



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN NİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TENEFOVİR DİSOPROKSİL FUMARAT VE  
EMTRİSİTABİNİN FARMASÖTİK  
PREPARATLARDA EŞ ZAMANLI TAYİNİ İÇİN  
HPLC TEKNİĞİ İLE YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ  
VE MERKEZİ KOMPOZİT DİZAYN İLE  
OPTİMİZASYONU**

**AYŞE ÇİVİT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA Anabilim Dalı**

**Ağustos-2018  
KONYA  
Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Ayşe ÇİVİT tarafından hazırlanan “Tenefovır Disoproskil Fumarat ve Emtirisitabin’in Farmasötik Preparatlarda Eş Zamanlı Tayini İçin HPLC Tekniğı İle Yöntem Geliştirilmesi Ve Merkezi Kompozit Dizayn İle Optimizasyonu” adlı tez çalışması 02/08/2018 tarihinde aşığıdaki jüri tarafından oy birliğı / oy çokluğı ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

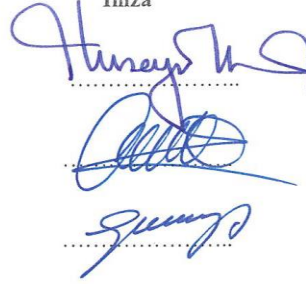
### Jüri Üyeleri

**Başkan**  
Prof. Dr. Hüseyin KARA

**Danışman**  
Prof. Dr. Mustafa TABAKCI

**Üye**  
Doç. Dr. Ecir YILMAZ

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ahmet AVCI  
FBE Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

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

## DECLARATION PAGE

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



Ayşe ÇİVİT

Tarih: 02.08.2018

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

# TDFEFOVİR DİSOPROKSİL FUMARAT VE EMTRİSİTABİNİN FARMASÖTİK PREPARATLARDA EŞ ZAMANLI TAYİNİ İÇİN HPLC TEKNİĞİ İLE YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE MERKEZİ KOMPOZİT DİZAYN İLE OPTİMİZASYONU

AYŞE ÇİVİT

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa TABAKCI

2018, 120 Sayfa

Jüri  
Prof. Dr. Mustafa TABAKCI  
Prof. Dr. Hüseyin KARA  
Doç. Dr. Ecir YILMAZ

İlaçlarda, tıbbi ve biyolojik numuneler için yeni analiz metodların geliştirilmesi, analitik kimyada araştırma konuları arasında yer almaktadır. Son zamanlarda iki veya daha fazla etkenli formülasyonlarda ve biyolojik materyallerde eş zamanlı olarak analiz metodlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Geliştirilen analiz metodu ile kalite kontrol analizlerinde kullanılacak hızlı, kolay, kesinliği yüksek analiz metodu geliştirmek bu açıdan önemlidir. Bu amaçla karışım olarak bulunan etken maddelerin farklı bir ayırma işlemine gerek duymadan kolaylıkla miktar tayininin yapılması için yöntem geliştirilmiştir.

Bu çalışmada öncelikli olarak kemometrik yaklaşımlarla yeni, hızlı ve hassas miktar tayini metodu geliştirilmiştir. Yüzey grafikleri kullanarak kısmi faktörel tasarım ile akış hızı, kolon sıcaklığı ve konsantrasyon parametreleri ile optimum değerler tespit edilmiştir. Bu sayede metot geliştirme çalışmalarında denemeler için ayrılan süre ciddi oranda azalmıştır. TDF ve EM en ideal ayımı için analiz parametrelerinin optimize edilmesinde; kolon, hareketli faz kompozisyonu, akış hızı, pH, organik çözücünü seçimi ve oranı gibi etkiler ayrıntılı bir şekilde araştırılarak optimum değerler tespit edilmiştir. Geliştirilen metodun geçerliliğinin kanıtlanması amacıyla FDA ve ICH de belirtilen kurallara göre validasyon çalışmalarında tekrarlanabilirlik, tekrarüretilebilirlik, Doğrusallık, çözelti stabilitesi, geri kazanım gibi parametreler incelenmiş ve sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri yapılmıştır.

Validasyon çalışmaları sonucunda sıvı kromatografisinde C18 250 mm x 4,6 mm 5µm kolonu kullanılarak, 25° C kolon sıcaklığı 1,2 mL/dk akış hızı, UV dedektörü ile 265 nm dalga boyu ile metot validasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu şartlar TDF/EM alıkonma zamanları sırasıyla 4 dk ve 10 dk olarak tespit edilmiştir. Geliştirilen metodun sistem uygunluk parametreleri belirlenmiş bu bilgi doğrultusunda metodun uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Emtirisitabin, HPLC yöntemi, optimizasyon, tenefovir disoproksil fumarat, validasyon.

## **ABSTRACT**

### **MS THESIS**

# **DEVELOPMENT OF METHOD WITH HPLC PROCEDURE FOR THE TIME DETERMINATION OF TENEFОВIR DISOPROXYL FUMARATE AND EMTRICITABINE IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS AND OPTIMIZATION WITH CENTRAL COMPOSITE DESIGN**

**Ayşe ÇİVİT**

**Necmettin Erbakan University Institute of Science and Technology  
Department of Chemistry**

**Advisor: Prof. Dr. Mustafa TABAKCI**

**2018 , 120 Pages**

**Jury**

**Prof. Dr. Mustafa TABAKCI**

**Prof. Dr. Hüseyin KARA**

**Assoc. Prof. Dr. Ecir YILMAZ**

The development of new analytical methods for medicinal and biological samples in medicines is among the research topics in analytical chemistry. Recently, there is a need to develop methods of analysis simultaneously in two or more active formulations and biological materials. It is important from this point of view to develop a quick, easy and precise method of analysis that can be used in quality control analyzes with the developed analysis method. For this purpose, a method has been developed for the quantitative determination of the active substances in the form of mixtures without the need for a separate separation process.

In this study, new, fast and precise quantification method was developed with chemometri approach. Partial factorial design has been determined optimum values with flow rate, column temperature and concentration parameters by using surface graphics. In this way, the amount of time devoted to experimentation in the development of methods has decreased dramatically. Optimization of analysis parameters for TDF and EM is the most ideal solution; column, moving phase composition, flow rate, pH, organic solvent selection and ratio were investigated in detail and optimum values were determined. In order to verify the validity of the developed method, parameters such as repeatability, reproducibility, linearity, solution stability and recovery were examined in the validation studies according to the rules specified in FDA and ICH and statistical evaluations of the results were made.

As a result of the validation studies, method validation was carried out by using C18 250 mm x 4.6 mm 5 µm column in liquid chromatography, 25° C column temperature, flow rate 1.2 mL / min, UV detector with 265 nm wavelength. These conditions were determined as TDF / EM retention times of 4 min and 10 min, respectively. The system suitability parameters of the developed method are determined and it is determined that the method can be applied to this information.

**Key words:** Emtricitabine, HPLC method, optimization, tenefovir disoproxil fumarate, validation.

## ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof.Dr. Mustafa TABAKCI danışmanlığında hazırlanarak Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada konu seçiminden tezi sonlandırma aşamasına kadar her aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa TABAKCI'ya minnetlerimi sunarım.

Tez süresi boyunca her zaman yanımda olan ilgi, sevgi, tecrübe ve bilgisini benden esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARA'ya ve isimlerinin sayamadığım desteklerini benden esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu tezin basından sonuna kadar geçen süreçte bana sürekli destek olan ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak tüm imkânları sunan beni yüreklendiren ve bugünlere gelmemi sağlayan annem, babam ve kardeşlerime tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ayşe ÇİVİT  
KONYA-2018

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1 GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Tenefovir Disoproksil Fumarat(TDF) /Emitrisitabin (EM) İle İlgili Genel Bilgiler .....	2
1.2 Faktöriyel Tasarım ve Optimizasyon .....	3
1.3 Kemometri Hakkında Bilgi .....	3
1.4 Uygulanan Yöntem ile İlgili Genel Bilgiler .....	5
1.5 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	10
<b>2 KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>13</b>
<b>3 MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>23</b>
3.1 Kullanılan Cihazlar ve Ekipmanlar .....	23
3.2 Kullanılan Kimyasallar .....	23
3.3 Kullanılan Kolon Özellikleri.....	23
3.4 Kemometrik Dizayn Çalışması .....	23
3.5 Kromatografik Şartlar .....	24
3.6 Validasyon Çalışmaları .....	26
3.6.1 Tekrarlanabilirlik .....	26
3.6.2 Tekrarüretilebilirlik.....	27
3.6.3 Seçicilik .....	28
3.6.4 Dayanıklılık .....	28
3.6.5 Doğrusallık ve aralık.....	29
3.6.6 Doğruluk ve geri kazanım.....	29
3.7 Ölçüm Belirsizliği .....	30
<b>4 ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA</b> .....	<b>33</b>
4.1 Ayırma Gücü Çalışmaları .....	33
4.2 Sistem Kesinliği İçin Standartlar Sonuçları .....	38
4.3 Tekrarlanabilirlik Sonuçları .....	39
4.4 Tekrarüretilebilirlik Sonuçları.....	41
4.5 Seçicilik Sonuçları .....	42
4.6 Dayanıklılık Sonuçları .....	87
4.7 Doğrusallık ve Aralık Sonuçları.....	88
4.8 Tekrarlanabilirlik Ölçüm Belirsizliği Sonuçları.....	89
4.9 Tekrarüretilebilirlik Ölçüm Belirsizliği Sonuçları .....	90
4.10 Birleştirilmiş Belirsizlik Sonuçları .....	90

<b>5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>91</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>94</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>97</b>



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. TDF açık formül .....	2
Şekil 1.2. EM açık formül.....	2
Şekil 1.3. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler .....	4
Şekil 1.4. Simetri faktörü.....	11
Şekil 1.5. Rezolüsyon .....	11
Şekil 1.6. Teorik plaka sayısı.....	12
Şekil 2.1. TDF, EM ve efavirenz kromatogram .....	15
Şekil 2.2. TDF, EM ve efavirenz kalibrasyon grafikleri .....	15
Şekil 2.3. TDF ve EM Kromatogramı .....	16
Şekil 2.4. TDF, FTC, 1so TFV ve 1so FTC açık formülleri .....	17
Şekil 2.5. Is, TFV, TBV, ETC kromatogramları .....	18
Şekil 2.6. Amprenavir, atazanavir, darunavir, indinavir, lopinavir, ritonavir, sakonavir ve tipranavir kromatogramları .....	19
Şekil 2.7. TDF VE EM dalga boyu kromatogram .....	20
Şekil 2.8. TDF ve EM kromatogram .....	21
Şekil 2.9. EM için kütle kromatogram.....	21
Şekil 2.10. TDF için kütle kromatogramı .....	22
Şekil 3.1. Mobil faz gradient şartları .....	24
Şekil 3.2. Ölçüm belirsizliği şeması .....	31
Şekil 4.1. Akış Hızı / Konsantrasyon (Cevap Değeri=Rs) .....	35
Şekil 4.2. Akış Hızı / Kolon Sıcaklığı (Cevap Değeri=Rs) .....	35
Şekil 4.3. Kolon Sıcaklığı / Konsantrasyon (Cevap Değeri=Rs).....	35
Şekil 4.4. Konsantrasyon / Akış Hızı (Cevap Değeri=N).....	36
Şekil 4.5. Kolon Sıcaklığı / Akış Hızı (Cevap Değeri=N).....	36
Şekil 4.6. Sıcaklık / Konsantrasyon (Cevap Değeri=N) .....	36
Şekil 4.7. Konsantrasyon / Akış Hızı (Cevap Değeri=Seçicilik).....	37
Şekil 4.8. Kolon Sıcaklığı / Akış Hızı (Cevap Değeri=Seçicilik) .....	37
Şekil 4.9. Konsantrasyon / Kolon Sıcaklığı (Cevap Değeri=Seçicilik).....	37

## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1. Validasyon parametreleri.....	6
Çizelge 2.1. EM'nin mobil faz oranları .....	13
Çizelge 2.2. TDF metot parametreleri .....	14
Çizelge 3.1. Kolon Bilgileri.....	23
Çizelge 3.2. Kemometri deneysel tasarım .....	23
Çizelge 4.1. Optimizasyon çalışmaları deneysel tasarım .....	33
Çizelge 4.2. EM sistem kesinliği Standart- 1 ve Standart-2 .....	38
Çizelge 4.3. TDF sistem kesinliği Standart -2 .....	38
Çizelge 4.4. TDF/EM tekrarlanabilirlik sonuçları .....	39
Çizelge 4.5. Tekrarlanabilirlik TDF normallik testi .....	39
Çizelge 4.6. Tekrarlanabilirlik TDF Mann Whitney U testi.....	40
Çizelge 4.7. Tekrarlanabilirlik EM normallik testi.....	40
Çizelge 4.8. Tekrarlanabilirlik EM Mann Whitney U testi .....	40
Çizelge 4.9. TDF/EM tekrarüretilebilirlik sonuçları .....	41
Çizelge 4.10. Tekrarüretilebilirlik EM normallik testi .....	41
Çizelge 4.11. Tekrarüretilebilirlik EM Mann Whitney U testi.....	41
Çizelge 4.12. Tekrarüretilebilirlik TDF normallik testi.....	42
Çizelge 4.13. Tekrarüretilebilirlik TDF Mann Whitney U testi .....	42
Çizelge 4.14. TDF / EM PVDF filtre sonuçları .....	43
Çizelge 4.15. TDF PVDF normallik testi .....	43
Çizelge 4.16. TDF PVDF T testi istatistiki hesaplama.....	44
Çizelge 4.17. EM PVDF normallik testi.....	44
Çizelge 4.18. EM PVDF Mann-Whitney U testi .....	45
Çizelge 4.19. TDF naylon normallik testi.....	45
Çizelge 4.20. TDF Mann Whitney U testi .....	45
Çizelge 4.21. EM naylon normallik testi .....	46
Çizelge 4.22. EM Mann Whitney U testi.....	46
Çizelge 4.23. TDF naylon filtre ve PVDF karşılaştırma tabloları .....	46
Çizelge 4.24. TDF naylon filtre ve PVDF Mann Whitney U testi .....	47
Çizelge 4.25. EM naylon filtre ve PVDF normallik testi .....	47
Çizelge 4.26. EM naylon filtre ve PVDF Mann Whitney U testi.....	47
Çizelge 4.27. TDF / EM selüloz ve naylon filtre sonuçları .....	48
Çizelge 4.28. TDF selüloz normallik testi .....	48
Çizelge 4.29. TDF selüloz Mann Whitney U testi.....	49
Çizelge 4.30. EM selüloz filtre normallik testi .....	49
Çizelge 4.31. EM selüloz filtre T testi .....	49
Çizelge 4.32. TDF naylon normallik testi.....	50
Çizelge 4.33. TDF naylon Mann Whitney U testi .....	50
Çizelge 4.34. EM naylon filtre normallik testi .....	51
Çizelge 4.35. EM naylon filtre Mann Whitney U testi.....	51
Çizelge 4.36. TDF karşılaştırma tabloları.....	52
Çizelge 4.37. TDF Mann Whitney U testi karşılaştırma tabloları .....	52
Çizelge 4.38. TDF selüloz ve naylon filtre normallik testi.....	52
Çizelge 4.39. TDF selüloz ve naylon filtre Mann Whitney U testi .....	53
Çizelge 4.40. TDF / EM ACE 5 C18 ve xbridge 5 C18 kolon sonuçları .....	53
Çizelge 4.41. TDF ACE kolon normallik testi .....	54
Çizelge 4.42. TDF ACE kolon Mann Whitney U testi.....	54

Çizelge 4.43. EM ACE kolon normallik testi .....	55
Çizelge 4.44. EM ACE kolon Mann Whitney U testi .....	55
Çizelge 4.45. TDF xbridge normallik testi .....	55
Çizelge 4.46. TDF xbridge non parametric Mann Whitney U testi.....	56
Çizelge 4.47. EM xbridge normallik testi.....	56
Çizelge 4.48. EM xbridge Mann Whitney U testi .....	56
Çizelge 4.49. TDF ACE kolon ve xbridge kolon karşılaştırma tabloları .....	57
Çizelge 4.50. TDF ACE kolon ve xbridge Mann Whitney U testi.....	57
Çizelge 4.51. EM ACE kolon ve xbridge karşılaştırma tablosu.....	57
Çizelge 4.52. EM ACE kolon ve xbridge Mann Whitney U testi .....	58
Çizelge 4.53. TDF / EM 25° C ve 30° C sıcaklık değişimi sonuçları .....	58
Çizelge 4.54. TDF 30° C normallik testi .....	59
Çizelge 4.55. TDF 30° C T testi .....	59
Çizelge 4.56. EM 30° C normallik testi.....	60
Çizelge 4.57. EM 30° C Man Whitney U testi .....	60
Çizelge 4.58. TDF 25° C normallik testi .....	61
Çizelge 4.59. TDF 25° C Man Whitney U testi.....	61
Çizelge 4.60. EM 25° C normallik testi.....	61
Çizelge 4.61. EM 25° C Man Whitney U testi .....	62
Çizelge 4.62. TDF 25° C ve30° C normallik testi.....	62
Çizelge 4.63. TDF 25° C ve 30° C Man Whitney U testi .....	62
Çizelge 4.64. EM 25° C ve 30° C normallik testi .....	63
Çizelge 4.65. EM 25° C ve 30° C Man Whitney U testi.....	63
Çizelge 4.66. TDF /EM 20° C ve 25° C sıcaklık değişimi sonuçları.....	64
Çizelge 4.67. EM 20° C normallik testi.....	64
Çizelge 4.68. EM 20° C Mann Whitney U testi .....	65
Çizelge 4.69. TDF 20° C normallik testi .....	65
Çizelge 4.70. TDF 20° C Mann Whitney U testi.....	65
Çizelge 4.71. EM 25° C normallik testi.....	66
Çizelge 4.72. EM 25° C Mann Whitney U testi .....	66
Çizelge 4.73. TDF 25° C normallik testi .....	67
Çizelge 4.74. TDF 25° C Mann Whitney U Testi .....	67
Çizelge 4.75. EM 25° C ve 20° C normallik testi .....	67
Çizelge 4.76. EM 25° C ve 20° C T testi.....	68
Çizelge 4.77. TDF 25° C ve 20° C normallik testi.....	68
Çizelge 4.78. TDF 25° C ve 20° C Mann Whitney U testi .....	69
Çizelge 4.79. TDF/EM akış hızı değişimi (1,5 mL/dk-1,2 mL/dk) sonuçları .....	69
Çizelge 4.80. EM akış hızı 1,5 mL/dk normallik testi.....	70
Çizelge 4.81. EM akış hızı 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi .....	70
Çizelge 4.82. TDF akış hızı 1,5 mL/dk normallik testi .....	71
Çizelge 4.83. TDF akış hızı 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi.....	71
Çizelge 4.84. EM akış hızı 1,2 mL/dk normallik testi.....	71
Çizelge 4.85. EM akış hızı 1,2 mL/dk Mann Whitney U Testi .....	72
Çizelge 4.86. TDF akış hızı 1,2 mL/dk normallik testi .....	72
Çizelge 4.87. TDF akış hızı 1,2 mL/dk Mann Whitney U testi.....	73
Çizelge 4.88. EM akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk karşılaştırma .....	73
Çizelge 4.89. EM akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi .....	73
Çizelge 4.90. TDF akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk karşılaştırma .....	74
Çizelge 4.91. TDF akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi .....	74
Çizelge 4.92. TDF / EM akış hızı değişimi (1,0 mL/dk) sonuçları .....	75

Çizelge 4.93. EM akış hızı 1,0 mL/dk normallik testi.....	75
Çizelge 4.94. EM akış hızı 1,0 mL/dk Mann Whitney U testi .....	76
Çizelge 4.95. TDF akış hızı 1,0 mL/dk normallik testi .....	76
Çizelge 4.96. TDF akış hızı 1,0 mL/dk Mann Whitney U testi.....	76
Çizelge 4.97. TDF /EM dalga boyu değişimi (260 nm) sonuçları.....	77
Çizelge 4.98. TDF dalga boyu 260 nm normallik testi.....	77
Çizelge 4.99. TDF dalga boyu 260nm Man Whitney U testi .....	78
Çizelge 4.100. EM dalga boyu 260 nm normallik testi .....	78
Çizelge 4.101. EM dalga boyu 260 nm Man Whitney U testi.....	78
Çizelge 4.102. TDF dalga boyu 265 nm normallik testi.....	79
Çizelge 4.103. TDF dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi .....	79
Çizelge 4.104. EM dalga boyu 260 nm normallik testi .....	80
Çizelge 4.105. EM dalga boyu 260 nm non parametrik man whitney u testi.....	80
Çizelge 4.106. TDF dalga boyu 260 nm normallik testi.....	80
Çizelge 4.107. TDF dalga boyu 260 nm non parametrik Man Whitney U testi.....	81
Çizelge 4.108. EM dalga boyu 260 nm ve 265 nm karşılaştırma.....	81
Çizelge 4.109. EM dalga boyu 260 nm ve 265 nm man whitney u testi.....	81
Çizelge 4.110. TDF / EM dalga boyu değişimi (270 nm-265 nm) sonuçları .....	82
Çizelge 4.111. TDF dalga boyu 270 nm normallik testi.....	82
Çizelge 4.112. TDF dalga boyu 270 nm Man Whitney U testi .....	83
Çizelge 4.113. EM dalga boyu 270 nm normallik testi .....	83
Çizelge 4.114. EM dalga boyu 270 nm Man Whitney U testi.....	83
Çizelge 4.115. TDF dalga boyu 265 nm normallik testi.....	84
Çizelge 4.116. TDF dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi .....	84
Çizelge 4.117. EM dalga boyu 265 nm normallik testi .....	85
Çizelge 4.118. EM dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi.....	85
Çizelge 4.119. TDF dalga boyu 265 nm normallik testi.....	85
Çizelge 4.120. TDF dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi .....	86
Çizelge 4.121. EM dalga boyu 270 nm ve 265 nm karşılaştırma.....	86
Çizelge 4.122. EM dalga boyu 270 nm ve 265 nm Man Whitney U testi.....	86
Çizelge 4.123. TDF / EM çözelti stabilitesi sonuçları .....	87
Çizelge 4.124. TDF /EM çözelti stabilitesi sonuçları.....	87
Çizelge 4.125. EM Doğrusallık sonuçları.....	88
Çizelge 4.126. EM korelasyon sonucu .....	88
Çizelge 4.127. TDF korelasyon sonucu.....	88
Çizelge 4.128. TDF tekrarlanabilirlik belirsizliği.....	89
Çizelge 4.129. EM tekrarlanabilirlik belirsizliği .....	89
Çizelge 4.130. TDF tekrarüretilebilirlik belirsizliği .....	90
Çizelge 4.131. EM tekrarüretilebilirlik belirsizliği.....	90
Çizelge 4.132. TDF birleştirilmiş belirsizlik sonuçları.....	90
Çizelge 4.133. EM birleştirilmiş belirsizlik sonuçları .....	90

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

°C	:Derece Santigrat
nm	:Nanometre
mg	:Miligram
mL	:Mililitre
µL	:Mikrolitre
µg	: Mikrogram
R	: Korelasyon Katsayısı
N	:Teorik Plaka Sayısı
M	:Molar

### Kısaltmalar

HPLC	:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ANOVA	:Varyans Analizi
LOD	:Tespit Limiti
LOQ	:Kantitatif Alt Limit
UV	:Ultra viyole görünür bölge spektroskopisi
FDA	:Gıda ve İlaç İdaresi
USP	:Birleşik Devletler Farmakopisi
ICH	:Uluslararası Harmonizasyon Konferansı
SD	:Standart Sapma
RSD	:Relatif Standart Sapma
TE	:Tekrarlanabilirlik
TDF	:Tenefovir Disoprosil Fumarat
EM	:Emitiristabin
MAX	:Maksimum
MIN	:Minimum
Mg	:Miligram
PTFE	:Poli tetra floro etilen
RT	:Alıkonma Zamanı
PDA	:Fotodiyot dedektör
USP	:Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi

## 1 GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre ilaç, fizyolojik sistemleri veya patolojik durumları sahanın faydası için değiştirmek ya da araştırma yapmak amacıyla kullanabilen maddelerdir (Cingi ve ark, 1996). İlaçlar sentez ya da doğal kaynaklardan oluşturulmaktadır. Doğal olarak elde edilenlerin çoğu bilimsel ilerleme sayesinde sentezlenerek de oluşturulmaktadır. Bitkilerden elde edilen ilaçlar bitkinin, yaprak, kök, tohum gibi belirli yerlerinden elde edilmektedir. Bitkilerden elde edilen bu etken maddelerden alınan miktarlar insan sağlığı için çok önemlidir. Bu etkenler az alındığı zaman istenilen etkiyi yapmadığı gibi aşırı alınması durumunda sağlık açısından oldukça tehlikeli boyutlarda zarar verebilir. Bu nedenlerden dolayı ilaçların kullanım aşamasından vücuttan atılımına kadar geçen tüm sürelerdeki miktar analizleri ciddi önem taşımaktadır.

Bu değerlendirilmelerin yapılabilmesi için uygun bir miktar tayini yöntemi geliştirilmeli ve yöntemin FDA (Food and Drug Administration) ve ICH (International Conference on Harmonisation)'in belirlediği kurallara göre geçerliliği kanıtlanmalıdır (Çelik, 2007).

Plazma, kan, idrar, serum veya uygun olan diğer ortamlarda aktif maddelerin ve/veya biyodönüşüm ürünlerinin tayinleri için kullanılan biyoanalitik yöntemler özgünlük, doğruluk, duyarlılık ve kesinlik ile ilgili gereklere uymalıdır ve validasyon bulguları bildirilmelidir. Etken maddenin ve/veya biyodönüşüm ürünlerinin kararlılığının bilinmesi gereklidir. Biyoeşdeğerliğin değerlendirilip yorumlanması, etken maddenin hesaplanan konsantrasyonlarına göre yapılır (Çelik, 2007).

Analitik kimyada hiç bir ön ayırma işlemi yapmadan kombine ilaçların, aynı anda kantitatif analizini yapmak son derece önemlidir. Analitik metotları geliştirmek amacıyla, klasik analitik metotlar ile beraber değişik matematiksel algoritmalara dayanan hesaplama yöntemleri birlikte uygulanmaktadır. Geleneksel analitik yöntemler ile kemometrik kalibrasyonların karışık olan numuneler üzerinde başarılı sonuçlar vermesi sebebiyle kemometrik yöntemler ilaç numunelerinin analizinde artan yoğunlukta kullanılmaktadır (Kaya, 2007).

## 1.1 Tenefovir Disoprosil Fumarat(TDF) /Emtirisitabin (EM) İle İlgili Genel Bilgiler

### \* *Tenefovir disopraksil fumarat(TDF)*

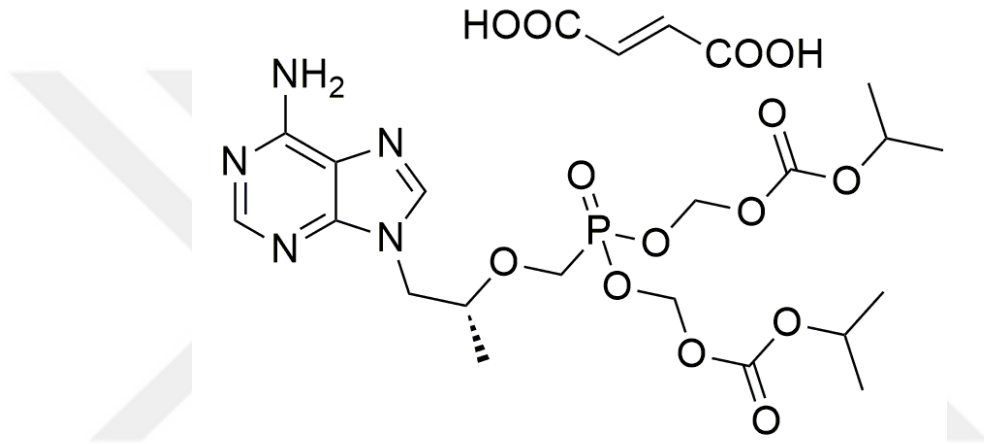
Molekül formülü:  $C_{19}H_{14}K_5O_4P$

Mol ağırlığı: 287,213 g / mol

Fiziksel Görünümü: Beyaz veya hemen hemen beyaz renkte toz.

Çözünürlük: Dimetilformamitte çözünür ve metanolde çözünür.

Açık Formülü:



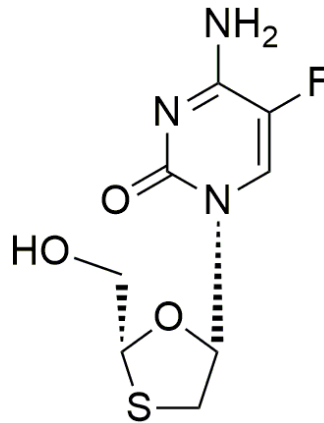
Şekil 1.1. TDF açık formül

### \* *Emtirisitabin(EM)*

Mol ağırlığı: 247,248 g / mol

Açık formülü:  $C_8H_{10}FN_3O_3S$

Çözünürlük: Metanolde çözünür, etanolde (%95) çözünür.



