

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PARASETAMOLUN POLİ(P-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-
MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ
FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ**

Zeynep BAŞ

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 28/01/2014

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Selhattin YILMAZ

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

ZEYNEP BAŞ tarafından **PROF. DR. SELEHATTİN YILMAZ** yönetiminde hazırlanan “**PARASETAMOLUN POLİ(P-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

Danışman

Doç. Dr. Muhammet TÜRKOĞLU

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 28/01/2014

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi ÇOMÜ BAP tarafından 2013/50 no'lu projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Zeynep BAŞ

TEŞEKKÜR

Bu konuyu yüksek lisans tezi olarak planlayan ve çalışmalarım sırasında benden yardımlarını ve yoğun ilgisini esirgemeyen değerli hocam Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Selehattin YILMAZ' a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve katkılarını gördüğüm, Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmalarım her aşamasında bana vakit ayıran, yardım ve destekleriyle beni yalnız bırakmayan, tecrübelerinden yararlandığım Araş. Gör. Dr. Gülşen SAĞLIKOĞLU ve Araş. Gör. Dr. Sultan YAĞMUR 'a sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince benden yardım ve desteklerini esirgemeyen grup arkadaşlarım Çiğdem DEMİRTAŞ, Esra APAYDIN, Saide CAN ve Sercan TERCAN'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştiren ve bugüne kadar maddi manevi her türlü desteğini gördüğüm aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Zeynep BAŞ

SİMGELER VE KISALTMALAR

$E_{1/2}$	Yarı Dalga Potansiyeli
E_p	Pik Potansiyeli
i_p	Pik Akımı
i_l	Sınır (Limit) Akım
GCE	Camsı Karbon Elektrot
LOD	Belirme Sınırı
LOQ	Kantitatif Tayin Sınırı
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
R	Korelasyon Katsayısı
RSD	Bağlı Standart Sapma
$v^{1/2}$	Tarama Hızının Karekökü
n	Voltametik Hücrede Tekrarlanan Ölçüm Sayısı
NPV	Normal Puls Voltametrisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
ACP	Alternatif Akım Voltametrisi
CV	Dönüşümlü Voltametri
SV	Sıyırma Voltametrisi
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
CSV	Katodik Sıyırma Voltametrisi
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
PSV	Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi
NSAID	Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaç
SSS	Santral Sinir Sistemi
PG	Prostaglandin
NAPQI	N-asetil-para-benzoikinonimin
ITO	İndiyum Kalay Oksit
SWCNT	Tek Duvarlı Karbon Nanotüp
MWCNT	Çok Duvarlı Karbon Nanotüp

ÖZET

PARASETAMOLUN POLİ(P-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ

Zeynep BAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Selhattin YILMAZ

28/01/2014, 50

Bu çalışmada, parasetamol adlı etken maddenin, elektrokimyasal yükseltgenme özelliğinden faydalanılarak 4-aminobenzensülfonik asit modifiye camsi karbon elektrotta, ticari formundan miktarı voltametrik yöntemler ile belirlendi. Modifiye camsi karbon elektrot, 4-aminobenzensülfonik asitin elektropolimerizasyonu ile hazırlandı.

Optimum deney şartlarını belirlemek için farklı destek elektrolitlerde diferansiyel puls voltametri ve dönüşümlü voltametri ile yükseltgenme özelliği çalışıldı. Parasetamol için modifiye camsi karbon elektrot da keskin pikin ve maksimum akımın gözlemlendiği pH=7,00 fosfat çözeltisi destek elektrolit olarak seçildi. Parasetamolun pik akımına ve pik potansiyeline pH' ın etkisi diferansiyel puls voltametri tekniği (DPV) ve tarama hızının pik akımına etkisi ise dönüşümlü voltametri tekniği (CV) ile incelendi.

Belirleme sınırı (LOD), kantitatif tayin sınırı (LOQ) ve konsantrasyon aralığı gibi analitik tayin parametreleri belirlendikten sonra ilaç tabletlerindeki parasetamol miktarı bulundu. Uygulanan voltametrik yöntemin, doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile ilaç tabletinden parasetamolun geri kazanım çalışmaları yapıldı. Ayrıca parasetamolun yükseltgenme mekanizmasında önerildi.

Anahtar Kelimeler: Parasetamol, Parol Tableti, Voltametrik Yöntem, Diferansiyel Puls Voltametri(DPV), Dönüşümlü Voltametri(CV), Modifiye Camsi Karbon Elektrot, Elektropolimerizasyon, 4-Aminobenzensülfonik Asit.

ABSTRACT

QUANTITATIVE DETERMINATION OF PARACETAMOL IN DRUG FORMS AT POLY (P-AMINOBENZENESULFONIC ACID)-MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE

Zeynep BAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Chemistry Thesis of Master of Science

Advisor: Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

28/01/2014, 50

In this study, active compounds named paracetamol was determined from commercial drug form based on electrochemical oxidation properties at poly (p-aminobenzenesulfonic acid)-modified glassy carbon electrode by voltammetric methods. The modified glassy carbon electrode was prepared by electropolymerization of 4-aminobenzenesulfonic acid.

In different supporting electrolyte, oxidation was studied by voltammetric methods to investigate the optimum conditions. pH=7,00 phosphate solution in which sharp peak and maximum current was observed, at glassy carbon electrode for paracetamol, was selected as supporting electrolyte. The effects of pH on the peak current and peak potential for material was investigated by differential pulse voltammetry (DPV) and the effect of scan rate on the peak current was investigated by cyclic voltammetry (CV) techniques.

After analytical determination parameters, such as limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ) and range of concentration had been determined, the amount of paracetamol was determined from drug tablets. In order to check accuracy and precision of applied voltammetric method, recovery experiment of paracetamol was carried out from the drug tablet. Also, oxidation mechanism of paracetamol was proposed.

Keywords: Paracetamol, Parol Tablet, Voltammetric Method, Differential Pulse Voltammetry (DPV), Cyclic Voltammetry (CV), Modified Glassy Carbon Electrode, Electropolymerization, 4-Aminobenzenesulfonic Acid.

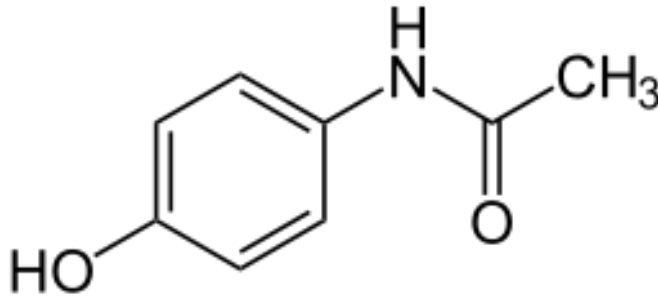
İÇERİK	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
BÖLÜM 1- GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Elektroanalitik Yöntemler.....	4
2.2. Voltametri.....	5
2.3. Voltametrimin Çalışma Prensibi.....	6
2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri.....	6
2.4.1. Voltametrik kap.....	7
2.4.2. Destek elektrolit.....	7
2.4.3. Çözücü.....	8
2.4.4. Çalışma (indikatör) elektrodu.....	8
2.4.4.1. Cıva kökenli elektrotlar.....	9
2.4.4.2. Katı elektrotlar.....	10
2.4.4.3. Dönen elektrotlar.....	11
2.4.4.4. Modifiye elektrotlar.....	11
2.4.5. Karşılaştırma (referans) elektrodu.....	12
2.4.6. Yardımcı (karşıt) elektrot.....	12
2.5. Voltametrik ve Polarografik Teknikler.....	13
2.5.1. Polarografi.....	14
2.5.2. Puls polarografisi.....	15
2.5.2.1. Normal puls polarografisi.....	15
2.5.2.2. Diferansiyel puls polarografisi.....	16
2.5.2.3. Kare dalga voltametri.....	16
2.5.3. Dönüşümlü voltametri.....	17
2.5.4. Sıyırma voltametri.....	17
2.6. Modifiye Elektrotların Genel Özellikleri.....	18
2.7. Elektrot Yüzeylerinin Modifikasyonunda Uygulanan Metotlar.....	19
2.7.1. Kovalent bağlanma.....	20

2.7.1.1. Silinisazyon.....	20
2.7.1.2. Direkt bağlanma.....	20
2.7.2. Adsorpsiyon.....	20
2.7.3. Polimerik kaplama.....	21
2.8. Elektrokimyasal Polimerizasyon.....	21
2.9. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler.....	22
2.10. Voltametrik Tekniklerle Yapılmış Bazı Parasetamol Analizleri.....	25
2.11. Poli(4-ABSA) - Modifiye Camsı Karbon Elektrot ile Yapılan Çalışmalar.....	27
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler.....	29
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	30
3.2.2. Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesi.....	30
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	32
4.1. Parasetamolün Modifiye Elektrotta Çalışma Ortamının Belirlenmesi.....	32
4.2. Akım Türünün Belirlenmesi.....	33
4.3. Analitik Çalışma (Konsantrasyon) Aralığının Belirlenmesi.....	35
4.4. Parasetamolün 4-(ABSA)-Modifiye Elektrotta Yükseltgenmesi.....	38
4.5. Parasetamolün Modifiye Elektrotta İlaçtan Miktarının Belirlenmesi ve Geri Kazanımı.....	39
4.6. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonik Asitin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması.....	40
4.7. Parasetamolün Poli (4-ABSA)-modifiye Camsı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması.....	44
BÖLÜM 5 – SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	46
Çizelgeler.....	ix
Şekiller.....	ix
Özgeçmiş.....	ix

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Parasetamol (asetaminofen), ağrı kesici ve ateş düşürücü özelliğine sahip bir ilaç etken maddesidir. Kapalı formülü $C_8H_9NO_2$ olan parasetamolün açık formülü Şekil 1.1’de gösterilmiştir. Parasetamolün molekül ağırlığı 151,17 olup % 63,56 C, % 6,00 H, % 9,27 N, % 21,17 O içermektedir. Parasetamolün kimyasal adı N-(4-Hidroksifenil)asetamid veya 4’-Hidroksiasetanilid’dir (Emre, 2006).



Şekil 1.1. Parasetamolün kimyasal yapısı ($C_8H_9NO_2$) (Anonim 1).

Baş ağrısı, diş ağrısı, migren, sinüzit, gribal enfeksiyonlara bağlı oluşan ağrıları, kas ve eklem ağrılarını, cerrahi operasyonlar sonrası oluşan ağrıları azaltmak için kullanılan oldukça etkili bir ilaçtır. Asetilsalisilik asite duyarlılığı olan kişilerde alternatif ilaç olarak da kullanılır (Anonim 1).

Parasetamolün solunum, kalp ve damar sistemleri ve asit-baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Midede tahrişe veya kanamaya yol açmaz. Parasetamolün tamamına yakını karaciğerde metabolize edilir. Böbrek yetmezliği olanlarda ve alkoliklerde yüksek dozda alınmamalıdır. Aç karnına alınması daha iyi biyoyararlanım sağlamaktadır (Anonim1).

Parasetamolü sıvı ilaç şekilleri içinde vermek mümkündür. Dolayısıyla özellikle bebek ve çocuklar için hazırlanan sıvı ağrı kesici etkili ilaçların yapımında kullanılır. Yan etkileri çok nadir görülmekte olup bunlara örnek olarak alerjik reaksiyonlar verilebilir (Emre, 2006).

Parasetamolün kesin etki mekanizması bilinmemektedir. Diğer non steroidalantiflamatuar ilaçlardan (NSAID) farklı olarak, parasetamol esas olarak santral sinir sisteminde (SSS) etki gösterir ve prostaglandin (PG) sentezi ile ilgili bir enzimi engeller. Parasetamol, beyinde bulunan ağrı merkezini etkileyerek prostaglandin sentezini engeller böylece sinir uçlarının duyarlılığını azaltır buna bağlı olarak da ağrı eşiği yükselir, impuls oluşumunu ve iletişimini engeller. Bu etkiler parasetamolün ağrı kesici özelliğinin sonucudur. Ateş düşürücü etkisini ise hipotalamustaki ısı merkezinin uyarılmasını önlemesi ile gösterir. Antienflamatuvar (iltihap önleyici) etkisi en azdır (Anonim 2).

Parasetamol, granül veya beyaz kristal şeklinde bulunabilir. Erime noktası 169 - 170,5°C arasındadır. Parasetamolün 1 g'ı yaklaşık 70 mL suda, 7-10 mL etanolde veya 13 mL asetonda çözünür. Sıcak suda soğuk suya göre daha fazla çözünür. Metanol, dimetilformamid, etilendiklorür ve etil asetatta çözünür, ancak pentan ve benzende çözünmez (Emre, 2006). Doygun sulu çözeltisinin pH'sı 5.5 - 6.5 (25⁰C) arasında değişir (Fairbrother, 1974; Adataş, 2011).

Parasetamol ilaç etken maddesini içeren ilaçlar aşağıdaki gibi verilebilir:

- A-ferin
- Tylohot
- Parol
- Theraflu
- Vermidon
- Calpol
- Gripin (Anonim 3).

Günümüze kadar, parasetamolün kantitatif analizi için titrimetrik (Jedrzejewsk, 1969), spektrofluorimetrik (Milch ve Szabo, 1991), spektrofotometrik (Bloomfield, 2002), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (European Pharmacopeia, 2005) gibi teknikler kullanılmıştır (Adataş, 2011).

Bu çalışmada elektroanalitik kimyada uygulanan tekniklerden 'voltametri' kullanılmıştır. Bunun sebebi; duyarlılık, hızlilik, numune hazırlama, seçicilik, düşük tayin sınırı, ekonomiklik gibi avantajları sebebiyle, spektroskopik ve kromatografi gibi diğer yöntemlere göre daha hızlı gelişmesi ve uygulama alanı bulmasıdır (Yılmaz, 2012). Voltametri kullanılarak modifiye edilmemiş elektrotların analizleri sınırlamasından dolayı elektrotlar modifiye edilip geliştirilerek, istenilen analizler başarıyla gerçekleştirilmektedir.

Bu tez kapsamında yapılacak olan çalışmanın ilk bölümünde parasetamolün voltametrik yöntemle elektrokimyasal redoks özelliklerinin ayrıntılı bir şekilde incelenmesi amaçlanmıştır.

İkinci bölümde ise ilk bölümdeki olumlu sonuçların ışığında geliştirilecek voltametrik tekniğin bu grup bileşiklerin farklı ilaç dozaj şekillerine uygulanarak miktar analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

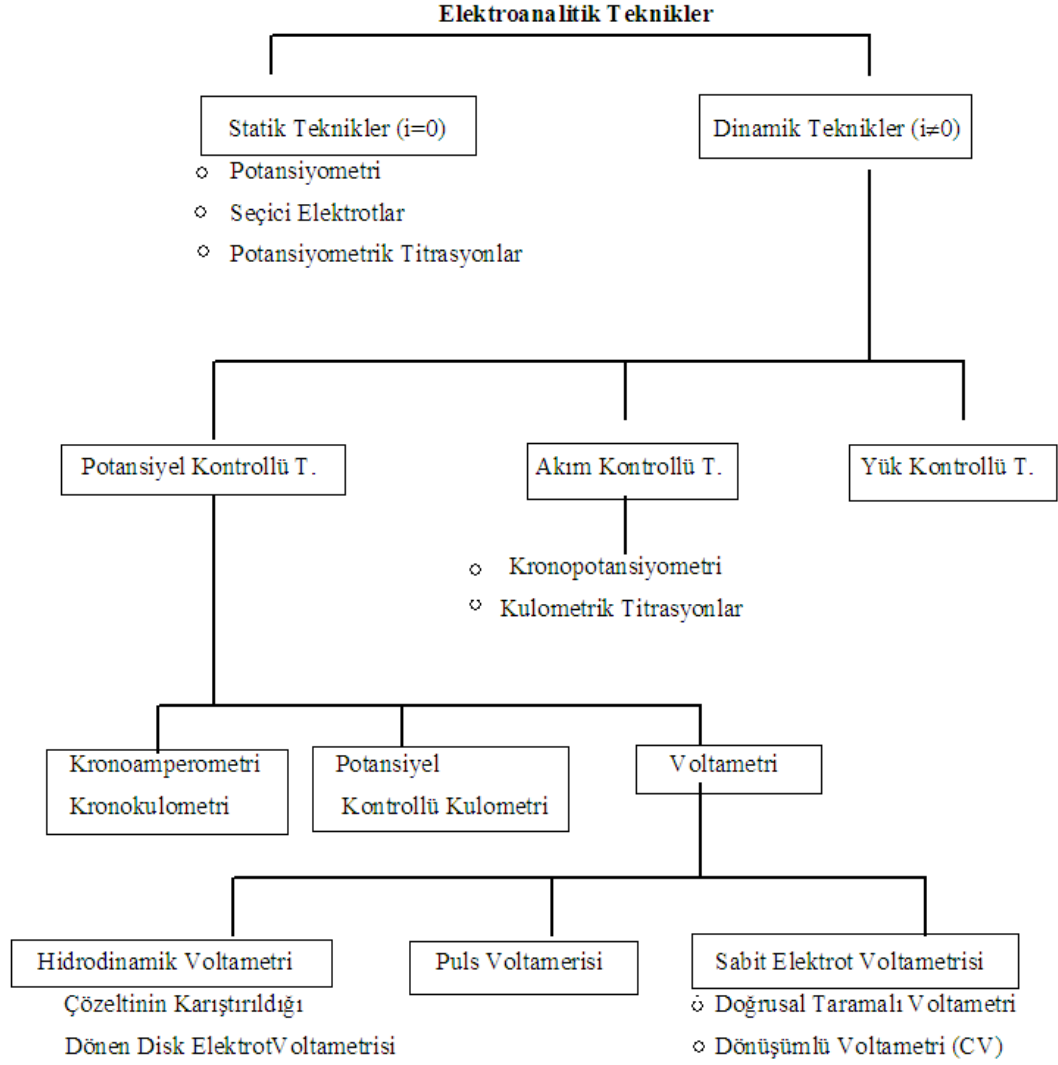
2.1. Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik Kimya, çözeltilerin elektrokimyasal bir hücrede elektriksel özelliklerinin ölçülmesi ve ölçülen bu özelliklerinden yararlanılarak maddelerin kalitatif ve özellikle kantitatif analizine dayanan teknikleri içeren Analitik Kimya biliminin önemli bir dalıdır (Yılmaz, 2012).

Elektroanalitik teknikler; elektrik ve kimya arasındaki elektrik akımı, gerilim, elektrik yükü gibi elektriksel parametrelerin birbirleriyle etkileşimi ile ilgilenir. Elektroanalitik yöntemler, analizi yapılacak maddenin iki temel özelliğine dayalı olduğundan dolayı iki grup altında toplanırlar. Bunlardan birincisi, bir elektrik alanındaki yüklü parçacıkların hareketine dayalı tekniklerdir (elektroforez, kondüktometri). İkinci grup yöntemlerde ise; bir elektrot ile çevresindeki ortamda bulunan iyon, atom ya da moleküller arasındaki elektron aktarımı incelenir (potansiyometri, voltametri, kulometri) (Aycan, 1994; Wang, 2000; Saka, 2008).

