

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

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

Esra Rukiye APAYDIN

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 27/01/2014

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

Esra Rukiye APAYDIN tarafından **PROF. DR. SELEHATTİN YILMAZ** yönetiminde hazırlanan **“OKSKARBAZEPİNİN 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. Hüseyin ERDUGAN

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 27/01/2014

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.

Esra Rukiye APAYDIN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunu planlayan ve tez çalışmalarım sırasında her türlü desteğini gördüğüm değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Selehattin YILMAZ' a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince bilgi ve yardımlarını gördüğüm, Kimya Bölümü Öğretim üyesi Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmalarımda bana vakit ayıran, yardım eden beni yalnız bırakmayan, tecrübelerinde yararlandığım Araş. Gör. Dr. Gülşen SAĞLIKOĞLU ve Araş. Gör. Dr. Sultan YAĞMUR 'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda benden yardım ve desteklerini esirgemeyen grup arkadaşlarım Saide CAN, Esra DEMİRBİLEK, Zeynep BAŞ ve Mustafa Yunus İNAN' a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştiren değerli aileme ve her zaman yanımda olan dostlarıma teşekkür ederim.

Esra Rukiye APAYDIN

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 (Limit of Detection)
LOQ	Kantitatif Tayin Sınırı (Limit of Quantitation)
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
R	Korelasyon Katsayısı
RSD	Bağıl Standart Sapma
$v^{1/2}$	Tarama Hızının Karekökü
n	Voltametrik Hücrede Tekrarlanan Ölçüm Sayısı
NPV	Normal Puls Voltametrisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
CV	Dönüşümlü Voltametri
SV	Sıyırma Voltametrisi
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
CSV	Katodik Sıyırma Voltametrisi
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
PSV	Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi

ÖZET

OKSKARBAZEPİNİN POLİ (p-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ

Esra Rukiye APAYDIN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

27/01/2014, 50

Bu çalışmada, okskarbazepin adlı ilaç etken maddenin elektrokimyasal indirgenme özelliğinden yararlanılarak modifiye camısı karbon elektrotta ticari formundan miktarı belirlendi. Optimum şartları belirlemek için farklı destek elektrolitlerde diferansiyel puls voltametrisi ve dönüşümlü voltametri ile indirgenme özelliği incelendi. Okskarbazepin için modifiye camısı karbon elektrotta keskin pikin ve maksimum akımın gözlemlendiği pH=7,00 fosfat çözeltisi destek elektrolit olarak seçildi. Pik akımına ve pik potansiyeline pH' ın etkisi diferansiyel puls voltametri tekniği (DPV) ile tarama hızının pik akımına etkisi ise dönüşümlü voltametri tekniği (CV) ile belirlendi.

Belirleme sınırı (LOD), kantitatif tayin sınırı (LOQ) ve konsantrasyon aralığı gibi analitik analiz parametreleri belirlendikten sonra, ilaç tabletlerindeki okskarbazepin'in miktarı belirlendi. Uygulanan voltametrik yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile ilaç tabletinden okskarbazepin'in geri kazanım çalışmaları yapıldı. Ayrıca okskarbazepin'in indirgenme mekanizmasında önerildi.

Anahtar Kelimeler: Okskarbazepin, Voltametrik Yöntem, Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV), Dönüşümlü Voltametri (CV), Modifiye Camısı Karbon Elektrot, Ticari İlaç Tabletleri.

ABSTRACT

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

Esra Rukiye APAYDIN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Chemistry Thesis of Master of Science

Advisor: Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

27/01/2014, 50

In this study, active compounds named oxcarbazepine was determined from commercial drug form based on electrochemical reduction properties at modified glassy carbon electrode. In different supporting electrolyte, reduction was examined by differential pulse voltammetry (DPV) and cyclic voltammetry (CV) to determine the optimum conditions. Glassy carbon electrode, using the electropolymerization technique, was modified with p-aminobenzenesulfonic acid. pH=7,00 phosphate solution in which sharp peak and maximum current was observed, at ultra trace graphite electrode for oxcarbazepine, 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 parameters, such as; limit of quantitation (LOQ), limit of detection (LOD) and range of concentration had been determined, quantitative of oxcarbazepine was determined from drug tablets. In order to check accuracy and precision of applied voltammetric method, recovery experiment of oxcarbazepine was carried out from the drug tablet. Also, reduction mechanism of oxcarbazepine was proposed.

Keywords :Oxcarbazepine, Voltammetric Method, Differential Pulse Voltammetry (DPV), Cyclic Voltammetry (CV) , Modified Glassy Carbon Electrode, Commercial Drug Tablets.

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	3
2.1. Elektroanalitik Yöntemler.....	3
2.2. Voltametri.....	4
2.3. Voltametrinin Çalışma Prensibi.....	6
2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri.....	6
2.4.1. Voltametrik kap.....	6
2.4.2. Destek elektrolit.....	7
2.4.3. Çalışma (indikatör) elektrodu.....	7
2.4.3.1. Cıva kökenli elektrotlar.....	9
2.4.3.1.1. Damlayan cıva elektrot (DCE).....	10
2.4.3.1.2. Asılı cıva damla elektrot.....	10
2.4.3.1.3. Cıva film (zar) elektrotlar.....	10
2.4.3.2. Katı elektrotlar.....	11
2.4.3.2.1. Platin elektrot.....	12
2.4.3.2.2. Altın elektrot.....	12
2.4.3.2.3. Bizmut elektrot.....	12
2.4.3.2.4. Karbon elektrotlar.....	12
2.4.3.2.4.1. Elmas.....	13
2.4.3.2.4.2. Grafit elektrot.....	13
2.4.3.2.4.3. Karbon pasta elektrot	13
2.4.3.2.4.4. Camsı karbon elektrot.....	13
2.4.3.2.4.5. Emreyene karbon elektrotlar.....	14
2.4.3.2.4.6. Pirolitik grafit elektrot.....	14
2.4.3.2.4.7. Mikro karbon (lif) elektrotlar.....	14
2.4.3.3. Dönen disk ve halka disk elektrotlar.....	14
2.4.3.4. Modifiye elektrotlar.....	15

2.4.3.4.1. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan metotlar.....	16
2.4.3.4.2. Kompozit elektrotlar.....	18
2.4.3.4.3. Kimyasal modifiye elektrotlar.....	18
2.4.4. Karşılaştırma (referans) elektrodu.....	19
2.4.5. Yardımcı (karşıt) elektrot	20
2.5. Voltametrik Teknikler.....	21
2.5.1. Polarografi	21
2.5.2. Puls voltametrisi.....	22
2.5.2.1. Normal puls voltametrisi (NPV).....	22
2.5.2.2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV).....	23
2.5.2.3. Kare dalga voltametrisi (SWV).....	23
2.5.3. Dönüşümlü voltametri (CV).....	23
2.5.4. Sıyırma voltametrisi (SV).....	24
2.5.4.1. Anodik sıyırma voltametrisi (ASV).....	24
2.5.4.2. Katodik sıyırma voltametrisi (CSV).....	24
2.5.4.4. Potansiyometrik sıyırma voltametrisi (PSV).....	24
2.5.4.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV).....	24
2.6. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler.....	25
2.7. Okskarbazepinin Voltametrik Teknikler İle İlaçlardan Tayini.....	27
2.8. Camsı karbonun Poli(4-ABSA) ile Modifiye Edilmesiyle İlgili Çalışmalar	28
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM	30
3.1. Materyal	30
3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler	30
3.1.2. Kullanılan cihazlar	30
3.2. Yöntem	30
3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	31
3.2.2. Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesi.....	31
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Okskarbazepinin Modifiye Elektrotta Çalışma Ortamının Belirlenmesi	33
4.2. Akım Türünün Belirlenmesi	34
4.3. Analitik Çalışma (Konsantrasyon) Aralığının Belirlenmesi.....	36
4.4. Okskarbazepinin 4-(ABSA)-Modifiye Elektrotta İndirgenmesi.....	39

4.5. Okskarbazepinin Modifiye Elektrotta İlaçtan Miktarının Belirlenmesi ve Geri Kazanımı	40
4.6. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonik asitin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması	41
4.7. Okskarbazepinin Poli(4-ABSA)-Modifiye Camsı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal İndirgenme Mekanizması	45
BÖLÜM 5 – SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR.....	47
Çizelgeler.....	x
Şekiller.....	x
Özgeçmiş.....	x

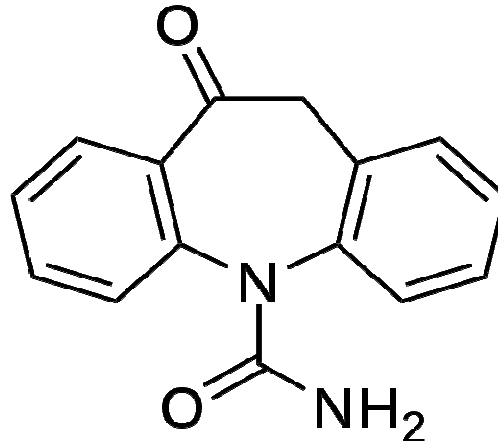
BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Okskarbazepin, epilepsi tedavisinde temel olarak kullanılan bir antikonvülsan ve ruh halini dengeleyen bir ilaçtır (Şekil 1.1.). Bu ilaç aynı zamanda ruh bozukluklarını ve iyi huylu motor tiklerini tedavi etmek içinde kullanılır. Okskarbazepin Novartis tarafından Trileptal olarak pazarlanmaktadır (Wikipedia, 2014).

Okskarbazepin nispeten yeni olan ve farmakokinetik özellikleri ve etkinliği açısından karbamazepinden daha iyi olduğu düşünülen bir antikonvülsandır (Binel, 2009).

Epilepsi tedavisinde diğer ilaçlara nazaran okskarbazepinin ruh halini yükseltici ve anksiyete semptomlarını azaltıcı etkisi olduğu bulunmuştur (Wikipedia, 2014).

Karbamazepinin yapısal bir türevi olan okskarbazepin dibenzazepin halkası üzerinde 10 konumunda (10 keto) C=C çift bağının yerinde bir keton ile bulunur. Bu fark ilacı metabolize eden karaciğer üzerindeki etkiyi azaltmaya yardımcı olur ya da bazen karbamazepinle ilişkili agranülositozun ve aneminin ciddi formlarını engeller (Wikipedia, 2014).

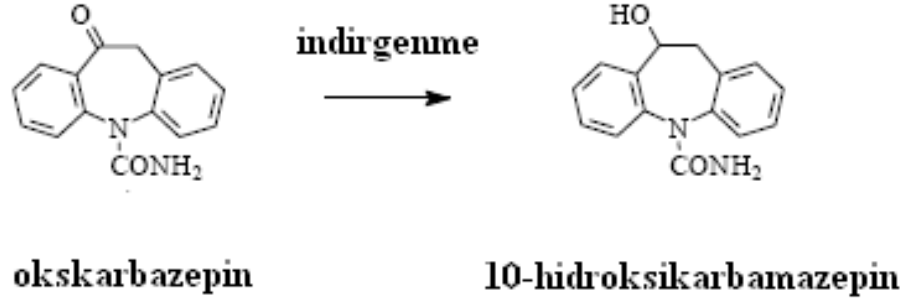


Şekil 1.1. Okskarbazepin'in kimyasal yapısı (Wikipedia, 2014).

Voltametrde kullanılan modifiye edilmemiş elektrotların analizleri sınırlamasından dolayı bu elektrotlar modifiye edilip geliştirilerek ve istenilen analizler başarıyla gerçekleştirilmektedir. Bu tez kapsamında yapılacak olan çalışmanın ilk bölümünde okskarbazepinin 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.

Biyotransformasyon sonucu indirgenerek uğrayarak 10-hidroksikarbamazepine dönüşür ve antikonvülsan etkisini de bu metaboliti üzerinden gösterir (Binel, 2009).



Şekil 1.2. Okskarbazepin'in indirgenme reaksiyonu (Binel, 2009).

BÖLÜM 2**ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR****2.1. Elektroanalitik Yöntemler**

Elektroanalitik Kimya, çözeltilerin elektrokimyasal bir hücre içinde elektriksel özelliklerinin ölçülmesi ve bu ölçülen özelliklerinden yararlanılarak maddelerin kalitatif ve kantitatif analizine dayanan teknikleri içeren Analitik Kimyanın önemli bir dalıdır. Bir başka deyişle ise maddenin elektrik enerjisi ile etkileşmesi sonucu oluşan kimyasal ve fiziksel değişimler ile kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüştürülmesini inceleyen bilim dalıdır (Yılmaz, 2012).

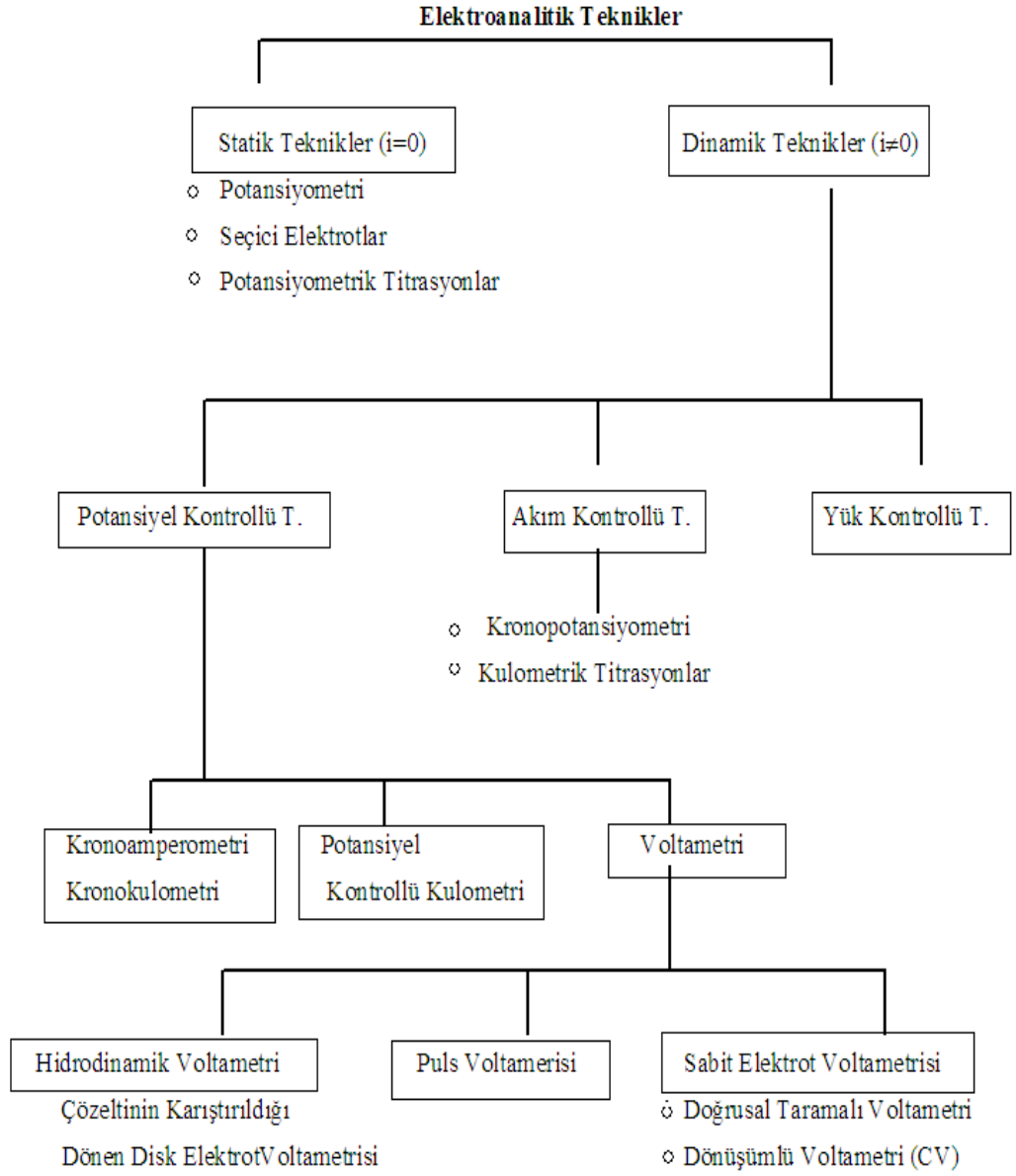
Elektrokimya, çözücülerde homojen ya da elektrot/çözücü ara yüzeyinde heterojen biçimde meydana gelen yük ayrılması ve yük aktarımı ile ilişkili olan olaylarla ilgilenir. Elektrokimyanın temelleri uzun bir geçmişe dayanır ve 200 yıl önce Volta'nın elektrik pilini (1799) keşfi ile başlar. Son yıllardaki ilerlemeler ise oldukça fazladır. Günümüzde, bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar ve küresel enerji ve çevre sorunlarının çözümüne gerekli katkılar yapar (Izutsu 2002).