Şekil 1.2. EM açık formül

## 1.2 Faktöriyel Tasarım ve Optimizasyon

Deneyin sonuçlarını etkileyen herhangi bir deneysel şart, faktör olarak adlandırılır. Bir deneyde ilgili faktör, çözeltinin şartları analizciler tarafından değiştirilebileceği için kontrol edilebilen faktör olarak isimlendirilir. Örneğin bir varilin farklı bölümlerinden etken madde numuneleri rasgele seçilir. Bu yüzden bu faktör kontrol edilemeyen faktör olarak tanımlanır. Mümkün olan değerler sayısal bir şekilde düzenlenemediği bu faktörlerin her ikisine de nitel faktörler adı verilir. Mümkün değerleri sayısal olarak düzenlenebilen faktörlere nicel faktörler adı verilir (Miller, 2004).

## 1.3 Kemometri Hakkında Bilgi

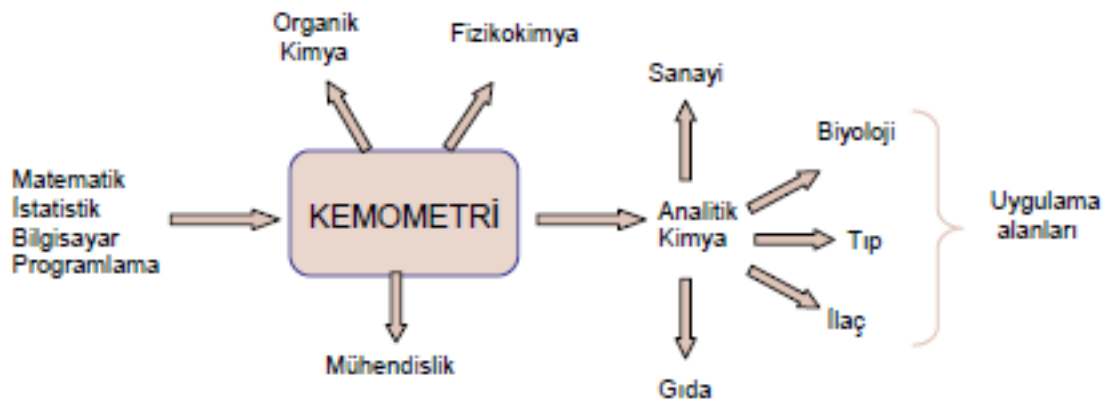
Kimyada verilerin işlenmesi ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi ile elde edilen verilerin sağladığı deney faktörlerinin araştırılması, zamandan fayda sağlanması, optimize edilmesi, kantitatif sonuçlar elde edilmesi ve kalibrasyonların yapılabilmesi için gerekli olan deneysel faktörlerin hazırlanması, kimyanın en çok ihtiyaç duyduğu hesaplama ve modelleme çalışma alanlarıdır (Akpolat, 2004).

Bilgisayar yazılımları ve istatistik alanındaki gelişmeler kimyada ve özellikle analitik kimyada karmaşık sistem çözümü için kemometri olarak adlandırılan yeni bir disiplinin oluşumuna neden olmuştur. Bu gelişmeler analitik kimya ve diğer bilim dallarındaki araştırmacılara, analitik sorunların çözümünde yeni çözümler sağlayan çok boyutlu ve çok değişkenli parametrelerin kullanıldığı kemometrik metotlarla yeni çalışma alanları oluşturmuştur. Kemometri, istatistik ve matematik ile beraber kimyasal verilerin işlenmesini içeren bir kimya disiplindir. Kemometri, kimyasal analizlerde kimyasal verilerden doğru bilginin ayrılması veya saklı bilgilerin ortaya çıkmasına olanak sağlayan araçtır. Kemometri temel uygulama alanlarından biri de analitik kimyadır (Akpolat, 2004).

Kemometri, 1972 yılında İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski tarafından ortaya atılmış ve 1974 yılında ulusal kemometri derneği ile bu alanın ilk açıklaması yapılmıştır. Kemometri kapsam olarak, tanımlayan ve açıklayan istatistik, sinyal alma, deney tasarımı, modelleme, kalibrasyon, optimizasyon, yapı tanıma, sınıflandırma, yapay akıl yöntemleri, resim işleme, bilgi ve sistem kuramı gibi kavram ve uygulamaları içermektedir (Kitiş, 2011).

Günümüzde kemometrik metotların gelişmesiyle çok fazla etken madde içeren ürünlerin kantitatif analizi ön kimyasal ayırma işlemi ve grafik işlemi gerektirmeden hızlı olarak, hassasiyeti ve doğruluğu yüksek şekilde gerçekleştirilmektedir. Bu duruma göre kemometri diğer metotlara oranla büyük bir fayda sağlamıştır ve kemometrinin kullanım alanının geniş bir sahaya yayılmasına olanak sağlamıştır (Kitiş, 2011).

Kemometri; adli tıp, analitik kimya, biyoloji, kimyanın alt dalları gibi alanlarda kullanılmaktadır. Diğer bilimlerde de, sinyal alma ve çok değişkenli verilerin analizinde kemometrik metotların uyguladıkları görülmektedir. Organik kimyada ve farmasotik kimyada, reaksiyon koşullarının optimize edilmesinde deneysel tasarım ve ilaç tasarımında yapı-etki ilişkisi çalışmalarında kemometrinin araçlarını kullanmaktadırlar (Vandeginste, 1998; Kitiş, 2011).



Şekil 1.3. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler

Şekil 1.3.'te de görüldüğü üzere kemometrik çalışmalar, analitik kimyada ve diğer bağlantılı bilim dallarının ihtiyaçları doğrultusunda uygulamalı matematik ve istatistik ile bilgi sahip olmayı gerektirmektedir. Kemometriyi kullanırken programlama ve hesaplama yapmak çok önemlidir. Kemometrik uygulamaların çoğu karmaşık hesaplamalar içermektedir. Bu hesaplamaları elle veya basit hesap makineleriyle yapmak mümkün değildir. Bu sebeple bilgisayar programları kullanılmaktadır. Kemometrik hesaplamalarda EXCEL, MATLAB, PANORAMA, MİNİTAB, XLSTAT, SOLO gibi farklı programlar kullanılmaktadır (Dinç, 2009). Birden fazla aktif bileşiği içeren karışımlarda bileşiklerin herhangi bir ayırma işlemi kullanmadan analiz yapmak analitik kimyanın ve diğer bilim dalların problemlerinden birisidir. Karışım halinde bulunan numunelerin analizi için farklı kromatografik ve spektrofotometrik metotların

yaygın olarak kullanıldığı çalışmalarda da görülmektedir. Her zaman bu yöntemlerin de iyi sonuçlar vermediği de bir gerçektir. Bu sebeplerden dolayı küçük miktarlarda numunelerin analizi için analitik cihazlar geliştirilmesine rağmen klasik analitik cihazlardan elde edilen sonuçların çeşitli matematiksel algoritmalara tabi tutularak metotların hassasiyeti ve sonuçların güvenilirliği artırılmaya çalışılmaktadır (Kitiş, 2011).

#### 1.4 Uygulanan Yöntem ile İlgili Genel Bilgiler

##### \* *Analitik metot validasyonu*

Analitik metot validasyonu ürün kalitesini etkileyecek tüm olasılıkları belirleyerek limitleri sağlayacak şekilde analizleri garanti altına alan çalışmalardır. Metot validasyonu parametrelerini belirlemek için uygulanması gereken resmi test prosedürleri bulunmaktadır. Bu prosedürler USP, ICH, FDA gibi uluslararası kuruluşların belirlediği kurallar kullanılır. Geliştirilen metot ile ilgili karşılaşılabilecek sorunları en aza indirmek için en iyi yol, metot geliştirme esnasında uygun validasyon parametlerini belirlemektir. Laboratuvar tarafından validasyonu tamamlanarak geliştirilen metotlar başka bir laboratuvar ile birlikte yapılan çalışmalar metotların performansını belirlemede en iyi yoldur (Şenyuva, 2006). İlaç endüstrisinde temizlik validasyonu, proses validasyonu, metot validasyonu, cihaz validasyonu gibi validasyonlar kullanılmaktadır.

##### \* *Analitik Metot Validasyonunda Kapsam*

Analitik metot validasyonu, belirlenen amaç doğrultusunda ve farmasötik alanda 3 farklı grupta yapılmaktadır.

*Miktar Tayini Analiz:* Bitmiş ürün veya hammadde içerisinde bulunan etkenin miktarını tespit etmek için kullanılmaktadır.

*İmpurite (Safsızlık) Analizi:* Bitmiş ürün veya hammadde içerisindeki safsızlıkların miktarını tespit etmek için kullanılmaktadır.

*Çözünme Analizi:* Bitmiş ürün veya hammadde içerisindeki dissolusyon miktarını tespit edilmesi için kullanılmaktadır.

*Diğer Analiz Yöntemi:* Bitmiş ürün veya hammadde teşhisinde kullanılan diğer analizler

için kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra;

- ✓ Herhangi bir metot bir laboratuvarda ilk defa kullanılacağı zaman
- ✓ Bir analiz için yeni metot geliştirildiği zaman
- ✓ Kullanılmakta olan metotta bir değişiklik yapıldığı zaman
- ✓ Valide edilmiş bir metot başka bir laboratuvarda kullanılacağı zaman
- ✓ İki metodu karşılaştırmak için
- ✓ Laboratuvarda yapılan ve sonuçları etkileyebileceği düşünülen değişiklikler olduğunda validasyon yapılmaktadır.

\* **Analitik Metot Validasyon Aşamaları**

Analitik metot validasyonunda kimyasal analizlerde elde edilen verilerin doğruluğunu kanıtlayan adımların sırasıyla yapılması gerekmektedir (Huber, 2001). Öncelikle ilk adım olarak validasyon protokolü hazırlanır. Metot validasyon kriterleri, farmakopeye uygun limitler, sistem uygunluk parametreleri belirlendikten sonra validasyon raporu hazırlanır.

**Çizelge 1.1.** Validasyon parametreleri

Parametreler	Teşhis	Safsızlık		Miktar Tayin Dissolüsyon Miktar
<b>Doğruluk</b>	-	-	+	+
<b>Kesinlik</b>	-	-	+	+
	-	-	+	-
	-	-(1)	+	+(1)
<b>Spesifiklik</b>	+	+	+	+
<b>LOD</b>	-	+	-	-
<b>LOQ</b>	-	-	+	-
<b>Linearite</b>	-	-	+	+
<b>Aralık</b>	-	-	+	+
<b>Sağlamlık</b>	-	-	+	+

- Normalde yapılmaz

+ Normalde yapılır

(1) Laboratuvarlar arası, ortak çalışma yapıldığında gerek yoktur.

\* ***Seçicilik***

Analitik metodun seçiciliği, numuneyi diğer matrikslerden ayırabilme özelliğidir. Geliştirilen metodun sadece tespit edilen etken maddeye özgün olduğu ispat edilmelidir. Farmasötik preparatlarda yardımcı madde, safsızlıklar ve etken maddenin birbiri ile etkileşmediği ayrı ayrı tanımlandırılmalıdır. Seçicilik parametresinde metot da bulunan bazı başlıklar değiştirilerek herhangi bir sapma durumunda sonuçlarda değişiklik olup olmayacağı tespit edilmelidir (ICH, 1994).

\* ***Dedeksiyon limiti***

Numune içinde tespit edilebilen en düşük değer o analiz metodu için dedeksiyon limitidir. Çıkan değer anlamlı olması gerekmez. Dedekte edilebilir olması önemlidir. Numune içermeyen kör çözeltinin enjeksiyonu ile gürültü belirlenir. Sinyalin gürültüye oranı hesaplanır ve 3 katı için dedeksiyon limiti ve 10 katı için miktarsal tayin edilebilirlik limiti belirlenir (ICH, 1994).

\* ***Doğrusallık / konsantrasyon aralığı***

Doğrusallık, metodun verilen bir alanda numunede bulunan analitin konsantrasyonu ile orantılı olarak belirlenmiştir. En az 5 farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler cihaza verilerek metodun doğrusal olup olmadığı tespit edilir. Lineer regresyondan hesaplanan korelasyon katsayısı değeri doğrusallık hakkında yol göstermektedir. Bu değer 0,99' dan büyük yada eşit olmalıdır (Huber, 2001).

\* ***Kesinlik***

Spesifik analiz koşulları altında elde edilen bağımsız analitik sonuçlar arasındaki uyumun derecesidir. Bu sonuçlar arasındaki değişim, tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametreleri ile kontrol edilebilir.

***Tekrarlanabilirlik:*** Kısa süreçte gerçekleşen, aynı çalışma ortamındaki sonuçların birbirine yakınlığıdır (Aynı analizcinin aynı gün, aynı şartlar altında aynı numuneyi ard arda çalışması).

*Tekrarüretilebilirlik:* Uzun bir sürede gerçekleşen, farklı zaman, farklı analizci gibi bazı parametrelerin değiştirilerek elde edildiği sonuçların birbirine yakınlığıdır.

\* ***Doğruluk***

Ölçüm sonuçları ile, numunedeki gerçek analit miktarı arasındaki uyumun derecesidir. Sistematik hatanın bir göstergesidir. Genelde geri alma testleri ile yapılır. Doğruluk değerlendirilmesi birçok yolla elde edilebilir (Huber 2001). Temiz ürüne ya da plaseboya miktarını bildiğimiz etken ya da madde spike yapılır. % Geri kazanım bulunan sonuçların gerçek sonuca yakınlığının ölçülmesidir ve % geri kazanım olarak ifade edilir.

\* ***Ölçüm belirsizliği***

Ölçüm sonucu ile beraber yer alan ve ölçülen büyüklüğe makul bir şekilde karşılık gelebilecek değerlerin dağılımını karakterize eden parametrelerdir. Ölçüm sonucunun kalitesinin göstergesidir (Şenyuva 2006). İki tip ölçüm belirsizliği vardır.

*Tip A:* İstatistiksel olarak hesaplanır. Belirsizlik bileşenleri standart sapma olarak değerlendirilir. Bu sebeple tüm değerlerin ortalama farklarının dağılımı ölçüm belirsizliğini belirtir (Özmen 2001).

*Tip B:* İstatistiksel olmayan yöntemlerle hesaplanır. Analizde kullanılan malzemeler başka ön hazırlık işlemlerinde kullanılıyorsa bu aşamalar tek tek değerlendirilir. Kullanılan malzemeler (beherler, erlenler, pipetler gibi) sertifikada yazan değerler alınır. Bu belirsizlik türünde farklı dağılım türleri kullanılır (normal, diktörtgen veya üçgen dağılım gibi) (Özmen 2001).

*Normal Dağılım:* Belirsizlik belirli bir güven aralığındaysa kullanılır. Sertifikada verilen güven aralığı %95 ise sonuç 1,96 yada %99 olarak belirtilmiş ise 2,576 bölünerek belirsizlik hesaplanır (Özmen 2011).

*Diktörtgen Dağılım:* Sertifikada verilen değer yanında  $\pm y$  değerinin yanında güven aralığı verilmemiş ise  $y$  değeri  $\sqrt{3}$ 'e bölünür (Özmen 2011).

*Üçgen Dağılım:* Eğer  $\pm a$  değeri güven düzeyi olmadan veriliyorsa ve elde edilen değerler ortalamaya yakın değerlerse bu durumda üçgen dağılım kullanılır ve  $a$  değeri  $\sqrt{6}$  ya bölünür (Özmen 2011).

\* ***Belirsizlik İfade Tipleri***

Belirsizlik çeşitleri aşağıdaki gibidir.

*Standart Belirsizlik:* Ölçüm sonuçlarının dağılımının standart sapma olarak hesaplanan değeridir.

*Birleştirilmiş Belirsizlik:* Bir ölçüm sonucuna etkileyen belirsizlik bileşenlerinin ölçüm sonucuna etkisinin göz önüne alınarak hesaplanan belirsizliktir. Belirsizlik bileşenlerinin varyansları toplamının karekökü bularak hesaplanır.

*Genişletilmiş Belirsizlik:* Ölçüm sonucu değerlerinin büyük bir kısmını içeren aralık olarak tanımlanır. Birleştirilmiş belirsizlik belli bir emniyet katsayısı ile çarpılarak hesaplanır.  $k=2$  için %95,  $k=3$  için %99 aralığa karşılık gelir.

\* ***İstatistiksel Hesaplama***

*Parametrik ve parametrik olmayan hipotez testleri*

İstatistiksel analiz yapılmadan önce verilerin kategorik (nominal, ordinal) ya da sürekli (aralıklı, oransal) olup olmadığına bakılmalıdır. Kategorik verilerde parametrik olmayan istatistikler kullanılırken, sürekli verilerde ise parametrik istatistikler kullanılır. Parametrik testlerin uygulanabilmesi için en azından verilerin normal dağılıma uyması, varyansların homojen olması ve her testte farklı olmak üzere başka koşulların da sağlanması gerekmektedir. Parametrik testler, parametrik olmayan testlere göre daha güçlü ve esnektir (Kalaycı 2016).

*T Testi*

T testi, iki örneklem grubu arasında ortalamalar açısından fark olup olmadığını araştırmak için kullanılır. T testi, bir gruptaki ortalamanın diğer gruptaki ortalamadan önemli derecede farklı olup olmadığını belirler. T testinde kritik noktadır. T testi her zaman iki farklı ortalamayı ya da değeri karşılaştırır. Özellikle, örneklem büyüklüğünün çok fazla olmadığı, örneklemin alındığı anakütle'nin standart sapmasının bilinmediği ve anakütlenin parametrelerinin hipotez testinde kullanılmadığı durumlarda tercih edilir (Kalaycı 2016).

*Bağımsız İki Örnek T-Testi (Independent Samples T-Test)*

Bağımsız iki örnek T testi farklı iki örneklem grubunun ortalamalarını karşılaştırır. İki grubun üyeleri birbirinden ayrıdır (Kalaycı, 2016).

$H_0: \mu_0 = \mu_1$  (İki grubun ortalamaları arasında fark yoktur).

$H_1: \mu_0 \neq \mu_1$  (İki grubun ortalamaları arasında fark vardır).

### *Varyans Analizi (Anova-Manova)*

Varyans analizi iki ya da daha fazla ortalama arasında fark olup olmadığı ile ilgili hipotezi test etmek için kullanılır. İki ortalama arasında anlamlı bir fark olup olmadığını test etmek için T testi kullanılır. Fakat T testi, ikiden fazla ortalamanın karşılaştırılması gerektiği durumlarda sorun yaşamaktadır. Her ne kadar, ikiden fazla ortalamanın karşılaştırılması gerektiği durumda da ikişer ikişer ortalamaları T testi ile karşılaştırmak mümkün olsa bile, bu yöntem 1.tip hata oranının fazla yükselmesine sebep olabilecektir. Ne kadar fazla test yapılırsa 1.tip hatası o kadar yükselecektir. Varyans analizi 1.tip hata oranını yükseltmeden ikiden fazla ortalamanın karşılaştırılmasında kullanılan bir testtir. Varyans analizinde  $H_0$  hipotezi, bütün popülasyonların ortalamalarının eşit olduğu şeklindedir.

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n$  yani ortalamalar arasında fark yoktur.

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots \neq \mu_n$  yani ortalamalar arasında fark vardır.

Varyans analizinde hipotezi test etmek için F değeri kullanılır (Kalaycı 2016).

### *Mann-Whitney U Testi*

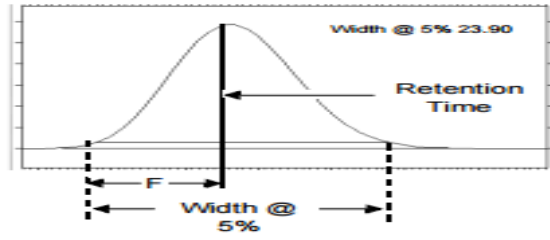
Bu teknik aralıksız ölçülen iki bağımsız grup arasındaki farklılıkların testi için kullanılır. Bu test bağımsız örnekler için uygulanan T-testlerinin parametrik olmayan alternatifidir (Kalaycı 2016).

## **1.5 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)**

Kolon şartlarında yürütülen sıvı kromatografisinde çapı ve uzunluğu farklı boyutlarda olan ve bu kolonların içerisinde taşıyıcı faz yerçekiminin etkisiyle geçer. Bu koşullarda uygun akış hızını kolonun tanecik boyutuna göre belirlenir. Farklı vakum ve basınç sistemleri kullanılarak akış hızları artırılmış fakat kolon verimlilik parametrelerinde düşüşler olmuştur. Kromatografi ile çalışan araştırmacılar kolon verimliliğinin artırmak amacıyla sabit fazda parçacık boyutunu düşürülmesi gerektiği tespit edilmiştir. Küçük partikül boyutuna sahip kolonlarda hareketli fazı yüksek akış hızıyla çalışabilmek için özel parçalara ihtiyaç duyulmuştur (Skoog 1998). Kolon performansını gösteren parametreler aşağıdaki gibidir.

\* ***Simetri ya da Tailing Faktör***

Simetri faktörü pik simetrisinin %5 lik kısmından ölçülür. İdeal simetri faktörü 1 dir.



Şekil 1.4. Simetri faktörü

$$T = \frac{W}{2XF}$$

T: Tailing faktör

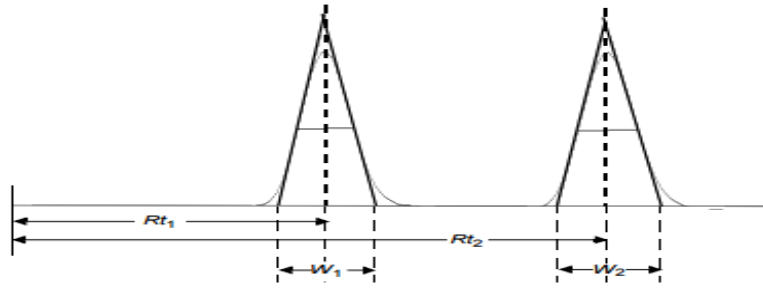
W: Pik yüksekliğinin %5 i pik genişliğini

Rt: Pik çıkış zamanı

F: Pikin çıkış noktasının  $R_t$  alan ve %5 i kadar pikin yüksekliği

\* **Kolon Ayırma Gücü (Rezolüsyon)**

Kolonun ayırma gücü,  $R_s$  ile gösterilir.  $R_s$  bir numunede bulunan bileşenlerin bir birinden ayrıldığını gösteren bir parametredir.



Şekil 1.5. Rezolüsyon

$$R = \frac{2.0(Rt_2 - Rt_1)}{(W_2 + W_1)}$$

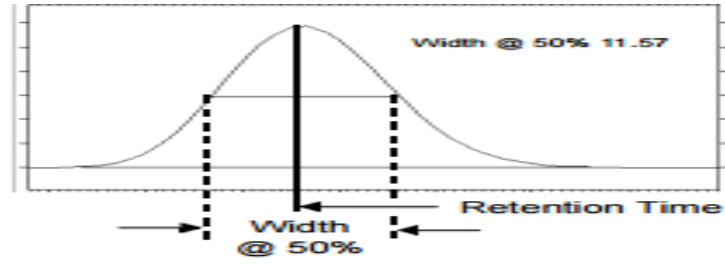
R: Rezolüsyon

Rt: Çıkış zamanı

$W_1+W_2$ : Pik yüksekliğinin %50' sinde 2 tangent çizgisi arasındaki pik genişliğinin toplamı

### ***Teorik Plaka Sayısı***

Teorik plaka sayısı, tabaka yüksekliği ile ilişkilendirilir.



Şekil 1.6. Teorik plaka sayısı

$$N = 5,54 \left( \frac{Rt}{W} \right)^2$$

N: Teorik plaka sayısı

Rt: Pikin çıkış zamanı

W: Pik yüksekliğinin %50' sindeki pik genişliği

## 2 KAYNAK ARAŞTIRMASI

Droste ve ark. (2007), insan plazmasındaki antiretroviral ajan EM'nin belirlenmesi için florasan dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografi ile tanımlama yapmışlardır. 500 mL insan plazması Oasis max kolonu kullanarak katı faz ekstraksiyonu (SPE) yöntemi ile, düzgün bir baseline elde ederek yüksek ekstraksiyon verimi (%107) ile validasyonu sonuçlandırmışlardır. Mobil faz olarak fosfat tamponu ve metanol ile 15 dk'lık gradient uygulanmışlar, dalga boyu olarak ise sırasıyla 244 nm ve 356 nm kullanılmışlar. Doğruluk çalışması için 0,01 ile 5,0 mg/L aralığı kullanarak beş farklı konsantrasyonda çalışma yapılmış ve sonucu %100 ve %107 arasında bulmuşlardır. Metodu geçerli kılmak için dış kalite kontrol programına katılım sağlamışlar. Sonuç olarak bu yöntem, HIV ile enfekte hastaların klinik çalışmalarında ve terapötik ilaç izlemede kullanım için uygun bulunmuştur.

**Çizelge 2.1.** EM'nin mobil faz oranları

Süre(min)	Akış (mL/min)	Mobil Faz A (%) (0,025 mol KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ve 200 mL%85 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	Mobil Faz B (%) (Methanol)
0	1.0	95	5
15	1.0	50	50
16	1.0	95	5
21	1.0	95	5

Hussen ve ark. (2013), TDF için fotodiyot dedektör (PDA) kullanarak HPLC yönteminin geliştirmişler ve ICH yönergelerine göre validasyonunu yapmışlardır. Geliştirilen yöntem, TDF nanoparçacık formülasyonunda miktar tayini için başarıyla uygulanmışlardır. Lichrocart (C18) (250mm x 4.6mm, 5µm partikül boyutu) kolonu mobil faz kompozisyonu ise asetonitril ve 0,025 M potasyum KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tamponu (pH 3,0, %10 v/v H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> kullanılarak ayarlanır), 35:65 (v/v) ve 260 nm'lik dalga boyu kullanılmışlardır. Yöntem, ICH yönergelerine göre özgüllük, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, saptama limitleri ve nicelik gibi parametreler ile doğrulanmıştır. Asit, baz ve oksidasyon gibi farklı stres koşullarında bozunma çalışmaları başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir. TDF'nin alkali ve asidik koşullarda önemli ölçüde bozulduğunu tespit etmişlerdir. PDA dedektör ile impurite analizi için geliştirilen yöntemin özgünlüğünü doğrulamışlardır. Yöntemin lineerlik aralığı 0,1 µg/mL ila 50 µg/mL (R<sup>2</sup>> 0.999) ile kesin ve doğru olduğunu bulmuşlardır.

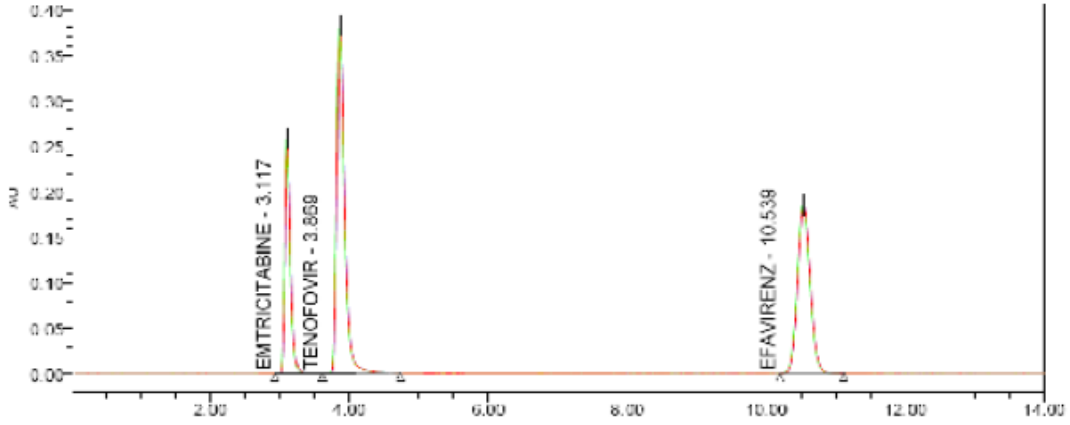
Çizelge 2.2. TDF metot parametreleri

Parametre		% RSD ≤ 2,0 %)
Akış Hızı	0,9 mL/min	0,10
	1,1 mL/min	0,06
pH	2,8	0,54
	3,2	1,21
Dalga Boyu	+2 nm	0,23
	-2 nm	0,08
Sıcaklık	+2°	0,21
LOD	3,3 x SD/S	0,025 µg/mL
LOQ	10 x SD/S	0,1 µg/mL

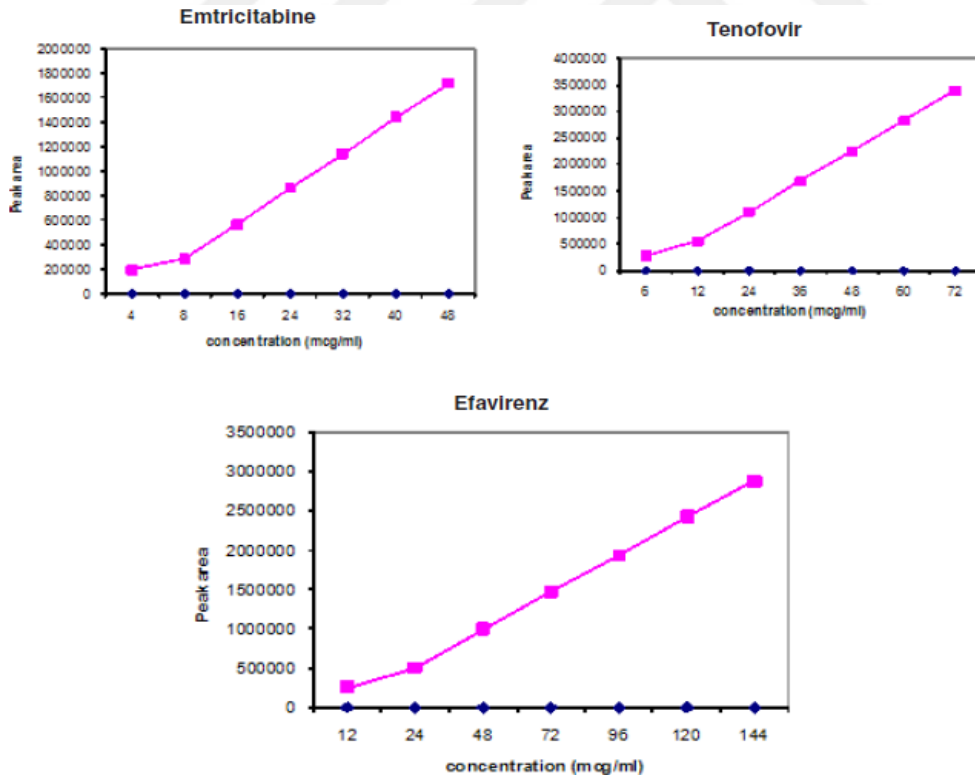
Gnanarajan ve ark. (2008) , TDF'nın bulk ve tablet dozaj formu için yeni bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. TDF'nın dalga boyu 261 nm olduğu tahmin edilmektedir. Beer kanunu göre, ilacın 5 - 90 µg/mL'lik konsantrasyon aralığı uygulanmıştır. Eğim ve kesişme değerleri sırasıyla 0,0109 ve 0,1075 çıkmıştır. Geliştirilen yöntemin analiz sonuçlarını valide etmişler ve geri kazanım çalışmaları ile doğrulamışlar. Yöntem, piyasada bulunan tablet formülasyonun uygulanabilir durumdadır. Etiket formülasyonu standart sapması yüzdesi olarak verilen tablet formülasyonu analizinin bir sonucu  $98,15 \pm 0,76$ 'dır. Kesinlik, doğruluk, geri alma çalışmalarında  $100,06 \pm 1,24$  olarak bulmuşlardır. Geliştirilen yöntem basit, hassas ve tekrarlanabilir ve TDF'nın bulk ve tablet dozaj formunda rutin analizi için kullanılabilir olacaktır.

