



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BİYOLOJİK NUMUNELERDE ANTİ KANSER İLACIN
ELEKTROKİMYASAL TESPİTİ İÇİN MODİFİYE CAM
KARBON SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Ghazaleh KHOLAFAZADEHASTAMAL

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nevin ERK

ANKARA

2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİYOLOJİK NUMUNELERDE ANTİ KANSER İLACIN
ELEKTROKİMYASAL TESPİTİ İÇİN MODİFİYE CAM
KARBON SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Ghazaleh KHOLAFAZADEHASTAMAL

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nevin ERK

ANKARA

2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**BİYOLOJİK NUMUNELERDE ANTİ KANSER İLACIN ELEKTROKİMYASAL TESPİTİ İÇİN MODİFİYE CAM KARBON SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ghazaleh Kholafazadehastamal

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalında

Ghazaleh Kholafazadehastamal tarafından hazırlanan “**BİYOLOJİK NUMUNELERDE ANTİ KANSER İLACIN ELEKTROKİMYASAL TESPİTİ İÇİN MODİFİYE CAM KARBON SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/07/2024

Prof. Dr. Bengi USLU

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Gizem TIRIS

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Raportör

Prof. Dr. Nevin ERK

Ankara Üniversitesi

Üye

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

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Biyolojik Numunelerde Anti Kanser İlacın Elektrokimyasal Tespiti İçin Modifiye Cam Karbon Sensör Geliştirilmesi

Sunitinib (SUNI), kanser tedavisinde hayati öneme sahip güçlü bir tirozin kinaz inhibitörüdür ve biyolojik ve farmasötik sistemlerde detaylı analizler için hassas tespit gerektirir. Bu çalışmada, sentezlenmiş grafitik karbon nitrür ($g-C_3N_4$) ve $CoNiO_2$ bimetalik oksit nanopartikülleri ($g-C_3N_4/CoNiO_2$) ile modifiye edilmiş bir cam karbon elektrot (GCE) kullanan sofistike bir elektrokimyasal sensör sunulmuştur. Sensörün SUNI oksidasyonu için elektrokatalitik yetenekleri titizlikle karakterize edilerek, 52,0 nM'lik hesaplanmış bir tespit limiti (LOD) ile olağanüstü performans sergilediği gösterilmiştir. Kompozitin başarılı sentezi ve bütünlüğü, çeşitli teknikler kullanılarak titizlikle karakterize edilmiştir. FT-IR analizi, moleküler yapısına dair bilgiler sağlayarak $g-C_3N_4/CoNiO_2$ 'nin başarılı sentezini doğrulamıştır. XRD, FE-SEM, SEM-EDX ve BET analizleri, malzemenin yapısal bütünlüğünü, yüzey morfolojisini ve elektrokatalitik performansını kolektif olarak doğrulamıştır. Yükleme hacmi, konsantrasyon, elektrolit çözeltisi türü ve pH gibi temel analitik parametrelerin optimizasyonu, $g-C_3N_4/CoNiO_2$ 'nin elektrokatalitik algılama yeteneklerini artırmıştır. $g-C_3N_4$ ve $CoNiO_2$ bimetalik oksit nanopartikülleri arasındaki sinerjistik etkileşim, sensörü SUNI'nin elektriksel oksidasyonunda son derece etkili hale getirmiştir. 0,1-83,8 μM konsantrasyon aralığında, anod tepe akımı doğrusal bir artış göstermiş ve sensörün hassasiyetini doğrulamıştır. $g-C_3N_4/CoNiO_2$ sisteminin, idrar, insan serumu ve kapsül formları da dahil olmak üzere çeşitli örneklerde SUNI tespiti için uygulanması, %97,1 ile %103,0 arasında değişen tatmin edici geri kazanımlar elde etmiştir. Bu umut verici sonuç, geliştirilen sensörün biyolojik ve farmasötik izleme uygulamaları için potansiyelini vurgulamaktadır.

Anahtar Sözcükler: Antikanser Ajanlar, Biyolojik Numuneler, Grafitik Karbon, Sunitinib, Voltametri.

SUMMARY

Development of a Modified Glassy Carbon Sensor for Electrochemical Detection of Anti-cancer Drug in Biological Samples

Sunitinib (SUNI), a potent tyrosine kinase inhibitor vital in cancer treatment, demands precise detection for insightful analysis within biological and pharmaceutical systems. In this study, we present a sophisticated electrochemical sensor employing a glassy carbon electrode (GCE) modified with synthesized graphitic carbon nitride (g-C₃N₄) and CoNiO₂ bimetallic oxide nanoparticles (g-C₃N₄/CoNiO₂). The sensor's electrocatalytic capabilities for SUNI oxidation were meticulously characterized, demonstrating exceptional performance with a calculated detection limit (LOD) of 52,0 nM. The successful synthesis and integrity of the composite were confirmed through meticulous characterization using various techniques. FT-IR analysis affirmed the successful synthesis of g-C₃N₄/CoNiO₂ by providing insights into its molecular structure. XRD, FE-SEM, SEM-EDX, and BET analyses collectively validated the material's structural integrity, surface morphology, and electrocatalytic performance. Optimization of key analytical parameters, such as loading volume, concentration, electrolyte solution type, and pH, enhanced the electrocatalytic sensing capabilities of g-C₃N₄/CoNiO₂. The synergistic interaction between g-C₃N₄ and CoNiO₂ bimetallic oxide nanoparticles executed the sensor highly effective in the electrical oxidation of SUNI. Across a concentration range of 0,1-83,8 µM, the anodic peak current exhibited a linear increase, affirming the sensor's precision. Application of the g-C₃N₄/CoNiO₂ system to detect SUNI in a variety of samples, including urine, human serum, and capsule dosage forms, obtained satisfactory recoveries ranging from 97,1% to 103,0%. This promising outcome underscores the potential of the developed sensor for applications in biological and pharmaceutical monitoring.

Keywords: Anticancer Agents, Biological Samples, Graphitic Carbon, Sunitinib, voltammetry.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser	1
1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Etken Madde	2
1.2.1. Sunitinib'in Moleküler Yapısının Elektroaktif Özellikleri	3
1.3. Sunitinib Tayini için Uygulanan Güncel Analiz Yöntemleri	3
1.3.1. Elektroanalitik Yöntemler	5
2. GEREÇ VE YÖNTEM	6
2.1. Tez Kapsamında kullanılan Yöntemler	6
2.1.1. Elektroanalitik Kimya	6
2.1.1.1. Elektrokimyasal Hücreler	6
2.1.1.1.1. Galvanik Hücreler	7
2.1.1.1.2. Elektrolitik Hücreler	7
2.1.1.2. Elektrokimyasal Reaksiyonlar ve Kütle Aktarımı	7
2.1.1.3. Elektrolitler	8
2.1.1.4. Elektrotlar	9
2.1.1.4.1. Çalışma Elektrodu	9
2.1.1.4.2. Referans Elektrodu	9
2.1.1.4.3. Karşıt Elektrodu	10
2.1.2. Çeşitli Elektrokimyasal Yaklaşımlar	11
2.1.2.1. Potansiyometrik Sensörler	11
2.1.2.2. Amperometrik Sensörler	11
2.1.2.3. Kondüktometrik Sensörler	11
2.1.2.4. Voltametrik Sensörler	11
2.1.2.4.1. Döngüsel Voltametri	12
2.1.2.4.2. Diferansiyel Darbe Voltametri	14
2.1.2.4.3. Empedans Spektroskopisi	15
2.2. Deneyde Kullanılan Araç ve Gereçler	16
2.2.1. Kimyasallar	16
2.2.2. Kullanılan Çözeltiler	16
2.2.2.1. Destekleyici Elektrolitlerin Hazırlanması	16
2.2.2.1.1. Asetat tamponun hazırlanması	16
2.2.2.1.2. Fosfat tamponun hazırlanması	17
2.2.2.1.3. Sitrata tamponun hazırlanması	17
2.2.2.1.4. Britton–Robinson (B-R) Tamponunun Hazırlanması	17
2.2.2.1.5. Potasyum Hidroklorür Tamponunun Hazırlanması	17
2.2.2.2. Gerçek Örnek Hazırlığı	17
2.2.3. Cihazlar	18
2.2.3.1. Potansiyostat/Galvanostat Cihazı	18
2.2.3.2. Karakterizasyon Cihazları	18
2.1.1.1. Yardımcı Cihazlar	19
2.2. Sentez	19
2.2.1. g-C ₃ N ₄ 'ün sentezlenmesi	19
2.2.2. g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ 'nin sentezlenmesi	19

2.2.2.1. g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ cam Karbon Elektrot Hazırlama	20
3. BULGULAR	21
3.1. g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ Karakterizasyonu	21
3.1.1. SEM Analizi	21
3.1.2. EDX Analizi	22
3.1.3. XRD Analizi	22
3.1.4. FTIR Analizi	23
3.1.5. BET Analizi	24
3.2. g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE'nin Elektrokimyasal karakterizasyonu	24
3.2.1. Modifiye Edilmemiş ve Modifiye Edilmiş Elektrotların Elektrokimyasal Özellikleri	24
3.2.1.1. Elektro-aktif Yüzey Alanı	26
3.3. Optimizasyon	27
3.3.1. Modifikatörün Optimizasyonu	27
3.3.2. Destekleyici Elektrolit Etkisi	28
3.3.3. pH'nın Etkisi	28
3.3.4. Geliştirilen Elektrodun Optimizasyonu	29
3.3.4.1. Tarama Hızı Çalışması	29
3.4. SUNI'nin Belirlenmesi için Analitik Yaklaşım	32
3.5. Analitik Performansın Değerlendirilmesi	34
3.5.1. Tekrarlanabilirlik	34
3.5.2. Tekrar edebilirlik	34
3.5.3. Yeniden Kullanılabilirlik	35
3.5.4. Seçicilik	35
3.6. Gerçek Örnek Analizi	36
4. TARTIŞMA	37
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	44

ÖNSÖZ

Sunitinib antikanser bir ilaç olup, birden fazla sinyal iletim yolunu etkili bir şekilde kesmesi nedeniyle, belirli tümörlerin tedavisi için dikkate değer bir aday olarak ortaya çıkmıştır. Sunitinib elektroaktif bir ilaç etken maddesi olup, bu tez kapsamında elektrokimyasal yönünde verdiği sinyaller incelenmiştir. Tez kapsamında Sunitinib etken maddesinin tayini için analitik açıdan belirlenen ortamda geliştirilen yöntemin parametreleri optimize edilmiş, etken maddenin kalibrasyon doğrusu oluşturulmuş ve validasyon parametreleri incelenmiştir. Uygun elektrokimyasal yöntem ve ortam belirlendikten sonra geliştirilen yöntemle Sunitinib'in biyolojik numunelerde ve farmasötik dozaj formunda analizi yapılmıştır. Yüksek lisans eğitimim boyunca çalışmalarımın bilimsellik dahilinde yürümesini sağlayan ve her konuda bana destek ve cesaret veren danışman hocam sayın Prof. Dr. Nevin ERK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Anabilim dalımız öğretim üyelerine yardımları ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim. Yüksek Lisans öğrenimim boyunca değerli katkılar sağlayan ve bu süre zarfında bana sıcak bir aile ortamı sağlayan Laboratuvar ekip arkadaşlarıma özellikle her zaman yanımda olan Dr. Wiem BOUALİ'ye teşekkür ederim. Ve desteklerini her zaman hissettiğim, her anımda yanımda olan bana hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen biricik aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
ΔG	Gibbs serbest enerji değişimi
ΔE_p	Potansiyel farkı
A	Elektrod alanı, cm ²
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
B-R	Britton–Robinson tampon
C	Prob molekülünün molar konsantrasyonu
c^0	Konsantrasyon, mol/cm ³
CE	Kapiller Elektroforez
CH ₄ N ₂ O	Üre
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	Kobalt nitrat heksahidrat
CV	Döngüsel Voltametri
D	Redoks prob molekülünün difüzyon katsayısı (D=7,26 10 ⁻⁶ cm ² /s)
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPV	Differansiyel Darbe Voltametrisi
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli
E_{pc}	Katodik pik potansiyeli
E^0	Standart elektrot potansiyeli
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EDX	Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
i_p	Pik akımı, amper
FDA	US Food and Drug Administration
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
g-C ₃ N ₄	Grafitik Karbon Nitrür
GCE	Cam karbon elektrot
H ₂ PtCl ₆	Kloroplatinik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
HNO ₃	Nitrik Asit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPTLC	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
H ₂ SO ₄	Sülfürik Asit
ISE	İyon-Seçici Elektrot
KCl	Potasyum Klorür
KNO ₃	Potasyum Nitrat
LC/MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi

LOD	Tespit Limiti
LOQ	Kantitasyon Limiti
$\mu\text{g/ml}$	Mikrogram/mililitre
MTKI	Çoklu Hedefli Tirozin Kinaz İnhibitörleri
n	Elektrokimyasal tepkime sırasında aktarılan elektron sayısı
NaCl	Sodyum Klorür
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Nikel nitrat heksahidrat
nM	Nanomolar
PAN	Poliakrilonitril
PDGFR	Platelet-Derived Growth Factor Receptor
PTFE	Politetrafloroetilen
RCC	Renal Hücreli Karsinom
RH	Bağıl nem
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
RSD	Göreceli Standart Sapma
SPE	Katı Aşama Ekstraksiyonu
SUNI	Sunitinib
SWV	Kare Dalga Voltametri
PDGFR	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptör: Hücre büyümesi ve bölünmesi ile ilişkili reseptörler.
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
UV	Ultraviolet
ν	Tarama hızı, ν/s
VEGFR	Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptör: Kan damarlarının büyümesini düzenleyen reseptörler
XRD	X-ışını Kırınımı

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Sunitinib'in kimyasal yapısı	3
Şekil 2.1. Potansiyometrik elektrokimyasal hücrenin şematik gösterimi	10
Şekil 2.2. Tersinir $O + ne \leftrightarrow R$ redoks süreci için şematik bir döngüsel voltammogram	14
Şekil 2.3. Faradayik empedans spektrumları Nyquist grafiği şeklinde gösterilmiştir	15
Şekil 3.1. g-C ₃ N ₄ ve g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ 'yi gösteren SEM görüntüleri	21
Şekil 3.2. A (g-C ₃ N ₄) ve B (g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂)'nin EDX spektrumu	22
Şekil 3.3. g-C ₃ N ₄ ve g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ 'nin XRD spektrumu	23
Şekil 3.4. g-C ₃ N ₄ ve g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ , FT-IR spektrumları	23
Şekil 3.5. g-C ₃ N ₄ Azot adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi, g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ Azot adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi	24
Şekil 3.6. DPV analizi 10 µM SUNI (pH 6,0) B-R tampon çözeltisinde: (a) boş B-R tamponu, (b) çıplak GCE, (c) g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE	25
Şekil 3.7. (A); CV'ler (a) boş, (b) g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE, (B); 0.1 M KCl çözeltisinde 5.0 mM [K ₃ (CN)] ₆ ^{3-/4-} için CV'ler (a) modifiye edilmemiş GCE, (b) farklı tarama hızlarında (10.0–500.0 mV/s) g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE yüzeyinde	26
Şekil 3.8. EIS'den elde edilen Nyquist diyagramları (a) çıplak GCE, (b) g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GC	27
Şekil 3.9. (A); pH seviyesi 2,0'dan 9,0'a kadar değişen ortamda 0,1 mM SUNI'nin g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE üzerindeki DPV analizleri, (B); pH değerlerinin SUNI (b) pik akımı ve (a) pik potansiyeli üzerindeki etkisinin incelenmesi	29
Şekil 3.10. SUNI'nin g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE yüzeyinde elektrokimyasal oksidasyon mekanizması	30
Şekil 3.11. (A); g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE üzerinde 0,1 mM SUNI'nin çeşitli tarama hızlarında (25-225 mV/s) CV'leri, (B); SUNI'nin I _{pa} 'sı ile v ^{1/2} arasındaki doğrusal korelasyon, (C); SUNI'nin log I _{pa} 'sı ile log v arasındaki doğrusal ilişki, (D); E _{pa} ile ln v arasındaki ilişki (25-225 mV tarama hızları), (E); Akımın log'u ile pik potansiyeli arasındaki Tafel grafiği	31
Şekil 3.12. B-R tamponunda (0,1 M, pH 6,0) 0,1 µM ile 83,8 µM arasında SUNI için g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE üzerinde DPV, (küçük resim); SUNI konsantrasyonlarının bir fonksiyonu olarak I _{pa} grafiği	33
Şekil 3.13. g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE'nin tekrarlanabilirlik değerlendirilmesi	34
Şekil 3.14. g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE'nin tekrar edilebilirliğinin değerlendirilmesi	34
Şekil 3.15. SUNI varlığında, 100 kat çeşitli enterferansların varlığında g-C ₃ N ₄ /CoNiO ₂ /GCE'nin seçiciliğinin değerlendirilmesi	35

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Sunitinib için çeşitli yöntemler ile yapılan çalışmalar	4
Çizelge 3.1. Kalibrasyon regresyon sonuçları	33
Çizelge 3.2. İdrar, insan plazması ve kapsül dozaj formunda SUNI tespiti	36



1. GİRİŞ

1.1. Kanser

Kanser, çok hücreli organizmaların yaygın bir hastalığıdır ve genellikle bir grup genin ekspresyonundaki çeşitli değişikliklerden kaynaklanan anormal hücre büyümesine yol açar. Bu değişiklikler, hücre çoğalması ile hücre ölümü arasındaki dengeyi bozar ve sonunda dokulara yayılabilir, hatta metastaz yapabilir. Tedavi edilmezse, kanser ciddi sağlık sorunlarına ve hatta ölüme yol açabilir (Alberts, 1973).

