

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI AĞRI KESİCİLERİN
KEMOMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ**

Aslı TUĞRUL

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Güzide ERTOKUŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2017**



©2017 [Aşlı TUĞRUL]

TEZ ONAYI

Aslı TUĞRUL tarafından hazırlanan "**Bazı Ağrı Kesici İlaçların Kemometrik Yöntemlerle Analizi**"adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Güzide ERTOKUŞ
Süleyman Demirel Üniversitesi



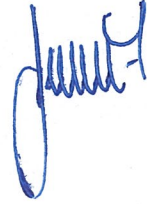
Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Tuğba SARDOHAN
KÖSEOĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem KARABACAK
ATAY
Mehmet Akif Ersoy, Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Yasin TUNCER

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Aslı TUĞRUL



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Parasetamolün Genel Özellikleri.....	3
1.2. Asetilsalisilik Asitin Genel Özellikleri	4
1.3. Vitamin C'nin Genel Özellikleri.....	6
1.4. Kullanılan Yöntem	10
1.4.1. UV ve görünür bölge spektroskopisi	10
1.4.2. UV ve görünür bölge absorpsiyon spektrofotometreleri	10
1.4.3. UV ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon spektroskopisinin uygulamaları	11
1.4.3.1. Nitel Analiz.....	11
1.4.3.2. Nicel Analiz	11
1.5. Kemometrik Yöntemler.....	12
1.5.1. Çok değişkenli kalibrasyon algoritmaları (Multivariate calibration algorithms)	14
1.5.1.1. Klasik en küçük kareler yöntemi (Classical LeastSquares (Kmatris) method).....	14
1.5.1.2. Ters en küçük kareler (P-matris) yöntemi (Inverse Least Squares method).....	15
1.5.1.3. Temel bileşen regresyon yöntemi (Principal component regression (PCR) method).....	17
1.5.1.4. Kısmi en küçük kareler yöntemi (Partial least squares regression . method).....	18
1.5.2. Kalibrasyon (konsantrasyon) setinin tasarımı.....	20
1.5.3. Çapraz validasyon işlemi (Cross-validation procedure)	21
1.5.4. Varyans analizi (ANOVA)	21
1.5.5. Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinin uygulamaları	23
1.5.5.1. Kemometrik yöntemlerin uygulama alanları	23
1.5.5.2. Çoklu bileşen analizi (Multicomponent analysis).....	23
2. KAYNAK ÖZETLERİ	24
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Materyal.....	29
3.2. Kullanılan Cihazlar	29
3.2.1. UV-Görünür spektrofotometre cihazı	29
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
3.3.1. Kullanılan çözeltiler	30
3.4. Yöntem	31
3.4.1. UV/VIS spektroskopisi yöntemi.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
4.1. UV Spektroskopisi.....	33
4.2. Temel Bileşen Analizi (PCA)	35

4.3. Kalibrasyon Yönteminin Validasyonu.....	36
4.4. Kısmi En Küçük Kareler Yöntemi (PLS)	38
4.5. Temel Bileşen Regresyonu Yöntemi (PCR)	38
4.6. Kalibrasyon Yönteminin Validasyonu.....	40
4.7. PLS yöntemi için ANOVA testi.....	45
4.8. PCR yöntemi için ANOVA testi	46
4.9. PLS ve PCR Yönteminde İstatistiksel Analiz	47
5. SONUÇ VE ÖNERİLER (TARTIŞMA VE SONUÇLAR)	49
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ.....	53



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI AĞRI KESİCİ İLAÇLARIN KEMOMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ

Aslı TUĞRUL

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Güzide ERTOKUŞ

Bu tez çalışmasında, kemometrik kalibrasyon yöntemleri (temel bileşen analizi yöntemi (PCA), temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR), kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS), farmasötik preparattaki Parasetamol, Asetilsalisilik (ASA) ve Vitamin C (askorbik asit)'nin aynı anda miktar tayinlerine hiç bir ayırma işlemi kullanmaksızın başarıyla uygulanmıştır ve bu yöntemler UV Görünür Alan Spektroskopisi yöntemlerinden elde edilen veriler kemometrik olarak değerlendirilmiştir.

Belirtilen kemometrik yöntemlerin geçerliliğinin belirlenmesinde, Parasetamol için 25 µg/mL konsantrasyon aralığında, ASA için 25 µg/mL ve Vitamin C(askorbik asit) için 25 µg/mL konsantrasyon aralığında bileşikleri içeren 19 adet karışımdan oluşan kalibrasyon (konsantrasyon) seti, hazırlandı. Kalibrasyon setinin 200-800 nm aralığında absorpsiyon spektrumu kaydedildi. Kalibrasyon seti ve bu sete karşılık 215-310 nm aralığında elde edilen absorpsiyon verileri arasındaki ilişkiden yararlanılarak üç kemometrik kalibrasyon oluşturuldu. PCA, PCR ve PLS yöntemlerinin geçerliliği, Parasetamol, ASA ve Vitamin C(askorbik asit) içeren sentetik karışımların analiziyle gerçekleştirildi. PCR ve PLS yöntemlerinin Parasetamol, ASA ve Vitamin C(askorbik asit) karışımlarının analizine uygulamasında, PCR ve PLS için % geri kazanım sonuçları ile karşılık gelen standart sapma değerleri sırasıyla Parasetamol için % 99.00/%1.87 ve %98.11 / %1.95; ASA için %98.78 / %1.59 ve %99.38 / %1.07; Vitamin C için %99.03 / %1.28 ve %98.43 / %1.27 olarak bulundu.

Sonraki basamakta PCA, PCR ve PLS yöntemleri, ticari farmasötik preparattaki Parasetamol, ASA ve Vitamin C(askorbik asit)' in aynı anda miktar tayinlerine uygulandı.

Anahtar Kelimeler: Parasetamol, Asetilsalisilik , Vitamin C, PCA, PCR, PLS.

2017, 53 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

SOME PAIN CUTTER DRUGS ANALYSIS BY CHEMOMETRIC METHODS

Ashı TUĞRUL

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Güzide ERTOKUŞ

In this thesis, three different chemometric calibration methods (principle component analysis (PCA), partial least square (PLS) and principal component regression (PCR)) were successfully applied for the simultaneous determination of Paracetamol, acetylsalicylic acid, and vitamin C (ascorbic acid) in pharmaceutical preparations without using any separation step. The data of UV-Visible Spectroscopy was applied to the chemometric calculations.

For the validation of these chemometric methods, a calibration set of 19 binary mixtures containing compounds in the working range of 25 µg/mL for Paracetamol, 25 µg/mL for acetylsalicylic acid and 25 µg/mL for vitamin C (ascorbic acid) were prepared in set 200-800 nm range absorption spectra were recorded. Three chemometric calibrations were constructed by using the relationship between the calibration set and its corresponding absorption data obtained in the range 215-310 nm. The synthetic mixtures of two drugs were used for the validity of the calibrations. Means recoveries (percent) and relative standard deviations of PCR and PLS methods were found to be %99.00/%1.87 and %98.11/%1.95 for paracetamol; %98.78/%1.59 and %99.38 /%1.07 for acetylsalicylic acid; %99.03/%1.28 and %98.43/%1.27 for Vitamin C (ascorbic acid) respectively.

In the next step, the PCA, PCR and PLS methods were applied for the simultaneous determination of Paracetamol, acetylsalicylic acid, and vitamin C (ascorbic acid) in commercial pharmaceutical preparations and successful results were obtained.

Keywords: Paracetamol, acetylsalicylic acid ,vitamin C, PCA, PCR, PLS.

2017, 53 pages.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, iki yıl boyunca değerli bilgilerini bizlerle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygı değer danışman hocam; Yrd. Doç. Dr. Güzide ERTOKUŞ'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Bu araştırmanın yürütülmesinde ve bu günlere gelmemde çok emeği olan değerli hocam Kimya Bölüm Başkanı Prof. Dr. A. Hakan AKTAŞ'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

4757-YL1-16 nolu proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca laboratuvarında ve çalışmalarımnda beni destekleyen ve yardımcı olan sevgili yüksek lisans arkadaşlarım Zehra ÜSTÜN, Ayşe Merve AK-KAYA ve Ziya MERMERTAŞ'a, ayrıca çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen Abilerim Taylan TUĞRUL'a, Tayfun TUĞRUL'a ve arkadaşım Koray ÖZBEK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, başarılarımdan kıvanç duyan, zor anlarımda maddi manevi her zaman yanımda olan canım Annem'e sonsuz teşekkür ederim.



Aslı TUĞRUL
ISPARTA, 2017

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Parasetamolün kimyasal yapısı	3
Şekil 1.2. Asetilsalisilik asit'in kimyasal yapısı.....	4
Şekil 1.3. Asetilsalisilik Asit'in sentezi.....	5
Şekil 1.4. Vitamin C (askorbik asit) kimyasal yapısı	6
Şekil 1.5. Bir spektrofotometrenin temel bileşenleri	11
Şekil 1.6. Kemometrinin ilişkili olduğu alanlar	14
Şekil 1.7. PLS2 kalibrasyonu	19
Şekil 4.1. Parasetamol maddesinin absorpsiyon spektrumu.....	34
Şekil 4.2. Asetilsalisilik Asit Maddesinin absorpsiyon spektrumu	34
Şekil 4.3. C Vitamini Maddesinin absorpsiyon spektrumu.....	34
Şekil 4.4. Değişkenlerin doğrusal bileşenleri.....	35
Şekil 4.5. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği	36
Şekil 4.6. Sentetik karışımın absorpsiyon spektrumu.....	37
Şekil 4.7. PLS kalibrasyon basamağında Parasetamol için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçları.....	42
Şekil 4.8. PLS kalibrasyon basamağında Asetilsalisilik Asit için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçları.....	42
Şekil 4.9. PLS kalibrasyon basamağında C Vitamini için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçları	42
Şekil 4.10. PCR kalibrasyon basamağında Parasetamol için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçları	44
Şekil 4.11. PCR kalibrasyon basamağında Asetilsalisilik Asit için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçları	44
Şekil 4.12. PCR kalibrasyon basamağında C Vitamini için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçları	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Çeşitli Sebze ve Meyvelerde Askorbik Asit Miktarları.....	8
Çizelge 1.2. Varyans analizi çizelgesi (Anova testi çizelgesi: analysis of variation).....	22
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	30
Çizelge 4.1. İlaç maddelerinin spektroskopik özellikleri	33
Çizelge 4.10.C Vitamini Maddesinin PCR yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları.....	47
Çizelge 4.11. PLS ve PCR yöntemleri ile hesaplanan istatistiksel parametreler .	48
Çizelge 4.12. İlaç numunesindeki sonuçlar.....	48
Çizelge 4.2 . Parasetamol , Asetilsalisilik asit ve C Vitamini karışımlarını içeren konsantrasyon seti.....	37
Çizelge 4.3. Sentetik olarak hazırlanan karışımındaki ilaç maddelerinin PLS kalibrasyonu ile hesaplanan sonuçları	41
Çizelge 4.4. Sentetik olarak hazırlanan karışımındaki ilaç maddelerinin PCR kalibrasyonu ile hesaplanan sonuçları	43
Çizelge 4.5. Parasetamol maddesinin PLS yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları.....	45
Çizelge 4.6. Asetilsalisilik Asit Maddesinin PLS yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları.....	45
Çizelge 4.7. C Vitamini Maddesinin PLS yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları.....	45
Çizelge 4.8. Parasetamol Maddesinin PCR yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları.....	46
Çizelge 4.9. Asetilsalisilik Asit Maddesinin PCR yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	Varyans analizi (Analysis of variance)
ASA	Asetilsalisilik asit
UV-VİS	Ultra viyole görünür bölge spektroskopisi
PCA	Temel bileşen analizi yöntemi(Principalcomponentanalysis)
PCR	Temel bileşen regresyon yöntemi (Principalcomponentanalysis)
PLS	Kısmi en küçük kareler yöntemi(Partialleastsquaresregression)
SEC	Standarderror of calibration
SEP	Standarderror of prediction
PRESS	Predictionerrorsum of squares
MLRC	Multilinearregressionkalibrasyon
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SSCB	Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği



1. GİRİŞ

İlaç, canlı hücre üzerinde meydana getirdiği tesir ile bir hastalığın teşhisini iyileştirmesi veya semptomlarının azaltılması amacıyla tedavisini veya bu hastalıktan korunmayı mümkün kılan, canlılara değişik uygulama yöntemleri ile verilen doğal, yarı sentetik veya sentetik preparatlardır.

İlaçlar iki kısımda incelenir;

1. Etkin Madde: Canlıda fizyolojik değişikliklere neden olan bir ya da birden fazla kimyasal madde içeren kısım
2. Taşıyıcı: Kimyasal maddenin hasta tarafından kolay alınması için ilaçlara konulan fakat herhangi bir fizyolojik etki göstermeyen kimyasalların bulunduğu kısım olarak incelenmiştir.

İlk ilaç ile ilgili çalışmalar,

İlaçlara dair bilinen ilk kayıt M.Ö.3000 yılında Sümerlilere aittir. Eski mısır ve Çin'dede birçok hastalığın tedavisinde tedavi yöntemlerinin uygulandığı bilinmektedir. Antik Yunanlılarda ise şifalı otlar hasta tedavisinde savaşçıları boyamak ve zehir üretmek amacıyla kullanılırdı. O dönemlerde bitkilerin yararları daha çok deneme yanılma yöntemiyle bulunmaktaydı.

Katı İlaç Şekilleri

1. Toz: Öğütülüp toz haline getirilerek kul anılan ilaçlardır.
2. Hap: Toz halindeki ilacın hamur haline getirilerek yuvarlak şekiller verilmesiyle yapılan ilaçlardır.
3. Kapsül: Jelatinden yapılmış bir muhafaza içinde bulunan ilaçlardır.
4. Tablet: Toz halindeki ilaçların küçük ve yassı yuvarlaklar şeklinde tazyik edilmesiyle yapılan ilaçlardır.
5. Draje: Tabletlerin üzerinin şeker ile kaplanmasıyla hazırlanan bir ilaç şeklidir.
6. Merhem: İlaçların domuz yağı, vazelin veya diğer bazı yağlar içersine katılması ile hazırlanan şeklidir.

7. Fitol: İlaçların kakao yağı veya gliserin ile karıştırılarak hamur haline getirildikten sonra koni şeklinde hazırlanan şeklidir.

Sıvı İlaç Şekilleri

1. Tentür: Herhangi bir ilacın alkoldeki eriyiğidir. Yani ilacı alkol içinde eritmek suretiyle hazırlanan bir ilaç şeklidir. Mesela: Tentürdiyot, İyodun alkol içindeki eriyiğidir.

2. Sulu Mahsuller (Solüsyonlar): İlacın suda eritilmiş şeklidir.

3. Şurup: İlacın koyu şekerli suda eritilmiş şeklidir.

4. Ampul: Ampul adı verilen kapalı cam bir muhafaza içersinde saklanan steril ve sıvı halde olan bir ilaç şeklidir.

İlaç analizlerinin yapılabilmesi için, önemli olan öncelikle analiz için kullanılacak aletler ve elde edilecek verilerin anlaşılabilir hale getirilebileceği matematiksel metotlardır. Analitik çalışmalarda tek başına, iki veya daha fazla aktif bileşiği içeren karışımların kantitatif analizi için spektrofotometri, spektrofotometri, infraredspektrofotometrisi, voltametri (polorografi), kromatografi, kütle spektrometresi ve bu yöntemlerin kombine şekilleri kullanılmaktadır (Kaya, 2007).

Günümüzde analiz için kullanılan UV/Görünür Bölge spektrofotometreler ucuz ve hassas olmakla birlikte karmaşık sonuçlar vermektedir. UV/Görünür aletlerinin kullanılması tek etken madde içeren ilaçların analizinde herhangi bir sorun oluşturmazken birbiri ile çakışan spektrum veren ilaç karışımları analizinde sorunlar oluşabilir. Analiz işlemlerinde daha kesin, daha doğru, daha hızlı, daha ekonomik ve daha güvenilir sonuçlara ulaşmak için yeni teknik ve yaklaşımlara ihtiyaç vardır (Çetin, 2008).