Raju, ve ark. (2008), TDF, EM ve Efavirenz'in tablet dozaj formunda tahmin edilmesi için, izokratik modda basit, hassas, hızlı ve HPLC yöntemi ile geliştirmişlerdir. Metot şartları; mobil faz olarak 60 : 40 (v/v) asetonitril ve 0,03 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  ile pH 3,2' ye ayarlamışlar). Hypersil BDS C18, 250x4.6 mm, 5 µm'lik kolon kullanılmışlardır. Akış oranı 0,8 mL/dk, dalga boyu 260 nm tespit edilmiştir. Doğrusallıksi TDF, EM ve Efavirenz sırasıyla 6-72 µg/mL, 4-48 µg/mL ve 12-144 µg/mL aralığındadır. İlgili doğrusal regresyon denklemi, TDF için  $y = 47439x - 9882.3343$ , EM için  $y = 35167.413x + 22780.1317$  ve Efavirenz için  $y = 19958.961x + 23536.8626$ 'dır. TDF, EM ve Efavirenz için tespit limiti (LOD) sırasıyla 0,03 µg / mL, 0,04 µg/mL ve 0,12µg/mL olarak bulmuşlardır. TDF, EM ve Efavirenz için tespit sınırı (LOQ) sırasıyla 0,09 µg/mL, 0,12µg/mL ve 0,36µg/mL olarak bulmuşlar TDF, EM ve Efavirenz'in yüzde miktar tayini, sırasıyla %98,78, %98,57 ve %98,28 çıkmıştır.

Yöntemin, doğruluğunu, kesinliğini ve sistem uygunluğunu belirleyerek valiasyon yapmışlardır. Çalışmanın sonuçları, önerilen RP-HPLC yönteminin, basit, hızlı, kesin ve doğru olduğunu göstermişlerdir. TDF, EM ve Efavirenz'in, bulk ve farmasötik dozaj formunda rutin tayini için kullanılabilir.



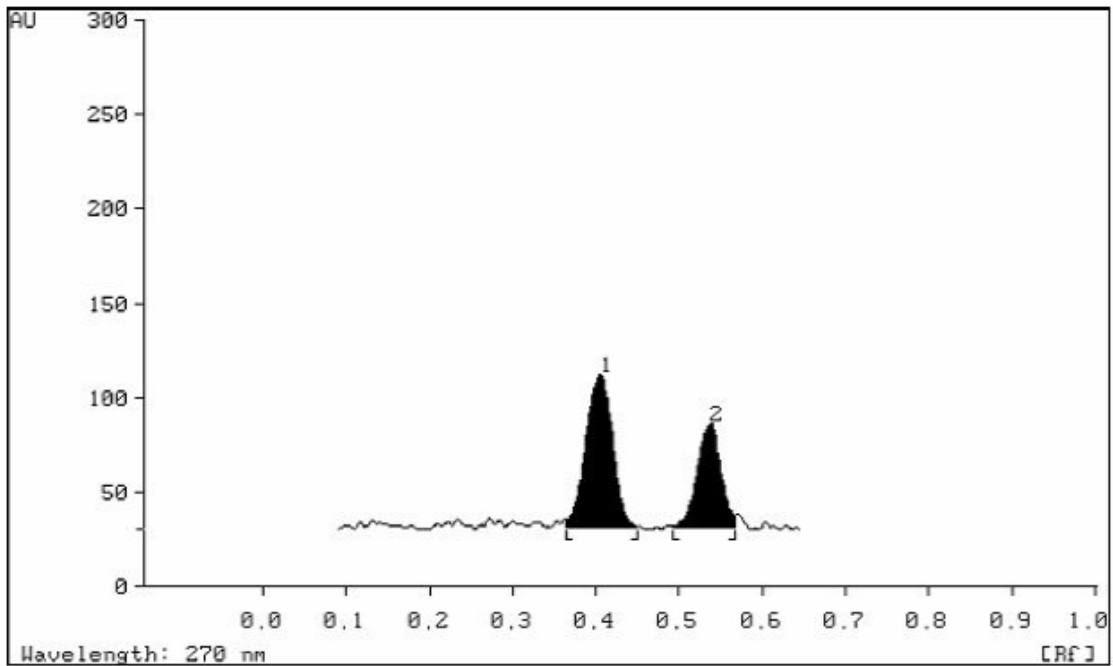
Şekil 2.1. TDF, EM ve efavirenz kromatogram



Şekil 2.2. TDF, EM ve efavirenz kalibrasyon grafikleri

Rao ve ark. (2011), TDF ve EM' in bir tablet dozaj formunda eş zamanlı analizi için yeni, basit, hassas, doğru ve seçici yüksek performanslı ince tabaka kromatografik

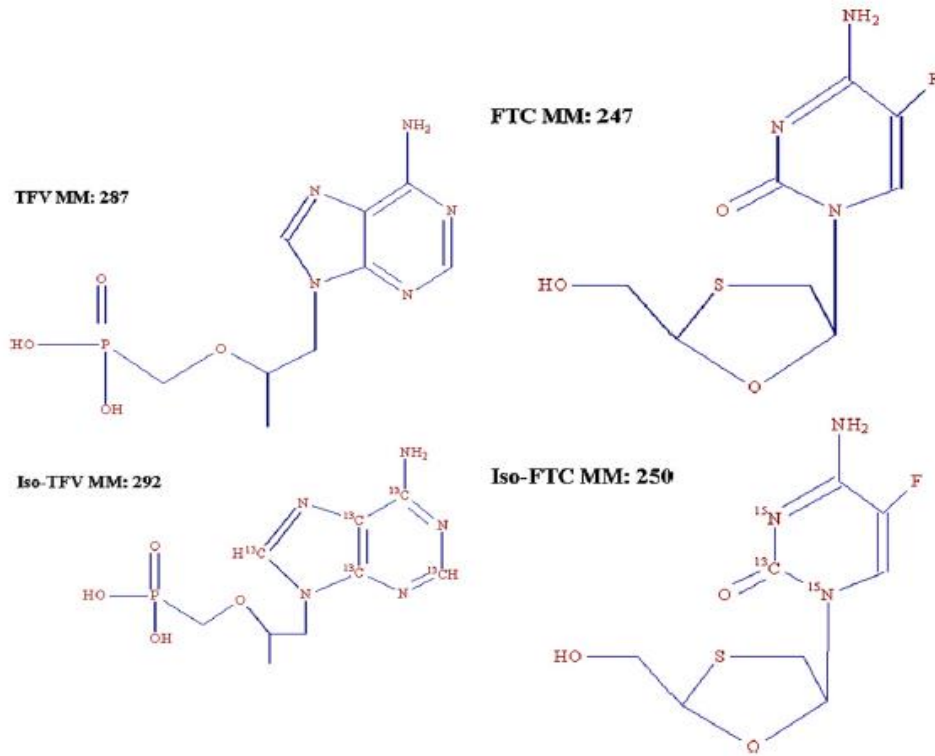
(HPTLC) yöntemi geliştirmişlerdir. Kromatografik ayırma, silika jeli 60F254 ile kaplanmış alüminyum folyo plakalarda, mobil faz olarak tolüen : metanol : etil asetat : asetik asit (4 : 2 : 5 : 0,1 v / v / v / v) yürütmüşler. Dedektör 270 nm dalga boyunda. TDF ve EM çıkış zamanı sırasıyla  $0.52 \pm 0.05$  ve  $0.40 \pm 0.02$  dır. Yöntemin doğrusalılığı (TDF için 120-600 ng/spot ve EM için 80-560 ng/spot), doğruluk (TDF için %99,54 ve EM için %99,87) ve özgüllük ile değerlendirilmiştir. ICH yönergelerine uygun olduğunu tespit etmişlerdir. Metot, farmasötik formülasyonlarda rutin olarak TDF ve EM analizi için kullanılabilir bulunmuştur.



Şekil 2.3. TDF ve EM Kromatogramı

Delahunty ve ark. (2009), TDF plazma seviyelerini belirlemek için LC / MS / MS cihazını kullanmışlardır. TDF ilacı (300 mg) ve başka bir ters transkriptaz inhibitörü, EM (200 mg) içeren yeni bir kombinasyon terapisi, günde bir kez uygun dozaj formunda mevcut hale getirmişlerdir. Aynı zamanda, TDF ve EM plazma konsantrasyonlarını eşzamanlı olarak belirlemek için uygun bir metot geliştirerek ve doğrulamayı sağlamışlardır. Analitlere karşı kimyasal benzerlikler göz önüne alınarak, kararlı izotop iç standartlar seçmişlerdir. Bunlar, Iso-EM  $^{13}\text{C}$  ve  $^{15}\text{N}$  ile etiketlenmiş adenin (Iso-TDF) ve EM' de  $^{13}\text{C}$  ile eşit şekilde etiketlenmiş TDF' den oluşmuştur. Tri-üroasetik asit, yüksek hızlı santrifüj işleminden sonra proteinsiz bir ekstrakt elde etmek için hastanın plazmasına EDTA eklemiştirlerdir. Ekstraktlar, mobil faz olarak (%3 asetonitril /%1 asetik asit), 200  $\mu\text{L}/\text{dk}$ . numune enjekte etmişler. Polar-RP,

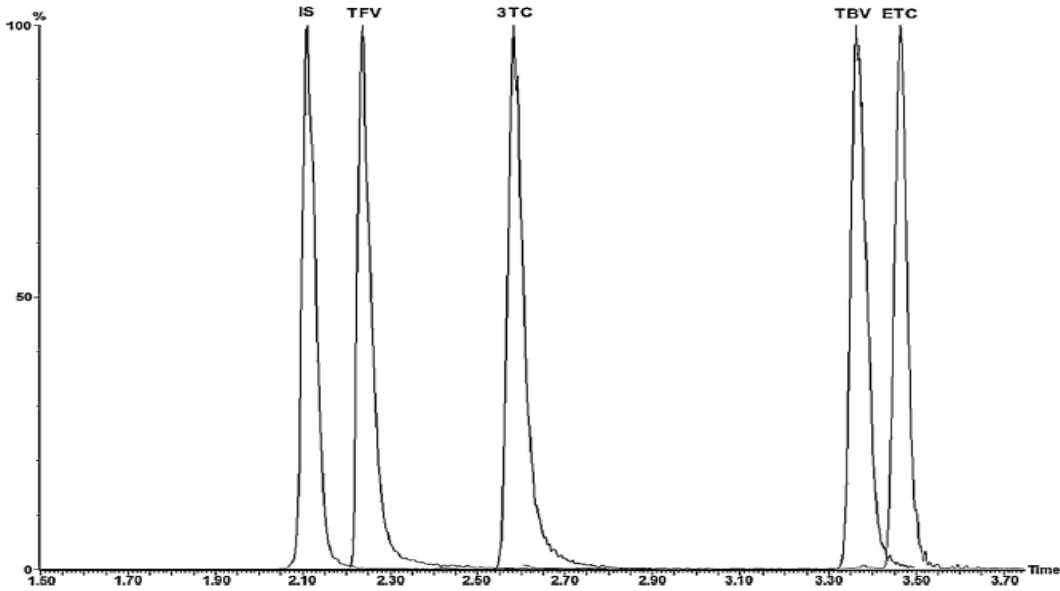
kromatografik ayırma elde etmek için 2.0 mm × 150 mm, ters fazlı analitik kolon kullanmışlardır. Analitlerin saptanması için ESI pozitif iyonlaşma tandem kütle spektrometresi ile elde etmişlerdir. Pozitif iyon modundaki (m/z) sırasıyla TDF ve Iso-TDF için 288/176 ve 293/181 iyonlarıydı ve (m / z) 248/130 ve 251 dir. EM ve Iso-EM için sırasıyla 133 iyon. Analit/IS oranları, belirtilen konsantrasyonlara göre çizildiğinde, konsantrasyon eğrilerinin doğrusallığı, her iki analit için (250 µL plazma ekstrakte edilmiş), minimum kantitatif sınırla, 10 ng/mL ila 1500 ng/mL aralığında bulmuşlar. Her iki analit için hem TDF hem de EM için aynı gün, günler arası, doğruluk ve kesinlik LOQ' da ± %20 ve diğer QC seviyelerinde ± %15 sonuçlarını bulmuşlardır. Tek TDF' nin deneyi için, kararlı izotop IS kullanarak, sonucusu ve EM' nin eş zamanlı belirlenmesini birleştirmek için orijinal olarak tasarlanan yöntemi geliştirmişlerdir. Bu metodu, kombinasyon terapisi ile tedavi edilen 678 HIV-pozitif hastanın periyodik olarak izlenmesi için başarıyla kullanmışlardır.



**Şekil 2.4.** TDF, FTC, iso TFV ve iso FTC açık formülleri

Nicolò ve ark. (2015), Bu çalışmada, lamivudin, telbivudin, TDF ve entekavir plazma konsantrasyonlarını izleyebilen bir UPLC-Tandem kütle spektrometresi analiz yöntemini geliştirmişler ve valide etmişlerdir. Her iki standart ve kalite kontroller (yüksek, orta ve düşük) insan plazmasında hazırlamışlardır. Her örnek için iç standart (5

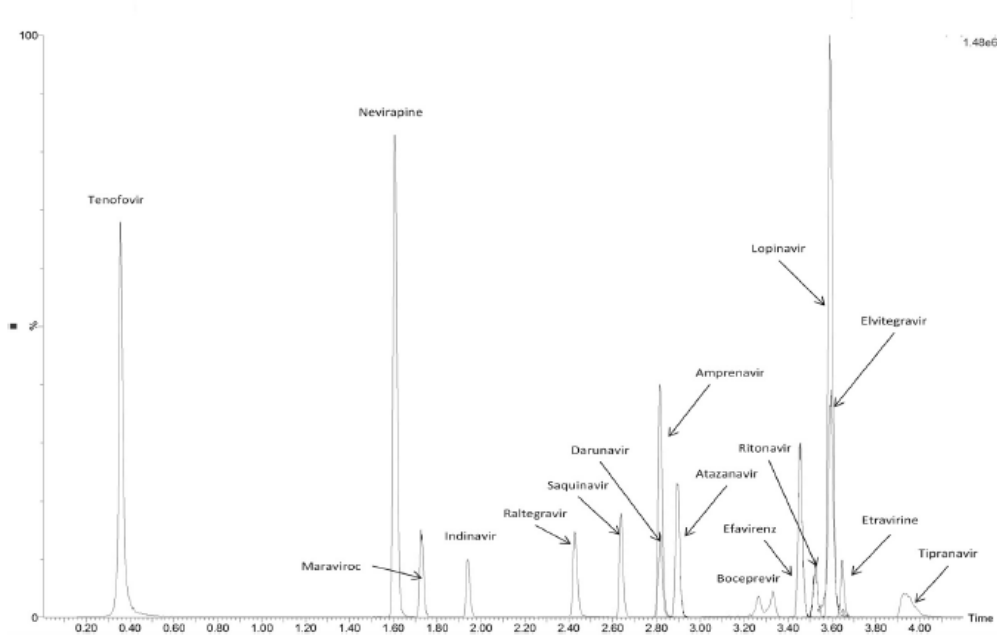
amino-5 deoksi-timidin) ile ilave edilmiştir ve daha sonra ilaçlar bir protein çöktürme protokolü yoluyla asetonitril +%0.1 formik asit ile ekstre edilmiş ve daha sonra kurutulmuştur. Ekstraktlar su içine yeniden süspanse edilip ve daha sonra kromatografik sisteme enjekte etmişlerdir. Kromatografik ayırma yöntemiyle, mobil faz olarak formik asit (%0,05) su ve asetonitril ile gradient uygulamışlar Acquity UPLC HSS T3 1.8  $\mu$ m 2.1 x 150 mm kolon kullanmışlar. Kalite kontrol seviyelerinde doğruluk, gün içi ve günler arası hassasiyette tüm analitler FDA yönergelerini uygularken, matris etkileri ve geri kazanımlar her bir analit için örnekler arasında sabit sonuç vermişler. Son olarak, bu yöntemi 30 HBV hastaların plazma konsantrasyonlarını izleyerek test etmişlerdir. Bu basit analitik yöntemin, anti-HBV tedavisinin yönetimi için yararlı bir aracı temsil edebileceği sonucuna varmışlardır.



Şekil 2.5. Is, TFV, TBV, ETC kromatogramları

Djerada ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada amprenavir, atazanavir, darunavir, indinavir, lopinavir, ritonavir, sakonavir ve tipranavir gibi yaygın olarak kullanılan proteaz inhibitörlerinin belirlenmesi için basit ve hızlı bir şekilde UPLC-MS/MS yöntemini, TDF nükleosid transkriptaz inhibitörünü açıklamışlardır. Uyarlanmış döteryumlanmış iç standart, metanol ve asetonitril ile protein çöktülmesinden önce plazmaya antikorlardan (100  $\mu$ L) eklemişler. Bu yöntemde, elektrosprey iyonizasyon modu ile tandem kütle spektrometresine bağlanan HPLC kullanmışlar. Tüm bileşikler 4,2 dk çalışma süresi içinde elüte edilmiştir. Kalibrasyon eğrileri, literatürde bildirilen konsantrasyonların analizi için 0,997' den yüksek korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ile valide edilmiştir. Doğruluk değerlendirmesi, her kalite kontrol seviyesinde hedef

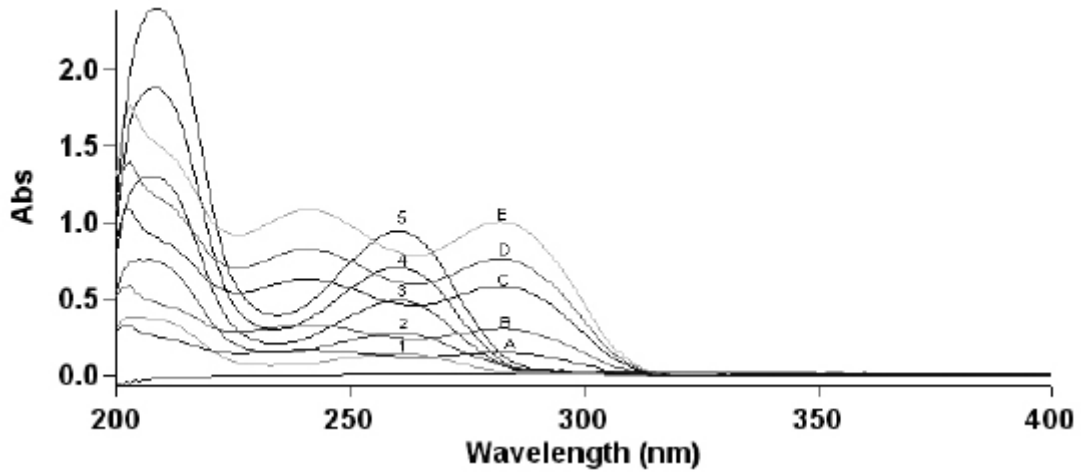
konsantrasyondan %15' lik bir sapmayı göstermektedir. Çalışılan antiretrovirallerden hiçbirinde belirgin matriks etkisi gözlememişlerdir. Bu yeni onaylanmış yöntem, 15 antiretroviral ve boceprevir ilacının tüm FDA kriterlerini sağlamıştır.



**Şekil 2.6.** Amprenavir, atazanavir, darunavir, indinavir, lopinavir, ritonavir, sakinavir ve tipranavir kromatogramları

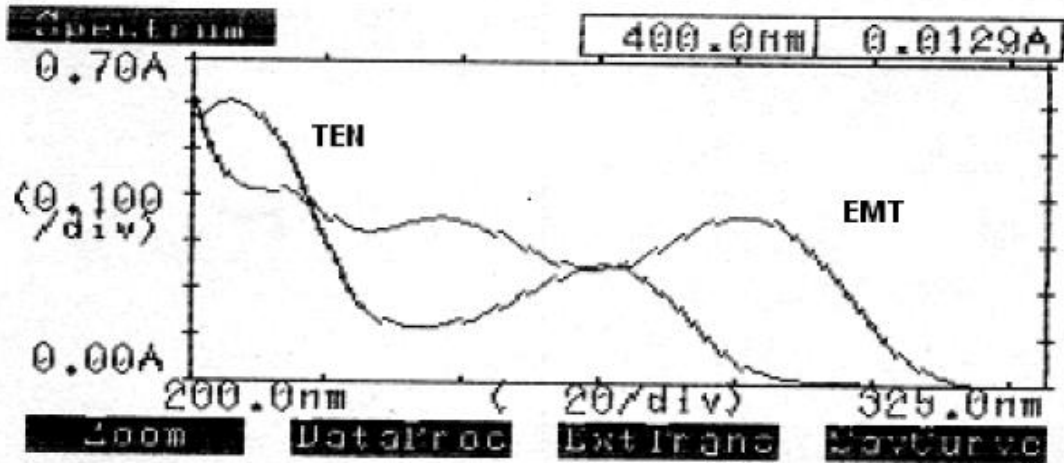
Ghorpade ve ark. (2010), spektroskopi ile EM ve TDF'nin eşzamanlı belirlenmesi için iki yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemler AUC ve çift dalgaboyu yöntemleridir. Numuneler metanolde çözülmüş ve EM maksimum absorbanı 281 nm ve TDF için maksimum absorbanı 259 nm olarak belirlenmiştir. AUC yöntemi için, 200-400 nm dalga boyu aralığı kullanılmışlar ve sonuçlar 242 - 248 nm ve 269 - 275 arasında çıkmıştır. İkinci metotta her bir etken için dalga boyu seçilmiş ve diğer etkenin absorbanı sıfırlanarak devam edilmiştir. EM için 260 - 250 nm ve TDF için ise 250 - 269 nm sonuç vermiştir. Bu iki yöntem sonuçları da valide

edilmiştir.



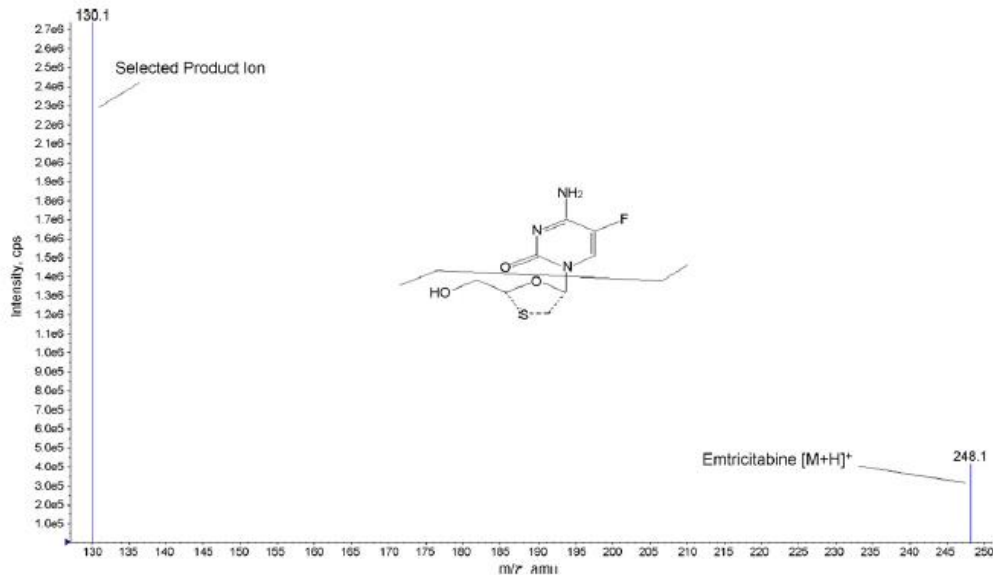
Şekil 2.7. TDF VE EM dalga boyu kromatogram

Karunakaran ve ark. (2011), TDF ve EM tablet formu için 3 farklı yöntem geliştirmişlerdir. Bu metotları geliştirirken absorbasn oranlarına göre Metot I, Metot II, Metot III şeklinde adlandırmışlardır. Birinci metotta dalga boyu 262 nm ve EM' in maksimum absorbasn verdiği dalga boyu 281 nm seçilerek uygulanmıştır. İkinci metotta maksimum absorbasndaki ilaç konsantrasyonlarını seçmişler fakat bir etkenin maksimum absorbasn gösterdiği yerde diğer etkenin maksimum absorbasnı engellendiğinden EM için 296 nm, TDF için ise 281 nm dalga boylarını seçmişlerdir. Üçüncü metot olarak spektroskopik metot seçilmiş 298,5 nm ve 226,5 nm dalga boyları ile çalışma yapmışlar. Sonuç olarak 4 - 24  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyon aralığında çalışılmışlar ve metodu bu şekilde valide edilmişlerdir.

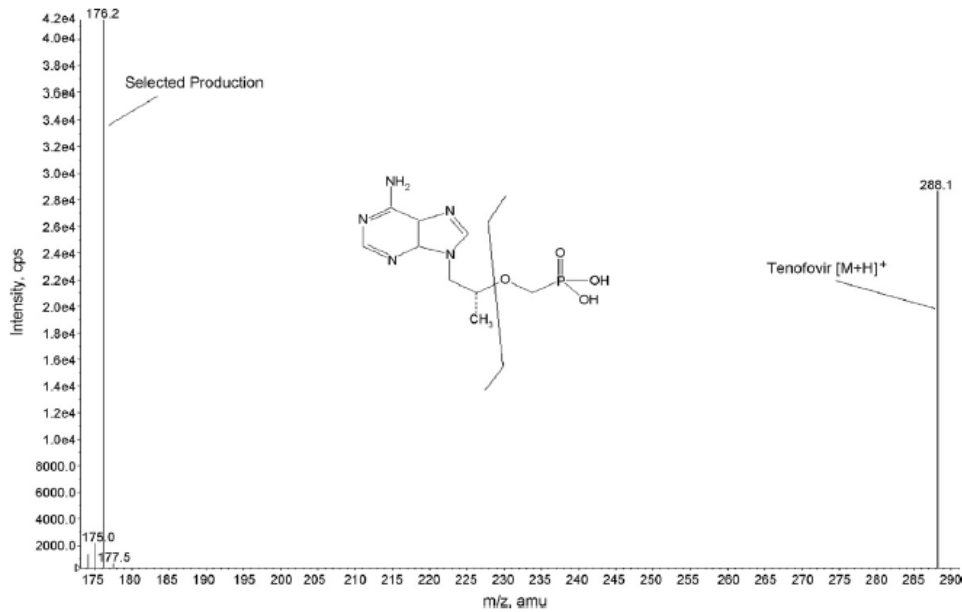


Şekil 2.8. TDF ve EM kromatogram

Gomes ve ark. (2008), kanda TDF ve EM belirlemek için hızlı ve güvenilir bir sistem olan LC-MS/MS de metod geliştirmişler. Kütle aktarımını TDF için  $m/z$  288,10→176,10 EM için ise  $m/z$  230,10→112,10 ve lamivudine için  $m/z$  230,10→112,10 seçilmiştir. Metotta katı faz ekstraksiyonu, izokritik kromatografik şartları ve kütle spektroskopisini kullanmışlardır. Metod validasyonu yaparken lineer aralığı TDF için 10–600 ng/mL ve EM için ise 25–2500 ng/mL olarak kullanmışlardır.



Şekil 2.9. EM için kütle kromatogram



Şekil 2.10. TDF için kütle kromatogramı

Behera ve ark. (2011), TDF ve EM' nin tablet formu için 3 tane spektroskopik metot geliştirmişlerdir. Metot A en küçük kareler yöntemini içerecek şekilde TDF için  $\lambda_{\max}$  281,0 nm ve EM 260,5 nm olarak kullanmıştır. Metot B de ilk metottaki dalga boyları kullanmışlardır. EM için 234,5 nm de TDF için absorbans sıfırlanmış ve TDF için ise 281,0 nm de EM absorbansı sıfırlanmıştır. Metot C de EM için 278,0 -283,0 nm ve TDF için ise 258,0 - 262,0 nm aralıkları seçilmiştir. Konsantrasyon aralığı ise EM için 5-25  $\mu\text{g/mL}$  and TDF için 10–50  $\mu\text{g/mL}$  aralığı uygulanmıştır.