Kanser, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Küresel demografik özellikler, önümüzdeki on yıllarda artan kanser insidansını öngörmekte olup, 2025 yılına kadar yıllık >20 milyon yeni kanser vakası beklenmektedir (Zugazagoitia vd., 2016).

Kanser hastaları için mevcut olan tipik standart tedavi seçenekleri cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve endokrin tedavisidir. Bu tedavi yöntemlerinin çeşitli katı tümör türlerinde hayatta kalma oranını artırdığı bildirilmektedir, ancak tedaviye bağlı toksisite, morbidite ve mortalitenin başlıca nedeni olarak öne çıkmaktadır. Son zamanlarda, moleküler biyoloji ve kanser immünolojisinin gelişimi, kanser tedavileri üzerinde önemli bir etki yaratmıştır. Tümörün moleküler profiline dayalı yeni tedavi stratejileri, geleneksel sitotoksik kemoteraplere ek olarak tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ'ler) gibi tedavi seçeneklerini de içermektedir (AboulMagd ve Abdelwahab, 2021).

Tirozin kinaz reseptörleri, fibroblast büyüme faktörü reseptörleri, trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörleri (PDGFR'ler), vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörleri (VEGFR'ler) ve bunların ligantları da dahil olmak üzere, tümör büyümesi ve anjiyogeneizde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. VEGFR antagonisti veya antikorları gibi VEGF sinyalini inhibe eden maddeler, klasik antikanser tedavilerinden kaynaklanan direnci aşabilecek güçlü antikanser etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Sunitinib, sorafenib, aksitinib ve pazopanib gibi çeşitli tirozin kinaz inhibitörleri (MTKI'ler), çok hedefli antikanser tedavisi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Shaheen vd., 2001).

1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Etken Madde

Geleneksel kanser tedavileri değişen başarı oranları sergilerken, çok hedefli ilaçların ortaya çıkması farklı kanser tipleri ile mücadelede yeni olanaklar sunmuştur (Chen vd., 2015). Bunlar arasında, birden fazla sinyal iletim yolunu etkili bir şekilde kesmesi nedeniyle Sunitinib (SUNI), belirli tümörlerin tedavisi için dikkate değer bir aday olarak ortaya çıkmıştır (Levitzi, 2013). FDA tarafından çeşitli kanserlerin tedavisi için onaylanan bu farmasötik ajan, birden fazla reseptör tirozin kinazını hedefleyerek hastalıkla başarıyla mücadele etme vaadini taşımaktadır (Nazari-Vanani vd., 2017).

Sunitinib, RTK'lerin intraselüler tirozin kinaz domainini bloke edebilen küçük bir moleküldür ve hem doğrudan antikanser hem de anti-anjiyogenetik aktiviteye sahip bir oral indolin-2-on analogu olarak karakterize edilir (Grimaldi vd., 2007; Kim vd., 2014).

Preklinik denemelerde, Sunitinib epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), VEGFR2, PDGFRb, PDGFra ve KIT, RET ve Flt3 reseptörleri için seçicilik göstermiştir. SUNI in vivo biyomoleküler hedeflerini belirlemek için, epidermoidal kanser (A31), kolorektal kanser (Colo 205 ve HT-29), akciğer kanseri (NCI-H226 ve H460), meme kanseri (MDA-MB-435), prostat kanseri (PCB3M-luc) ve renal hücreli karsinom (RCC) (786-O) üzerinde farklı ekspresyon profilleri gerçekleştirilmiştir (Grimaldi vd., 2007). Sunitinib'in klinik benimseme ve kullanımı, onkolojik alandaki çok hedefli ilaçların artan önemini vurgular.

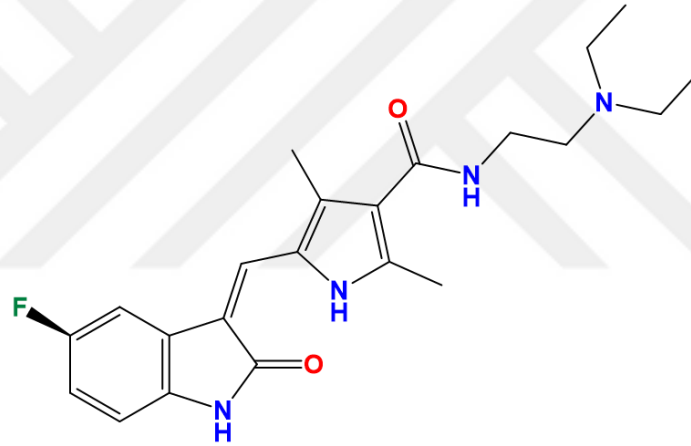
Bununla birlikte, Sunitinib'in umut verici özelliklerine rağmen, hepatotoksisite, renal toksisite, iştahsızlık ve cilt renginde değişiklik gibi advers etkileri endişe vericidir (Sodergren vd., 2014). Bu istenmeyen sonuçlar, SUNI'nin tümör dışı dokularda birikmesine bağlanabilir.

Mevcut durumda, antikanser tedavi protokolleri, ilaç dozajı hesaplamalarında genellikle dış faktörleri (örneğin, eşzamanlı ilaçlar) ve bireysel faktörleri (örneğin, emilim, metabolizma) göz ardı ederek, sıklıkla hastanın vücut yüzey alanına dayanmaktadır. Bu durum, ilaç plazma konsantrasyonunda değişkenliklere ve yanlış dozajlamaya neden olabilir. Bu faktörler göz önüne alındığında, Sunitinib tespiti biyolojik sıvılardaki SUNI konsantrasyonunu kontrol etmek için doğrulanmış bir analitik süreçten elde edilen hassas ve maliyeti etkin güvenilir bir izleme sistemi oluşturmak esastır (Zotti vd., 2017).

1.2.1. Sunitinib'in Moleküler Yapısının Elektroaktiflik Özellikleri

Sunitinib, indolin-2-on bazlı sentetik bir ilaçtır. SUNI'nin yapısal kompozisyonu, aromatik halkalar ve azot atomları ile zenginleştirilmiş olup, bu yapısı sayesinde elektrokimyasal reaksiyonlara katılma potansiyeline sahiptir.

SUNI, konjuge bir pirrol-indolin-2-on çekirdeğine sahiptir ve oldukça bazik bir azot atomu içeren bir sübstituent (N,N-diethylaminoethyl fonksiyonel grubu) taşır. Bu fonksiyonel grup, protonlanmış formda molekülün suda çözünürlüğünü sağlar. SUNI'nin yapısındaki indolin-2-on ve pirrol bileşenleri, molekülün elektroaktif özelliklerine katkıda bulunur. Bu yapısal özellikler, molekülün oksidasyon ve indirgeme davranışlarını belirlemede önemli rol oynar (Zotti vd., 2017).



Şekil 1.1. Sunitinib'in kimyasal yapısı.

1.3. Sunitinib Tayini için Uygulanan Güncel Analiz Yöntemleri

Yayınlanmış yöntemlerin çoğunluğunun (%57) LC/MS/MS (Sıvı Kromatografi/Tandem Kütle Spektrometrisi) tekniklerini kullandığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, UV spektrofotometri, kemilüminesans, elektrokimyasal analizler, HPTLC (Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi), HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi), UHPLC (Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve CE (Kapiller Elektroferez) gibi çeşitli yöntemler de kullanılmaktadır. Sunitinib belirlenmesi için kullanılan analitik yöntemlerin örnekleri Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Sunitinib için çeşitli yöntemler ile yapılan çalışmalar.

Yöntem	Doğrusal Aralık (µg/ml)	Teshis Tayin Sınırı (µg/ml)	Uygulama	Geri Kazanım Oranı (%)	Kaynak
spektrofotometri	2-12	0,291	Kapsül	98,19-98,62	(Kavitha vd., 2016)
kemilüminesans	1-154	0,40	Plazma	75-117,8	(Pellizzoni vd., 2016)
spektroflorimetri	0,08-5,00	0,041	Kapsül	100,8-108,3	(Arıcı ve Kılınç, 2010)
Elektrokimyasal	0,018-18,77	0,0009	Serum / idrar	97-102	(Yarahmadi vd., 2019)
HPTLC	0,027-0,438	0,023	Kapsül	90-110	(Hajmalek vd., 2016)
Kılcal elektroforetik	500-50000	70000	idrar	96,0-100,4	(Rodríguez vd., 2015)
HPLC	0,05-5	0,027	kanser hastalarından alınan plazma örnekleri	Terapötik aralıkta	(Garrido-Cano vd., 2015)
HPLC	0,005-5	0,002	Saç	89-98	(Hooshmand ve Es' haggi, 2018)
			Tırnak	93-102	
			Plazma	84-87	
			İdrar	81-88	
LC/MS/ MS	0,0001-0,1	0,0001	Plazma	85-115	(Qiu vd., 2013)
UPLC/ MS-MS	0,0001-0,200	0,0001	Plazma	90,3-106,5	(Bouchet vd., 2011)
Turbo Flow LC/ MS/MS	1,0-150,0	1	insan plazması/serumu	89-117	(Couchman vd., 2012)

1.3.1. Elektroanalitik Yöntemler

Sunitinib analizi için kullanılan bir diğer analitik araç ise Diferansiyel Darbe Voltametri (DPV) yöntemidir. Bu elektrokimyasal analiz yönteminde, ilacın elektrooksidasyon sinyali +0,66 V'de (0,018–18,77 μ M konsantrasyon aralığında) nanokompozit modifiye karbon pasta elektrot (CPE) kullanılarak ölçülmüştür. Karbon pasta elektrotun modifikasyonu, poliakrilonitril (PAN) nanofiberler/ $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz oda sıcaklığında yapılmış ve 0,04 M Britton-Robinson (B-R) tamponu (pH 8,5) kullanılmıştır. Bu yayınlanmış yöntem, asetonitril kullanılarak çöktürme sonrası serumda ve santrifüjleme sonrası idrar örneklerinde SUNI belirlenmesinde kullanılmış ve geri kazanımlar %97-102 arasında elde edilmiştir (Yarahmadi vd., 2019).

Elektrokimyasal uygulamalar, elektrot yüzeylerinin modifikasyonu sayesinde daha seçici ve hassas yüzeylerin yanı sıra artan katalitik aktivasyon sağlamaları nedeniyle giderek daha önemli hale gelmektedir. Elektrokimyasal teknikler, optimize edilmiş deneysel koşullar altında nanokompozit $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2$ kullanılarak elektrot yüzeyinin modifikasyonu ile farmasötik formlarda ve biyolojik numunelerde SUNI'nin belirlenmesi için pratik bir araç sunar.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Tez Kapsamında Kullanılan Yöntemler

2.1.1. Elektroanalitik Kimya

Elektrokimya bilimi, çözelti/elektrot arayüzündeki elektron transferi ile ilgilenir (Zoski, 2007). Elektrikli cihazlar aracılığıyla kontrol edilebilen elektronik yük kaymaları ile madde dönüşümlerini atomik ölçekte analiz eden ve tanımlayan bir bilimdir (Lefrou vd., 2012). Elektrokimya, elektronları reaktif olarak kullanarak seçici oksidatif veya indirgemeli dönüşümler sağlamak için çok hafif ve atom verimli bir yöntem sunar. Bu nedenle, diğer sert ve genellikle toksik kimyasal indirgeme ve oksidasyon ajanlarının kullanımını önler (Schotten vd., 2020).

2.1.1.1. Elektrokimyasal Hücreler

Elektrokimyasal hücreler, kimyasal enerjinin elektrik enerjisine ve elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüşmesine aracılık eder. Basit bir elektrokimyasal düzenek, bir güç kaynağı, bir reaksiyon çözeltisi ve güç kaynağına bağlı iki elektrotlardan oluşur. Reaksiyon çözeltisi, bir çözücü, substrat(lar) ve gerekirse bir elektrolit ve ek maddelerinden oluşur. Her iki elektrot üzerinde ayrı elektrokimyasal reaksiyonlar gerçekleşir. Anot oksidasyon elektrodu olarak tanımlanır, katot ise indirgeme elektrodu olarak tanımlanır. Oksidasyon ve indirgeme reaksiyonlarının her ikisi de birbirine bağlıdır ve biri diğerinin olmadan gerçekleşmez. İlgi duyulan reaksiyonun gerçekleştiği elektrota çalışma elektrodu, ikinci elektrota ise karşıt elektrot denir (Schotten vd., 2020).

Oksidasyon/indirgeme reaksiyonlarının benzersiz bir yönü, elektron transferinin oksitleyici ajan ve indirgeme ajanının fiziksel olarak birbirinden ayrıldığı bir elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilebilmesidir (Bagotsky, 2005).

Elektrokimyasal hücreler, Galvanik ve Elektrolitik olmak üzere iki alt tipe ayrılır.

2.1.1.1.1. Galvanik Hücreler

Elektrotlar bir iletken aracılığıyla birbirine bağlandığında kendiliğinden ($\Delta G < 0$) gerçekleşen reaksiyonlara sahiptir (Zoski, 2007). Bu hücrelerdeki iki elektrot üzerindeki reaksiyonlar genellikle kendiliğinden ilerler ve bir akım, anotdan katoda dış bir iletken aracılığıyla elektron akışını üretir. Galvanik hücreler kendiliğinden çalışır ve deşarj sırasındaki net reaksiyona kendiliğinden hücre reaksiyonu denir. Bataryalar genellikle daha yüksek gerilimler üretebilmek için seri bağlanmış birkaç hücreden oluşur.

2.1.1.1.2. Elektrolitik Hücreler

Elektrolitik bir hücre ise bir elektrokimyasal süreci sürüklemek için Ters akım potansiyelinden fazla bir potansiyelin uygulanmasını gerektirir ($\Delta G > 0$) (Zoski, 2007). Bir elektrolitik hücreye karşılık olarak işlem için harici bir elektrik enerji kaynağı gerektirir (Bagotsky, 2005).

2.1.1.2. Elektrokimyasal Reaksiyonlar ve Kütle Aktarımı

Kütle transferi, maddelerin, örneğin iyonların, bir yerden başka bir yere hareketidir (Bagotsky, 2005). Reaktanlar, elektrot yüzeyine üç mekanizma ile taşınır: Difüzyon, Migrasyon ve Konveksiyon. Ürünler de elektrot yüzeylerinden aynı yollarla uzaklaştırılır.

Difüzyon: Moleküllerin, konsantrasyon gradyanını takip ederek kendiliğinden hareket etmesidir. Bu bileşikler, yüksek konsantrasyon bölgelerinden daha düşük konsantrasyon bölgelerine hareket eder ve bir konsantrasyon dengesi sağlanana kadar bu hareket devam eder. Difüzyon hızı, doğrudan konsantrasyon farkıyla orantılıdır.

Konveksiyon: Moleküllerin, dışarıdan uygulanan mekanik enerjinin etkisi altında fiziksel hareketle elektrotlara taşınmasıdır. Bu, çözeltinin akışı veya karıştırılması, elektrotların titretilmesi veya döndürülmesi ile ya da doğal olarak yoğunluk gradyanları nedeniyle gerçekleşebilir.

Migrasyon: Yüklü parçacıkların elektrik alanlar boyunca hareket etmesidir. Bu yük hareketi bir akım oluşturur ve bu akım da potansiyelle birlikte artar. Migrasyon, anyonların

pozitif elektrota ve katyonların negatif elektrota çekilmesine neden olur. Çoğu elektro-kimya türünde analit türlerinin migrasyonu istenmeyen bir durumdur. Analit türlerinin migrasyonu, hücrede yüksek konsantrasyonda bir destek elektroliti olarak adlandırılan inert bir elektrolit bulundurarak en aza indirgenebilir. Hücredeki akım, bu durumda öncelikle destek elektrolitinden gelen iyonlar tarafından taşınan yüklerden kaynaklanır. Destek elektroliti ayrıca hücrenin direncini azaltmaya hizmet eder, voltaj kaybını azaltır (Bagotsky, 2005).

Kütle transferi, toplu çözeltiden elektrot yüzeyine doğru gerçekleşir ve bu, reaksiyon hızını sınırlayabilir (Zoski, 2007).