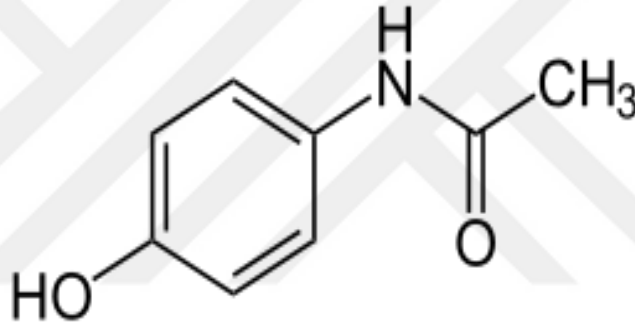
Analitik kimyada hiçbir ön ayırma işlemi yapmaksızın kombine ilaç numunelerinin aynı anda kantitatif analizi son derece önemlidir. Analitik yöntemler geliştirmek amacıyla, klasik analitik yöntemler ile birlikte değişik matematiksel algoritmalara dayanan hesaplama teknikleri kombine olarak uygulanmaktadır. Klasik analitik yöntemler ile kemometrik kalibrasyonların karışım analizlerinde

başarılı sonuçlar vermesi nedeniyle ilaç numunelerinin analizinde artan yoğunlukta kullanılmaktadır (Kaya, 2008).

Bu çalışmada ilaç etken maddelerinden Parasetamol, asetilsalisilik asit ve Vitamin C miktar tayinlerini UV spektroskopisi yöntemiyle tayin edip elde edilen verilerin kemometrik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu bölümde analizi yapılacak bu etken maddeler ve uygulanan yöntemler hakkında bilgi verilecektir.

1.1. Parasetamolün Genel Özellikleri

Kapalı formülü $C_8H_9NO_2$ olan Parasetamol'ün kimyasal yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



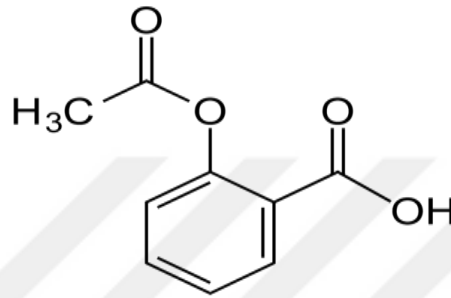
Şekil 1.1. Parasetamolün kimyasal yapısı

Parasetamol'ün molekül ağırlığı 151,17 olup %63,56 C, %6,00 H, %9,27 N, %21,17O içermektedir. Parasetamol'ün kimyasal adı N-(4-Hidroksifenil)asetamid veya 4-Hidroksiasetanilid'tir. Parasetamol'ün diğer adları ise Asetaminofen; p-Hidroksiasetanilid; p-Asetamidofenol; p-Asetaminofenol; N-Asetil-p-aminofenol'dür. Parasetamol beyaz kristal veya granül şeklinde bulunabilir. Erime noktası 169-170,5°arasındadır. Parasetamol, mutad dozda oral alımının ardından tamamına yakını gastrointestinal kanaldan emilerek 30 dakika içinde analjezik etki göstermeye başlar ve 90 dakikada en yüksek plazma derişimine ulaşır. Analjezik etkisi 3-4 saat sürer. Oral biyoyararlanımı %63-89 olup karaciğerden ilk geçiş etkisine maruz kalma oranı düşüktür. Eliminasyon yarılanma ömrü 3,3 saattir. Parasetamol, yeni çıkan pek çok analje-

zik ilaca oranla oldukça ucuzdur ve hamilelikte dahi güvenle kullanılmaktadır. En eski ve en güvenilir ağrı kesicilerden olan parasetamol'ün analjezik etki mekanizması, henüz kesin olarak bilinmemektedir (Wales, 2017).

1.2. Asetilsalisilik Asitin Genel Özellikleri

Kapalı formülü $C_9H_8O_4$ olan Asetilsalikasit'in kimyasal yapısı Şekil 1.2 'de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Asetilsalisilik asit'in kimyasal yapısı

Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

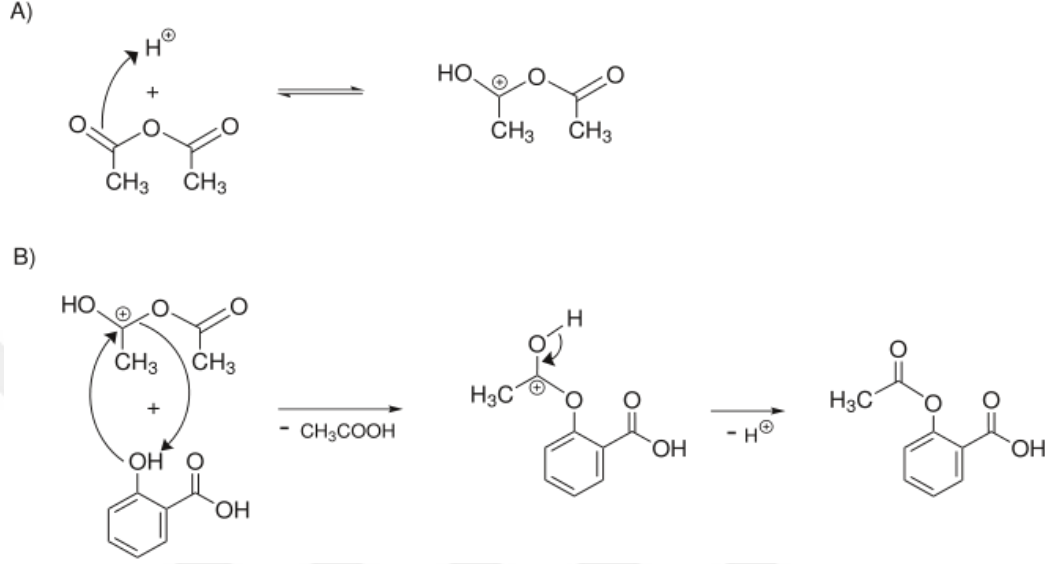
Asetilsalisilik asit, düz ya da çivi şeklindeki kiristal halinin yanı sıra beyaz toz halinde de bulunabilir. Hafif olarak sirke asiti gibi kokar. pK_s -Değeri 3,5 civarında olup yaklaşık olarak $136\text{ }^{\circ}\text{C}$ de erir ve $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'nin üstünde ki sıcaklıklarda yapısı bozulur. Asetilsalisilik asit Etanol ve Alkali bazlarında iyi çözülmesine rağmen, benzol'de ya da soğuk suda kötü çözülür. Sıcaklığın yükseltilmesiyle çözünürlük dereceside doğru oranda artmaktadır.

Kullanım sırasında kolay çözülmesini sağlamak için yapısına Magnezyum- ve Kalsiyum tuzları ilave edilmektedir. Asetilsalisilik asit yoğunluğu $1,35\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 'dir.

Aspirin ya da asetilsalisilik asit (kısaca ASA), genellikle ufak ağrı ve sızılar için kullanılan ağrıkesici ve ateş düşürücü bir ilaçtır. Ayrıca kan seyreltici etkisi vardır ve kalp krizine karşı koruma sağlaması amacıyla uzun dönem az dozaj kullanılır. Aşırı dozda kullanımı yüzünden her yıl yüzlerce kişi ölümcül etkilere maruz kalsa da, genel olarak aspirinin faydalı bir ilaç olduğu kabul edilir.

Sentezi

Salisilik asidin karboksi grubuna göre orto konumunda bulunan fenolikhidroksi grubu asetik anhidridle tepkimeye girer. Bu tepkimeye asetilasyon denir. Bu tepkime de hidroksi grubuna ayit hidrojen atomu asetilgrubuya değiştirilir.



Şekil 1.3. Asetilsalisilik Asit'in sentezi

Bunun yanında Kolbe-Schmitt-Tepkimesi adı verilen yöntemin yardımıyla endüstriyel olarak üretilmektedir. Bu yöntemde Salisilik asit ile protonasyonlu asetik anhidrid ve fenolikhidroksi grubuyla esterleşerek salisilik asit sentezi gerçekleşmiş olur. Diğer bir alternatif yöntem ise Kolbe-Schmitt-Tepkimesi'nin ürünü olan Sodyum salisilat direk olarak asetik anhidrid ile asetilasyon tepkimesine sokulur, böylelikle Salisilik asit sentezlenmiş ve bunun yanında ortamda bulunan miktar kadar da sodyum asetat sentezlenmiş olur.

Hammaddesi

ASA'nın hammadde sorunu yoktur. Hemen hemen dünyanın her ülkesinde yetişen söğüt ağacından elde edilir. Bu ağacın tedavi edici özelliği 3500 yıldır biliniyor. Yaprak ve kabuklarından tabii olarak üretilen bitkisel ilaçlar eski çağlarda da ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılıyordu. Hipokrat, salisilik asidin farkında olan ilk hekimlerden biridir. Bazı rahatsızlıkların tedavisi için reçetesi-ne söğüt ağacı kabuğundan sağlanan suyu ilaç olarak yazmıştır. Suda bulunan ve

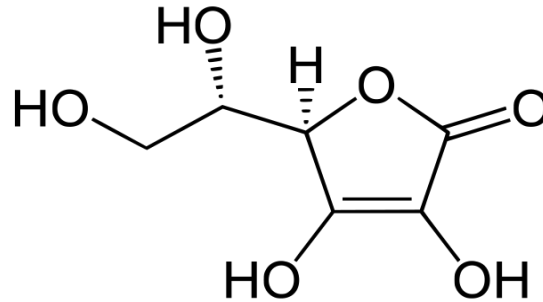
ağrıyı hafifleten madde bugün bildiğimiz tanımıyla salisilik asittir. Maddenin adı ile kökeni arasında bir bağ vardır. *Salix* kelimesi Latince söğüt anlamına gelir.

Edward Stone 1763'te, söğüt kabuklarını kurutup toz hâline getirerek ürettiği maddenin ateşli hastalarda faydalı olduğunu belirliyor ve Londra Kraliyet Cemiyeti'ne bildiriyor. Maddeyi su ve çay gibi sıvılarda eriterek hastalara veriyor.

Aspirin'in, Plus C ve Forte türleri de var. Plus C'de, ASA ile beraber C vitamini de içeriğe ilave ediliyor. Böylece soğuk algınlığında daha etkili olduğu ifade ediliyor. İngiltere Caridiff Üniversitesi Soğuk Algınlığı Merkezi Direktörü Profesör Ronald Eccless, 272 gönüllü üzerinde yaptığı çalışmada, C vitamini takviyeli ASA'nın soğuk algınlığına bağlı boğaz ağrılarını altı saat süreyle giderdiği; baş ve kas ağrılarında da belirgin iyileşme sağladığı sonucuna ulaşıyor. 1972 yılında piyasaya sunulan Plus C, suda eritilerek vücuda alınıyor. Forte'de ise içeriğe kafein ekleniyor. Buradaki amaç da ağrı kesici etkisini artırmak (Wales, 2017).

1.3. Vitamin C'nin Genel Özellikleri

Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan vitamin C'nin kimyasal yapısı Şekil 1.4' de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Vitamin C (askorbik asit) kimyasal yapısı

Kimyasal ve Fiziksel özellikleri

Askorbik asit bir monosakkarit türevidir olup yapıca glikoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzer. Renksiz, beyaz, dikdörtgen kristallerdir. Çok hafif özel bir kokusu vardır. Ekşi tatlı ve asit reaksiyondadır. Optikçe aktiftir. Polarize

ışığı sağa çevirir. Asetonda çok zor çözünür. Eter, petrol eteri, benzen, kloroform ve yağlarda çözünmez.

C vitamini kimyasal olarak askorbik asidin ışığı sola döndüren enantiyomeridir. Ticari C vitamini genelde askorbik asit kristallerinden veya askorbik asidin kalsiyum veya sodyum tuzlarından oluşmaktadır.

C vitamini (askorbik asit) omurilik, akciğer ve göz gibi pek çok hayvansal dokunun sulu bölümlerinde oldukça yüksek yoğunlukta (milimolar ve üstü) bulunur. Bazı meyveler yüzde 1'den fazla (~6 mM) içerebilir. İnsan kanı plazmasında normal olarak 0,1 mM düzeyinde bulunur.

Tarihçesi

Askorbik asit üzerinde ilk bilimsel araştırmalar 1907'de Holst ve Frolich tarafından yapılan deneylerle başlar. Araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddesinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlardır.

C. Funk 1912'de skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya koymuş ve bu maddeye *antiskorbutik vitamin* adını vermiştir. Daha sonra Drummond 1920'de antiskorbutik vitamin için Vitamin C adını kullanmıştır. Zilva ve çalışma arkadaşları (1918-1929) limondan antiskorbutik faktörü yoğunlaştırma üzerinde çalışmışlar ve hemen hemen saf askorbik asit bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenerek izole edilmiştir.

Askorbik asit ve vitamin C, L-ksiloaskorbik asidin günümüzde yaygın olarak kullanılan iki ismidir. Bununla beraber tarihsel gelişimi sırasında cevitamik asit, antiskorbutik vitamin, heksuronik asit, skorbutamin ve redoxon olarak adlandırılmıştır. Diğer kimyasal isimleri; L-askorbik asit, 3-Oxo-L-glufuranol aktonel (enol form), L-3-ketotreo heksuronik asit laktondur.

Kaynakları ve Kullanım Alanları

Askorbik asit bütün canlı dokularda bulunur. Doğada çok yaygın şekilde bulunan bu vitaminin en zengin kaynaklarını taze meyveve sebzeler ve çiğ et oluşturur. Meyveler arasında en çok askorbik asit içerenler; limon, portakal, greyfurt, kivi, ananas, çilek ve frenk üzümüdür. Elma, armut ve erik ise bunlara göre daha

az miktarda askorbik asit içerir. Bu meyvelerden özellikle sitrus meyveleri (limon, portakal, greyfurt), kivi ve domatesin dış kısımları (kabuk) askorbik asit bakımından zengindir.

Sebzeler, özellikle kuşburnu, karnıbahar, lahana, ıspanak, kuru soğan, biber, turp, tere, maydanoz ve yer elması askorbik asit bakımından en zengin kaynaklardır. Aşağıdaki tabloda çeşitli sebze ve meyvelerin askorbik asit değerleri görülmektedir. Askorbik asit sadece meyve ve sebzelerde bulunan bir madde olmamakla beraber birçok hayvansal ürünlerde de bu maddeye rastlamak mümkündür. Örneğim İnek karaciğerinin 100 g'da yaklaşık 0,036 g Askorbik asit bulunmaktadır.

Çizelge 1.1. Çeşitli Sebze ve Meyvelerde Askorbik Asit Miktarları

Çeşitli Sebze ve Meyvelerde Askorbik Asit Miktarları.			
Sebze-meyve	Askorbik asit (g/100g)	Sebze-meyve	Askorbik asit (g/100g)
Kuşburnu	0,450	Portakal	0,050
Taze kırmızıbiber	0,340	Limon	0,030
Maydanoz	0,180	Lahana	0,042
Şalgam yaprağı	0,130	Greyfurt	0,043
Asma yaprağı	0,120	Mandalina	0,030
Yeşil sivri biber	0,100	Şeftali	0,028
Karalahana	0,094	Domates	0,023
Kivi	0,090	Ahududu	0,022
Karnıbahar	0,080	Böğürtlən	0,020
İspanak	0,050	Taze fasulye	0,020
Çilek	0,070	Patates	0,016
Kızılcık	0,055		

Önemi ve eksikliği

C vitamini (askorbik asit), insanlar için zorunlu bir besindir. Beslenme rejiminde askorbatın eksikliği iskorbüt hastalığına yol açar. Bu hastalık, halsizlik, kolayca kanayan diş etleri, ciltte morluklara neden olan deri altında küçük kanamalar, saçların kıvrılması, hiperkeratosis, eklem ağrısı, nefes darlığı ve letarji (uyuşukluk) şeklinde kendini gösterir. C vitamini eksikliğinin önemli bir erken belirtisi de bitkinliktir.

En son 1989'da Ulusal Bilimler Akademisi Gıda ve Beslenme Heyeti tarafından tavsiye edilen günlük C vitamini alım miktarı 60 mg'dır. Ancak son veriler bu tavsiyelerin dayandığı verilerin hatalı olabileceğini ve tavsiye edilen alım miktarının günde 60 mg'dan fazla olması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu konular aşağıda daha geniş olarak ele alınacaktır. Ayrıca belirli popülasyonların daha fazlasına ihtiyaç duyduğunu gösteren kanıtlar da vardır. Sonuç olarak hamile kadınlara günde 70 mg, emzikli kadınlara günde 95 mg ve sigara içenlere de günde 100 mg tavsiye edilmektedir.

Pauling 1970 yılında yayınladığı araştırmasında günlük miktarın 2-3 g olması gerektiğini ileri sürmektedir. SSCB'de yapılan çalışmalar ise bu miktarın 70-700 mg olduğunu göstermiştir. Günlük askorbik asit gereksinimi olarak çeşitli kaynaklar tarafından önerilen miktarlar arasında farklılıklar vardır. Bunun sebebi askorbik asit ihtiyacımızın ampirik esaslara dayandığıdır. Günlük askorbik asit gereksinimi yaş ve cinsiyete bağlı olarak da değişmektedir (Wales, 2017).