Elektrokimya, elektriksel ve kimyasal etkilerin birbiri arasındaki ilişkilerinin incelenmesine dayanan bir kimya dalıdır. Elektrokimyanın büyük bir kısmı, bir elektrik akımının geçmesinin sebep olduğu kimyasal değişikliklerin araştırılıp incelenmesiyle ve kimyasal reaksiyonlar sonucu elektrik enerjisinin üretilmesiyle ilgilenir. Aslında elektrokimya, çok sayıda farklı olayların, araçların ve teknolojilerin yer aldığı bir daldır (Bard and Faulkner 2001).

Elektroanalitik teknikler, akım, potansiyel veya yük gibi elektrokimyasal büyüklükleri ölçerek ve ölçülen bu kimyasal parametrelerle aralarındaki ilişkilerini araştırarak elektrik ve kimyanın birbiriyle etkileşimini inceler. Elektriksel ölçümlerin bu tip analitik amaçlı kullanımı, çevresel görüntüleme, endüstriyel kalite kontrol ve biyomedikal analiz olmak üzere çok yaygın bir şekilde uygulama alanı bulmaktadır. Kimyasal ölçümlerin çoğu homojen çözeltilerinde yapılırken, elektrokimyasal çalışmalar ise elektrot-çözelti arayüzeyinde gerçekleştirilmektedir (Wang, 2000).

Elektrokimyasal tekniklerde, elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki uygulanır ve sistemin verdiği cevap ölçülür. Daha çok akım olarak ortaya çıkan bu cevap, sistemin özellikleri hakkında bilgi verir. Hemen hemen bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri bulunur. Bu parametrelere tekniğin adında yer verilir. Örneğin, voltametri, kronoamperometri, kronokulometri gibi adlandırmalarda sırasıyla potansiyel-akım, zaman- akım ve zaman-yük parametrelerinden teknik hakkında kabaca bilgi edinilebilir (Tekin, 2008).

Elektroanalitik tekniklerin çok farklı sınıflandırmaları vardır. En yaygın sınıflandırma biçimi Şekil 2.1’de şema halinde verilmiştir.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması (Özdemir, 2006).

2.2. Voltametri

Voltametri; yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen elektroaktif (elektrot tepkimesine giren) organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden uygun olan koşullarda elde edilen akım şiddeti – potansiyel eğrilerinin (voltamogramların) özelliklerini inceleyip, değerlendiren analiz tekniğine denir. Bir başka deyişle ise voltametri, bir indik特ör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlarda, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden yararlanılarak analit hakkında

bilgi edinilen birçok elektroanalitik tekniği kapsar (Yılmaz, 2012).

Voltametrinde, çalışma elektrodunun potansiyeli bir potansiyometre yardımıyla referans elektroda karşı değiştirilerek hücreden (üç elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot arasından, iki elektrotlu sistemlerde ise çalışma elektrotu ile referans elektrot arasından) geçen akım galvanometre yardımıyla ölçülür. Ölçülen bu akımın uygulanan potansiyele karşı grafiği çizilir. Bu grafikteki akım potansiyel eğrilerine voltamogram adı verilir (Bond, 1980).

Voltametrinin gelişimi, Çekoslovak kimyacı olan Heyrovski tarafından 1922 yılında bulunarak, geliştirilen ve voltametri yönteminin özel bir tipi olan ‘‘polarografi’’ ile başlamıştır. Bu buluş sayesinde Heyrovski 1959 yılında Kimya Nobel ödülünü kazanmıştır. Bununla birlikte elektrokimyasal önderiştirmeye ilişkin kimi fikirler öne sürülmekle birlikte, sıyırma teknikleri olarak adlandırılan duyarlı tekniklerin doğuşu ise 1950’li yıllarda Kemula’nın asılı civa damla elektrodunu (ACDE) geliştirmesi ile başlamıştır. Sıyırma tekniklerinin duyarlılığının iyi olmasının sebebi tayin edilecek maddenin elektrot yüzeyinde küçük bir hacimde önderiştirilmesinden ileri gelmektedir. Bu önderiştirme işlemi, elektroda uygulanan potansiyel altında ve çözelti karıştırılarak yürütülür. Ardından potansiyelin anodik veya katodik yönde taranarak yüzeyde deriştirilen maddeye ilişkin akım potansiyel eğrilerinden gidilerek analiz gerçekleştirilir. 1970’li yıllarda diferansiyel puls yönteminde cihazlarda yer almasıyla birlikte daha duyarlı ölçümlere olanak sağlanmıştır. Böylelikle spektroskopik tekniklerde gözlenen atılımla birlikte laboratuarlardan giderek uzaklaştırılan voltametrik cihazlar, duyarlılık ve seçicilik yönünden büyük artışlar sağlayan değişikliklerle yeniden laboratuarlara geri dönmüştür (Henden ve Diğ., 2001).

İlaç analizlerinde kullanılan kromatografik ve fotometrik yöntemlere alternatif yöntem olarak nitelendirilen modern voltametri bu yöntemlerle yarışmalı olmaktan çok onları tamamlayıcı niteliktedir. Ayrıca uygulanan yöntemin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile birleştirilmesiyle, kompleks karışımların analizinde de başarıyla uygulanması sağlanmıştır (Wang, 1985).

Bu yöntemlerin diğer analitik tekniklere üstünlüğü ise; az miktarlardaki maddelerin analiz için yeterli olmaları, ucuz olmaları, kolay uygulanabilir olmaları, analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç duyulmaması, fazla çözücü gerektirmemeleri ve yöntemin hassas olmasıdır (Zuman ve Brezina, 1962; Kissinger ve Heineman, 1996).

Modern voltametri yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin yanında, adsorpsiyon işlemleri ile de ilgilenen kimyacılar için son derece kullanışlı bir metot olarak kullanılmaya devam etmektedir (Skoog, 1996; 2000).

2.3. Voltametrinin Çalışma Prensibi

Voltametri tekniğinin çalışma prensibi; elektrokimyasal hücrede bulunan ve polarize olabilen bir çalışma (indikatör) elektrodu ile karşılaştırma (referans) elektrodu arasında değeri zamanla değiştirilen potansiyel uygulanarak üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı (karşıt) elektrot, iki elektrotlu hücrelere ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki akımın ölçülmesine dayanır (Yıldız ve Genç, 1993; Bond, 1980).

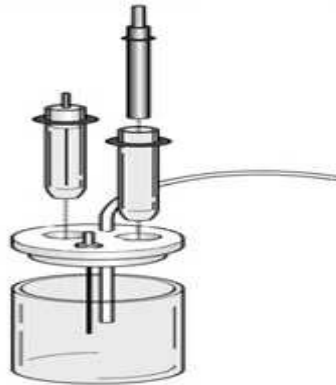
Hücreye uygulanan potansiyel sürekli artırılarak voltamogram adı verilen potansiyel-akım eğrisi elde edilir. Bu teknikte çalışma elektrodu olarak katı elektrotlar kullanılırsa elde edilecek olan bu eğriye voltamogram, çalışma elektrodu olarak civa elektrodu kullanılırsa elde edilecek bu eğriye polarogram adı verilir (Yılmaz, 2012).

2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri

Voltametrik hücrenin bileşenleri; voltametrik kap, destek elektrolit, çözücü, çalışma elektrodu, karşılaştırma (referans) elektrodu ve yardımcı (karşıt) elektrottan oluşur (Yılmaz, 2012).

2.4.1. Voltametrik kap

Voltametrik analizlerde kaplar cam, kuartz veya teflondan oluşur ve bu kaplarda yürütülür. Kabın yapıldığı malzeme ise kirlenme ve adsorpsiyon yanılgılarının en az olduğu maddelerden seçilir (Henden, 2001).



Şekil 2.2. Deney hücresi (Yılmaz, 2012).

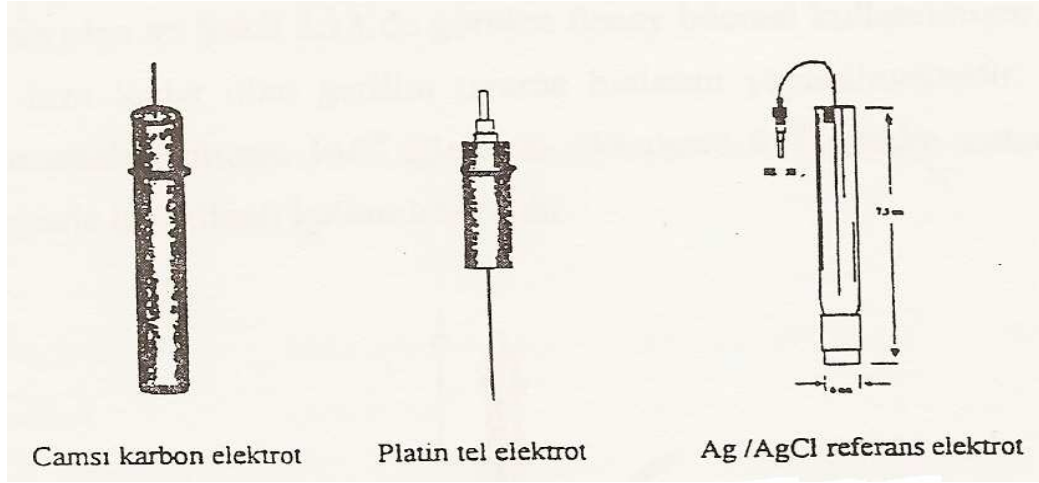
2.4.2. Destek elektrolit

Hücre içindeki çözeltilerde analizi yapılacak maddeden (analitten) başka bir madde daha bulunur. Bu maddeye, destek maddesi veya destek elektroliti denir. Destek elektrolit deney koşullarında elektroaktif olmayan (elektrolizlenmeyen) maddedir. Hidrodinamik voltametriye iyonların elektrik çekim etkisiyle elektrotlara göç etmelerini en aza indirmek amacıyla destek elektroliti ilave edilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu, analizi yapılan maddenin konsantrasyonunun en az 100 katı olması gerekir. Bu şartlarda analizi yapılanın elektrik etkisiyle elektroda doğru göçü ve bundan dolayı taşıdıkları elektrik miktarı ihmal edilecek seviyeye gelir. Bu da analizi yapılacak iyonun, zıt yüklü elektroda doğru çekiminin veya göçünün elektroda uygulanan potansiyelden artık bağımsız hale geldiğini gösterir (Yılmaz, 2012).

Voltametriye destek elektrolit, analit çözeltisine fazla miktarlarda eklenen bir tuzdur. En yaygın olan tuzlar analit analizinde kullanılan potansiyelde mikroelettrotta reaksiyona girmeyen alkali metal tuzlarıdır. Bundan dolayı ortama KCl, KNO₃ gibi bir inorganik tuz, bir mineral asidi veya baz katılabilir. Sitrik asit / sitrat veya asetik asit / asetat gibi tampon sistemleri pH kontrolünü gerektiğinde destek elektrolit olarak kullanılabilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu ise genellikle 0,1 M dolayındadır. Bu seviye ise minimum kirlilik ile yüksek iletkenlik arasındaki bir ara değerdir. Çalışmalarda destek elektrolit konsantrasyon aralığı 0,01-1,0 M arasında değişir. Ohmluk düşmelerdeki değişimlerden sakınmak için ise destek elektrolit konsantrasyonu örnekten örneğe hep aynı şekilde olmalıdır. Destek elektrolit hazırlanmasında kullanılan reaktifler mutlaka çok yüksek saflıkta olmalıdır (Erdoğan, 1995).

2.4.3. Çalışma (İndikatör) elektrodu

Çalışma elektrodu, üzerinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği elektroda denir. Potansiyeli zamanla değişen mikro elektrottur. İndirgenme-yükseltgenme olayı bu elektrotta gerçekleşir (indikatör veya mikro elektrot da denir) (Can, 2013).



Şekil 2.3. Kullanılan deney elektrotları (Can, 2013).

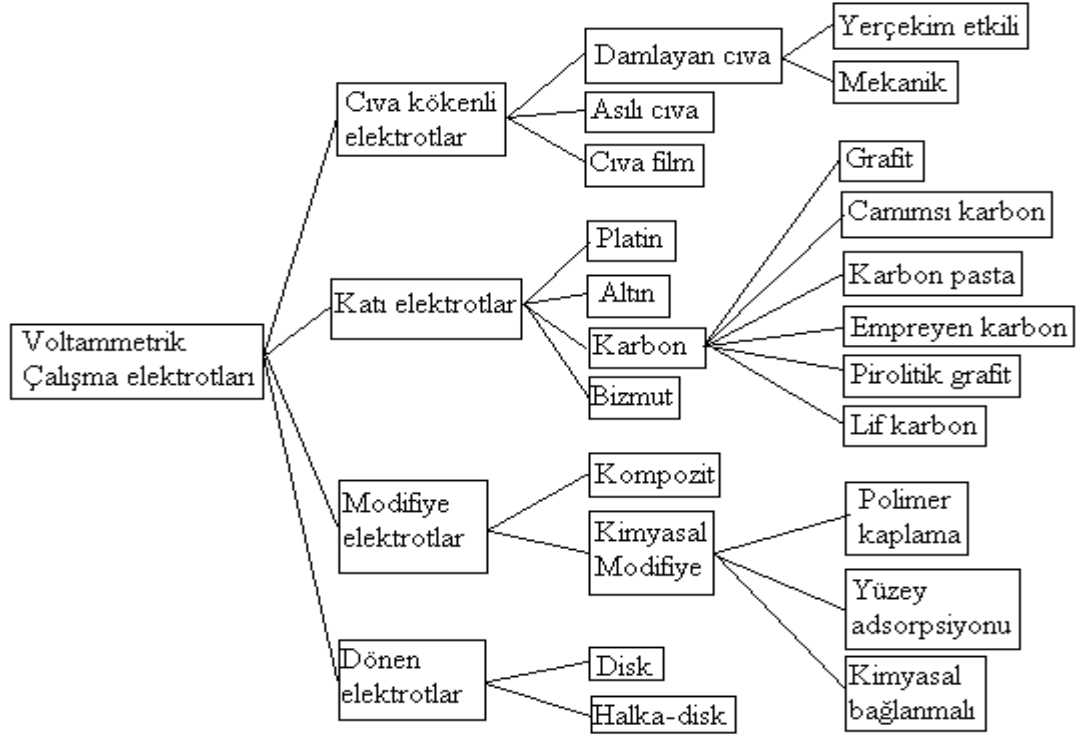
Voltametrik tekniklerde kullanılan çalışma elektrotlarında polarlanmanın olabilmesi için küçük yüzey alanına sahip olmalıdır. Bundan dolayı kullanılacak olan çalışma elektrotları mikro elektrotlardır. Mikro elektrotların kullanılmasından dolayı örnekteki elektroaktif türlerin çok küçük bir miktarı elektrokimyasal tepkimeye girmektedir. Böylece örneğin bileşimi hemen hemen neredeyse aynı kalmaktadır. Bunun sonucunda ise aynı örneğin defalarca voltamogramı alınabilmektedir (Yılmaz, 2012).

Çalışma elektrotu ile referans elektrot arasında potansiyel uygulanırken buna karşılıklıta çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında ise akım kaydedilir (Türe, 2009).

Genel olarak bir çalışma elektrodu iletken, çalışılan potansiyel aralığında inert, negatif potansiyel sınırı yüksek olmalı, istenilen geometrik şekil kolaylıkla verilebilir ve kolay işlenebilir olmalıdır. Buna camı karbon çalışma elektrodu örnek olarak verilebilir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Camı karbon çalışma elektrodu (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.5. Voltammetrik çalışma elektrotlarının genel bir sınıflandırılması (Yılmaz, 2012).

2.4.3.1. Cıva kökenli elektrotlar

Cıva elektrotlar, üzerinde hidrojenin çıkış potansiyelinin büyük olması nedeniyle, oldukça geniş bir katodik bölgede çalışma potansiyel aralığına ve her damlada yenilenen elektrot yüzeyine sahiptirler. Metallerle malgama oluşturmalarından dolayı, metal iyonlarının metalik halde önderiştirilmesini sağlarlar. Bu özelliklerinden dolayı da voltammetride oldukça geniş bir kullanım alanı bulurlar (Yılmaz, 2012).

Voltametri tekniğinde kullanılacak olan cıvanın çok saf, içindeki safsızlıkların ppm düzeyinden daha düşük olması gerekir (Saf cıva ticari olarak temin edilebilir). Ancak bu saflıkta olmayan cıva için ise %10'luk nitrik asitle iyice çalkalandıktan sonra saf su ile yıkanıp kurulanır. Daha sonra düşük basınç altında damıtılır. Ancak bu işlemin cıva buharlarının zehirli olması nedeniyle, titizlikle yapılması gerekir (Yılmaz, 2012).