2.1.1.3. Elektrolitler

Elektrokimyasal reaksiyonlar ve süreçler genellikle, çözünen iyonlar içeren bir çözücüde (destekleyici elektrolit veya sadece elektrolit olarak adlandırılır) meydana gelir ve bu ortam, elektrokimyasal hücrede elektrot potansiyelinin kontrol edilmesi ve/veya ölçülmesi için gerekli olan iyon hareketliliğini sağlar. Elektroliz çözeltisinde, bir potansiyel uygulandığında katyonlar indirgenir ve anyonlar oksitlenir (Zoski, 2007).

Çözeltideki analit, anodda oksitlenerek anodik akım oluşturabilir. Bu akım genellikle negatif yüklüdür. Analit ayrıca katotta indirgenerek katodik akım oluşturabilir, bu akım genellikle pozitifdir. Elektroliz çözeltisi, elektrotlara ve elektrotlardan kütle transfer hızını, elektronların bir elektrottan diğerine geçiş hızını ve reaktanlar ve ürünler arasındaki etkileşimi belirler.

Elektrolitler, iletkenliği artırmak, çift tabaka ve migrasyon akımı etkilerini en aza indirmek amacıyla eklenir. Bir elektrolit, çözücü içinde çözünür olmalı ve elektroaktif madde ve elektrolitik ürünlere karşı inert olmalıdır.

Kontrollü potansiyel deneylerinde destekleyici elektrolitler kullanmak, çözelti direncini azaltmak ve iyonik gücü sabit tutmak için gereklidir. Voltametrik ölçümlerin seçiciliği, elektrolitin bileşimine bağlı olarak etkilenebilir. Destekleyici elektrolit, hızlı bir şekilde oksitlenmemeli veya indirgenmemelidir (Wang, 2007).

2.1.1.4. Elektrotlar

Elektrokimyasal bir hücrede üç elektrot bulunur: çalışma elektrodu (WE), referans elektrodu ve yardımcı/karşıt elektrot (Wang, 1995).

2.1.1.4.1. Çalışma Elektrodu

Farklı malzemelerden ve geometrilerden çalışma elektrotları elde edilebilir. Bu elektrotlar, platinyum, cam karbon, gümüş, altın ve cıva damlalarına kadar çeşitlilik gösterir. Cam karbon elektrotlar (GCE'ler), elektrokimyasal sensörlerde diğer türlere göre bir dizi avantaj sunarak tercih edilen elektrotlar olarak öne çıkar. Kimyasal dirençleri, çeşitli çözüm ortamlarında sağlam performans sağlar ve yüksek yüzey alanı, elektrokimyasal reaksiyonların duyarlılığını artırır. GCE'ler, düşük arka plan akımları sergileyerek tespit limitlerini ve genel duyarlılığı artırır. Yüksek elektriksel iletkenlikleri sayesinde hızlı ve güvenilir ölçümler yapılabilir. Özellikle, GCE'lerin biyouyumluluğu, biyolojik örnekleri içeren uygulamalara uygun hale getirir. Ayrıca, yüzey modifikasyonunun tekrarlanabilirliği ve kolaylığı, maliyet etkinliği ve sensör uygulamalarında özelleştirme sağlar (Galvão vd., 2023; Kaynar vd., 2023).

Genellikle, katı elektrotlar su dışı çözücüler ve pozitif potansiyeller için tercih edilir. Katı elektrotlar, genellikle cilalama, sonikasyon veya WE'nin potansiyelini döngüsel olarak değiştirme ile dikkatli bir şekilde cilalanmalıdır. Çalışma elektrodu farklı immobilizasyon teknikleri ile modifiye edilebilir.

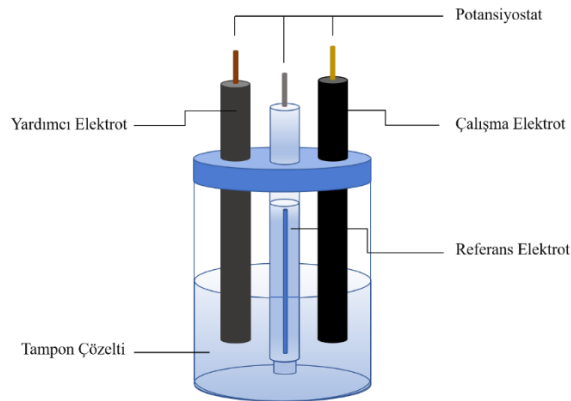
2.1.1.4.2. Referans Elektrot

Nernst davranışına göre tersinir yarı reaksiyonlar vermelidir ve zamanla sabit bir potansiyel sağlamalıdır. Sıcaklık döngüleri sırasında düşük histerezis göstermeli ve küçük bir akım uygulanmasının ardından orijinal potansiyeline geri dönmelidir. Bilinen ve stabil elektrot potansiyellerine sahip olup, reaksiyonlar sırasında sabit kalmaları gerekmektedir. Bu potansiyel stabilitesi, redoks reaksiyonlarına katılan moleküllerin sabit konsantrasyonlarına sahip redoks sistemleri kullanılarak sağlanır. Ayrıca, bu elektrotlar kolayca monte edilebilir ve bakımı yapılabilir olmalıdır.

Elektrokimyasal hücrelerin yarı hücrelerini oluşturarak, geri kalan yarı hücre potansiyelinin analiz edilip belirlenmesine olanak tanır. Referans elektrotlar; sulu elektrotlar, sulu olmayan elektrotlar veya psödo-referans elektrotlar olarak sınıflandırılabilir. Elektroanalitik deneylerde yaygın olarak kullanılan referans elektrotlar arasında gümüş-gümüş klorür (Ag-AgCl), kalomel, Cıva/Cıva (cıvalı) Oksit, Cıva/Cıva Sülfat, ve Bakır/Bakır Sülfat elektrodu bulunur. Ag-AgCl elektrodu, sulu elektrotlara bir örnektir ve hidrojen standart elektrotuna referansla potansiyele sahiptir. Bir cam tüp içinde gümüş klorürle anodize edilmiş bir gümüş telden oluşur ve bu tel, konsantre KCl veya NaCl çözeltisi ile temas halindedir. Yarı geçirgen bir tuz köprüsü, elektrodu kütle çözeltisinden izole eder. Sulu referans elektrotlar, su dışı çözeltilerde kullanılmamalıdır; aksi takdirde, büyük bağlantı potansiyelleri deneysel sonuçları etkileyebilir. Kalomel elektrotları 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda kullanılamazken, Ag/AgCl elektrotları kullanılabilir (Skoog vd., 2014; Wang, 2007).

2.1.1.4.3. Karşıt Elektrot

Hücresinin üçüncü elektrodu olan yardımcı elektrot (Karşıt Elektrot), akımın uygulandığı veya ölçüldüğü devreyi sağlar. Tüm elektrokimya deneyleri (sıfır olmayan akımla) bir çalışma - yardımcı elektrot çiftine sahip olmalıdır. Yardımcı elektrodun potansiyeli genellikle ölçülmez ve çalışma elektrodunda meydana gelen reaksiyonu dengelemek için ayarlanır. Bu yapılandırma, referans elektrodun üzerinden akım geçirilmeden, çalışma elektrodunun potansiyelinin bilinen bir referans elektroduna karşı ölçülmesini sağlar. Çoğu deneyde, yardımcı elektrot basitçe bir akım kaynağı veya akım yutağıdır, bu nedenle grafit, altın veya platin gibi nispeten inert malzemeler idealdir, ancak zorunlu değildir (Pletcher vd., 2001; Scholz, 2010).



Şekil 2.1. Potansiyometrik elektrokimyasal hücrenin şematik gösterimi.

2.1.2. Çeşitli Elektrokimyasal Yaklaşımlar

2.1.2.1. Potansiyometrik Sensörler

Potansiyometrik sensörler, analit türünün aktivitesi ile iki elektrotlu sistemin potansiyel tepkisi arasındaki ilişkiyi belirleyen önemli bir elektrokimyasal sensör sınıfıdır (Yin ve Qin, 2013). İyon-seçici elektrotlar (ISE'ler), deneysel koşullar altında akım akışı olmaksızın, çalışma elektrodu (genellikle iyon-seçici olan) ile referans elektrot arasındaki potansiyel farklarını ölçer (Isildak ve Özbek, 2021).

2.1.2.2. Amperometrik Sensörler

Amperometrik sensör, kimyasal veya biyolojik bir materyalden ve sensör olayından analitik sinyali elektronik devreye aktaran elektrottan oluşan bir elektroanalitik tekniktir. Amperometrik sensörlerin ana işlevi, akım değişikliklerini ölçerek elektro-kimyasal analitlerin raporlanması ve izlenmesi ve etkili analit tespitidir. Algılama sürecinde, sinyal iletimi, dönüştürücünün potansiyelinin kontrol edilmesi ve akımın zamana bağlı olarak izlenmesi ile gerçekleştirilir (Dey vd., 2013).

2.1.2.3. Konduktometrik Sensörler

Konduktometrik sensör, yarı iletken bir kanal ile ayrılmış elektrotlardan oluşur. Bu nedenle, konduktometrik sensörün iletkenliği, ortamın bağıl nemi (%RH) arttıkça kademeli olarak artar. Özellikle, nem algılama gerektiren uygulamalarda malzeme seçiminde hidrofili, mükemmel gözeneklilik ve algılama katmanının suda çözünme zorluğu gibi gereksinimler karşılanmalıdır. Günümüze kadar, çevresel analiz, gıda ve içecek üretimi ve biyomedikal tanı uygulamalarında kullanılmak üzere ultra duyarlı biyolojik olarak aktif kimyasal sensörler ve iletken polimerler temelli sağlam sensörler de geliştirilmiştir (Akram vd., 2021).

2.1.2.4. Voltametrik Sensörler

Voltametrik teknikler, elektrokimyasal hücrelerdeki oksidasyon-redüksiyon prensibini kullanarak, çalışma elektroduyunun polarizasyonu altında uygulanan potansiyele göre akımın ölçülmesinden analit hakkında çeşitli bilgiler sağlar. Bu teknikler, farklı potansiyel uygulama

zamanları ve şekilleri ile akımın ölçülmesi arasındaki farklarla ayrılır. Bu farklılıklar, elektronların redoks reaksiyonlarındaki davranışı, difüzyon sabitleri, kantitatif analizler ve kimyasal reaksiyon hız sabitleri gibi çeşitli bilgilerin elde edilmesine imkan tanır (Gupta vd., 2011).

Voltametrik teknikler genellikle stripping ve stripping olmayan voltametrik teknikler olarak ikiye ayrılır. Stripping olmayan voltametrik teknikler arasında şunlar bulunur (Skoog vd., 2017):

- I. Döngüsel (CV) ve lineer taramalı voltametri
- II. Darbe ve kare dalga voltametri (SWV)

Voltametri sırasında, çalışma elektrodunun voltajı sistemli bir şekilde değiştirilirken akım yanıtı ölçülür. Bu teknikler, elektrokimyasal analizlerde geniş bir uygulama alanına sahiptir ve çeşitli analitik bilgilerin elde edilmesine olanak tanır.

2.1.2.4.1. Döngüsel Voltametri

Döngüsel voltametri (CV), genellikle redoks tepkimelerinin analizi için kullanılan bir elektroanalitik yöntemdir. Ayrıca, reaksiyon ara maddelerini incelemek ve ürün stabilitesini belirlemek için de kullanılır. CV, elektron transferi içeren reaksiyonların kinetiği, elektrokimyasal reaksiyonların analizi ve adsorpsiyon süreçleri hakkında bilgi sağlar. Nadiren de olsa nicel analizler için de kullanılabilir (Compton ve Banks, 2018; Gupta vd., 2011).

CV, çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin değiştirilmesi prensibine dayanır. Uygulanan potansiyellerin sonucunda elde edilen akımlar, potansiyostat tarafından ölçülür ve akım-potansiyel grafiği oluşturulur, buna da bir döngüsel voltamogram denir. Potansiyel hem ileri hem de geri yönde değiştirilirken akım ölçülür ve analiz edilir. Uygulanan potansiyel dalgasının eğimi, saniyede bir referans elektrotuna karşı ölçülen voltajda tarama hızını verebilir (Brady, 2013).

Bu süreçte döngüler elde edilir; bunlar seriler halinde, kısmi veya tam döngüler olabilir. CV voltammogramında ana parametreler, katodik piklerin pik potansiyelleri ve anodik piklerin pik akımlarıdır. Eğer elektron transferi süreci, difüzyon gibi diğer süreçlerden daha hızlı ise, bu süreç elektrokimyasal olarak tersine dönüşümlü kabul edilir ve pik ayrılması şu şekilde hesaplanır:

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 2,303 RT/nF$$

Voltamogramdaki pikler, elektrot yüzeyinin yanında difüzyon tabakasının oluşumuyla oluşur. Potansiyel taraması sırasında konsantrasyon ve mesafe profillerinin incelenmesi, piklerin net bir anlayışını sağlar. Ancak, hücrelerin direnci nedeniyle doğru değerler pratikte zor elde edilir. Geri dönüştürülebilir bir çift için, redüksiyon potansiyeli, matematiksel olarak şu şekilde temsil edilir:

$$E^0 = (E_{pc} + E_{pa}) / 2.$$

Gerçekleştirilebilecek bir çift için, pik akımı ile konsantrasyon orantılıdır. Bu, Randles-Sevcik ifadesiyle açıklanır:

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A c^0 D^{1/2} v^{1/2}$$

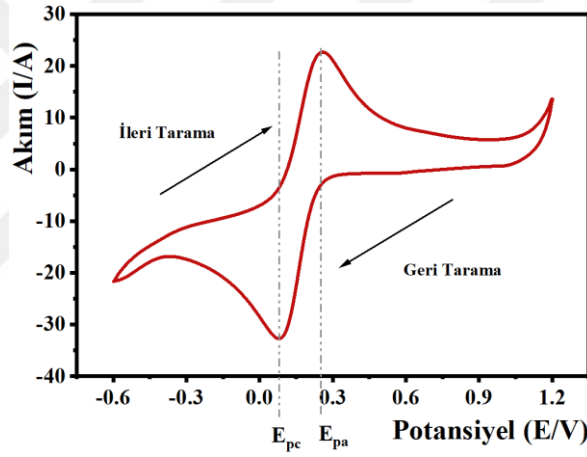
Burada, i_p pik akımı (amper), A elektrod alanı (cm^2), D difüzyon katsayısı (cm^2/s), c^0 konsantrasyon (mol/cm^3), ve v tarama hızıdır (V/s).

Bu tarama hızına bağımlılık, lineer difüzyonun, örneğin bir makroelektroda, gerçekleştiği durumlarda kütlenin taşınmasına kontrol edilen bir tepkime olduğunu gösterir. Tarama hızlarındaki artışlar, difüzyon için daha az zaman ve elektrotta difüzyon tabakasının kalınlığında bir azalma ile sonuçlanır (Elgrishi vd., 2018).

Elektrokimyasal tersine dönüşürlük ve kimyasal tersine dönüşürlük farklı kavramlardır. Kimyasal tersine dönüşürlük, analitin kimyasal yan reaksiyonlara karşı kararlılığını ifade ederken, elektrokimyasal tersine dönüşürlük, elektrot ile elektroaktif türler arasında hızlı elektron transferini ifade eder. Elektrokimyasal olarak tersine dönüşebilir bir reaksiyonda, elektron transferi kolay ve hızlıdır, bu nedenle Nernst dengesine ulaşılır. Ancak, tersine dönüşemeyen reaksiyonlarda, elektron transferi zor ve yavaştır, bu nedenle büyük bir aşırı potansiyel uygulanması gerekir, bu da geniş bir tepe aralığına yol açar.

Eğer elektrokimyasal bir reaksiyon geri dönüşümsüz ise, voltammogramda görülen anodik (E_{pa}) ve katodik (E_{pc}) tepe potansiyelleri arasındaki fark, tersine dönüşebilir reaksiyonlara göre daha büyük olacaktır. Bu fark, genellikle $0,059/n$ volt'tan daha fazla olur. Ancak, bu iki tepe potansiyelinin ortalaması hala E^0 (standart elektrot potansiyeli) için iyi bir ölçüm sağlar.

Bazı durumlarda, geri dönüşümsüz bir reaksiyonda ters bir tepe potansiyeli gözlemlenmeyebilir ya da beklenenden farklı veya bozuk bir şekle sahip olabilir. Bu durum, başlangıçta oluşan indirgeme ürününün daha ileri bir kimyasal reaksiyona girdiğini ve bu nedenle tam olarak geri dönüşmediğini gösterir. Özetle, geri dönüşümsüz elektrokimyasal reaksiyonlar, tepe potansiyelleri arasındaki farkın artması ve bazen tepe şekillerinin bozulması gibi özelliklerle karakterize edilir (Eggins, 2008).



Şekil 2.2. Tersinir $O+ne \leftrightarrow R$ redoks süreci için şematik bir döngüsel voltammogram.

