

T. C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GRAFEN-MODİFİYE ELEKTROTLAR KULLANARAK KAFEİN,  
PARASETAMOL VE ASETİL SALİSİLİK ASİDİN İLAÇ  
PREPARATLARINDA EŞZAMANLI TAYİNİNE YÖNELİK YÖNTEM  
GELİŞTİRİLMESİ

Kimyager Aydın YİĞİT

TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Yavuz YARDIM

VAN-2016

T. C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GRAFEN-MODİFİYE ELEKTROTLAR KULLANARAK KAFEİN,  
PARASETAMOL VE ASETİL SALİSİLİK ASİDİN İLAÇ  
PREPARATLARINDA EŞZAMANLI TAYİNİNE YÖNELİK YÖNTEM  
GELİŞTİRİLMESİ

Aydın YİĞİT

TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Yavuz YARDIM

VAN-2016


Bu çalışma TÜBİTAK Başkanlığı tarafından KBAG114Z405 No'lu proje olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK Başkanlığına teşekkür ederiz.

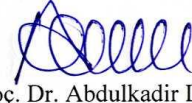
T. C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GRAFEN-MODİFİYE ELEKTROTLAR KULLANARAK KAFEİN, PARASETAMOL VE  
ASETİL SALİSİLİK ASİDİN İLAÇ PREPARATLARINDA EŞZAMANLI TAYİNİNE  
YÖNELİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

Aydın YİĞİT  
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Zühre SENTÜRK  
Jüri Başkanı

  
Doç. Dr. Yavuz YARDIM  
Üye

  
Doç. Dr. Abdulkadir LEVENT  
Üye

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sũresince; tezin oluşunu, yazımı ve deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, yalnızca akademik gelişim sürecinde değil her zaman fikirleri, önerileri ve destekleri ile yanımda olan değerli tez danışmanı hocam, Sayın Doç. Dr. Yavuz YARDIM'a şukranlarımı sunarım.

Hayatımın her anında yanımda olan, yaptığım tüm işlerde beni cesaretlendiren, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen eşim Kevser YİĞİT'e ve ailelerimize teşekkür etmekten mutluluk ve onur duyarım.

Lisans ve yüksek lisans boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Zũhre ŞENTÜRK'e, Doç. Dr. İşhak BİLDİRİCİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Metin ÇELEBİ'ye (grafen sentezi onun eseri), Yrd. Doç. Dr. Ertuęrul KESKİN'e, Yrd. Doç. Dr. Funda Aydın'a, Yrd. Doç. Dr. Nurettin Mengeř'e, Yrd. Doç. Dr. Oruç Allahverdiyev'e ve Kimyager Yunus Gũltakti'ya (HPLC analizlerindeki katkısı yadsınamaz) teşekkür ederim.

Ayrıca, Nurcan Alpar ve Burak Kuzu'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

**Aydın YİĞİT**

Eylũl/2016/VAN

# İÇİNDEKİLER

sayfa

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER .....	v
TABLolar.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Elektrokimya .....	3
2.1.1. Elektrokimyasal hücreler .....	4
2.1.2. Elektroanalitik yöntemler .....	7
2.2. Voltametri .....	8
2.2.1. Voltametrimin ve voltametrik yöntemlerin sınıflandırılması.....	10
2.2.2. Voltametrik yöntemlerin uygulama alanları .....	12
2.3. Karbon Materyalleri .....	13
2.3.1. Grafen ve özellikleri .....	13
2.3.2. Grafenin sentezi .....	14
2.3.3. Grafenin kullanım alanları .....	15
2.4. Katı Elektrot Voltametri ve Karbon-Temelli Elektrotlar.....	16
2.5. Grafen-Temelli Elektrotlar .....	17
2.6. Kromatografi .....	19
2.6.1. Sıvı kromatografisi .....	19
2.6.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	19
2.7. Kafein, Parasetamol ve Asetilsalisilik Asit .....	21
2.7.1. Kafein, parasetamol ve asetilsalisilik asit tayinleri.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	27
3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasallar .....	27
3.2. Araç- Gereçler .....	27
3.3. Yöntem .....	28
3.3.1. Grafen yapısının sentezi.....	28
3.3.2. Elektrotların hazırlanması.....	29
3.3.3. Voltametrik analiz.....	29
3.3.4. Kromatografik analiz .....	30
3.3.5. Örneklerin hazırlanması.....	30
4. BULGULAR .....	31
4.1. Grafen Oksit (GO) ve İndirgenmiş Grafen Oksitin (rGO, grafen) Spektrofotometrik Yöntemler İle Tanımlanması.....	31
4.2. PAR, ASA ve KAF'ın Eşzamanlı Tayinine Yönelik Grafen Temelli Elektrotlar Yüzeyinde Voltametrik Yöntem Geliştirilmesi.....	35
4.2.1. Parasetamol, asetilsalisilik asit ve kafeinin GCE, Gr/GCE, Gr-Nf/GCE üzerindeki dönüşümlü voltametri çalışmaları. ....	35
4.2.2. Destek elektroliti ve pH etkisi .....	40
4.2.3. Elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi.....	43

4.2.4. Kare dalga değişkenlerinin etkisi.....	43
4.2.5. Voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri.....	44
4.3. PAR, ASA ve KAF'ın Gr-Nf/GCE Yüzeyinde Seçicilik ve Kararlılık Çalışmaları ....	52
4.4. Geliştirilen Yöntemin İlaç Örneklerinde Uygulama Çalışmaları .....	52
4.5. PAR, KAF ve ASA'nın Eşzamanlı Tayinine Yönelik HPLC Tekniği ile Yapılan Analiz Sonuçları .....	55
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	62
ÖZET.....	66
SUMMARY .....	67
KAYNAKLAR.....	68
ÖZGEÇMİŞ .....	78
EKLER.....	79



## ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 1.	İki elektrotlu tipik bir elektrokimyasal hücre	5
Şekil 2.	Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre	6
Şekil 3.	Yaygın elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi	8
Şekil 4.	Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyallerinin dördünün dalga şekli	9
Şekil 5.	Dönüşümlü voltametrde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri	10
Şekil 6.	Kare dalga voltametrinde uyara sinyali ve elde edilen voltamogram	11
Şekil 7.	Adsorptif sıyırma voltametrise	12
Şekil 8.	(a) elmas, (b) grafit, (c) fulleren, (d) karbon nanotüp	13
Şekil 9.	Grafen yapısı	14
Şekil 10.	(a) $sp^3$ -bağlı elmas ve (b-d) $sp^2$ -bağlı karbon ((b) CNT (1D-yapısı), (c) fulleren (0D-yapısı), (d) grafen (2D-yapısı))	17
Şekil 11.	Nafion/grafit ve Nafion/grafen-modifiye elektrotlar	18
Şekil 12.	HPLC cihazının akış şeması	20
Şekil 13.	KAF, PAR, ASA'nın moleköl formülleri	23
Şekil 14.	Grafit, GO ve rGO'nun FTIR spektrumları.	31
Şekil 15.	GO ve rGO'nun Raman spektrumları	32
Şekil 16.	$0.05 \text{ mg mL}^{-1}$ GO ve rGO'nun sulu çözeltilerindeki UV/Vis spektrumları	33
Şekil 17.	Gr/GCE (A) ve Gr-Nf/GCE (B) yüzeylerinin SEM görüntüleri	34
Şekil 18.	$4 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ PAR'ın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde GCE (mor çizgi), Gr/GCE (mavi çizgi) ve Gr-Nf /GCE (kırmızı çizgi) üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, $50 \text{ mV s}^{-1}$ .	35
Şekil 19.	$4 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ PAR'ın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramı hız taraması ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ).	36
Şekil 20.	$40 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ASA'nın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde GCE (mor çizgi), Gr/GCE (mavi çizgi) ve Gr-Nf /GCE (kırmızı çizgi) üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, $50 \text{ mV s}^{-1}$ .	37

Şekil 21.	40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ASA'nın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramı hız taraması (50-700 $\text{mVs}^{-1}$ ).	38
Şekil 22.	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ KAF'ın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde GCE (mor çizgi), Gr/GCE (mavi çizgi) ve Gr-Nf /GCE (kırmızı çizgi) üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 50 $\text{mV s}^{-1}$ .	39
Şekil 23.	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ KAF'ın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramı hız taraması (50-700 $\text{mV s}^{-1}$ ).	40
Şekil 24.	BR tamponunda (pH 2-8) 0.05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ PAR, 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ASA ve 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ KAF çözeltilerinin Gr-Nf/GCE yüzeyinde kare-dalga sıyırma voltamogramları. Kare dalga değişkenleri; puls amplitüd, 30 mV, frekans, 50 Hz, gerilim adımı, 8 mV. Elektrokimyasal biriktirme süresi, 60 s (açık devrede, 5000 rpm).	41
Şekil 25.	PBS (pH 2.5, kırmızı çizgi, pH 7.4, mavi çizgi) ve ABS (pH 4.7, kahverengi çizgi) tamponunda 0.05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ PAR, 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ASA ve 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ KAF çözeltilerinin Gr-Nf/GCE yüzeyinde kare-dalga sıyırma voltamogramları. Kare dalga değişkenleri; puls amplitüd, 30 mV, frekans, 50 Hz, gerilim adımı, 8 mV. Elektrokimyasal biriktirme süresi, 60 s (açık devrede, 5000 rpm).	42
Şekil 26.	Gr-Nf/GCE üzerinde PBS (pH 2.5) çözeltisi içerisinde PAR (0.001, 0.005, 0.01, 0.002, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 ve 0.225 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) için kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi 0.1 V; Kare-dalga voltametri değişkenleri: Frekans, 75 Hz; Gerilim adımı, 14 mV; amplitüd, 50 mV.	45
Şekil 27.	Gr-Nf/GCE üzerinde PBS (pH 2.5) çözeltisi içerisinde; ASA (0.025, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5 ve 5.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) için kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 26'daki gibidir.	45
Şekil 28.	Gr-Nf/GCE üzerinde PBS (pH 2.5) çözeltisi içerisinde; KAF (0.025, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ve 7.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) için kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 26'daki gibidir.	46



- Şekil 29.  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $2.5 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF varlığında  $0.00125-0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında  $0.1 \text{ M PBS (pH=2.5)}$  içerisinde PAR'ın kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Elektrot, Gr-Nf/GCE, biriktirme süresi  $60 \text{ s}$ ; biriktirme gerilimi,  $0.1 \text{ V}$ ; Kare-dalga voltametri değişkenleri; amplitüd:  $50 \text{ mV}$ , gerilim adımı:  $14 \text{ mV}$ , frekans  $75 \text{ Hz}$ .  $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$  . 47
- Şekil 30.  $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR ve  $2.5 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF varlığında  $0.05-5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında  $0.1 \text{ M PBS (pH=2.5)}$  içerisinde ASA'nın kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 29'daki gibidir. 48
- Şekil 31.  $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR ve  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA varlığında  $0.05-7.5 \mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında  $0.1 \text{ M PBS (pH=2.5)}$  içerisinde KAF'ın kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 29'daki gibidir. 48
- Şekil 32.  $0.00125-0.075 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $0.15-3.0 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $0.05-2.0 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF aralığında  $0.1 \text{ M PBS tamponu (pH=2.5)}$  içerisinde PAR, ASA ve KAF'ın eş zamanlı kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 29'daki gibidir. 50
- Şekil 33. PAR içeren Parol ilaç çözeltilisine (kesikli çizgi), standart PAR çözeltilisinden  $0.005 \text{ ppm}$ ,  $0.01 \text{ ppm}$ ,  $0.04 \text{ ppm}$  ve  $0.06 \text{ ppm}$  eklenmesi sonucu oluşan akım değerlerine ilişkin kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Elektrot; Gr-Nf /GCE, biriktirme süresi  $60 \text{ s}$ , biriktirme gerilimi  $0.1 \text{ V}$ , Kare Dalga Voltametri değişkenleri, amplitüd;  $50 \text{ mV}$ , gerilim adımı;  $14 \text{ mV}$ , frekans;  $75 \text{ Hz}$ . 53
- Şekil 34. ASA içeren aspirin ilaç çözeltilisine (kesikli çizgi), standart ASA çözeltilisinden  $0.15 \text{ ppm}$ ,  $0.25 \text{ ppm}$ ,  $0.5 \text{ ppm}$  ve  $2.5 \text{ ppm}$  eklenmesi sonucu oluşan akım değerlerine ilişkin kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Elektrot; Gr-Nf/GCE, biriktirme süresi  $60 \text{ s}$ , biriktirme gerilimi  $0.1 \text{ V}$ , Kare Dalga Voltametri değişkenleri, amplitüd;  $50 \text{ mV}$ , gerilim adımı;  $14 \text{ mV}$ , frekans;  $75 \text{ Hz}$ . 54

- Şekil 35. PAR, ASA ve KAF içeren thomapyrin ilaç çözeltisine (kesikli çizgi), standart PAR çözeltisinden sırasıyla 0.00025 ppm, ASA çözeltisinden 0.5 ppm ve KAF çözeltisinden 0.1 ppm, standart PAR çözeltisinden 0.002 ppm, ASA çözeltisinden 1 ppm ve KAF çözeltisinden 0.4 ppm, standart PAR çözeltisinden 0.002 ppm, ASA çözeltisinden 1.5 ppm ve KAF çözeltisinden 0.8 ppm ve standart PAR çözeltisinden 0.005 ppm, ASA çözeltisinden 1.75 ppm ve KAF çözeltisinden 1 ppm eklenmesi sonucu oluşan akım değerlerine ilişkin kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları, Elektrot; Gr-Nf/GCE, biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi 01. V, Kare Dalga Voltametri değişkenleri, amplitüd; 50 mV, gerilim adımı; 14 mV, frekans; 75 Hz. 55
- Şekil 36. PAR standart çözeltisinin HPLC kromatogramı ( $t_R=4.237$ ). Kromatografik koşullar; kolon: Nucleosil C18 (250 mm X 4.6 mm, 5  $\mu$ m), hareketli faz bileşimi: asetonitril /su (25:75 v/v), pH 2.5, hareketli faz akış hızı: 1 mL dakika<sup>-1</sup>, kolon fırın sıcaklığı: 25 °C, dedektör: fotodiyot dizileri (207 nm). 56
- Şekil 37. ASA standart çözeltisinin HPLC kromatogramı ( $t_R=10.755$ ). Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir. 56
- Şekil 38. KAF standart çözeltisinin HPLC kromatogramı ( $t_R=5.323$ ). Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir. 56
- Şekil 39. PAR, KAF ve ASA standart çözeltilerinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir. 58
- Şekil 40. PAR, KAF ve ASA'nın eşzamanlı tayinlerinde elde edilen kalibrasyon grafikleri. 58
- Şekil 41. Parol ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir. 59
- Şekil 42. Aspirin ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir. 59
- Şekil 43. Thomapyrin ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir. 59

## TABLULAR

		<b>Sayfa</b>
Tablo 1.	KAF, PAR ve ASA'nın tayinlerine yönelik bazı yöntemlere örnekler	24
Tablo 2.	KAF, PAR ve ASA'nın tayinine yönelik son yıllarda yapılan elektrokimyasal çalışmalara örnekler	25
Tablo 3.	PAR, ASA ve KAF analizi için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel koşullar	44
Tablo 4.	Gr-Nf/GCE'de PAR, ASA ve KAF'ın tekli kalibrasyon karakteristikleri	46
Tablo 5.	Gr-Nf/GCE'de diğer iki bileşiğin derişimleri sabit tutulduğunda bir bileşik için kalibrasyon karakteristikleri	49
Tablo 6.	PAR, ASA ve KAF'ın eş zamanlı tayinleri için kalibrasyon karakteristikleri	51
Tablo 7.	HPLC yöntemi ve SW-AdASV kullanılarak ilaç formülasyonunda (parol ve aspirin tabletlerinde) PAR ve ASA'nın tekli tayin sonuçları	60
Tablo 8.	PAR, KAF ve ASA'nın ilaç preparatlarındaki (Thomapyrin tablet) eşzamanlı tayinlerinin voltametrik (Gr-Nf/GCE) ve HPLC yöntemi ile bulunan sonuçları	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfirik Asit
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Alüminyum oksit
HCl	Hidroklorik asit
L	Litre
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
M	Molarite
mg	Miligram
µg	Mikrogram
mM	Milimolar
µg mL <sup>-1</sup>	Mikrogram/mililitre
mg L <sup>-1</sup>	Miligram/litre
V	Volt
mV	Milivolt
mV s <sup>-1</sup>	milivolt/saniye
A	Amper
µA	Mikroamper
nA	Nanoamper
°C	Santigrat derece
İp	Pik akımı
Hz	Hertz
nm	Nanometre
dak	Dakika
s	Saniye
C	Derişim
v	Tarama hızı
log	Logaritma
mm	Milimetre

LOD	Gözlenebilme Sınırı
LOQ	Kantitatif Ölçme Sınırı
BDD	Bor Katkılı Elmas Elektrot
GCE	Camsı Karbon Elektrot
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
DAD	Diyot dizi detektörü
CV	Dönüşümlü Voltametri
LC	Sıvı Kromatografisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametri
BE	Bulk Elektroliz
KSV	Katodik Sıyırma Voltametri
SWV	Kare Dalga Voltametri
AdASV	Adsorptif Sıyırma Voltametri
SW-AdASV	Kare Dalga Adsorptif Sıyırma Voltametri
CNT	Karbon Nano Tüp
BR	Britton-Robinson Tamponu
rpm	Dakikada Dönme Sayısı
f	Frekans
S/N	Sinyal/Gürültü
n	Deney Sayısı
r	Korelasyon Katsayısı
BSS	Bağlı Standart Sapma
rGO	İndirgenmiş Grafen Oksit
GO	Grafen Oksit
UV/Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık Absorpsiyon Spektroskopisi
PAR	Parasetamol
ASA	Asetilsalisilik Asit
KAF	Kafein
NSAID	Non Steroidal Anti İnflmatuar
CE	Kapiler Elektroforez
FT-IR	Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
EPPGE	Kenar Düzlem Pirolitik Grafit Elektrot

MWCNT	Çok Duvarlı Karbon Nanotüp
SEM	Taramalı Elektrot Mikroskobu
Gr-GCE	Grafen Katkılı Camsı Karbon Elektrot
Gr/Nf/GCE	Grafen Nafion Kompozit Film Katkılı Camsı Karbon Elektrot
AA	Askorbik Asit
MET	Metadon
UA	Ürik Asit
XN	Ksantin
HXN	Hipoksantin
DOM	Domperidon



## 1. GİRİŞ

Karbon materyalleri, çeşitli allotrop yapıları sayesinde farklı elektronik ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle günümüzün ilgi çeken malzemeleri arasındadır. Elektrokimyasal yöntemlerin basit, hızlı, ekonomik ve duyarlı oluşlarının yanı sıra küçük hacimli minyatürizasyona olanak sağlamaları nedeniyle karbon allotroplarının elektroanaliz alanında elektrot olarak kullanımları da giderek artmaktadır. Camı karbon elektrotlar (GCE), uzun yıllardır farklı analitlerin saptanmasında yaygın biçimde kullanılmaktadır. Son yıllarda ise yeni karbon materyalleri, özellikle katkılı (dope edilmiş) elmas (doped diamond), karbon nanotüp (CNT) ve grafen nanoyapılar; elektroanalizde (biyo) moleküllere duyarlı platformlar olarak artan hızla geliştirilmektedir. Çok daha yeni olarak, Geim ve Novoselov'un 2010 yılında Nobel Fizik ödülü almasıyla tüm dikkatler geleceğin malzemesi olarak isimlendirilen ve iki boyutlu planar yapıların çok ender örneklerinden biri olan grafen üzerine çevrilmiştir (Novoselov ve ark., 2004). Yeni bir karbon çağına başlamasının sinyallerini veren uygulamalarına ilişkin fizik, kimya ve materyal biliminde grafen ve ilişkili materyaller üzerine basılmış makalelerin sayısı son beş yıl içerisinde şaşırtıcı bir hızla artmıştır. Grafenin rulo haline gelmiş formu olan CNT malzemesi günümüzde elektronikten sağlığa kadar birçok alanda binlerce kullanım alanı bulmuştur. Nanotüplere oranla daha basit elde edilmiş yöntemlerine sahip olması ve bu yöntemlerin nanotüplere kıyasla daha kontrol edilebilir olması nedeniyle grafenin yakın gelecekte nanotüp teknolojisi üzerinde üstünlük kurması da olasıdır.

Diğer taraftan; son otuz yıl, insan ve bitki gibi canlı türlerinde var olan ya da onların yararına kullanılan önemli (biyo) moleküllerin saptanması için elektroanalitik yöntemlerdeki gelişmeye tanıklık etmektedir. Aynı anda birden fazla bileşiği ya da en azından benzer fizikokimyasal özelliğe sahip bir grubu saptamak üzere geliştirilen analitik yöntemlerin hiç şüphesiz ki sağlık bilimlerinde, ilaç ve gıda endüstrisinde, fitoterapi pazarında önemi çok büyük olacaktır.

Yukarıda sözü edilen bilgilerin ışığında bu tez kapsamında amaçlanan hedef; grafen ile modifiye edilmiş elektrotların ilaç etken maddelerinin ilgili preparatlarında yeni uygulamaları üzerinedir. İlaç preparatlarındaki uygulaması; ağrı kesici ve ateş

düşürücü olarak en fazla kullanıma sahip olan kafein, parasetamol ve asetilsalisilik asit'in tekli ve karışımı üzerinde gerçekleştirilecektir.

Bu tez kapsamında ilgili bileşiklerin elektrokimyasal yükseltgenmesine dayalı yeni, duyarlı, seçici, hızlı elektroanalitik yöntem geliştirilmesi tasarlanmıştır. Geliştirilen yöntem gerçek örneklere (ticari ilaç preparatları) uygulanarak sonuçlar yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile kıyaslanacaktır.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Elektrokimya

Elektrokimya, bir metalik iletken ile kimyasal bir maddenin çözeltisi ya da bizzat kendisi arasındaki ara yüzeyde meydana gelen kimyasal değişimleri ele alan kimya dalıdır (Chang, 2006). 217 yıl önce Volta'nın elektrik pilini (1799) keşfi ile başlayan elektrokimya uzun bir geçmişe sahiptir ve elektrokimya uygulamaları ile ilgili yapılan çok fazla çalışma bulunmaktadır (Bard ve Faulkner, 1980; Sawyer ve ark., 1995). Son yıllardaki ilerlemelerle birlikte, bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar ve küresel enerji ve çevre sorunlarının çözümüne katkı sağlar (Izutsu, 2002).

Elektrik enerjisinin kimyasal dönüşümleri gerçekleştirebilmesi ve kimyasal dönüşümlerin de elektrik enerjisi üretebilmesi yükseltgenme ve indirgenme süreçlerine bağlıdır. Bu olaylar gerçekleştiği anda sistemde elektron geçişleri ve aktarımı meydana gelir. Elektrik-madde etkileşimi, elektrokimyasal hücre adı verilen bir düzenek içerisinde gerçekleştirilir. Bir elektrokimyasal tepkimenin oluşması incelenecek maddeyi (analit) içeren bir çözeltiyi, analitin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrot sistemini (genellikle üçlü elektrot sistemi) ve elektrotları birbirine bağlayan bir dönüştürücü sistemini (transistor) gerektirir. Çözelti olarak elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla sıklıkla tampon çözelti kullanılır (Yardım, 2009).

Elektroanalitik kimya, analit çözeltisinin bir elektrokimyasal hücrenin parçası olması durumunda çözeltinin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesine dayanan bir grup nicel analitik yöntemin genel adıdır (Skoog ve ark., 1998).

Elektroanalitik yöntemlerin çok çeşitli sınıflandırılmaları vardır. Elektroanalitik yöntemlerin, ara yüzey yöntemleri ve analiz ortamının tamamındaki yöntemler olmak üzere iki ana grupta toplanması en yaygın kabul edilen sınıflandırmadır. Yöntemlerin çok büyük bir kısmında akım gözlenir ve bunlar çoğunlukla gerilim kontrollü ya da akım kontrollüdür. Gerilim ve akımın kontrol edildiği yöntemlerde bu değişkenler büyük genlikli ya da küçük genlikli olarak uygulanır. Büyük genlikli yöntemler diğerlerine göre daha yaygın olarak kullanılır (Öztekin, 2008).

Elektroanalitik yöntemler, çok düşük tayin sınırlarına olanak tanımalarının yanı sıra uygulandıkları sistemler hakkında kapsamlı bilgiler (yük ve kütle aktarım hızı, adsorbsiyon derecesi, kimyasal tepkimelerin hız ve denge sabitleri) sunmalarıyla var olan yöntemleri tamamlayıcı hatta onlara alternatif olma konumunu da taşırlar.

Geçen zamanla birlikte bu alanda yapılan yenilikler; analizlerin daha kısa sürede, daha düşük tayin sınırında ve daha ekonomik koşullarda yapılmasına olanak sağladığı için elektroanalitik yöntemler analitik kimyada tercih edilen öncelikli konuma gelmiştir (Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998; Gündüz, 2004).

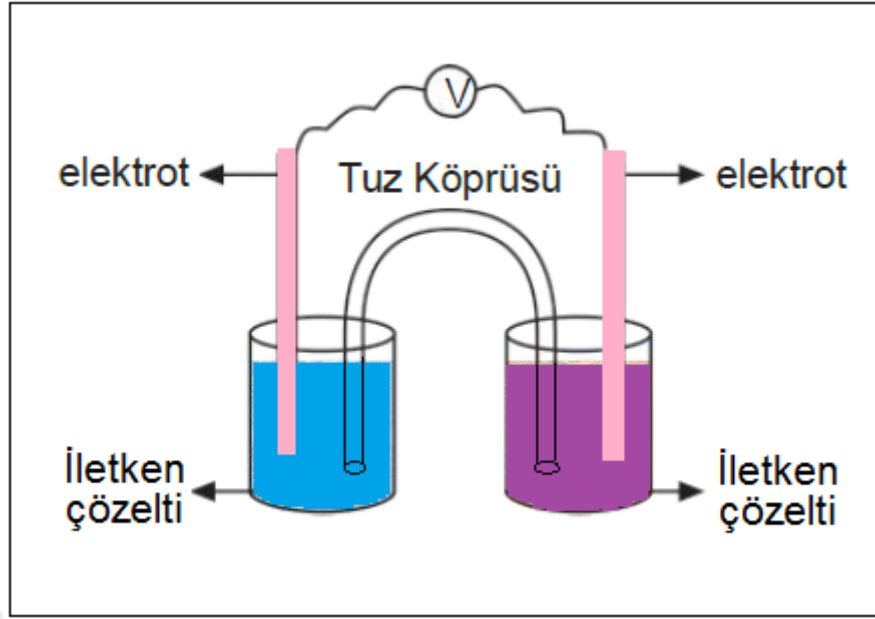
### **2.1.1. Elektrokimyasal hücreler**

Elektrokimyasal hücreler, elektrik enerjisi üretiminde kullanılıyorsa "galvanik", bir dış kaynaktan elektrik alıp harcıyorsa "elektrolitik" olarak sınıflandırılırlar. Analitik kimyada iki tür hücre de kullanılır. Hücrelerin çoğu, deney koşulları değiştirilerek galvanik ya da elektrolitik amaçlarla çalıştırılabilir.

Elektrokimyasal bir hücrede, uygun bir elektrolit çözeltisine daldırılmış, iki metalik iletken (elektrot) bulunur. Elektrik akımı elde edilmesi için elektrotların dıştan iletken bir tel ile bağlanması ve iki elektrolit çözeltisinin, iyonların birinden diğerine hareketini sağlayacak şekilde birbiriyle bağlantı halinde bulunması ve her iki elektrodun her birinde bir elektron aktarım tepkimesinin oluşması gerekir (Skoog ve ark., 1998).

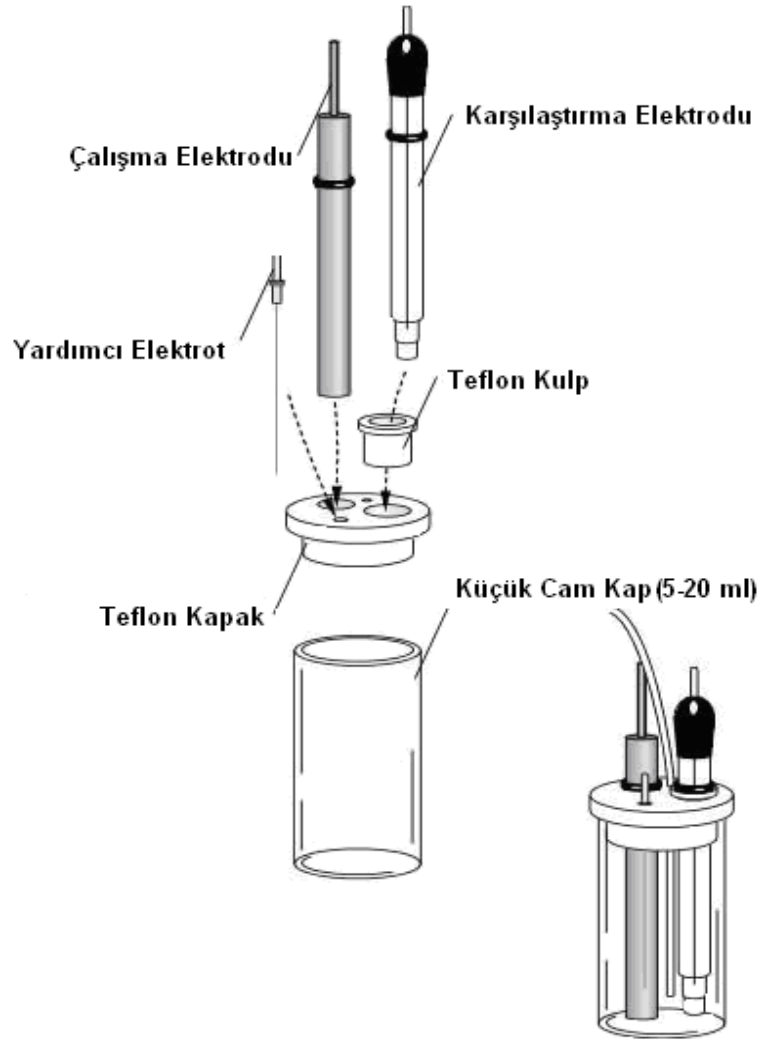
Elektrokimyasal hücreler iki elektrotlu ve üç elektrotlu olmak üzere sınıflandırılabilirler.