Cıva mikroeletrotları voltametri tekniğinde birkaç sebepten dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebeplerden birisi de elektrotlarla kullanılabilecek negatif potansiyel sınırının çok yüksek olmasıdır. Ayrıca kolayca oluşturulabilen yeni bir damla ile taze bir metalik yüzey oluşturulabilir. Buna ek ise pek çok metal iyonu bir cıva elektrodunun yüzeyinde amalgam oluşturmak suretiyle tersinir olarak indirgenmektedir ki, olayın

kimyası basittir (Skoog ve diğ., 1996).

Bundan dolayı elektrot yüzeyindeki ürünün çözeltiye geri kazanımı katı elektrotlara oranla civa damla elektrotlarında daha kolay gerçekleşmektedir. Ayrıca civa elektrotlarla çok daha geniş negatif potansiyel aralıklarında çalışmak mümkündür. Konsantrasyonu 1 ppb'den düşük çözeltilerin tayinlerinde civa damla elektrodu, 1 ppb'den daha düşük çözeltilerin tayininde ise civa film elektrodu tercih edilebilir (Riley, T., Watson, A., James, A.M, 1987).

Civa mikroeletrotlar bazı sebeplerden dolayı voltametriye yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebepler;

- Nispeten büyük, negatif potansiyel aralığında çalışma olanağı sağlarlar.
- Oluşan yeni bir damla ile kolayca taze bir metalik yüzey oluşturulabilir. Taze bir yüzey hazırlanabilmesi ise voltametriye ölçülen akımların temizliğe ve düzensizliklerin olmamasına duyarlı oldukları için çok büyük önem arz etmektedir.
- Birçok metal iyonunun civa elektrot yüzeyinde indirgenmesi işlemi kimyasal reaksiyonları basitleştirir (Greef ve ark., 1990).

2.4.3.1.1. Damlayan civa elektrot (DCE)

İç çapı 0,03-0,08 mm olan ince bir cam kılcal borunun (kapiler) civa deposuna bağlanması ile oluşturulan bu elektrotlar, bu kılcal borudan civanın damlatılması ile yer çekimin etkisiyle ve mekanik yolla gerçekleştirilebilir ve genelde alanı 2-6 mm² olan damlalar oluşturulur (Yılmaz, 2012).

2.4.3.1.2. Asılı civa damla elektrot

Asılı civa damla elektrotları bir civa deposuna bağlı bir kılcal borudan oluşur. Damla bir vida düzeneği yardımıyla kılcal borunun ucunda oluşturulur ve istenilen büyüklükteki civa damlası vidanın belli bir oranda döndürülmesi ile elde edilir. Civa damlasının büyüklüğü ise kılcal boru ucunda oluşan damlanın düşürülüp tartılması ile saptanır (Yılmaz, 2012). Damla analiz boyunca sabit kalır, biriktirme süresi uzadıkça sıyırma piki genişler.

2.4.3.1.3. Civa film (zar) elektrotlar

Civa film (zar) elektrotlar, inert bir destek üzerine, 1-100 µm düzeyinde ince bir civa film kaplanarak oluşturulurlar. İnert destek olarak ise genellikle platin, altın, grafit ve camsı karbon kullanılır. Bu destekler bir tel ya da disk formunda olabilirler. Durağan bir elektrot olarak kullanılabildikleri gibi ayrıca dönen elektrot olarak da kullanılabılırler

(Yılmaz, 2012).

2.4.3.2. Katı elektrotlar

Katı elektrotlar soy metallerden veya karbondan elde edilir (Henden ve Diğ., 2001). Voltametri de kullanılan katı elektrotlar; platin, altın, rutenyum gibi inert metaller (Biryol ve ark., 1995; Gerlache ve ark., 1997a; Lu, 2002), pirolitik grafit ve camı karbon (Özkan ve ark., 1998; Şentürk ve ark., 1998), çinko oksit, iridyum oksit gibi yarı iletken elektrotlardır (McBreen ve Gannon, 1985; Kodintsev ve Trasatti, 1994). Tel, levha, disk şeklinde olan katı elektrotların sabit, döner ya da titreşen tipleri vardır (Biryol ve ark., 1989; Şentürk, Z., 1991; Şentürk ve ark., 2000).

Cıva kökenli elektrotların anodik bölgede çalışma aralığı dardır. Daha pozitif potansiyellerde gerçekleşen yükseltgenme olaylarının incelenmesi gerektiğinde elektrot çalışma penceresinin buna izin vermesi, başka bir ifadeyle elektrot malzemesinin anodik çözünmesinin daha pozitif potansiyellerde olması gerekir. Bu özelliğe sahip olan platin, altın gibi soy metaller ve karbon gibi materyaller elektrot yapımında kullanılır. Bu yöntemle elde edilen katı elektrotlar daha geniş anodik çalışma bölgesi sağlamakla birlikte; kimi sorunlara da neden olur. Deney boyunca elektrot yüzeyine adsorblanmış veya birikmiş safsızlıklardan dolayı katı elektrotlar son derece düzensiz davranış gösterirler. Katı elektrotlarda, cıva elektrotta olduğu gibi elektrot yüzeyinin yenilenmesi özelliği olmadığından tekrar edilebilir sonuçların alınabilmesi için katı elektrotların yüzeyinin her ölçümden önce temizlenmesi gerekir. Ön işlem adı verilen bu işlemler her metal için ise kendine özgü olmaktadır (Wang ve ark., 1985; Fagan ve ark., 1985; Özkan ve ark., 1994).

Voltametri de farklı tipte katı elektrotlar kullanılmaktadır. Soy metal elektrotlar, modifiye elektrotlar bunlardan sadece iki tanesidir. Yeni elektrot şekil ve tasarımı amacı ile geliştirilen modifiye elektrotlar, yeni yüzey temizleme yöntemleri, elektroanaliz yöntemleri (puls dalga formları, adsorptif teknikler, sıyırma) sayesinde, farmasötik preparatlardaki ve vücut sıvılarındaki aktif bileşenler, safsızlıklar, ana ürünler ve metabolitler oldukça geniş tayin sınırlarıyla ($\sim 10^{-11}M$) seçicilikte ve hızlı bir şekilde doğrudan analiz edilebilmektedirler (Wang ve ark., Özkan ve ark., 1994).

Voltametri analizinde kullanılan katı elektrotlar; platin elektrot, altın elektrot, bizmut elektrot ve karbon grubu (grafit, camı karbon, karbon pasta, empreyen karbon, pirolitik grafit ve lif karbon) elektrotlardır.

2.4.3.2.1. Platin elektrot

Platin telden yapılan bu elektrot, voltametrde en çok kullanılan elektrotlardan biridir. Platin tel bir cam tübe monte edilmiştir. Eskiden inert olarak dikkate alınmasına karşın; günümüzde, yüzeyinde gaz adsorplaması ve oksit oluşumundan dolayı voltametrik davranışları engelleyebileceği belirtilmektedir. Platin üzerinde oluşan hidrojen aşırı gerilimi pratikçe ihmal edilebilir. Platin elektrotlar, biyolojik örneklerin incelenmesi bakımından da uygundur. Yüksek duyarlılığa sahip olması ve iyi tekrarlanabilirliği nedeniyle dönen platin elektrot amperometrik titrasyonlarda kullanılabilir (Aycan, 1994). Voltametrik yöntemlerde mikro elektrot olarak ya da modifiye edilerek kullanılabilir (Henden ve ark., 2001).

2.4.3.2.2. Altın elektrot

Altın, inert bir metaldir ve voltametrde, indikatör elektrot olarak kullanılır. Platin ile karşılaştırıldığında ise hidrojen aşırı geriliminin daha yüksek olduğu görülür. Ayrıca altın önemli miktarda hidrojen adsorplamaz. Böylece bazı katodik prosesleri incelemek amacıyla uygun bir elektrottur (Aycan, 1994).

Altın elektrotlar özellikle civa analizlerinde döner disk veya altın film elektrot şeklinde kullanılır. 1 M HClO₄ çözeltisi için altına ilişkin anodik sınır +1,50 V'tur. Ancak pratikte ise bu sınır elektrot yüzeyinde oksit oluşumu nedeniyle +0,80 V olarak bulunmuştur. Klorür varlığında ise bu sınır daha da negatif değerlere kayar (Henden ve ark., 2001).

2.4.3.2.3. Bizmut elektrot

Hidrojenin bizmut üzerinden çıkış aşırı potansiyelinin yüksek olmasından dolayı bizmutun katodik bölgede kullanılma olasılığını ortaya koymuştur. Asetik asit - asetat tamponunda (pH= 4,70) -0,20 ve - 1,20 V potansiyel aralığına sahiptir. Bizmut elektrot uçucu ve zehirli olmaması civaya göre üstünlüğüdür (Tural, 2003).

2.4.3.2.4. Karbon elektrotlar

Karbon elektrotlarla yapılan voltametrik çalışmalarda hem yükseltgenme, hem de indirgenme bölgesinde geniş bir çalışma aralığına imkan tanımaktadır (~ -1,80 V - +1,80 V (sulu ortamda)) (Tunçel ve ark., 1984).

Karbon elektrotlar geniş bir potansiyel aralığında cevap verir. Elektriksel direnci ve artık akım değeri de düşük olmasından dolayı birçok çalışmada yeğlenir (Henden ve ark., 2001).

Karbonun değişik formları, çalışma elektrodu yapımında kullanılır. Bunlar; spektroskopik saflıktaki grafit, karbon pasta, pirolitik grafit (kömürden ısıl yöntemle elde edilen), camsı karbon gibi türlerdir (Aycan, 1994).

Katı elektrotlar grubunda olan karbon elektrotların; geniş gerilim aralığında çalışılmasına olanak sağlamaları, düşük artık akım göstermeleri, zengin yüzey kimyasına sahip olmaları, ucuz olmaları, kimyasal olarak inert olmaları ve dedektör olarak uygulamada yer almaları (elektrokimyasal dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi) nedeniyle elektroanalizde kullanılışı son yıllarda çok büyük bir önem kazanmıştır. Buna karşılık ise karbon yüzeylerde gözlenen elektron aktarım hızları metal elektrotlardan daha yavaştır (Wang, 2000). En popüler olan karbon elektrot materyalleri; camsı karbon, karbon pasta, karbon fiber'dir.

2.4.3.2.4.1. Elmas

Elmas, elektrik akımını iletmez. Elektrokimyada, metal yüzeylerin temizlenmesinde toz olarak kullanılmasıyla sınırlıdır (Can, 2013)

2.4.3.2.4.2. Grafit elektrot

Elektrokimyasal çalışmalarda geniş bir kullanım alanına sahiptir. Grafit doğada doğal olarak oluşur. Doğal olarak bulunan grafit elektrotların kül içeriği (% 5 - % 20) kullanımını sınırlar. Bundan dolayı elektrokimyasal çalışmalarda bu grafiti saflaştırıp kullanmak yerine yapay grafitin kullanımı yeğlenir. Grafit, yumuşak ve gözenekli bir materyal olduğundan yüksek adsorbsiyon kapasitesi vardır (Tural ve ark., 2003).

2.4.3.2.4.3. Karbon pasta elektrot

Karbon pasta elektrotlar ise toz halinde bulunan grafitin nujol gibi bir sıvı ile karıştırılarak hazırlanır. Ayrıca hazırlama sırasında bazı reaktifler eklenerek, modifiye edilebilir ve belli bir türe seçimli hale getirilebilir (Henden ve ark., 2001).

Düşük artık akım verir ve yinelebilirliği iyidir. Elektrodun yüzeyi, pastanın küçük bir kısmının sıyrılmasıyla periyodik olarak yenilenebilir. Bu elektrot ile sulu ortamda iyi sonuç alınmasına karşın, susuz çözücülerde ise pasta dağılıp, bozulabilir (Aycan, 1994).

2.4.3.2.4.4. Camsı karbon elektrot

Camsı karbon, gaz geçirmeyen ve kimyasal etkilere dirençli izotropik bir madde olup elektrik iletkenliği oldukça iyidir. Elektrot, bir cam tüpün ucuna küçük bir camsı karbon çubuğun eklenmesiyle hazırlanır ve yüzeyi alüminyum ile parlatılır (Aycan, 1994).

Gözenek büyüklüğü ise azaltılarak elde edilen camsı karbon elektrotlar da sıyırma tekniklerinde geniş çapta kullanılmaktadır. Sert bir yüzeye sahip oldukları için mekanik yöntemle parlatılabilir ve ayrıca analiz öncesi potansiyel taranarak, koşullama sağlanır. Camsı karbon elektrotlar akışkan sistemlerde ve sıvı kromatografi ile yürütülen amperometrik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Henden ve ark., 2001).

Camsı karbon, mekanik ve elektriksel özelliklerinden dolayı en fazla uygulama alanı olan bir elektrottur. Düşük yükseltgenme hızı ve yüksek kimyasal safsızlığının yanında çok küçük gözenekli olması ve düşük gaz ve sıvı geçirgenliğinden dolayı inert özelliklere sahiptir. Geniş bir gerilim penceresine sahip olup bu elektrotlar, göreceli olarak tekrar edilebilirliği yüksektir (Jenkins ve Kawamura, 1971, Van der Linden ve Dieker, 1986).

2.4.3.2.4.5. Empreyene karbon elektrotlar

Empreyene karbon elektrotlar, grafitin parafin ve uygun reçinelerle karıştırılması ve eritilip homojenleştirildikten sonra ise metalik iletken içeren bir tübe doldurulmasıyla hazırlanır (Can, 2013).

2.4.3.2.4.6. Pirolitik grafit elektrot

Pirolitik grafit, karbonun bir başka yapay formudur. 1200 °C’ den yüksek sıcaklıklarda metan gibi bir hidrokarbon içeren maddelerin ısı ile işlemle bozundurulması ile elde edilir. Pirolitik grafit elektrodun asitli ortamda doygun kalomel elektroduna karşı çalışma potansiyel aralığı +1,00 V ile -0,80 V’ dir (Can, 2013).

2.4.3.2.4.7. Mikro karbon (lif) elektrotlar

Mikro karbon (lif) elektrotlar, yakın zamanda kullanılmaya başlanan elektrotlardır. Daha çok mikroelettrot olarak kullanılıp, çapları 5-10 µm düzeyinde olan lif şeklindeki karbon telciklerdir ve kare dalga voltametrisinde kullanılır (Can, 2013).

2.4.3.3. Dönen disk ve halka disk elektrotlar

Dönen disk ve halka disk elektrotlar genelde platin ve camsı karbondan yapılırlar. Diğer katı elektrotlar ise doğrudan veya civa ile kaplanarak kullanılabilirler. Dönen elektrotlarla elektrota madde taşınması difüzyonla sağlandığından dolayı durgun elektrotlardan daha büyük akım yoğunluğu sağlarlar (Can, 2013).

2.4.3.4. Modifiye elektrotlar

Voltametrde kullanılan elektrotların sınırlı olmasından dolayı elektrotların kimyasal ya da 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).

Modifiye elektrotların önderiştirme amacıyla kullanımları iki şekilde yürütülebilir;

-Numune (analit) ve destek elektrolitin bulunduğu ortamda biriktirme yapıldıktan sonra yine aynı ortamda voltametrik tayin yapılabilir.

-Numune (analit) ortamında önderiştirme yapıldıktan sonra, elektrot saf su ile yıkanıp, ayrı bir destek elektrolit ortamına aktarılarak da voltametrik tayin yapılabilir (Tural ve ark., 2003).

Modifiye elektrotların özellikleri;

Modifikasyon terim olarak yenilenme anlamına gelmektedir. Voltametrde kullanılan elektrotların sınırlı olmasından dolayı elektrotların kimyasal ya da elektrokimyasal nitelikleri değiştirilerek çalışma koşullarının geliştirilmesiyle modifiye elektrotlar hazırlanır (Yılmaz, 2012).