2.1.2.4.2. Diferansiyel Darbe Voltametrisi

Darbe voltametrisinin amacı, faradaik ve faradaik olmayan akımlar arasındaki oranı artırarak voltametrik ölçümlerin tespit sınırını düşürmektir. Çeşitli darbe voltametrik yöntemler arasındaki fark, akım örnekleme prosedürü ve uyarma dalga formundan kaynaklanmaktadır.

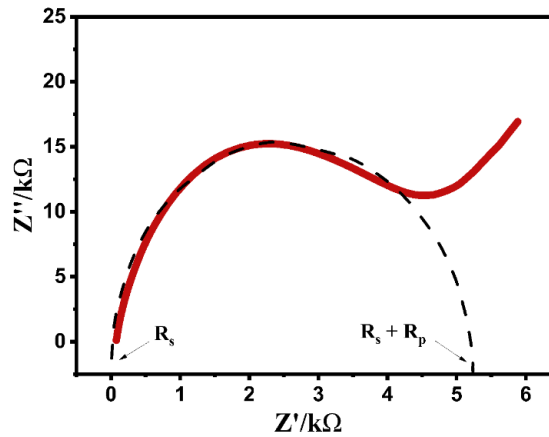
DPV, geniş bir yelpazedeki elektroaktif organik ve inorganik maddelerin iz miktarlarını belirlemek için yaygın olarak kullanılır (Bard ve Faulkner, 2001; Skoog vd., 2017). Akım ölçümleri iki noktada alınır: birincisi darbe uygulamadan önce ve ikincisi darbenin sonunda.

Ortaya çıkan diferansiyel darbe voltamogramları zirveler içerir ve bu zirvelerin yüksekliği, ilgi duyulan analitin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. DPV ölçümlerinde elde edilen zirve şeklindeki tepki, farklı türlerin redoks potansiyelleri arasında daha iyi bir çözünürlük sağlar. Yani, bu yöntemle yapılan ölçümlerde, her bir türün redoks tepkimesine ait zirveler daha belirgin ve ayrık olarak gözlemlenebilir, bu da hangi türün hangi potansiyele sahip olduğunu daha net bir şekilde göstermeye yardımcı olur. kantitasyon sadece benzer zirve potansiyeline değil, aynı zamanda zirve genişliklerine de bağlıdır. Zirve genişlikleri (yarı yükseklikte) elektron stokiyometrisi ile ilişkilidir. Çözünürlük ve seçicilikteki iyileştirmelere ek olarak, teknik, analitin kimyasal formu (oksidasyon durumu, kompleksleşme vb.) hakkında da bilgi sağlar (Kaifer, 1992).

2.1.2.4.3. Empedans Spektroskopisi

Empedans spektroskopisi, kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların özelliklerini incelemek ve elektrokimyasal reaksiyon hızlarını belirlemek için yararlı bir tekniktir. Bir devrede direnç, kapasitör ve indüktörler varken bir doğru veya alternatif akım geçtiğinde, bu akım empedans adı verilen karmaşık bir dirençle karşılaşır. Empedansın birimi Ohm (Ω) olarak ifade edilir. Elektrot-çözelti ara yüzeyindeki elektrokimyasal süreçleri tanımlamak için gözlemlenen empedans spektrumlarına uygun elektronik eşdeğer devre bileşenleri kullanılabilir (Wang, 2007).

Empedans, gerçekte ve sanal olmak üzere iki parçadan oluşan karmaşık (iki boyutlu) bir sayı olarak ifade edilir ve vektör düzleminde gösterilir. Gerçek kısım direnci (R), sanal kısım ise reaktansı (X) temsil eder (Adler vd., 2015).



Şekil 2.3. Faradayik empedans spektrumları Nyquist grafiği şeklinde gösterilmiştir.

2.2. Deneyde Kullanılan Araç ve Gereçler

2.2.1. Kimyasallar

Glikoz (%99,5), L-metionin, L-arjinin (%98,0), Sodyum hidroksit (NaOH), Potasyum heksasyanoferrat (III) ($K_3Fe(CN)_6$, %99,5), Hidroklorik asit (HCl), Askorbik asit, Ürik asit (%99,0), Potasyum nitrat (KNO_3), Potasyum klorür, Sodyum sülfat, Dopamin hidroklorür (%99,0) ve İnsan kan serumu, yüksek kaliteli ürünleriyle tanınan Sigma Aldrich Co. (Almanya) firmasından satın alınmıştır. Ayrıca, deneysel çalışmalarımıza katkı sağlamak amacıyla bir gönüllüden alınan idrar örneği kullanılmıştır. Britton-Robinson tamponu, deneylerimizde önemli bir bileşen olup, asetik asit, fosforik asit, borik asit ve potasyum klorür çözeltilerinden özenle hazırlanmıştır. Hassas pH ayarlamaları NaOH ve HCl kullanılarak yapılmıştır. Saf SUNI tozu ve kapsülleri, Dr. Reddy's Laboratories (İngiltere) firmasından temin edilmiştir. SUNI stok çözeltisi, çalışmanın bütünlüğünü korumak amacıyla yüksek saflıkta metanolde özenle hazırlanmıştır.

Bu çalışmada, tüm kimyasal bileşikler analitik derecede kullanılmış olup, ek rafinasyon gerektirmemiştir. Nanomalzemelerin sentezinde kullanılan kimyasallar, özellikle analitik saflık için seçilmiştir. Kobalt nitrat heksahidrat ($Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$), nikel nitrat heksahidrat ($Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) ve Üre (CH_4N_2O , %99,0) kalite taahhüdüyle tanınan Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. En yüksek saflık seviyesini sağlamak için, bu malzemelerin sulu çözeltileri 18 MΩ cm saflıkta deiyonize su kullanılarak titizlikle hazırlanmıştır.

2.2.2. Kullanılan Çözeltiler

2.2.2.1. Destekleyici Elektrolitlerin Hazırlanması

2.2.2.1.1. Asetat Tamponun Hazırlanması

İlk olarak, 136,0 gr sodyum asetat ve 77,0 gr amonyum asetat su içinde çözüldü ve aynı çözücü ile 1000,0 mL'ye kadar seyreltildi. Ardından, 250,0 mL asetik asit eklenip karıştırıldı.

2.2.2.1.2.Fosfat Tamponun Hazırlanması

68,0 gr potasyum dihidrojen fosfat su içinde çözüldü ve aynı çözücü ile seyreltildi. Tamponun pH değeri fosforik asit kullanılarak ayarlandı.

2.2.2.1.3.Sitrat Tamponun Hazırlanması

4,8 gr sitrik asit 80,0 mL su içinde çözüldü. Tamponun pH değeri 1,0 M sodyum hidroksit ve hidroklorik asit kullanılarak ayarlandı.

2.2.2.1.4.Britton–Robinson (B-R) Tamponunun Hazırlanması

Britton-Robinson tamponu için destekleyici elektrolitler borik asit, fosforik asit, potasyum klorür ve asetik asit çözeltileriydi ve pH değerleri 2,0 M NaOH ve HCl ile ayarlandı.

2.2.2.1.5.Potasyum Hidroklorür Tamponunun Hazırlanması

0,74 gr potasyum klorür 100,0 mL su içerisinde çözüldü. Tamponun pH'sı 1,0 M hidroklorür ve sodyum hidroksit kullanılarak ayarlandı.

2.2.2.2. Gerçek Örnek Hazırlığı

Bu araştırmada, sağlık sorunu olmayan bireylerden alınan idrar örnekleri kullanıldı. Örneklerin bütünlüğünü ve saflığını korumak için idrar, PTFE (0,45 µm) membran filtreler kullanılarak titizlikle süzüldü. Süzme işleminden sonra, belirli bir hacimde SUNI çözeltisi idrara eklenerek örnekler hazırlandı.

İnsan plazma örnekleri başlangıçta bir derin dondurucuda -17 °C'de muhafaza edilmekte olup, işlem yapılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Bu insan plazma örneklerini hazırlamak için, 1,0 mL SUNI plazmaya eklenerek, daha sonra içindeki proteinleri çöktüren 1,0 mL asetonitril eklenerek işlem yapıldı. Elde edilen örnekler daha sonra santrifüj tüplerine aktarıldı ve sonraki işlemler için kullanıldı. SUNI'nin değişen konsantrasyonlarını elde etmek için örneklerin seyreltilmesi, B-R tampon çözeltisi kullanılarak titizlikle gerçekleştirildi.

Bu örnek hazırlama protokolleri, SUNI'nin idrar ve plazma matrislerine hassas ve kontrollü bir şekilde tanıtılmasını sağlamak için geliştirildi. Süreç, sekiz SUNI kapsülünün hassas ölçümüyle devam etti, her bir kapsülün 0,4 mg SUNI içerdiği tespit edildi. Daha sonra, bu kapsüllerin içeriği dikkatlice ayrıldı ve boş kapsüllerin ağırlıkları ölçüldü. Farkı hesaplayarak, 1 mM SUNI çözeltisi oluşturmak için gerekli miktar SUNI elde edildi ve metanolde çözüldü. Çalışma çözeltileri seyreltme yöntemiyle oluşturuldu.

2.2.3. Cihazlar

2.2.3.1. Potansiyostat/Galvanostat Cihazı

Elektrokimyasal teknikler, farklı darbe voltametri (DPV), döngüsel voltametri (CV), ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), MetrohmAutolab potansiyostat/galvanostat sistemi (PGSTAT128N, Metrohm, Herisau, İsveç, NOVA 2.1.1 sürüm yazılımı) kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyler, bir cam karbon elektrot içeren bir elektrokimyasal hücrede yapıldı.

2.2.3.2. Karakterizasyon Cihazları

Malzemelerin görsel analizi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) kullanılmıştır. Yüksek çözünürlüklü mikrograflar ve elementel bileşim verilerini elde etmek için, 3.00 kV elektron demeti enerjisinde çalışan ZEISS Gemini SEM 560 kullanılmıştır. Yapısal bilgileri elde etmek için X-ışını kırınım (XRD) desenleri, 40 kV ve 20 mA'da çalışan Rigaku Smart Laboratory difraktometresi kullanılarak kaydedilmiştir. Ayrıca, kimyasal bağlar ve fonksiyonel gruplar, Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizi ile incelenmiştir. FT-IR spektrumları, Waltham, MA, ABD merkezli, bir enstrüman olan Perkin-Elmer Spectrum 400 FT-IR spektrometresi kullanılarak elde edilmiştir.

Tüm elektrokimyasal ölçümler, başka bir şekilde belirtilmedikçe 27,5 °C'de gerçekleştirildi.

2.2.3.3. Yardımcı Cihazlar

Karıştırma ve çözünmezleştirme işlemleri için ultrasonik banyo (ISOLAB modeli) kullanıldı. Çözeltileri hazırlamak için kullanılan Deiyonize Su SartoriusArium ComfortI-1-UV-T modeli cihaz kullanılarak temin edildi. Çözeltileri karıştırmak için Manyetik Karıştırıcı Isıtıcı (Velp Scientifica modeli) kullanıldı. Tartım işlemi için Analitik Elektronik Hassas Terazi (OHAUS modeli) kullanıldı. Destekleyici elektrolitin pH değeri bir pH metre (Hanna Instruments, Woonsocket, Rhode Island, ABD) ile izlendi ve pH çözeltisi 2,0 M NaOH ve HCl kullanılarak ayarlandı.

2.3. Sentez

2.3.1. g-C₃N₄'ın Sentezlenmesi

g-C₃N₄ sentezi, kalcinasyon yöntemi ile oldukça basit bir işlem olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, 1,0 g üre porselen bir kap içinde 550 °C'de 4 saat süreyle kalcine edilmiştir. Ardından, karışım oda sıcaklığına soğutulmuştur. Bu işlem sonucunda, hafif sarımsı bir g-C₃N₄ elde edilmiştir (Pecenek vd., 2023).

2.3.2. g-C₃N₄/CoNiO₂'nin Sentezlenmesi

g-C₃N₄/CoNiO₂, basit bir hidrotermal yöntemle sentezlenmiştir. İlk olarak, sentezlenen g-C₃N₄ (300 mg), 60 mL etil alkol içinde dispersiyon haline getirilmiştir. Ardından, 0,2 mmol Co(NO₃)₂·6H₂O, 0,4 mmol Ni(NO₃)₂·6H₂O ve metal iyonlarının aglomerasyonunu önlemek için stabilize edici ajan olarak kullanılan 0,4 mmol polivinilpirolidon (PVP) içeren bir karışım, 15 mL deiyonize su içerisinde homojen olarak dağıtılmıştır.

Karışım, metal nitratların ve PVP'nin homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak için 30 dakika ultrasonik işleme tabi tutulmuştur. Sonrasında, çözeltinin önceden sentezlenen g-C₃N₄ ile 30 dakika süreyle karıştırılması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışım, Teflon kaplı paslanmaz çelik bir otoklav içerisine yerleştirilmiş, kapatılmış ve 150°C'de 24 saat süreyle bekletilmiştir. Bu hidrotermal işlem, g-C₃N₄ matrisinde CoNiO₂ nanoparçacıklarının kristalleşmesini sağlamış ve böylece yapısal ve fonksiyonel özellikleri artırılmış bir kompozit

materyal elde edilmiştir. Daha sonra, elde edilen ürün oda sıcaklığına soğutulmuş ve su ve etanol ile birkaç kez yıkanmıştır. Son olarak, ürün 60°C'de bir fırında kurutulmuştur.

2.3.1.g-C₃N₄/CoNiO₂ Cam Karbon Elektrot Hazırlama

Camsı karbon elektrot (GCE), kusursuz durumda olmasını ve yüzey özelliklerini optimize etmek amacıyla titiz bir hazırlık sürecinden geçirilmiştir. İlk olarak, elektrot 5 dakika boyunca 0,05 mm alümina bulamaçları ile nazikçe parlatılarak kapsamlı bir cilalama işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra, elektrot etanol ile durulanmış ve ardından deiyonize su ile yıkanmıştır. Bu cilalama işleminin ardından, elektrot yüzeyi 15 dakika boyunca doğal olarak kuruması için bırakılmıştır.

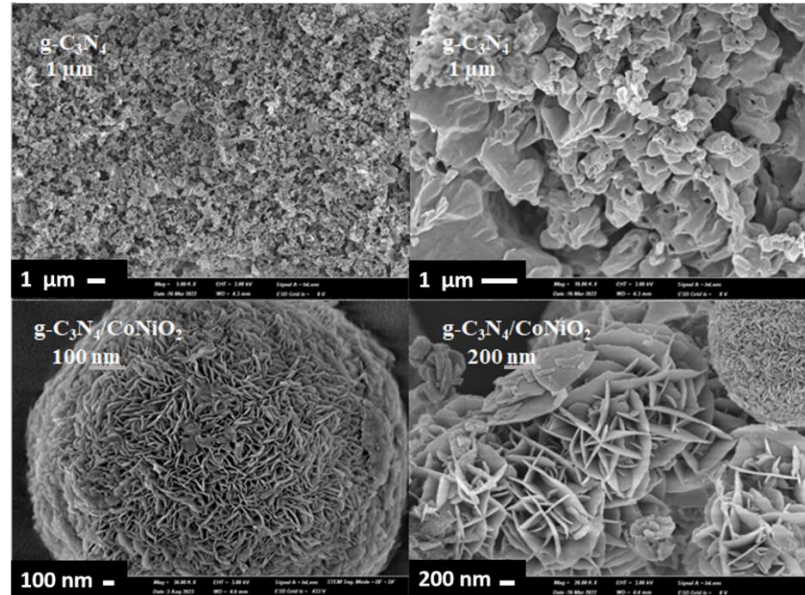
Nanokompozit g-C₃N₄/CoNiO₂'nin mükemmel dağılmasını sağlamak amacıyla, homojen bir çözelti elde etmek için ultrasonik işleme tabi tutulmuştur. Nanokompozitin çözeltisi hazırlandıktan sonra, önceden hazırlanmış ve optimize edilmiş g-C₃N₄/CoNiO₂ kompozitinin 6,0 µL'si (1,0 mg mL⁻¹) dikkatlice elektrotun temiz yüzeyine uygulanmıştır. Kaplanmış elektrot, hafif bir ısı kaynağı kullanılarak kontrollü bir kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Bu kurutma prosedürü, stabil ve homojen bir şekilde modifiye edilmiş bir elektrot yüzeyinin oluşmasını sağlamıştır.

