



T.C.

**BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BOR KATKILI ELMAS ELEKTROT
KULLANARAK PROGESTERON
HORMONUNUN ELEKTROANALİTİK
İNCELENMESİ**

Muhlis UÇAR

YÜKSEK LİSANS

Kimya

KASIM-2019

BATMAN

Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Muhlis UÇAR tarafından hazırlanan “**Bor katkılı elmas elektrot kullanarak progesteron hormonunun elektroanalitik incelenmesi**” adlı tez çalışması **13/11/2019** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çeldüğü~~ ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan/Danışman

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT



Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN



Üye

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL



Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Sennaz IIGREK

FBI Müdürü



Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından BTÜBAP-2019-YL-12 nolu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Muhlis uçar

Tarih: .../.../2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BOR KATKILI ELMAS ELEKTROT KULLANARAK PROGESTERON HORMONUNUN ELEKTROANALİTİK İNCELENMESİ

Muhlis UÇAR

Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2019, 68 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL

Bu tez çalışmasında, Progesteron hormonu Bor katkılı elmas(BDD) elektrot yüzeyinde elektrokimyasal özellikleri, kuvvetli asidik ortamda (HClO_4 ve H_2SO_4) incelenmiştir. Katodik olarak ön-ışlem görmüş BDD elektrot ile hızlı, duyarlı, seçici ve basit bir elektroanalitik yöntem geliştirilmiştir. Kare dalga sıyırma tekniği kullanarak progesteron hormonunun miktar tayinini 0.5 M HClO_4 destek elektrolit çözeltisinde +1.51 V (vs. Ag/AgCl) gerilim değerinde (+0.1 V gerilimde 120 s biriktirme sonrası) 0.1-7.1 μM derişim aralığında geniş bir analitik çalışma aralığı elde edilmiştir. Gözlenebilirlik sınırı 0.012 μM (3.77 $\mu\text{g L}^{-1}$) olup; 3.1 μM ($n=11$) derişim değeri için bağıl standart sapma değeri (RSD), %4.87 olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen voltametrik yöntem ilaç ve kan serum numunelere başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Katodik ön işlem, Bor-katkılı elmas elektrot, Kare-dalga voltametrisi, Progesteron, serum

ABSTRACT

MS THESIS

ELECTROANALYTICAL DETERMINATION OF PROGESTERONE HORMONE USING BORON-DOPED DIAMOND ELECTRODE

Muhlis UÇAR

The graduate school of natural and applied science of Batman University

The degree of master of science

Department of chemistry

Advisor: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2019, 68 Pages

Jury

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL

In this thesis, electrochemical properties of Progesterone hormone Boron doped diamond (BDD) on electrode surface were investigated in strongly acidic environment (HClO_4 and H_2SO_4). A fast, sensitive, selective and simple electroanalytical method was developed for cathodically pre-treated BDD electrodes. A good linear analytical curve in the concentration range of $10\ \mu\text{M}$ to $100\ \mu\text{M}$ at a voltage value of $+1.51\ \text{V}$ (vs. Ag / AgCl) (after 120 s deposition at $+0.1\ \text{V}$ voltage) in $0.5\ \text{M}\ \text{HClO}_4$ using the square wave stripping technique for the quantification of progesterone hormone obtained. The observability limit is $0.012\ \mu\text{M}$ ($3.77\ \mu\text{g}\ \text{L}^{-1}$); The relative standard deviation value (RSD) for the concentration of $3.1\ \mu\text{M}$ ($n = 11$) was calculated to be 4.87%. In addition, the developed voltammetric method has been successfully applied to drug and blood serum.

Keywords: Cathodic pretreatment, Progesterone, Boron-doped diamond electrode, Square-wave voltammetry, blood serum

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmalarım sırasında, çalışmalarımın bilimsellik dâhilinde yürümesi için bana değerli bilgi ve engin tecrübelerini zaman kavramı gözetmeksizin esirgemedi aktaran ve bilimsel gelişimimde mevcut tüm olanaklardan faydalanmam için en yüksek gayreti gösteren, çağdaş bilim insanlığıyla ve çalışma azmiyle örnek aldığım, desteğini her an hissettiğim değerli danışman hocam sayın Prof.Dr. Abdulkadir LEVENT'e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Labaratuvarda ki çalışmalarımızda gülen yüzü ve enerjisini esirgemeyen değerli hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL'a teşekkür ederim.

Bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan değerli arkadaşım sayın Mehmet ASLAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca, sosyal yaşantılarından fedakârlık ederek her zaman yanımda yer alan sevgili eşim Meryem TAŞ UÇAR ve oğlum Rumet Dilşad'a teşekkür ederim.

Muhlis UÇAR
BATMAN-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Hormonlar	3
2.1.1. Steroid Hormonları	5
2.1.1.1. Adrenal hormonları.....	5
2.1.1.2. Cinsel Hormonlar.....	6
2.1.1.2.1. Progesteron Hormonu	6
2.2. Katı Elektrot Voltametrisi ile İlgili Genel Bilgi	11
2.2.1. Voltametri de Kullanılan Çalışma Elektrotları	15
2.2.1.1. Bor Katkılı Elmas Elektrot	17
2.2.2. Voltametrik Teknikler.....	20
2.2.2.1. Doğrusal Taramalı Voltametri	21
2.2.2.2. Dönüşümlü Voltametri	21
2.2.2.3. Puls Voltametrik Teknikler.....	23
2.2.2.3.1. Diferansiyel Puls Voltametrisi.....	23
2.2.2.3.2. Normal Puls	24
2.2.2.3.3. Kare Dalga Voltametri.....	24
2.2.2.4. Sıyırma Teknikleri	25
2.2.2.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi.....	25
2.2.2.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi	26
2.2.2.4.3. Adsorptif Sıyırma Teknikleri.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. Kimyasallar	27
3.1.2. Voltametrede kullanılan malzemeler ve cihazlar.....	27
3.1.3. Çözeltilerin Hazırlanması	28
3.1.3.1. Progesteron Çözeltisinin Hazırlanması.....	28
3.1.3.2. Destek çözeltilerinin hazırlanması.....	28
3.1.4. Voltametrik sistem	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Voltametrik yöntemin gerçek örneklerde uygulaması.....	30
3.2.1.1. Enjektabl çözeltiler	30
3.3.1.2. Kan Numuneleri.....	30
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	31
4.1. Progesteron Hormonu'nun Elektroanalitik Davranışının İncelenmesi	31
4.1.1. Dönüşümlü voltametri	31
4.1.1.1. Gerilim tarama hızının etkisi	32
4.1.2. Sıyırma voltametrisi.....	34

4.1.2.1. Destek elektroliti ve pH etkisi	34
4.1.2.2. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi	35
4.1.2.3. Kare dalga değişkenlerinin etkisi.....	35
4.1.3. Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi.....	37
4.2. Gerçek Örnek Analizleri	39
4.2.1. Enjektabl çözeltiler	39
4.2.2. Biyolojik sıvı numuneleri	40
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	46
Ekler.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
A	Amper
E_p	Pik gerilimi
E_{pa}	Anodik pik gerilimi
E_{pc}	Katodik pik gerilimi
i_{pa}	Anodik pik akımı
i_{pc}	Katodik pik akımı
v	Gerilim tarama hızı
V	Volt
ss	Standart sapma
Hz	Hertz
ΔE_s	Gerilim adımı
ΔE_{sw}	Puls amplitüd

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Progesteron hormonunun sentezi 7
Şekil 2.2	Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması 12
Şekil 2.3	Voltametrik sistemin üç elektrotlu potansiyostatik şeması 14
Şekil 2.4	Voltametrik hücre ve elektrotları 14
Şekil 2.5	Ag/AgCl Referans elektrodu ve tepkimesi 15
Şekil 2.6	Platin tel elektrot 15
Şekil 2.7	Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları 16
Şekil 2.8	Elmas ve grafit örgüsü 19
Şekil 2.9	BDD elektrot 19
Şekil 2.10	Yaygın olarak kullanılan voltametrik teknikler 20
Şekil 2.11	Doğrusal voltametri de uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği 21
Şekil 2.12	Dönüşümlü voltametrde uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği 21
Şekil 2.13	Tersinir bir redoks işleminde CV ile elde edilen akım gerilim grafiği. 22
Şekil 2.14	Dönüşümlü voltametri tekniğinde gözlenen tersinir (a),yarı tersinir (b) ve tersinmez (c) elektrokimyasal tepkime çeşitleri 23
Şekil 2.15	Diferansiyel puls voltametrde uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu diyagramı 24
Şekil 2.16	Diferansiyel Puls Voltagramı 24
Şekil 2.17	Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali 25
Şekil 3.1	Autolab, PGSTAT 128N cihazı (B) ve BASI C3 katı elektrot hücresi (A) 28
Şekil 4.1	2×10^{-4} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde iki döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mVs ⁻¹ . Kesikli çizgi, destek elektroliti 31
Şekil 4.2	2×10^{-4} M Progesteron'nun 0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde (1) 25, (2) 50, (3) 100, (4) 200, (5) 300, (6) 400 (7) 500 (8) 600 (9) 700 (10) 800 (11) 900 mVs ⁻¹ gerilim tarama hızlarında elde edilen döngülü voltamogramları. Elektrot, BDD 32
Şekil 4.3	Progesteron'un gerilim tarama hızı ve pik akım ilişkisi ($\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$) grafikleri 33
Şekil 4.4	2×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M H ₂ SO ₄ ve 0.5 M HClO ₄ destek elektrolitler içinde elde edilen SWV-AdSV eğrileri, Biriktirme gerilimi/süresi: 0.4 V/120 s, SWV değişkenleri: frekans, 45 Hz; adım gerilimi, 9 mV; amplitüd, 90 mV. 34
Şekil 4.5	5×10^{-5} M Progesteron'nun BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde biriktirme süresi (A) ve biriktirme gerilimi (B) etkisi. SW değişkenleri: frekans, 45 Hz; adım gerilimi, 9 mV; amplitüd, 90 mV. 35
Şekil 4.6	5×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde farklı gerilimi adımında SW-AdSV eğrileri ve dağılım grafiği. 36

Şekil 4.7	5x10 ⁻⁵ M Progesteron'un BDD elektrotunun yüzeyinde 0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde amplitüd etkilerindeki dağılım grafiği	36
Şekil 4.8	5x10 ⁻⁵ M Progesteronun BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde elde edilen SW-AdSV eğrisi üzerindeki Frekans etkisi	37
Şekil 4.9	0.5 M HClO ₄ destek elektrolit içinde farklı derişimlerdeki (0;Destek elektrolit, 1;0.1 µM, 2;1.1 µM, 3;2.1 µM, 4;3.1 µM, 5;4.1 µM, 6;5.1 µM, 7;6.1 µM, 8;7.1 µM) progesteron'un BDD elektrot üzerinde elde edilen SW-AdSV eğrileri. $E_{acc}=0$ V, t_{acc} :120, SW değişkenleri: $f = 45$ Hz, $\Delta E_s = 9$ mV, $\Delta E_{sw} = 90$ mV Kesikli çizgi, destek elektroliti. Ek (B): i_p/C Progesteron kalibrasyon eğrisi	38
Şekil 4.10	0.5 M HClO ₄ ortamında progesteron'un BDD elektrot ile kadın kan numunesinde standart katma(0;Destek elektrolit, 1;0 µM, 2;1.75 µM, 3;2.75 µM, 4;3.35 µM, 5;4.75 µM, 6;5.75 µM) ile elde edilen SW-AdSV eğrileri	41
Şekil 5.1	Progesteron'un yükseltgenme mekanizması	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Progesteron hormonunun genel özellikleri ve moleküler yapısı	6
Çizelge 2.1 Progesteron hormonunun analiz teknikleri	9
Çizelge 23 Progesteron hormonunun farklı elektrotlar üzerindeki voltametrik analizi	10
Çizelge 4.1 Progesteron'un voltamogramlarındaki pik gerilimi ve pik akımı üzerindeki gerilim tarama hızı etkisi. Progesteron derişimi 2×10^{-4} M; destek elektroliti, 0.5 M HClO ₄ ; Teknik, CV.	32
Çizelge 4.2 Progesteron'un tayini için voltametrik teknik ile elde edilen en iyi deneysel koşullar.	38
Çizelge 4.3 Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde SW-AdSV tekniğı ile elde edilen kalibrasyon grafiklerinin analitik performans verileri.	39
Çizelge 4.4 Progesteron içeren yumuşak tabletlerde SW-AdSV analiz bulguları.	40
Çizelge 4.5 Progesteron'nun serum numunesinde standart katma ile elde edilen SW-AdSV analiz bulguları.	42

1. GİRİŞ

Hormonlar; metabolizmanın, bünyedeki bazı aktiviteleri kontrol altında tutmak için çeşitli amaçlarla ürettikleri iç salgı maddeleridir. Bir hücre ya da hücre grubu ile diğer hücreler arasındaki kimyasal haberci molekül olan hormonlar; kanalsız bez adı verilen endokrin bezlerde (iç salgı bezleri) üretilerek doğrudan kan dolaşımı içerisine salınırlar. Hormona duyarlı çeşitli hücrelerde kendilerine özgü reseptörleri aktive ederler ve kan yolu ile ulaştıkları organ ve dokularda çok düşük miktarları ile fonksiyon düzenleyici bir etki meydana getirirler. Az sayıda hormon ise özel hücreler tarafından salgılanır (sindirim kanalı hormonları gibi). Hormonlar, temel olarak fizyolojik fonksiyonlarını şu şekilde gerçekleştirirler:

- (i) İç ortamın değişen dış koşullara uygun şekilde sürdürülmesi (vücut ısısı, kan basıncı, su ve elektrolit dengesi, asit-baz dengesi, kas-yağ dokusu, kemik yapısı gibi)
- (ii) Vücut için gerekli olan enerjinin üretimi, depolanması ve kullanımı,
- (iii) Üreme,
- (iv) Büyüme ve gelişme (Yenson 1989; Kayaalp, 2002)

Organizmanın işleyişinde görev alan hormonların hangi doku ve organlardan nasıl, ne kadarının sentezlendiği ve bunun ne kadarının kana karıştığını saptamak son derece önemli bir durumdur. Bu bağlamda disiplinler arası çalışmalarda hormonların analizi için uygulanan, elektrokimyasal, spektroskopik ve kromatografik yöntemler bir adım öne çıkmaktadır.

Elektrokimyasal yöntemler, elektrik ve kimyasal tepkimeler ile ilgili bir bilim dalı olup gerilim, akım, yük gibi kimyasal parametreleri kullanarak maddenin nitelik ve nicelik özellikleri hakkında bilgi verir. Analitik kimya için, elektriksel ölçümler; çevrenin izlenmesi, sanayinin kalite kontrolü, eczacılık, gıda analizi, toprak, su ve biyomedikal analiz olmak üzere geniş bir çalışma alanına sahiptir. Bu tür analizlerde kullanılan yöntemlerin güvenilir ve hassas olması gerekmektedir. Geniş analitik derişim aralığına sahip olup hızlı, kolay (çok uzmanlık gerektirmeyen) olması, düşük maliyetli olması da önemli bir etkidir. Elektrokimyasal yöntemlerden voltametrik teknik ile yapılan ilaç analizi, klinik analizler ve eser düzeyde madde analizinin yapılmasının yanında deney sürecinin kolay ve kısa zamanda hazırlanması gibi üstünlükleri ile önemli bir avantaja sahiptir. Farmakolojik önemi olan bileşiklerin indirgenme ve yükseltgenme mekanizmalarının çalışılması son derece önemlidir. Bu mekanizmaların

aydınlatılması ile ilgili deneysel çalışmalar moleküllerin, karmaşık biyolojik sistemler ile etkileşmesinin anlaşılabilir olmasına katkı sunarlar.

Progesteron hormonunun kaynakçada yer alan elektrokimyasal çalışmaların özetlendiği izelge 2.3'te görüldüğü üzere, bu alandaki çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmada, elektrokimyasal özellikleri incelenecek olan progesteron hormonunun farmasötik ve biyolojik sıvılardaki miktar tayini, katodik olarak ön işlem görmüş bor katkılı elmas (BDD) elektrot kullanılarak dönüşümlü voltametri (CV) ve kare dalga voltametrisi (SWV) ile incelenecektir. BDD elektrot yüzeyinde incelenecek ilaç preparatlarındaki (hazır ilaç) ve biyolojik sıvılardaki miktar tayini için elektroanalitik yöntem geliştirilecek ve geliştirilen bu yöntemlerin validasyon çalışması yapılarak istatistiksel değerlendirilmesi sunulacaktır.

Bu bilgiler ışığı altında metabolizmada önemli bir özelliği olan progesteron hormonun elektrokimyasal olarak miktar tayinine olanak tanıyacak duyarlı ve seçici bir voltametrik yöntem tez kapsamında tanımlanacaktır. Tarafımızca geliştirilecek yöntemin duyarlı ve seçici olarak literatürde geliştirilen yöntemlere alternatif ve tamamlayıcı olacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bu bölümde hormonlar ile ilgili bazı bilgiler verildikten sonra tez çalışmamıza konu olan Progesteron molekülünün fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir. En son bölümde de progesteron molekülü üzerine yapılmış ve kaynakçada yer alan spektroskopik, kromatografik ve elektrokimyasal çalışmalar özetlenmiştir.

2.1. Hormonlar

Bu bölümde ilk olarak hormonlar hakkında genel bilgiler ve Progesteron bileşiğinin kimyası ile farmakolojik etkileri daha sonra da progesteron hormonunun tayininde kullanılacak yöntemler hakkında kısa bilgiler yer almaktadır.

Starling ve Bayliss 1902 yılında hormon terimini ilk defa kullanan bilim insanlarıdır. Latince de, hormaein=uyarıcı anlamına gelir.

Hormonlar ile enzimlerin birbirlerine benzeyen özellikleri olsa da hormonlar enzimler gibi kimyasal tepkimeleri başlatamazlar ama tepkimenin hızını etkilerler. Bazı tepkimeler, hormonlar olmasa da meydana gelebilir. Yalnız vücutta bazı özel enzim çeşitlerinin bulunmaması belirli tepkimelerin gerçekleşmesini imkânsız hale getirir. Enzimler protein yapılı oldukları halde hormonlar aminoasit, steroid polipeptid ve lipid yapılı olabilmektedir. Hormonların, vitaminlere benzeyen özellikleri bulunmaktadır. Vitaminler genelde bitkiler tarafından sentezlenir, daha sonra da oluşan bu besinler sindirim kanalından geçerek hayvansal organizmaya geçerler. Organizma tarafından sentezlenen hormonlar ise doğrudan kan dolaşımına katılırlar. Hormonların etki ettiği veya etki edeceği dokulara hedef dokular denir. Bir kısım hormon bu genel kuralın tersine bölgesel olarak etki yapabilmektedir. Örnek olarak asetilkolin, kolesistokin ve sekretin hormonları bölgesel olarak etki yapabiliyorken diğer hormonlar ise genelde özel bir bez tarafından kana aktarılır ve daha sonra da kan vasıtasıyla ile etki edecekleri dokulara ulaşabilmektedir. Hormonları inceleyen ve araştıran bilim dalı endokrinolojidir. Hormonların oluşumları ve kana karışmaları hiyerarşik kontrol mekanizması ile yukarıdan aşağıya doğru sıralanan bir kontrol sistemine bağlı olarak gerçekleşir. Bu kontrol sisteminde beyin tabanını oluşturan hipotalamus en üst basamakta bulunur. Hipotalamus'a herhangi bir sinirsel uyarı, bu bölgeden salgılatıcı faktör denen mekanizmayı işletici, çok az miktardaki özel hormonların sentezlenmesine yol açar. Sentezlenen bu hormonlar, sinir lifleri aracılığıyla beynin orta yerinde olan Sella Tursika olarak isimlendirilen kemik boşluğunun içerisine yerleşmiş endokrin bez

hipofiz'in ön lobuna ulaşmış olur. Hipotalamus'tan salgılanmış olan salgılatıcı faktörler hipofiz ön lobundan özel bir hormonun salınmasını sağlar. Hipofiz'den salgılanan hormonlar da kan vasıtasıyla etki edeceği dokuya giderek görevini yerine getirirler. Bazı hormonlar da bu hiyerarşik sisteme bağlı olmadan görev yapmaya çalışırlar ya da bu hormonların etkileri ve salınımları hiyerarşik sisteme daha az bağlıdır. Bu tür hormonlara örnek olarak epinefrin, insülin ve glukagonu verebiliriz(Ası, 1999).

Hormonlar molekül yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

(i) Amin yapısındaki hormonlar: Bu grupta bulunan hormonlar suda iyi çözünmektedir. Bu hormonların temel görevi yağ ve karbonhidrat metabolizmasını düzenlemektir. Sempatik sinirlerin aracılığıyla dolaşım sistemi, kalp, karaciğer, böbrek, göz ve üreme organları gibi hayati işlevi olan hormonlar bu grubda yer almaktadır. Katekolaminler (Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin, Triptofan türevleri (Melatonin, Serotonin) ve Tirozin türevleri (Tiroksin, Triiyodotironin) dir.