1.4. Kullanılan Yöntem

1.4.1. UV ve görünür bölge spektroskopisi

Her madde üzerine düşürülen ışıklardan bazılarını absorplayabilir. Maddenin hangi dalga boylarındaki ışınları absorplayacağı kendine özgüdür. Bundan yararlanılarak nitel analiz yapılabilir. Bir maddenin absorplayacağı ışın şiddeti ise madde miktarı ile orantılıdır. Bundan yararlanılarak da nicel analiz yapılabilir. Bu amaçla madde üzerine çok çeşitli enerjilere sahip ışınlar gönderilebilir. Madde ile etkileşen ışının enerjisi değiştiğinde madde ile etkileşim mekanizması da değişir. Buna bağlı olarak ölçüm tekniğinin de değişmesi gerekir. Bu nedenle elektromanyetik spektrumun tümü için ölçüm yapılabilecek tek bir cihazın bulunması mümkün değildir. Elektromanyetik spektrumun farklı bölgeleri için farklı cihazlar kullanılır. Dalga boyu 110 nm – 1000 nm arasındaki UV ve görünür bölge ışınları ile çalışılabilen cihazlara UV ve Görünür Bölge Spektrofotometreleri denir. Bu bölgedeki ışınların absorplanmalarının ölçümlerini temel alan analitik yöntem de UV ve Görünür Bölge Spektroskopisi denir. UV ve görünür bölge ışınları molekülün en üst enerji seviyesindeki bir elektronun daha yüksek bir enerji düzeyine geçiş yapmasına sebep olur. UV ve görünür bölge ışınları, moleküllerde benzer etki yaptığı için birleştirilmişlerdir. Hem organik, hem de anorganik moleküller UV ve görünür bölge ışınlarını absorplarlar. Her iki grup molekülde de ışın absorpsiyonu elektron geçişi ile gerçekleşmesine rağmen etkileşim mekanizmaları farklıdır. Organik moleküllerdeki absorpsiyon molekül orbital teorisine göre, anorganik moleküllerdeki absorpsiyon ise kristal alan teorisine göre açıklanır.

1.4.2. UV ve görünür bölge absorpsiyon spektrofotometreleri

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyonspektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometre düzeneği Şekil 1.5’de görüldüğü gibi başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi ve dedektörden oluşur. Dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür.



Şekil 1.5. Bir spektrofotometrenin temel bileşenleri

1.4.3. UV ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon spektroskopisinin uygulamaları

Bu yöntemin başlıca uygulama alanları şunlardır.

1.4.3.1. Nitel Analiz: Analizi yapılacak olan bilinmeyen madde saflaştırıldıktan sonra uygun bir çözücünde çözülerek spektrumu alınır. Bu spektrum bilinen bileşiklerin aynı koşullarda çekilmiş spektrumları ile karşılaştırılır. Bilinmeyen madde spektrumu kendisinininkine tam olarak uygun maddedir. Bu yöntem nitel analiz için çok uygun bir yöntem değildir. Çünkü moleküllerin absorpsiyon bantları oldukça geniştir ve bazı kromoforların absorpsiyon bantları birbiri ile örtüşebilir. Ayrıca moleküllerin UV ve görünür bölge absorpsiyon spektrumlarında çok az sayıda bant bulunur. Bu az sayıda bandın birbiri ile karşılaştırılarak karar verilmesi bazen hatalı sonuçlara yol açabilir.

1.4.3.2. Nicel Analiz: Işının absorptiyonuna dayanan analiz yöntemleri nicel analiz için oldukça yararlı ve güçlü yöntemlerdir. Bu yöntemlerin klasik yöntemlere göre önemli avantajları vardır.

- Analiz süresi kısadır. Sonuç çabuk alınır.
- Doğruluk derecesi yüksektir. Çoğunlukla analizlerdeki hata binde bir veya iki civarındadır.
- Oldukça duyarlı bir yöntemdir. 10^{-8} M a kadar seyreltik çözeltilerin bile analizleri yapılabilir.
- Her maddenin kendine özgü bir absorpsiyon spektrumu olduğu için seçiciliği yüksektir. Çoğunlukla bir karışımındaki maddeler bir ön ayırma işlemine gerek kalmaksızın analizleri yapılabilir.
- Hem organik hem de anorganik pek çok molekül UV ve görünür bölge ışınları absorptiyonladığından uygulama alanı geniştir (Şener,2006).

1.5. Kemometrik Yöntemler

Kemometri kelimesi ilk olarak 1970’li yılların ortalarında, İsveçli organik kimyacı SvanteWold tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Bilgisayar teknolojisinin gelişmesiyle başlayan ve İngilizce’de“**computational chemistry**” olarak adlandırılan ve bilgisayar destekli kimya olarak adlandırılan bilim dalındaki gelişmeler sonucu ortaya çıkan bir kelimedir. Bu kelime, İngilizcede kimya ve ölçme kelimelerinin bir araya gelmesinden meydana gelmiştir ve kimyada uygulanan çeşitli ölçme ve değerlendirme işlemlerine bilimsel bir yaklaşımı ifade etmekte ve içermektedir. Kemometri, matematiksel ve istatistiksel metotları kimyasal verilere uygulama işlemidir. Uluslar arasıkemometri derneğinin (ICS) tanımına göre kemometri; kimyasal ölçümlerle, matematiksel ve istatistiksel uygulama yöntemleri arasında ilişki kuran bir bilim dalıdır. Deneysel parametrelerin optimizasyonu, deney tasarımı, kalibrasyon, sinyal işleme gibi çeşitli teknikler kullanılarak veri elde edilir. Bu verilerden bilgi edinmek için ise, istatistik, kalıp tanıma, modelleme, yapının niceliğini değerlendirme gibi teknikler kullanılır. Kemometri;

- İstatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplini.
- Kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ekstraksiyonunu ve yasaklı bilgilerin açığa çıkarılmasına olanak tanıyan güçlü bir araçtır.

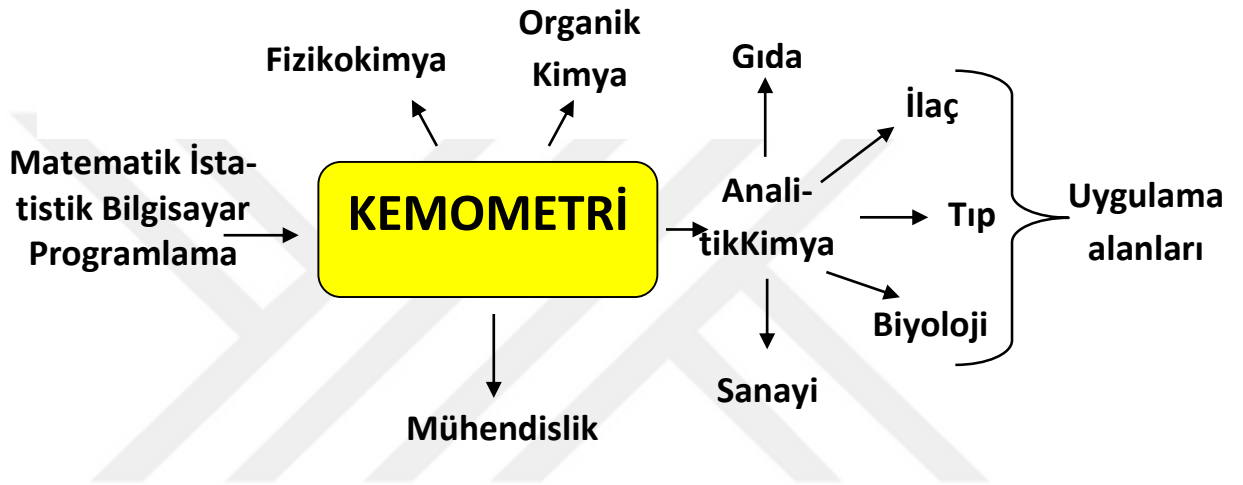
Kemometrinin temel uygulama alanlarından biri de analiti kimyadır. Kemometri kimyada özellikle analitik kimyada kompleks numunelerin analizinde hızlı, doğru, kesin ve güvenilir sonuçlara ulaşmak için esnek ve çok yönlü çözümler sunar.

Nümerik yöntemler olarak da adlandırılan kemometrik yöntemler son yıllarda spektrumlardan elde edilen ölçüm değerlerinin bilgisayar destekli programlar ile lineer denklem sistemlerinin çözümüne dayalı kalibrasyonların ve ölçüm değerlerinin dekompozisyonunu içeren algoritmalar kullanılarak kalibrasyonların kurulduğu matematiksel yöntemlerdir. Günümüzde kemometrik yöntemlerin gelişmesiyle birden fazla etken madde içeren ürünlerin kantitatif analizi hiçbir kimyasal ön ayırma işlemi ve hiçbir grafik işlemi gerektirmeksizin hızlı, doğru ve hassas olarak gerçekleştirilmektedir. Kemometrik hesap yöntemlerini

spektrofotometrik, elektrokimyasal ve kromatografik ölçüm cihazlarından elde edilen verilere uygulamak mümkündür. Birden fazla etken maddenin bir arada bulunduğu bileşiklerde bu etken maddelerin aynı bölgede absorbands vermeleri sonucunda spektral girişimleri nedeniyle doğrudan kantitatif analizleri mümkün olmadığı için bir ayırma işleminin ardından ancak arı analizleri yapılabilir. Bu durum, uzun yıllar ürün analizlerinde UV-görünür alan spektrofotometrelerin kullanımını kısıtlayıcı bir faktör olmuştur. Ancak günümüzde karışım analizlerinde UV-görünür alan spektrofotometrisi, kemometrik yöntemlerin kullanımıyla tekrar güncellik kazanmıştır. Kemometrik yöntemlerle bir maddenin kantitatif analizi, maddenin UV-görünür alan spektrumundaki birden fazla dalga boyundaki absorbands ölçümleri kullanılarak, daha hassas bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Son yıllarda classicalleastsquares(CLS), principalcomponent-regression (PCR) ,partialleastsquares (PLS) ve artifialneural network gibi kemometrikyöntemler analitik kimyacıların sık sık kullandıkları yöntemler olmuştur. Kompleks karışımların kantitatif analizinde kemometrik yöntemler, spektrumlardan ölçülen absorbands değerleri ile konsantrasyonlar arasındaki kalibrasyon algoritmalarına göre kalibrasyonlar hazırlanır ve bu kalibrasyonlarda çok sayıda dalga boyunun ölçümlerde kullanılması sonucunda ortalama nedeniyle gürültü piklerinin etkisi ya tamamen ortadan kaldırılır yada azaltılır. Bu kemometrikkalibrasyonların hesaplanması matriks matematiği içeren bilgisayar programları ile yapılmaktadır. CLS, PCR, PLS ve ANN kalibrasyon algoritmalarına ek olarak kompleks karışımlardaki etken maddelerin analizinde son zamanlarda kullanılmaya başlanan bivariate kalibrasyon (BC) ve multilinearregression kalibrasyon (MLRC) yöntemleri de kompleks karışımların analizinde son derece başarılı sonuçlar vermektedir. Bu bivariatekalibrasyon ve multilinearregression kalibrasyon yöntemleri PCR ve PLS gibi soyut vektör işlemlerini de içermediği gibi basit bir matematiksel algoritmaya sahip olmaları diğer kemometrik kalibrasyon yöntemlerine alternatif oluşturmaktadır. Kemometri günümüzde lineer cebir matematiğine dayalı olarak bilgisayar destekli kalibrasyonlar kurularak kantitatif analizlerin yapılmasına olanak tanıyan Analitik Kimyanın bir koludur (Vandeginste vd., 1998).

Bu çalışmada ilaç etken maddelerinden Parasetamol, asetilsalisilik asit ve C Vitamini miktar tayinlerini UV spektroskopisi yöntemiyle tayin edip elde edilen verilerin kemometrik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu bölümde analizi yapılacak bu etken maddeler ve uygulanan yöntemler hakkında bilgi verilecektir.

Kemometrinin farklı disiplinler ile ilişkileri Şekil 1.6'da sunulmaktadır.



Şekil 1.6. Kemometrinin ilişkili olduğu alanlar

1.5.1. Çok değişkenli kalibrasyon algoritmaları (Multivariate calibration algorithms)

1.5.1.1. Klasik en küçük kareler yöntemi (Classical LeastSquares (Kmatris) method)

Klasik en küçük kareler kalibrasyon yöntemi, spektrofotometrik veya diğer analitik cihazlardan elde edilen ölçüm verilerinden oluşan lineer denklem sistemlerine, Beer-Lambert yasasının uygulanmasıdır. Burada açıklamalar spektrofotometrik çalışmalar için yapılmaktadır. $A = K \times C$ (Lambert-Beer yasasına göre)'dir. Bu denklem lineer denklem sistemleri ile ifade edilecek olursa;

$$A_1 = K_{11}C_1 + K_{12}C_2 + \dots K_{1c}C_c$$

$$A_2 = K_{21}C_1 + K_{22}C_2 + \dots K_{2c}C_c$$

$$A_3 = K_{31}C_1 + K_{32}C_2 + \dots K_{3c}C_c$$

$$A_w = K_{w1}C_1 + K_{w2}C_2 + \dots K_{wc}C_c$$

Burada A= ölçülen sinyal, K= ölçüm için seçilen noktalardaki katsayılar, C= analiz edilen bileşiğin konsantrasyon.

Yöntemin basit algoritması :

$$A_{pxq} = K_{pxj} \cdot C_{jxq} \quad (1)$$

$$K = (A_{pxj} C_{qxj}) \times (C_{pxj} C_{qxj}^T)^{-1}$$

$$K^* = (K_{jxp}^T K_{pxj})^{-1} K_{jxp}^T$$

$$C_{jxp} = K^* \cdot A_{sample}$$

a) Yöntemin avantajları;

- i) hesaplamalar hızlıdır,
- ii) kalibrasyonlarda dalga boyu seçimi gerektirmez,
- iii) dalga boylarının sayısı bileşenlerin sayısından fazla olsa da kullanılabilir,
- iii) dalga boylarının sayısı bileşenlerin sayısından fazla olsa da kullanılabilir,
- iv) geniş bir spektral alanda çok sayıda dalga boyunun absorban ölçümleri kalibrasyonda kullanılabilir,
- v) PCR ve PLS'ye göre basit bir matematiğe sahiptir.

b) Yöntemin dezavantajları;

- i) bu kalibrasyonda kalibrasyonkarışımlarının her bileşen için tam olarak kompozisyonunun bilinmesigerekir,
- ii) spektrofotometride grafik yöntemlerin uygulanmasında olduğu gibi CLS kalibrasyon için de birbiriyle etkileşen bileşenlerin bulunduğu karışımların analizi için uygun değildir.

1.5.1.2. Ters en küçük kareler (P-matris) yöntemi (Inverse Least Squares method)

ILS yöntemi lineer denklemler sisteminin spektroskopide Beer-Lambert yasasının ters ifadesinin lineer denklem sistemine uygulanmasını içerir:

$$C = P \times A \quad (2)$$

Bu 1 nolu denklem aşağıda verilen lineer denklem sistemi şeklinde yazılabilir:

$$C_1 = P_{11}A_1 + P_{12}A_2 + \dots P_{1w}A_w$$

$$C_2 = P_{21}A_1 + P_{22}A_2 + \dots P_{2w}A_w$$

$$\dots \dots \dots (3)$$

$$\dots \dots \dots$$

$$C_c = P_{c1}A_1 + P_{c2}A_2 + \dots P_{cw}A_w$$

Yukarıdaki denklemler sisteminde A = ölçülen absorbans değeri,

P=kalibrasyon katsayısıdır, C = bileşenin konsantrasyonudur.

Yöntemin basit algoritması :

$$C_{kxq} = P_{kxp} A_{pxq} \quad (18)$$

$$P = (C_{kxq} A^T (A_{pxq} A_{qxp}^T)^{-1})$$

$$C_{sample} = P_{kxp} \cdot A_{pxq}$$

a) Yöntemin avantajları;

- i) numune için ölçülen absorbans değerleri, formülde yerine konduğu zaman doğrudan konsantrasyonu hesaplamak mümkündür, bu da hesaplamalarda zaman kaybını ortadankaldırmaktadır,
- ii) analiz edilen bileşiklerin bilinmesi şartıyla bu kalibrasyon modeli çok kompleks karışımların analizine olanak tanır,

b) Yöntemin dezavantajları;

- i) kalibrasyon için kullanılan dalga boyunun seçimi zor ve zaman alıcı olabilir,
- ii) dalga boylarının sayısı kalibrasyon numunelerinin sayısı ile sınırlanan modeller kullanılır,
- iii) genellikle çok sayıda numune kullanılması doğru bir kalibrasyon için gereklidir, çünkü katsayı matrisinin hesaplanmasında matris determinant değerinin "0" çıkması sonsuz çözüm gerektirmesi nedeniyle sakınca doğurur, bunu aşmak için de kalibrasyon setindeki seri sayısını artırmak gerekir,
- iv) kalibrasyon numunelerinin hazırlanması ve bir ön kalibrasyon vasıtasıyla ölçüm son derece zor ve sıkıntılıdır

1.5.1.3. Temel bileşen regresyon yöntemi (Principal component regression (PCR) method)

Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinden birisi olan temel bileşen regresyon yöntemi, konsantrasyon seti için ölçülen absorbands verilerinin dekompozisyonu ile birbirine dik (ortogonal) doğrular elde edilmesi esasına dayanır. Bu elde edilen doğrular kurulacak kalibrasyonun koordinat sistemidir.

