartikül katmanı üzerinde meydana geldiğini gösterir. (Zakaria vd. 2021)

4.2.5 Modifiye KGE'lerin elektrokimyasal karakterizasyonu

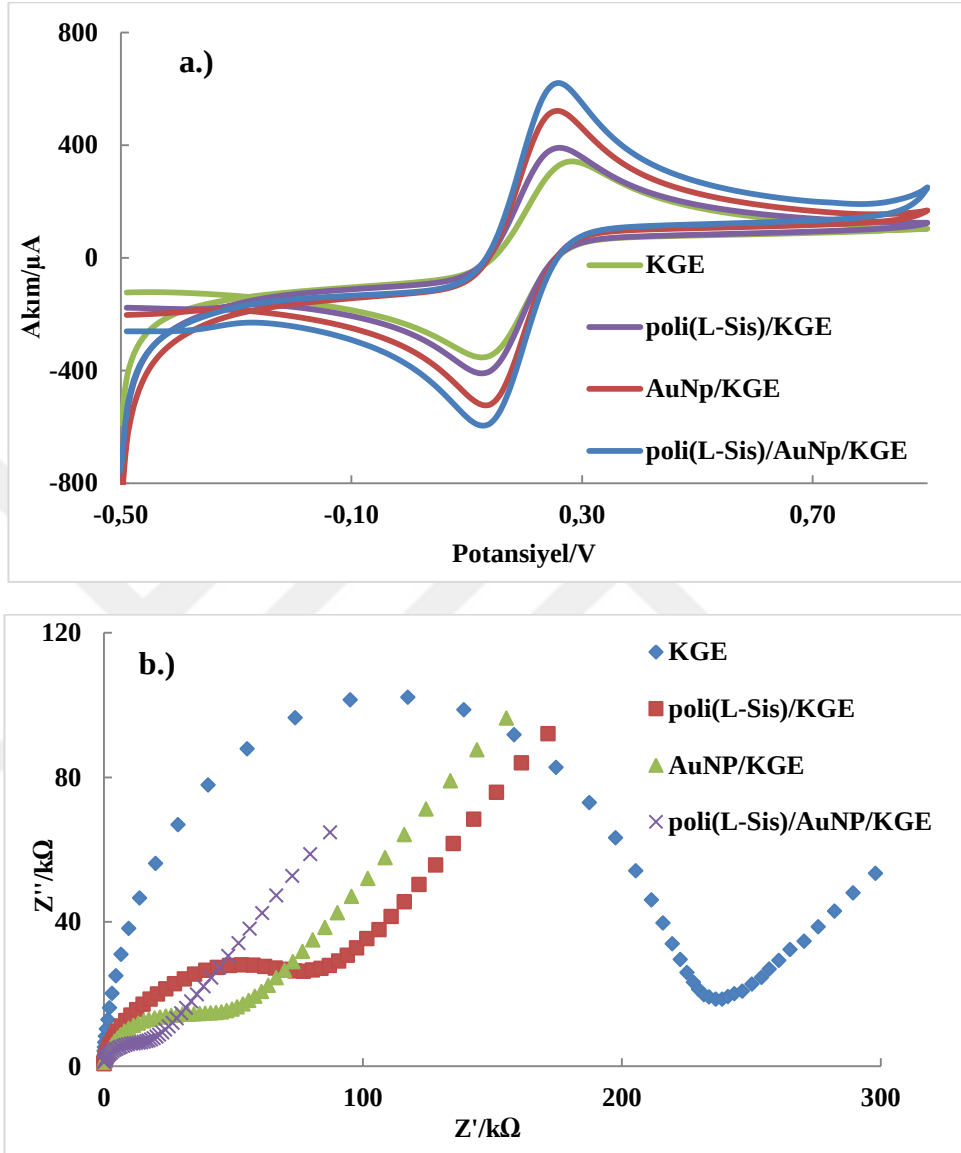
Modifiye elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu DV ve EIS yöntemleri ile 5,0 mM $[\text{FeCN}_6]^{3-/4}$ 0,10 M KCl redoks probu ortamında gerçekleştirilmiştir. Öncelikle dört farklı KG elektrodun (KGE, Au/KGE, poli-(L-Sis)/KGE, poli(L-Sis)/AuNP/KGE) yüzey karakterizasyonu DV ile yüzey morfolojisi ise EDX ve SEM yöntemleri kullanılarak incelenmiştir ayrıca EIS yöntemi kullanılarak elektrotların yük transfer dirençleri hesaplanmıştır. DV yöntemi kullanılarak elektrotlar sırayla 5,0 mM $[\text{FeCN}_6]^{3-/4}$ 0,10 M KCl çözeltisine daldırılarak 100 mV/s tarama hızında (-0,4) V – (+1,2) V potansiyel aralığında ölçümler alınmıştır, voltammogramlar kaydedilmiştir.

Şekil 4.7 a'da elektrotların 5,0 mM $[\text{FeCN}_6]^{3-/4}$ 0,10 M KCl probunda alınan DV voltammogramlarında görüldüğü üzere poli(L-Sis)/AuNP/KGE'a ait piklerin en yüksek akıma sahip olduğu görülmektedir, bu sonuç geliştirilen modifikasyonun oldukça başarılı olduğunun göstergesidir.

KG elektrotların, yük transfer dirençlerini (R_{ct}) karşılaştırmak amacıyla EIS yöntemi kullanılarak Nyquist eğrileri elde edilmiştir. Nyquist eğrilerinde yer alan, yüksek frekanstaki yarım dairenin artan çapı, elektrot yüzeyinde meydana gelen elektron transfer sürecinin oldukça yavaş gerçekleştiğini göstermektedir. Bu yarım dairenin çapının azalması, elektron transfer sürecinin oldukça hızlı bir şekilde gerçekleştiğinin göstergesidir.

Şekil 4.7 b' de gösterilen Nyquist eğrileri karşılaştırıldığı zaman en küçük yarım daire çapının poli(L-Sis)/AuNP/KGE'a en büyük yarım daire çapının ise çıplak KGE'a ait olduğu görülmektedir. R_{ct} değerleri hesaplandı ve sonuçlar sırasıyla; çıplak KGE için; 0,236 k Ω , L-Sis/KGE için; 0,080 k Ω , AuNP/KGE için; 0,043 k Ω ve poli(L-Sis)/AuNP/KGE için; 0,016 k Ω olarak bulunmuştur. AuNP'leri ve poli(L-Sis) KGE yüzeyi üzerine kaplandığında R_{ct} değerlerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu sonuç, poli(L-Sis)/AuNP/KGE elektrotunun iletkenliğinin çıplak KGE yüzeyinden daha

yüksek olması ve bunun da daha düşük bir elektron transfer direncine yol açması şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 4.7 KGE, poli(L-Sis)KGE, AuNP-KGE ve poli(L-Sis)/AuNP/KGE’ a ait a.) DV voltammogramları b.) Nyquist eğrileri (5,0 mM $[\text{FeCN}_6]^{-3/4}$ 0,1 M KCl)

Ayrıca çıplak KGE ve modifiye KGE’ların yüzey alanları hesaplanmıştır (Çizelge 4.1) Yapılan hesaplamalar karşılaştırıldığında, poli-(L-Sis)/AuNP/KGE’un yüzey alanının çıplak KGE’ a göre daha fazla olduğu gözlenmiştir.

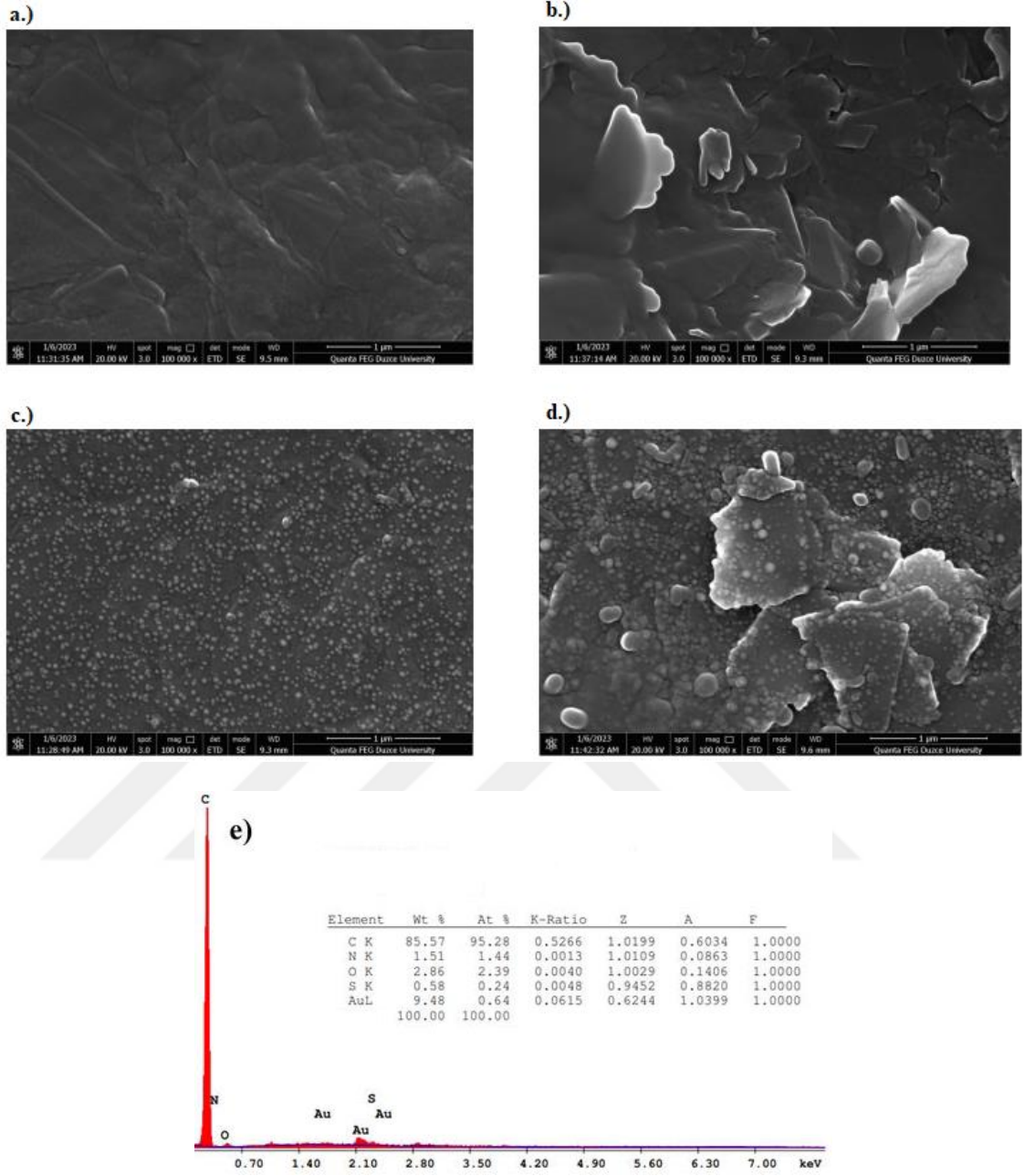
Çizelge 4.1 DV yöntemi kullanılarak 5,0 mM $[\text{FeCN}_6]^{-3/4}$ 0,10 M KCl çözeltisinde çıplak KGE ve modifiye KGE'lerin hesaplanan yüzey alanları

Elektrotlar	Yüzey Alanı
KGE	$0,63 \pm 0,02 \text{ cm}^2$
Poli(L-Sis)/KGE	$0,67 \pm 0,03 \text{ cm}^2$
AuNP/KGE	$0,69 \pm 0,03 \text{ cm}^2$
Poli(L-Sis)/AuNP/KGE	$0,75 \pm 0,03 \text{ cm}^2$

Elektrot yüzey alanları Randles–Sevcik denklemi kullanılarak hesaplanmıştır ilgili denklem bölüm 2.5.3; denklem 2.3'te detaylıca verilmiştir.