Joshi ve ark. (2009), TDF ve EM'in tablet formu için ince tabaka kromatografisi ile metot geliştirmişlerdir. 60F254 silika gel kullanmışlardır. Mobil faz olarak kloroform: metanol (9:1 v/v) 265 nm de okuma yapmışlardır. Validasyon aşamasında linerite, doğruluk, kesinlik ve seçicilik ile de çalışmaları yapmışlardır. Kalibrasyon grafiği olarak 200 ile 1000 ng ( $R^2$  0,9995 ) arasında lineer bir çizim yapmışlardır.

### 3 MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Kullanılan Cihazlar ve Ekipmanlar

Buzdolabı: Bosch

Hassas Terazi: Sartorius

pH Metre: Metler Toledo

Ultra Saf Su Cihazı: Sartorius Arimpro

Ultrasonik Banyo: Elma S120H

#### 3.2 Kullanılan Kimyasallar

Asetonitril: Merck HPLC Grade 1000302500

Metanol: Merck HPLC Grade 1060182500

Potasyum Dihidrojen Fostat: Merck 1048730250

#### 3.3 Kullanılan Kolon Özellikleri

Çizelge 3.1. Kolon Bilgileri

KOLON ADI	KOLON ÖZELLİĞİ	KOLON LOT NO
ACE 5 C18	250X 4,6mmX 5 µm	DV14-8244
Xbridge 5 C18	250X 4,6mmX 5 µm	186003117

#### 3.4 Kemometrik Dizayn Çalışması

TDF ve EM miktar tayininde geliştirilmesi düşünülen metot için kemometrik yöntemlerle şu parametrelerinin optimizasyonu yapılmıştır. Bu çalışmada 5 seviyeli 3 faktörlü tasarım yapılmıştır.

- ❖ Hareketli fazın akış hızı
- ❖ Analit konsantrasyonu
- ❖ Kolon sıcaklığı

Çizelge 3.2. Kemometri deneysel tasarım

TDF/EM ilaç etken madde tayini - Optimizasyon Çalışmaları Deneysel Tasarım					
Merkezi Kompozit Tasarım/3 faktör	-1,68	-1	0	1	1,68
Hareketli Faz Akış Hızı (mL/dk)	0,564	0,700	0,900	1,100	1,236
Kolon Sıcaklığı (°C)	16,6°C	20,0°C	25,0°C	30,0°C	33,4°C
Konsantrasyon (mg) EM	1,83 x 10 <sup>-1</sup>	1,90 x 10 <sup>-1</sup>	2,00 x 10 <sup>-1</sup>	2,10 x 10 <sup>-1</sup>	2,16 x 10 <sup>-1</sup>
Konsantrasyon (mg) TDF	2,24 x 10 <sup>-1</sup>	2,32 x 10 <sup>-1</sup>	2,45 x 10 <sup>-1</sup>	2,57 x 10 <sup>-1</sup>	2,65 x 10 <sup>-1</sup>

### 3.5 Kromatografik Şartlar

Kullanılacak Cihaz : HPLC

Kolon : C18 250 mm x 4,6 mm, 5µm veya eşdeğeri

Dalga Boyu : 265 nm, UV - PDA

Akış Hızı : 1,2 mL/dk

Enjeksiyon Hacmi : 10 µL

Kolon Sıcaklığı : 25°C

Enjeksiyon Süresi : 15 dk

Çözücü : Su: Asetonitril (95.5)

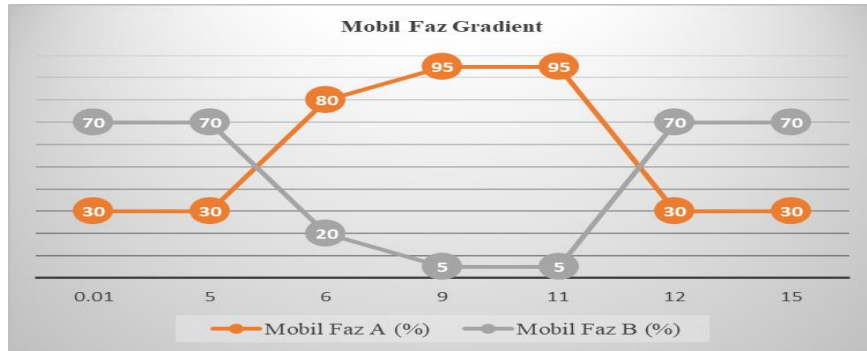
Tampon Çözeltisi :Yaklaşık 2,4 g Sodyum Dihidrojen Fosfat Dihidrat tartılarak 1000 mL suda çözülür. Çözeltinin pH'sı seyreltik fosforik asit ile 3,50'ye ayarlanır.

Mobil Faz A : Tampon

Mobil Faz B : Metanol: Su (85:15)

Mobil Faz : Zaman Tablosu

Zaman (dakika)	Mobil Faz A(%)	Mobil Faz B (%)
0.01	30	70
5	30	70
6	80	20
9	95	5
11	95	5
12	30	70
15	30	70



Şekil 3.1. Mobil faz gradient şartları

\* ***Çözeltilerin Hazırlanması***

***Standart Hazırlama***

10 mg EM ve 12,25 mg TDF' e eşdeğer TDF (yaklaşık 15 mg) 50 mL'lik balon jojeye tartılır. 25 mL çözücü eklenir ve çözünene kadar (yaklaşık 20 dk) ultrasonik banyoda tutulur. Çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45 µm'lik naylon filtreden süzülerek HPLC vialine alınır ( $C_{EM}=0,200$  mg/mL,  $C_{TDF}=0,245$  mg/mL)

***Numune Hazırlama***

20 adet tablet 200 mg / 245 mg film tabletin ortalama tablet ağırlığı hesaplanır. Tabletler havanda ezilir. 200 mg EM ve 245 mg TDF e eşdeğer (yaklaşık 1030 mg) tablet numunesi 100 mL'lik balon jojeye tartılır ve üzerine 50 mL çözücü eklenir. Çözünene kadar yaklaşık 20 dk ultrasonik banyoda bekletilir. Çözücü ile hacmine tamamlanır. Bu çözeltilerden 1 mL alınır ve 10 mL' ye çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm'lik PTFE filtreden süzülerek HPLC vialine alınır. ( $C_{EM}=0,200$  mg/mL,  $C_{TDF}=0,245$  mg/mL)

***Hesaplama***

$$EM = \frac{A_N}{A_S} \times \frac{W_S \times 100 \times 10}{W_{num} \times 50} \times T / L \times P \times 100$$

- $A_N$  : Numune çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki EM pik alanı  
 $A_S$  : Standart 2 çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki EM pik alanı  
 $W_S$  : Standart 2 çözeltisindeki EM tartımı, mg  
 $P$  : EM standardının susuz olarak potansi  
 $W_{Num}$  : Numune tartımı, mg  
 $T$  : 20 tablet ile hesaplanan ortalama tablet ağırlığı, mg  
 $L$  : Etiket Değeri (200 mg)

$$TDF = \frac{A_N}{A_S} \times \frac{W_S \times 100 \times 10 \times 0.8166}{W_{num} \times 50} \times T / L \times P \times 100$$

- $A_N$  : Numune çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki TDF pik alanı

- $A_S$  : Standart 2 çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki TDF pik alanı  
 $W_S$  : Standart 2 çözeltisindeki TDF tartımı, mg  
 $W_{Num}$  : Numune tartımı, mg  
 $P$  : TDF standardının susuz olarak potensi  
 $T$  : 20 tablet ile hesaplanan ortalama tablet ağırlığı, mg  
 $L$  : Etiket Değeri (245 mg)  
 0.8166 : Çevirme faktörü

### Kabul Kriterleri

- ✓ Standart çözeltisi -1 ve standart çözeltisi -2 arasındaki uyum %98,0 -%102,0 arasında olmalıdır.
- ✓ 6 ardışık standart çözeltisi-2 pik alanları arasındaki RSD % 2,0'dan fazla olmamalıdır.

### *TDF /EM film kaplı tablet miktar tayini limiti:*

TDF: 245,0 mg  $\pm$  %5,0 ( 232,75 mg - 257,25 mg ) (% 95,0 - %105,0)

EM: 200,0 mg  $\pm$  %5,0 ( 190,0 mg - 210,0 mg ) (% 95,0 - %105,0)

## **3.6 Validasyon Çalışmaları**

### **3.6.1 Tekrarlanabilirlik**

2 adet standart çözeltisi, 6'şar adet %100 konsantrasyonda TDF /EM film kaplı tablet numuneleri hazırlanarak miktar tayini yapılır.

### Prosedür

- ✓ Standart çözeltisi -1,2 kez ve standart çözeltisi -2,6 kez enjekte edilir.
- ✓ TDF /EM film kaplı tablet numuneleri 2'şer kez enjekte edilir.

### Kabul Kriterleri

- ✓ %100 konsantrasyonda hazırlanmış 6 ayrı numune çözeltisi sonuçları miktar tayini limitleri dahilinde olmalıdır, sonuçlar arasındaki RSD%2,0'den büyük olmamalıdır.

Sistem Uygunluk Hesaplama

$$\text{Standart Uyumu} = \frac{A_{std1}}{A_{std2}} * \frac{W_{std2}}{W_{std1}} * 100$$

- $A_{st1}$  : Standart 1 çözeltisindeki pik alanı  
 $A_{st2}$  : Standart 2 çözeltisindeki pik alanı  
 $W_{st1}$  : Standart 1 çözeltisindeki tartımı, mg  
 $W_{st2}$  : Standart 2 çözeltisindeki tartımı, mg

**3.6.2 Tekrarüretilebilirlik**

2 adet standart çözeltisi, 6'şar adet % 100 konsantrasyonda TDF /EM film kaplı tablet numuneleri hazırlanarak miktar tayini yapılır.

Prosedür

- ✓ Standart çözelti 6 kez enjekte edilir.
- ✓ TDF /EM film kaplı tablet numuneleri 2'şer kez enjekte edilir.

Kabul Kriteri

- ✓ %100 konsantrasyonda hazırlanmış 6 ayrı numune çözeltisi sonuçları, miktar tayini limitleri dahilinde olmalıdır, sonuçlar arasındaki RSD%2,0'den büyük olmamalıdır.

Sistem Uygunluk Hesaplama

$$\text{Standart Uyumu} = \frac{A_{std1}}{A_{std2}} * \frac{W_{std2}}{W_{std1}} * 100$$

- $A_{std1}$  : Standart 1 çözeltisindeki pik alanı  
 $A_{std2}$  : Standart 2 çözeltisindeki pik alanı  
 $W_{std1}$  : Standart 1 çözeltisindeki tartımı, mg  
 $W_{std2}$  : Standart 2 çözeltisindeki tartımı, mg

### 3.6.3 Seçicilik

Seçicilik testi için aşağıda hazırlama prosedürleri verilen numune çözeltileri enjekte edildi. Enjekte edilen çözeltilerin spektrumları alındı.

#### Çözelti Hazırlama

##### Standart Çözeltisi Hazırlanması

10 mg EM ve 12,25 mg TD 'e eşdeğer TDF (yaklaşık 15 mg) 50 mL'lik balon jøjeye tartılır. 25 mL çözücü eklenir ve çözünene kadar (yaklaşık 20 dk) ultrasonik banyoda tutulur. Hacmine çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm'lik naylon filtreden süzülerek HPLC vialine alınır ( $C_{EM}= 0,200$  mg/mL,  $C_{TDF} = 0,245$  mg/mL).

##### Numune Çözeltisinin Hazırlanışı

20 adet tablet 200 mg/245 mg film tabletin ortalama tablet ağırlığı hesaplanır. Tabletler havanda ezilir. 200 mg EM ve 245 mg TDF e eşdeğer (yaklaşık 1030 mg) tablet numunesi 100 mL'lik balon jøjeye tartılır ve üzerine 50 mL çözücü eklenir. Çözünene kadar yaklaşık 20 dk ultrasonik banyoda bekletilir. Çözücü hacmine ile tamamlanır. Bu çözeltilerden 1 mL alınır ve 10 mL'ye çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm'lik naylon filtreden süzülerek HPLC vialine alınır ( $C_{EM}= 0,200$  mg/mL,  $C_{TDF}= 0,245$  mg/mL).

##### Plasebo Çözeltisinin Hazırlanışı

1030 mg plasebo numunesi 100 mL'lik balon jøjeye tartılır ve üzerine 50 mL çözücü eklenir. Çözünene kadar yaklaşık 20 dk ultrasonik banyoda bekletilir. Hacmine çözücü ile tamamlanır. Bu çözeltilerden 1 mL alınır ve 10 mL'ye çözücü ile tamamlanır. 0,45 µm'lik naylon filtreden süzülerek HPLC vialine alınır.

### 3.6.4 Dayanıklılık

#### Çözelti Stabilitesi

Tekrarlanabilirlik testi için standart ve numune çözeltilerinden oda koşullarında belirli saat dilimi aralıklarında birer enjeksiyon yapıldı. Elde edilen pik alanları kaydedilerek % uyum değerleri hesaplandı.

Tekrarlanabilirlik testi standart ve numune çözeltilerinden buzdolabı koşullarında belirli saat dilimi aralıklarında birer enjeksiyon yapıldı. Elde edilen pik alanları kaydedilerek % uyum değerleri hesaplandı.

### Kabul Kriteri

Çözelti stabilitesi için kabul kriteri standart alanlar arasındaki uyum %98 - %102 olan değerler için çözelti stabil olarak kabul edilir.

### **3.6.5 Doğrusallık ve aralık**

Doğrusallık cevap ilişkisini kanıtlamak için spesifikasyonun %80 ile %120' si arasında olacak şekilde 4 farklı konsantrasyonda (%80, %100, %120, %140) hazırlanan çözeltilerin pik alanları ölçülür. Çözeltiler stok standart çözeltisinden seyreltme ile hazırlanır. Tüm çözeltilerden ikişer adet enjeksiyon yapılır. Pik alanları kaydedilir. Çözeltiler analiz edildikten sonra  $y = ax + b$  eşitliği bulunur.

y : Alan

a : Eğim

b : Kesme noktası (intercept)

x : Konsantrasyon, mg/mL

### Kabul Kriteri

Doğrusallık ve aralık için kabul kriteri konsantrasyon ve alanlar arasındaki korelasyon katsayısı  $\geq 0,99$  olmalıdır.

### **3.6.6 Doğruluk ve geri kazanım**

Numune çözeltisi konsantrasyonunun % 80, %100 ve %120'sini temsil edecek şekilde, her konsantrasyon seviyesi için 3'er adet numune hazırlanır.

### Standart Çözeltisinin Hazırlanması

10 mg EM ve 12,25 mg TD 'e eşdeğer TDF (yaklaşık 15 mg) 50 mL'lik balon jojeye tartılır. 25 mL çözücü eklenir ve çözünene kadar (yaklaşık 20 dakika) ultrasonik banyoda tutulur. Çözücü ile hacmine tamamlanır. Naylon filtreden (0,45 µm) süzülerek HPLC vialine alınır ( $C_{EM}= 0,200$  mg/ mL,  $C_{TDF}= 0,245$  mg/ mL).

#### % 80 Konsantrasyonunda Numune Çözeltilisinin Hazırlanışı

8 mg EM ve 8 mg TDF 1000 mg plasebo 50 mL'lik balon jojeye tartılır. 25 mL çözücü eklenir ve çözünene kadar (yaklaşık 20 dk) ultrasonik banyoda tutulur. Çözücü ile hacmine tamamlanır. Naylon filtreden (0,45 µm) süzülerek HPLC vialine alınır.

#### %100 Konsantrasyonunda Numune Çözeltilisinin Hazırlanışı

10 mg EM ve 10 mg TDF 1000 mg placebo tartılır.50 mL'lik balon jojeye tartılır. 25 mL çözücü eklenir ve çözünene kadar (yaklaşık 20 dk) ultrasonik banyoda tutulur. Çözücü ile hacmine tamamlanır. Naylon filtreden (0,45 µm) süzülerek HPLC vialine alınır.

#### %120 Konsantrasyonunda Numune Çözeltilisinin Hazırlanışı

12 mg EM ve 12 mg TDF 1000 mg placebo 50 mL'lik balon jojeye tartılır. 25 mL çözücü eklenir ve çözünene kadar (yaklaşık 20 dakika) ultrasonik banyoda tutulur. Çözücü ile hacmine tamamlanır. Naylon filtreden (0,45 µm) süzülerek HPLC vialine alınır.

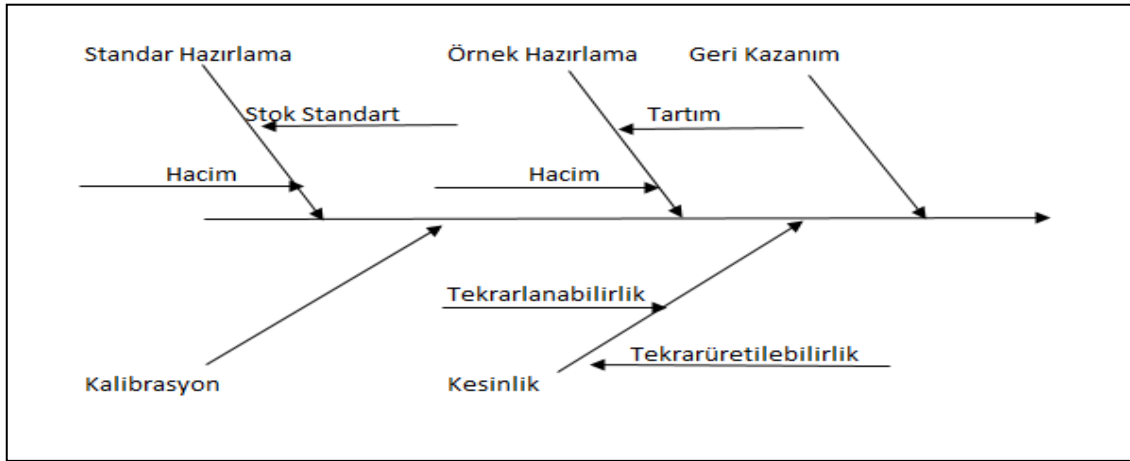
#### Kabul kriteri

Doğruluk ve geri kazanım için kabul kriteri ,

- ✓ 2 numune arasındaki standart sapma %2'den fazla olmamalıdır.
- ✓ Her bir miktar tayini sonucu limit dâhilinde olmalıdır.

### **3.7 Ölçüm Belirsizliği**

Yöntemin belirsizlik kaynaklarına ait şema Şekil 3.2 de verilmiştir.



Şekil 3.2. Ölçüm belirsizliği şeması

\* ***Kesinlikten Gelen Ölçüm Belirsizliği***

Çalışmada, farklı analizciler tarafından yapılan analizlerdeki sapmalar hesaplamaya katılmıştır. Buradaki amaç; analizi etkileyen bütün faktörlerden kaynaklanan varyasyonların hesaplamaya girmesini sağlamaktır. Kullanılan verilerin önemli bir bölümü, metot validasyonu amacıyla yapılan çalışmalara aittir.

\* ***Tekrarlanabilirlik Gelen Ölçüm Belirsizliği***

Çalışmada, kullanılan veriler, metot validasyonu amacıyla yapılan çalışmalara aittir. Ancak, analizi etkileyen bütün faktörlerden kaynaklanan varyasyonların hesaplamaya girmesini sağlamak validasyon çalışmalarında farklı analizciler tarafından yapılan analizlerin sonuçlarının da özellikle hesaplamalara girmesi sağlanmıştır.

Bütün çalışmaların ortak rölatif standart sapması anlamına gelen “RSD<sub>pool</sub>” aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$RSD_{pool} = \sqrt{\frac{[(RSD_1^2 \times (n_1-1)) + [(RSD_2^2 \times (n_2-1)) + \dots]]}{(n_1-1) + (n_2-1) + \dots}}$$

RSD<sub>1</sub> : 1. Analizci analiz sonuçlarının relatif standart sapması

RSD<sub>2</sub> : 2. Analizci analiz sonuçlarının relatif standart sapması

n : 1. Analizci analiz tekrar sayısı

m : 2. Analizci analiz tekrar sayısı

### ***Tekrarüretilebilirlik Gelen Ölçüm Belirsizliği***

Çalışmada, kullanılan veriler, metot validasyonu amacıyla yapılan çalışmalara aittir. Ancak, analizi etkileyen bütün faktörlerden kaynaklanan varyasyonların hesaplamaya girmesini sağlamak validasyon çalışmalarında değişik zamanlarda ve farklı analistler tarafından yapılan analizlerin sonuçlarının da özellikle hesaplamalara girmesi sağlanmıştır. Bütün çalışmaların ortak rölatif standart sapması anlamına gelen “RSD<sub>pool</sub>” aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$RSD_{pool} = \sqrt{\frac{[(RSD_1^2 \times (n_1-1)) + [(RSD_2^2 \times (n_2-1)) + \dots]]}{(n_1-1) + (n_2-1) + \dots}}$$

RSD<sub>1</sub> : 1. Analizci analiz sonuçlarının relatif standart sapması

RSD<sub>2</sub> : 2. Analizci analiz sonuçlarının relatif standart sapması

n : 1. Analizci analiz tekrar sayısı

m : 2. Analizci analiz tekrar sayısı

#### ***\* Belirsizlik Sonuç Tablosu***

TDF / EM miktar tayini analizine ait belirsizlik bileşenleri, birleştirilmiş belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlik verilmiştir. Birleştirilmiş belirsizlik; bütün belirsizlik bileşenlerine ait rölatif standart belirsizliklerin kareleri toplamının karakökü ile elde edilmiştir.

$$U_{belirsizlik} = \sqrt{\left(\frac{U_{C_0}}{C_0}\right)^2 + \left(\frac{U_R}{R}\right)^2 + \left(\frac{U_{R_P}}{R_P}\right)^2 + \left(\frac{U_{R_{ec}}}{R_{ec}}\right)^2}$$

## 4 ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1 Ayırma Gücü Çalışmaları

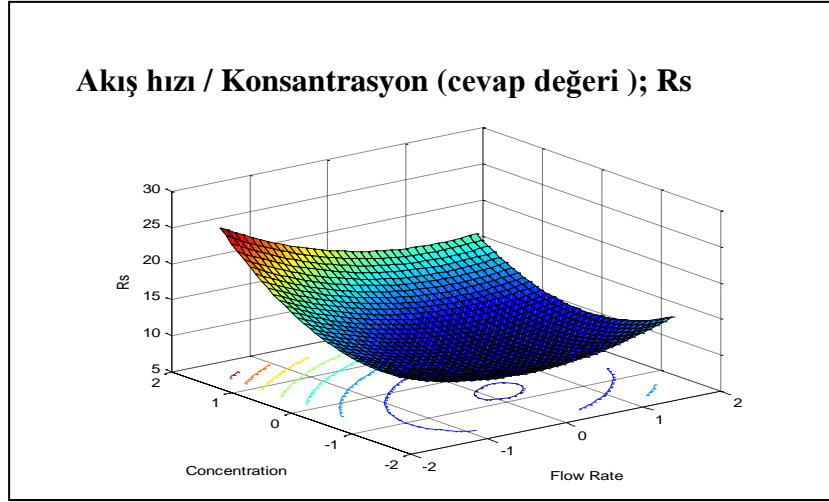
Çizelge 4.1. Optimizasyon çalışmaları deneysel tasarım

TDF EM için etken madde tayini - Optimizasyon Çalışmaları Deneysel			
Deney No	HF akış hızı (mL)	Kolon. Sıcaklığı (°C)	Konsantrasyon (mg)
1	-1	-1	-1
	0,7	20	C <sub>-1</sub>
2	1	-1	-1
	1,1	20	C <sub>-1</sub>
3	-1	1	-1
	0,7	30	C <sub>-1</sub>
4	1	1	-1
	1,1	30	C <sub>-1</sub>
5	-1	-1	1
	0,7	20	C <sub>1</sub>
6	1	-1	1
	1,1	20	C <sub>1</sub>
7	-1	1	1
	0,7	30	C <sub>1</sub>
8	1	1	1
	1,1	30	C <sub>1</sub>
9	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
10	-1,68	0	0
	0,564	25	C <sub>0</sub>
11	1,68	0	0
	1,236	25	C <sub>0</sub>
12	0	-1,68	0
	0,9	16,6	C <sub>0</sub>
13	0	1,68	0
	0,9	33,4	C <sub>0</sub>
14	0	0	-1,68
	0,9	25	C <sub>-2</sub>
15	0	0	1,68
	0,9	25	C <sub>2</sub>
16	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
17	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
18	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
19	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
20	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
21	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
22	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>
23	0	0	0
	0,9	25	C <sub>0</sub>

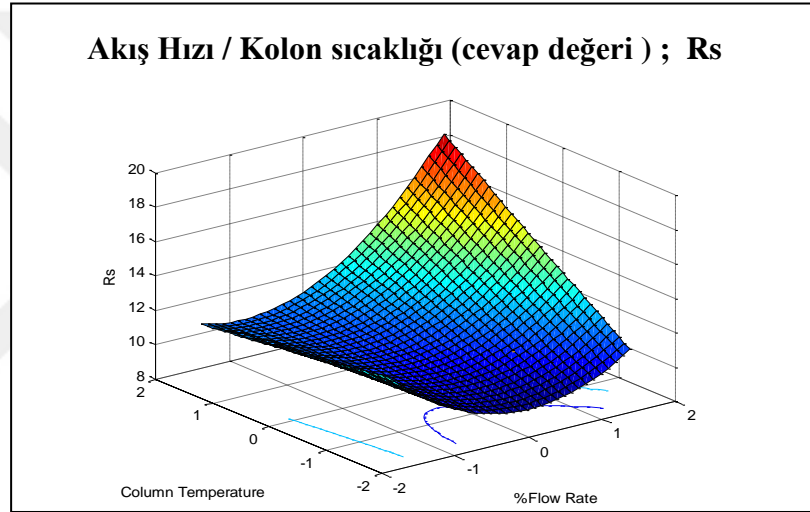
Çizelge 4.1. deki seviyeler HPLC nin çalışma prensipleri göz önüne bulundurularak seçilmiştir. HPLC sisteminde en iyi ayırım 1,2 mL/dk akış hızında olduğu için seçilmiştir. HPLC sisteminde etkenlerin tayini için uygun sıcaklık çalışma aralığında olan 25°C kolon sıcaklığında deneysel tasarımın sıcaklık faktörü için seviye değeri olarak seçilmiştir. Maddeler halinde verilmiş olan üç farklı optimizasyonu tek bir deneysel tasarım ile yapıldığında faktörler arası etkileşimlerle beraber model eşitliğinde 23 tane etki ortaya çıkmıştır. Analizler tasarımdaki sıraya göre yapılmak istediğinde bazı zorluklar meydana gelmiştir. Örnek olarak ise deney esnasında faktörlerin seviyeleri arasında geçişler düşünüldüğünde, ciddi zaman kaybına sebep olduğundan dolayı akış hızı, kolon sıcaklığına uygun şekilde analiz sırası Çizelge 4.2.ye göre düzenlenmiştir.