(ii) Peptid yapısındaki hormonlar: Suda çok iyi çözünen bu hormonlar, iki ya da daha fazla aminoasit içeren büyük moleküllü protein özellikli bileşiklerdir. Büyük yapıli molekülle oldukları için hücre içine direk etki etmezler bu yüzden hedef hücre zarının reseptörüne bağlanarak etki göstermeye çalışırlar(bu grupta çok sayıda hormon yer almaktadır (Tiroid stimüle edici hormon, Büyüme hormonu, Somatostatin, Vazopressin, Oksitosin, İnsülin, Kalsitonin, Glukagon).

(iii) Steroid yapısındaki hormonlar: Kendilerine has bir çekirdeğe sahip olan küçük yapıli moleküllelerdir. Suda iyi çözünmeyen bu hormonlar yağda iyi çözünebilmektedirler. Steroid yapıli hormonlar küçük oldukları için hücre zarından difuzyon ile geçerek etki mekanizmasında bulunurlar. Steroid hormonlara, kortizol ve diğer glukokortikoidler, mineralokortikoidler (Aldosteron), cinsel steroidler; androjenler (Testosteron), estrojenler (Estradiol) ve progesteron gibi hormonlar örnek verilebilir. D vitamini türevleri (kalsitriol) gibi steroid özelliğinde olmayıp steroidlerle yakından ilişkili olan bazı hormonlarda difuzyon ile geçerek etki mekanizmasında bulunabilirler.

(iv) Lipid yapısındaki hormonlar: Yağda iyi çözünebilen bu gruptaki hormonlar; Prostaglandinler, Lökotrienler, Tromboksan, Prostatiklin hormonları metabolizmada bölgesel olarak etki gösteren yağ asidi türevleridir. Böbreklerde tuz-su dengesi, trombosit işlevi, düz kasların kasılması, mukos salgısı, üreme fonksiyonları gibi önemli hormonal etkileri vardır(Yenson, 1989; Göçmen, 2005).

Hormonların bir kısmı (peptidler ve katekolaminler) suda, bir kısmı ise (steroidler ve tirozin türevleri) yağda çözünürler. Bu fizikokimyasal özellik;

reseptörlerin niteliği, etki mekanizması ve farmakokinetik davranışları bakımından var olan önemli farklılıkları da yansıtabilmektedir. Bir hormon; diğerinin biyosentezini, metabolizmasını, taşınmasını, salıverilmesini ve reseptörünün özelliğini etkileyerek onun etkinliğini azaltabilir ya da artırabilmektedir. Örneğin; tiroid hormonları kortizol ve testosteronun, karaciğer hücrelerindeki inaktivasyonlarını artırmaktadır. Hormonların en önemli kullanış yeri, endokrin bezin hipofonksiyonuna bağlı klinik durumların düzeltilmesidir(yerine koyma). Bazı hormonlar (glukokortikoidler gibi) endokrin bezin özel fizyolojik ya da farmakolojik etkilerinden yararlanmak için çeşitli hastalıklara karşı kullanılır. İlaç olarak kullanılan hormonlar gibi, yapıcı onlara benzeyen ancak vücutta doğal olarak bulunmayan bileşiklere “hormonomimetik ilaçlar” denir. Hormon etkileşimleri, sadece vücutta salgılanan hormonlar arasında değil; ilaç olarak verilen hormonlar ya da hormonomimetik ilaçlarla doğal olarak salgılanan hormonlar arasında da meydana gelir. Bu nedenle gerek doğal gerek yapay hormonların yeni ve eş zamanlı tayinlerine olanak tanıyan doğru ve hızlı yöntemlerin geliştirilmesi son derece önemlidir(Yenson, 1989; Göçmen, 2005).

2.1.1. Steroid Hormonları

Hormonlar üremeyi, büyümeyi ve gelişmeyi kontrol eden, enerji üretimi ve depolanmasını sağlayan düzenleyici bileşiklerdir. Kolesterolde meydana gelen steroid hormonları yağda çözünen bileşiklerdir. Steroid hormonlarına erkek ve dişi gonadlar ile adrenal bezlerin hormonları tarafından üretilen cinsellik hormonları örnek olarak verilebilir. Cinsel steroid hormonları üreme fonksiyonlarını düzenlenmesinin yanında iskelet sistemi, sinir sistemi ve kalp damar sistemleri üzerinde de önemli etkileri bulunmaktadır. Adrenal bezler, böbreklerin üstünde bulunur, dış korteks tabakasından ve bir iç medulla tabakasından oluşur. Adrenal steroid hormonları dış korteks tabakasından oluşur. Gonadlar erkek testisleri ve kadın yumurtalıklarıdır. Bu hormonlar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir(Ası, 1999).

2.1.1.1. Adrenal hormonları

Aldosteron: Bu mineral kortikoid, böbrekler üzerine sodyum ve su emilimini artırır. Aldosteron, kan hacmi ve kan basıncını artırarak kan basıncının düzenlenmesine yardımcı olur.

Kortizol: Bu glukokortikoid karaciğerdeki karbonhidrat dışı kaynaklardan glikoz üretimini uyararak metabolizmayı düzenler. Kortizol aynı zamanda vücudun stresle baş etmesine de yardımcı olur. Adrenal bezler az miktarda testosteron ve östrojen de üretir.

2.1.1.2. Cinsel Hormonlar

Testosteron: Erkek cinsel hormonudur, testislerde üretilir. Erkek üreme organlarının özelliklerinin gelişmesinden sorumludurlar. Az miktarda kadınların yumurtalıklarında da bulunur.

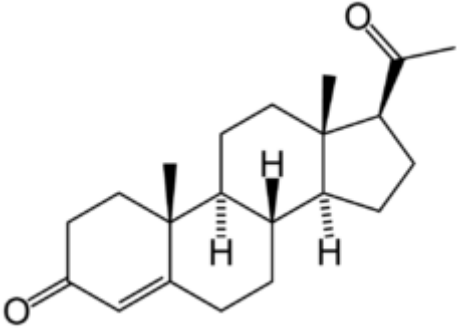
Östrojen: Kadın cinsel hormonudur, yumurtalıklarda üretilir. Kadın cinsiyet özellikleri ve iskelet gelişimini belirler.

Progesteron: Progesteron yumurtalıklarda üretilir ve hamilelik sırasında uterin astarın üretimi ve bakımı için son derece önemlidir. Bu hormon ayrıca adet döngülerini düzenler.(<http://www.yenibiyoloji.com>)

2.1.1.2.1. Progesteron Hormonu

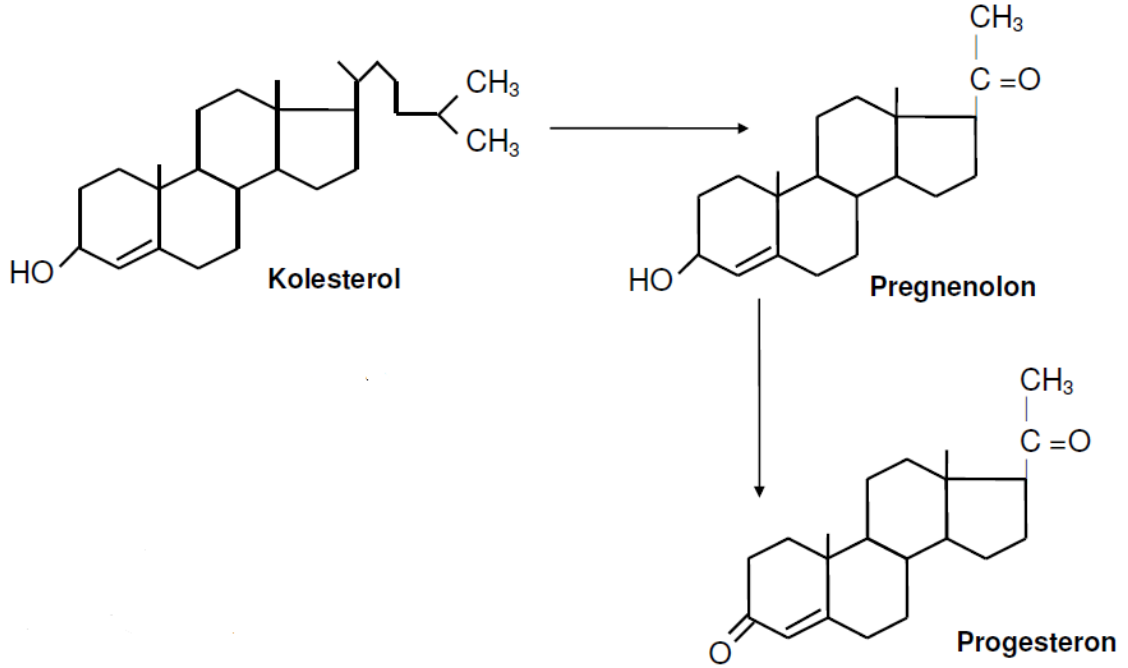
Bu tez çalışması için seçilen steroid hormonlarından olan Progesteron molekülünün kimyasal yapısı, adlandırılması ve fiziksel özellikleri aşağıda ki çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 Progesteron hormonunun genel özellikleri ve moleküler yapısı

Moleküler yapısı	Genel özellikleri
	Kimyasal formülü: C ₂₁ H ₃₀ O ₂
	Görüntüsü: Kristal pudra
	Erime noktası: 128-132 °C
	Kaynama noktası: 447.2 °C
	Çözünürlük: 19 derecede 100 mililitre suda 0.1 gramdan daha az çözünür.
	Saklama koşulları: 2-8 °C

Progesteron hormonu da diğer steroidler gibi kolesterolün bir türevi olan pregnenolon molekülünden sentezlenir. Progesteron, progestan adlı hormon grubuna ait olup insanlar da bu grubun başta gelen en önemli üyeleridirler. Progesteron hormonu birbirine bağlı 4 halkalı hidrokarbondan oluşur. Progesteron da metil, keton ve oksijenlenmiş fonksiyonel gruplar bulunur. Polar fonksiyonel grupları içermediği için suda iyi çözünmezler yağda iyi çözünürler. Progesteron hormonu beyinde, gebelik

sırasında plasentada, adrenal ve eşeysel bezlerde üretilir. Rahim ağzı kanserlerinde ve rahimde, hormonal tedavide kullanılarak %9-40 oranında başarı sağlanmıştır. Progesteron hormonunun kolesterolden eldesi mekanizması şekil 2.1’de verilmiştir. (İngilizce wikipedia nın 20 temmuz 2006 tarihli progesteron maddesi [http://en.wikipedia.org/w/index.php? Title=progesterone ve oldid=64713854](http://en.wikipedia.org/w/index.php?Title=progesterone&oldid=64713854)).



Şekil 2.1. Progesteron hormonunun sentezi (Ası., 1999).

Progesteron (4-Prognone -3,20 dione) hormonu doymuş olmayan bir keton dur. İnsan ve hayvan sağlığında hayati bir öneme sahip olan bir steroid hormondur. Progesteronun dengesizliği durumunda üreme ve kısırlık gibi sorunlara neden olmaktadır (Christian ve ark., 2007).

Gebelik sürecinde ve adet döngülerinde progesteron düzeyi önemli bir parametredir. Hamilelikte emzirmeyi engeller (sütün oluşmasına engel olur) ve doğumdan sonra progesteron seviyesi düşerek sütün oluşması sağlanır (Ehrentreich ve ark., 2003). Sütte veya serumda (plazma) progesteron tayini ve hamilelik teşhisi gibi değişik uygulama alanlarında çok önemlidir (McCleod ve ark., 1991). Eczacılık endüstrisi için progesteron, hormon replasman tedavisinde kullanılan birçok ilaç için temel bir moleküldür (Sitruk-Ware, 2002).

Progesteron hormonun dengesizliği gözde katarakt ve yüksek tansiyona neden olabilir. Ayrıca bazı çalışmalarda da ciddi nörolojik hastalıklara ve hatta kansere bile

sebeplere olabileceği ifade edilmiştir (Petrovic, 2003; Yadav ve ark., 2013; Amoli-Diva ve Pourghazi, 2015; Arvand ve Hemmati, 2017a).

Progesteron için uygulanan diğer analiz yöntemleri

Progesteron ve progestin (sentetik) hormonları üzerinde yapılan çalışmada; nehir suyu ve belediyenin atık sularında çeşitli matrisler göz önüne bulundurularak bu iki hormonun analizi için yöntem geliştirilmiştir (Fent 2018). Steroidler, daha düşük ve daha yüksek plazma, steroid derişimlerine dayalı olarak metanolde protein çökteltilmesiyle ve steroid ekstraksiyonundan sonra organik fazın konsantre edilmesiyle düşük steroid seviyelerinde iki basit numune hazırlama yöntemi kullanılarak tespit edildi (Szaboa ve ark., 2018). Tablet destekli değıştirilebilir çözelti bazlı mikro ekstraksiyon, ilk kez HPLC-UV yöntemiyle birleştirilerek nehir örneklerinde testosteron, progesteron, östradiol ve hidrokortizon hormonların analizi gerçekleştirildi (Shishov ve ark., 2017). Progesteron hormonunda aralarında olduğu bazı steroid hormonların miktar tayinleri için doğru ve hassas bir LC-MS/MS tekniğı önerildi (Song ve ark., 2019). İnsan ve farelerden alınan serum örneklerinde progesteron hormonunun içinde bulunduğu 18 steroid hormonu doğru ve hassas tespit etmek için rutin laboratuvar uygulamalarında androjen sentezi ve metabolizma yollarının profili çıkarıldı (Handelsman ve ark., 2019).

Yukarıda progesteron hormonunda yer aldığı bazı hormonların farmasötik, biyolojik sıvı ve çevresel ortamlarda analizi için spektroskopik ve kromatografik yöntemlerin temel alındığı analiz yöntemleri önerilmiştir. Bu yöntemler yüksek duyarlılık ve doğruluğına sahipken; ancak deneyin hazırlık aşamaları, numune toplama ve sonuç alma arasında oluşan ciddi zaman farkı, analitik sonuçları önemli ölçüde etkileyebilecek pahalı araç gereçlerin yetersizliğinden dolayı seçicilik konusunda istenilen düzeyde değildirler (Monerri ve ark., 2012; Lima ve Spinelli, 2013). Çizelge 2.2'de progesteron hormonu için önerilen spektroskopik ve kromatografik yöntemler özetlenmiştir.

Nitekim klinik laboratuvar ortamlarında progesteronun tayini için ucuz, kullanışlı, hızlı ve seçici bir şekilde sonuçlanması için daha güvenilir ve hassas elektrokimyasal yöntemler geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Çizelge 2.2 Progesteron hormonunun analiz teknikleri

Analit	Teknik	Dedektör	LOD($\mu\text{g/L}$)	Matris	Kaynak
Progesteron	HPLC	-	0.08	İlaç	Kadioğlu ve ark., 2010
Progesteron	GC	MS	0.21	Kan ve Serum	Hansen ve ark., 2011
Progesteron	HPLC	FF-SPE	0.40	Su	Zhang ve ark., 2011
Progesteron	UHPLC	MS-MS	0.40	Süt	Zheng ve ark., 2018
Progesteron	HPLC	MS-MS	0.01	İçme suyu	Zhang ve ark., 2019
Progesteron	HPLC	-	0.003	Nanokomposit	Mirzajani ve ark., 2019
Testesteron			0.003		
Kolesterol			0.004		
β -Sitosterol			0.005		
Kampesterol			0.003		

Teknik: HPLC; Yüksek performanslı sıvı kromatografi, UHPLC; Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi, LC; sıvı kromatografi, **Dedektör:** ICP; İndüktif eşleşmiş plazma, MS; kütle spektrometresi FF- SPE screen-printed electrode

Progesteron için uygulanan elektroanalitik yöntemler.

Hormonların biyolojik sıvı ve dokulardan tayini, birçok ayırma ve iz analizi tekniğini gerektirir. Yaklaşık olarak 30 yıldır hormonların biyolojik ortamlardan tayinlerinde kullanılan en temel yöntem başta radyoimmunoassay olmak üzere immunoassay teknikleridir. Bu teknikler doğruluk ve duyarlılık bakımından başarılı olmalarına karşın analiz süreci; maliyeti yüksek, zahmetli ve uzun bir çalışma süreci gerektirmektedir. Hormonların analizlerinde zamanla bu tekniklerin yerine daha çok aletsel temelli kütle spektrometresi (MS) teknolojisi kullanılmaktadır. Bu cihaz teknolojisi ile daha çok sayıda hasta numunesi aynı anda doğru ve yüksek duyarlılık ile analiz edilebilir. Günümüz teknolojisinin gelişmesi ile birlikte MS tekniği gaz kromatografi (GC) ve sıvı kromatografisi (LC) ile kombine olarak başarılı bir şekilde kullanılabilir. Yalnız LC ve GC yöntemleri yüksek duyarlılık, doğruluk göstermelerine karşılık çok pahalı cihazlar, uzman personel, organik çözücü ve karmaşık işlemler gerektirmektedir (Taran ve ark., 1997; Dı ve ark., 1998; Isola ve ark., 2000; Kim ve ark., 2008; Eshratkhah ve ark., 2010; Stanczyk ve Clarke, 2010).

Progesteron molekülünün de içinde bulunduğu progestin ilaçların tayininde kullanılan kromatografik yöntemlerin seçiciliği, yüksek duyarlılığı ve doğruluğa sahip olmasına karşılık deneyimli uzman personele, uzun, zahmetli ve pahalı analiz

işlemlerine ihtiyaç vardır. Bunun yanında elektroanalitik yöntemlerden olan voltametri ucuz, basit (uzman personele gerek olmayan), hızlı ve çok küçük derişimlerdeki hassas duyarlılığı progesteron tayinine alternatif bir yöntem olacaktır.

Yapılan literatür taramasında görüldüğü üzere Progesteron hormonunun elektrokimyasal yöntemlerle tayini üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Progesteron bileşiminin tayininde kullanılmış olan bazı elektrokimyasal teknik ve elektrotun analitik performans özellikleri çizelge 2.3'de özetlenmektedir.

Çizelge 2.3. Progesteron hormonunun farklı elektrotlar üzerindeki voltametrik analizi

Redoks Türü	Teknik	Elektrot	LOD(nM)	Matris	Kaynak
İndirgenme	ASV	DME	0.2	İlaç (0.005 M NaOH)	Wang ve ark., 1985
İndirgenme	LSP	DME	20	İlaç (pH:9)	Hu ve ark., 1991
İndirgenme	SWV	GCE	500	Susuz ortam	Arevalo ve ark., 2008
İndirgenme	SW-AdSV	BİFE	180	İlaç (pH:12)	Lima ve ark., 2013
Yükseltgenme	CV	GCE/AuNPs/MnSB	11.4	Süt(0.1 M NaOH)	Shamsipur ve ark., 2017
Yükseltgenme	DPV	GQDs-PSSA/GO/GCE	0.31	Serum (pH:6)	Arvand ve Hemmati 2017a
Yükseltgenme	DP-AdSV	Fe ₃ O ₄ @GQD/f-MWCNTs/GCE	2.18	Serum, İlaç (pH:7)	Arvand ve Hemmati 2017b
İndirgenme	SWV	GO-IMZ/GCE	68	İlaç (pH:13)	Gevaerda ve ark., 2018
İndirgenme	AdCSV	BİFE	-	Rahim kası (pH:12)	Zidaric ve ark., 2018
İndirgenme	DPV	SnFE	120	İlaç (0.2 M NaOH)	Das ve Sangaranarayanan 2018
Yükseltgenme	SWV-AdSV	BDD	12	Serum ilaç (0.5 M HClO ₄)	Bu tez çalışması

DPV; diferansiyel puls voltametri, SW-CSV; kare dalga katodik sıyırma voltametri, CV; dönüşümlü voltametri, AdCSV; Adsorptif katodik sıyırma voltametri. CPE; karbon pasta elektrot, DME; damlayan cıva elektrot, GCE; camımsı karbon elektrot, BİFE; Bizmut film elektrot, AuNPs; Altın nano partikül, HDA; hidrodinamik amperometri, LSP: Liner sıyırma polarografi, ASV; Adsorptif sıyırma voltametri; GQDs; grafen kuantum dot, PSSA; poli sülfosalisilik asid, GO; Grafen oksit, IMZ; İmidazol, Fe₃O₄@; Demir oksit, MWCNTs; Çok sarmallı nanotüp, Sn-FE; Kalay Film Elektrot, MnSB; Mangan (III) Schiff baz film.