4.2.6 Modifiye KGE'lerin SEM ile incelenmesi

Modifiye KGE'lerin ve çıplak KGE'un yüzey morfolojisini daha fazla bilgi edinmek amacıyla dört farklı elektrodun SEM görüntüleri çekilmiştir. Ayrıca, poli(L-Sis)/AuNP/KGE'nin EDX spektrumları alınmıştır



Şekil 4.8 a.) Çıplak KGE b.) poli(L-Sis)/KGE c.) AuNP/ KGE d.) poli(L-Sis)/AuNP/KGE' a ait SEM görüntüleri e.) poli(L-Sist)/AuNP/KGE'nin EDX spektrumu

Şekil 4.8'de görüldüğü üzere çıplak KGE'un yüzeyi beklendiği üzere pürüzsüz, düzenli ve homojendir. AuNP'leri ise küresel olarak elektrot yüzeyine homojen olarak dağılmıştır, L-Sistin ise elektrot yüzeyinde polimerleşerek kabuk şeklini almıştır. Poli(L-Sis)/AuNP/KGE'a ait SEM görüntülerinde ise hem L-Sistin'in kabuk şekli hem de AuNP'lerinin küresel olarak dağıldığı görülmektedir. L-Sistin, AuNP'lerinin daha

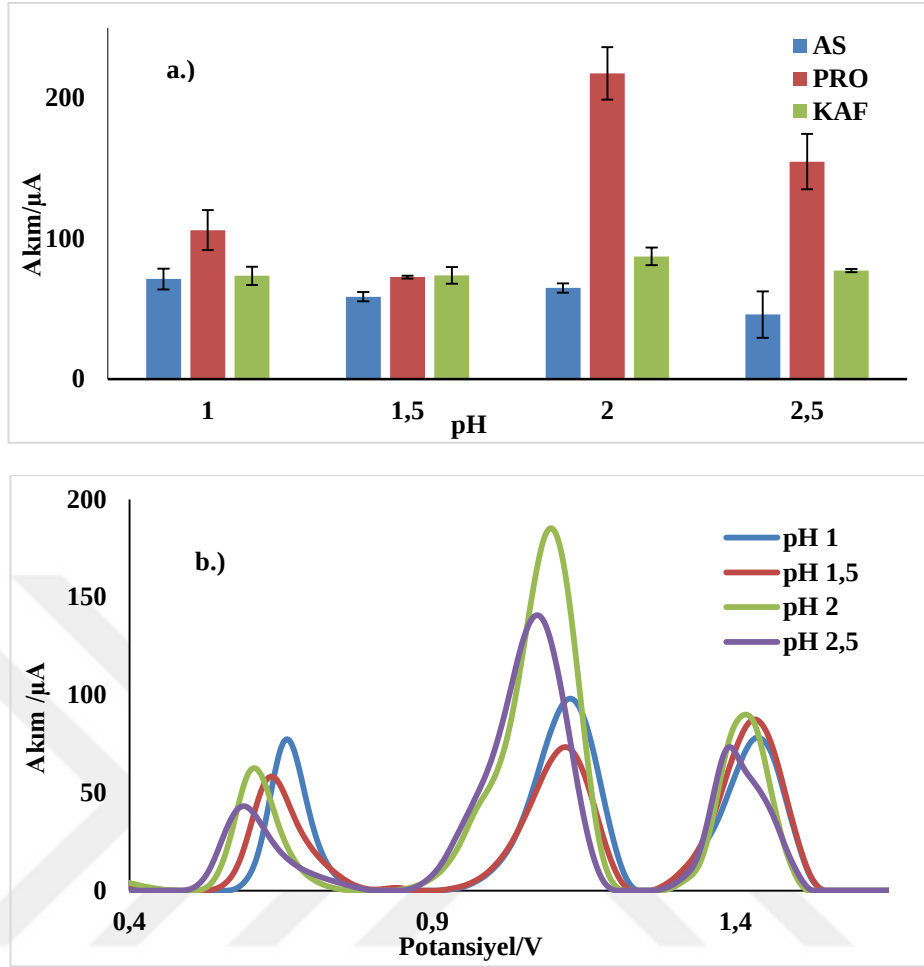
büyük parçacık boyutlarına ulaşmasını sağlayarak daha verimli bir yüzey elde edilmesini sağlamıştır. (El-Deab vd. 2005) Ayrıca EDX spektrumunda Au, C, N, S ve O atomlarını içerdiği görülmektedir. N,S ve O atomları L-Sistin'in, Au atomlarının varlığı ise AuNp'lerinin elektrot yüzeyindeki varlığını kanıtlamaktadır.

Poli(L-Sis)/AuNp/KGE'a ait SEM görüntülerinde elektrot yüzey alanının çıplak KGE'a göre çok daha pürüzlü olduğu görülmüştür. Geliştirilen bu modifikasyon sayesinde elektrot yüzeyinde girintili çıkıntılı boşlukların arttığı ve elektrot yüzeyinin değiştiği görülmektedir.

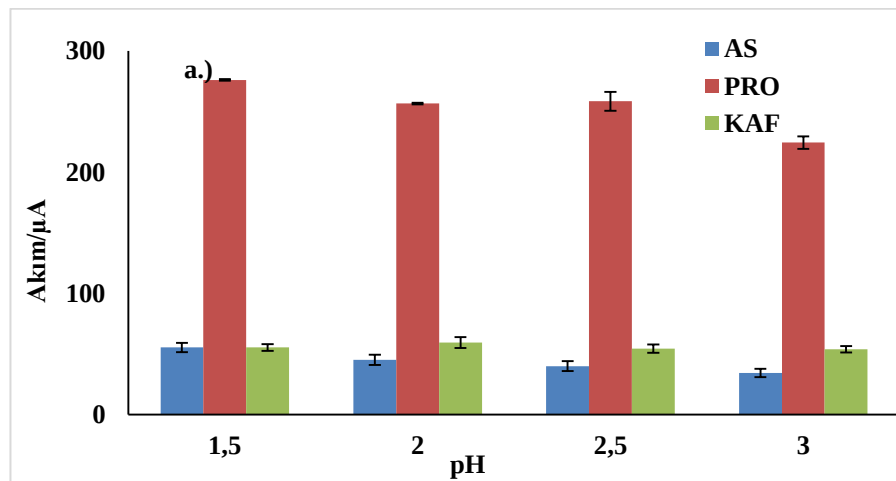
Modifiye elektrotlar için yapılan bütün karakterizasyon çalışmaları göz önüne alındığında, poli(L-Sis)/AuNp/KGE'un AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı tayini için en uygun elektrot olduğu düşünülmüştür.

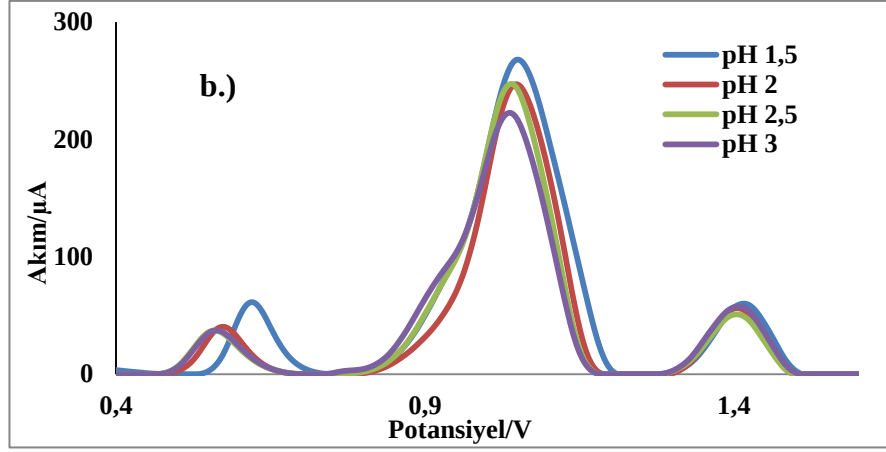
4.3 pH Etkisi

Poli(L-Sis)/AuNP/KGE yüzeyinde KDV yöntemi ile AS, PRO ve KAF'in elektrokimyasal davranışına pH'ın etkisi incelenmiştir. H₂SO₄ (Şekil 4.9), fosfat tamponu (Şekil 4.10) ve Britton Robinson tamponu (Şeki 4.11) sırasıyla pH değerleri 1,0 – 2,50, 1,50 – 3,0 ve 2,0 – 7,0 arasında değiştirilerek KD voltammogramları alınmıştır. Şekil 4.9'da H₂SO₄ destek elektrolit ortamında üç madde için elde edilen KDV voltammogramları ve pik akım değerlerinin değişimleri görülmektedir. Üç madde için optimum pH;2,0 olarak belirlenmiştir.

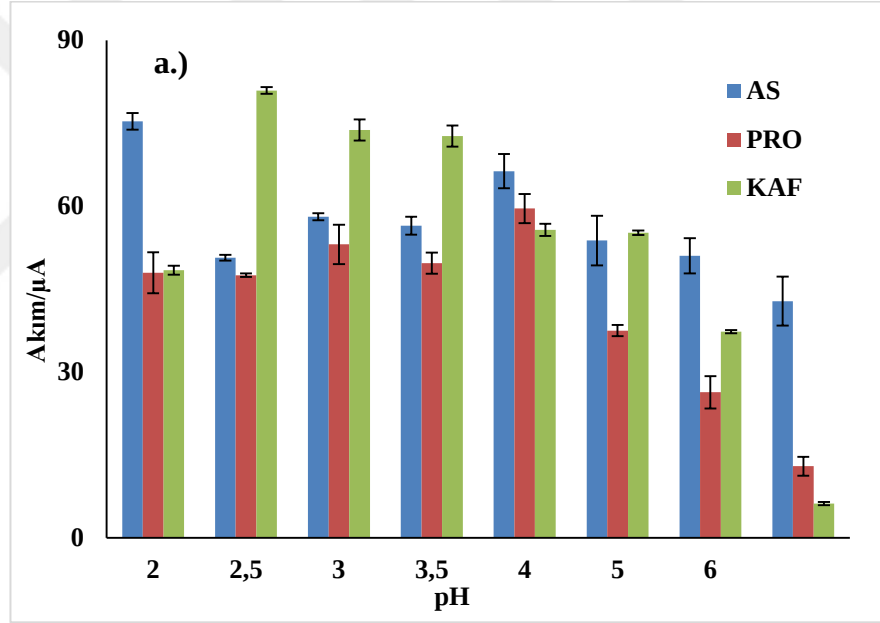


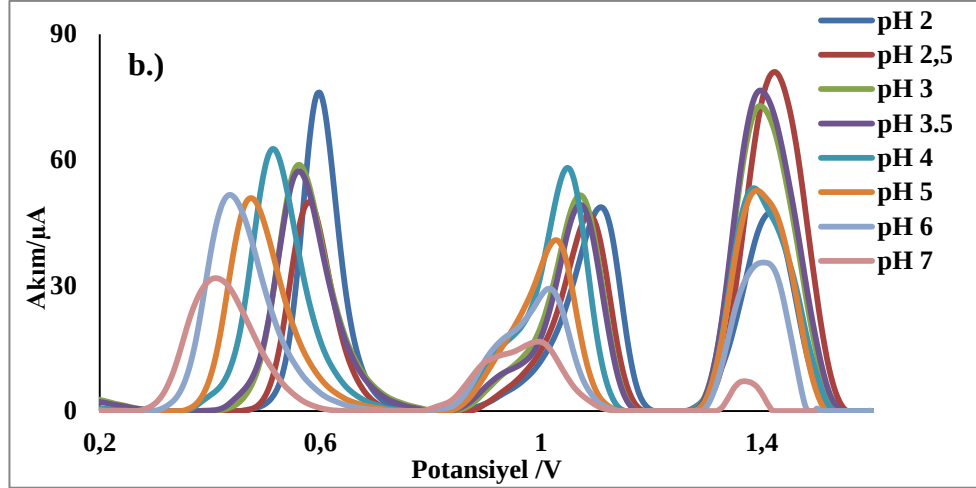
Şekil 4.9 0,01 mM, H₂SO₄ destek elektrolit ortamında farklı pH değerlerinde KDV yöntemi ile alınan ölçüm sonuçları a.) Akım grafiği b.) KDV voltammogramları (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM KAF)





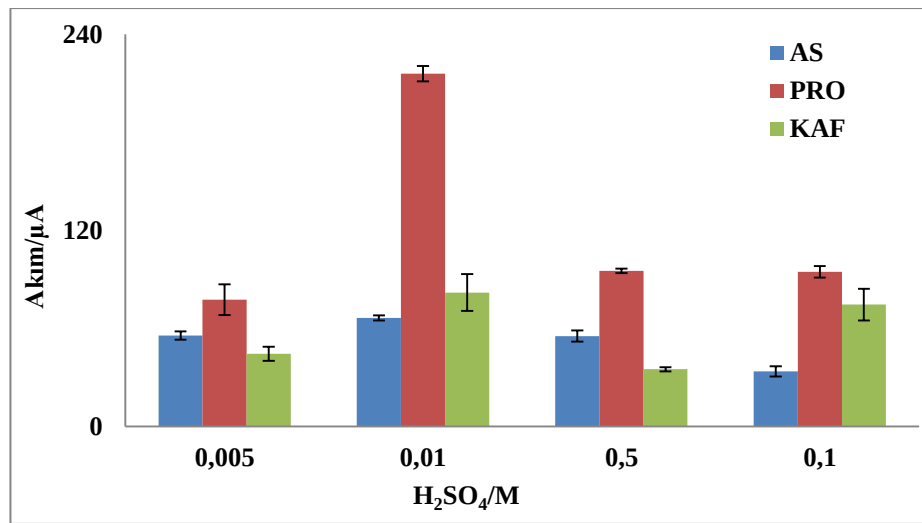
Şekil 4.10 Fosfat tamponu ortamında farklı farklı pH değerlerinde, KDV yöntemi ile alınan ölçüm sonuçları a.) Akım grafiği b.) KDV voltammogramları (100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM KAF)