**Çizelge 4.2.** Optimizasyon çalışmaları deneysel tasarım ve sonuçları

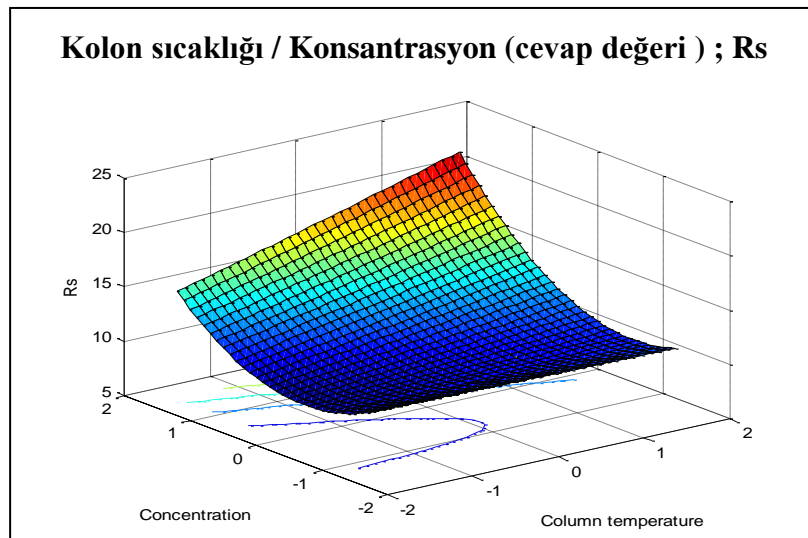
Deney No	HF akış hızı (mL)	Kolon. Sıcaklığı (°C)	Konsantrasyon (mg)	Cevap Değeri	Cevap Değeri	Cevap Değeri
				Rs	N	Seçicilik
12	0	-1,68	0	22,39	3761,86	2,29
1	-1	-1	-1	23,32	5003,91	2,03
5	-1	-1	1	29,02	4810,55	2,12
2	1	-1	-1	26,69	3059,91	2,59
6	1	-1	1	29,13	3048,52	2,62
10	-1,68	0	0	31,46	6453,60	1,90
9	0	0	0	23,50	3631,61	2,40
16	0	0	0	24,51	3613,61	2,42
17	0	0	0	23,18	3617,80	2,41
18	0	0	0	23,28	3605,80	2,43
19	0	0	0	26,20	3587,65	2,44
20	0	0	0	25,90	3533,92	2,57
21	0	0	0	25,02	3574,96	2,50
22	0	0	0	23,94	3602,68	2,46
23	0	0	0	24,36	3602,68	2,46
14	0	0	-1,68	29,46	3059,59	1,00
15	0	0	1,68	39,44	3498,28	2,58
11	1,68	0	0	28,26	2369,24	3,00
3	-1	1	-1	20,77	4713,60	2,17
7	-1	1	1	29,42	4684,75	2,17
4	1	1	-1	36,12	2727,88	2,87
8	1	1	1	34,11	4684,75	2,17
13	0	1,68	0	24,79	3602,68	2,46



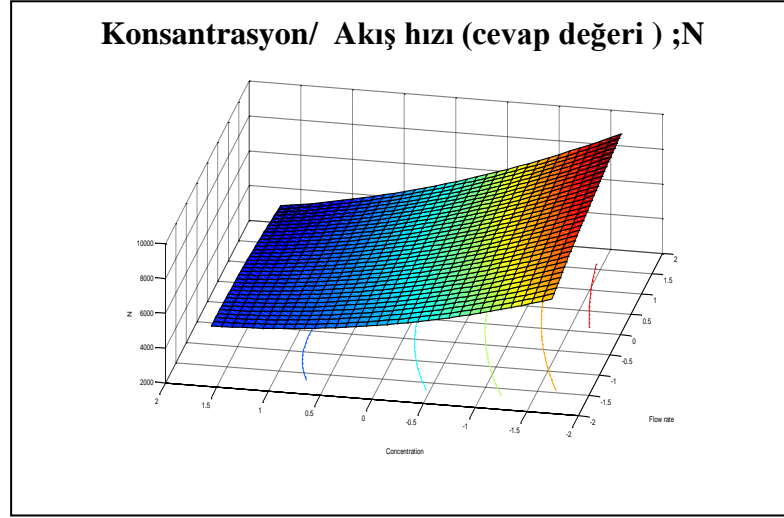
**Şekil 4.1.** Akış Hızı / Konsantrasyon (Cevap Değeri= $R_s$ )



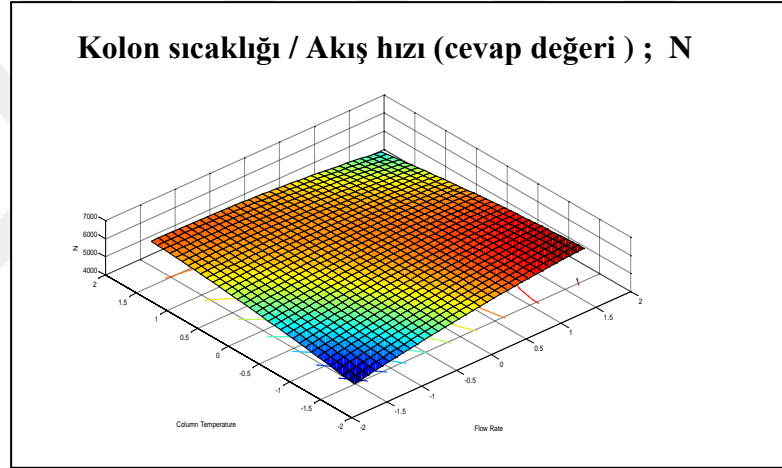
**Şekil 4.2.** Akış Hızı / Kolon Sıcaklığı (Cevap Değeri= $R_s$ )



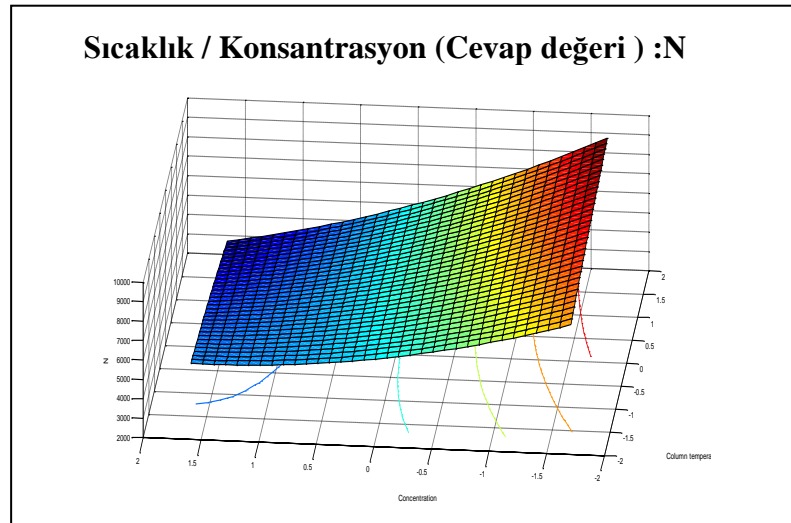
**Şekil 4.3.** Kolon Sıcaklığı / Konsantrasyon (Cevap Değeri= $R_s$ )



**Şekil 4.4.** Konsantrasyon / Akış Hızı (Cevap Değeri=N)

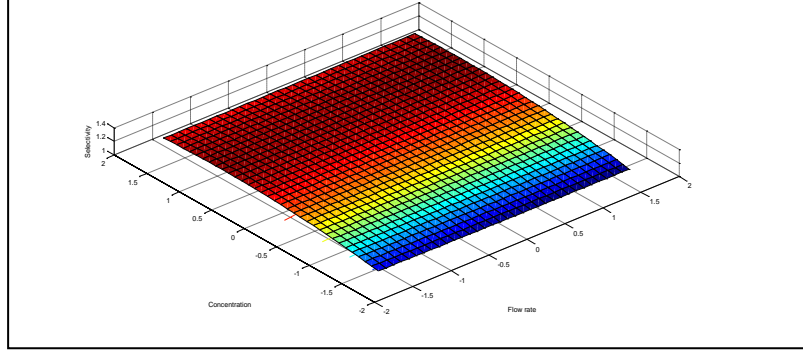


**Şekil 4.5.** Kolon Sıcaklığı / Akış Hızı (Cevap Değeri=N)



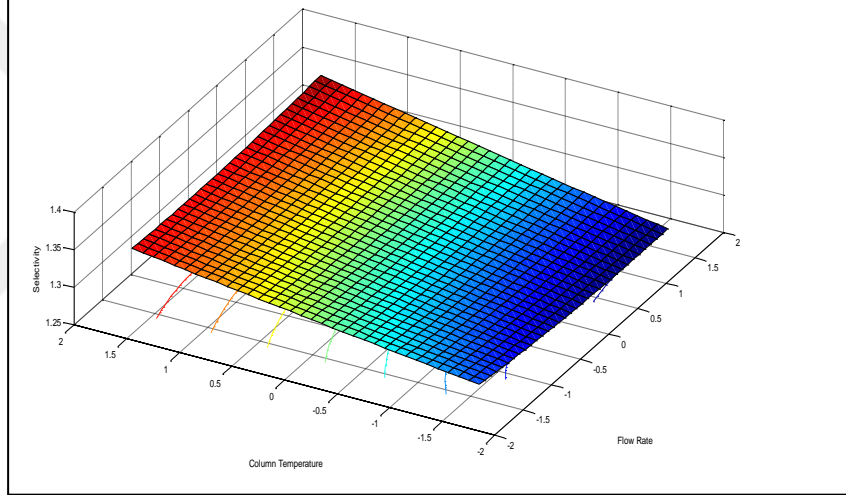
**Şekil 4.6.** Sıcaklık / Konsantrasyon (Cevap Değeri=N)

### Konsantrasyon / Akış hızı (Cevap Değeri) ; Seçicilik



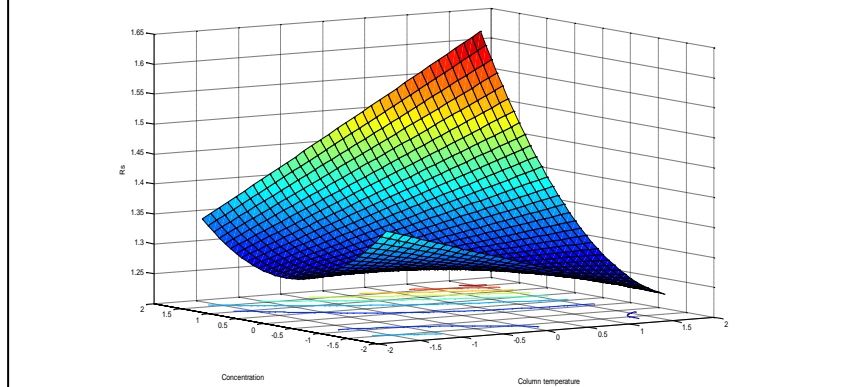
Şekil 4.7. Konsantrasyon / Akış Hızı (Cevap Değeri=Seçicilik)

### Kolon Sıcaklığı / Akış hızı (Cevap Değeri) ; Seçicilik



Şekil 4.8. Kolon Sıcaklığı / Akış Hızı (Cevap Değeri=Seçicilik)

### Konsantrasyon / Kolon sıcaklığı=cevap değeri; Seçicilik



Şekil 4.9. Konsantrasyon / Kolon Sıcaklığı (Cevap Değeri=Seçicilik)

## 4.2 Sistem Kesinliği İçin Standartlar Sonuçları

Sistem kesinliği sonuçları izelge 4.2. ve izelge 4.3.'de sunulmuştur.

**Çizelge 4.2.** EM sistem kesinliği Standart- 1 ve Standart-2

Emtirisitabin								
	Standart- 2				Standart -1			
Enjeksiyon No	Alıkonma Zamanı (dk)	Alan	Tailing	Teorik Plaka Sayısı	Alıkonma Zamanı (dk)	Alan	Tailing	Teorik Plaka Sayısı
1	3,89	2440987	0,99	58754	3,89	330634	0,99	5850
2	3,89	2443641	0,98	58184	3,89	330632	0,98	5908
3	3,89	2437086	0,98	58780				
4	3,89	2441266	0,98	58383				
5	3,89	2439170	0,98	57738				
6	3,89	2439132	0,98	59451				
<b>Ortalama</b>		2440214	0,98	58548	330633	0,99	5879	330633
<b>SD</b>		2257	0,004	587	1,41	0,01	41,01	1,41
<b>% RSD</b>		0,092	0,42	1,00	0,00	0,72	0,70	0,00

**Çizelge 4.3.** TDF sistem kesinliği Standart -2

Tenefovir Disoproksil Fumarat								
	Standart- 2				Standart -1			
Enjeksiyon No	Alıkonma Zamanı (dk)	TDF Alan	Tailing	Teorik Plaka Sayısı	Alıkonma Zamanı (dk)	TDF Alan	Tailing	Teorik Plaka Sayısı
1	10,1	2283422	1,03	63198	10,1	278720	6305	1,03
2	10,1	2285660	1,05	62875	10,1	278755	6195	1,05
3	10,1	2285660	1,05	62552				
4	10,1	2284273	1,05	63075				
5	10,1	2281024	1,05	62747				
6	10,1	2281296	1,05	62991				
<b>Ortalama</b>		2283556	1,05	62906		278737	6250	1,04
<b>SD</b>		2045,07	0,01	233,49		24,75	77,78	0,01
<b>% RSD</b>		0,09	0,78	0,37		0,01	1,25	1,09

### 4.3 Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Tekrarlanabilirlik sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. TDF/EM tekrarlanabilirlik sonuçları

Paralel Sayısı	EM		TDF	
	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	99,56	98,81	99,51	97,09
2	99,48	98,76	99,63	97,11
3	98,98	98,91	98,20	98,33
4	99,11	99,02	98,06	98,33
5	100,34	100,80	99,06	99,09
6	100,24	100,89	98,69	99,15
<b>Ortalama</b>	99,62	99,53	98,86	98,18
<b>SD</b>	0,56	1,03	0,66	0,91
<b>Max</b>	100,34	100,89	99,63	99,15
<b>Min</b>	98,98	98,76	98,06	97,09
<b>% RSD</b>	0,56	1,03	0,66	0,93

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Tekrarlanabilirlik sonuçları için normallik testi ve Man Whitnet U testi Çizelge 4.5.,

Çizelge 4.6., Çizelge 4.7., Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Tekrarlanabilirlik TDF normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
<b>Tekrarlanabilirlik TDF 1 Tekrar</b>	0,20	6	0,20	0,90	6	0,37
<b>Tekrarlanabilirlik TDF 2 Tekrar</b>	0,35	6	0,01	0,72	6	0,01

#### Normallik Testi Yorumlama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

0,01<0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,379>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.6. Tekrarlanabilirlik TDF Mann Whitney U testi

	<b>Tekraredilebilirlik TDF 1. ve 2. tekrar</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	13,00
<b>Wilcoxon W</b>	34,00
<b>Z</b>	0,80
<b>Asumtotik Sig. (2-tailed)</b>	0,42
<b>Kesin Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,485b

Mann-Whitney U Testi Yorumlama

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç: 0,423>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir

Çizelge 4.7. Tekrarlanabilirlik EM normallik testi

	<b>Kolmogorov-Smirnova</b>			<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>İstatistik</b>	<b>Df</b>	<b>Sig</b>	<b>İstatistik</b>	<b>Df</b>	<b>Sig</b>
<b>Tekrarlanabilirlik EM 1 Kişi</b>	0,17	6	0,20	0,92	6	0,51
<b>Tekrarlanabilirlik EM_2Kişi</b>	0,23	6	0,20	0,85	6	0,17

Normallik Testi Yorumlama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

0,167>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,511>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.8. Tekrarlanabilirlik EM Mann Whitney U testi

	<b>Tekraredilebilirlik EM 1. ve 2. tekrar</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	12,00
<b>Wilcoxon W</b>	33,00
<b>Z</b>	0,96
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,33
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,39

Mann-Whitney U Testi Yorumlama

H<sub>0</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark vardır.

Sonuç: 0,337>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

#### 4.4 Tekrarüretilebilirlik Sonuçları

Tekrarüretilebilirlik sonuçları Çizelge 4.9.'de verilmiştir.

Çizelge 4.9. TDF/EM tekrarüretilebilirlik sonuçları

Paralel Sayısı	EM		TDF	
	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	99,38	97,89	95,51	95,17
2	99,45	98,15	95,62	98,20
3	99,19	98,20	95,17	96,18
4	99,21	98,04	96,80	97,50
5	100,81	100,05	95,66	95,24
6	100,42	100,06	95,52	95,15
<b>Ortalama</b>	99,24		95,98	
<b>SD</b>	0,99		1,01	
<b>Max</b>	100,81	96,80	96,80	98,20
<b>Min</b>	99,19	95,17	95,17	95,15
<b>% RSD</b>	0,99		1,05	

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Tekrarüretilebilirlik normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.10., Çizelge 4.11., Çizelge 4.12., Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Tekrarüretilebilirlik EM normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
<b>Tekrarlanabilirlik EM_1 Tekrar</b>	0,329	6	0,041	0,802	6	0,062
<b>Tekrarlanabilirlik EM_2 Tekrar</b>	0,363	6	0,013	0,726	6	0,011

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

$0,065 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

$0,011 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.11. Tekrarüretilebilirlik EM Mann Whitney U testi

	Tekrarlanabilirlik_EM_1_2
<b>Mann-Whitney U</b>	8,00
<b>Wilcoxon W</b>	29,00

<b>Z</b>	-1,60
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,11
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,13

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç:0,109>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

**Çizelge 4.12.** Tekrarüretilebilirlik TDF normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
<b>Tekrarlanabilirlik TDF_1.Tekrar</b>	0,37	6	0,01	0,77	6	0,03
<b>Tekrarlanabilirlik TDF_2 Tekrar</b>	0,28	6	0,18	0,83	6	0,11

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

0,031<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,109>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.13.** Tekrarüretilebilirlik TDF Mann Whitney U testi

	<b>Tekrarlanabilirlik _TDF_1_2</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	17,00
<b>Wilcoxon W</b>	38,00
<b>Z</b>	-0,16
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,87
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,93

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,873>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

#### 4.5 Seçicilik Sonuçları

\* **PVDF-Naylon Filtre Değişimi**

PVDF-naylon filtre değişim sonuçları Çizelge 4.14.'de verilmiştir

Çizelge 4.14. TDF / EM PVDF filtre sonuçları

Paralel Sayısı	EM				TDF			
	PVDF		Naylon		PVDF		Naylon	
	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	110,7	111,0	99,6	98,8	103,4	105,1	99,5	97,1
2	110,7	110,9	99,5	98,8	103,5	105,0	99,6	97,1
3	110,5	112,5	98,9	98,9	103,4	104,8	98,2	98,3
4	110,8	112,6	99,1	99,0	103,5	105,1	98,1	98,3
5	113,5	110,7	100,3	100,8	105,2	105,7	99,1	99,1
6	113,4	110,6	100,2	100,9	105,0	105,8	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	111,6	111,4	99,6	99,5	104,0	105,3	98,9	98,2
<b>SD</b>	1,4	0,9	0,6	1,0	0,8	0,4	0,7	0,9
<b>Max</b>	113,5	112,6	100,3	100,9	105,2	105,8	99,6	99,1
<b>Min</b>	110,5	110,6	98,9	98,8	103,4	104,8	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	1,3	0,8	0,6	1,0	0,8	0,4	0,7	0,9

Selüloz filtre EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygun değildir. Naylon filtre EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur. PVDF filtre değişimi normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.15., Çizelge 4.16., Çizelge 4.17., Çizelge 4.18.'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. TDF PVDF normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
Seçici PVDF-TDF 1 Tekrar	0,38	6	0,01	0,69	6	0,01
Seçici PVDF-TDF 1 Tekrar	0,33	6	0,03	0,78	6	0,03

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

$0,006 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,035 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.16. TDF PVDF T testi istatistiki hesaplama

	Levene's Test eşitliği		T-Testi						
	F	Sig.	t	df	Sig.	Ortalama Fark	Standart Hata	95% Güven Aralığı	
								Düşük	Yüksek
Seçici PVDF TDF 1. ve 2. Tekrar	3,78	0,08	0,31	10	0,77	0,21	0,69	-1,33	1,76
			0,31	8,41	0,77	0,21	0,69	-1,37	1,80

H<sub>0</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojen değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojendir.

Sonuç Levene's testi sonucuna göre  $p=0,080 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez.

Varyanslar homojen olmadığı için Equal variances not assumed karşısında yer alan  $p=0,106$  değeri kullanılarak t testi yorumlanır.

H<sub>0</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark vardır.

Sonuç  $p=0,766 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.17. EM PVDF normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
Seçici PVDF EM 1 Tekrar	0,37	6	0,00	0,71	6	0,01
Seçici PVDF EM 2 Tekrar	0,29	6	0,12	0,84	6	0,15

$0,009 < 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,148 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Non parametric Mann Whitney U testi yapılacaktır.

Çizelge 4.18. EM PVDF Mann-Whitney U testi

	Seçici PVDF EM 1. ve 2 Tekrar
Mann-Whitney U	6,00
Wilcoxon W	27,00
Z	-1,92
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,05
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,06

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,055 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Naylon filtre değişimi normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.19., Çizelge 4.20., Çizelge 4.21., Çizelge 4.22.'de verilmiştir.

Çizelge 4.19. TDF naylon normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
Seçici_Naylon_TDF 1 Tekrar	0,21	6	0,20	0,90	6	0,38
Seçici_Naylon_TDF 1 Tekrar	0,36	6	0,02	0,72	6	0,01

$0,01 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,379 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.20. TDF Mann Whitney U testi

	Seçici_Naylon_TDF_1. Ve 2 Kişi
Mann-Whitney U	13,00
Wilcoxon W	34,00
Z	-0,80
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,42
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,48

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,423>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.21. EM naylon normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Df	Sig	İstatistik	Df	Sig
Seçici_Naylon_EM 1 Tekrar	0,17	6	0,20	0,92	6	0,51
Seçici_Naylon_EM 2 Tekrar	0,23	6	0,20	0,85	6	0,16

0,511>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,167>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.22. EM Mann Whitney U testi

	Seçici_Naylon_EM_1. ve 2 Kişi
Mann-Whitney U	12,00
Wilcoxon W	33,00
Z	0,96
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,33
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,39

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,337>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Naylon-PVDF filtre değişimi normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.23., Çizelge 4.24., Çizelge 4.25., Çizelge 4.26.'de verilmiştir.

Çizelge 4.23. TDF naylon filtre ve PVDF karşılaştırma tabloları

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici_PVDF_TDF_1 ve 2 tekrar	0,33	12	0,00	0,76	12	0,00
Seçici_NAYLON_TDF_1 ve 2 tekrar	0,22	12	0,11	0,86	12	0,05

$0,003 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,051 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.24.** TDF naylon filtre ve PVDF Mann Whitney U testi

	Seçici_PVDF_naylon_TDF_1 ve 2 tekrar
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	78,00
Z	-4,16
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,000 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.25.** EM naylon filtre ve PVDF normallik testi

	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici_PVDF_EM_1 ve 2 tekrar	0,25	12	0,03	0,84	12	0,02
Seçici_Naylon_EM_1 ve 2 tekrar	0,15	12	0,20	0,93	12	0,34

$0,024 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,336 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.26.** EM naylon filtre ve PVDF Mann Whitney U testi

	Seçici_PVDF_Naylon_EM_1 ve 2 tekrar
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	78,00
Z	-4,16
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,000 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir

#### PVDF- Naylon Filtre Sonuç

1-PVDF filtre ile yapılan süzme sonucu kendi içinde uyumludur.

2-Naylon filtre ile yapılan süzme sonucu kendi içinde uyumludur.

3-Naylon filtre ile PVDF filtre birbiri ile karşılaştırma sonucu istatistiki olarak uygun değildir.

5-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman Naylon filtre ile süzme işlemi uygun görünmektedir.

#### \* **Selüloz-Naylon Filtre Değişimi**

Selüloz -naylon filtre değişim sonuçları Çizelge 4.14.'de verilmiştir

**Çizelge 4.27.** TDF / EM selüloz ve naylon filtre sonuçları

	EM				TDF			
	Selüloz		Naylon		Selüloz		Naylon	
Paralel Sayısı	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	97,3	93,8	99,5	98,8	89,9	88,1	99,5	97,1
2	94,8	93,9	99,5	98,7	88,5	88,0	99,6	97,1
3	95,3	95,1	98,9	98,9	94,9	94,7	98,2	98,3
4	95,2	95,1	99,1	99,0	94,8	94,9	98,0	98,3
5	95,6	96,6	100,3	100,8	94,7	95,8	99,1	99,1
6	95,6	96,7	100,2	100,9	94,5	95,8	98,7	99,1
<b>Ortalama</b>	95,6	95,2	99,6	99,5	92,9	92,9	98,9	98,2
<b>SD</b>	0,9	1,2	0,56	1,0	2,9	3,8	0,7	0,9
<b>Max</b>	97,3	96,7	100,3	100,9	94,9	95,8	99,6	99,1
<b>Min</b>	94,8	93,8	98,9	98,8	88,5	88,0	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	0,9	1,3	0,6	1,0	3,1	4,1	0,7	0,9

Selüloz filtre EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygun değildir.

Naylon filtre EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Selüloz filtresi normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.28., Çizelge 4.29., Çizelge 4.30., Çizelge 4.31.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.28.** TDF selüloz normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici_Seluloz_TDF_1	0,35	6	0,02	0,80	6	0,06
Seçici_Seluloz_TDF_2	0,20	6	0,20	0,88	6	0,25

0,061>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,248>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.29. TDF selüloz Mann Whitney U testi

	Seçici Seluloz TDF 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	12,00
Wilcoxon W	33,00
Z	0,96
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,34
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,39

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,337>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM Selüloz İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.30. EM selüloz filtre normallik testi

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici Seluloz EM 1.tekrar	0,38	6	0,01	0,72	6	0,01
Seçici Seluloz EM 2.tekrar	0,35	6	0,02	0,73	6	0,01

0,010<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,012<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.31. EM selüloz filtre T testi

	Levene's Test eşitliği		T-Testi						
	F	Sig.	t	df	Sig.	Ortalama Fark	Standart Hata	95% Güven Aralığı	
								Düşük	Yüksek
Seçici Seluloz EM 1. ve 2. tekrar	1,21	0,29	0,01	10	0,99	-,015	1,94	-4,34	4,31
			0,01	9,374	0,99	-,015	1,9	-4,38	4,35

H<sub>0</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojen değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojendir.

Levene's testi sonucuna göre  $p=0,296 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez.

Varyanslar homojen olmadığı için Equal variances not assumed karşısında yer alan  $p=0,994$  değeri kullanılarak t testi yorumlanır.

H<sub>0</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark vardır.

Sonuç  $p=0,994 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

#### TDF Naylon İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Naylo filtresi normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.32., Çizelge 4.33., Çizelge 4.34., Çizelge 4.35.'de verilmiştir.

Çizelge 4.32. TDF naylon normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici naylon TDF 1.tekrar	0,21	6	0,20	0,90	6	0,38
Seçici naylon TDF 1.tekrar	0,36	6	0,02	0,72	6	0,01

$0,010 < 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,379 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Non parametric Mann Whitney U testi yapılacaktır.

Çizelge 4.33. TDF naylon Mann Whitney U testi

	Seçici naylon TDF 1. ve 2.Tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	13,00
<b>Wilcoxon W</b>	34,00
<b>Z</b>	-0,80
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,42
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,48

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,423>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.34. EM naylon filtre normallik testi

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>Seçici naylon EM 1.tekrar</b>	0,18	6	0,20	0,92	6	0,51
<b>Seçici naylon EM 2.tekrar</b>	0,23	6	0,20	0,85	6	0,17

0,511>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,167>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.35. EM naylon filtre Mann Whitney U testi

Test Statistics	
	Seçici_Naylon_EM 1. Ve 2. tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	12,00
<b>Wilcoxon W</b>	33,00
<b>Z</b>	-0,96
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,34
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,39

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,337>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.36.** TDF karşılaştırma tabloları

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici selüloz TDF 1. ve 2 .tekrar	0,18	12	0,20	0,94	12	0,51
Seçici naylon TDF 1. ve 2 .tekrar	0,22	12	0,11	0,86	12	0,05

0,506>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,051>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.37.** TDF Mann Whitney U testi karşılaştırma tabloları

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Seçicilik selüloz naylon TDF karşılaştırma
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	78,00
Z	-4,16
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,000<0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.38.** TDF selüloz ve naylon filtre normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçici_seluloz_EM 1. ve 2. tekrar	0,36	12	0,00	0,74	12	0,00
Seçici_naylon_EM 1. ve 2.tekrar	0,16	12	0,20	0,92	12	0,34

0,002<0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,336>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.39. TDF selüloz ve naylon filtre Mann Whitney U testi

	Seçicilik selüloz naylon EM karşılaştırma
<b>Mann-Whitney U</b>	0,00
<b>Wilcoxon W</b>	78,00
<b>Z</b>	-4,15
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,00
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,000<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

Selüloz- Naylon Filtre Sonuç

1-Selüloz filtre ile yapılan süzme sonucu kendi içinde uyumludur.

2-Naylon filtre ile yapılan süzme sonucu kendi içinde uyumludur.

3-Naylon filtre ile Selüloz filtre birbiri ile karşılaştırma sonucu istatistiki olarak uygun değildir.

5-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman Naylon filtre ile süzme işlemi uygun görünmektedir

\* **Farklı Kolon Çalışması**

Farklı kolon çalışması sonuçları Çizelge 4.40.'de verilmiştir.

Çizelge 4.40. TDF / EM ACE 5 C18 ve xbridge 5 C18 kolon sonuçları

	EM				TDF			
	ACE 5 C18 Kolon		Xbridge 5 C18 Kolon		ACE 5 C18 Kolon		Xbridge 5 C18 Kolon	
Paralel Sayısı	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
<b>1</b>	100,7	97,4	99,6	98,8	100,1	97,6	99,5	97,1
<b>2</b>	101,0	97,5	99,5	98,8	100,5	97,3	99,6	97,1
<b>3</b>	97,8	97,5	98,9	98,9	97,7	98,8	98,2	98,3
<b>4</b>	97,4	97,6	99,1	99,0	97,4	98,8	98,1	98,3
<b>5</b>	98,6	99,6	100,3	100,8	98,8	99,5	99,1	99,1
<b>6</b>	98,7	99,7	100,2	100,9	98,9	99,5	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	99,0	98,2	99,6	99,5	98,9	98,6	98,9	98,2
<b>SD</b>	1,5	1,1	0,6	1,0	1,3	0,9	0,7	0,9
<b>Max</b>	101,0	99,7	100,3	100,9	100,5	99,5	99,6	99,2
<b>Min</b>	97,4	97,4	98,9	98,8	97,4	97,3	98,1	97,1

<b>% RSD</b>	1,5	1,1	0,6	1,0	1,3	0,9	0,7	0,9
--------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

ACE 5 C18 Kolon normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.41., Çizelge 4.42., Çizelge 4.43., Çizelge 4.44.'de verilmiştir.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.41.** TDF ACE kolon normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>Seçicilik ACE 5 kolon TDF 1.tekrar</b>	0,26	6	0,20	0,88	6	0,29
<b>Seçicilik ACE 5 kolon TDF 2.tekrar</b>	0,38	6	0,01	0,71	6	0,01

0,007<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,287>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.42.** TDF ACE kolon Mann Whitney U testi

	<b>Seçicilik ACE 5 Kolon TDF 1. ve 2.tekrar</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	11,00
<b>Wilcoxon W</b>	32,00
<b>Z</b>	-1,12
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,26
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,31

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,262>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM ACE İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.43. EM ACE kolon normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçicilik ACE 5 kolon EM 1.tekrar	0,18	6	0,20	0,94	6	0,62
Seçicilik ACE 5 kolon EM 2.tekrar	0,25	6	0,20	0,86	6	0,20

0,619>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,202>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.44. EM ACE kolon Mann Whitney U testi

	Seçicilik ACE 5 kolon EM 1.tekrar
Mann-Whitney U	14,00
Wilcoxon W	35,00
Z	-0,64
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,52
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,58

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,522>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

TDF xbridge istatistiki hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Xbridge C18 Kolon normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.45., Çizelge 4.46., Çizelge 4.47., Çizelge 4.48.'de verilmiştir.