Burada açıklanan PCR algoritması Martens ve Naes (1984) tarafından verilen şemaya göre açıklanmaktadır. PCR kalibrasyonu kurulmasındaki basamaklar aşağıdaki biçimdedir:

Analiz edilecek maddenin konsantrasyon ve absorbands verilerinin varyans-kovaryansı bulunur. Varyans-kovaryans saçılma matriksinin öz vektörleri ve öz değerleri hesaplanır. Seçilen öz değere (eigenvalue) karşılık gelen öz vektör (eigenvector) kalibrasyonun lineer bileşenidir. PCR algoritmasında genel lineer regresyon denklemi aşağıdaki

biçimde yazılabilir:

$$C = a + b \cdot A \quad (4)$$

Burada C analiz edilecek maddenin konsantrasyonudur, a sabit sayı, b ise temel bileşenlerin ve C-loadingmatriksinin (q) çarpımından elde edilir:

$$b = P \cdot q \quad (5)$$

Burada P öz vektörlerin matriksidir. Öz vektörler kolon matriksi en uygun öz değere (faktöre) ya da öz değerlere (faktörlere) karşılık gelmektedir.

Burada q vektörü C-loadings olarak adlandırılır ve T (sayı matriksi) üzerinden C'nin regresyonu ile tayin edilir:

$$q = D \cdot T^T \cdot Y_0 \quad (6)$$

Burada D diagonal matriks olup herbir öz değer tersine eşittir. t₁ sayı matriksi aşağıdaki eşitlikten elde edilebilir :

$$t_1 = A_0 \cdot P_1 \quad (7)$$

Ortalanmış absorbands ve konsantrasyon, A₀ ve C₀ ile gösterilebilir. Burada a sabiti genel lineer regresyon denklemi kullanılarak aşağıdaki eşitlikten hesaplanabilir :

$$a = C_0 - A_0^T \cdot b \quad (8)$$

Herbir aşamada elde edilen değerler 2 no'lu denklemde yerine konularak numunede bilinmeyen konsantrasyonu hesaplanabilir.

a) Yöntemin avantajları;

- i) dalga boyu seçimi gerektirmez, genellikle bütün spektral alan ya da bu spektral alanın geniş bir bölgesi kullanılabilir,
- ii) çok bileşen analiz için kullanılabilir,
- iii) PCR data işlemleri için ve kalibrasyondaki katsayılarının hesaplanmasında ILS regresyon işleminin kullanılmasına olanak tanır.
- iv) analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla çok kompleks karışımlar için kullanılabilir,
- v) bazen orijinal kalibrasyon karışımlarında bulunan fakat numunede bulunmayan bileşenlerin miktar tayininde kullanılabilir,
- vi) kalibrasyon için ölçülen absorbanslarındekompozisyon işleminden sonra uygun öz vektörlere karşılık seçilen öz değerlerin deneysel ortamdan ve ölçüm aletlerinden gelen gürültünün eliminasyonuna olanak tanır.

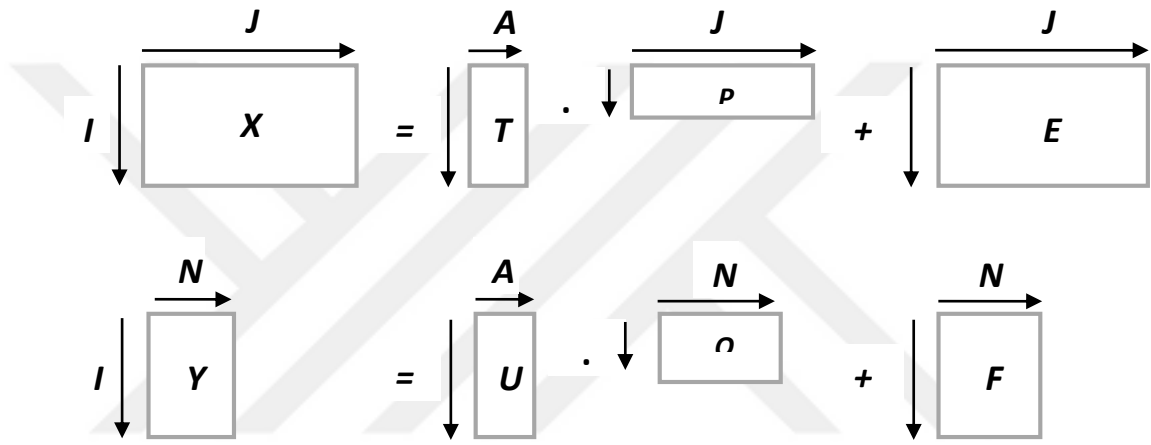
b) Yöntemin dezavantajları;

- i) hesaplamalar klasik yöntemlere göre daha yavaştır,
- ii) yöntemin optimizasyonu temel kalibrasyonkomponentlerinin bazılarının bilinmesini gerektirir (anlaşılması ve yorumlanması çok kompleks modeller için),
- iii) kalibrasyon için temel alınan vektörler analiz edilecek bileşenlere karşılık gelmeyebilir,
- iv) genellikle çok sayıda kalibrasyon numunesinin kullanılması doğru bir kalibrasyon için gereklidir,
- v) kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin konsantrasyonları ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur.(Dinç.2007)

1.5.1.4. Kısmi en küçük kareler yöntemi (Partial least squares regression method)

Kemometrik kalibrasyonlardan en yagın ve popüler olanı PLS yöntemidir. PLS yönteminde kalibrasyonun kurulması için kullanılan PLS algoritmalarına göre, ortogonalize edilmiş PLS algoritması (orthogonalized PLS algorithm) ve ortogo-

nalize olmayan PLS algoritması (non-orthogonalized PLS algorithm) gibi şekilleri vardır. Ortogonalize PLS ve ortogonalize olmayan PLS algoritması arasındaki temel fark X den faktörlerin çıkarılmasındadır. PLS kalibrasyonunun PLS1 ve PLS2 şeklinde iki tipi söz konusudur. PLS1 de bir bileşik model içerisinde iken; PLS2 de bütün bileşikler modele dahil edilmektedir. Wold ve Martens tarafından verilen PLS algoritması en genel olanlardandır. PLS kalibrasyonu, sayı vektörleri vasıtasıyla X- ve Y-blokları arasındaki ilişkiye dayanır. PLS algoritmasına göre sıfır etrafında merkezleştirilmiş X-değişkeninin matrisi ve sıfır etrafında merkezleştirilmiş Y-değişkeninin parçalanması aşağıdaki biçimde verilir.



Şekil 1.7. PLS2 kalibrasyonu

$$X = T P^T + E \quad (9)$$

$$Y = U Q^T + F$$

$$Y = X B + F$$

$$B = W (P^T W)^{-1} Q^T$$

Burada X= bağımlı değişken (örneğin absorbans verileri), Y = bağımsız değişken (örneğin konsantrasyon), T = X için sayı matrisi, U= Y için sayı matrisi, P = X için yük matrisi Q= Y için yük matrisi, E = X-kalıntı matrisi, F=Y-kalıntı matrisi, W= max(kovaryans(E, F) PCR algoritmasında olduğu gibi bu katsayılar (B) lineer regresyon denkleminde yerine konursa analiz edilecek numunenin absorbans değerleri bu eşitlikte yerine yazılarak hesaplanır .

a) Yöntemin avantajları;

- i) PLS kalibrasyon işlemi CLS ve ILS hesap tekniklerini kapsamaktadır,
- ii) tek aşamalı bir dekompozisyon ve regresyon işlemi gerektirir, kalibrasyonda kullanılan öz vektörler analiz edilen bileşenler ile en geniş ortak spektral değişimin olduğu bölgede doğrudan ilişkilidir,
- iii) kalibrasyonlar genellikle kalibrasyon setinin bilinmeyen numunelerden beklenen değişik konsantrasyonlarını yansıtması daha fazla güvenilirlik sağlayacaktır,
- iv) yalnızca analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla kompleks karışımlar için kullanılabilir,
- v) bazı durumlarda orijinal kalibrasyon karışımlarında bulunan fakat numunede olmayan bileşenli numunelerin miktar tayininde kullanılabilir,
- vi) bu tekniklerin hepsi spektral kantitatif analiz için uygulanırken literatürdeki sebepler genellikle PLS'nin tahmin gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Birçok durumda PLS metodları PCR'den daha iyi sonuçlar verir.

b) Yöntemin dezavantajları;

- i) PLS hesaplamaları klasik metodlardan daha yavaştır,
- ii) PLS modellerin anlaşılması ve yorumlanması zor olup son derece soyuttur,
- iii) genellikle çok sayıda numune için doğru bir kalibrasyon gereklidir,
- iv) kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin konsantrasyonları ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur.(Dinç.2007)

1.5.2. Kalibrasyon (konsantrasyon) setinin tasarımı

Kemometrik (CLS, ILS, PCR, PLS) kalibrasyonlar için kalibrasyon seti ya rastgele (randomly) yada analizi yapılacak numunede yer alan maddelerin konsantrasyonlarını içerecek şekilde kalibrasyon (konsantrasyon) setinin tasarımı yapılır. Simetrik kalibrasyon setinin planlamasında analiz edilecek maddelerin konsantrasyonları, kalibrasyon setinin içindeana kümenin permütasyonları şeklinde alt kümeler oluşturmalıdır. Kemometrik çalışmalarda rastgele kalibrasyon setinin hazırlanmasından ziyade, analiz edilecek maddelerin konsantrasyonlarına göre simetrik bir kalibrasyon setinin hazırlanması, elde edilecek sonuçların

doğruluğu ve hataların minimize edilmesi açısından tercih edilecek bir durumdur.

Çalışmalarda konsantrasyon (derişim) seti hazırlamasında, çeşitli tasarım şekilleri verilmekle birlikte rastgele hazırlanan konsantrasyon setleride kullanılmaktadır.

1.5.3. Çapraz validasyon işlemi (Cross-validation procedure)

Kemometrik kalibrasyonların validasyonu için kalibrasyonu ve tayin basamaklarında kalibrasyonun standart hatası (standard error of calibration→ SEC) ve tayinin (tahminin) standart hatası (standard error of prediction→ SEP) gibi parametreler kullanılmaktadır. SEC ve SEP değerlerinin minimum yapan kalibrasyon koşulları ve F-istatistiği kullanılır. Kalibrasyon performanslarını değerlendirmek için, kemometrik kalibrasyonların SEC ve SEP değerleri yanında, bilinen ve tahmin edilen konsantrasyon değerlerinin lineer regresyon analizi yapılarak, korelasyon katsayısı (r), doğrunun eğim (m) ve kesim (n) değerleri kullanılır. PCR ve PLS kalibrasyonlarının kurulmasında faktör seçimi için çapraz validasyon işlemi (cross-validation procedure) kullanılır. Bunun için karaların tahmin (tayin) hatalarının toplamı (prediction error sum of squares→ PRESS) hesaplanır. Optimal faktör sayısını bulmak için önerilen kriterler minimum PRESS değeri ve F-istatistidir.

(Dinç, 2007)

1.5.4. Varyans analizi (ANOVA)

Varyans analizi tekniği kullanılarak grup ortalamaları arasındaki farklılığın veya farklı analitik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olup olmadığına bakılabilir. Bir araştırmada k tane işlemin (veya k tane yöntemin) n tekrarının sonunda elde edilen veriler bir tabloda özet haline getirilir. Sonra kontrol ve karşıt hipotezi aşağıdaki şekilde kurulur.

H₀: İşlemlerin temsil ettiği popülasyon ortalamaları arasındaki fark tesadüften ileri gelmektedir. İşlem ortalamaları arasındaki gözlenen fark sıfır kabul edilebilir:

$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_k$ dır.

H1: En az iki muamele grubunun ortalaması arasında gözlenen fark tesadüften ileri gelmektedir. En az iki işlem grubunun incelenen özellik üzerine olan etkileri birbirinden farklıdır, yani aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Karşıt hipotez kurulurken en az iki işlem arasındaki fark önemlidir denilmektedir. Çünkü kontrol hipotezinin yapılan analiz sonucunda reddedilmesi için denemede dikkate alınan k tane işlemin birbirinden farklı olması gerekmez. En az iki işlem arasındaki farklılık kontrol hipotezinin reddedilmesine sebep olabilir.

Yapılan hipotez kontrolü sonucunda karşıt hipotez kabul edilmiş ise bu en az iki grup ortalaması arasındaki farklılığın önemli olduğu “çoklu karşılaştırma yöntemleri” kullanılarak araştırılır.

Gruplar arası, gruplar içi serbestlik dereceleri ve gruplar arası- gruplar içi kareler toplamı hesaplanır. Bu değerlerin oranlanmasıyla F değeri elde edilir. Elde edilen F değeri F tablosundan ($\alpha:0,05$) okunan değerle kıyaslanır (Dinç, 2009).

Çizelge 1.2. Varyans analizi çizelgesi (Anova testi çizelgesi: analysis of variation)

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F – Değeri
Yöntemler Arası (Gruplar Arası)	k - 1	$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2$	$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 / (k-1)$	$F = \frac{\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2}{k-1} \div \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{k(n-1)}$
Yöntemler İçi (Gruplar İçi)	k (n-1)	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 / (k(n-1))$	
Genel Varyasyon	nk-1	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2$		

1.5.5. Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinin uygulamaları

1.5.5.1. Kemometrik yöntemlerin uygulama alanları

Analitik kimyadaki miktar tayini çalışmalarında, kemometrik kalibrasyon yöntemleri yada çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri IR spektrofotometre, UV-görünür alan spektrofotometre, spektroflorimetre, potansiyometre, elektrokimyasal analizör, kütle spektrometre, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kapiler elektroforez gibi analitik cihazlardan elde edilen analitik veriler uygulanmaktadır. Analitik kimyanın prensip ve yöntemleri çok değişik komşu disiplin tarafından kullanılmaktadır. Bu da analitik kimyanın biyoloji, tıp, ziraat, gıda ve eczacılık gibi alanlarda geniş bir uygulama alanı olduğunu göstermektedir.

Analitik çalışmalarda kemometrik yöntemlerin uygulamaları inorganik analiz, organik analiz, ilaç analizi, klinik ve biyolojik numunelerin analizi, gıda ve su analizleri, çevre analizleri ve stabilite tayinleri, çözünme hızı testleri şeklinde özetlenebilir.

1.5.5.2. Çoklu bileşen analizi (Multicomponent analysis)

Son yıllarda, çoklu bileşen analizi, analitik kimyacılar için en önemli konulardan birisi oldu. Bu bağlamda, aynı anda miktar tayinlerinin klinik kimyası, ilaç analizi, kirlilik kontrolü vb. gibi değişik disiplinler ile ilgili aktif bileşikleri içeren karışımların kantitatif analizi için oldukça kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır. Çok değişkenli kalibrasyonların absorbans sinyallerine uygulanmasıyla çok bileşen analizlerinden elde edilen sonuçların doğruluğu, yöntem ve kullanılan analitik sinyallere bağlıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde tez kapsamında seçilen bileşiklerle ilgili yapılmış kemometrik çalışmalara değinilmiştir.

Medina vd. (1999) yapmış oldukları çalışmada, kafein, asetilsalisilikasit ve parasetamolün aynı anda tayini için hızlı ve kolay uygulanabilen bir analitik metot geliştirmişlerdir. Bu bileşiklerin formasötikpreparallardan tayini için kısmi en küçük kareler metodunu kullanmışlar, analitlerin UV tayinini ve integrasyona dayalı alıkonmalarını çoklu sensör uygulamasıyla belirlemişlerdir. Diode – arrayspektrometrisi kullanılarak, analitlerinspektroları (240- 350 nm) C18 fazla bağlı akış hücrelerinde tayin edilmiştir. Taşıyıcı olarak % 0.5, pH 1 HClO₄ çözeltisikullanılmış, ölçülen aralıkta multisensör cevapları doğrusal olarak tayin edilmiş ve çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Analitlerinspektraları, çokludata ve çoklu değişkenler kullanılarak elde edilmiştir. Metodun farklı reaksiyon zamanlarında uygulanması ile istatistiksel parametreler elde edilmiş ve bileşiklerin aynı anda tayini için gereken optimum reaksiyon zamanı seçilmiştir. Gerçek ve sentetik örneklerin analizi sonucunda doğru ve kesin değerler elde edilmiştir.