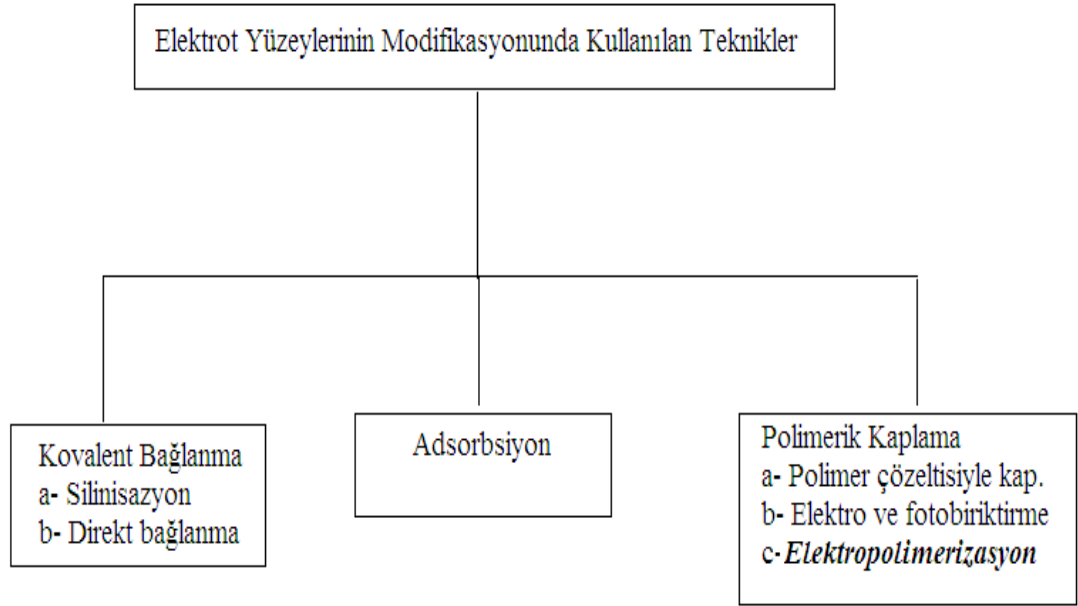
Modifiye edilmemiş katı elektrotların yüzeyleri kararsızdır ve zamanla değişikliğe uğrama olasılığı gibi dezavantajları vardır. Camsı karbon elektrot yüzeyinde oluşması istenen reaksiyon, bir süre sonra yüzeyde meydana gelen oksitlenme ve kirlenme nedeniyle engellenebilir veya farklı mekanizmaya göre yürüyebilir. Bunu önlemek için ise katı elektrotların yüzeyleri modifiye edilir (Yılmaz, 2012).

Genellikle iletken bir substratın modifiye edilmesi işlemiyle modifiye elektrotlar hazırlanır. Böylece modifiye edilmemiş substrattan değişik özellikleri olan istenilen işlevlere uygun elektrotlar elde edilir. Substrat yüzeyleri çok değişik şekillerde modifiye edilerek hazırlanır. Elektrotların hepsi öncelikle elektronik olarak iletken maddeler kullanılarak modifiye edilirler. Karbon, bir metal, bir yarı iletken, bir iletken polimer ya da organometaller substrat madde olarak kullanılabilirler (Yılmaz, 2012).

İyi bir substratın elektriksel iletkenliği yüksek olmalıdır ve korozyona, etkileştiği çözültiden gelen diğer etkilere karşı iyi bir direnç göstermelidir. Kararlılıkları yüksek olduğundan Pt, Au ve C elektrot metaryali olarak çok kullanılırlar. Kararlılık; çeşitli ortamlarda elektrotlar için oldukça önemlidir. Elektrotlar mekanik bakımdan da kararlı olmalıdır. Kullanım süresince elektrot yüzeyinin değişmemiş olması mekanik ve kimyasal yönden kararlılığını gösterir. Bileşikler substrat yüzeyine kovalent bağlarla bağlanacak ise, substrat bağlanma reaksiyonları için elverişli olmalıdır (Yılmaz, 2012).

2.4.3.4.1. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan metotlar

Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan teknikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 2.6. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda kullanılan teknikler (Yılmaz, 2012).

Kovalent bağlanma, silinisasyon ve direkt bağlanma diye ikiye ayrılır.

Silinisasyon, tarihte kullanılan ilk yüzey modifikasyon yöntemidir. Yöntem, trialkoksi ya da triklorosilanlar ile tepkimeye girecek olan yüzey hidroksil ya da oksit gruplarının oluşumunu içermektedir. Silinisasyon reaksiyonları için kullanılan elektrot materyallerinin aralığı çok geniştir. Camsı karbon, pirolitik karbon, platin, altın, metal oksitler ve yarı iletkenler kullanılabilir. Bu yönetime bir alternatif yaklaşım elektrot yüzeyinde termal ön işlemler ile karboksilik asit gruplarının oluşturulmasıdır. Böyle reaktif gruplar asit klorürlerine dönüşüm sonrası ya da direkt olarak modifiye elektrotların hazırlanması için yararlı sentetik geçiş yöntemleri sunarlar (Yılmaz, 2012).

Direkt bağlanma ise, çeşitli karbon elektrotlar ve platin elektrot bu teknik ile kaplanabilir. Karbon elektrotların modifikasyonunda en çok başvuru alan teknik, bir diazonyum tuzunun aprotik bir çözücü ortamında indirgenmesiyle çözeltide bir aril radikali oluşturulması ve bu radikallerin karbon elektrot yüzeyine kovalent bağlarla bağlanmasıdır. GCE, yüzey modifikasyonuna çok uygun olmasından dolayı bu sahada en çok kullanılan elektrotlar arasındadır. Bununla birlikte elde edilen bir modifiye elektrodun yüzeyine, çeşitli kimyasal reaksiyonlarla çok çeşitli maddeler de tutturulabilir. Böylece çok geniş bir elektrot modifikasyon alanı elde edilir (Yılmaz, 2012).

Adsorpsiyon

Adsorpsiyon birkaç bağlanma şekli ile gerçekleşir. Substratın yapısı türler için hareket etme bakımından çözeltiliye göre daha uygun olduğu için pek çok bileşen genellikle çözeltiliden substratın yüzeyine adsorbe olur. Örneğin, sülfüriçeren türler; cıva, altın ve diğer metal yüzeylerine kuvvetlice tutunup, yüzeye tutunan türlerin elektrokimyasal olarak yükseltgenme ve indirgenmesi gözlenebilir (Yılmaz, 2012).

Polimerik kaplama

Polimer filmi ile kaplanmış elektrot yapımında ya önceden kimyasal yöntemle sentezlenen polimerler ile kaplama yapılır ya da doğrudan monomer elektrot yüzeyinde polimerleştirilir. Kimyasal yöntemle elde edilen polimerler iki şekilde elektrot yüzeyine kaplanabilir (Yılmaz, 2012).

a)Elektrot yüzeyinde elektrokimyasal çöktürme:

Elektrokimyasal çöktürme tekniğinde polimer çözeltisine daldırılan elektroda uygun bir gerilim uygulanarak yapılan elektroliz ile polimer elektrot yüzeyinde biriktirilir.

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

Daldırıp kurutma tekniğinde polimerik materyal bir uçucu çözücü de çözülür. Polimer çözeltisi bir mikro pipet yardımıyla bilinen hacimde elektrot yüzeyine aktarılır ve çözücü ondan sonra uzaklaştırılır. Bu havada kurutma ve vakum yoluyla yapılabilir. Eğer düz filmler isteniyorsa çözücü uzaklaştırılması büyük önem taşımaktadır.

Monomerlerin elektrot yüzeyinde doğrudan polimerleştirilmesinde kullanılan üç teknik vardır:

- a) Elektrokimyasal polimerizasyon,
- b) Organosilan kondenzasyonu ve
- c) Plazma polimerizasyonudur.

Elektrokimyasal polimerizasyon

Elektrokimyasal polimerizasyon; çözücü, monomer konsantrasyonu, elektrolit çeşidi, sıcaklık, pH, elektrot maddesi ve uygulanan elektriksel koşullar gibi birçok deneysel değişken içerir. Polimer, potansiyostatik, galvonostatik veya döngülü potansiyel taraması ile biriktirilebilir. Uygulanan elektriksel koşullar ve deneysel değişkenler filmin yapısını, niteliklerini ve polimer üretme hızını etkilemektedir. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal yöntemler Çizelge 2.1’de verilmiştir (Yılmaz, 2012).

Çizelge 2.1. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler

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
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 özgüdür. Polimerler direkt olarak yükseltgenmiş iletken şeklinde, elektrodun yüzeyinde birikir. Bu tür modifikasyona örnek ise camı karbon elektrodun p-aminobenzen sülfonik asitle (p-ABSA) modifikasyonu verilebilir (Yılmaz, 2012).

2.4.3.4.2. Kompozit elektrotlar

Modifiye edici kimyasal madde doğrudan iletken elektrot malzemesine katılıp, karıştırılarak elektrot hazırlanabilir ve bu tür elektrotlara kompozit elektrotlar adı verilir (Can, 2013).

2.4.3.4.3. Kimyasal modifiye elektrotlar

Modifiye edici kimyasal madde elektrot yüzeyine kimyasal bağla veya kimyasal adsorpsiyonla bağlanarak hazırlanabilir. Ayrıca modifiye edici uygun bir monomer elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyona uğratarak ya da elektrot yüzeyinde doğrudan polimer film oluşturularak yine bu tür elektrotlar hazırlanabilir (Can, 2013).

2.4.4. Karşılaştırma (referans) elektrodu

Voltametrde karşılaştırma (referans) elektrot olarak ikinci sınıftan metal-metal iyonu elektrotları kullanılır. Bu elektrotlar küçük akım şiddetlerinde polarlanmazlar. Akım

şiddeti artınca ideal konumlarından saparlar. Ençok kullanılanlar kalomel ve Ag/AgCl elektrotlardır. Bu elektrotlardan anodik akım geçtiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşırı klorürle çökeldiklerinden, elektrot yüzeyindeki derişimleri değişmez ve böylece potansiyelleri akımdan bağımsız olur. Bu elektrotlardan katodik akım geçtiğinde ise, çözünürlükten gelen metal iyonları indirgenir, elektrot yüzeyinde çökelek ayrışarak tekrar aynı denge düzeyinde metal iyonu oluşturur, böylece potansiyel yine değişmeden kalır (Kandaz ve ark., 2011).

Elektroanalitik kimyada karşıt elektrot çalışma elektrodu ile bir çift oluşturan fakat ölçülen potansiyelin büyüklüğünün belirlenmesinde rol oynamayan bir elektrottur (Skoog ve ark., 1996).

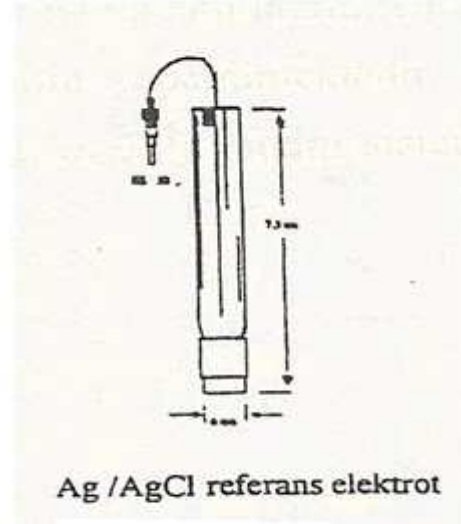
Karşılaştırma elektrotları, bilinen ve sabit bir potansiyel değeri sağlayan ve incelenen çözeltinin bileşiminden etkilenmeyen elektrotlardır. Karşılaştırma elektrodunun bileşimi değişmez ve analiz süresince polarlanmadan kalır. Bundan dolayı Ag/AgCl veya dolgun kalomel elektrot (DKE) kullanılır (Henden ve ark., 2001).

Bu elektrotlardan anodik akım geçince metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşırı klorürle çökeldiklerinden, elektrot yüzeyindeki derişimleri değişmez ayrıca potansiyelleri akımdan bağımsız olur. Katodik akım geçtiğinde ise, çözünürlükten gelen metal iyonları indirgenir, elektrot yüzeyinde çökelek ayrışarak metal iyonu oluşturur ve potansiyel yine değişmeden kalır (Kandaz ve ark., 2011).

Sudan başka çözücülerde çalışıldığında ise başka uygun karşılaştırma elektrotları kullanılır. Örneğin asetonytrilde çalışmalarında Ag/ Ag⁺ (Ag/ AgNO₃) elektrodu kullanılır (Tural ve ark., 2001).

İyi bir referans elektrot;

- Tersinir (reversibl) olmalı ve Nerst eşitliğine uymalıdır,
- Zamanla bağımlı olmayan sabit bir potansiyel vermelidir.
- Az miktarlarda akım elde edildikten sonra yine eski haline kısa sürede dönmelidir,
- Sıcaklık değişmelerinde önemli bir değişiklik göstermemelidir (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.7. Karşılaştırma elektrotu (Yılmaz, 2012).

2.4.5.Yardımcı (karşıt) elektrot

Çalışma elektrodunun potansiyelini kontrol eden hücre direncinden gelebilecek yanlışları ise en aza indirmek için üçüncü bir elektrot kullanılır. Yardımcı elektrot kimyasal açıdan inert ve iletken maddelerden belli bir yüzey alanına sahip olacak şekilde yapılır. Platin ve grafit çubuklar ise en çok kullanılan türleridir (Henden ve ark., 2001).



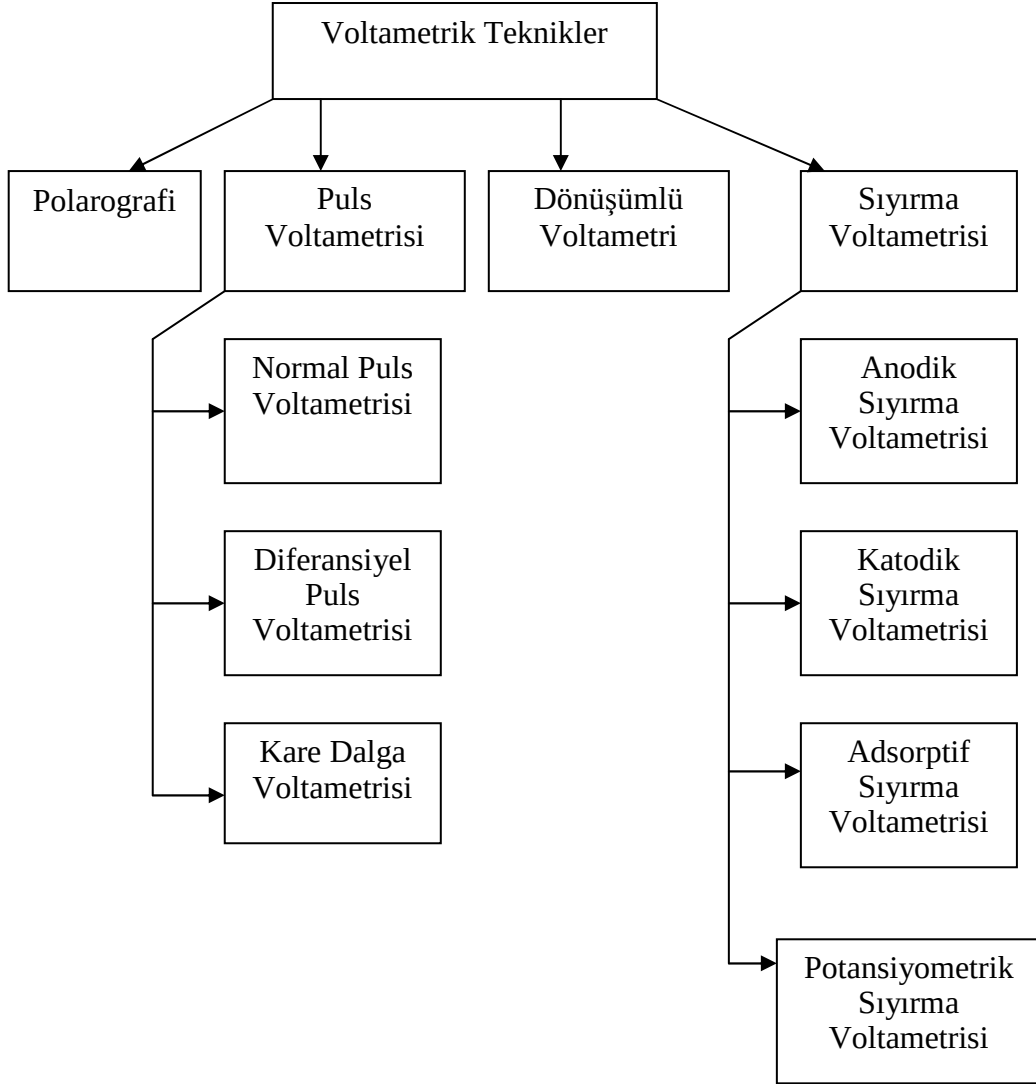
Şekil.2.8. Yardımcı elektrot (Yılmaz, 2012).

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiğinden dolayı yüksek akımlarda polarlanır. Çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli görülen potansiyel (IR) önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenden dolayı çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli yanlış algılanır, bunun sonucu olarak $i = f(E)$ eğrileri yatıklaşırlar ve belirli bir noktadan pikler kaybolur. Bu sorun ise sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözülür. Akım, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında düzeyde saptanır. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir. Bundan dolayı daha çok platin, grafit, tantal ya da tungsten tel çubuklar kullanılır. Yardımcı elektrotların alanı çalışma elektrodu alanının en

az 50 katı olmalıdır. Ayrıca küçük hacimlerle çalışıldığında ise yardımcı elektrotta oluşan ürünlerin, çalışma elektrodunda girişim yapmayacağı elektrot türü seçilmelidir (Tural ve ark., 2001; Yağmur, 2005).

2.5. Voltametrik Teknikler

Voltametrik tekniklerin şematik sınıflandırılması Şekil 2.9’ da verilmiştir.



Şekil 2.9. Voltametrik tekniklerin sınıflandırılması (Yılmaz, 2012).