Çizelge 4.45. TDF xbridge normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçicilik xbridge 5 TDF 1.tekrar	0,20	6	0,20	0,90	6	0,38
Seçicilik xbridge 5 TDF 2.tekrar	0,35	6	0,01	0,72	6	0,01

0,010<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,379>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.46. TDF xbridge non parametric Mann Whitney U testi

	Seçicilik xbridge 5 TDF 1.ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	13,00
Wilcoxon W	34,00
Z	0,80
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,42
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,48

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,423>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM xbridge istatistiki hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.47. EM xbridge normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçicilik xbridge 5 EM 1.tekrar	0,17	6	0,20	0,92	6	0,51
Seçicilik xbridge 5 EM 2.tekrar	0,23	6	0,20	0,85	6	0,16

0,511>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,167>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.48. EM xbridge Mann Whitney U testi

	Seçicilik xbridge 5 EM 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	12,00
Wilcoxon W	33,00
Z	-0,96
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,33
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,39

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,337>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Karşılaştırma tabloları

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Xbridge C18 ve ACE 5 C18 kolon normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.49., Çizelge 4.50., Çizelge 4.51., Çizelge 4.52.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.49.** TDF ACE kolon ve xbridge kolon karşılaştırma tabloları

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçicilik xbridge 5 kolon TDF 1. ve 2. tekrar	0,22	12	0,10	0,86	12	0,05
Seçicilik ACE 5 kolon TDF 1. ve 2. tekrar	0,22	12	0,08	0,85	12	0,03

$0,038 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,051 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.50.** TDF ACE kolon ve xbridge Mann Whitney U testi

	Seçicilik xbridge 5 kolon ve ACE 5 TDF karşılaştırma
Mann-Whitney U	37,50
Wilcoxon W	115,50
Z	-1,99
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,04
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,04

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,46 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.51.** EM ACE kolon ve xbridge karşılaştırma tablosu

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Seçicilik xbridge 5 kolon EM 1. ve 2. tekrar	0,18	12	0,20	0,92	12	0,33
Seçicilik ACE 5 kolon EM 1. ve 2. tekrar	0,15	12	0,20	0,92	12	0,33

0,335>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,336>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.52.** EM ACE kolon ve xbridge Mann Whitney U testi

	Seçicilik xbridge 5 kolon ve ACE 5 EM karşılaştırma
<b>Mann-Whitney U</b>	63,00
<b>Wilcoxon W</b>	141,00
<b>Z</b>	-0,52
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,60
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,63

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,603>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir

Farklı kolon ACE 5 ile xbridge 5 farklı kolon sonuç

1-ACE 5 kolon ile yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

2- Xbridge 5 kolon ile yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

3-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman iki kolon arasında fark görülmemektedir.

\* **Sıcaklık Değişimi (25° C - 30° C)**

Sıcaklık Değişimi (25° C - 30° C) sonuçları Çizelge 4.53.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.53.** TDF / EM 25° C ve 30° C sıcaklık değişimi sonuçları

	EM				TDF			
	30° C		25° C		30° C		25° C	
Paralel Sayısı	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
<b>1</b>	99,3	99,7	99,6	98,8	98,3	99,0	99,5	97,1
<b>2</b>	99,5	99,4	99,5	98,8	98,5	97,1	99,6	97,1
<b>3</b>	99,5	98,0	98,9	98,9	96,9	97,6	98,2	98,3
<b>4</b>	99,6	97,9	99,1	99,0	97,1	97,7	98,1	98,3
<b>5</b>	100,8	99,8	100,3	100,8	98,6	97,3	99,1	99,1
<b>6</b>	100,7	99,6	100,2	100,9	98,6	97,7	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	99,9	99,1	99,6	99,5	98,0	97,7	98,9	98,2

<b>SD</b>	0,7	0,9	0,6	1,0	0,8	0,7	0,7	0,9
<b>Max</b>	100,8	99,8	100,3	100,9	98,6	99,0	99,6	99,2
<b>Min</b>	99,3	97,9	98,9	98,8	96,9	97,1	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	0,7	0,9	0,6	1,0	0,8	0,7	0,7	0,9

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Sıcaklık değişimi 30° C normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.54., Çizelge 4.55., Çizelge 4.56., Çizelge 4.57.'de verilmiştir.

TDF 30° C istatistiki hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.54. TDF 30° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>30° C TDF 1.tekrar</b>	0,34	6	0,02	0,75	6	0,02
<b>30° C TDF 2.tekrar</b>	0,32	6	0,04	0,7	6	0,03

0,024<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,035<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.55. TDF 30° C T testi

	Levene's Test eşitliği		T-Testi						
	F	Sig.	t	df	Sig.	Ortalama Fark	Standart Hata	95% Güven Aralığı	
								Düşük	Yüksek
<b>30° C TDF 1. ve 2.tekrar</b>	1,27	0,28	1,79	10	0,103	0,81	0,45	-0,19	1,83
			1,79	9,29	0,106	0,81	0,45	-0,20	1,84

H<sub>0</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojen değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojendir.

Levene's testi sonucuna göre p=0,286 >0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Varyanslar homojen olmadığı için Equal variances not assumed karşısında yer alan p=0,106 değeri kullanılarak t testi yorumlanır.

H<sub>0</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark vardır.

Sonuç  $p=0,106>0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

EM 30° C istatistiki hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.56. EM 30° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
30° C EM 1.tekrar	0,32	6	0,04	0,75	6	0,02
30° C EM 2.tekrar	0,35	6	0,02	0,80	6	0,07

$0,023<0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,07>0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.57. EM 30° C Man Whitney U testi

	30° C EM 1. ve 2.tekrar
Mann-Whitney U	15,00
Wilcoxon W	36,00
Z	-0,48
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,63
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,69

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,631>0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

TDF 25° C istatistiki hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Sıcaklık değişimi 25° C normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.58.,

Çizelge 4.59., Çizelge 4.60., Çizelge 4.61.'de verilmiştir

Çizelge 4.58. TDF 25° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
25° C TDF 1.tekrar	0,20	6	0,20	0,90	6	0,37
25° C TDF 2.tekrar	0,35	6	0,01	0,72	6	0,01

0,010<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,379>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.59. TDF 25° C Man Whitney U testi

	25° C TDF 1. ve 2.tekrar
Mann-Whitney U	13,00
Wilcoxon W	34,00
Z	-0,80
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,42
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,48

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,423>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM 25° C istatistiki hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.60. EM 25° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
25° C EM 1.tekrar	0,17	6	0,20	0,92	6	0,51
25° C EM 2.tekrar	0,23	6	0,20	0,85	6	0,16

0,511>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,167>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.61. EM 25° C Man Whitney U testi

	25° C EM 1. ve 2.tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	12,00
<b>Wilcoxon W</b>	33,00
<b>Z</b>	-0,96
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,33
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,39

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,337>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Karşılaştırmalı Tablolar

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Sıcaklık değişimi 25° C ve 30° C normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.62., Çizelge 4.63., Çizelge 4.63., Çizelge 4.64.'de verilmiştir

Çizelge 4.62. TDF 25° C ve30° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>30° C TDF 1. ve 2.tekrar</b>	0,24	12	0,04	0,86	12	0,06
<b>25° C TDF 1. ve 2.tekrar</b>	0,22	12	0,10	0,86	12	0,05

0,063>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,051>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.63. TDF 25° C ve 30° C Man Whitney U testi

Test Statistics	
	30° C ve 25° C TDF karşılaştırma
<b>Mann-Whitney U</b>	67,00
<b>Wilcoxon W</b>	145,00
<b>Z</b>	-0,28
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,77
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,79

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,773>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.64. EM 25° C ve 30° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
30° C EM 1. ve 2.tekrar	0,18	12	0,20	0,91	12	0,27
25° C EM 1. ve 2.tekrar	0,15	12	0,20	0,92	12	0,33

0,277>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,336>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.65. EM 25° C ve 30° C Man Whitney U testi

	30° C ve 25° C EM karşılaştırma
Mann-Whitney U	42,00
Wilcoxon W	120,00
Z	-1,73
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,08
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,08

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,083>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Sıcaklık Değişimi (25° C - 30° C) Sonuç

1-Kolon Sıcaklığı 25° C yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

2- Kolon Sıcaklığı 30° C yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

3-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman her iki sıcaklık arasında fark görülmemektedir.

**Sıcaklık Değişimi (25° C -20° C)**

Sıcaklık Değişimi (25° C - 20° C) sonuçları Çizelge 4.66.'de verilmiştir.

Çizelge 4.66. TDF /EM 20° C ve 25° C sıcaklık değişimi sonuçları

Paralel Sayısı	EM				TDF			
	20° C		25° C		20° C		25° C	
	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	99,6	98,8	99,6	98,8	99,5	97,1	99,5	97,1
2	99,5	98,8	99,4	98,8	99,6	97,1	99,6	97,1
3	98,9	98,9	98,9	98,9	98,2	98,3	98,2	98,3
4	99,1	99,0	99,1	99,0	98,1	98,3	98,1	98,3
5	100,3	100,8	100,3	100,8	99,1	99,1	99,1	99,1
6	100,2	100,9	100,2	100,9	98,7	99,2	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	99,6	99,5	99,6	99,5	98,9	98,2	98,9	98,2
<b>SD</b>	0,6	1,0	0,6	1,0	0,7	0,9	0,7	0,9
<b>Max</b>	100,3	100,9	100,3	100,9	99,6	99,2	99,6	99,2
<b>Min</b>	98,9	98,7	98,9	98,8	98,1	97,1	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	0,6	1,0	0,6	1,0	0,7	0,9	0,7	0,9

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Sıcaklık değişimi 20° C normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.67., Çizelge 4.68., Çizelge 4.69., Çizelge 4.70.'de verilmiştir.

EM 20° C istatistiki hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.67. EM 20° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
20° C EM 1.Tekrar	0,18	6	0,20	0,92	6	0,55
20° C EM 2.Tekrar	0,36	6	0,01	0,70	6	0,00

0,007<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,556>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.68. EM 20° C Mann Whitney U testi

	20° C EM 1. ve 2. Tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	13,50
<b>Wilcoxon W</b>	34,50
<b>Z</b>	-0,72
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,47
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,48

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,470>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

TDF 20° C İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.69. TDF 20° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>20° C TDF 1.tekrar</b>	0,18	6	0,20	0,90	6	0,41
<b>20° C TDF 2.tekrar</b>	0,21	6	0,20	0,86	6	0,19

0,417>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,190>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.70. TDF 20° C Mann Whitney U testi

Test Statistics	
	20° C TDF 1. ve 2. tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	11,50
<b>Wilcoxon W</b>	32,50
<b>Z</b>	-1,04
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,29
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,31

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

$0,295 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Sıcaklık değişimi  $25^\circ\text{C}$  normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.71., Çizelge 4.72., Çizelge 4.73., Çizelge 4.74.'de verilmiştir.

EM  $25^\circ\text{C}$  İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır

Çizelge 4.71. EM  $25^\circ\text{C}$  normallik testi.

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b><math>25^\circ\text{C}</math> EM 1.tekrar</b>	0,19	6	0,20	0,92	6	0,53
<b><math>25^\circ\text{C}</math> EM 2.tekrar</b>	0,36	6	0,01	0,71	6	0,01

$0,007 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,534 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.72. EM  $25^\circ\text{C}$  Mann Whitney U testi

Test Statistics	
	<b><math>25^\circ\text{C}</math> EM 1. ve 2.tekrar</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	13,50
<b>Wilcoxon W</b>	34,50
<b>Z</b>	-0,72
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,47
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,48

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,470 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.73. TDF 25° C normallik testi

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
25° C TDF 1. tekrar	0,18	6	0,20	0,90	6	0,41
25° C TDF 2. tekrar	0,21	6	0,20	0,86	6	0,19

0,417>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,190>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.74. TDF 25° C Mann Whitney U Testi

Test Statistics	
	25° C TDF 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	11,50
Wilcoxon W	32,50
Z	-1,05
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,29
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,31

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,295>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

#### Karşılaştırma Tabloları

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Sıcaklık değişimi 25° C ve 20° C normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.75., Çizelge 4.76., Çizelge 4.77., Çizelge 4.78.'de verilmiştir.

Çizelge 4.75. EM 25° C ve 20° C normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
20° C EM 1. tekrar	0,22	12	0,10	0,85	12	0,04
25° C EM 1. tekrar	0,21	12	0,11	0,84	12	0,03

0,040<0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,035<0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Veriler normal dağıldığı için t testi yapılacaktır.

Çizelge 4.76. EM 25° C ve 20° C T testi

	Levene's Test eşitliği		T-Testi						
	F	Sig.	t	df	Sig.	Ortalama Fark	Standart Hata	95% Güven Aralığı	
								Düşük	Yüksek
20° C - 25° C EM karşılaştırma	0,00	0,96	0,02	22	0,98	0,01	0,32	-0,66	0,67
			0,02	22	0,98	0,01	0,32	-0,66	0,67

H<sub>0</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojen değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle grupların varyansları homojendir.

Levene's testi sonucuna göre  $p=0,964 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Varyanslar homojen olmadığı için Equal variances not assumed karşısında yer alan  $p=0,980$  değeri kullanılarak T testi yorumlanır.

H<sub>0</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası ortalamalar arasında fark vardır.

$p=0,980 > 0,05$  olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası ortalamalar arasında fark yoktur.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.77. TDF 25° C ve 20° C normallik testi

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
20° C TDF 1. ve 2. tekrar	0,17	12	0,20	0,91	12	0,24
25° C TDF 1. ve 2. tekrar	0,17	12	0,20	0,91	12	0,24

0,242 > 0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,242 > 0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Veriler normal dağılmadığı için non parametrik Mann Whitney U testi uygulanacaktır.

Çizelge 4.78. TDF 25° C ve 20° C Mann Whitney U testi

	20° C- 25° C TDF karşılaştırma
Mann-Whitney U	72,00
Wilcoxon W	150,00
Z	0,00
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

1,000>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Sıcaklık Değişimi (20° C- 25° C) Sonuç

1-Kolon Sıcaklığı 25° C yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

2- Kolon Sıcaklığı 20° C yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

3-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman her iki sıcaklık arasında fark görülmemektedir.

\* Akış Hızı Değişimi (1,5 mL/dk -1,2 mL/dk)

Akış Hızı Değişimi (1,5 mL/dk -1,2 mL/dk) sonuçları Çizelge 4.79.'de verilmiştir.

Çizelge 4.79. TDF/EM akış hızı değişimi (1,5 mL/dk-1,2 mL/dk) sonuçları

	EM				TDF			
	Akış Hızı 1,5 mL/dk		Akış Hızı 1,2 mL/dk		Akış Hızı 1,5 mL/dk		Akış Hızı 1,2 mL/dk	
Paralel Sayısı	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	101,8	100,3	99,6	98,8	114,3	110,9	99,5	97,1
2	101,7	100,9	99,5	98,8	114,4	112,2	99,6	97,1
3	101,3	101,2	98,9	98,9	111,9	111,6	98,2	98,3
4	101,2	100,9	99,1	99,0	111,8	113,3	98,1	98,3
5	102,7	102,5	100,3	100,8	113,9	114,4	99,1	99,1
6	103,0	99,6	100,2	100,9	114,3	114,5	98,7	99,2
Ortalama	101,9	100,9	99,6	99,5	113,4	112,8	98,9	98,2

<b>SD</b>	0,8	0,9	0,6	1,0	1,3	1,5	0,7	0,9
<b>Max</b>	103,0	102,5	100,3	100,9	114,4	114,5	99,6	99,2
<b>Min</b>	101,2	99,6	98,9	98,8	111,8	110,9	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	0,8	0,9	0,6	1,0	1,1	1,3	0,7	0,9

1,2 mL/dk EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

1,5 mL/dk EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygun değildir

Akış Hızı Değişimi (1,5 mL/dk -1,2 mL/dk) normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.80., Çizelge 4.81., Çizelge 4.82., Çizelge 4.82.'de verilmiştir

EM Akış Hızı 1,5 mL/dk İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.80.** EM akış hızı 1,5 mL/dk normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>1,5 mL/dk EM 1. tekrar</b>	0,21	6	0,2	0,90	6	0,37
<b>1,5 mL/dk EM 2. tekrar</b>	0,21	6	0,2	0,95	6	0,77

0,374>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,771>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.81.** EM akış hızı 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi

	<b>1,5 mL/dk EM 1. ve 2. tekrar</b>
<b>Mann-Whitney U</b>	6,50
<b>Wilcoxon W</b>	27,50
<b>Z</b>	-1,84
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,060
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,065

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,065>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir

### TDF Akış Hızı 1,5 mL/dk İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.82.** TDF akış hızı 1,5 mL/dk normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>1,5 mL/dk TDF 1. tekrar</b>	0,31	6	0,06	0,73	6	0,02
<b>1,5 mL/dk TDF 2. tekrar</b>	0,19	6	0,20	0,92	6	0,51

$0,015 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

$0,509 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.83.** TDF akış hızı 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi

	1,5 mL/dk TDF 1. ve 2. tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	15,50
<b>Wilcoxon W</b>	36,50
<b>Z</b>	-0,40
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,69
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,69

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,688 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

### EM Akış Hızı 1,2 mL/dk İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.84.** EM akış hızı 1,2 mL/dk normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>1,2 mL/dk EM 1. tekrar</b>	0,18	6	0,20	0,92	6	0,56
<b>1,2 mL/dk EM 2. tekrar</b>	0,36	6	0,01	0,70	6	0,01

0,007<0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,556>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.85.** EM akış hızı 1,2 mL/dk Mann Whitney U Testi

Test Statistics	
	1,2 mL/dk EM 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	13,50
Wilcoxon W	34,50
Z	-0,72
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,47
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,48

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,470>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Akış Hızı Değişimi 1,2 mL/dk normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.86., Çizelge 4.87., Çizelge 4.88., Çizelge 4.89.'de verilmiştir

TDF Akış Hızı 1,2 mL/dk İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.86.** TDF akış hızı 1,2 mL/dk normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
1,2 mL/dk TDF 1. tekrar	0,18	6	0,20	0,91	6	0,42
1,2 mL/dk TDF 2. tekrar	0,22	6	0,20	0,86	6	0,19

0,417>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,190>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.87. TDF akış hızı 1,2 mL/dk Mann Whitney U testi

	1,2 mL/dk TDF 1. ve 2. tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	11,50
<b>Wilcoxon W</b>	32,50
<b>Z</b>	-1,04
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,29
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,31

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,295>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Karşılaştırma Tabloları

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.88. EM akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk karşılaştırma

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>1,2 mL/dk EM</b>	0,17	12	0,20	0,96	12	0,82
<b>1,5 mL/dk EM</b>	0,22	12	0,10	0,85	12	0,04

0,827>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,040<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Veriler normal dağılmadığı için non parametrik Mann Whitney U testi uygulanacaktır.

Çizelge 4.89. EM akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi

	1,2 mL/dk - 1,5 mL/dk EM karşılaştırma
<b>Mann-Whitney U</b>	8,00
<b>Wilcoxon W</b>	86,00
<b>Z</b>	-3,70
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,00
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,000 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Akış Hızı Değişimi (1,5 mL/dk -1,2 mL/dk) normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.90., Çizelge 4.91., Çizelge 4.92., Çizelge 4.93.'de verilmiştir

**Çizelge 4.90.** TDF akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk karşılaştırma

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
1,2 mL/dk TDF karşılaştırma	0,22	12	0,09	0,84	12	0,03
1,5 mL/dk TDF karşılaştırma	0,17	12	0,20	0,91	12	0,24

$0,242 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

$0,033 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Veriler normal dağılmadığı için non parametrik Mann Whitney U testi uygulanacaktır.

**Çizelge 4.91.** TDF akış hızı 1,2 mL/dk ve 1,5 mL/dk Mann Whitney U testi

	1,2 mL/dk - 1,5 mL/dk TDF karşılaştırma
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	66,00
Z	-4,06
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,000 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

Akış Hızı Değişimi (1,5 mL/dk -1,2 mL/dk) Sonuç

1-Akış Hızı 1,5 mL/dk yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

2- Akış Hızı 1,2 mL/dk yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

3-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman EM için fark görülmemektedir. Fakat TDF sonuçlar arasında fark vardır.

**Akış Hızı Değişimi (1,0 0mL/dk -1,2 mL/dk)**

Akış Hızı Değişimi (1,0 mL/dk -1,2 mL/dk) sonuçları Çizelge 4.92.'de verilmiştir

**Çizelge 4.92.** TDF / EM akış hızı değişimi (1,0 mL/dk) sonuçları

	EM				TDF			
	Akış Hızı 1,0 mL/dk		Akış Hızı 1,2 mL/dk		Akış Hızı 1,0 mL/dk		Akış Hızı 1,2 mL/dk	
Paralel Sayısı	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	98,4	97,0	99,6	98,8	109,0	102,7	99,5	97,1
2	98,4	97,4	99,5	98,8	109,8	101,9	99,6	97,1
3	97,9	97,9	98,9	98,9	106,2	104,2	98,2	98,3
4	97,9	97,6	99,1	99,0	105,5	105,8	98,1	98,3
5	99,1	99,2	100,3	100,8	105,6	104,3	99,1	99,1
6	98,8	99,4	100,2	100,9	105,0	103,4	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	98,4	98,1	99,6	99,5	106,9	103,7	98,9	98,2
<b>SD</b>	0,5	0,9	0,6	1,0	2,0	1,4	0,7	0,9
<b>Max</b>	99,1	99,4	100,3	100,9	109,8	105,8	99,6	99,2
<b>Min</b>	97,9	97,0	98,9	98,8	105,0	101,9	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	0,5	1,0	0,6	1,0	1,9	1,3	0,7	0,9

1,2 mL/dk EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

1,0 mL/dk EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygun değildir

Akış Hızı Değişimi 1,0 mL/dk normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.93., Çizelge 4.94., Çizelge 4.95., Çizelge 4.96.'da verilmiştir

EM Akış Hızı 1,0 mL/dk İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

**Çizelge 4.93.** EM akış hızı 1,0 mL/dk normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>1,0 mL/dk EM 1. tekrar</b>	0,19	6	0,20	0,91	6	0,46
<b>1,0 mL/dk EM 2. tekrar</b>	0,24	6	0,20	0,88	6	0,27

0,460>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,272>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.94. EM akış hızı 1,0 mL/dk Mann Whitney U testi

	1,0 mL/dk EM 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	13,00
Wilcoxon W	34,00
Z	-0,81
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,42
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,48

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,419>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

TDF Akış Hızı 1,0 mL/dk İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

Çizelge 4.95. TDF akış hızı 1,0 mL/dk normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
1,0 mL/dk TDF 1. tekrar	0,17	6	0,20	0,97	6	0,91
1,0 mL/dk TDF 2. tekrar	0,20	6	0,20	0,92	6	0,52

0,910>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,517>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.96. TDF akış hızı 1,0 mL/dk Mann Whitney U testi

	1,0 mL/dk TDF 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	7,50
Wilcoxon W	28,50
Z	-1,68
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,09
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,09

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,092 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir

\* **Dalga Boyu Değişimi (260 nm-265 nm)**

Dalga Boyu Değişimi (260 nm-265 nm) sonuçları Çizelge 4.97.'de verilmiştir

**Çizelge 4.97.** TDF /EM dalga boyu değişimi (260 nm) sonuçları

	EM				TDF			
	260 nm		265 nm		260 nm		265 nm	
Paralel Sayısı	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
<b>1</b>	101,6	99,5	99,6	98,8	96,2	96,8	99,5	97,1
<b>2</b>	101,8	100,2	99,5	98,8	96,6	95,5	99,6	97,1
<b>3</b>	100,8	100,9	98,9	98,9	95,9	95,6	98,2	98,3
<b>4</b>	101,0	100,4	99,1	99,0	95,6	95,0	98,1	98,3
<b>5</b>	102,2	102,4	100,3	100,8	95,7	95,5	99,1	99,1
<b>6</b>	102,3	102,5	100,2	100,9	95,8	95,9	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	101,6	101,0	99,6	99,5	96,0	95,7	98,9	98,2
<b>SD</b>	0,6	1,2	0,6	1,0	0,4	0,6	0,7	0,9
<b>Max</b>	102,3	102,5	100,3	100,9	96,6	96,8	99,6	99,2
<b>Min</b>	100,8	99,5	98,9	98,8	95,6	95,0	98,1	97,1
<b>% RSD</b>	0,6	1,2	0,6	1,0	0,4	0,6	0,7	0,9

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Dalga Boyu Değişimi 260 nm normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.98., Çizelge 4.99., Çizelge 4.100., Çizelge 4.101.'da verilmiştir.

TDF Dalga Boyu 260 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.98.** TDF dalga boyu 260 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>260 nm TDF 1.tekrar</b>	0,17	6	0,20	0,91	6	0,41
<b>260 nm TDF 2.tekrar</b>	0,21	6	0,20	0,89	6	0,34

$0,414 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

$0,344 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.99. TDF dalga boyu 260nm Man Whitney U testi

	260 nm TDF 1. ve 2. tekrar
Mann-Whitney U	13,00
Wilcoxon W	34,00
Z	-0,80
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,42
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,48

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,423>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM Dalga Boyu 260nm İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.100. EM dalga boyu 260 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
260 nm EM 1.tekrar	0,28	6	0,14	0,87	6	0,21
260 nm EM 1.tekrar	0,24	6	0,20	0,91	6	0,45

0,213>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,446>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.101. EM dalga boyu 260 nm Man Whitney U testi

	260 nm EM 1. ve 2.tekrar
Mann-Whitney U	10,00
Wilcoxon W	31,00
Z	-1,28
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,20
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,24

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,200 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Dalga Boyu Değişimi 265 nm normallik testi ve Man Whitney U testi sonuçları Çizelge 4.102., Çizelge 4.103., Çizelge 4.103., Çizelge 4.104.'da verilmiştir

TDF Dalga Boyu 265 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.102. TDF dalga boyu 265 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>265 nm TDF 1.tekrar</b>	0,21	6	0,20	0,90	6	0,38
<b>265 nm TDF 2.tekrar</b>	0,36	6	0,01	0,72	6	0,010

$0,379 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

$0,010 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.103. TDF dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi

	265 nm TDF 1. ve 2.tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	13,00
<b>Wilcoxon W</b>	34,00
<b>Z</b>	-0,80
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,42
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,48

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

$0,423 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM Dalga Boyu 260 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.104. EM dalga boyu 260 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
265 nm EM 1.tekrar	0,17	6	0,20	0,92	6	0,51
265 nm EM 2.tekrar	0,23	6	0,20	0,85	6	0,17

0,511>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,167>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.105. EM dalga boyu 260 nm non parametrik man whitney u testi

	265 nm EM 1. ve 2.tekrar
Mann-Whitney U	12,00
Wilcoxon W	33,00
Z	-0,96
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,34
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,39

$H_0$ :Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,337>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

TDF dalga boyu 260nm istatistiki hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.106. TDF dalga boyu 260 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
265 nm TDF 1.tekrar	0,16	12	0,20	0,93	12	0,45
265 nm TDF 2.tekrar	0,22	12	0,10	0,86	12	0,05

0,454>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,051>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.107.** TDF dalga boyu 260 nm non parametrik Man Whitney U testi

	265 nm - 260 nm TDF karşılaştırma
Mann-Whitney U	14,00
Wilcoxon W	92,00
Z	-3,35
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

0,001<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.108.** EM dalga boyu 260 nm ve 265 nm karşılaştırma

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
260 nm EM 1.ve 2. tekrar	0,17	12	0,20	0,94	12	0,55
265 nm EM 1.ve 2. tekrar	0,16	12	0,20	0,92	12	0,33

0,554>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,336>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.109.** EM dalga boyu 260 nm ve 265 nm man whitney u testi

	265 nm - 260 nm EM karşılaştırma
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	78,00
Z	-4,16
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,000<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

Dalga Boyu Değişimi (260 nm-265 nm)Sonuç

1-Dalga Boyu 260 nm yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

2- Dalga Boyu 265 nm yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

3-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman 265 nm dalga boyu ideal sonuç vermiştir.

### **Dalga Boyu Değişimi (270 nm-265 nm)**

Dalga Boyu Değişimi (260 nm-265 nm) sonuçları Çizelge 4.110.'de verilmiştir

**Çizelge 4.110.** TDF / EM dalga boyu değişimi (270 nm-265 nm) sonuçları

Paralel Sayısı	EM				TDF			
	270 nm		265 nm		270 nm		265 nm	
	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar	1.Tekrar	2.Tekrar
1	94,6	93,8	99,6	98,8	103,0	100,2	99,5	97,1
2	94,6	93,7	99,5	98,8	102,7	99,8	99,6	97,1
3	93,6	94,1	98,9	98,9	99,9	101,8	98,2	98,3
4	94,2	94,2	99,1	99,0	100,8	102,4	98,1	98,3
5	95,3	95,4	100,3	100,8	102,9	102,4	99,1	99,1
6	95,0	95,5	100,2	100,9	102,4	103,9	98,7	99,2
<b>Ortalama</b>	94,5	94,4	99,6	99,5	101,9	101,6	98,9	98,2
<b>SD</b>	0,7	0,8	0,6	1,0	1,3	1,3	0,7	0,9
<b>Max</b>	95,3	95,5	100,3	100,9	103,0	103,9	99,6	99,2
<b>Min</b>	93,5	93,7	98,9	98,8	99,9	99,8	98,7	97,1
<b>% RSD</b>	0,7	0,9	0,6	1,0	1,3	1,3	0,7	0,9

EM/TDF ortalama ve %RSD sonuçları kabul kriterine göre uygundur.