3. BULGULAR

3.1. g-C₃N₄/CoNiO₂ Karakterizasyonu

3.1.1. SEM Analizi

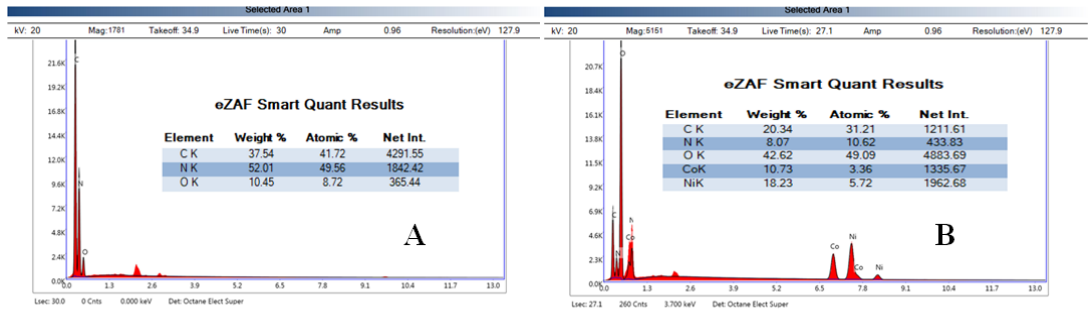
Şekil 3.1.'de gösterildiği gibi, g-C₃N₄ ve g-C₃N₄/CoNiO₂ örneklerinin morfolojisini düşük ve yüksek büyütmelerde incelemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Şekil 3.1., farklı büyütme oranlarında (1 µm, 100 nm, 200 nm) g-C₃N₄'ün yüzey morfolojisini SEM görüntüleriyle göstermektedir. 5,00-30,00 K büyütme aralığında, ortalama boyutları 1 µm-200 nm arasında değişen nanopartiküller elde edilmiştir. Saf g-C₃N₄ yüzeyinin ince bir tabaka şeklinde dağıldığı, homojen bir yüzey dokusu ve iyi dağılılabirlik sergilediği görülmektedir. g-C₃N₄, hidrotermal yöntemle CoNiO₂ nano tabakalar ile modifiye edilmiştir. CoNiO₂'nin g-C₃N₄ yapısına eklenmesiyle elde edilen g-C₃N₄/CoNiO₂'nin düşük ve yüksek büyütmedeki SEM görüntüleri Şekil 3.1.'de sunulmuştur. Sentetik g-C₃N₄/CoNiO₂ kompozitinin yapısında bir değişim gözlemlenmiş ve yapının küresel bir form kazandığı görülmüştür. Bu değişimin nedeni, PVP'nin anizotropik büyümeyi yönlendirerek partiküllerin nanoflor benzeri bir yapıda kümelenmesine yol açması olabilir (Zhang vd., 2014).



Şekil 3.1. g-C₃N₄ ve g-C₃N₄/CoNiO₂'yi gösteren SEM görüntüleri.

3.1.2. EDX Analizi

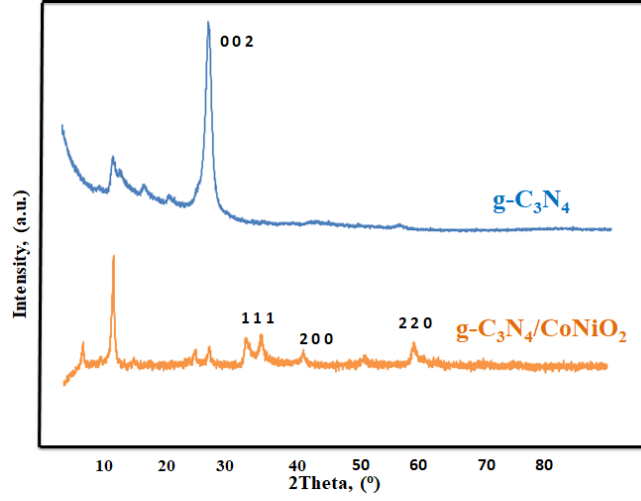
g-C₃N₄ yapısında birçok CoNiO₂ nanopartikülünün birbirine bağlı küresel morfoloji sergilediği açıkça görülmektedir. Şekil 3.2.'de, g-C₃N₄/CoNiO₂'nin EDX verilerinden elde edilen enerji dağılımlı X-ışını (EDX) analizi sunulmuştur ve bu analiz, O, C, Co, N ve Ni elementlerinin varlığını ve bu elementlerin atomik oranlarının uyumlu olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 3.2. A (g-C₃N₄) ve B (g-C₃N₄/CoNiO₂)'nin EDX spektrumu.

3.1.3. XRD Analizi

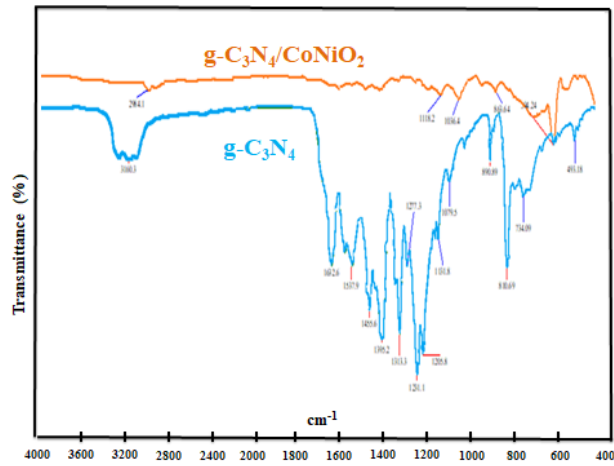
X-ışını kırınımı (XRD) analizi, hazırlanan örneklerin kristal yapısını karakterize etmek için yapılmıştır. Sentetik g-C₃N₄ ve g-C₃N₄/CoNiO₂'nin XRD spektrumları Şekil 3.3.'de gösterilmiştir. Bölüm B'de, metal oksitlerin kristalliliğinin karşılaştırılması ve başarılı bir şekilde oluşumlarının doğrulanması, elde edilen kırınım desenlerinin literatürde rapor edilen standart JCPDS desenleriyle kıyaslayarak sağlanabilir. Şekil 3.3.'de gösterildiği gibi, g-C₃N₄'ün XRD deseni, 27,1°'de belirgin bir pik ile, g-C₃N₄'ün katman yığılmasına atanan (0 0 2) düzlemlerine karşılık gelir (Linh vd., 2021). Hidrotermal büyüme sonrası g-C₃N₄/CoNiO₂ örneğinin tüm pikleri, g-C₃N₄ ile karşılaştırıldığında Şekil 3.3.'de görülen (1 1 1), (2 0 0) ve (2 2 0) düzlemlerine atanan üç kırınım pikidir ve bunlar CoNiO₂'nin JCPDS no.10-0188'e göre atanır. Yukarıda bahsedilen sonuçlar, g-C₃N₄/CoNiO₂'nin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir.



Şekil 3.3. g-C₃N₄ ve g-C₃N₄/CoNiO₂'nin XRD spektrumu.

3.1.4. FTIR Analizi

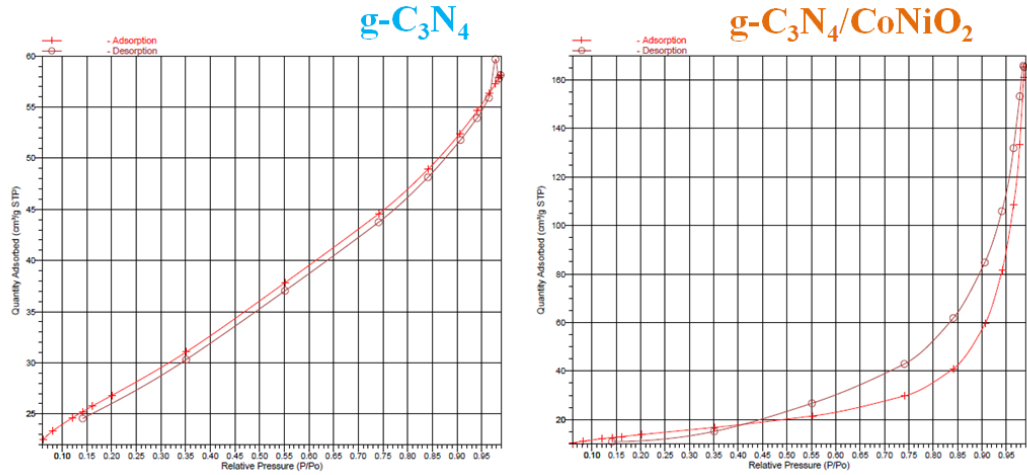
Sentezlenen g-C₃N₄ ve g-C₃N₄/CoNiO₂ malzemelerinde mevcut olan bağlar ve fonksiyonel gruplar araştırmak için Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4.). 1393 cm⁻¹'de merkezlenen pikler C-N'ye atandı. 1314,2 cm⁻¹'deki pik ise Co-Ni bağına aittir. Şekil 3.4.'de görüldüğü gibi, g-C₃N₄/CoNiO₂'deki karakteristik emilim bantları, yaklaşık olarak 803,69 cm⁻¹ ve 631,42 cm⁻¹'de gerilme titreşimi olan Co-O ve Ni-O'ya aittir. g-C₃N₄/CoNiO₂'nin FTIR spektrumu (Şekil 3.4.), CN titreşimli bağlara atfedilen ~1238 ve 1408 cm⁻¹'de emilim piklerinin görünümünü ortaya koymaktadır.



Şekil 3.4. g-C₃N₄ ve g-C₃N₄/CoNiO₂, FT-IR spektrumları.

3.1.5. BET Analizi

Barrett-Emmett-Teller (BET) yüzey alanı, gözenekli yapıların karakterizasyonu için önemli bir bilgidir. Sentezlenen yapıların yüzey ölçümü, gözenek boyutu ve hacmi, BET adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi tekniği kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen BET sonuçları, g-C₃N₄ için 43,2508 m²/g, g-C₃N₄/CoNiO₂ için ise 47,9785 m²/g olarak belirlenmiş ve bu da yapının gözenekli olduğunu göstermektedir. Gözenek boyutu (gözenek yarıçapı, hacim) hakkında bilgi sağlamak için Barrett-Joyner-Halenda (BJH) analizi kullanılmıştır. g-C₃N₄/CoNiO₂'nin gözenek boyutu ve hacmi sırasıyla yaklaşık 20,8 nm ve 0,249376 cm³/g'dir. g-C₃N₄/CoNiO₂ nanoyapısının büyük yüzey alanı, aktif bölgelerin varlığını doğrulamakta ve kolay iyon/elektron taşınımını sağlamaktadır.



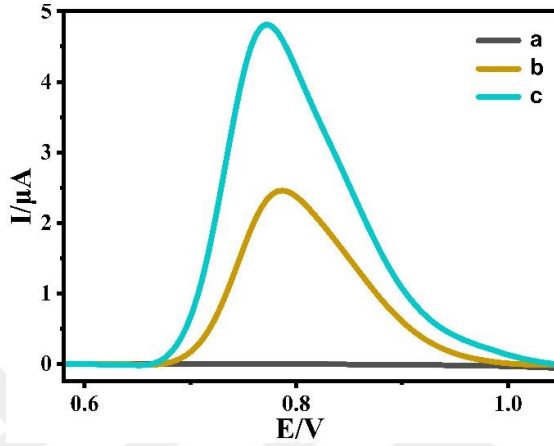
Şekil 3.5. g-C₃N₄ azot adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi, g-C₃N₄/CoNiO₂ azot adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi.

3.2. g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE'nin Elektrokimyasal Karakterizasyonu

3.2.1. Modifiye Edilmemiş ve Modifiye Edilmiş Elektrotların Elektrokimyasal Özellikleri

Elektrokimyasal özellikler, hem çıplak hem de modifiye edilmiş elektrotlar için CV, DPV ve EIS kullanılarak titizlikle incelendi. DPV, 0,1 mmol L⁻¹ SUNI'yi pH 6,0, 0,1 M B-R tampon çözeltisinde tespit etmek amacıyla modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş elektrotların elektrokimyasal aktivitesini araştırmak için kullanıldı. Şekil 3.6.'da gösterildiği gibi, SUNI'nin yokluğunda, değiştirilmiş GCE'nin voltammogramında ölçülebilir bir tepe

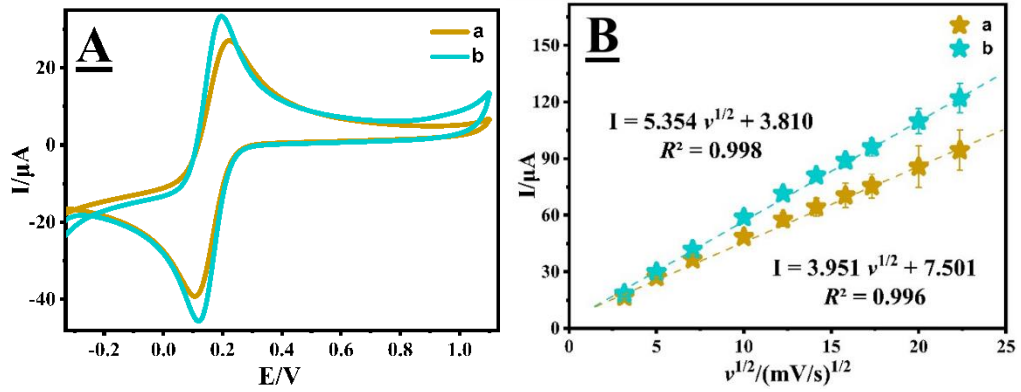
gözlenmedi. Ancak, $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ SUNI eklendiğinde, $0,79 \text{ V}$ 'de $2,4 \text{ }\mu\text{A}$ anodik tepe akımı gözlemlendi ve bu, çıplak GCE yüzeyinde SUNI'nin oksidatif sürecinin gerçekleştiğini ortaya koydu. Ayrıca, elektrot $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2$ nanokompozit ile modifiye edildiğinde, akımda belirgin bir artış gözlemlendi ve bu, geliştirilen elektrotun $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2$ varlığıyla artırılmış hassasiyetini vurgulamaktadır.



Şekil 3.6. DPV analizi $10 \text{ }\mu\text{M}$ SUNI ($\text{pH } 6,0$) B-R tampon çözeltisinde: (a) boş B-R tamponu, (b) çıplak GCE, (c) $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$.

Modifiye edilmiş ve çıplak elektrokimyasal sensör kurulumlarının elektrokimyasal yeteneklerini değerlendirmek için CV kullanıldı. Şekil 3.7., $5,0 \text{ mmol L}^{-1} [\text{K}_3(\text{CN})]_6^{3-/4-}$ çözeltisinde $0,1 \text{ M KCl}$ 'de ve 50 mV s^{-1} tarama hızında kaydedilen tipik CV'leri göstermektedir; bu, çıplak GCE ve $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$ konfigürasyonunu kullanarak gerçekleştirildi.

Şekil 3.7.'de, $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$ 'nin performansı ile değiştirilmemiş GCE'nin performansı karşılaştırıldığında belirgin bir fark ortaya çıkmaktadır. $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$, belirgin şekilde iyileştirilmiş tepe çözünürlüğü ve artan anodik ve katodik akımlar sergilemektedir. Ayrıca, tepe potansiyel ayrımında (ΔE_p) çıplak GCE'nin $109,9 \text{ mV}$ 'den $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$ 'nin $70,8 \text{ mV}$ 'ye düşüşü, modifiye edilen malzeme ile elde edilen geliştirilmiş elektrokatalitik verimliliği vurgulamaktadır. Bu bulgular, elektrot bileşimi ile $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2$ arasındaki dikkate değer sinerjiyi vurgulamakta ve elektrot arayüzünde verimli transferi teşvik ederek genel elektrokimyasal performansı artırmaktadır.



Şekil 3.7. (A); CV'ler (a) boş, (b) g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE, (B); 0,1 M KCl çözeltisinde 5,0 mM [K₃(CN)₆]^{3-/4-} (a) Çıplak GCE, (b) g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE CV'lerinin doğrusal korelasyonları (10,0–500,0 mV/s).

3.2.1.1. Elektro-aktif Yüzey Alanın Hesaplanması

Üretilen kompozit ile GCE'nin yüzey modifikasyonu, Randles-Sevcik denklemi kullanılarak elektrokimyasal aktif yüzey alanının hesaplanması ile doğrulandı:

$$I_{pa} = 2,69 \times 10^5 ACn^{3/2} D^{1/2} v^{1/2}$$

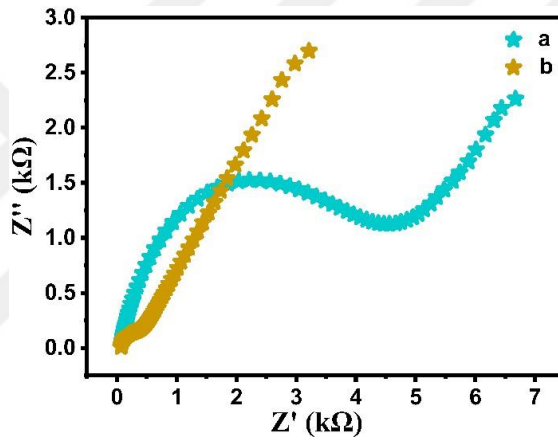
I_{pa} elektrokimyasal olarak aktif olan maddenin tepe akımı, A sensörün elektrokimyasal olarak aktif yüzey alanı, C prob molekülünün molar konsantrasyonu, n elektrokimyasal tepkime sırasında aktarılan elektron sayısı, D redoks prob molekülünün difüzyon katsayısı ($D=7,26 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) ve v tarama hızını gösterir.