2.5.1. Polarografi

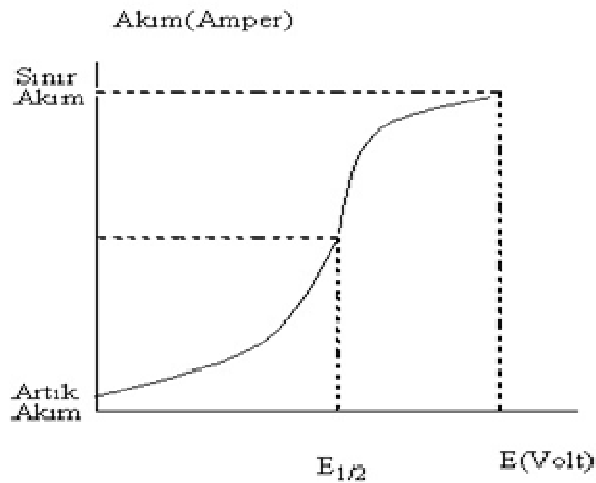
Voltametri tekniğinde çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodun kullanıldığında (DCE) yöntem polarografi denir. DCE, 0,05 - 0,08 mm iç çaplı bir kılcal cam borudan damlayan cıvadan oluşur.

Damlayan cıva elektrot ile referans elektrot arasına bir potansiyometri yardımıyla potansiyel uygulanır. Hücreden geçen akım bir galvanometre yardımıyla ölçülür. Ölçülen bu akımın uygulanan potansiyele karşı grafiği polarogram adını alır (Yılmaz, 2012).

Polarografide akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi (katodik akım +) veya yükseltgenmesi (anodik akım, -) sonucunda oluşur (Yılmaz, 2012).

Şekil 2.10' daki polarogramdan görüldüğü gibi belli bir potansiyelden sonra akımın sabit kaldığı bir plato bölgesine ulaşılmaktadır ve bu akıma sınır akımı (i_l) adı verilir. Elektrot üzerinde henüz reaksiyon olmadığı zaman küçükte olsa bir akım gözlenir. Bu akıma artık akım denir. Sınır akımı ile artık akım arasındaki yükseklik dalga yüksekliğidir. Dalga yüksekliği, elektroaktif maddenin konsantrasyonu ile doğrusal olarak artar. Bu özellik nedeniyle polarografi, kantitatif analizlerde kullanılabilir (Yılmaz, 2012).

Akımın, sınır akımı değerinin yarısına eşit olduğu potansiyel yarı dalga potansiyelidir ve yarı dalga potansiyeli $E_{1/2}$ ile gösterilmektedir. $E_{1/2}$ değeri genellikle elektroaktif maddenin konsantrasyonuna bağlı değildir ve standart yarı hücre potansiyeli ile yakından ilişkilidir. Yarı dalga potansiyelinin her madde için karakteristik olması özelliğinden dolayı polarografi kalitatif analizlerde de kullanılabilir (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.10. Polarografide akım potansiyel grafiği (Yılmaz, 2012).

2.5.2. Puls voltametri

2.5.2.1. Normal puls voltametri (NPV)

Normal polarografide bir cıva damlasının oluşma ve kopma süresi içerisinde uygulanan potansiyel değişimi çok düşük olduğundan dolayı (2–3mV) potansiyel sabit kabul edilir. Puls polarografisinde ise damla ömrü sonuna doğru potansiyel pulsları uygulanır ve oluşan bu akım ölçülür. Puls uygulaması iki farklı şekilde olabilir (Yılmaz,

2012).

Normal puls voltametrisinde (NPV) başlangıç potansiyeli temel alınarak her damla ömrü sonunda artan genlikli pulsar uygulanır. Her puls uygulanmasından sonra ise başlangıç potansiyeline geri dönülür. Bu teknik normal puls voltametrisi (NPV) adını alır (Yılmaz, 2012).

2.5.2.2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)

Normal puls voltametrisinde pulsun sonunda saptanan akım az da olsa sıgasal bileşen içerir. Bu bileşenin ölçülen akımdaki payını daha da azaltmak ve seçimliliği arttırmak için pulsun başında ve sonundaki akımları ölçüp, farklarını alma yoluna gidilmiştir. Bu teknikle çalışan yöntem diferansiyel puls voltametrisi denir (Kandaz ve ark.; 2011)

Bu teknik normal puls tekniğinden daha duyarlı olup, duyarlılığı ise 10^{-7} – 10^{-8} M düzeyindedir. Buna ek olarak seçimliliği de yüksektir. Doğru akım ve normal puls polarografilerinde yan yana analizler için, genelde yarı dalga potansiyelleri arasındaki farkın 120–240 mV olması gerekirken, diferansiyel puls polarografisinde ise bu farkın, alternatif akım polarografisinde olduğu gibi, 30–60 mV kadar olması yeterlidir (Tural ve ark.; 2003).

2.5.2.3. Kare dalga voltametrisi (SWV)

Kare dalga voltametrisi, son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir yöntemdir. Voltamogramın tamamı 10 ms'den daha kısa bir zamanda elde edilir. Damlayan cıva elektrodu ile tarama, bir damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı hemen hemen sabitken gerçekleştirilir. Kare dalga voltametrisi, asılı cıva damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile kullanılmaktadır (Yılmaz, 2012). Bu teknik, 10^{-7} – 10^{-8} M gibi yüksek duyarlığa sahiptir.

2.5.3. Dönüşümlü voltametri (CV)

Normal polarografide potansiyel tarama hızı damla ömrüne göre çok yavaştır. Mesela 5 mV/s tarama hızında damla süresi 1 s ise bir damla ömrü esnasında potansiyeldeki değişme 5 mV kadardır. Tarama hızı bir damla ömrü için 100-200 mV/s civarında tutulursa ve belli bir potansiyelden sonra ilk tarama yönünde tarama yapılırsa bu voltametrik yöntem dönüşümlü voltametri (CV) denir (Yılmaz, 2012).

2.5.4. Sıyırma voltametrisi (SV)

Sıyırma yöntemleri çok seyreltik çözeltilerin (10^{-10} M'a kadar) analizlerinde başvurulan; başlangıç basamağı ortak ve karakteristik olan çok sayıdaki elektroanalitik yöntemi kapsar. Bütün bu işlemlerde ise analit genellikle karıştırılan bir çözeltide önce bir mikroelettrot üzerine biriktirilir. Yeterli biriktirme süresi sonunda karıştırma durdurulur ve birikmiş bu analit daha önceden anlatılan voltmetrik tekniklerden (DPV, SW, CV) biri ile analiz edilir. Analizin bu ilk basamağında analit mikroelettrot yüzeyinden çözülür ve sıyırılır; bu yüzden bunlara sıyırma teknikleri denir (Yılmaz, 2012).

2.5.4.1. Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV) yönteminde mikroelettrot biriktirme basamağı sırasında bir katot olarak; analitin ilk haline tekrar yükseltgendiği sıyırma basamağında ise anot olarak davranır. Sıyırmanın yapıldığı voltametri yöneme göre adını alır. Örneğin diferansiyel puls tekniğiyle sıyırma yapılırsa uygulanan bu tekniğe diferansiyel puls anodik sıyırma voltametrisi (DPASV) denir (Yılmaz, 2012).

2.5.4.2. Katodik sıyırma voltametrisi (CSV)

Katodik sıyırma voltametrisi (CSV) yönteminde ise; mikroelettrot biriktirme sırasında bir anot gibi; sıyırma sırasında da bir katot gibi davranır. Biriktirme basamağında, analit elektrokimyasal olarak bir önderiştirilme (zenginleştirme) işlemine uğrar, yani mikroelettrot yüzeyindeki analit konsantrasyonu, çözeltideki konsantrasyonundan çok daha büyüktür (Yılmaz, 2012).

2.5.4.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)

Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (AdSV) ise maddenin çalışma elektrodu üzerine kısa sürede adsorbe edilmesi esasına dayanan bir tekniktir. Voltametrik veri, adsorbe edilen maddenin yüzeydeki konsantrasyonuna doğrudan 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 yapılabilir (Yılmaz, 2012).

2.5.4.4. Potansiyometrik sıyırma voltametrisi (PSV)

Bu teknik özellikle önderiştirme aşaması anodik sıyırma voltametrisine benzer. Sıyırma aşamasında farklı olarak elektrot yüzeyinde önderiştirilen metallerin çözündürülmesi kimyasal yöntemle sağlanır (Can, 2013).

2.6. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler

Voltametrik validasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılan terimler şunlardır (Yılmaz, 2008):

Ortalama Değer: Bir analizde elde edilen tüm sonuçlarının (genel olarak ölçüm değerleri) toplamının analiz sayısına (N) bölünmesiyle elde edilen sayıya denir. Ortalama değer kendisinin hesaplanmasında kullanılan herhangi bir değer veya sonuçtan daha güven vericidir ve analiz sayısına göre değişir. Analiz sayısı arttıkça ortalama değer doğru değere yaklaşır.

Kesinlik: Bir analizde (ölçmede) elde edilen sonuçların bir birine yakınlığına veya ortalama değerle herhangi bir değer arasındaki farka denir ve kesinliği yüksek olan sonuçların doğruluk dereceleri de genelde yüksektir. Kesinlik çeşitli şekillerde verilebilir.

a) Standart sapma (s): Numune standart sapması her hangi bir yöntemin kesinliğini belirtmeye yarayan en önemli kriterdir ve aşağıdaki eşitlik ile verilir.

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

(2.1)

s= numune standart sapması

x_i = analiz sonuçları

$\bar{X}$ = analiz sonuçlarının ortalaması

N= analiz sayısı

b) Bağlı standart sapma (s/X): Standart sapma (s), ortalama değere (X) bölünürse bulunan değere bağlı standart sapma denir ve RSD ile gösterilir. Bağlı standart sapmaya varyasyon katsayısı (VK) da denir ve genelde % RSD olarak verilir.

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

(2.2)

c) Variyans: Numune standart sapmasının karesi (s^2) olarak ifade edilen bir parametredir.

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

(2.3)

d) Yayılma (W): Bir analizde en büyük değerle en küçük değer arasındaki farka denir ve W ile gösterilir. Bu fark ne kadar küçük olursa kesinlik o kadar yüksek olur.

e) Doğruluk: Bir analizde (ölçmede) elde edilen en güvenilir sonuçlarla doğru değer veya doğru olarak kabul edilen değer arasındaki farka denir. Başka bir deyişle doğruluk, deneyde bulunan bir analiz sonucunun doğru (gerçek) değere yakınlık derecesidir. Kesinlikle doğruluk arasındaki en önemli fark, kesinlik az sayıda analiz sonuçlarının birbirine yakınlığı iken, doğruluk ise analiz sonuçlarının çok sayıda (sonsuz sayıda numune üzerinde, sonsuz zamanda, sonsuz sayıda alınan tekrar) analiz sonucunda elde edilen gerçek değere yakınlığı olup, 2 şekilde ifade edilir.

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

$$E_a = \bar{X} - \mu$$

(2.4)

Ortalamanın bağıl hatası ise aşağıdaki şekilde ifade edilir.

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

(2.5)

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

$$\text{bias} = (\mu - \bar{X}_t)$$

(2.6)

μ = Analizi yapılan maddenin popülasyon ortalaması (doğru veya gerçek değer)

$\bar{X}_t$ = Analizi yapılan maddenin bulunan konsantrasyonudur.

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

Kalibrasyon hassaslığı, kalibrasyon doğrusuna dayanır ve kalibrasyon doğrusunun

eğimine eşittir. Aynı maddenin tayininde kullanılan iki metottan hangisinin kalibrasyon eğimi daha büyük olan metot, daha hassastır denir.

Analitik hassaslık ise kalibrasyon doğrusunun eğiminin, maddenin ölçüm sinyallerinden elde edilen standart sapmaya bölümüdür ve γ ile gösterilir.

h) Seçicilik (Spesifiklik): Analitik bir tekniğin analiz ortamında bulunan diğer türlerden (yükü ve yüksüz taneciklerden) sadece birinin kantitatif analizi için kullanılabilme özelliğidir.

1) Çalışılabilir Konsantrasyon Aralığı: Analitik bir yöntemin kantitatif sonuçlar verdiği aralığa, çalışılabilir konsantrasyon aralığı denir.

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

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

Burada m: kalibrasyon doğrusunun eğimi; s, ise numune standart sapmasıdır.

j) Kantitatif tayin sınırı (LOQ): Bir analizde kantitatif analizin yapıldığı en küçük konsantrasyonu ifade eder ve LOQ ile gösterilir ve aşağıdaki şekilde ifade edilir.

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

k) Geri kazanım: Numune ortamı içindeki analitin tayini ile elde edilen miktarın, saf analitin çözeltisine göre % ne kadar geri kazanıldığının analiz edilmesi gerekir. Alt, orta ve üst bilinen derişimdeki standart çözeltiler, matrikse eklenir varsa bir ayırma işlemi ile geri elde edilir ve tayin edilerek bilinen miktarla karşılaştırılarak sonuç % hata ile verilir.

2.7. Okskarbazepinin voltametrik teknikler ile ilaçlardan tayini

Yapılan literatür araştırmalarında okskarbazepin'in voltametrik teknikler ile kantitatif analizi ile ilgili camısı karbon elektrotta ve modifiye elektrotlarda birkaç çalışmaya rastlanmıştır, ancak poli(4-ABSA)-modifiye camısı karbon elektrotta yapılan çalışma bulunmamaktadır.

Deepakumari ve Revanasiddappa (2011), gerek saf haldeki ve gerekse ilaç müstahzarlarındaki okskarbazepin belirlenmesi amacıyla 3 adet basit olmasına karşın, doğru netice veren ve oldukça hassas endirekt spektrofotometrik metot geliştirilmiştir. Metot – A' da, reaksiyona girmeyen seryum (IV) löko kristal violeti okside ederek

absorpsiyonu 580 nm dalga boyu olarak ölçülen renkli kristal violet boyaya çevirir. Öte yandan metot – B’de ise maksimum absorpsiyonu 610 nm dalga boyunda olan mavimtrak malakit yeşil renk elde edilir. Metot – C’ de ise seryum (IV) löko dimetilbenzen cyanol FF’i maksimum absorpsiyonu 610 nm dalga boyunda olan mavi renkli dimetilbenzen cyanol FF olacak şekilde okside eder. Tüm bu metotlarda reaksiyona giren seryum (IV) miktarı okskarbazepin miktarına karşılık gelir ve absorpsiyonun okskarbazepin konsantrasyonu ile doğrusal olarak azaldığı görülür. 0–2.5, 0–2.0 ve 0–2.5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ değerler aralığında A, B ve C metotlarının her birinde Beers kanunu ile uyum halinde olup bunlara karşılık gelen molar absorpsiyon değerleri de 3.86×10^4 , 4.41×10^4 ve $2.16 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Sonuçlar öğrenci t - testi ve f – testi metotlarını kullanılarak istatistiki bakımdan bir karşılaştırma yapılmıştır. Normal olarak tabletlere ilave edilen ek maddelerin istenmeyen bir etkisi gözlenmemiştir.

Calvo, Renedo ve Martinez (2007), Kare dalga adsorpsiyon sıyırma voltameterisi (SWAdSV) analiz yöntemiyle okskarbazepin (OXC) belirleme prosesi optimize edilmiştir. Deneysel parametrelerin seçimi " Deneysel Tasarım Metodolojisi " kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan proseste belirme sınırı $1.74 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ ' dir. İlaç müstahzarlarında okskarbazepinin (OXC) belirlenmesinde bu metot kullanılmıştır.

Renedo ve ark. (2010), okskarbazepin’in analizi için sensörlerin gelişiminde gümüş nano partiküllerinin katalitik etkisinin olduğu ortaya çıkartılmıştır. Diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisi yardımıyla okskarbazepinin analizi için karbon elektrotları modifiye eden civa filmleri ve metalik nanopartiküller test edilmiştir. Civa (II) çözeltisi sabit bir potansiyelde elektrokimyasal olarak kaplanarak civa kaplamalı elektrotlar elde edilmiştir. Karbon elektrotları modifiye etmede sadece gümüş nanopartiküllerin test edilmiş olması okskarbazepinin belirlenmesi için uygun analitik bir sinyal oldu. Yukarıda bahsedilen sinyalin üretilebilirliği ve tekrarı standart sapma cinsinden sırasıyla %4.51 ve %3.21 olarak ölçülmüştür. Analitik süreç için tespit limiti $2.54 \times 10^{-5} \text{ M}$. Bu metot antiepileptik ilaçlar içinde (Trileptal) okskarbazepin’in analizinde başarıyla uygulanmıştır.

2.8. Camsı karbonun Poli(4-ABSA) ile Modifiye Edilmesiyle İlgili Çalışmalar

Huang ve ark. (2008) poli(4-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye camsı karbon elektrot ile fenileprin ve klorprothisen’in analizini yapmışlardır. Fenileprin +0,89 V’da 0,05 M asetat tamponunda (pH=5,00), klorprothisen ise 1,04 V’da $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH-HCl}$ (pH=2,40) tamponunda tersinmez anodik pik vermiştir. Belirleme sınırları ise sırasıyla $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ ve $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ olarak bulmuşlardır.