Dalga Boyu Değişimi 270 nm normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.111., Çizelge 4.112., Çizelge 4.113., Çizelge 4.114.'da verilmiştir

TDF Dalga Boyu 270 nm İstatistiki Hesaplama

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.111.** TDF dalga boyu 270 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>270 nm TDF 1.tekrar</b>	0,19	6	0,20	0,96	6	0,80
<b>270 nm TDF 2.tekrar</b>	0,28	6	0,14	0,82	6	0,09

0,802>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,092>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.112.** TDF dalga boyu 270 nm Man Whitney U testi

	270 nm -260 nm TDF
<b>Mann-Whitney U</b>	16,00
<b>Wilcoxon W</b>	37,00
<b>Z</b>	-0,32
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,74
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,81

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,749>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM Dalga Boyu 270 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ :%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

**Çizelge 4.113.** EM dalga boyu 270 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>270 nm EM 1.tekrar</b>	0,29	6	0,10	0,83	6	0,10
<b>270 nm EM 2.tekrar</b>	0,23	6	0,20	0,88	6	0,27

0,100>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,270>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

**Çizelge 4.114.** EM dalga boyu 270 nm Man Whitney U testi

	270 nm EM
<b>Mann-Whitney U</b>	15,00
<b>Wilcoxon W</b>	36,00
<b>Z</b>	-0,48
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,63
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,69

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,631 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

Dalga Boyu Değişimi 265nm normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.115., Çizelge 4.116., Çizelge 4.117., Çizelge 4.118.'da verilmiştir

TDF Dalga Boyu 265 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.115. TDF dalga boyu 265 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>265 nm TDF 1.tekrar</b>	0,21	6	0,20	0,90	6	0,38
<b>265 nm TDF 2.tekrar</b>	0,36	6	0,02	0,72	6	0,01

$0,379 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

$0,010 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.116. TDF dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi

	265 nm TDF 1. ve 2.tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	13,00
<b>Wilcoxon W</b>	34,00
<b>Z</b>	-0,80
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,42
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,48

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,423 > 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

EM Dalga Boyu 265 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.117. EM dalga boyu 265 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>265 nm EM 1.tekrar</b>	0,176	6	0,200*	0,921	6	0,511
<b>265 nm EM 2.tekrar</b>	0,231	6	0,200*	0,853	6	0,167

0,511>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,167>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.118. EM dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi

	265 nm EM 1. ve 2.tekrar
<b>Mann-Whitney U</b>	12,00
<b>Wilcoxon W</b>	33,00
<b>Z</b>	-0,96
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,33
<b>Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]</b>	0,39

$H_0$ : Gruplar arası fark önemli değildir.

$H_1$ : Gruplar arası fark önemlidir.

0,337>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Gruplar arası fark önemli değildir.

TDF Dalga Boyu 265 nm İstatistiki Hesaplama

$H_0$ : %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

$H_1$ : %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Çizelge 4.119. TDF dalga boyu 265 nm normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>265 nm TDF 1.tekrar</b>	0,15	12	0,20	0,93	12	0,41
<b>260 nm TDF 1.tekrar</b>	0,22	12	0,11	0,86	12	0,05

0,413>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

0,051>0,05 olduğu için  $H_0$  reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.120. TDF dalga boyu 265 nm Man Whitney U testi

	265 nm TDF karşılaştırma
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	78,00
Z	-4,16
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç 0,000<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir.

H<sub>0</sub>: %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır.

H<sub>1</sub>:%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır.

Dalga Boyu Değişimi 265nm normallik testi ve Man Whitnet U testi sonuçları Çizelge 4.121., Çizelge 4.122., Çizelge 4.123., Çizelge 4.124.'da verilmiştir

Çizelge 4.121. EM dalga boyu 270 nm ve 265 nm karşılaştırma

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
265 nm-260 nm EM 1.tekrar	0,27	12	0,02	0,84	12	0,03
265 nm-260 nm EM 2.tekrar	0,16	12	0,20	0,93	12	0,34

0,027<0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilir. Normal dağılmaktadır.

0,336>0,05 olduğu için H<sub>0</sub> reddedilemez. Normal dağılmamaktadır.

Çizelge 4.122. EM dalga boyu 270 nm ve 265 nm Man Whitney U testi

	270 nm - 265 nm EM karşılaştırma
Mann-Whitney U	0,00
Wilcoxon W	78,00
Z	-4,16
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,00
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,00

H<sub>0</sub>: Gruplar arası fark önemli değildir.

H<sub>1</sub>: Gruplar arası fark önemlidir.

Sonuç  $0,000 < 0,05$  olduğu için  $H_0$  reddedilir. Gruplar arası fark önemlidir

Dalga Boyu Değişimi (270 nm-265 nm) Sonuç

1-Dalga Boyu 270 nm yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

2- Dalga Boyu 265 nm yapılan analiz kendi içinde uyumludur.

3-Sonuçlarda limitler incelendiği zaman 265 nm dalga boyu ideal sonuç vermiştir.

#### 4.6 Dayanıklılık Sonuçları

Dayanıklılık sonuçları Çizelge 4.123.'de verilmiştir

Çizelge 4.123. TDF / EM çözelti stabilitesi sonuçları

Paralel Sayısı	EM						TDF					
	Başlangıç		24.SAAT		48.SAAT		Başlangıç		24.SAAT		248.SAAT	
	25° C	4° C	25° C	4° C	25° C	4° C	25° C	4° C	25° C	4° C	25° C	4° C
1	99,6	98,8	99,9	98,1	99,4	99,6	99,5	97,1	101,4	99,4	96,2	94,9
2	99,5	98,8	100,8	98,3	99,7	99,6	99,6	97,1	101,9	99,8	96,3	94,7
3	98,9	98,9	100,6	98,4	99,7	99,4	98,2	98,3	100,5	101,2	95,3	95,5
4	99,1	99,0	100,9	98,6	99,8	99,0	98,1	98,3	100,8	101,0	95,4	95,6
5	100,3	100,8	102,1	100,7	100,9	101,1	99,1	99,1	102,1	101,5	96,1	96,1
6	100,2	100,9	99,7	100,8	99,9	101,2	98,7	99,2	100,9	101,3	95,7	95,9
Ortalama	99,6	99,7	100,7	99,1	99,9	99,9	98,7	98,4	101,3	100,7	95,8	95,5
SD	0,6	1,1	0,8	1,2	0,5	0,9	0,6	0,8	0,6	0,9	0,5	0,6
Max	100,3	100,9	102,1	100,8	100,9	101,2	99,6	99,2	102,1	101,5	96,3	96,1
Min	98,9	98,8	99,7	98,1	99,4	99,0	98,1	97,1	100,5	99,4	95,3	94,7
% RSD	0,6	1,1	0,8	1,2	0,5	0,9	0,7	0,8	0,6	0,9	0,5	0,6

TDF Stabilite Sonuçları

Çizelge 4.124. TDF /EM çözelti stabilitesi sonuçları

Saat	TDF				EM			
	25° C		4° C		25° C		4° C	
	Pik Alanı	% Uyum	Pik Alanı	% Uyum	Pik Alanı	% Uyum	Pik Alanı	% Uyum
Başlangıç	99,63	-	99,68		98,73		98,40	
24.Saat	100,66	98,97	99,14	100,54	101,29	97,47	100,69	97,47
48.Saat	99,89	99,74	99,97	99,73	95,82	103,03	96,12	103,05

Dayanıklılık Sonuç

Oda Koşulu ve Buzdolabı Koşulunda bekleyen standart ve numune alanlarının düzenli artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Standart ve numune çözeltilerinin çözelti stabilitesi için

oda koşullarında(25° C) ve buzdolabı(4° C) bozunma süreci yaklaşık olarak aynıdır. Tabletlerin 48 saat stabil olduğu kanıtlanmıştır.

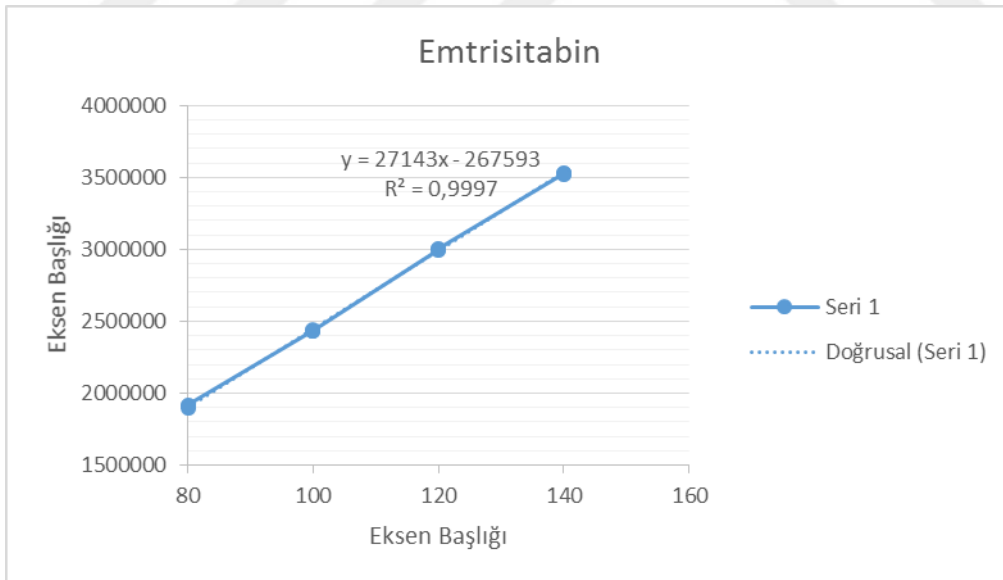
#### 4.7 Doğrusallık ve Aralık Sonuçları

Doğrusallık sonuçları Çizelge 4.125.'de verilmiştir

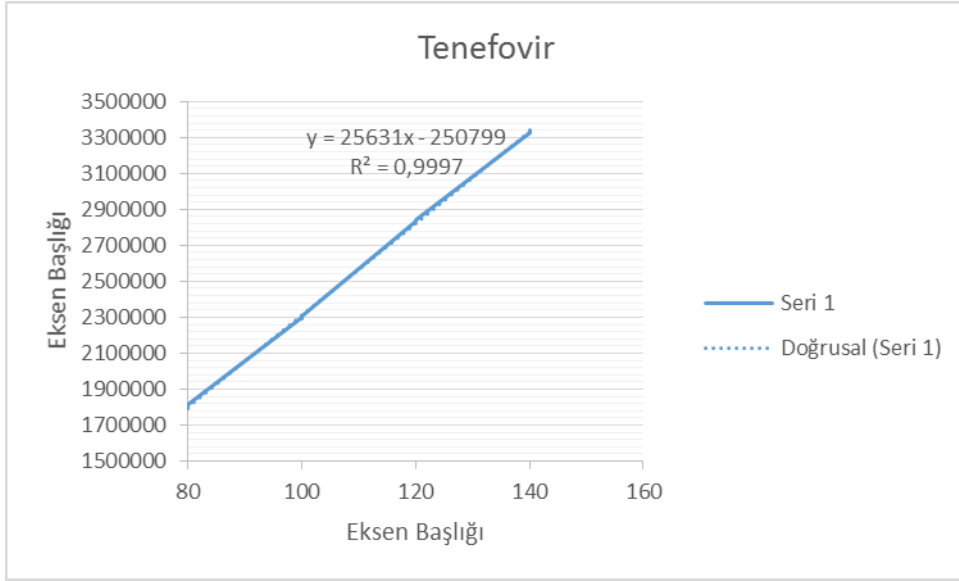
Çizelge 4.125. EM Doğrusallık sonuçları

%Derişim	Miktar(mg)	EM			TDF		
		y	x(Ci)	(ci-Cort)2	y	x(Ci)	(ci-Cort)2
80	8 mg	1896484	79,93	904,36	1794448	80,11	893,56
80	8 mg	1913840	80,57	866,40	1809629	80,70	858,64
80	8 mg	1915496	80,63	862,83	1810900	80,75	855,74
100	10 mg	2395092	98,25	138,00	2236746	97,30	161,37
100	10 mg	2428468	99,48	110,69	2295421	99,58	108,64
100	10 mg	2439254	99,88	102,50	2305678	99,98	100,48
120	12 mg	2998899	120,44	109,08	2833827	120,50	110,28
120	12 mg	2997332	120,39	107,88	2832921	120,47	109,54
120	12 mg	3003472	120,61	112,61	2838427	120,68	114,07
140	14 mg	3522048	139,67	880,37	3328817	139,74	884,39
140	14 mg	3533260	140,08	904,99	3338458	140,11	906,81
140	14 mg	3533391	140,09	905,28	3338138	140,10	906,07
				4804603,74		4764054,18	

Çizelge 4.126. EM korelasyon sonucu



Çizelge 4.127. TDF korelasyon sonucu



### Sonuç

- Korelasyon katsayısı TDF ve EM 0,999 bulundu

### 4.8 Tekrarlanabilirlik Ölçüm Belirsizliği Sonuçları

Tekrarlanabilirlik ölçüm belirsizliği sonuçları Çizelge 4.128. ve Çizelge 4.129.'de verilmiştir.

Çizelge 4.128. TDF tekrarlanabilirlik belirsizliği

TDF Tekrarlanabilirlik Belirsizliği				
	RSD	RSD <sup>2</sup>	n-1	RSD <sup>2</sup> *(n-1)
<b>C</b>	0,0056	3,18E-05	5	0,0002
<b>RSD<sub>2</sub></b>	0,0103	0,000106	5	0,0005
<b>TOPLAM</b>			10	0,0007
<b>RSD<sub>pool</sub></b>	0,008		5	0,0002

Çizelge 4.129. EM tekrarlanabilirlik belirsizliği

EM Tekrarlanabilirlik Belirsizliği				
	RSD	RSD <sup>2</sup>	n-1	RSD <sup>2</sup> *(n-1)
<b>C</b>	0,0066	4,41E-05	5	0,0002
<b>RSD<sub>2</sub></b>	0,0093	8,59E-05	5	0,0004
<b>TOPLAM</b>			10	0,0006
<b>RSD<sub>pool</sub></b>	0,008			

#### 4.9 Tekrarüretilebilirlik Ölçüm Belirsizliği Sonuçları

Tekrarüretilebilirlik ölçüm belirsizliği sonuçları Çizelge 4.130. ve Çizelge 4.131.'de verilmiştir.

Çizelge 4.130. TDF tekrarüretilebilirlik belirsizliği

TDF Tekrarüretilebilirlik Belirsizliği				
	RSD	RSD <sup>2</sup>	n-1	RSD <sup>2</sup> *(n-1)
RSD <sub>2</sub>	0,0099	0,00009801	5	0,00049
TOPLAM			5	0,00049005
RSD <sub>pool</sub>	0,0099			

Çizelge 4.131. EM tekrarüretilebilirlik belirsizliği

EM Tekrarüretilebilirlik Belirsizliği				
	RSD	RSD <sup>2</sup>	n-1	RSD <sup>2</sup> *(n-1)
RSD <sub>2</sub>	0,0105	0,00011	5	0,000551
TOPLAM			5	0,000551
RSD <sub>pool</sub>	0,0105			

#### 4.10 Birleştirilmiş Belirsizlik Sonuçları

Birleştirilmiş belirsizlik sonuçları Çizelge 4.132. ve Çizelge 4.133.'de verilmiştir.

Çizelge 4.132. TDF birleştirilmiş belirsizlik sonuçları

TDF Birleştirilmiş Belirsizliği				
Tanım	x değeri	std belirsizlik U(x)	rölatif std belirsizlik u(x)/x	sonuç
Tekrarlanabilirlik	1	0,0083016	0,00830	0,00007
Tekrarüretilebilirlik	1	0,009900	0,00990	0,00010
Rölatif std belirsizlik kareler toplamı				0,00018
Birl.rölatif std belirsizlik u(Pop)/Pop				0,01344
Genişletilmiş belirsizlik (%95 güven aralığında k=2)				0,02688

Çizelge 4.133. EM birleştirilmiş belirsizlik sonuçları

EM Birleştirilmiş Belirsizliği				
Tanım	x değeri	std belirsizlik U(x)	rölatif std belirsizlik u(x)/x	sonuç
Tekrarlanabilirlik	1	0,00806349	0,00806	0,00007
Tekrarüretilebilirlik	1	0,010500	0,01050	0,00011
Rölatif std belirsizlik kareler toplamı				0,00020
Birl.rölatif std belirsizlik u(Pop)/Pop				0,01426
Genişletilmiş belirsizlik (%95 güven aralığında k=2)				0,02852

## 5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İlaçlarda, tıbbi ve biyolojik numunelerde yeni analiz metotların geliştirilmesi, analitik kimyada son yılların araştırma konuları arasında yer almaktadır. Son zamanlarda iki veya daha fazla etkenli formülasyonlarda ve biyolojik materyallerde eş zamanlı analitik olarak ilaçların analiz metotlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Geliştirilen analiz metodu ile kalite kontrol rutin analizlerinde kullanılacak hızlı, kolay, kesinliği yüksek analiz metodu geliştirmek bu açıdan önemlidir. Bu amaçla karışım olarak bulunan etken maddelerin farklı bir ayırma işlemine gerek duymadan kolaylıkla miktar tayininin yapılması için yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmada TDF ve EM'nin ideal ayrımı için kolon, hareketli faz kompozisyonu akış hızı, pH, organik çözücünü seçimi ve oranı gibi etkiler ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır.

Literatür taramalarına göre HPLC ile metot geliştirme aşamasında ilk olarak UV dedektörü ile yapılan çalışmalara öncelik verilmiştir. Dalga boyu çalışmasında 3 farklı dalga boyu denemesi yapılmıştır 270 nm, 265 nm ve 260 nm en ideal sonucu 265 nm olduğu tespit edilmiştir. Rajesh Sharma ve Pooja Gupta tarafından yapılan çalışmada mobil faz oranlarında denemeler yapılmış fakat ayırmanın daha iyi olabilmesi için ve analiz süresince gradient uygulanarak kirliliklerin kolondan kolay ayrıldığı tespit edilmiştir. Mobil faz oranlarında değişiklik yapılmasının daha uygun olacağı düşünülmüştür.

Sonuç olarak TDF/EM sıvı kromatografi yöntemiyle C18 250 mm x 4,6 mm, 5µm kolonu 25° C kolon sıcaklığı 1,2 mL/dk akış hızı, UV dedektörü ile 265 nm dalga boyu seçilmiştir. Bu şartlar TDF/EM alıkonma zamanları sırasıyla 4 dk ve 10 dk olarak tespit edilmiştir. Geliştirilen metodun sistem uygunluk parametleri belirlenmiş bu bilgi doğrultusunda metodun uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir. Geliştirilen metodun geçerliliğinin kanıtlanması amacıyla FDA ve ICH de belirtilen kurallara göre validasyon yapılmıştır. Bu amaçla, validasyon çalışmalarında tekrarlanabilirlik, tekrarüretilebilirlik, Doğrusallık, çözelti stabilitesi, geri kazanım gibi parametreler incelenmiş ve sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri yapılmıştır.

## **Kesinlik Çalışması**

### **Tekrarlanabilirlik**

Cihaz ve metodun tekrarlanabilirliği incelenmiştir.

Metot tekrarlanabilirliği çalışmasında TDF ve EM için konsantrasyonları hesaplanmıştır. % RSD değeri EM için 0,79 TDF için 0,78 olarak % 2'den düşük olması sonuçların tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Normallik testi ve Mann Whitney U testi de yapılarak istatistik olarak da sonuçların tekrarlanabilirliği kanıtlanmıştır.

Cihaz tekrarlanabilirliği çalışmasında TDF ve EM eklenen standart çözeltisi içerisinde aynı vialde aynı gün içerisinde 6 enjeksiyon sonucunda % RSD değeri EM için 0,09 TDF için 0,09 olarak %1'den düşük olması cihazın tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir

### **Tekrarüretilebilirlik**

Gün içi ve günler arası doğruluk çalışması 6 farklı günde 12 çalışma yapılmıştır. % RSD değeri EM için 0,99 TDF için 1,05 olarak %2'den düşük olması sonuçların tekrarüretilebilir olduğunu göstermektedir. Normallik testi ve Mann Whitney U testi de yapılarak istatistik olarak da sonuçların tekrarüretilebilir kanıtlanmıştır.

### **Seçicilik**

Yöntemin sağlamlık çalışmalarında akış hızı, dalga boyu, filtre gibi parametrelerde küçük değişikliklerin TDF ve EM miktar tayin sonucunu etkileyip etkilemediği araştırılmıştır.

\* Filtre etkisini görmek amacıyla PVDF, Naylon ve selüloz filtre ile çalışmalar yapılmıştır. Tüm filtre çeşitleri ile 12 numune çalışılmıştır. PVDF ile süzülen numuneler ortalama sonucu EM %111,5 ve TDF %104,65 dir. Naylon filtre ile süzülen numuneler ortalama sonucu EM %99,6 ve TDF %98,55 dir. Selüloz filtre ile süzülen numuneler ortalama sonucu EM %95,4 ve TDF %92,9 dur.

Yapılan çalışmalara göre PVDF ve selüloz sonuçları %95- %105 limitlerinin dışında kaldığından dolayı filtre etkisi olduğu tespit edilmiştir.

\* ACE 5 C18 250 mm x 4,6 mm 5µm kolon ve Xbridge 5 C18 250 mm x 4,6 mm 5µm kolon çalışmaları yapılmıştır. Analiz sonuçları sırasıyla EM % 98,60, TDF %98,75 ve EM %99,55, TDF %98,4 sonuçlar %95- %105 limitlerinin içerisinde kaldığından dolayı farklı kolon ile yapılan çalışmalarda sonuçların uygun olduğu tespit edilmiştir.

\* Sıcaklık etkisini görmek amacıyla 25°C, 30°C ve 20°C kolon sıcaklık değişimi uygulanmıştır. 25° C elde edilen sonuçlarda EM %99,5 ve TDF %97,85 dir. 30° C elde edilen sonuçlarda EM %99,5 ve TDF %98,55 dir. 20° C elde edilen sonuçlarda EM %99,55 ve TDF %99,20 dur. Sıcaklık değişiminde sonuçlar %95 - %105 limitleri içerisinde dir. Kolonlara uygulanan sıcaklık değişimi sonuçları etkilemediği tespit edilmiştir.

\* Mobil faz etkisini görmek için 1,5mL/dk, 1,2mL/dk ve 1,0mL/dk akış hızlarının değişim çalışması yapılmıştır. Akış hızı 1,5mL/dk numuneler ortalama sonucu EM %101,40 ve TDF %113,10 dir. Akış hızı 1,2mL/dk numuneler ortalama sonucu EM %99,60 ve TDF %98,55 dir. Akış hızı 1,0mL/dk numuneler numuneler ortalama sonucu EM %98,25 ve TDF %105,3 dur.

Yapılan çalışmalara göre sadece 1,5mL/dk sonuçları %95- % 105 limitlerinin dışına çıkmıştır. Diğer akış hızlarında limit dışı durum tespit edilmemiştir.

\* Dalga boyu etkisini görmek için 260 nm, 265 nm ve 270 nm dalga boyu uygulanmıştır. 260 nm elde edilen sonuçlarda EM % 101,3 ve TDF % 95,85 dir. 265 nm elde edilen sonuçlarda EM % 99,55 ve TDF % 98,55 dir. 270 nm elde edilen sonuçlarda EM %95,45 ve TDF %101,75 dir. Dalga boyu değişiminde sonuçlar %95- %105 limitleri içerisinde dir ve sonuçları etkilemediği tespit edilmiştir.

### **Dayanıklılık Sonuçları**

Oda koşulu ve buzdolabı koşulunda bekleyen standart ve numune alanlarının düzenli artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Standart ve numune çözeltilerinin çözelti stabilitesi için oda koşullarında (25°C) ve buzdolabı (4°C) bozunma süreci yaklaşık olarak aynıdır. Çözeltilerin 48 saat kararlı olduğu kanıtlanmıştır.

### **Doğrusallık ve Aralık Sonuçları**

Validasyon çalışması boyunca kalibrasyon grafiğinde  $r^2$  değeri 0,9997 aralığındadır

### **Belirsizlik sonuçları**

Validasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. TDF Belirsizlik Sonucu 0,026 ve EM Belirsizlik Sonucu 0,028 olarak hesaplanmıştır.

**KAYNAKLAR**

Akpolat,O. F,Kartal ,2009,Kimyacılar için bilişim teknolojileri,3-4

Anindita Behera, Aurobinda Parida, Amit Kumar Meher, Dannana Gowri Sankar, Swapan Kumar Moitra, Sudam Chandra Si., 2011, Development and validation of spectrophotometric method for determination of emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate in bulk and tablet dosage form,*Pharm tech*

Cingi M. ve Erol K., 1996, Anadolu üniversitesi yayınları farmakoloji, No; 494, 2

Çelik D., 2007, Amoksisilin'in insan plazmasında HPLC ile miktar tayini yöntemi ve validasyonu, *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi* ,Ankara, 2

Dinç,E., 2009, Kemometrik işlem ve yöntemlerin analitik kimyadaki tipik uygulamaları, uygulamalı kemometri yazokulu notları, 1-5

Delahunty T., Bushman L., Robbins B., Courtney V. Fletcher, 2009, The simultaneous assay of tenofovir and emtricitabine in plasma using LC/MS/MS and isotopically labeled internal standards, *Journal of Chromatography B* 877,1907-1914

Djerada Z., Feliu C, Tournois C., Vautier D., Binet L., Robinet A., Marty H., Gozalo C., Lamiable D., Millart H., 2013, Validation of a fast method for quantitative analysis of elvitegravir,raltegravir,maraviroc,etravirine, tenofovir disoproxil fumarate, boceprevir and 10 other antitroviral agent in human plasma samples with a new UPLC-MS/MS technology, *Journal of Pharmaceutical and biomedical Analysis* 86-100-111

Droste J.A.H, Aarnoutse R.E. and Burger D.M.,2007, 'Determination of emtricitabine in human plasma using HPLC with fluorometric detection', *Journal of liquid Chromatography / Related Technologies*

Gnanarajan G, Gupta AK, Juyal V, Kumar P, Yadav PK, Kailash P, 2008 *Pharm Analysis DOI 10.4103/0975-1483.59326*

Huber L., 2001, "Validation of analytical methods review and strategy , "Advanstar communication for publication in LC/GC international"

Hussen S.S., Shenoy P., Udupa , Muddu Krishna, 2013, Development and validation of indicating PR-HPLC method for tenofovir disoproxil fumarate nanoparticle formulation, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 5, Suppl 2,

- ICH, 1994, International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use ,validation of analytical procedures text and methodology Q2(R1)
- Janhavi R Rao , Shweta A Gondkar,Sativa S Yadav , 2011, Simultaneous HPTLC-densitometri analysis of tenefovir disoproxil fumerate and emtricitabine in tablet dosage form, *PharmTeck Vol.3, No.3, pp1430*
- J.C ve J.N Miller ., 2004, Analitik kimyacılar için istatistik *çeviri Levent Bat ve Ahmet Uyanık 19 Mayıs Üniversitesi ,Samsun*
- Karunakaran,A., 2011, Simultaneous determination of emtricitabine and tenefovir disoproxil fumerate in tablet dosage form by UV-spectrophotometry, *Asian Journal Of Chemistry*
- Kaya B.,2007, Kombine farmasötik preparatlardan telmisartan ve hidroklotiyazidin kemometrik kalibrasyon yöntemleriyle aynı anda miktar tayinleri .*Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi , Ankara , 104s*
- Kitiş F.,2011, İlaç numunelerinde kafein ve parasetamol'ün kemometrik yöntemlerle Tayinleri *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi ,Isparta, 10s*
- Kalaycı Ş.,2016, SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri , Ankara
- Maithilee Joshi, A. P. Nikalje,\*M. Shahed, and M. Dehghan ,2009, HPTLC method for the simultaneous estimation of emtricitabine and tenefovir disoproxil fumerate in tablet dosage form,Indian journal of pharmaceutical sciences , 71(1): 95–97
- Nicolo A.D., Simiele M., Pensi D., Boglione L., Allegra S., Perri G.D, D'Avolio A., 2015, UPLC-MS/MS metod fort he simultaneous quantification of anti-HBV nucleos(t)ides analog: entecavir,lamivudine,telbivudine and tenefovir disoproxil fumerate in plasma of HBV infected patients, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analsis 114,127-132*
- Noel A. Gomes, Vikas V. Vaidya, Ashutosh P., Santosh S. Joshi, Sagar A. Parekh, 2008, Liquid chromatography–tandem mass spectrometry(LC–MS/MS) method for simultaneous determinationof tenefovir disoproxil fumerate and emtricitabine in human plasma andits application to a bioequivalence study, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*