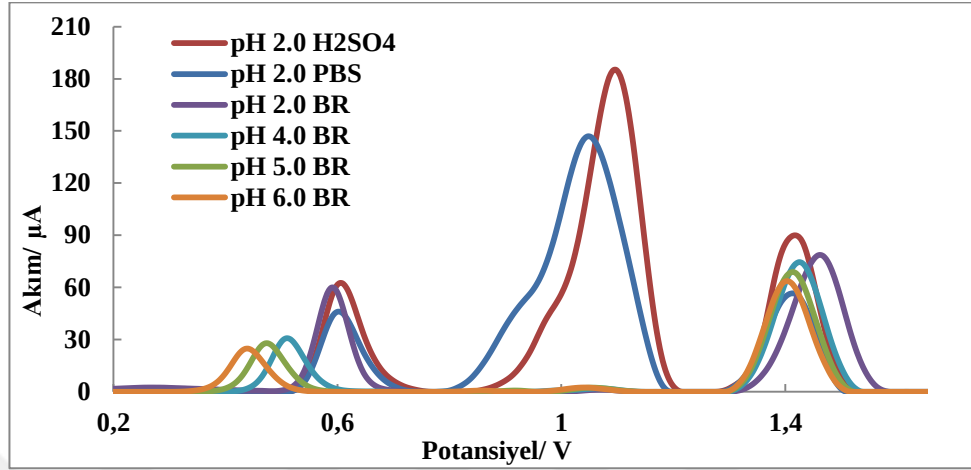
Şekil 4.11 Britton-Rabinson tampon (BRT) çözeltisi ortamında farklı pH değerlerinde, KDV yöntemi ile alınan ölçüm sonuçları a.) Akım grafiği b.) KDV voltammogramları (100,0 μ M AS, 10,0 μ M PRO, 500,0 μ M)

AS, PRO ve KAF için elde edilen pH-ip grafikleri incelendiğinde, pik akımları AS, PRO ve KAF için en yüksek değerinde olduğu destek elektrolitin H_2SO_4 pH:2,0 olduğu gözlenmiştir. BR ve fosfat tamponlarında elde edilen sinyallerin (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11) oldukça düştüğü görülmektedir. Bu sonuçlara bakıldığında pH:2,0 H_2SO_4 en uygun destek elektrolit olduğu sonucuna varılmıştır. Destek elektrolitin belirlenmesinden sonra, destek elektrolitin derişiminin değişimi de AS, PRO ve KAF'ın pik akımları üzerindeki etkisi incelenmiştir.

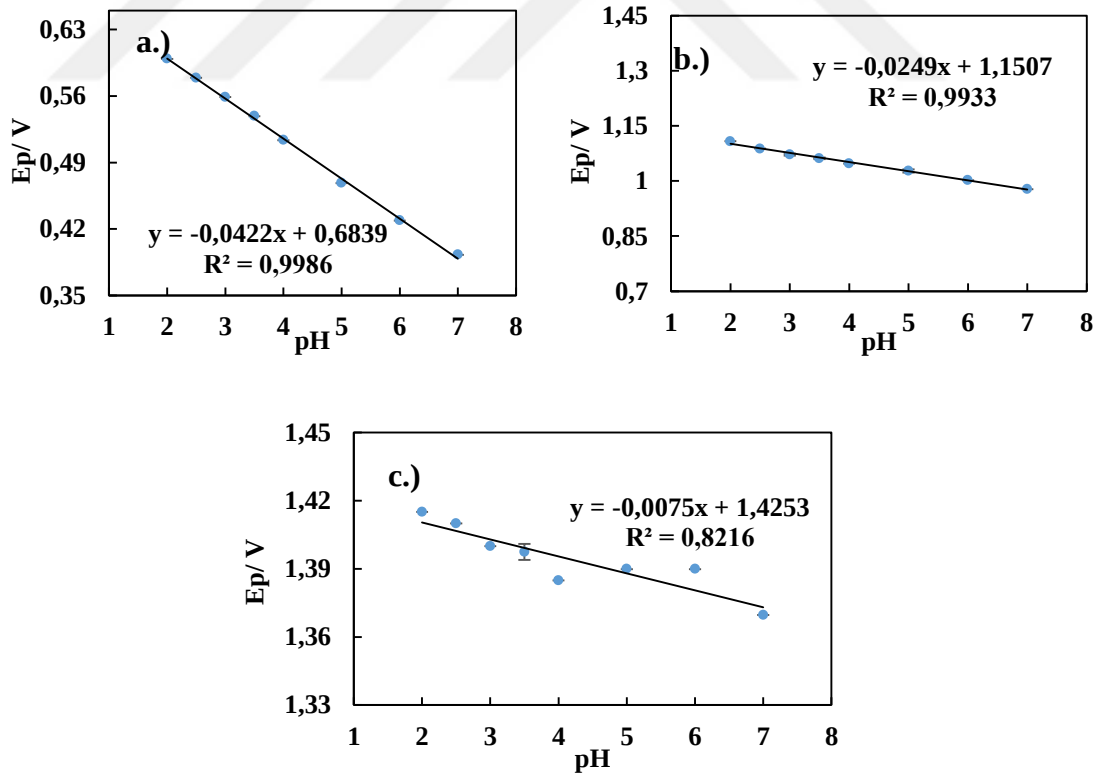


Şekil 4.12 Farklı H_2SO_4 derişimlerinde AS, PRO ve KAF'e ait KDV sonuçları (100,0 μ M AS, 10,0 μ M PRO, 500,0 μ M pH:2,0 H_2SO_4).

Şekil 4.12’de görüldüğü üzere 0,01 M H₂SO₄ AS, PRO ve KAF’in pik akımlarını en iyi arttıran destek elektrolit derişimi olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.13 Farklı destek elektrolit çözeltilerinde alınmış AS, PRO ve KAF’e ait KD voltammogramlarının karşılaştırılması (100,0 µM AS, 10,0 µM PRO, 500,0 µM).

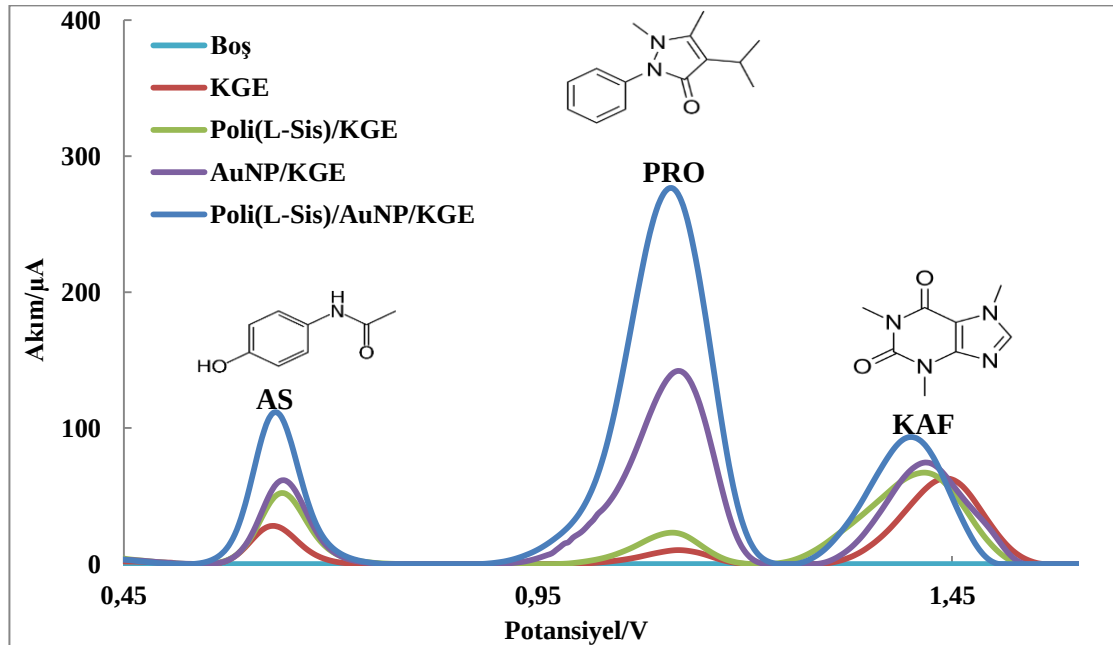


Şekil 4.14 Farklı destek elektrolit çözeltilerinde alınmış AS, PRO ve KAF’e ait KD voltammogramlarının Ep-pH grafikleri a.) AS b.) PRO c.) KAF (100,0 µM AS, 10,0 µM PRO, 500,0 µM).

Ayrıca AS, PRO ve KAF'in pik potansiyellerinin pH etkisi incelenmiştir. AS ve KAF'e ait Ep – pH grafikleri incelendiğinde pH arttıkça pik potansiyelinin pozitif potansiyele kaydığı görülmektedir. Bu sonuç AS ve KAF'in elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonunda protonun da yer aldığının göstergesidir. Ancak PRO'a ait Ep – pH grafiği incelendiğinde PRO'nun yükseltme pik potansiyelinde meydana gelen değişim KAF ve AS'e kıyasla daha az olduğu görülmüştür. Bu, PRO'un elektrokimyasal yükseltme reaksiyonunda protonların yer almadığını gösterir. Yani bu sonuç PRO'un elektrokimyasal mekanizmasının pH'a bağlı olmadığını göstermektedir.

4.3.1 Hazırlanan elektrotların karşılaştırması

Belirlenen optimum koşullar altında modifiye elektrotlar hazırlanmıştır ve KDV yöntemi ile AS, PRO ve KAF'in pik akımlarındaki değişim KGE, poli(L-Sis)/KGE, AuNP/KGE ve poli(L-Sis)/AuNP/KGE ile incelenmiştir ve sonuçlar şekil 4.15'te verilmiştir.



Şekil 4.15 100,0 μM AS, 10,0 μM PRO, 500,0 μM KAF çözelti içinde, farklı modifiye elektrotlarla alınmış KD voltammogramları (pH:2,0, 0,01 M H₂SO₄).

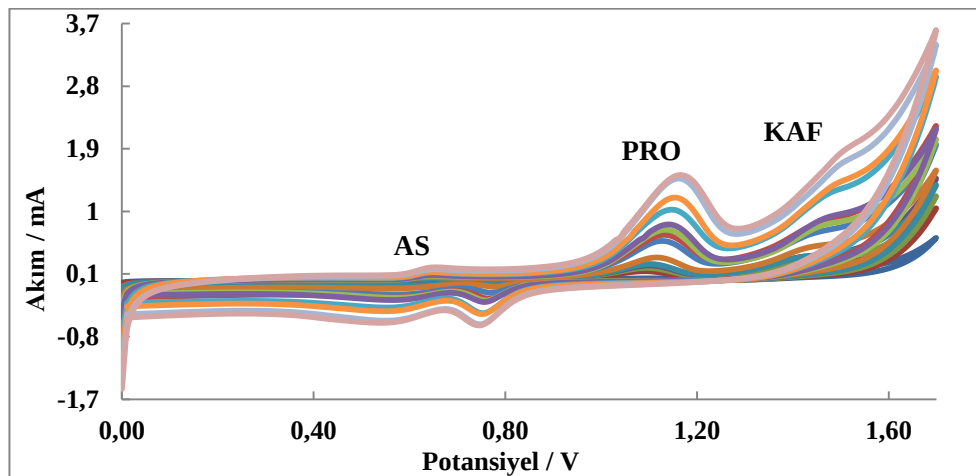
100,0 μM AS, 10,0 μM PRO ve 500,0 μM KAF'in içeren destek elektrolit çözeltisine dört elektrodun KD voltammogramları şekil 4.15'te gösterilmiştir. Şekil 4.15'te görüldüğü üzere geliştirilen modifikasyon AS, PRO ve KAF'in sinyallerini oldukça iyi bir şekilde arttırmıştır.

Poli(L-Sis)/AuNP'lerle modifikasyondan sonra pik akımları yaklaşık %80 artmıştır. Ayrıca pik potansiyelleri özellikle PRO ve KAF negatif değerlere kaymıştır, bu da analitlerin oksidasyon işlemlerinin elektrot yüzeyinde daha kolay ilerlediğini göstermektedir.