İki elektrotlu hücrelerde bir çalışma elektrodu ile bir karşılaştırma elektrodu vardır. İki elektrotlu elektrokimyasal hücrelerin bölümleri Şekil 1'de verilmiştir.



**Şekil 1.** İki elektrotlu tipik bir elektrokimyasal hücre

Çözelti direncinin önemli olduğu elektrokimyasal hücrelerde çalışma ve karşılaştırma elektrotlarına ek olarak yardımcı (karşıt) elektrot olarak bilinen üçüncü bir elektrot kullanılır. Hücre materyali, elektrot girişleri bulunan bir kapakla kapatılmış genellikle küçük bir cam kaptan (5-20 mL) oluşmuştur. Çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak amacıyla inert gaz aktarım borusu ve seçime bağlı olarak karıştırıcı içerir. Voltametri de kullanılan üç elektrotlu düzeneğin tipik bir örneği Şekil 2’de verilmiştir.



**Şekil 2.** Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre (Als Co. Ltd., 2006).

**Çalışma Elektrotu:** Yüzeyinde çözeltideki indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği ve zamanla gerilimi doğrusal olarak değişen elektrottur.

**Karşılaştırma Elektrotu:** Sabit bir gerilime sahip olan bu elektrot, çalışma elektrodunun geriliminin kıyaslandığı elektrottur. Gerilimi analizi yapılacak analitin derişiminden bağımsız olup tekrarlanabilen, kararlı ve sabit bir değerdedir.

**Yardımcı Elektrot:** Elektrokimyasal hücre içinde akımın aktarılması görevini yürüten, çalışma elektrodu ile bir çift oluşturan ve genellikle inert materyalden oluşan elektrot tipidir.

Hücre içindeki elektrotların yerleşimi oldukça önemlidir. Çalışma elektrodu, karşılaştırma elektroduna oldukça yakın olmak koşuluyla yardımcı elektrot ve karşılaştırma elektrodu arasına yerleştirilir. Üçlü elektrot sistemi kullanılmasının gerekçesi, potansiyostatın çalışma elektrodu aşırı gerilim yüklemesi durumunda sistemi otomatik olarak verilen doğru gerilime getirmektir. Bu işlem, çalışma elektrodu ve karşılaştırma elektrodu arasındaki gerilim sürekli ölçülerek ve ayarlı gerilimle karşılaştırarak yapılır.

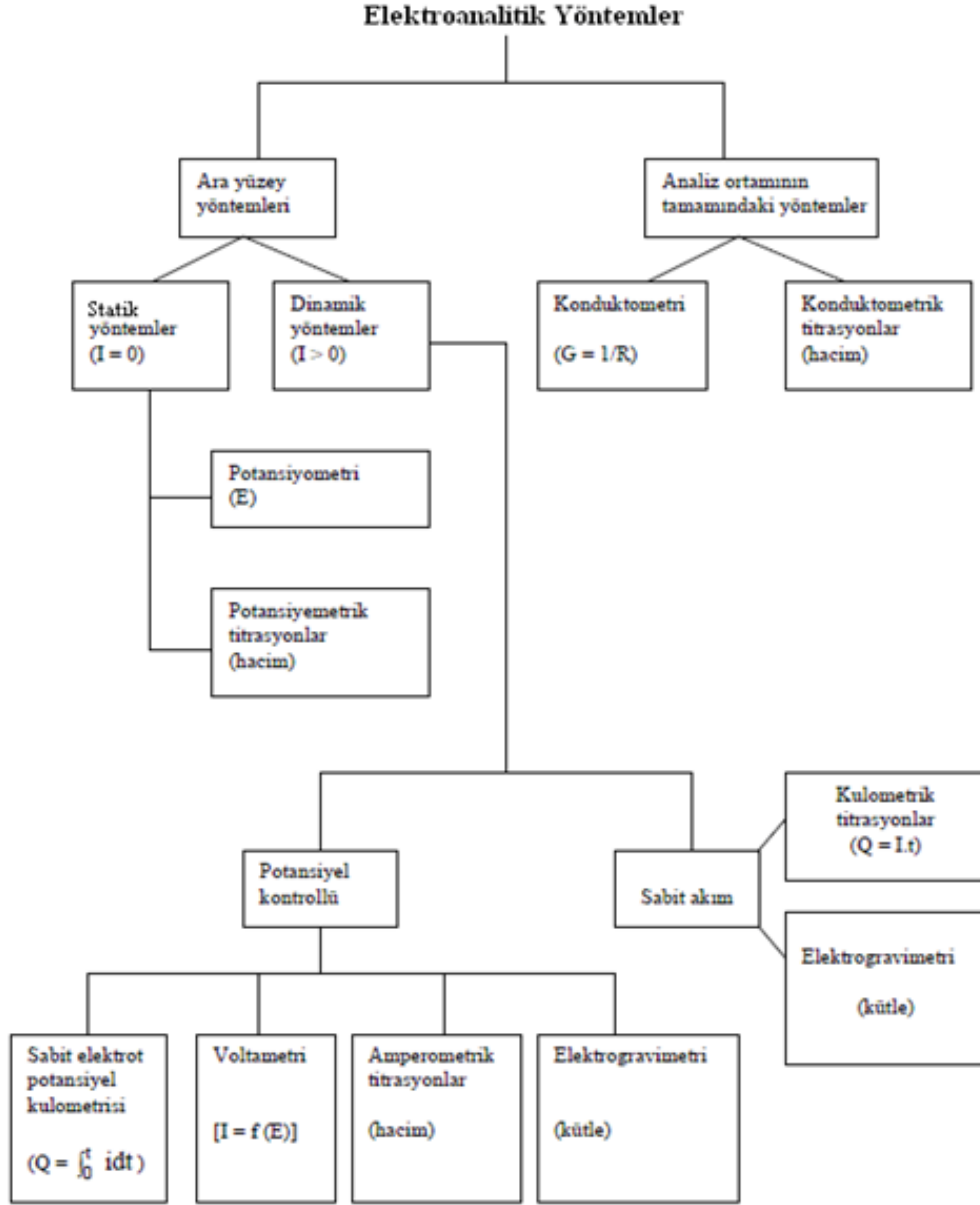
Elektrokimyasal hücreye yerleştirilen üçlü elektrot girişleri, iletken bir telle potansiyostata bağlanarak devre tamamlanır.

Analiz sırasında çözeltinin karıştırılıp karıştırılmamasına bağlı olarak elektrot-elektrolit ara yüzeyinde gerçekleşen olaylar da farklı olur.

### **2.1.2. Elektroanalitik yöntemler**

Elektroanalitik yöntemler, ara yüzey yöntemleri ve analiz ortamının tamamında gerçekleşen yöntemler olmak üzere iki ana başlık altında incelenirler. Ara yüzey yöntemleri elektrot yüzeyleri ile bu yüzeye hemen bitişik konumdaki ince tabakadaki (elektriksel çift tabaka) çözelti arasında gerçekleşen olayları inceler. Analiz ortamının tamamındaki yöntemler ise çözeltinin tamamında gerçekleşen olayları incelemek üzerine kurgulanmıştır ve ara yüzey olaylarından olabildiğince uzak durulur.

Ara yüzey yöntemleri, elektrokimyasal hücrelerin akımın varlığında ya da yokluğundaki işleyişine göre durağan (statik) ve dinamik olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır. Statik yöntemlerin hızlarının ve seçiciliklerinin elektroanalitik kimyada ayrı bir önemi olsa da akımın çok önem taşıdığı dinamik ara yüzey yöntemleri elektroanalitik kimyada daha yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Şekil 3’de yaygın olarak kullanılan elektroanalitik yöntemler gösterilmiştir.



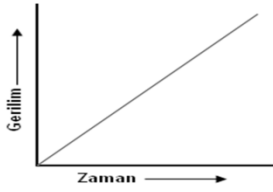
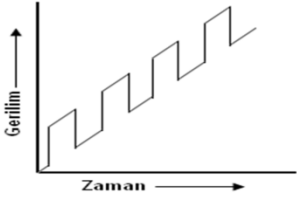
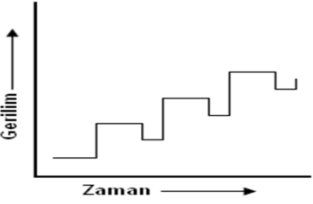
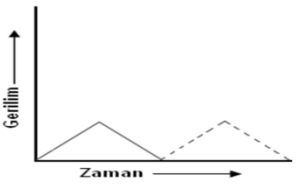
**Şekil 3.** Yaygın elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi (Gökçe, 2004)

## 2.2. Voltametri

Elektroda uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesiyle sistem hakkında bilgi veren bir elektroanalitik yöntemdir. Bu elektroanalitik yöntemlerle maddelerin, nitel ve nicel analizleri yapılabileceği gibi elektrot tepkimelerinin mekanizmaları da incelenebilir. Ayrıca maddelerin çözeltilerdeki kararlılıkları ve çeşitli fizikokimyasal sabitlerinin de tayinini yapmak olanıktır.

Voltametrik yöntemlerin bir kısmında gerilim sabit tutulur ya da çeşitli şekillerde değiştirilerek madde miktarına bağlı olarak oluşan akım miktarı incelenir. Voltametri yönteminde, çalışma elektrodunun gerilimi zamanla değiştirilirken akım ölçülür.

Elektroda, zamanın bir fonksiyonu olarak farklı gerilimlerin uygulanmasıyla oluşan farklı şekillerdeki gerilim-zaman fonksiyonlarına uyarma sinyali denir. Voltametri de en çok kullanılan uyarma sinyallerinin dördünün dalga şekli aşağıdaki gibidir.

İsmi	Dalga Şekli	Voltametri Tipi
Doğrusal Taramalı		Polarografi Hidrodinamik Voltametri
Difarensiyel Puls		Difarensiyel Puls Polarografisi
Kare Dalga		Kare-Dalga Voltametrisi
Üçgen		Dönüşümlü Voltametri

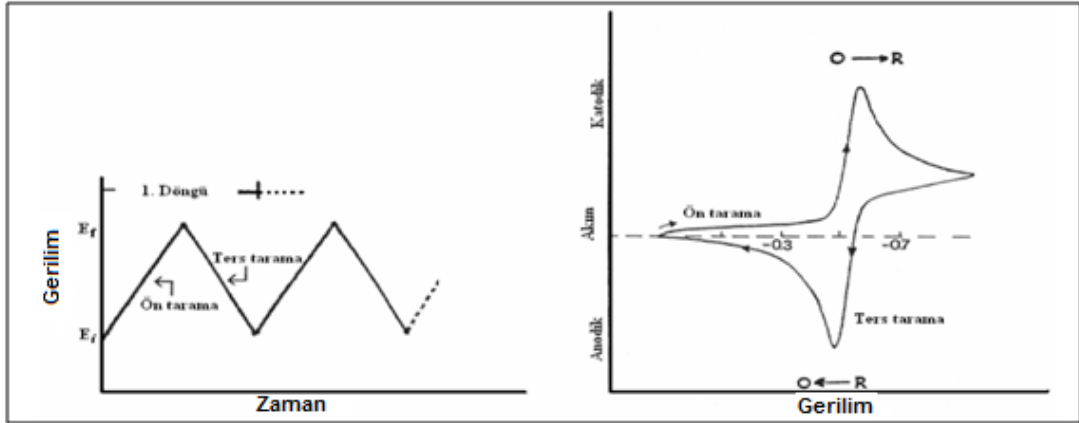
**Şekil 4.** Voltametricte En Çok Kullanılan Uyarma Sinyallerinin Dördünün Dalga Şekli (Skoog ve ark., 1998)

### 2.2.1. Voltametrinin ve voltametrik yöntemlerin sınıflandırılması

- Dönüşümlü voltametri (CV)
  - Tersinir sistemler
  - Tersinmez ve yarı-tersinir sistemler
  - Adsorpsiyonun dönüşümlü voltametri ile incelenmesi
- Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)
- Kare dalga voltametrisi (SWV)
- Sabit gerilimli elektroliz (Bulk elektroliz, BE)
- Sıyırma voltametrisi
  - Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)
  - Katodik sıyırma voltametrisi (KSV)
  - Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) (Turan, 2008).

#### 2.2.1.1. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri, susuz çözeltilerdeki elektrokimyasal çalışmalarda en kullanışlı yöntemlerden biridir (Izutsu, 2002). Özellikle, kararsız bir ara ürün ya da ürün içeren elektro tepkimelerinin incelenmesinde yararlıdır. Hücrede oluşan akımın gerilimin fonksiyonu olarak kaydedilmesiyle elde edilen akım-gerilim eğrilerine dönüşümlü voltamogram denir. Dönüşümlü voltametrizde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri Şekil 5’de gösterilmiştir.



**Şekil 5.** Dönüşümlü voltametrizde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri (Karabilgin, 2012)

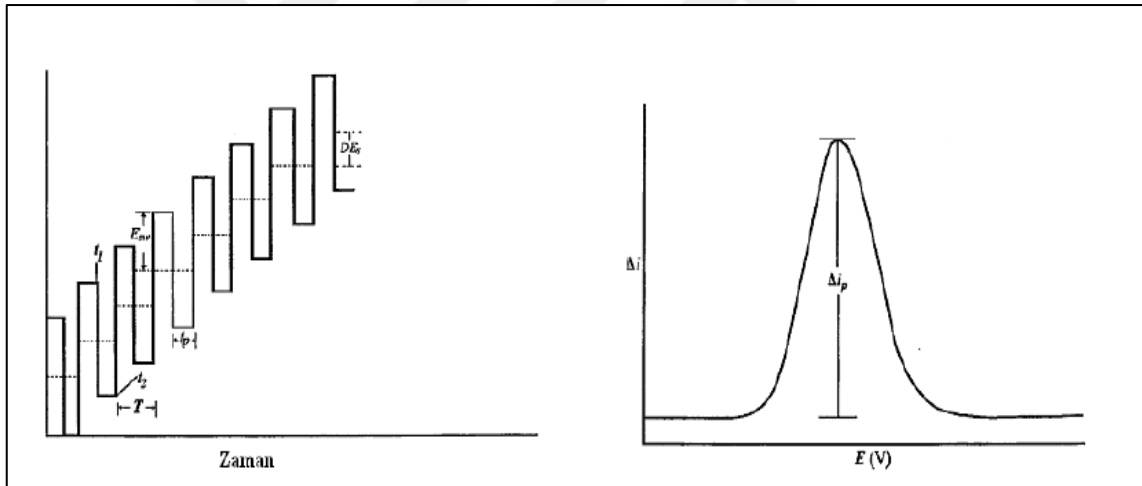
Dönüşümlü voltametri yönteminin, nicel amaçla kullanımı nadirdir. Ancak elektrokimyasal tepkimeler hakkında nitel bilgi edinilmesinde en yaygın olarak



kullanılan yöntemdir. Bunun nedeni; redoks olaylarının termodinamiği, heterojen elektron-transfer tepkimelerinin kinetiği ve takip eden kimyasal tepkimeler ve adsorpsiyon olaylarıyla ilgili güvenilir bilgileri hızlı bir şekilde sağlamasıdır (Wang, 2000).

### 2.2.1.2. Kare-dalga voltametri

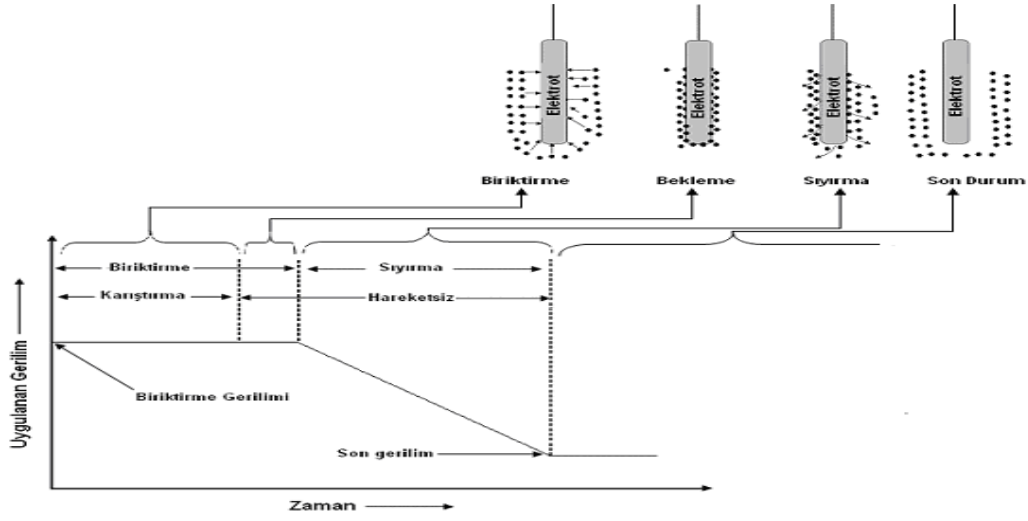
Kare dalga voltametri geniş genlikli bir diferansiyel yöntemdir. Basamakların üst üste biniştirildiği simetrik bir kare dalganın birleştirilmesiyle oluşan bir dalga şeklidir (Şekil 6). Her bir kare dalga dönüşümü için bir ileri yöndeki pulsun sonunda ve bir de ters yöndeki pulsun sonunda olmak üzere akım iki kez örneklenir. Voltamogram mükemmel bir duyarlılık ve etkin bir ayırmayla sonuçlanır. Tayin sınırı yaklaşık  $10^{-8}$  M'dir. Kare dalga voltametrisinin en önemli üstünlüğü hızlı olmasıdır. Sonuç olarak analiz süresi çok belirgin bir şekilde azalır ve tüm polarogram bir kaç saniye içinde kaydedilir (Öztek, 2008).



**Şekil 6.** Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali (a) ve elde edilen voltamogram (b) (Öztek, 2008)

### 2.2.1.3. Adsorptif sıyırma voltametri

Adsorptif sıyırma voltametri (AdSV) yöntemi, geniş bir aralıktaki organik bileşiklerin ve inorganik türlerin nanomolar düzeyde analizinin yapılmasına olanak tanıyan etkili bir yöntemdir (Smyth ve Smyth, 1978; Smyth ve Vos, 1992; Fogg ve Wang 1999; Zimmerman ve ark., 2001; Farias ve ark., 2003; Ghoneim ve ark., 2003; Hourch ve ark., 2003; Ensafi ve ark., 2004). Şekil 7'de verilen bu yöntemin ilk kez 1983 yılında Lam ve arkadaşları tarafından kullanıldığı düşünülmektedir.



**Şekil 7.** Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

Geçen zamanla birlikte bu alanda yapılan yenilikler; analizlerin daha kısa sürede, daha düşük tayin sınırında ve daha ekonomik koşullarda yapılmasına olanak sağladığı için elektroanalitik yöntemler analitik kimyada öncelikli tercih edilen konuma gelmiştir (Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998; Gündüz, 2004; Keskin, 2009).

### 2.2.2. Voltametrik yöntemlerin uygulama alanları

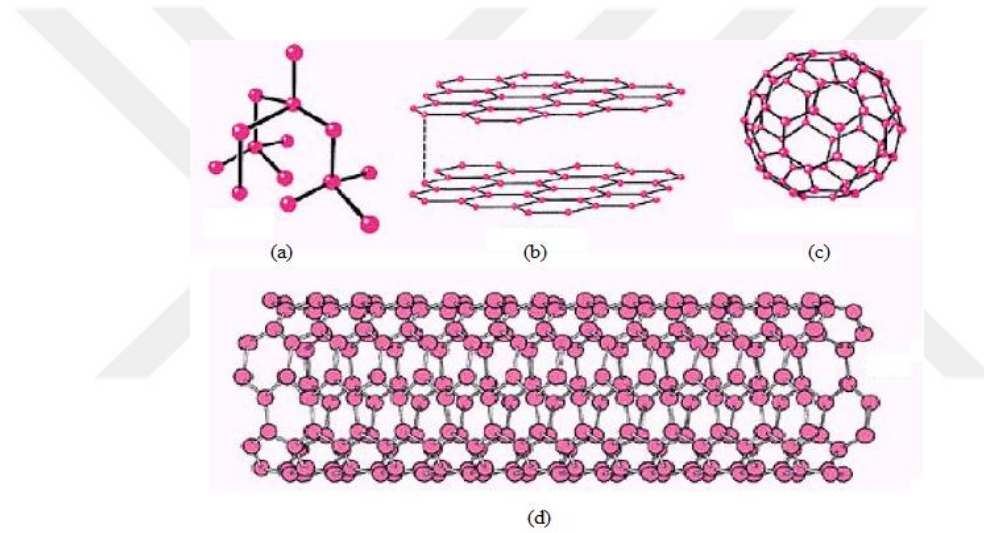
- Çevresel Görüntüleme
- Toksikoloji
- İlaç Analizleri
- Gıda Analizleri
- Adli Tıp Analizleri

Voltametrik yöntemler ile maddelerin, nitel ve nicel analizleri yapılabileceği gibi elektrot tepkimelerinin mekanizmaları da incelenebilir. Ayrıca maddelerin çözeltilerdeki kararlılıkları ve çeşitli fizikokimyasal sabitlerinin de tayinini yapmak olanaklıdır (Turan, 2008).

Elektrokimyasal yöntemlerin basit, hızlı, ekonomik ve duyarlı oluşlarının yanı sıra küçük hacimli minyatürizasyona olanak sağlamaları nedeniyle karbon allotroplarının elektroanaliz alanında elektrot olarak kullanımları da giderek artmaktadır.

### 2.3. Karbon Materyalleri

Karbon materyalleri, değişik allotroplarının (grafit, fulleren, karbon nanotüp, grafen, elmas gibi) yapısal farklılıkları sonucunda farklı elektronik ve elektrokimyasal özellikleriyle günümüzün ilgi odağı olan malzemelerdir. Karbonun bazı allotropları Şekil 8’de verilmiştir.

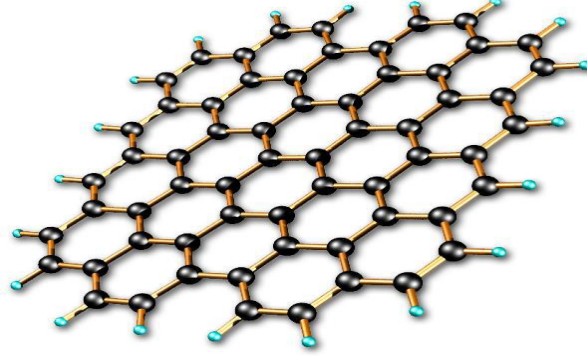


Şekil 8. (a) elmas, (b) grafit, (c) fulleren, (d) karbon nanotüp (Kenan Elibol, 2012)

#### 2.3.1. Grafen ve özellikleri

1947’de P.R Wallace tarafından grafitin band yapısı hesaplanmıştır. Linus Pauling 1957 yılında grafitin elektronik yapısı ve özelliklerine yayınladığı makalelerle ışık tutmuştur. 1980’e kadar karbonun sadece üç temel formu (elmas, grafit, amorf karbon) olduğu sanılmıştır. 2004 yılında Novaslov ve arkadaşlarının yayınladığı çalışma ile tek tabakalı, iki tabakalı ve birkaç tabakalı olarak sentezlenen iki boyutlu malzeme grafen olarak adlandırılmıştır (Novaslov ve ark., 2004). Novaslov ve arkadaşları grafeni tek tabaka halinde sentezlemeyi başarmış ve beklenenden çok daha değişik fiziksel ve elektronik özelliklere sahip olduğunu ispatlamıştır. 2010 yılında Andre Geim ve Konstantin Novaslov grafitin tanınması,

üretimi, izolasyonu ve karakterizasyonu konulu çalışmalarıyla Nobel fizik ödülünü almışlardır. Şekil 9'da grafenin yapısı gösterilmektedir.



**Şekil 9.** Grafen yapısı (Du ve ark., 2011)

Grafen çok yönlü bir karbon bileşiğidir. Grafen elmastan sert ancak esnek yapıdadır, hafif ve kuvvetlidir. Ayrıca saydam, inert, yoğun ve ileri derecede ısı iletkenlik gibi özelliklerinden dolayı önemli bir molekül olarak görülmektedir. Ayrıca karbonda olduğu gibi grafen oksit de biyo uyumludur (Chang ve ark., 2011). Grafenin  $sp^2$  hibritleşmesi yapmasına rağmen poliaromatik hidrokarbon olmadığı bilinmektedir (Wu ve ark., 2007). Grafene olan ilgi başlarda çok azdı fakat daha sonra grafende keşfedilen kütleli Dirac fermiyonları, anormal kuantum hall etkisi, oda sıcaklığında balistik taşınma ve Klein paradoksu gibi yeni olgular grafende deneysel olarak gözlenmiştir. Bunlar sonucunda grafene olan ilgi son derece artmıştır. Kimyacılar ve malzeme bilim insanları için grafen kolay hazırlanması ve işlenebilirliği nedeniyle tercih edilmektedir (Kim ve ark., 2012).

### **2.3.2. Grafenin sentezi**

#### **2.3.2.1. Katman ayırma yöntemi**

Bu yöntem ilk kez Manchester grubundan Giem ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir. Burada grafit tabakası bir zemin üzerinde kaydırılarak grafen tabakalarının ayrılması sağlanmıştır (Novoselov ve ark., 2004).

### **2.3.2.2. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi**

Grafen çoğunlukla Cu, Ru, Ir ve Ni'nin de aralarında bulunduğu metaller üzerinde kimyasal buhar biriktirme (CVD) tekniği ile büyütülebilir. Bu yöntem ile tek tabaka grafit ya da grafen metal yüzeyler üzerinde büyütülmektedir. Yöntemde en çok tercih edilen metal Cu'dur. Cu aşındırılması kolay, ucuz ve grafen ile etkileşiminin fiziksel düzeyde olduğu bir metaldir. Buda keyfi yüzeylere grafen film transfer süreçlerini geliştirmektedir (Xuesong ve ark., 2009).

### **2.3.2.3. Kimyasal indirgeme yöntemi**

Bu yöntemde grafit oksit tabakaları hidrazinle etkileştirilmektedir. Grafit oksidin üzerinde bulunan fonksiyonel gruplar indirgenmektedir. İndirgenme sonrasında grafen tabakasının kenarlarında kalan alkol türevleri ve karboksilik asit grupları kolay kıvrılan ve dönen yapının sabit kalmasını sağlamaktadır. Ayrıca karbon atomuna göre büyük olan bu gruplar grafen tabakaları arasındaki mesafenin artmasına neden oldukları için tabakaların ayrılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu yöntemi avantajlı hale getiriyor (Vincent ve ark., 2008).

### **2.3.3. Grafenin kullanım alanları**

Grafen; elektronik ve optik alanda, kompozit malzemelerde, temiz ve yenilebilir enerji depolanmasında, sensörler ve analitik uygulamalarda, elektriksel uygulamalarda ve katalizör destek maddesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Grafen, lityum iyonları bataryasında kullanabilmektedir. Yüksek yoğunluğa sahip lityum bataryalarının; gelişmiş elektronik teknolojilerde, çeşitli enerji cihazlarında ve elektriksel araçlarda kullanılması planlanmaktadır. Lityum iyonları elektrokimyasal olarak ayrılan grafen tabakalarına adsorbe olarak lityum-grafit interkalasyonu  $C_6Li$  şeklinde bileşik oluşturmaktadır. Böylece yüksek dönüşüme sahip lityuma depolanmış grafen nanotabakalarının, şarj edilebilir iyon bataryası olarak kullanılması sağlanmaktadır (Eun ve ark., 2008). Çeşitli sensör yapımlarında da grafen kullanılmaktadır. Son derece esnek ve düşük maliyetli amonyak sensörü geliştirilirken tabakalı grafen kullanılmaktadır. Son yıllarda grafen, endüstriyel gaz sensörü uygulamalarında önemli yer almaktadır (Lu ve ark., 2011; Basu ve Bhattacharyya 2012 ). Grafen tabakalı yapısından dolayı çok büyük bir yüzey alanına sahiptir. Bu özelliğinden dolayı katalizör destek maddesi olarak kullanılmaktadır.

Kaynakçada grafenin katalizör desteği olarak kullanıldığı çok fazla çalışma mevcuttur (Chang ve ark., 2011; Metin ve ark., 2012a; Metin ve ark., 2012b; Michael ve ark., 2012; Sherif ve ark., 2014).

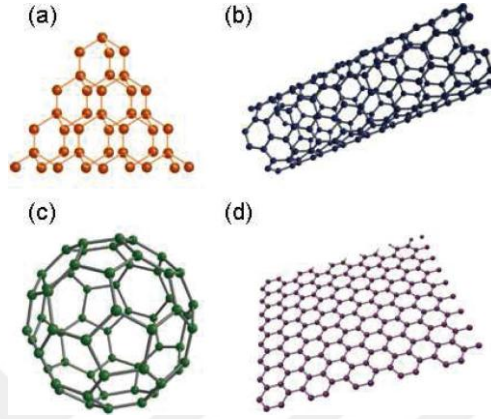
#### **2.4. Katı Elektrot Voltametri ve Karbon-Temelli Elektrotlar**

Son on yıl boyunca geliştirilen yeni elektrot şekil ve tasarımı (modifiye elektrotlar), elektrot aktivasyon işlemleri ve modern yöntemler (puls-dalga formları, adsorptif yöntemler, sıyırma) kullanılarak gerçekleştirilen "katı elektrot voltametri"; pikomolar altı derişim düzeylerinde, daha kısa sürede, daha ekonomik koşullarda, basit ve taşınabilir düzeneklerle çalışmaya olanak sağlamaktadır. Bu nedenle; kromatografik ve spektroskopik yöntemlere alternatif yöntem olarak nitelendirilen modern voltametri, bu yöntemlerle yarışmalı olmaktan çok onları tamamlayıcı niteliktedir. Katı elektrot-voltametri, analiz yöntemi olmanın dışında yükseltgenme tepkimelerindeki rolü ile moleküler biyoloji alanında ve dolayısıyla endojen kaynaklı pek çok bileşimin canlı organizmadaki etki mekanizmalarının açıklanmasında da başarıyla kullanılmaktadır (Barek ve ark., 2001).