Hassan vd. (1999), çalışmalarında rutin, kuersetin ve askorbikasitin karışımlarında, tabletlerde ve kapsüllerde eşzamanlı tayini için UV - spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Kalman filtresi kalibrasyonuna dayanan metot, ya tek bileşen içeren ortogonal deneysel tasarım ya da birden çok bileşen içeren ortogonal olmayan deneysel tasarım kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyonda kati-tatif tayin, ikive üç bileşen içeren sentetik karışımlarda veya konsantrasyon aralığı 2-10 mg/ ml olan oral dozajlarda yapılmıştır. Elde edilen istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Macek vd. (1999), roksitrimisinin insan plasmasında yüksek performans sıvı kromatografisinde 220 nm dalga boyunda heksan: izoamilalkol (98:2, v/v) ile sıvı-sıvı ekstraksiyonuna dayandırılarak bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada klaritromisin iç standart olarak kullanılmıştır. Sonuçlar farmokinatik çalışmalarda kullanılabilir biçimdedir. Spektrofotometrik yöntemin kullanıldığı başka bir çalışma 2014 yılında Merey ve ekibi tarafından yapılmıştır. Bu çalış-

mada amplodip in besilat ve olmesartan medoksomil ve hidroklorotiazidin türev spektroskopisi ile tayini yapılmıştır. 2007 yılında Bosch ve grubunun yaptığı bir çalışmada omeprazol aktif maddesinin günümüzde kullanıldığı tayin yöntemleri yeniden derlenmiştir. Omeprazol tayininde kullanılan yöntemler olarak spektrofotometre (türev yöntemi kullanılmıştır), elektrokimyasal metotlar, HPLC, sıvı kromatografi-kütle spektrometresi, süperkritik alışkan kromatografi ve ince tabaka kromatografiye değinilmiştir. Lotfy ve çalışma arkadaşları 2015 yılında ilaç karışımlarına türev yöntemi uygulayarak üstüste çıkışan spektrumlarda lidokainhidroklorid (LH), flukortolonpivalet (FCP), klorokuinaldol (CQ) tayinini ön ayırma yapmadan gerçekleştirmişlerdir.

Sena vd (2000), asetilsalisik asit ve askorbik asit karışımlarını ultraviolespektrofotometrisi (210- 300 nm),paralel faktör analizini (PARAFAC) ve kısmi küçük kareler metodu kullanılarak incelemişlerdir. Çalışmanın pH aralığı 1.0- 5.5 iken konsantrasyonu Aralığı 1×10^{-5} – 1×10^{-4} mol/ L dir. Deneyde, bileşiklerin tahmini pka değerleri asetilsalisik asit ve askorbik asit için sırasıyla 3.41 ve 4.10 olarak hesaplanmıştır. Bileşiklerin aynı anda tayini için farklı pHlarda çoklu kalibrasyon modelleri kullanılmış ve en iyi model pH 1.1 de elde edilmiştir. İlaçlar için geri kazanım değerleri % 97.6 ile % 103.6 arasında bulunmuştur.

Toral vd. (2001), yapmış oldukları çalışmada kolay uygulanabilen ve pratik bir yöntem olan birinci türev spektrofotometrik metotla, askorbik asit (vitamin c) ve asetilsalisilik asitin aynı anda tayini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada, çözücü etkisi, katkı maddeleri ve analitik sinyallerdeki spektral değişkenler incelenmiştir. İlaçların tayininde çözücü olarak 0.01 M metanotik hidroklorik asit çözeltisi kullanılmış, asetilsalisik asit ve askorbikasitin sinyalleri sıfırdan geçiş metodu kullanılarak sırasıyla 245 ve 256 nm olarak ölçülmüştür. Bileşiklerin aynı anda tayini için geliştirilen metotta, aralıklar asetilsalisik asit ve askorbik asit için sırasıyla 6.6×10^{-6} – 1.5×10^{-4} M ve 3.4×10^{-6} - 2.0×10^{-4} M olarak bulunmuştur. Standart sapmanın % 2.0 den küçük olduğu metot, bu ilaçların tabletlerinde başarıyla uygulanmıştır.

Dinç vd. (2006), geliştirdikleri sıvı kromatografik yöntemde klorzoksazon ve parasetamolün tabletlerde ve katkılı insan plazmasında tayini için yeni kemometrik yaklaşımlar kullanmışlardır. Bu kemometrik yaklaşımlar, klasik en küçük

kareler yöntemi, temel bileşen regresyonu ve kısmi en küçük kareler yöntemleridir. Kromatogramlar, beş farklı dalga boyuna karşılık pik alanlarının grafiğe geçirilmesiyle oluşturulmuştur. Çoklu kromatogramlar için PDA dedektör kullanılmış ve 225, 240, 255, 270, 285 nm ' de ölçümler yapılmıştır. WatersSymmetry C18 kolonun kullanıldığı çalışmada asetonitril ve amonyum karbonat karışımı (60: 40 , v/v) tercih edilmiş ve akış hızı 0.8 ml/ dk olarak ayarlanmıştır. Kromatografik ayırmada kullanılan iç standart hidroklorotiyazittir. HPLC kemometrik kalibrasyonlar, çalışan ilaçların ticari preparatlardan ve insan plazmasından kantitatif analizinde başarıyla uygulanmış, yüksek doğruluk ve kesinlik sonuçları elde edilmiştir.

Hassan (2008), çalışmasında ibuprofen ve parasetamolün eş zamanlı tayini için üç metot geliştirilmiştir. Birinci metot, sıfırdan geçiş yöntemiyle birinci türev UV spektrometrisidir. Bu metotta ibuprofen ve parasetamol için dalga boyları sırasıyla 230 ve 290 nm olarak seçilmiştir. İkinci metot, oran spektrometrumlarının birinci türev ile ölçümüne dayanmaktadır ve dalga boyları ibuprofen ve parasetamol için sırasıyla 280 ve 290 nm olarak ölçülmüştür. Kalibrasyon grafikleri ibuprofen ve parasetamol için sırasıyla 5-100 ve 10-100 Mg/ml aralıklarında oluşturulmuştur. Üçüncü metot, çoklu spektrofotometrik kalibrasyon metodudur. Bileşiklerin oluşturduğu karışımın çözünürlüğü kısmi en küçük kareler regresyon analizi ile belirlenmiştir. Bu metotların zamandan ve maliyetten tasarruf sağlamak gibi birçok faydası bulunmaktadır. Önerilen tüm metotların performansı arasında önemli bir fark bulunmamakla birlikte, ilaçların farmasötik formlarına rahatlıkla uygulanabilirliği görülmüştür.

Alves ve Poppi (2009), çalışmalarında asetilsalisilik asit parasetamol ve kafeinin formasötikformütasyonlarda tayini için katı faz moleküler floresans ve ikinci derece çoklu kalibrasyonu kullanmışlardır. Model geliştirme için paralel faktör analizi(PARAFAC) kullanılmış ve etkinliği varyans analizi (ANOVA) kullanılarak gösterilmiştir. Tüm bileşikler için hata değerleri % 10 un altında bulunmuştur. Geliştirilen yani yöntemin faydaları, düşük düşük maliyet, hızlı ve kolay analiz, boşa tüketim önleme ve örnek hazırlama ihtiyacının olmaması olarak sıralanabilir. Bu yöntem seçilen bileşiklerin eş zamanlı tayini için oldukça cazip, doğru ve tekrarlanabilir bir metodur.

Maghadam vd. (2011), yapmış oldukları çalışmada, askorbik asit, ürik asit ve dopaminin aynı anda tayini için kemometrik destekli kinetik spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntem, analitlerin ortak bir oksitleyici madde ile reaksiyonu sonucu oluşan kinetik oranlarına dayanmaktadır. pH 4.4 ' te gerçekleştirilen reaksiyonlarda, oksitleyici madde olarak tris(1,10 – fenantrolin) ve demir (III) kompleksi kullanılmıştır. Absorbans değişimleri spektrofotometrik olarak izlenmiştir. Deneylerden elde edilen veriler yapay sinir ağı ve kısmi en küçük kareler yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar, ileri beslemeli yapay sinir ağı metodunun diğer metotlara göre daha verimli olduğunu göstermiştir. Deneysel koşulları etkileyen parametreler optimize edilmiş ve Beer yasası ile elde edilen konsatrasyon aralıkları askorbik asit, ürik asit ve dopamin için sırasıyla 4.3 – 74.1, 4.3- 78.3 ve 2.0 – 33.0 mm olarak bulunmuştur. Önerilen metot, analitlerin serum ve idrar örneklerinden tayininde başarıyla uygulanmıştır.

Yukarıdaki çalışmalar incelendiğinde parasetamol, asetilsalisilik asit ve C vitamininin etken maddelerinin eş zamanlı spektrofotometrik olarak tayini için -ilk kez- spektrofotometrik, yöntemle birlikte ilk kez bizim projemizde kemometri uygulaması gerçekleştirilecektir.

Literatürde ilaç etken maddelerine uygulanan yöntemlere bir göz atarsak,

Cazorla-Reyes vd.(2014), yaptıkları çalışmada ultra yüksek performans sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi yöntemlerini art arda seri kullanarak biyolojik örneklerdeki antibiyotiklerin eş zamanlı tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan antibiyotiklerden biri amoksisilindir. Bu yöntemle daha önce kullanılan yöntemlere göre ekonomik ve basit bir yöntem geliştirmek amaçlanmıştır. Mrutyunjayarao ve ekibi 2012 yılında terbinafinhidroklorür aktif maddesinin saf durumda ve tabletlerde tayinini üç farklı spektrometrikmetotla gerçekleştirmişlerdir. Birinci ve ikinci metot oksidasyona dayanır, üçüncü metot ise 2,3 dikloro 5,6-disino 1,4 benzokinon ile renklendirerek 450 nm de uygulanmıştır. Klaritromisininomeprazol ve tinidazol içeren çoklu karışımlardaki bir diğer spektrofotometrik tayini Lofty ve Hagazy tarafından 2012 yılında uygulanmıştır. Bu çalışmada manipulasyon oran spektrum yöntemi kullanılarak üç farklı yöntem üzerinden kıyaslama ile tayin gerçekleştirilmiştir.

Agafonova vd. (2014), klaritromisin ve metronidazolün termodinamik erime parametrelerini önce tek tek sonrada karışım halinde iken Differensiyel Tarama Kolorimetrik (DSC) çalışmasıyla tayin etmişlerdir. Deneysel ve hesaplama yöntemi kullanmışlardır. Elkhoudary ve çalışma arkadaşları 2014 yılında klaritromisin, norfloksasin, doksisisilin, tinidazol ve omeprazolün ilaç dozlarındaki HPLC tayinlerini deneysel tasarım kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Burada maddelerin dayanıklılık testleri de incelenmiştir. Deney sonuçlarında lineerlik incelendiğinde korelasyon katsayısı 0.9999 değerindedir. Seçicilik ve doğruluk değerleri de tatmin edicidir. 2012 yılında yapılan Darwish ve ekibinin yaptığı bir çalışmada omeprazol, tinidazol, doksisisilin ve klaritromisinin ön kolon türevlendirilmesi ile ters faz kromatografisinde 277 nm de 1-500 µg/mL aralığında değişen oranlarda tayini gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ilk olarak klaritromisinin izole edilmesi ve infrared ve kütle spektroskopisi ile türevlendirilerek tayini yapılmıştır. Klaritromisinin bazı makrolit antibiyotiklerle birlikte spektrofotometrik ve kondüktometrik tayini rosebengal kullanılarak 558nm, 557nm ve 560 nm de yapılmıştır. Spektrofotometrik metotta esas Beer's yasasıdır. Çalışılan ilaçlardaki korelasyon katsayısı 0.9999 dür. Bu çalışmada önerilen metot çalışılan bileşikler içeren diğer ilaç numunelerine de örnek oluşturacaktır(Sayed et al.,2007).2011 yılında at plazması, epital kaplama sıvısı ve bronko-alveolar hücrelerinde klaritromisin ve rifampisin ve onun ana hücrelerinin LC-MS/MS tayini Oswald ve ekibi tarafından eş zamanlı olarak yapılmıştır.

Ahmed ve Atia (2015), *Heliko* bakter pylorinin üçlü tedavisinde kullanılan kombinasyonları insan plazmasında UV dedektör kullanarak ters faz kromatografisi ile tayin etmişlerdir. Burada tayini yapılan maddeler: omeprazol (OME), tinidazol (TNZ), klaritromisin (CLA). Beş gün boyunca *H.pylori* tedavisi uygulanan 232 hastanın kan serumlarındaki rantidin, amoksisilin ve klaritromisin ve metronidazoloranları incelenmiştir. Çalışma sonucunda lineer korelasyon değerleri tatmin edici bulunmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada, UV/VIS spektrofotometrisi ile üç bileşenli bir ilaç numunesindeki aktif maddelerin nicel olarak tayini yapılmıştır. Elde edilen veriler, PCA, PCR ve PLS gibi kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümlerle çözücü olarak hidroklorik asit kullanılarak parasetamol, asetilsalisilik asit ve C vitamininin çözeltileri hazırlanıp spektrumları okunmuştur. Bu işlem için önce tek tek sonra farklı oranlarda hazırlanan sentetik karışımların spektrumları alınmıştır. Son işlem olarak da ilaç örneğinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen veriler lisansı elimizde bulunan MINİTAB 16 istatistik programıyla değerlendirilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

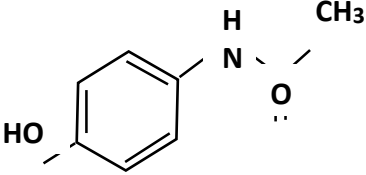
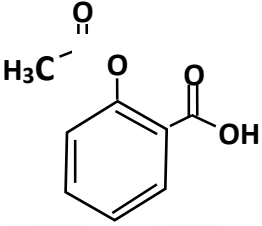
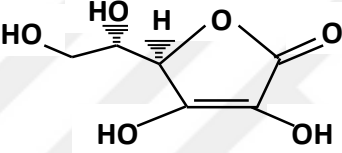
3.2.1. UV-Görünür spektrofotometre cihazı

UV-Vis spektrumları, bilgisayar tarafından kontrol edilen 1cm uzunluğundaki hücre ile donatılan UV 1700 PHARMASPEC SHİMADZU spektrofotometresi kullanılarak not edilen spektrum değerleri ilaç tabletlerindeki parasetamol, asetilsalisilik asit ve C vitamininin miktarını belirlemek için kemometrik metotlara uygulanmıştır.

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde analitik saflıkta olan kimyasallar kullanılmıştır. Bu kimyasallar Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Bileşik Adı	Bileşik Formülü
Paracetamol	
Asetilsalisilik	
Vitamin C	

3.3.1. Kullanılan çözeltiler

Çalışmada spektrofotometrik ölçümler için Paracetamol, asetilsalisilik asit ve C vitamini maddelerinin 100ppm olacak şekilde stok çözeltileri hazırlanmıştır.

Stok parasetamol çözeltisi

Paracetamol maddesinden 0,025 g tartılarak bir miktar 0,1 M HCl' de çözüldükten sonra son hacim 250 ml' ye tamamlandı.

Stok asetilsalisilik asit çözeltisi

Asetilsalisilik asit maddesinden 0,025 g tartılarak bir miktar 0,1 M HCl' de çözüldükten sonra son hacim 250 ml' ye tamamlandı.

Stok vitamin C çözeltisi

Vitamin C maddesinden 0,025 g tartılarak bir miktar 0,1 M HCl ' de çözüldükten sonra son hacim 250 ml' ye tamamlandı.

İlaç Tablet Numune

Tablet numunesi hazırlanırken paket içindeki efervesan tabletler agat havanda ezildi ve 1 gram numune tartılarak 0,1 M HCl de çözüldü ve magnetik ısıtıcıda karıştırıldı. 25 ml ye 0,1 M HCl ile tamamlandı. Absorbansı okundu. (Afebryl ® Galepharma)

3.4. Yöntem

3.4.1. UV/VIS spektroskopisi yöntemi

Bu çalışmada, spektrofotometrik ölçümlerle ilaç aktif maddelerinin stok çözeltilerinin spektrumları okunmuştur. Bu işlem için önce tek tek sonra farklı oranlarda hazırlanan sentetik karışımların spektrumları alınmıştır. Son işlem olarak da ilaç örneklerinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen veriler, farklı kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. İlk basamakta, UV spektrofotometre cihazının kalibrasyonu (sıfırlama işlemi) yapılmıştır.