Bundan sonra yapılan çalışmalar, belirlenen optimum şartlar altında yapılmıştır.

4.4 AS, PRO ve KAF'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

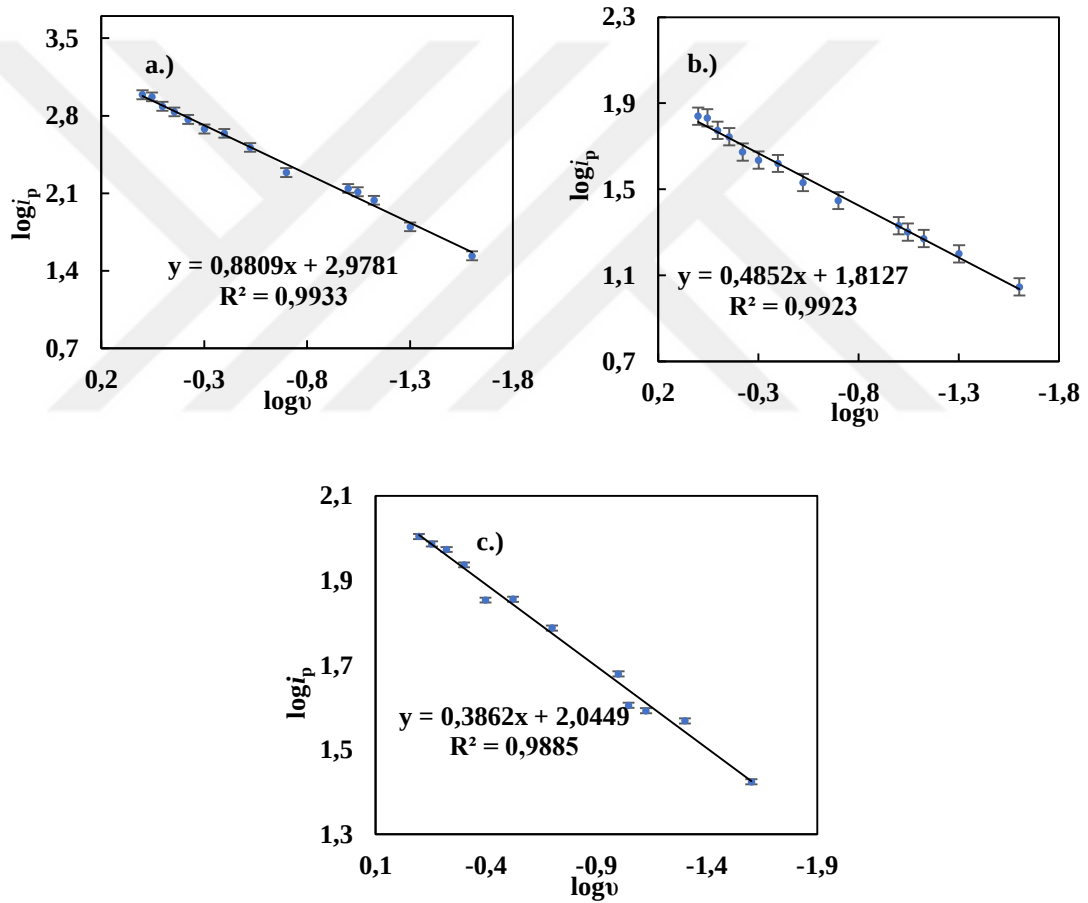
Bu bölümde AS, PRO ve KAF'in elektrokimyasal davranışı DV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. DV yöntemi elektroaktif türlerin incelenmesinde ölçüm kolaylığı sağlanması, geniş potansiyel aralığı sunması sebebiyle sıklıkla kullanılan bir yöntem olmuştur. DV yöntemi özellikle redoks reaksiyonları hakkında kolayca bilgi edinilmesi ve yorumlanması için faydalı olabilmektedir.



Şekil 4.16 100,0 μM AS, 10,0 μM PRO ve 500,0 μM KAF'in farklı tarama hızlarında DV voltammogramları (0,025 V/s – 0,10 V/s tarama hızı aralığında 0,01 M pH:2 H_2SO_4).

AS, PRO ve KAF'in tersinirlik, yarı tersinirlik, difüzyon ve adsorpsiyon gibi elektrokimyasal davranışları poli(L-Sis)/AuNP/KGE yüzeyinde DV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. 0,025 V/s – 0,10 V/s aralığında değişen tarama hızında DV yöntemi ile alınan ölçümler kaydedilmiştir. (Şekil 4.16)

Tarama hızını artmasıyla AS, PRO ve KAF'e ait yükseltgenme pik potansiyelleri pozitif değere kayarken, pik akımlarının da arttığı görülmüştür (Şekil 4.17). (Bard vd. 2000, Harvey 2011)

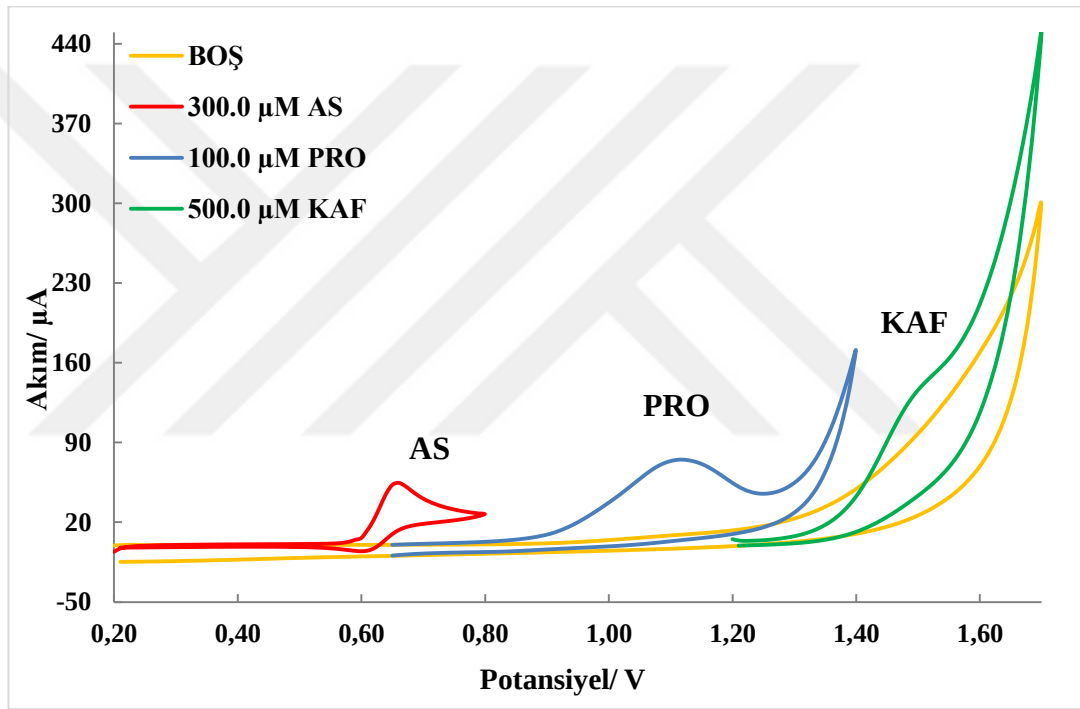


Şekil 4.17 a.) 10,0 μM PRO, b.) 100,0 μM AS ve c.) 500,0 μM KAF'in $\log i_p - \log v$ grafikleri (0,025 V/s – 0,10 V/s tarama hızı aralığında 0,01 M pH:2 H_2SO_4).

0,025 – 0,10 V/s arasındaki tarama hızlarında pik akımlarına karşı çizilen $i_p - v$ ve $\log i_p - \log v$ grafikleri değerlendirilmiştir ve pik akımlarının tarama hızıyla doğrusal olarak değiştiği gözlenmiştir. AS ve KAF'e ait $\log i_p - \log v$ grafiğinde eğimlerin sırasıyla

0,4852 ve 0,3862 olduğu görülmüştür. Eğimin 0,50'e yakın olması, AS ve KAF'in elektrot yüzeyine difüzyon ile taşındığını göstermektedir. Ancak PRO için çizilen $\log i_p - \log v$ grafiği incelendiğinde eğimin 0,8809 olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç PRO'nın elektrot yüzeyine adsorbe olduğunu göstermektedir.

Elde edilen tüm sonuçlar incelendiğinde AS ve KAF'in yükseltme pikinin difüzyon, PRO'un yükseltme piklerinin ise adsorpsiyon kontrollü olduğu sonucuna varılmıştır. (Fernandes vd. 2015, Borowiec 2012)

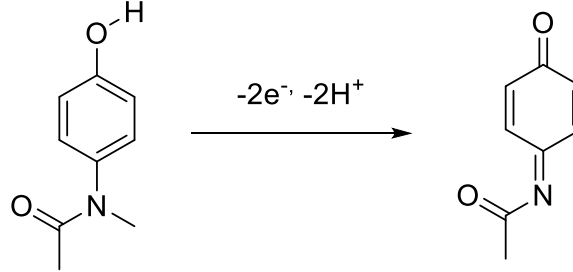


Şekil 4.18 Poli(L-Sis)/AuNP/KG elektrodu üzerindeki AS, PRO ve KAF'in DV voltammogramları (Tarama hızı: 0,1 Vs⁻¹ 0,01 M pH:2 H₂SO₄).

AS, 0,61 V'ta keskin bir anodik pike ve 0,66 V'de katodik bir pike sahiptir. PRO ve KAF'in DV voltammogramları, sırasıyla 1,10 V ve 1,50 V'de anodik piki ve geri dönüşü olmayan bir redoks sürecini göstermiştir.

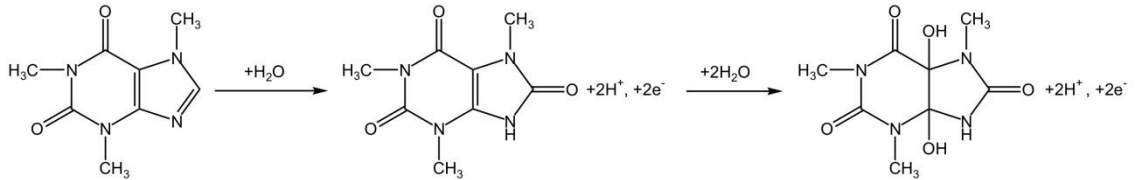
AS'nin daha önce yapılan çalışmalarda detaylı olarak elektrokimyasal yükseltgenme davranışı incelenmiştir (Nematollahi vd. 2009). Yapılan çalışmalara göre, AS'nin yükseltgenme reaksiyonunda 2e⁻ ve 2H⁺ yer alığı bilinmektedir. AS'in yükseltgenme

mekanizması Şekil 4.19’da verilmiştir. Buna göre, asetaminofen yükseltgenerek N-asetil-p-kinon imin türlerine dönüştüğü belirtilmektedir (Sawant vd, 2019).



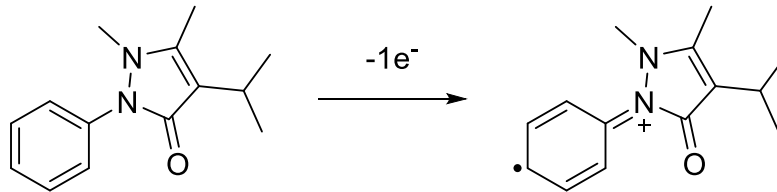
Şekil 4.19 Asetaminofen’in olası elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması (Sawant vd. 2019).

PRO ve KAF maddelerinin DV voltamogramlarında yükseltgenme reaksiyonuna ait bir yükseltgenme piki var iken geri taramada bir indirgenme pikine rastlanmamıştır. KAF ‘ın yükseltgenmesine ait çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Švorc 2013). KAF’in 1,0 ila 3,5 pH aralığında dört elektron ve dört proton kaybederek oksitlenebildiği bilinmektedir (Habibi vd. 2012). İlgili yükseltgenme reaksiyonu Şekil 4.20’da verilmiştir.



Şekil 4.20 Kafein’in olası elektrooksidasyon mekanizması şeması (Habibi vd. 2012).