Katı elektrot voltametrisinin performansını büyük ölçüde çalışma elektrotu belirler. Çalışma elektrotundan beklenen; analiti yüzeyinde iyi adsorbe etmesi kadar dayanıklı ve tekrarlanabilir yüzeye de sahip olmasıdır. Karbon-temelli elektrotlar; geniş bir gerilim penceresine, düşük maliyete, zengin yüzey kimyasına, düşük artık akıma, kimyasal inertliğe, pek çok zor analiz için uygunluğa sahip olmaları nedeniyle elektroanalitik kimyada yaygın bir uygulama alanı bulmuşlardır. Ayrıca bazı yöntemlerdeki (elektrokimyasal dedektörlü yüksek-performanslı sıvı kromatografisi, kapiler elektroforez) dedeksiyon uygulamaları için de uygundur. Bu elektrotların bir sınıflama biçimi, homojen (GCE, grafit, perde-baskılı karbon, fulleren, CNT, elmas) ve heterojen (karbon pasta ve modifiye karbon pasta) olma özellikleri açısından (Uslu, Özkan, 2007).

Karbon bağ tipine ve yapısına bağlı olarak sınıflandırılmaları ise Şekil 10'da verilmiştir. Şekilden de görüleceği üzere, fullerenler 0-boyutlu (0D), karbon nanotüpler 1-boyutlu (1D), grafen 2-boyutlu (2D), elmas ve grafit ise 3-boyutlu (3D) karbon materyalleridir. Karbonun bal peteği örgülü yapıları olan grafit, fulleren, CNT ve grafen,  $sp^2$  melezleşmesinin ürünüken; elmas ise  $sp^3$  melezleşmesi ve dört yüzlü ağ örgüsü ile

diğerlerinden farklı bir sınıfta değerlendirilir. Elmas ve grafit doğada serbest halde bulunurken, diğerleri ancak yapay yolla sentezlenebilmektedirler. 1987’de keşfedilen fullerenler, grafen başlangıç maddesinden elde edilen, 60 karbon atomuna sahip futbol topu şeklindeki yapılardır. 1991’de keşfedilen nanotüpler ise grafenin boru şeklinde katlanmasıyla oluşmuşlardır.

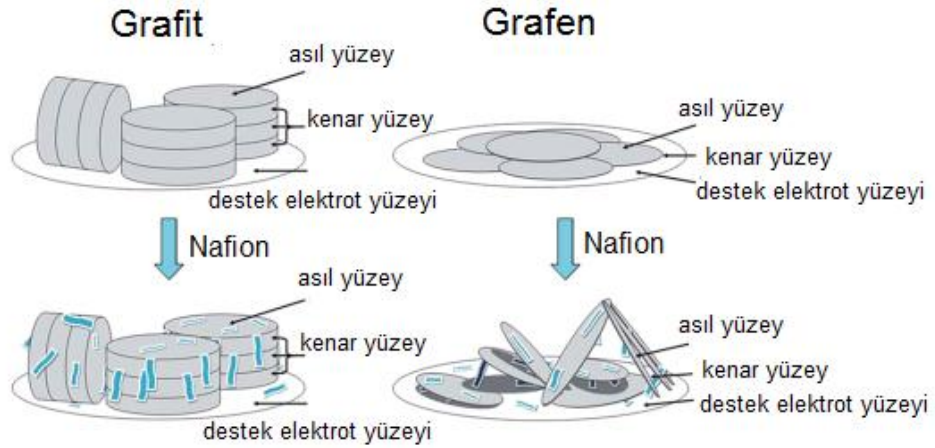


**Şekil 10.** (a)  $sp^3$ -bağlı elmas ve (b-d)  $sp^2$ -bağlı karbon ((b) CNT (1D-yapısı), (c) fulleren (0D-yapısı), (d) grafen (2D-yapısı) (Kato, Niwa, 2013).

## 2.5. Grafen-Temelli Elektrotlar

Grafen,  $sp^2$  melezleşmesi yapan karbon atomlarının birbirlerine hegzagonal olarak aynı düzlem üzerinde 2-boyutlu bağlandığı tek atomik tabakalardan oluşan bir moleküldür. Grafendeki güçlü karbon bağları ona yeryüzündeki bilinen en ince ve en sağlam malzemelerden biri olma özelliğini kazandırmaktadır. Materyalin olağanüstü özelliklerinden biri de elektronların bu tek atom kalınlığındaki karbon tabakası içerisinde sanki hiç kütleleri yokmuşçasına hızlı hareket edebiliyor olmasıdır. Isıyı en iyi iletmediği düşünülen elmadan daha güçlü bir iletken olduğu da saptanmıştır. Atomları çok sıkı bir şekilde dizilmiş olduğundan içerisinde en küçük atom (helyum atomu) bile geçemezken grafen kolayca esneyebilmekte ve değişik formlardaki birçok malzemenin yüzeyine kolayca kaplanabilmektedir. Sonuç olarak; yüksek mekaniksel dayanıklılığı (çelikten 200 kez daha fazla), çok yüksek elektron hareketliliği ( $\approx 200\ 000\ \text{cm}^2/\text{V/s}$ ) ve yüzey alanı ( $2600\ \text{m}^2/\text{g}$ ), ileri derecede ısı iletkenliği ( $3\ \text{kW/m/K}$ ), toksik olmaması, metalik safsızlık içermemesi (CNT'lere üstünlüğü) ve düşük maliyeti (CNT'lere üstünlüğü) gibi birçok kullanışlı özellikleri nedeniyle (Li, Kaner, 2008) bilim dünyasında "mükemmel malzeme" olarak

nitelendirilen grafen, özellikle DNA, proteinler, nörotransmitterler, fitohormonlar, ilaçlar, kirleticiler, metal iyonları, gazlar, hidrojen peroksit tayininde elektrokimyasal sensör ve biyosensör olarak son birkaç yıl içerisinde birincil derecede tercih edilen karbon materyali haline gelmiştir ( Pumera ve ark., 2010; Gan, Hu, 2011; Kochman ve ark., 2012; Li ve ark., 2012; Sheng ve ark., 2012; Kato, Niwa, 2013). Grafenle ilişkili olan başka materyaller (grafen materyalleri) de bu amaçla kullanılmaktadır. Bunlar, grafene giden sentez basamakları sırasında elde edilen grafit oksit, grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit (rGO)'tir. Grafen-temelli sensör tasarımında grafen materyalleri yalın halde, kompozit formunda ya da farklı malzemelerle modifiye edilerek kullanılabilir. Elektrot fabrikasyonunda Nafion/grafen ya da kitosan/grafen ortaklığı da GCE yüzeyine grafen materyallerinin tutturulmasını sağlamak ve analite duyarlılığı artırmak amacıyla sıklıkla tercih edilen yoldur. Şekil 11'den de görüleceği üzere grafenin Nafion katılmasından sonra oluşan düzensizliği ve yön değişikliği nedeniyle Nafion/grafen ortaklığı, Nafion/grafit ortaklıklarına oranla yöntemin duyarlılığını önemli ölçüde artırır (Kochman ve ark., 2012).



**Şekil 11.** Nafion/grafit ve Nafion/grafen-modifiye elektrotlar ( Kochman ve ark., 2012).

Grafen temelli elektrotlar çoğunlukla farklı elektrot yüzeyine grafen çözeltisinin damla-kurut yöntemi ile tek tabaka şeklinde kaplanmasıyla ya da elektrot yüzeyine elektrokimyasal biriktirme ile oluşturulmaktadır (Chou ve ark., 2009; Wang ve ark., 2012).



## **2.6. Kromatografi**

Kromatografi genel anlamda bir karışımı oluşturan bileşiklerin ya da maddelerin iki ayrı faz arasında ve bu fazlardaki hareket hızlarının farklılıklarına dayanarak hem nitelik hem de nicelik olarak ayrıştırılması işlemidir (Weiss, 2004).

Kromatografi İlk kez Rus botanikçi Mikhail Tsvett (1903) tarafından geliştirilmiştir. Tsvett bu yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini ayırmakta kullanmıştır. Kullandığı kolonda renkli bandlar oluştuğundan, bu ayırma yönteminin kromatografi adını vermiştir (Skoog ve ark., 1998).

Modern kromatografide karışımın ayrıştırılmasında iki farklı faz kullanılır, bunlar sabit faz ve hareketli fazdır. Sabit faz sıvı ya da katı olabilir. Hareketli ya da taşıyıcı denilen faz ise hem sıvı hem de gaz fazında olabilir. Hareketli fazın gaz olması durumunda sistem Gaz kromatografisi diye tanımlanmaktadır. Taşıyıcı ya da hareketli kısmın sıvı olması durumunda ise Sıvı kromatografisinden (LC) söz etmek mümkündür.

### **2.6.1. Sıvı Kromatografisi**

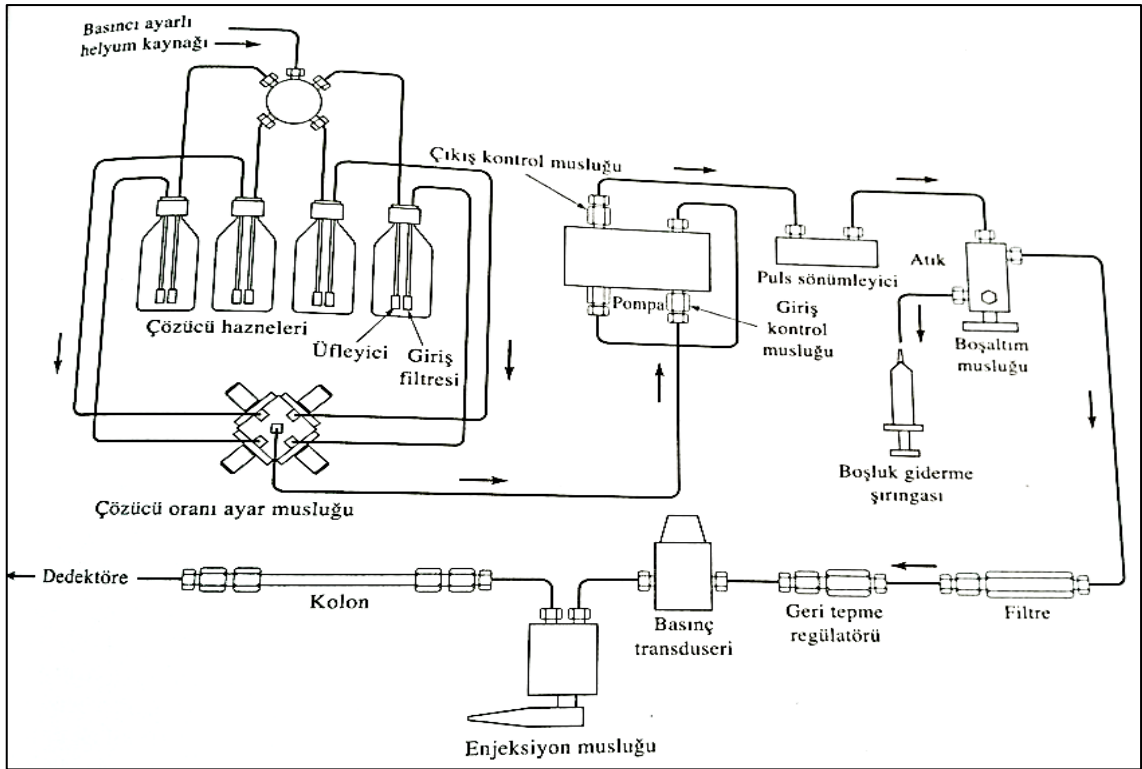
Hareketli fazın sıvı olduğu bu kromatografi türünde; sabit faz bir dolgu maddesi üzerine tutturulmuş sıvı film ise bu kromatografi türüne sıvı-sıvı kromatografisi denir. Hareketli ve sabit fazdaki sıvıların polarlıkları farklı olmalıdır. Genellikle hareketli faz olarak hegzan gibi apolar bir sıvı, dolgu maddesi olarak etilen glikol gibi polar bir sıvı kullanılır (Normal faz kromatografisi). Bunun tersi özellikte sıvılar kullanılırsa (sabit faz apolar, hareketli faz polar) buna ters faz sıvı-sıvı kromatografisi denir (Mehmet Yaman, 2012).

### **2.6.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)**

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi kısaca HPLC (High Performance Liquid Chromatography) olarak adlandırılır.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, günümüzde çok yaygın olarak kullanılan ve özellikle de gaz kromatografisinde ayrılamayan uçucu olmayan bileşenlerin ayrılmasında en çok tercih edilen kromatografik ayırma yöntemlerinden birisidir. Birçok alanda olduğu gibi ilaç etkin madde analizlerinde de sıklıkla HPLC kullanılır. HPLC'nin çok geniş bir kullanım alanına sahip olmasının nedenleri

arasında; analiz edilecek maddenin yapısına göre hareketli fazda birçok değişiklik yapılabilme olanağı, çok çeşitli kolon seçeneklerinin ticari olarak temin edilebilmesi sayılabilir. Ayrıca HPLC sistemlerinin birçok dedektör türü ile birlikte kullanılabilmesi, duyarlılığı, nicel tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması ve uçucu olmayan ya da sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğunda HPLC'nin kullanımını artırır. UV/Vis dedektörler iyi doğrusallık ve hızlı analiz sağlamaları ve çok yönlü kullanılabilir olmaları nedeniyle HPLC sistemleri ile çalışırken sıklıkla tercih edilir. Bir UV/Vis dedektör çeşidi olan diyot dizisi dedektörleri (DAD) tek dalga boyu dedektörlerinden farklı olarak pik teşhisi ve pik saflığının belirlenmesi gibi avantajlara sahiptirler (Nikolin, 2004).



**Şekil 12.** HPLC cihazının akış şeması (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT)

Günümüzde modern HPLC cihazı, bir ya da daha fazla, herbiri 200-1000 mL çözücü içeren cam ya da çelik hazne içermektedir (Şekil 12).

Bir HPLC pompalama sisteminde; 400 atm'e kadar basınç üretimi, puls içermeyen basınç çıkışı, 0,1-10 mL dakika<sup>-1</sup> aralığında akış hızları, % 0,5 ya da daha

iyi bağıl tekrarlanabilirlikle akış kontrolü, korozyona dayanıklı parçalar oldukça önemli şartlardır.

Sıvılar sıkıştırılmadığından HPLC pompalarınca üretilen basınçla patlama tehlikesi oluşmadığına dikkat edilmelidir. Parçalardan birinde meydana gelebilecek çatlak, çözücünün dışarı sızması ile sonuçlanabilecektir. Çoğu zaman ölçmelerin kesinliğini belirleyici faktör, örneğin kolon dolgu maddesine sevkinin tekrarlanabilirliğidir. Aşırı örnek yüklenmiş kolonlarda görülen bant genişlemesi de kesinliği etkiler. Bu yüzden, kullanılan hacim, 10-100 µL'ye kadar oldukça küçük olmalı ve sistemin basıncını düşürmeden örneğin siteme girişi sağlanmalıdır.

HPLC kolonları polaritelerine göre normal faz ve ters faz olarak ikiye ayrılırlar. Daha polar bir kolon dolgu maddesi kullanılan yöntemler normal faz, daha apolar kolon dolgu maddesi kullanılan yöntemler ise ters faz olarak adlandırılmıştır. Normal fazda hareketli faz olarak daha apolar organik çözücüler kullanılırken ters fazda daha polar çözücüler kullanılır. Hareketli fazın dengeye ulaşmasının normal fazda çok yavaş olması, normal fazda kullanılan polar bileşenlerin ayırımının çok yavaş, apolar çözücülerin ise pahalı olması, normal fazda hareketli faz bileşimindeki küçük değişikliklerin kromatogramlarda belirgin farklılıklara neden olmasından dolayı ters faz çalışmaları çok daha yaygın kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 1998).

## **2.7. Kafein, Parasetamol ve Asetilsalisilik Asit**

Farmasötiklerin önemli bölümü, hastalıkla ilişkili ağrı ve diğer semptomları hafifleten bileşiklerdir. Ancak karıştırıldıkları ya da aşırı dozda alındıklarında zararlı olabilir hatta ölüme yol açabilirler. Bu nedenle; hastalıkları başarıyla tedavi etmek, yan etkileri en aza indirmek ve yasal düzenlemelere uymak için ilaçların kalite kontrolünü yapmak adına yeni yöntemlerin geliştirilmesi son derece önemlidir. İlaç piyasasında bulunan pek çok karışım (Kafein+Parasetamol+Asetilsalisilik asit'de olduğu gibi), bileşiklerin farmakodinamik etkilerini en çoğa çekmek için kullanılmaktadır. Parasetamol (asetaminofen, PAR) ve asetilsalisilik asit (aspirin, ASA), non-steroidal antiinflamatuvar bileşiklerdir, ağrı kesici ve ateş düşürücü özellikleriyle dünyada olası en yaygın olarak kullanılan ilaçların başında gelmektedirler ( Beaver, Million, 1980; Mehlish, 2002; Fiebich ve ark., 2006; Bufan ve ark., 2009).

KAF, tıbbi olarak trimetilksantin olarak adlandırılır. Kimyasal formülü  $C_8H_{10}N_4O_2$ 'dir. Saf haldeyken çok acı tatda beyaz kristallerden oluşan bir toz şeklindedir. Tıbbi açıdan kardiyak uyarıcı olarak faydalıdır. Ayrıca iyi bir uyarıcı ve diüretiktir. Ancak KAF bağımlılık yapan bir uyuşturucu gibidir. Amfitamin, kokain ve eroinden çok daha az zararlı olmasına karşın bu maddeler ile aynı yoldan beyni etkilemektedir (How Stuff Works, 2009).

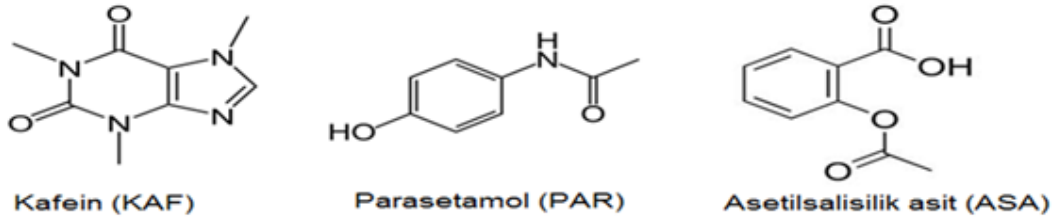
KAF, pürin sınıfı alkaloidler grubunun en önemli üyesi olup, kahve ve çay gibi ürünlerde doğal olarak, kola, enerji içeceği gibi ürünlerde yapay olarak bulunmaktadır. Doğal bir uyarıcı kimyasal olan KAF, beyin ve sinir sistemi üzerinde hızlandırıcı bir etkiye sahiptir. Nöronların uyarılma eşiğini düşürerek, sinirsel uyarılmayı artırır. KAF'ın ilaç formülasyonları ise astım, burun tıkanıklığı, baş ağrısı gibi rahatsızlıkların tedavisinde, atletik dayanıklılığı artırmada ve kilo vermede kullanılmaktadır (James, 1991).

PAR, ağrı kesici ve ateş düşürücü özelliğine sahip bir ilaç etken maddesidir. Kapalı formülü  $C_8H_9NO_2$  dür. Molekül ağırlığı 151.17 olup % 63,56 C, % 6,00 H, % 9,27 N, % 21,17 O içermektedir. Kimyasal adı N-(4-Hidroksifenil)asetamid ya da 4'-Hidroksiasetanilid'tir. Analjezik ve antipiretik etken olarak aspirine etkili bir alternatiftir, aspirinden farklı olarak antiinflamatuvar etkisi zayıftır. PAR iyi tolere edildiği için, ASA'nın yan etkilerinden çoğunu taşımaz ve reçetesiz alınabilir. PAR akut doz aşımında, hepatik ya da renal hasar sonucu ölüme yol açabilmektedir. Evlerde yaygın kullanımı ve reçetesiz kolaylıkla alınabilmesi gibi nedenlerle, PAR içeren ilaçlarla intihar ya da kaza sonucu ölümler sıklıkla görülmektedir (Acetaminophen, 2011a, 2011b; Federal Aviation Administration, 2011).

Toksik dozda PAR alımında, klinik bulgular üç evredir. Birinci evrede oral alımdan bir ya da birkaç saat sonra bulantı, kusma, anoreksi ve diaforezi gözlenir. İkinci evrede bu semptomların şiddeti azalır, hepatik enzimler ile bilirübin seviyelerinde aşırı yükselmeler gözlenir. Protrombin zamanında yükselme de bunlara eşlik eder. İdrar, renal hasar, ilacın diüretik etkisi ve dehidratasyondan dolayı azalır. Üçüncü evre 3-5 gün sonra olunur. Sarılıkla birlikte hepatonekroz, hipoglisemi, ensefalopati ve miyokardiyopati görülür. Hepatik yetmezlik ve nekroz ölüme neden olur (Mumcuoğlu, 2011).

ASA, başağrısı, kas gerilmeleri, kireçlenme ve romatizma gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmasının yanısıra Alzheimer ve kalp-damar hastalıklarının tedavisinde de etkilidir. Kapalı formülü  $C_9H_8O_4$ 'dür. Molekül ağırlığı 180.16 olup yoğunluğu  $1.35 \text{ g cm}^{-3}$ 'dir.

ASA, non steroidal antiinflamatuvar (NSAID) sınıfının ilk ilacıdır. Antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik özellikleri ile eski tarihlerden beri kullanılmaktadır. Yeni tarihli çalışmalarda, aspirin, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser olmak üzere, iki ölüm riskini ortadan kaldırmak için kullanılmaktadır (Henkens, 2007; Patrono ve Rocca, 2008). KAF, PAR ve ASA'nın molekül formülleri Şekil 13'de gösterilmiştir.



**Şekil 13.** KAF, PAR ve ASA'nın molekül formülleri

KAF, PAR ve ASA'nın üçlü karışımı ile hazırlanmış ilaçlar migren, kas ağrıları, adet sancısı, eklem iltihabı, sırt ağrısı, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve sinüzit rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Fakat bu karışımı içeren ilaçların aşırı dozda alınması; bulantı, kusma, ishal, karın ağrıları, terleme, felç ve düzensiz kalp atışlarına neden olmaktadır (Kachoosangi ve ark., 2008; Atta ve ark., 2009).

### 2.7.1. Kafein, Parasetamol ve Asetilsalisilik Asit Tayinleri

KAF dünyada en çok tüketilen içeceklerde (kahve, çay, kola vb.) bulunduğu için, PAR ve ASA içeren ilaçlar ise yapılan araştırmalarda dünyada en yaygın kullanılan ilaçların başında (ASA, üzerinde en çok araştırma yapılan ilaç etken maddesi olup, bunu PAR takip etmektedir) yer aldığından, bu bileşiklerin ayrı ayrı ya da eş zamanlı analizlerine yönelik yeni yöntemlerin geliştirilmesi günümüzde önemini korumaktadır. KAF, PAR ve ASA'nın tayinlerine yönelik yeni yöntemlerin bilim dünyasına sürekli olarak kazandırıldığı görülmektedir bu yöntemlere örnekler Tablo 1'de sunulmaktadır.

**Tablo 1.** KAF, PAR ve ASA'nın tayinlerine yönelik bazı yöntemlere örnekler

Analit	Yöntem	Çalışma aralığı, Ortam	Saptama sınırı	Kaynak
KAF	UV-Vis spektrofotometrisi	Su için ; (1.25-14.20) $\times 10^{-5}$ M dikolorometan için; (1.78-9.48) $\times 10^{-5}$ M Oda sıcaklığı	Su için; $1,25 \times 10^{-5}$ M Dikolorometan için; $1,78 \times 10^{-5}$ M	(Belay, 2010)
KAF	Gaz kromatografisi	10–2000 pg $\mu\text{L}^{-1}$ Atık su ve su	0.5–20 pg $\mu\text{L}^{-1}$	(Verenitch ve ark., 2006)
KAF+ TEOFİLİN	Gaz kromatografisi	KAF;1-20 mg $\mu\text{L}^{-1}$ TEOFİLİN;1-20 mg $\mu\text{L}^{-1}$ pH=3-9	KAF için; 0,2 mg $\mu\text{L}^{-1}$ TEOFİLİN; 0,3 mg $\mu\text{L}^{-1}$	(Jafari ve ark., 2010)
KAF	Sıvı kromatografisi	2,5-400 pg $\mu\text{L}^{-1}$ NaOH çözeltisi pH=8-9	0,004 pg $\mu\text{L}^{-1}$	(Gardinali, Zhao, 2002)
KAF	Sıvı kromatografisi	0-200 mg $\text{L}^{-1}$ Su ve asetonitril	0,10 mg $\text{L}^{-1}$	(Tzanavaras, Themelis, 2007),
KAF	Kapiler elektroforez	1 ,5-194 $\mu\text{g mL}^{-1}$ PBS Tamponu	1,50 $\mu\text{g L}^{-1}$	( Zhao, Lunte, 1997)
ASA+ PAR	Spektrofotometri	ASA; $3 \times 10^{-4}$ - $5 \times 10^{-4}$ M PAR, $10^{-5}$ - $10^{-4}$ M $\text{H}_2\text{SO}_4$ Çözeltisi	ASA; $1,3 \times 10^{-2}$ M PAR; $2,6 \times 10^{-3}$ M	(Lopez ve ark., 2001)
PAR	Kemilüminesans	0,3-50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , HCl, $\text{HNO}_3$ , $\text{H}_3\text{PO}_4$ çözeltileri	0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$	(Ruengsitagoon ve ark., 2006)
PAR	Kromatografi	0,004-0,02 mg $\text{L}^{-1}$ Asetonitril	0,0002 mg $\text{L}^{-1}$	(McEvoy ve ark., 2007)
ASA	Spektrorometri	50-170 mg $\text{g}^{-1}$ laktoz, mısır nişastası, pudra ve magnezyum stearat karışımı	2,2 mg $\text{g}^{-1}$	(Moreira ve ark., 2004)
ASA	Uv-Vis spektrofotometrisi	0-13,2 mg NaOH, $\text{HNO}_3$ , $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ çözeltileri	0,6 mg	(Matias ve ark., 2004)
ASA	Kromatografi	1-100 ng $\text{L}^{-1}$ Su	2 ng $\text{L}^{-1}$	(Stolker ve ark., 2004)

KAF, PAR ve ASA'nın elektrokimyasal yöntemlerle tayinine yönelik son yıllarda yapılan çalışmalardan bazıları Tablo 2'de sunulmuştur.

**Tablo 2.** KAF, PAR ve ASA'nın tayinine yönelik son yıllarda yapılan elektrokimyasal çalışmalara örnekler

Analit	Elektrot	Çalışma aralığı (M), Ortam	Saptama sınırı (M)	Kaynak
ASA	Nikel oksit-modifiye nikel	$2 \times 10^{-4}$ - $8 \times 10^{-3}$ Sodyum hidroksit	$4.8 \times 10^{-5}$	(Majdi ve ark., 2007)
ASA+ KAF	Kenar düzlem pirolitik grafit (EPPGE).	$2 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$ PBS tamponu pH=7.0	ASA; $1 \times 10^{-8}$ KAF; $8 \times 10^{-9}$	(Goyal ve ark., 2011)
KAF+ AA	BDD	KAF; $9.7 \times 10^{-6}$ - $1.1 \times 10^{-4}$ AA; $1.9 \times 10^{-5}$ - $2.1 \times 10^{-4}$ Sülfürik asit	KAF; $7 \times 10^{-6}$ AA; $19 \times 10^{-6}$	(Lourenço ve ark., 2010)
ASA+ KAF	BDD	ASA; $1.1 \times 10^{-5}$ - $1.5 \times 10^{-3}$ KAF; $1.0 \times 10^{-5}$ - $1.8 \times 10^{-3}$ Sülfürik asit	ASA; $2.3 \times 10^{-7}$ KAF; $1.6 \times 10^{-7}$	(Faria ve ark., 2012)
KAF	Polimer-modifiye GCE	$6 \times 10^{-8}$ - $4 \times 10^{-5}$ ABS tamponu pH=5	$1.37 \times 10^{-8}$	(Amare, Admassie, 2012)
KAF+ AA	Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-modifiye GCE	$1 \times 10^{-5}$ - $5 \times 10^{-4}$ PBS tamponu pH=7.2	KAF; $3.52 \times 10^{-9}$ AA; $1 \times 10^{-8}$	(Gupta ve ark., 2013)
KAF+ PAR	BDD	$5 \times 10^{-7}$ - $8.3 \times 10^{-5}$ ABS tamponu pH=4.5	KAF; $3.5 \times 10^{-8}$ PAR; $4.9 \times 10^{-7}$	(Lourencao ve ark., 2009)
KAF	BDD	$4 \times 10^{-7}$ - $2.5 \times 10^{-5}$ Perklorik asit	$1.5 \times 10^{-7}$	(Svorc ve ark., 2012)
PAR	Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-modifiye GCE	$2 \times 10^{-10}$ - $1.5 \times 10^{-5}$ , PBS tamponu pH=7.0	$9 \times 10^{-11}$	(Kutluay, Aslanoğlu, 2013)
PAR	Elektrokimyasal ön-işlem görmüş kalem grafit elektrot	$5 \times 10^{-8}$ - $2.5 \times 10^{-6}$ PBS tamponu pH=6.0	$2.5 \times 10^{-9}$	(Özcan, Şahin, 2011)
PAR+ MET	Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-modifiye GCE	PAR; $4 \times 10^{-7}$ - $9 \times 10^{-5}$ MET; $5 \times 10^{-7}$ - $1 \times 10^{-4}$ PBS tamponu pH=7.0	PAR; $3.5 \times 10^{-7}$ MET; $2.8 \times 10^{-7}$	(Amiri-Aref ve ark., 2013)
PAR+ AA	Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-modifiye polihistidin GCE	PAR; $2.5 \times 10^{-7}$ - $1 \times 10^{-5}$ AA; $2.5 \times 10^{-5}$ - $2.5 \times 10^{-3}$ PBS tamponu pH=7.4	PAR; $3.2 \times 10^{-8}$ AA; $7.6 \times 10^{-7}$	(Dalmasso ve ark., 2012)

PAR	Poli(4-vinilpiridin çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-modifiye GCE	$2 \times 10^{-8}$ - $4.5 \times 10^{-4}$ PBS tamponu pH=7.0	$1.69 \times 10^{-9}$	(Gradimi ve ark., 2013)
KAF	Nafion/Grafen-modifiye GCE	$4 \times 10^{-7}$ - $4 \times 10^{-5}$ Sülfürik asit	$1.2 \times 10^{-7}$	(Sun ve ark., 2011)
PAR	Nafion/Grafen-modifiye GCE	$1 \times 10^{-7}$ - $2 \times 10^{-5}$ Amonyak tamponu, pH=9.3	$3.2 \times 10^{-8}$	(Kang ve ark., 2010)
PAR	Nafion/TiO <sub>2</sub> -Grafen modifiye GCE	$1 \times 10^{-6}$ - $1 \times 10^{-4}$ PBS tamponu pH=7.0	$2.1 \times 10^{-7}$	(Fan ve ark., 2011)
UA+ XN+ HXN+ KAF	GCE	Fizyolojik pH	UA; $8.8 \times 10^{-8}$ , XN; $1.1 \times 10^{-7}$ , HXN; $3.2 \times 10^{-7}$ CAF; $4.3 \times 10^{-7}$	(Raj, John, 2013).
PAR+ DOM	NAF/PtNP/Gr/GCE	$8.2 \times 10^{-6}$ - $1.6 \times 10^{-9}$ PBS tamponu pH=6.0	PAR; $1.06 \times 10^{-10}$ DOM; $4.37 \times 10^{-10}$	(Kalambate ve ark., 2015).
PAR	GO / AT / GCE	$4.0 \times 10^{-4}$ - $1.0 \times 10^{-8}$	$6.8 \times 10^{-10}$	(Kesavan, John, 2016).
KAF+ PAR+ ASA	Triton X-100 ile modifiye CNT-pasta elektrot	$2.91 \times 10^{-7}$ - $6.27 \times 10^{-5}$ PBS tamponu pH=7	PAR; $2.58 \times 10^{-8}$ ASA; $8.47 \times 10^{-8}$ KAF; $8.83 \times 10^{-8}$	(Sanghavi, Srivastava, 2010)
KAF+ PAR+ ASA	Poli-1,5 diaminonaftalen modifiye-pirolitik grafit sensörünü	0.1-120nM pH=7.2	ASA; $9.3 \times 10^{-9}$ PAR; $5.7 \times 10^{-9}$ KAF; $6.4 \times 10^{-9}$	(Goyal ve ark., 2013).
KAF+ PAR+ ASA	BDD	PAR; $3.31 \times 10^{-5}$ - $8.27 \times 10^{-4}$ KAF; $2.57 \times 10^{-5}$ - $6.44 \times 10^{-4}$ ASA; $2.78 \times 10^{-5}$ - $6.94 \times 10^{-4}$ PBS tamponu pH=2.5	PAR; 0.597 KAF; 0.277 ASA; 1.310	(Yiğit ve ark., 2016).