Duyarlı elektrotların aktif yüzey alanlarını değerlendirmek için 5,0 mM [K₃(CN)₆]^{3-/4-} çözeltisi, 0,1 M KCl elektrolitinde çeşitli tarama hızlarında redoks probu olarak kullanıldı (Şekil 3.7.). Değiştirilmemiş GCE'nin yüzey alanı 0,113 cm² iken, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE 0,154 cm² yüzey alanı sergiledi.

Bu sonuçlar, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE'nin genişletilmiş aktif yüzey alanının daha fazla reaktif bölge sunduğunu ve bunların elektrot yüzeyinden probaya elektron iletiminde etkili kanallar olarak işlev gördüğünü vurgulamaktadır. Bu iyileştirme, elektrotun elektron transfer hızının artırılmasına katkıda bulunur. Sonuç olarak, elektron transfer kinetiğindeki bu iyileşme, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE nanokompozit yüzeyini, SUNI'nin belirlenmesi için sonraki deneylerde en uygun seçim haline getirmektedir.

EIS, elektrot yüzeyinin modifikasyon sonrası arayüz özelliklerini değerlendirmek için değerli bir yaklaşım olarak öne çıkmıştır. Şekil 3.8., her iki elektrotun da 5,0 mM $[K_3(CN)_6]^{-3/-4}$ ve 0,1 M KCl içeren çözeltide, 10 kHz ile 0,1 Hz arasındaki bir frekans aralığında ve 0,1 V potansiyelinde elde edilen Nyquist grafiklerini göstermektedir. Bu grafiklerde gözlenen çaplar, elektron transfer direncine (R_{ct}) dair değerli bilgiler sunmaktadır.

Şekil 3.8., çıplak GCE ve g- C_3N_4 /CoNiO₂/GCE'nin empedans özelliklerini göstermekte ve sırasıyla 5049,8 Ω ve 637,8 Ω R_{ct} değerlerini ortaya koymaktadır. Özellikle, kompozitin eklenmesi sonrasında elektrokimyasal sensörün empedansı önemli ölçüde azalmıştır. Bu sonuçlar, g- C_3N_4 /CoNiO₂ eklenmesinin GCE yüzeyinde iletkenliği artırarak elektrot yüzeyinden çevreye verimli elektron transferini sağladığını vurgulamaktadır.



Şekil 3.8. EIS'den elde edilen Nyquist diyagramları (a) çıplak GCE, (b) g- C_3N_4 /CoNiO₂/GCE.

3.3. Optimizasyon

3.3.1. Modifikatörün Optimizasyonu

Kompozit miktarı ve konsantrasyonu, elektrod aktivitesinde etkili bir faktör olarak elektrod yüzeyini değiştirmek için optimize edildi. Bu nedenle, istatistiksel verileri hesaplamak için oksidasyon akımı (I_{pa}) yanıt olarak seçildi.

Elektrot yüzeyindeki kompozit miktarı, modifiye edilmiş elektrodun voltametrik yanıtını önemli ölçüde etkiler. g- C_3N_4 /CoNiO₂ kompozitinin konsantrasyonu ve elektrod yüzeyi üzerindeki etkisi, 0,5 ila 2 mg mL⁻¹ arasında sistemli olarak incelendi. İncelenen çeşitli konsantrasyonlar arasında, hedef analitlerin oksidasyon tepkisinde dikkate değer bir artışın,

1,0 mg mL⁻¹ konsantrasyonda gözlemlendiği belirlendi. g-C₃N₄/CoNiO₂ konsantrasyonu 0 ila 1,0 mg mL⁻¹ arasında arttıkça, akım yüzdesinde dikkate değer bir artış gözlemlendi. Bu iyileştirme, artan adsorpsiyon fonksiyonel sitelerin ve genişleyen bir yüzey alanının artmasıyla ilişkilendirilir. Bununla birlikte, konsantrasyonlar 1,0 mg mL⁻¹'yi aştığında, mevcut bağlama sitelerinin birikimi veya aşırı genişlemesi nedeniyle net bir akım azalması ortaya çıkar.

3,0 ila 9,0 µL arasında değişen bir dizi g-C₃N₄/CoNiO₂ kompozit miktarının incelenmesi, elektrokimyasal elektrodun reaktivitesi ve duyarlılığı üzerindeki nüanslı etkiyi ortaya koydu. Maksimum oksidasyon pik akımı, kompozitin 6,0 µL'sinde ortaya çıktı. Ancak, bu eşiği aşmak, pik akımda fark edilir bir düşüşe yol açtı, muhtemelen modifiye katmanın elektrod yüzeyi ile azalan bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, ideal parametrelerin, 1,0 mg mL⁻¹ olarak belirlenen bir konsantrasyonda ve tam olarak 6,0 µL'lik bir kompozitin uygulanması olduğu belirlendi.

3.3.2. Destekleyici Elektrolit Etkisi

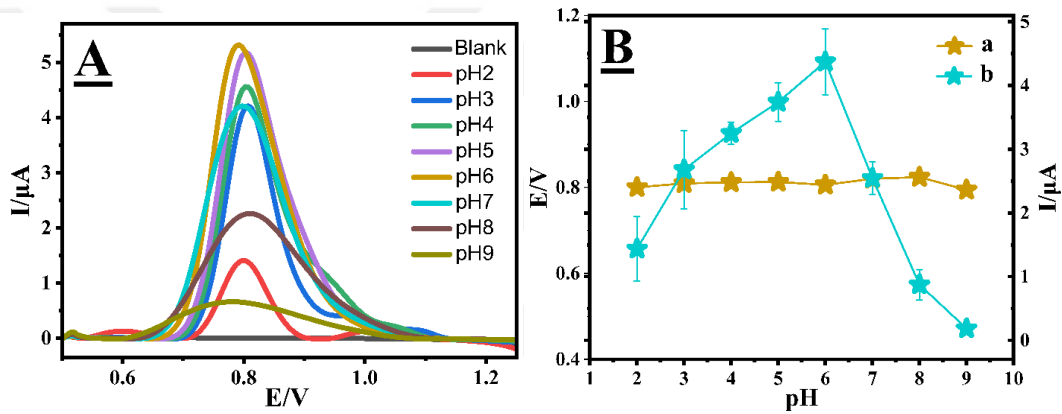
Destekleyici elektrolitin, çözeltinin iletkenliğini artırmak, Ohmik düşüş etkisini azaltmak, elektrotlara doğru elektroaktif türlerin elektrostatik çekimler yoluyla göçünü ortadan kaldırmak ve sabit bir iyonik mukavemet ve pH sağlamak için kullanıldığı iyi bilinmektedir. Ayrıca, destekleyici elektrolitin türü ve pH değeri, elektroaktif organik bileşiğin elektrokimyasal davranışı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir, yani pik akımı, pik potansiyeli ve pik şekli. Bu bağlamda, 0,1 mM SUNI'nin varlığında, Britton–Robinson tamponu (B-R), potasyum klorür (KCl), sodyum hidroksit (NaOH), Sitrat, Asetat ve fosfat tamponu da dahil olmak üzere çeşitli destekleyici elektrolitler test edildi. SUNI'nin yukarıda bahsedilen destekleyici elektrolit çözeltilerindeki pik akımları, DPV kullanılarak kaydedildi. SUNI'nin en yüksek DPV yanıtı asidik bir ortamda (pH 6,0) B-R tamponunda elde edildiğinden, B-R tamponu daha fazla deney için seçildi.

3.3.3. pH'nın Etkisi

SUNI'nin oksidasyon mekanizmasını ve pH seviyeleri ile tarama hızları arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak amacıyla, 0,1 mM SUNI içeren 0,1 M B-R tampon çözeltisinde DPV kullanılarak kapsamlı bir çalışma gerçekleştirildi (Şekil 3.9.). SUNI'nin elektrokimyasal tepkisi, pH 2,0 ile 9,0 arasında geniş bir pH aralığında incelendi.

Şekil 3.9. A'da gösterildiği gibi, destek elektrolitinin pH'sındaki değişiklikler, SUNI'nin pik akımında kademeli kaymalara neden oldu. Dikkat çekici bir şekilde, pik oksidasyon akımı pH 6,0'da maksimuma ulaştı; pH'nın 6,0'dan 9,0'a yükselmesi ise akım pikinde kademeli bir azalmaya yol açtı. Bu eğilim, SUNI ile modifiye elektrot yüzeyi arasındaki etkileşimdeki değişikliklere bağlanabilir (Şekil 3.9. B).

Sonuç olarak, SUNI'nin elektrokimyasal oksidasyonunun daha ileri araştırmaları için pH 6,0 en uygun pH olarak belirlendi. Ayrıca, pH'nın 2,0'dan 9,0'a değiştirilmesi, oksidasyon piki (E_{pa}) üzerinde minimal kaymalara yol açtı ve mekanizmanın pH değişikliklerinden etkilenmediğini gösterdi.



Şekil 3.9. (A); pH seviyesi 2,0'dan 9,0'a kadar değişen ortamda 0,1 mM SUNI'nin g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE üzerindeki DPV analizleri, (B); pH değerlerinin SUNI (b) pik akımı ve (a) pik potansiyeli üzerindeki etkisinin incelenmesi.

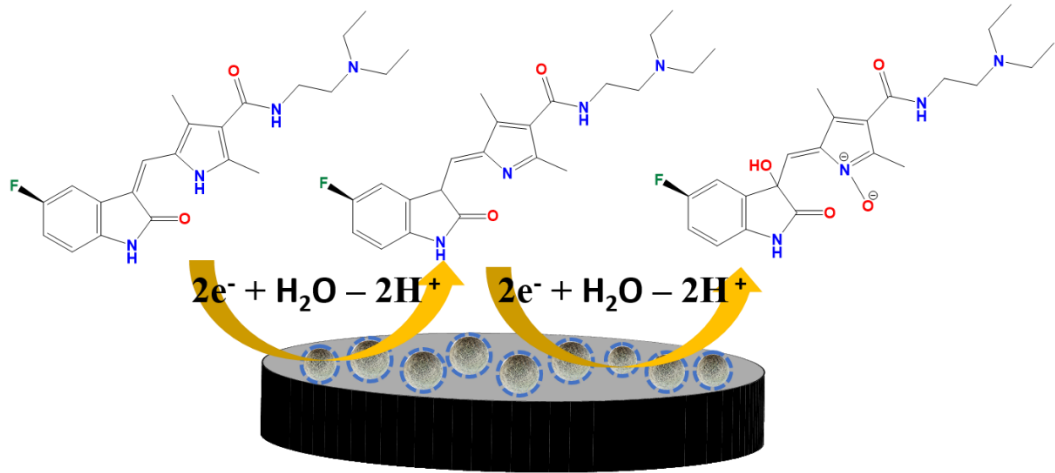
3.3.4. Geliştirilen Elektrodun Optimizasyonu

3.3.4.1. Tarama Hızı Çalışması

SUNI'nin g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE elektrotu üzerindeki elektro-oksidasyon davranışını optimize edilmiş koşullar altında keşfetmek amacıyla, tarama hızları 25,0 mV/s ile 225,0 mV/s arasında değişen bir dizi CV testi titizlikle gerçekleştirildi (Şekil 3.11.). Dikkate değer şekilde, tepe akımı (I_{pa}) ile tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasında doğrusal bir ilişki belirlendi (Şekil 3.11. B) ve bu ilişki şu denklemle açıklandı: $I_{pa} = 0,070 v^{1/2} + 0,077$ ($R^2 = 0,999$). Bu sonuç, analit iyonlarının elektrot yüzeyine doğru bir eğilim gösterdiğini ve SUNI'nin elektrokatalitik oksidasyonunun bir difüzyon kontrol sürecine uygun olduğunu doğrulamaktadır. Tarama hızı

arttıkça, SUNI oksidasyon piki daha pozitif bir potansiyele kayar ve tepe akımında orantılı bir artış gözlemlenir. Bu gözlemler, geri dönüşümsüz bir elektrot reaksiyonu için beklenenlerle uyumludur ve elektrokimyasal sürecin doğasını daha da doğrulamaktadır.

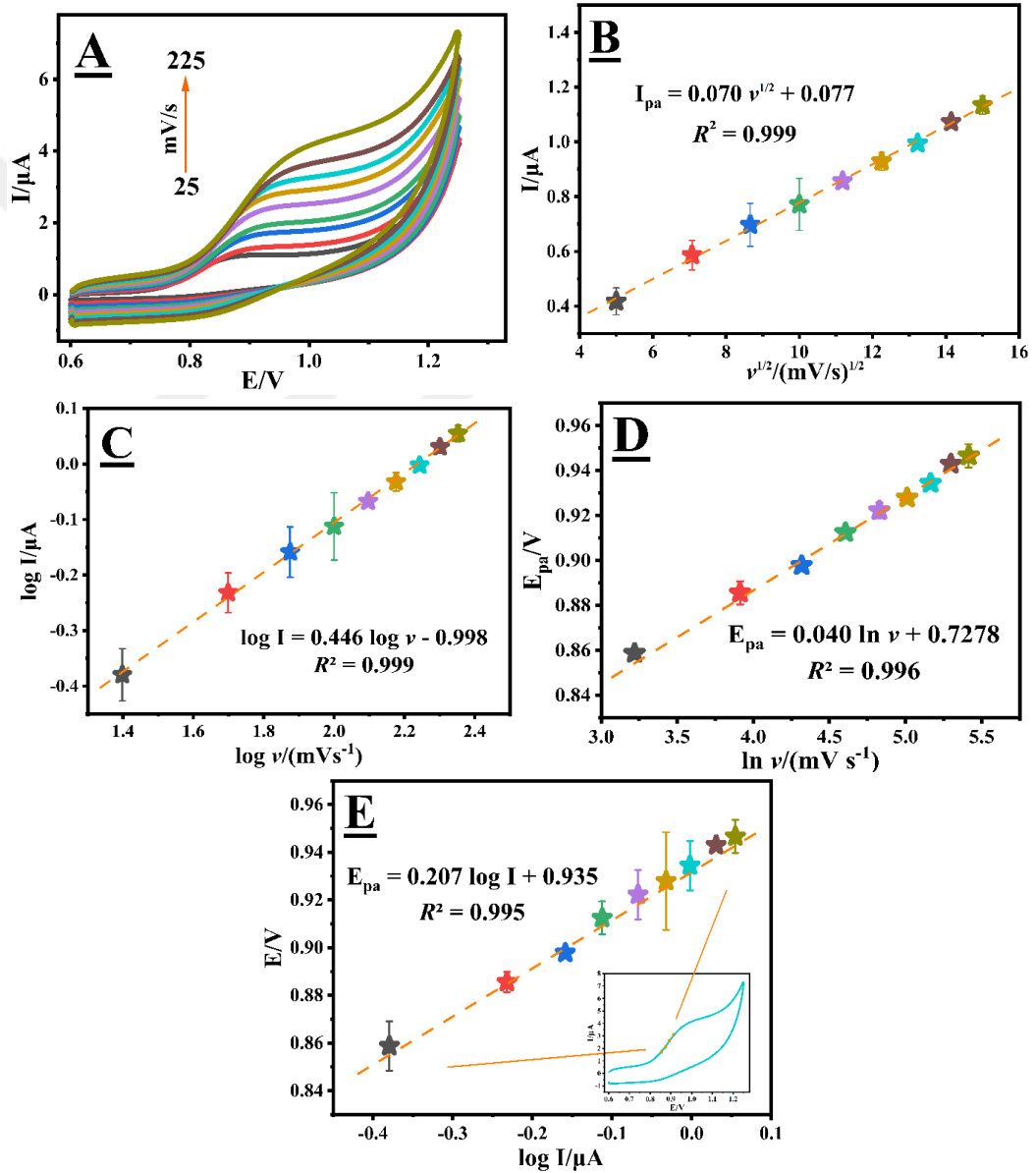
Şekil 3.11. C'de gösterildiği gibi, tepe akımının logaritmik değerleri ($\log I_{pa}$) ile tarama hızı ($\log \nu$) arasında dikkat çekici bir doğrusal ilişki ortaya çıkmıştır ve şu denklemle ifade edilmiştir: $\log I_{pa} (\mu A) = 0,446 \log \nu - 0,998$ ($R^2 = 0,999$). Bu bulgular, daha önceki gözlemleri desteklemekte ve SUNI'nin redoks reaksiyonunun difüzyon kontrollü bir süreç tarafından kontrol edildiğini göstermektedir, çünkü eğim 0,5'ten küçüktür. E_{pa} 'nın tarama hızı ile doğal logaritmik ilişkisi bu denklem ile $E_{pa} = 0,040 \ln \nu + 0,7278$ ($R^2 = 0,996$) ifade edilir (Şekil 3.11.D). Laviron teorisi uygulandığında ve bu doğrusal denklemdeki eğim kullanıldığında, SUNI oksidasyon reaksiyonunda yer alan elektron hareketinin yaklaşık 2,3 (yaklaşık olarak 2,0) olduğu değerlendirildi. Sonuçlar, SUNI'nin elektrokimyasal oksidasyonu süresince tam olarak iki elektron hareket sürecinin olduğunu doğrulamaktadır. SUNI oksidasyon sürecine dahil olan elektron sayısı proton sayısına eşit olduğundan, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE üzerinde SUNI'nin elektro-oksidasyon mekanizmasının iki proton ve iki elektron transfer sürecini içerdiği sonucuna varılabilir (Şekil 3.10.'da gösterildiği gibi). SUNI oksidasyonunun detaylı elektrokimyasal süreci önceki bir çalışmada ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Zotti vd., 2017). Şekil 3.10., SUNI'nin elektrokimyasal oksidasyonu için önerilen mekanizmanın görsel bir temsilini sağlar ve araştırma bulgularını referans çalışmada sunulan bilgiler ile doğrular.