Kalibrasyon işlemi önce her iki hücre boş bırakılarak havaya karşı yapılmıştır. Sonra aynı işlem bu kez her iki ışık yoluna hidroklorik asit ile hazırlanan kör numunesi konularak yapılmıştır. Bütün okumalarda hep kör bu şekilde hazırlanmıştır. Kör olarak sadece hidroklorik asit kullanılmasının nedeni bu çalışmada genel olarak çözücümüz hidroklorik asit olduğu içindir. Kör seçimi yapılırken girişim etkilerini yok etmek için, kör olarak çözücü tercih edilmiştir. İkinci basamakta, saf ilaç aktif maddelerinin tek tek spektrumları alınmıştır. Bu işlem esnasında stok ilaç aktif maddelerinden derişimleri 5-35 ppm arasında olacak şekilde 1,25-8,75 ml arasında saf maddeler stoklardan alınarak toplam hacim 25 ml' ye tamamlanarak çözeltileri hazırlanmış ve UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmıştır. Üçüncü basamakta, her bir madde ayrı bir dalga boyunda maksimum verdiğiinden saf ilaç maddelerinden oluşturulan sentetik karışımların UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmış ve birbiri yanında her-

hangi bir ön ayırma işlemine gerek olmaksızın ilaç aktif maddeleri incelenmiştir. Son basamakta ise, piyasada satılan ilaç numunesindeki ilaç aktif maddelerinin çözeltileri incelenmiştir. Tablet numunesi hazırlanırken paket içindeki efervesan tabletler agat havanda ezildi ve 1 gram numune tartılarak 0,1 M HCl de çözüldü ve magnetik ısıtıcıda karıştırıldı. 25 ml ye 0,1 M HCl ile tamamlandı. Absorbansı okundu. (Afebryl ® Galepharma)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

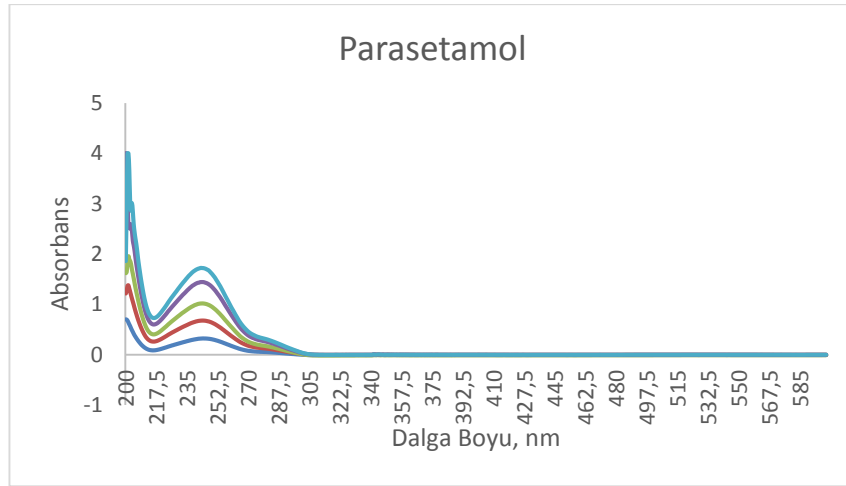
4.1. UV Spektroskopisi

Kemometrik kalibrasyonların ilaç maddelerinin analizi için önce her bir ilaç maddesinin saf halde 100 ppm 0,1 M HCl de standart çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra parasetamolden 6-30 ppm, asetilsalisilik asitten 7-35 ppm ve C vitamininden 5-25 ppm aralığında iki maddeden de ayrı ayrı çözeltiler hazırlanmıştır. Bu işlem sonrası absorbanlar ölçülerek kaydedilmiştir. Her bir ilaç maddesinin derişimleripmm olarak hesaplanmış ve absorbanlardan yararlanılarak molar absorpsiyon katsayıları belirlenmiştir.

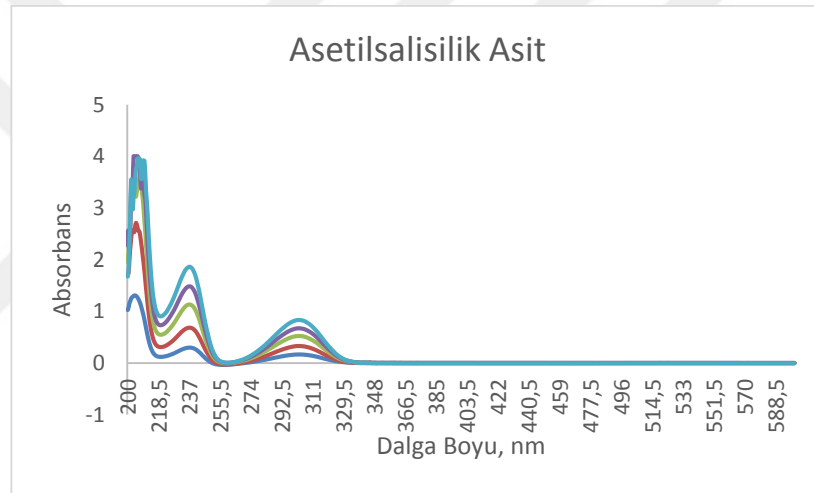
Çizelge 4.1. İlaç maddelerinin spektroskopik özellikleri

İLAÇ MADDESİ	MAK. ABS. YAPTIĞI DALGABO-YU	KALİBRASYON DENKLEMİ	KORELASYON KATSAYISI
Parasetamol	243 nm	$y = 6x$	1
Asetilsalisilik asit	302,5 nm	$y = 7x$	1
C Vitamini	243 nm	$y = 5x$	1

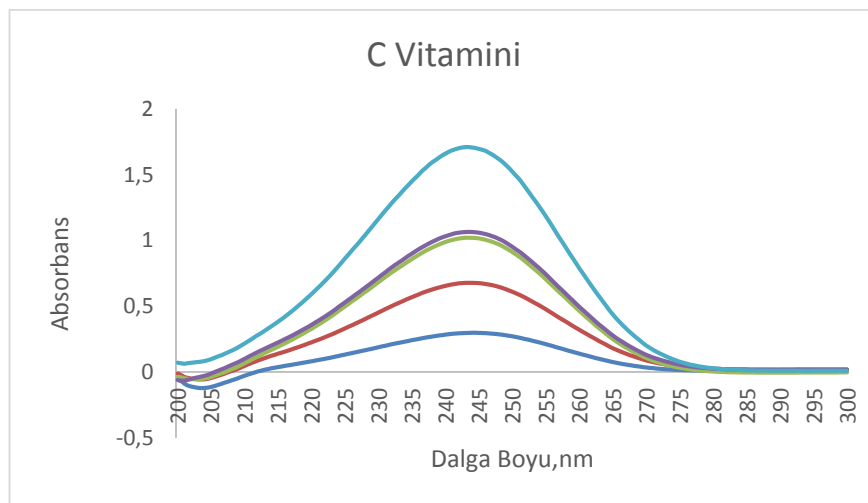
Her bir ilaç maddesinin saf halde yani tekli durumda spektrumları alınır. Bu spektrumlar alınırken parasetamol, asetilsalisilik asit ve C vitamini için derişim aralığı sırasıyla 5-35 ppm dir. Bu derişim aralıkları, tayin edilecek ilaç maddeleri için doğrusalığın olduğu bölgedir.



Şekil 4.1. Parasetamol maddesinin absorpsiyon spektrumu



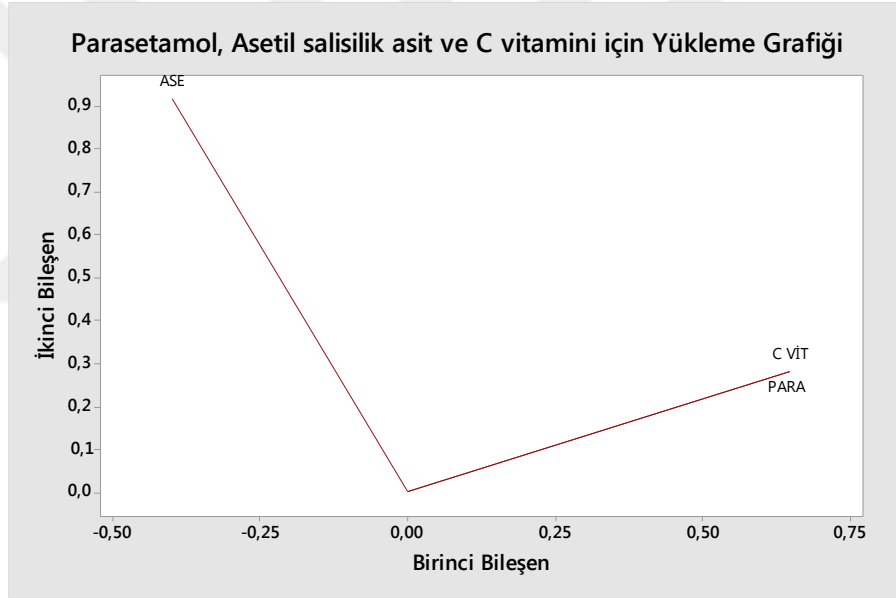
Şekil 4.2. Asetilsalisilik Asit Maddesinin absorpsiyon spektrumu



Şekil 4.3. C Vitamini Maddesinin absorpsiyon spektrumu

4.2. Temel Bileşen Analizi (PCA)

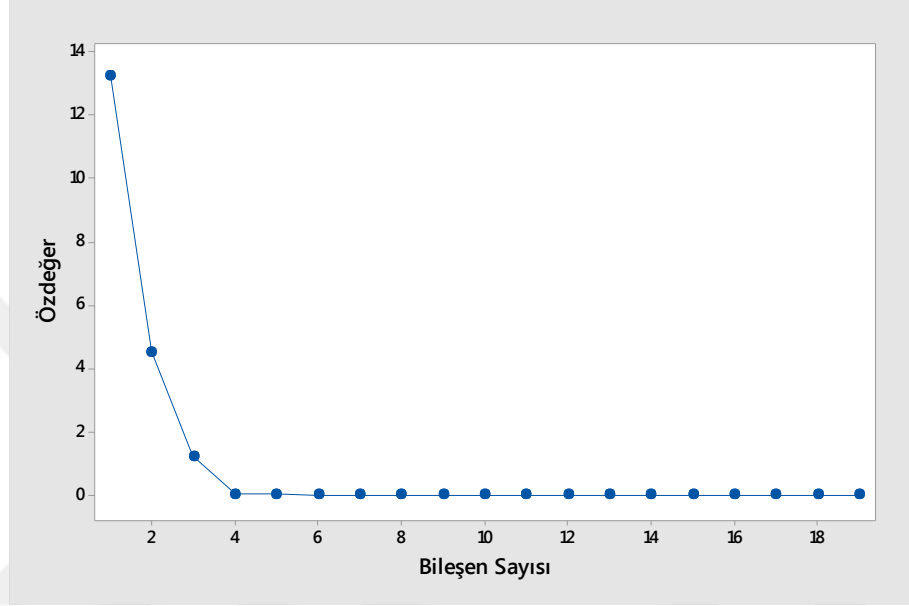
Sentetik çözeltilerde hesap yaparken programın kendi içinde ilk yaptığı işlem temel bileşen analizi yapmaktır. Temel bileşen analizi uygulanmasının amaçları, bir orijinal değişkeni temsil eden n sayıda orijinal aksı (doğruyu) yeni akslar haline dönüştürmektir. Bu dönüşüm işleminde yeni akslar, verilerin maksimum varyans yönelimleri boyunca uzanır ve yeni aksların özelliği, ortogonal olmalarıdır ve bu yeni değişkenler arasında korelasyon yoktur. Numune verilerinin varyansının çoğunu açıklamak için ihtiyaç olan yeni değişkenlerin sayısı (p), n sayıdaki orijinal akslardan daha azdır. Temel bileşen analizi, çok değişkenli verilerin boyutunu indirgemek veya verileri azaltmak için bir yöntem olarak kabul edilir. Aynı zamanda değişkenlerin doğrusal bileşenlerini ortaya çıkarır.



Şekil 4.4. Değişkenlerin doğrusal bileşenleri

Şekil 4.4' e bakıldığında programa yüklediğimiz verilerden birinci temel aks ve ikinci temel aks üzerinden doğrusal bileşenler bulunmuştur. İşlemlerin doğruluğu ölçüsünde doğrusal bileşenler elde edilmiştir. Bu grafik varyans-kovaryans matrisinin elemanlarının orijinin merkezine olan büyük aks birinci temel bileşeni (ASE) ve bu ikinci temel bileşen (C VİT-PARA) kesişmektedir. Bir kare matris için, varyans-kovaryans matrisinin elemanları koordinat sisteminin orijini boyunca uzanır. Büyük aksın eğimi, birinci temel bileşen ile birleştirilmiş özvektör (eigenvector)dür. Bu "özvektöre" karşılık gelen "özdeğer" (eigenvalue) Şekil

4.4. deki büyük aksın uzunluğudur. Şekil 4.5.da özdeğerlerin grafiği görülmektedir. Özdeğerlerin simetrik bir veri matrisinden çıkarılması kısmi en küçük kareler yöntemi ve temel bileşen analizi için önemlidir. Özdeğerler ve özvektörler elde edildikten sonra yapılacak işlem diğer kemometrik hesaplamalara geçiştir. Temel bileşen analizi ile elde edilen temel bileşenler yardımıyla oluşturulan korelasyon matrisi diğer kemometrik regresyonlara (PLS, PCR...) ışık tutmaktadır.



Şekil 4.5. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği

Şekil 4.5. de belirgin bir şekilde görüldüğü gibi özdeğerler 2. değerden 3. değere doğru düşmüştür. İlk iki faktör, toplam varyansın % 99'undan daha fazla güvenilirdir.

4.3. Kalibrasyon Yönteminin Validasyonu

Temel Bileşen Analizi için 5-30 ppm doğrusal çalışma aralığında parasetamol Asetilsalisilik asit ve C vitamini içeren çözeltilerin standart serisi stok çözeltilerinden yararlanılarak hazırlanmıştır. İlaç maddelerini içeren 19 adet yapay karışım çözeltilerinden ibaret olan bir konsantrasyon seti (Çizelge 4.2) hazırlanmıştır. Önce saf maddelerle çalışılarak her bir bileşenin hangi aralıkta spektrum verdiği belirlenmiştir. Ölçümler 200-800 nm arasında yapılmıştır. Daha sonra aralık konsantrasyon seti için ve kullanılacak olan istatistik programı doğrultusunda dalga boyu aralığı 215 nm- 310 nm olarak daraltılmıştır.

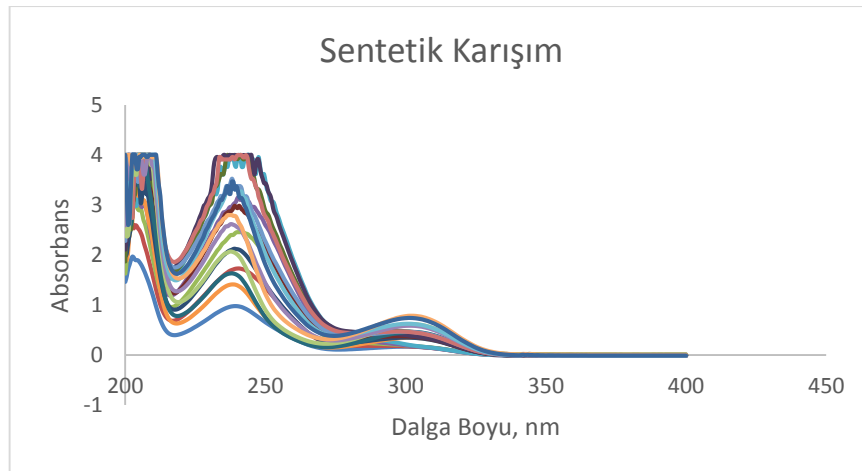
Konsantrasyon seti hazırlanırken saf halde alınan spektrumların absorbanslarıyla ilişkili değerlendirme yapılmıştır.

Çizelge 4.2. Parasetamol , Asetilsalisilik asit ve C Vitamini karışımlarını içeren konsantrasyon seti

NO	Konsantrasyon (ppm)		
	Parasetamol (PAR)	Asetilsalisilik Asit (ASE)	C Vitamini (C Vit)
1	6	7	5
2	12	7	10
3	18	7	15
4	24	7	20
5	30	7	25
6	6	14	5
7	12	14	10
8	18	14	15
9	24	14	20
10	30	14	25
11	6	21	5
12	12	21	10
13	18	21	15
14	24	21	20
15	6	28	5
16	12	28	10
17	18	28	15
18	6	35	5
19	12	35	10

Sentetik karışımlar :

Sentetik karışımlar Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve C Vitamininden oluşur.