Jin ve ark. (2005) poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye camsı karbon elektrot

kullanarak dopamin ve askorbik asidin aynı anda zamanlı analizini yapmışlardır. Modifiye elektrodun dopamin ve askorbik asidin yükseltgenmesi için elektrokatalitik bir aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Fizyolojik pH'da (7,00) askorbik asit anyon formunda iken, dopamine ise katyon formunda olarak bulunmaktadır. Jin ve ark. (2005)'na göre p-(ABSA) yapısında elektronca zengin N atomları ve yüksek elektron yoğunluğuna sahip sülfür grupları bulunmaktadır. Bundan dolayı da p-(ABSA) filmleri negatif yüklüdür. Modifiye elektrotta negatif yüklü sülfür grupları ve askorbik asit anyonları arasındaki elektrostatik itmeden dolayı oluşan askorbik asidin potansiyeli daha negatif değere kayar ve bundan dolayı dopamin piki askorbik asitten kolayca ayrılabilir. p-(ABSA) modifiye elektrot yüksek seçicilikte amperometrik dopamin sensörü olarak kullanılabildiğini ifade etmişlerdir.

Yang ve ark. (2006) katesol ve resorsinol varlığında bu maddelerin girişim etkisi olmadan poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye cam-sı karbon elektrot ile seçici hidrokinon analizini yapmışlardır. Katesol ve resorsinol, hidrokinonun izomerleridir ve bunlar 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.

Sadıkoglu ve ark. (2012), poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye cam-sı karbon elektrot ile ürik asit analizi yapmışlardır. Fosfat pH 7,00 tamponu ile dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametri tekniği ile çalışmışlardır. Konsantrasyon aralığını ise 1×10^{-5} - 1×10^{-4} M olarak belirlemişlerdir. Belirleme sınırını $1,125 \times 10^{-6}$ M bulmuşlardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

Bu çalışmada 4-aminobenzensülfonik asit (Sigma Aldrich, %99), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck, %99), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (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 okskarbazepinin ilaç dozaj formu Trileptal, Novartis firmasından temin edildi.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Voltamogramlar, Metrohm 757 VA Trace Analyzer ve Metrohm Autolab PGSTAT 101 cihazları ile alındı. Voltametrik ölçümler; camısı karbon [(elektrodun yüzey boyutu (ϕ) 7 mm; disk çapı (R) 2 mm] çalışma elektrodu, platin tel yardımcı elektrot, Ag/AgCl referans elektrodundan oluşan bu üçlü elektrot sisteminde yapıldı. Elektrokimyasal hücredeki oksijenin uzaklaştırılması işlemi 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 (0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iletkenliği ile) cihazından elde edildi.

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

Çözeltilerin pH'ları EZDO 5011 A marka pH metre yardımıyla ölçüldü.

3.2. Yöntem

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

Bu etken maddenin okskarbazepin'in 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 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 (pH=7,00) tampon çözeltisinde voltamogramlar alındı. Daha sonra seçilen

çözücü-destek elektrolit sisteminde farklı konsantrasyonlarda etken maddenin voltamogramları alınarak, akım-konsantrasyon değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Oluşan 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 maddenin ticari formundan tayini gerçekleştirildi. Seçilen bu ortamda, bu bileşiğin dozaj formundan modifiye edilmiş elektrotta voltametri teknikleri ile kantitatif tayini yapıldı ve validasyon parametreleri (bulunan miktar, RSD ve geri kazanım v.b.) değerlendirilerek, önerilen tekniklerin söz konusu analizler için geçerlilikleri kanıtlandı.

3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Elektrokimyasal olarak incelenen okskarbazepin 1×10^{-2} M stok çözeltisi 10 mL metanol ile hazırlandı. Bu çözelti hazırlanan stoktan metanol ile gerekli seyreltmeler yapılarak kullanıldı.

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.

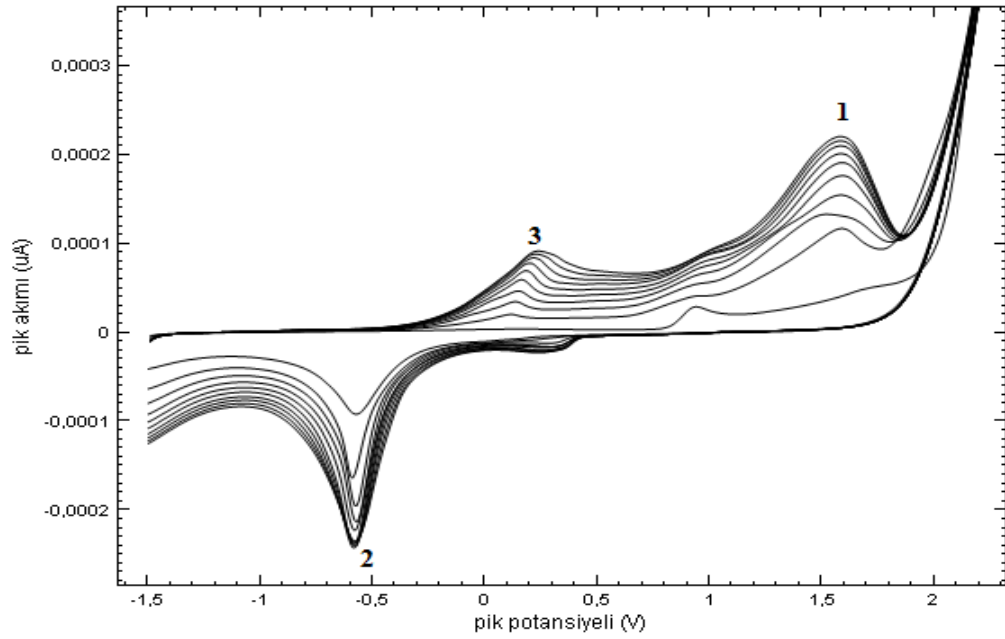
Her iki elektrot (modifiye edilmemiş ve modifiye elektrotlar) ile çalışırken kullanılan destek elektrolitler ve pH taramasında kullanılan tampon çözeltiler ultrasaf su ile hazırlandı ve ölçümlerde günlük olarak hazırlanan çözeltiler kullanıldı.

3.2.2. Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesi

Modifikasyon işlemine başlamadan önce elektrot yüzeyinin temizlenmesi gerekmektedir. Bunun için ilk olarak elektrot 1-3 μm elmas pasta ve 0,05 μm alümina ile özel temizleme pedleri ile temizlendikten sonra sırasıyla (1:1) HNO_3 , aseton ve destile su ile ultrasonik banyoda yıkandı.

Daha sonra temizlenen elektrotun yüzeyi (Jin ve ark., 2005), 2×10^{-3} M 4-aminobenzen-sülfonik asit içeren 0,1 M NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 (pH=7,00) tamponunda -1,5 V ve + 2,4 V potansiyel aralığında 200 mVs^{-1} tarama hızında 10 döngü alınarak

elektropolimerisasyon yöntemi ile kaplandı.



Şekil 3.1. GCE yüzeyinde 2×10^{-3} M 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı= 200 mVs^{-1}).

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

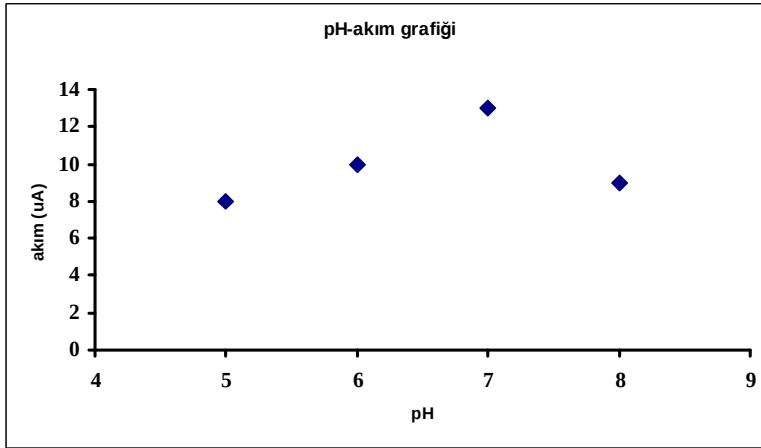
BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. Okskarbazepinin modifiye elektrotta çalışma ortamının belirlenmesi**

Okskarbazepin'in indirgendiği optimum şartları belirlemek amacı ile tüm destek elektrolitlerde DPV tekniği kullanarak pik akımının ve pik potansiyelinin pH ile değişimi incelendi (Çizelge 4.1).

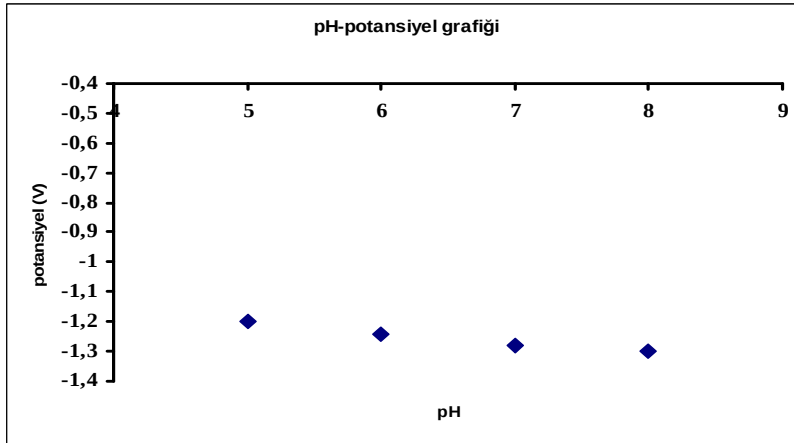
Çizelge 4.1. 5×10^{-5} M okskarbazepin'in 0,1 M fosfat tamponunda pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi

pH	Pik Akımı (μ A)	Pik Potansiyeli(V)
5,00	8,0	- 1,20
6,00	10,0	- 1,24
7,00	13,0	- 1,28
8,00	9,0	- 1,30

Çizelge 4.1' den yararlanılarak Şekil 4.1. ve Şekil 4.2. oluşturuldu.



Şekil 4.1. 5×10^{-5} M okskarbazepin'in pik akımına pH etkisi.

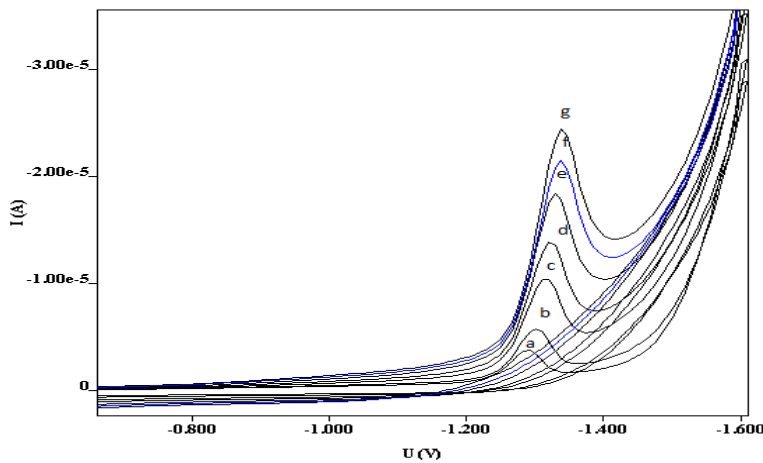


Şekil 4.2. 5×10^{-5} M okskarbazepin'in pik potansiyeline pH etkisi.

Yukarıdaki Tablo 4.1'den oluşturulan Şekil 4.1. ve Şekil 4.2. incelendiğinde pH=7,00' de en yüksek pik akımının olduğu ($13.0 \mu A$) görülmektedir. Buna göre çalışma ortamı pH=7,00 fosfat tampon olarak belirlendi. Fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımının yüksek olması nedeniyle çalışma ortamı olarak bu pH ve destek elektrolit seçildi.

4.2. Akım türünün belirlenmesi

5×10^{-5} M Okskarbazepin'in fosfat tamponunda, CV tekniği ile $30-300 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarındaki voltamogramları alındı (Şekil 4.3).



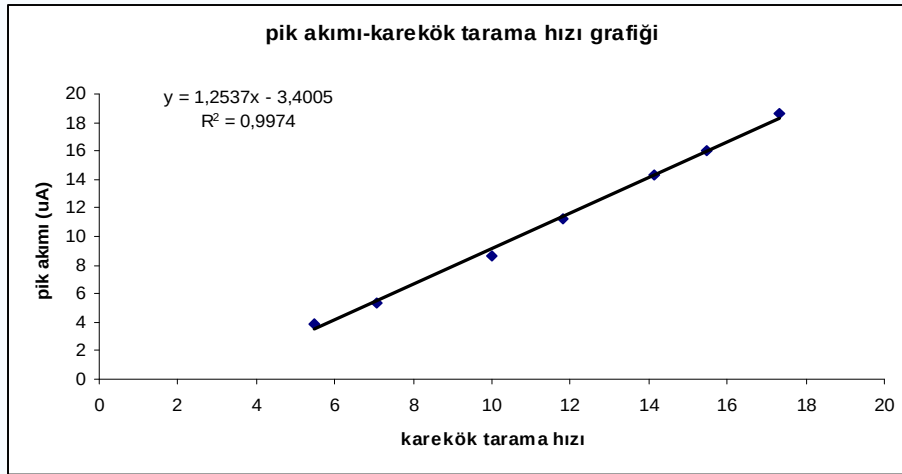
Şekil 4.3. 5×10^{-5} okskarbazepin'in $30-300 \text{ mV/s}$ tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı; a) 30, b) 50, c) 100, d) 140, e) 200, f) 240, g) 300 mV/s .

Yukarıdaki Şekil 4.3 deki verilerden Çizelge 4.2 oluşturuldu.

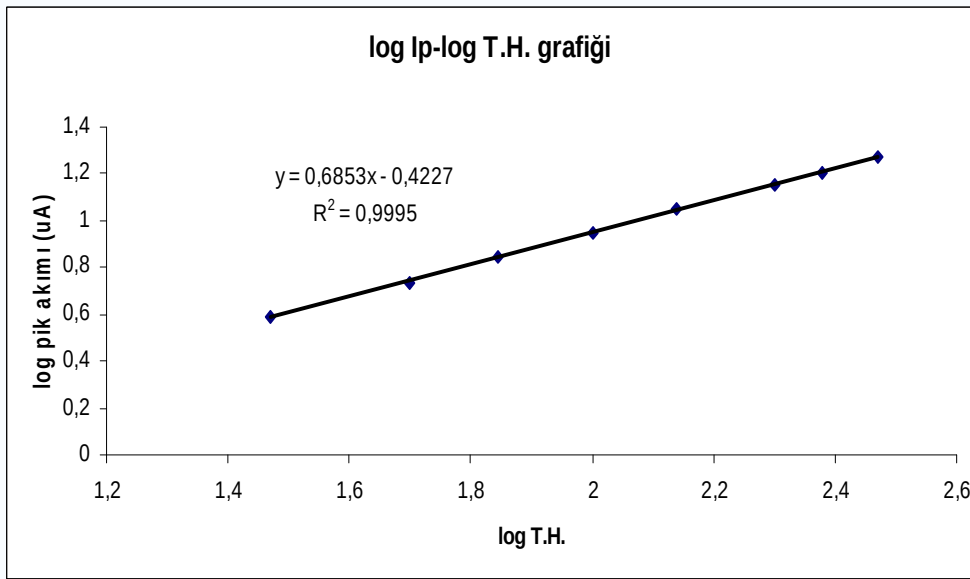
Çizelge 4.2. 5×10^{-5} M okskarbazepin'in fosfat tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi

Tarama Hızı, v (mVs ⁻¹)	Tarama Hızının Karekökü, $v^{1/2}$	Tarama Hızının Logaritması, Log v	Pik Akımı, $I_p(\mu A)$	Pik Akımının Logaritması, Log I_p
30	5,48	1,477	3,88	0,590
50	7,07	1,699	5,39	0,731
100	10,00	2,000	8,88	0,950
140	11,83	2,150	11,30	1,050
200	14,14	2,301	14,30	1,155
240	15,49	2,380	16,00	1,204
300	17,32	2,477	18,60	1,270

Çizelge 4.2 deki değerler kullanılarak Şekil 4.4. ve Şekil 4.5 çizildi.



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

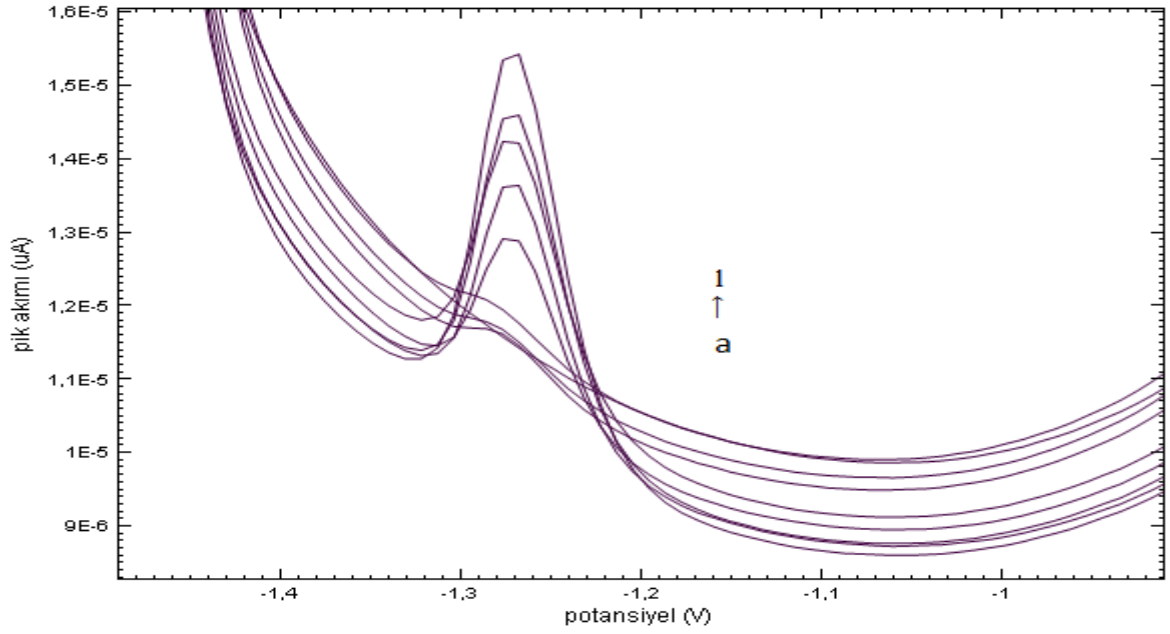


Şekil 4.5. 5×10^{-5} M okskarbazepin'in pH=7,00 fosfat tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması- tarama hızının logaritması ($\log v - \log i_p$) değişimi.

Şekil 4.5.'te akımının logaritması-tarama hızının logaritması ($\log v - \log i_p$) grafiğinden eğiminin 0,6853 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 indirgenme pik akımının, hızın karekökü ile doğrusal olarak artmasından elde edilen $v^{1/2} - i_p$ grafiğinin korelasyon katsayısının, $R = 0,9974$ 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; okskarbazepin'in 6×10^{-7} - 1×10^{-5} M konsantrasyon aralığında, fosfat (pH=7,00) tamponunda DPV tekniği ile voltamogramları alındı (Şekil 4.6.).



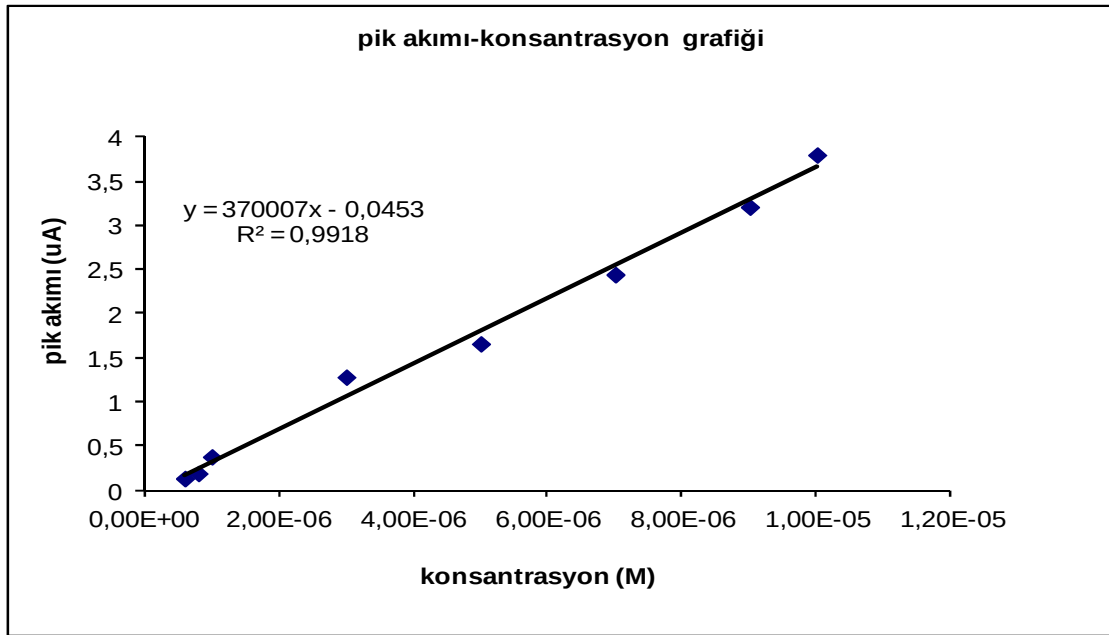
Şekil 4.6. DPV tekniği ile okskarbazepin'in konsantrasyon-pik akımı değişimi a) Destek elektrolit (fosfat tamponu, pH=7,00); b) $6,0 \times 10^{-7}$; c) $8,0 \times 10^{-7}$; d) $1,0 \times 10^{-6}$; e) $3,0 \times 10^{-6}$; f) $5,0 \times 10^{-6}$; g) $7,0 \times 10^{-6}$; h) $9,0 \times 10^{-6}$; ı) $1,0 \times 10^{-5}$ M okskarbazepin.

Şekil.4.6.'dan okskarbazepin'in 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}	0,135
8×10^{-7}	0,192
1×10^{-6}	0,380
3×10^{-6}	1,283
5×10^{-6}	1,661
7×10^{-6}	2,445
9×10^{-6}	3,210
1×10^{-5}	3,800

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



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

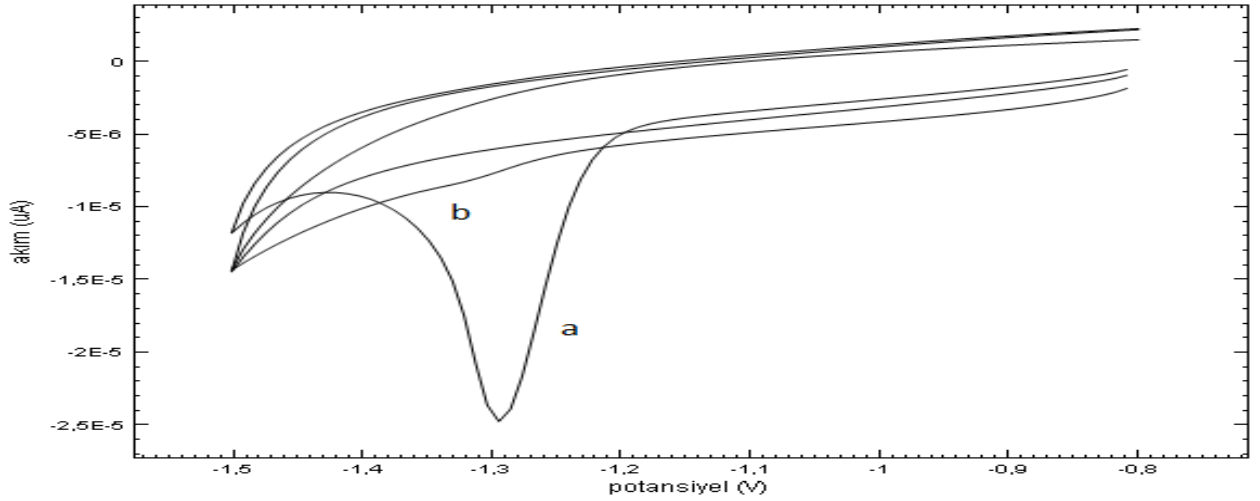
Şekil 4.7. incelendiğinde analitik konsantrasyon aralığının 6×10^{-7} - 1×10^{-5} M olduğu bulundu. Grafikten eğim $3,53 \times 10^5$, korelasyon katsayısı ise 0,9918 hesaplandı. Buna göre kalibrasyon grafiğindeki en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyon olan 8×10^{-7} M' da ölçüm yapılarak akım değerlerinin standart sapması s, $1,5 \times 10^{-2}$ olarak bulundu. Bu değer 3s/m ve 10s/m eşitliklerinde yerine konularak belirme sınırı LOD, $1,27 \times 10^{-7}$ ve kantitatif tayin sınırı LOQ, $4,24 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplandı. Bulunan değerler Çizelge 4.4' de verildi.

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

Parametreler	Sonuçlar
Ölçülen Potansiyel (mV)	-1,277
Konsantrasyon Aralığı(M)	6×10^{-7} - 1×10^{-5} M
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	353079
Eğimin Standart Sapması	62621,2
Kayma (nA)	0,150
Kaymanın Standart Sapması	0,148
Korelasyon Katsayısı, r	0,9918
Ölçüm Sayısı, n	5
Belirme Sınırı, LOD (M)	$1,27 \times 10^{-7}$
Kantitatif Tayin Sınırı, LOQ (M)	$4,24 \times 10^{-7}$

4.4. Okskarbazepinin 4-(ABSA)-Modifiye Elektrotta İndirgenmesi

Okskarbazepin'in 5×10^{-5} M çözeltisinin 4-(ABSA)-modifiye elektrotta diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği ile voltamogramı alındı. -1,27 V'da 11,5 μA 'lık bir indirgenme piki gözlemlendi. Aynı konsantrasyonda dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile alınan ölçümde ise -1,29 V'da 19,2 μA akımında katodik pik gözlemlendi. Camsı karbonda CV tekniği ile alınan ölçümde ise -1,31 V'da 0,15 μA , DPV tekniği ile -1,30 V'da 0,211 μA akım ölçüldü (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. 5×10^{-5} M Okskarbazepin'in 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, okskarbazepinin camı karbon elektrot ve modifiye eldektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 128 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Buda modifiye elektrotun daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

4.5. Okskarbazepinin Modifiye Elektrotta İlaçtan Miktarının Belirlenmesi ve Geri Kazanımı

Geliştirilen yöntem ile Trileptal tabletlerinde okskarbazepin miktarını belirlemek için, Trileptal tabletlerinden 5 tablet tartılıp toz haline getirilip 5×10^{-6} M okskarbazepin içeren çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin voltamogramı alınarak, ölçülen akım değeri konsantrasyon grafiği eşitliğinde yerine konularak 1 tabletteki okskarbazepin miktarı 297 mg olarak hesaplandı. Bu değer, tablet üzerinde belirtilen değer (300 mg) ile karşılaştırıldı (Çizelge 4.5.). Bulunan sonuçlar çizelge 4.5'de verildi.

Çizelge 4.5. Trileptal tabletlerinde belirlenen okskarbazepin miktarı ve okskarbazepin'in geri kazanımı

Tablette belirtilen Okskarbazepin Miktarı (mg)	300
Bulunan Okskarbazepin Miktarı (mg)	297
Bağıl Standart Sapma, % R.S.D.	1,60
Doğruluktan Sapma, % Bias	3
Eklenen Okskarbazepin (mg)	50
Bulunan Okskarbazepin (mg)	49,50
Geri Kazanım (%)	99,00
Geri Kazanımın Bağıl Standart Sapması, % R.S.D.	1,51
Doğruluktan Sapma, % Bias	1

Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla, 7×10^{-6} M okskarbazepin'in pik akımı ölçüldü. Elde edilen akım değeri kalibrasyon grafiğinin eşitliğinde yerine konularak tabletteki okskarbazepin miktarı hesaplandı. Eklenen okskarbazepin miktarı ile bulunan okskarbazepin miktarı kıyaslanarak, okskarbazepin'in geri kazanımı % 99,00 olarak hesaplandı (Çizelge 4.5) .

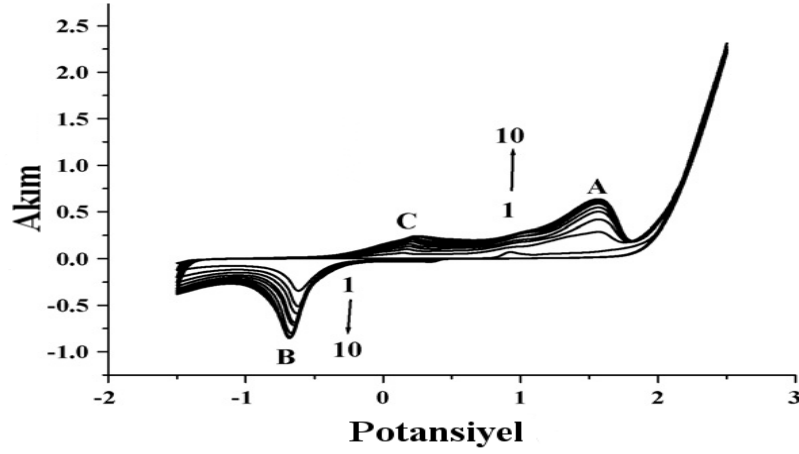
Çizelge 4.5' ten de görüldüğü gibi geri kazanım % 99,00 olarak bulunmasından, ilaç katkı maddelerinin yöntemlerimizi etkilemediği sonucuna varıldı.

4.6. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzen Sülfonik asitin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması

Huang ve ark. (2008), 2×10^{-3} M 4-aminobenzen sülfonik 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. Elektropolimerizasyondan sonra camsı karbon elektrodun yüzeyinde mavi renkli polimerin oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

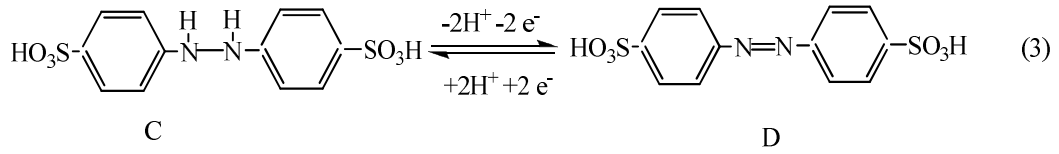
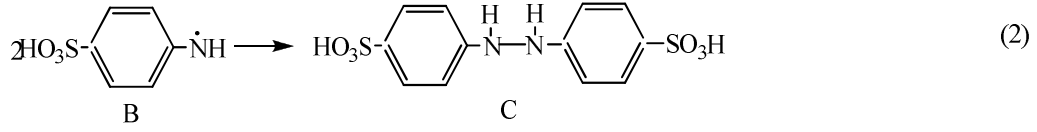
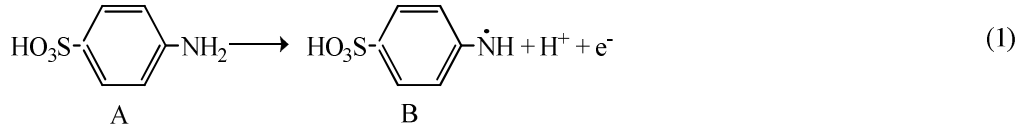
Huang ve ark. (2008)'na göre döngü sayısının artmasına karşılık pik akımındaki artış elektrot yüzeyinde filmin büyümesini göstermektedir. Yaptıkları çalışmada ilk 5 döngüde pik akımlarında hızlı bir artış olurken, sonraki döngülerde ise bu artışın oldukça azaldığını

bildirmişlerdir. Huang ve ark. tarafından yapılan elektropolimerizasyonda elde edilen pikler Şekil 4.9.'da verilmiştir.



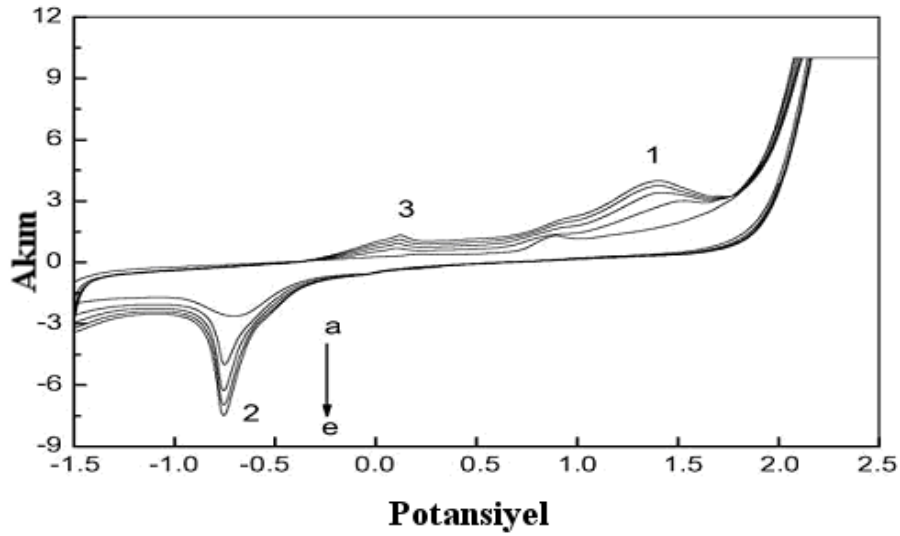
Şekil 4.9. Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

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).