Kaynakça araştırmasından da görüleceği gibi KAF ve PAR bileşiklerinin tekli analizinde grafen-modifiye elektrotlardan yararlanılmıştır. Ancak bilgimize göre ASA için henüz grafen materyallerinin kullanıldığı yayınlanmış bir araştırma bulunmamaktadır. KAF, PAR ve ASA'nın eşzamanlı tayinine yönelik ise sadece üç çalışma olduğu görülmektedir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

Tez kapsamında kullanılan tüm kimyasalların analitik saflığı yüksek olup Sigma ve Merck markalı ürünlerin satış yetkilisi firmalardan sağlandı. Tüm çalışmalarda iki kez distillenmiş deiyonize su kullanıldı. Deneysel çalışmalar oda sıcaklığında ( $25\pm 0.5$  °C) yapıldı. Destek elektroliti; 0.1 M PBS tamponu (pH, 2.5 ve 7.4), 0.1 M ABS tamponu (pH, 4.7) ve 0.1 M BR tamponu (pH, 2-8) çözeltilerinden yararlanıldı. Voltametrik analizlerde PAR ve KAF stok çözeltileri  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimi olacak şekilde de iyonize suda hazırlandı. ASA stok çözeltisi  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimi olacak şekilde 0.01 M NaOH'de hazırlandı. KAF, PAR ve ASA'nın seyreltik çözeltileri voltametrik alışımalarda kullanılan tampon sistemleri ile hazırlandı. HPLC çalışmaları için ilgili maddelerin standart çözeltileri hareketli (mobil) faz ile hazırlandı. HPLC çalışmalarda hareketli faz olarak %25 asetonitril, %75 su (pH 2.5, 0.1 M PBS tamponu) karışımları kullanıldı.

#### 3.2. Araç- Gereçler

Kare dalga voltametrik çalışmaları ve dönüşümlü voltametrik çalışmaları, elektrokimyasal analiz cihazları  $\mu\text{AUTOLAB PGSTAT204}$  (GPES 4.9 yazılımı ile birlikte) ile yapıldı. Tüm kare dalga voltametrik deneyler sonucu elde edilen voltamogramlarda aletin yazılım programında yer alan zemin düzeltmesi [baseline correction, Savitzky and Golay filter (level 2), peak width of 0.01 V] yapıldı. Çalışma elektrodu olarak sırasıyla camısı karbon elektrot (GCE), grafen modifiye camısı karbon elektrot (Gr/GCE) ve grafen-Nafion modifiye camısı karbon elektrot (Gr-Nf/GCE) kullanıldı. Karşılaştırma elektrodu olarak Ag/AgCl elektrodu (MF 2012, BASİ) ve yardımcı elektrot olarak platin tel elektrottan (MW 1032, BAS) yararlanıldı. Elektrokimyasal deney hücreleri (10 mililitrelik) pyrex camlardan yapılmış olup üç elektrot girişli deney hücresi kapağı ile elektrotların çözelti ile teması sağlandı. Düzenegın alt kısmında manyetik karıştırıcı olup, çözelti ortamının karıştırılması durumlarında bir magnetten yararlanıldı. pH ölçümlerinde WTW, inolab pH 720 cihazından yararlanıldı. Santrifüj olarak Soğutmalı Hermle Z320K markalı alet kullanıldı. Kromatografik analizlerde otomatik örnekleyci sisteme sahip DAD dedektörlü Agilent 1100 serisi kromatografik sistem kullanıldı.

FTIR spektrumları FTIR-IR-Affinity-I kızıl ötesi spektrofotometre ile kaydedildi (Shimadzu, Japan). UV-Vis adsorpsiyon spektrumları, UV-2600 spektrofotometre kullanılarak elde edildi (Shimadzu, Japonya). Raman spektrumları Horiba Jobin Yvon HR 800 Raman spektrometresi kullanılarak elde edildi (Horiba, Japonya). Elektrot yüzey morfolojileri tarama elektron mikroskobu (SEM, Zeiss EVO MA 15) ile incelendi (Zeiss, Almanya).

### **3.3. Yöntem**

#### **3.3.1. Grafen yapılarının sentezi**

Yüksek kalitedeki grafen (GR ve/ya da Gr) iki adımdan oluşan etkili kimyasal bir yöntem ile hazırlandı. İlk olarak grafen oksit (GO) Hummers yöntemi kullanılarak, grafit tozu ile sentezlendi (Marcano ve ark., 2010). Gr ardından kaynakça işlemine göre GO'nun indirgenmesi ile elde edildi (Stankovich ve ark., 2007). Sentezde izlenen yol aşağıda özetlenmiştir:

İlk adımda, 5.0 g grafit tozu ve 2.5 g sodyum nitrat karışımına 115 mL derişik sülfürik asit ilave edildi ve karışım 0 °C'de buz banyosu kullanılarak soğutuldu. Aşırı ısınmayı ve patlamayı önlemek amacıyla 20 °C'nin altında tutulan karışıma, 15.0 g potasyum permanganat yavaş yavaş ilave edildi ve daha sonra karışım, 35 °C'de 30 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra elde edilen çözelti, 98 °C'ye kadar geniş bir ekzoterm ile üretilen sudan 230 mL ilave edilerek seyreltildi. Grafiti tamamen yükseltgemek için, sıcaklık 15 dakika boyunca 98 °C'de saklandı. 10 dakika boyunca su banyosu ile soğutulduktan sonra karışım, 600 mL su ve başka bir ekzoterm ile üretilen % 30'luk hidrojen peroksitin 5 mL'si ile seyreltildi. Hava soğutulmasından sonra, karışım % 5'lik HCl ve su ile defalarca yıkandı, santrifüjlendi, eleme ve filtrasyon işlemleriyle saflaştırıldı. Katı ürün vakumla kurutuldu ardından tortusundan ayrıldı. İşlemler sonucunda 2.5 g madde elde edildi.

İndirgenmiş grafen oksitin (GR, Gr ve/ya da rGO) hazırlanması için; 100 mg GO üzerine 50 mL su eklendi ve homojen olmayan sarı-kahverengi dispersiyon elde edildi. Daha sonra dispersiyon görünür partikül içermeyen berrak hale gelene kadar sonikasyona tabi tutuldu. Daha sonra, bu çözelti, 200 mL dimetilformamid ve 17 mL hidrazin hidrat içeren bir karışım içine aktarıldı. Son karışım, 24 saat reflüks

koşulları altında 100 °C'de ısıtıldı ve siyah bir toz halinde Gr çöktürüldü. Bu ürün süzüldü, su (5X50 mL) ve etanol (5X50 mL) ile yıkandı. 0.70 gram siyah katı vakum altında kurutuldu.

### **3.3.2. Elektrotların hazırlanması**

#### **3.3.2.1. Gr/GCE'nin damla- kurut yöntemi ile hazırlanması**

Modifikasyondan önce, 0.05 µm alümina tozu ile hazırlanan bulamaçlar temizleme (cilalama) pedi (BAS) üzerine sürüldü ve çıplak GCE el ile cilalandı, daha sonra su ile iyice durulandı. Sonra arka arkaya 1:1 oranında nitrikasit, etanol ve su ile sonikasyona tabi tutuldu, elektrot su ile durulandı.

10 mg grafen üzerine 10 mL saf su eklenerek grafen çözüldü. 2 saat ultrasonik banyoda karıştırıldı. Daha sonra bundan 10 mikrolitre alınarak GCE'ye damlatıldı ve kurumaya bırakıldı (yaklaşık 8 saat). Kurutma işleminden sonra modifiye elektrot dönüşümlü voltametri yöntemi ile çalışılacak gerilim aralığında (+0.2 V ve +1.65 V, 10 döngü) 100 mV s<sup>-1</sup> gerilim tarama hızında ilgili tampon da aktive edildi.

#### **3.3.2.2. Gr-Nf/GCE'nin damla-kurut yöntemi ile hazırlanması**

Temizlenen GCE oda sıcaklığında kurutuldu. 3.0 mg Gr, 3.0 mL Nafion alkol çözeltisi (%5 a/h) içerisine eklendi ve ardından homojen çözelti oluşturmak için 2 saat ultrasonik su banyosunda bekletildi. Daha sonra, 10 µL grafen Nafion çözeltisinin (etiketli Gr-Nafion) homojen dispersiyonu temizlenen GCE üzerine damlatıldıktan sonra 8 saat oda sıcaklığında kurutuldu. Gr-Nf/GCE elde edildi. Karşılaştırma için, grafen modifiye GCE (Gr/GCE), Gr-Nf/GCE ile aynı şekilde muamele edildi. Kullanımdan önce Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE, 100 mV s<sup>-1</sup> gerilim tarama hızında, +0,2 ve +1,65 V (10 döngü) gerilim aralığında dönüşümlü voltametri tekniği ile ilgili tampon da aktive edildi.

### **3.3.3. Voltametrik analiz**

Çalışmanın voltametrik analiz aşamasında grafen-temelli elektrotlar üzerinde KAF, PAR ve ASA'nın dönüşümlü voltametri yöntemi ile elektrokimyasal davranışları incelendi. İkinci aşamada geliştirilecek elektrokimyasal yöntemin en iyi deney koşulları için, voltametrik yöntem seçimi, farklı tampon sistemleri ile pH'ın

elektrot yanıtına etkisi, biriktirme süresi ve geriliminin elektrot yanıtına etkisi, kare-dalga değişkenlerinin elektrot yanıtına etkisi, kalibrasyon eğrisinin oluşturulması ve tekraredilebilirliğe yönelik deneysel çalışma ve geliştirilen tekniğin bu ilaçları içeren ilaç preparatlarına uygulanması üzerine kuruldu. Yapılan deneysel çalışma basamakları altta belirtildi. GCE yüzeyinin temizlenmesinin ardından grafen yapılarının kaplanması gerçekleştirildi. Grafen temelli elektrotlar yüzeyine üzerinde KAF, PAR ve ASA'nın, 0.1 V gerilimde, 60 saniyede ve ilgili destek elektrolit sisteminde 5000 rpm'de adsorptif biriktirildikten sonra, +0.2 V ile +1.65 V arasında tarama yapılarak ilgili etken maddelerin ölçümü gerçekleştirildi.

#### **3.3.4. Kromatografik analiz**

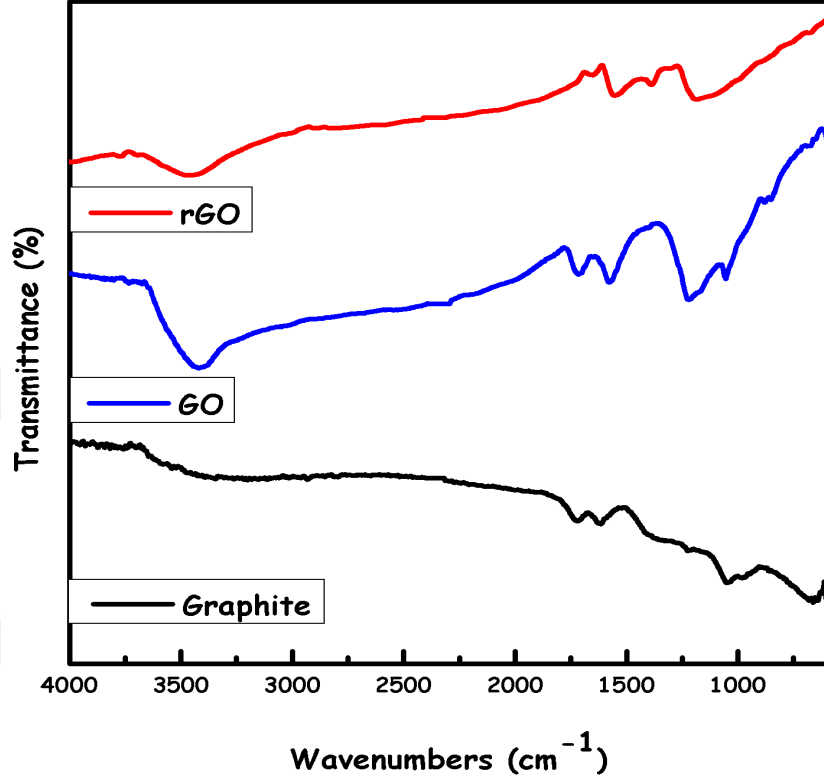
KAF, PAR ve ASA moleküllerinin kromatografik analizde gerçekleştirildiği koşulları; kolon özellikleri: Nucleosil C18 (250 mmX4.6 mm, 5  $\mu$ m), hareketli faz bileşimi: asetonitril/su (25:75 v/v), pH 2.5'e 0.1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve 0.1 M NaOH ile ayarlandı, hareketli faz akış hızı: 1 mL dakika<sup>-1</sup>, akış özelliği: izokratik, kolon fırın sıcaklığı: 25 °C, dedektör: fotodiyot array (207 nm)'dir. Viallerdeki KAF ve PAR'ın derişimleri 50  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> ve ASA derişimi 200  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra kolona farklı enjeksiyon hacimlerinde enjekte edilerek kalibrasyon grafikleri elde edildi (Franeta ve ark., 2002).

#### **3.3.5. Örneklerin hazırlanması**

Farmasötik formülasyonlar eczanelerinden temin edildi. PAR ve ASA tekli tainleri için Parol® tablet (Atabay Co., Türkiye) ve aspirin® tablet (Bayer Türk Co., Türkiye) farmasötik formülasyonu kullanıldı. KAF, PAR ve ASA'nın eşzamanlı tainleri için, Thomapyrin® tablet (Boehringer Ingelheim Co. Germany) örneği kullanıldı. Tüm örnekler için, on tablet tartıldı ince bir toz halinde öğütüldü ve iyice karıştırıldı. ASA içeren Asprin® ve Thomapyrin® tabletler içindeki asetilsalisilik asiti tamamen hidrolize etmek (hidroliz ürünü salisilik asit) için 10 dk 0.01 M sodyum hidroksit içinde kaynatıldı. Elde edilen salisilik asit elde miktarı örneklerdeki ASA miktarına eşittir (Sanghavi ve Srivastava, 2010). Parol® tablette, örnek su içinde hazırlandı. Ayrıca örnekler, hücreye istenen miktara getirmek için pH 2.5, 0.1 M PBS içinde seyreltildi.

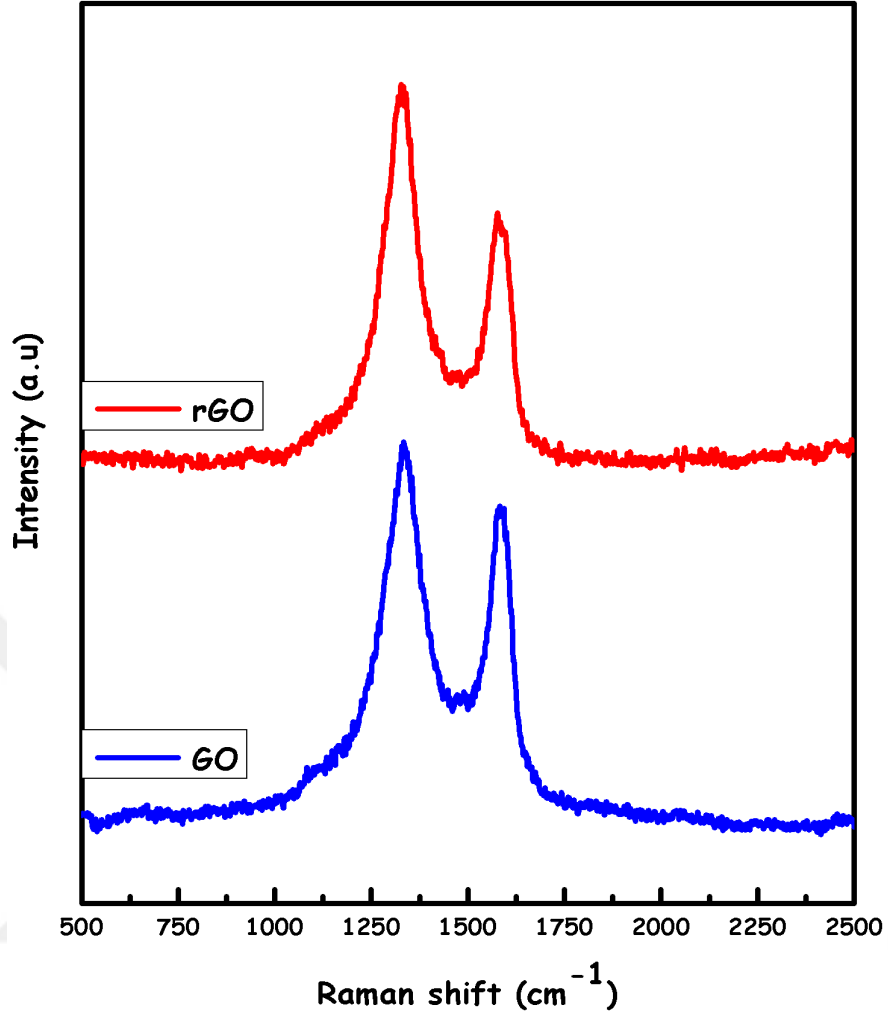
## 4. BULGULAR

### 4.1. Grafen Oksit (GO) ve İndirgenmiş Grafen Oksitin (rGO) Spektrofotometrik Yöntemler İle Tanımlanması



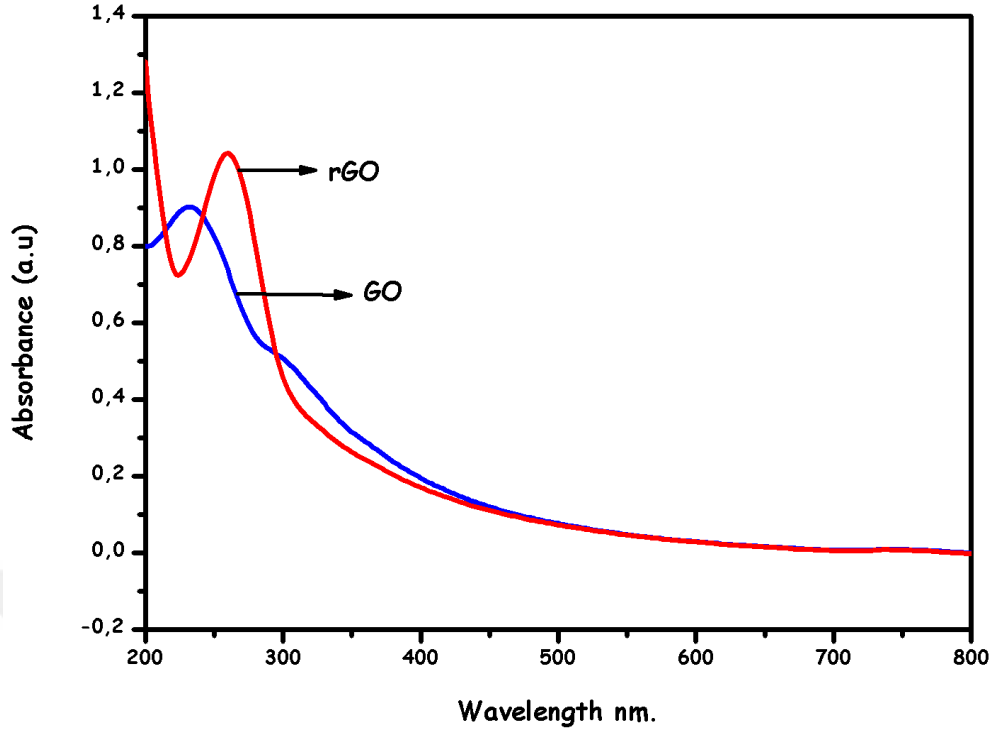
Şekil 14. Grafit, GO ve rGO'nun FTIR spektrumları

FTIR spektrumlarında (Şekil 14); GO ve grafitte -OH titreşim bandı 3452-3344  $\text{cm}^{-1}$  de, C=O kuvvetli titreşim bandı 1728-1708  $\text{cm}^{-1}$  de, C=C titreşim bandı 1616-1577  $\text{cm}^{-1}$  de, C-O (epoksi) titreşim bandları 1250-1188  $\text{cm}^{-1}$  de beklendiği üzere görüldü. rGO'nun FTIR spektrumu GO'nunkinden C=O fonksiyonel bant yoğunluğundaki azalma nedeniyle oldukça farklıdır. Ayrıca rGO'nun 3452-3402  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki keskin adsorpsiyon bandının şiddeti azaldı. Bu sonuçlar grafen oksitin başarılı bir şekilde indirgenmiş olduğunu ve elde edilen rGO spektrumlarının kaynakçayla uyduğunu gösterdi (Zangmeister, 2010).



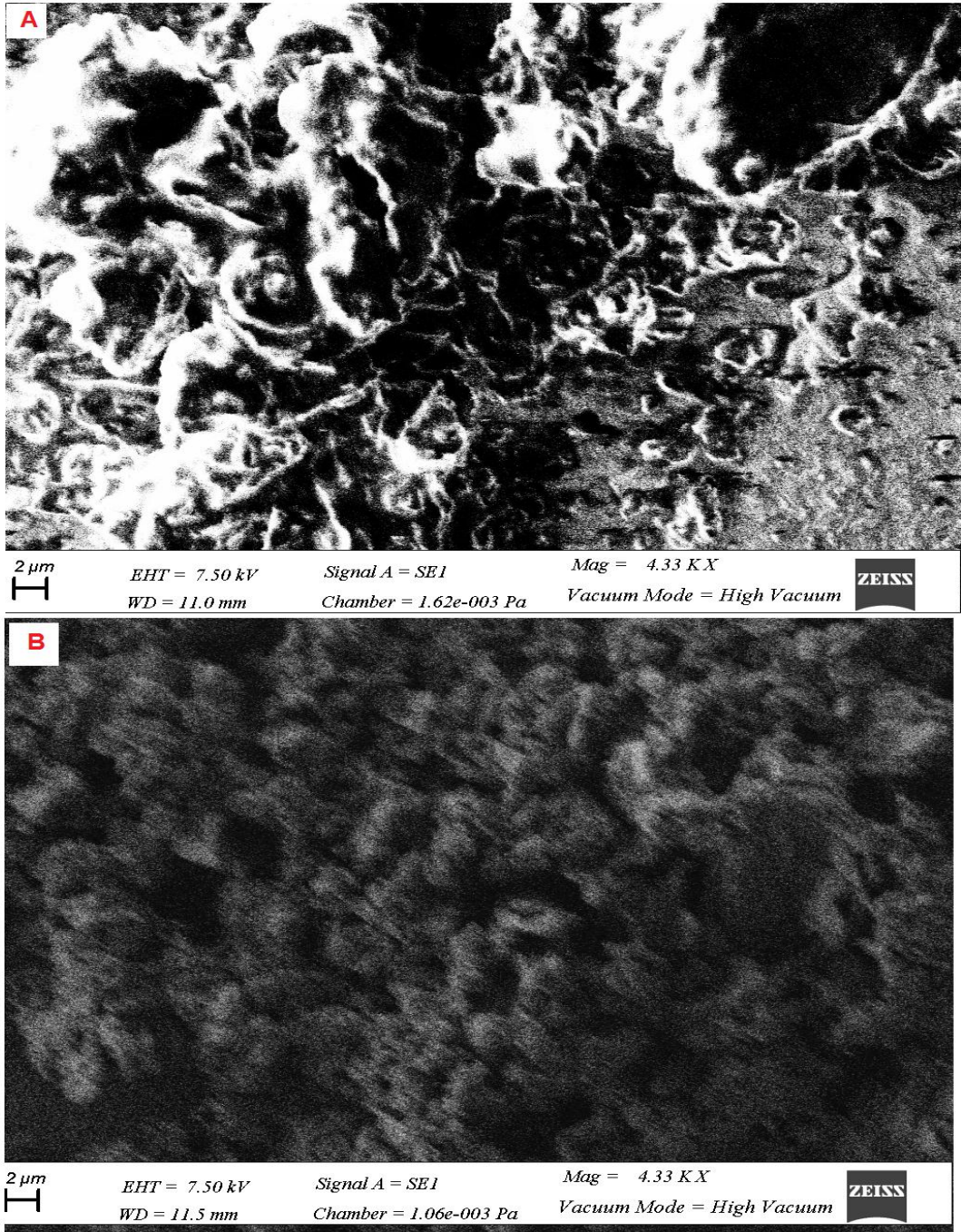
Şekil 15. GO ve rGO'nun Raman spektrumları

GO ve rGO'nun Raman spektrumları Şekil 15'de verildi. GO'nun Raman spektrumunda sırasıyla 1332 ve 1584  $\text{cm}^{-1}$  de iki karakteristik bant (D ve G bandı) gözlemlendi.  $\text{sp}^2$  karbon hibritleşmesinden dolayı GO'nun kimyasal indirgenmesinden sonra D ve G bandının yoğunluğu azalırken rGO'nun Raman spektrumunda D (1332 $\text{cm}^{-1}$ ) ve G (1576 $\text{cm}^{-1}$ ) de belirgin iki bant vardır. Bu değişiklik GO'nun başarılı bir şekilde indirgenmiş olduğunu gösterdi (Gasnier ve ark., 2013).



**Şekil 16.**  $0.05 \text{ mg mL}^{-1}$  GO ve rGO'nun sulu çözeltilerindeki UV/Vis spektrumları

GO ve rGO'nun sulu çözeltilerindeki UV-Vis spektrumları Şekil 16'da verildi. GO'nun UV-Vis spektrumu; aromatik halkadaki C-C bağındaki  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişini 232 nm de ve C=O bandının  $n \rightarrow \pi^*$  geçişini 306 nm de güçlü adsorpsiyon piklerini gösterdi. GO'nun indirgenmesiyle rGO oluştuğunda 306 nm deki pik kayboldu. GO'nun indirgenmesi sonucu grafen yapraklardan uzaklaşan fonksiyonel grupların yerine yeni  $sp^2$  yapılarının oluşması sonucunda ise 232 nm deki pikin 266 nm ye kaydığı görüldü.



**Şekil 17.** Gr/GCE (A) ve Gr-Nf/GCE (B) yüzeylerinin SEM görüntüleri

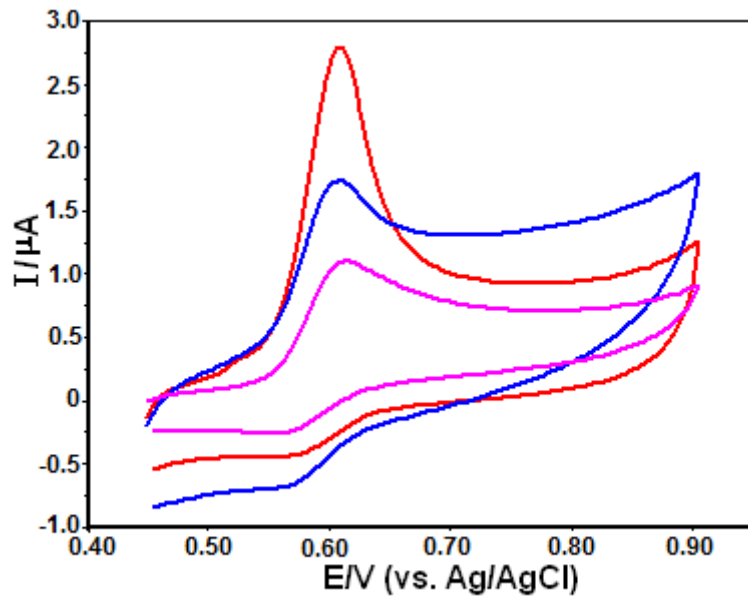
Şekil 17’de verilen Gr/GCE (A) ve Gr-Nf/GCE (B) yüzeylerinin morfolojileri SEM kullanılarak elde edildi. SEM çalışmaları için Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE gereç yöntem kısmında söz edildiği şekilde hazırlandı. Geniş yüzey alanına sahip Gr/GCE’nin yüzeyine Nafion filmin homojen dağılmasından dolayı Gr-Nf/GCE’nin yüzeyi Gr/GCE’den daha pürüzlü ve buruşuktur.