Şekil 4.6. Sentetik karışımın absorpsiyon spektrumu

4.4. Kısmi En Küçük Kareler Yöntemi (PLS)

Kısmi en küçük kareler yönteminde Çizelge 4.2 göre hazırlanan kalibrasyon seti kullanılmıştır. Ölçümler 200-800 nm arasında yapılmıştır. Daha sonra aralık kalibrasyon seti için ve kullanılacak olan istatistik programı doğrultusunda dalga boyu aralığı 215 nm- 310 nm olarak daraltılmıştır. Kullanılan istatistik program ile kalibrasyon setinin absorbens ve derişim değerlerinin varyans-kovaryansmatriksleri hesaplanmıştır. Derişimler arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PLS kalibrasyonu kurulmuştur. Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve C vitamini içeren karışımların yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorban değerleri okunarak PLS kalibrasyonunda bu ilaç maddelerinin miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir.

4.5. Temel Bileşen Regresyonu Yöntemi (PCR)

PCR yöntemi kalibrasyon seti için ölçülen absorbens matrisinin parçalanmasıyla elde edilen temel bileşen regresyonuna dayalı bir yöntemdir. Yöntemin algoritması ayrıntılı olarak verilmiştir.

PCR kalibrasyon için hazırlanan kalibrasyon setinin 215 nm- 310 nm dalga boyu aralığında $\Delta\lambda = 0,1$ nm aralıklarla absorbens değerleri okundu. PCR algoritmasına göre kalibrasyon setinin absorbens ve konsantrasyon değerlerinin varyans-kovaryans matriksleri hesaplandı. Kalibrasyon seti için absorbenslerin varyans-kovaryans matrisinde kompozisyon işlemine tabi tutulmasından sonra konsantrasyonlar arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PCR kalibrasyonu kuruldu. İlaç maddelerini içeren karışımların yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorbens değerleri okunarak PCR kalibrasyonunda bu etken maddelerin miktar tayinleri gerçekleştirildi. PCR kalibrasyonu için Minitab 17 programında ilk olarak PCA değerleri hesaplanarak aşağıdaki değerler hesaplandı.

Korelasyon Matrisinin Özdeğerleri

Özdeğer	13,232 4,513 1,220 0,027 0,004 0,003 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000
Oran	0,696 0,238 0,064 0,001 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000
Toplam	0,696 0,934 0,998 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000
Özdeğer	0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000
Oran	0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000 0,000
Toplam	1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000 1,000

Değişken	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
C1 0,172	0,269	0,075	-0,095	-0,578	0,188	0,031	-0,089	0,492	-0,079	
C2 0,241	0,273	-0,023	-0,071	-0,421	0,114	0,067	-0,032	-0,226	-0,032	
C3 0,452	0,271	-0,044	0,110	-0,291	0,193	0,148	-0,063	-0,376	0,223	
C4 0,706	0,259	-0,039	0,293	-0,195	-0,198	0,280	0,161	-0,258	0,049	
C5 0,230	0,229	-0,062	0,486	-0,120	-0,632	-0,442	-0,074	0,192	-0,022	
C6 0,152	0,229	-0,146	0,408	0,208	0,662	-0,495	0,041	0,013	-0,012	
C7 0,205	0,228	-0,220	0,268	0,288	0,082	0,603	-0,083	0,494	-0,143	
C8 0,009	0,240	-0,223	0,088	0,230	-0,093	0,160	0,167	-0,320	-0,182	
C9 0,086	0,250	-0,187	-0,118	0,170	-0,060	0,019	0,284	-0,094	0,093	
C10 0,116	0,246	-0,136	-0,308	0,092	-0,070	-0,116	0,412	0,184	0,327	
C11 0,066	0,248	-0,113	-0,324	0,038	-0,060	-0,137	0,197	0,128	-0,103	
C12 0,131	0,253	-0,078	-0,319	0,044	-0,045	-0,128	-0,035	0,030	-0,237	
C13 0,106	0,264	-0,016	-0,250	0,118	-0,054	-0,090	-0,344	-0,086	-0,062	
C14 0,004	0,264	0,112	-0,138	0,198	-0,048	-0,035	-0,476	-0,135	-0,096	
C15 0,078	0,221	0,279	-0,013	0,215	-0,026	0,031	-0,335	0,036	0,180	
C16 0,026	0,162	0,379	0,047	0,155	-0,019	0,060	-0,015	0,005	0,417	
C17 0,031	0,122	0,421	0,051	0,073	0,021	0,043	0,188	0,064	0,263	
C18 0,009	0,103	0,436	0,047	0,037	0,036	0,001	0,288	0,088	-0,133	
C19 0,174	0,097	0,440	0,046	0,039	0,017	0,001	0,230	-0,130	-0,631	

Değişken	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16	PC17	PC18	PC19
C1	-0,013	-0,417	-0,154	-0,032	-0,121	-0,151	-0,067	-0,115	-0,050
C2	0,042	0,097	0,626	-0,109	0,280	0,021	0,070	0,044	0,337
C3	-0,026	0,162	-0,455	0,121	-0,205	0,154	0,050	0,021	-0,229
C4	0,068	0,217	-0,007	0,127	0,019	-0,018	-0,096	0,127	-0,058
C5	-0,025	0,021	0,005	-0,025	0,009	0,019	0,014	-0,024	-0,010
C6	-0,015	0,041	0,048	0,008	0,036	-0,013	-0,021	0,035	0,020
C7	-0,051	0,213	0,068	-0,021	0,058	0,024	-0,014	0,058	-0,013
C8	-0,118	-0,541	-0,230	-0,229	-0,040	-0,055	0,172	-0,127	0,415
C9	0,232	-0,237	0,364	0,037	-0,069	-0,094	-0,098	-0,361	-0,594
C10	0,101	0,147	-0,121	0,237	-0,100	-0,210	-0,365	0,170	0,396
C11	-0,054	-0,001	-0,046	0,014	0,110	0,151	0,600	0,521	-0,236
C12	-0,249	0,197	-0,123	-0,044	0,163	0,620	-0,272	-0,360	0,023
C13	-0,272	0,381	0,010	-0,150	-0,256	-0,552	0,191	-0,231	-0,010
C14	0,446	-0,137	-0,129	-0,224	0,203	-0,060	-0,361	0,365	-0,099
C15	0,198	-0,160	0,116	0,612	-0,110	0,199	0,296	-0,184	0,217
C16	-0,535	-0,200	0,242	-0,250	-0,215	0,168	-0,177	0,255	-0,083
C17	-0,032	0,060	-0,252	-0,105	0,686	-0,206	0,152	-0,265	-0,054
C18	0,449	0,230	-0,007	-0,423	-0,411	0,182	0,155	-0,112	0,122
C19	-0,216	-0,023	0,029	0,379	-0,020	-0,192	-0,197	0,136	-0,091

Regresyon işlemi ilk üç bileşen esas alınarak yapılabilir. Ancak yapılan çalışmamızda diğer bileşenlerideişin içine katarak bir regresyon eşitliği türetilmiş ve türetilen regresyon eşitlikleri aşağıda verilmiştir.

$$C_{PARA} = 6,000 + C1\ 0,454 + C2\ 0,731 + C3\ 0,783 + C4\ 0,995 + C5\ 0,996 + C6\ 1,026 + C7\ 1,217 + C8\ 1,346 + C9\ 1,360 + C10\ 1,537 + C11\ 1,553 + C12\ 1,746 + C13\ 1,793 + C14\ 1,839 + C15\ 1,938 + C16\ 1,944 + C17\ 1,962 + C18\ 2,032 + C19\ 4,000$$

$$C_{ASE} = 7,000 + C1\ 0,454 + C2\ 0,731 + C3\ 0,783 + C4\ 0,995 + C5\ 0,996 + C6\ 1,026 + C7\ 1,217 + C8\ 1,346 + C9\ 1,360 + C10\ 1,537 + C11\ 1,553 + C12\ 1,746 + C13\ 1,793 + C14\ 1,839 + C15\ 1,938 + C16\ 1,944 + C17\ 1,962 + C18\ 2,032 + C19\ 4,000$$

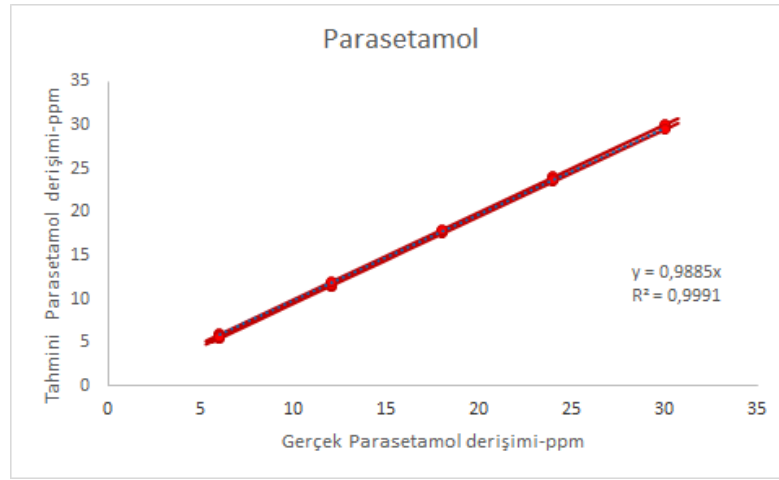
$$C_{C-VIT} = 7,000 + C1\ 0,454 + C2\ 0,731 + C3\ 0,783 + C4\ 0,995 + C5\ 0,996 + C6\ 1,026 + C7\ 1,217 + C8\ 1,346 + C9\ 1,360 + C10\ 1,537 + C11\ 1,553 + C12\ 1,746 + C13\ 1,793 + C14\ 1,839 + C15\ 1,938 + C16\ 1,944 + C17\ 1,962 + C18\ 2,032 + C19\ 4,000$$

4.6. Kalibrasyon Yönteminin Validasyonu

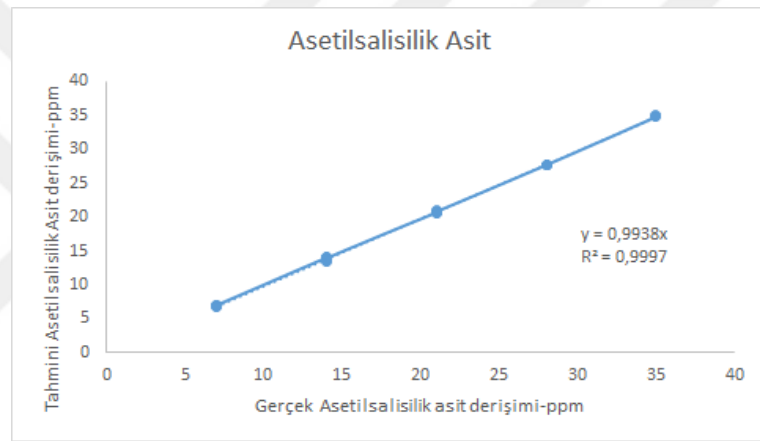
PLS ve PCR yöntemini valide etmek amacıyla üç ayrı ilaç maddesinden farklıde-rişimlerde 19 adet yapay karışım çözeltisinden ibaret olan bir set hazırlanmış-tır. Hazırlanan bu validasyon seti (Çizelge 4.3) kullanılarak kurulan PLS VE PCR kalibrasyonlarının kesinlik ve doğruluğu test edilmiştir. Geri kazanım (GK) de-ğerleri ve bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır. PLS kalibrasyon yön-teminin sentetik karışımlara uygulanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Sentetik olarak hazırlanan karışımındaki ilaç maddelerinin PLS kalibrasyonu ile hesaplanan sonuçları

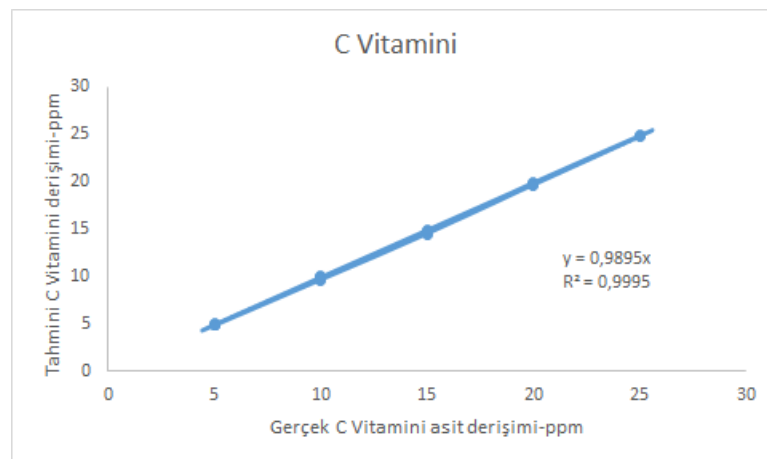
No	Parasetamol			Asetilsalisilik Asit			C Vitamini		
	Konulan (ppm)	Bulunan (ppm)	% Geri Kazanım	Konulan (ppm)	Bulunan (ppm)	% Geri Kazanım	Konulan (ppm)	Bulunan (ppm)	% Geri Kazanım
1	6	5,97	99,5	7	7,01	100,15	5	4,83	96,6
2	12	11,51	95,92	7	6,82	97,43	10	9,85	98,5
3	18	17,58	97,67	7	6,95	99,29	15	14,85	99
4	24	24,04	100,17	7	7,05	100,72	20	20,01	100,05
5	30	30,06	100,2	7	7,03	100,43	25	24,95	99,8
6	6	5,93	98,84	14	14,05	100,36	5	5,01	100,2
7	12	11,83	98,59	14	14,06	100,43	10	9,69	96,9
8	18	17,82	99	14	14	100	15	14,69	97,94
9	24	23,62	98,42	14	13,53	96,65	20	19,68	98,4
10	30	29,51	98,37	14	13,96	99,72	25	24,86	99,44
11	6	5,54	92,34	21	20,71	98,62	5	4,89	97,8
12	12	11,52	96	21	20,63	98,24	10	9,65	96,5
13	18	17,82	99	21	21,01	100,05	15	14,51	96,74
14	24	23,83	99,30	21	20,84	99,24	20	19,8	99
15	6	5,84	97,34	28	27,73	99,04	5	4,89	97,8
16	12	11,82	98,5	28	27,83	99,40	10	9,87	98,7
17	18	17,96	99,78	28	27,71	98,97	15	14,96	99,74
18	6	5,74	95,67	35	34,85	99,58	5	4,85	97
19	12	11,94	99,5	35	35,02	100,06	10	10,01	100,1
			Ortalama = 98,11			Ortalama = 99,38			Ortalama = 98,43
			SS = 1,95			SS = 1,07			SS = 1,27



Şekil 4.7. PLS kalibrasyon basamağında Parasetamol için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçları



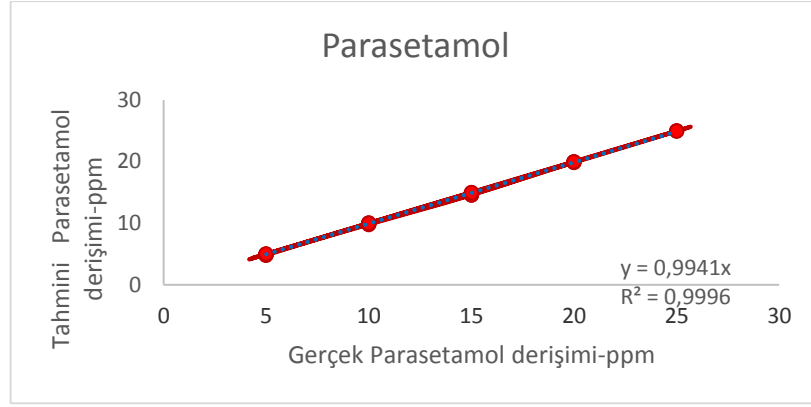
Şekil 4.8. PLS kalibrasyon basamağında Asetilsalisilik Asit için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçları



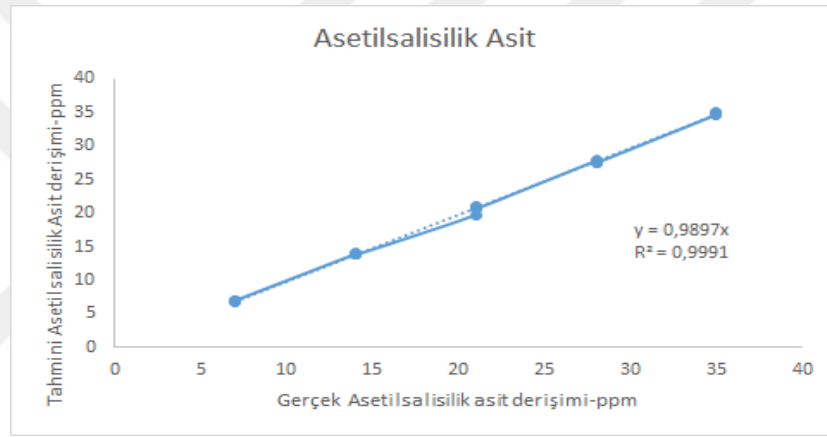
Şekil 4.9. PLS kalibrasyon basamağında C Vitamini için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçları

Çizelge 4.4. Sentetik olarak hazırlanan karışımındaki ilaç maddelerinin PCR kalibrasyonu ile hesaplanan sonuçları

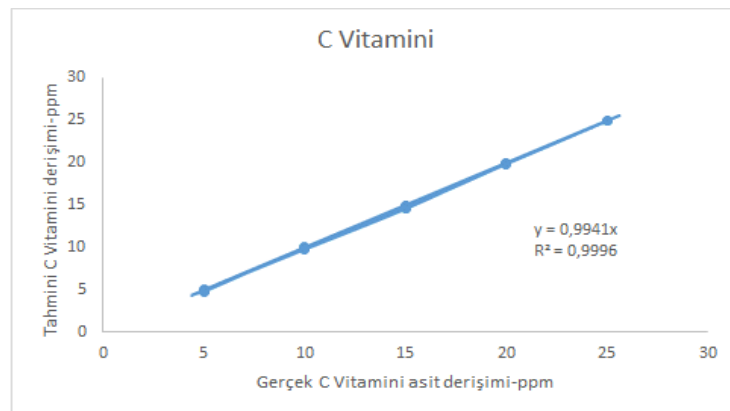
No	Parasetamol			Asetilsalisilik Asit			C Vitamini		
	Konulan (ppm)	Bulunan (ppm)	% Geri Kazanım	Konulan (ppm)	Bulunan (ppm)	% Geri Kazanım	Konulan (ppm)	Bulunan (ppm)	% Geri Kazanım
1	6	5,89	98,17	7	6,95	99,29	5	4,78	95,6
2	12	11,82	98,5	7	6,87	98,15	10	9,98	99,8
3	18	17,89	99,39	7	6,66	95,15	15	14,95	99,67
4	24	23,95	99,80	7	6,92	98,86	20	19,86	99,3
5	30	29,85	99,5	7	7,01	100,15	25	25,01	100,04
6	6	6,01	100,17	14	13,95	99,65	5	5,01	100,2
7	12	11,85	98,75	14	14,01	100,08	10	9,78	97,8
8	18	17,56	97,56	14	13,85	98,93	15	14,56	97,07
9	24	23,86	99,42	14	13,95	99,65	20	19,96	99,8
10	30	29,92	99,74	14	13,81	98,65	25	24,97	99,88
11	6	5,85	97,5	21	19,8	94,29	5	4,96	99,2
12	12	11,95	99,59	21	21	100	10	9,87	98,7
13	18	17,95	99,73	21	21,06	100,29	15	14,62	97,47
14	24	23,96	99,84	21	20,66	98,39	20	19,98	99,9
15	6	5,87	97,84	28	27,84	99,43	5	4,9	98
16	12	11,89	99,09	28	27,57	98,47	10	10,01	100,1
17	18	17,92	99,56	28	27,51	98,25	15	14,98	99,87
18	6	5,86	97,67	35	34,73	99,23	5	4,98	99,6
19	12	11,92	99,34	35	35,01	100,03	10	9,97	99,7
			Ortalama = 99,00			Ortalama = 98,78			Ortalama = 99,03
			SS = 1,87			SS = 1,59			SS = 1,28



Şekil 4.10. PCR kalibrasyon basamağında Parasetamol için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçları



Şekil 4.11. PCR kalibrasyon basamağında Asetilsalisilik Asit için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçları



Şekil 4.12. PCR kalibrasyon basamağında C Vitamini için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçları

4.7. PLS yöntemi için ANOVA testi

PLS kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini valide etmek amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=36 % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,11 olmasına karşılık parasetamol için hesaplanan F-test değeri 0,0068 ve p-değeri 0,93, asetilsalisilik asit için hesaplanan F-test değeri 0,0044 ve p-değeri 0,93, C vitamini için hesaplanan F-test değeri 0,0058 ve p-değeri 0,94 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Parasetamol maddesinin PLS yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları

ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>Df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,446695	1	0,446695	0,006835	0,934571	4,113165
Gruplar İçinde	2352,911	36	65,35863			
Toplam	2353,358	37				

Çizelge 4.6. Asetilsalisilik Asit Maddesinin PLS yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları

ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>Df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,388042	1	0,388042	0,004397	0,947497	4,113165
Gruplar İçinde	3176,911	36	88,24752			
Toplam	3177,299	37				

Çizelge 4.7. C Vitamini Maddesinin PLS yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları

ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>Df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,261118	1	0,261118	0,005768	0,93988	4,113165
Gruplar İçinde	1629,652	36	45,26812			
Toplam	1629,913	37				

ANOVA testinde $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, Grup içi serbestlik derecesi=36. $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için bu kalibrasyon modelinin ilaç numunenin incelenmesinde kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

4.8. PCR yöntemi için ANOVA testi

PLS kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini valide etmek amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=48 % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,04 olmasına karşılık parasetamol için hesaplanan F-test değeri 0,0020 ve p-değeri 0,96, asetilsalisilik asit için hesaplanan F-test değeri 0,0071 ve p-değeri 0,93, C vitamini için hesaplanan F-test değeri 0,0029 ve p-değeri 0,96 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Parasetamol Maddesinin PCR yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları

ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	Df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,130983	1	0,130983	0,002007	0,964514	4,113165
Gruplar İçinde	2349,394	36	65,26094			
Toplam	2349,525	37				

Çizelge 4.9. Asetilsalisilik Asit Maddesinin PCR yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları

ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,631842	1	0,631842	0,007173	0,932975	4,113165
Gruplar İçinde	3171,156	36	88,08767			
Toplam	3171,788	37				

Çizelge 4.10. C Vitamini Maddesinin PCR yönteminde elde edilen sonuçlarla hesaplanan ANOVA sonuçları

ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,092024	1	0,092024	0,002029	0,964323	4,113165
Gruplar İçinde	1632,912	36	45,35866			
Toplam	1633,004	37				

ANOVA testinde $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=36. $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$ ve $p\text{-değeri} > p=0,05$ olduğu için bu kalibrasyon modeli ticari numunenin incelenmesinde kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

4.9. PLS ve PCR Yönteminde İstatistiksel Analiz

Üçlü ilaç maddesini içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PLS ve PCR kalibrasyonlarının kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamının (Predicted Residual Error Some of Squares → PRESS) minimal değerleri elde edilmiştir. PRESS değerinin sıfıra yakın olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS değerleri yeterince küçüktür. Kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration → SEC) gerçekve tahmin edilen derişim arasındaki ilişkiye dayalı olarak hesaplanmıştır.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i^{\text{eklenen}} - C_i^{\text{bulunan}})^2}{n-1}}$$

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (C_i^{\text{eklenen}} - C_i^{\text{bulunan}})^2$$

Çizelge 4.11. PLS ve PCR yöntemleri ile hesaplanan istatistiksel parametreler

Parametre	Metot	Parasetamol	Asetilsalisilikasit	C Vita- mini
SEP	PLS	0,07	0,05	0,05
	PCR	0,04	0,06	0,03
PRESS	PLS	0,07	0,04	0,04
	PCR	0,02	0,11	0,02

Çizelge 4.12. İlaç numunesindeki sonuçlar

No	PLS (mg)		
	Parasetamol	Asetilsalisilik Asit	C Vita- mini
1	198	295	278
2	186	296	290
3	182	281	284
4	194	279	281
5	178	293	293
Ortalama	0,1876	0,2888	0,2852
Standart Sapma	0,0083	0,0081	0,0062
No	PCR (mg)		
	Parasetamol	Asetilsalisilik Asit	C Vitamini
1	192	281	297
2	193	284	298
3	187	286	296
4	182	290	285
5	186	295	284
Ortalama	0,188	0,2872	0,292
Standart Sapma	0,0045	0,0055	0,0069

5. SONUÇ VE ÖNERİLER (TARTIŞMA VE SONUÇLAR)

Üç farklı ilaç aktif maddesi içeren Afebryl ® Galepharma numunedeki ilaç aktif maddelerini analiz etmeye yönelik çalışmada Ultra-Viyole Görünür Alan Spektroskopisi, kemometri yöntemi ile birlikte kullanılmıştır.

Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve C vitamini ila maddelerinin UV spektrumları alınarak, çalışma yapılabilir saflıkta olduğu belirlenmiş ve analiz çalışmaları gerçekleştirilmiştir Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve C vitamini için, UV geliştirilerek, yöntem istatistiksel olarak desteklenmiştir. Yönteminin standart eğrilerinin regresyon analizi yapılarak sonuçlar istatistik hesaplanmıştır. Oluşturulan eğrilerin bir doğru olup olmadığını anlamak, bulunan doğrusallık sınırının uygun olup olmadığını belirlemek için doğrusallıktan ayrılışın önem testi yapılmıştır. $F_H < F_T$ olduğundan, doğrusallıktan sapmanın önemsiz olduğu bulunmuştur.

Kemometrik program kullanılırken de yine F testi göz önüne alınmıştır. Tabletlerden hazırlanan ilaç numunesine geçmeden önce yapılan deneysel tasarımı esnasında hazırlanan sentetik modelde de sonuçlar kıyaslanmıştır. Sentetik modele ilave ettiğimiz madde miktarları ile kemometrik programdan elde ettiğimiz deneysel sonuçlar kıyaslanmıştır. Grup içi ve gruplar arası serbestlik dereceleri yardımıyla F testi yapılmıştır. F testi sonucuna göre kullandığımız modeli ilaç numunesi karışımına uygulayıp uygulayamayacağımıza karar verilmiştir. $F_H < F_T$ olduğunda model uygulanmıştır.

Y ntemimizde Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve C vitamini için % geri kazanım değerleri ortalama olarak gerek sentetik karışım için bulunmuştur. Her bir yöntem içinde geri kazanımlar yüksek değerlerde bulunmuştur.

Kullanılan yöntemlerin tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, yüksek duyarlılık ve doğruluğun yanı sıra hızlı oluşu ve ilaç numunelerinin analizi için önerilecek yöntem olmalarını sağlamaktadır.

Geliştirilen yöntemler, tekrarlanabilir, duyarlı ve doğru sonuç veren yöntemler olup Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve C vitamini içeren farklı ilaç numunelerinin analizinde önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Cesar, J., Alves, L., Poppi, R.J., 2009. Simultaneous determination of acetylsalicylic acid, paracetamol and caffeine using solid phase molecular fluorescence and parallel factor analysis. *Analytica Chimica Acta*, 642,212-216.
- Çetin, A., 2008. Çoklu İlaç Karışımlarının Spektrofotometrik Olarak Kantitatif Analizi İçin Kemometrik ve Grafiksel Metot Geliştirme. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 86s, Sakarya.
- Çakır,K., 2007. Kapiler Elektforez Yöntemiyle Farmasötik Tabletlerde Parasetamol, Kafein ve Kodein Miktar Tayini. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 111s, Ankara.
- Dinç, E., 2007. Kemometri çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri, 27(1), 61-92.
- Dinç, E., 2009. Kemometrik İşlem ve Yöntemlerin Analitik Kimyadaki Tipik Uygulamaları, Uygulamalı Kemometri Yaz okulu Notları, 1-5
- Dinç, E., Üstündağ, Ö., 2003. Spectrophotometric quantitative resolution of hydrochlorothiazide and spiro lactone in tablets by chemometric analysis methods. *II Farmaco*, 58, 1151-1161.
- Dinç, E., Baleanu,D., Joele,G., De Luca, M., Ragno, G., 2008. Multivariate analysis of paracetamol, propiphenazone, caffeine and thiamine in quaternary mixtures by PCR, PLS and ANN calibrations applied on wavelet transform data. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48, 1471–1475.
- Dinç, E., Ustundag, O., Ozdemir, A., Baleanu, D., 2005. A new application of chemometric techniques to HPLC data for the simultaneous analysis of a two-component mixture, *Journal Of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28 (14), 2179.
- Dinç, E., Özdemir, A., Aksoy, H., Baleanu, D., 2006. Chemometric approach to simultaneous chromatographic determination of paracetamol and chlorzoxazone in tablets and spiked human plasma, *Journal of Liquid Chromatography & Related technologies*, 29 (12), 1803.
- Dinç, E., Özdemir, A., Aksoy, H., Baleanu, D., 2006. Chemometric Approach to Simultaneous Chromatographic Determination of Paracetamol and Chlorzoxazone in Tablets and Spiked Human Plasma. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29:12,1803-1822.

- Emre,D., 2006. Propifenazon, Parasetamol ve Kafeini Birlikte İçeren Farmasötik Preparatlardan Bu Maddelerin Kapiler Elektroforez Yöntemiyle Aynı Anda Analizi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 107s, Ankara.
- Hassan, H.N.A., Barsoum, B.N., Habib, I.H.I., 1999. Simultaneous spectrophotometric determination of rutin, quercetin and ascorbic acid in drugs using a Kalman Filter approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 20,315-320.
- Kaya, B., 2007. Kombine Farmasötik Preparatlardan Telmisartan ve Hidrokloro tiyazid'in kemometrik Kemometrik Kalibrasyon Yöntemleriyle Aynı Anda Miktar Tayinleri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 104s, Ankara.
- Kaya,B., 2007. Kombine Farmasötik Preparatlardan Telmisartan ve Hidrokloro tiyazid'in kemometrik Kemometrik Kalibrasyon Yöntemleriyle Aynı Anda Miktar Tayinleri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 104s, Ankara.
- Khanmohammadi, M., Soleimani, M., Morovvat, F., Garmarudi, A.B., Khalafbeigi, M., Ghasemi, K., 2012. Simultaneous determination of paracetamol and codeinephosphate in tablets by TGA and chemometrics,530, 128-132.
- Kitiş F., 2011. İlaç numunelerinde kafein ve parasetamol'ün kemometrik yöntemlerle tayinleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 60s, Isparta.
- Khoshayand, M.R., Abdollahi, H., Shariatpanahi, M., 2008. Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in pharmaceuticals by chemometric methods. *Spectrochimica Acta Part A*, 70, 491-499.
- Moghadam, M.R., Dadfarnia, S., Shabani, A.M.H., 2011. Chemometric-assisted kinetic spectrophotometric method for simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid, and dopamine. *Analytical Biochemistry*, 410,289-295.
- Medina, A.R., Cordova, M.L.F., Diaz, A.M., 1999. Simultaneous determination of paracetamol, caffeine and acetylsalicylic acid by means of a FI ultraviolet pls multiptosensing device. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21,983-992.

- Rouhollahi, A., Rajabzadeh, R., Ghasemi, J., 2007. Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid by linear sweep voltammetry along with chemometrics using a glassy carbon electrode. *Microchim Acta*, 157,139-147.
- Sena, M.M., B. Fernandes, J.C., JR, L.R., Poppi, R.J., Kubota, L.T., 2000. Application of two- and three-way chemometric methods in the study of acetylsalicylic acid and ascorbic acid mixtures using ultraviolet spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta*, 409,159-170.
- Şener, M., 2006. İçme Sularında Kalsiyum ve Magnezyumun Spektrofotometrik Metotla Simultane Tayini ve Yapay Sinir Ağları İle Kemometrik Analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 49s, Isparta.
- Uyanık, A., 2008. Analitik Kimyacılar için İstatistik ve Kemometri, 254-259
- Vandeginste, B. M. G., Massart D. L., Buydens L. M. C., De Jong S., Lew_ P. J. And Smeyers-Verbeke. J. 1998. *Handbook Of Chemometrics And Qualimetrics Part B*, Elsevier, Amsterdam.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aslı TUĞRUL

Doğum Yeri ve Yılı : Uşak,1993

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : aslitugrul93@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Uşak Sait-Sabri Ağaoğlu Anadolu Lisesi 2011

Lisans : SDÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü 2015

Yayınları

Ertokuş, GP.,Aktaş, AH., Tuğrul A., Yıldız M., Dört Ayrı renk maddesi içeren bir şeker numunesindeki renklendiricilerin istatistiksel olarak tayin edilmesi , 8. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Mayıs 2016, Isparta.

Güzide Pekcan Ertokuş , A. Hakan Aktaş, Aslı Tuğrul, CHEMOMETRIC ANALYSIS OF SOME ANALGESICS BY UV-SPECTROSCOPY, IMCOFE-2017, 23-25 AĞUSTOS,ROMA-İTALYA.