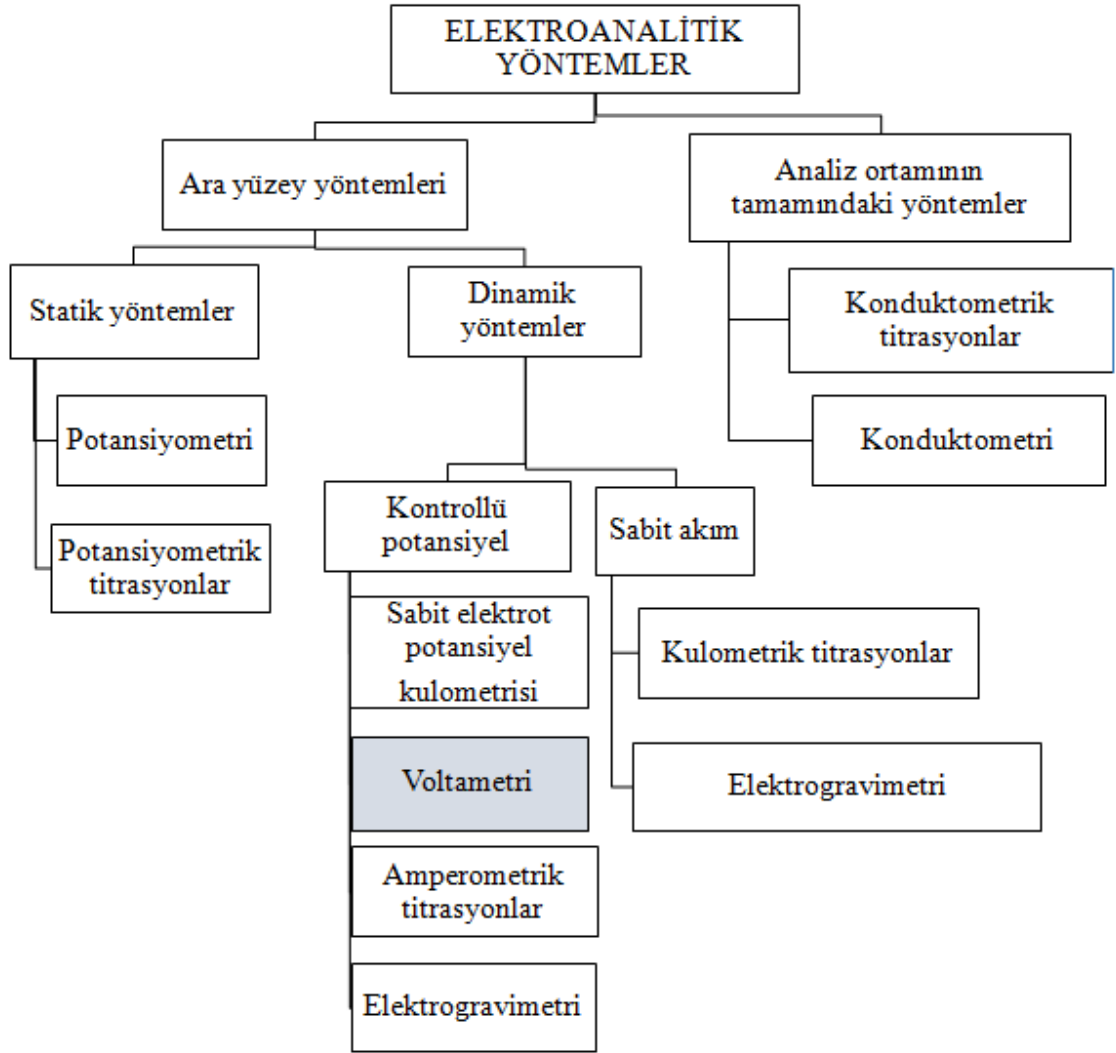
2.2. Katı Elektrot Voltametrisi ile İlgili Genel Bilgi

Bu tez çalışmasında progesteron hormonunun elektrokimyasal özellikleri incelenecek ve miktar tayini için elektroanalitik yöntemlerden biri olan voltametri tekniği kullanılacaktır. İlk bölümde katı elektrot voltametrisi ile ilgili genel bilgiler verilip, progesteron tayininde kullanılan elektrotlar ve voltametri hakkında kısaca bilgi verilecektir.

Elektrokimya, elektrik enerjisi ile maddenin etkileşimini ve bu etkileşim sonucunda oluşan fiziksel ve kimyasal değişiklikleri araştırır; yani kısaca kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşümünü inceleyen bilim dalıdır. Temel olarak elektrokimyasal tepkimeler indirgenme ve yükseltgenme tepkimeleridir. Bu tepkimeler elektron geçişi veya elektron aktarımı ile sağlanır. Elektrokimyasal tepkimeler yine elektrokimyasal hücre adı verilen bir sistem içinde gerçekleşir. Elektrokimyasal bir tepkimede analit bulunduran bir çözelti ve analitin kimyasal değişimin gerçekleştiği elektrot sistemi, ikili ya da üçlü elektrot düzeneği (genelde üçlü düzenek tercih edilir) ile çalışılır. Elektrotları birbirine bağlayan bir çevirim sistemi ve iletkenliği sağlamak için de bir destek çözeltisine ihtiyaç duyulmaktadır.

Elektrokimyasal teknik ve çalışmalar, piller, kimyasal tepkimelerin hız ve denge sabitlerinin hesaplanması yanında eser miktardaki maddenin analizi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Elektroanalitik yöntemde, tepkime elektrot ve çözelti ara yüzeyinde oluşur. Ara yüzeyde fiziksel ve kimyasal değişimler, çözelti tabakası ve çalışma elektrodu'nun yüzeyleri arasında gerçekleşir. Ara yüzeyde oluşan tekniklerden voltametri ve potansiyometri; duyarlı olma, uygulanabilirlik, seçicilik gibi özellikleri ile çok fazla uygulama ortamı bulmuştur (Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998; Wang 2000).

Elektrokimya, maddeler arasındaki ara yüzeyde oluşan yük aktarımını etkileyen sebepleri araştırır. Kimyasal olaylardan biri elektron hareketi ile yükün taşındığı elektrot kısmıdır. İkinci kısım ise iyon hareketi ile yükün taşındığı elektrolit kısmıdır. Elektrolit ve elektrot arasında oluşan ara yüzey toplam özelliklerinin çalışıldığı düzeneğe elektrokimyasal hücre adı verilir. Üçlü elektrot düzeneği çalışma, karşılaştırma ve yardımcı elektrotdan oluşur. İkili elektrot düzeneğinde ise çalışma elektrodu ve karşılaştırma elektrodu bulunur yardımcı elektrot ise bulunmaz. Günümüzde kullanılan elektroanalitik yöntemler şekil 2.2'de gibi özetlenebilir (Bard ve Faulkner, 2000).



Şekil 2.2. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

Elektrokimyasal olaylar ve süreçler, katı, sıvı, gaz gibi çeşitli ortamlar da maddenin niceliksel ve niteliksel analizinde son derece kullanışlıdır. Elektrokimyasal yöntemlerin bu yüksek duyarlılığının sebebi bunların son derece duyarlı yasalara (Faraday yasaları gibi) dayanmasıdır(Wang, 2006).

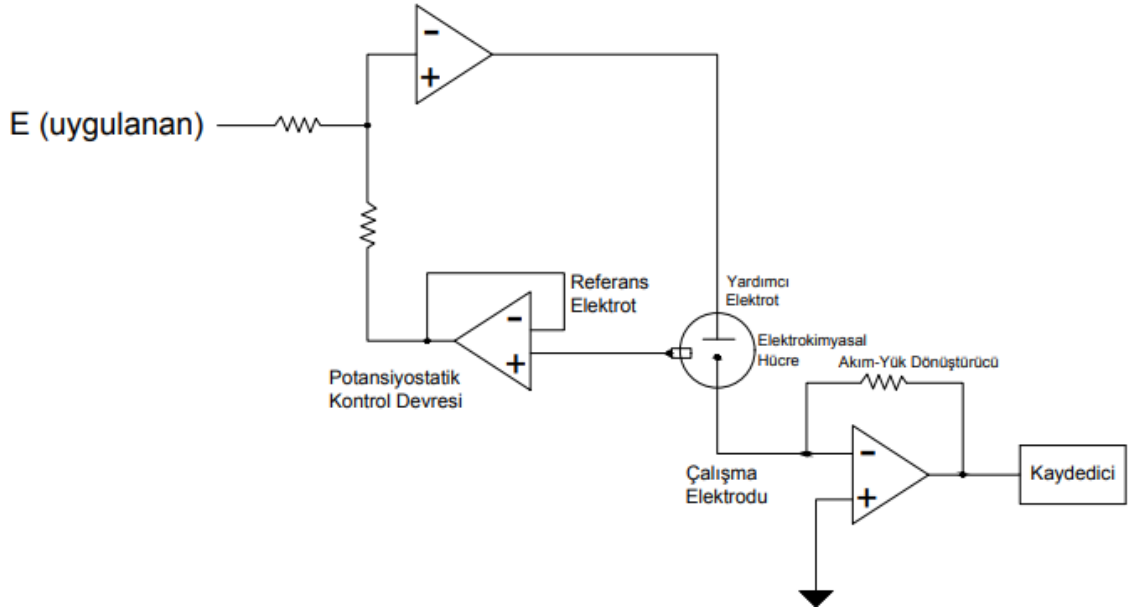
Elektrokimyasal analiz yöntemleri için belli aletler gerekir. Bunlar sistemde akım, gerilim vb. uyarılar oluşturur. Sistem, bunları elektrikselsinyaller şeklinde elektronik ortamda kaydeder ve sonuçların bu şekilde kaydedilmesi, analizin otomatik hale gelmesini sağlar. Bundan dolayı bu yöntemler, son derece hızlı ve duyarlıdır. Elektrokimyasal yöntemler yüksek duyarlılık, seçicilik, yüksek ölçüm hızı ve daha birçok avantaja sahiptir. Birçok durumda 1 mililitre gibi son derece küçük hacimdeki çözeltiler analiz için yeterlidir. Kullanılan araç gereçlerin ucuz ve basit olması, derişimden çok ilgili türün aktiflikleri hakkında bilgi vermesi ve genelde bir iyonun ya

da bir maddenin yükseltgenme/indirgeme basamağının saptanmasına olanak vermesi elektrokimyasal yöntemlerin son derece avantajlı ve önemli teknikler olarak sayılmasına yol açmıştır. Elektroanalitik yöntemlerde en çok voltametri ve polarografi kullanılmaktadır.

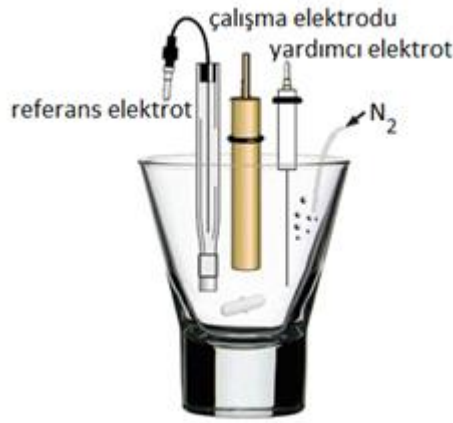
Elektroanalitik yöntemlerin merkezinde yer alan voltametri; çeşitli ortamlarda meydana gelen indirgenip-yükseltgenen inorganik ve organik bileşiklerin çözeltilerinden uygun şartlarda elde edilmiş olan akım şiddeti gerilim eğrisinin yani voltamogram özelliklerini analiz eden yöntemdir. Ayrıca modifiye elektrotların yüzeylerinde oluşan elektron aktarım sistemlerini ve yüzey adsorpsiyon olgularını da inceler. Voltametri yönteminde en çok üçlü elektrot mekanizması kullanılır. Derişimi çok küçük olan çözeltilerde bile bu teknikle hassas, duyarlı ve hızlı sonuçlar alınabilir.

Polarografi yöntemini ilk olarak Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky 1922 yılında bulmuştur. Heyrovsky ilk olarak voltametrimin özel bir tipi olan polarografiyi bulmuş ve bu buluşu ile 1959 yılında Nobel Ödülü'nü almıştır. Polarografinin voltametri yönteminden farkı çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodunun (DCE) kullanılmasıdır. Yani kısaca deneyde kullanılan çalışma elektrodu cıva elektrot (damlayan cıva elektrot, asılı damlayan cıva elektrot, durağan cıva damla elektrot ve cıva ince film elektrot) ise yöntem polarografi, kullanılan elektrot katı elektrot (membran, metalik, karbon elektrot) ise bu yöntem voltametridir. Sudan gelen ağır metaller, arıtılmış suda azda olsa çözünmüş olan oksijen ve destek çözültiden gelen safsızlıklar polarografinin duyarlı ve hassas sonuç vermesini engelleyecektir ki buna neden olan faktörlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Polarografi ile maddenin hem nitel hem de nicel analizini yapmak mümkündür. Her madde için belli koşullar altında belli bir yarı dalga gerilimi vardır. Yarı dalga geriliminin elektroaktif maddeler için karakteristik olmaları nedeniyle nitel analizde kullanılabilir. Nicel analizde de difüzyon akımının derişimle orantılı olması özelliğinden yararlanır. (Yıldız ve Genç., 1993; Skoog ve ark., 1998; Wang, 2006)

Voltametri tekniği ile farmasötik ilaçların ve biyolojik sıvıların analizi daha da sağlıklı ve güvenilir bir şekilde ölçülebilmektedir. Ayrıca voltametri elektrokimya dışında anorganik kimya, analitik kimya, fizikokimya, biyokimya gibi kimya alanlarında da başarılı sonuçlar verir. Tıp, eczacılık ve ekosistem gibi alanlarda da önemini artırmaktadır(Skoog ve ark., 1998; Wang, 2000). Voltametrde kullanılan potansiyostatik sistem şeması şekil 2.3'de, voltametrik hücre ve bileşenleri de şekil 2.4'de gösterilmiştir.



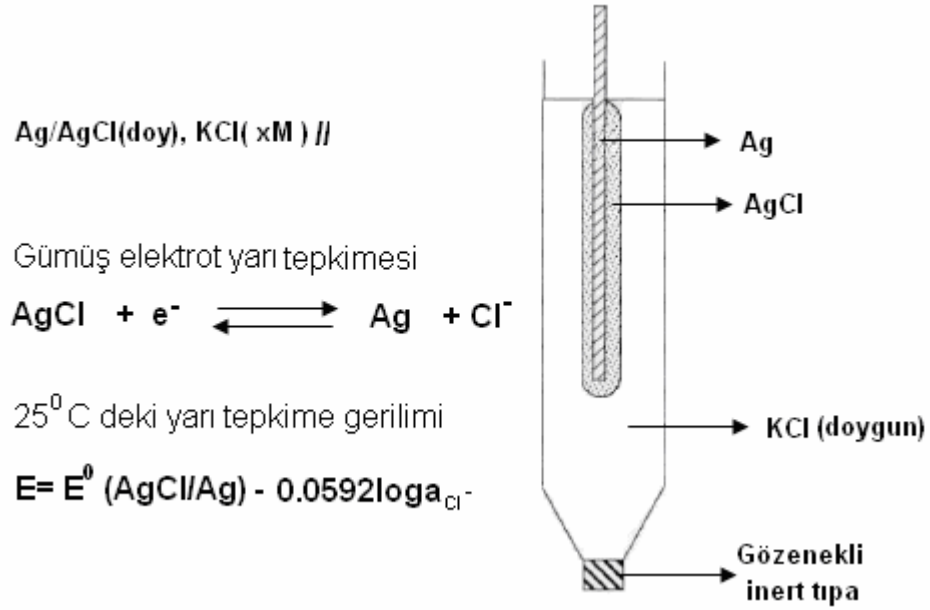
Şekil 2.3. Voltametrik sistemin üç elektrotlu potansiyostatik şeması (Reinke ve Simon, 2002)



Şekil 2.4. Voltametrik hücre ve elektrotları (Özkan ve ark., 2015)

Referans elektrotlar, elektrokimyasal çalışma sırasında gerilimi dış ortamlardan etkilenmeyen ve analiz sürecinde gerilimi sabit olan elektrotlardır. Referans elektrotlar analiz edilecek maddelere karşı ilgisizdir. İyi bir referans elektrot tersinirdir, gerilimi sabit ve kolay hazırlanabilmelidir. Referans elektrotlar sıcakta az da olsa bazı değişimler gösterir. En çok kullanılan referans elektrotları kalomel referans elektrodu ve AgCl referans elektrotlarıdır.

Ag/AgCl referans elektrodu gümüş tel gümüş klorür ile kaplanır ve bu elektrot belirli bir derişimdeki AgCl çözeltisine daldırılarak elde edilir ve bu çözeltide muhafaza edilir. Şekil 2.5'te Ag/AgCl referans elektrodu verilmiştir.



Şekil 2.5 Ag/AgCl Referans elektrodu ve tepkimesi. (Skoog ve ark., 1998)

Yardımcı elektrot, Karşıt elektrot olarak da bilinir. Platin tel ve tungsten gibi soy metallerden yapılır. Sinyal kaynağından alınan elektriğin çözeltiden çalışma elektroduna aktarılmasını sağlar. Yardımcı elektrot kullanılmazsa yüksek gerilim uygulanması durumunda çalışma elektrodu polarlanır ve deney sonucuna etki eder ama yardımcı elektrot kullanıldığında çalışma elektrodunda herhangi bir polarlanma olmaz. (Wang, 2006). Şekil 2.6’da platin elektrot verilmiştir.



Şekil 2.6 Platin tel elektrot

2.2.1.Voltametrیده Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltametrik tepkimelerde kullanılan çalışma elektrotlarının yüzeyinde redoks tepkimeleri yani indirgenme yükseltgenme tepkimeleri oluşur. Bu tepkimeler çalışma elektroduyla ara yüzey arasında meydana gelir. Bunun için elektrot seçimi son derece önemlidir. Çalışma elektrodunun yanıtının yüksek olması yanında bu yanıtın tekrar edilebilir olması ve elektrot yüzeyinin aktif olması elektrot seçiminde önemli parametrelerdir. Aktif olması daha duyarlı ve doğru ölçüm yapılmasını sağlar. Ayrıca analitin redoks davranışının karakteri, artık akımın ölçüm için gerekli olan gerilim aralığının dışında olması, istenilen gerilim penceresinin büyüklüğü, elektriksel

iletkenlik, mekanik özellikleri, maliyet ve toksisite gibi faktörler de çalışma elektrodu seçimini etkileyen diğer değişkenleridir.

Çalışma elektrotlarında ki çeşitlilik ve modifikasyon, işlemlerine tabi tutulmaları çok daha geniş kullanım alanları oluşturmaktadır. Elektrotların indirgenme-yükseltgenmede ki önemi her geçen gün artmaktadır. Bunun için elektrotlar daha da geliştirilmeye çalışılmaktadır. Elektrot çeşitliliğinin artması analizin daha hassas ve doğru sonuçlanmasını sağladığı gibi çok daha kısa sürede sonuç vermesine katkı sağlar. Çalışma elektrodu olarak kullanılan katı elektrotlar şekil 2.7’de özetlenmiştir (Wang, 2006)



Şekil 2.7. Voltametrizde kullanılan çalışma elektrotları

Civa elektrotlar, voltametrizde oldukça sık kullanılır. Civanın, elektrotta kullanılabilecek negatif gerilim sınırının yüksek olması, kolay bir şekilde oluşan civa damlası ile yeni bir metalik yüzey oluşturması ve birçok metalin civa yüzeyinde amalgam oluşturması ile tersinir olarak indirgenmesi gibi nedenler ile sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak civa elektrotların çok kolay bir şekilde yükseltgenmesinden

dolayı anot olarak kullanılması ve civanın zehirli olması gibi nedenler civa elektrodunun kullanımını sınırlar(Skoog ve ark., 1998; Wang, 2000).

Katı Elektrotlar, Anodik gerilim aralığında civa elektrotlarının sınırlı kullanımından kaynaklı, yükseltgenebilen bileşiklerin elektrokimyasal incelenmesinde geniş bir anodik gerilimle çalışma imkânı veren katı elektrotlar kullanılır. Çalışma elektrodu olarak birçok değişik malzemeden faydalanılır. En çok kullanılan da dönen disk, platin, altın ve karbon elektrotlarıdır. Bazı durumlarda gümüş, nikel ve bakır da çalışma elektrotu olarak kullanılabilir. Bu katı metal elektrotlar yüksek iletkenliklerinden dolayı oldukça tercih edilmektedir. Fakat maliyetinin yüksek olması, nedeniyle kullanımları sınırlıdır.

Karbon elektrotlar maliyetinin ucuz ve modifiye işlemlerine uygun olması gibi avantajları ile kullanışlı bir elektrot türüdür. Karbon elektrotlarda en çok tercih edilen camısı karbon (GC) elektrottur. Elektrot modifikasyonu yapılmamışsa analiz işleminden sonra kolaylıkla temizlenir ve tekrarlanabilirlik özelliği artar (Wang, 2006).