Elektrokimya alanında kullanılan cihazlar özellikle spektroskopik ve kromatografik cihazlara göre basit ve ekonomiktir. Bu tekniklerle genellikle bir iyonun konsantrasyonu değil, aktivitesi ölçülür. Yüksek doğruluk, kesinlik, duyarlılık ve seçiciliğe sahiptirler. Ayrıca numune hazırlama işlemi çok kolaydır ve az miktarda numune ile çalışılabilir (Yılmaz, 2012).

Elektroanalitik yöntemlerin çok çeşitli sınıflandırma yöntemleri vardır. Bu yöntemlerin genel ve detaylı sınıflandırılması Şekil 2.1’de şematik olarak verilmiştir.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması (Özdemir, 2006; Sağlıköglu, 2011).

2.2. Voltametri

Voltametri; yükseltgenen ve/veya indirgenen elektroaktif türlerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden uygun koşullarda elde edilen akım şiddeti – potansiyel eğrilerinin (voltamogramların) özelliklerini inceleyen ve değerlendiren analiz tekniğidir (Yılmaz, 2012).

Tarihsel olarak voltametri, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1922 yılında voltametrinin özel bir tipi olan polarografiden geliştirilmiştir. Polarografi, diğer voltametri tiplerinden çalışma mikroelektrodu olarak damlayan civa elektrodu (DCE) kullanılmasından dolayı farklılık gösterir (Bockris ve ark.,1970; Yıldız ve Genç, 1993).

Voltametrizde, çalışma elektrotunun potansiyeli bir potansiyometre yardımıyla referans elektrota karşı değiştirilir ve hücreden (üç elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot arasından, iki elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile referans elektrot arasından) geçen akım galvanometreyle ölçülür.

Ölçülen akımın uygulanan potansiyele karşı grafiği çizilir. Bu akım potansiyel eğrilerine *voltamogram* adı verilir (Bond, 1980).

Bu yöntemin diğer analitik yöntemlere üstünlüğü; az miktarda maddenin analiz için yeterli olması, ucuz olmaları, kolay uygulanabilir olmaları, analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması, fazla çözücü gerektirmemeleri ve hassas birer yöntem olmalarıdır (Zuman ve Brezina, 1962; Ayazlı, 2007).

1960'lı yılların ortalarında klasik voltametrik tekniklerde yapılan pek çok değişiklik, yöntemin duyarlılığını ve seçiciliğini büyük ölçüde arttırmış ve özellikle tıp, eczacılık, biyokimya ve çevre çalışmalarında yöntem geniş ve giderek artan bir uygulama alanı sağlamıştır (Özkan ve ark.,1997; Ayazlı, 2007).

2.3. Voltametrinin Çalışma Prensibi

Voltametri, elektrokimyasal hücrede bulunan, polarize bir çalışma elektrodu ile referans elektrodu arasında değeri zamanla değiştirilen bir potansiyel uygulanarak akımın ölçülmesi ilkesine dayanır. Üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı (karşıt) elektrot, iki elektrotlu hücrelere ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki akım ölçülür (Yıldız ve Genç, 1993; Bond, 1980; Sağlıkoğlu, 2011).

Uygulanan potansiyelin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine "*voltamogram*" denir. Analizi yapılacak çözelti içindeki elektroaktif maddelerin yükseltgenbilme/ indirgenbilme özelliklerine göre redoks tepkimesi, çalışma elektroduna ait gerilim aralığının belli bir noktasında olur. Bu yüzden voltamogram, çözeltideki elektroaktif maddelerin nitel ve nicel özelliklerini yansıtır (Rieger, 1994; Saka, 2008).

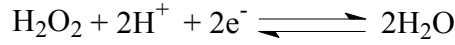
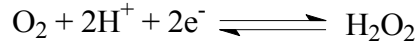
2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri

Voltametrik bir hücre genel olarak; voltametrik kap, destek elektrolit, çözücü, çalışma elektrodu, karşılaştırma (referans) elektrodu ve yardımcı (karşıt) elektrottan oluşur (Yılmaz, 2012).

2.4.1. Voltametrik kap

Voltametrik analizler cam, kuartz veya teflon kaplarda yürütülür. Kabin yapıldığı malzeme kirlenme ve adsorpsiyon olaylarının en az olduğu maddelerden seçilir (Henden ve ark., 2001). Kapağında dört giriş bulunan hücreye elektrotlar bu kapak yardımıyla yerleştirilir. Dördüncü giriş ise azot gazı yollamak amacıyla teflon bir boru daldırılır. Böylece hücre içinde çözünmüş bulunan oksijenin uzaklaştırılması sağlanmış olur. Çözelti içinde çözünmüş olarak bulunan oksijenin, H₂O₂ ve OH⁻ iyonuna indirgenmesi nedeniyle 0.0 V ile -1.0 V arasındaki pek çok indirgenme tepkimesi gözlenir. Ayrıca tepkime sonucu oluşan ürünler, çözelti pH'sini etkiler. pH değişimi, voltametri de istenmeyen bir olaydır (Wang, 2000).

Çalışma çözeltilerinde çözünmüş oksijen gazı, çalışma elektrotlarında iki adımda indirgenir. Bu adımlar;



tepkimeleriyle gösterilebilir. Çalışmaya başlamadan önce, çözünmüş oksijenin çözeltilerden N₂, He, CO₂ gibi elektroinert bir gaz geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. İnert gaz geçirme süresi; 2-30 dakika kadardır. Pratikte, oksijene ait bu dalgalar tamamen kaybolana dek gaz geçirme işlemi sürdürülür. Ayrıca çalışma süresince sisteme atmosferik oksijenin diffüzyonunu önlemek amacıyla, çözelti inert gaz atmosferinde tutulur. Bazı çözeltilerle çalışıldığında, oksijen sodyum sülfid ile de giderilebilir (Yılmaz, 2012).

2.4.2. Destek elektrolit

Hücre içindeki çözeltilerde tayini yapılacak maddeden başka bir madde daha bulunur. Deney şartlarında elektroaktif olmayan bu maddeye destek elektrolit adı verilir. Hidrodinamik voltametri de iyonların elektrik etkisiyle elektrotlara göç etmelerini en aza indirmek için destek elektroliti ilave edilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu, tayini yapılan maddenin konsantrasyonunun en az 80 katı olması gerekir. Bu şartlarda tayini yapılanın elektrik etkisiyle elektroda göçü ve dolayısıyla taşıdıkları elektrik miktarı ihmal edilecek seviyeye gelir. Bu da tayini yapılacak iyonun, zıt yüklü elektroda doğru çekiminin veya göçünün elektroda uygulanan potansiyelden artık bağımsız hale geldiğini gösterir.

Voltametri de kullanılan destek elektrolitlerden birisi analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilen bir tuzdur. En yaygın kullanılan tuzlar, mikroelektrotta reaksiyona girmeyen alkali metal tuzlarıdır. Bu amaçla ortama KCl, KNO₃ gibi bir anorganik tuz, bir mineral asidi ya da baz katılabilir. Sitrik asit / sitrat veya asetik asit / asetat gibi tampon sistemleri pH kontrolünün gerektiği konularda destek elektrolit olarak kullanılabilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu genellikle 0,1 M civarındadır. Çalışmalardaki destek elektrolit konsantrasyonu 0,01-1,0 M arasında değişir. Ohmik düşmelerdeki değişimlerden kaçınmak için, destek elektrolit miktarı örnekten örneğe hep aynı şekilde olmalıdır. Destek elektrolit hazırlanmasında kullanılan reaktifler yüksek saflıkta olmalıdır. Her elektrokimyasal teknik için kullanılan özel bir elektrolit yoktur, fakat o tekniğin şartlarına göre seçim yapılabilir. Örnek olarak polagrafi için yaygın elektrolit türleri 0,1 M KCl, LiCl, NH₄Cl'dür. Tampon olarak asidik bölgede asetik asit/asetat, bazik bölgede amonyumklorür/amonyak tamponu kullanılabilir. Bununla birlikte sitrat, malonat ve fosfat tamponları kullanılan diğer yaygın destek elektrolitlerdir (Erdoğan, 1995; Can 2013).

2.4.3. Çözücü

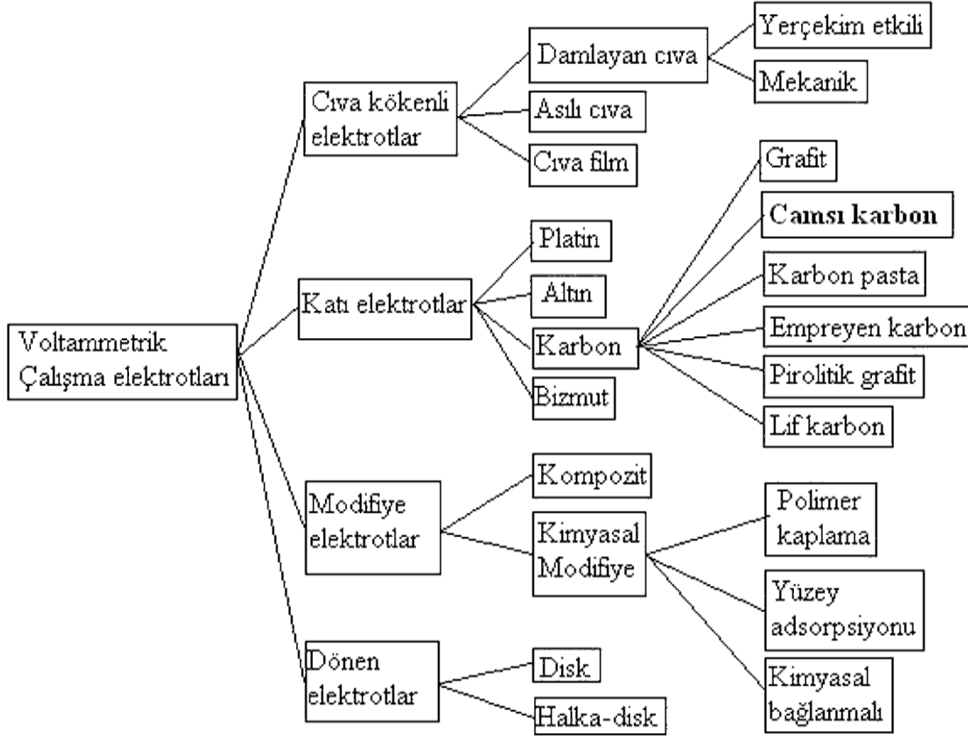
Elektrokimyasal ölçümler genellikle sulu ortamda gerçekleşir bunun nedeni ise başka çözücülere göre çok fazla sayıda maddeyi çözebilmesi, yüksek saflıkta elde edilebilmesi, ekonomik olmasıdır. Bu avantajlarının yanı sıra bazı olumsuzlukları da vardır; özellikle büyük moleküllü organik bileşikler yeterince çözmemesi ve protik bir çözücü olması başlıca olumsuzluklarıdır. Protik bir çözücü olması, yani hidrojen iyonları bulundurması sebebiyle protonun yer aldığı elektrokimyasal reaksiyonların çalışılması durumunda elektrolitin tamponlanması gerekmektedir (Erdoğan, 1995).

2.4.4. Çalışma (indikatör) elektrodu

Elektroanalitik kimyada çalışma elektrodu, potansiyeli zamanla değişen ve üzerinde analitin yükseltlendiği veya indirildiği mikro elektrotur. Bu elektroda genel olarak indikatör elektrot da denir (Yağmur, 2010).

Voltametrik yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotları polarlanmanın olabilmesi için küçük yüzey alanına sahip olmalıdır. Bunun için mikro elektrotlar kullanılır. Mikro elektrotların kullanılmasıyla örnekteki elektroaktif türlerin çok küçük bir miktarı elektrokimyasal tepkimeye girmektedir. Böylece örneğin bileşimi hemen hemen aynı kalır ve aynı örneğin defalarca voltamogramını almamıza olanak sağlar (Yılmaz, 2012).

Çalışma elektrotu ile referans elektrot arasında potansiyel uygulanırken, çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasında akım kaydedilir (Türe, 2008). Voltametri de kullanılan çalışma elektrotları Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Voltametrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması (Yılmaz, 2012).

2.4.4.1. Cıva kökenli elektrotlar

Sıvı elektrotların en önemlisi ve çarpıcı olanı cıva elektrotudur. Yüksek hidrojen aşırı gerilimi olduğu için geniş bir katodik gerilim penceresine sahiptir. Ayrıca tekrar edilebilir, kolaylıkla yenilenebilir ve yumuşak bir yüzeye sahiptir. Metalik cıva, +0.4 V dolayında yükseltgenerek çözüldüğü için geniş pozitif gerilim bölgesinde elektrot malzemesi olarak kullanılamaz. Bunun yanı sıra; cıvanın uçuculuğu, kullanım sonrası temizlenmesindeki zorluklar, toksik yapısı nedeniyle çevre-dostu metal olmaması, tek kullanımlık elektrot yapılmasına elverişli olmaması, dokuya uygulanamaması, biyolojik örneklerdeki bazı maddelerle etkileşmesi gibi sakıncaları da bulunmaktadır (Wang, 2000; Saka, 2008).

“*Damlayan cıva elektrot*”, “*asılı cıva damla elektrot*” ve “*cıva-film elektrot*” en sık kullanılan cıva elektrotlardır. “*Damlayan cıva elektrot*” un kullanılması durumunda voltametrik teknik, “*polarografi*” olarak adlandırılır. Voltametrimin gelişimi, 1920’lerin ilk çeyreğinde bulunan polarografi ile başlamıştır (Barek ve Zima, 2003; Saka, 2008).

Damlayan cıva elektrotun polarografide büyük önemi olmasına karşın yukarıda sözü edilen sınırlamaları nedeniyle 1940'lı yılların sonlarında başlatılan “*katı elektrot*” çalışmaları voltametri yöntemine özellikle çevre, klinik, ilaç ve gıda analizlerinde geniş bir uygulama alanı sağlamıştır (Brett, 1999; Bocris ve Reddy, 2000; Kalvoda, 2000; Wang, 2000; Brainina, 2001; Saka, 2008).

2.4.4.2. Katı elektrotlar

Voltametik çalışmalarda en çok kullanılan katı elektrotlar; platin, altın gibi soy metaller ile karbon temelli elektrotlardır. Özel uygulamalar için gümüş, nikel, bakır da kullanılmaktadır. Ayrıca bazı metal oksitlerinden de yararlanılmaktadır. Katı elektrotların, karıştırılan durgun, dönen ve titreşen tipleri; tel, levha ya da sıklıkla disk biçiminde olabilir (Saka, 2008).

Katı elektrotlarda, elektrot yanıtının elektrotun yüzey durumuna bağlı olması, en önemli sınırlamasıdır. Cıva elektrotların aksine elektrokimyasal aktivite açısından heterojen yüzeye sahiptirler. Tekrar edilebilir ve düzgün sonuçlar alabilmek için bu elektrotlara kullanılmadan önce duyarlı bir elektrot “*ön-işlemi*” ve “*parlatma*” uygulanmalıdır. Ön işlem basamakları elektrot materyaline bağlı olarak değişir. Mekanik parlatma ve dönüşümlü gerilim taraması uygulamak sıklıkla kullanılan tekniklerdir (Uslu ve ark. 2006). Ayrıca kimyasal, elektrokimyasal yöntemler de kullanılarak (Şentürk ve ark., 1996; Saka, 2008) yüzey aktivasyonu sağlanır.

Karbon temelli katı elektrotlar, elektroanalizde en yaygın kullanıma sahiptirler. Bunun nedeni bu elektrotların; kimyasal inertliğe, geniş gerilim penceresine, zengin yüzey kimyasına, düşük artık akıma ve düşük maliyete sahip olmalarıdır. Ayrıca, elektrokimyasal dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisinde dedeksiyon uygulamaları (Özkan ve ark., 2002) için de uygundur. Bu avantajlara karşılık; karbon elektrot yüzeyinde gözlenen elektron aktarım hızı metal elektrotlarda gözlenen aktarım hızından genellikle daha düşüktür (Wang, 2000).

En sık kullanılan karbon elektrot materyalleri; camsı karbon, karbon pasta, karbon fiber ve pirolitik grafit olarak bilinmektedir.

İlk defa Yamada ve Sato tarafından 1962 yılında geliştirilen *camsı karbon elektrot*, inert bir gaz içerisinde fenol formaldehit reçinesini çok dikkatli bir şekilde ısıtma sonucunda elde edilmiştir. Camsı karbon elektrot, üzerinde taşıdığı farklı fiziksel özelliklerinden dolayı diğer karbon yapılarından ayrılır. Bunun nedeni ise yüzeyinde küçük gözenekler bulunmasıdır. Bu nedenle diğer karbon elektrot türlerine göre daha çok kullanılır (Saka, 2008).

Analitik sinyal açısından ve aktif ve tersinir camsı karbon elektrot yaratmak için yüzey ön-işlemi genellikle kullanılır. Elektron aktarımı açısından aktivasyon işleminin amacı; yüzey kirliliklerini uzaklaştırmak, yüzeyde fonksiyonel gruplar oluşturmak ve yüzey alanını büyütmektir. En yaygın ön işlem parlatmadır. Parlatma; kimyasal ve elektrokimyasal, laser ışını ile uyarılma, radyo frekans, vakum – sıcaklık uygulaması, düşük basınç altında sıcaklık uygulaması olarak sınıflandırılabilir (Saka, 2008).

2.4.4.3. Dönen elektrotlar

Dönen elektrotlar; dönen disk ve halka-disk elektrotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Bir motor sistemi ile dönme hızları kontrol edilen bu elektrotlar, platin ve camsı karbondan yapılır. Diğer katı elektrotların doğrudan veya civa ile kaplanması yoluyla da kimi zaman kullanılabilir. Sabit elektrotlardan daha büyük bir akım yoğunluğu sağlamak ve yüksek duyarlılık elde etmek için, elektrota madde taşınması konvektif difüzyonla yapılır (Yılmaz, 2012).

2.4.4.4. Modifiye elektrotlar

Voltametriye kullanılan elektrotların sınırlı olmasından dolayı elektrotların kimyasal veya elektrokimyasal özellikleri değiştirilerek çalışma şartları geliştirilmiştir. Modifiye elektrotlar, genel olarak elektrot yüzeyinde önderiştirme sağlayan kimyasallarla işlem veya elektrot yüzeyinin elektron aktarma özelliğini değiştiren işlem (elektrokataliz) yapılarak hazırlanır (Yılmaz, 2012).

Camsı karbon elektrotlar kolaylıkla temizlenebilir ancak her temizlik işleminin uygulanmasında aynı özellikte yüzey elde etmek mümkün olmayabilir. Bu sebeple elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliği çok da iyi olmayabilir. İstenmeyen bu olay modifikasyon işlemiyle giderilebilir (Yılmaz, 2012).

Modifiye edilmemiş katı elektrotların yüzeyleri kararsızdır ve zamanla değişime uğrarlar bunlar bir elektrot için istenmeyen özelliklerdir. Camsı karbon elektrot yüzeyinde meydana gelmesi istenen reaksiyon, yüzeyde meydana gelen oksitlenme veya kirlenme nedeniyle meydana gelmeyebilir ya da farklı bir mekanizmaya göre yürüyebilir. Bu olayı engellemek için katı elektrotların yüzeyi modifiye edilir. Böylece elektrot yüzeyleri reaksiyonlara uygun hale getirilir ve zamanla değişikliğe uğramayacak şekle getirilir (Can, 2013).