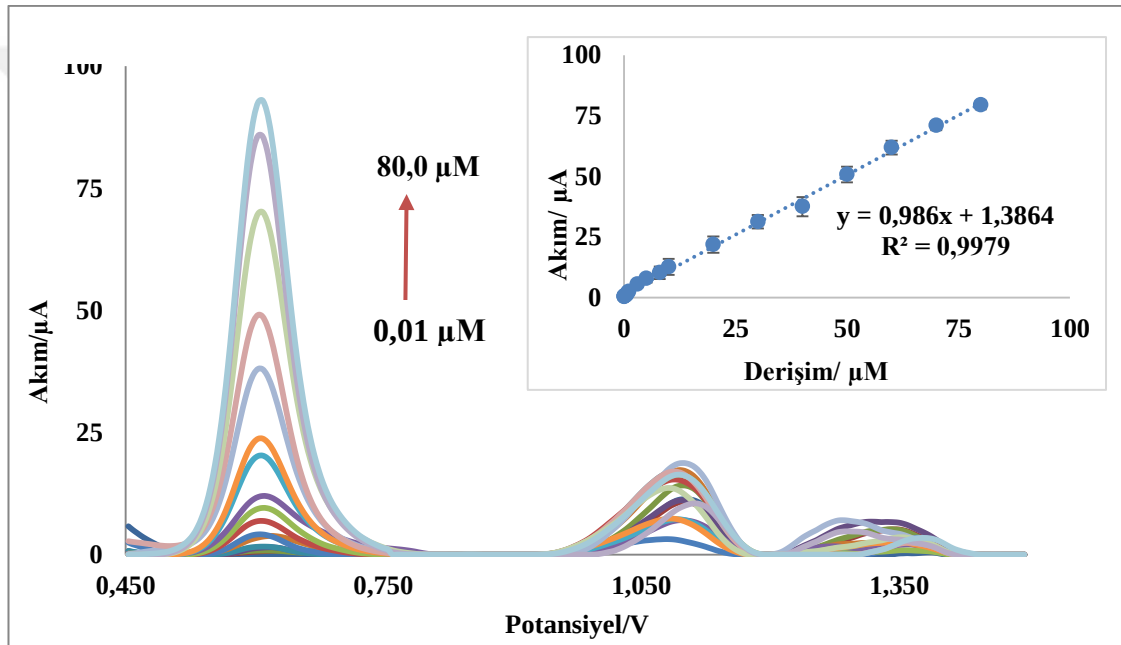
PRO’nun elektrokimyasal reaksiyonu ise molekül başına bir elektron kaybıyla gerçekleşmektedir (Silva 2017).



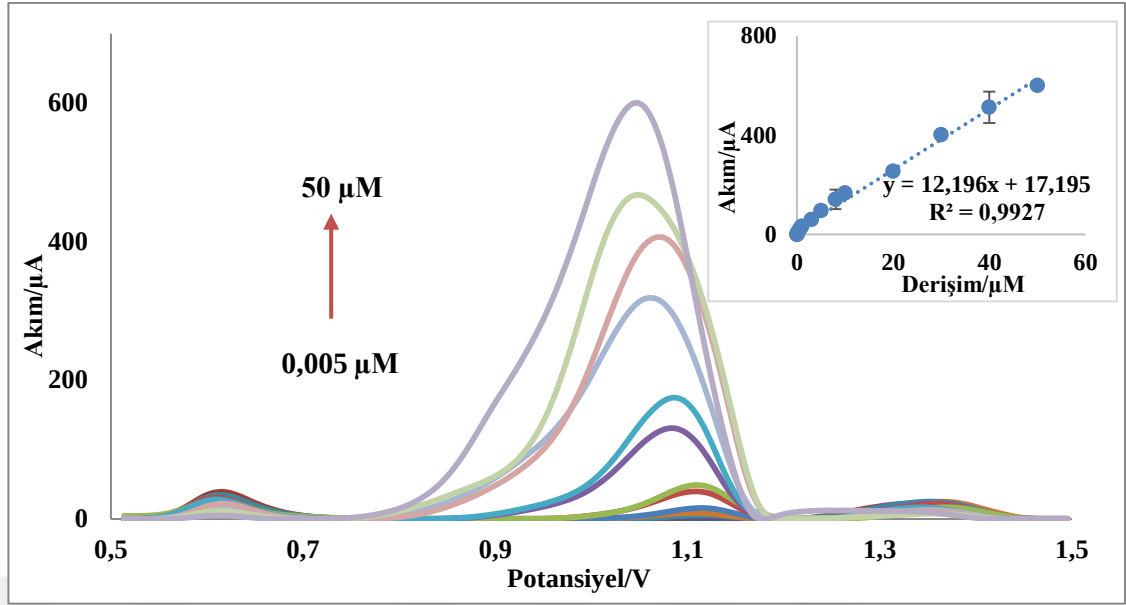
Şekil 4.21 Propifenazon’un olası yükseltgenme mekanizması şeması (Silva 2017).

4.5 KDV Yöntemi ile Kalibrasyon Grafiklerinin Oluşturulması

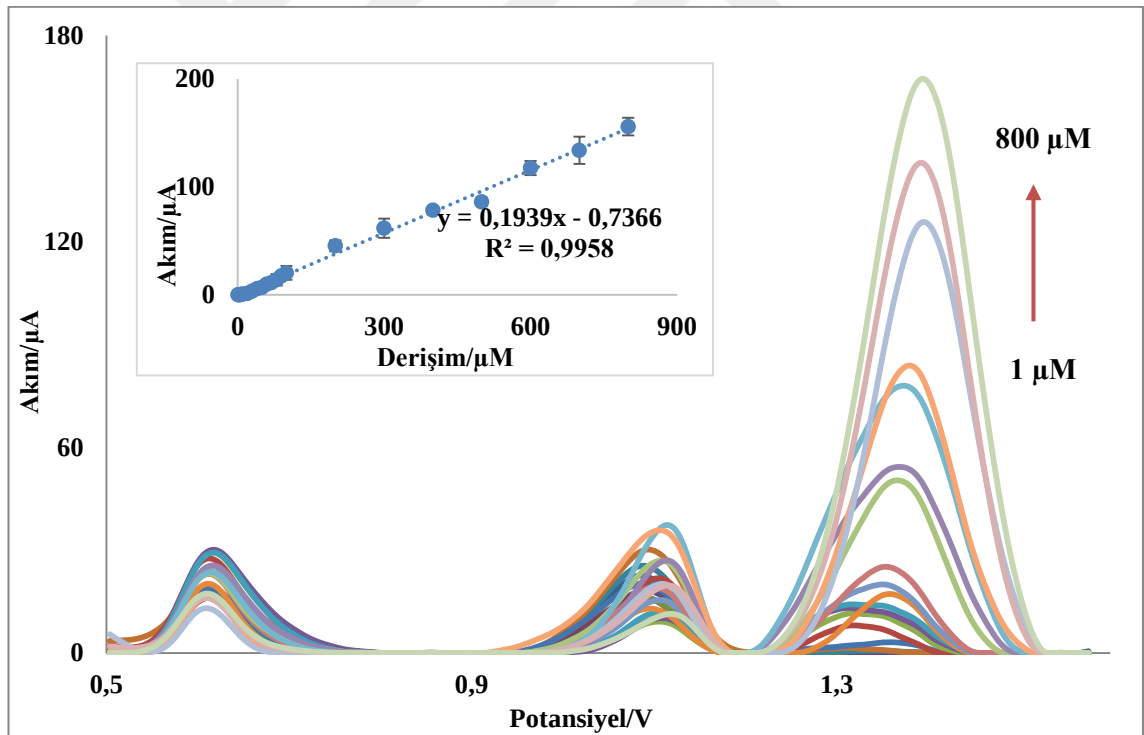
AS, PRO ve KAF'in voltametrik tayini için belirlenen optimum koşullar kullanılarak KDV yönteminde artan derişim seviyeleriyle AS, PRO ve KAF'in anodik pik akımları incelenmiştir. Bu tez çalışmasında AS, PRO ve KAF'in derişimleri iki maddenin derişimi sabit iken bir maddenin derişimi artırılarak (Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24) ve her üç maddenin derişimi eş zamanlı olarak artırılarak (Şekil 4.25) kalibrasyon grafikleri çizilmiştir.



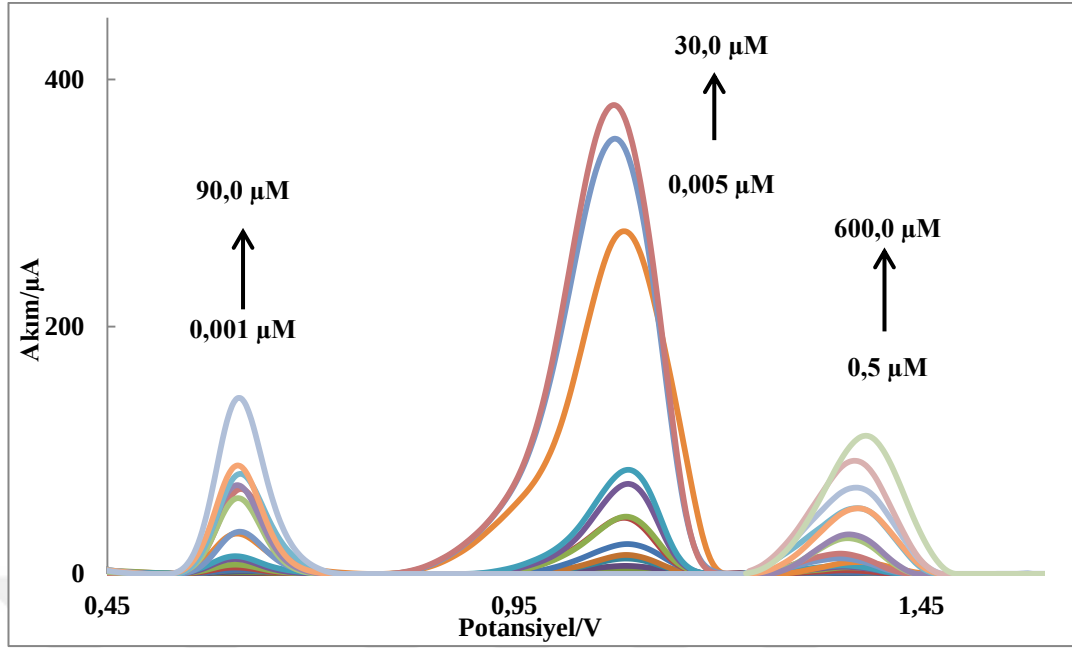
Şekil 4.22 AS'e ait KDV voltammogramları 0,01- 80,0 μM AS (PRO 0,50 μM, KAF 50,0 μM, pH;2 0,01 M H₂SO₄) İç grafik; AS için kalibrasyon grafiği.



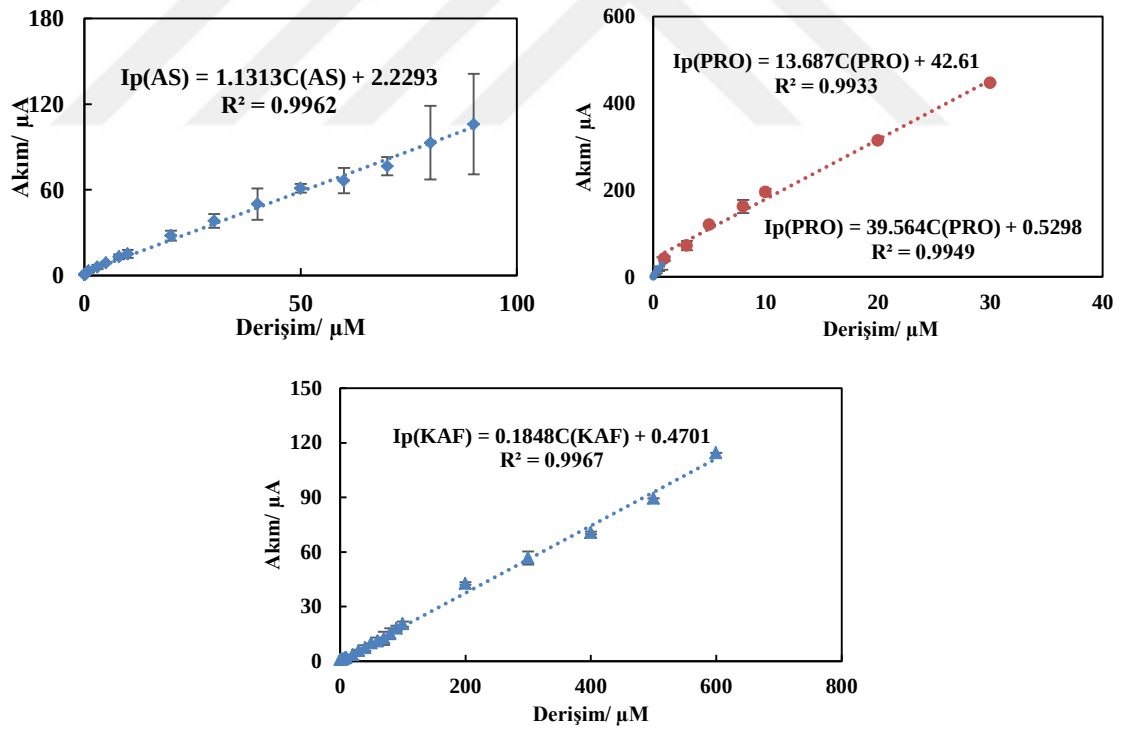
Şekil 4.23 0,005 – 50,0 μM PRO'ye ait KDV voltammogramları (AS; 50, μM , KAF 100,0 μM , pH;2 0,01 M H_2SO_4) İç grafik; PRO için kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.24 1,0 – 900,0 μM KAF'e ait KDV voltammogramları (AS; 50,0 μM , PRO 0,5 μM pH;2 0,01 M H_2SO_4) İç grafik; KAF için kalibrasyon grafiği.