Modifiye Elektrotlar, Elektrotlarda modifiye işlemi elektrotların kullanım alanlarının daha geniş olmasına ve daha duyarlı ölçümler yapılmasına yol açmıştır. Modifiye elektrot, elektrot yüzeyine kimyasal bir maddenin tutturulması işlemidir. Modifiye olmuş elektrotların, analitik çalışmalarda önemli bir yeri bulunur. Bu elektrotlar elektrokimyasal çalışmalardaki seçiciliği, duyarlılığı ve kararlılığı arttırmaktadır. İlaçların kontrollü salınımında, elektrosentezde, yakıt hücrelerinde, ve korozyondan korunma gibi alanlarda modifiye elektrotlar yaygın bir kullanıma sahiptir(Wang, 2006).

Mikro Elektrotlar, Elektrot çapı 25 µm'den daha küçük olan elektrotlara mikro elektrot denir. Analitik kimyada minyatür yapılı bu elektrotlara olan ilgi artmaktadır. Çok küçük hacimli örneklerin analizinde ve mikroskobik alanların incelenmesinde etkili bir çalışma elektrodudur(Wang, 2006).

2.2.1.1. Bor Katkılı Elmas Elektrot

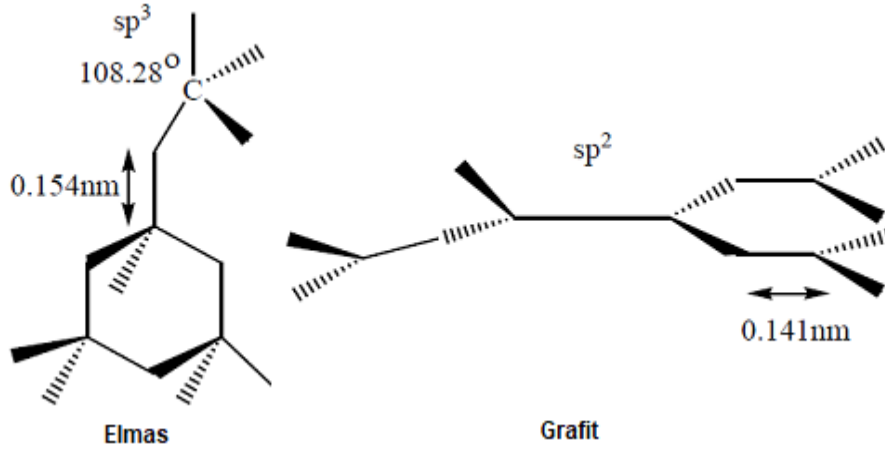
Bu elektrotlar, hem günümüzde hem de gelecekteki elektrokimyasal çalışmalar için umut vaat etmektedir. Elmas elementi, saydam, renksiz, sarımsı, kırmızı ve bazen de siyah gibi renklerde olup doğadaki en sert maddedir. Elmas sertliğinden kaynaklı sadece bor karbür ile çizilebilmektedir. Sir Humphry Davy 1814 yılında elmasın saf karbondan oluştuğunu bulmuştur. Elmas, karbon allotroplarının çok yüksek sıcaklık ve yüksek basınç altında kalması sonucu oluşur.

Elmas optik özelliği, kimyasal tepkimelere karşı olan ilgisizliği atomik yoğunluğu, sertliği, yüksek ısı iletkenliğine sahip olması ve elektriksel özellikleri ile performansı yüksek elektrotlar içinde çok önemli bir konumda bulunmaktadır. BDD; düşük gürültü sinyali, geniş elektrokimyasal gerilim aralığı yanında elektrokimyasal uygulamalarda ki sağlamlık, dayanıklılık gibi özellikleri ile öne çıkar(Uslu ve Özkan, 2007a; Uslu ve Özkan, 2007b). Özellikle elektriksel iletkenliği artırmak amacıyla elmas yüzeyine borun dope edilmesi ile ince film şeklinde oluşturulan tasarım (bor ile dope edilmiş elmas, boron-doped diamond, BDD) son yılların elektrosentez, elektroanaliz, elektrokimyasal enerji teknolojisi ve biyoteknoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Peleskov, 2002; Alfaro ve ark., 2006; Kraft, 2007). BDD elektrotlar 20.yüzyılın sonunda keşfedilen mükemmel modern bir elektrotdur. Geniş gerilim aralığı, düşük akımla çalışılabilmesi, bazik ve asidik ortamda çalışılabilmesi, korozyon ve yüzey kirlenmelerine karşı dayanıklı olması gibi özellikler BDD yi voltametrik analiz için tercih edilen bir elektrot haline getirmiştir(Tyszcuk ve ark., 2014; Sochr ve ark., 2014; Tyszcuk ve ark., 2016). BDD elektrotlar, başlangıçta borun elmas elektrot yüzeyine tutturulması ile laboratuarda oluşturulurken günümüzde ise polikristalin bor katkılı şekli ticari olarak bulunmaktadır. Bu elektrotlar sulu ve susuz ortamlarda geniş bir gerilim aralığında (yüksek oksijen ve hidrojen aşırı gerilimleri nedeniyle) ve uç elektrokimyasal şartlarda (kuvvetli asidik ortamlarda) kullanılabilirlikleri, dinamik çalışma aralığı yanıt süresi, gözlenebilirlik sınırı, kesinlik, sağlamlık gibi özellikleri bakımından diğer metal ve klasik karbon elektrotlara karşı üstünlük sağlamaktadır (Gandini ve ark., 1999; Rao ve Fujishima 2000; Codognoto ve ark., 2002; Lawrence ve ark., 2006; Altun ve ark., 2009; Trouillon ve O'Hare 2010;Santos ve ark., 2010; Yardım ve ark., 2010; Yardım ve Erez, 2011; Levent ve ark., 2014). Kaynakçada elektroanaliz çalışmaları incelendiğinde modifiye olmamış, ön işlem görmüş, metal modifiye, polimer modifiye, nanokristalen gibi bir dizi BDD elektrot sistemlerinin kullanıldığı 250'nin üzerinde makale bulunmaktadır (Toghill ve Compton, 2010).

Elmas elektrotlar'ın diğer karbon elektrotlara göre, yanıt zamanı, sağlamlık, belirtme sınırı, yanıt kesinliği, sertlik, optik özellikleri ve yanıt kararlılığı gibi üstünlükleri bulunmaktadır (Siangproh ve ark, 2003; Zhang ve Oyama 2004). BDD elektrodun, çok pahalı olması, elektro katalitik aktivitesi ve oldukça düşük seçiciliği elmasın dezavantajları arasındadır. Son yıllarda BDD elektrotları, ilaç analizlerinde (Yardım ve ark., 2010; Uslu ve ark., 2008; Oliveira ve ark., 2018; Švorc ve ark., 2018;

Şentürk ve Yardım 2014; Levent 2012; Levent ve ark., 2014), çevre analizinde (Gong ve ark., 2018; Wang ve ark., 2018), su arıtımında (Buftia ve ark., 2018; Huitle ve ark., 2018) ve organik sentez (Kirste ve ark., 2012; Riehl ve ark., 2017) çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Aşağıda Şekil 2.8’de elmasın kristal örgü yapısı ve grafitin şekli verilmiştir. Elması oluşturan karbon atomları arasında sp^3 hibritleşmesi bulunur. Grafit ise sp^2 hibritleşmesi yapar.



Şekil 2.8. Elmas ve grafit örgüsü

BDD elektrotlarının üzeri ince bir katı tabaka biçiminde veya tungsten, silikon, niyobyum içeren uygun substrat üzerine kaplanmış olarak kullanılabilir. (Kısacık, 2010). Aşağıda şekil 2.9’da BDD elektrodu verilmiştir.

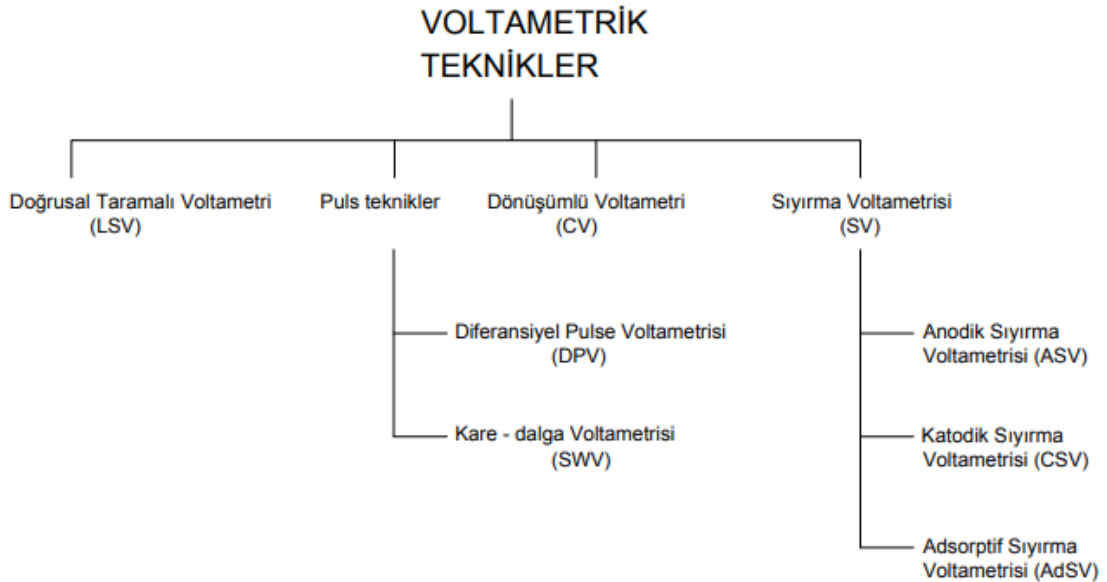


Şekil 2.9. Bor Katkılı Elmas Elektrot

Elektrokimyasal çalışmalarda, diğer katı elektrotlarda olduğu gibi BDD elektrodun temizliği son derece önemlidir. BDD elektrodunun yüzey kirliliği deney sonucuna etki eder, pikin sinyali şiddetinin azalmasına ya da artışına sebep olur, oluşması gereken yerde beklediğimiz pikte kayma olabilir. Bunun için elektrot mutlaka iyi bir şekilde temizlenmelidir. BDD elektrot, bir miktar alümina (Al_2O_3) tozu, ped üzerine bırakılır ve bu toz üzerine su ilave edilir elektrot oluşan bu bulamaça dairesel hareketler yapılarak temizlenir. Yüzey kirliliğinden arındırılan elektrot çalışma koşullarına bağlı olarak belirli gerilimlerde farklı çözeltilerde aktive sürecine tabi tutulabilmektedir. BDD elektrot'un temizleme yöntemi ve aktive edilmesi literatürde farklı çözeltilerde anodik yönde (Carlos ve ark., 2006; Simon ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2007; Levent, 2012; Levent ve ark., 2014; Şentürk ve ark., 2014) ve katodik yönde (Avaca ve ark., 2004; Simon ve ark., 2007; Levent, 2017) gerilimler uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.2. Voltametrik Teknikler

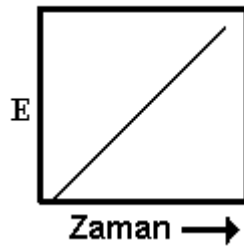
Bu bölümde, tez çalışmasında kullanılacak olan voltametrik teknik hakkında kısaca bilgiler verilecektir. Yaygın olarak kullanılan voltametrik tekniklerin genel şeması şekil 2.10'da verilmiştir (Fogg ve Wang, 1999; Bard ve Zoski, 2000; Barek ve ark., 2001; Wang, 2006; Uslu ve Özkan, 2011; Özkan ve ark., 2015)



Şekil 2.10. Yaygın olarak kullanılan voltametrik teknikler

2.2.2.1. Doğrusal Taramalı Voltametri

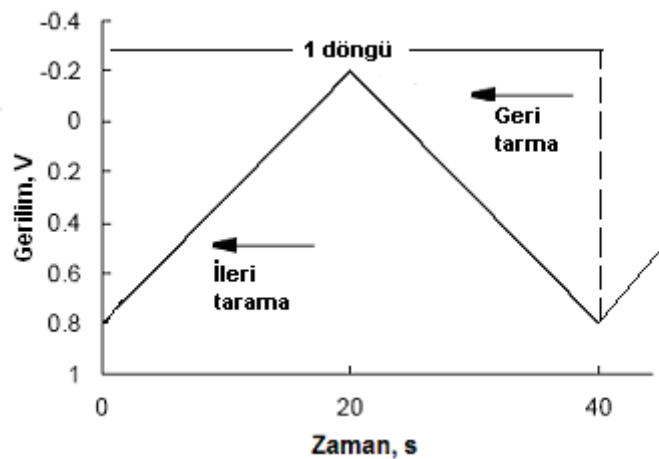
Bu voltametrik teknikte elektrokimyasal sisteme uygulanan gerilimin doğrusal biçimde artırılması sonucu voltamogramlar elde edilir. Çalışma sistemi ve uygulaması bakımından basit ve anlaşılır bir voltametri türüdür. Sisteme uygulanan gerilim sonucu oluşan akım değerleri zamana karşı kaydedilir. Dönüşümlü voltametriye(CV) benzeyen bir voltametrik teknik olup CV ile istenilen sonuç alınmadığı zaman doğrusal taramalı voltametri tekniği kullanılır (Skoog ve ark., 1998). Doğrusal voltametri şekil 2.11’da verilmiştir.



Şekil 2.11. Doğrusal voltametri de uygulanan gerilimin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği

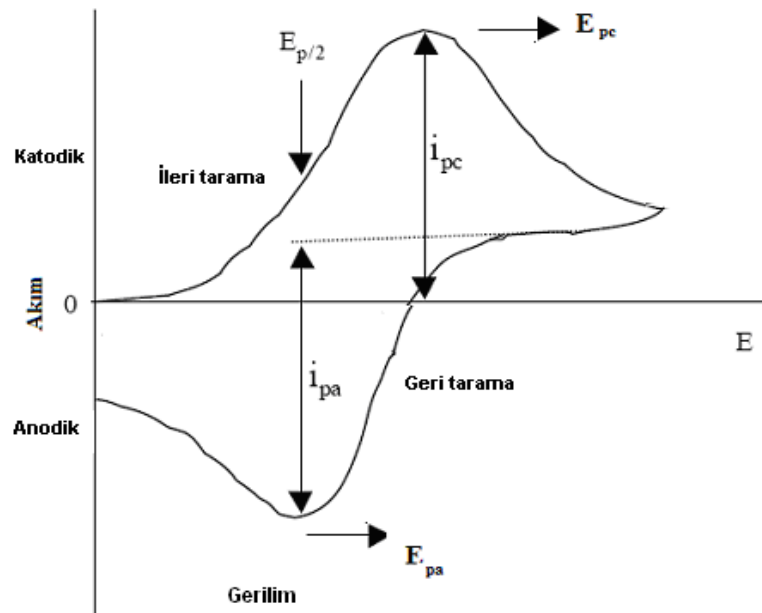
2.2.2.2. Dönüşümlü Voltametri

Doğrusal voltametrideki gibi gerilim taraması ileri yönde belirli bir gerilime ulaştıktan sonra doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilirse bu yönetime CV denilir. Dönüşümlü voltametride gerilim değiştirilerek akım ölçülür, gerilim taraması genelde ilk taramanın sonunda sona ermesine rağmen daha çok sayıda taramaya devam edilir. Şekil 2.12’de gösterilmiştir.

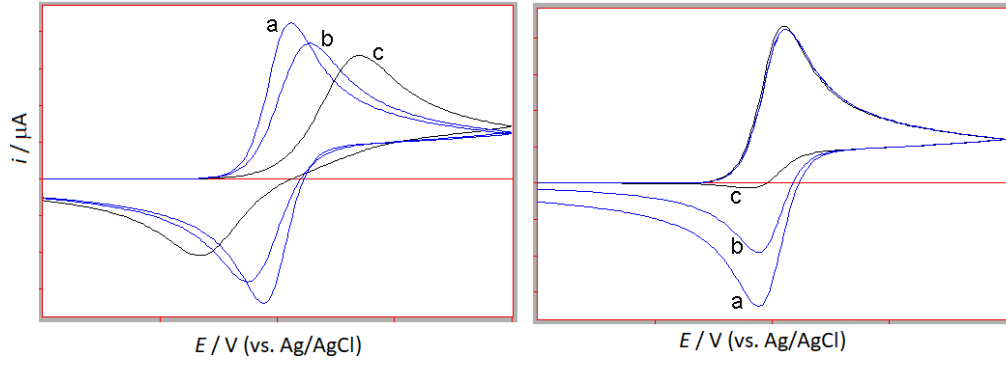


Şekil 2.12. Dönüşümlü voltametride uygulanan gerilimin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği

Çalışma elektroduna uygulanan gerilim sıfırın altında ise elektrotta indirgenme tepkimesi gerçekleşir ve çalışma elektrodu katot olur. Gerilim pozitif olarak uygulanırsa çalışma elektrodu anot olur. İlk kez Nicholson ve Shain (1964) tarafından geliştirilen CV en çok kullanılan elektrokimyasal tekniklerden biridir ve çeşitli elektrokimyasal sistemleri incelemede kullanılan önemli bir tekniktir. CV miktar tayininde uygun bir yöntem değildir çünkü duyarlılığı 10^{-5} M ile sınırlıdır. Yalnız organik ve inorganik bileşiklerin redoks tepkimelerinin mekanizması ve hızları hakkında önemli bilgi sağlar. Elde edilen veriler sayesinde maddenin hangi gerilimde maksimum cevap verebileceğini gösterir. CV’de uygulanan gerilimin yanı sıra seçilecek olan tarama hızı ve kaç adet tarama yapılacağının da etkisi önemlidir. Uygulanan tarama hızları değiştirilerek pik yüksekliklerinin difüzyon, adsorbsiyon ve elektron aktarım tepkimesine eşlik eden tepkimelerin yapısı belirlenebilir. İleri ve geri tarama piklerinde elektrot tepkime sistemi ile ilgili bilgileri verip bunun yanında kinetik verilerde bulunabilir. CV’de oluşan pikin anodik mi yoksa katodik mi olduğu rahatlıkla anlaşılır. Elektrotta gerçekleşen tepkimenin tersinir, tersinmez olduğuda anlaşılabilir. Pozitif bölgede çıkan pik anodik, negatif bölgede çıkan pik her zaman katodik olur(Wang, 2000). CV’de tersinir akım gerilim grafiği şekil 2.13’de gösterilmiştir.



Şekil 2.13. Tersinir bir redoks işleminde CV ile elde edilen akım gerilim grafiği.



Şekil 2.14. Dönüşümlü voltametri tekniğinde gözlenen tersinir (a), yarı tersinir (b) ve tersinmez (c) elektrokimyasal tepkime çeşitleri

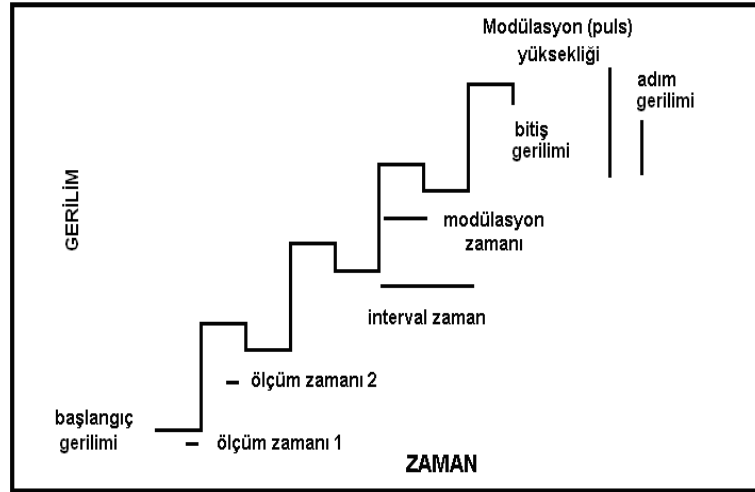
2.2.2.3. Puls Voltametrik Teknikler

Jenkin ile Barker tarafından geliştirilen puls voltametrik teknikler, voltametrik analiz tespit limitlerini daha düşük derişimlere düşürmeyi amaçlamışlardır.