## 4.2. PAR, ASA ve KAF'ın Eşzamanlı Tayinine Yönelik Grafen Temelli Elektrotlar Üzerinde Voltametrik Yöntem Geliştirilmesi

### 4.2.1. Parasetamol, asetilsalisilik asit ve kafeinin GCE, Gr/GCE, Gr-Nf/GCE üzerindeki dönüşümlü voltametri çalışmaları

Grafen temelli elektrotlar üzerinde oluşan elektrokimyasal işlemi anlayabilmek amacıyla 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde hazırlanan PAR çözeltisinin (+0.45 V)-(+0.90 V) gerilim tarama aralığında, 50 mV s<sup>-1</sup> gerilim tarama hızı ile dönüşümlü voltamogramları GCE, Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE yüzeyinde kaydedildi. Şekil 18'de 4 µg mL<sup>-1</sup> PAR çözeltisinin GCE, Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramları verildi.

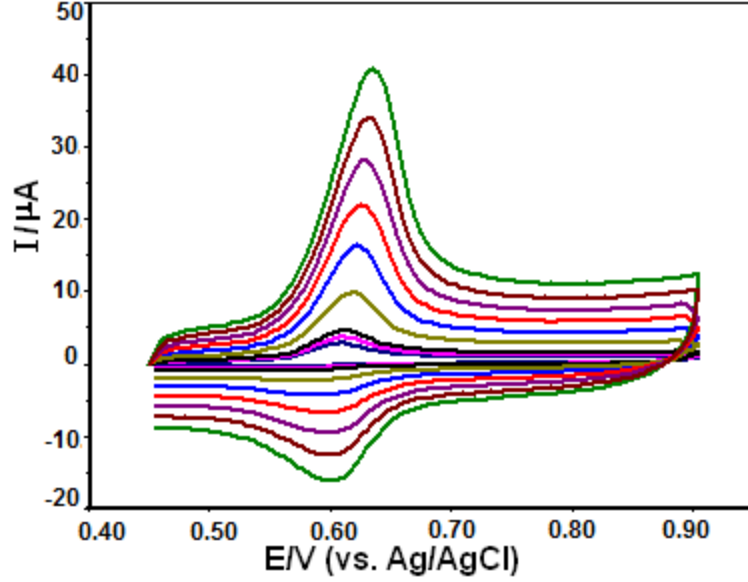


**Şekil 18.** 4 µg mL<sup>-1</sup> PAR'ın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde GCE (mor çizgi), Gr/GCE (mavi çizgi) ve Gr-Nf/GCE (kırmızı çizgi) üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 50 mV s<sup>-1</sup>.

Şekil 18'den görüleceği üzere her üç elektrottada PAR yükseltgenme sinyali yaklaşık +0.605 V da görüldü. PAR'ın pik akımları sırasıyla GCE; 0.99 µA, Gr/GCE; 1.10 µA ve Gr-Nf/GCE; 2.34 µA'dır. Pik akımları yönünden en duyarlı sonuç Gr-Nf/GCE ile elde edildi.

Gerilim tarama hızının yükseltgenme pik gerilimleri ve akım şiddeti üzerine etkisini incelemek amacıyla; 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde hazırlanan 4

$\mu\text{g mL}^{-1}$  PAR çözeltisinin  $50 \text{ mV s}^{-1}$  ile  $700 \text{ mV s}^{-1}$  aralığında dönüşümlü voltamogramları kaydedildi ve Şekil 19’de sunuldu.



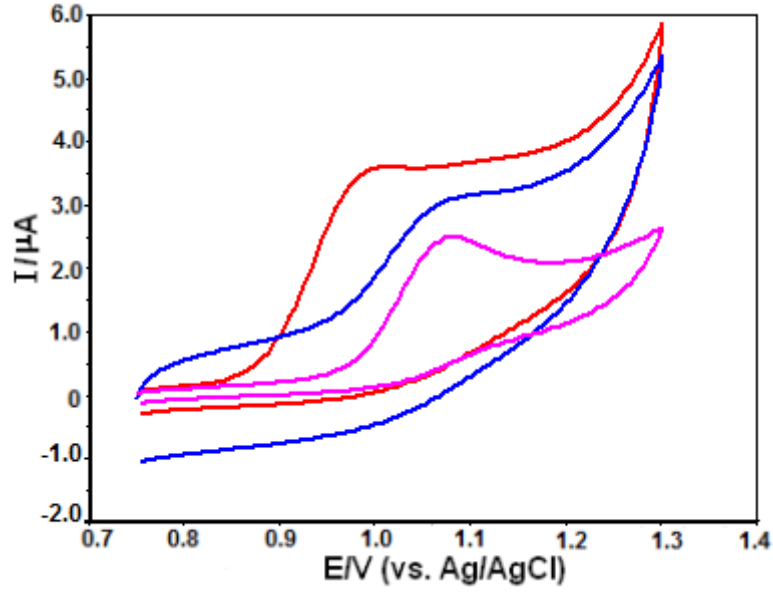
**Şekil 19.**  $4 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR’ın  $0.1 \text{ M}$  PBS tamponu ( $\text{pH}=2.5$ ) içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramı hız taraması ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ).

Gerilim tarama hızı ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ) ile pik akımı ilişkisinde elde edilen doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$i_p (\mu\text{A}) = 0.047v (\text{mV s}^{-1}) - 0.808, r = 0.999 (n=9)$$

Eğriler değerlendirildiğinde gerilim tarama hızı ile sıyırma pik şiddeti arasında doğrusal bir ilişki saptandı. Ayrıca gerilim tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denklemlerinin eğiminin  $0.047$  dolayında bulunması yükseltgenme olayının adsorptif karakterli olduğunu kanıtlamaktadır.

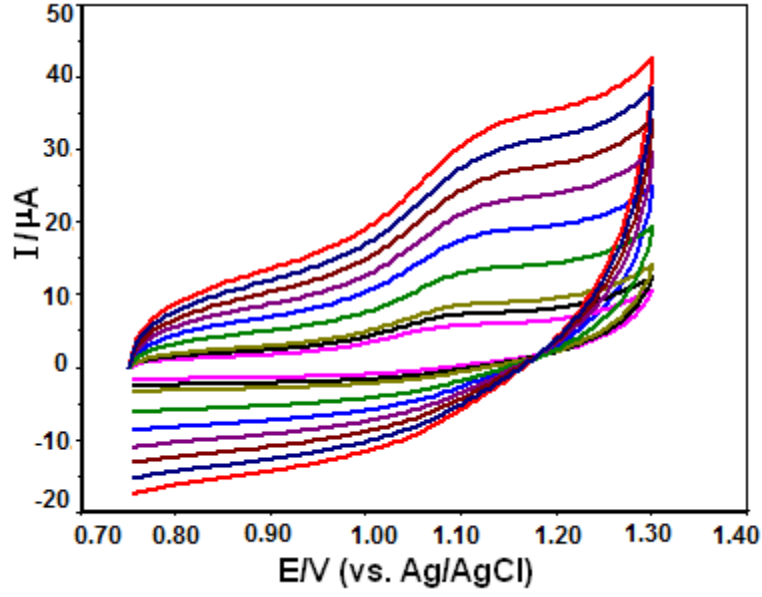
ASA çözeltisinin ( $+0.75 \text{ V}$ )-( $+1.30 \text{ V}$ ) gerilim tarama aralığında,  $50 \text{ mV s}^{-1}$  gerilim tarama hızı ile dönüşümlü voltamogramları GCE, Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE yüzeyinde kaydedildi. Şekil 20’de  $40 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA çözeltisinin GCE, Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramları verildi.



**Şekil 20.** 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ASA'nın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde GCE (mor çizgi), Gr/GCE (mavi çizgi) ve Gr-Nf /GCE (kırmızı çizgi) üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 50  $\text{mV s}^{-1}$ .

Şekil 20'den görüleceği üzere ASA için GCE'de 1.072 V'da 1.37  $\mu\text{A}$ , Gr/GCE 1.014 V'da 1.45  $\mu\text{A}$  ve Gr-Nf/GCE'de 0.984 V'da 1.81  $\mu\text{A}$  değerleri elde edildi. Pik akımları yönünden en duyarlı sonuç Gr-Nf/GCE'de bulundu.

Gerilim tarama hızının yükseltgenme pik gerilimleri ve akım şiddeti üzerine etkisini incelemek amacıyla; 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde hazırlanan 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ASA çözeltisinin 50  $\text{mV s}^{-1}$  ile 700  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında dönüşümlü voltamogramları kaydedildi ve Şekil 21'de sunuldu.



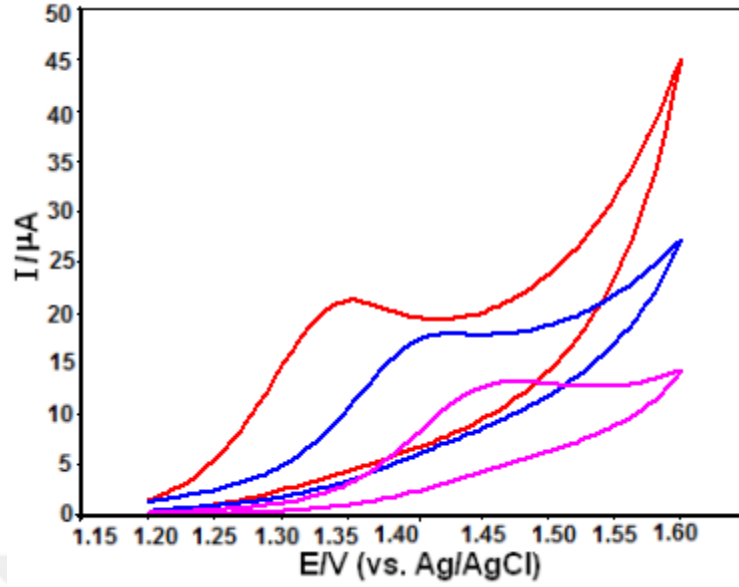
**Şekil 21.**  $40 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA'nın  $0.1 \text{ M}$  PBS tamponu ( $\text{pH}=2.5$ ) içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramı hız taraması ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ).

Gerilim tarama hızı ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ) ile pik akımı ilişkisinde elde edilen doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$i_p (\mu\text{A}) = 0.004 v (\text{mV s}^{-1}) + 1.057, r = 0.981 (n=9).$$

Eğriler değerlendirildiğinde gerilim tarama hızı ile sıyırma pik şiddeti arasında doğrusal bir ilişki saptandı. Ayrıca gerilim tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denklemlerinin eğiminin  $0.004$  dolayında bulunması yükseltgenme olayının adsorptif karakterli olduğunu kanıtlamaktadır.

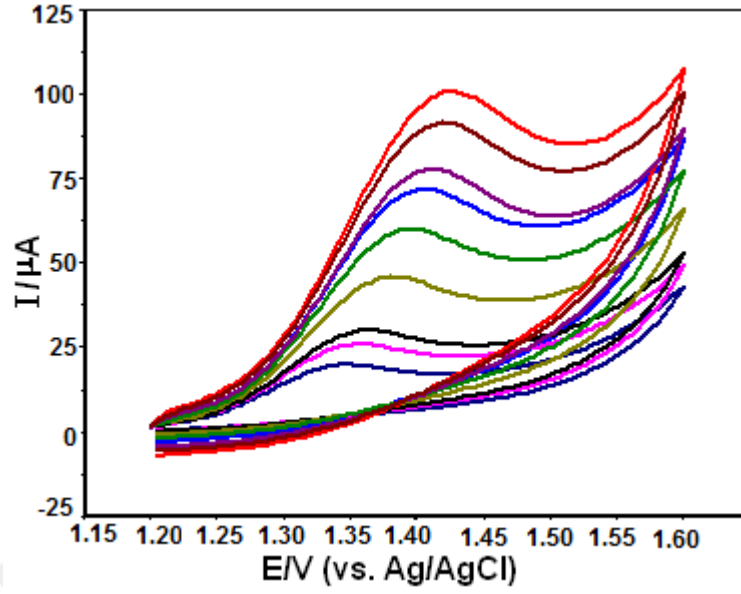
KAF çözeltisinin ( $+1.20 \text{ V}$ )-( $+1.60 \text{ V}$ ) gerilim tarama aralığında,  $50 \text{ mV s}^{-1}$  gerilim tarama hızı ile dönüşümlü voltamogramları GCE, Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE yüzeyinde kaydedildi. Şekil 22'de  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF çözeltisinin GCE, Gr/GCE ve Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramları verildi.



**Şekil 22.**  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF'ın 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde GCE (mor çizgi), Gr/GCE (mavi çizgi) ve Gr-Nf /GCE (kırmızı çizgi) üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı,  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Şekil 22'den görüleceği üzere KAF için GCE'de 1.45 V'da  $4.62 \mu\text{A}$ , Gr/GCE'de 1.40 V'da  $5.24 \mu\text{A}$  ve Gr-Nf/GCE'de 1.34 V'da  $8.99 \mu\text{A}$ 'dır. Pik akımları yönünden en duyarlı sonuç Gr-Nf/GCE'de elde edildi.

Gerilim tarama hızının yükseltgenme pik gerilimleri ve akım şiddeti üzerine etkisini incelemek amacıyla; 0.1 M PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde hazırlanan  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF çözeltisinin  $50 \text{ mV s}^{-1}$  ile  $700 \text{ mV s}^{-1}$  aralığında dönüşümlü voltamogramları kaydedildi ve Şekil 23'de sunuldu.



**Şekil 23.**  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF'ın  $0.1 \text{ M}$  PBS tamponu ( $\text{pH}=2.5$ ) içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde dönüşümlü voltamogramı hız taraması ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ).

Gerilim tarama hızı ( $50\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ ) ile pik akımı ilişkisinde elde edilen doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$i_p (\mu\text{A}) = 0.055 v (\text{mV s}^{-1}) + 9.269, r = 0.988 (n=9).$$

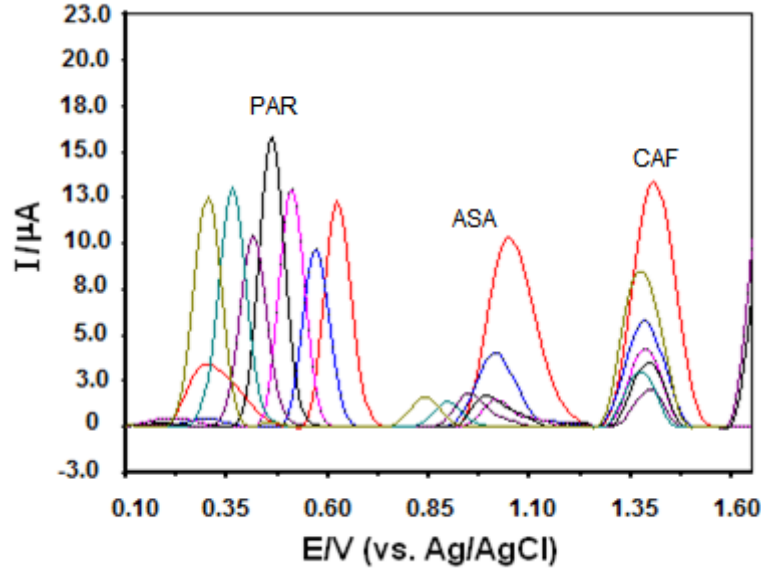
Eğriler değerlendirildiğinde gerilim tarama hızı ile sıyırma pik şiddeti arasında doğrusal bir ilişki saptandı. Ayrıca gerilim tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denklemlerinin eğiminin  $0.055$  dolayında bulunması yükseltgenme olayının adsorptif karakterli olduğunu kanıtlamaktadır.

#### 4.2.2. Destek elektroliti ve pH etkisi

Destek elektroliti ve pH'ın PAR, ASA ve KAF'ın adsorptif voltametrik davranışı üzerine etkisini incelemek amacıyla uygun destek elektroliti içerisinde hazırlanan çözeltilerinin ( $+0.10 \text{ V}$ )-( $+1.65 \text{ V}$ ) gerilim tarama aralığında kare-dalga voltamogramları kaydedildi. Destek elektroliti olarak BR tampon ( $\text{pH } 2\text{-}8$ ), PBS tamponu ( $\text{pH } 2.5$  ve  $7.4$ ) ve ABS tampon ( $\text{pH } 4.7$ ) çözeltileri kullanıldı.

$0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF içeren karışımın Gr-Nf/GCE'deki yükseltgenme yanıtı üzerine çözelti pH'ının etkisini kare dalga adsorptif anodik sıyırma voltametrisi (SW-AdASV) ile dikkatli bir şekilde araştırdık.

Şekil 24’de BR tamponunda (pH 2-8); PAR, ASA ve KAF çözeltilerinin Gr-Nf/GCE yüzeyinde kare-dalga voltamogramları verildi.

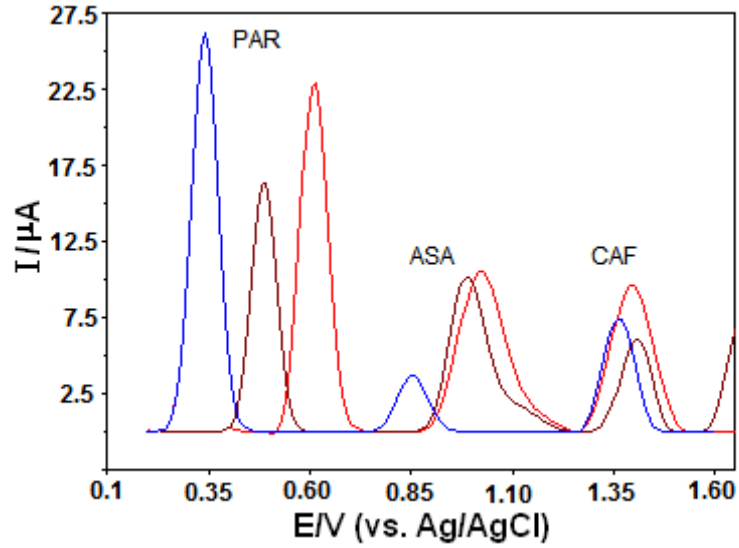


**Şekil 24.** BR tamponunda (pH 2-8)  $0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF çözeltilerinin Gr-Nf/GCE yüzeyinde kare-dalga sıyırma voltamogramları. Kare dalga değişkenleri; puls amplitüd, 30 mV, frekans, 50 Hz, gerilim adımı, 8 mV. Elektrokimyasal biriktirme süresi, 60 s (açık devrede, 5000 rpm).

Şekil 24’den görüleceği üzere voltamogramlar incelendiğinde PAR ve ASA yükseltgenme gerilim değerlerinin pH değeri arttıkça negatif bölgeye kaydığı dolayısı ile bu iki bileşiğin yükseltgenmesinde pH’nin etkili olduğu anlaşılmaktadır. KAF sinyallerinde artan pH’ye karşılık önemli bir yükseltgenme gerilim değişimi görülmemektedir. Bu da ilgili bileşiğin yükseltgenme geriliminin çalışma koşulları altında pH’den bağımsız olduğunu göstermektedir.

ASA ve KAF’in maksimum yükseltgenme pik akımları pH 2.0 gözlemlendi, PAR’in maksimum yükseltgenme pik akımının pH 5’de olduğu görüldü. pH ve bileşiklerin pik gerilimleri arasındaki ilişki sırasıyla incelendi. pH ve pik gerilimleri ( $E_p$ ) için doğrusal regrasyon eşitlikleri  $E_p$  (V)=  $-0.053 \text{ pH}+0.729$  (PAR,  $r=0.999$ ),  $E_p$  (V)=  $-0,032 \text{ pH}+1,123$  (ASA,  $r=0.965$ ) şeklindedir. PAR ve ASA için regresyon denklemlerinin eğimleri sırasıyla 53 ve 32 mV/pH olarak bulundu. Gr-Nf/GCE yüzeyinde her iki bileşiğin redoks tepkimelerinde protonlar da etkilidir.

Üç bileşiği içeren çeşitli derişimlerdeki karışımın, farklı tamponlardaki sıyırma voltamogramları Şekil 25’de verildi. Açık devrede 60 s biriktirmeye bırakılmış 0.05  $\mu\text{g mL}^{-1}$  PAR, 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  KAF’ın PBS tamponu (pH 2.5 ve 7.4) ve ABS tampon (pH 4.7) çözeltilerinde kaydedilen kare-dalga voltamogramları üstünde pH’nin etkisini göstermektedir.



**Şekil 25.** PBS (pH 2.5, kırmızı çizgi, pH 7.4, mavi çizgi) ve ABS (pH 4.7, kahverengi çizgi) tamponunda 0.05  $\mu\text{g mL}^{-1}$  PAR, 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  KAF çözeltilerinin Gr-Nf/GCE yüzeyinde kare-dalga sıyırma voltamogramları. Kare dalga değışkenleri; puls amplitüd, 30 mV, frekans, 50 Hz, gerilim adımı, 8 mV. Elektrokimyasal biriktirme süresi, 60 s (açık devrede, 5000 rpm).

PBS (pH=2.5) kullanıldığında PAR, ASA ve KAF için yükseltgenme pik gerilimleri sırasıyla +0.61, 1.03 ve 1.40 V ve pik akımları 22.88, 10.49, 9.60  $\mu\text{A}$ ’dır. ABS (pH=4.7) kullanıldığında PAR, ASA ve KAF için yükseltgenme pik gerilimleri sırasıyla +0.49, 0.99 ve 1.40 V ve pik akımları 16.29, 10.18, 6.13  $\mu\text{A}$ ’dır. Öte yandan PBS (pH=7.4) kullanıldığında bu değerler PAR için +0.34 V (26.04  $\mu\text{A}$ ), ASA için 0.86 V (3.652  $\mu\text{A}$ ), KAF için 1.37 V (7.33  $\mu\text{A}$ ) şeklindedir.

Şekil 24 ve 25’de açıkça görüldüğü gibi, ASA ve KAF pik akımlarında önemli bir artış pH 2.5 PBS içinde gözlemlendi, PAR için ise en yüksek akım pH 7.4’de PBS elde edildi. En iyi tampon sisteminin PBS tamponu pH 2.5 olduğuna karar verilmiş ve çalışmanın bundan sonraki bölümüne bu sistemle devam edildi. PAR’ın kuvvetli asidik çözeltileri içinde temel yükseltgenme pikinden daha az pozitif



gerilimlerde ek bir pikin daha ortaya çıktı gözlemlendi. Bununla birlikte, bu yükseltgenme aşaması daha az belirgin ve de ana pikten ayrılmış şekildedir. Analitik çalışmalar için en uygun çalışma gerilim aralığı pik morfolojisi ve anlaşılabilirlik göz önünde bulundurulduğunda +0.45 V ile 1.75 V olarak seçildi.

#### **4.2.3. Elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi**

PAR, ASA ve KAF çözeltileri için elektrot yanıtı üzerine biriktirme süresi ve geriliminin etkisi incelendiğinde, biriktirme süresinin etkisi karıştırılan  $0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF çözeltilerinde 0-360 s arasında değiştirilerek uygulandı. Sinyaller 60 s değerine kadar arttı ancak daha sonra önemli bir artış sağlanamadı. Biriktirme süresi olarak bu değer (60 s) çalışmanın bundan sonraki aşamasında kullanıldı. Biriktirme geriliminin etkisi ise karıştırılan  $0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF çözeltilerinde 60 s biriktirme süresi uygulanarak ya açık devre koşulunda ya da +0.1 V'dan +0.5 V'a değişen gerilim aralığında çalışıldı. Maksimum biriktirmenin +0.1 V gerilim değerinde elde edilmesi nedeni ile çalışmanın devamında bu gerilim değerinin kullanımına karar verildi.

#### **4.2.4. Kare dalga değişkenlerinin etkisi**

PBS tampon (pH 2.5) çözeltisinde  $0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF'ın, 0.1 V'da 60 s biriktirme işlemi uygulandıktan sonra voltamogramları alındı. Daha sonra çeşitli aletsel koşullar değiştirilerek optimize çalışmalarına devam edildi (frekans,  $f= 25-100$  Hz, gerilim adımı  $\Delta E_s= 8-16$  mV, puls amplitüd  $\Delta E_{sw}= 30-70$  mV). Frekans değerinin artırılması sonucunda pik akımlarında önemli bir artış gözlemlendi, fakat 75 Hz'den daha büyük frekans değerlerinde zemin çizgisi ve pik şekilleri bozuldu. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde en uygun  $f=75$  Hz kullanılmasına karar verildi. Gerilim adımıdaki artış incelendiğinde 8-16 mV gerilim aralığında pik şekli ve şiddeti açısından en başarılı sonuç,  $\Delta E_s= 14$  mV değerinde elde edildi. Bu nedenle çalışmanın devamında gerilim adımı olarak 14 mV değeri kabul edildi. 30-70 mV puls amplitüd aralığında pik akımında 50 mV'a kadar bir artış görüldü, 50 mV'dan sonra ise akım da artış olmasına rağmen pik morfolojisinde (yayvan pik gibi) bozunmalar oldu. Bu nedenle en uygun  $\Delta E_{sw} = 50$  mV olarak belirlendi.

PAR, ASA ve KAF'ın Gr-Nf/GCE üzerindeki elektrokimyasal davranışının araştırılması sonucunda miktar tayinine yönelik en iyi voltametrik ve analitik koşullar Tablo 3'de verildi.

**Tablo 3.** PAR, ASA ve KAF analizi için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel koşullar

Değişken	Bulgu
Voltametrik Yöntem	SW-AdASV
Tampon sistemi	PBS tamponu, pH 2.5
Biriktirme gerilimi	0.1 V
Biriktirme süresi	60 s
Kare-dalga değişkenleri	
a) Gerilim adımı	14 mV
b) Puls amplitüd	50 mV
c) Frekans	75Hz

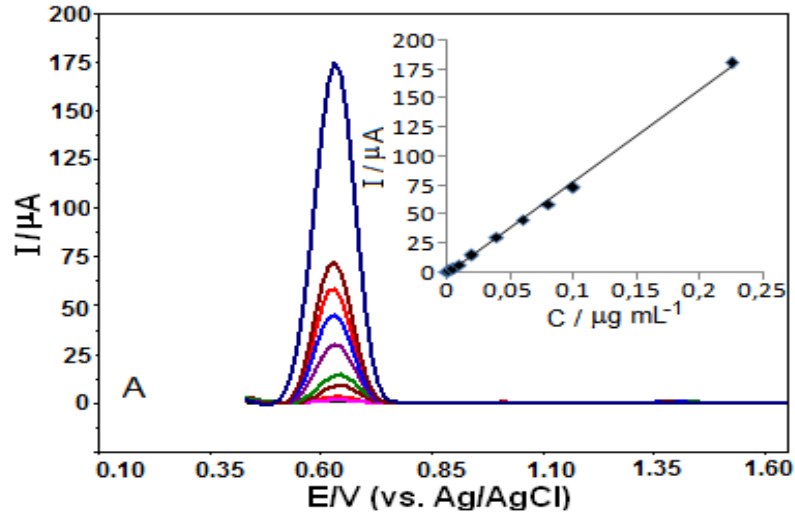
#### 4.2.5. Voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri

Bu bölümde ilk olarak, PAR, ASA ve KAF'ın tekli analizi yapıldı. Daha sonra PAR, ASA ve KAF içeren karışımda, diğer iki bileşenin derişimleri sabit kalırken bir türün derişimi değiştirildi ve seçici analizi gerçekleştirildi. Son olarak PAR, ASA ve KAF'ın eş zamanlı tayini yapılarak çalışmaya devam edildi.

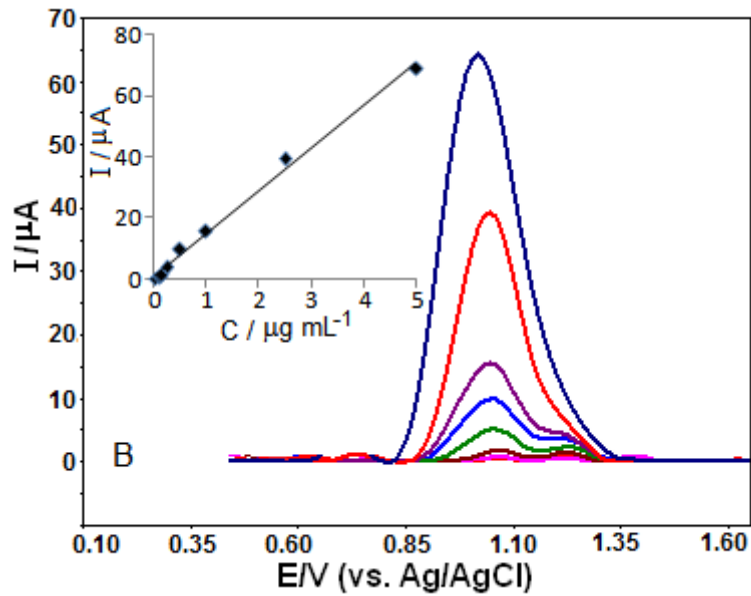
Voltametrik yöntemin aletsel performansını belirlemek için saptanan deneysel değişkenler kullanılarak yonteme ait çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik koşulları araştırıldı. En iyi deney koşullarında PAR, ASA ve KAF derişiminin pik akımı üzerine etkisini incelemek amacıyla yürütülen çalışmada, farklı derişimlerdeki PAR, ASA ve KAF çözeltilerinin kare dalga voltamogramları kaydedildi.