Şekil 4.25 0,001 – 90,0 μM AS, 0,005 – 30,0 μM PRO ve 0,5 – 600,0 μM KAF'e ait KDV voltammogramları (pH;2,0 0,01 M, H_2SO_4)



Şekil 4.26 0,001 – 90,0 μM AS, 0,005 – 30,0 μM PRO ve 0,5 – 600,0 μM KAF'e ait kalibrasyon grafikleri

Elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğimi kullanılarak bu çalışmaya ait tayin sınırı (LOQ) ve en düşük alt tayin sınırı (LOD) değerleri hesaplanmıştır. Kullanılan eşitlikler şu şekildedir; (Uygun 2022).

$$LOD = 3s/m$$

$$LOQ = 10s/m. \text{ (s; standart sapma, m; kalibrasyon grafiğinin eğimi)}$$

Elde edilen regresyon sonuçları Çizelge 4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Poli(L-Sis)/AuNP/KGE sensörü üzerindeki AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı kalibrasyon çizgilerine ilişkin regresyon

Regresyon Parametreleri	AS	PRO	KAF
Doğrusal çalışma aralığı, μM	0,023 - 90,0	0,009 - 1,0 1,0 - 30,0	0,454 - 600,0
LOD μM	0,007	0,003	0,136
LOQ μM	0,023	0,009	0,454
Regresyon Katsayısı (R^2)	0,996	0,995 0,993	0,997
Potansiyel tekrarlanabilirliği %BSS	0,49	1,52	0,74
Akım tekrarlanabilirliği %BSS	1,02	2,07	1,97
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği %BSS	0,11	0,13	0,34
Gün içi akım tekrarlanabilirliği %BSS	2,64	0,64	2,47
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği %BSS	0,74	0,18	0,16
Günler arası akım tekrarlanabilirliği %BSS	2,80	2,34	1,13

Çizelge 4.2 de AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizine ait regresyon parametreleri verilmiştir. AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı kalibrasyon çizgilerine ilişkin regresyon verileri ile ayrı ayrı yapılan kalibrasyon çizgilerine ilişkin regresyon verileri karşılaştırılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki özetlenmiştir.

0,026 – 80,0 μM doğrusal çalışma aralığında; AS'in, 0,5 μM PRO ve 50,0 μM KAF varlığında çizilen kalibrasyon grafiği ve elde edilen LOD, LOQ değerleri sırasıyla;

0,008 μM ve 0,026 μM olarak tespit edilmiştir. Ayrıca R^2 değeri; 0,9979 olarak bulunmuştur.

0,029 – 50,0 μM derişim aralığında PRO'un, 50,0 μM AS ve 100 μM KAF varlığında çizilen kalibrasyon grafiğı ve elde edilen LOD, LOQ değeri sırasıyla; 0,008 μM ve 0,029 μM olarak tespit edilmiştir. Ayrıca R^2 değeri; 0,9927 olarak bulunmuştur.

0,43 – 800,0 μM derişim aralığında KAF'in, 50,0 μM AS ve 0,5 μM PRO varlığında çizilen kalibrasyon grafiğı ve elde edilen LOD, LOQ değeri sırasıyla; 0,129 μM ve 0,43 μM olarak tespit edilmiştir. Ayrıca R^2 değeri; 0,9958 olarak bulunmuştur.

Elde edilen tüm bu sonuçlar kıyaslandığında AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizinde elde edilen LOD değeri AS ve PRO'nun tek başına olan analizlerine kıyasla daha düşük; KAF'in LOD değerinin ise çok büyük bir değışiklik göstermediğı tespit edilmiştir. LOQ değeri ise AS ve PRO'nun tek başına olan analizlerine kıyasla daha düşük; KAF'in LOD değerinin ise çok büyük bir değışiklik göstermediğı tespit edilmiştir.

AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizinde doğrusal çalışma aralığı AS ve KAF'de artarken PRO'da azalmıştır.

Bu sonuçlara bakıldığında geliştirilen yöntemin başarılı olduğı ayrıca AS, PRO ve KAF'in arasında bir etkileşim meydana geldiğı için tek başına olan analizlerinde elde edilen sonuçlar ile eş zamanlı analizlerinde elde edilen sonuçlar arasında fark olduğı görölmektedir.

Ayrıca bu tez çalışmasında poli(L-Sis)/AuNP/KGE yüzeyinde, AS, PRO ve KAF'in pik akım ve potansiyel değeri ve tekrarlanabilirlik çalışması gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.2). Optimum koşullar altında hazırlanan poli(L-Sis)/AuNP/KGE'un gün içi, günler arası tekrarlanabilirliği için %BSS hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlarının %10'dan az olduğı tespit edilmiştir.

Poli(L-Sis)/AuNP/KGE'un tekrar üretilebilirliğini incelemek amacıyla aynı şartlar altında 5 farklı poli(L-Sis)/AuNP/KGE hazırlanmıştır ve KDV yöntemi kullanılarak 1,0 μ M PRO, AS ve 5,0 μ M KAF'in bulunduğu çözelti ortamına, her bir elektrot daldırılarak en az 5 ölçüm alınmıştır. Ortalama pik akımları ve pik potansiyelleri için hesaplanan %BSS değerlerinin %5'ten düşük olduğu tespit edilmiştir.

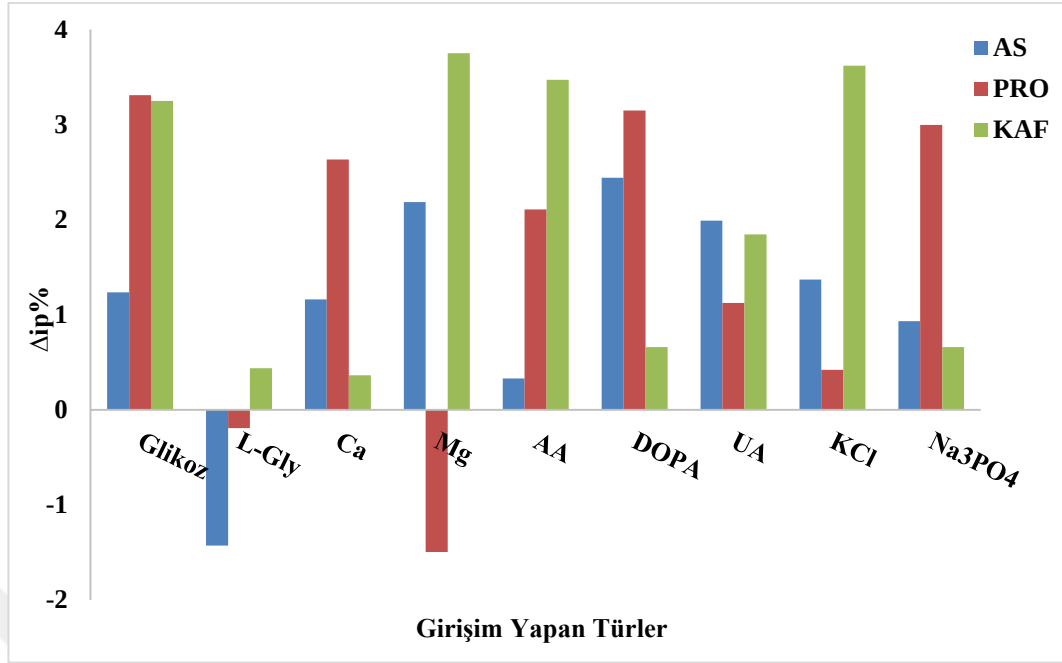
Bu sonuç; geliştirilen poli(L-Sis)/AuNP/KGE'un tekrar üretilebilirliğinin ve gün içi tekrarlanabilirliğinin oldukça stabil olduğunu göstermektedir.

4.6 Girişim Çalışması

Bu tez çalışmasında AS, PRO ve KAF'e girişim yapabilecek türlerin; Glikoz, L-Glisin, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), askorbik asit (AA), dopamin (DOPA), ürik asit (ÜA), KCl ve Na₃PO₄ ile girişim etkileri incelenmiştir. 1,0 μ M AS, PRO ve KAF bulunan çözelti ortamına 1:1 derişimde hazırlanan girişim yapan türler eklenmiştir ve girişim yapan türlere ait % akım farkı (% Δi_p) sonuçları hesaplanarak şekil 4.26 'da verilmiştir.

$$\Delta i_p = \frac{i_{AS,PRO,KAF} - i_{AS,PRO,KAF}(\text{girişim yapan türler varken})}{i_{AS,PRO,KAF}} \times 100 \quad (4.1)$$

Elde edilen sonuçlara göre, girişim türlerinin % Δi_p değerlerinin %5'in atında kaldığı görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlara göre bu türlerin 1:1 derişimde AS, PRO ve KAF'in analizinde girişim etkilerinin olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.27 1,0 μM AS, PRO ve KAF'e göre 1:1 oranında girişim yapan maddelerin KDV sinyallerine ait grafik (pH:2, 0,01 M, H_2SO_4)

4.7 Gerçek Numunelerde Uygulama Çalışması

AS, PRO ve KAF'in analizi için geliştirilen bu yöntemin doğruluğunu kanıtlamak amacıyla farmasötik olarak piyasa kullanılan tabletlerinde ve sentetik insan serumunda geri kazanım çalışması yapılmıştır. Geri kazanım çalışmaları standart ekleme yöntemiyle yeniden kalibrasyon oluşturularak yapılmıştır. Geri kazanım çalışmasında elde edilen sonuçlar; Parol Plus tabletlerinde AS, PRO ve KAF için %100,96 - %102,93 arasında değişmekteyken, sentetik serumda ise geri kazanım değerleri AS, PRO ve KAF için %96,76 - %103,97 arasında değişmektedir.

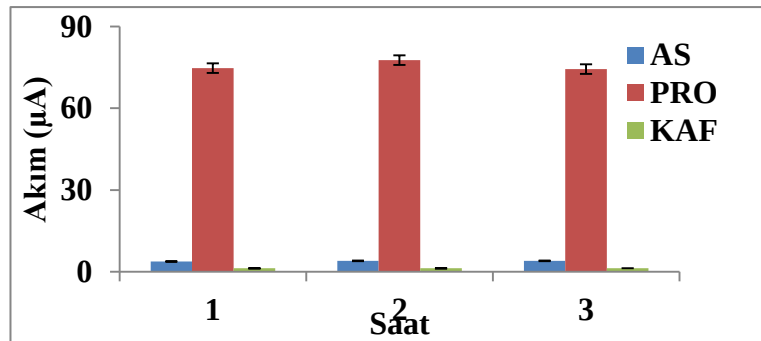
Çizelge 4.3 Farmasötik form ve insan serum örneklerinde geri kazanım sonuçları

Gerçek Numune	Metot	Örnek	Eklenen Miktar (μM)	Bulunan Miktar (μM)	% Geri Kazanım	% BSS
Farmasötik Form	KDV	AS	10,00	$10,21 \pm 0,2906$	$102,07 \pm 2,91$	2,85
		PRO	10,00	$10,14 \pm 0,3759$	$102,93 \pm 3,69$	3,58
		KAF	3,00	$3,04 \pm 0,0564$	$100,96 \pm 1,18$	1,86
İnsan Serumu	KDV	AS	1,00	$0,97 \pm 0,0073$	$96,76 \pm 0,73$	0,75
		PRO	1,00	$0,99 \pm 0,0132$	$99,87 \pm 1,32$	1,32
		KAF	1,00	$1,04 \pm 0,0105$	$103,97 \pm 1,06$	1,02