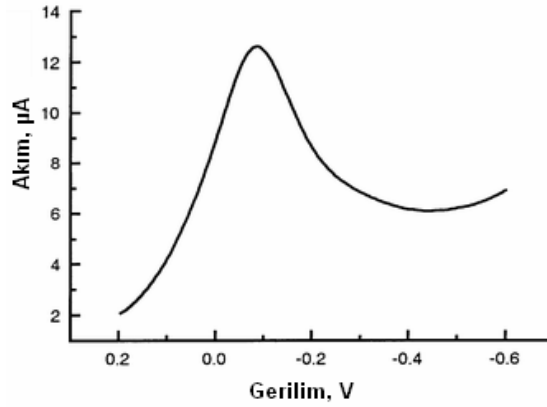
Faradayik ve faradayik olmayan akımlar arasındaki oran arttırılarak 10^{-8} M düzeyine kadar nicel analizi sağlanmıştır. Bu teknikte çalışma elektroduna her biri yaklaşık olarak 50 ms gibi bir süreye sahip gerilim akımlar uygulanır. Puls voltametrik teknikler normal puls, diferansiyel puls ve kare dalga teknikler diye üç ana gruba ayrılır(Wang, 2000).

2.2.2.3.1. Diferansiyel Puls Voltametrisi

Elektrokimyasal çalışmalarda diferansiyel puls voltametri (DPV) son derece yararlı bir tekniktir(şekil 2.15). Bu teknik ile çalışma elektroduna periyodik olarak puls uygulanır. Doğrusal akım basamak üzerine yerleştirilerek uygulanır. Pulsta uygulanan en başta ve en sondaki akımın değerleri arasındaki fark ölçümü yapılır. Bu yöntemle uygulanan gerilime karşı akım grafiği çizilir. Voltagramda oluşan piklerin sayısı, piklerin akım ve yükseklikleri gibi değerleri analiz edilerek maddenin elektrokimyasal incelemesi yapılabilir. DPV nicel ve nitel analizlerde kullanışlı bir tekniktir(Wang, 2006).



Şekil 2.15. Diferansiyel puls voltametri uygulanan gerilimin zamanın bir fonksiyonu diyagramı



Şekil 2.16 Diferansiyel Puls Voltagramı

2.2.2.3.2. Normal Puls

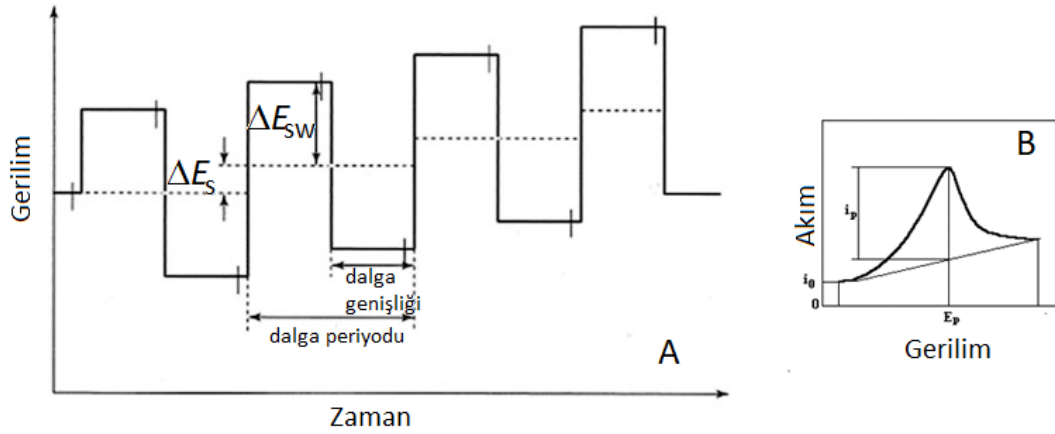
Normal puls voltametri tekniği ile bir ilk gerilim seçilir ve ardışık olarak pulsalar uygulanmaktadır. Verilen pulsara karşı akım değerleri belirlenir. Uygulanan pulsalar sonucunda arka arkaya dalgalar oluşur ve daha sonra sabitlenir. Artık akım artmaz. Normal pulsta katı elektrotlar kullanıldığında polarografide avantajlı olabilir. Özellikle düşük bir başlangıç gerilimi muhafaza edilerek elektrodun yüzey kirlenme problemlerini gidermek mümkün olur (adsorbsiyona bağlı kirlenme) (Wang, 2006).

2.2.2.3.3. Kare Dalga Voltametri

SWV en gelişmiş elektrokimyasal yöntemlerden biridir (Osteryoung ve Bard, 1986; Mirceski ve ark., 2013)

SWV geniş aralıklı bir diferansiyel tekniktir. Bir taban üzerine bindirilmiş simetrik bir kare dalgadan oluşan formdur. Merdiven gerilimi çalışma elektroduna

uygulanır. Çok hızlı ve hassas bir teknik olup 10^{-8} molar gibi düşük derişimlerde çalışma olanağı vardır. Voltagramın tümü 10 ms gibi bir zamanda elde edilir. Diğer pulslarda olduğu gibi pulstan önce ve sonra akım değerleri iki kere ölçülerek farkları alınır. SWV, çok yönlü bir teknik olup analitik ve elektrokinetik ölçümler kolaylıkla yapılabilir, düşük derişimlerde ve kısa sürede sonuç verdiği için tercih edilen bir tekniktir(Wang, 2006). Şekil 2.17’de SWV gösterilmiştir.



Şekil 2.17. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali

2.2.2.4. Sıyırma Teknikleri

Sıyırma analizi son derece hassas bir elektrokimyasal tekniktir. Eser miktarda maddenin elektrot yüzeyinde toplanması işlemidir. Nispeten ucuz araç gereç kullanılarak derişimi 10^{-10} M kadar olan seviyelerde çalışma yapılabilmektedir. Çözeltiye uygulanacak akımın yönü önemlidir. Eğer sıyırma işlemi katotta olursa katodik sıyırma, anotta olursa anodik sıyırma taranmalıdır(Wang, 2006).

2.2.2.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma analizlerinin en fazla kullanılan şekli anodik sıyırma voltametrisidir. Anodik sıyırmada negatif yönlü gerilim uygulanır ve analiz edilen maddenin elektrot üzerinde toplanması sağlanır. Çalışma elektrodu üzerinde toplanan maddede, pozitif yönlü gerilim uygulanarak elektrot üzerinden tekrar ayrılır. Anodik sıyırma voltametrisinin birçok avantajı vardır. Sulu ortamda bulunan metal iyonlarının analizi için çok duyarlı ve tekrar edilebilirliği yüksek bir tekniktir(Wang, 2006).

2.2.2.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi

Katodik sıyırma voltametrisi, geniş bir yelpazede kullanılan bir ölçümdür, katodik yönde gerilim uygulanır. Çalışma elektrodu üzerinde depolanan numune negatif yönlü gerilim uygulanarak tekrar yüzeyden sıyrılır. Suda çok az çözünen tuzlarda kullanışlıdır(Wang, 2006).

2.2.2.4.3. Adsorptif Sıyırma Teknikleri

Sıyırma voltametrisinde, çalışma elektrodu üzerinde biriken madde için seçilen gerilime göre de değişik isimler alır. Eğer birikmede seçilen gerilimde elektron transferi gerçekleşmiyorsa bu biriktirmeye adsorptif sıyırma voltametrisi denir. Adsorptif sıyırma tekniğinde, biriktirme süresi boyunca adsorbe olan maddede herhangi kimyasal bir değişim olmamaktadır. Adsorptif biriktirmeden sonra uygulanan sıyırma basamağı yükseltgenme/indirgenme yönünde yapılırsa bu yönteme katodik adsorptif (sıyırma/katodik) sıyırma voltametrisi denir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasallar

Deneyde kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilmiştir.

Kimyasal maddenin adı	Üretici Firmanın Adı
Progesteron	Sigma
Perklorik Asit	Merck
Sodyum Hidroksit	Sigma
Nitrik Asit (% 65)	Sigma
Hidroklorik Asit (% 37)	Merck
Fosforik Asit (% 85)	Merck
Asetik Asit (% 99-100)	Merck
Sülfürik Asit	Sigma
Borik Asit	Merck
Disodyum Hidrojen Fosfat	Merck
Dimetil Sülfoksit	Merck
Alüminyum Oksit	Merck

Bütün deneylerde Milli-Q sistemi ile saflaştırılmış su kullanıldı.

3.1.2. Voltametrede kullanılan malzemeler ve cihazlar

Bu çalışmada kullanılan cihaz ve malzemeler aşağıda sunulmuştur.

Elektrokimyasal Analiz Cihazı	(Autolab, PGSTAT 128N Nova 1.11 yazılımı ile birlikte) Şekil 3.1’de gösterilmiştir.
Elektrotlar	Çalışma elektrodu: BDD Yardımcı elektrot: Platin tel (MF 1032, BASI) Karşılaştırma elektrodu: Ag/AgCl (3 M NaCl) (MF 1063, BAS)
Deney hücresi	Tek bölmeli 10 mL’lik voltametrik cam hücre (MR 1208, BAS) Şekil 3.1’de gösterilmiştir.
Karıştırma sistemi	Manyetik karıştırıcı (ARE heating magnetic stirrer) Magnet (Spinbar VMR micro)

pH metre	WTW, Inolab pH 720
Duyar terazi	Precisa 320XB 220A
Pipet	Otomatik çeşitli ölçülerdeki makro ve mikro pipetler
Santrifüj	Soğutmalı Hettich ROTINA 380R
Çeşitli ölçülerde cam malzemeler	Pipet (pyrex®), Balon joje (pyrex®), beher, deney tüpü.



Şekil 3.1. BASI C3 katı elektrot hücresi (A) ve Autolab, PGSTAT 128N cihazı (B)

3.1.3. Çözeltilerin Hazırlanması

3.1.3.1. Progesteron Çözeltisinin Hazırlanması

Bu tez çalışmasında kullanılan progesteron etken maddesi 1×10^{-2} M'lık stok çözeltisi DMSO'da hazırlandı. Bu stok çözeltiden yararlanılarak, çalışma çözeltileri uygun destek elektrolit çözeltileri ile hazırlandı. Işık ve sıcaklıktan etkilenmemesi için de $+4^\circ\text{C}$ buzdolabında saklandı.

3.1.3.2. Destek çözeltilerinin hazırlanması

Deneylerde destek elektrolit çözeltisi olarak 0.5 M H_2SO_4 , 0.5 M HClO_4 , Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04 M), Asetat tamponu (0.1 M) ve fosfat tamponu

(0.1 M) çözeltileri kullanıldı. BR tamponu için 0.04 M Borik asit (H_3BO_3), 0.04 M asetik asit (CH_3COOH) ve 0.04 M fosforik asit (H_3PO_4) 1000 mL'lik balon joje de 800 mL saf su ile karıştırılarak çözeltinin pH'si 5 M NaOH/HCl çözeltisi ile istenen pH değerine ayarlandıktan sonra saf su ile tamamlandı. Asetat tamponu için 0.1 M CH_3COOH 1000 mL çözeltisine 5 M NaOH/HCl ilave edilerek istenen pH değerine ayarlandı. Fosfat tamponu için ise 0.1 M $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ karışımına 5 M HCl/NaOH ilave edilerek pH istenilen değere ayarlandı. 0.5 M H_2SO_4 ve 0.5 M $HClO_4$ çözeltileri saf suda hazırlandı. Hazırlanan bu destek çözeltileri pyrex® cam şişelerde ve +4 derece buzdolabında saklanmıştır.

3.1.4. Voltametrik sistem

Elektroanalitik çalışmaların yapıldığı EcoChemie firmasının ürettiği Autolab, PGSTAT 128N analiz cihazı (Nova 1.11 yazılımı içinde), Bioanalytical System Inc (BASI) firması tarafından özel üretilmiş olan, 10 mL'lik bir deney hücresi (MR 1208) içeren cihazdır. Autolab, PGSTAT 128N analiz cihazı ve BASI firması tarafından özel üretilmiş üçlü hücre sistemi (üç elektrot sistemi için dizayn edilmiş) manuel ile bağlantı sağlanmıştır. Voltametrik sonuçlar bilgisayar destekli bir yazılım ile cihazın kontrolü NOVA yazılımı ile kolay bir şekilde sağlanmıştır. Deney hücreleri kullanılmadığı zaman kral suyu çözeltisinde muhafaza edilmektedirler.

3.2. Yöntem

Elektrokimyasal analize başlamadan önce çalışma elektrodu hergün aşağıdaki şekilde analize hazır duruma getirildi.

- ❖ Hergün deneylere başlamadan önce BDD elektrot yumuşak yüzeyli bir ped üzerinde Al_2O_3 bulamaç yüzeyinde dairesel hareketler ile parlatıldı. Elektrot yüzeyindeki bulamaç saf su ile yıkandı.
- ❖ Deneylere başlamadan önce BDD elektrot katodik yönde (-3.0 V/300 sn) 0.5 M H_2SO_4 ortamında aktivasyon işlemine tabi tutuldu.
- ❖ Elektrokimyasal ölçümler -3.0 V/30 sn 0.5 M H_2SO_4 ortamında aktive edildikten sonra gerçekleştirildi.
- ❖ Progesteron molekülünün elektroanalitik özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini için yöntem geliştirilmesi çalışmasında BDD elektrodu yüzeyinde CV ve SWV yöntemleri uygulandı.

- ❖ Bu amaca ulaşmak için farklı pH/destek çözeltisi, gerilim tarama hızı ve madde biriktirilmesi gibi parametrelerin elektrot yanıtı üzerine etkisi araştırıldı.
- ❖ En sonunda geliştirilen bu kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi (SW-AdSV) tekniğinin performans özellikleri saptandı ve geliştirilen bu teknik ile progesteron tayini, biyolojik sıvı (kan) ve ticari ilaç formlarına uygulandı.
- ❖ Bütün deney ölçümleri laboratuvar şartlarında ve 3'er kez tekrarlanarak gerçekleştirildi.

3.2.1. Voltametrik yöntemin gerçek örneklerde uygulaması

3.2.1.1. Enjektabl çözeltiler

Geliştirilen SW-AdSV tekniği ticari ilaç şekline uygulamasında eczaneden alınan Progestan® 100 mg (Koçak Farma) yumuşak kapsülleri kullanıldı. Progesteron ilacı olarak kullanılan Progestan'dan 2800 mg alınarak DMSO içerisinde çözüldükten sonra, 0.5 M HClO_4 çözeltisi bulunan voltametrik hücreye, bu hazırlanmış olan karışımdan μL düzeyinde ilaveler yapıldı. Hazırlanan bu çözeltiler doğrudan analiz için bölüm 3.2'deki voltametrik yöntem uygulandı. Miktar tayini işlemi kalibrasyon yöntemi ile gerçekleştirildi.

3.3.1.2. Kan Numuneleri

Kan numunesi (serum), Batman Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesinin biyokimya laboratuvarından ilaç kullanmayan sağlıklı ve gönüllü gebe bir kadından deneyden hemen önce alındı. 1 mL serum numunesi 9 mL 0.5 M HClO_4 içeren destek elektrolit çözeltisine ilave edildikten sonra bölüm 3.2 kısmındaki voltametrik yöntem uygulandı. Progesteron tayini, elektrokimyasal hücreye standart standart katma yöntemi kullanarak gerçekleştirildi. Her deney üç kez tekrar edildi.

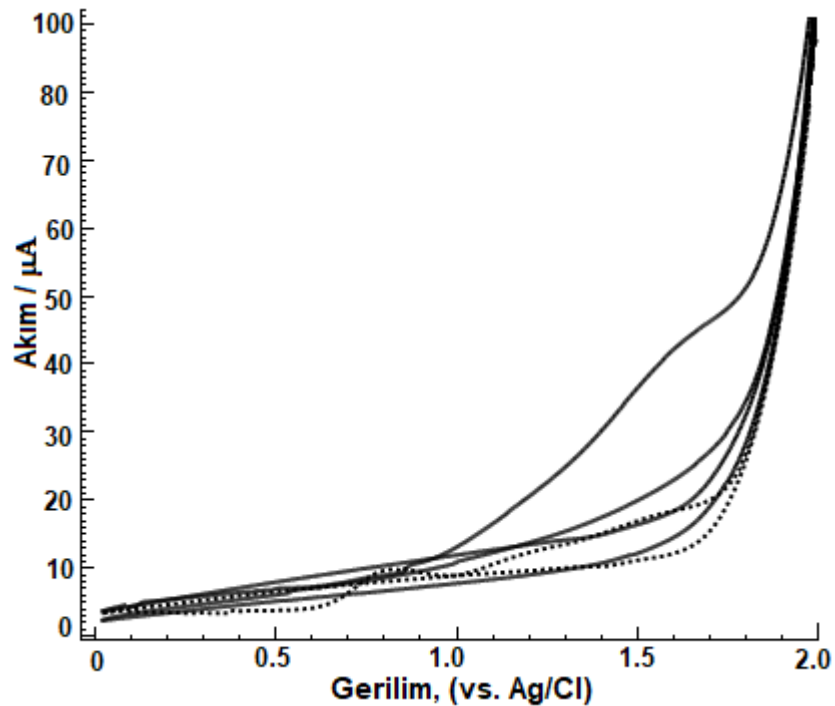
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Progesteron Hormonu'nun Elektroanalitik Davranışının İncelenmesi

Karbon temelli katı elektrotlardan olan BDD elektrodu üzerinde toplanan progesteron hormonunun, redoks mekanizmasını, pikin yapısını, gerilimi ve elektrokimyasal süreçleri yorumlamak, anlam verebilmek için, başlangıç deneyleriyle, değişik pH ortamlarında, destek çözeltilerinde SWV-AdSV ve CV tekniklerini kullanarak progesteron molekülünün elektrokimyasal özellikleri incelenmiştir.

4.1.1. Dönüşümlü voltametri

BDD elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal sürecin anlaşılır olması için 2×10^{-4} M progesteronun 0.5 M HClO_4 çözeltisi içinde (0.0 V)-(+2.0)V gerilim taraması, 0.0 V başlangıç gerilimi ve 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızı ile CV'leri kaydedildi. Şekil 4.1'de 0.5 M HClO_4 çözeltisi içerisinde 2×10^{-4} M Progesteron aynı şartlarda iki döngülü voltamogramı gösterilmiştir. Analit ve destek çözeltisine ait voltamogramlar karşılaştırıldığında yaklaşık olarak +1.5 V'ta progesteron bir yükseltgenme piki göstermiştir.

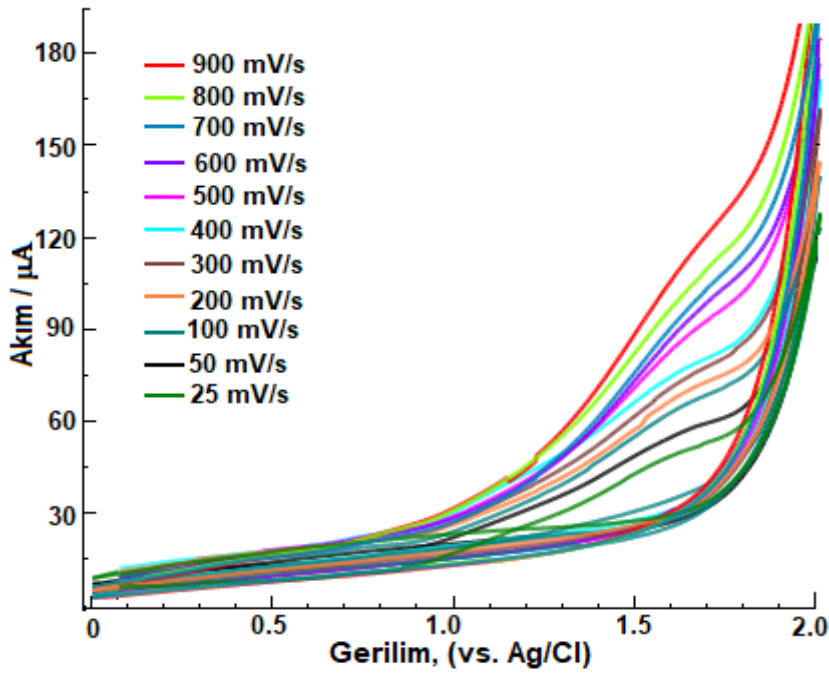


Şekil 4.1. 2×10^{-4} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO_4 destek elektrolit içinde iki döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi, destek elektroliti.

4.1.1.1. Gerilim tarama hızının etkisi

Gerilim tarama hızının, progesteron'un yükseltgenme tepkimesi üzerine etkisini araştırmak suretiyle 2×10^{-4} M progesteron'un 0.5 M HClO_4 çözeltisi içinde (0.0 V)-(+2 V)-(0.0 V) gerilim tarama penceresinde, 25-900 mVs^{-1} tarama hızında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi tarama hızının artışı progesteron molekülüne ait yükseltgenme pikinin pozitifte kaydığı ve daha duyarlı sinyallerin elde edildiği görülmektedir.

Şekil 4.2'deki voltamogramlar sayesinde pik akımı (i_p), gerilim tarama hızı (v) ile pik gerilimi arasındaki bağıntı çizelge 4.1'de verilmiştir.