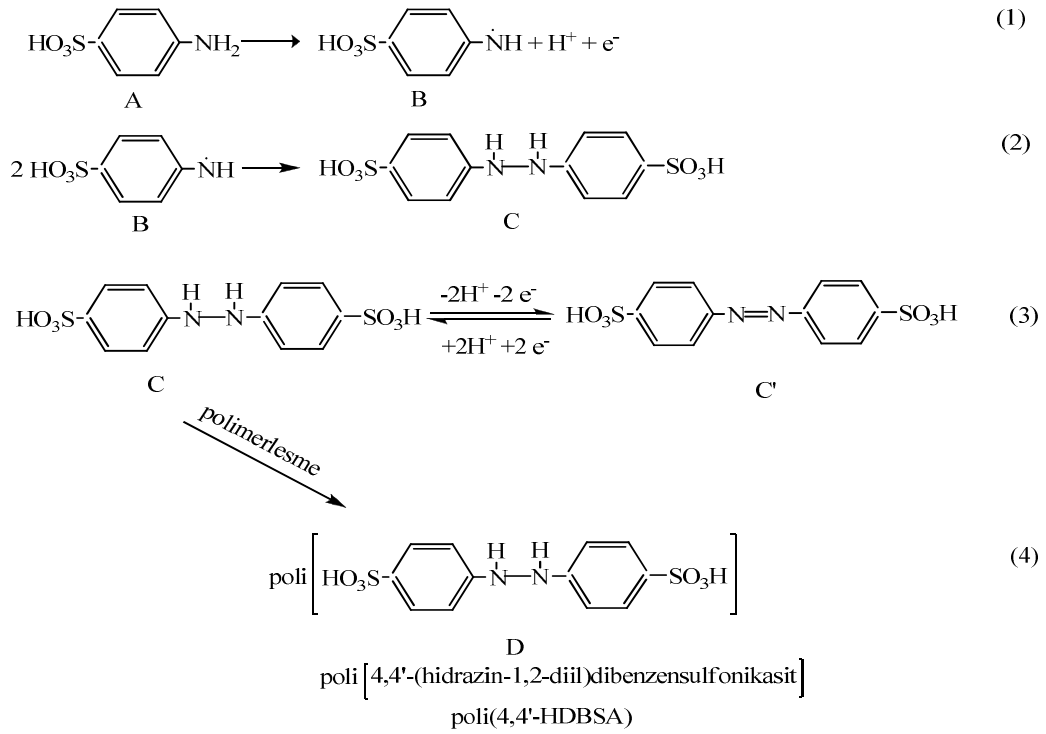
Şekil 4.10. GCE yüzeyinde 4-aminobenzensülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.

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



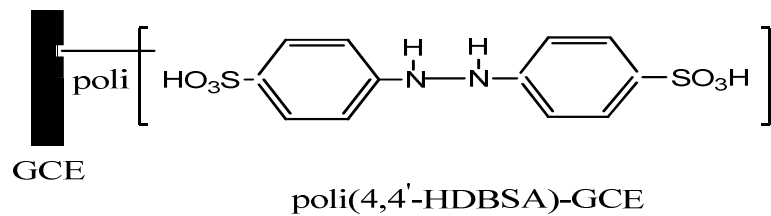
Şekil 4.11. Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzensülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizma dimerleşme basamağına kadar verilmiştir. Bileşiğin elektropolimerleşmesi ile ilgili bir mekanizma Jin ve arkadaşlarında dâhil olmak üzere verilmemiştir. Çalışmamızda ise elektrokimyasal polimerleşme basamağıda önerilmiştir (Şekil 4.12), (Can, 2013).



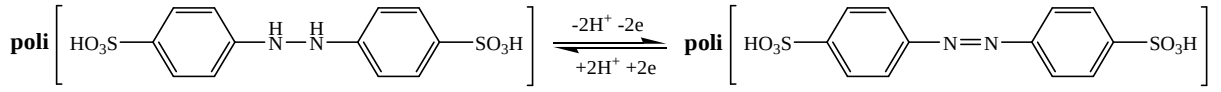
Şekil 4.12. GCE yüzeyinde 4-aminobenzenesülfonik asitin elektropolimerizasyonu (Can, 2013).

A bileşiği p-aminobenzenesülfonik 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.

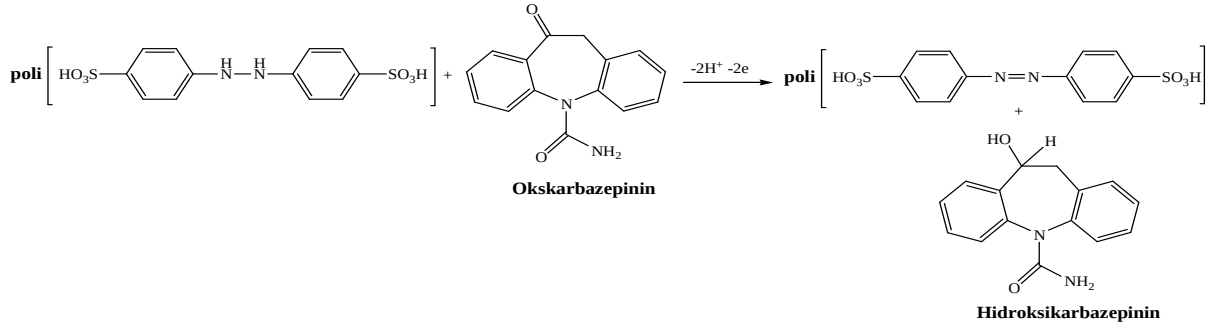


Şekil 4.13. Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye camı karbon elektrotun yapısı.

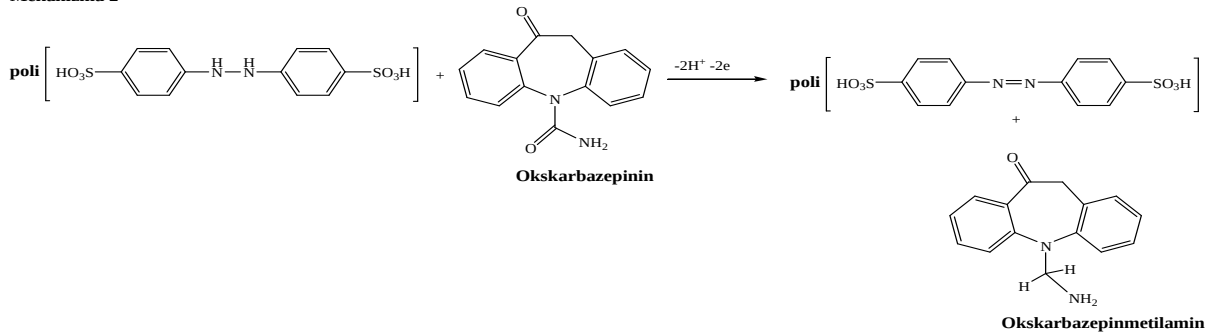
4.7. Okskarbazepinin Poli(4-ABSA)-Modifiye Camı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal İndirgenme Mekanizması



Mekanizma 1



Mekanizma 2



Şekil 4.14. Okskarbazepin'in poli(4-ABSA)-modifiye camı karbon elektrotta indirgenme mekanizması.

Okskarbazepin bileşiği birden fazla indirgenen grup ihtiva etmektedir. Dolayısıyla bileşikte hangi grubun indirgendiği daha ayrıntılı analizlerin yapılması ile belirlenebilir. Bu tezde sadece bileşiğin indirgenmesi çalışıldı. Yukarıda muhtemel iki mekanizma verildi. Birinci mekanizmada bileşikteki karbonil grubu 2H^+ ve 2e olarak hidroksikarbazepin bileşiğine indirgenmektedir. İkinci mekanizmada ise bileşikteki amit grubu 2H^+ ve 2e elektron olarak okskarbazepinmetilamin bileşiğine dönüşmektedir. Bütün bu reaksiyonlar modifiye elektrot üzerinde meydana gelmektedir. Modifiye elektrot poli(4-ABSA)'da mekanizmalardan önce verilen reaksiyonda görüldüğü gibi hidrazin-diazen dönüşümleri üzerinden reaksiyon yürümektedir. Hidrazin poli(4-ABSA) hidrojen ve elektron vererek diazen poli(4-ABSA)'ya, verilen elektronlar ile hidrojenler okskarbazepin tarafından alınarak okskarbazepin'in indirgenme ürünlerine dönüşmektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

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

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

Okskarbazepin'in, modifiye elektrotta ölçülen indirgenme pik akımı 19,2 μ A, camısı karbon elektrotta ölçülen pik akımı 0,15 μ A olarak belirlenmiştir. Okskarbazepinin camısı karbon elektrot ve modifiye eldektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 128 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 okskarbazepin'in 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

- Aycan S., 1994. *Polarografik ve Voltametrik Teknikler*. Yıldız Teknik Üniversitesi Yayını. İstanbul. s. 307.
- Bard A.J. ve Faulkner L. R., 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- Binel S., 2009. Antiepileptik Etkili İlaç Aktif Maddelerden Okskarbazepin ‘in Voltametrik Teknikler ile Analizi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Biryol İ., Kabasakaloğlu M. ve Şentürk Z., 1989. Investigation of Mechanism of The Electrochemical Oxidation of Bamipine Hydrochloride by Voltammetry. *Analyst*. 114, 181 – 184.
- Bond A.M., 1980. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc. N.Y.
- Calvo M. E. B., Renedo O. D. ve Martinez M. J. A., 2007. Determination of Oxcarbazepine by Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry in Pharmaceutical Preparations.
- Can S., 2013. Asiklovir’in Poli (p-Aminobenzen Sülfonik Asit)-Modifiye Camsı Karbon Elektrotta İlaç Formlarından Miktarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Deepakumari H. N. ve Revanasiddappa H. D., 2011. Development and Validation of Indirect Visible Spectrophotometric Methods for Oxcarbazepine in Pure and the Tablet Dosage Form.
- Erdoğan G., 1995. Bazı Biyokimyasal Moleküllerin İletken Polimer Elektrotlardaki Voltametrik Davranışlarının İncelenmesi (Doktora Tezi). İnönü Üniversitesi, Malatya.
- Fagan D.T., Hu I.F. ve Kuwana T., 1985. Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrode. *Analytical Chemistry*. 57: 2759 – 2763.
- Gerlache M., Sentürk Z., Quarin G. ve Kauffmann J.M., 1997. Electrochemical Detection of H₂O₂ on a Gold Electrode. *Electroanalysis*. 9:1082-1092.
- Greef R., Peat R., Peter L.M., Pletcher D. ve Robinson J., 1990. *Instrumental Methods in Electrochemistry*. London. Ellis Harwood Series in Physical Chemistry.
- 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.
- Izutsu K., 2002. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Jenkinks G.M. ve Kawamura K., 1971. Structure of Glassy Carbon. *Nature*. 231:175-176.
- 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.
- Kandaz M. ve Sözbilir M., 2011. Kalem Grafit Elektrotla C Vitamini Tayini. Kimya Lisans Öğrencileri Araştırma Projesi Eğitimi Çalıştayı. Tübitak – Bideb. Çomü.
- Kissinger P. ve Heineman W. R., 1996. *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*.
- Özdemir N., 2006. Karbon ve Metal Elektrotların Bazı Aromatik Aminlerle Elektrokimyasal Modifikasyonu ve Karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- 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. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 17: 3299 – 3305.
- Özkan S.A., Biryol İ. ve Şentürk Z., 1994. An Activation Method for Glassy Carbon Electrode. *Turkish Journal of Chemistry*. 18: 34–38.
- Renedo O. D., Calvo M. E. B., Lomillo M. A. A. ve Martinez M. J. A., 2010. Oxcarbazepine Analysis by Adsorptive Stripping Voltammetry Using Silver Nanoparticle-Modified Carbon Screen-Printed Electrodes.
- 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.
- Sağlıköğlu 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. ve West D.M., 2000. *Enstrümental Analiz İlkeleri 7. Baskı*. Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve Ark., Bilim Yayıncılık – Ankara. 489 –492.
- Skrzypek S., Ciesielski W., Sokołowski A., Yilmaz S. ve Kazmierczak D., 2005. Electrochemical Study of Famotidine-Analytical Application to Urine. *Talanta*. 66, 1146-1151.
- Tekin S., 2008. Platin Elektrot Yüzeylerine Tutturulmuş Organik Moleküllerin Elektrokimyasal Tekniklerle pKa Değerlerinin Tayini (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi.
- Tunçel T., Bergisadi M., Akın L., Otuk G. ve Kuşcu İ., 1996. In-Vitro and In-Vivo Studies on Micro Capsules and Tabletted Micro Capsules Cephadrine. *Pharmazie*. 51, 168-171.
- Tural H., Gökçel H.İ. ve Ertuş 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, Çanakkale.
- Van der Linden W.E. ve Dieker J.W., 1986. Glassy Carbon as Electrode Material in Electroanalytical Chemistry. *Analytica Chimica Acta*. 199:1-24.
- Wang J., 2000. *Analytical Electrochemistry*. Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2ND ed ISBN 0-471-28272-3.
- Wang J. ve Hutchins L.D., 1985. Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical Treatment. *Analytica Chimica Acta*. 167, 325 – 334.
- Wang J., 2000. *Analytical Electrochemistry*. 2nd Edition. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- Wikipedia, 2014. <http://en.wikipedia.org/wiki/Oxcarbazepine>.
- 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.
- Yıldız A. ve Genç Ö., 1993. *Enstrümental Analiz*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, 352.
- Yılmaz S., 2012. *Elektroanalitik Kimya*. Kriter Yayınları, İSTANBUL.
- 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.

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.

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 2.1.	İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler.....	18
Çizelge 4.1.	5×10^{-5} M Okskarbazepin'in 0,1 M fosfat tamponunda pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi	33
Çizelge 4.2.	5×10^{-5} M Okskarbazepin'in fosfat tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi.....	35
Çizelge 4.3.	Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri.....	37
Çizelge 4.4.	Okskarbazepin'in pH=7,00 fosfat tamponunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen analitik tayin parametreleri.....	39
Çizelge 4.5.	Trileptal tabletlerinde belirlenen okskarbazepin miktarı ve okskarbazepin'in geri kazanımı	41

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 2.1.	Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	4
Şekil 2.2.	Deney hücresi	6
Şekil 2.3.	Kullanılan deney elektrotları.....	8
Şekil 2.4.	Camsı karbon çalışma elektrodu	8
Şekil 2.5.	Voltametrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması.....	9
Şekil 2.6.	Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan teknikler.....	16
Şekil 2.7.	Karşılaştırma elektrodu	20
Şekil 2.8.	Yardımcı elektrot	20
Şekil 2.9.	Voltametrik tekniklerin sınıflandırılması	21
Şekil 2.10.	Polarografide akım- potansiyel grafiği.....	22
Şekil 3.1.	GCE yüzeyinde 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı	32
Şekil 4.2.	5×10^{-5} M Okskarbazepin'in pik potansiyeline pH etkisi.....	34
Şekil 4.4.	5×10^{-5} M Okskarbazepin'in pH=7,00 fosfat tamponunda pik akımı-karekök tarama hızı ($v^{1/2}$ - i_p) grafiği.....	35
Şekil 4.5.	5×10^{-5} M Okskarbazepin'in pH=7,00 fosfat tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması- tarama hızının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$) değişimi.....	36
Şekil 4.6.	DPV tekniği ile Okskarbazepin'in konsantrasyon-pik akımı değişimi Okskarbazepin'in fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımı-konsantrasyon (C - i_p) grafiği.....	37
Şekil 4.7.	Okskarbazepin'in fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımı-konsantrasyon (C - i_p) grafiği.....	38
Şekil 4.8.	5×10^{-5} M Okskarbazepin'in fosfat tamponunda (pH=7,00) poli(4-ABSA)-modifiye camsı karbon elektrotta ve camsı karbon elektrotta elde edilen dönüşümlü voltamogramları	40
Şekil 4.9.	Huang ve arkadaşları tarafından elde edilen 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.....	42
Şekil 4.10.	GCE yüzeyinde 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.....	43

Şekil 4.11.	Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.....	43
Şekil 4.12.	GCE yüzeyinde 4-aminobenzenşülfonik asitin elektropolimerizasyonu.....	44
Şekil 4.13.	Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye camşı karbon elektrotun yapısı.....	44
Şekil 4.14.	Okskarbazepin'in poli(4-ABSA)-modifiye camşı karbon elektrotta indirgenme mekanizması.....	45

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Esra Rukiye APAYDIN

Doğum Yeri : Edirne / Keşan

Doğum Tarih : 19.05.1989

EĞİTİM DURUMU:

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü (2011)

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı (2014)

İLETİŞİM : esra_pydn@hotmail.com