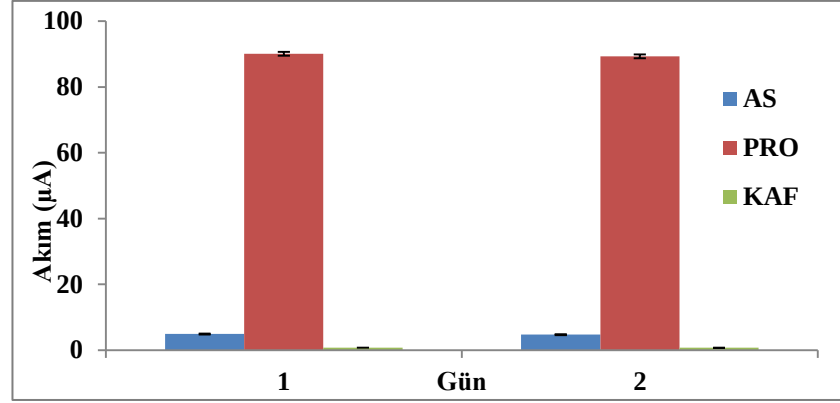
4.8 Poli(L-Sis)/AuNp/KGE'un Ömür Çalışması

Poli(L-Sis)/AuNP/KG elektrotun ömrünü belirlemek amacıyla, gün içi, günler arası ve haftalık olarak ölçümler alınmıştır. KDV yöntemi kullanılarak $1,0 \mu\text{M}$ AS, PRO ve $5,0 \mu\text{M}$ KAF'e ait ortalama pik akımları kaydedilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre geliştirilen modifiye elektrodun gün içi ve günler arası yapılan çalışmalarında pik akımlarında ve pik potansiyellerinde bir düşüş görülmemiştir. Ancak bir haftanın sonunda elde edilen sonuçlara göre pik akımlarında bir düşüş olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.28 $1,0 \mu\text{M}$ AS, $1,0 \mu\text{M}$ PRO ve $10,0 \mu\text{M}$ KAF'ine ait gün içi akım grafiği (pH:2, $0,01 \text{ M H}_2\text{SO}_4$)



Şekil 4.29 1,0 μM AS, 1,0 μM PRO ve 10,0 μM KAF'ine ait günler arası akım grafiği (pH:2, 0,01 M, H_2SO_4)

Bu tez çalışmasında geliştirilen yöntem, literatürde yer alan farklı elektrokimyasal yöntemlerle karşılaştırılmıştır. AS, PRO ve KAF'in üçlü veya ikili eş zamanlı analizine dair yapılan elektrokimyasal çalışmalar incelenmiştir. Yapılan literatür taramasında poli(L-Sis)/AuNP/KG elektroda ait bir elektrokimyasal çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sonuç poli(L-Sis)/AuNP/KG elektrodun AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizinde hedeflenen bir yöntem olduğunu göstermektedir. Literatür taramasında elde edilen verilere göre AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı ve elektrokimyasal olarak analizinin yapıldığı tek bir çalışmaya rastlanmıştır (Silva 2017). Ancak literatürdeki bu çalışmada sadece tablet formlarında gerçek numuneye uygulama çalışması yapılmıştır. Bu tez çalışmasında ise maddelerin eş zamanlı analiz için geliştirilen yöntem ile hem serum örneklerinde hem de farmasötik numunelerde uygulaması gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu tez çalışmasında AS ve PRO için hesaplanan LOD değeri literatürdeki örneğine kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür.

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında elde edilen veriler bu bölümde özetlenmiştir.

Öncelikle L-Sistin elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon ile DV yöntemi kullanılarak (-0,6V) – (+2,0V) aralığında 10 döngü alınarak polimerleştirilmiştir ve ardından altın nanoparçacıkları bu polimerleşmiş elektrot yüzeyine elektrokimyasal biriktirme ile DV yöntemi kullanılarak (-0,2V) – (+1,8V) aralığında 10 döngü alınarak modifiye KGE hazırlanmıştır.

Geliştirilen modifikasyon için optimum koşullar belirlenmiştir. AuNp ve L-Sistin derişimi sırasıyla 0,05 mM ve 0,10 mM, DV yöntemi parametreleri; döngü sayısı AuNp ve L-Sis için 10 döngü, AuNp ve L-Sis için tarama hızı 75 mV/s, 50 mV/s olarak belirlenmiştir.

Fosfat, BR ve H₂SO₄ destek elektrolitleri kullanılarak pH etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre pH:2,0 H₂SO₄ AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizi için en uygun destek elektrolit olduğu görülmüştür.

Hazırlanan modifiye KG elektrotların karakterizasyonu DV kullanılarak incelenmiştir. EIS yöntemi ile yük transfer direnci hesaplanmıştır ve sonuçlar sırasıyla; çıplak KGE için; 0,236 kΩ, L-Sis/KGE için;0,080 kΩ, AuNP/KGE için;0,043 kΩ ve poli(L-Sis)/AuNP/KGE için;0,016 kΩ olarak bulunmuştur. En düşük R_{ct} değerinin poli(L-Sis)/AuNP/KGE'a ait olduğu görülmüştür. Yüzey morfolojisi SEM ve EDX ile incelenmiştir.

Geliştirilen yöntem literatürde bulunmakta olan elektrokimyasal yöntemlerle kıyaslanmıştır ve literatürde yer alan çalışmalarla ilgili özet bilgi Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1 AS, PRO ve KAF'in eş zamanlı analizi için geliştirilen yöntemin, literatürde yer alan elektrokimyasal çalışmalarla karşılaştırılması.

Elektrot	Yöntem	Çalışılan Madde	Doğrusal Çalışma Aralığı, μM	LOD, μM	Uygulama	Kaynak
BDD ¹	KDV	AS	6,6 - 330,8	0,06	-	Silva vd. 2017
		PRO	4,3 - 217,1	0,022		
		KAF	5,2 - 205,98	0,031		
BDD	BIA-KDV	AS	13,2 - 330,8	1,98	-	Silva vd. 2017
		PRO	8,7 - 217,1	0,87		
		KAF	10,3 - 205,98	1,54		
CuO-Gr/GCE	DPV	AS	0,025 - 5,30	0,08	Tablet, Serum	Khoshhesab vd. 2015
		AA	0,025 - 5,30	0,011		
		KAF	0,025 - 5,30	0,01		
GrRGC	DPV	AS	0,0 - 50,0	4,23	Tablet, idrar	Lourenção vd. 2009
		KAF	0,0 - 50,0	6,33		
Nafion®HNT/GCE	DPV	AS	0,6 - 14,0	0,011	Tablet, İdrar	Kalaiyarasi vd. 2017
		KAF	0,6 - 20,0	0,173		
TiO ₂ @PMDA/Pd/GCE	DPV	AS	0,005 - 3,5	0,0019	-	Lotfi vd. 2021
		KAF	0,05 - 4,5	0,0239		
GCE-M221-Fe ₃ O ₄	DPV	AS	50 - 2000	16	-	Tjahjanto vd. 2019
		KAF	50 - 900	23		
Ag-ZIF-67/GCE	DPV	AS	0,1 - 70,0	0,04	Tablet, kapsül	Wang vd. 2023
		KAF	0,5 - 300,0	0,06		
3D-baskılı sensör	DPV	AS	0,0 - 148,6	2,84	Tablet, İdrar	Katseli vd. 2020
		KAF	0,0 - 115,9	2,01		
GE	DPV	AS	5,0-150,0	0,2	Tablet	Stoytcheva vd. 2023
		KAF	5,0-60,0	0,2		
Poli(L-Sis)/AuNP/KGE	KDV	AS	0,023 - 90,0	0,007	Serum ve tablet	Bu çalışma
		PRO	0,009 - 1,0; 1,0 - 30,0	0,003		
		KAF	0,0454 - 600,0	0,136		

Elektrotların yüzey alanı Rendles-Sevcik denklemi kullanılarak hesaplanmıştır ve çıplak KGE için $0,63 \pm 0,03 \text{ cm}^2$, L-Sis/KGE için; $0,67 \pm 0,02 \text{ cm}^2$, Au/KGE için; $0,69 \pm 0,02$

cm², poli(L-Sis)/AuNP/KGE için; 0,75±0,02 cm² olarak hesaplanmıştır. En büyük yüzey alanın poli(L-Sis)/AuNP/KGE'a ait olduğu görülmüştür.

AS, PRO ve KAF'in elektrokimyasal davranışı poli(L-Sis)/AuNP/KGE yüzeyinde incelenmiştir. AS ve KAF'in difüzyon PRO'nun adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlenmiştir.

Kalibrasyon grafikleri çizilerek LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. AS, PRO ve KAF'in LOD değerleri sırasıyla 0,007 µM, 0,003 µM ve 0,136 µM olarak tespit edilmiştir. Elde edilen veriler son yıllardaki literatür çalışmaları ile karşılaştırılmıştır.

Geliştirilen modifiye elektrot için tekrarlanabilirlik ve tekrarüretebilirlik çalışması yapılmıştır. Tekrarlanabilirlik için hesaplanan %BSS %10'un, tekrarüretebilirlik için hesaplanan %BSS %5'in altında kaldığı görülmüştür.

Girişim yapan 9 türün etkisi incelenmiş ve AS, PRO ve KAF analitlerinin molar derişimini aşmaması durumunda girişim etkilerinin önemli derecede olmadığı tespit edilmiştir.

Geliştirilen modifiye elektrotun tablet ve sentetik serumunda %GK çalışması yapılmış olup %GK değerleri; Parol Plus tabletlerinde AS, PRO ve KAF için %100,96 - %102,93 arasında değişmekteyken, sentetik serumda ise %GK değerleri AS, PRO ve KAF için %96,76 - %103,97 arasında değişmektedir. AS, PRO ve KAF'in analizi için poli(L-Sis)/AuNP/KGE'un başarılı bir şekilde uygulandığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abdüloğlu, Y. (2018). Diazo grup içeren iletken polimerlerin elektrokimyasal ve elektrokromik özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 54, Denizli.
- Alhedabi, T. Cattey, H. Roussel, C. Blondeau-Patissier, V. Gharbi, T. and Herlem, G. 2017. Experimental and theoretical studies on electropolymerization of polar amino acids on platinum electrode. *Materials Chemistry and Physics*, 185, 183-194.
- Aryal, S. Remant, B. K. C. Dharmaraj, N. Bhattarai, N. Kim, C. H. and Kim, H. Y. 2006. Spectroscopic identification of SAu interaction in cysteine capped gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 63(1); 160-163.
- Awotunde, O. Okyem, S. Chikoti, R. and Driskell, J. D. 2020. Role of free thiol on protein adsorption to gold nanoparticles. *Langmuir*, 36(31); 9241-9249.
- Aydar, S. 2019. Modifiye karbon pasta elektrotlar kullanılarak bazı kozmetik ürünlerde kullanılan maddelerin voltametrik tayini. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.
- Bayraktepe, D. E. and Yazan, Z. 2022. Two-layered Au@ Ag Bimetallic Nanocomposites-poly (L-Met) Platform for Highly Sensitive Chlorpheniramine Maleate Detection. *Electroanalysis*, 34(3); 445-454.
- Borowiec, J. Wei, L. Zhu, L. and Zhang, J. 2012. Multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode for sensitive determination of ketoconazole. *Analytical methods*, 4(2); 444-448.
- Chang, B. Y. and Park, S. M. 2010. Electrochemical impedance spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 3, 207-229.
- Demirtaş, H. Şengel Türk C. 2021. Altın Nanopartiküller ve kanserde kullanımları. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 45(1); 70-95.
- Dehnavi, A. and Soleymanpour, A. 2021. Silver nanoparticles/poly (L-cysteine) nanocomposite modified pencil graphite for selective electrochemical measurement of guaifenesin in real samples. *Measurement*, 175, 109103.

- Dokur, E. Gorduk, O. and Sahin, Y. 2020. Differential pulse voltammetric determination of folic acid using a poly (cystine) modified pencil graphite electrode. *Analytical Letters*, 53(13); 2060-2078.
- El-Deab, M. S. Sotomura, T. and Ohsaka, T. 2005. Morphological selection of gold nanoparticles electrodeposited on various substrates. *Journal of the Electrochemical Society*, 152(11); C730.
- Emre, D. 2006. Propifenazon, parasetamol ve kafeini birlikte içeren farmasötik preparatlardan bu maddelerin kapiler elektroforez yöntemiyle aynı anda analizi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Engelhardt, G. Mauz, A. B. and Pairet, M. 1997. Role of caffeine in combined analgesic drugs from the point of view of experimental pharmacology. *Arzneimittelforschung*, 47(8); 917-927.
- Erden, S. and Yazan, Z. 2018. A New Sepiolite Clay/TiO₂/multiwall carbon nanotube modified carbon paste sensor for the adsorptive stripping square wave voltammetric analysis of vanillin in local food samples. *Rev Roum Chim*, 63, 977-986.
- Fernandes, D. M. Silva, N. Pereira, C. Moura, C. Magalhães, J. M. Bachiller-Baeza, B. and Freire, C. 2015. MnFe₂O₄@ CNT-N as novel electrochemical nanosensor for determination of caffeine, acetaminophen and ascorbic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 218, 128-136.
- Feyisa, T. Y. Kitte, S. A. Yenealem, D. and Gebretsadik, G. 2020. Simultaneous electrochemical determination of paracetamol and caffeine using activated glassy carbon electrode. *Anal Bioanal Electrochem*, 12(1); 93-106.
- Friebe, C. Hager, M. D. Winter, A. and Schubert, U. S. 2012. Metal-containing polymers via electropolymerization. *Advanced Materials*, 24(3); 332-345.
- Giljohann, D. A. Seferos, D. S. Daniel, W. L. Massich, M. D. Patel, P. C. Mirkin, C. A. 2010. Gold nanoparticles for biology and medicine. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(19); 3280-3294
- González-Velasco, J. 1994. The linear sweep voltametric method: An application to the study of reversible and irreversible processes. *Electroanalysis*, 6(9); 711-724.