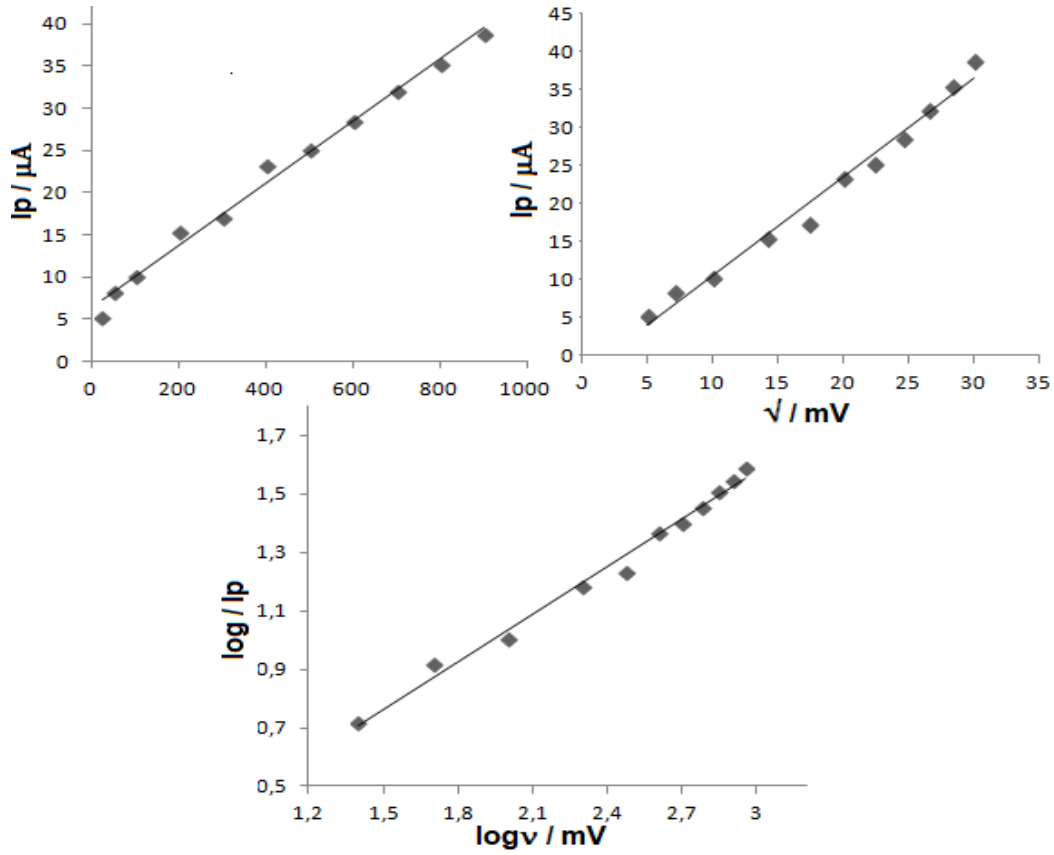


Şekil 4.2. 2×10^{-4} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO_4 destek elektrolit içinde (1) 25, (2) 50, (3) 100, (4) 200, (5) 300, (6) 400 (7) 500 (8) 600 (9) 700 (10) 800 (11) 900 mVs^{-1} gerilim tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramları.

Çizelge 4.1. Progesteron'un voltamogramlarındaki pik gerilimi ve pik akımı üzerindeki gerilim tarama hızı etkisi. Progesteron derişimi 2×10^{-4} M; destek elektroliti, 0.5 M HClO_4 ; Teknik, CV.

v (mVs^{-1})	$\sqrt{v}$	$\log v$	i_p (μA)	$\log i_p$	E_p (mV)
25	5	1.39	10,21	0,716838	1514
50	7.07	1.69	11,26	0,91698	1520
100	10	2	12,11	1,004751	1553
200	14.14	2.30	14,34	1,185825	1563
300	17.32	2.48	15,15	1,234264	1578
400	20	2.60	16,23	1,366049	1598
500	22.36	2.69	17,12	1,40002	1613
600	24.49	2.78	18,56	1,455758	1628
700	26.46	2.84	19,15	1,507181	1636
800	28.28	2.90	20,32	1,548021	1647
900	30	2.95	21,71	1,587823	1695

Çizelge 4.1’de belirlenen değerlerden faydalanarak $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri Şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3. Progesteron’un gerilim tarama hızı ve pik akım ilişkisi ($\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$) grafikleri

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi 25-900 $mV s^{-1}$ arasındaki gerilim tarama hızı ile pik akım ilişkisinden elde ettiğimiz doğrusallık bağıntıları aşağıda verilmiştir:

$$i_p(\mu A) = 1.3025\sqrt{v} (mV s^{-1}) - 2.547 \quad r=0.991$$

$$i_p(\mu A) = 0.0367 v (mV s^{-1}) + 6.4741 \quad r=0.995$$

$$\log i_p = 0.5431 \log v - 0.0503 \quad r=0.992$$

Kontrollü bir difüzyon elektrot tepkimesinde $i_p/\sqrt{v}$ ilişkisi doğrusal olurken i_p/v grafiğinde ise üstel bir artış beklenmektedir. İdeal şartlarda; adsorpsiyon kontrollü bir pik de i_p/v grafiği doğrusal, ayrıca $\log i_p/\log v$ grafiğinin eğimi de 1 olarak bulunur. Difüzyon kontrollü bir adsorpsiyon söz konusu olduğunda eğim 0.5-1 aralığında olması beklenirken tamamıyla difüzyon kontrollü olursa eğim 0.5 olur (Laviron ve ark., 1980). BDD elektrot yüzeyinde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; i_p/v ilişkisinde doğrusal olduğu görülürken $i_p/\sqrt{v}$ ilişkisi kısmen üstel artış göstermiş ve $\log i_p/\log v$ ilişkisinde eğimin yaklaşık olarak 0.5431 olması BDD elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal sürecin difüzyon kontrollü adsorpsiyon olabilme ihtimali yüksektir.

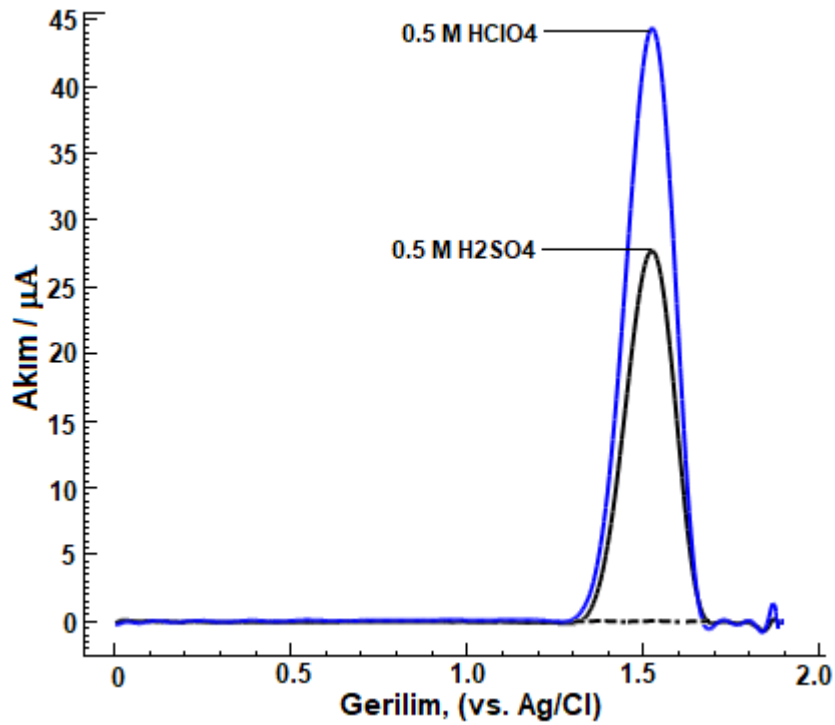
4.1.2. Sıyırma voltametrisi

Dönüşümlü voltametriden elde ettiğimiz veriler ile çalışmamızın bu bölümünde Progesteron hormonunun yükseltgenmesi, farklı pH'lara sahip destek çözeltilerinde BDD elektrodu kullanılarak SW-AdSV yöntemiyle incelenmiştir.

4.1.2.1. Destek elektroliti ve pH etkisi

Deney çalışmamızda progesteron hormonunun elektrokimyasal özellikleri farklı destek elektrolit(H_2SO_4 , $HClO_4$, ABS, BR, PBS) çözeltiler içerisinde gerçekleştirildi.

Yukarıda verilen bilgilerden faydalanarak araştırmanın bu bölümünde 5×10^{-5} M Progesteron; 0.04 M BR(pH 2-10), 0.1 M Fosfat (pH 3, 7.4, 9.0), 0.1 M asetat (pH 4.8) tamponları, 0.5 M H_2SO_4 ve 0.5 M $HClO_4$ çözeltilerinde SW-AdSV tekniği ile ölçümler yapıldı. Kuvvetli asidik ortam haricinde progesteron BDD elektrot yüzeyinde yükseltgenme özelliği göstermedi. Şekil 4.4'de Progesteron'un 0.5 M H_2SO_4 ve 0.5 M $HClO_4$ çözeltilerinde SW-AdSV tekniği ile voltamogramları kaydedildi.

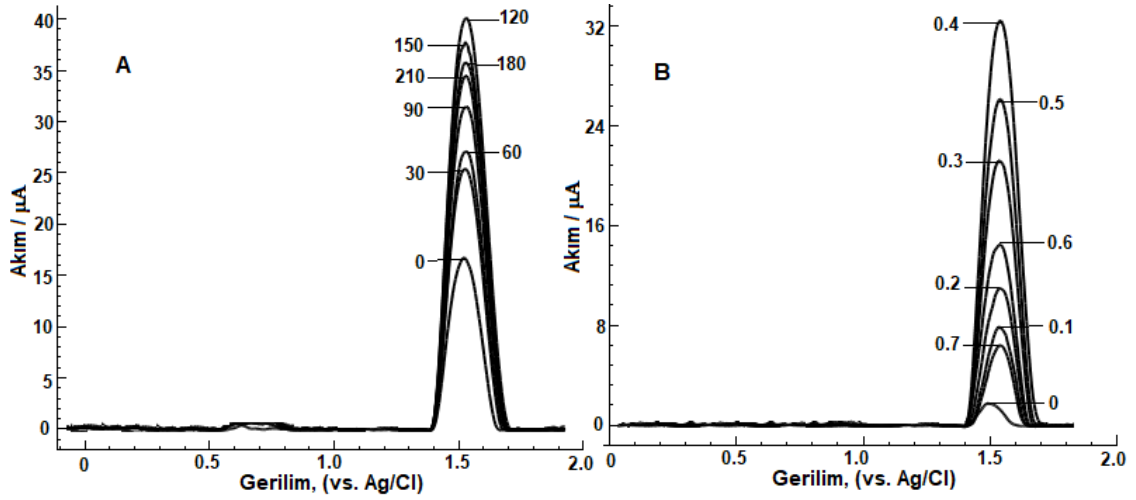


Şekil 4.4. 2×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M H_2SO_4 ve 0.5 M $HClO_4$ destek elektrolitler içinde elde edilen SWV-AdSV eğrileri, Biriktirme gerilimi/süresi: 0.4 V/120 s, SWV değişkenleri: frekans, 45 Hz; adım gerilimi, 9 mV; amplitüd, 90 mV.

4.1.2.2. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi

Çalışmanın bu kısmında, progesteronun BDD elektrot yüzeyindeki adsorptif özellikleri analiz edilmiştir. 5×10^{-5} M derişimindeki progesteronun 0.5 M HClO_4 tamponundaki biriktirme süresi (t_{acc}) ve biriktirme gerilimi (E_{acc}) koşulları etkisi Şekil 4.5'de verilmiştir.

Analitik puls üzerinde t_{acc} etkisi, E_{acc} değeri 0.0 V'da sabit tutulup 0-210 s aralığında incelendi. Puls 120 saniyeye kadar artmış, sonra da bu puls biraz düşerek sabit bir değere ulaşmıştır. Bu durum, elektrot yüzeyinde yeterince progesteron molekülünün bulunduğu kantıdır. Sıyırma pik akımı/ E_{acc} ilişkisi, $t_{\text{acc}} = 120$ s koşulunda 0.0 V ile +0.7 V aralığında analiz edildikten sonra; $t_{\text{acc}} = 120$ s ve $E_{\text{acc}} = 0.4$ V'un en uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

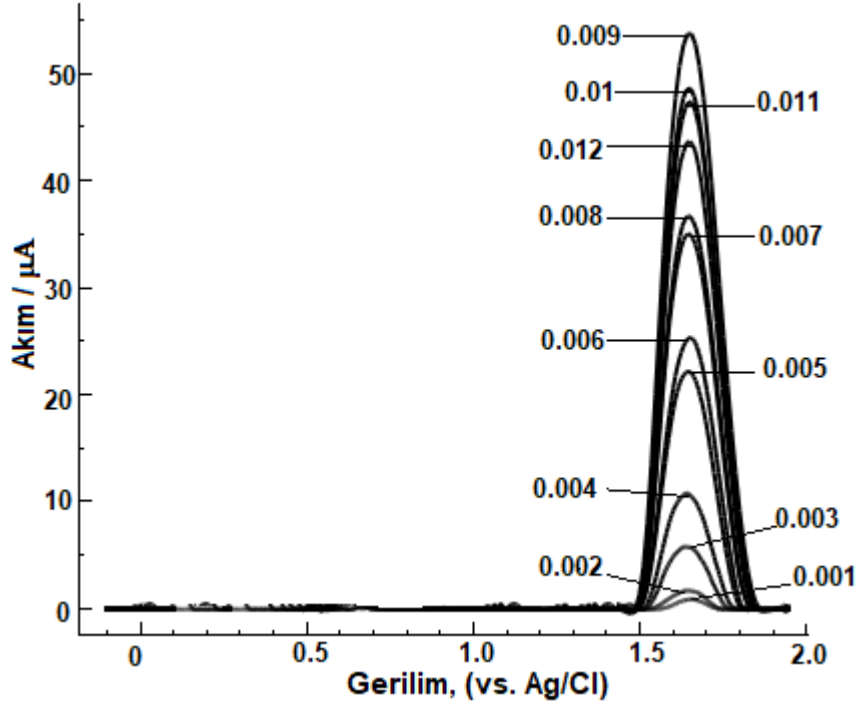


Şekil 4.5. 5×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO_4 destek elektrolit içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde biriktirme süresi (A) ve biriktirme gerilimi (B) etkisi. SW değişkenleri: frekans, 45 Hz; adım gerilimi, 9 mV; amplitüd, 90 mV.

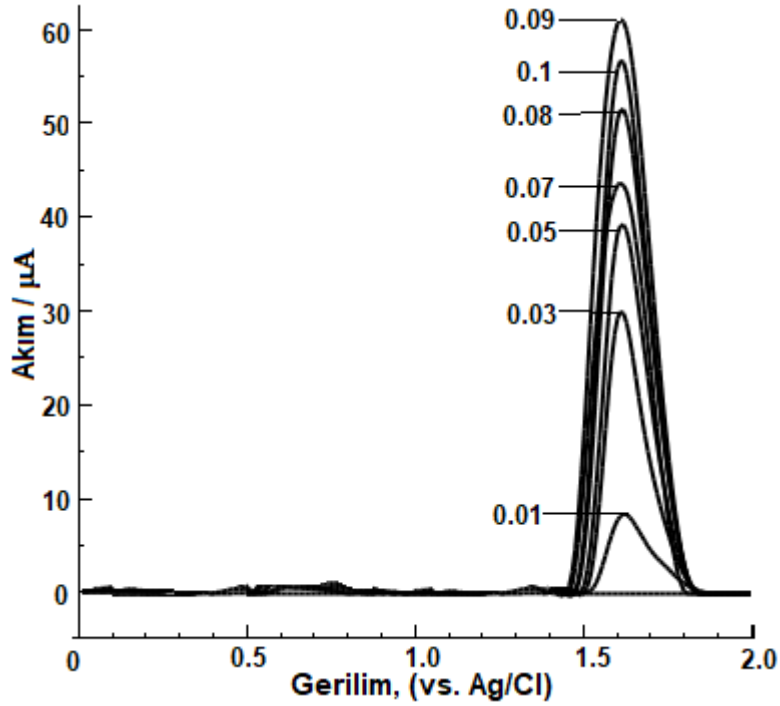
4.1.2.3. Kare dalga değişkenlerinin etkisi

Biriktirme/sıyırma değişkenlerin optimum koşulları belirlendikten sonra analitik sinyalin en iyi belirginleştiği SW değişkenlerin (adım gerilimi, amplitüd ve frekans) optimum koşulları çalışılmıştır. Her SW parametresi için diğer iki parametre değerlerinin sabit tutulduğu koşullarda voltamogramlar kaydedilmiştir.

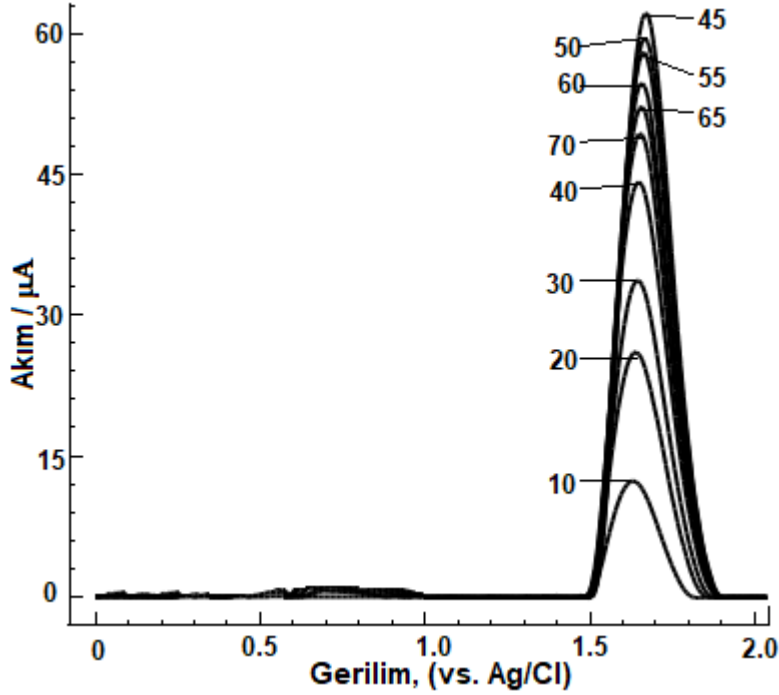
Deneyler 5×10^{-5} M progesteron 0.5 M HClO_4 destek çözeltisinde; adım gerilimi (0.001-0.01 V; şekil 4.6), amplitüd (0.1-0.09 V; şekil 4.7) ve frekans (10-70 Hz; şekil 4.8) aralıklarında çalışılmıştır. Elde edilen voltamogramlar değerlendirildiği zaman; pik şekli ve şiddeti açısından en iyi SW değişkenleri olarak; frekans= 45 Hz, adım gerilimi = 0.009 V ve amplitüd = 0.09 V değerleri seçilmiştir.



Şekil 4.6. 5×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO_4 destek elektrolit içinde farklı gerilimi adımında SW-AdSV eğrileri ve dağılım grafiği.



Şekil 4.7. 5×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO_4 destek elektrolit içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde amplitüd etkilerindeki dağılım grafiği.



Şekil 4.8. 5×10^{-5} M Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde 0.5 M HClO_4 destek elektrolit içinde elde edilen SW-AdSV eğrisi üzerindeki Frekans etkisi.

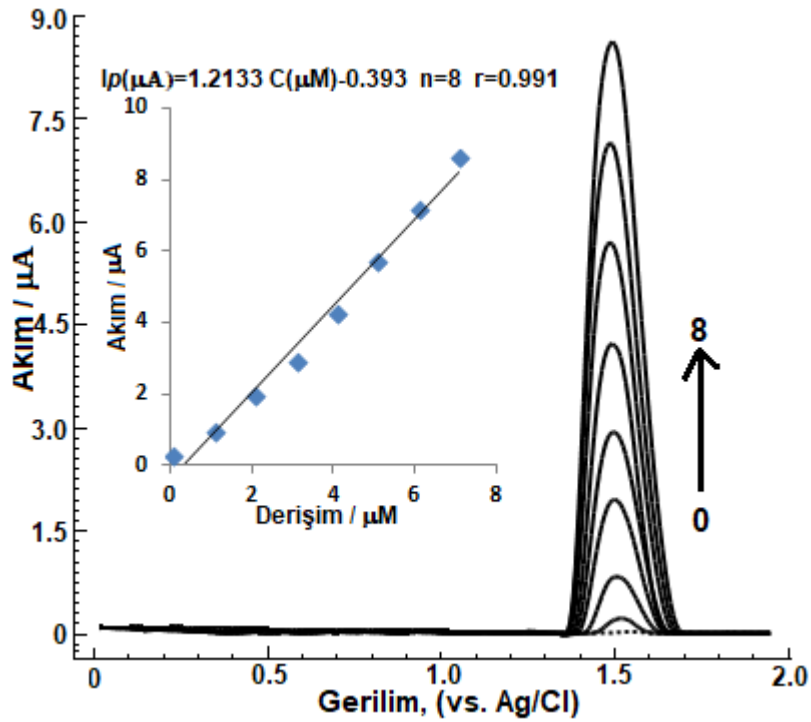
4.1.3. Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi

Yukarıda verilen bilgiler değerlendirildiğinde, analitik kullanım bakımından çözelti ortamında yüksek akım yanıtı ve pik yapısı (bir tane pikin belirgin oluşması) elde edildi. Gerçek numunelerden gelebilecek olan girişim etkisini ortadan kaldırmak veya etkiyi düşürmek için şartlara bağlı olarak bu çözelti (HClO_4) ortamında progesteron tayini için analitik ortam seçilebilir. Bu çalışmada BDD elektrodu ile geliştirilen voltametrik yöntemin, duyarlılık, çalışma aralığı, tekrarlanabilirlik, gibi analitik performans özellikleri, optimum 0.5 M HClO_4 ortamında destek çözeltinin içinde araştırıldı ve progesteron molekülünün tayinine ilişkin en iyi voltametrik yöntem ve analitik şartlar Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Progesteron tayini için voltametrik teknik ile elde edilen en iyi deneysel koşullar

Yöntem	SW-AdSV
Elektrot	BDD
Destek elektroliti	0.5 M HClO ₄
Adsorptif sıyırma değişkenleri	
E_{acc}	0 V
t_{acc}	120 s
Kare-dalga değişkenleri	
f	45 Hz
ΔE_s	9 mV
ΔE_{sw}	90 mV

Progesteron geniş bir derişim aralığında (1×10^{-7} M– 7.1×10^{-6} M), her bir deney aynı çözelti içinde üçer tekrar yapılarak SW-AdSV voltamogramları kaydedildi. Elde edilen voltamogramlar ve derişim (C)-pik akımı (i_p) ilişkisi Şekil 4.9'da verilmiştir. Analitik performans sonuçları ilgili kalibrasyon grafiklerinden hesaplanarak Çizelge 4.3'de sunulmuştur.



Şekil 4.9. 0.5 M HClO₄ destek elektrolit içinde farklı derişimlerdeki (0; Destek elektrolit, 1; 0.1 µM, 2; 1.1 µM, 3; 2.1 µM, 4; 3.1 µM, 5; 4.1 µM, 6; 5.1 µM, 7; 6.1 µM, 8; 7.1 µM) Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde elde edilen SW-AdSV eğrileri. $E_{aac}=0$ V, t_{acc} :120, SW değişkenleri: $f=45$ Hz, $\Delta E_s=9$ mV, $\Delta E_{sw}=90$ mV.

Çizelge 4.3. Progesteron'un BDD elektrot yüzeyinde SW-AdSV tekniği ile elde edilen kalibrasyon grafiklerinin analitik performans verileri.

Gerilim, V	+1.51
Çalışma Aralığı, μM	0.1-7.6
Kesişim	-0.393
Eğim	1.2133
Tekrarlanabilirlik (pik akımı) (BSS,%) $n: 3$	5.04
Korelasyon katsayısı (r)	0.991
LOD, μM	0.012 ($3.77 \mu\text{g L}^{-1}$)
LOQ, μM	0.04

Progesteron için geliştirilen BDD elektrodun tekrar edilebilirlik düzeyini belirlemek için 4.1×10^{-6} M derişimde çözeltiler, en uygun deneysel koşullarda aynı gün içerisinde SW-AdSV eğrileri kaydedilmiştir. Pik akım değerleri voltamogramlar üzerinden okunmuş ve değerleri gün-içi olarak değerlendirilmiştir.

Gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve en düşük tayin sınırı (LOQ) değerleri; $\text{LOD} = 3 s/m$; $\text{LOQ} = 10 s/m$ eşitliklerine göre hesaplanmıştır. Bu eşitliklerde yer alan s , doğrusallık aralığındaki en düşük derişime karşılık gelen pik akımının (3 değer ortalaması olarak) standart sapmasını, m ise kalibrasyon denklemindeki eğimi ifade etmektedir.

Çizelge 2.3 incelendiğinde, progesteron tayini için önerilen elektrokimyasal çalışmaların çoğunluğunda modifiye elektrot kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında BDD elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin duyarlılık bakımından analitik performansı, daha önce kaynakçada kayıtlı olan diğer elektroanalitik yöntemlerinkine göre daha iyi yada büyük ölçüde denklik göstermektedir.

4.2. Gerçek Örnek Analizleri

Geliştirilen yöntemin gerçek örneklerdeki performans özelliklerini doğrulamak için, uygulanabilirliği ticari ilaç şekillerinde ve kan serum örneklerinde denenmiştir.

4.2.1. Enjektabl çözeltiler

Yöntemin ticari ilaç şekline uygulamasında eczanelerden alınan Progestan®100 mg 28 adet yumuşak kapsül kullanılmıştır. Bölüm 3.2.1.1'de belirtildiği gibi deneyler gerçekleştirilmiştir. Tablet analizine ilişkin voltamogramlar ile standart Progesterona ait voltamogramlar karşılaştırılıp çakıştırıldığında eğrilerin uyumlu ve bu koşullarda miktar

tayinin gerçekleştirilebileceğini göstermiştir. Elde edilen voltamogramlardan yararlanarak progesterona ait yükseltgenme pik akım değerleri ilgili kalibrasyon ($I_p(\mu A) = 1.2133 C(\mu A) - 0.393$) bağıntısında yerine konularak tabletlerin içerdiği progesteron miktarları hesaplanarak gerçek değerler ile kıyaslanmıştır. İlave olarak geliştirilen voltametrik yöntemin doğruluğu için, geri kazanım çalışması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlardan (çizelge 4.4) geliştirilen voltametrik yöntemin farmasötik ilaç şekillerine başarılı bir şekilde uygulanabileceğini göstermiştir.

Çizelge 4. 4. Progesteron içeren yumuşak tabletlerde SW-AdSV analiz bulguları

Örnek	Bulunan(mg) ^{a,b}	Geri Kazanım ^b (%) $\pm$ %BSS
1	92	92 $\pm$ 4.21
2	107	107 $\pm$ 4.75
3	108	108 $\pm$ 4.01
4	91	91 $\pm$ 5.03
5	106	106 $\pm$ 5.22

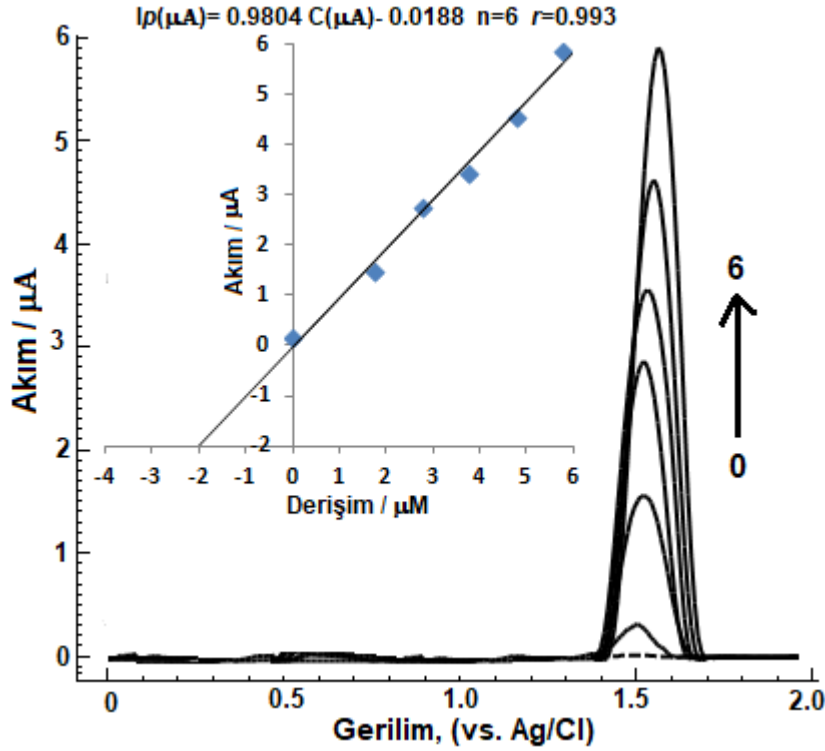
^aBir tablet, 100 mg progesteron içerir.

^bSonuçlar, üç analizin ortalamasıdır.

4.2.2. Biyolojik sıvı numuneleri

Progesteron molekülünün biyolojik sıvılardaki tayini için BDD elektrodu üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin tekrar edilebilirliği ve duyarlılığı iyi olması nedeniyle kan örneği gibi karmaşık madde ortamlarında (tuz, su ve bazı biyomoleküller bulunur) da bu yöntemin uygulanabilirlik koşulları araştırılmıştır. Progesteron katılmış biyolojik sıvı numuneleri, hiçbir karmaşık ön-işlem ve ayırma işlemi kullanmadan seçilen destek elektroliti ile seyreltilerek analiz edilmiştir.

Bölüm 3.3.1.2 ve 3.3.1.3’de anlatılan yol izlenerek hazırlanan biyolojik sıvı numunelerin (kör örnek) voltamogramlarında progesteron sinyalinin gözlemlendiği gerilim aralığında biyolojik sıvılarda bulunan biyomoleküllere (ürik asit, askorbik asit, dopamin, mineraller gibi) girişim yapabilecekleri bir sinyal vermediler.



Şekil. 4.10 0.5 M HClO_4 ortamında progesteron'un BDD elektrot ile kadın kan numunesinde standart katma(0;Destek elektrolit, 1;0 μM , 2;1.75 μM , 3;2.75 μM , 4;3.35 μM , 5;4.75 μM , 6;5.75 μM) ile elde edilen SW-AdSV eğrileri.

Kan numunelerine ait voltamogramlar şekil 4.11'de gösterilmiştir. Sıyırma voltamogramlarından görüleceği gibi kan numunelerinde progesteronun BDD elektrot ile 0.5 M HClO_4 ortamında miktar tayini seçici bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Yakalşık +1.51 V dolayında gözlenen yükseltgenme piki standart progesteron çözeltisi eklenmesi ile düzgün olarak arttığı gözlenmiştir. Serum numuneleri sıyırma öncesi 1/10 oranında destek çözeltisi ile seyreltilmiştir. İnsanlardaki progesteron düzeyi bu kişilerin fizyolojik durumlarına göre değişebilmektedir. Hamileliğin son üçte birlik kısmında progesteron düzeyi (48-300 $\mu\text{g/L}$) aralığındadır. Çalışmamızda yaklaşık 30 haftalık hamile olan bir kadındaki serum numunesinde standart katma yönteminin uygulandığı çalışmada, 59.7 $\mu\text{g/L}$ progesteron bulunmuştur. Çizelge 4.5'de gösterildiği gibi, bulunan değerle serum numunesine eklenmiş progesteron derişimi arasındaki uygunluk (yeterli geri kazanım değeriyle birlikte) önerilen yöntemin progesteron'un kan örneklerinden de ortalama % 96.2 geri kazanım ile doğru olarak tayin edilebileceğini göstermiştir.

Çizelge 4.5. Progesteron'nun serum numunesinde standart katma ile elde edilen SW-AdSV analiz bulguları

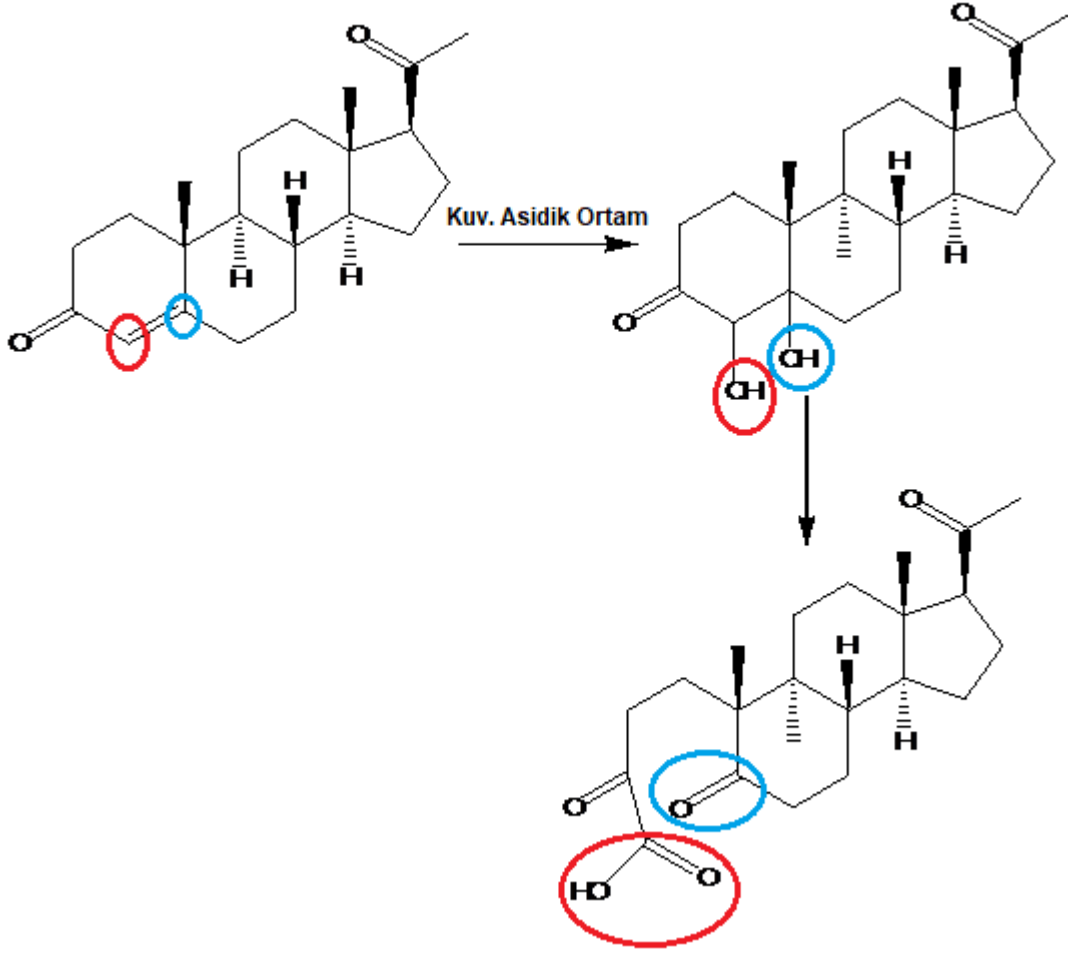
İlave edilen (μM) ^a	Bulunan(μM) $\pm\%$ BSS	Geri Kazanım (%) $\pm\%$ BSS
0	0.019	0 $\pm$ 5.18
1.75	1.548	87.35 $\pm$ 5.48
2.75	2.843	102.69 $\pm$ 4.67
3.75	3.488	92.51 $\pm$ 5.21
4.75	4.598	96.40 $\pm$ 5.09
5.75	5.888	102.07 $\pm$ 4.32

^aSonuçlar, standart katma ilavesi ile birbirinden bağımsız elde edilen üç değerin ortalamasıdır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

"Kaynak Araştırması" bölümünde çizelge 2.3'te özetlenen, progesteron tayinine yönelik kaynakçada kayıtlı çalışmalar indirgenme ve yükseltgenme yönünde ve büyük ölçüde farklı ajanlarla tasarlanmış modifiye elektrotların kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Bu tez kapsamında sunulan çalışmada ise BDD elektrodun 0.5 M H_2SO_4 ortamında katodik olarak aktivasyonu sonucunda 0.5 M $HClO_4$ ortamında BDD elektrot yüzeyinde yeni ve alternatif bir elektroanalitik yöntem geliştirilmiştir. BDD elektrodun H_2SO_4 ve $HClO_4$ dışındaki destek elektrolit çözeltilerinde elektroaktif olmadığı gözlemlenmiştir. Önerilen yöntem, hiçbir organik çözücü kullanmadan, uzun zaman alan ayırma işlemlerine ya da maliyeti yüksek cihazlara gereksinim duymadan basit bir seyreltme işlemi sonrası kan serum ve ilaç şekline başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

BDD elektrot ile yapılan bu çalışmada ilgili elektroda uygulanan katodik ön işlem ile kuvvetli asidik ortamda progesteron'un yükseltgenmesi üzerinde son derece iyi bir elektrokatalitik etki göstermiştir. İlk olarak Progesteron'un BDD elektrodu yüzeyinde yükseltgenme özellikleri, SWV, CV, SW-AdSV teknikleri ile incelendi. Ortamın pH'ı, destek çözeltisinin özellikleri ve kullanılan madde derişimlerinin yükseltgenme durumu üzerine etkileri çok duyarlı bir biçimde incelenmiştir. BDD elektrodun katodik olarak ön işlem görmesi sonucunda progesteron sadece kuvvetli asidik ortmada elektrokatalik özellik göstermiştir. Şekil 4.4'te görüldüğü gibi progesteron BDD elektrot üzerinde 0.5 M $HClO_4$ ortamında daha duyarlı sonuçlar vermiştir. Progesteronun BDD elektrot üzerinde kuvvetli asidik ortamda (0.5 M $HClO_4$), elektrokimyasal süreci şu şekilde olabilir; ilk yükseltgenecek bağ alken bağıdır; bu alken bağı önce diole, sonra da karboksilik aside veya ketona yükseltgenir(birincil alkol ise karbosilik aside, ikincil alkol ise ketona yükseltgenir). Kuvvetli asidik ortamda elektrokimyasal süreç aşağıdaki gibi gösterilebilir.



Şekil 5.1 Progesteron'un yükseltgenme mekanizması

Kaynakçada yer alan ve çizelge 2.3'de özetlenen elektrokimyasal çalışmalarda; indirgenme temelli süreçte, DME (**LOD:0.2 nM**) (Wang ve ark., 1985) ve (**LOD:20 nM**) (Hu ve ark., 1991), GCE (**LOD:500 nM**) (Arevala ve ark., 2008), BİFE (**LOD:180 nM**) (Lima ve ark., 2013) ve (Zidaric ve ark., 2018), GO-IMZ/GCE (**LOD:68 nM**) (Gevaerda ve ark., 2018) SnFE (**LOD:120 nM**) (Das ve Sangaranarayanan 2018) elektrotları üzerinde biyolojik sıvı ve ilaçlarda progesteron tayini gerçekleştirilmiştir. Yükseltgenme temelli süreçte ise GCE/AuNPs/MnSB (**LOD:11.4 nM**) (Shamsipur ve ark., 2017), GQDs-PSSA/GO/GCE (**LOD:0.31 nM**) (Arvand ve Hemmati 2017a) ve Fe₃O₄@GQD/f-MWCNTs/GCE (**LOD:2.18 nM**) (Arvand ve Hemmati 2017b) elektrotları üzerinde biyolojik sıvı ve ilaçlarda progesteron tayini gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında ilk defa çalışma elektrodu olarak kullanılan BDD elektrot, herhangi bir kimyasal işlem uygulanmadan (sadece katodik yönde elektrokimyasal bir ön-işlem uygulandı) Progesteron'un çok düşük derişimlerinin saptanabilmesine imkân sağlamıştır. BDD elektroda uygulanan aktivasyon uygulaması (Avaca ve ark., 2004; Simon, 2007; Carlos, 2006; Zhao, 2007; Şentürk ve ark., 2014) bilim insanlarının da

ifade ettikleri gibi elektrot yüzeyini aktifleştirerek hedef analitin redoks olayında elektrodun elektrokatalitik etkinliğini artırmaktadır. Bu elektrokimyasal aktivasyon uygulaması çok hızlı, maliyeti ucuz, basit ve toksik kimyasal madde gerekmediği için çevreye zararlı olmayan, elektrokimyasal bir ön işlemdir. BDD elektrodun yüzeyinde toplanan progesteron bulguları ve elde edilen sonuçlar görüşümüzü desteklemektedir. Progesteronun kan serumunda ve farmasötik ilaç şekillerinde tayini için önerilen elektrokimyasal çalışmalar; yukarıda ve çizelge 2.3’de özetlenen bilgilere baktığımızda BDD elektrot ile elde edilen duyarlılık sonuçları(**LOD:12 nM**) denk ya da daha iyi olduğu görülmektedir. Ayrıca tarafımızca ilk kez geliştirilen bu voltametrik yöntemin analitik performansı, çizelge 2.2’de özetlenen spektroskopik ve kromatografik yöntemler ile kıyaslanabilir seviyededir.

Bu araştırmada önerilen voltametrik yöntem, analitik uygulaması dışında farmakolojik açıdan da değerlidir. Deney sonuçlarından edinilen bilgi, biyolojik sistemlerdeki metabolik değişim mekanizmasının aydınlatılmasında gelecekteki çalışmalara ışık tutabilir.

KAYNAKLAR

- Alfaro M.A.Q., Ferro S., Martinez-Huitle C.A., Vong Y.m., 2006. Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment, *J.Braz. Chem Soc*, **17**:227-236.
- Altun Y., Doğan-Topal B., Uslu B., Ozkan S.A., 2009. Anodic behavior of sertindole and its voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum using glassy carbon and boron-doped diamond electrodes, *Electrochimica Acta*, **54**: 1893-1903.
- Amoli-Diva, M., Pourghazi, K., 2015. Gold nanoparticles grafted modified silica gel as a new stationary phase for separation and determination of steroid hormones by thinlayer chromatography. *J. Food Drug Anal.* 23, 279–286.
- Arevalo, F.J., Molina, P.G., Zon, M.A., Fernandez, H., 2008. Novel studies about the electrochemical reduction of progesterone(P4) in acetonitrile at glassy carbon electrodes. *J.Electroanal. Chem.* 619-620, 46-52.
- Arvand, M., Hemmati, S., 2017a. Magnetic nanoparticles embedded with graphene quantum dots and multiwalled carbon nanotubes as a sensing platform for electrochemical detection of progesterone. *Sens. Actuators B Chem.* 238, 346–356.
- Arvand, M., Hemmati, S., 2017b. Analytical methodology for the electro-catalytic determination of estradiol and progesterone based on graphene quantum dots and poly(sulfosalicylic acid) co modified electrode. *Talanta* 174, 243-255.
- Ası T., 1999. Tablolarla biyokimya cilt II Ankara, 77.
- Avaca L.A., Hugo B. Suffredini, Valber A. Pedrosa, Lúcia Codognoto, Sérgio A.S. Machado, Romeu C. Rocha-Filho 2004. Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment *Electrochimica Acta*. 49, 4021–4026.

- Bard A.J., Faulkner, L.R., 2000. ***Electrochemical Methods: Principles and Applications***, 2nd ed.; John Wiley and Sons: New York, USA.
- Bard A.J., Zoski, C.G., 2000. Voltammetry retrospective. ***Analytical Chemistry***, 246-352.
- Barek J., Cvacka, J., Muck A., Quaiserova, V., 2001. Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. ***Fresenius Journal of Analytical Chemistry***, 369, 556-562.
- Buftia G., Rosales E., Pazos M., Lazar G., Sanroman M.A., 2018, Electro-Fenton process for implementation of acid black liquor waste treatment, ***Total Environ.*** 635: 397–404.
- Carlos A. Martínez Huitle Marco Antonio Quiroz A., Sergio F., and Yunny Meas V., 2006. Boron Doped Diamond Electrode for the Wastewater Treatment ***J. Braz. Chem. Soc.***, (17): 227-236.
- Christian M.S, Brent R.L, Calda P, Senger P.L., 2007 Pathways to Pregnancy and Parturition, Current Conceptions, Inc., Pullman, USA ,***Mat-fet. neonat. Med.*** 20: 89–112.
- Codognoto L., Machado S.A.S., Avaca L.A., 2002. Square wave voltammetry on boron-doped diamond electrodes for analytical determinations, ***Diamond and Related Materials***, 11:1670-1675.
- Das A., Sangaranarayanan M.V., 2018 A sensitive electrochemical detection of progesterone using tin-nanorods modified glassy carbon electrodes: Voltammetric and computational studies. ***Sensor and actuators B.*** 256:775-789.
- DI W.L., Kavda A., Djahanbakhch O., Silman R., 1998. Radioimmunoassay of bound and free melatonin in plasma, ***Clin Chem.***, 44: 304-310.

- Ehrentreich-Forster E., Scheller F.W., Bier F.F., 2003 Detection of progesterone in whole blood samples, **Biosens. Bioelectron.** 18: 375–380.
- Eshratkhah B., Rajabian H., Namvar D., Eshratkhah S., Batsam S.M., 2010. Comparative study on the determination of plasma thyroid hormones by chemiluminescence and electrochemiluminescence immunoassay methods in sheep, **Com.Clin.Patol.** 20:337-340.
- Fent K., Zhang K., 2018. Determination of two progestin metabolites (17 α -hydroxy pregnanolone and pregnanediol) and different classes of steroids (androgens, estrogens, corticosteroids, progestins) in rivers and wastewaters by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) **Science of the Total Environment.** 610–611: 1164–1172.
- Fogg G, Wang J., 1999. Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. **Pure and Applied Chemistry**, 71: 891-897.
- Gandini D., Michaud P., Duo I., Mache E., Haenni W., Perret A., Conminellis C., 1999. Electrochemical behavior of synthetic boron-doped diamond thin film anodes, **New Diamond Front Carbon Technol**, 9:303-316.
- Gevaerda A., Blaskiewicz S.F., Zarbinc A.J.G., Orthb E.S., Bergaminia M.F., Luiz H. Marcolino-Junior 2018. Nonenzymatic electrochemical sensor based on imidazole-functionalized graphene oxide for progesterone detection, **Biosensors and Bioelectronics**, 112, 108-113.
- Gong S., Gao C., Wang J., Tong J., Bian C., Wu K., Xia S., 2018. Reusable boron-doped diamond electrodes for the semi-continuous detection of Tetrabromobisphenol A, **IEEE Sensors J.** 18: 5219–5224.
- Göçmen, C., 2005. Türkiye Klinikleri **J Int Med Sci.** 2005;1(1):1-9.
- Handelsman D.J., Desai R., Harwood D.T., 2019. Simultaneous measurement of 18 steroids in human and mouse serum by liquid chromatography–mass spectrometry

without derivatization to profile the classical and alternate pathways of androgen synthesis and metabolism *Clinical Mass Spectrometry* 11: 42–51.

Hansen M., Jacobsen N.W., Nielsen F.K., Björklund E., Styris have B., Sørensen B.H. 2011 Determination of steroid hormones in blood by GC–MS/MS *Anal Bioanal Chem* 400:3409–3417.

Hu, S., Y. Yan, Z. Zhao, 1991. Determination of progesterone based on the enhancement effect of surfactants in linear sweep polarography, *Anal. Chim. Acta* 248, 103–108.

Huitle C.A , Zanta C.L.P.S., 2018. Evaluation of treatment of effluents contaminated with rifampicin by Fenton, electrochemical and associated processes, J. *Water Process Eng.* 22:250–257 *IEEE Sensors J.* 18: 5219–5224.

Isola H., Hartmann N., Bobadilla M., 2000. Evaluation of nonisotopic alternatives for hormone determination in toxicology studies, *Toxicol Meth.*, 10: 55-67.

Kadıoğlu Y., Albayrak M., Demirkaya F. 2010 Development and validation of RP-HPLC-DAD method for determination of progesterone in capsule. *Analytical Chemistry* 29(3-4), 197-210.

Kayaalp, O., 2002. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 10. Baskı, Hacettepe Üniversitesi Taş Kitapçılık Ltd., İstanbul.

Kısacık, İ., 2010 Benzenin Bor Katkılı Elmas Elektrot Üzerinde Elektrokoksasyonu Yüksek Lisans Tezi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Adana 9-12.

Kim J., Jeon M., Paeng I.R., 2008 Competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of catecholamine, dopamine in serum, *Anal.Chim.Acta*, 619: 87-93.

- Kirste A., Elsler B., Schnakenburg G., Waldvogel S.R., 2012. Efficient anodic and direct phenol-arene C,C cross-coupling: the benign role of water or methanol, *J. Am.Chem. Soc.* 134: 3571–3576.
- Kraft, A., 2007. Doped diamond: A compact review on anew, versatile electrode material, *Int J. Electrochem. Sci.*, 2:355-385.
- Laviron, E., Roullier, L., Degrand, C., 1980. A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 112: 11-23.
- Lawrence N.S., Pagels M, Meredith A., Jones T.G.J., Hall C.E., Pickles C.S.J., Godfried H.P., Banks C.E.,Compton R.G., Jiang L., 2006. Electroanalytical applications of boron-doped diamond microelectrode arrays, *Talanta*, 69: 829-834.
- Levent A., 2012. Electrochemical determination of melatonin hormone using a boron-doped diamond electrode. *Diamond & Related Materials*, 21 114–119.
- Levent A., 2017. Bor Katkılı Elmas Elektrot ile Naftalin'in Voltametrik Davranışı: Kare Dalga Anodik Sıyırma Voltametrisi ile Miktar Tayini, Süleyman Demirel University *Journal of Natural and Applied Sciences* ,(21) 948-955.
- Levent A., Altun A., Yardım Y., and Şentürk Z., 2014. Sensitive voltammetric determination of testosterone in pharmaceuticals and human urine a glassy carbon electrode in the presence of cationic surfactant. *Electrochimica Acta*. 128, 54-60.
- Levent A., Yardım Y, Şentürk Z., 2014. Electrochemical performance of boron-doped diamond electrode insurfactant-containing media for ambroxol determination, *Sensors and Actuators B*, 203 517–526.
- Lima C.A., Spinelli A., 2013 Electrochemical behavior of progesterone at an ex situ bismuth film electrode *Electrochimica Acta* 107 : 542– 548.

- McCleod B.J., Williams M.E., 1991. Incidence of ovarian dysfunction in post partum dairy cows and the effectiveness of its clinical diagnosis and treatment, **Vet. Rec.** 128: 121–124.
- Mirceski,V., Gulaboski, R., Lovric, M., Bogeski,I., Kappl,R.,. Hoth, M., 2013 Square-Wave Voltammetry: **Electroanal.**, **25**, 2411–2422.
- Mirzajani R., Kardani F., Ramezani Z. 2019 A nanocomposite consisting of graphene oxide, zeolite imidazolate framework 8, and a molecularly imprinted polymer for (multiple) fibersolid phase microextraction of sterol and steroid hormones prior to their quantitation by HPLC. **Microchimica Acta** 186, 129.
- Monerri, M.J., Arévalo, F.J., Fernández, H., Zon, M.A., Molina, P.G., 2012 Integratedelectrochemical immunosensor with gold nanoparticles for thedetermination of progesterone, **Sens. Actuators B** 166, 586–592.
- Oliveira T.C., Freitas J.M., Munoz R.A.A., Richter E.M., 2018 Development of a novel versatile method for determination of two antihistamines in association with naphazolineusing cathodically pretreated boron-doped diamond electrode, **Electroanalysis**. 30: 868–876.
- Osteryoung J., O`Dea J.J., Bard, A.J., 1986 Square-wave voltammetry. **Electroanalytical Chemistry**, 209.
- Özkan, S.A., Kauffmann, J.M., Zuman, P., 2015 *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 350.
- Peleskov Y.V., 2002. Electrochemistry of diamond: A review, **Russian J.Electrochem.**, 38:1275-1291.
- Petrovic, M., Gonzalez, S., Barceló, D., 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 685-696.

- Rao T.N., Fujishima A., 2000. Recent advances in electrochemistry of diamond, ***Diamond and Related Materials*** 9: 384-389.
- Reinke, R., Simon, J., 2002. The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric technique by chromatomembrane method. ***Anal. Bioanal. Chem.***, 374: 1256-1260.
- Riehl B., Dyballa K.M., Franke R., Waldvogel S.R., 2017 Electro-organic synthesis as a sustainable alternative for de hydrogenative cross-coupling of phenols and naphthols, ***Synth.*** 49:252–259.
- Santos K.D., Brage O.C., Vieira I.C., Spinelli A., 2010. Electroanalytical determination of estriol hormone using a boron-doped diamond electrode, ***Talanta***, 80: 1999-2006.
- Shamsipura M., Pashabadia A., Taherpoura A., Bahramia K., Shargh H. 2017 Manganese mediated oxidation of progesterone in alkaline medium: Mechanism study and quantitative determination ***Electrochimica Acta*** 225: 292–302.
- Shishov A., Sviridov I., Timofeeva I., Chibisova N., Moskvina L, Bulatov A. 2017 An effervescence tablet-assisted switchable solvent-based microextraction On-site preconcentration of steroid hormones in water samples followed by HPLC-UV determination ***Journal of Molecular Liquids*** 247: 246–253.
- Siangproh W., Wangfuengkanagul N., Chailapakul O., 2003. Electrochemical oxidation of tiopronin at diamond film electrodes and its determination by amperometric flow injection. ***Analytica Chimica Acta***, 499(1):183-189
- Simon N., Girard H., Ballutaud D., Herlem M., Etcheberry A. 2007 Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes ***Dimond & Reladet Materials*** 16: 316–325.

- Sitruk-Ware, R., 2002, Progestogens in hormonal replacement therapy: new molecules, risks, and benefits, *Menopause*, 9 6–15.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. (Çeviri Editörleri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Enstrümental Analiz İlkeleri) 1. baskı. Bilim Yayıncılık Ltd.Şti, Ankara.
- Sochr J., Švorc L., Rievaj M., Bustin D., 2014. Electrochemical determination of adrenaline in human urine using a boron-doped diamond film electrode, *Diam. Relat. Mater.*43: 5–11.
- Song J, Olisova D., Leeb K., Junb S.H., Song S.H., Kim J.H.,Young Ah Lee Y.A., Shine C.H. 2019 Measurement of serum steroid profiles by HPLC-tandem mass spectrometry *Journal of Chromatography B* 1117: 1–9.
- Stanczyk F.Z., Clarke N.J., 2010. Advantages and challenges of mass spectrometry assays for steroid hormones, *J.Steroid Biochem.Mol. Biol.*, 121; 491495.
- Švorc L., Strežova I., Kianičková K., Stanković D.M., Otrisal P., Samphao A., 2018 An advanced approach for electrochemical sensing of ibuprofen in pharmaceuticals and human urine samples using a bare boron-doped diamond electrode, *J. Electroanal. Chem.* 822: 144–152.
- Szabó P.T., Márta Z., Bobály B., Fekete J., Magda B., Imre T., Mészáros V.K., Bálint M. 2018. Simultaneous determination of thirteen different steroid hormones using micro UHPLC-MS/MS with on-line SPE system. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 150: 258–267.
- Şentürk Z., Yardım Y., 2014 Electrochemical Behavior of Folic Acid at A Boron-Doped Diamond Electrode: Its Adsorptive Stripping Voltammetric Determination in Tablets *Turk J Pharrn* 11(1), 87-100.
- Taran F., Frobert Y., Creminon C., Grassi J., Olichon D., Mioskowski C., Pradelles P., 1997. Competitive enzyme immunoassay with monoclonal antibody for

- homovanillic acid measurement in human urine samples, *Clin. Chem.*, **43**: 363-368.
- Toghill K.E., Compton, R.G., 2010. Metal nanoparticle modified boron doped diamond electrodes for use in electroanalysis, *Electroanalysis*, **22**, 1947-956.
- Trouillon R., O' Hare D., 2010. Comparison of glassy carbon and boron doped diamond electrodes: Resistance to biofouling, *ElektrochimicaActa*, **55**(22):6586-6595.
- Tyszczyk-Rotko K., Bęczkowska I, Nosal-Wiercińska A., 2014. Simple, selective and sensitive voltammetric method for the determination of herbicide (paraquat) using a bare boron-doped diamond electrode, *Diam. Relat. Mater.* **50**: 86–90.
- Tyszczyk-Rotko K., Sadok I., 2016. The new application of boron doped diamond electrode modified with Nafion and lead films for simultaneous voltammetric determination of dopamine and paracetamol, *Electroanalysis* **28**: 2178–2187.
- Uslu, B., Dogan-Topal, B., Özkan, S.A., 2008. Electroanalytical investigation and determination of pefloxacin in pharmaceuticals and serum at boron-doped diamond and glassy carbon electrodes, *Talanta*, **74**: 1191-1200.
- Uslu, B., Özkan S.A. (2007a) Electro analytical application of carbon based electrode to the Pharmaceuticals. *Anal. Lett.* **40**: 817–853.
- Uslu, B., Özkan, S.A., (2007b). Solid Electrodes in Electroanalytical Chemistry: Present Applications and Prospects for High-throughput Screening of Drug Compounds, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **10**: 495-513.
- Uslu, B., Özkan, S.A., 2011. Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: a review of recent trends and developments. *Analytical Letters*, **44**: 2644-2702.
- Wang J., Farias, P.A.M., Mahmoud, J.S., 1985 Adsorptive stripping voltammetry of sex hormones at the static mercury drop electrode, *Anal. Chim. Acta* **171**, 195–204.

- Wang J., Kawde A.N., Sahlin E., 2000. Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, 125: 5-7.
- Wang J.. 2006. Analytical Elektrochemistry Third Edition 2006 a bare boron-doped diamond electrode, advanced approach for electrochemical sensing of ibuprofen in pharmaceuticals, *Diam. Relat. Mater.* 50: 86–90.
- Wang X., Xiang P., Zhang Y., Wan Y., Lian H., 2018 The inhibition of *Microcystis aeruginos* by electrochemical oxidation using boron-doped diamond electrode, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25: 20631–20639.
- Wang, J., 2006. *Analytical Electrochemistry: Methodology and Applications of Dynamic Techniques*. 3th ed., John Wiley & Sons, Inc., 250 p., New Jersey, USA.
- Wang, J., 2000. *Analytical Electrochemistry*. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
- Yadav, S.K., Chandra, P., Goyal, R.N., Shim, Y.B., 2013. A review on determination of steroids in biological samples exploiting nanobio-electroanalytical methods. *Anal. Chim. Acta* 762, 14–24.
- Yardımlı Y., Erez, M.E., 2011. Electrochemical behavior and electroanalytical determination of indole-3-acetic acid phytohormone on a boron-doped electrode, *Electroanalysis*, DOI: 10.1002/elan.201000551.
- Yardımlı Y., Keskin E., Levent A., Özsöz M., Şentürk Z., 2010. Voltammetric studies on the potent carcinogen, 7,12-dimethylbenzo[a]anthracene: Adsorptive stripping voltammetric determination in bulk aqueous forms and human urine samples and detection of DNA interaction on pencil graphite electrode. *Talanta*, 80: 1347-1355.
- Yardımlı Y., Levent A., Keskin E., Şentürk Z., 2010. Polisiklik aromatik hidrokarbonlardan benzo[a]piren'in bor ile dope edilmiş elmas elektrot kullanarak

yüzey aktif madde varlığında kare-dalga sıyırma voltametrisi ile analizi, **24. Ulusal Kimya Kongresi, Zonguldak (Karaelmas Üniversitesi), 29 Haziran- 2 Temmuz, Türkiye, AP-078.**

Yenson M., 1989. *İnsan Biyokimyası*, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No. 128, İstanbul.

Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., 1997. *Enstrümental Analiz Yöntemleri*. 2. baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Ankara

Zhang H., West D., Shi H., Ma Y., Adams C., Eichholz T. 2019 Simultaneous Determination of Selected Trace Contaminants in Drinking Water Using Solid-Phase Extraction-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Water Air Soil Pollut 230: 28.

Zhang J, Oyama M. 2004 Electroanalysis of myoglobin and hemoglobin with a boron-doped diamond electrode, *Microchemical Journal*, 78: 217–222.

Zhang R., Zhang H., Li N., Wangb C., Baic Y., Ren R., Gao S., Yua W., Zhao T., 2011 Ionic liquid foam floatation coupled with solid phase extraction for separation and determination of hormones by high-performance liquid chromatography *Analytica Chimica Acta* 704: 98– 109.

Zhao G.H., Li M.F., Li M.L., 2007. Differential pulse voltammetric determination of dopamine with the coexistence of ascorbic acid on boron-doped diamond surface *Central European journal of chemistry*, 10.2478/s11532-007-0049-1.

Zheng J., Xi C., Wang G., Cao S., Tang B., Mu Z. 2018 Rapid Screening and Determination of the Residues of Hormones and Sedatives in Milk Powder Using the UHPLC-MS/MS and SPE. *Food Analytical Methods*, 11:3435–3451.

Zidaric T., Jovanovski V and Samo B. Hocevar 2018. Nanostructured Bismuth Film Electrode for Detection of Progesterone, *Sensors* 2018, 18, 42-33

web kaynakları

İngilizce wikipedia nın 20 Temmuz 2006 tarihli progesteron maddesi

<http://en.wikipedia.org/w/index.php? Title=progesterone ve oldid=64713854>

<http://www.yenibiyoloji.com>

Ekler

1. Etik Kurul Yazısı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Muhlis UÇAR
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Batman 1980
Telefon : 05058930982
Faks :
e-mail : muhlisucar@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Fatih Lisesi, BATMAN	1997
Üniversite	: Van Yüzüncüyıl Üniversitesi, Fen-Edeb. Fak. Kimya Böl.	2004

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2005-	Meb'e bağlı kolej ve kurs merkezleri	Öğretmen

YABANCI DİLLER İngilizce