Modifiye elektrotların hazırlanması, bir katalizörün yüzeye fiziksel adsorpsiyonu ya da belirli kimyasal grubun yüzeye bağlandığı kimyasal modifikasyondur. Daha kararlı ve dayanıklı yüzey elde etmek için kimyasal modifikasyon kullanılmalıdır (Sadıkoğlu, 2005).

2.4.5. Karşılaştırma (referans) elektrodu

Voltametrik hücrenin önemli bir bileşeni olan referans elektrot olarak ikinci sınıf metal-metal iyonu elektrotları kullanılır (Yılmaz, 2012).

Bu elektrotlar, sabit bir potansiyel değeri sağlayan ve ölçülen çözeltinin bileşiminden etkilenmeyen elektrotlardır. Karşılaştırma elektrotunun bileşimi değişmez ve analiz süresince polarlanmadan kalır. Bu amaçla Ag/AgCl veya doygun kalomel elektrot (DKE) kullanılır (Henden ve ark., 2001).

İyi bir referans elektrotun özelliklerini şu şekildedir: tersinir olmalı, Nerst eşitliğine uymalı, zamanla bağımlı olmayan sabit potansiyel vermeli, az miktarlarda akım elde edildikten sonra yine eski haline kısa sürede dönmeli ve sıcaklıkta değişim olursa önemli değişiklikler göstermemelidir (Yılmaz, 2012).

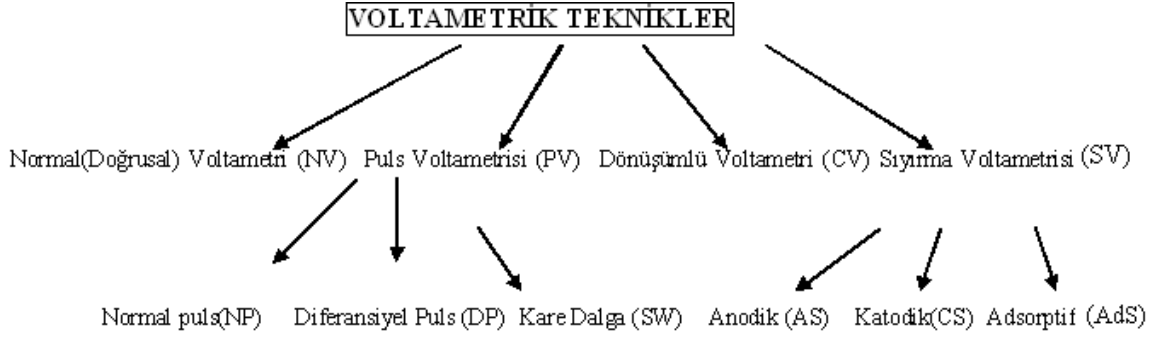
2.4.6. Yardımcı (karşıt) elektrot

Çalışma elektrodunun potansiyelini kontrol eden ve hücre direncinden gelebilecek hataları en aza indirmek için yardımcı elektrot adı verilen diğer bir elektrot kullanılır. Bu elektrot, kimyasal olarak inert ve iletken maddelerden belli bir yüzey alanına sahip olacak şekilde yapılır. Pt ve grafit çubuklar en çok kullanılan türleridir (Henden ve ark., 2001).

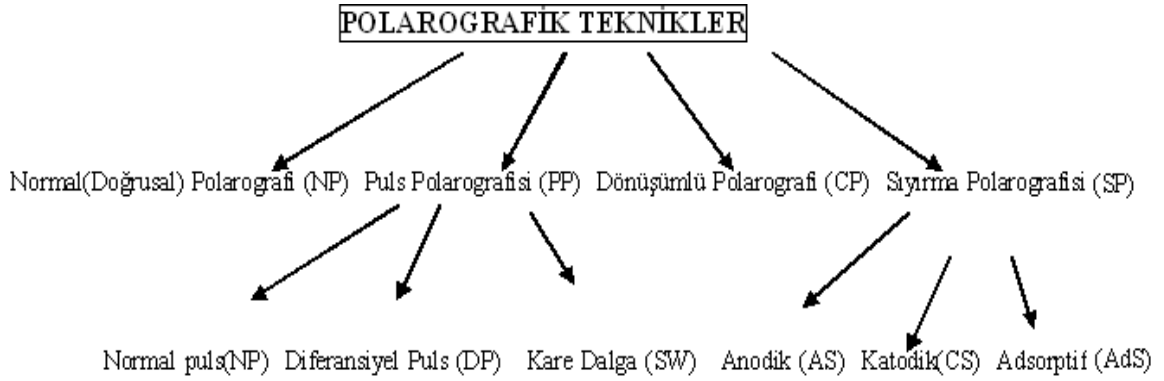
İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrottan akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarize olur. Çözelti direnci yüksek olursa, bunu yenmek için gerekli olan potansiyel önemli bir seviyeye çıkar. Bu nedenlerden dolayı çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli yanılıgılı bir şekilde algılanır. Böylece, $i = f(E)$ eğrileri yatıklaşırlar ve belirli bir noktadan sonra pikler kaybolur. Bu durum, sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak giderilir. Akım, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve sonrasında çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında belirlenir. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir bundan dolayı platin, grafit, tantal ya da tungsten tel çubuklar kullanılır. Bu elektrotların yüzey alanı çalışma elektrodundan en az 50 kat fazla olmalıdır. Küçük hacimlerle çalışıldığında yardımcı elektrotta oluşan türlerin, çalışma elektrodunda girişim yapmayacağı elektrotlar seçilmelidir (Tural ve ark., 2001; Yağmur, 2005).

2.5. Voltametrik ve Polarografik Teknikler

Voltametri de çalışma elektrodu olarak katı elektrotların, polarografide ise cıva elektrodunun kullanılması nedeniyle bu iki yöntem birbirinden ayrılır. Voltametrik ve polarografik tekniklerin yaygın sınıflandırılmasını Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'deki gibi gösterebiliriz (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.3. Voltametrik tekniklerin genel sınıflandırılması

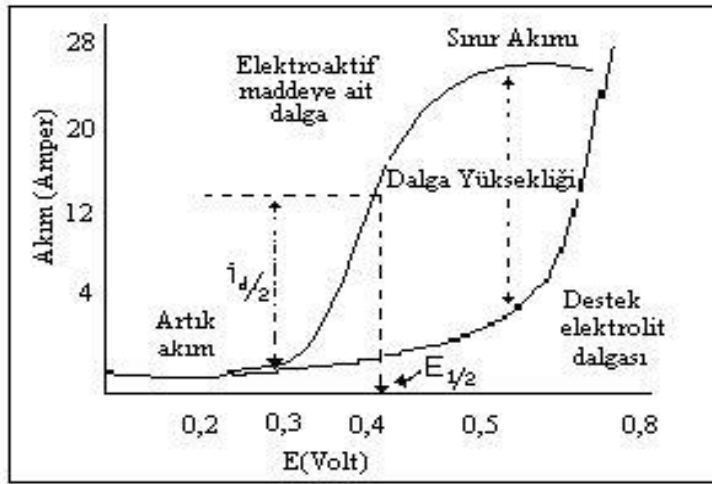


Şekil 2.4. Polarografik tekniklerin genel sınıflandırılması.

Ayrıca diğer teknikler olarak; sabit potansiyelde voltametri (kronoampermetri ve kronokulometri), potansiyel kontrollü voltametri (bulk elektroliz) ve sabit akımda voltametri (kronopotansiyometri) teknikleri de verilebilir (Yılmaz, 2012).

2.5.1. Polarografi

Polarografi; Çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodunun kullanıldığı voltametrik bir yöntemdir. Damlayan cıva elektrodun potansiyeli bir referans elektroda karşı değiştirilir ve referans elektrot olarak Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrot kullanılır. Damlayan cıva elektrot ile referans elektrot arasına potansiyel uygulanır ve hücreden geçen akım bir galvanometre ile ölçülür. Ölçülen akımın uygulanan potansiyele karşı olan grafiği polarogram olarak adlandırılır. Voltametri veya polarografide en önemli parametre dört türlü uyarıcı potansiyeldir. Bunlara uyarıcı sinyaller denir. En yaygın kullanılan uyarıcı sinyalleri ve voltamogramlar Şekil 2.5’de normal polarografide gözlenen akım-potansiyel eğrisi görülmektedir (Yılmaz, 1995).



Şekil 2.5. Normal taramalı polarografide gözlenen akım - potansiyel eğrisi.

Şekil 2.5’te gösterilen polarogramda, **artık akım**, **difüzyon akımı**, **sınır akımı** olmak üzere üç tane akım bölgesi vardır.

Sınır akımı: Dik artıştan sonra gelen sabit akıma “difüzyon kontrollü akım” ya da “sınır akımı” denir (Ayazlı, 2007).

Artık akım: Elektrot ile elektroaktif madde reaksiyona girmeden önce küçük bir akım gözlenmektedir. Bunun sebebi çözeltildeki safsızlıklar, çözeltilde bulunan moleküler oksijen ve elektriksel çift tabakanın yüklenmesi gibi nedenlerdir (Ayazlı, 2007).

Difüzyon akımı: Polarografide dalga yüksekliğinin en önemli bileşeni difüzyon akımıdır. Polarografik şartlar dalga yüksekliğinin yalnız difüzyon akımından dolayı olması için ayarlanır. Madde aktarımının sadece difüzyonla olması istenir (Ayazlı, 2007).

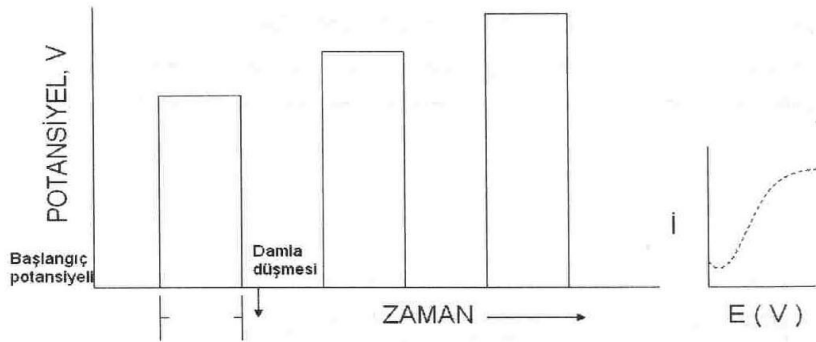
Yarı dalga potansiyeli: Akımın, sınır akımının yarısına eşit olduğu potansiyele ‘yarı dalga potansiyeli’ adı verilir, $E_{1/2}$ sembolü ile gösterilir. Yarı dalga potansiyelleri bir çözeltideki bileşenlerin belirlenmesinde faydalıdır (Ayazlı, 2007).

Doğru akım voltametri, kinetik çalışmalarda önemli bir yer tutmaktadır. Bu teknikle birçok elementin ve ayrıca yükseltgenbilir veya indirgenbilir fonksiyonel grubu bulunan organik bileşiklerin analizi yapılabilmektedir. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV), Diferansiyel Puls Anodik Sıyırma Voltametri (DPASV), Diferansiyel Puls Katodik Sıyırma Voltametri (DPKSV) gibi voltametrik teknikler ucuz cihazlarla yapılabilmekte, eser elementler için oldukça düşük derişimde tayinlere imkan vermektedir. Normal puls tekniği ile 1×10^{-7} M, Diferansiyel puls tekniği ile 1×10^{-8} M’ a kadar tayin yapmak mümkün olmaktadır (Ayazlı, 2007).

2.5.2. Puls polarografisi

2.5.2.1. Normal puls polarografisi

Normal puls tekniğinde zamanla genliği artan pulslar ortaya çıkar. Uygulanan potansiyel pulsları yaklaşık 40-60 s süreyle sınırlıdır, ama pulslar arasındaki potansiyel daima ilk değerine döner. Damlayan civa elektrodunda elektrot yüzeyi damlama süresince değişmesine rağmen, pulslar sürekli damla sonunda uygulandığından sabit elektrot yüzeyi korunmuş olur. Akım ölçümü her puls süresinin sonuna doğru yapıldığından kapasitif akımın etkisi en azdır. Normal puls polarografisinde uygulanan potansiyel ve elde edilen polarogram Şekil 2.6’da verilmiştir (Ayazlı, 2007).

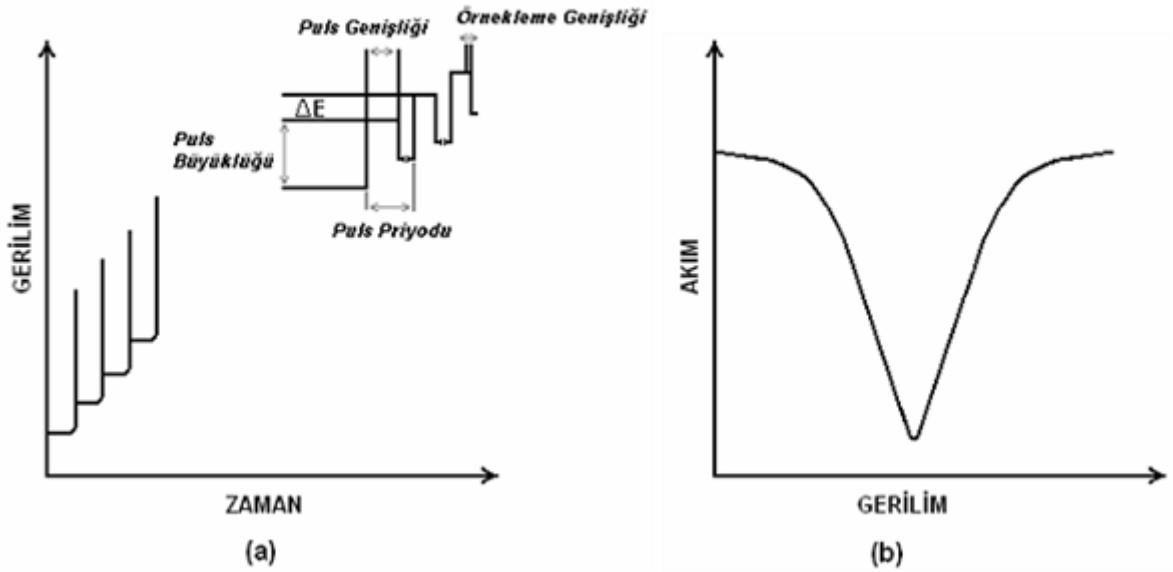


Şekil 2.6. Normal puls tekniğinde artan genlikteki pulsları içeren uygulama potansiyelinin zamanla değişimi ve elde edilen polarogram (Ayazlı, 2007).

2.5.2.2. Diferansiyel puls polarografisi

Puls teknikleri içerisinde organik ve inorganik türlerin eser miktardaki analizleri için en yaygın kullanılanı “diferansiyel puls voltametri”dir. Diferansiyel puls voltametrisinde en yaygın olarak kullanılan (Şekil 2.7a) gerilim uyarma sinyallerinden birinde basamaklı uyarma sinyali ile bir puls üst üste bindirilir (Saka, 2008).

Akım ölçümleri puls uygulamasından önce ve uygulamanın sonunda yapılarak ikisinin farkı alınır. Her iki durum içinde puls başına (DE), akımdaki fark (Di) doğrusal olarak artan ve her puls öncesi uygulanan gerilimin fonksiyonu olarak kaydedilir. Voltamogramlar (Şekil 2.7b) kolaylıkla yorumlanabilecek pik şeklindedir ve yüksekliği derişimle orantılıdır. Pik gerilimleri nitel analizde kullanılışa sahiptir (Saka, 2008).



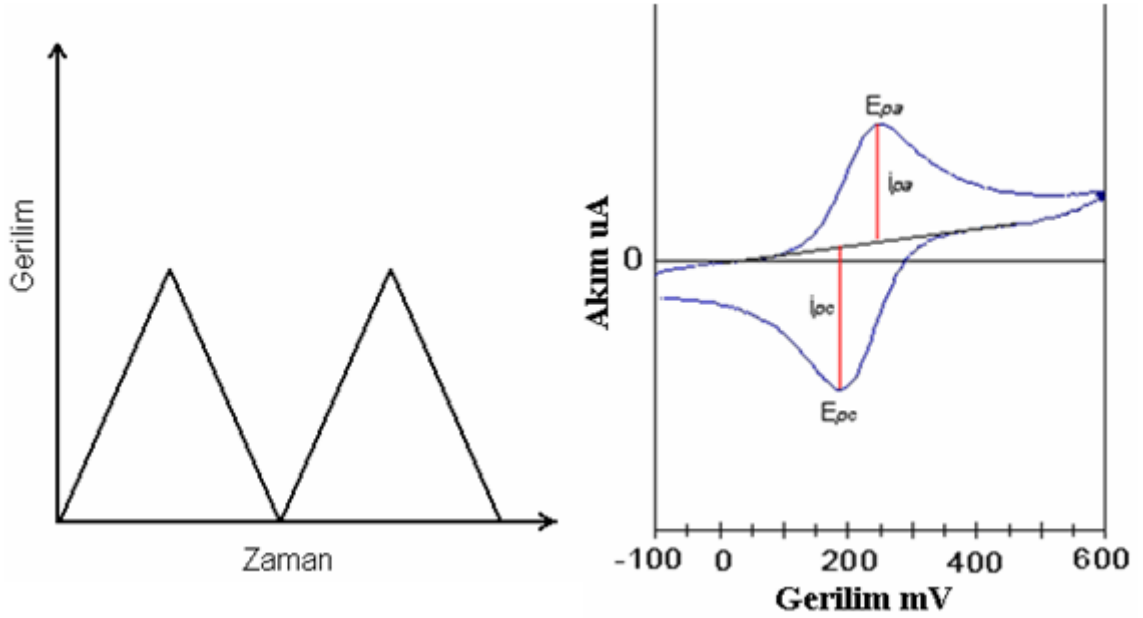
Şekil 2.7. Diferansiyel puls voltametrisinde gerilim uyarma sinyali ve voltamogram (Saka, 2008).

2.5.2.3. Kare dalga voltametri

Kare dalga voltametri son derece hızlı ve duyarlı bir tekniktir. Voltamogramın tamamı 10 ms’ den daha az sürede elde edilebilir. Kare dalga voltametri asılı civa damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile de kullanılmaktadır. Ölçüm hızlı yapıldığından dolayı, analizin kesinliğini artırmak için birkaç voltametrik taramanın sinyal ortalaması alınabilir (Ayazlı, 2007).

2.5.3. Dönüşümlü voltametri (CV)

Voltametrik teknikler içinde önemli bir başka teknik de ‘‘dönüşümlü voltametri’’dir. Bu teknikte uygulanan gerilim ve uyarma sinyali ikizkenar üçgen şeklindedir. Gerilim, doğrusal taramada olduğu gibi sabit hızla bir değere kadar çıkarılır ve sonra tekrar aynı hızla ilk değere döndürülerek (Şekil 2.8a) dönüşümlü voltamogramlar elde edilir (Şekil 2.8b). Bu olay zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilen akımla defalarca tekrar edilebilir (Saka, 2008).



Şekil 2.8. Dönüşümlü voltametri de gerilim uyarma sinyali ve tersinir dönüşümlü voltamogram (Saka, 2008).