PBS tamponu (pH 2.5) çözeltisi içerisinde Gr-Nf/GCE üzerinde PAR, ASA ve KAF'ın farklı derişimleri için kaydedilen tekli voltamogramları ve

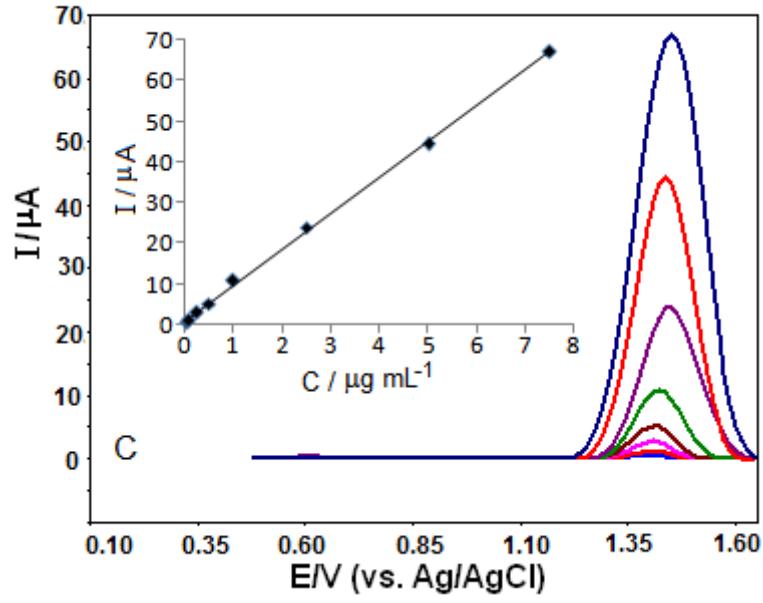
voltamogramlara karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafikleri sırasıyla (Şekil 26, 27, 28)'de verildi.



**Şekil 26.** Gr-Nf/GCE üzerinde PBS (pH 2.5) çözeltisi içerisinde PAR ( $0.001, 0.005, 0.01, 0.002, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1$  ve  $0.225 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) için kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi 0.1 V; Kare-dalga voltametri değişkenleri: Frekans, 75 Hz; Gerilim adımı, 14 mV; amplitüd, 50 mV.



**Şekil 27.** Gr-Nf/GCE üzerinde PBS (pH 2.5) çözeltisi içerisinde; ASA ( $0.025, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5$  ve  $5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) için kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 26'daki gibidir.



**Şekil 28.** Gr-Nf/GCE üzerinde PBS (pH 2.5) çözeltisi içerisinde; KAF (0.025, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ve 7.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) için kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 26'daki gibidir.

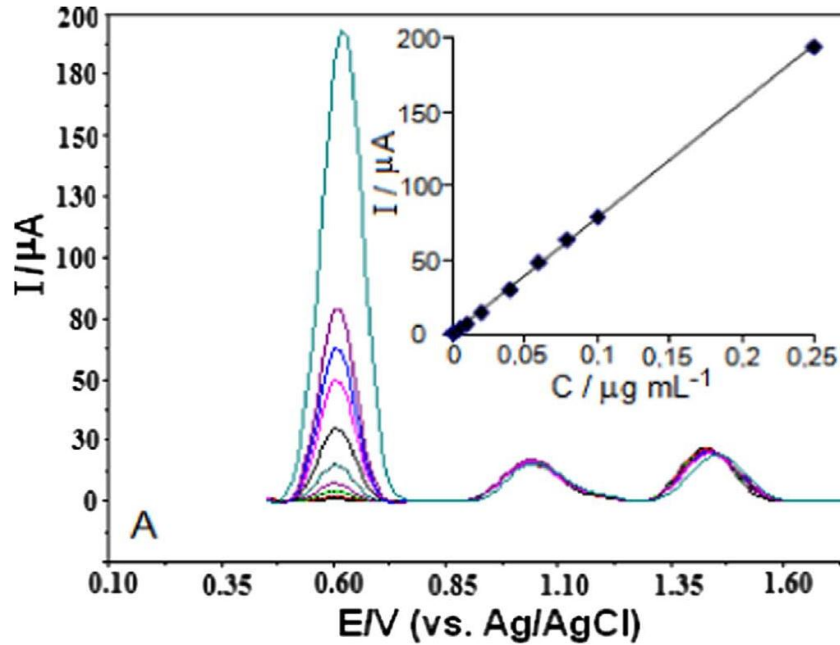
**Tablo 4.** Gr-Nf/ GCE'de PAR, ASA ve KAF'ın tekli kalibrasyon karakteristikleri

Bileşik	Kalibrasyon Aralığı	Doğrusal gerilim denklemi	$r$	LOD	%BSS
PAR	0.001-0.225 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 6.6X10 <sup>-9</sup> -1.5X10 <sup>-6</sup> M	$i_p (\mu\text{A}) = 798.70$ $C (\mu\text{g mL}^{-1}) - 1.931$	0.999	0.13 ng mL <sup>-1</sup> 8.6X10 <sup>-10</sup> M	2.88
ASA	0.025 - 5.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 1.4X10 <sup>-7</sup> - 2.9X10 <sup>-5</sup> M	$i_p (\mu\text{A}) = 13.89$ $C (\mu\text{g mL}^{-1}) + 1.259$	0.996	7.4 ng mL <sup>-1</sup> 4.1X10 <sup>-8</sup> M	3.72
KAF	0.025 - 7.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 1.3X10 <sup>-7</sup> - 3.9X10 <sup>-5</sup> M	$i_p (\mu\text{A}) = 8.83$ $C (\mu\text{g mL}^{-1}) + 0.859$	0.999	6.1 ng mL <sup>-1</sup> 3.1X10 <sup>-8</sup> M	4.61

Şekil 26, 27 ve 28'deki voltamogramlarda PAR, ASA ve KAF'ın yükseltgenme pik gerilimleri sırasıyla +0.64, +1.05 ve +1.44 V olarak görüldü. PAR ile ASA arasındaki gerilim farkı 0.41 V ve ASA ile KAF arasındaki gerilim farkı 0.39 V'dur. Bu fark karışım içinden üç maddenin ayrı ayrı tayini için yeterince büyüktür.

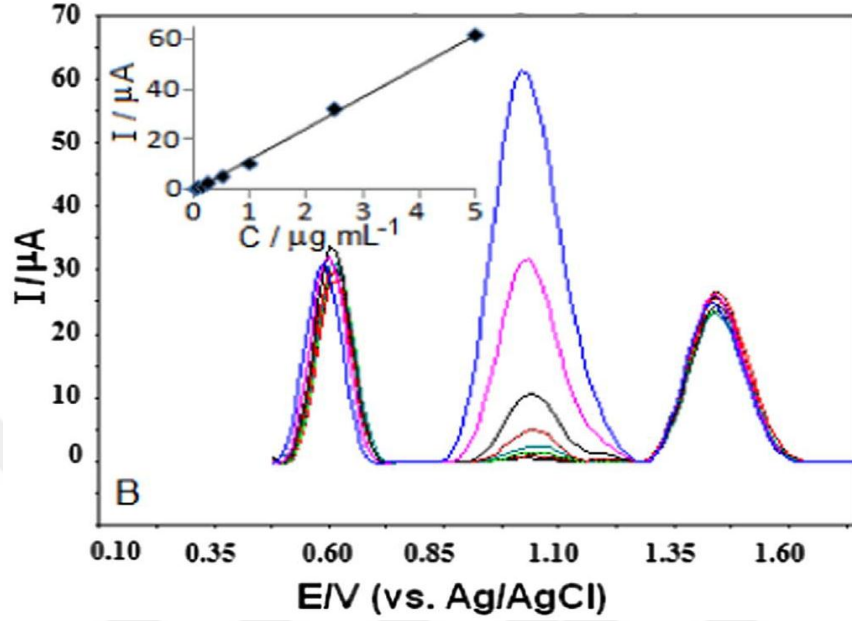
PAR, ASA ve KAF'ın tekli kalibrasyon karakteristikleri Tablo 4'de sunuldu. Önerilen yöntemin duyarlılığı gözlenebilirlik sınırı (LOD) değerleri açısından kontrol edildi. LOD değeri  $LOD = 3 s/m$  denklemi kullanılarak hesaplandı. Burada  $s$ , en düşük doğrusal aralığa sahip üç tekrarın standart sapması,  $m$  ise kalibrasyon eğimidir. PAR, ASA ve KAF'ın tekli, seçici ve eş zamanlı tayinlerine ait LOD değerlerinin kıyaslanması birlikte verilmiştir.

Tekli analizlerin ardından PAR, ASA ve KAF'ın seçici analizlerine geçildi. PBS tamponu (pH 2.5) çözeltisi içerisinde ASA ve KAF derişimlerinin sabit tutularak PAR derişiminin doğrusal artırılması ile kaydedilen voltamogramlar ve karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 29'da verildi.

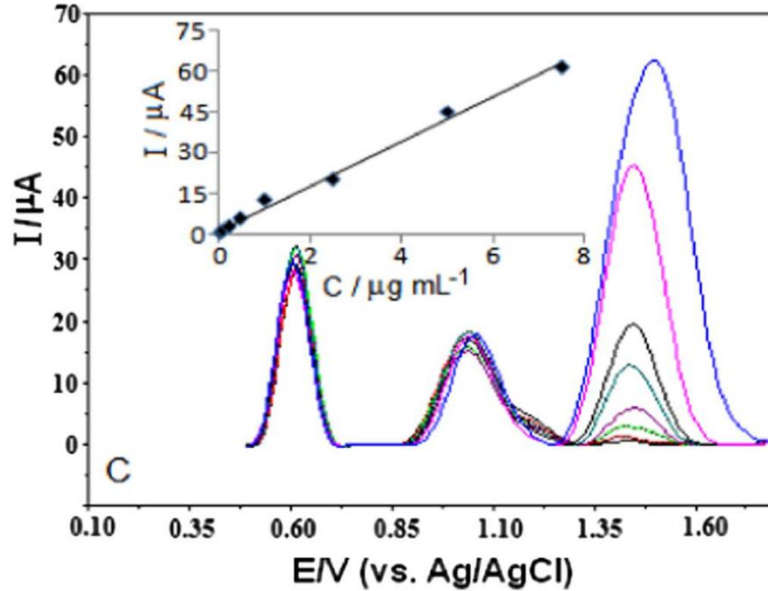


Şekil 29. 1 µg mL<sup>-1</sup> ASA ve 2.5 µg mL<sup>-1</sup> KAF varlığında 0.00125-0.25 µg mL<sup>-1</sup> aralığında 0.1 M PBS (pH=2.5) içerisinde PAR'ın kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Elektrot, Gr-Nf/GCE, biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.1 V; Kare-dalga voltametri değişkenleri; amplitüd: 50 mV, gerilim adımı: 14 mV, frekans 75 Hz.

PBS tamponu (pH 2.5) çözeltisi içerisinde PAR ve KAF derişimlerinin sabit tutularak ASA derişiminin doğrusal artırılması ile kaydedilen voltamogramlar ve karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafiğı Şekil 30'da verildi.



Şekil 30. 0.04  $\mu\text{g mL}^{-1}$  PAR ve 2.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  KAF varlığında 0.05-5.0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında 0.1 M PBS (pH=2.5) içerisinde ASA'nın kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 29'daki gibidir.



Şekil 31. 0.04  $\mu\text{g mL}^{-1}$  PAR ve 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ASA varlığında 0.05-7.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında 0.1 M PBS (pH=2.5) içerisinde KAF'ın kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 29'daki gibidir.

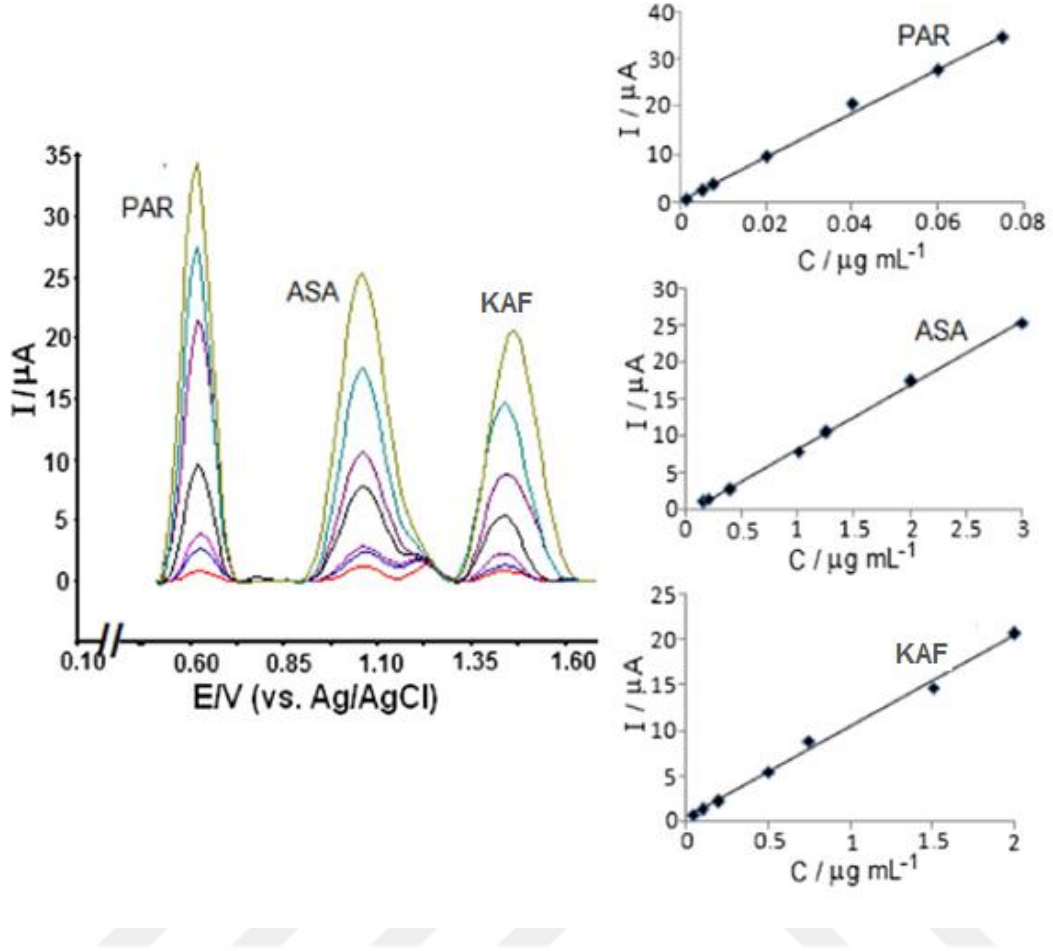
ASA ve KAF'ın derişimleri sabit tutulurken PAR'ın derişimi düzenli bir şekilde artırıldığında PAR'ın yükseltgenme akım cevabı doğrusal bir şekilde artarken ASA ve KAF'ın yükseltgenme akımları sabit kaldı (Şekil 29). Aynı biçimde Şekil 30 ve 31'de de diğer iki bileşiğin pik akımları sabit kalırken, ASA ve KAF'ın pik akımlarının derişimdeki artışla birlikte arttığı görüldü.

**Tablo 5.** Gr-Nf/ GCE'de diğer iki bileşiğin derişimleri sabit tutulduğunda bir bileşik için kalibrasyon karakteristikleri

Bileşik	Kalibrasyon Aralığı	Doğrusal gerilim denklemi	<i>r</i>	LOD	%BSS
PAR	0.00125-0.25 µg mL <sup>-1</sup> 3.3X10 <sup>-9</sup> -1.7X10 <sup>-6</sup> M	$i_p (\mu A) = 778.50 C (\mu g mL^{-1}) + 0.196$	0.999	0.16 ng mL <sup>-1</sup> 1.1X10 <sup>-9</sup> M	3.14
ASA	0.05 - 5.0 µg mL <sup>-1</sup> 2.9X10 <sup>-7</sup> -2.9X10 <sup>-5</sup> M	$i_p (\mu A) = 12.50 C (\mu g mL^{-1}) - 0.680$	0.999	7.7 ng mL <sup>-1</sup> 4.3X10 <sup>-8</sup> M	4.65
KAF	0.05 - 7.5 µg mL <sup>-1</sup> 2.6X10 <sup>-7</sup> -3.9X10 <sup>-5</sup> M	$i_p (\mu A) = 8.26 C (\mu g mL^{-1}) + 1.433$	0.996	7.0ng mL <sup>-1</sup> 3.6X10 <sup>-8</sup> M	5.22

Tablo 5'de Gr-Nf/ GCE'de diğer iki bileşiğin derişimleri sabit tutulduğunda bir bileşik için kalibrasyon karakteristikleri sunuldu. Önerilen yöntemin duyarlılığı gözlenebilme sınırı (LOD) değerleri açısından kontrol edildi. PAR, ASA ve KAF'ın tekli, seçici ve eş zamanlı tayinlerine ait LOD değerlerinin kıyaslanması birlikte verilmiştir.

PAR, ASA ve KAF'ın eş zamanlı tayinleri için ilgili bileşiklerin farklı derişim aralığında miktarları doğrusal olarak artırıldı ve derişim artıkça pik akımlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlemlendi (Şekil 32).



Şekil 32.  $0.00125\text{-}0.075 \mu\text{g mL}^{-1}$  PAR,  $0.15\text{-}3.0 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA ve  $0.05\text{-}2.0 \mu\text{g mL}^{-1}$  KAF aralığında  $0.1 \text{ M}$  PBS tamponu ( $\text{pH}=2.5$ ) içerisinde PAR, ASA ve KAF'in eş zamanlı kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Değişkenler Şekil 29'daki gibidir.



**Tablo 6.** PAR, ASA ve KAF'in eş zamanlı tayinleri için kalibrasyon karakteristikleri

<b>Bileşik</b>	<b>Kalibrasyon Aralığı</b>	<b>Doğrusal gerilim denklemi</b>	<b>r</b>	<b>LOD</b>	<b>% BSS</b>
PAR	0.00125-0.075 µg mL <sup>-1</sup> 8.3X10 <sup>-9</sup> -5.1X10 <sup>-7</sup> M	$i_p (\mu A) = 460.90$ $C (\mu g mL^{-1}) + 0.575$	0.998	0.18 ng mL <sup>-1</sup> 1.2X10 <sup>-9</sup> M	4.08
ASA	0.15 - 3.0 µg mL <sup>-1</sup> 8.7X10 <sup>-7</sup> -1.7X10 <sup>-5</sup> M	$i_p (\mu A) = 8.69$ $C (\mu g mL^{-1}) - 0.348$	0.999	11.7 ng mL <sup>-1</sup> 6.5X10 <sup>-8</sup> M	5.43
KAF	0.05 - 2.0 µg mL <sup>-1</sup> 2.6X10 <sup>-7</sup> -1.0X10 <sup>-5</sup> M	$i_p (\mu A) = 10.10$ $C (\mu g mL^{-1}) + 0.663$	0.997	7.3 ng mL <sup>-1</sup> 3.8X10 <sup>-8</sup> M	6.31

GR-Nf/GCE kullanılarak PAR, ASA ve KAF'in eş zamanlı tayini için geliştirilen voltametrik yöntemin duyarlılığını hesaplamak amacıyla; PAR, ASA ve KAF'in tekli, seçici ve eşzamanlı tayinlerine ait voltamogramlar alındı. Alınan voltamogram ve bunlara karşılık gelen kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak LOD değerleri hesaplandı. LOD değerleri Tablo 4, 5 ve 6'da verildi. Tüm LOD değerleri incelendiğinde; analitik eğrilerin duyarlılıkları arasında anlamlı farklılıklar olmadığı görüldü.

PAR (0.00125 µg mL<sup>-1</sup>), ASA (0.15 µg mL<sup>-1</sup>) ve KAF (0.05 µg mL<sup>-1</sup>) için geliştirilen voltametrik yöntemin tekrarlanabilirlik düzeyini saptamak için en iyi deney koşullarında hazırlandı çözeltilerinin aynı gün içerisinde on kez sıyırma voltamogramları kaydedildi. Bu voltamogramlar üzerinde pik akımı değerleri okundu ve bulunan değerler gün-içi kesinlik olarak değerlendirildi. Elde edilen bulgulara göre bağıl standart sapma (BSS) değerleri PAR için % 3.49, ASA için % 4.57 ve KAF için % 5.72 olarak saptandı. Aynı derişimler üzerinden üç ardışık gün için

yapılan günler arası kesinlik değerleri PAR için % 3.92, ASA için % 5.44 ve KAF için % 7.33 olarak saptandı.

#### **4.3. PAR, ASA ve KAF'ın Gr-Nf/GCE Yüzeyinde Seçicilik ve Kararlılık Çalışmaları**

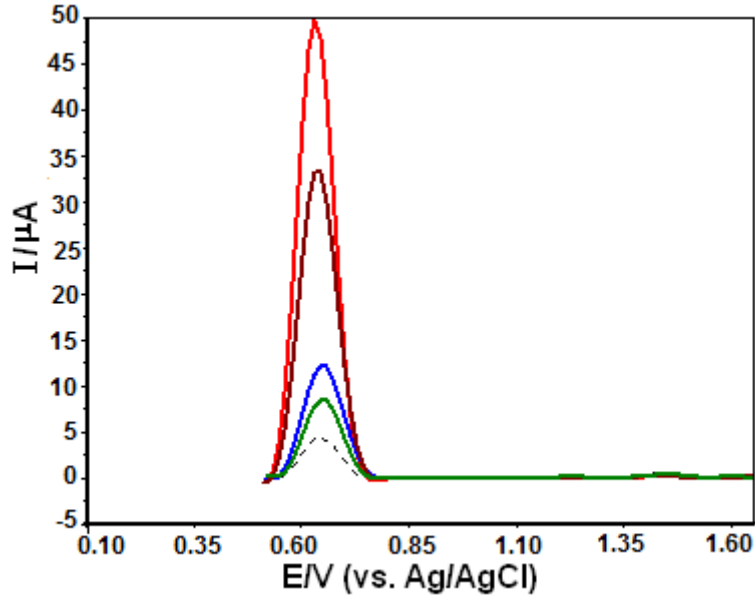
Seçicilik çalışması değerlendirilmesi, ilgili girişim maddelerinin PAR, ASA ve KAF'ın sinyallerini  $\pm 5$  değiştirmesi üzerine kuruldu.  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^-$ , glikoz, sakkarin, fruktoz, sukroz'un doymuş çözeltilerinin, askorbik asit (50 kat) ve dopamin'nin (50 kat) üç analitin belirlenmesinde girişim etkisine rastlanılmadı. Fakat ürik asit'in eşit derişimlerde bile PAR sinyalleri ile örtüştüğü görüldü. Dolayısıyla geliştirilen yöntemin idrar örneklerine uygulanmasında PAR tayinleri öncesi ürik asidin ortamdanda uzaklaştırılması ya da örneğin bir kromatografik ayırımaya tabi tutulması gerekmektedir. Geliştirilen yöntemin ilgili ilaçlarla tedavi edilmiş gerçek hasta örneklerinden alınan idrar örneklerine uygulanmasında (tez çalışmasında böyle bir amaç güdülmemiştir) ürik asidin özellikle PAR analizini etkileyeceği göz önünde bulundurulduğunda bir önışlemin gerekliliği kaçınılmazdır.

Elektrot fabrikasyon kararlılık çalışmaları için 3 adet GCE alınıp, yüzeyleri Gr-Nf ile kaplandı ve bu üç elektrotla optimum koşullarda PAR, ASA ve KAF sinyalleri değerlendirildi. Elde edilen BSS sonuçları PAR için %2.89, ASA için %3.85 ve KAF için %5.17 olarak bulundu. Gr-Nf/GCE'nin 21 gün saklanması sonucu yapılan ölçüm sonuçlarında ise BSS değerleri PAR için %3.58, ASA için %4.75 ve KAF için %6.22 olarak hesaplandı. Elde edilen bu sonuçlar geliştirilen elektrodun tekrar üretilebilirlik ve kararlılık açısından oldukça iyi olduğunu ortaya koydu.

#### **4.4. Geliştirilen Yöntemin İlaç Örneklerinde Uygulama Çalışmaları**

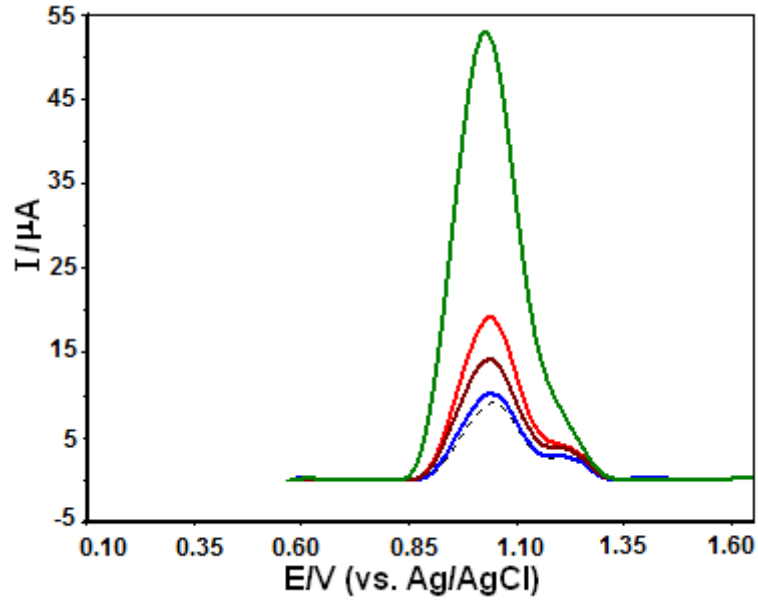
Geliştirilen yöntemin ilaç preparatlarına uygulanması PAR için Parol®, ASA için Aspirin® üzerinde gerçekleştirildi. Bunun yanı sıra PAR, ASA ve KAF içeren Thomapyrin® markalı (1 tablet; 250 mg ASA, 200 mg PAR ve 50 mg KAF içerir) ilaç üzerinde yapıldı. Tabletteki miktar tayinleri standart katma yöntemi ile elde edilerek, sonuçlar HPLC deneyi sonucu elde edilen değerler ile birlikte Tablo 7'de verildi.

PAR içeren Parol® adlı ilaç çözeltisine daha önce gereç yöntem kısmında söz edildiği şekilde yeni bir kalibrasyon işlemi yapıldı. Bir tabletinde 500 mg PAR içeren Parol® adlı ilaç çözeltisine, standart ekleme yöntemiyle PAR standart çözeltilerinden belli derişimlerde eklenerek PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde voltamogramları alındı. Şekil 33’de kaydedilen voltamogramlar verildi.



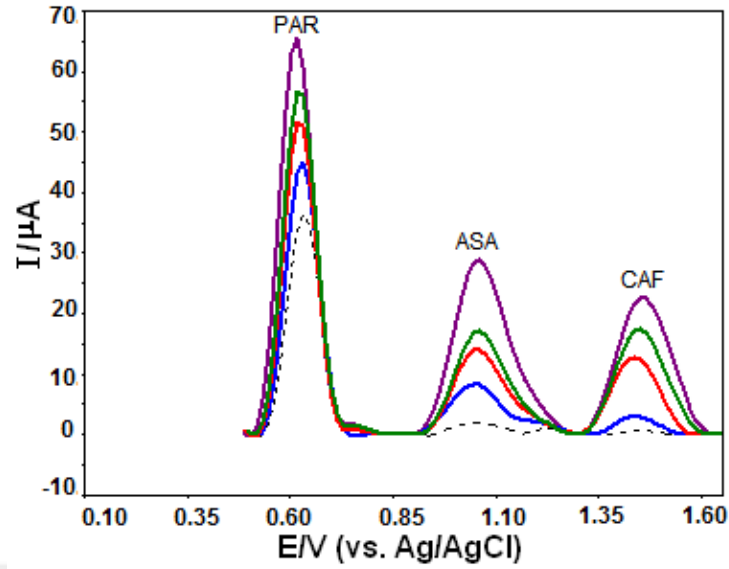
**Şekil 33.** PAR içeren Parol ilaç çözeltisine (kesikli çizgi), standart PAR çözeltisinden 0.005 ppm, 0.01 ppm, 0.04 ppm ve 0.06 ppm eklenmesi sonucu oluşan akım değerlerine ilişkin kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Elektrot; Gr-Nf /GCE, biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi 0.1 V, Kare Dalga Voltametri değişkenleri, amplitüd; 50 mV, gerilim adımı; 14 mV, frekans; 75 Hz.

ASA içeren Aspirin® adlı ilaç çözeltisine daha önce gereç yöntem kısmında söz edildiği şekilde yeni bir kalibrasyon işlemi yapıldı. Bir tabletinde 500 mg ASA içeren Aspirin® adlı ilaç çözeltisine, standart ekleme yöntemiyle ASA standart çözeltilerinden belli derişimlerde eklenerek PBS tamponu (pH=2.5) içerisinde voltamogramları alındı ve Şekil 34’de gösterildi.



**Şekil 34.** ASA içeren aspirin ilaç çözeltisine (kesikli çizgi), standart ASA çözeltisinden 0.15 ppm, 0.25 ppm, 0.5 ppm ve 2.5 ppm eklenmesi sonucu oluşan akım değerlerine ilişkin kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları. Elektrot; Gr-Nf /GCE, biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi 0.1 V, Kare Dalga Voltametri değişkenleri, amplitüd; 50 mV, gerilim adımı; 14 mV, frekans; 75 Hz.

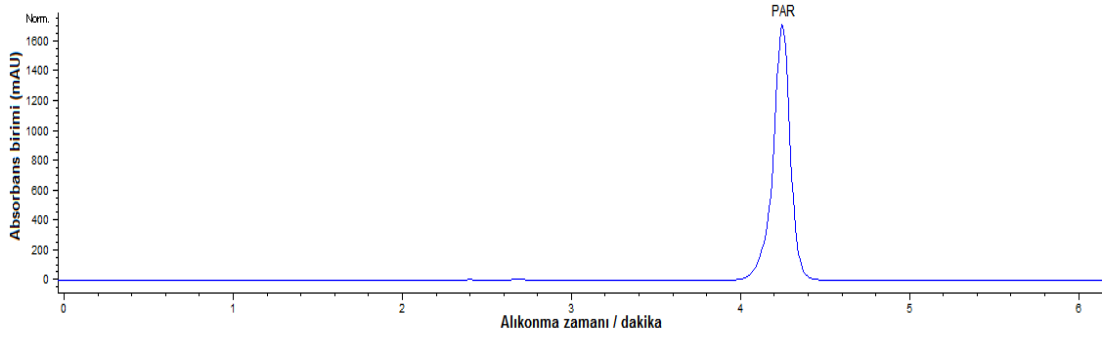
PAR, ASA ve KAF içeren Thomapyrin® adlı ilaç çözeltisine daha önce gereç yöntem kısmında söz edildiği şekilde yeni bir kalibrasyon işlemi yapıldı. Bir tabletinde 250 mg ASA, 200 mg PAR ve 50 mg KAF içeren Thomapyrin® adlı ilaç çözeltisine standart ekleme yöntemiyle PAR, ASA ve KAF standart çözeltilerinden belli derişimlerde eklenerek PBS tamponu (pH=2.5) içerisindeki voltamogramları kaydedildi ve Şekil 35’de gösterildi.