- Özmen G., 2011, Klinik biyokimyada ölçüm belirsizliği *Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi*, İstanbul, sayfa 11
- Raju N.A., Venkateswara RAO J., Prakash K.V., Mukkanti K. And Srinivasu K, 2008, Simultaneous estimation of tenefovir disoproxil fumerate, emtricitabine and efavirenzin tablet dosage form by RP-HPLC, *Oriental Journal of Chemistry Vol.24(2)*, 645-650
- Swapnil A Ghorpade, Monali S. Salı, Atul H. Kategaonkar, Dhaval M. Patel, Vıshnu P Choudharı\*, Bhanudas S Kuchekar, 2010, Simultaneous determination of emtricitabine and tenefovir disoproxil fumerate by area under curve and dual wavelength spectrophotometric method, *J. Chil. Chem. Soc.*, 55, N° 1
- Sharma R.<sup>1</sup> ve Pooja, 2009, Gupta a validated rp - hplc method for simulataneous estimation of emtricitabine and tenefovir disoproxil fumerate in a tablet dosage form, *Eurasian Journal of Analytical Chemistry Eurasian J. Anal. Chem.* 4(3): 276-284
- Skoog,D.A. Holler,F.J. and Nieman, A.T.,1998, "Principles of instrumental analysis",- fifth edition-,saunders Collegepublishing,USA
- Şenyuva H., 2006, Metot geliştirme ve validasyon için basit kullaim klavuzu ders notları Ankara
- 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

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Ayşe ÇİVİT  
**Uyruğu** : T.C  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Mut 03/03/1984  
**Telefon** : -  
**Faks** : -)  
**e-mail** : aysecvt@gmail.com

### EĞİTİM

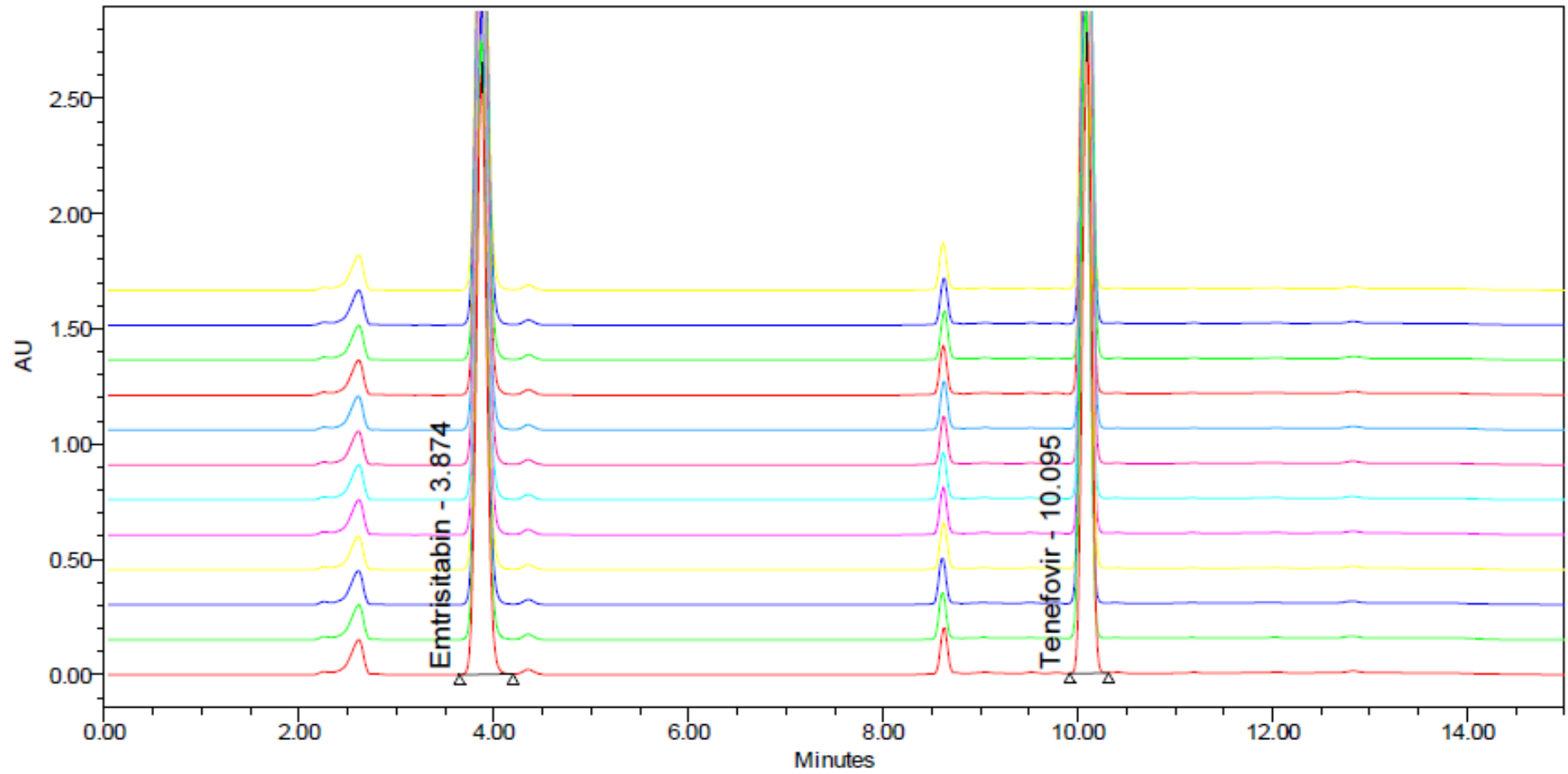
Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Karaman Anadolu Lisesi	2001
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü	2007
Yüksek Lisans	: Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı	
Doktora	:	-

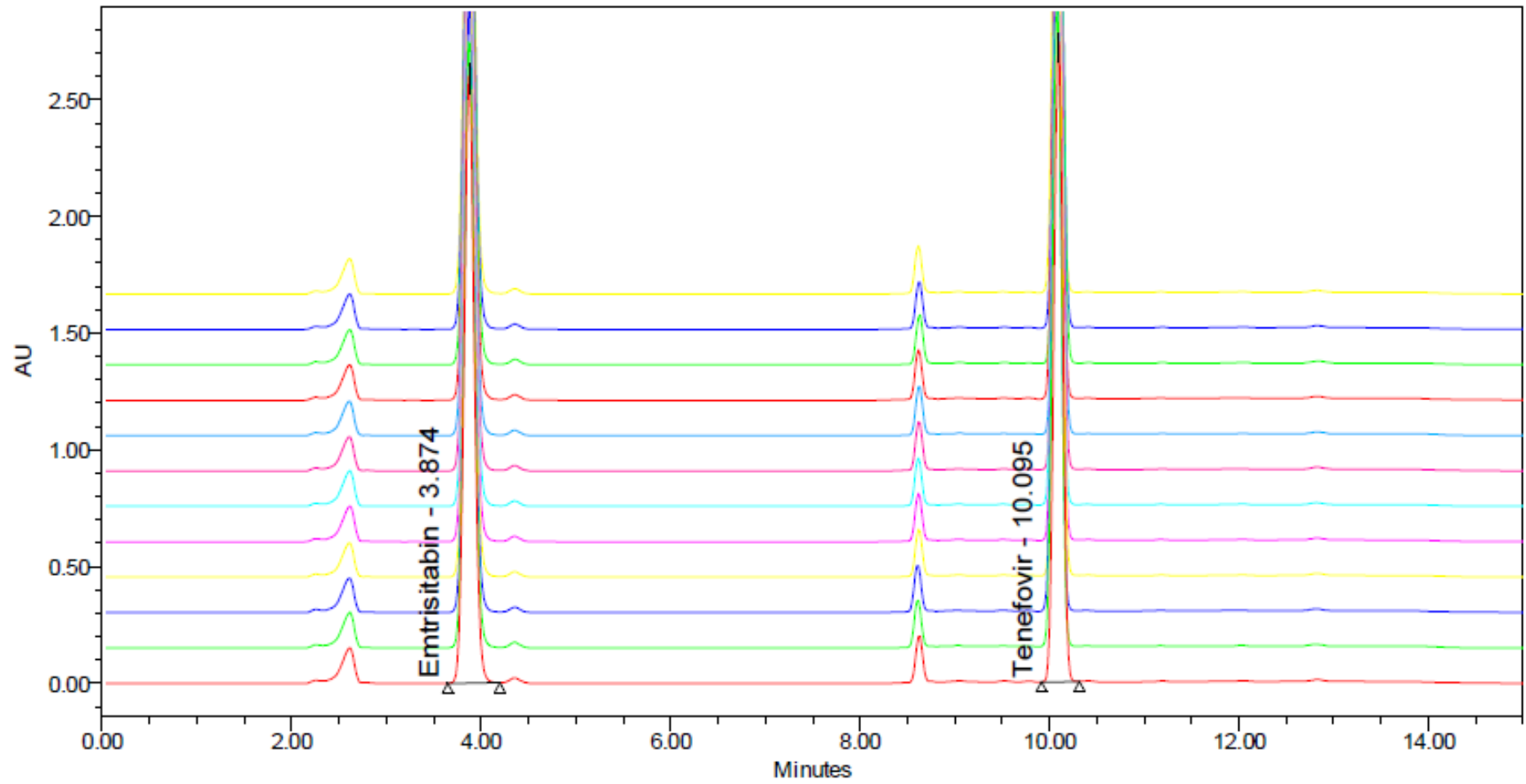
### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2007	Zade Yağ Fabrikası	Kalite Kontrol Laboratuvar Sorumlusu
2010	İlko İlaç Fabrikası	Kalite Kontrol Uzmanı
2015	Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi	Kalite Kontrol Laboratuvar Sorumlusu

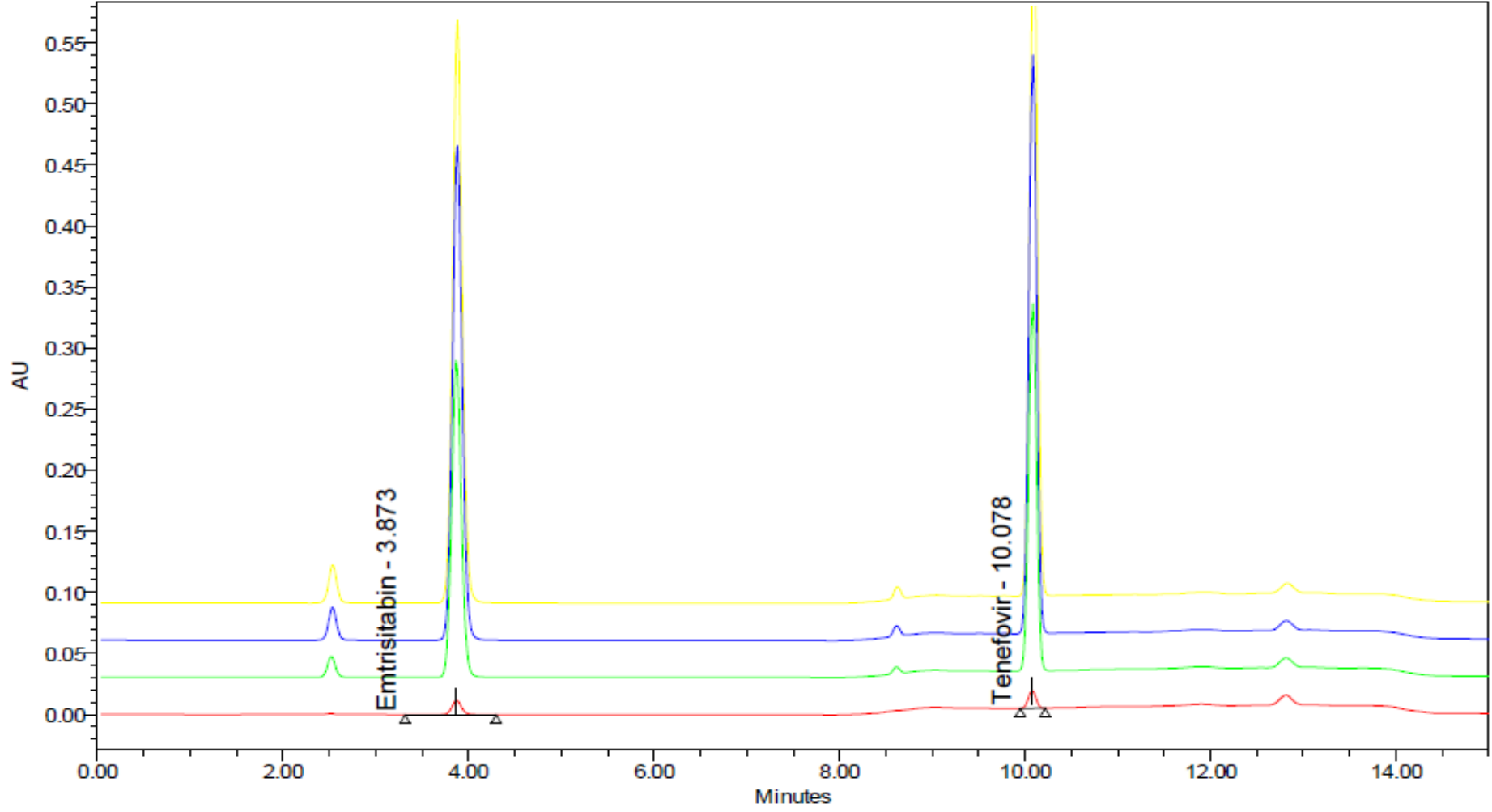
## EKLER

## EK-1 TDF / EM Tekrarlanabilirlik Kromatogrami

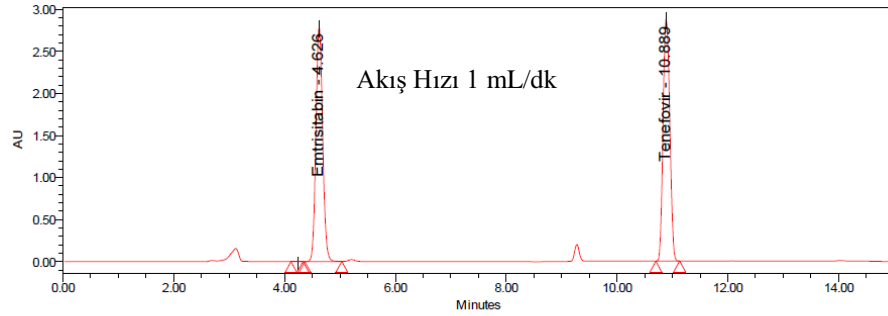


**EK-2 TDF / EM Tekrarüretilebilirlik Kromatogrami**

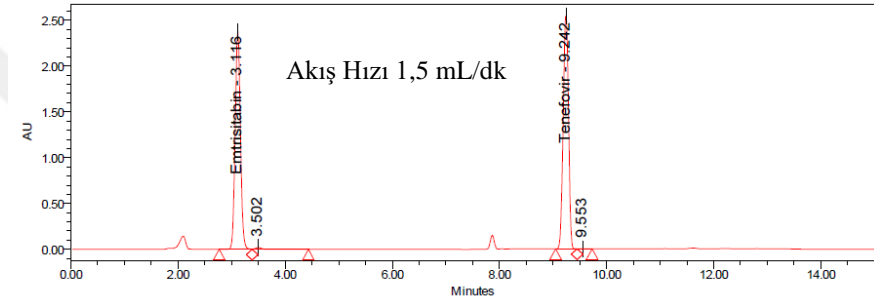
**EK-3** TDF / EM Doğrusallık Kromatogrami (Kırmızı :Konsantrasyon%60, Yeşil: Konsantrasyon %80, Mavi: Konsantrasyon %100, Sarı: Konsantrasyon %120)



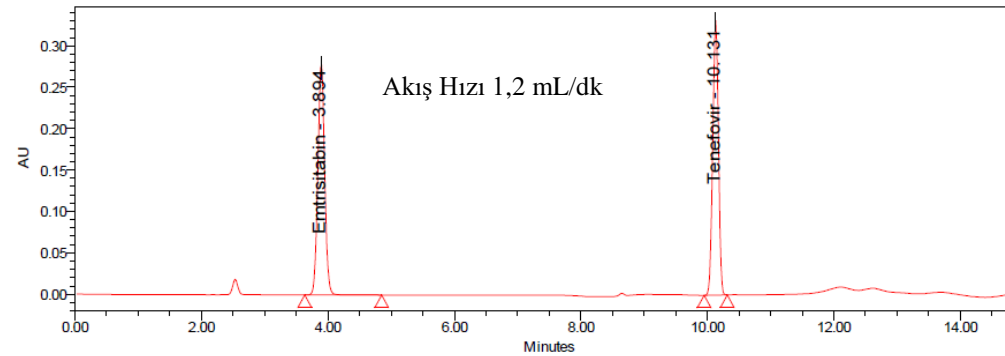
### EK-4 TDF / EM Seçicilik Akış Hızı Kromatogrami



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	CalcAmount	
1	4.244	1352	0.00	216		
2	Emtricitabin	4.626	23339002	48.94	2784912	97.862
3	Tenofovir	10.889	24352932	51.06	2887341	106.206

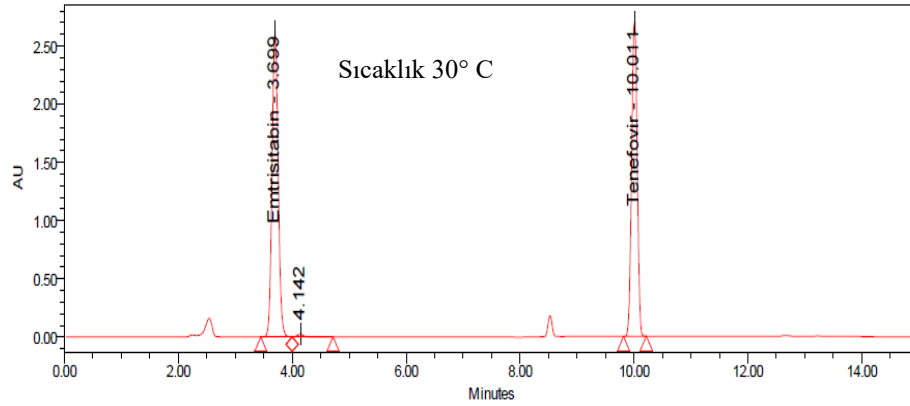


Peak Name	RT	Area	% Area	Height	CalcAmount	
1	Emtricitabin	3.116	16296315	48.20	2367016	103.044
2		3.502	162992	0.48	20766	
3	Tenofovir	9.242	17329873	51.25	2568011	114.316
4		9.553	22329	0.07	2895	

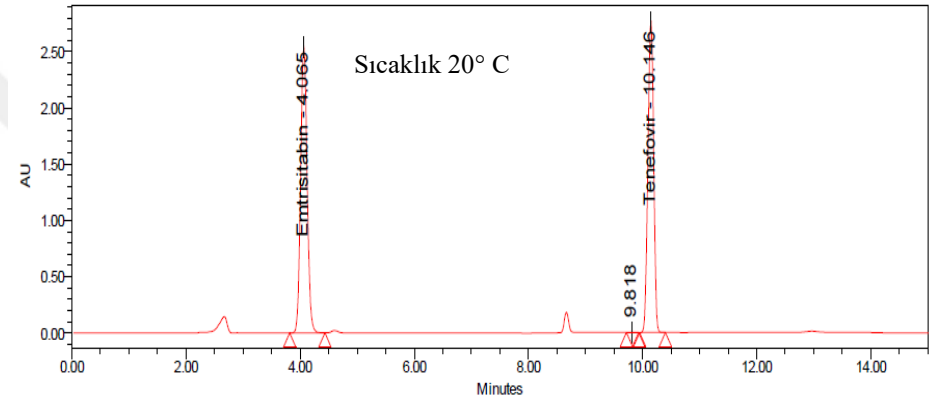


Peak Name	RT	Area	% Area	Height	StandartControl	
1	Emtricitabin	3.894	2101671	50.40	278720	100.192
2	Tenofovir	10.131	2068200	49.60	330632	99.932

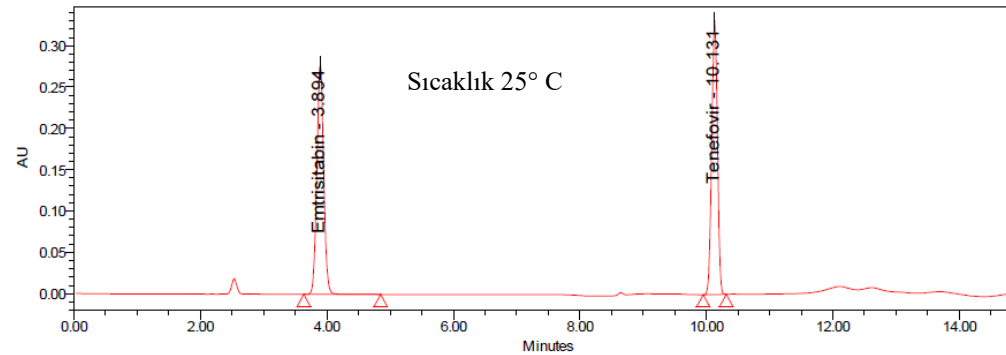
### EK-5 TDF / EM Seçicilik Sıcaklık Kromatogrami



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	CalcAmount
1	Emtricitabin	3.699	19577120	51.38	2623957	99.598
2		4.142	193894	0.51	23463	
3	Tenofovir	10.011	18329397	48.11	2724841	97.131

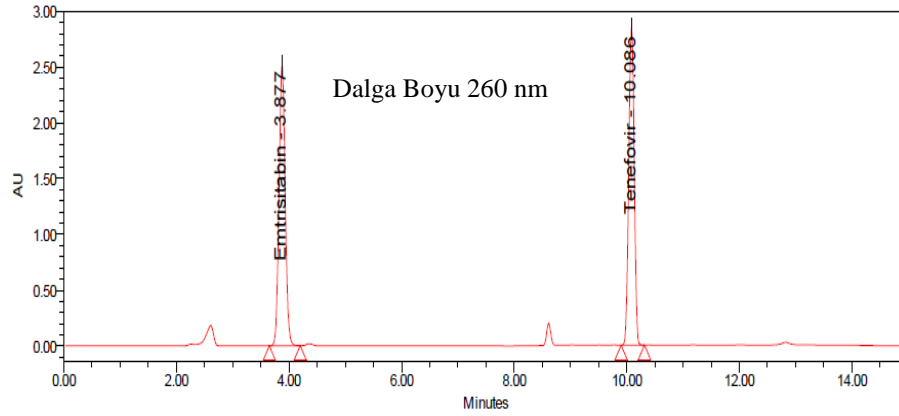


	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	CalcAmount
1	Emtricitabin	4.066	19993583	50.87	2541207	100.877
2		9.818	19496	0.05	3141	
3	Tenofovir	10.146	19290420	49.08	2771803	101.641

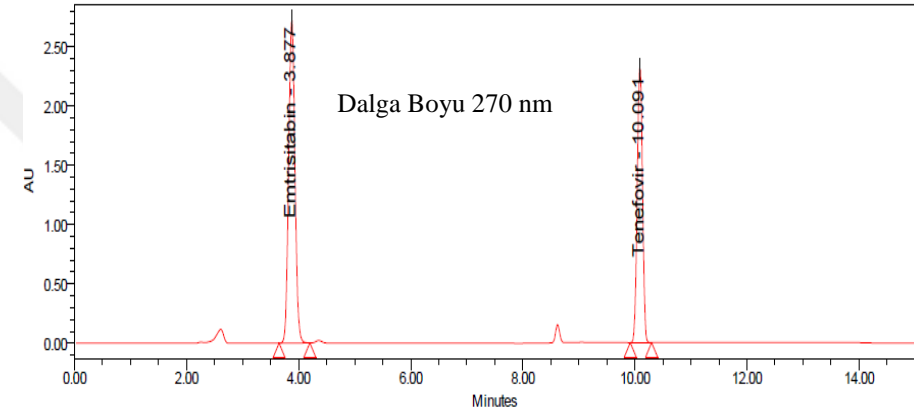


	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	StandartControl
1	Emtricitabin	3.894	2101671	50.40	278720	100.192
2	Tenofovir	10.131	2068200	49.60	330632	99.932

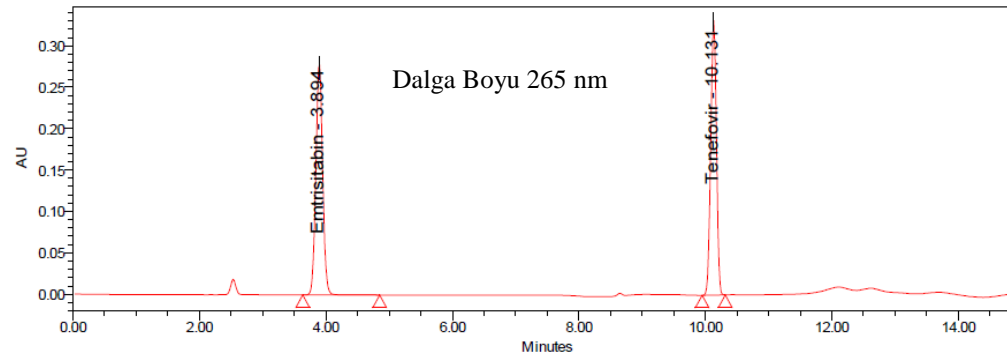
### EK-6 TDF / EM Seçicilik Dalga Boyu Kromatogrami



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	CalcAmount
1 Emtricitabin	3.877	19079095	50.04	2524833	100.800
2 Tenofovir	10.086	19047903	49.96	2847349	94.874

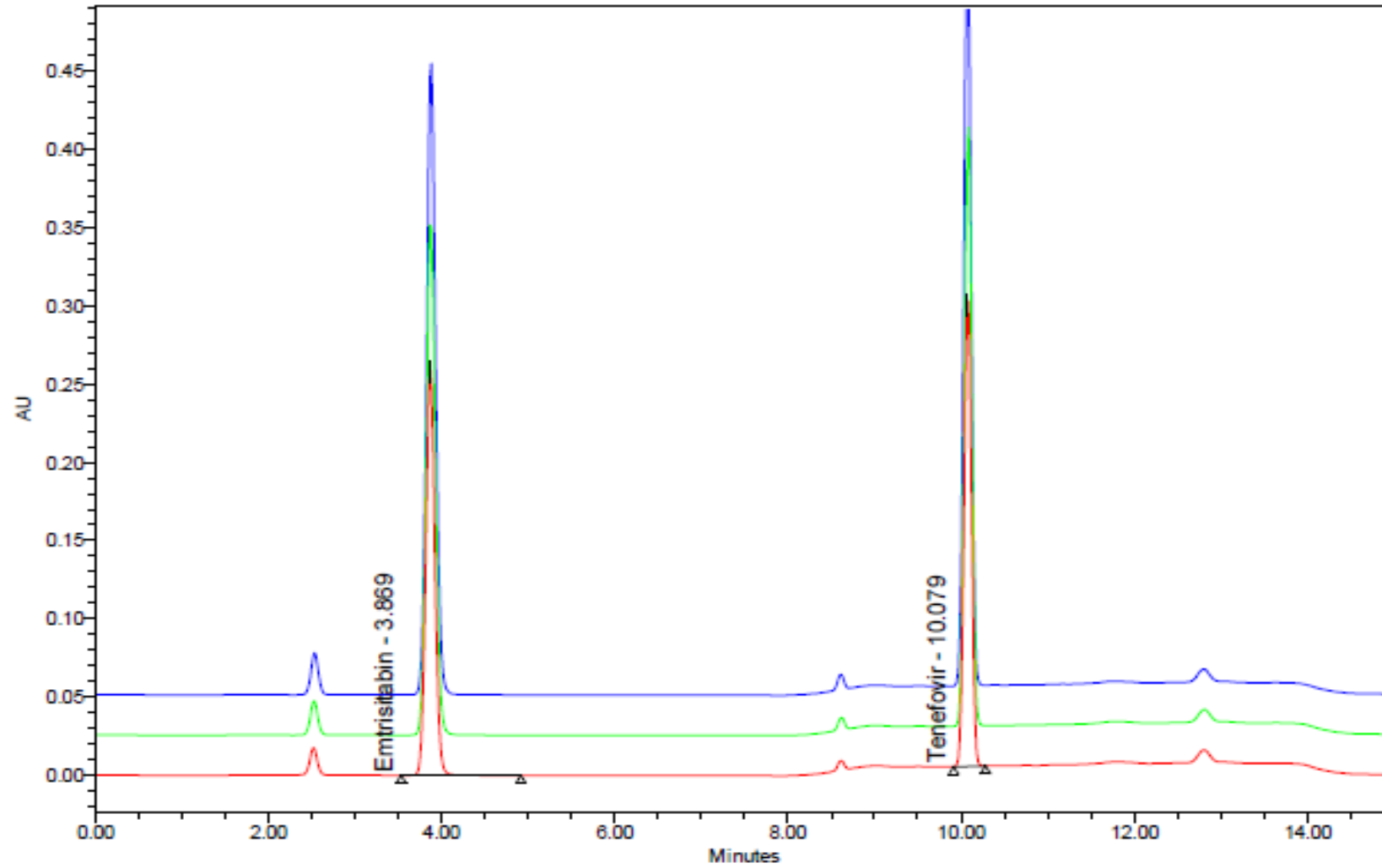


Peak Name	RT	Area	% Area	Height	CalcAmount
1 Emtricitabin	3.877	21250745	58.56	2731551	94.205
2 Tenofovir	10.091	15038845	41.44	2324227	100.746



Peak Name	RT	Area	% Area	Height	StandartControl
1 Emtricitabin	3.894	2101671	50.40	278720	100.192
2 Tenofovir	10.131	2068200	49.60	330632	99.932

## EK-7 TDF / EM Geri Kazanım Kromatogrami



**EK-8 TDF / EM Plasebo,Numune,Blank,Çözücü Kromatogrami**