Bu teknikte ileri yöndeki tarama sırasında bir yükseltgenme piki oluşmuşsa, gerilim taraması tersine çevrildiğinde yükseltgenme sırasında oluşan ürünün elektrotta indirgenmesinden ötürü bu yönde de bir pik gözlemlenebilir. ‘‘Tersinir’’ bir elektrokimyasal tepkimede anodik pik gerilimi ($E_{p,a}$) ile katodik pik gerilimi ($E_{p,k}$) arasında en çok $59/n$ mV’luk bir gerilim farkı olmalı, aynı zamanda anodik pik akımı ($i_{p,a}$) katodik pik akımına ($i_{p,k}$) eşit olmalıdır. E_p , gerilim tarama hızı (v) ile değişmemelidir (Saka, 2008).

2.5.4. Sıyırma voltametrisi

Sıyırma teknikleri çok seyreltik çözeltilerin analizlerinde kullanılan; başlangıç basamağı ortak ve karakteristik çok sayıdaki elektroanalitik tekniğini kapsar. Bütün bu işlemlerde analit karıştırılan bir çözeltide önce bir mikroelektrot üzerine biriktirilir. Yeterli biriktirme süresi sonunda karıştırma durdurulur, birikmiş analit daha önceden anlatılan

voltametik tekniklerden (CV, SW, DPV) biri ile analiz edilir (Yılmaz, 2012).

Analizin ilk basamağında analit mikroelektrot yüzeyinden çözülür ve sıyrılır; bu yüzden sıyırma teknikleri olarak adlandırılır. Sıyırma teknikleri anodik, katodik ve adsorptif olmak üzere üçe ayrılır (Sağlıköglü, 2011).

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV) tekniğinde mikroelektrot biriktirme basamağı aşamasında bir katot olarak davranır ve analitin ilk haline tekrar yükselttiği sıyırma basamağında ise anot olarak davranır. Sıyırmanın yapıldığı voltametri tekniğine göre adını alır. Diferansiyel puls tekniğiyle sıyırma yapılırsa bu tekniğe diferansiyel puls anodik sıyırma voltametrisi (DPASV) denir (Sağlıköglü, 2011).

Katodik sıyırma voltametrisi (CSV) tekniğinde; mikroelektrot biriktirme sırasında anot gibi; sıyırma sırasında da katot gibi davranır. Biriktirme basamağında, analit elektrokimyasal olarak bir önderiştirilme (zenginleştirme) işlemine uğrar, böylece mikroelektrot yüzeyindeki analit konsantrasyonu, çözeltideki konsantrasyonundan çok daha büyük olur (Sağlıköglü, 2011)

Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (AdSV) ise maddenin çalışma elektrodu üzerine kısa sürede adsorbe edilmesi esasına dayanır. Voltametik veri, adsorbe edilen maddenin yüzeydeki konsantrasyonuna bağlıdır. AdSV tekniğinde biriktirme işleminde madde herhangi bir kimyasal reaksiyona tabi tutulmaz. AdSV ile tıbbi ve biyolojik önemi olan birçok organik molekülün sulu çözeltilerde cıva yüzeyinde adsorbe olma özelliğinden yararlanarak analizleri yapılabilmektedir (Gratteri ve ark., 1992).

Adsorptif Katodik Sıyırma Voltametrisi'nde (AdCSV) madde elektrot yüzeyinde iyonik ya da moleküler olarak biriktirilir. Böylece akım indirgenen türlerinin difüzyonundan bağımsız olur ve biriktirilen analit elektrot yüzeyinden katodik (indirgenme) yönde sıyrılır (Sağlıköglü, 2011).

Adsorptif Anodik Sıyırma Voltametrisi'nde (AdASV) madde elektrot yüzeyinde katodik sıyırma voltametrisinde olduğu gibi iyonik veya moleküler halde biriktirilir. Akım bu sefer yükseltgenen türlerinin difüzyonundan bağımsız olur. Biriktirilen analit elektrot yüzeyinden anodik (yükseltgenme) yönde sıyrılır (Sağlıköglü, 2011).

2.6. Modifiye Elektrotların Genel Özellikleri

Modifikasyon terim olarak yenilenme anlamına gelir. Voltametricte kullanılan elektrotların sınırlı olması sebebiyle elektrotların kimyasal ya da elektrokimyasal nitelikleri değiştirilerek çalışma koşullarının geliştirilmesiyle modifiye elektrotlar hazırlanır (Yılmaz, 2012).

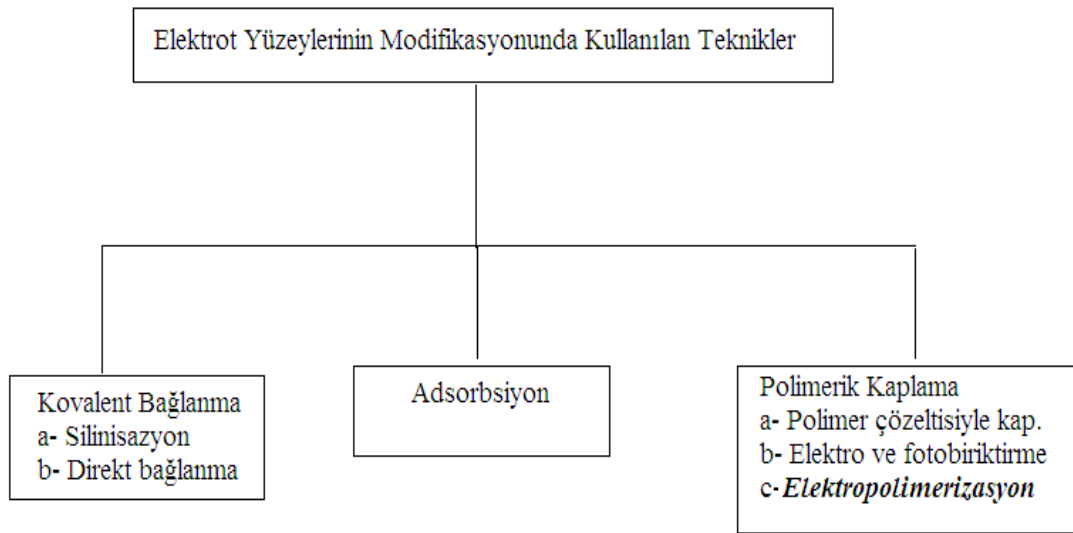
Kimyasal olarak modifiye edilen elektrotların sadece yüzeyinde değişiklik yapılır ve elektrodun ana maddesi etkilenmez. Elde edilen modifiye elektrodun yüzeyine, kimyasal reaksiyonlarla çeşitli maddelerde tutturulabilir. Bu sayede çok geniş bir elektrot modifikasyon alanı elde edilebilir (Sadıkoğlu, 2005).

Genellikle iletken bir substratın modifiye edilmesi yöntemiyle modifiye elektrotlar hazırlanır. Böylece modifiye edilmemiş, substrattan farklı özellikleri olan ve istenilen işlevlere uygun elektrotlar elde edilmiş olur. Substrat yüzeyleri değişik şekillerde modifiye edilerek hazırlanabilir. Elektrotlar öncelikle elektronik olarak iletken malzemeler kullanılarak modifiye edilirler. Substrat malzemesi olarak; karbon, bir metal, bir yarı iletken, bir iletken polimer veya organometaller kullanılabilir.

İyi bir bileşiğin elektriksel iletkenliği yüksek olmalı, korozyona ve etkileştiği çözüldüden gelen diğer etkilere karşı iyi bir direnç göstermelidir. Kararlılıklarının yüksek olmasından dolayı Pt, Au ve C elektrotlar çok kullanılırlar. Kararlılık; çeşitli ortamlarda elektrotlar için oldukça önemlidir. Elektrotlar mekanik olarak da kararlı olmalıdır. Kullanım süresi boyunca elektrot yüzeyinin değişmemesi mekanik ve kimyasal yönden kararlılığını gösterir. Bileşikler substrat yüzeyine kovalent bağlarla tutturulacak ise, substrat bağlanma reaksiyonları için elverişli olmalıdır (Sağlıkoğlu, 2011).

2.7. Elektrot Yüzeylerinin Modifikasyonunda Uygulanan Metotlar

Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan teknikler aşağıdaki gibidir (Sağlıkoğlu, 2011).



Şekil 2.9. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda yararlanılan tekniklerin sınıflandırılması (Sağlıkoğlu, 2011).

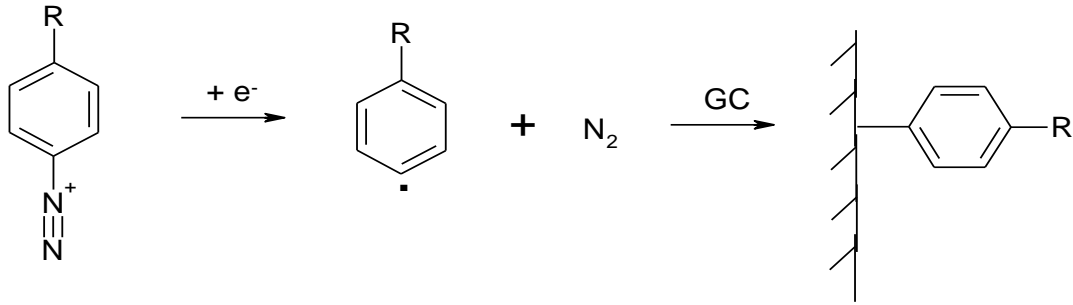
2.7.1. Kovalent bağlanma

2.7.1.1. Silinisazyon

Silinisazyon, kullanılan ilk yüzey modifikasyon tekniğidir. Bu teknik, trialkoksi veya triklorosilanlar ile tepkimeye girecek olan yüzey hidroksil veya oksit gruplarının oluşumunu içermektedir. Silanizasyon reaksiyonları için elektrot materyalleri olarak; camsı karbon, pirolitik karbon, platin, altın, metal oksitler ve yarı iletkenler kullanılabilir (Yılmaz, 2012).

2.7.1.2. Direkt bağlanma

Çeşitli karbon elektrotlar ve platin elektrot bu yöntem ile kaplanabilir. Karbon elektrotların modifikasyonunda en çok başvurulan yöntem, bir diazonyum tuzunun aprotik bir çözücü ortamında indirgenmesiyle çözeltide bir aril radikali oluşturulması, bu radikallerin karbon elektrot yüzeyine kovalent bağlarla bağlanmasıdır. Bu reaksiyonda diazonyum tuzu indirgenildiğinde, mekanizmada gösterildiği gibi bir aril radikali ve azot molekülü oluşur. Oluşan bu aril radikali, camsı karbon elektrot yüzeyindeki grafitik π elektronları ile etkileşerek elektrot yüzeyine kovalent bağlar ile bağlanır (Sadıkoğlu, 2005).



Şekil 2.10. Karbon elektrot yüzeyine kovalent bağlanma (Sadıkoğlu, 2005).

2.7.2. Adsorpsiyon

Bu sistem birkaç bağlanma formu ile gerçekleşir. Substratın yapısı türler için hareket etme açısından çözeltiliye göre daha uygun olduğu için pek çok bileşen genellikle çözeltiliden substratın yüzeyine adsorbe olur. Örneğin, sülfür içeren türler; cıva, altın ve diğer metal yüzeylerine kuvvetlice tutunur bunun nedeni kuvvetli metal-sülfür etkileşimi olmasıdır. Yüzeye tutunan türlerin elektrokimyasal olarak yükseltgenme ve indirgenmesi gözlenebilir (Yılmaz, 2012).

2.7.3. Polimerik kaplama

Polimerler uzun yıllar organik sentezlerde anlaşılamayan yan ürünler olarak tanımlanmıştır ayrıca elektrosentez sırasında elektrotun kaplanmasında istenmeyen bir olay olarak görülmüştür. Fakat daha sonra elektrot yüzeylerinin polimerle kaplanarak modifiye elektrot eldesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Sağlıkoğlu, 2011).

Polimerle kaplanmış elektrot yapımında önceden kimyasal yolla sentezlenen polimerler ile kaplama da yapılabilir ya da doğrudan monomer elektrot yüzeyinde polimerleştirilir (Murray, 1984).

Kimyasal yolla sentezlenen polimerler iki şekilde elektrot yüzeyine kaplanabilir.

a) Elektrot yüzeyinde elektrokimyasal çöktürme:

Elektrokimyasal çöktürme metodunda polimer çözeltisine daldırılan elektroda uygun bir gerilim uygulanır ve elektroliz ile polimer elektrot yüzeyinde biriktirilir.

b) Daldırıp kurutma ya da damla-döndürerek buharlaştırma (spin kaplama):

Daldırıp kurutma metodunda polimerik materyal bir uçucu çözücü de çözülür.

Polimer çözeltisi mikro pipet yardımıyla bilinen hacimde elektrot yüzeyine aktarılır, çözücü ondan sonra uzaklaştırılır. Bu olay havada kurutma ve vakum yöntemleriyle yapılabilir. Eğer düz filmler isteniyorsa çözücü uzaklaştırılması büyük önem taşımaktadır (Svehla, 1992).

Monomerlerin elektrot yüzeyinde doğrudan polimerleştirilmesinde kullanılan yöntemler şunlardır:

a) Elektrokimyasal polimerizasyon

b) Organosilan kondenzasyonu

c) Plazma polimerizasyonu

2.8. Elektrokimyasal Polimerizasyon

Elektropolimerizasyon, birçok deneysel değişken içerir bunlar; çözücü, monomer konsantrasyonu, elektrolit çeşidi, sıcaklık, pH, elektrot malzemesi ve uygulanan elektriksel şartlardır. Uygulanan elektriksel şartlar ve deneysel değişkenler filmin yapısını, özelliklerini ve polimer üretme hızını etkilemektedir. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler Çizelge 2.1’de verilmiştir (Yılmaz, 2012).

Çizelge 2.1. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler (Sönmez, 2002)

Uygulanan Teknik	Kontrollü değişken	Ölçülen değerler	Diğer parametreler	Sağlanan bilgiler
Voltametri	Potansiyel, E	Akım, i	Çözelti bileşimi	Redoks potansiyeli, yük transfer kinetiği
Potansiyometri	-	Potansiyel, E	Çözelti bileşimi	Redoks potansiyeli, iyon değişim kapasitesi
Kulometri	Potansiyel, E	Yük, Q	Çözelti bileşimi	Elektron stokiyometrisi
AC empedans spektroskopisi	Potansiyel, E	Akım, i veya empedans, Z	Çözelti bileşimi, frekans	Yük transferi ve iyon taşıma kinetiği

Elektrokimyasal biriktirme potansiyeli her bir elektropolimerizasyon için özeldir. Polimerler doğrudan yükseltgenmiş iletken formda, elektrodun yüzeyinde birikir. Bu tür modifikasyona camısı karbon elektrodun, p-aminobenzen-sülfonik asitle (p-ABSA) modifikasyonu örnek verilebilir.

2.9. Voltametik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler

Voltametik validasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılan terimler şunlardır (Yılmaz, 2012):

Ortalama Değer: Bir analizde elde edilen sonuçların toplamının analiz sayısına bölünmesiyle elde edilir. Elde ettiğimiz ortalama değer, analiz sayısına göre değişir. Yapılan analiz sayısı arttıkça ortalama değer doğru veya gerçek değere yaklaşır.

Kesinlik: Analiz sonuçların birbirine yakınlığına ya da ortalama değerle herhangi bir değer arasındaki farka kesinlik denir. Kesinliği yüksek olan sonuçların doğruluk dereceleri de genelde yüksektir denilebilir. Kesinlik çeşitlileri şöyledir:

a) Standart sapma (s): Uygulanan tekniğin kesinliğini belirtmeye yarayan en önemli kriterdir ve şu şekilde formülize edilebilir.

$$s = \sqrt{\frac{(\sum(x_i - \bar{x})^2)}{N-1}} \quad (2.1)$$

s= numune standart sapması

x_i = analiz sonuçları

\bar{X} = analiz sonuçlarının ortalaması

N= analiz sayısı

b) Bağıl standart sapma (s/X): Elde edilen standart sapmanın(s), ortalama değere (X) bölünmesiyle bulunur ve RSD ile gösterilir. Diğer bir adı varyasyon katsayısıdır (VK). Genelde % RSD olarak verilir.

$$\% \text{ RSD} = \left(\frac{s}{\bar{X}} \right) \times 100 \quad (2.2)$$

c) Varyans: Numune standart sapmasının karesinin alınmasıyla elde edilir.

$$s^2 = \frac{(\sum(x_i - \bar{x})^2)}{N-1} \quad (2.3)$$

d) Yayılma (W): Bir analizde en büyük değerle en küçük değer arasındaki fark yayılma olarak tanımlanır ve W ile gösterilir. Bu farkın küçük olması kesinliğin yüksek olmasını sağlar.

e) Doğruluk: Bir analizde bulunan en güvenilir sonuçla doğru değer veya doğru olarak kabul edilen değer arasındaki farka doğruluk denir. Kesinlik ile doğruluk birbirinden farklı tanımlardır. Kesinlik az sayıda analiz sonuçlarının birbirine yakınlığı iken, doğruluk analiz sonuçlarının gerçek değere yakınlığı olarak tanımlanabilir. 2 şekilde ifade edilir.

Ortalamanın mutlak hatası (ortalamanın doğru değerden farkı), E_a ile gösterilir.

$$E_a = \bar{X} - \mu \quad (2.4)$$

Ortalamanın bağıl hatası aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$\% \text{ Bağıl hata} = \frac{(X - \mu)}{\mu} \times 100 \quad (2.5)$$

f) Bias: Analitik bir yöntemin sistematik hatasının bir ölçüsü olup yöntemin doğruluk derecesiyle ilgilidir ve şu şekilde formülize edilir.

$$\text{bias} = (\mu - X_t) \quad (2.6)$$

μ = Analizi yapılan maddenin doğru veya gerçek değeri

X_t = Analizi yapılan maddenin bulunan derişimidir.

g) Hassaslık: Bir analizde uygulanan yöntemin veya cihazın hassaslığı analizi yapılan maddenin (analitin) en küçük konsantrasyonu bile ayırt edebilme özelliğidir. 2 türlü ifade edilir:

Kalibrasyon hassaslığı, kalibrasyon doğrusunun eğimine eşittir. Madde tayininde kullanılan iki yöntemden kalibrasyon eğimi büyük olan daha hassastır denilebilir. Analitik hassaslık ise kalibrasyon doğrusunun eğiminin, maddenin ölçüm sinyallerinden elde edilen standart sapma değerine bölümüdür ve γ ile gösterilir.

h) Tayin alt sınırı (LOD): Bir analizde en küçük sinyalin gözleendiği konsantrasyona tayin alt sınırı denir ve LOD ile gösterilir ve aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\text{LOD} = 3 s / m \quad (2.7)$$

m: kalibrasyon doğrusunun eğimi; s: numune standart sapmasıdır.

ı) Kantitatif tayin sınırı (LOQ): Bir analizde kantitatif analizin yapıldığı en küçük konsantrasyona denir ve LOQ ile gösterilir ve aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\text{LOQ} = 10 s / m \quad (2.8)$$

2.10. Voltametrik Tekniklerle Yapılmış Bazı Parasetamol Analizleri

Rajendra ve arkadaşları (2005), nano altın modifiye indiyum kalay oksit (ITO) elektrot kullanarak pH= 7 fosfat tamponunda diferansiyel puls voltametriyi yöntemi kullanarak parasetamolün elektrokimyasal yükseltgenme özelliğini incelemişler ve 110 mV’da yükselttiğini gözlemişlerdir. Yöntemi glikoz ve üreye uygulamışlardır.

Rajendra ve arkadaşları (2006), C₆₀-modifiye camcı karbon elektrot kullanarak pH= 7.2 fosfat tamponunda diferansiyel puls voltametriyi yöntemi kullanarak parasetamolün elektrokimyasal yükseltgenme özelliğini incelemişlerdir. Korelasyon katsayısını 0,98 ve konsantrasyon aralığını da 0.05-1.50 mM bulmuşlardır. Metodun duyarlılığını 13.04 µA mM⁻¹ bulmuşlardır. Bu yöntemi değişik tablet ve idrar örneklerine uygulamışlardır. Elde edilen sekiz ölçüm sonucunun standart sapmasını 5.53% bulmuşlardır.

Lourançao ve arkadaşları (2009), parasetamol ve kafeinin eş zamanlı olarak belirlenmesini diferansiyel puls ve kare dalga voltametriyi yöntemi ile bor katkılı elmas elektrot kullanarak (BDD) , pH 4.5 asetat tamponunda yapmışlardır. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen konsantrasyon aralığını $5.0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ - $8.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ bulmuşlardır. Parasetamol için belirme sınırını $4.9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, kafein için ise $3.5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ bulmuşlardır. Bu metodu çeşitli tabletlere uygulamışlardır. Sonuçların yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle benzer sonuçlar verdiğini gözlemlemişlerdir.

Campton ve arkadaşları (2008), karbon nanotüp modifiye grafit elektrot (MWCNTBPPGE) kullanarak, adsorptif sıyırma voltametriyi yöntemiyle, 0.05 M pH 7,50 fosfat tamponunda, parasetamolün sıyırma duyarlı adsorplayıcı özelliğini incelemişler ve geliştirdikleri yöntemi “ANADIN EXTRA” tabletlere başarılı bir şekilde uygulamışlardır.

Zidan ve arkadaşları (2010), yöntem olarak dönüşümlü voltametri tekniğini kullanarak parasetamolün yükseltgenme yönündeki elektrokimyasal davranışını çinko oksit kaplı camcı karbon elektrot (GCE) ile incelemiş, 0,1 M KH₂PO₄ pH 4,5 elektrolit çözelti ortamında en keskin piki elde etmişlerdir. Çalışma aralığını $2,1 \times 10^{-5} \text{ M}$ – $5,0 \times 10^{-3} \text{ M}$ ve korelasyon katsayısını da (R^2) 0,997 olarak bulmuşlardır.

Fan ve arkadaşları (2011), parasetamolün davranışlarını nafion/TiO₂-grafit modifiyeli camcı karbon elektrot (GCE) kullanarak dönüşümlü voltametri tekniği ile incelemişlerdir. 0,1 M fosfat salin tamponunda (PBS) pH 7,00 en iyi sonucu elde etmişlerdir. Doğrusallık aralığını 1–100 µM olarak belirlemişlerdir ve LOD değerini $2,1 \times 10^{-7} \text{ M}$ olarak bulmuşlardır. Tekrarlanabilirliği %3,6 olarak kaydetmişlerdir. Ticari parasetamol örneklerinde yöntemi kullanmışlardır.

Cheemalapati ve arkadaşları (2013), dopamin ve parasetamolün eş zamanlı elektrokimyasal tayinini, çok duvarlı karbon nanotüp / grafen oksit nano bileşiği ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrodu kullanarak voltametri tekniği, diferansiyel puls tekniği ve amperometri teknikleri ile incelemiştir. Dopamin için doğrusallık aralığını $0.2 - 400 \mu\text{mol L}^{-1}$, parasetamol için ise $0.5 - 400 \mu\text{mol L}^{-1}$ bulmuşlardır. Tayin sınırını dopamine için 22 nmol L^{-1} , parasetamol için ise 47 nmol L^{-1} bulmuşlardır.

Jahanbakhshi ve arkadaşları (2011), asetaminofen(parasetamol) ve askorbik asitin eş zamanlı olarak belirlenmesinde tek duvarlı karbon nanotüp modifiye karbon-seramik elektrot (SWCNT / CCE) kullanmışlardır. Diferansiyel puls voltametri tekniğinde parasetamol ve askorbik asit için sırasıyla 302 mV ve -62 mV hassas yükseltgenme pikleri elde etmişlerdir. Yine sırasıyla doğrusallık aralıklarını $0.2 - 150.0 \mu\text{M}$ ($R^2 = 0.998$), $5.0 - 700.0 \mu\text{M}$ ($R^2 = 0.992$) bulmuşlardır. Tayin sınırlarını ise parasetamol için $0.12 \mu\text{M}$ askorbik asit için $3.0 \mu\text{M}$ bulmuşlardır. Bu yöntemi ilaç ve biyolojik örnekler üzerine uygulayarak iyi bir istikrar ve tekrarlanabilirlik elde etmişlerdir.

Madrakian ve arkadaşları (2014), altın nano-tanecikleri/ çok duvarlı karbon nanotüp / camsı karbon elektrodu (AuNPs/MWCNT/GCE) kullanarak diferansiyel puls yöntemini kullanarak tirozin (Tyr), asetaminofen (AC) ve askorbik asit (AA) eş zamanlı olarak belirlemiştir. Herbir madde için doğrusallık aralığını sırasıyla $0.4-80.0 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0.09-35.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $1.0-150.0 \mu\text{mol L}^{-1}$, bulmuşlardır. Tayin sınırını ise tirozin için 0.21 , asetaminofen için 0.03 ve askorbik asit için $0.76 \mu\text{mol L}^{-1}$ bulmuşlardır. Kan serumuna ve ilaç örneklerine uygulamışlardır.

Fischer ve arkadaşları (2013), mikro-kristal doğal grafit-polistren kompozit film modifiye elektrot (CFE) kullanarak diferansiyel puls voltametri tekniği ile parasetamol'ün davranışlarını incelemiştir. pH 4 Britton-Robinson tamponunu kullanarak parasetamolün doğrusallık aralığını $0.02-100 \mu\text{mol l}^{-1}$ olarak saptamışlardır. Tayin sınırı $0.034 \mu\text{mol l}^{-1}$ bulunmuştur bu da geliştirilen yöntemin yüksek hassasiyette olduğunu göstermiştir. Bu methodu farmosötik formülasyonlara ve insan idrar örneklerine uygulamışlardır.

Ghadimi ve arkadaşları (2013), novel camsı karbon elektrot (GCE) kullanarak parasetamol'ün yükseltgenmesini pH 7 fosfat tamponunda diferansiyel puls voltametri tekniğini kullanarak incelemiştir. Elektrot, (4-vinylpyridine) (P4VP) ve çokduvarlı karbon nanotüpler (P4VP/MWCNT GCE) kullanılarak modifiye edilmiş, parasetamol'ün voltametrik tayinini yapmışlardır. P4VP/MWCNT GCE'de ki anodik tepe pik akımlarını, modifiye edilmemiş elektrotlara göre 300 kat daha yüksek bulmuşlardır.

Doğrusallık aralığını 0.02–450 µM, tayin sınırını da 1.69 nM bulmuşlardır. Tabletler ve idrar örneklerinde parasetamol belirlemek için bu elektrot uygulamasını önermişlerdir.

Arvand ve arkadaşları (2013), tirozin (Tyr) ve parasetamolün (PC) eş zamanlı tayini için, pH 7 fosfat tamponunu, diferansiyel puls voltametri tekniğini ve MWCNTs-grafen nanosheet nanokompozit modifiye camı karbon elektrot (MWCNTs-GNS/GCE) kullanmışlardır. Konsantrasyon aralığını tirozin için 0.90–95.40 µM ve parasetamol için 0.8–110.0 µM bulmuşlardır. Tayin sınırlarını tirozin için 0.19 µM ve parasetamol için 0.10 µM bulmuşlardır. Önerilen tekniği, insan kan serumu ve farmasötik örneklerinde tirozin ve parasetamol tayini için uygulamışlardır.

2.11. Poli (4-ABSA) - Modifiye Camı Karbon Elektrot ile Yapılan Çalışmalar

Huang ve ark. (2008) poli(4-aminobenzen-sülfonikasit)-modifiye camı karbon elektrot kullanarak, fenileprin ve klorprothisen'in analizini yapmışlardır. Fenileprin 0,05 M asetat tamponunda (pH=5) +0,89 V'da, klorprothisen ise 1,04 V'da NH₂CH₂COOH-HCl (pH=2,4) tamponunda tersinmez anodik pik vermiştir. Belirleme sınırını sırasıyla 1x10⁻⁸ M ve 1x10⁻⁷ M olarak bulmuşlardır.

Jin ve ark. (2005) poli(p-aminobenzen-sülfonikasit)-modifiye camı karbon elektrot ile dopamin ve askorbik asidin eş zamanlı analizini yapmışlardır. Modifiye elektrot dopamin ve askorbik asidin yükseltgenmesi için elektrokatalitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Fizyolojik pH'da (7,0) askorbik asit anyon formunda iken, dopamin katyon olarak bulunmaktadır. Jin ve ark. (2005)'na göre p-(ABSA) yapısında elektronca zengin N atomları ve yüksek elektron yoğunluğuna sahip sülfo grupları bulunmaktadır. Bundan dolayı p-(ABSA) filmleri negatif yüklüdür. Modifiye elektrotta negatif yüklü sülfo grupları ve askorbik asit anyonları arasındaki elektrostatik itmeden dolayı, askorbik asidin potansiyeli daha negatif değere kayar ve dopamin piki askorbik asitten kolayca ayrılabilir. p-(ABSA) modifiye elektrot yüksek seçicilikte amperometrik dopamin sensörü olarak kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir.

Yang ve ark. (2006) katesol ve resorsinol varlığında bu maddelerin girişim etkisi olmadan poli(p-aminobenzen-sülfonikasit)-modifiye camı karbon elektrot ile seçici hidrokinon tayini yapmışlardır. Katesol ve resorsinol, hidrokinonun izomerleridir ve numunelerde bir arada bulunabilirler. Bundan dolayı girişim etkisi olmadan hidrokinonun seçici tayininin çok önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Yang ve ark. (2006)'na göre resorsinolun yükseltgenmesi hidrokinon ve katesolden daha pozitif değerde gerçekleşir. Katesol ve resorsinolun elektron yoğunluğu, hidrokinondan daha düşük olduğundan dolayı yükseltgenmeleri daha zordur.

Kumar ve Chen (2007), poli(p-aminobenzensülfonikası)-modifiye camı karbon elektrot kullanarak fosfat (pH=7,00) tamponunda CV ve kronokulometrik tekniklerle oksijenin (O₂) hidrojenperoksit'e (H₂O₂) elektrokatalitik indirgenmesini çalışmışlardır. Geliştirdikleri yöntemle poli(p-ABSA)-modifiye elektrodun H₂O₂'in belirlenmesi için amperometrik sensör olarak kullanılabilirdiğini ifade etmişlerdir.

Sadıkoglu ve ark. (2012), poli(p-aminobenzensülfonikası)-modifiye camı karbon elektrot ile ürik asit tayini yapmışlardır. Fosfat pH 7.0 tamponu ile dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi ile çalışmışlardır. Konsantrasyon aralığını 1x10⁻⁵-1x10⁻⁴ M olarak belirlemişlerdir. Belirme sınırını 1,125x10⁻⁶ M bulmuşlardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

Bu çalışmada 4-aminobenzensülfonik asit (Sigma Aldrich, %99), NaH₂PO₄.H₂O (Merck, %99), Na₂HPO₄.2H₂O (Merck, %99,5), nitrik asit (Merck, %65), aseton (Merck, %99,8), metanol, 1- 3 µm elmas pasta ve 0,05 µm boyutlu Alümina (CH Instruments ve metkom) kimyasal maddeleri kullanıldı. Ayrıca ilaç etken madde parasetamolün ilaç dozaj formu Parol, Atabay firmasından temin edildi.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Voltamogramlar, Metrohm 757 VA Trace Analyzer ve Metrohm Autolab PGSTAT 101 cihazları ile alındı. Voltametrik ölçümler; camsı karbon [(elektrodun yüzey boyutu (ϕ) 7 mm; disk çapı (R) 2 mm] çalışma elektrodu, platin tel yardımcı elektrot, Ag/AgCl referans elektrodundan oluşan üçlü elektrot sisteminde yapıldı. Elektrokimyasal hücredeki oksijenin uzaklaştırılması için %99 saflıkta argon gazı kullanıldı.

Voltametrik hücre ve diğer cam malzemelerin ön yıkaması ve sulu çözeltilerin hazırlanması için kullanılan saf su, TKA Smart2 pure marka ultrasaf su (0,055µS/cm iletkenliği ile) cihazından alındı.

Camsı karbon elektrotların yüzeyinin temizlenmesi için ön temizlemeden sonra Wise Clean marka sonikatör (ultrasonik banyo) kullanıldı.

Çözeltilerin pH'ları EZDO 5011 A model pH metre ile ölçüldü.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada ilk olarak parasetamolün ilgili ilaç firmasından temin edildi. Parasetamolün stok çözeltisi (1×10^{-2} M) metanol ile taze olarak hazırlandı. Çalışılan tüm çözeltiler stok çözeltinin metanol ile seyreltilmesiyle hazırlanarak kullanıldı.

Bu etken maddenin parasetamolün poli (4-ABSA)-modifiye elektrotta voltametrik tekniklerle uygun deney şartları (çözücü-tampon, maksimum akım, destek elektrolit) belirlendi. Belirlenen bu ortamda öncelikle tarama hızı-akım ($v^{1/2}$ -ip ve log v -logip) grafiklerinin eğim ve korelasyon (R) değerlerine bakılarak akım türü (difüzyon yada adsorpsiyon) belirlendi. Bundan sonraki çalışmalarda buna göre yürütüldü. Modifiye edilmiş elektrot ile elektrokimyasal polimerleşmenin yapıldığı ortam olan 0,1 M fosfat

(pH=7,00) tampon çözeltisinde voltamogramlar alındı. Daha sonra seçilen çözücü-destek elektrolit sisteminde değişik konsantrasyonlarda etken maddelerin voltamogramları alınarak, akım-konsantrasyon değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Bu grafikten yararlanılarak doğrusallığın gözlemlendiği konsantrasyon aralığı belirlendi. Kalibrasyon grafiğinin eğim ve standart sapma değerlerinden alt tayin sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) hesaplandı. Daha sonra bu etken maddelerin ticari formlarından analizi gerçekleştirildi. Seçilen ortamda, bu bileşiğin dozaj formlarından modifiye edilmiş elektrotta voltametri teknikleri ile kantitatif analizi yapıldı ve validasyon parametreleri (bulunan miktar, RSD ve geri kazanım v.b.) değerlendirilerek, önerilen tekniklerin söz konusu analizler için geçerlilikleri gösterildi.

3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Elektrokimyasal olarak incelenen parasetamolün 1×10^{-2} M stok çözeltisi 10 mL metanol ile hazırlandı. Deney sırasında kullanılan diğer çözeltiler stok çözeltisinin metanol ile seyreltilmesiyle hazırlandı.

100 mL'lik balonjojeye 3,12 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Sodyum Di-hidrojen Fosfat) alındı ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Hacim deiyonize su ile 100 mL'ye tamamlandı. Başka bir balonjojeye de 5,34 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Di-sodyum Hidrojen Fosfat) alındı ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Hacim deiyonize su ile 150 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan 0,1 M'lık çözeltilerden belirli hacimlerde $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ karıştırılarak pH'ı 5,00 - 8,00 arasında farklı fosfat tamponları hazırlandı.

Camsı karbon elektrodun kaplanmasında kullanılan 4-aminobenzen-sülfonik asit, 0,1 M NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 (pH=7,00) tampon çözeltisinde çözülerek 1×10^{-2} M stok çözeltisi hazırlandı.

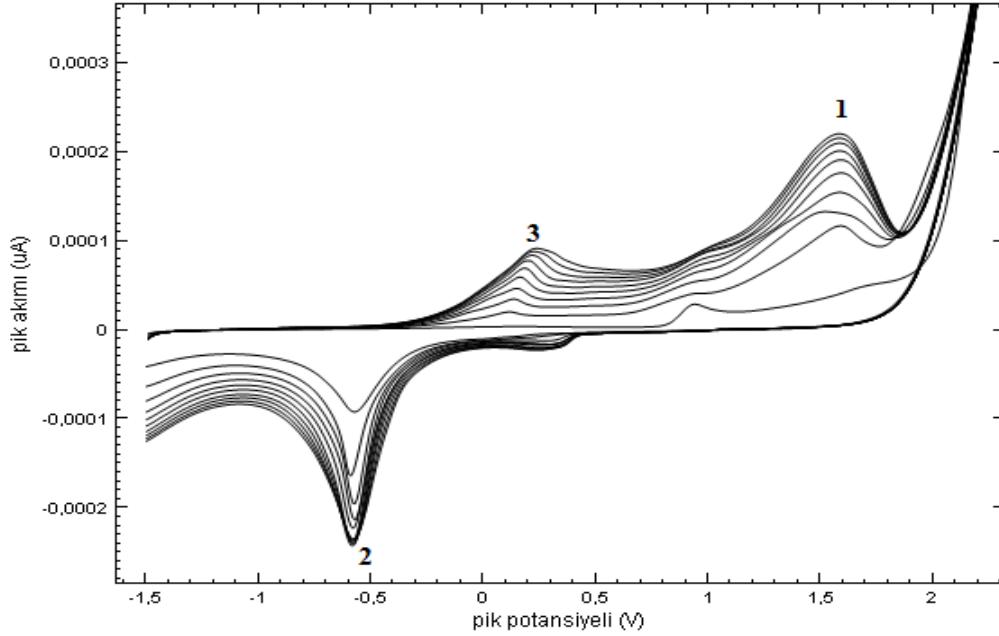
Her iki elektrot (modifiye edilmemiş ve modifiye elektrotlar) ile çalışırken kullanılan destek elektrolitler ve pH taramasında kullanılan tampon çözeltiler ultrasaf su ile hazırlandı ve ölçümlerde günlük olarak hazırlanan çözeltiler kullanıldı.

3.2.2. Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesi

Modifikasyon işleminden önce elektrot yüzeyinin temizlenmesi için ilk olarak elektrot 1, 3 μm elmas pasta ve 0,05 μm alümina ile temizleme pedlerinde temizlendikten sonra sırasıyla (1:1) HNO_3 , aseton ve saf su ile ultrasonik banyoda yıkandı.

Bu şekilde temizlenen elektrotun yüzeyi (Huang ve ark., 2008) literatürdeki yöntem kullanılarak kaplandı. Camsı karbon elektrot 2×10^{-3} M 4-aminobenzen-sülfonik asit içeren 0,1 M fosfat (pH=7) tamponunda elektropolimerizasyon tekniği ile -1,5 V ve + 2,4 V

potansiyel aralığında 200 mVs^{-1} tarama hızında 10 döngü alınarak kaplandı.



Şekil 3.1. GCE yüzeyinde $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ p-aminobenzenesülfonik asidin 0,1 M fosfat (pH=7,00) çözeltisindeki elektrokimyasal polimerizasyonunun, 200 mVs^{-1} tarama hızındaki voltamogramı.

Şekil 3.1’de görüldüğü gibi 3 tane pik gözlenmiştir. İlk döngüde -1,5 V ve +2,4 V potansiyel aralığında bir anodik yükseltgenme piki (pik 1) ve bir katodik pik (pik 2) gözlenmiştir. Devam eden döngülerde gittikçe büyüyen 3 nolu pik ortaya çıkmıştır. Döngü sayısı arttıkça pik akımları artmış ve belli bir döngüden sonra ise akım sabitleştiği görülmüştür. Bu durum camı karbon elektrodun yüzeyinde p-aminobenzenesülfonik asit’in elektropolimerizasyonunu göstermektedir. Döngü sayısı arttıkça pik akımları artmış ve koyu mavi renkli polimer camı karbon elektrodun yüzeyinde oluşmuştur. Buda camı karbon elektrodun yüzeyinde 4-aminobenzenesülfonik asit’in elektropolimerizasyonunu göstermektedir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

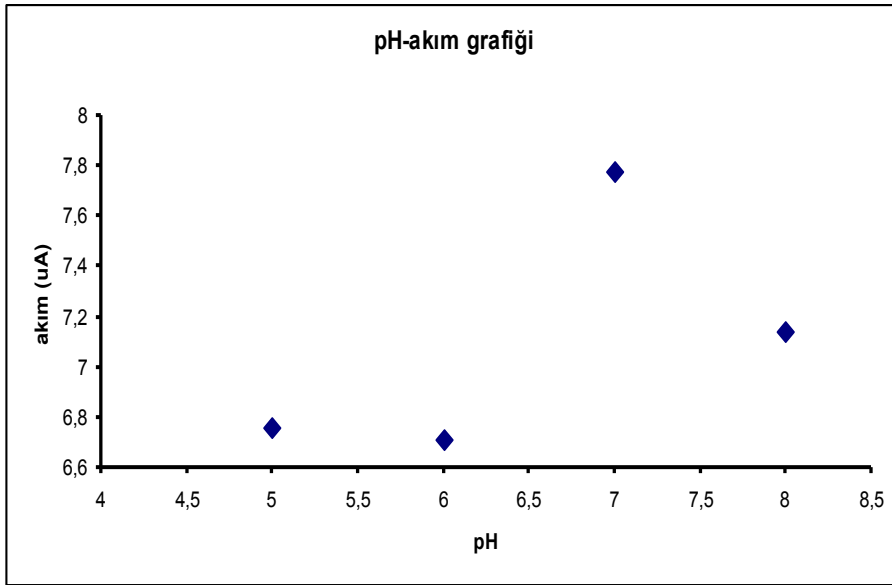
4.1. Parasetamolün Modifiye Elektrotta Çalışma Ortamının Belirlenmesi

Parasetamolün yükseltgendiği optimum şartları belirlemek amacı ile tüm destek elektrolitlerde DPV tekniği kullanarak pik akımının ve pik potansiyelinin pH ile değişimi incelendi (Çizelge 4.1).

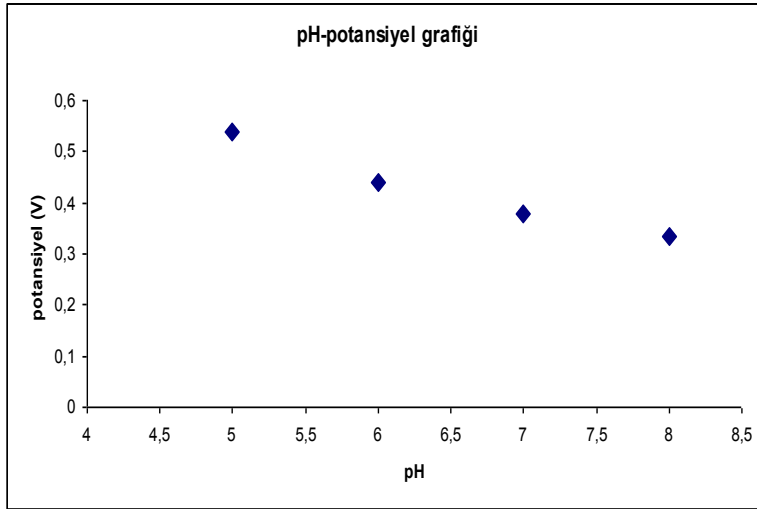
Çizelge 4.1. 5×10^{-5} M parasetamolün 0,1 M fosfat tamponunda pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi

pH	Pik Akımı (μ A)	Pik Potansiyeli(V)
5,00	6,76	0,540
6,00	6,71	0,441
7,00	7,78	0,378
8,00	7,14	0,333

Çizelge 4.1' deki verilerden yararlanılarak Şekil 4.1. ve Şekil 4.2. oluşturuldu.



Şekil 4.1. 5×10^{-5} M parasetamolün pik akımına pH etkisi.

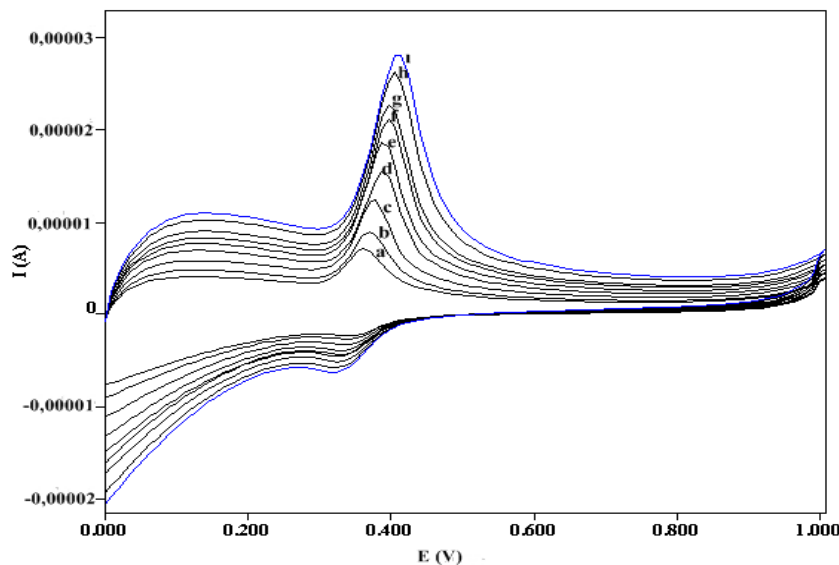


Şekil 4.2. 5×10^{-5} M parasetamolün pik potansiyeline pH etkisi.

Yukarıdaki Tablo 4.1'den oluşturulan Şekil 4.1. ve Şekil 4.2. incelendiğinde pH=7,00' de en yüksek pik akımının olduğu ($7,78 \mu\text{A}$) görülmektedir. Buna göre çalışma ortamı pH=7,00 fosfat tampon olarak belirlendi. Fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımının yüksek olması sebebiyle çalışma ortamı olarak bu pH ve destek elektrolit seçildi.

4.2. Akım Türünün Belirlenmesi

1×10^{-5} M parasetamolün fosfat tamponunda, CV tekniği ile $50\text{-}200 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarındaki voltamogramları alındı (Şekil 4.3).



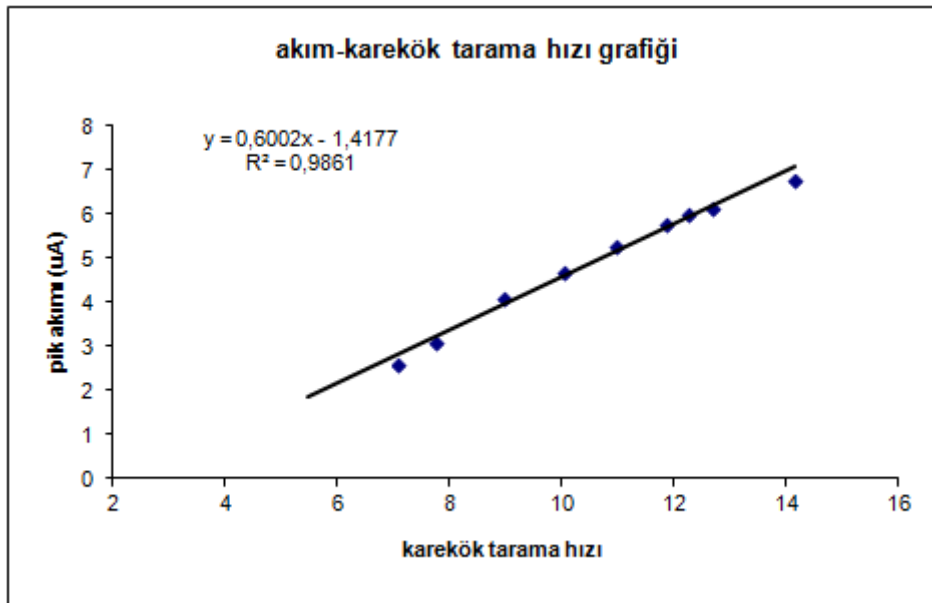
Şekil 4.3. 1×10^{-5} parasetamolün 0,1 M fosfat (pH=7) tamponunda, $50\text{-}200 \text{ mV/s}$ tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı; a) 50, b) 60, c) 80, d) 100, e) 120, f)140, g)150, h)160, i) 200 mV/s .

Şekil 4.3 deki verilerden Çizelge 4.2 oluşturuldu.

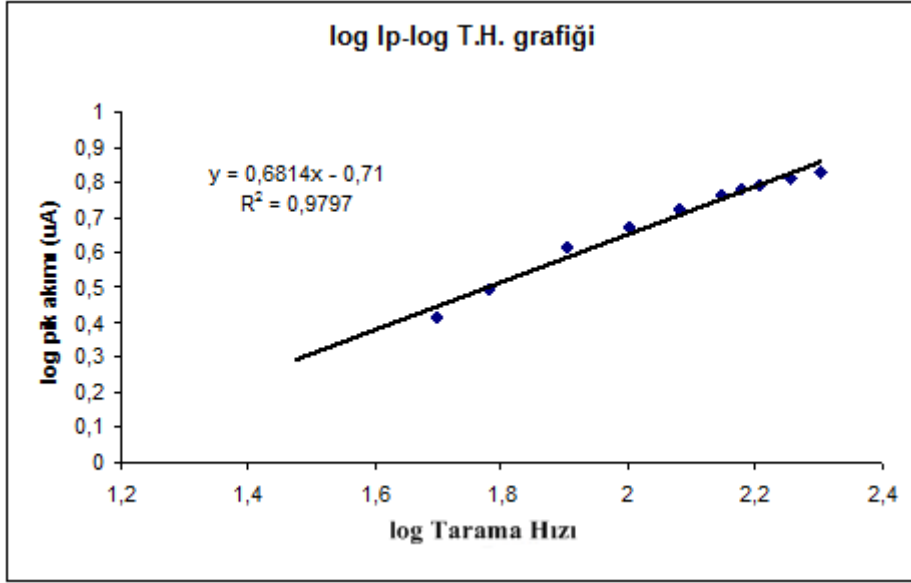
Çizelge 4.2. 1×10^{-5} M parasetamolün fosfat tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi

Tarama Hızı, v (mVs^{-1})	Tarama Hızının Karekökü, $v^{1/2}$	Tarama Hızının Log., $\log v$	Pik Akımı, $I_p(\mu A)$	Pik Akımının Logaritması, $\log I_p$
50	7,07	1,69	2,60	0,415
60	7,74	1,78	3,14	0,497
80	8,94	1,90	4,12	0,615
100	10,00	2,00	4,69	0,671
120	10,95	2,08	5,30	0,724
140	11,83	2,15	5,78	0,762
150	12,25	2,18	6,05	0,782
160	12,65	2,20	6,15	0,789
200	14,14	2,30	6,78	0,831

Çizelge 4.2.'deki veriler kullanılarak tarama hızının kareköküne karşılık pik akımı değerleri grafiği ($v^{1/2}$ - i_p ; şekil 4.4) ve tarama hızının logaritmasına karşılık pik akımının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$; şekil 4.5) grafiği çizildi.



Şekil 4.4. 1×10^{-5} M parasetamolün pH=7,00 fosfat tamponunda pik akımı- karekök tarama hızı ($v^{1/2}$ - i_p) grafiği.

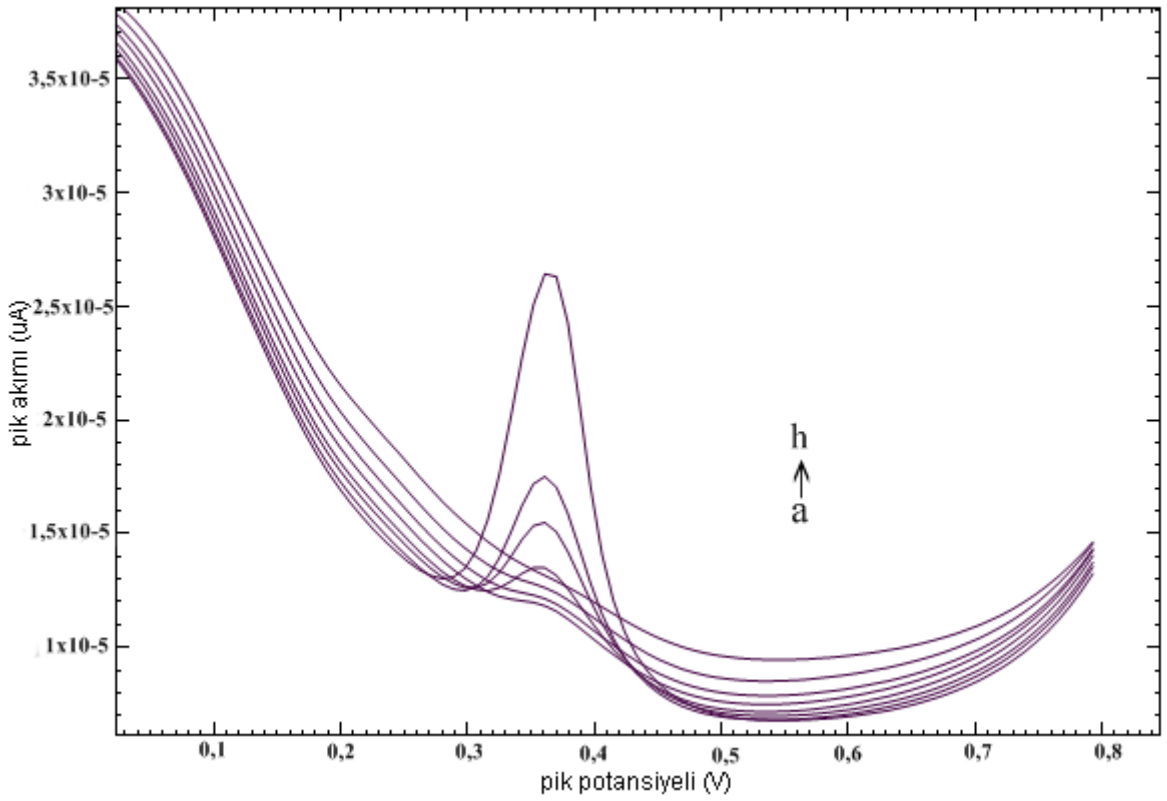


Şekil 4.5. 1×10^{-5} M parasetamolün pH=7,00 fosfat tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması-tarama hızının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$) değişimi.

Şekil 4.5.'te akımının logaritması-tarama hızının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$) grafiğinden eğiminin 0,6814 olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Eğimin 0,5-0,75 arasında olması akımın difüzyon, 0,75-1,00 olması ise akımın adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Ayrıca Şekil 4.4.'te yükseltgenme pik akımının, hızın karekökü ile doğrusal olarak artmasından elde edilen $v^{1/2}$ - i_p grafiğinin korelasyon katsayısının, $R = 0,9930$ olması akımın difüzyon kontrollü olduğunun bir diğer göstergesidir. Yapılan çalışmalarda R değerinin 1'e yakın olması akımın difüzyon kontrollü olduğunun bir işaretidir (Skrzpek, 2005).

4.3. Analitik Çalışma (Konsantrasyon) Aralığının Belirlenmesi

Analitik çalışma (konsantrasyon) aralığını belirlemek için; parasetamolün 6×10^{-7} - 9×10^{-6} M konsantrasyon aralığında, fosfat (pH=7,00) tamponunda DPV tekniği ile voltamogramları alındı (Şekil 4.6.).



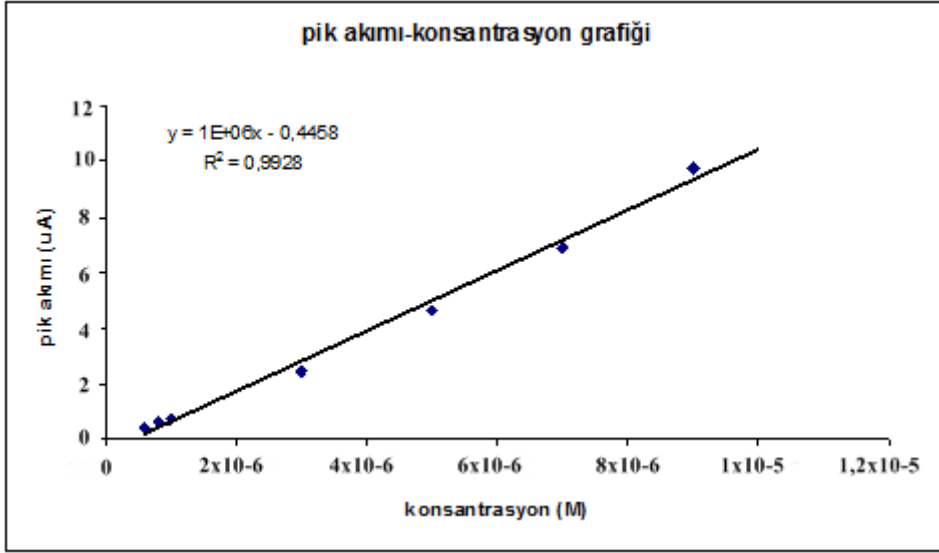
Şekil 4.6. DPV tekniği ile parasetamolün konsantrasyon-pik akımı değişimi a) Destek elektrolit (fosfat tamponu, pH= 7); b) $6,0 \times 10^{-7}$; c) $8,0 \times 10^{-7}$; d) $1,0 \times 10^{-6}$; e) $3,0 \times 10^{-6}$; f) $5,0 \times 10^{-6}$; g) $7,0 \times 10^{-6}$; h) $9,0 \times 10^{-6}$ M parasetamol.

Şekil.4.6.'dan parasetamolün analitik konsantrasyon aralığının belirlenmesi ve LOD, LOQ parametrelerinin hesaplanması için Çizelge 4.3 hazırlandı.

Çizelge 4.3. Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri

Konsantrasyon (M)	Pik akımı (µA)
6×10^{-7}	0,431
8×10^{-7}	0,585
1×10^{-6}	0,720
3×10^{-6}	2,470
5×10^{-6}	4,660
7×10^{-6}	6,910
9×10^{-6}	9,780

Çizelge 4.3'deki verilerden konsantrasyon (c) ve akım (i) değerlerinin verildiği kalibrasyon grafiği elde edildi (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Parasetamolün fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımı- konsantrasyon ($C-i_p$) grafiği.

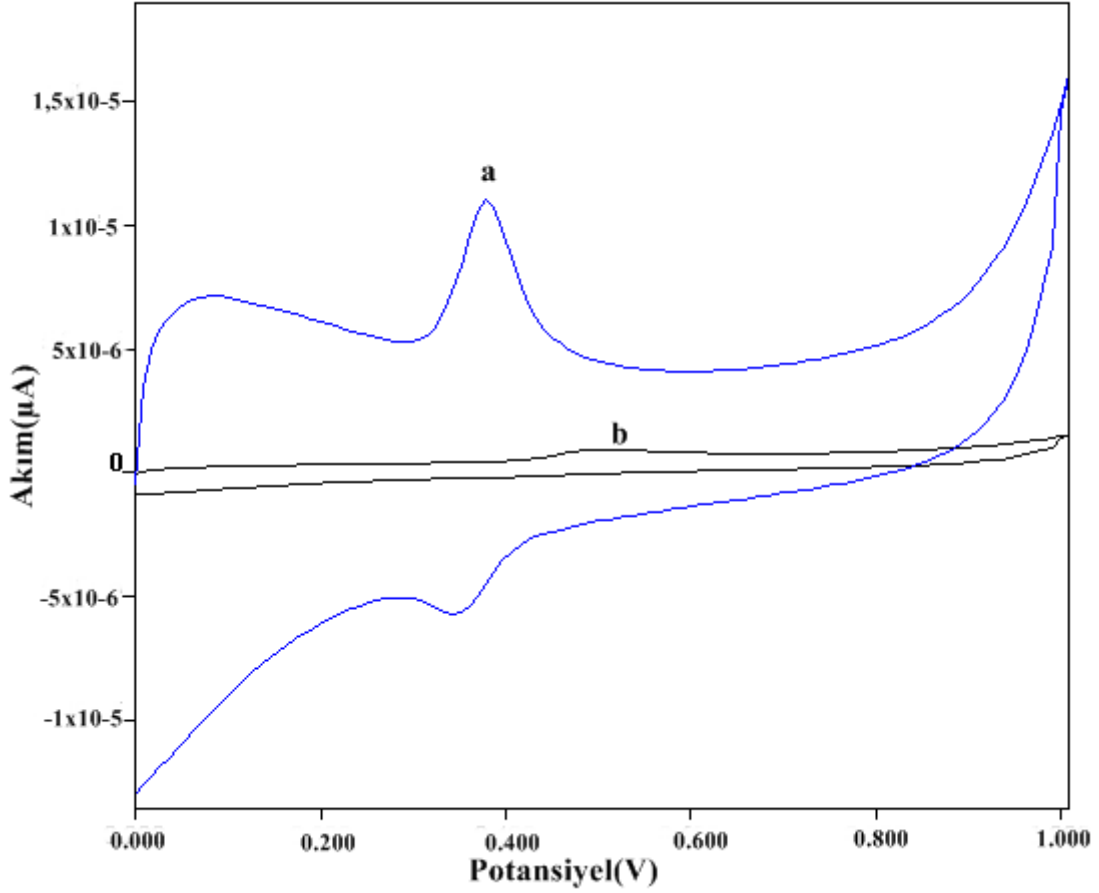
Şekil 4.7. incelendiğinde analitik konsantrasyon aralığının 6×10^{-7} - 9×10^{-6} M olduğu bulundu. Grafikten eğim $9,75 \times 10^5$, korelasyon katsayısı ise 0,9970 hesaplandı. Buna göre kalibrasyon grafiğindeki en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyon olan 8×10^{-7} M' da ölçüm yapılarak akım değerlerinin standart sapması s, 0,031 olarak bulundu. Bu değer 3s/m ve 10s/m eşitliklerinde yerine konularak belirme sınırı LOD, $9,33 \times 10^{-8}$ ve kantitatif tayin sınırı LOQ, $3,10 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplandı. Bulunan değerler Çizelge 4.4' de verildi.

Çizelge 4.4. Parasetamolün pH=7,00 fosfat tamponunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen analitik tayin parametreleri

Parametreler	Sonuçlar
Ölçülen Potansiyel (V)	0,369
Konsantrasyon Aralığı(M)	6×10^{-7} - 9×10^{-6} M
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	975005
Eğimin Standart Sapması	24994
Kayma (nA)	0,406
Kaymanın Standart Sapması	0,041
Korelasyon Katsayısı, r	0,997
Ölçüm Sayısı, n	10
Belirme Sınırı, LOD (M)	$9,33 \times 10^{-8}$
Kantitatif Tayin Sınırı, LOQ (M)	$3,1 \times 10^{-7}$

4.4. Parasetamolün 4-(ABSA)-Modifiye Elektrotta Yükseltgenmesi

5×10^{-5} M parasetamolün fosfat tamponunda (pH=7,0) camısı karbon elektrot ve poli(p-ABSA)-modifiye elektrottaki pik akımı dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile ölçüldü. Camısı karbon elektrotta +0,504 V'da $0,37 \mu\text{A}$ 'ya karşılık gelen bir yükseltgenme piki gözlenirken, poli(p-ABSA)-modifiye camısı karbon elektrotta +0,378 V'da $8,28 \mu\text{A}$ 'ya karşılık gelen bir pik gözlendi (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. 5×10^{-5} M parasetamolün fosfat tamponunda (pH=7,00) poli (4-ABSA)-modifiye camı karbon elektrotta (a) ve camı karbon elektrotta (b) elde edilen dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızı= 100 mVs^{-1}).

Şekil 4.8' den de görüldüğü gibi, parasetamolün camı karbon elektrot ve modifiye eldektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 20 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Buda modifiye elektrotun daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

4.5. Parasetamolün Modifiye Elektrotta İlaçtan Miktarının Belirlenmesi ve Geri Kazanımı

Geliştirilen yöntem ile Parol tabletlerinde parasetamol miktarını belirlemek için, Parol tabletlerinden 10 tablet tartılıp toz haline getirilip 3×10^{-6} M parasetamol içeren çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin voltamogramı alınarak, ölçülen akım değeri konsantrasyon grafiği eşitliğinde yerine konularak 1 tabletteki parasetamol miktarı 496,3 mg olarak hesaplandı. Bu değer, tablet üzerinde belirtilen değer (500 mg) ile karşılaştırıldı (Çizelge 4.5.). Bulunan sonuçlar çizelge 4.5' de verildi.

Çizelge 4.5. Parol tabletlerinde belirlenen parasetamol miktarı ve parasetamolün geri kazanımı

Tablette belirtilen Parasetamol Miktarı (mg)	500,00
Bulunan Parasetamol Miktarı (mg)	496,30
Bağlı Standart Sapma, % R.S.D.	4,01
Doğruluktan Sapma, % Bias	0,74
Eklenen (mg)	50,00
Bulunan(mg)	49,35
Geri Kazanım (%)	98,70
Geri Kazanımın Bağlı Standart Sapması, % R.S.D.	0,57
Doğruluktan Sapma, % Bias	1,30

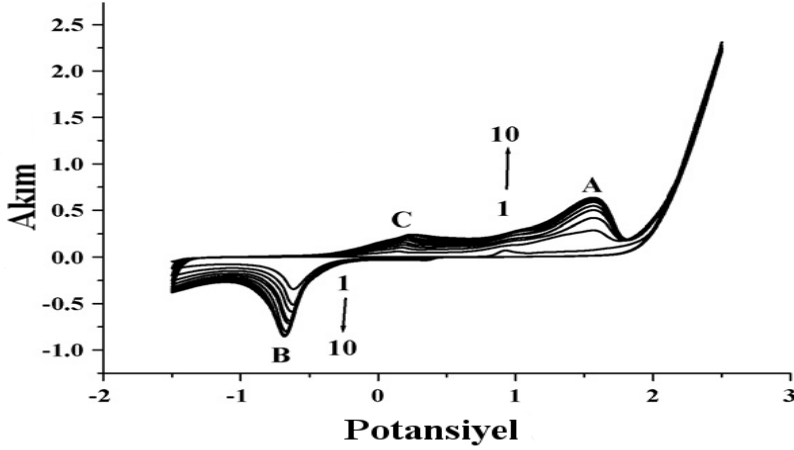
Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla, 5×10^{-6} M parasetamolün pik akımı ölçüldü. Elde edilen akım değeri kalibrasyon grafiğinin eşitliğinde yerine konularak tabletteki parasetamol miktarı hesaplandı. Eklenen parasetamol miktarı ile bulunan parasetamol miktarı kıyaslanarak, parasetamolün geri kazanımı % 98,70 olarak hesaplandı (Çizelge 4.5) .

Çizelge 4.5' ten de görüldüğü gibi geri kazanım % 98,70 olarak bulunmasından, ilaç katkı maddelerinin yöntemlerimizi etkilemediği sonucuna varıldı.

4.6. Camı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonik Asitin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması

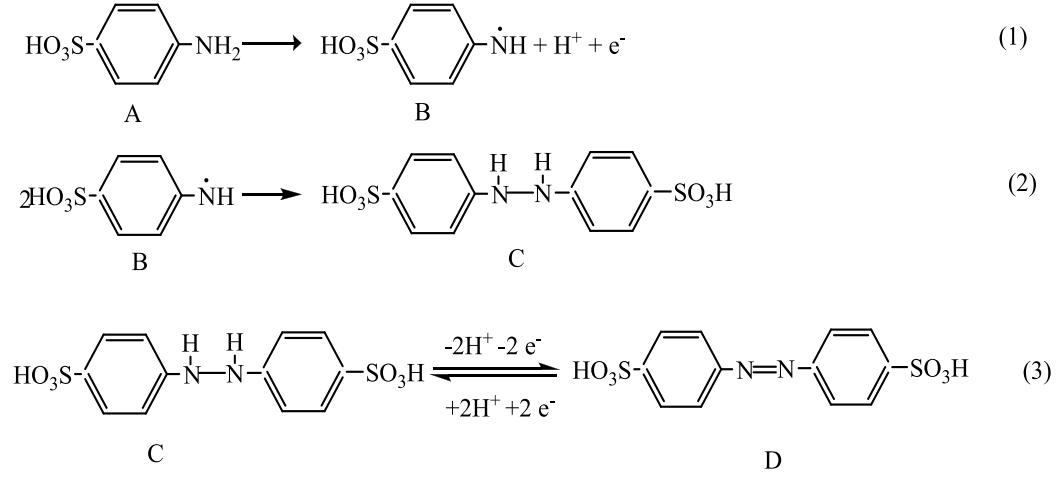
Huang ve ark. (2008), 2×10^{-3} M 4-aminobenzensülfonik asidi 0,1 M fosfat tamponunda (pH=7,00) ve 10 döngü olarak CV tekniği ile kaplamıştır. Modifikasyon işlemi -1,5 V ve +2,5 V potansiyel aralığında ve 100 mV/s tarama hızında yapılmıştır. İlk döngüde 1,5 V'da bir anodik yükseltgenme piki (A) ve -0,7 V'da bir katodik pik (B) görülürken, ikinci döngüde ise +0,2 V'da anodik bir pik (C) gözlenmiştir.

Huang ve ark. (2008)'na göre döngü sayısının artması ile pik akımındaki artış elektrot yüzeyinde filmin büyümesini göstermektedir. Yaptıkları çalışmada ilk 5 döngüde pik akımlarında hızlı bir artış olurken, sonraki döngülerde bu artışın oldukça azaldığını bildirmişlerdir. Huang ve ark. tarafından yapılan elektropolimerizasyonda elde edilen pikler Şekil 4.9.'da verilmiştir.



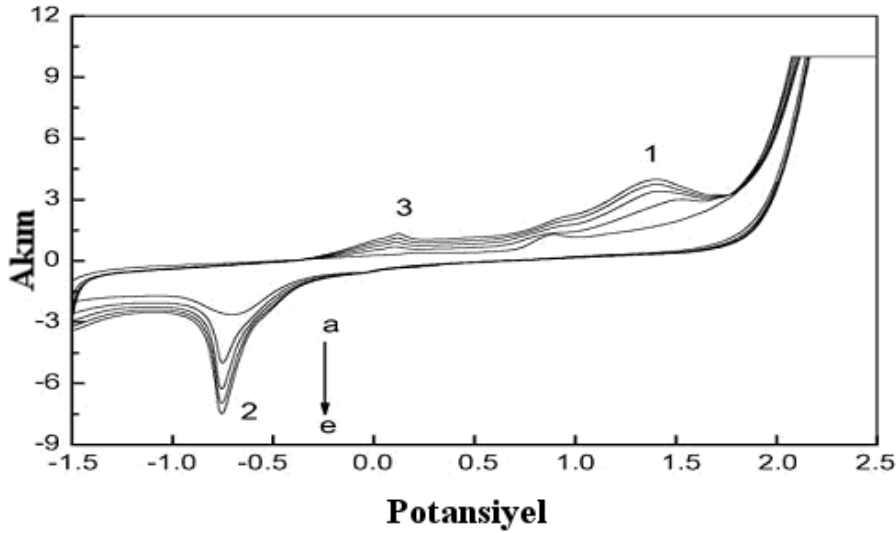
Şekil 4.9. Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

Jin ve ark. (2005) ise 4-aminobenzenesülfonik asidin camı karbon elektrotta elektropolimerleşmesini gerçekleştirerek ilk defa buna ait dimerleşme basamağına kadar olan mekanizma da önermişlerdir (Şekil 4.10.). Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizmaya göre p-(ABSA) ilk olarak serbest radikale yükseltgenmekte (1 nolu pik) ve 2. aşamada radikallerin dimerleşmesi ile hidrazobenzen sülfonik asid oluşur. Daha sonra tersinir olarak hidrazobenzen sülfonik asid, azobenzen sülfonik aside yükseltgenir (3 nolu pik) ve azobenzen sülfonik asid, hidrazobenzen sülfonik aside indirgenir (2 nolu pik).



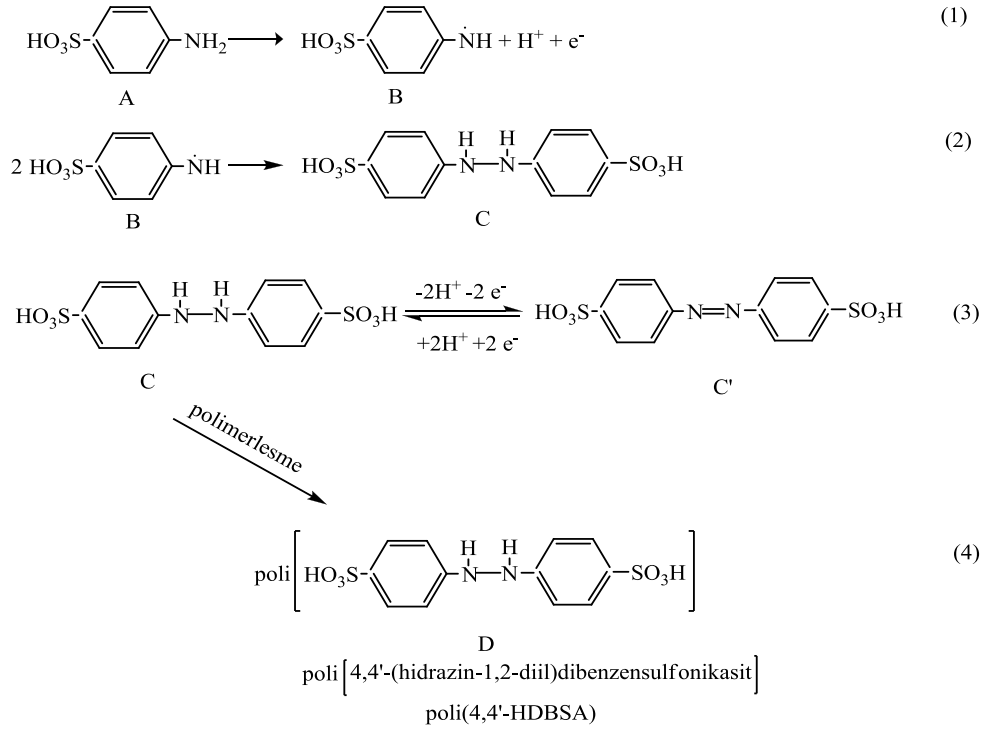
Şekil 4.10. GCE yüzeyinde 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.

4-aminobenzenesülfonik asidin camı karbon elektrotta elektropolimerleşmesinden elde edilen voltamogramlar ise Şekil 4.11 'de verilmiştir.



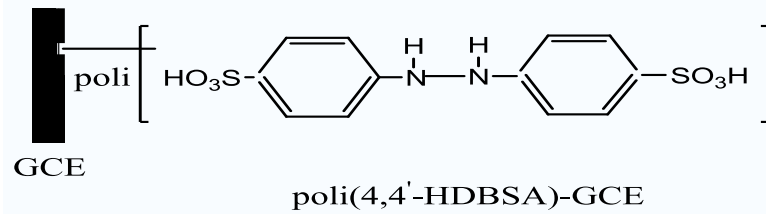
Şekil 4.11. Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizma dimerleşme basamağına kadar verilmiştir. Bileşiğin elektropolimerleşmesi ile ilgili bir mekanizma Jin ve arkadaşları da dâhil olmak üzere verilmemiştir. Çalışmamızda ise elektrokimyasal polimerleşme basamağı da önerilmiştir (Şekil 4.12), (Sağlıkoğlu, 2011).



Şekil 4.12. Camı karbon elektrot yüzeyinde 4-aminobenzensülfonik asitin elektropolimerizasyonu (Sağlıköglü, 2011).

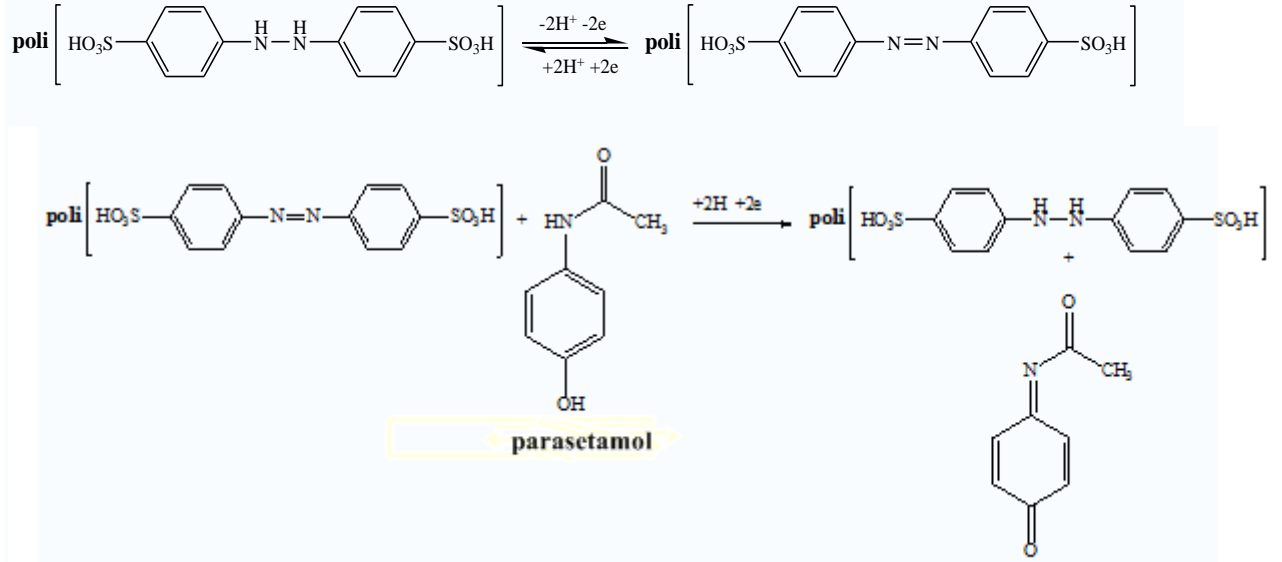
A bileşiği p-aminobenzensülfonik asit ilk aşamada bir elektron alarak amin radikali B'yi oluşturur. İkinci aşamada da iki tane amin radikali B'nin dimerleşmesi ile C bileşiği olan 4,4'-(hidrazin-1,2-diil)dibenzensülfonik asit oluşur. Bu bileşik ise C-C' şeklinde tautomerik formlarda bulunur. Son aşamada ise C bileşiğinin polimerleşmesi ile D bileşiği poli[4,4'-(hidrazin-1,2-diil)dibenzensülfonik asit] meydana gelir. Bu bileşik D ile gösterilmektedir ve poli(4,4'-HDBSA) olarak kısaltılmıştır. Bu şekilde hazırlanan modifiye camı karbonun yapısı Şekil 4.13'de verilmiştir.



Şekil 4.13. Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye camı karbon elektrotun yapısı.

4.7. Parasetamolün Poli (4-ABSA)-modifiye Camı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması

Parasetamolün poli (p-aminobenzensülfonik asit)-modifiye camı karbon elektrotta elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması Şekil 4.14'te önerilmiştir.



Şekil 4.14. Parasetamolün poli (4-ABSA)-modifiye camı karbon elektrotta yükseltgenme mekanizması.

Yukarıda görüldüğü gibi parasetamolün yükseltgenme reaksiyonu, poli(p-aminobenzensülfonik asit)-modifiye camı karbon elektrotta hidrazin-diazen dönüşümleri üzerinden yürümektedir. Parasetamol bileşiği OH ve NH grubundan $1H^+$ ve $1e^-$ vererek keton bileşiğine yükseltgenmektedir. Parasetamol bileşiği tarafından verilen hidrojenler ve elektronlar diazen poli ABSA tarafından alınarak, hidrazin poli (p-ABSA)'ya dönüşmektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, parasetamol adlı etken maddenin elektrokimyasal yükseltgenme özelliği, 4-(ABSA)-modifiye camısı karbon elektrot kullanılarak, diferansiyel puls ve dönüşümlü voltametri teknikleri ile incelendi. Farklı pH'lardaki elektrolitlerle (fosfat tampon pH =5,00-8,00) alınan voltamogramlarda 0,0 V ile +1,0 V arasında yükseltgenme piki belirlendi.

Camsı karbon elektrodun yüzeyi elektropolimerizasyon tekniği ile kaplanarak 4-ABSA-GC elektrot hazırlandı. Hazırlanan modifiye elektrodun iletken özellikte olduğu ve çalışılan ilaç etken maddenin yükseltgenmesine cevap verdiği gözlemlendi.

Parasetamolün, modifiye elektrotta ölçülen yükseltgenme pik akımı 8,28 μA , camısı karbon elektrotta ölçülen pik akımı 0,37 μA olarak belirlenmiştir. Parasetamolün camısı karbon elektrot ve modifiye elektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 20 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Polimerik filmle kaplı GCE yüzeyinin elektrokatalitik etki göstermesi sonucu elektron transferi kolaylaşmıştır. Buda modifiye elektrotun daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Aynı zamanda uygulanan voltametrik yöntem ile parasetamolün ticari ilaçlardaki miktarı belirlenerek (LOD, LOQ gibi) validasyon parametreleri değerlendirildi. Ayrıca uygulanan yöntemin doğruluğunu belirlemek için geri kazanım çalışmaları yapıldı. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar ışığında ilaç katkı maddelerinin uygulanan yöntemleri etkilemediği sonucuna varıldı.

Uygulanan voltametrik teknikler; ekonomik, hızlı ve duyarlı olması, az miktarda numune ile çalışılması ve ayırma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan tayin yapılabilmesi gibi üstünlükleri nedeni ile HPLC, UV gibi spektroskopik yöntemlerle yarışır düzeyde olduğu bulunmuştur. Ayrıca uygulanan bu voltametrik yöntemler ilaçların ve insan idrarı gibi biyolojik sıvıların rutin analizlerinde de rahatlıkla uygulanabilir.

KAYNAKLAR

- Adataş C., 2011. Parasetamol Tablet Preparatlarından Etkin Maddesinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Yöntemi İle Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). K.K.T.C.Yakın Doğu Üniversitesi, Lefkoşa.
- Anonim 1, 2013, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Parasetamol>
- Anonim 2, 2008, http://www.msb.gov.tr/Birimler/ILACFB/ilaclar/ortamol_tablet.html
- Anonim 3, 2012, <http://www.1ilac.com/Etken.Madde/P/Parasetamol.htm>
- Arvand M., 2013. Simultaneous Voltammetric Determination of Tyrosine and Paracetamol Using A Carbon Nanotube-Graphene Nanosheet Nanocomposite Modified Electrode in Human Blood Serum and Pharmaceuticals. *Colloids and Surfaces*. 103: 84-93.
- Ayazlı A., 2007. Kare Dalga Voltametri ve Uygulamaları. Analitik Kimya Anabilim Dalı Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Aycan S., 1994. *Polarografik ve Voltametrik Teknikler*. Yıldız Teknik Üniversitesi Yayını. İstanbul. s. 307.
- Barek J. ve Zima J., 2003. Eight Years of Polarography-History and Future. *Electroanalysis*, 12:467-472.
- Bard A.J. ve Rubinstein I., 1999. *Electroanalytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc., NewYork. 361.
- Bloomfield M.s., 2002. A Sensitive and Rapid Assay for 4-aminophenol in Paracetamol Drug and Tablet Formulation, by Flow Injection Analysis with Spectrophotometric Detection. *Talanta*, 58, 1301-1310.
- Brett C.M.A., 1999. Electroanalytical Techniques for the Future: The Challenges of Miniaturization and of Real-Time Measurements. *Electroanalysis*, 11: 1013-1016.
- Brezina M. ve Zuman P., 1958. *Polarography in Medicine Biochemistry and Pharmacy*, New York, Interscience Publishers.
- Bockris J.O.M. ve Reddy A.K.N., 1970, *Modern Electrochemistry*, Vol: 2, London, Mc Donald, Co. Ltd.
- Bockris J.O.M. ve Reddy A.K.N., 2000. *Modern Electrochemistry 2B: Electrode Processes in Chemistry, Engineering, Biology and Environmental Sciences*. Kluwer Academic

- Publishers. New York. 561.
- Bond A.M., 1980. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker Inc. N.Y.
- Bond A.M., 1999. 200 Years of Practical Electroanalytical Chemistry: Past, Present and Future Directions Illustrated by Reference to the On-Line, On-Stream, and Off-Line Determination of Trace Metals in Zinc Plant Electrolyte by Voltammetric and Potentiometric Techniques. *Anal.Chim.Acta*, 400: 333-379.
- Cheemalapati, Selvakumar Palanisamy, Veerappan Mani ve Shen-Ming Chen, 2013. Simultaneous Electrochemical Determination of Dopamine and Paracetamol on Multiwalled Carbon Nanotubes/Graphene Oxide Nanocomposite-Modified Glassy Carbon Electrode. *Talanta*, 117: 297-304.
- Gregory G. Wildgoose ve Richard G. Compton, 2008. Sensitive Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Paracetamol at Multiwalled Carbon Nanotube Modified Basal Plane Pyrolytic Graphite Electrode. *Analytica Chimica Acta*, 618: 54-60.
- Erdođdu G., 1995. Bazı Biyokimyasal Moleküllerin İletken Polimer Elektrotlardaki Voltametrik Davranışlarının İncelenmesi (Doktora Tezi). İnönü Üniversitesi, Malatya.
- European Pharmacopeia. (2005). 2184-2185.
- Emre D., 2006. Propifenazon, Parasetamol ve Kafeini Birlikte İçeren Farmasötik Preparatlardan Bu Maddelerin Kapiler Elektroforez Yöntemiyle Aynı Anda Analizi (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Engin Ç., 2012. Parasetamol'ün Elektrokimyasal Yükseltgenme Özelliğinden Yararlanarak İlaç Dozaj Formlarından Miktarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Fan Y., Liu J-H., Lu H-T. ve Zhang Q., 2011. Electrochemical Behavior and Voltammetric Determination of Paracetamol on Nafion / TiO₂-Graphene Modified Glassy Carbon Electrode. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 85: 289-292.
- Fischer J. ve Berek J., 2013. Differential Pulse Voltammetric Determination of Paracetamol in Tablet and Urine Samples at a Micro-Crystalline Natural Graphite-Polystyrene Composite Film Modified Electrode. *Electrochimica Acta*, 101: 238-242.

- Ghadimi H., Mohamed N. ve Tehrani R., 2013. Sensitive Voltammetric Determination of Paracetamol by Poly (4-Vinylpyridine)/Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode. *Analytica Chimica Acta*, 765: 70-76.
- Henden E., Gökçel H.İ. ve Ertaş F.N., 2001. Eser Analiz Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilimdalı. İzmir, 151 – 160.
- Huang F., Jin G., Liu Y., ve Kong J., 2008. Sensitive Determination of Phenylephrine and Chlorprothixene at Poly (4-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode. *Talanta*, 1435-1441.
- Jin G., Zhang Y. ve Cheng W., 2005. Poly (p-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode for Simultaneous of Dopamine and Ascorbic Acid. *Sensors and Actuators B*, 107: 528-534.
- Kalvoda R., 2000. Environmental Electroanalytical Chemistry Contemporary Trends and Prospects. *Critic.Rev.Anal.Chem.* 30: 31-35.
- Madrakian T. ve Afkhami A., 2014. Simultaneous Determination of Tyrosine, Acetaminophen and Ascorbic Acid Using Gold Nanoparticles/Multiwalled Carbon Nanotube/Glassy Carbon Electrode by Differential Pulse Voltammetric Method. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 193: 451-460.
- Murray R. W., Ewing A.G. ve Durst A.R., 1987. Chemically Modified Electrodes Molecular Design for Electroanalysis. *Analytical Chemistry*., 59(5): 379A.
- Mohamed F.A. ve Abdullah M.A., 1997 . Selective Spectrophotometric Determination of p-Aminophenol and Acetaminophen. *Talanta*, 44: 61-68.
- Özkan S.A., Özkan Y. ve Şentürk Z., 1998. Electrochemical Reduction of Metronidazole at Activated Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17: 299 – 305.
- Özkan S.A., Biryol İ. ve Şentürk Z., 1994. An Activation Method for Glassy Carbon Electrode. *Tr. J. Chem.*, 18: 34–38.
- Özkan S.A., Şentürk Z. ve Biryol İ., 1997. Voltammetric Determination of Ornidazole in Pharmaceutical Dosage Forms Based on Reduction at An Activate Glassy Carbon Electrode. *International Journal of Pharmaceutics*, 157 (1997): 137-144.
- Rajendra N. Goyal ve Sudhanshu P. Singh., 2006. Voltammetric Determination of Paracetamol at C₆₀-Modified Glassy Carbon Electrode. *Electrochimica Acta*. 51: 3008-3012.

- Sadıkoğlu M., 2005. Camsı Karbon Ve Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrotlar Kullanılarak Bazı Schiff Bazlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi (Doktora tezi). Ankara Üniversitesi.
- Sadıkoğlu M., Taşkın, G., Demirtaş G. F., Selvi B. ve Barut M., 2012. Voltammetric Determination of Uric Acid on Poly(*p*-Aminobenzene Sulfonic Acid)-Modified Glassy Carbon Electrode.
- Saka C., 2008. Migren Tedavisinde Kullanılan İndol Türevi Bileşiklerden Naratriptan'ın Redoks Özelliklerinin İncelenmesi Ve Voltametrik Analiz (Doktora Tezi). Van.
- Sağlıkoğlu G., 2011. Nitroimidazol Türevi Antibakteriyel Etkili İlaç Aktif Maddelerinin Dozaj Formlarından Modifiye ve Modifiye Edilmemiş Elektrotlarda Voltametrik Teknikler ile Kantitatif Analizi (Doktora Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Skoog D.A. ve Leary J.J., 1996. Principles of Instrumental Analysis. 4th Ed. Saunders College Publishing, New York, 538.
- Skoog D.A., Holler F.J., West D.M., 2000. Enstrümental Analiz İlkeleri 7. Baskı. Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve Ark., Bilim Yayıncılık – Ankara, 489 –492.
- Şentürk Z., Özkan S.A., Uslu B. ve Biryol I., 1996. Anodic Voltammetry of Fluphenazine at Different Solid Electrodes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15 (1996): 365-370.
- Svehla G., 1992. *Wilson and Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry. Vol XXVII-Analytical Voltammetry*. Smyth, M.R. and Vos, J.G. (Volume Editors), Elsevier, Amsterdam.
- Tural H., Gökçel H.İ. ve Ertaş F.N., 2003. Enstrümental Analiz 1 Elektroanalitik Yöntemler, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir. 132 –144.
- Türe M., 2009. Fenilefrin Hidroklorür'ün Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Ticari İlaç Formlarından Miktarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Uslu, B., Özkan, S.A. ve Şentürk Z., 2006. Electrooxidation Of The Antiviral Drug Valacyclovir and Its Square-Wave and Differential Pulse Voltammetric Determination in Pharmaceuticals and Human Biological Fluids. *Anal.Chim.Acta*, 555: 341-347.
- Wang, J. 2000. Analytical Electrochemistry. Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2ND ed

ISBN 0-471-28272-3.

- Yağmur S., 2005. Famotidin ve Natamisin'in Voltametrik Teknikler ile Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi ve İlaçlarda Kantitatif Tayinleri (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Yang Z., Hu G., Liu Y., Zhao J. ve Zhao G., 2006. Poly (p-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode for Selective Determination of Hydroquinone in the Presence of Catechol and Resorcinol, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 52 (1): 11-17.
- Yıldız A. ve Genç Ö., 1993. Enstrümental Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, 352.
- Yılmaz S., 2012, Elektroanalitik Kimya, Kriter Yayınları, İSTANBUL.
- Zidan M., Tee T.W., Abdullah A.H. ve Kheng G.J., 2010. Electrochemical Oxidation of Paracetamol Mediated by Zinc Oxide Modified Glassy Carbon Electrode. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(12): 6025–6030.
- Zuman P., Fijalek Z., Dumanovic D. ve Suznjevic D., 1992. Polarographic and Electrochemical Studies of Some Aromatic and Heterocyclic Nitro Compounds, Part I: General Mechanistic Aspects. *Electroanalysis*, 4 (8): 783-794.
- Zuman P. ve Brezina M., 1962. Polarographic Analysis in Pharmacy Progress in Polarography. Vol. 2th Ed. P. Zuman, I.M. Kolthoff, New York, Intersence Publishers.

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 2.1. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler...	22
Çizelge 4.1. 5×10^{-5} M parasetamolün 0,1 M fosfat tamponunda pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi değerleri.....	32
Çizelge 4.2. 1×10^{-5} M parasetamolün fosfat tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi.....	34
Çizelge 4.3. Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri.....	36
Çizelge 4.4. Parasetamolün pH=7,00 fosfat tamponunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen analitik tayin parametreleri.....	38
Çizelge 4.5. Parol tabletlerinden belirlenen parasetamol miktarı ve parasetamolün geri kazanımı.....	40

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1.1. Parasetamolün kimyasal yapısı	1
Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	5
Şekil 2.2. Voltametik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması.....	9
Şekil 2.3. Voltametik tekniklerin genel sınıflandırılması.....	13
Şekil 2.4. Polarografik tekniklerin genel sınıflandırılması.....	13
Şekil 2.5. Normal (doğrusal) taramalı polarografi (voltametri) de gözlenen akım - potansiyel eğrisi.....	14
Şekil 2.6. Normal puls tekniğinde artan genlikteki pulsları içeren uygulama potansiyelinin zamanla değişimi ve elde edilen polarogram.....	15
Şekil 2.7. Diferansiyel puls voltametrisinde gerilim uyarma sinyali ve voltamogramı.....	16
Şekil 2.8. Dönüşümlü voltametride gerilim uyarma sinyali ve tersinir dönüşümlü voltamogram.....	17
Şekil 2.9. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonundayarılan tekniklerin sınıflandırılması.....	19
Şekil 2.10. Karbon elektrot yüzeyine kovalent bağlanma.....	20
Şekil 3.1. GCE yüzeyinde 2×10^{-3} M p-aminobenzensülfonik asidin 0,1 M fosfat (pH=7,00) çözeltisindeki elektrokimyasal polimerizasyonunun, 200 mVs^{-1} tarama hızındaki voltamogramı.....	31
Şekil 4.1. 5×10^{-5} M parasetamolün pik akımına pH etkisi.....	32
Şekil 4.2. 5×10^{-5} M parasetamolün pik potansiyeline pH etkisi	33
Şekil 4.3. 1×10^{-5} parasetamolün 0,1 M fosfat (pH=7) tamponunda, 50-200 mV/s tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı.....	33
Şekil 4.4. 1×10^{-5} M parasetamolün pH=7,00 fosfat tamponunda pik akımı-karekök tarama hızı ($v^{1/2}$ - i_p) grafiği	34
Şekil 4.5. 1×10^{-5} M parasetamolün pH=7,00 fosfat tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması-tarama hızının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$) değişimi.....	35
Şekil 4.6. DPV tekniği ile parasetamolün konsantrasyon-pik akımı değişimi... ..	36
Şekil 4.7. Parasetamolün fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımı - konsantrasyon (C - i_p) grafiği.....	37

Şekil 4.8. 5×10^{-5} M parasetamolün fosfat tamponunda (pH=7,00) poli (4-ABSA)-modifiye camsı karbon elektrotta ve camsı karbon elektrotta elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	39
Şekil 4.9. Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram mekanizması.....	41
Şekil 4.10. Camsı karbon elektrot yüzeyinde 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması..	42
Şekil 4.11. Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.....	42
Şekil 4.12. Camsı karbon elektrot yüzeyinde 4-aminobenzen-sülfonik asitin elektropolimerizasyonu.....	43
Şekil 4.13. Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye camsı karbon elektrotun yapısı.....	43
Şekil 4.14. Parasetamolün poli (4-ABSA)-modifiye camsı karbon elektrotta yükseltgenme mekanizması.....	44

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Zeynep BAŞ
Doğum Yeri : Ordu
Doğum Tarih : 06.08.1989

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü (2011)
Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı (2014)
Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yılı: Omega Boya ve Kimya (Mayıs-Kasım 2013)
İngiliz Kültür Kale Koleji (2013-....)

İLETİŞİM : zzzeynep_89@hotmail.com