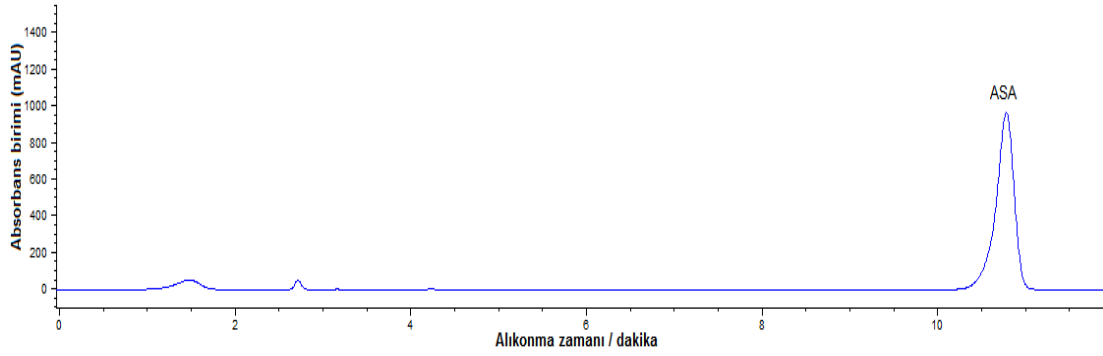
**Şekil 35.** PAR, ASA ve KAF içeren thomapyrin ilaç çözeltisine (kesikli çizgi), standart PAR çözeltisinden sırasıyla 0.00025 ppm, ASA çözeltisinden 0.5 ppm ve KAF çözeltisinden 0.1 ppm, standart PAR çözeltisinden 0.002 ppm, ASA çözeltisinden 1 ppm ve KAF çözeltisinden 0.4 ppm, standart PAR çözeltisinden 0.002 ppm, ASA çözeltisinden 1.5 ppm ve KAF çözeltisinden 0.8 ppm ve standart PAR çözeltisinden 0.005 ppm, ASA çözeltisinden 1.75 ppm ve KAF çözeltisinden 1 ppm eklenmesi sonucu oluşan akım değerlerine ilişkin kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları, Elektrot; Gr-Nf/GCE, biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi 01. V, Kare Dalga Voltametri değişkenleri, amplitüd; 50 mV, gerilim adımı; 14 mV, frekans; 75 Hz.

#### 4.5. PAR, KAF ve ASA'nın Eşzamanlı Tayinine Yönelik HPLC Tekniği ile Yapılan Analiz Sonuçları

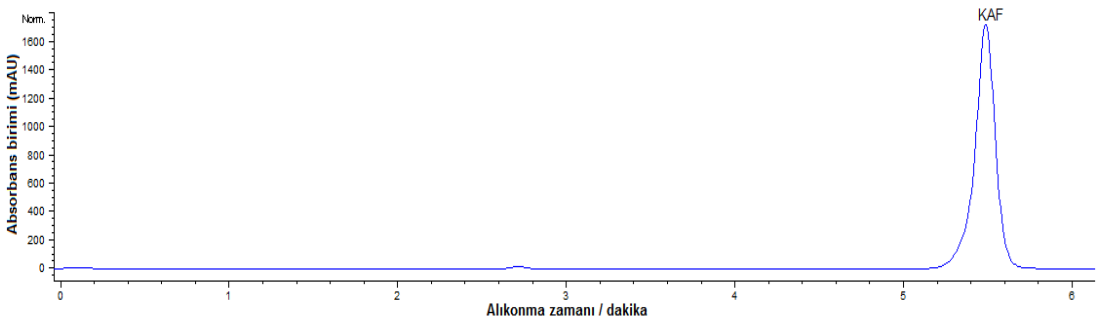
Geliştirilen yöntemlerin doğruluğunun kıyaslanması için ilgili kaynakçadan (Franeta ve ark., 2002) yararlanılarak HPLC deneyleri yapıldı. HPLC ile tayini yapılacak PAR, KAF, ASA bileşiklerinin önce ayrı viallerde standart çözeltileri hazırlanıp, belirlenen kromatografik koşullarda alıkonma zamanları belirlendi. PAR için alıkonma zamanı 4.237 dakika, KAF için 5.323 dakika ve ASA için 10.755 dakika olarak bulundu (Şekil 36, 37, 38). İlgili bileşenlerin birbirinden bağımsız yerlerde gözlenmesi bileşiklerin eşzamanlı tayinine olanak tanımıştır.



**Şekil 36.** PAR standart çözeltisinin HPLC kromatogramı ( $t_R=4.237$ ). Kromatografik koşullar; kolon: Nucleosil C18 (250 mm X 4.6 mm, 5  $\mu$ m), hareketli faz bileşimi: asetonitril /su (25:75 v/v), pH 2.5, hareketli faz akış hızı: 1 mL dakika<sup>-1</sup>, kolon fırın sıcaklığı: 25 °C, dedektör: fotodiyot dizileri (207 nm).



**Şekil 37.** ASA standart çözeltisinin HPLC kromatogramı ( $t_R=10.755$ ). Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir.



**Şekil 38.** KAF standart çözeltisinin HPLC kromatogramı ( $t_R=5.323$ ). Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir.

Yapılan ön deneme sonuçları göz önünde bulundurularak PAR, ASA ve KAF karışımı içeren vialdeki ilgili maddelerin derişimleri PAR ve KAF için 50 µg mL<sup>-1</sup>, ASA için 200 µg mL<sup>-1</sup> olacak şekilde ayarlandı. Şekil 39'da PAR, KAF ve ASA'nın bir aradaki kromatogramı verildi. PAR, KAF ve ASA'nın eşzamanlı kalibrasyon grafiği oluşturulurken, karışım vialinden HPLC cihazına farklı enjeksiyon hacimleri girildi. Cihaza ilgili stok karışım vialinden 1, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 ve 60 µL hacimlerinde enjeksiyon yapıldı. Kalibrasyon grafiği ilgili enjeksiyon hacmine karşılık gelen miktarların hesaplanması ile elde edildi. Yapılan hesaplamalar sonucu PAR ve KAF'ın enjeksiyon hacmine karşılık gelen değerler; 0.05, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 µg, ASA için; 0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 µg'dır. Elde edilen veriler doğrultusunda oluşturulan kalibrasyon grafikleri (enjeksiyon hacmindeki madde miktara karşılık pik alanı) Şekil 40'da verildi.

PAR'ın miktarı 0.05-3.0 µg aralığında artıkça pik alanlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlemlendi. Miktara karşılık alan değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşıldı.

$$y = 5134X (\mu\text{g}) + 429.0$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı (*r*) 0.998 olarak hesaplandı (n=9).

KAF'ın miktarı 0.05-3.0 µg aralığında artıkça pik alanlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlemlendi. Miktara karşılık alan değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşıldı.

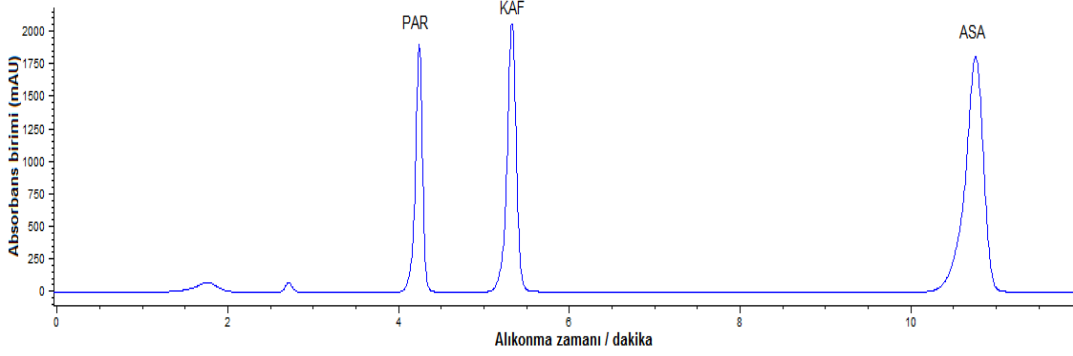
$$y = 7313X (\mu\text{g}) + 510.5$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı (*r*) 0.997 olarak hesaplandı (n=9).

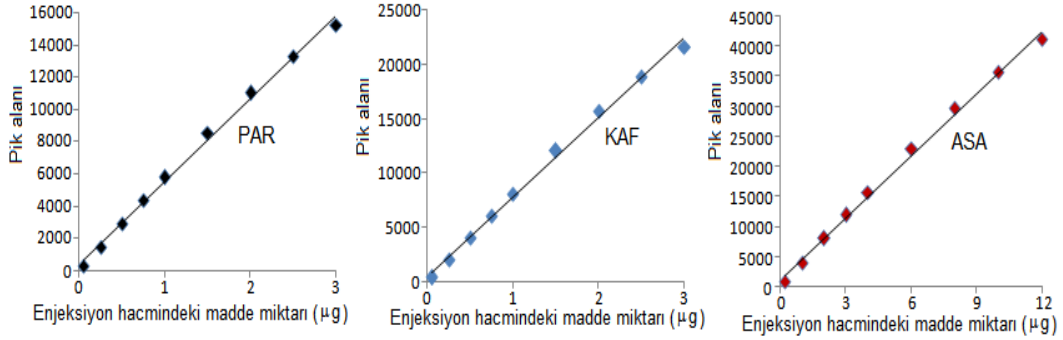
ASA'nın miktarı 0.2-12.0 µg aralığında artıkça pik alanlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlemlendi. Miktara karşılık alan değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşıldı.

$$y = 3450X (\mu\text{g}) + 1195$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0.998 olarak hesaplanmıştır ( $n=9$ ).



**Şekil 39.** PAR, KAF ve ASA standart çözeltilerinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir.

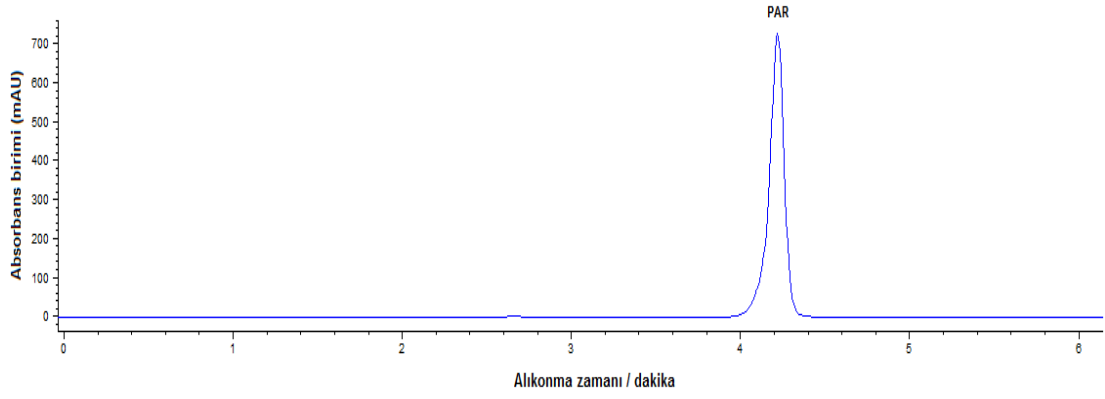


**Şekil 40.** PAR, KAF ve ASA'nın eşzamanlı tayinlerinde elde edilen kalibrasyon grafikleri.

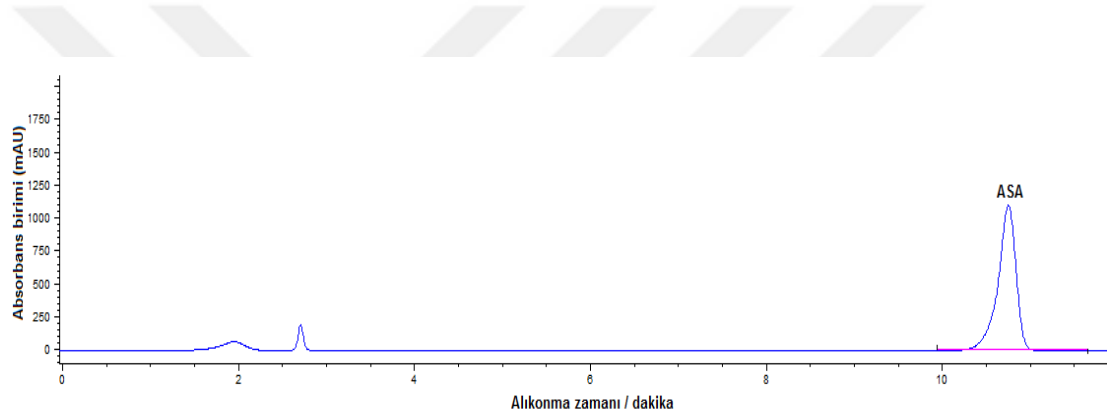
HPLC yönteminin ilaç preparatlarına uygulanması aşamasında hazırlanan örnek çözeltisinin enjeksiyon hacminde okunan değerlerin ilgili kalibrasyon grafiklerindeki değerlerin aralığına düşecek şekilde olmasına dikkat edildi.

Parol® ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı Şekil 41, Aspirin® ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı Şekil 42, Thomapyrin® ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı Şekil 43'de verildi.

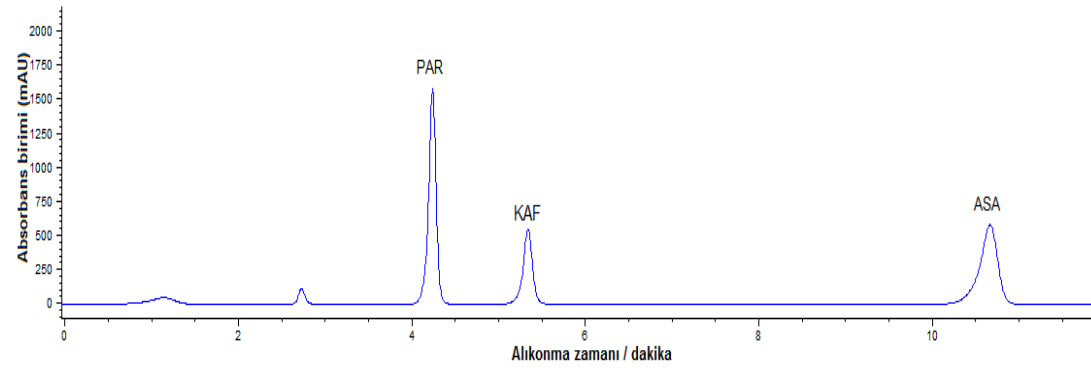




**Şekil 41.** Parol ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir.



**Şekil 42.** Aspirin ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir.



**Şekil 43.** Thomapyrin ilaç çözeltisinin HPLC kromatogramı. Kromatografik koşullar Şekil 36'daki gibidir.

İlaç preparatlarında okunan değerler yukarıda verilen kalibrasyon denklemlerinde  $y$  yerine yazılıp, elde edilen  $x$  değerleri miktarın belirlenmesinde kullanıldı. Elde edilen sonuçlar voltametrik yöntemle kıyaslamalı olarak Tablo 7 ve Tablo 8’de sunuldu.

**Tablo 7.** HPLC yöntemi ve SW-AdASV kullanılarak ilaç formülasyonunda (parol ve aspirin tabletlerinde) PAR ve ASA’nın tekli tayin sonuçları

Bileşik	PAR	ASA
Belirtilen miktar (mg/tablet)	500	500
SW-AdASV <sup>a</sup> (mg/tablet)	491.7±7	517.0 ± 11
HPLC <sup>a</sup> (mg)	504± 2	508.7 ± 3
E <sub>1</sub> <sup>b</sup> (%)	-1.7	3.4
E <sub>2</sub> <sup>c</sup> (%)	-2.4	1.6

<sup>a</sup>Ortalama ±  $s$  ( $n = 3$ )

<sup>b</sup>Bağlı Hata 1 (%) = [(voltametrik değer-etiket değeri)/ etiket değeri] X 100

<sup>c</sup>Bağlı Hata 2 (%) = [(voltametrik değer -HPLC değeri)/HPLC değeri] X 100

**Tablo 8.** PAR, KAF ve ASA'nın ilaç preparatlarındaki (Thomapyrin tablet) eşzamanlı tayinlerinin voltametrik (Gr-Nf/GCE) ve HPLC yöntemi ile bulunan sonuçları

Bileşik	PAR	KAF	ASA
Belirtilen miktar (mg/tablet)	200	50	250
SW-AdASV <sup>a</sup> (mg/tablet)	188± 8.4	47 ± 2.8	255 ± 9.1
HPLC <sup>a</sup> (mg)	197 ± 1.2,	51 ± 1.6	248 ± 1.4
E <sub>1</sub> <sup>b</sup> (%)	-6.0	-6.0	2.0
E <sub>2</sub> <sup>c</sup> (%)	-4.6	-7.8	2.8

<sup>a</sup>Ort.± ss (*n* =3)

<sup>b</sup>Bağlı Hata 1 (%) = [(voltametrik değer-etiket değeri)/ etiket değeri] X 100

<sup>c</sup>Bağlı Hata 2 (%) = [(voltametrik değer -HPLC değeri)/HPLC değeri]X 100

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde *t* testinden yararlanıldı. %95 güven aralığında *t* tablo değeri 2.78'dir (Miller ve Miller, 1993). Gr-Nf/GCE ile yapılan sonuçların HPLC yöntemi ile bulunan sonuçlarla kıyaslanması sonucu bulunan *t* değerleri PAR için 1.84, ASA için 1.32 ve CAF için 2.15'dir. Elde edilen *t* değerlerinin tablo değerinden düşük olması sonuçlar arasında istatistiksel olarak (% 95 güven aralığında) önemli bir farkın olmadığını gösterdi.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İlaç, canlı hücre üzerinde meydana getirdiği tesir ile bir hastalığın teşhisini, iyileştirilmesi ya da semptomlarının azaltılması amacıyla tedavisini ya da bu hastalıktan korunmayı mümkün kılan, canlılara değişik uygulama yöntemleri ile verilen doğal, yarı sentetik ya da sentetik kimyasal preparatlardır. Farmasötiklerin önemli bölümü, hastalıkla ilişkili ağrı ve diğer semptomları hafifleten bileşiklerdir. Ancak karıştırıldıkları ya da aşırı dozda alındıklarında zararlı olabilir hatta ölüme yol açabilirler. Bu nedenle; hastalıkları başarıyla tedavi etmek, yan etkileri en aza indirmek ve yasal düzenlemelere uymak için ilaçların kalite kontrolünü yapmak adına yeni yöntemlerin geliştirilmesi son derece önemlidir. İlaç piyasasında bulunan pek çok karışım (Kafein+Parasetamol+asetilsalisilik asitte olduğu gibi), bileşiklerin farmakodinamik etkilerini en çoğa çekmek için kullanılmaktadır.

Kafein (KAF), pürin sınıfı alkaloidler grubunun en önemli üyesi olup, kahve ve çay gibi ürünlerde doğal olarak, kola, enerji içeceği gibi ürünlerde yapay olarak bulunmaktadır. Doğal bir uyarıcı kimyasal olan KAF, beyin ve sinir sistemi üzerinde hızlandırıcı bir etkiye sahiptir. Nöronların uyarılma eşiğini düşürerek, sinirsel uyarılmayı artırır. KAF'ın ilaç formülasyonları ise astım, burun tıkanıklığı, baş ağrısı gibi rahatsızlıkların tedavisinde, atletik dayanıklılığı artırmada ve kilo vermede kullanılmaktadır.

Parasetamol (asetaminofen, PAR) ve asetilsalisilik asit (aspirin, ASA), ağrı kesici ve ateş düşürücü özellikleriyle dünyada olası en yaygın olarak kullanılan ilaçların başında gelmektedirler. ASA, baş ağrısı, kas gerilmeleri, kireçlenme ve romatizma gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmasının yanısıra alzheimer ve kalp-damar hastalıklarının tedavisinde de etkilidir.

KAF, PAR ve ASA' nın üçlü karışımı ile hazırlanmış ilaçlar migren, kas ağrıları, eklem iltihabı, sırt ağrısı, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve sinüzit rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Fakat bu karışımı içeren ilaçların aşırı dozda alınması; bulantı, kusma, ishal, karın ağrıları, terleme, felç ve düzensiz kalp atışlarına neden olmaktadır.

Bu bileşiklerin ayrı ayrı ya da eş zamanlı analizlerine yönelik yeni yöntemlerin geliştirilmesi günümüzde önemini korumaktadır. Her üç maddenin de

günlük hayatta çok kullanılmaları nedeniyle KAF, PAR ve ASA'nın tayinlerine yönelik yeni yöntemlerin bilim dünyasına sürekli olarak kazandırıldığı görülmektedir. KAF'ın çevre, biyolojik, bitki ve gıda gibi farklı ortamlarda tayinine yönelik birçok analitik yöntem geliştirilmiştir. Ultraviyole-görünür bölge spektrofotometrisi (UV-Vis) (Belay, 2010) gaz kromatografisi (Verenitch ve ark., 2006; Jafari ve ark., 2010) sıvı kromatografisi (LC) (Gardinali, Zhao, 2002; Tzanavaras, Themelis, 2007.), kapiler elektroforez (CE) (Zhao, Lunte, 1997), KAF tayininde kullanılan yöntemlerden bazılarıdır. PAR tayininde kullanılan yöntemlere örnek olarak; spektrofotometrik (Lopez ve ark., 2001), kemilüminesnas (Ruengsitagoon ve ark., 2006) ve kromatografik (McEvoy ve ark., 2007) yöntemler verilebilir. Spektroflorimetrik (Moreira ve ark., 2007), UV-Vis spektrofotometrik (Matias ve ark., 2004) ve kromatografik (Stolker ve ark., 2004) yöntemler, ASA tayininde kullanılan yöntemlerden bazılarıdır. Yukarıda sözü edilen yöntemlerle kıyaslandığında elektrokimyasal yöntemlerden voltametrinin uygulamasının basit, hızlı ve düşük maliyetli olması, yeterli seçicilik ve duyarlılık göstermesi nedeniyle üstünlükleri bulunmaktadır.

Çalışmamızda amaçlanan hedef; grafen ile modifiye edilmiş elektrotların ilaç preparatlarındaki bu üç önemli bileşiğin tayinine yönelik yeni uygulamaları üzerinedir. Analitik yöntemin geliştirilmesi amacıyla PAR, ASA ve KAF'ın elektrokimyasal yükseltgenmesine dayalı olarak tekli ve eşzamanlı tayinleri için grafen-modifiye camı karbon elektrotlar hazırlanmış ve ilgili bileşiklerin tayinin yapılabilirliğini ortaya konmuştur. Kısaca yapılan çalışma planı aşağıda özetlenmiştir.

Anodik bölgede eş zamanlı tayinleri yapılması planlanan KAF, ASA ve PAR'ın farklı çözelti ortamlarında (ABS, PBS ve BR tamponları) grafen-temelli elektrotlar üzerindeki elektrokimyasal ve adsorptif davranışları dönüşümlü voltametri tekniği ile araştırılmıştır.

Analiz çözeltisi bileşiminin, pH'nin, biriktirme gerilimi ve süresinin, kare-dalga formu değişkenlerinin (frekans, puls amplitüd, gerilim adımı) elektrot yanıtına etkisi incelenmiş ve eşzamanlı tayine olanak tanıyacak en iyi deney koşulları belirlenmiştir.

En iyi deney koşullarında bileşiklerin eş zamanlı tayini için aletsel performans özellikleri çalışma aralığı, kesinlik (gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik) saptanmıştır.

Seçicilik (metal iyonlarının, bazı anyon bileşiklerinin ve ilgili organik moleküllerin girişim etkisi), duyarlılık (gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı) ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Kaynakça araştırması incelendiğinde PAR, ASA ve KAF'ın eşzamanlı voltametrik tayini üzerine sadece üç çalışma bulunduğu görülmektedir (Sanghavi, Srivastava, 2010, Goyal ve ark., 2013, Yiğit ve ark., 2016). Son yıllardaki tüm çalışmalarda karbon bazlı elektrotlar kullanılmıştır. Sanghavi ve Srivastava çalışmalarında ilaç formülasyonlarındaki bu aktif bileşen karışımlarının belirlenmesi için yerinde yüzey aktif madde ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot üzerinde adsorptive sıyırma voltamogramlarını bildirmiştir. Bu çalışmada tespit limitleri sırasıyla PAR, ASA ve KAF, için,  $2.6 \times 10^{-8}$ ,  $8.5 \times 10^{-8}$  ve  $8.8 \times 10^{-8}$  M olarak gözlenmiştir. Goyal ve arkadaşları, karışım içerisindeki PAR, KAF, ASA'nın kare dalga voltametrik tayini için poli-1,5-diaminonaftalin modifiye pirolitik grafit elektrot hazırlamış ve sırasıyla  $0.57 \times 10^{-10}$  M,  $0.93 \times 10^{-10}$  M ve  $0.34 \times 10^{-10}$  M tespit limitlerini elde etmişlerdir. Çalışma grubumuz ise daha önceki çalışmamızda katodik ön işlem görmüş bor katkılı elmas elektrodun PAR, ASA ve KAF'ın eşzamanlı tayinindeki etkinliğini sırasıyla  $3.9 \times 10^{-6}$  M,  $7.3 \times 10^{-6}$  M ve  $1.4 \times 10^{-6}$  M tespit sınırlarıyla kanıtlamıştır. Bu eserlerin rağmen, PAR, ASA ve CAF eşzamanlı belirlenmesi için yeni elektrot malzemelerinin keşif hala bir sorundur.

PAR, ASA, KAF'ın eş zamanlı voltametrik tayini üzerine nispeten yeni ve sınırlı veriler doğrultusunda, bu çalışma farmasötik ilaç formlarından PAR, ASA, KAF'ın eşzamanlı tayini için grafit/Nafion film modifiye temelli camı karbon elektrodun (Gr-Nf/GCE) hazırlanması ve hassas, doğru, basit ve seçici elektrokimyal bir sensör sunmayı amaçlanmıştır. Bu çalışmada, Gr-Nf/GCE PAR, ASA ve KAF'ın elektrokimyasal yükseltgenme davranışını araştırmak için de kullanılmıştır. PAR, ASA ve KAF'ın eşzamanlı tayininde Gr-Nf /GCE kullanımı sonucunda gözlenebilme sınırları sırasıyla  $1.2 \times 10^{-9}$  M,  $6.5 \times 10^{-8}$  M ve  $3.8 \times 10^{-8}$  M olarak bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar Gr-Nf/GCE, farmasötik formülasyonlarda yaygın olarak bulunan PAR, ASA ve KAF'ın nicel tayininde büyük bir gerilime sahip umut verici bir alternatif olduğunu gösterir niteliktedir.



## ÖZET

**Yiğit A, Grafen-modifiye elektrotlar kullanarak kafein, parasetamol ve asetilsalisilik asidin ilaç preparatlarında eşzamanlı tayinine yönelik yöntem geliştirilmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Anabilim Dalı, Analitik Kimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2016.** Bu çalışmada, grafen-Nafion kompozit film modifiye camısı karbon elektrot (Gr-Nf / GCE) kullanarak parasetamol (PAR), aspirin (ASA) ve kafein (KAF)'nin tekli ve eşzamanlı belirlenmesi için yeni voltammetrik bir yöntem geliştirilmiştir. Gr-Nf / GCE üzerinde PAR, ASA ve KAF'ın elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri (CV) ve kare dalga adsorptif anodik sıyırma voltametri (SW-AdASV) ile incelenmiştir. GCE, Gr / GCE ve Gr-Nf / GCE üzerinde PAR, ASA ve KAF için CV kullanılarak karşılaştırmalı bir çalışma gerçekleştirildiğinde; hem pik akımları hem pik gerilimi için en iyi sonuçlar Gr-Nf/GCE'de elde edildi. Bu elektrot üzerinde üç bileşiğin yükseltgenme pik akımları; her bileşenin tekli tayini için 0.00125–0.25, 0.05–5, ve 0.05–7.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralıklarındaki sırasıyla PAR, ASA ve KAF derişimleri ile doğrusal olarak arttığı bulundu. Eşzamanlı tayinleri için PAR, ASA ve KAF'ın derişimleri değiştirilerek, kendi elektrokimyasal yükseltgenme pikleri 0.64, 1.04 ve 1.44 de görüldü ve sırasıyla 8 ng mL<sup>-1</sup> (1.2X10<sup>-9</sup>M), 11.7 ng mL<sup>-1</sup>, (6.5X10<sup>-8</sup>M) ve 7.3 ng mL<sup>-1</sup> (3.8X10<sup>-8</sup>M) gözlenebilme sınırları ile 0.00125–0.075, 0.15–3, ve 0.05–2 $\mu\text{g mL}^{-1}$  derişim aralığında iyi doğrusal akım cevapları elde edildi. Önerilen elektrokimyasal sensör herhangi bir ön işlem olmadan ticari farmasötik formülasyon örneklerinde PAR, ASA ve KAF'ın ölçülmesi için başarıyla uygulanmıştır. Hazırlanan modifiye elektrot, basit hazırlama yöntemi, yüksek hassasiyet, çok düşük tayin sınırları ve çok iyi tekrarlanabilirlik gibi çeşitli avantajlara sahiptir.