Şekil 3.10. SUNI'nin g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE Yüzeyinde Elektrokimyasal Oksidasyon Mekanizması.

Ayrıca, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE yüzeyinde SUNI'nin yük transfer katsayısı (α) titizlikle belirlenmiştir. Bu belirleme, 100 mV/s tarama hızında 0,1 mM SUNI'nin elektro-oksidasyonu

sırasında Tafel grafiğinin eğiminin kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen eğim kullanılarak, Şekil 3.11. E'de gösterildiği gibi ve Tafel denkleminin $\frac{2,3.R.T}{(1-\alpha).F}$ eğimi uygulanarak, α yaklaşık olarak 0,27 olarak tahmin edilmiştir. Bu bulgu, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE yüzeyinde SUNI oksidasyonunu kontrol eden elektrokimyasal kinetiklerin anlaşılmasını önemli ölçüde ilerletmiştir. Dolayısıyla, elde edilen α değeri (0,27), SUNI oksidasyon reaksiyonunun elektrot yüzeyinde yarı geri dönüşümlü davranışını doğrulamaktadır.

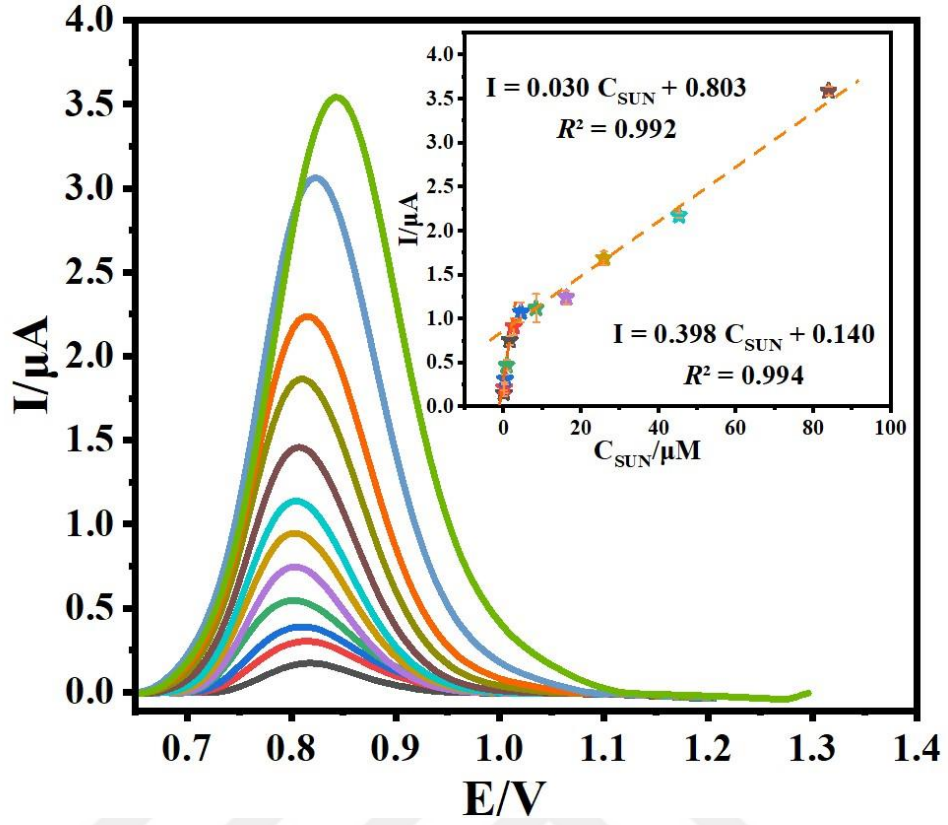


Şekil 3.11. (A); g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE üzerinde 0.1 mM SUNI'nin çeşitli tarama hızlarında (25-225 mV/s) CV'leri, (B); SUNI'nin I_{pa} 'sı ile $v^{1/2}$ arasındaki doğrusal korelasyon, (C); SUNI'nin $\log I_{pa}$ 'sı ile $\log v$ arasındaki doğrusal ilişki, (D); E_{pa} ile $\ln v$ arasındaki ilişki (25-225 mV tarama hızları), (E); Akımın $\log$ 'u ile pik potansiyeli arasındaki Tafel grafiği.

3.4. SUNI'nin Belirlenmesi İçin Analitik Yaklaşım

Duyarlılığı maksimize etmek için deneysel parametreler dikkatlice ayarlandı ve DPV kullanılarak 0.1 ila 83,8 μM aralığında SUNI için detaylı bir şekilde incelendiği bir konsantrasyon aralığına odaklandı, Şekil 3.12.'de gösterildiği gibi. Destekleyici elektrolite 0,1 μM SUNI çözeltisinin eklenmesi, yaklaşık 0,82 V'de belirgin bir oksidasyon tepe akımına neden oldu. SUNI konsantrasyonu arttıkça, DPV akım sinyali belirgin bir yükseliş gösterdi ve bu, devam eden SUNI oksidasyonunun açık bir sonucuydu. Tepe akımı ile SUNI konsantrasyonu arasındaki bu ilişki, iki uygun doğrusal denklemle sonuçlandı: ' $I = 0,398 C_{\text{SUNI}} + 0,140$ ($R^2 = 0,994$)' ve ' $I = 0,029 C_{\text{SUNI}} + 0,884$ ($R^2 = 0,990$)'. Analitik yöntemin hassasiyeti, DPV kullanılarak kalibrasyon eğrisindeki en düşük SUNI konsantrasyonunda değerlendirildi. Hassasiyeti ölçmek için, oksidasyon tepe akımı on kez ölçüldü ve elde edilen göreceli standart sapma (RSD) hesaplandı. Belirlenen RSD değeri daha sonra $3\sigma/\text{eğim}$ formülüne dahil edilerek dikkate değer düşük bir tespit limiti (LOD) olan 52,0 nM belirlendi. Bu dikkate değer sonuçlar, dikkatlice geliştirilmiş g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE platformunun SUNI'nin elektrokimyasal tespiti için potansiyelini vurgular ve bu alandaki gerçekten umut verici bir araç olarak konumunu teyit eder.

Özetle, titizlikle optimize edilmiş DPV koşulları, SUNI için geniş bir konsantrasyon aralığını kapsayan sağlam bir kalibrasyon eğrisi üretti. Gözlemlenen doğrusal ilişki, etkileyici düşük LOD ile birlikte, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE elektrodunun olağanüstü analitik performansını açıkça doğrulamaktadır (Çizelge 3.1.). Özellikle, uzun süreli kullanımın sensör performansı üzerindeki önemsiz etkisi, onu kirlenme etkilerine karşı dirençli hale getirir ve gerçek dünya örneklerinde SUNI tespiti için güvenilir ve verimli bir araç olarak duruşunu sağlamlaştırır (Arumugam vd., 2023).



Şekil 3.12. B-R tamponunda (0,1 M, pH 6,0) 0,1 μM ile 83,8 μM arasında SUNI için g- $\text{C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$ üzerinde DPV, (küçük resim); SUNI konsantrasyonlarının bir fonksiyonu olarak I_{pa} grafiği.

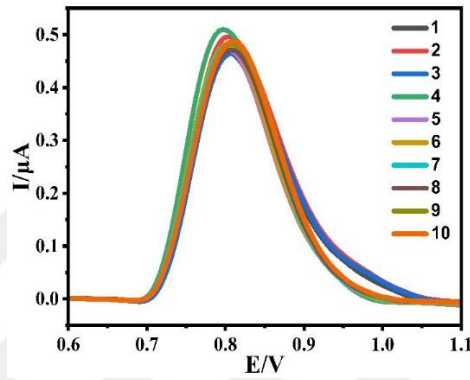
Çizelge 3.1. Kalibrasyon regresyon sonuçları.

Parametreler	g- $\text{C}_3\text{N}_4/\text{CoNiO}_2/\text{GCE}$
Ölçülen potansiyel, V	0,8
Doğrusal çalışma aralığı, μM	0,1-83,8
Eğim, $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0,398
Kesişme	0,140
Korelasyon katsayısı (R^2)	0,994
LOD, nM	52,0
LOQ, nM	173,33

3.5. Analitik Performansın Değerlendirilmesi

3.5.1. Tekrarlanabilirlik

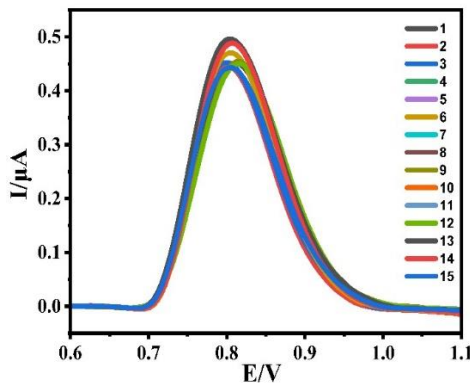
Geliştirilen elektrodun tekrarlanabilirliği, benzer bir prosedür kullanılarak bağımsız olarak 10 elektrot ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.13.). Elde edilen göreceli standart sapma (RSD) %2,75 olarak belirlenmiş ve geliştirilen elektrodun tatmin edici üretilebilirliğini doğrulamıştır.



Şekil 3.13. g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE'nin Tekrarlanabilirlik değerlendirilmesi.

3.5.2. Tekrar Edilebilirlik

Özelleştirilen g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE elektrodunun tekrar edilebilirliğini değerlendirmek için 15 ardışık ölçüm titizlikle aynı prosedürü izleyerek gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.14.). Elde edilen göreceli standart sapma (RSD) %2,77 olarak belirlenmiş ve g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE elektrodunun mükemmel tekrar edilebilirliğini vurgulamıştır.



Şekil 3.14. g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE'nin tekrar edilebilirliğinin değerlendirilmesi.

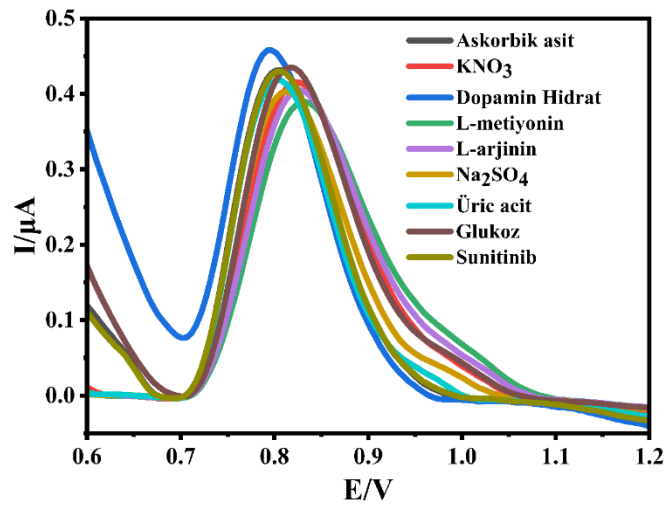
3.5.3. Yeniden Kullanılabilirlik

Ayrıca, g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE'nin yeniden kullanılabilirliği test edildi ve g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE tek kullanımlık bir sensör olmadığı ispat edildi. pH 6,0 olan 0,1 M BR tamponu ile yıkayarak en az 10 kez kullanılabilir.

3.5.4. Seçicilik

Elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesindeki temel amaç, birçok engelleyici türün bulunduğu ortamlarda bile hedef analitin yüksek duyarlılıkla tespit edilmesini sağlamaktır. Dolayısıyla, analitik seçicilik, analizlerin doğruluğu ve kararlılığının sağlanmasında önemli bir rol oynar. Mevcut araştırmada, SUNI'nin seçiciliği, L-metionin, L-arjinin, Potasyum nitrat, Sodyum sülfat, Glikoz, Askorbik asit, Ürik asit ve Dopamin hidrat gibi geniş bir yelpazede biyolojik olarak aktif moleküllerin varlığında titizlikle incelenmiştir. Kesin sonuçlar elde etmek amacıyla, bu kapsamlı analiz, optimize edilmiş koşullar altında DPV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.15.'de gösterildiği gibi, 1,0 µM SUNI'nin, saf hedef SUNI'nin konsantrasyonundan 100 kat daha yüksek olan farklı engelleyici ajanlarla birlikte bulunduğu durumlarda sinyalde önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Göreceli sapma (RD) sürekli olarak $\pm 3,45\%$ 'in altında kalmış ve geliştirilen elektrodun dikkate değer seçiciliğini kesin bir şekilde doğrulamıştır.



Şekil 3.15. SUNI varlığında, 100 kat çeşitli enterferansların varlığında g-C₃N₄/CoNiO₂/GCE'nin seçiciliğinin değerlendirilmesi.

3.6. Gerçek Örnek Analizi

Geliştirilen elektrodun gerçek hayatta pratikliğini değerlendirmek için, dört bilinen SUNI konsantrasyonu, kapsül formunda, idrar ve insan plazma örneklerinde yüzdelik geri kazanım için standart ekleme yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen geri kazanım oranları güvenilir bulunmuş olup, kapsül örnekleri için %99,7 ile %100,9 arasında, idrar örnekleri için %98,3 ile %103,2 arasında ve insan plazma örnekleri için %97,1 ile %101,5 arasında değişmektedir (Çizelge 3.2.). Bu sonuçlar, geliştirilen elektrokimyasal sensör yönteminin, insan sıvı matrislerinde ve farmasötik örneklerde SUNI'nin kesin ve doğru tespiti için son derece uygun olduğu kanıtlamakta olup, gerçek dünya uygulamalarında pratiklik ve etkinliğini yeniden teyit etmektedir.

Çizelge 3.2. İdrar, insan plazması ve kapsül dozaj formunda SUNI tespiti.

Numune	Eklenen miktar (μM)	Bulunan miktar (μM)	Geri kazanım (%)	RSD (%)
İnsan Plazması	6,0	5,9	98,7	2,8
	8,0	7,8	97,1	0,7
	10,0	10,2	102,0	4,3
	30,0	29,5	98,4	1,8
İdrar	6,0	6,2	103,0	2,3
	8,0	8,3	103,0	2,7
	10,0	10,1	101,0	4,5
	30,0	29,5	98,3	1,0
Kapsül	6,0	6,0	99,7	3,8
	8,0	7,9	99,2	1,8
	10,0	9,7	97,2	2,0
	30,0	30,3	100,9	2,4

4. TARTIŞMA

Bu çalışma, g-C₃N₄/CoNiO₂ kompozitini kullanarak Sunitinib (SUNI) tespiti için son derece hassas ve seçici bir elektrokimyasal sensör sunmaktadır. Sunitinib, birden fazla reseptör tirozin kinazını (RTK) hedefleyen ve kanser tedavisinde kullanılan çok hedefli bir ilaçtır. FDA tarafından onaylanan bu ilaç, özellikle böbrek hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümörler gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Sunitinib, RTK'lerin intraselüler tirozin kinaz domainini bloke ederek hem doğrudan antikanser hem de anti-anjiyogenetik aktivite gösterir. Bu özellikleri, Sunitinib'i kanser tedavisinde önemli bir ajan haline getirmektedir.

Sunitinib'in tespiti, tedavi etkinliğinin izlenmesi ve olası yan etkilerin önlenmesi açısından büyük önem taşır. İlaç dozajının doğru bir şekilde ayarlanabilmesi için biyolojik sıvılardaki Sunitinib konsantrasyonunun hassas bir şekilde ölçülmesi gerekmektedir.

Bugüne kadar, terapötik dozaj formlarında ve biyolojik örneklerde Sunitinib tespiti için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Örneğin, Kavitha vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, Sunitinib tayini için spektrofotometrik bir yöntem kullanarak 2-12 µg/ml doğrusal aralıkta çalışılıp ve teşhis tayin sınırı 0,291 µg/ml elde edilmiştir. Kapsül formundaki sunitinib için geri kazanım oranı %98,19-98,62 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, Pellizzoni vd. (2016) tarafından yapılan başka bir çalışmada, kemilüminesans yöntemi kullanılarak plazma örneklerinde sunitinib tespiti gerçekleştirilmiştir. Doğrusal aralık 1-154 µg/ml arasında olup teşhis tayin sınırı 0,40 µg/ml olarak elde edilmiştir ve geri kazanım oranı %75-117,8 olarak rapor edilmiştir. Yine başka bir yöntem ile çalışılan bir çalışmada, Hajmalek vd. (2016) HPTLC yöntemini kullanarak sunitinib tespiti gerçekleştirmiştir. Doğrusal aralık 0,027-0,438 µg/ml olup teşhis tayin sınırı 0,037 µg/ml'dir. İdrar örneklerinde geri kazanım oranı %90-110 olarak belirlenmiştir. Qiu vd. (2013) ise LC/MS/MS yöntemi ile plazma örneklerinde sunitinib tespiti yapmışlardır. Doğrusal aralık 0,0001-0,0001 µg/ml olup teşhis tayin sınırı 0,001 µg/ml'dir. Geri kazanım oranı %85,0-115,0 olarak belirlenmiştir.

Aslında bu yöntemlerin çoğunun toksik kimyasallar kullandığını, pahalı analitik enstrümanlar gerektirdiğini, zaman alıcı olduğunu ve iyi eğitilmiş personel gerektirdiğini unutmamak önemlidir. Son zamanlardaki çalışmalar, "elektrokimyasal tekniklere" olan ilgiyi önemli ölçüde artırmıştır. Bu bağlamda, elektrokimyasal yöntemler, düşük maliyetli, hızlı ve yüksek hassasiyetli olmaları nedeniyle tercih edilmektedir. Elektrokimyasal sensörlerin

taşınabilir ve kolay kullanımlı olması, saha çalışmalarında ve hızlı teşhis gerektiren durumlarda büyük avantaj sağlamaktadır.

Bu çalışmada, 0,1 to 83,8 µg/ml doğrusal aralıkta 52,0 nM gibi etkileyici bir tespit limitiyle, sensörün olağanüstü performansı, bileşenlerinin sinerjik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Gerçek dünya uygulanabilirliğine olan bağlılık, kapsül örnekleri, idrar ve insan plazması dahil olmak üzere pratik numunelerin titiz bir şekilde incelenmesiyle vurgulanmıştır. Standart ekleme yöntemi kullanılarak, çeşitli matrislerde %97,1 ile %103,0 arasında değişen geri kazanım oranları, elektrokimyasal tespit yönteminin olağanüstü güvenilirliğini ve sağlamlığını teyit etmektedir.

Önemli olarak, kapsamlı testler sensörün mükemmel seçiciliğini, tekrarlanabilirliğini ve yeniden üretilebilirliğini doğrulamaktadır. Elektrodun tekrarlanabilirliği, on ardışık ölçümle belirlenmiş ve %2,77 gibi takdire şayan bir RSD elde edilmiştir. Ayrıca, modifiye elektrodun yeniden üretilebilirliği, beş elektrodun bağımsız olarak üretilmesiyle doğrulanmış ve %2,75 RSD elde edilmiştir.

Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, bu çalışma hem hassasiyet hem de geri kazanım oranları açısından üstün özellikler göstermektedir. Elektrokimyasal yöntemlerin düşük maliyeti, hızlı sonuç vermesi ve yüksek hassasiyeti, diğer yöntemlere göre önemli avantajlar sunmaktadır. Bu nedenle, bu çalışma sunitinib tespiti için ideal bir çözüm olarak öne çıkmaktadır.

Bu çalışma, elektrokimyasal tespit stratejilerinin, özellikle de g-C₃N₄/CoNiO₂ kompoziti ile modifiye edilmiş elektrotların, Sunitinib tespiti için son derece uygun olduğunu göstermektedir.

Elektrokimyasal sensörlerin diğer biyomoleküllerin tespiti için de uyarlanabilirliği, bu teknolojinin çok yönlülüğünü ve geniş uygulama alanlarını ortaya koymaktadır. Özellikle, kanser tedavisinde kullanılan diğer ilaçların ve biyomarkerlerin tespiti için benzer sensörlerin geliştirilmesi, klinik teşhis ve tedavi süreçlerinde önemli ilerlemeler sağlayabilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışma, g-C₃N₄/CoNiO₂ kompozitini kullanarak Sunitinib (SUNI) tespiti için son derece hassas ve seçici bir elektrokimyasal sensör sunmaktadır. 52,0 nM gibi etkileyici bir tespit limitiyle, sensörün olağanüstü performansı, bileşenlerinin sinerjik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Gerçek dünya uygulanabilirliğine olan bağlılık, kapsül örnekleri, idrar ve insan plazması dahil olmak üzere pratik numunelerin titiz bir şekilde incelenmesiyle vurgulanmıştır. Standart ekleme yöntemi kullanılarak, çeşitli matrislerde %97,1 ile %103,0 arasında değişen geri kazanım oranları, elektrokimyasal tespit yönteminin olağanüstü güvenilirliğini ve sağlamlığını teyit etmektedir. Önemli olarak, kapsamlı testler sensörün mükemmel seçiciliğini, tekrarlanabilirliğini ve yeniden üretilebilirliğini doğrulamaktadır. Elektrodun tekrarlanabilirliği, on ardışık ölçümle belirlenmiş ve %2,77 gibi takdire şayan bir RSD elde edilmiştir. Ayrıca, modifiye elektrodun yeniden üretilebilirliği, beş elektrodun bağımsız olarak üretilmesiyle doğrulanmış ve %2,75 RSD elde edilmiştir. Bu bulgular, elektrokimyasal tespit stratejisinin pratik uygulamalar, klinik teşhisler de dahil olmak üzere, uygunluğunu ve güvenilirliğini ortaya koymaktadır. Geleceğe bakıldığında, araştırma için potansiyel yollar arasında, taşınabilirlik ve tek kullanımlık olma özelliklerinin artırılması için elektrokimyasal yaklaşımın baskı devreli elektrotlara (SPE'ler) uyarlanması bulunmaktadır. Giyilebilir sensör platformlarına entegrasyonun keşfedilmesi, gerçek zamanlı ve non-invaziv Sunitinib izleme için vaat sunmaktadır. Bu çalışma, gerçek dünyada SUNI analizi için ekonomik, hızlı ve hassas bir sensör geliştirme yöntemi sunarak, elektrokimyasal tespit stratejilerinin uygulanabilirliğini ve çok yönlülüğünü ilerletmektedir.

KAYNAKLAR

- AboulMagd, A. M., & Abdelwahab, N. S. (2021). Analysis of sunitinib malate, a multi-targeted tyrosine kinase inhibitor: A critical review. *Microchemical Journal*, 163, 105926.
- Adler, A., Gaburro, R., & Lionheart, W. R. (2015). Electrical impedance tomography. *Handbook of mathematical methods in imaging*, 1, 701-762.
- Akram, R., Yaseen, M., Farooq, Z., Rauf, A., Almohaimeed, Z. M., Ikram, M., & Zafar, Q. (2021). Capacitive and Conductometric type Dual-Mode Relative Humidity Sensor based on 5, 10, 15, 20-tetra phenyl porphyrinato nickel (II)(TPPNi). *Polymers*, 13(19), 3336.
- Alberts, B. (1973). What Is Cancer? *New England Journal of Medicine*, 289, 307-309.
- Arıcı, M., & Kılınç, E. (2010). Validated spectrofluorimetric method for the determination of sunitinib malate, dye complexation approach for a novel anticancer drug. *Acta Pharm. Sci.*, 52, 469-485.
- Arumugam, B., Palanisamy, S., Janagaraj, G., Ramaraj, S. K., Chiesa, M., & Subramanian, C. (2023). Real-time detection of 2, 4, 6-trichlorophenol in environmental samples using Fe₃O₄ nanospheres decorated graphitic carbon nitride nanosheets. *Surfaces and Interfaces*, 39, 102930.
- Bagotsky, V. S. (2005). *Fundamentals of electrochemistry*. John Wiley & Sons.
- Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001). Fundamentals and applications. *Electrochemical methods*, 2(482), 580-632.
- Bouchet, S., Chauzit, E., Ducint, D., Castaing, N., Canal-Raffin, M., Moore, N.,...Molimard, M. (2011). Simultaneous determination of nine tyrosine kinase inhibitors by 96-well solid-phase extraction and ultra performance LC/MS-MS. *Clinica Chimica Acta*, 412(11-12), 1060-1067.
- Brady, C. L. (2013). Development and characterisation of microelectrodes for extreme environments.
- Chen, X., Wang, Z., Liu, M., Liao, M., Wang, X., Du, H.,...Li, Q. (2015). Determination of sunitinib and its active metabolite, N-desethyl sunitinib in mouse plasma and tissues by UPLC-MS/MS: assay development and application to pharmacokinetic and tissue distribution studies. *Biomedical Chromatography*, 29(5), 679-688.
- Compton, R. G., & Banks, C. E. (2018). *Understanding voltammetry*. World Scientific.
- Couchman, L., Birch, M., Ireland, R., Corrigan, A., Wickramasinghe, S., Josephs, D.,...Flanagan, R. (2012). An automated method for the measurement of a range of tyrosine kinase inhibitors in human plasma or serum using turbulent flow liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 403, 1685-1695.
- Dey, R. S., Bera, R. K., & Raj, C. (2013). Nanomaterial-based functional scaffolds for amperometric sensing of bioanalytes. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 405, 3431-3448.

- Eggins, B. R. (2008). *Chemical sensors and biosensors*. John Wiley & Sons.
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *Journal of chemical education*, 95(2), 197-206.
- Galvão, J. C. R., Araujo, M. d. S., Prete, M. C., Neto, V. L., Dall'Antonia, L. H., Matos, R.,...Medeiros, R. A. (2023). Electrochemical Determination of 17- β -Estradiol Using a Glassy Carbon Electrode Modified with α -Fe₂O₃ Nanoparticles Supported on Carbon Nanotubes. *Molecules*, 28(17), 6372.
- Garrido-Cano, I., García-García, A., Peris-Vicente, J., Ochoa-Aranda, E., & Esteve-Romero, J. (2015). A method to quantify several tyrosine kinase inhibitors in plasma by micellar liquid chromatography and validation according to the European Medicines Agency guidelines. *Talanta*, 144, 1287-1295.
- Grimaldi, A., Guida, T., D'Attino, R., Perrotta, E., Otero, M., Masala, A., & Carteni, G. (2007). Sunitinib: bridging present and future cancer treatment. *Annals of oncology*, 18, vi31-vi34.
- Gupta, V. K., Jain, R., Radhapyari, K., Jadon, N., & Agarwal, S. (2011). Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals—a review. *Analytical Biochemistry*, 408(2), 179.
- Hajmalek, M., Goudarzi, M., Ghaffari, S., Attar, H., & Mazlaghan, M. G. (2016). Development and validation of a HPTLC method for analysis of sunitinib malate. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 595-601.
- Hooshmand, S., & Es' hagh, Z. (2018). Hydrophilic modified magnetic multi-walled carbon nanotube for dispersive solid/liquid phase microextraction of sunitinib in human samples. *Analytical Biochemistry*, 542, 76-83.
- Isildak, Ö., & Özbek, O. (2021). Application of potentiometric sensors in real samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(3), 218-231.
- Kaifer, A. E. (1992). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. (Skoog, Douglas A.; West, Donald M.; Holler, James F.). In: ACS Publications.
- Kavitha, J., Saidevaraj, A., & Lakshmi, K. (2016). Uv spectrophotometric estimation of sunitinib malate in pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci*, 8(2), 99-103.
- Kaynar, B., Öztürk, G., & Kul, D. (2023). Electrochemical Analysis of Antipsychotic Drug Quetiapine Fumarate Using Multi-walled Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode. *Electroanalysis*, 35(3), e202200057.
- Kim, S., Ding, W., Zhang, L., Tian, W., & Chen, S. (2014). Clinical response to sunitinib as a multitargeted tyrosine-kinase inhibitor (TKI) in solid cancers: a review of clinical trials. *OncoTargets and therapy*, 719-728.
- Lefrou, C., Fabry, P., & Poignet, J.-C. (2012). *Electrochemistry: the basics, with examples*. Springer Science & Business Media.

- Levitzki, A. (2013). Tyrosine kinase inhibitors: views of selectivity, sensitivity, and clinical performance. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 53, 161-185.
- Linh, P. H., Do Chung, P., Van Khien, N., Thu, V. T., Bach, T. N., Hang, L. T.,...Lam, V. D. (2021). A simple approach for controlling the morphology of g-C₃N₄ nanosheets with enhanced photocatalytic properties. *Diamond and Related Materials*, 111, 108214.
- Nazari-Vanani, R., Azarpira, N., Heli, H., Karimian, K., & Sattarahmady, N. (2017). A novel self-nanoemulsifying formulation for sunitinib: Evaluation of anticancer efficacy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 160, 65-72.
- Pecenek, H., Dokan, F. K., Onses, M. S., Yılmaz, E., & Sahmetlioglu, E. (2023). High energy density hybrid supercapacitors based on graphitic carbon nitride modified BiFeO₃ and biomass-derived activated carbon. *Journal of Energy Storage*, 64, 107075.
- Pellizzoni, E., Tommasini, M., Marangon, E., Rizzolio, F., Saito, G., Benedetti, F.,...Berti, F. (2016). Fluorescent molecularly imprinted nanogels for the detection of anticancer drugs in human plasma. *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 913-919.
- Pletcher, D., Greff, R., Peat, R., Peter, L., & Robinson, J. (2001). *Instrumental methods in electrochemistry*. Elsevier.
- Qiu, F., Bian, W., Li, J., & Ge, Z. (2013). Simultaneous determination of sunitinib and its two metabolites in plasma of Chinese patients with metastatic renal cell carcinoma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, 27(5), 615-621.
- Rodríguez, J., Castañeda, G., Muñoz, L., & Villa, J. C. (2015). Quantitation of sunitinib, an oral multitarget tyrosine kinase inhibitor, and its metabolite in urine samples by nonaqueous capillary electrophoresis time of flight mass spectrometry. *Electrophoresis*, 36(14), 1580-1587.
- Scholz, F. (2010). *Electroanalytical methods* (Vol. 1). Springer.
- Schotten, C., Nicholls, T. P., Bourne, R. A., Kapur, N., Nguyen, B. N., & Willans, C. E. (2020). Making electrochemistry easily accessible to the synthetic chemist. *Green chemistry*, 22(11), 3358-3375.
- Shaheen, R. M., Tseng, W. W., Davis, D. W., Liu, W., Reinmuth, N., Vellagas, R.,...Drazan, K. E. (2001). Tyrosine kinase inhibition of multiple angiogenic growth factor receptors improves survival in mice bearing colon cancer liver metastases by inhibition of endothelial cell survival mechanisms. *Cancer research*, 61(4), 1464-1468.
- Skoog, D., Holler, F., & Crouch, S. (2017). *Principles of instrumental analysis: Cengage learning. Cengage learning*.
- Skoog, D., West, D., Holler, F., & Crouch, S. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9. izd. Mary Finch. Belmont, 847-934.
- Sodergren, S. C., White, A., Efficace, F., Sprangers, M., Fitzsimmons, D., Bottomley, A., & Johnson, C. D. (2014). Systematic review of the side effects associated with tyrosine kinase inhibitors

used in the treatment of gastrointestinal stromal tumours on behalf of the EORTC Quality of Life Group. *Critical reviews in oncology/hematology*, 91(1), 35-46.

Wang, J. (1995). Electroanalysis and biosensors. *Analytical Chemistry*, 67(12), 487-492.

Wang, J. (2007). Electrochemical sensing of explosives. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 19(4), 415-423.

Yarahmadi, A., Madrakian, T., Afkhami, A., & Jalal, N. R. (2019). Electrochemical Determination of Sunitinib in Biological Samples Using Polyacrylonitrile Nanofibers/Nickel-Zinc-Ferrite Nanocomposite/Carbon Paste Electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, 166(14), B1268.

Yin, T., & Qin, W. (2013). Applications of nanomaterials in potentiometric sensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 51, 79-86.

Zhang, Y., Ma, M., Yang, J., Su, H., Huang, W., & Dong, X. (2014). Selective synthesis of hierarchical mesoporous spinel NiCo₂O₄ for high-performance supercapacitors. *Nanoscale*, 6(8), 4303-4308.

Zoski, C. G. (2007). *Handbook of electrochemistry*. Elsevier.

Zotti, G., Berlin, A., & Vercelli, B. (2017). Electrochemistry of conjugated planar anticancer molecules: Irinotecan and Sunitinib. *Electrochimica Acta*, 231, 336-343.

Zugazagoitia, J., Guedes, C., Ponce, S., Ferrer, I., Molina-Pinelo, S., & Paz-Ares, L. (2016). Current challenges in cancer treatment. *Clinical therapeutics*, 38(7), 1551-1566.