- Grabowska, I. Hepel, M. and Kurzątkowska-Adaszyńska, K. 2021. Advances in design strategies of multiplex electrochemical aptasensors. *Sensors*, 22(1); 161.
- Habibi, B. Jahanbakhshi, M. and Abazari, M. 2014. A modified single-walled carbon nanotubes/carbon-ceramic electrode for simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 11, 511-521.
- Habibi, B. Abazari, M. and Pournaghi-Azar, M. H. 2012. A carbon nanotube modified electrode for determination of caffeine by differential pulse voltammetry. *Chinese Journal of Catalysis*, 33(11-12); 1783-1790.
- Hauser, P. C. 1998. Electroanalytical methods. In *Instrumental Multi-Element Chemical Analysis* (pp. 201-250). Springer Netherlands, Dordrecht.
- Hernández-Santos, D. González-García, M. B. García, A. C. 2002. Metal-nanoparticles based electroanalysis. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 14(18); 1225-1235.
- Himly, M. Jahn-Schmid, B. Pittertschatscher, K. Bohle, B. Grubmayr, K. Ferreira, F. Ebner, C. 2003. IgE-mediated immediate-type hypersensitivity to the pyrazolone drug propyphenazone. *Journal of allergy and clinical immunology*, 111(4); 882-888.
- Jadon, N. Jain, R. Sharma, S. and Singh, K. 2016. Recent trends in electrochemical sensors for multianalyte detection—A review. *Talanta*, 161, 894-916.
- Jayakrishnan, D. S. 2012. Electrodeposition: the versatile technique for nanomaterials. In *Corrosion protection and control using nanomaterials* (pp. 86-125). Woodhead.
- Kalaiyarasi, J. Meenakshi, S. Gopinath, S. C. and Pandian, K. 2017. Mediator-free simultaneous determination of acetaminophen and caffeine using a glassy carbon electrode modified with a nanotubular clay. *Microchimica Acta*, 184, 4485-4494.
- Kanbur, M. Eraslan, G. Beyaz, L. Silici, S. Liman, B. C. Altınordulu, Ş. and Atasever, A. 2009. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(2); 123-132.
- Kang, X. Wang, J. Wu, H. Liu, J. Aksay, I. A. and Lin, Y. 2010. A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol. *Talanta*, 81(3); 754-759.

- Katseli, V. Economou, A. and Kokkinos, C. 2020. A novel all-3D-printed cell-on-a-chip device as a useful electroanalytical tool: Application to the simultaneous voltammetric determination of caffeine and paracetamol. *Talanta*, 208, 120388.
- Khoshhesab, Z. M. 2015. Simultaneous electrochemical determination of acetaminophen, caffeine and ascorbic acid using a new electrochemical sensor based on CuO–graphene nanocomposite. *RSC advances*, 5(115); 95140-95148.
- Klevebrant, L. and Frick, A. 2022. Effects of caffeine on anxiety and panic attacks in patients with panic disorder: A systematic review and meta-analysis. *General Hospital Psychiatry*, 74, 22-31.
- Kordasht, H. K., Hasanzadeh, M., Seidi, F., & Alizadeh, P. M. (2021). Poly (amino acids) towards sensing: Recent progress and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 140, 116279.
- Kounaves, S. P. 1997. Voltammetric techniques. *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*, 709-726.
- Lotfi, S. Veisi, H. and Karmakar, B. 2021. A convenient strategy for the electrochemical evaluation of acetaminophen and caffeine in combined drugs and biological samples over TiO₂@ polymethyldopa/Pd nanocomposite functionalized glassy carbon electrodes. *Measurement*, 186, 110156.
- Lourenção, B. C. Medeiros, R. A. Rocha-Filho, R. C. Mazo, L. H. and Fatibello-Filho, O. 2009. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. *Talanta*, 78(3); 748-752.
- Mabbott, G. A. 1983. An introduction to cyclic voltammetry. *Journal of Chemical education*, 60(9); 697.
- Marken, F. Neudeck, A. and Bond, A. M. 2010. Cyclic voltammetry. *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*, 57-106.
- Mendoza, S. Bustos, E. Manríquez, J. and Godínez, L. A. 2015. Voltammetric techniques. *Agricultural and Food Electroanalysis*, 23-48.
- Mimica, D. Bedioui, F. and Zagal, J. H. 2002. Reversibility of the L-cysteine/L-cystine redox process at physiological pH on graphite electrodes modified with coenzyme B12 and vitamin B12. *Electrochimica Acta*, 48(4); 323-329.

- Mirceski, V. Komorsky-Lovric, S. and Lovric, M. 2007. Square-wave voltammetry: theory and application. Springer Science & Business Media.
- Mishra, R. K. Zachariah, A. K. and Thomas, S. 2017. Energy-dispersive X-ray spectroscopy techniques for nanomaterial. In Microscopy methods in nanomaterials characterization (pp. 383-405). Elsevier, New York.
- Mocanu, A. Cernica, I. Tomoaia, G. Bobos, L. D. Horovitz, O. and Tomoaia-Cotisel, M. 2009. Self-assembly characteristics of gold nanoparticles in the presence of cysteine. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 338(1-3); 93-101.
- Mody, V. V. Siwale, R. Singh, A. and Mody, H. R. 2010. Introduction to metallic nanoparticles. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, 2(4); 282.
- Mohammed, A. and Abdullah, A. 2018,. Scanning electron microscopy (SEM): A review. In Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics-HERVEX, Băile Govora, (7-9); Romania.
- Monteiro, M. K. S. Santos, E. C. M. M. Silva, D. R. Martínez-Huitle, C. A. and Dos Santos, E. V. 2020. Simultaneous determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations and synthetic urine using cork-modified graphite electrodes. Journal of Solid State Electrochemistry, 24, 1789-1800.
- Nematollahi, D. Shayani-Jam, H. Alimoradi, M. and Niroomand, S. 2009. Electrochemical oxidation of acetaminophen in aqueous solutions: Kinetic evaluation of hydrolysis, hydroxylation and dimerization processes. Electrochimica Acta, 54(28); 7407-7415.
- Pakchin, P. S. Nakhjavani, S. A. Saber, R. Ghanbari, H. and Omid, Y. 2017. Recent advances in simultaneous electrochemical multi-analyte sensing platforms. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 92, 32-41.
- Phong, N. H. Toan, T. T. T. Tinh, M. X. Tuyen, T. N. Mau, T. X. and Khieu, D. Q. 2018. Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, paracetamol, and caffeine using electrochemically reduced graphene-oxide-modified electrode. Journal of Nanomaterials, 3(2); 12-45.
- Prescott, L. F. 2000. Paracetamol: past, present, and future. American journal of therapeutics, 7(2); 143-148.

- Ralph, T. R. Hitchman, M. L. Millington, J. P. and Walsh, F. C. 2006. The reduction of l-cystine in hydrochloric acid at mercury drop electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 587(1); 31-41.
- Ralph, T. R. Hitchman, M. L. Millington, J. P. and Walsh, F. C. 1994. The electrochemistry of L-cystine and L-cysteine: part 1: thermodynamic and kinetic studies. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 375(1-2); 1-15.
- Ramachandran, A. Jaeschke, H. (2018). Acetaminophen toxicity: novel insights into mechanisms and future perspectives. *Gene expression*, 18(1); 19.
- Sadok, I. Tyszczyk-Rotko, K. and Nosal-Wiercińska, A. 2016. Bismuth particles Nafion covered boron-doped diamond electrode for simultaneous and individual voltammetric assays of paracetamol and caffeine. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 235, 263-272.
- Sawynok, J. 2011. Caffeine and pain. *PAIN®*, 152(4); 726-729.
- Sawant, J. D. Patil, K. K. and Gokavi, G. S. 2019. Kinetics and mechanism of oxidation of paracetamol by an Anderson-type 6-molybdocobaltate (III) in acidic medium. *Transition Metal Chemistry*, 44, 153-159.
- Sebokolodi, T. I. Sipuka, D. S. Tsekeli, T. R. Nkosi, D. and Arotiba, O. A. 2022. An electrochemical sensor for caffeine at a carbon nanofiber modified glassy carbon electrode. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4); 2536-2544.
- Sen, D. and Lazenby, R. A. 2024. Electrochemical biosensor arrays for multiple analyte detection. *Analysis & Sensing*, 4(2); e202300047.
- Shaikshavali, P. Reddy, T. M. Venkataprasad, G. and Gopal, P. 2017. Fabrication, characterization and application of poly (L-Cystine)/multi walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode towards the simultaneous determination of dopamine in presence of uric acid and folic acid. *Anal. Bioanal. Electrochem*, 9, 940-955.
- Silva, W. P. Silva, L. A. França, C. H. Sousa, R. M. Muñoz, R. A. and Richter, E. M. 2017. Square-wave voltammetric determination of propyphenazone, paracetamol, and caffeine: Comparative study between batch injection analysis and conventional electrochemical systems. *Electroanalysis*, 29(8); 1860-1866.4

- Silistreli K. 2011. Kayseri il merkezinde erişkin hastalara polikliniklerde yazılan ve analjezik, antipiretik ilaç içeren reçetelerin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kayseri.
- Stoytcheva, M. Zlatev, R. Velkova, Z. Gochev, V. Meza, C. Valdez, B. ... and Toscano-Palomar, L. 2023. The validity of using bare graphite electrode for the voltammetric determination of paracetamol and caffeine. *International Journal of Electrochemical Science*, 18(5); 100120.
- Švorc, L. 2013. Determination of caffeine: a comprehensive review on electrochemical methods. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(4); 5755-5773.
- Thomas, S. H. 1993. Paracetamol (acetaminophen) poisoning. *Pharmacology & Therapeutics*, 60(1); 91-120.
- Tjahjanto, R. T. and Andawiyah, R. A. 2019. Simultaneous voltammetric detection of acetaminophen and caffeine base on cassava Starch—Fe₃O₄ nanoparticles modified glassy carbon electrode. *Chemosensors*, 7(4); 49.
- Uygun, Z. O. 2022. IgG'nin tayini için kapasitif bir biyosensör geliştirilmesi. *Ege Tıp Dergisi*, 61(1); 8-14.
- Wang, S. Zhang, J. Gharbi, O. Vivier, V. Gao, M. and Orazem, M. E. 2021. Electrochemical impedance spectroscopy. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1); 41.
- Wang, J. Yin, F. Tang, W. Zhang, N. Li, L. Zheng, S. and Guo, J. 2023. Electrochemical detection of acetaminophen and caffeine using Ag nanoparticles doped metal-organic framework (ZIF-67) composites. *International Journal of Electrochemical Science*, 18(11); 100334.
- Yayla, C.T. 2013. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte rhein'in etkileri. *Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Edirne.*
- Yoshino, K. Hayashi, S. and Sugimoto, R. I. 1984. Preparation and properties of conducting heterocyclic polymer films by chemical method. *Japanese Journal of Applied Physics*, 23(12A); L899.
- Zakaria, N. D. Omar, M. H. Ahmad Kamal, N. N. Abdul Razak, K. Sönmez, T. Balakrishnan, V. and Hamzah, H. H. 2021. Effect of supporting background electrolytes on the nanostructure morphologies and electrochemical behaviors of

electrodeposited gold nanoparticles on glassy carbon electrode surfaces. ACS Omega, 6(38); 24419-24431.

Zen, J. M. and Ting, Y. S. 1997. Simultaneous determination of caffeine and acetaminophen in drug formulations by square-wave voltammetry using a chemically modified electrode. *Analytica Chimica Acta*, 342(2-3); 175-180.

Zor, E., Bingol, H., Ramanaviciene, A., Ramanavicius, A., Ersoz, M. (2015). An electrochemical and computational study for discrimination of d-and l-cystine by reduced graphene oxide/ β -cyclodextrin. *Analyst*, 140(1), 313-321.