**Anahtar Sözcükler:** Aspirin, Farmasötik Formülasyon, Grafen Modifiye Elektrot, Kafein, Parasetamol.



## SUMMARY

**Yiğit A, Graphene modified electrode for simultaneous determination of paracetamol, aspirin and caffeine in the pharmaceutical formulations, Yuzuncu Yil University, Institute of Health Science, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Analytical Chemistry Science, Master Thesis, Van, 2016.** In this study, a new voltammetric method has been developed for the individual and simultaneous determination of paracetamol (PAR), aspirin (ASA) and caffeine (CAF) using graphene-Nafion composite film modified glassy carbon electrode (Gr-Nf/GCE). Electrochemical behaviors of PAR, ASA and CAF on a Gr-Nf/GCE were investigated by cyclic voltammetry (CV), and square-wave adsorptive anodic stripping voltammetry (SW-AdASV). When a comparative study was carried out employing CV for PAR, ASA and CAF on bare GCE, Gr/GCE and Gr-Nf/GCE, it could be observed that the best results for both peak current and peak potential were obtained from the Gr-Nf/GCE. The oxidation peak currents of the three compounds on this electrode were linearly dependent on PAR, ASA and CAF concentrations in the ranges of 0.00125–0.25, 0.05–5, and 0.05–7.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  in the individual detection of each component, respectively. By simultaneously changing the concentrations of PAR, ASA and CAF, their electrochemical oxidation peaks appeared at 0.64, 1.04 and 1.44 V, and good linear current responses were obtained in the concentration ranges of 0.00125–0.075, 0.15–3, and 0.05–2  $\mu\text{g mL}^{-1}$  with the detection limits of 18  $\text{ng mL}^{-1}$  ( $1.2 \times 10^{-9}\text{M}$ ), 11.7  $\text{ng mL}^{-1}$ , ( $6.5 \times 10^{-8}\text{M}$ ) and 7.3  $\text{ng mL}^{-1}$  ( $3.8 \times 10^{-8}\text{M}$ ), respectively. The proposed electrochemical sensor was successfully applied for quantifying PAR, ASA and CAF in commercial pharmaceutical formulations without any sample pretreatment. The prepared modified electrode showed several advantages, such as a simple preparation method, high sensitivity, very low detection limits and excellent reproducibility.

**Keywords:** Aspirin, Caffeine, Graphene-modified electrode, Paracetamol, Pharmaceutical formulation.

## KAYNAKLAR

- Acetaminophen(2011a).[http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=1983&loc=ec\\_rcs](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=1983&loc=ec_rcs). Erişim T: 24.08.2016
- Acetaminophen(2011b).<http://chemicalland21.com/lifescience/phar/ACETAMINOPHEN.htm>. Erişim T: 24.08.2016
- Amare M, Admassie S (2012). Polymer modified glassy carbon electrode for the electrochemical determination of caffeine in coffee. *Talanta*, 93, 122-128.
- Amiri-Aref M, Raoof JB, Ojani R (2013). Electrocatalytic oxidation and selective determination of an opioid analgesic methadone in the presence of acetaminophen at a glassy carbon electrode modified with functionalized multi-walled carbon nanotubes: application for human urine, saliva and pharmaceutical samples analysis. *Colloids Surf B*, 109, 287-293.
- Als. Co. Ltd. (2006). [http://www.als-japan.com/xdata/VC-2\\_cell.jpg](http://www.als-japan.com/xdata/VC-2_cell.jpg). Erişim tarihi: 23.08.2016
- Ardila JA, Sartori ER, Rocha-Filho RC, Fatibello-Filho O (2013). Square-wave voltammetric determination of bezafibrate in pharmaceutical formulations using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Talanta*, 103, 201-206.
- Atta NF, El-Kady MF, Galal A (2009). Electroless deposition of bis(4'-(4-Pyridyl)-2,2':6',2''-terpyridine)iron(II) thiocyanate complex onto carbon nanotubes modified glassy carbon electrode: application to simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sens Actuator B Chem*, 141, 566-574.
- Bard AJ, Faulkner LR (1980). *Electrochemical methods*, Newyork: Wiley.
- Barek J, Cvacka J, Muck A, Quaiserova V (2001). Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Fresenius J Anal Chem*, 369, 556-562.
- Basu S, Bhattacharyya P (2012). Recent developments on graphene and graphene oxide based solid state gas sensors. *Sensor Actuat B Chem*, 173, 1-21.
- Beaver WT, Mc Million D (1980). Methodological considerations in the evaluation of analgesic combinations:Acetaminophen (paracetamol) and hydrocodone in postpartum pain. *J Clin Pharmacol*, 2, 215-223.
- Belay A (2010). Measurement of integrated absorption cross-section, oscillator strength and number density of caffeine in coffee beans by integrated absorption coefficient technique. *Food Chem*, 12, 585-590.
- Bouabi Y, Farahi A, Labjar N, El Hajjaji S, Bakasse M, El Mhammedi MA (2016). Square wave voltammetric determination of paracetamol at chitosan modified

- carbon paste electrode: Application in natural water samples, commercial tablets and human urines. *Mat Sci Eng C*, 58, 70-77.
- Bufan B, Mojsilovic S, Vucicevic D, Vucevic D, Vasilijic S, Balint B, Colic M (2009). Comparative effects of aspirin and NO-releasing aspirins on differentiation, maturation and function of human monocyte-derived dendritic cells in vitro. *Int Immunopharmacol*, 9, 910-917.
- Chang R (2006). Redoks Tepkimeleri ve Elektrokimya: Genel Kimya. (Çev. Ed. Uyar T, Aksoy S ve İnam R). Ankara: Palme Yayıncılık.
- Chang HY, Lawless C, Addinall SG, Oexle S, Taschuk M, Wipat A, Wilkinson DJ, Lydall D (2011). Genome-wide analysis to identify pathways affecting telomere-initiated senescence in budding yeast. *G3 Bethesda*, 1, 197-208.
- Cheemalapati S, Palanisamy S, Mani V, Chen SM (2013). Simultaneous electrochemical determination of dopamine and paracetamol on multiwalled carbon nanotubes/ graphene oxide nanocomposite-modified glassy carbonelectrode. *Talanta*, 117, 297-304.
- Chen G (2007). Carbon nanotube and diamond as electrochemical detectors in microchip and conventional capillary electrophoresis. *Talanta*, 74, 326-332.
- Chou A, Eggers PK, Paddon RMN, Gooding JJ (2009). Self-assembled carbon nanotube electrode arrays: effect of length of the linker between nanotubes and electrode. *J Phys Chem C*, 113, 3203-3211.
- Chuanuwatanakul S, Chailapakul O, Motomizu S (2008). Determination of Trace Heavy Metals by Sequential Injection-Anodic Stripping Voltammetry Using Bismuth Film Screen-Printed Carbon Electrode. *Anal Sci Technol*, 24, 589-594.
- Dalmaso PR, Pedano ML, Rivas GA (2012). Electrochemical determination of ascorbic acid and paracetamol in pharmaceutical formulations using a glassy carbon electrode modified with multi-wall carbon nanotubes dispersed in polyhistidine. *Sensor Actuat B-Chem*, 173, 732-736.
- Du J, Zhang J, Su Y, Liu M, Ospina JK, Yang S, Zhu AJ (2011). In Vivo RNAi Screen Reveals Neddylation Genes as Novel Regulators of Hedgehog Signaling. *PLoS One*, 6, 9-15.
- Elibol K (2012). <http://www.kuark.org/2012/08/fullerenler/> Erişim T: 23.08.2016
- Ensafi AA, Khayamian T, Khaloo SS (2004). Application of adsorptive cathodic differential pulse stripping method for simultaneous determination of copper and molybdenum using pyrogallol red. *Anal Chim Acta*, 505, 201- 207.
- Eun JY, Jedeok K, Eiji H, Haoshen Z, Tetsuichi K, Itaru H (2008). Large reversible storage of graphene nanosheet families for use in rechargeable lithium ion batteries. *Nano Lett*, 8, 2277-2282.

- Eun KC, Esmeralda NY, Erin VI, Nathan PG, Kuech TF (2012). Atomic-scale investigation of highly stable Pt clusters synthesized on a graphene support catalytic applications. *J Phys Chem*, 116, 26066-26071.
- Fan Y, Liu JH, Lu HT, Zhang Q (2011). Electrochemical behavior and voltammetric determination of paracetamol on Nafion/TiO<sub>2</sub>-graphene modified glassy carbon electrode. *Colloid Surface B*, 85, 289-292.
- Faria EO, Junior ACVL, Souto DEP, Leite FRF, Damos FS., Luz RCS, dos Santos AS, Franco DL, dos Santos WTP (2012). Simultaneous Determination of Caffeine and Acetylsalicylic Acid in Pharmaceutical Formulations Using a Boron-Doped Diamond Film Electrode by Differential Pulse Voltammetry. *Electroanal*, 24, 1141-1146.
- Farias PAM, Wargener ALR, Bastos MBR, de Silva AT, Castro AG (2003). Cathodic adsorptive stripping voltammetric behavior of guanine in the presence of copper at the static mercury drop electrode. *Talanta*, 61, 829-835.
- Federal Aviation Administration. <http://jag.cami.jccbi.gov/toxicology/DrugDetail.asp?did=2> Erişim T: 24.08.2016
- Fiebich BL, Candelario-Jalil E, Mantovani M, Heinzmanna M, Akundi RS, Hull M, Knorle R, Schnierle P, Finkenzeller G, Aicher B (2006). Modulation of catecholamine release from rat striatal slices by the fixed combination of aspirin, paracetamol and caffeine. *Pharmacol Res*, 53, 391-396.
- Fogg AG, Wang J (1999). Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure Appl Chem*, 71, 891-897.
- Fortin E, Chane-Tune J, Delabougliise D, Bouvier P, Livache T, Mailley P, Marcus B, Mermoux M, Petit JP, Szunerits S, Vieil E (2005). Interfacing Boron Doped Diamond and Biology: An Insight on Its Use for Bioanalytical Applications. *Electroanal*, 17, 517-526.
- Franeta JT, Agbaba D, Eric S, Pavkov S, Aleksic M, Vladimirov S (2002). HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets. *Farmaco*, 57, 709-713
- Gan T, Hu S (2011). Electrochemical sensors based on graphene materials. *Microchim Acta*, 175, 1-19.
- Gardinali PR, Zhao X (2002). Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (LC-APCI-MS). *Environ Int*, 28, 521-528.
- Gasnier A, Pedano ML, Rubianes MD, Rivas GA (2013). Graphene paste electrode: electrochemical behavior and analytical applications for the quantification of NADH. *Sensor Actuat B-Chem*, 176, 921-926.

- Ghadimi H, Tehrani RM, Ali ASM, Mohamed N, Ghani SA (2013). Sensitive voltammetric determination of paracetamol by poly (4-vinylpyridine)/multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Anal Chim Acta*, 765, 70-76.
- Ghoneim MM, Tawfik A, Khashaba PY (2003). Cathodic adsorptive stripping square-wave voltammetric determination of Nifedipine drug in bulk, Pharmaceutical formulation and human serum. *Anal Bioanal Chem*, 375, 369-375.
- Goyal RN, Bishnoi S, Agrawal B (2011). Electrochemical sensor for the simultaneous determination of caffeine in aspirin in human urine samples. *J Electroanal Chem*, 655, 97-102.
- Goyal RN, Rana ARS, Chasta H (2013). Simultaneous monitoring of aspirin, paracetamol and caffeine in human urine at Poly-1,5-diaminonaphthalene modified pyrolytic graphite sensor. *J Electrochem Soc*, 160, 3007-3014.
- Gökçe (2004). Trifenilformazan ve bazı türevlerinin elektrokimyasal davranışlarına kompleks oluşumunun etkisinin incelenmesi (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gupta VK, Jain AK, Shoorra SK (2013). Multiwall carbon nanotube modified glassy carbon electrode as voltammetric sensor for the simultaneous determination of ascorbic acid and caffeine. *Electrochim Acta*, 93, 248-253.
- Gündüz T (2004). Instrumental Analiz, 7. Gazi Kitabevi Ltd. Şti., Ankara.
- Hennekens CH (2007). Aspirin in the treatment and prevention of cardiovascular disease: current perspectives and future directions. *Curr Atheroscler Rep*, 9, 409-16. Review.
- Hourch ME, Dudoit A, Amiard JC (2003). Optimization of new voltammetric method for the determination of Metallothionein. *Electrochim Acta*, 48, 4083-4088.
- How Stuff Works (2009). <http://health.howstuffworks.com/caffeine1.htm>, 2009. Erişim T: 24.08.2016.
- Hummers WR, Offeman R (1958). Preparation of Graphitic Oxide. *J Am Chem Soc*, 80, 1339-1339.
- Izutsu K (2002). Electrochemistry in nonaqueous solutions. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Jafari MT, Rezaei B, Javaheri M (2010). A new method based on electrospray ionisation ion mobility spectrometry (ESI-IMS) for simultaneous determination of caffeine and theophylline. *Food Chem*, 126, 1964-1970.
- James JE (1991). Caffeine and Health. Academic Press Inc: San Diego.

- Kachoosangi RT, Wildgoose GG, Compton RG (2008). Sensitive adsorptive stripping voltammetric determination of paracetamol at multiwalled carbon nanotube modified basal plane pyrolytic graphite electrode. *Anal Chim Acta*, 618, 54-60.
- Kalambatea PK, Sanghavib BJ, Karnac SP, Srivastavaa AK (2015). Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and domperidone based on a graphene/platinum nanoparticles/nafion composite modified glassy carbon electrode. *Sensor Actuat B-Chem*, 213, 285-294.
- Kang X, Wang J, Wu H, Liu J, Aksay İA, Lin Y (2010). A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol. *Talanta*, 81, 754-759.
- Karabilgin EE (2012). Camsı karbon elektrot yüzeyğnde 4-nitro-1-naftilaminin elektrokimyasal oksidasyonuyla yeni bir modifiye elektrot hazırlanması, Selçuk üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü, Konya.
- Kato D, Niwa O (2013). Carbon-based electrode materials for DNA electroanalysis. *Anal Sci*, 29, 385-392.
- Kesavan S, John SA (2016). Stable determination of paracetamol in the presence of uric acid in human urine sample using melamine grafted graphene modified electrode. *J Electroanal Chem*, 760, 6-14.
- Keskin E (2009). Polisiklik aromatik hidrokarbonlarda benzo[a] piren ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen'in kalem grafit elektrot kullanarak adsorptif sıyırma voltammetrisi yöntemiyle redoks özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kim H, Kim A, Cunningham KW (2012). Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase (V-ATPase) promotes vacuolar membrane permeabilization and nonapoptotic death in stressed yeast. *J Biol Chem*, 287, 19029-19039.
- Kochman S, Hirsch T, Wolfbeis OS (2012). Graphenes in chemical sensors and biosensors. *Trends Anal Chem*, 39, 87-113.
- Kutluay A, Aslanoglu M (2013). Modification of Electrodes Using Conductive Porous Layers to Confer Selectivity for the Voltammetric Detection of Paracetamol in the Presence of Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid. *Sensor Actuat B Chem*, 185, 398-404.
- Lawrence NS, Pagels M, Meredith A, Jones TGJ, Hall CE, Pickles CSJ, Godfried HP, Banks CE, Compton RG, Jiang L (2006). Electroanalytical applications of boron-doped diamond microelectrode arrays. *Talanta*, 69, 829-834.
- Li D, Kaner RB (2008). Graphene-based materials. *Science*, 320, 1170-1171.

- Li J, Kuang D, Feng Y, Zhang F, Xu Z, Liu M (2012). A graphene oxide-based electrochemical sensor for sensitive determination of 4-nitrophenol. *J Hazard Mater*, 201, 250-259.
- Lopez-Cueto G, Ostra M, Ubide C (2001). New way of application of the bromate-bromide mixture in kinetic analysis. *Anal Chim Acta*, 445, 117-126.
- Lourencao BC, Medeiros RA, Rocha-Filho RC, Mazo LH, Fatibello-Filho O (2009). Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. *Talanta*, 78, 748-752.
- Lourenção BC, Medeiros RA, Rocha-Filho RC, Fatibello-Filho O (2010). Simultaneous differential pulse voltammetric determination of ascorbic acid and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, 22, 1717-1723.
- Lu X, Wei W, Fenton J, Nahorski MS, Rabai E, Reiman A, Seabra L, Nagy Z, Latif F, Maher ER (2011). Therapeutic targeting the loss of the birt-hogg-dube suppressor gene. *Mol Cancer Ther*, 10, 80-89.
- Majdi S, Jabbari A, Heli H (2007). A study of the electrocatalytic oxidation of aspirin on a nickel hydroxide-modified nickel electrode. *J Solid State Electrochem*, 11, 601-607.
- Marcano DC, Kosynkin DV, Berlin JM, Sinitskii A, Sun Z, Slesarev A, Alemany LB, Lu W, Tour JM (2010). Improved synthesis of graphene oxide. *ACS Nano*, 8, 4806-4814.
- Martins I, Canaes LS, Doretto KM, Rath S (2010). Boron-Doped Diamond Electrode Coupled to Liquid Chromatography: Application to Simultaneous Determination of Benzodiazepines. *Electroanal*, 22, 455-462.
- Matias FAA, Vila MMDC, Tubino M (2004). Quantitative Reflectance Spot Test for the Determination of Acetylsalicylic Acid in Pharmaceutical Preparations. *J Braz Chem Soc*, 15, 327-331.
- McEvoy E, Donegan S, Power J, Altria K (2007). Optimisation and validation of a rapid and efficient microemulsion liquid chromatographic (MELC) method for the determination of paracetamol (acetaminophen) content in a suppository formulation. *J Pharm Biomed Anal*, 44, 137-143.
- Mehlish DR (2002). The efficacy of combination analgesic therapy in relieving dental pain. *J Am Dent Assoc*, 133, 861-871.
- Metin Ö, Faeho S, Alp C, Can H, Mankin MN, Gültekin MS, Chi M, Sun S (2012a). Ni/Pd core/Shell nanoparticles supported on graphene as a highly active and reusable catalyst for Suzuki Miyaura cross-coupling reaction. *Nano Res*, 1, 10-18.

- Metin Ö, Kayhan E, Özkar S, Schneider JJ (2012b). Palladium nanoparticles supported on chemically derived graphene: An efficient and reusable catalyst for the dehydrogenation of ammonia borane. *Int J Hydrogen Energ*, 10, 8123-8904.
- Miller JC, Miller JN (1993). *Statistics for Analytical Chemistry*, Van Nostrand Reinhold, 3rd ed. *Ellis Horwood & Prentice Hall*, New York, 53–80.
- Michael NG, Cecile MJ, Manish J (2012). Improving Platinum catalyst durability with a doped graphene support. *J Phys Chem*, 116, 10548-10556.
- Moreira AB, Dias ILT, Neto GO, Zagatto GEA, Kubota LT (2004). Solid-phase fluorescence spectroscopy for the determination of acetylsalicylic acid in powdered pharmaceutical samples. *Anal Chim Acta*, 523, 49-52.
- Mumcuoğlu İ (2011). Sıçanlarda penisilin ile oluşturulan status epileptikus modelinde intravenöz parasetamolün beyin elektriksel aktivitesine olan etkisi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp fakültesi, Tokat.
- Nikolin B, Imamović B, Medanhodžić, Vuk S, Šober M (2004). High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses. *Bosn. J Basic Med Sci*, 4, 5-9.
- Novoselov KS, Geim AK, Morozov SV, Jiang D, Zhang Y, Dubonos SV, Grigorieva IV, Firsov AA (2004). Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, 306, 666-669.
- Özcan A, Şahin Y (2011). A novel approach for the determination of paracetamol based on the reduction of N-acetyl-p-benzoquinoneimine formed on the electrochemically treated pencil graphite electrode. *Anal Chim Acta*, 685, 9-14.
- Öztekin Y (2008). Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli fenantrolin türevlerinin modifikasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi, Selçuk Üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü, Konya.
- Patrono C, Collier B, Fitz Gerald GA, Hirsh J, Roth G (2008). Platelet-Active Drugs: The Relationships Among Dose, Effectiveness, and Side Effects The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*, 126, 234–264.
- Peleskov YV (2002). Electrochemistry of diamond: A review, Russian. *J Electrochem*, 38, 1275-1291.
- Pumera M, Ambrosi A, Bonanni A, Chng ELK, Poh HL (2010). Graphene for electrochemical sensing and biosensing. *Trends Anal Chem*, 29, 954-965.
- Purushotham M, Gupta P, Goyal RN (2015). Graphene modified glassy carbon sensor for the determination of aspirin metabolites in human biological samples. *Talanta*, 143, 328-334.



- Raj MA, John SA (2013). Simultaneous determination of uric acid, xanthine, hypoxanthine and caffeine in human blood serum and urine samples using electrochemically reduced graphene oxide modified electrode. *Anal Chim Acta*, 771, 14-20.
- Ruengsitagoon W, Liawruangrath S, Townshend A (2006). Flow injection chemiluminescence determination of paracetamol. *Talanta*, 69, 976-983.
- Sanghavi BJ, Srivastava AK (2010). Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode. *Electrochim Acta*, 55, 8638-8643.
- Sawyer DT, Sobkowiak A, Roberts JL (1995). *Electrochemistry for chemists*, 2 nd. ed. New York: Wiley.
- Sheng ZH, Zheng XQ, Xu JY, Bao WJ, Wang FB, Xia XH (2012). Electrochemical sensor based on nitrogen doped graphene: simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Biosens Bioelectron*, 34, 125-131.
- Sherif OM, Leela SP, Minh QH, Samy ES (2014). Graphene-supported, iron-based nanoparticles for catalytic production of liquid hydrocarbons from synthesis gas: The role of the graphene support in comparison with carbon nanotubes. *ACS Catal*, 4, 535-545
- Smyth MR, Smyth WF (1978). Voltammetric Methods for the Determination of Foreign Organic Compounds of Biological Significance, A review. *Analyst*, 103(1227), 103-122.
- Smyth MR, Vos JG (1992). *Analytical Voltammetry in Comprehensive Analytical Chemistry*. Amsterdam: Elsevier Science.
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. (Çeviri Editörleri: Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H, Enstrümental Analiz İlkeleri) 1. baskı. Bilim Yayıncılık Ltd.Şti, Ankara.
- Stankovich S, Dikin DA, Piner RD, Kohlhaas KA, Kleinhammes A, Jia Y, Wu Y, Nguyen ST, Ruoff RS (2007). Synthesis of graphene-based nano sheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon*, 45, 1558-1565.
- Stolker AAM, Niesing W, Hogendoorn EA, Versteegh JFM, Fuchs R, Brinkman UAT (2004). Liquid chromatography with triple-quadrupole or quadrupole-time of flight mass spectrometry for screening and confirmation of residues of pharmaceuticals in water. *Anal Bioanal Chem*, 378, 955-963.
- Sun JY, Huang KJ, Wei SY, Wu ZW, Ren FP (2011). A graphene-based electrochemical sensor for sensitive determination of caffeine. *Colloids Surf B*, 84, 421-426.

- Svorc L, Sochr J, Rievaj M, Tomcik P, Bustin D (2012). Voltammetric determination of penicillin V in pharmaceutical formulations and human urine using a boron-doped diamond electrode. *Bioelectrochemistry*, 88, 36-41.
- Svorc L, Tomcik P, Svitkova J, Rievaj M, Bustin D (2012). Voltammetric determination of caffeine in beverage samples on bare boron-doped diamond electrode. *Food Chem*, 135, 1198-1204.
- Swain GM, Ramesham R (1993). The electrochemical activity of boron-doped polycrystalline diamond thin film electrodes. *Anal Chem*, 65, 345-351.
- Torres AC, Barsan MM, Brett CMA (2014). Simple electrochemical sensor for caffeine based on carbon and Nafion-modified carbon electrodes. *Food Chem*, 149, 215-220.
- Turan Ş (2008). Ornizadol'un elektrokimyasal davranışı ve adsorptif sıyırma yöntemleriyle tayini, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tzanavaras PD, Themelis DG (2007). Development and validation of a high-throughput high-performance liquid chromatographic assay for the determination of caffeine in food samples using a monolithic column. *Anal Chim Acta*, 581, 89-94.
- Uslu B, Özkan SA (2007). Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. *Anal Lett*, 40, 817-853.
- Verenitch SS, Lowe CJ, Mazumder A (2006). Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1116, 193-203.
- Vincent JL, Kahn I, Snyder AZ, Raichle ME, Buckner RL (2008). Evidence for a Frontoparietal Control System Revealed by Intrinsic Functional Connectivity. *J Neurophysiol*, 100, 3328-3342.
- Wang J (2000). Analytical Electrochemistry. 2nd edition. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- Wang Z, Xia J, Zhu L, Zhang F, Guo X, Li Y, Xia Y (2012). The fabrication of poly (acridine orange)/graphenemodified electrode with elecrolisis micelle distuption method for selective determination of uric acid. *Sensor Actuat B Chem*, 161, 131-136.
- Wei Y, Gao C, Meng FL, Li HH, Wang L, Liu JH, Huang XJ (2012). SnO<sub>2</sub>/Reduced Graphene Oxide Nanocomposite for the Simultaneous Electrochemical Detection of Cadmium(II), Lead(II), Copper(II), and Mercury(II): An Interesting Favorable Mutual Interference. *J Phys Chem C*, 116, 1034-1041.
- Weiss J (2004). Handbook of Ion Chromatography, 527-540p.

- Wu WS, Li WH, Chen B-S, Reconstructing a Network of Stress-Response Regulators Via Dynamic System Modeling of Gene Regulation. *Gene Regul Syst Bio*, 2, 53-62.
- Xuesong L, Weiwei C, Jinho A, Seyoung K, Junghyo N, Dongxing Y, Richard P, Aruna V, Inhwa J, Emanuel T, Sanjay KB, Luigi C, Rodney SR (2009). Large-Area Synthesis of High-Quality and Uniform Graphene Films on Copper Foils. *Science*, 324, 1312-1314.
- Yaman M, Enstrümental Analiz Ders Notları, Erişim: 21.05.2015, [http://www.profdrmehmetyan.com/ders\\_notlari/ens.pdf](http://www.profdrmehmetyan.com/ders_notlari/ens.pdf)
- Yardım Y (2009). Elektrokimyasal dna biyosensörlerin bazı kullanım alanlarının guanin ya da adenin sinyali üzerinden incelenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S (1997). Enstrümental Analiz Yöntemleri. 2. baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Ankara.
- Yılmazgüç B (2008). Telmisartan'ın elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yiğit A, Yardım Y, Şentürk Z (2016). Voltammetric sensor based on boron-doped diamond electrode for simultaneous determination of paracetamol, caffeine and aspirinin pharmaceutical formulations. *IEEE Sens J*, 16, 1674-1680.
- Yuan W, Shi G (2013). Graphene based gas sensors. *J Mater Chem*, 1, 10078-10091.
- Zangmeister CD (2010). Preparation and evaluation of graphite oxide reduced at 220 °C, *Chem Mater*, 22, 5625-5629.
- Zhao Y, Lunte CE (1997). Determination of caffeine and its metabolites by micellar electrokinetic capillary electrophoresis. *J Chromatogr B*, 688, 265-274.
- Zimmermann S, Menzel A, Bernaz Z, Eckhardt JD, Stubens D, Alt F, Messerschmidt H, Taraschewski H, Sures B (2001). Trace Analysis of Platinum in Biological Samples: A Comparison Between Sector field ICP-MS and Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry Following Different Digestion Procedures. *Anal Chim Acta*, 439, 203-209

## ÖZ GEÇMİŞ

Aydın YİĞİT, 1992 yılında Konya Ereğli’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Mersin’de tamamladı. 2009 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’ne girdi ve 2013 yılında mezun oldu. 2013 yılında YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri’nde yüksek lisans eğitimine başladı, halen yüksek lisans eğitimini sürdürmektedir.





YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimler Enstitüsü

LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimler Enstitüsü

08/09/2016

Tez Başlığı / Konusu

Grafen-modifiye elektrotlar kullanarak kafein, parasetamol ve asetil salisilik asidin ilaç preparatlarında eşzamanlı tayinine yönelik yöntem geliştirilmesi

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 67 sayfalık kısmına ilişkin, 08/09/2016 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Unplag.com (Plagiarizm detection engine) intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5.07 (Beş. sıfır yedi) dir.

**Uygulanan Filtreler Aşağıda Verilmiştir:**

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimededen daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi İnceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içemediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

08/09/2016  
  
Aydın YİĞİT

Adı Soyadı : Aydın YİĞİT  
Öğrenci No : 13930006003  
Anabilim Dalı : Temel Eczacılık Bilimleri  
Programı : Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Analitik Kimya bilim Dalı  
Statüsü : Y. Lisans  Doktora

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Yavuz YARDIM

08/09/2016

ENSTİTÜ ONAYI  
UYGUNDUR

...../...../201.....

Enstitü Müdürü



T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
ONAY BELGESİ

YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)  
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE  
APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmannın Adı Grafen Modifiye Elektrotların Kafein, Parasetamol ve Asetil Salisilik  
Asidin İlaç Preparatlarında Eşzamanlı Tayinine Yönelik Yöntem  
Title of the Research Geliştirilmesi

Araştırmacı(lar) Yürütücü / Chief investigator: Doç. Dr. Yavuz YARDIM  
Investigator(s) Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s): Aydın YİĞİT

Araştırmada kullanılacak hayvanlar / Animals to be used in the research:

Tür / species: Sayı / Numbers:  
Yaş / Age: Cinsiyet / Sex:

Araştırmannın Öngörülen Başlama Tarihi / Proposed Research Starting Date: 05.09.2016

Araştırmannın Öngörülen Bitiş Tarihi / Proposed Research Completion Date: 05.10.2016

Dosya no / File no:

**Karar:**

Yukarıda bilgileri verilen planlanan araştırma projesi için Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onayı  
gerekmemektedir. Tarih:29/ 09 / 2016 ; Karar no: 2016/09

**Decision:**

The proposed research project detailed above does not need Animal Researches Ethic Committee  
Approval. Date: 29 / 09 / 2016 Decision number 2016/09

	<b>BAŞKAN/CHAİR</b>  Prof. Dr. Semiha DEDE	
<b>ÜYE</b> Prof. Dr. Fazıl ŞEN	<b>ÜYE</b>  Prof. Dr. Sıddık KESKİN	<b>ÜYE</b>  Prof. Dr. Suphi DENİZ
<b>ÜYE</b>  Doç. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	<b>ÜYE</b> Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	<b>ÜYE</b>  Doç. Dr. Abdülbaki AKSAKAL
<b>ÜYE</b>  Doç. Dr. Nalan ÖZDAL	<b>ÜYE</b>  Yrd. Doç. Dr. Özer ALKAN	<b>ÜYE</b> Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
<b>ÜYE</b>  Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	<b>ÜYE</b> Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	<b>ÜYE</b> Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET