



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE SENTEZLENMİŞ
BİLEŞİKLER İLE IN-VITRO OLARAK ETKİLEŞTİRİLMİŞ
DOKULARDAN HAZIRLANMIŞ ÖRNEKLERDE ULTRA ESER DÜZEYDE
PLATİNİN VOLTAMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ**

Hilal KUL ATAK

Yüksek Lisans Tezi

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE SENTEZLENMİŞ
BİLEŞİKLER İLE IN-VITRO OLARAK ETKİLEŞTİRİLMİŞ
DOKULARDAN HAZIRLANMIŞ ÖRNEKLERDE ULTRA ESER DÜZEYDE
PLATİNİN VOLTAMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ**

Hilal KUL ATAK



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE SENTEZLENMİŞ
BİLEŞİKLER İLE IN-VITRO OLARAK ETKİLEŞTİRİLMİŞ DOKULARDAN
HAZIRLANMIŞ ÖRNEKLERDE ULTRA ESER DÜZEYDE PLATİNİN
VOLTAMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ**

Hilal KUL ATAK

Prof. Dr. M. Haluk TÜRKDEMİR
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA-2024
Her Hakkı Saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE SENTEZLENMİŞ BİLEŞİKLER İLE IN-VITRO OLARAK ETKİLEŞTİRİLMİŞ DOKULARDAN HAZIRLANMIŞ ÖRNEKLERDE ULTRA ESER DÜZEYDE PLATİNİN VOLTAMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ

Hilal KUL ATAK

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. M. Haluk TÜRKDEMİR

Platin kompleksleri biyolojik aktivitesinden ve spesifik DNA-Pt bağlanmalarından dolayı uzun yıllardır antikanser ilaçların yapımında kullanılmaktadır. Etki mekanizmasının açıklanabilmesi için olduğu kadar, sağlıklı ve hasta dokular tarafından modifiye edilerek hazırlanmış bileşiklerin emilimlerinin karşılaştırılabilmesi için çok küçük örneklerde eser düzeydeki platin miktarını analizlemek büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla en duyarlı elektrokimyasal teknik olan sıyırma voltametrisi iyi bir seçenek oluşturmaktadır. Bu tekniğin ön ayırma basamağı gerektirmemesi ve kendi önderiştirme basamağı bulunması temel üstünlüklerini sağlamaktadır.

Bu çalışmada, literatürde yer alan yöntemlerden yola çıkılarak asılı civa damla ve camsı karbon elektrotlar üzerinde negatif gerilimlerde adsorptif biriktirmeli katodik sıyırma voltametrisi ile ultra eser düzeyde platin analiz yöntemi geliştirilmesi ve çalışma koşullarının optimize edilmesi hedeflendi. Biriktirme potansiyeli ve süresi, katodik sıyırma puls programının etkileri her iki elektrot üzerinde de denenerek sistematik bir inceleme yapıldı. Tekrarlanır sonuçların daha hızla ve güvenle elde edildiği HMDE üzerinde kare dalga katodik sıyırma (SWSV) tekniği ve standart ekleme yöntemi kullanılarak pikogram (pg) düzeyindeki platin analizinin yapılabileceği gösterildi. Hidrazinyumsülfat ve formaldehit ile kompleksleştirilmiş platin bileşiğinin adsorptif olarak biriktirilmesi sonrasında uygulanan katodik sıyırma sürecine (Ad-CSV), kullanılan kimyasal maddelerin derişimlerinin yanı sıra çalışılan civa damlasının yüzey büyüklüğünün etkisi de incelendi. -500 mV da biriktirim yapılarak yaklaşık -900 mV da katodik sıyırma piki elde edileceği gösterildi.

Optimize edilen deneysel şartlarda, modifiye platin bileşikleriyle etkileştirilmiş insan göğüs kanseri dokusundan hazırlanmış 9 farklı örnek analizlendi. Değişik hücre sayılarına sahip doku örneklerinin analizi sonucu bulunan platin miktarları pikogram ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$) cinsinden ifade edildi. Optimize edilmiş koşullarda nicel tayin sınırı 5,66 ng/mL olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Voltametrik platin analizi, Adsorptif sıyırma voltametrisi

2024, VIII + 67 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

ANALYSIS OF ULTRA TRACE PLATINUM BY VOLTAMMETRIC METHODS IN SAMPLES PREPARED FROM TISSUES TREATED AS IN-VITRO WITH SYNTHESIZED COMPOUNDS FOR USE IN CANCER TREATMENT

Hilal KUL ATAK

Bursa Uludag University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. M. Haluk TÜRKDEMİR

Platinum complexes have been used for many years to the manufacture of anticancer drugs due to their biological activity and specific DNA-Pt binding. It is of great importance to analyze the trace level of platinum in very small samples in order to explain the mechanism of action as well as to compare the absorptions of the prepared modified compounds by healthy and diseased tissues. Stripping voltammetry, which is the most sensitive electrochemical technique, is a good option for this purpose. The main advantages of this technique are that it does not require a pre-separation step and has its own preconcentration step.

In this study, guided by the methods in the literature, it was aimed to develop an ultra-trace platinum analysis method with adsorptive deposition cathodic stripping voltammetry at negative voltages on hanging mercury drop (HMDE) and GCE electrodes and to optimize the working conditions. A systematic review was made by testing the deposition potential and duration, the effects of the cathodic stripping pulse program on both electrodes. It has been shown that platinum analysis at the picogram (pg) level can be performed using the square wave cathodic stripping (SWSV) technique and standard addition method on HMDE, where reproducible results are obtained more rapidly and reliably. The effects of concentrations of used chemicals and also studied mercury drop size on the cathodic stripping process (Ad-CSV) applied after the adsorptive deposition of platinum compound complexed with hydrazinium sulfate and formaldehyde, was investigated. It was shown that a cathodic stripping peak at approximately -900 mV would be obtained after by deposition at -500 mV.

Nine different samples prepared from human breast cancer tissue interacted with modified platinum compounds were analyzed under optimized experimental conditions. The amount of platinum found as a result of the analysis of tissue samples with different cell numbers was expressed in picograms ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$). The limit of quantitation under optimized conditions was determined as 5,66 ng/mL.

Key Words: Voltammetric platinum analysis, Adsorptive stripping voltammetry

2024, VIII + 67 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin kapsamında Sayın Hocam Prof. Dr. M. Haluk TÜRKDEMİR ile birlikte hazırlamış olduğumuz bilimsel araştırma projesi olan HDP(F)-2020/24 nolu “Kanser Tedavisinde kullanılan platin bileşiklerinin doku örneklerinde ultra eser düzeylerinin voltametrik analizi” başlıklı çalışmaya destek veren Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezimi yöneten ve çalışmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan ve her konuda yol gösteren Sayın Hocam, Prof. Dr. M. Haluk TÜRKDEMİR’ e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda bilgi ve desteğini benden esirgemeyen değerli eşim Onur ATAĞ’ a sonsuz teşekkür ederim.

Tüm tahsil hayatım sürecinde maddi ve manevi desteklerini her an hissettiğim aileme, özellikle yüksek lisans eğitimim sırasında çocuğuma bakarak bana büyük destek olan anneme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hilal KUL ATAĞ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	2
2.1. PLATİN.....	2
2.1.1. Platin Bileşiklerinin Kanseri İlaçlarında Kullanımı ve Etkileri.....	3
2.1.2. Platin Elementi Bileşiklerinin Diğer Kullanım Alanları.....	8
2.1.3. Platin Elementi ve Bileşiklerinin Analizi.....	10
2.2. VOLTAMETRİ.....	14
2.2.1. Sıyırma Voltametri.....	17
2.2.2. Voltametri ile Platin Bileşiklerinin Analizi.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Cihaz ve Donanım.....	27
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanan Çözeltiler.....	28
3.1.3. Çalışılacak Örneklerin Temini.....	28
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. GCE ile Yapılan Çalışmalar.....	30
3.2.2. HMDE ile Yapılan Çalışmalar.....	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	31
4.1. GCE ile Yapılan Çalışmalara Ait Grafikler.....	31
4.2. HMDE ile Yapılan Çalışmalara Ait Grafikler.....	34
4.3. Örneklerin Analizlenmesi.....	48
5. SONUÇ.....	57
KAYNAKLAR.....	61
EK-1: Voltamogramlarda benimsenen Akım-Potansiyel Yönlendirilmesi.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	67

KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
AAS	Atomik absorpsiyon spektrometrisi
AdCSV	Adsorptif katodik sıyırma voltametrisi
AdSV	Adsorptif sıyırma voltametrisi
ASV	Anodik sıyırma voltametrisi
CGME	Kontrollü büyüme cıva elektrodu
CNT	Karbon nanotüp
CSV	Katodik sıyırma voltametrisi
DDB	Dikloroiaminoplatin
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DP	Diferansiyel puls
DPSV	Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
ETAAS	Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometrisi
FA	Fulvik asit
GCE	Camsı karbon elektrot
HMDE	Asılı cıva damla elektrot
HPA	Yüksek basınçlı külleme
HPMA	Hidroksipropilmetakrilamid
ICP-AES	İndüktif olarak eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometrisi
ICP-MS	İndüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi
INAA	Enstrümantal nötron aktivasyon analizi
LS	Doğrusal tarama
LSSV	Doğrusal taramalı sıyırma voltametrisi
LSV	Doğrusal tarama voltametrisi
MFE	Cıva film elektrot
NAA	Nötron aktivasyon analizi
PGE	Platin grubu elementleri
PGM	Platin grubu metalleri
RNAA	Radyokimyasal nötron aktivasyon analizi
SPCE	Karbon devre baskı elektrot
SW	Kare dalga
SWSV	Kare dalga sıyırma voltametrisi
SWV	Kare dalga voltametrisi
TFME	İnce film cıva elektrot
UV	Ultra viyole – mor ötesi
XRF	X-ışınları floresans

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa	
Şekil 2.1.1.	Platinin 25 °C’ de sulu ortamdaki potansiyel-pH diyagramı	3
Şekil 2.1.1.1.	Cisplatin (a), karboplatin (b), oksaliplatin (c) molekül yapıları	4
Şekil 2.1.1.2.	Satraplatin molekül yapısı	6
Şekil 2.1.1.3.	Kanser tedavisi için Platin bazlı ilaçların geliştirilmesinde izlenen yol	7
Şekil 2.1.2.1.	Pt’ nin kullanım alanlarının yüzdesel dağılımı	9
Şekil 2.2.1.	Voltametri deney düzeneği	15
Şekil 4.1.1.	Farklı Pt ²⁺ miktarlarının 1400 mV’ da 120 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri	32
Şekil 4.1.2.	Farklı Pt ²⁺ miktarlarının 1400 mV’ da 60 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri	32
Şekil 4.1.3.	0,05 – 1 ng aralığındaki Pt ²⁺ miktarının 700 mV’ da 30 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri	33
Şekil 4.1.4.	0,05 – 0,25 ng aralığındaki Pt ²⁺ miktarının 700 mV’ da 30 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri	34
Şekil 4.2.1.	1 ng Pt içeren örnekte –500 mV’ da biriktirme süresinin DPSV ve SWSV eğrileri	35
Şekil 4.2.2.	1 ng Pt içeren örnekte –600 mV’ da biriktirme süresinin DPSV ve SWSV eğrileri üzerinde etkileri	35
Şekil 4.2.3.	2 ng Pt içeren örnekte –500 mV’ da biriktirme süresinin SWSV eğrileri üzerinde etkileri	36
Şekil 4.2.4.	2 ng Pt içeren örnekte –600 mV’ da biriktirme süresinin SWSV eğrileri üzerinde etkileri	36
Şekil 4.2.5.	–500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile farklı Pt derişimleri için elde edilen katodik SWSV eğrileri	37
Şekil 4.2.6.	–500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile farklı Pt derişimleri için elde edilen katodik DPSV eğrileri	37
Şekil 4.2.7.	–200 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri	38
Şekil 4.2.8.	–200 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri	39
Şekil 4.2.9.	300 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri	39
Şekil 4.2.10.	–300 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri	40
Şekil 4.2.11.	–400 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri	40
Şekil 4.2.12.	–400 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri	41
Şekil 4.2.13.	–500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri	41

Şekil 4.2.14.	– 500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri	42
Şekil 4.2.15.	600 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri	42
Şekil 4.2.16.	– 600 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri	43
Şekil 4.2.17.	Elektrolit içerisindeki formaldehit derişimi (50 mL elektrolit için 5µL) ve hidrazin derişimi (2,5 mM) sabit tutulurken Pt miktarı ile katodik DPSV değişimi	44
Şekil 4.2.18.	Elektrolit (12 mL) içerisindeki Pt derişimi (0,08 ng) ve hidrazin derişimi (2,5 mM) sabit tutulurken formaldehit miktarının değişiminin (50 mL elektrolit için) DPSV eğrileri üzerindeki etkisi	44
Şekil 4.2.19.	Elektrolit (12 mL) içerisindeki Pt derişimi (0,08 ng) ve Formaldehit derişimi (30 µL/50 mL) sabit tutulurken Hidrazinyum sülfat derişiminin DPSV eğrileri üzerine etkisi	45
Şekil 4.2.20.	Damla büyüklüğü 5 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri	46
Şekil 4.2.21.	Damla büyüklüğü 7 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri	46
Şekil 4.2.22.	Damla büyüklüğü 9 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri	47
Şekil 4.2.23.	Damla büyüklüğü 11 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri	47
Şekil 4.2.24.	Şekil 4.2.17.’ den yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	48
Şekil 4.3.1.	Örnek 2 için elde edilen SWSV eğrileri	49
Şekil 4.3.2.	Örnek 5 için elde edilen SWSV eğrileri	50
Şekil 4.3.3.	Örnek 6 için elde edilen SWSV eğrileri	50
Şekil 4.3.4.	Örnek 8 için elde edilen SWSV eğrileri	51
Şekil 4.3.5.	Örnek 11 için elde edilen SWSV eğrileri	51
Şekil 4.3.6.	Örnek 12 için elde edilen SWSV eğrileri	52
Şekil 4.3.7.	Örnek 13 için elde edilen SWSV eğrileri	52
Şekil 4.3.8.	Örnek 14 için elde edilen SWSV eğrileri	53
Şekil 4.3.9.	Örnek R için elde edilen SWSV eğrileri	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.2.1.	Voltametrde kullanılan çalışma elektrotu çeşitleri ve örnekleri 16
Çizelge 2.2.1.1.	Sıyırma voltametrisi sınıflandırması ve süreçleri 19
Çizelge 3.1.2.1.	Çalışmada kullanılan kimyasalların adı ve üretici firma 28
Çizelge 3.1.3.1.	Örnek molekül kütleleri ve hücre sayıları 29
Çizelge 4.3.1.	Örnek analizleri sonucu hesaplanan Pt miktarları 54
Çizelge 5.1.	Çalışmada analizlenen örnek numaraları ve bulunan Pt miktarları 59

1) GİRİŞ

Antikanser ilaçlarının önemli bir bölümünde etken madde olarak kullanılan ve DNA çift sarmal yapısına girerek özelliklerini bozan platin komplekslerinin fizyolojik etkilerini belirlemek amacıyla hücre yapılarında platin analizi yapılması önemlidir. Çok küçük örnek miktarlarındaki çok düşük düzeyde bulunan platinin, uygun bir yöntemle kimyasal olarak nicel analizinin yapılması, bu amaca yönelik bir tekniğin geliştirilmesi, analitik kimya açısından önemli bir alan oluşturmaktadır. Platin gibi soy bir metalin kimyasal etkileşmelerde yer alma konusundaki isteksizliği, ultra-eser düzeyde analiz gereksinimi, bilinen pek çok teknik için önemli ayırma ve zenginleştirme basamaklarının gerekiyor olması, örnek miktarının azlığı bilinen analiz yöntemlerinin çoğunu kapsam dışına itmektedir.

Elektroanalitik teknikler içerisinde en duyarlı olarak bilinen sıyırma teknikleri, özellikle puls temelli sıyırma tekniklerinin bu amaçla kullanılabildiği bilinmektedir. Hazırlanan uygun platin komplekslerinin adsorpsiyon ile elektrot yüzeyinde uygun bir potansiyel eşliğinde veya doğrudan toplanması sonrası anodik veya katodik yönde düzenli potansiyel taraması ile desorpsiyonun gerçekleşmesi ve buna ilişkin bir akım yanıtının elde edilebilmesi, bu akımın örnekteki analat miktarıyla eşleştirilmesi bu analiz için etkin, kısa sürede sonuç veren, yeterince duyarlı bir seçenek oluşturmaktadır.

Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü bünyesinde yürütülmekte olan antikanser ilaçlarının geliştirilmesi çalışmaları kapsamında hazırlanmış doku örneklerinin parçalanması ile elde edilen örneklerde platin analizi yapılması, mevcut çalışmalara boyut kazandırırken, elektroanalitik teknikler için bir perspektif kazandırmayı amaçlamıştır. Bilinen bir analiz yönteminin bu örneklerde kullanımı için optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir.

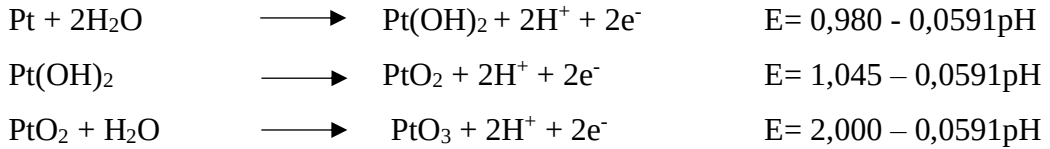
2) KURAMSAL TEMELLER

2.1. PLATİN

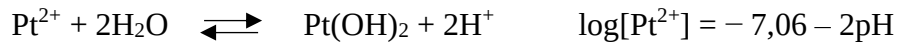
Platin, 1735 yılında Antonio de Ulloa tarafından keşfedilmiştir. Atom numarası 78, atomik kütlesi 195,078 g/mol, oda koşullarında gri-beyaz renkli bir katıdır. Bilinen en yaygın minerali PtAs₂ kimyasal yapısındaki sperrylittir. Nitrik asit ve hidroklorik asit ile çözünürleştirilen mineralin yapısındaki altın ve platin, kompleks bileşikleri halinde çözeltiye geçer. Çözeltideki altın FeCl₂ ile çöktürülerek, platin ise NH₄Cl ile (NH₄)₂PtCl₄ şeklinde çöktürülerek çözeltiden ayrıştırılır. Bu bileşiğin yakılması ile saf platin metali elde edilir.

Platinin Elektrokimyası

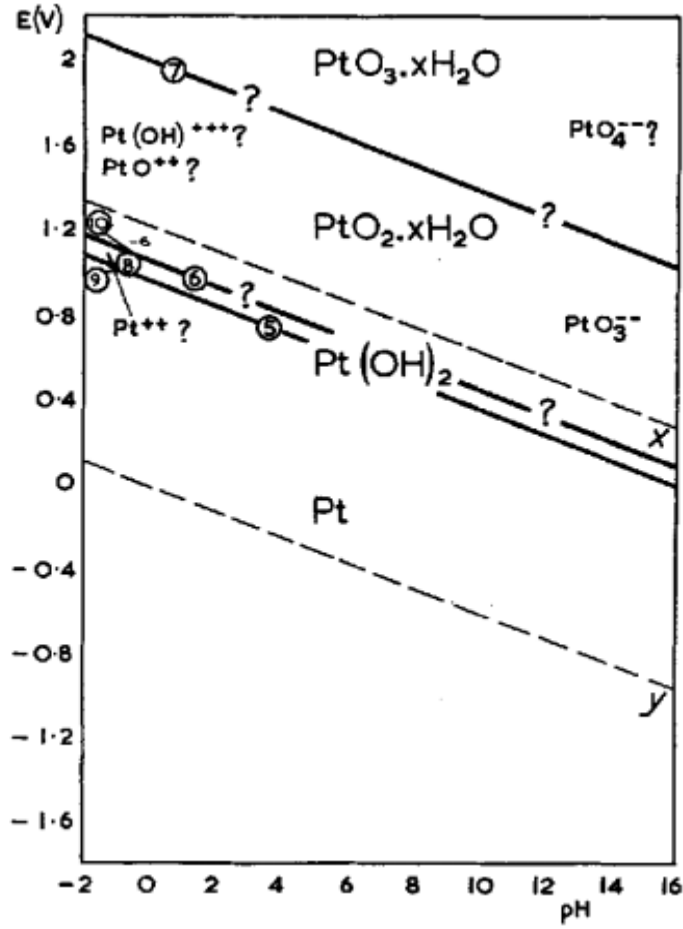
Soy metallerden en çok kullanılan ve doğada en bol bulunanlardan biri olan platin elementinin elektrokimyasal ve kimyasal yükseltgenmesi oldukça sınırlıdır. Temel yükseltgenme tepkimeleri ve potansiyelleri Pourbaix ve diğerleri (1959)' da aşağıdaki şekilde verilmektedir.



Ayrıca ortamın pH' si de aşağıdaki denkliliklere bağlı olarak serbest Pt²⁺ derişimi üzerinde etkili olmaktadır (Pourbaix ve diğerleri, 1959).



Ortamda başka kompleksleştirici bileşen yokken 25°C'de sulu ortamda Pt' nin Pourbaix diyagramı şekil 2.1.1 de verilmiştir.



Şekil 2.1.1 Platinin 25 °C’ de sulu ortamdaki potansiyel-pH diyagramı.

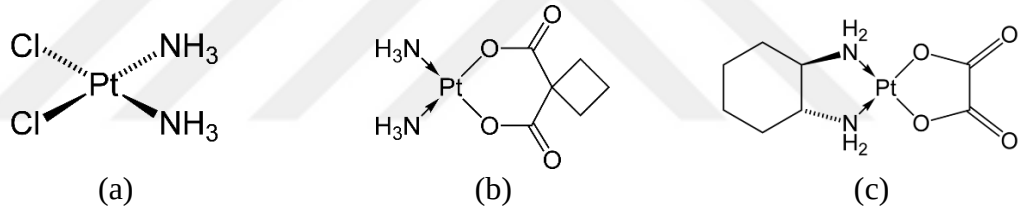
Suyun kararlı olduğu bölgede elementel platinin büyük ölçüde kararlı olduğunu görüyoruz. Ama Pt’ nin $K_2S_2O_8$, $K_2Cr_2O_7$, $KClO_3$ gibi yükseltgenlerin bulunduğu ortamda az da olsa Pt^{2+} basamağına veya ortamın pH’ sine bağlı olarak PtO_2 ’ e yükseltgendiğini söylemek mümkündür. Ayrıca platinin oksitlenmiş formlarının kararlılığı ortamın pH’ sine ve ortamda yükseltgenlerin, indirgenlerin bulunmasına bağlı olarak değişmektedir (Pourbaix ve diğerleri, 1959).

2.1.1. Platin Bileşiklerinin Kanser İlaçlarında Kullanımı ve Etkileri

Kanser çeşitleri günümüzdeki en yaygın görülen ölümcül hastalıklardandır. İlaç potansiyeli olan metal kompleksleri, DNA’ ya bağlanmaları ve etkileşimleri son yıllarda çok önemli hale gelmiştir. Antikanser ilaçların ana hedefi genellikle hücre içerisindeki

DNA' dır. Platin komplekslerinin biyolojik aktivitesinin, spesifik DNA-Pt bağlanmalarından kaynaklandığı bilinmektedir. Özellikle kanser hücreleri gibi hızlı çoğalan dokularda, DNA' nın çift sarmal yapısında bozulmalara neden olarak hücrelerin bölünme ve çoğalması süreçlerinin engellenmesinden sorumludur. Ayrıca platin komplekslerinin ideal molekül yapısı, hücre çekirdeği içindeki nükleik asitlere ulaşmayı sağlar. Platin kompleksleri kanser kemoterapisinde en sık kullanılan ilaçlardan birisi olması nedeniyle yeni platin komplekslerin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve fizyolojik etkilerinin incelenmesi çok önem kazanmış ve çalışmalar çeşitlenerek hızlanmıştır.

En başarılı antikanser ilaçlarından biri olan cisplatin, hücre tarafından alındığında, DNA' ya bağlanarak DNA hasarına neden olur ve böylece hücre ölümünü gerçekleştirir. Bu nedenle yumurtalık, testis, mesane, bağırsak, akciğer, baş ve boyun kanserleri gibi büyük bir alanda kullanılmaktadır (Chen ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.1.1.1 Cisplatin (a), karboplatin (b), oksaliplatin (c) molekül yapıları.

Yapısındaki klorür iyonlarının yüksek aktivitesi nedeniyle cisplatin kararsız bir kompleksdir. Glutasyon, metalotioninler ve kükürt içeren aminoasitler gibi nükleofillerle birleştirilerek ilaç direncine sebep olurlar. Ayrıca cisplatinin yağda çözünürlüğünün yüksek olmaması, hücre emiliminin düşük olmasına neden olur. Cisplatinin nefrotoksisite, nörotoksisite, ototoksisite, saç dökülmesi ve bulantı gibi bazı yan etkileri vardır, bu da doz sınırlamasına yol açmaktadır.

Cisplatin DNA' ya bağlanarak hücre bölünmesi ya da büyümesi, protein sentezinin engellenmesi gibi bazı hayati fonksiyonları değiştirebilir veya yok edebilir (İçsel ve Yılmaz, 2016). Cisplatin, yapısındaki klor atomları aracılığıyla DNA' ya kovalent olarak bağlanır. Cisplatin-DNA çapraz bağ oluşumu, DNA sarmalının kararlılığının

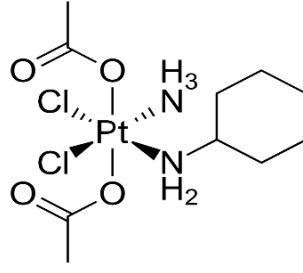
kaybolmasına neden olur. Bazı hücrelerdeki DNA, platine bağlı kısımdan koparak açık uçundan yeniden çoğalarak kendini onarabilir. Fakat genellikle onarması mümkün olmaz, çoğalması durur ve hücre ölür. Cisplatin günümüzdeki birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadır, ancak sadece kanserli hücrelere değil sağlıklı hücrelere de zarar verir. Ayrıca fazla toksik olması ve zamanla kanserli hücrelerin cisplatine karşı direnç kazanması nedeniyle farklı Pt komplekslerinin sentezlenmesi araştırmalara konu olmuştur (İçsel ve Yılmaz, 2016).

Sentezlenen bu komplekslerden en iyi sonuç verenlerden biri de karboplatindir. Karboplatin, cisplatine göre iki değişkenli klorür ligandı yerine iki dişli bir dikarboksilat ligandı olan bir platin (II) etkin maddesi olup, daha kararlı ve daha düşük toksisiteye sahiptir (Avramovic ve diğerleri, 2019). Ayrıca karboplatin, cisplatine göre daha düşük böbrek toksisitesine neden olmaktadır. Karboplatinin DNA ile etkileşimi cisplatine benzerdir fakat aynı etkiyi göstermesi için derişiminin 20-40 kat daha fazla olması gerekmektedir.

Oksaliplatin, yüksek sitotoksiteli, DNA ile büyük ölçüde etkileşerek onarım yolunu önleyen hacimli bir Pt(II) bileşigidir (Avramovic ve diğerleri, 2019).

Karboplatin ve oksaliplatin, cisplatine göre antitümör aktivitesi ve çözünürlüğü daha yüksek, toksik etkileri daha düşük olması açısından geliştirilmiştir (Zivkovic ve diğerleri, 2018).

Satraplatin (şekil 2.1.1.2) ise kemoterapi için geliştirilen Pt(IV) komplekslerindendir ve ilk kez ağız yoluyla kullanılan kemoterapik ajandır. Pt(IV) komplekslerinin aktivitesi Pt(II) komplekslerine göre daha azdır ayrıca mide bağırsak mukozasından emilimi hızlı ve en az altı farklı Pt(II) metabolite indirgenmesinden dolayı satraplatinin toksisitesi ve yan etkileri düşüktür. Satraplatin, akciğer, yumurtalık ve prostat kanseri de dahil olmak üzere platine dirençli birçok insan kanseri türünde klinik çalışmalarda başarılı olmuştur.

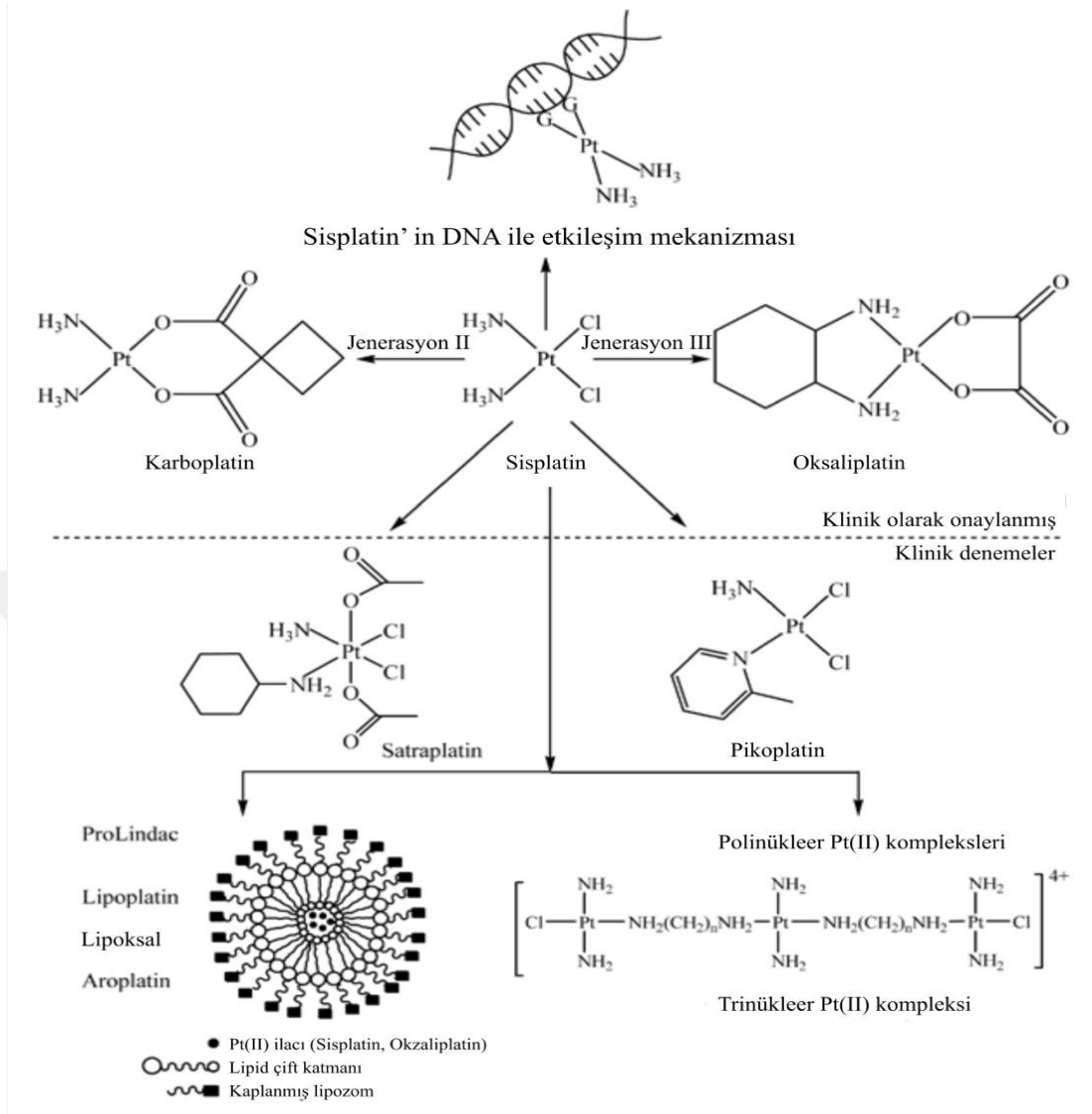


Şekil 2.1.1.2. Satraplatin molekül yapısı.

Son yıllarda, Pt(II) ilaçlarının taşınımını iyileştirmek, toksisitesini azaltmak ve daha iyi ilaç toleransı elde etmek için lipozomal ve polimer bazlı ilaç taşıyım sistemleri geliştirilmiştir. Bir lipozomda veya özel olarak tasarlanmış bir polimerde kapsüllenmiş Pt(II) ilaçları, Pt(IV) ilaçlarına göre daha iyi çözünürlük, biyo-uyumluluk, daha iyi membran geçirgenliği, uygulama sistemlerinde ilaç stabilitesi gibi avantajlara sahiptir.

Prolindac, oksaliplatinin hidroksi propilmetakrilamid (HPMA) polimeri içerisinde kapsüllenmesi ile oluşturulmuştur ve oksaliplatine göre biyo-uyumluluğu daha yüksektir. Meme, yumurtalık, akciğer ve prostat kanserlerinin tedavisinde, metastatik melanom ve yumurtalık kanseri tedavisinde önemli antikanser aktivite göstermiştir (Avramovic ve diğerleri, 2019).

Kanser tedavisinde kullanılan karboplatin, oksaliplatin ve cisplatin gibi klinik olarak onaylanmış etkin maddelerin yanı sıra henüz araştırma aşamasında olan etkin maddeler de bulunmaktadır (Şekil 2.1.1.3.).



Şekil 2.1.1.3. Kanser tedavisi için platin bazlı ilaçların geliştirilmesinde izlenen yol (Avramovic ve diğerleri, 2019).

Toksisitesini azaltmak ve etkinliğini arttırmak amacıyla benzer metal kompleksleri sentezlenmeye ve kanser tedavisinde kullanılabilirlikleri incelenmeye devam edilmektedir (Yılmaz ve diğerleri, 2018). Antikanser etkilerinin olumlu sonuç vermesinden dolayı; W, V ve Mo gibi bazı geçiş grubu metallerinin kompleks bileşikler de bu çalışmalar arasında yer almıştır. Ayrıca altın, galyum, rutenyum ve titanyum gibi metallerin de bazı komplekslerinin kemoterapik etkileri incelenmekte ve denenmektedir (Avramovic ve diğerleri, 2019).

2.1.2. Platin Elementi ve Bileşiklerinin Diğer Kullanım Alanları

Platin grubu metalleri (PGM; Pt, Pd, Ir, Ru, Rh, Os) kimyasal maddelerin aşındırıcı, yükseltgeyici etkilerine karşı pek çok teknik ve endüstriyel amaçlarla kullanım olanağı bulabilmektedir. Atmosferik koşullara ve korozyona dayanımı nedeniyle önemli kimya üretim alanlarında elektronik cihazlar, diş hekimliği, takı gibi daha pek çok alanda kaplama veya yapı malzemesi olarak kullanılabilirler (Saurat ve Bringezu, 2008).

1980' lerden bu yana egzozdan çıkan karbon monoksit ve azot oksit emisyonlarını azaltmak ve benzin yanma verimini arttırmak için otomobillerin katalitik konvertörlerinde PGM kullanılmaktadır (Komendova, 2020). Bu nedenle en büyük kullanım alanlarından birisi de otomotiv endüstrisidir. Ancak otomobillerdeki kullanımının artışına bağlı olarak yoğun trafikli yolların yakınlarındaki toprak örneklerindeki Pt derişiminin giderek artmakta olduğu rapor edilmektedir (Zimmermann, 2001).

Platin estetik özelliklere ve kalıcı parlaklığa sahip olduğu için mücevher sektöründe kullanıldığı gibi, altın gibi yatırım amaçlı da kullanılmaktadır.

Hidrojen ve metan temelli yakıt hücrelerinde de sıklıkla platin veya platin kaplı elektrotlar kullanılmaktadır (Rao ve Reddi, 2000). Fosil yakıt tüketmeyen otomobillerin yaygınlaşması ile bu alandaki platin grubu metallere duyulan gereksinimin ve pazarın büyüyeceği öngörülebilir. Düşük sıcak yakıt hücrelerinde katalizör olarak Pt yerine Pt/Fe alaşımının 20 kat daha iyi sonuç verdiği gösterilmiştir (Çavuşoğlu, 2006).

Doğal yağlardan margarin eldesinde nikelin yanı sıra platin, paladyum gibi PGM veya bunların alaşımları hidrojenizasyon katalizörü olarak kullanılmaktadır (Komendova, 2020).

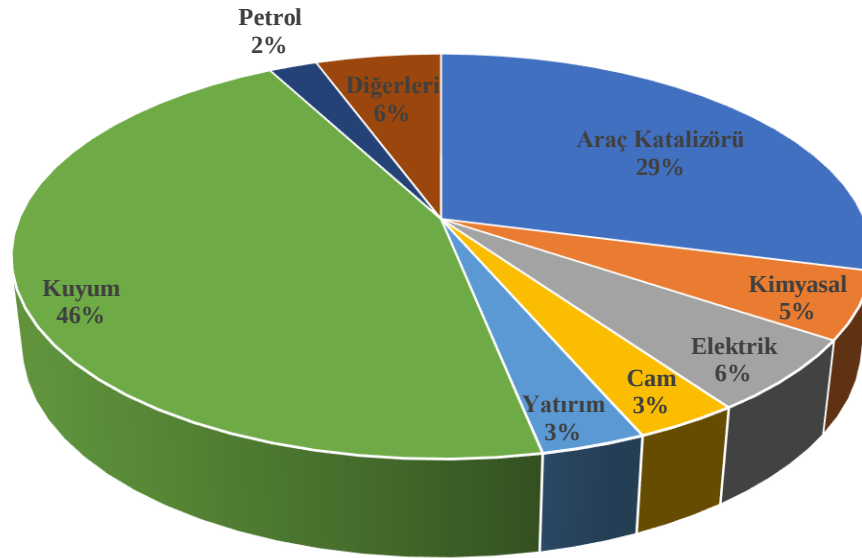
Biyomedikal özellikle in-vivo uygulamalar da PGM kullanımına yönelik bir başka alan oluşturmaktadır. Vücut içi altın uçlu sensör yüzeylerinin Pt-Ir alaşımları ile kaplanması sinyal alım kalitesi ve verimli kullanım süresi açısından çok daha etkin

olduğu gösterilmiştir (Petrossians ve diğerleri, 2011). Biyomedikal uygulama alanına başka bir örnek de damar içi stent yüzeylerinin, daha yüksek biyo-uyumluluk ve performansı sağlaması nedeniyle Pt-Ir alaşımlarıyla kaplanmasıdır (Bhargava ve diğerleri, 2000).

Elektronik ve cam üretimi de PGM' nin uygulama bulduğu başlıca alanlardandır. Elektronik endüstrisinde platin, kobalt ve krom alaşımı ile manyetik depolama ortamlarının kaplanması da PGM' nin kullanım alanını önemli ölçüde arttırmaktadır.

Kimyasal inertliği, büyük yükseltgenme potansiyeli, kolay şekillendirilebilir ve parlatılabilir olması nedeniyle, elektrokimyasal ve elektroanalitik çalışmalarda, redoks potansiyeli ölçümü ve iletkenlik ölçümünde, voltametrde hem çalışma elektrotu hem yardımcı elektrot olarak disk, levha veya kafes şeklinde çeşitli tipte ve büyüklükte platin elektrotlar kullanılmaktadır.

Platinin kullanım alanlarına göre dağılımı, Şekil 2.1.2.1. de şematize edilmiştir (Rao ve Reddi, 2000).



Şekil 2.1.2.1. Pt' nin kullanım alanlarının yüzdesel dağılımı (Rao ve Reddi, 2000).

2.1.3. Platin Elementi ve Bileşiklerinin Analizi

Doğal ve biyolojik örneklerde genellikle iz veya ultra iz düzeyinde bulunabilen platin ve platin bileşiklerinin nicel analizi için çok duyarlı ve çok küçük tayin sınırına sahip analitik tekniklere gereksinim duyulmaktadır. Bu yöntemlerin uzun ön işlem ve zenginleştirme işlemleri gerektiren bazıları oldukça zahmetli, bazıları ise oldukça maliyetlidir.

Platin analizi için yeterince küçük tayin sınırları nedeniyle indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi (ICP-AES), indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS), elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS), adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV), X ışını floresans spektrometrisi ve nötron aktivasyon analizi (NAA) kullanılmaktadır (Kovacheva ve Djingova, 2002). Bu yöntemlerin yanı sıra platin elementi ve bileşiklerinin analizine bakıldığında grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi, Auger elektron spektroskopisi gibi analiz yöntemleri de kullanılmaktadır.

Kanser ilacı olarak kullanılan cis-diklorodiamino platin (DDP) bileşiğinin denek olarak kullanılan köpeklerin doku ve vücut sıvılarında neden olduğu platin birikimi grafit fırın atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile analizlenmiş, 30 ppb' nin altındaki derişimlere kadar platin ölçümleri gerçekleştirilmiş, nötron aktivasyon analizi ile doğrulama çalışmaları yapılmıştır. Kullanılan AAS tekniğinde biyolojik dokularda 2 ng' a kadar nicel platin analizleri yapılabileceği gösterilmiştir. Çoğu örnekte tayin sınırının altında kalan doku örneklerinde platin düzeyleri ölçümü gerçekleştirilememiştir (Leroy ve diğerleri, 1977). Aynı teknikle İtalya' da otoyol yakınında Po nehri ağzı etrafından örneklenen defne yaprakları ve standart referans materyal olan zeytin ağacı yaprakları (BCR-CRM 062) ile domates bitkisi yaprakları (NIST-SRM 1573a) analizlenmiş, örneklerdeki Pt seviyesi yine tayin sınırının altında kalmıştır (Locatelli ve diğerleri, 2005).

ICP-MS ile platin grubu elementlerin (PGE) analizlenmesi mümkün olsa da, iki dezavantajı bulunmaktadır. İlki, elementlerin izotoplarından kaynaklanabilecek spektral

örtüşme ve diğeri ise kütle spektrumlarında izobarik girişimlere yol açabilen Ar plazması içinde moleküler iyonların oluşumudur. Higney ve diğerleri, (2002), yol tozu örneklerindeki Pt derişimini belirlemek için ICP-MS tekniğı kullanarak 0,1 µg/kg tayin sınırında ölçüm yapmışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise ICP-MS ile balık karaciğeri ve midye yumuşak dokusundaki eser düzeydeki platini analizlemek için geliştirdikleri yöntemin tayin sınırını 2,4 ng/L olarak belirlemişlerdir. ICP-MS düşük tayin sınırına sahip olması nedeniyle eser miktarlardaki Pt analizi için iyi bir alternatif oluşturur, ancak çevresel örneklerdeki matriks etkisini azaltmak için ön işlem gerektirir (Zimmermann ve diğerleri, 2001). Ayrıca cihazın pahalı olması yöntemin erişilebilirliğini zorlaştırmaktadır (Higney ve diğerleri, 2002).

Çevre örneklerinde platin analizi için yeterince düşük tayin sınırına sahip olan ICP-AES tekniğı, örnek matrikslerinde PGE' nin 4 – 8 katı bulunan girişim yapıcı bileşenlerin yol açtığı sorunlar nedeniyle ancak kısıtlı uygulama olanağı bulabilmektedir (Kovacheva ve Djingova, 2002).

Tayin sınırı yeterince küçük olmayan ve biyolojik örnek matriksinden olumsuz etkilenen elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS) tekniğı, ancak deriştirme ve ayırma gibi kimyasal ön işlemlerden sonra platin analizi için kullanılabilir. Kanser ilacı olarak kullanılan cis-diklorodiaminoplatin(II)' nin kanser tedavisi gören insanların doku ve vücut sıvılarında neden olduğu Pt birikimini ETAAS ile analizlemişler. Yöntemin % standart sapması 2,44, tayin sınırı 2,54 µg/L olarak belirlenmiştir (Najafi ve diğerleri, 2010). Akış enjeksiyonu on-line ayırma ve ön deriştirme gibi ön işler ETAAS' nin bir sorununu giderirken aynı zamanda ETAAS' nin seçiciliğini ve hassasiyetini arttırdığı gösterilmiştir (Bosch Ojeda ve diğerleri, 2003). ETAAS' nin platin tayini için bir sakıncası ise, platinin atomizasyonunun yüksek sıcaklık gerektirmesi ve bunun da karbür oluşumuna neden olabilmesidir (Balcerzak, 1997).

Nötron aktivasyon analizi (NAA) çok düşük tespit limitleri sunan bir yöntemdir. Garuti ve diğerleri, (2000) dört farklı jeolojik referans maddede PGE ve altın analizi yapmak için iki yöntem geliştirmişlerdir. Bunlardan biri radyokimyasal nötron aktivasyon analizi (RNAA) diğeri enstrümantal nötron aktivasyon analizi (INAA). Her iki yöntem için

ortalama kesinlik %5, tayin sınırı aralığı ise 0,001-0,015 ng olarak belirlenmiştir. Nükleer bir reaktöre erişim gerektiren bu analiz tekniği rutin analizler için uygun değildir, referans analiz olarak kullanılır. Çok hassas bir teknik olmasıyla beraber çok pahalı ve kolay erişilemeyen bir tekniktir (Essalik ve diğerleri, 1995 ve Balcerzak, 1997).

Platin grubu metalleri analizinde spektrofotometrik yöntemlerin kullanımı, duyarlılığının düşük olmasından dolayı sınırlıdır. Georgieva ve Andonovski (2003) platin tel, platin-iridyum alaşımı, gümüş tel ve bazı inorganik malzemelerde geliştirdikleri bir UV spektrofotometresi yöntemi ile Pt analizi yapmışlar, yöntemin tayin sınırını $4,7 \times 10^{-7}$ mol/L olarak belirlemişlerdir.

Kullanılmış otomotiv katalizörlerindeki 0 ile 2700 ppm derişimleri arasında değişen Pt' i analizlemek için yüksek enerjili polarize ışın XRF kullanılmış ve yöntemin tekrarlanabilirliği %0,5' ten daha iyi bulunurken, kesinliği yaklaşık %1, tayin sınırı da 5 ppm' den daha iyi olduğu bulunmuştur (Van Meel ve diğerleri, 2007). Başka bir çalışmada da Pt içeren ilaçlarla kanser tedavisi gören insanların kan ve kan plazmalarındaki Pt miktarı yine XRF kullanılarak belirlenmiş ve bu yöntemin çeşitli spektrometreleri ile elde edilen tayin sınırları 70 ve 200 $\mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur (Greaves ve diğerleri, 2006).

Elektrokimya her zaman araçsal basitlik, ucuz maliyet, taşınabilirlik sağlayan analitik tekniklere sahiptir. Elektroanalitik teknikler iyi tekrarlanabilirlik, yüksek doğruluk, kesinlik, seçicilik, kolay uygulanabilirlik gibi özelliklerinden dolayı endüstriyel materyallerin, biyolojik örneklerin, biyomedikal ve farmasötik uygulamaların analizlerinde sıklıkla tercih edilmektedir (Uslu, 2010).

Elektrokimyasal teknik olan sıyırma voltametrisi platin grubu metalleri analizlerinde kullanılan çok hassas yöntemler arasındadır. Cihaz üç elektrot içeren elektrokimyasal hücreden ve potansiyostattan oluşur. Günümüzde bu teknikte kullanılan cihazlar taşınabilirlik, düşük maliyet, uygulamada kolaylık, yeterli hassasiyet ve seçicilik gibi avantajlar vadetmesi nedeniyle küçülme eğilimindedir. Voltametri dışındaki tekniklerin çoğu bir ön deriştirme ya da ayırma gerektirmektedir. Adsorptif sıyırma voltametrisi bu

işlemlerin yapılmasına ihtiyaç bırakmaz (Kolodziej ve diğerleri, 2007). Güney Afrika’ da madencilik faaliyetlerine yakın nehirlerden alınan çevre örnekleriyle bizmut film ile kaplanmış SPCE (karbon devre baskı elektrot) kullanılarak yapılan Rh, Pt ve Pd, analizleri sırası ile 0,005 0,006 ve 0,008 g/L tayin sınırları ile gerçekleştirilmiştir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar sayesinde de elektrokimyasal analizlere iyi bir alternatif sağlanırken; analizin sadece duyarlılığı değil, aynı zamanda seçiciliği de iyileştirilebilmektedir (Silwana ve diğerleri, 2014).

Biyolojik örneklerde dahil olmak üzere farklı matrikslerde PGM analizleri için adsorptif katodik sıyırma voltametrisi elektrokimyasal teknikler içerisinde en sık kullanılan tekniktir (Sures ve diğerleri, 2002). Adsorptif sıyırma voltametrisi genellikle asılı cıva damla elektrotunun (HMDE) yüzeyinde biriken platin (II) formazın kompleksi tarafından protonların katalitik indirgenmesinin ölçülmesi esasına dayanır. Elektrokimyasal olarak aktif olan kompleks, cıva damla elektrotundaki hidrojen aşırı gerilimini düşürürken, diferansiyel puls yöntemi ile duyarlı bir analizi mümkün kılmaktadır. Bu yöntem platin için çok hassas olmakla birlikte organik matrikslerden olumsuz etkilenir, bu nedenle analiz öncesi organik matriksin uygun bir yöntemle parçalanması gerekmektedir (Balcerzak, 1997). Kullanılan voltametrik yöntemle insan vücut sıvılarında ve bitki materyallerinde ppm ve ppb seviyelerinin de çok daha altındaki eser düzeylerde Pt analizi yapılması mümkün olabilmektedir (Sures ve diğerleri, 2002). Kolodziej ve diğerleri, (2007) Polonya’ nın yoğun nüfuslu bölgelerinden gelen bitki örneklerindeki eser miktarlarda bulunan Pt’ i analizlemek için voltametriyi tercih etmişlerdir. Çalışma elektrotu olarak camsı karbon elektrot tercih ederken, teknik olarak diferansiyel puls ve çevrimsel voltametri tekniklerini kullanmışlar, yoğun kirlilik göstermeyen bölgelerden toplanan örneklerde 19,1 ng/g, yoğun trafikli alanlardan toplanan örneklerde ise 136 ng/g Pt analizlemişlerdir.

Kandaki düşük doz ilaçların seviyelerini, metabolitlerini ve idrarla atılımını ölçmede, voltametrik teknikler, özellikle kromatografik yöntemlerle birleştğinde oldukça yararlıdır. Kare dalga voltametri (SWV), diğer voltametrik tekniklerle karşılaştırıldığında, yüksek hız, yüksek analitik duyarlılık ve belli bir miktara kadar çözünmüş oksijene duyarsızlık gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Uslu (2010) 1997 ve 2010

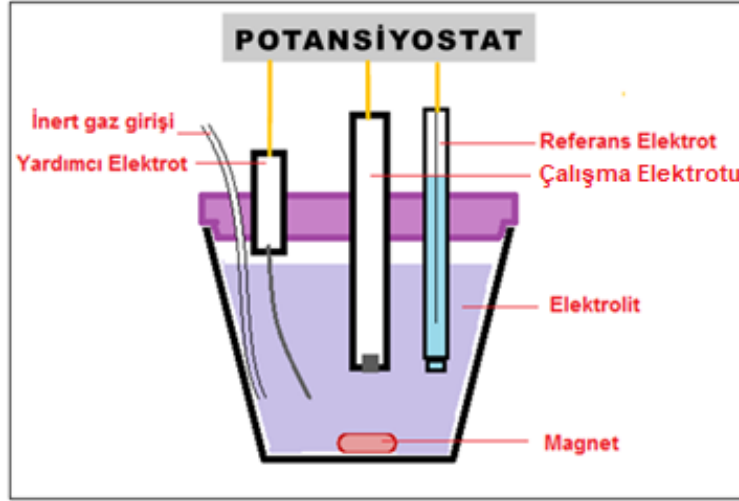
yılları arasında adsorptif sıyırma voltametrisi ve sıyırma tekniği olarak diferansiyel puls (DP) ve kare dalga (SW) tekniği kullanılarak çeşitli farmasötik örneklerde platin analizleri yapmışlar, bu örnekler için tayin sınırlarını Ads-DPV tekniği için $6,3 \times 10^{-7}$ mol/L, Ads-SWV tekniği için $1,7 \times 10^{-10}$ mol/L olarak belirlemişlerdir.

Çevresel matriksler içerisinde toprak, PGE bulaşıcılığının en fazla ve en duyarlı olduğu ortamı oluşturmaktadır. Otoyol kenarlarından toplanan farklı toprak örneklerindeki ortalama Pt derişimini karşılaştıran çalışmalara bakıldığında, insan müdahalesi olmayan topraklardaki Pt derişiminin $0,14 \mu\text{g/kg}$, tarımsal topraklardakinin de $1,12\text{-}20,9 \mu\text{g/kg}$ aralığında olduğu görülmüştür. Durum böyle olunca toprak altında yetişen, çok yıllık bitkisel gıda olan patates örneklerinde Pt derişimi incelenmiştir. Avrupa ve Avustralya’da üretilen 38 farklı patates örneğinde Pt, diferansiyel puls voltametrisi ile standart ekleme yöntemi kullanılarak analizlenmiş ve yöntemin tayin sınırı $0,007 \mu\text{g/kg}$ olarak bulunmuştur (Orecchio ve Amorello, 2019).

2.2. VOLTAMETRİ

Voltametri; potansiyeli çok iyi kontrol edilen elektriksel iletken bir yüzeyde meydana gelen kapasitif ve faradayik yüklenmelere karşılık gelen akım geçişlerinin ölçülmesinden yararlanılan elektrokimyasal bir yöntemdir. Çalışılan iletken yüzeyde oluşan indirgenme/yükseltgenme tepkimelerine bağlı olarak kimyasal redoks süreçleri ve mekanizmaları incelenebileceği gibi, redoks davranışı gösterebilen kimyasal türlerin nicel analizlerini yapmak da mümkün olabilmektedir.

Voltametrik çalışmalar, bir potansiyostat/galvanostat yardımıyla kontrol edilen üç elektrotlu elektrokimyasal hücre içerisinde gerçekleştirilir. Bu sistemdeki kontrol ünitesi olan potansiyostat; referans elektrot ile çalışma elektrotu arasına uygun bir potansiyel uygularken veya programlı bir şekilde değiştirirken, çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot arasından geçen akımı kaydeder. Üç elektrotlu voltametri hücresinin öğelerinden biri olan çalışma elektrotunun potansiyeli zamanla değişirken, referans elektrotunun potansiyeli deney süresince sabit kalır. Üçüncü elektrot ise akımın iletilmesini sağlayan yardımcı elektrottur (Skoog ve diğerleri, 2004.). Şematik gösterim Şekil 2.2.1 de verildiği gibidir.



Şekil 2.2.1. Voltametri deney düzeneği.

Referans Elektrot: Potansiyelleri ölçülmek veya kontrol edilmek istenen elektrotlara karşı bağlanan potansiyeli bilinen ve sabit olan elektrottur. Standart hidrojen elektrot, kalomel elektrot, Ag/AgCl elektrot kullanılan referans elektrotlara örnektir.

Yardımcı Elektrot: Voltametri hücresinde çalışma elektrotundan geçen akımın, devreyi tamamlaması için gerekli olan elektrottur. İki elektrotlu voltametri uygulamalarında karşıt (counter) elektrot adını alır. Bu elektrotun yüzeyi akımı sınırlamayacak şekilde büyük, elektrot malzemesi elektrolit bileşimine zarar vermeyecek şekilde inert olmalıdır. Platin tel, grafit, camsı karbon elektrot gibi elektrotlar örnek olarak verilebilir. Levha, disk veya tel şeklinde olabilir.

Çalışma Elektrotu: Üzerinde meydana gelen kapasitif ve faradayik yüklenmelere bağlı olarak potansiyeli doğrusal olarak değişen elektrottur (Skoog ve diğerleri, 2004). Voltametrinde farklı nitelikte çalışma elektrotları kullanılmaktadır. Bu elektrotları altı grupta ele almak mümkündür. Voltametrinde genel amaçlarla kullanılan çalışma elektrodu çeşitleri çizelge 2.2.1 de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2.1. Voltametri de kullanılan çalışma elektrotu çeşitleri ve örnekleri.

Cıva Elektrotlar • Damlayan Cıva Elektrot (DME) • İnce Film Cıva Elektrot (TFME) • Asılı Cıva Damla Elektrot (HMDE) • Statik Cıva Damla Elektrot (SMDE) • Amalgam Elektrot	Karbon Elektrotlar • Camsı Karbon Elektrot (GCE) • Karbon Pasta Elektrot • Kalem Ucu Elektrot • Grafit
Katı Elektrotlar • Platin • Altın • Gümüş • Rodyum	Modifiye Elektrotlar • Kimyasal Modifiye Elektrotlar • Biyo-sensör Elektrotlar • Enzimatik Sensör Elektrotlar
Döner Elektrotlar • Döner Disk Elektrot • Döner Disk Halka Elektrot	Yarı İletken Elektrotlar • Chemfet • Baskı Devre Elektrot • Oksit Yüzeyli Elektrot

Bu elektrot tiplerinin üç tanesi çalışmamızda yararlanıldığı için aşağıda ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

Asılı Cıva Damla Elektrot (HMDE): Cıva damlaları bir cıva havuzundan dikey kılcal borudan kontrollü şekilde akması sağlanarak oluşturulur. Hava ile temas etmeyen saf cıvanın hazneden akışı elektronik bir sistemle kontrol edilen selenoid bir çekileme sistemi ile gerçekleştirilmektedir. Aktif hale getirilmiş valf cıvayı dağıtır, valfin açık olduğu süre ile damla boyutu kontrol edilir (Wang, 2006).

Camsı Karbon Elektrot (GCE): Camsı karbon, yüksek basınç ve sıcaklıkla yarı elmasımsı bir nitelik kazandırılmış, parlak ve gözeneksiz yüzeyli bir karbon allotropudur. Elektrotun yapısında çapraz bağlardan oluşan ince grafit tabakalar bulunur. Elektrotun aktifliğini, tekrarlanabilirliğini ve analitik performansını iyileştirmek için yüzey temizleme işlemi ve aktivasyon işlemi yapılır. Elektrotun yüzey durumuna göre temizleme bir ped üzerine saf su dökülerek sekiz çizme ya da dairesel hareketlerle yapılabileceği gibi alümina parçacıklarıyla da yüzey düzeltme ve parlatma işlemleri

yapılabilir. Bu işlemlerden sonra elektrot yüzeyi saf su ile yıkanmalıdır. Elektrot yüzeyinin aktive edilmesi için kimyasal ve elektrokimyasal işlemler vardır, örneğin 0,5N H₂SO₄' te 30 saniye bekletmek, deney öncesi belli bir potansiyel uygulamak veya belli bir potansiyel aralığında üç çevrim yapmak gibi.

Camsı karbon elektrotun eşsiz mekanik ve elektriksel özellikleri, geniş potansiyel aralığı, kısmen tekrarlanabilir özelliği nedeniyle çokça tercih edilmektedir (Wang, 2006).

Platin Elektrot: Soy metal olan Pt yaygın olarak kullanılan metal elektrotlardandır. Bu tür soy metal elektrotların anodik potansiyel aralığı genişken, katodik potansiyel aralığı sınırlıdır. Soy metallerin yüzey tabakası sorunu susuz ortamlarda daha az gözlemlenmektedir bu nedenle susuz ortamlar için uygun bir seçim olmaktadır. Platin elektrotlar, altın gibi soy metal elektrotlara göre daha az inert olduğundan yüzey kirliliğinin oluşumuna daha fazla meyillidir (Saito ve Kikuchi, 2014).

2.2.1. Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma voltametrisi, ppb, ppt seviyelerinin çok daha altında tayin sınırına sahip, çeşitli metal ve organik madde analizi yapılabilen en hassas elektroanalitik yöntemdir. İlk aşamasını oluşturan biriktirme basamağında analat elektrot yüzeyinde fiziksel, kimyasal veya elektrokimyasal yöntemle toplanır, bu basamak bir önderiştirme basamağıdır. Biriken bileşen yüzeyden uygun bir elektrokimyasal veya kimyasal etki ile uzaklaştırılırken geçen akım ya da sürenin ölçülmesi ise sıyırma basamağını oluşturur (Compton ve diğerleri, 2013 ve Economou ve Fielden, 1993).

Bazı elektrot yüzeylerinde biriktirme basamağı öncesinde koşullama veya aktivasyon periyodu yer alabilir. Elektrot yüzeyinde önceki çalışmalardan kalabilecek kirliliklerin uzaklaştırılma ve yüzeyin aktive edilmesi ile istenen yüzey elde edilmeye çalışılır. Bu süreçte ve biriktirme aşamasında çözelti uygun hızda karıştırılmalıdır. Biriktirme sürecinde farklı mekanizmalar söz konusu olabilmektedir. Bunlar özetlenirse;

- Metal atomlarının inert bir katı elektrot üzerinde elektrokimyasal olarak biriktirilmesi,
- Bir cıva elektrotunda metal iyonlarının indirgenmesi ve metal atomlarının cıva içinde çözünmesi,

- Cıva veya gümüş yüzeyinde az çözünür cıva veya gümüş tuzlarının çökeltilmesi,
- Soy metal elektrot yüzeylerinde metal oksitlerin, hidroksitlerin veya diğer çözünmeyen tuzların çökmesi sağlanarak biriktirilmesi,
- Elektrot malzemesi ile analizlenecek bileşiğin kimyasal tepkimesi ile birikim,
- Cıva yüzeyinde elektroaktif organik maddelerin adsorpsiyonu,
- Metal iyonlarının komplekslerinin organik ligandlarla adsorpsiyonu,
- Komplekslerin sinerjik adsorpsiyonu,
- Metal iyonlarının anyon kaynaklı adsorpsiyonu,
- Metal iyonlarının yüzey kompleksleşmesi,
- Yüzeyi değiştirilmiş elektrotlarda iyon değişimi ile biriktirme,
- İki karışmaz elektrolit çözeltisinin arayüzü boyunca iyon transferi ile ekstraksiyon şeklinde sıralamak mümkündür (Scholz, 2010).

Biriktirme süreci bitiminde karıştırıcının durmasından sonra çözeltinin durağanlaşması için 3-5 saniyelik bir dengelenme süreci vardır. Biriktirilen bileşenin yüzeyden sıyrılma işleminin voltametrik olarak gerçekleştirilmesi sırasında karıştırıcı devre dışı bırakılır. Biriktirme basamağı uygun bir elektriksel alan ile gerçekleştirilecekse, uygulanacak potansiyel istenen türlerin elektrot yüzeyinde toplanmasını sağlarken, sıyrılma basamağında girişim yapacak türlerin toplanmasını engelleyecek şekilde seçilmelidir. Seçilen biriktirme potansiyeli, elektrot yüzey büyüklüğü, biriktirme sürecindeki manyetik karıştırıcının hızı, biriktirme süresi ve derişim, elektrot yüzeyinde biriktirilen miktar üzerinde etkili olurken, elde edilecek sıyırma pikinin büyüklüğü üzerine biriktirilen miktar dışında uygulanan potansiyel programı ve hızı da etkili olacaktır. (Wang, 2006). Yaygın şekliyle bilinen ve geniş uygulama alanı bulunan altı çeşit sıyırma voltametrisi vardır. Bunlar çizelge 2.2.1.1 de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2.1.1. Sıyırma Voltametrisi Sınıflandırması ve Süreçleri.

Sıyırma Voltametrisi	Biriktirme Süreci	Sıyırma Süreci	Sinyal Ölçümü	İsmi Aldığı Süreç
Anodik Sıyırma Voltametrisi	Elektrokimyasal İndirgeme	Elektrokimyasal yükseltgeme	Yükseltgeme pik akımı	Sıyırma Süreci
Katodik Sıyırma Voltametrisi	Elektrokimyasal Yükseltgeme	Elektrokimyasal İndirgeme	İndirgeme pik akımı	Sıyırma Süreci
Adsorptif Sıyırma Voltametrisi	Kimyasal Adsorpsiyon	Anodik veya Katodik Voltametri	Yükseltgeme veya İndirgeme pik akımı	Biriktirme Süreci
Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi	Anodik veya Katodik Voltametri	Kimyasal Yükseltgeme veya İndirgeme	Potansiyel Değişim	Ölçüm Süreci
Abrasif Sıyırma Voltametrisi	Fiziksel Sürütme	Anodik veya Katodik Voltametri	Yükseltgeme veya İndirgeme pik akımı	Biriktirme Süreci
Sonokimyasal Sıyırma Voltametrisi	Fiziksel	Elektrokimyasal Yükseltgeme veya İndirgeme	Yükseltgeme veya İndirgeme pik akımı	Biriktirme Süreci

Sıyırma voltametrisi çeşitlerinden ASV ve CSV ilk geliştirilen teknikler olup, önceleri yalnızca asılı cıva damla elektrot yardımıyla uygulanmaktaydı. Daha sonra cıva ince film (TFME) ve amalgam elektrotlar, GCE, Altın-Bakır veya Bizmut gibi metal elektrotlar,

yüzeyi karbon nanotüp ve grafen ile modifiye edilmiş karbon temelli elektrotlar kullanılmaya başlandı.

Anodik sıyırma voltametrisinde biriktirme basamağında indirgenme tepkimesi;

$\text{Me}^{n+} + \text{Hg}_{(s)} + n\text{e}^- \rightarrow \text{Me}(\text{Hg})$ şeklinde gerçekleşirken, sıyırma basamağında anodik yönde potansiyel taraması yapılırken biriktirme tepkimesinin tam tersi yürüyerek metal katyonlarında yükseltgenme gerçekleşir. Asılı cıva damla elektrot üzerinde katodik olarak H_2 gazının çıktığı çok negatif gerilimlerinin uygulanması ile gerçekleştirilen Ultra-katodik biriktirmeli ASV ile, duyarlılık ve tayin sınırının pek çok metalik katyon için 10 kata kadar arttırılabileceği rapor edilmiştir (Rodrigues ve diğerleri, 2011).

Yöntemde, metaller küçük hacimli bir cıva elektrotuna kontrollü bir sürede ve belirli bir potansiyelde katodik olarak indirgenirken amalgam yapısında biriktirilir. Biriktirme basamağının süresi analizlenecek metalin derişimine göre belirlenir. Derişim 10^{-7} M seviyesinde ise 0,5 dakikaya kadar biriktirme süresinde çalışılırken, 10^{-10} M seviyesinde ise 20 dakikaya kadar biriktirme süresinde çalışılabilir (Wang, 2006).

ASV’ de genelde asılı cıva damla elektrotu, katı elektrotlar, kimyasal olarak değiştirilmiş elektrotlar, cıva film elektrotlar çalışma elektrotu olarak kullanılmaktadır. HMDE ve MFE ile ASV yapılırken her seferinde yenilenmiş yüzeylerle çalışılır. HMDE yüzeyi her ölçümde yeni bir cıva damlası ile hızlı bir şekilde oluşturulur, MFE yüzeyi yeni bir cıva film ile kaplanarak ya da elektrokimyasal olarak oluşturulur, bu işlem HMDE deki kadar kısa değildir fakat hassasiyet daha fazladır.

Katodik sıyırma voltametrisinde ise biriktirme basamağında;

$n\text{Hg}_{(s)} + \text{X}^{n-} \rightarrow \text{Hg}_n\text{X} + n\text{e}^-$ tepkimesinde olduğu gibi uygulanan anodik potansiyelde cıva yükseltgenerek anyon ile çözünmeyen cıva (I) tuzu oluşur, oluşan bu tuz sıyırma basamağında katodik yönde potansiyel taraması yapılırken uygun potansiyelde tepkimenin tersine dönmesi ile cıva indirgenir ve anyon çözeltiye döner.

Her iki sıyırma tekniğinde de aynı denemede birkaç kimyasal tür analizlenebilir. Biriktirme süresi, belli bir sınıra kadar arttıkça sıyırma tepkimelerine ilişkin pik akımları da doğrusal bir şekilde artmaktadır.

Adsorptif sıyırma voltametrisinde biriktirme elektrokimyasal değil, kimyasal ve fizikseldir. Analizlenecek metal tür kompleksleştirilerek genellikle modifiye edilmiş katı metal elektrot yüzeyine adsorbe edilir. Sıyırma sürecinde genellikle katodik yönde tarama yapılırken indirgenme gerçekleşir ve kompleks yapı bozulur. Bu süreçte geçen akım ile yüzeyde toplanan adsorbe olmuş madde miktarı orantılıdır. Bu sayede nicel analiz yapılması mümkün olabilmektedir. (Scholz, 2010 ve Wang, 2006).

Son yıllarda karbon nanotüp (CNT) ve fullerenler kullanılarak modifiye edilmiş ve yüzey büyüklüğü, adsorban özelliği artırılmış katı elektrotlarla uygulanan sıyırma voltametrisi tekniği ile ağır metallerin analizinde duyarlılık ve çok yönlülük artmıştır. Modifiye edilmiş bu elektrotlarda organik yapıların adsorplanma özellikleri çok arttığından, özellikle adsorptif sıyırma voltametrisi için giderek artan önemde bir seçenek oluşturmaya başlamıştır. Organik ligandlarla etkileştirilerek organometalik kompleksleri hazırlanan ağır metallerin analizinde cıva elektrotlara göre daha yüksek duyarlılık ve daha iyi tayin sınırları sunabilmektedirler ve aynı zamanda cıvaya oranla ihmal edilebilir toksisiteye sahip olmalarının avantajını taşımaktadırlar. Ancak denemeler arasında elektrot yüzeyinin yeniden kullanıma hazır hale getirilmesi zahmetli ve zaman alıcı önlemler gerektirebilmekte, ya da karbon fiber gibi tek kullanımlık malzemeler ile sorun aşılma çalışılmaktadır (Wang ve Yue, 2017).

Elektrokimyasal teknikler içerisinde duyarlılığı en yüksek olan teknik sıyırma voltametrisidir. Metal analizleri konusunda ICP ile rekabet edebilecek tayin sınırları ve duyarlılığa sahiptir. Ancak yatırım ve analiz maliyeti, daha geniş derişim aralığında doğrusallık ve metalik olmayan analatlar için kullanılabilirliği göz önüne alındığında, ICP tekniğinden üstünlükleri ortaya çıkmaktadır. Yüklü ve moleküler yapıda anorganik, organik ve organometalik bileşiklerin analizlerinde kullanılabilen sıyırma voltametrisi, metalik bileşiklerin tür analizleri (spesiasyon çalışmaları) için de çalışma olanakları sunabilmektedir. Ancak ICP ile çalışma kolaylığını oluşturan otomatik örnekleme,

analizcinin deney başında beklemesine gerek olmaması; özel bir eğitim ve birikim gerektirmemesi gibi faktörler değerlendirildiğinde, özellikle metalik bileşiklerin analizinde ICP' nin neden daha çok tercih edildiğini anlamak mümkün olabilmektedir.

2.2.2. Voltametri ile Platin Bileşiklerinin Analizi

Platin grubu metallerin (PGM); özellikle biyolojik veya endüstriyel örneklerde, eser düzeylerde ve karmaşık matrisler içerisinde analizlenmesi bilinen tüm analitik teknikler için önemli zorluklar içermektedir. Elektroanalitik teknikler iyi tekrarlanabilirlik, yüksek doğruluk, kesinlik, seçicilik, kolay uygulanabilirlik gibi özelliklerinden dolayı endüstriyel materyallerin, biyolojik örneklerin, biyomedikal ve farmasötik uygulamaların analizlerinde sıklıkla tercih edilmektedir. En duyarlı elektroanalitik teknik olan sıyırma voltametrisi, Bölüm 2.2.1. de belirtilen üstünlükleri nedeniyle önemli bir seçenek oluşturmaktadır. Bu teknik HMDE, grafit veya camı karbon elektrot yüzeyinde PGM' nin kompleksleri halinde biriktirilmesi sonrası sıyırma akımlarının puls (DP ve SW) veya doğrusal (LS) potansiyel taraması ile ölçülmesi temeline dayanır. Özellikle HMDE üzerinde biriktirilen PGM kompleksleri, cıva üzerindeki hidrojen aşırı gerilimini düşürerek hassas katalitik akım oluşturur. Bu tekniğin yeterince duyarlı sonuç vermesi için örnek matrisinden kaynaklanan organik yapıların derişik HNO₃ ile parçalanarak uzaklaştırılmasının önemli olduğu belirtilmektedir (Rao ve Reddi, 2000).

Son yıllarda katalitik konvertörler ve çeşitli katalitik amaçlarla platin grubu metallerin kullanım alanının genişlemesi, bu metallere ihtiyacın artmış olması, madencilik faaliyetlerinin hız kazanmasına yol açmış, bunun sonucu olarak yüzey sularındaki varlıkları da artmaya başlamıştır. Silwana ve diğerleri (2014) Güney Afrika' da madencilik faaliyetlerine yakın nehirlerden alınan su örneklerinde Rh, Pt, Pd analizleri yapmışlardır. Bu analizi bizmut film ile kaplanmış SPCE kullanarak adsorptif diferansiyel puls voltametrisi ile gerçekleştirmişler ve analiz sonucunda Rh, Pt, Pd tayin sınırlarını sırası ile 0,005 µg/L, 0,006 µg/L ve 0,008 µg/L olarak belirlemişlerdir. Bu çalışma sıyırma voltametrisinin ne kadar hassas bir yöntem olduğunu göstermekle birlikte, kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal analizlere iyi bir alternatif olduğunu, aynı zamanda analizin sadece duyarlılığının değil, seçiciliğinin de iyileştirilebildiğini göstermektedir.

2019 yılında Hırvatistan Krka Nehri su örnekleri ile yapılan çalışmada platin seviyesini belirlemek ve aynı zamanda yüzey aktif maddelerin voltametrik sinyal üzerindeki girişiminin değerlendirilmesi ve ortadan kaldırılması amacı ile katalitik adsorptif katodik sıyırma voltametrisi kullanılmıştır. Çalışma elektrotu olarak statik cıva damla elektrot tercih edilmiş ve yüzey aktif madde olarak fulvik asit kullanılmıştır. Yapılan çalışmada fulvik asit eklenen ölçümlerde Pt pik yoğunluğunun güçlü bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Pik yoğunluğundaki bu önemli düşüşün, bu düşük FA seviyesinin (0,025 mg/L) yüzey aktivitesi nedeniyle elektrot yüzeyindeki rekabetçi adsorpsiyondan mı kaynaklandığı yoksa asidik koşullarda bile Pt(II)' nin organik madde ile güçlü kompleksleşmesinin meydana gelip gelmediği açıklanamamıştır. Yöntemin tayin sınırı 10 pM olarak ölçülmüştür (Padan ve diğerleri, 2019).

Kolodziej ve diğerlerinin, (2007) yaptıkları çalışmada ise Polonya' nın yoğun nüfuslu bölgelerinden toplanan bitki örneklerinde eser düzeydeki Pt analizi yapılmıştır. Bu analiz için diferansiyel puls voltametrisi ve çevrimsel voltametri tekniklerine başvurulmuş, elektrot olarak camsı karbon elektrot kullanılmış, ppb seviyesinde Pt analizlenmiştir.

1997 ve 2010 yılları arasında yapılan voltametrik çalışmalar incelendiğinde adsorptif sıyırma voltametrisi tekniğinin sıklıkla kullanıldığı görülmektedir. Sıyırma tekniği olarak diferansiyel puls ve kare dalga teknikleri farmasötik örneklerde Pt analizi için kullanılmış ve çalışma elektrotu olarak modifiye edilmiş camsı karbon elektrot tercih edilmiştir. Tayin sınırları Ads-DPV tekniği için $6,3 \times 10^{-7}$ mol/L, Ads-SWV tekniği için $1,7 \times 10^{-10}$ mol/L olarak belirlenmiştir (Uslu, 2010).

Rusya, Kazakistan, Kırgızistan ve Özbekistan' daki altın madeni yataklarından temin olunan cevherlerde, Bi ve Hg gibi nispeten daha elektronegatif metallerle modifiye edilmiş grafit elektrot üzerinde sıyırma voltametrisi ile platin, paladyum ve altın analizleri yapılmıştır. Analiz duyarlılığını arttıran çalışma elektrotu modifikasyonu, tek başına yükseltgenme piki vermeyen Pt ve Rh içinde anodik pik elde edilmesine olanak sağlamıştır. Doğrusal tarama modunda sıyırma voltametrisi yapılan çalışma sonucunda incelenen metallerin ppm sevisinde analizleri yapılmıştır (Kolpakova ve diğerleri, 2015).

Biyolojik örneklerde sıyırma voltametrisi ile Pt analizine ilişkin de pek çok çalışma bulunmaktadır. Plastik cerrahide kullanılan poliakrilamid jelin platin içeren preparatları biriktirme ve çevre dokulara salma eğilimi araştırılmıştır. Klorür içeren çözeltilerde grafit elektrot üzerinde tek başına Pt için bir anodik pik elde edilemez, ancak yardımcı bir metal varlığında yapılabilir. Bu nedenle çalışmada çalışma elektrotu olarak polietilen emdirilmiş cıva-grafit elektrot kullanılmıştır. Grafit elektrot yüzeyine platin ve cıva aynı anda doygun Ag/AgCl referans elektrota karşı -1,0 V da katodik olarak biriktirilen platin, 50-60 mV/s tarama hızı ile ve doğrusal potansiyel taramalı sıyırma voltametrisi (LSSV) ile, yaklaşık +0,15 V da anodik sıyırma piki yardımıyla analiz yapılmıştır. Yöntemde platin için tayin sınırı 0,026 mg/L olarak belirlenmiştir (Kolpakova ve diğerleri, 2003). Aynı teknikle platin analizinin Pt-Hg ve Pt-Cd eş biriktirmeli grafit elektrot ile yapıldığı bir çalışmada -1,0 V da katodik olarak biriktirme sonrası, 80 mV/s tarama hızı ile ve LSSV tekniği anodik sıyırma yapmışlardır. +0,15 V anodik piki saf cıvadan kaynaklanırken, +0,33 V anodik pikinin Pt(IV) ve çözeltideki Hg (II) derişimlerinden kaynaklanmakta olduğu ve Pt(IV) derişiminin artmasıyla pikin +0,40 V' dan daha pozitif potansiyellere kaydığı gözlemlenmiştir. Aynı şekilde kadmiyumdan kaynaklanan -0,75 V' daki anodik pik Pt derişiminin artmasıyla -0,62 V' a kaymıştır. Bu pik kaymalarından yararlanarak Pt derişimi hesaplanmış ve tayin sınırı ppm seviyesinde bulunmuştur (Gorchakov ve diğerleri, 2012). Başka bir çalışmada ise platin bazlı ilaçlarla tedavi gören insanların ve platin bileşiklerine mesleki olarak maruz kalan insanların kanındaki Pt seviyelerini belirlemek için adsorptif voltametri tekniğini HMDE ile uygulamışlar ve μ L kan örneği için tayin sınırını 0,017 ppb olarak bulmuşlardır. Bu yöntem ile insan kanındaki doğal Pt seviyesini de 0,1-2,8 ppb aralığında belirlemişlerdir (Nygren ve diğerleri, 1990).

Avrupa ve Avustralya' nın 38 farklı bölgesinden toplanan patates örneklerinde Pt derişiminin hesaplanması ve karşılaştırılması amaçlanan bir çalışmada diferansiyel puls tekniği ve adsorptif sıyırma voltametrisi kullanılmıştır. Çalışma elektrotu olarak HMDE tercih edilmiş, yöntemin tayin sınırını 0,007 mg/kg olarak bulunmuştur (Orecchio ve Amorello, 2019).

Schmid ve Atherton (1986), kanser tedavisi gören insanların idrarında antikanser ilaçları içerisinde bulunan cisplatin (platin-II kompleksi) analizini diferansiyel puls voltametrisi ile tayin etmişlerdir. Analizde camı karbon elektrot kullanılmış ve tayin sınırı ppm seviyesinde belirlenmiştir. Biyolojik materyallerde Pt analizi için yüksek duyarlılığı nedeniyle tercih edilen adsorptif katodik sıyırma voltametrisi ile saç, dışkı, idrar, kan gibi insan örneklerinde, hayvan ve bitki materyallerinde Pt analizi yapılmıştır. Bu teknikte oluşabilecek girişimleri azaltmak için örneklerin tamamen parçalanması gerekir, bunun için ACSV ile yüksek basınçlı küllemeyi (HPA) birleştirerek insan ve bitki materyallerinde ilk kez pg/L seviyesinde Pt analizlemişlerdir. Başka bir çalışmada aynı teknik ile balık karaciğeri ve midye yumuşak dokusundaki Pt seviyesini analizlemişler ve tayin sınırını 0,13 ng/L Pt olarak belirlemişlerdir (Zimmermann ve diğerleri, 2001).

HMDE üzerinde adsorptif sıyırma voltametrisi ile, platine maruz kalan insanların vücut sıvılarındaki platin düzeyini belirlemek için yapılan bir çalışmada diferansiyel puls voltametrisi ile çeşitli vücut sıvılarında ng/L seviyesinde Pt belirlenmiştir (Messerschmidt ve diğerleri, 1992). Platinin ultra eser düzeydeki analizi için katalitik-adsorptif sıyırma voltametrisi de kullanılmıştır. Yöntem, platin-formazonun adsorptif olarak birikiminin bir hidrojen katalitik tepkimesi ile birleştirilmesine dayanır. Analiz hidrazin, formaldehit ve sülfürik asit içeren bir elektrolit varlığında platin-formazon kompleksinin oluşumu ile başlar. Hidrojen katalitik tepkimesinin adsorptif sıyırma voltametrisi ile birleşimini daha da iyileştirmek amacıyla yapılan bir çalışmada hidrojen katalitik tepkimesini değiştirmişler, hidrazin yerine hidroksilamin kullanarak adsorptif sıyırma voltametrisi ile platin analizi yapmışlardır. Hidrazin varlığında platin tayin sınırı 0,2 ng/L iken hidroksilamin varlığında platin tayin sınırını 0,05 ng/L olarak belirlemişlerdir (Wang ve diğerleri, 1999). Aynı yöntemin kullanıldığı başka bir çalışmada ise hidrazin yerine tiyosemikarbazid kullanılmış ve tayin sınırı $1,5 \times 10^{-9}$ mol/L olarak belirlenmiştir (Huszał ve diğerleri, 2005).

Zhao ve Freiser (1986), yukarıda bahsedilen katalitik süreçlerden yararlanarak Pt(II) ve Pt(IV) analizi yaparken, farklı olarak diferansiyel puls polarografisi tekniğini kullanmışlar, katalitik süreç olarak yine hidrazin ve formaldehit kullanılarak platinin

formazonla kompleksleşmesi sürecinden yararlanmışlardır. Yapılan çalışmada Pt(II) ve Pt(IV) 6×10^{-7} ile 1×10^{-10} M aralığında analizlenmiştir.

Biyolojik ve jeolojik sulu örneklerdeki pikomolar düzeyinde platin analizi için, hidrazin-formaldehit- H_2SO_4 ortamında cıva elektrot yüzeyinde oluşturulan platin-formazon kompleksinin neden olduğu katalitik hidrojen indirgenme pikinden yararlanılması önerilmiştir. Bu yöntemde kullanılan TFME’deki cıva adsorptif olarak biriktirilen formazon kompleksinin LSV ile katodik sıyırma piki temel alınarak standart ekleme tekniği ile platin için 0,2 ppb derişimine kadar doğrusal çalışma aralığı elde edileceği gösterilmiş, bazı yüzey aktif maddelerin adsorpsiyon sürecine etkileri incelenmiştir (Adeloju ve diğerleri, 1990).

Biyolojik örneklerin analizlendiği başka bir çalışmada antikanser ilaç adayları olarak sentezlenen Pt(II) kompleksleri içeren yapıların antikanser aktivitesi yine sıyırma voltametriyle analizlenmiştir. Çalışma elektrotu olarak asılı cıva damla elektrot (HMDE), teknik olarak diferansiyel puls tekniği kullanılmıştır. Biyolojik doku ve hücrelerin farklı kısımlarında birikim gösteren Pt miktarları ng düzeyinde analiz edilmiştir (Yılmaz ve diğerleri, 2018). Bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında tayin sınırının kullanılan çalışma elektrotu ile yakından ilgili olduğu ve HMDE ile daha hassas olarak belirlendiği görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda sıyırma voltametrisinin elektrokimyasal teknikler içerisinde en duyarlı teknik olmasının yanı sıra, eser düzeyde platin grubu metallerin (Pt, Pd, Ir, gibi) nicel analizlerinde de pratik ve basit uygulamalara olanak ve çeşitli üstünlükler sağladığı görülmektedir.

3) MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Cihaz ve Donanım

Elektrokimyasal Sistem: Çalışmada elektrokimyasal tekniklerde potansiyostatik sistem olarak Bioanalytical System Inc.'in Epsilon model bilgisayar kontrollü potansiyostatu ve ver. 2.13.77_UsB yazılımı kullanıldı. Katı elektrotlarla yapılan deneyler BASi Marka C3 Hücre standı kullanılarak ve BAS MR – 1208 kodlu yaklaşık 20 mL hacimli cam voltametri hücreleri içerisinde gerçekleştirildi.

Voltametrik çalışmalarda; çalışma elektrotu olarak kullanılan BAS MF-2012 3 mm çaplı Camı Karbon Elektrot (GCE)' un yüzeyi deneme öncesinde yaklaşık 15 saniye boyunca CHI120 kodlu temizleme kiti kullanılarak mekanik olarak temizlendi ve parlatıldı. Referans elektrot olarak BAS MF-2052 Ag/AgCl/3M NaCl' den yararlanıldı, voltamogram ve çizelgelerdeki tüm potansiyel değerleri bu referans elektrot potansiyeline bağlı olarak gösterildi. Yardımcı elektrot olarak geleneksel Pt tel veya levha elektrot kullanımından kaçınıldı, silindirik grafit çubuk yapısında el yapımı geniş yüzeyli bir elektrottan yararlanıldı. Bu elektrot yüzeyi de deneyler arasında belirli periyotlarla mekanik olarak temizlendi.

Çalışma elektrot yüzeyleri büyüteç altında sürekli takip edildi, periyodik olarak x800 büyütme optik ve dijital mikroskop kullanılarak incelendi, derin çizik ve yüzey olumsuzluklarından kaçınılmaya çalışıldı.

Cıva elektrot ile yapılan çalışmalarda çalışma elektrotu olarak BASi CGME (Controlled Growth Mercury Electrode) ile aynı referans ve yardımcı elektrotlardan yararlanıldı.

Hassas Teraz: SHIMADZU marka AUW220D model 0,01/0,1 mg duyarlılıkta hassas terazi kullanıldı.

Manyetik Karıştırıcı: WiseStir marka MSH-200 kodlu manyetik karıştırıcı kullanıldı.

Mikropipetler: Eppendorf marka 0,5-10 µL / 10-100 µL / 100-1000 µL kapasiteli mikropipetler ve mikropipet uçları kullanıldı.

Saf su cihazı: Deneysel çalışmalarda kullanılan ultra saf su (18,2 Mohm), Human Zeener Power I marka saf su cihazı ile elde edildi. Tüm çözeltiler bu su kullanılarak hazırlandı. Kullanılan cam kapların damıtık su ile çalkalanmaları sonrası son çalkalama işleminde yine ultra saf su kullanıldı.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanan Çözeltiler

Çizelge 3.1.2.1. Çalışmada kullanılan kimyasalların adı ve üretici firma.

Kullanılan Kimyasal	Kimyasal Formülü	Üretici Firma
Sülfürik asit, % 95-98	H ₂ SO ₄	Merck
Hidrazinyum sülfat, min %99	N ₂ H ₆ SO ₄	Merck
Formaldehit, % 37	HCOH	Carlo Erba
Potasyum tetrakloroplatinat, % 99,9	K ₂ PtCl ₄	Merck
Hidroklorik asit, % 37	HCl	Riedel

Çalışmada GCE ve grafit elektrot ile yapılan çalışmalarda elektrolit olarak 0,05 M H₂SO₄ kullanıldı. HMDE ile yapılan çalışmalarda 0,36 M H₂SO₄, 2,5x10⁻³ M N₂H₆SO₄ ve her 100 mL için 60 µL %37' lik formaldehit eklenmiş bileşimli elektrolit kullanıldı.

Pt²⁺ Standart Çözeltisinin hazırlanışı:

4,08 mg K₂PtCl₄ tartılarak 0,01 M HCl çözeltisi kullanılarak 10 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltide Pt²⁺ derişimi 1,9156 mg/10 mL olduğu hesaplanarak, 5,2 µL' si 10 mL' ye seyreltilerek 1 µg/10 mL veya 0,1 µg/ mL derişimli standart çözelti hazırlanmış oldu. Alüminyum folyo sarılarak ışıktan korunan çözelti çalışma boyunca; optimum deney şartları belirlenirken, kalibrasyon grafiği hazırlanırken ve standart eklemeli örnek analizlerinde kullanıldı.

3.1.3. Çalışılacak Örneklerin Temini

Bursa Uludağ Üniversitesi Kimya bölümünde antikanser etkilerini incelemek üzere sentezlenmiş yeni 7 farklı Pt(II) bileşiğinin, hücre yapısına giren düzeylerinin

belirlenmesine yönelik analitik yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu bileşikler, PR_3 ligandları (PPh_3 , PPh_2Cy , $PPhCy_2$ ve PCy_3) içeren platin(II) sakkarinat komplekslerinin tersiyer fosfinlerle etkinleştirilmesi yoluyla ve farklı mekanizmalarla sentezlenmiştir (Yılmaz ve diğerleri, 2018). Bileşiklerin antikanser etkileri, insan göğüs kanseri hücreleri olan MCF-7 hücrelerine karşı test edilmiştir. MCF-7 hücreleri 4 saat boyunca $37\text{ }^{\circ}C$ ' de 25 mM derişimli hazırlanan bileşiklere ve cisplatine maruz bırakılmış, daha sonra inkübasyon ortamı çıkarılan hücreler iki kez soğuk fosfat tamponlu tuzlu çözelti ile yıkanmış, tripsinize edilmiş ve hücre süspansiyonu sayılmıştır.

Örneklerin parçalanmaları ve çözünürleştirilmeleri için ayrılan fraksiyonlarının üzerine $2,5\text{ mL}$ ultra saf HNO_3 (% 69) eklenip kuruluğa kadar buharlaştırma işlemi uygulanmış, eser düzeyde HNO_3 kalıntısı bile, analiz üzerinde olumsuz etki yaptığı için üzerine 1 mL HCl (% 37) eklenip tekrar kuruluğa kadar buharlaştırma işlemi uygulanmıştır. Buharlaştırma sonrası kalıntılar doğrudan optimize edilmiş bileşimdeki elektrolit içerisinde çözünürleştirilerek analiz için kullanılmıştır (Yılmaz ve diğerleri, 2018). Örneklerin, sentez ve onkolojik çalışmayı yapan grubun vermiş olduğu numaralama sistemine sadık kalınarak belirtilmesi kararlaştırılmıştır. Örnekler çizelge 3.1.3.1 de verilmiştir.

Çizelge 3.1.3.1. Örnek molekül kütleleri ve hücre sayıları.

Örnek	Molekül Kütlesi (Dalton)	Hücre Sayısı
2	959,86	550.000
5	835,72	2.400.000
6	835,72	2.000.000
8	987,92	440.000
11	813,14	650.000
12	689,99	620.000
13	841,17	3.200.000
14	745,09	3.000.000
R	300,05	2.800.000

3.2. YÖNTEM

Çalışılan örneklerdeki platini analiz etmek için sıyırma voltametrisi yöntemi kullanıldı. Bu yöntem Bölüm 2.2.1. de detaylı bir şekilde ele alındı. Sıyırma voltametrisi ile platin analizi için asılı cıva damla elektrotu ve camsı karbon elektrot üzerinde deneysel çalışmalar yapıldı.

3.2.1. GCE ile Yapılan Çalışmalar

GCE ile yapılan çalışmalarda elektrolit olarak kullanılan 0,05 M H₂SO₄' ten voltametri hücresine 12 mL alındı. Referans elektrot olarak Ag/ AgCl (3 M NaCl) ve yardımcı elektrot olarak grafit çubuk kullanıldı. Uygulanan katodik sıyırma tekniği için 1400 mV ve 700 mV biriktirme potansiyelinde 30, 60, 120 saniyelik biriktirme süreleri sonrasında -500 mV' a kadar diferansiyel puls tekniği ile anodik sıyırma yapıldı.

GCE yüzeyindeki platinin vermiş olduğu pik için, literatür bilgisi ile değerlendirilerek, camsı karbon yüzeyinde metalik forma indirgenen Pt' nin H⁺/H₂ çıkış tepkimesini katalizlemesi olarak ele alınmıştır. Davranışlarını anlamak için elektrolit içerisindeki Pt' nin çevrimsel voltamogramı alınmıştır (Kolodziej ve diğerleri, 2007).

DPSV Çalışma Parametreleri (Cihaz üzerinde otomatik olarak seçilen koşullar)

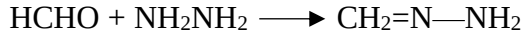
Step potansiyeli	: 4 mV
Puls genişliği	: 50 ms (milisaniye)
Puls periyodu	: 200 ms
Puls yüksekliği	: 50 mV
Dinlendirme süresi	: 5 s (quit time)
Tarama hızı	: 20 mV/s

3.2.2. HMDE ile Yapılan Çalışmalar

HMDE ile yapılan çalışmalarda, elektrolit olarak kullanılan 0,36 M H₂SO₄, 2,5×10⁻³ M N₂H₆SO₄ ve 60 µL %37' lik formaldehit içeren (100 mL elektrolit için) karışımdan 12 mL voltametri hücresine alındı, referans elektrot olarak Ag/ AgCl (3 M NaCl) ve yardımcı

elektrot olarak GCE (3 mm çaplı) kullanıldı. Uygulanan katodik sıyırma tekniği (CSV) için – 600 mV ve – 500 mV biriktirme (deposition) potansiyelinde 30, 60 ve 120 s' lik biriktirme süreleri sonrasında – 1000 mV' a kadar diferansiyel puls (DPSV) ve kare dalga (SWSV) teknikleri katodik sıyırma potansiyel programından yararlanıldı.

Formaldehit ve hidrazin tepkimeye girdiğinde formazon oluşur.



Ortama Pt eklendiğinde formazonun Pt(II) ile tepkimeye girdiği ve $[\text{Pt}(\text{CH}_2=\text{NNH}_2)_2]^{2+}$ şeklinde formazon-platin kompleksi oluştuğu görülmektedir. Voltametrik olarak aktif olan bu kompleks, elektrot yüzeyine güçlü bir şekilde adsorbe olarak yüksek bir katalitik hidrojen indirgenme akımına neden olur (Zhao ve Freiser, 1986).

SWSV alışma Parametreleri (Cihaz yzerinde otomatik olarak seçilen koşullar):

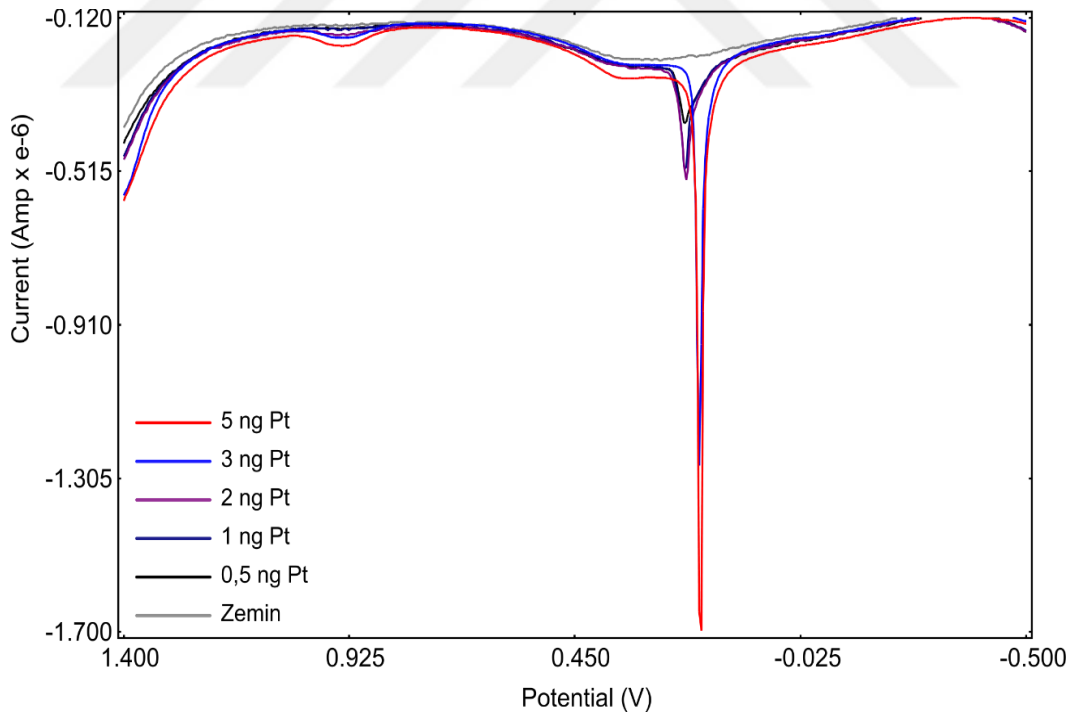
Step potansiyeli	: 4 mV
Kare dalga yüksekliği	: 25 mV
Puls frekansı	: 15 Hz
Dinlendirme süresi	: 5 s (quit time)
Hesaplanan tarama hızı	: $15 \times 4 = 60 \text{ mV/s}$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

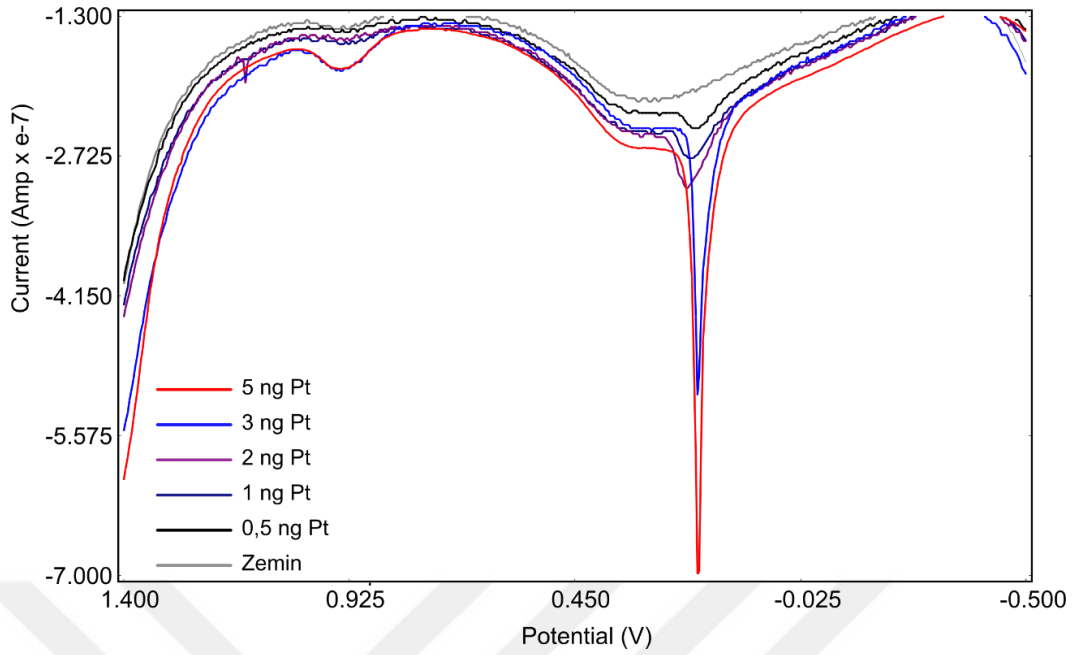
Voltametrik çalışmalarda elde edilen akım/potansiyel eğrilerinin yön tercihleri konusunda farklı uygulama ve gösterimler kullanılabilmektedir. Yapılan çalışmada tüm voltametrik grafikler, kullanılan BASi voltametri cihazının yazılımındaki akım/potansiyel yönlenmesi çerçevesinde elde edilmiş ve orijinalliği korunarak tezde yer alması sağlanmıştır. Cihazın uyguladığı yönlenme tercihi EK-1 (Sayfa 66) de açıklanmıştır. Deneysel çalışmada yer verilen tüm voltamogramların bu açıklamaya göre değerlendirilmesi gerekmektedir.

4.1. GCE ile Yapılan Çalışmalara Ait Grafikler

Çalışma parametreleri deneysel çalışma boyunca sabit kaldığından her grafiğin altına eklenmedi ve bölüm 3.2.1. de belirtildi.

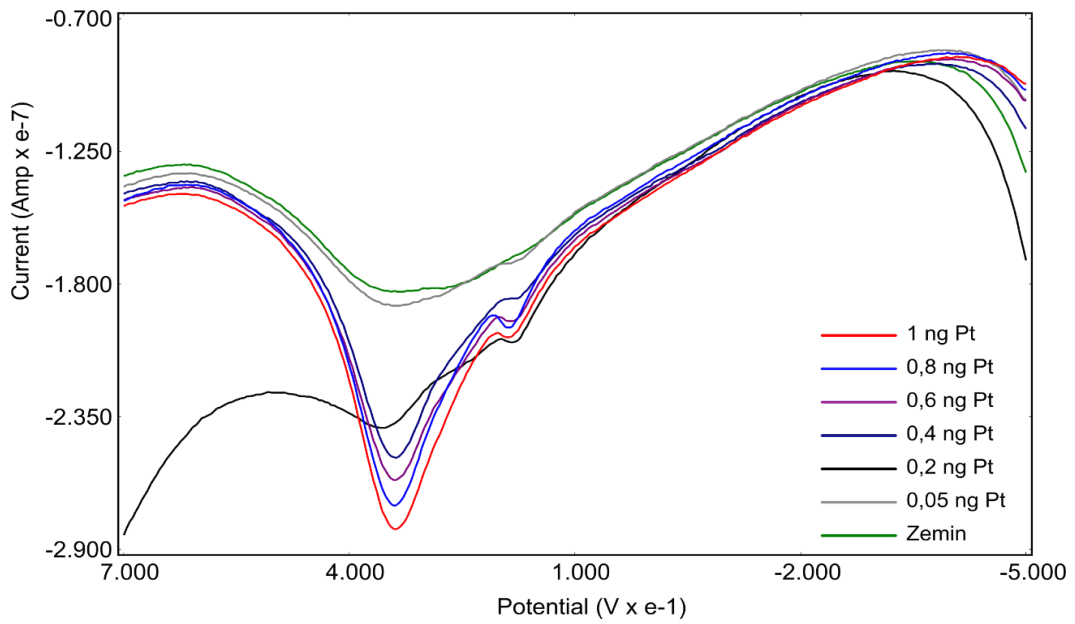


Şekil 4.1.1. Farklı Pt^{2+} miktarlarının 1400 mV’ da 120 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri.

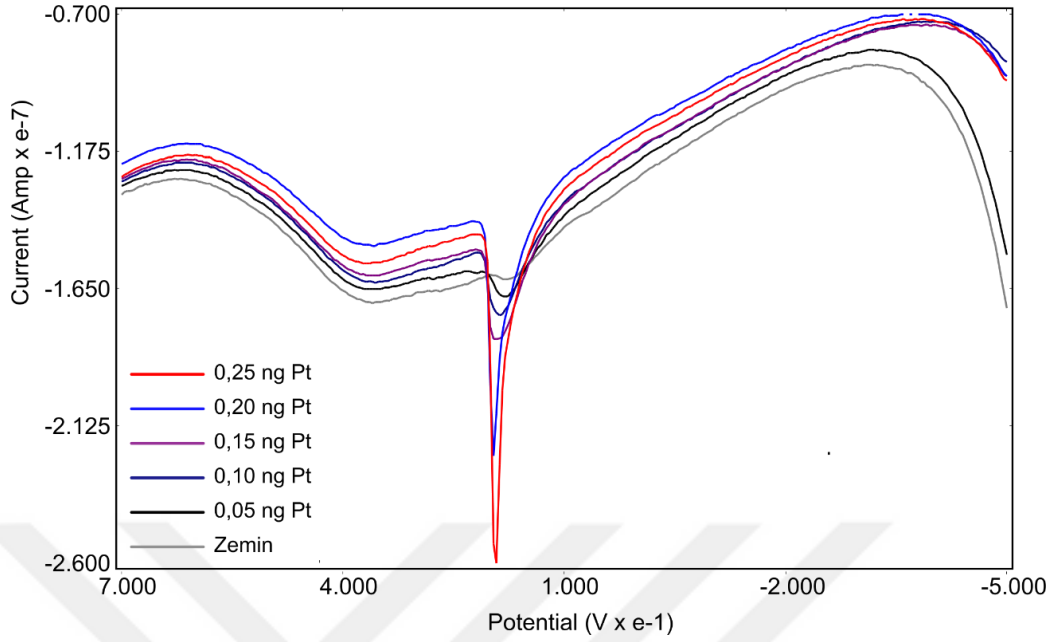


Şekil 4.1.2. Farklı Pt²⁺ miktarlarının 1400 mV’ da 60 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri.

Şekil 4.1.1. ve Şekil 4.1.2. de elde edilen eğrilere bakıldığında uzun biriktirme sürelerinde derişime bağılı olarak düzenli ve belirgin artışlar görölmedi. Bu nedenle kısa biriktirme sürelerinde çalışmanın daha doğru olacağına karar verilerek 30 saniyede farklı Pt derişimlerinde çalışıldı.



Şekil 4.1.3. 0,05 – 1 ng aralığındaki Pt²⁺ miktarının 700 mV’ da 30 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri.



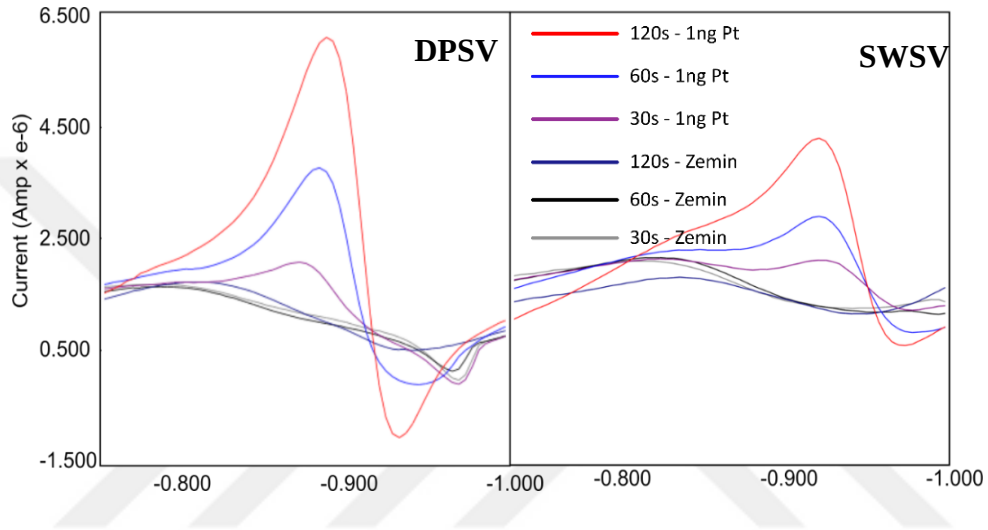
Şekil 4.1.4. 0,05 – 0,25 ng aralığındaki Pt^{2+} miktarının 700 mV’ da 30 s biriktirmeli anodik DPSV eğrileri.

Şekil 4.1.3. ve Şekil 4.1.4. de elde edilen eğrilere bakıldığında 30 saniye gibi kısa biriktirme süresinde derişim artışı ile daha belirgin olarak artan pikler elde edildiği görüldü fakat Şekil 4.1.3. de derişim artışı ile daha orantılı pik artışı olurken Şekil 4.1.4. de bu pik artışı değişen Pt derişimi ile orantılı olmadığı görüldü. Bu durumda kısa biriktirme süresinde GCE ile çalışılabilirken çok düşük derişimlerde çalışılamayacağı anlaşıldı.

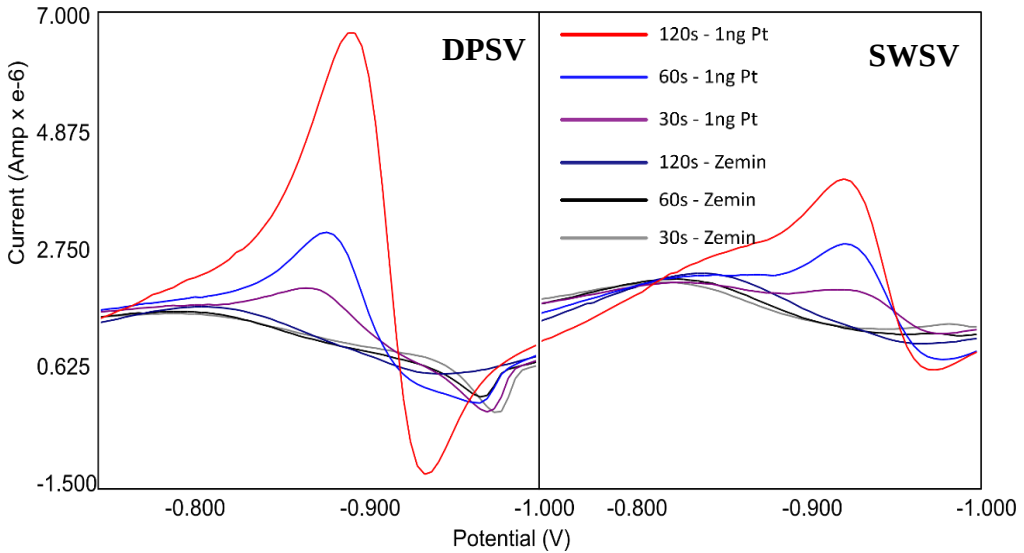
Şekil 4.1.3. ve Şekil 4.1.4. incelendiğinde, yaklaşık +360 mV’ daki sıyırma pikinin tekrarlanırlık açısından yeterince güvenilir olmadığı, bu sıyırma pikinin oluştuğu denemelerde +200 mV’ daki pikin küçük kaldığı, ancak +360 mV’ daki sıyırma pikinin oluşmadığı denemelerde +200 mV’ daki pikin dar ve yeterince belirgin olduğu, ancak kötü tekrarlanırlık ve Pt^{2+} derişimiyle yeterince doğrusal orantılılık göstermediği için GCE üzerinde voltametrik çalışmaların sürdürülmemesi kararlaştırılmıştır.

4.2. HMDE ile Yapılan Çalışmalara Ait Grafikler

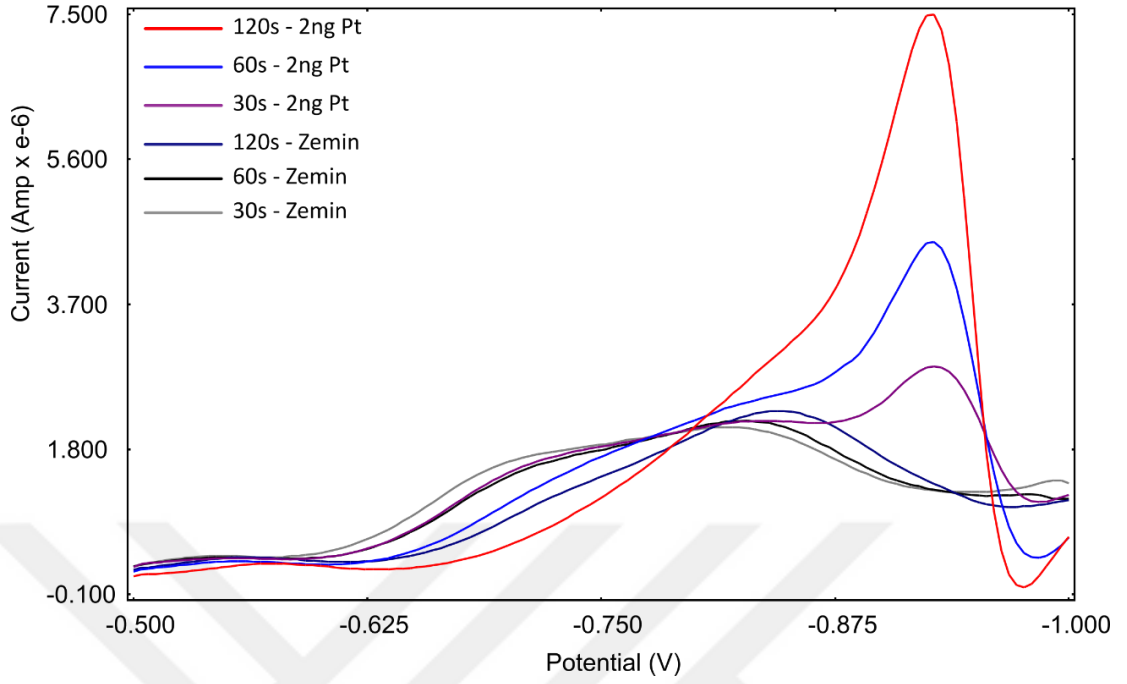
Çalışma parametreleri deneysel çalışmalar boyunca sabit kaldığından, her grafiğin altına eklenmedi ve SWSV tekniğinin parametreleri Bölüm 3.2.2. de, DPSV tekniğinin çalışma parametreleri Bölüm 3.2.1. de verildi. Zemin eğrileri alındıktan sonra elektrolit içerisinde Pt standart çözeltisinden 1 ve 2 ng Pt olacak şekilde eklemeler yapılarak aynı ölçüm şartlarında voltamogramlar alındı.



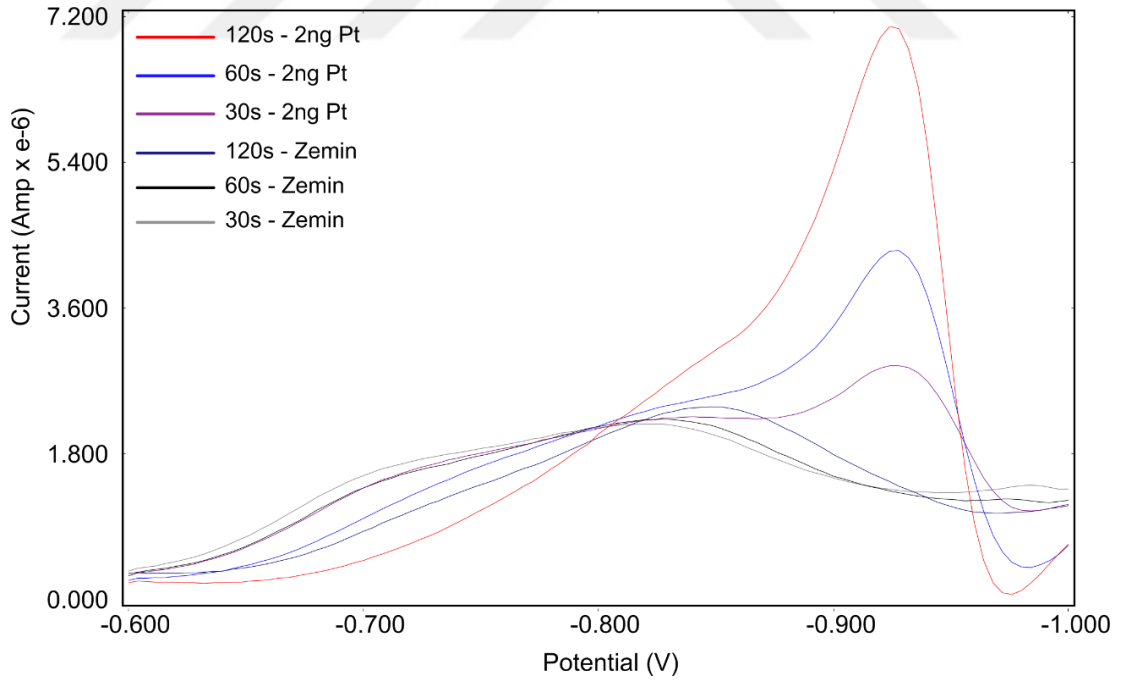
Şekil 4.2.1. 1 ng Pt içeren örnekte -500 mV’ da biriktirme süresinin DPSV ve SWSV eğrileri (akım skalası ortaktır).



Şekil 4.2.2. 1 ng Pt içeren örnekte -600 mV’ da biriktirme süresinin DPSV ve SWSV eğrileri üzerine etkileri.

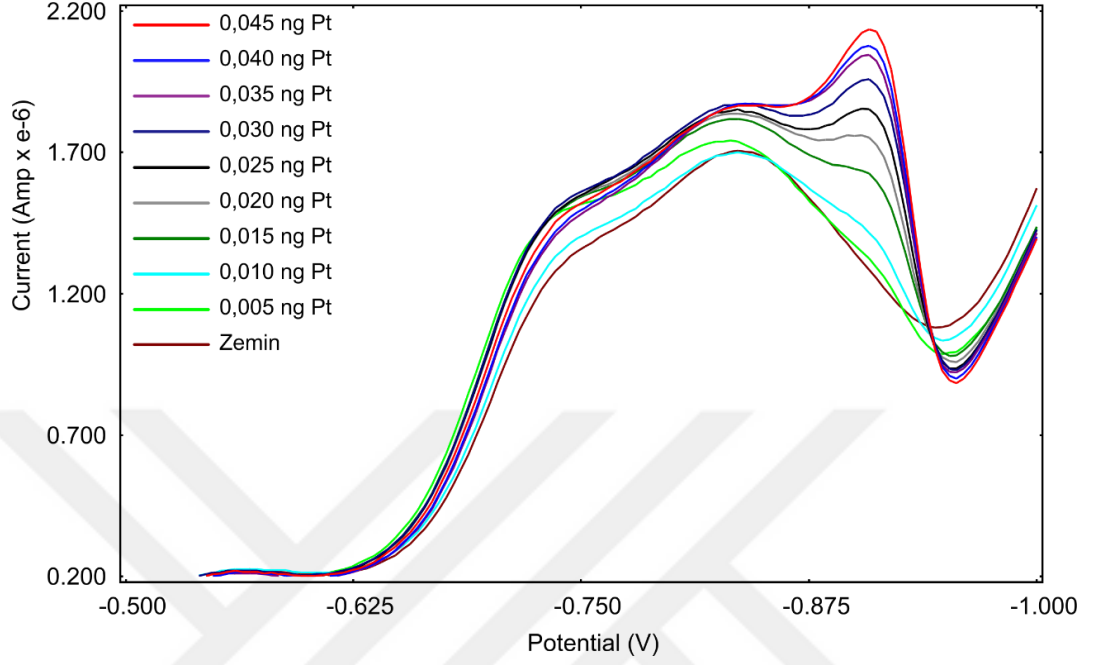


Şekil 4.2.3. 2 ng Pt içeren örnekte -500 mV’ da biriktirme süresinin SWSV eğrileri üzerine etkileri.

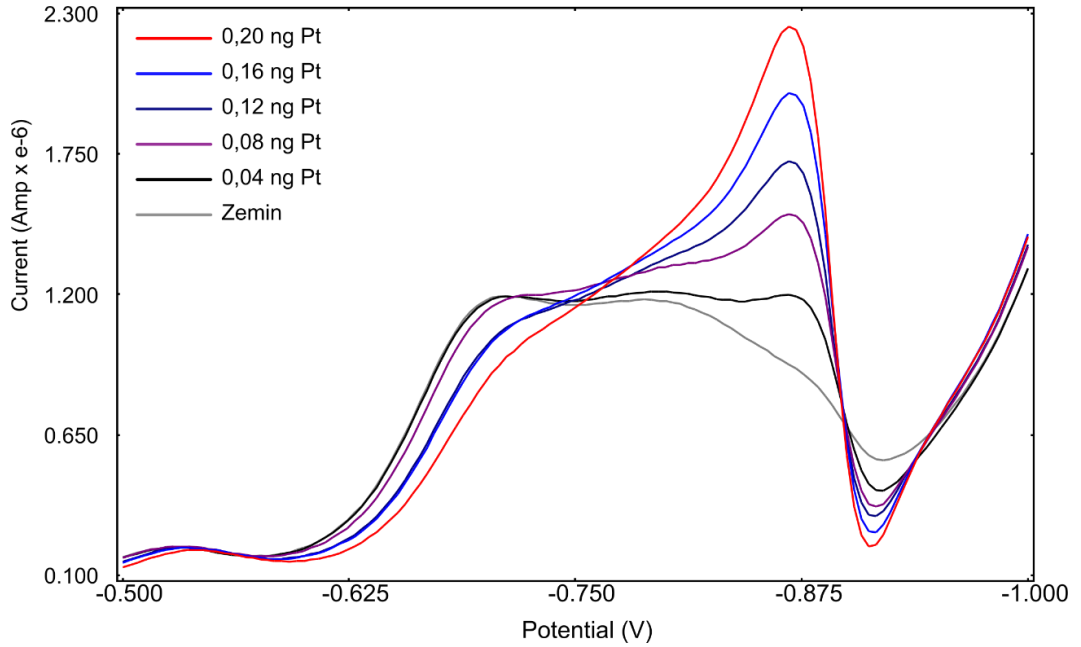


Şekil 4.2.4. 2 ng Pt içeren örnekte -600 mV’ da biriktirme süresinin SWSV eğrileri üzerine etkileri.

2 ng Pt örneği için DPSV’ de elde edilen sıyrma piklerinde derişime bağlı düzenli ve belirgin artışlar gösteren bir değişim elde edilemediği için buraya eklenmemiştir.



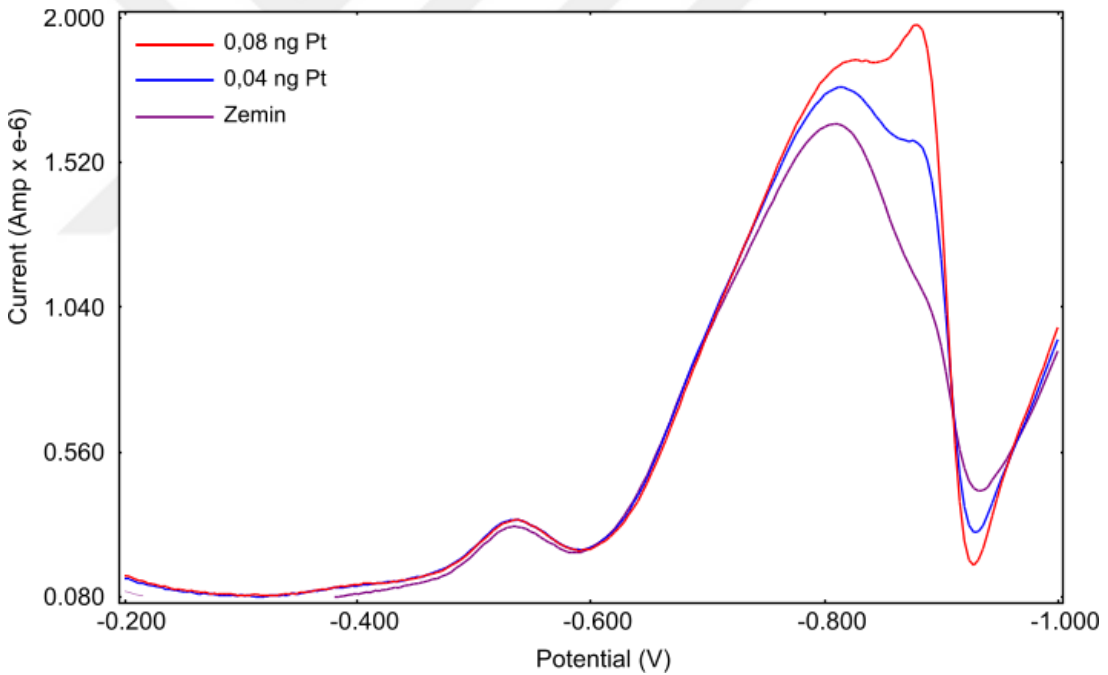
Şekil 4.2.5. -500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile farklı Pt derişimleri için elde edilen katodik SWSV eğrileri.



Şekil 4.2.6. -500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile farklı Pt derişimleri için elde edilen katodik DPSV eğrileri.

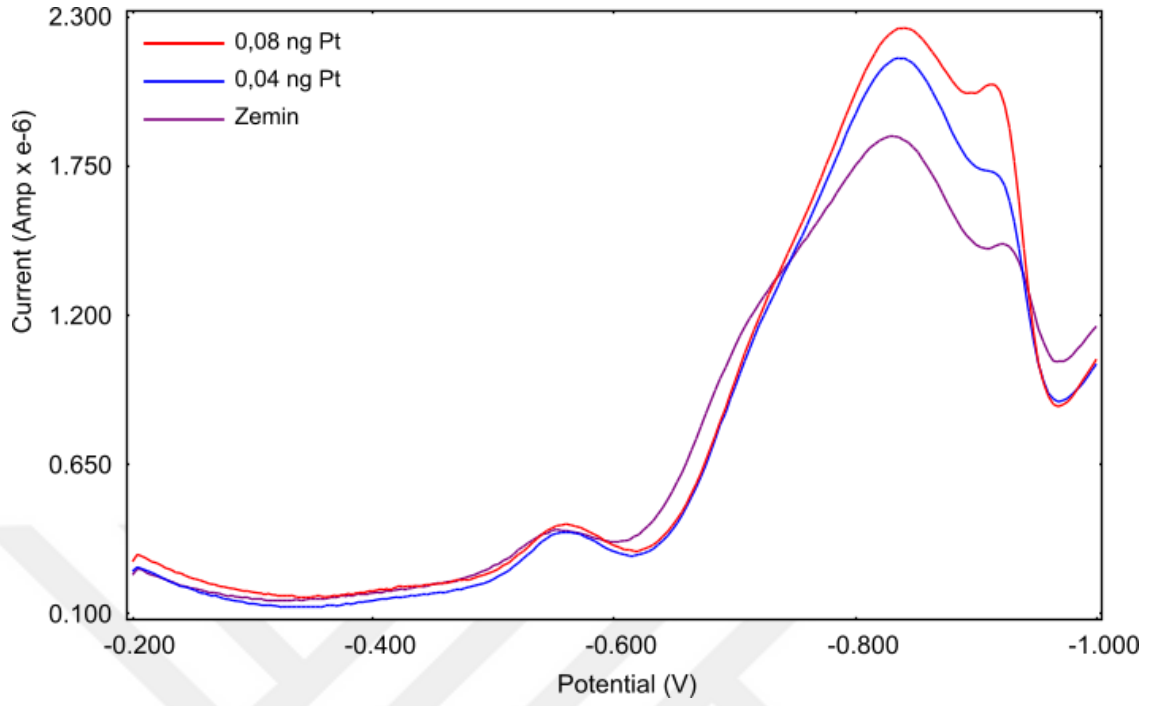
SWSV ve DPSV teknikleriyle çalışılabilecek minimum derişimler Şekil 4.2.5. ve 4.2.6.' da gösterilmiştir. SWSV ile 12 mL içinde bulunan 0,005 ng = 5 pg seviyesine kadar inilirken, DPSV ile 0,04 ng = 40 pg' a kadar inilebildi. Daha küçük derişimler için zemin eğrisi üzerinde anlamlı olabilecek büyüklükte ve tekrarlanır akım değişimi belirlenemedi. Daha hassas sonuçlar verdiği ve daha küçük derişimlerle çalışılmasına olanak sağladığı için, örneklerin analizinde SWSV tekniğinin tercih edilmesi kararlaştırıldı.

DPSV ve SWSV tekniklerinde uygun biriktirme potansiyelini belirlemek için, 12 mL' lik hacimde bulunan 0,08 ve 0,04 ng Pt derişimleri ile, 120 s biriktirme süresinde -200, -300, -400, -500, -600 mV' daki biriktirmenin sıyırma voltamogramları üzerindeki etkileri çalışıldı, bu çalışmalar Şekil 4.2.7. ile 4.2.16. arasında gösterildi. Her çalışma en az iki kez tekrarlandı, çalışılan derişimlerde en iyi ve tekrarlanırlığı yüksek yanıtın DPSV tekniği ile -200 mV' da 120 s biriktirme ile elde edilebildiği belirlendi.

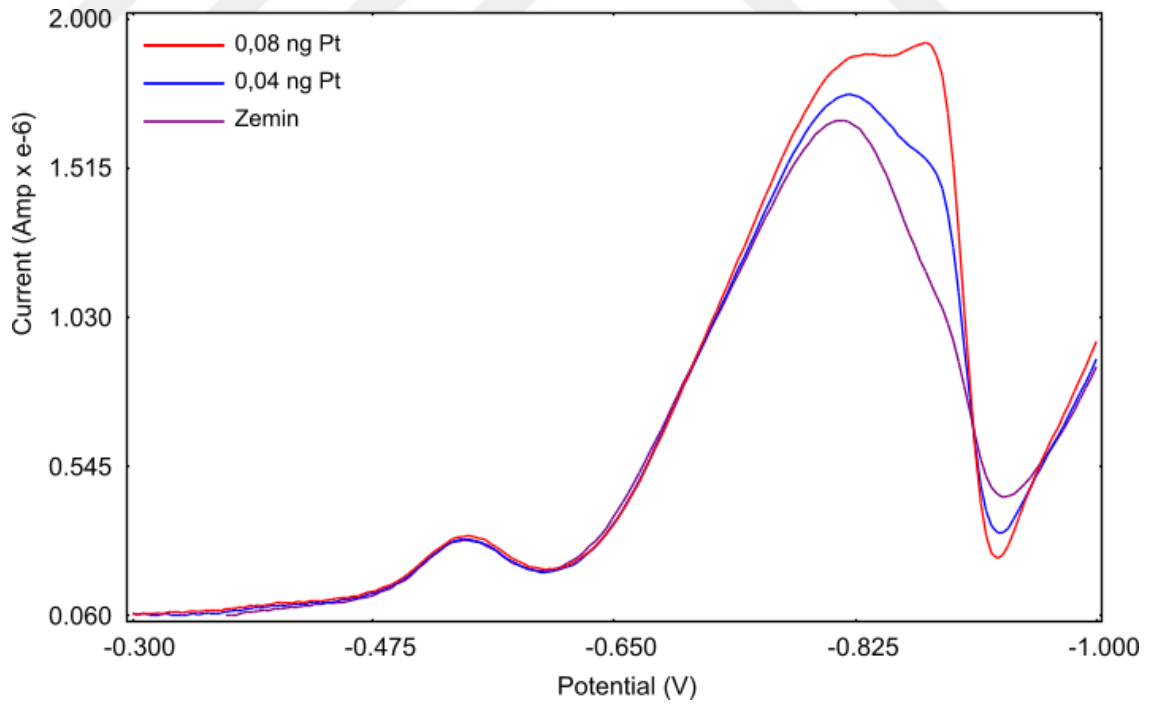


Şekil 4.2.7. -200 mV' da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri.

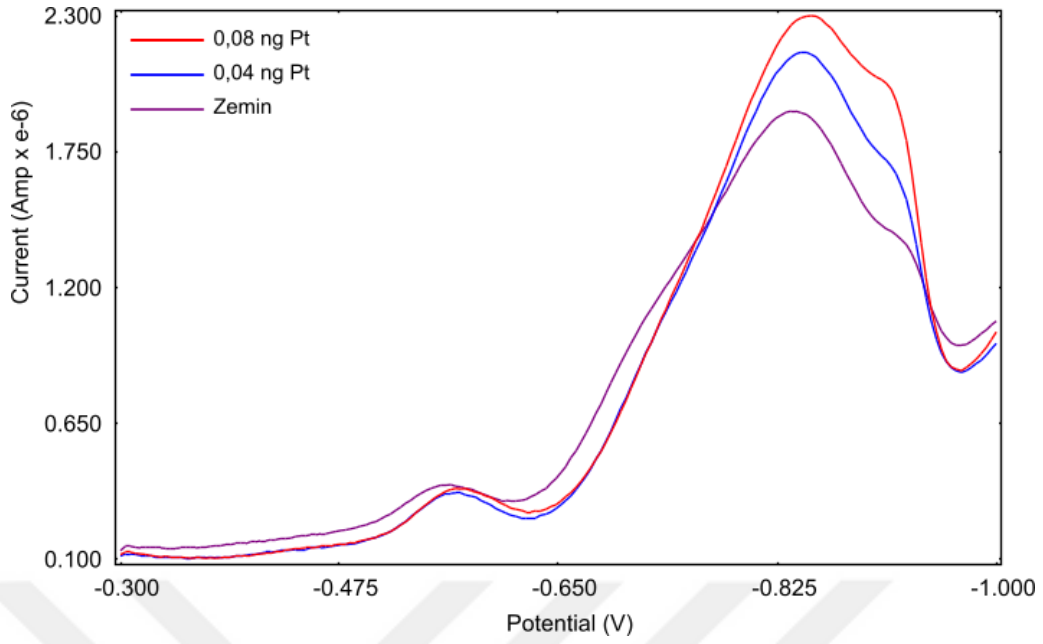
(40 pg/12 mL = 0,0333 ppb, 80 pg/12 mL = 0,0667 ppb derişimlere karşılık gelmektedir, ancak kesirli sayı kullanımı yerine çözeltide bulunan miktarlar yine 0,04 ng ve 0,08 ng olarak gösterilecektir. Bu açıklama şekil 4.2.7. ile 4.2.16. arasındaki tüm şekiller için geçerli olup her şeklin altına yazılmayacaktır.)



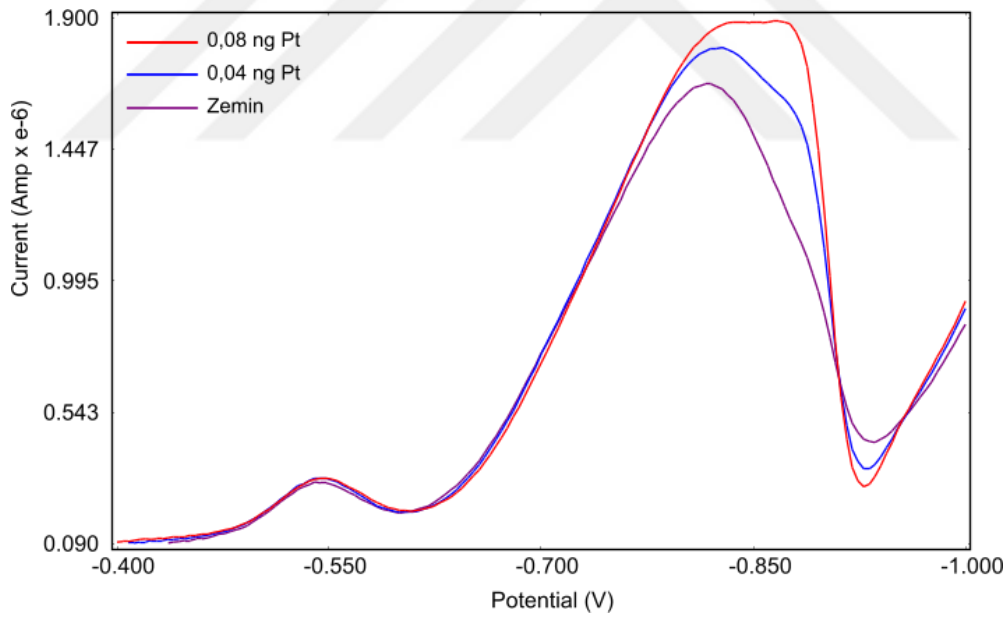
Şekil 4.2.8. -200 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri.



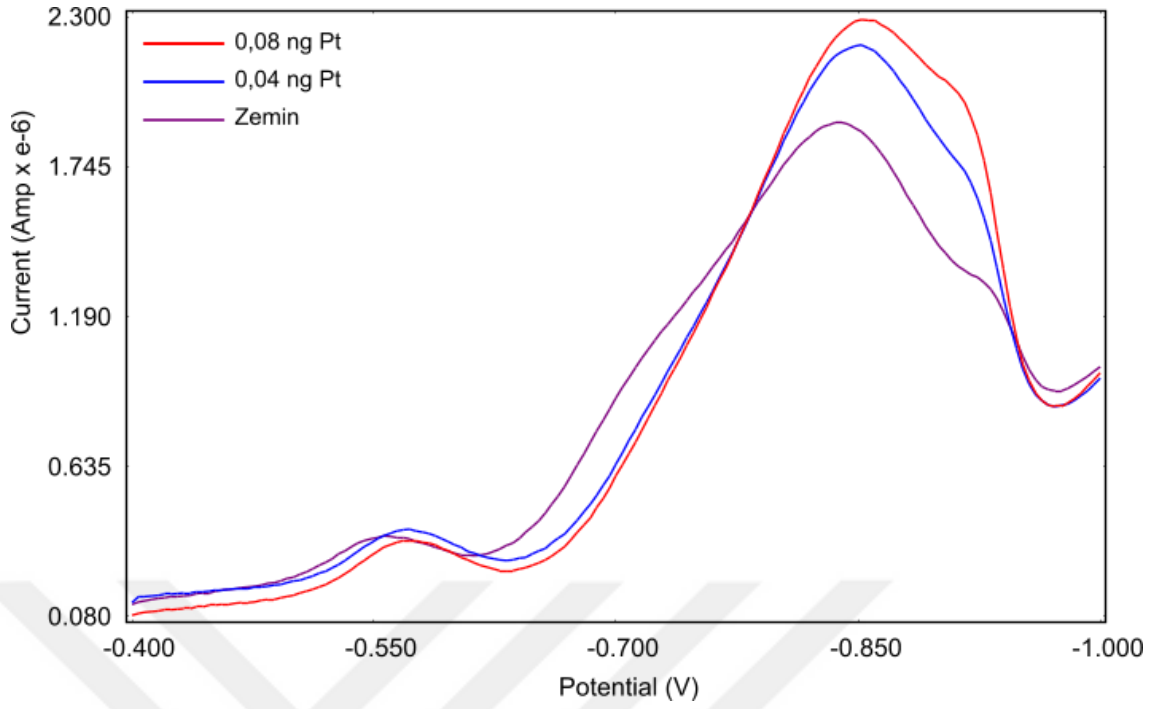
Şekil 4.2.9. -300 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri.



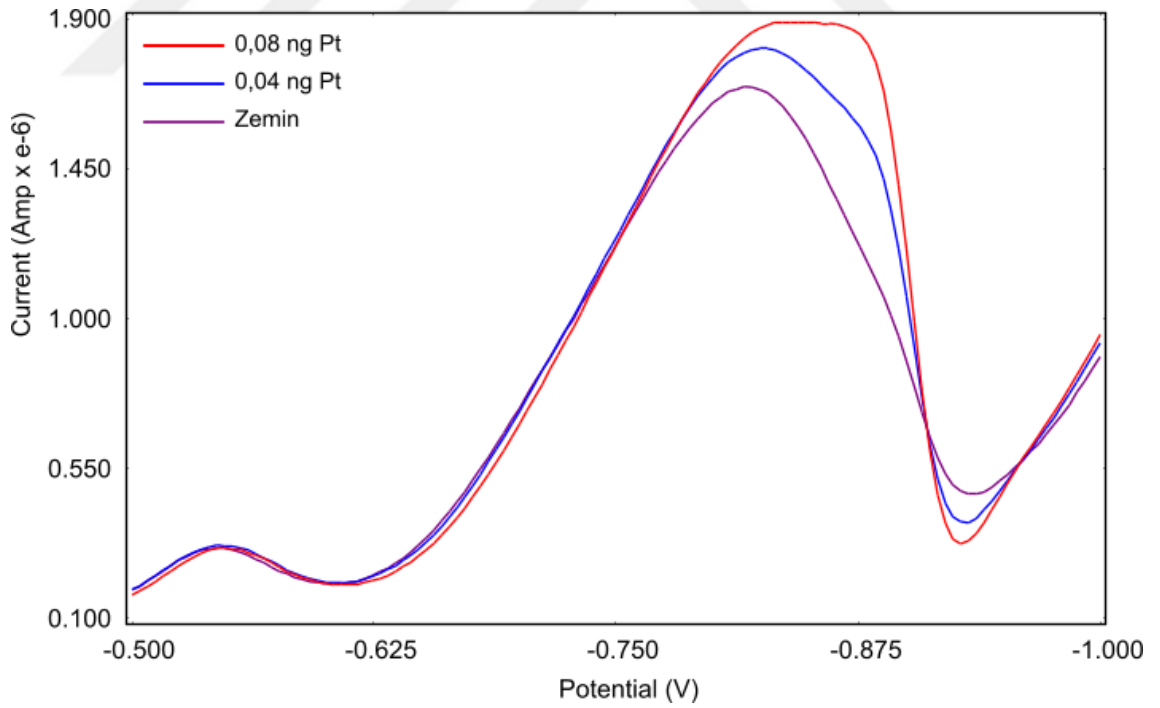
Şekil 4.2.10. -300 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri.



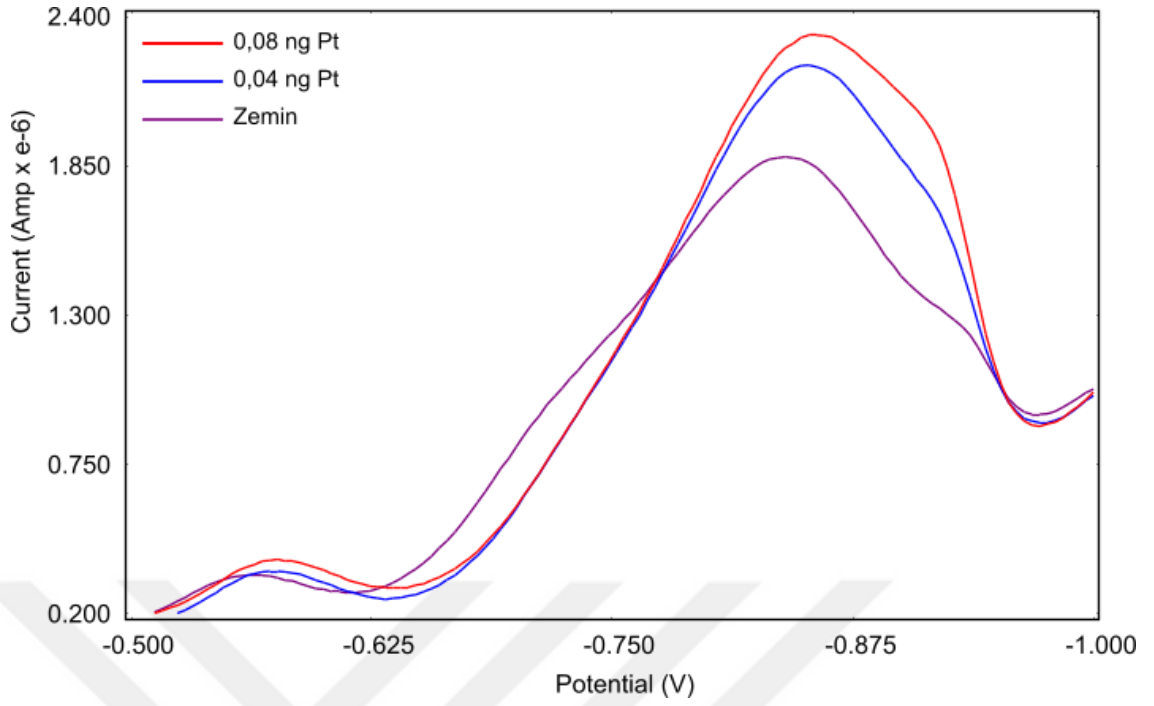
Şekil 4.2.11. -400 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri.



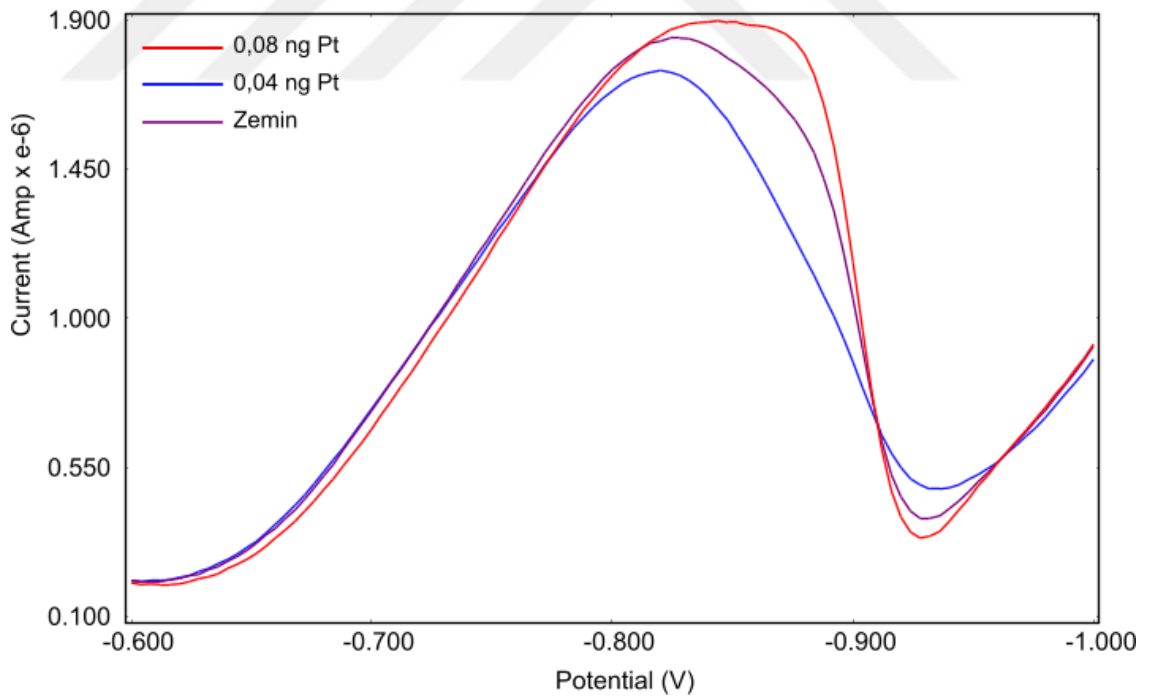
Şekil 4.2.12. -400 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri.



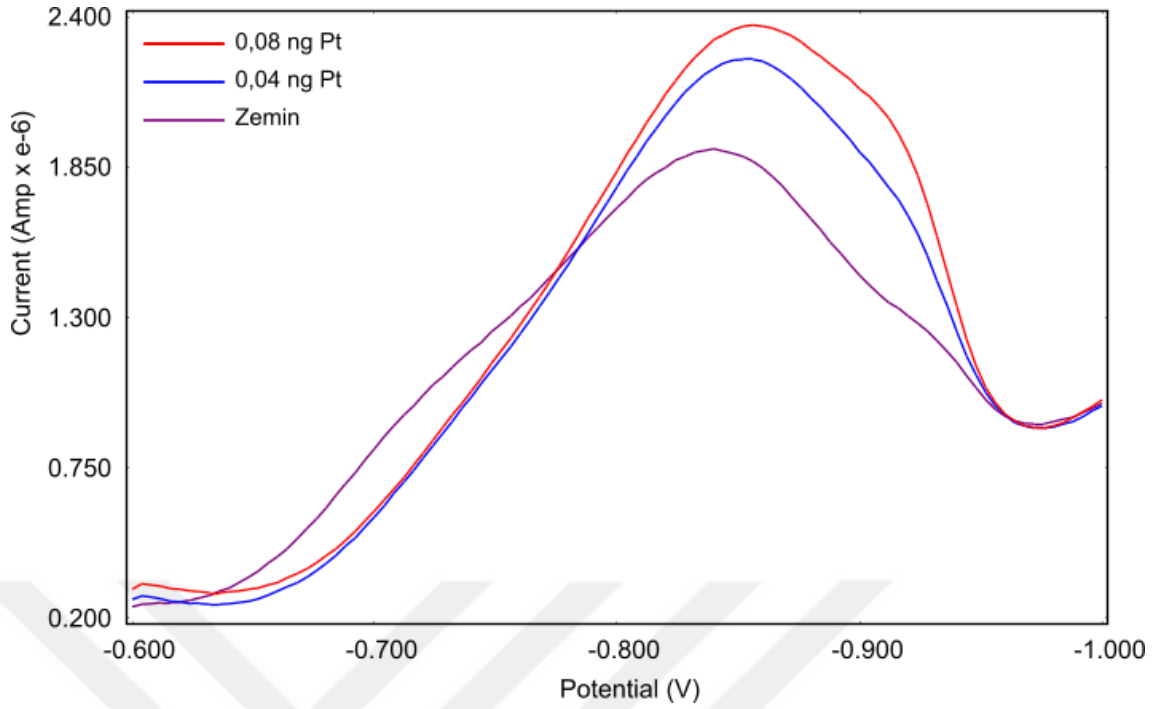
Şekil 4.2.13. -500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri.



Şekil 4.2.14. -500 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri.



Şekil 4.2.15. -600 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik DPSV eğrileri.

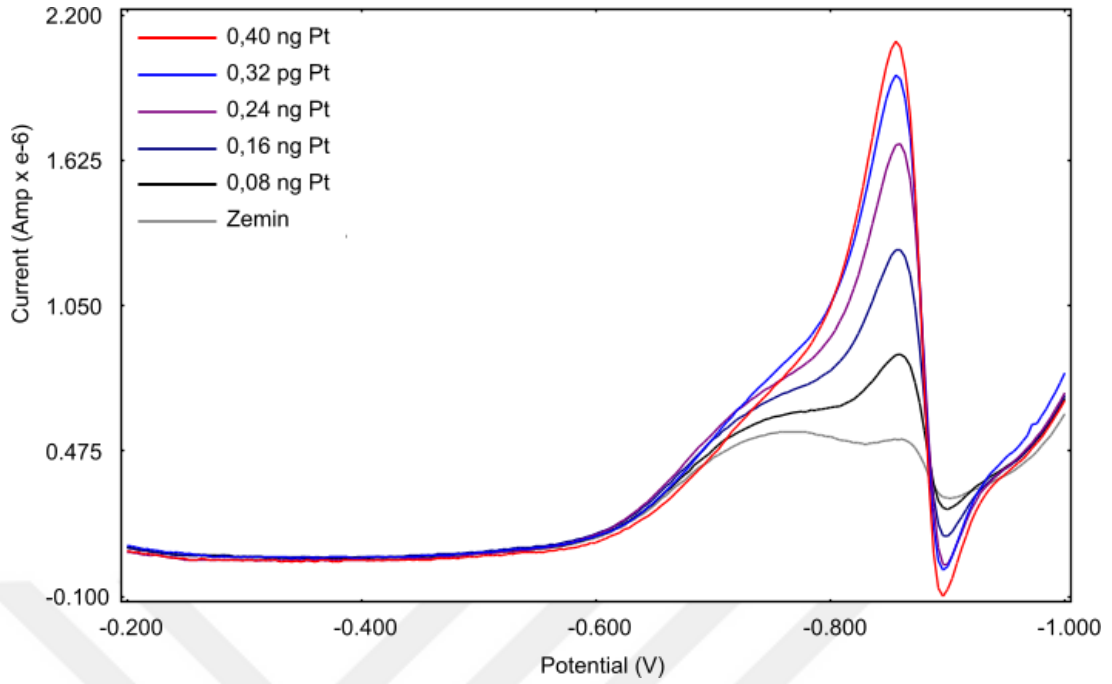


Şekil 4.2.16. -600 mV’ da 120 s biriktirme süresi ile 40 ve 80 pg Pt içeren çözeltilerde elde edilen katodik SWSV eğrileri.

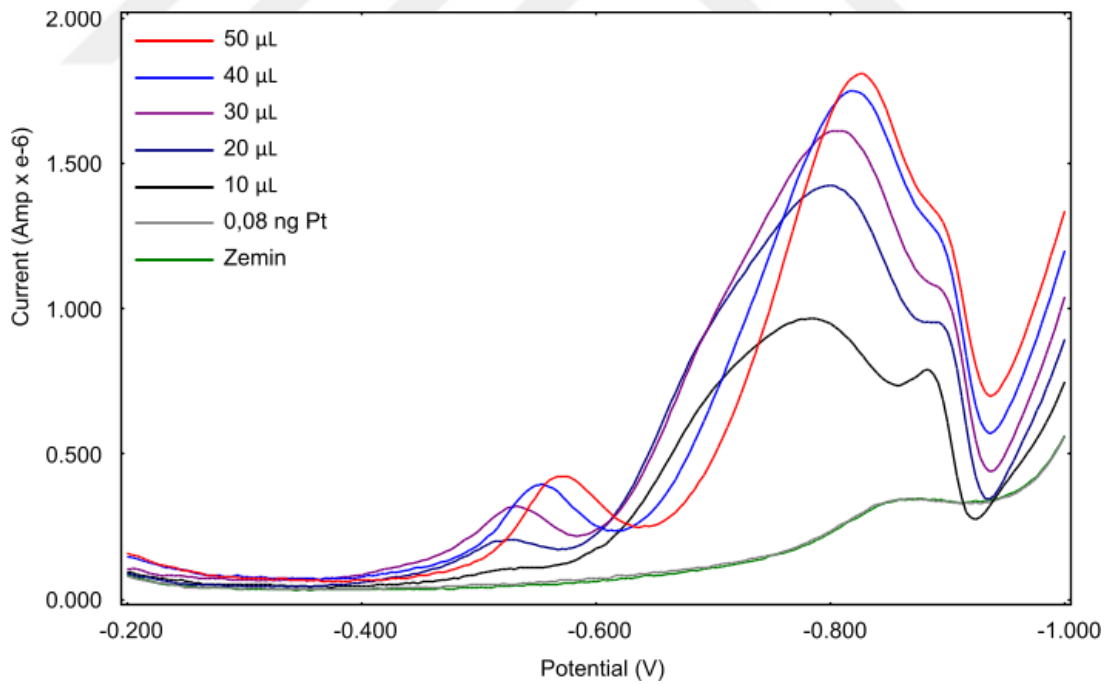
Platin formazon kompleksi oluşumunda platin - hidrazin ve formaldehit miktarlarının sıyırma piki üzerindeki etkisini görebilmek ve optimum karışım oranını belirlemek amacıyla, -200 mV’ da 120 s biriktirmeli katodik DPSV tekniği ile çalışıldı.

Ölçüm ortamına eklenen formazon bileşenlerinin sabit tutulması halinde, hangi Pt miktarına kadar pik akımlarındaki doğrusal artışın gözlenebileceğinin belirlenmesi amacıyla Şekil 4.2.17. deki katodik DPSV eğrileri elde edildi.

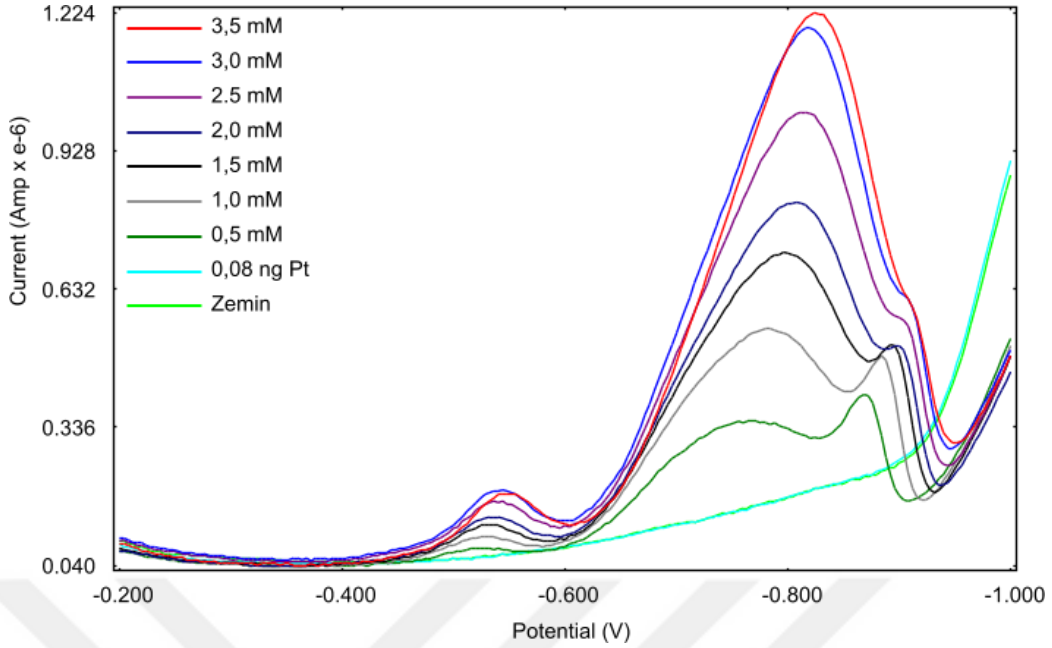
Pt ve hidrazin miktarları sabit tutulurken artan formaldehit miktarlarının etkisi Şekil 4.2.18. de, Pt ve formaldehit miktarları sabit tutulurken hidrazin miktarındaki değişimlerin etkisi de Şekil 4.2.19. da gösterilmiştir.



Şekil 4.2.17. Elektrolit içerisindeki formaldehit derişimi (50 mL elektrolit için 5 μ L) ve hidrazin derişimi (2,5 mM) sabit tutulurken Pt miktarı ile katodik DPSV eğrilerindeki artış.



Şekil 4.2.18. Elektrolit (12 mL) içerisindeki Pt derişimi (0,08 ng) ve hidrazin derişimi (2,5 mM) sabit tutulurken formaldehit miktarının değişiminin (50 mL elektrolit için) DPSV eğrileri üzerindeki etkisi.

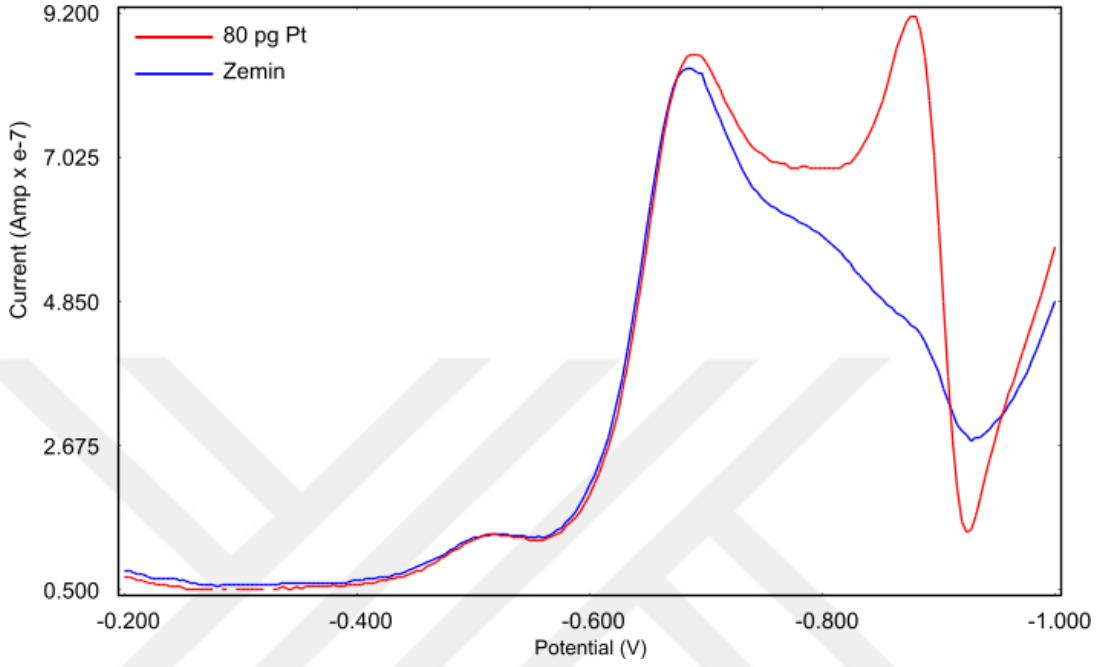


Şekil 4.2.19. Elektrolit (12 mL) içerisindeki Pt derişimi (0,08 ng) ve formaldehit derişimi (30 μ L/50 mL) sabit tutulurken hidrazinyum sülfat derişiminin DPSV eğrileri üzerine etkisi.

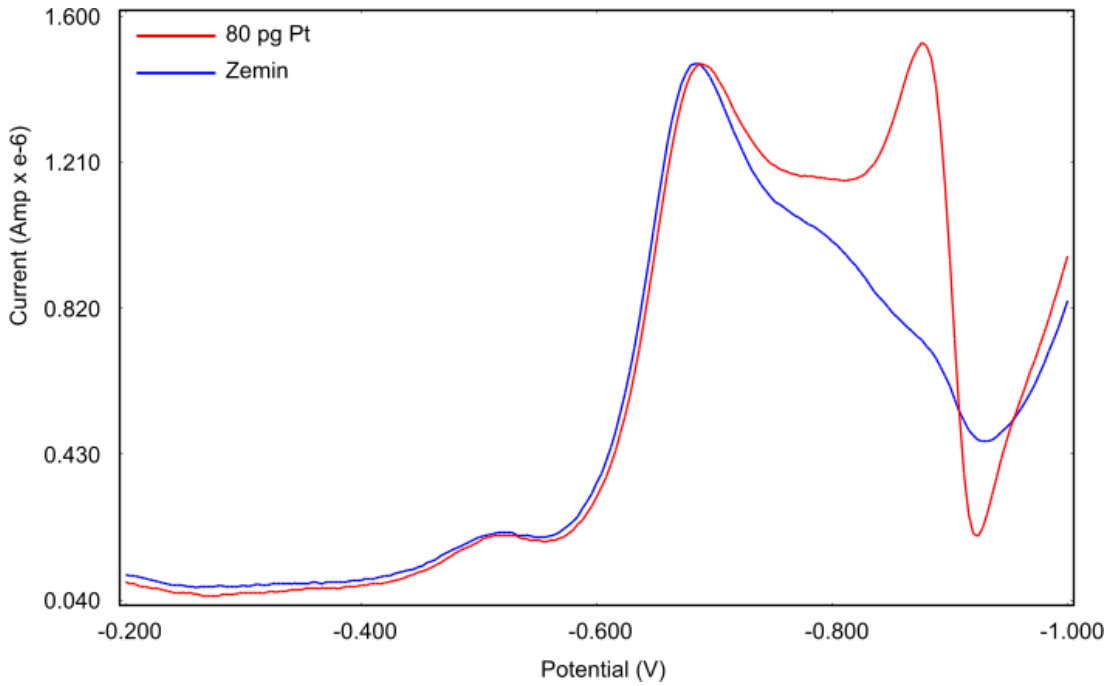
Şekil 4.2.17. de formaldehit miktarı 5 μ L’ de sabit kaldığında (50 mL için 5 μ L olacak şekilde 12 mL elektrolit içerisine uygun miktar eklenerek) artan Pt miktarı çok rahat gözlemlenebilirken, Şekil 4.2.18. de artan formaldehit miktarı Pt pikinin gözlemlenmesini engellemiştir. Şekil 4.2.17. de de artan Pt derişimi ile pik artışı doğrusallığını kaybetmektedir. Bu çalışmada çalışılan Pt derişiminden daha az derişimlerdeki Pt örnekleriyle çalışılacağından Şekil 4.2.17. deki doğrusal artışın kaybolması çalışmamızı sınırlandırmamaktadır. Şekil 4.2.18. e baktığımızda ise 30 μ L formaldehitten (50 mL elektrolit için) sonraki artışların Pt pikinin görülmesini engellediğinden daha fazla formaldehit ile çalışmanın uygun olmayacağı anlaşılmıştır. Şekil 4.2.19. da hidrazinyum sülfat derişiminin çalışılan Pt derişimi için 2,5 mM ‘ın üzerine çıkması halinde, analiz için ele alınan Pt pikinin kaybolduğu, bu nedenle hidrazinyum sülfat derişiminin 2,5 mM değerini aşmaması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Asılı cıva damla elektrotun damla büyüklüğünün, katodik DPSV eğrilerindeki pik büyüklüğüne etkisi olup olmadığını incelemek ve uygun damla büyüklüğünü belirlemek için aynı Pt derişimi ile (80 pg) farklı damla büyüklüklerinde çalışıldı ve aşağıdaki eğriler

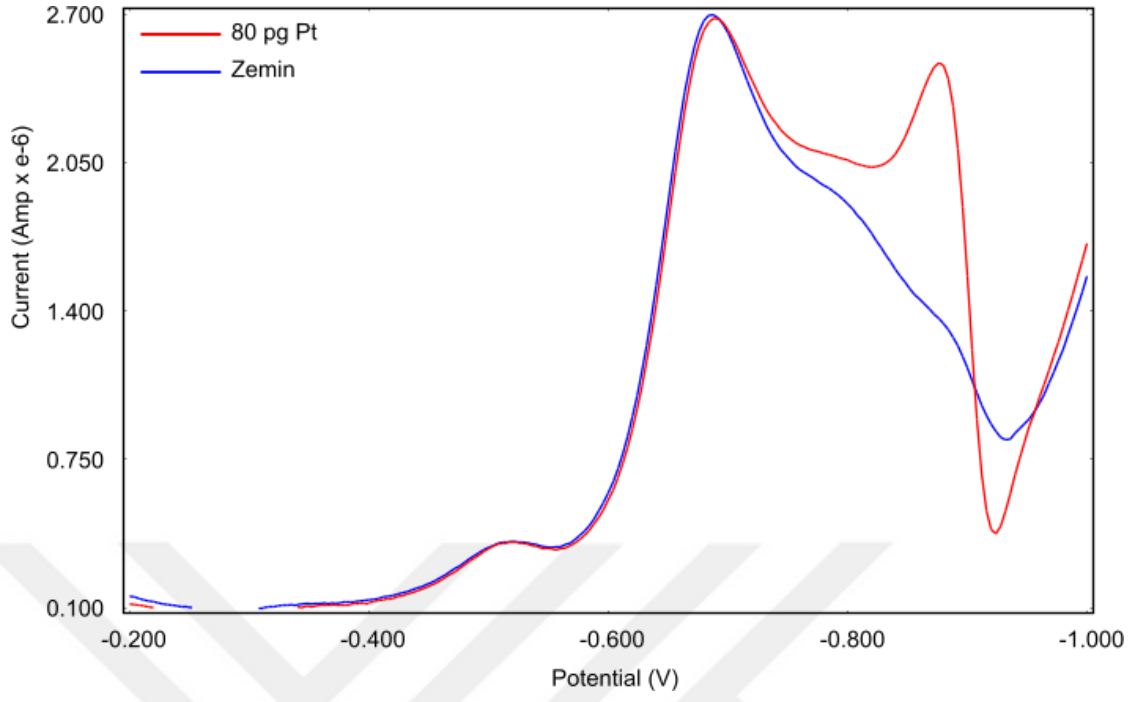
elde edildi. Damla büyüklükleri, kullanılan cıva elektrotun damlayı oluştururken yararlandığı çekiçleme vuruş sayıları artırılarak ayarlandı. Damla büyüklüğü ile eğrilerdeki değişim Şekil 4.2.20-21-22-23 de gösterilmiştir.



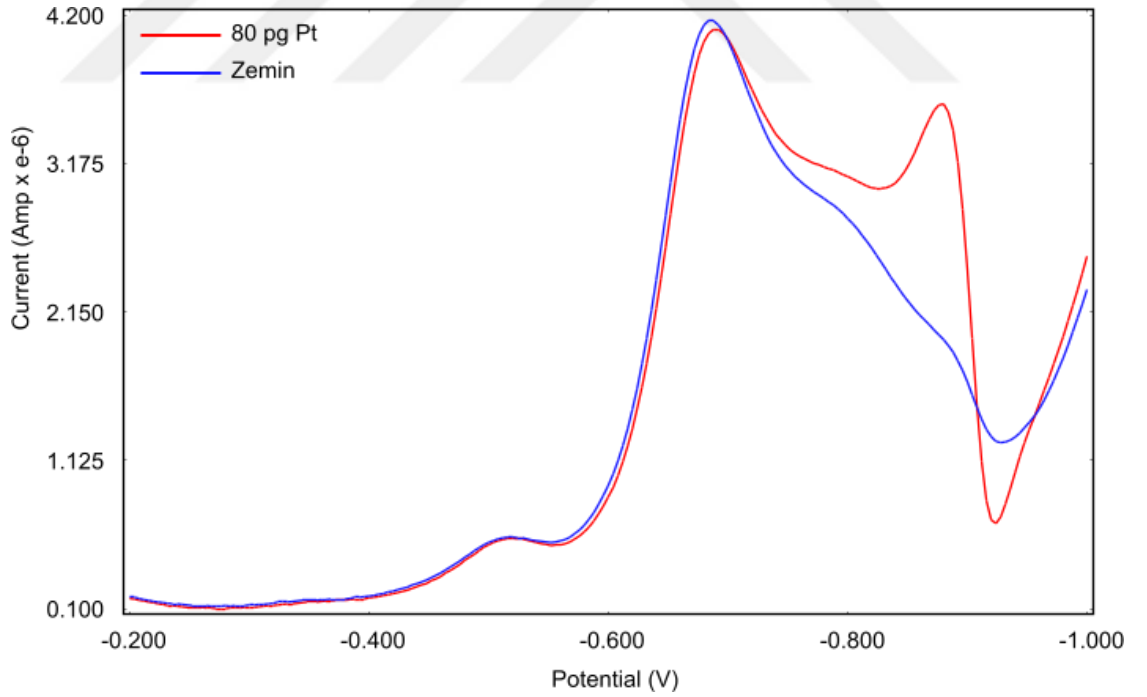
Şekil 4.2.20. Damla büyüklüğü 5 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri.



Şekil 4.2.21. Damla büyüklüğü 7 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri.



Şekil 4.2.22. Damla büyüklüğü 9 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri.

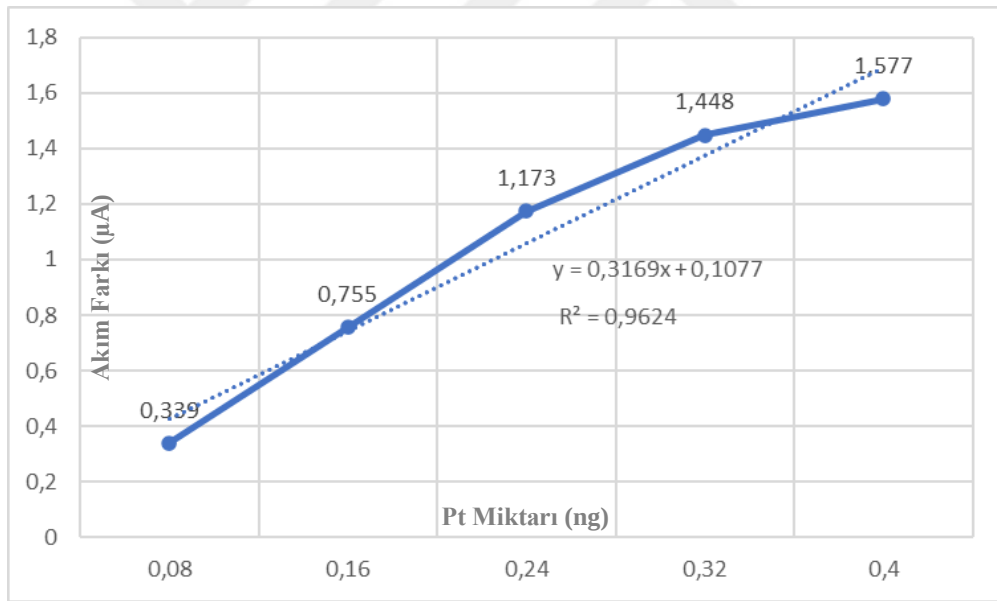


Şekil 4.2.23. Damla büyüklüğü 11 vuruş ile elde edilen DPSV eğrileri.

Bu çalışma beklendiği gibi damla büyüklüğü arttıkça Pt için elde edilen katodik sıyırma pikinin büyüdüğünü göstermektedir. Ancak damla büyüklüğü arttıkça karıştırılmalı

biriktirme sürecinde damlanın kontrolsüz kopması olasılığı artmaktadır. Ayrıca cıva sarfiyatı ve atık cıva miktarı da çoğalmaktadır. Bu olumsuzlukları azaltmak için damla büyüklüğü azaltıldığında sıyırma piki küçülmekte ve duyarlılık azalmaktadır. Ortalama bir büyüklük olan ve 7 çekiçleme vuruşu ile elde edilen asılı cıva ile çalışılmasının yeterli ve uygun olacağı kararlaştırıldı. Bu durum için oluşan cıva damlacığının kütlesi ölçülerek belirlenen çalışma elektrotu yüzey alanının 1,22 mm² mertebesinde olduğu hesaplandı.

Yapılan çalışmalar sonucunda HMDE çalışma elektrotu, Ag/AgCl (3 M NaCl) referans elektrot ve yardımcı elektrot GCE (3 mm çaplı) ile -200 mV biriktirme potansiyelinde ve 120 saniye biriktirme süresinde, optimize edilen elektrolit bileşimi olarak 0,36 M Sülfürik asit + 2,5 mM hidrazin ve 1 µL formaldehit /10 mL çözelti ve artan platin derişimlerinde DPSV ile çalışılarak elde edilen eğrilerden yararlanılarak kalibrasyon grafiğı hazırlandı.

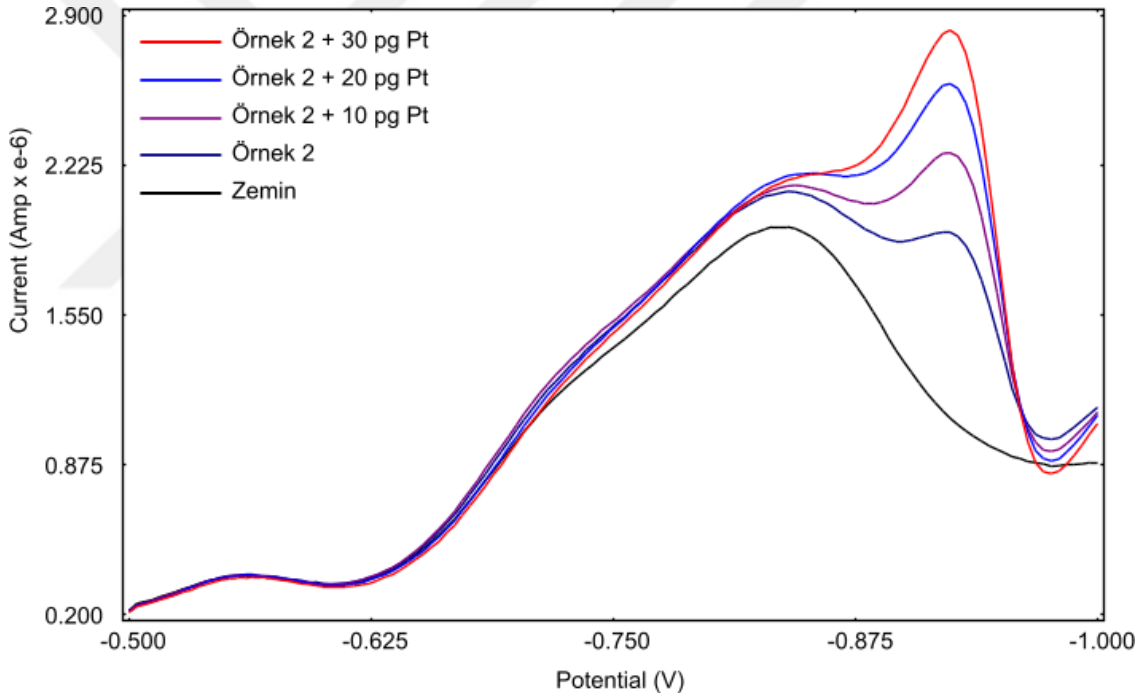


Şekil 4.2.24. Şekil 4.2.17. den yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiğı.

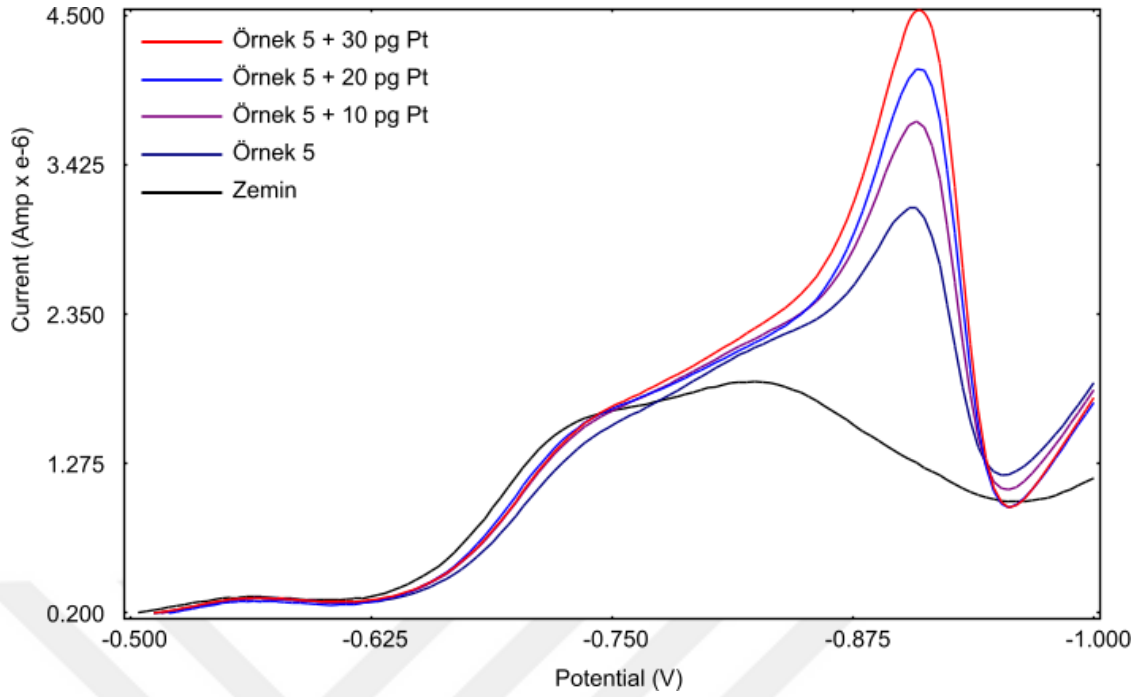
4.3. Örneklerin Analizlenmesi

Örneklerin analizlenmesinde çalışma elektrotu olarak HMDE (Asılı cıva damla elektrotu) kullanılarak kare dalga sıyırma voltametri tekniğı ile çalışıldı, yardımcı elektrot olarak camsı karbon elektrot (GCE) ve referans elektrot olarak 3 M NaCl içeren Ag/AgCl

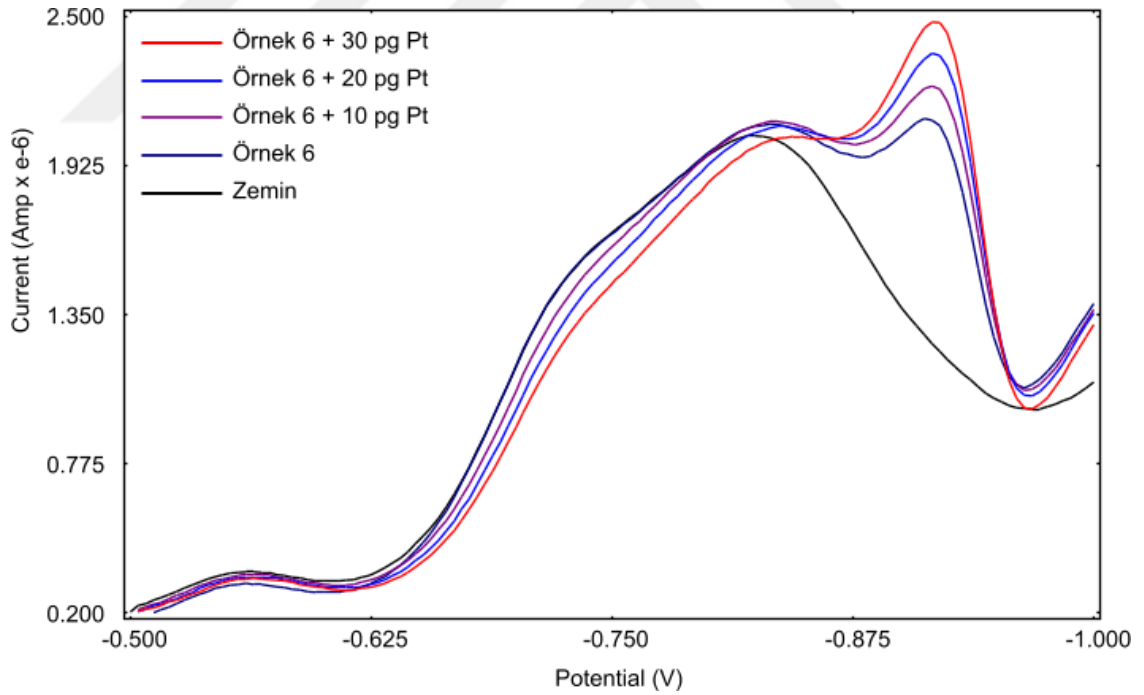
elektrottan yararlanıldı. Çalışmada voltamogramlar üçer tekrarlı olarak alındı ve ölçüm ortamındaki sonuçlar pg Pt cinsinden hesaplanırken, analizlenen örnekten alınan hacim oranı dikkate alınarak ele alınan örnekteki toplam Pt miktarı (ng) olarak ifade edildi. Örneklerin analizinde standart ekleme yöntemi kullanıldı. Her bir örnek analizi için; voltametri hücreğine 12 mL elektrolit alınıp önce zemin eğrisi elde edildi. Analizlenecek örnekten, Pt içeriğine göre uygun miktarda (5 – 20 µL) elektrolit üzerine eklenerek aynı şartlarda voltamogram alındı. Hazırlanan 0,5 ng/mL derişimli Pt^{2+} standartından 10-20-30 pg Pt olacak şekilde 20 µL üçer kez ekleme yapıldı, her ekleme sonrası üçer tekrarlı voltamogramlar alındı. Analizlenen örnekler için elde edilen eğriler 4.3.1-2-3-4-5-6-7-8-9 da sırası ile gösterilmiştir. Örneklerin nicel sonuçları ve analiz için örneklere uygulanan seyreltme düzeyleri Çizelge 4.3.1 de verilmiştir.



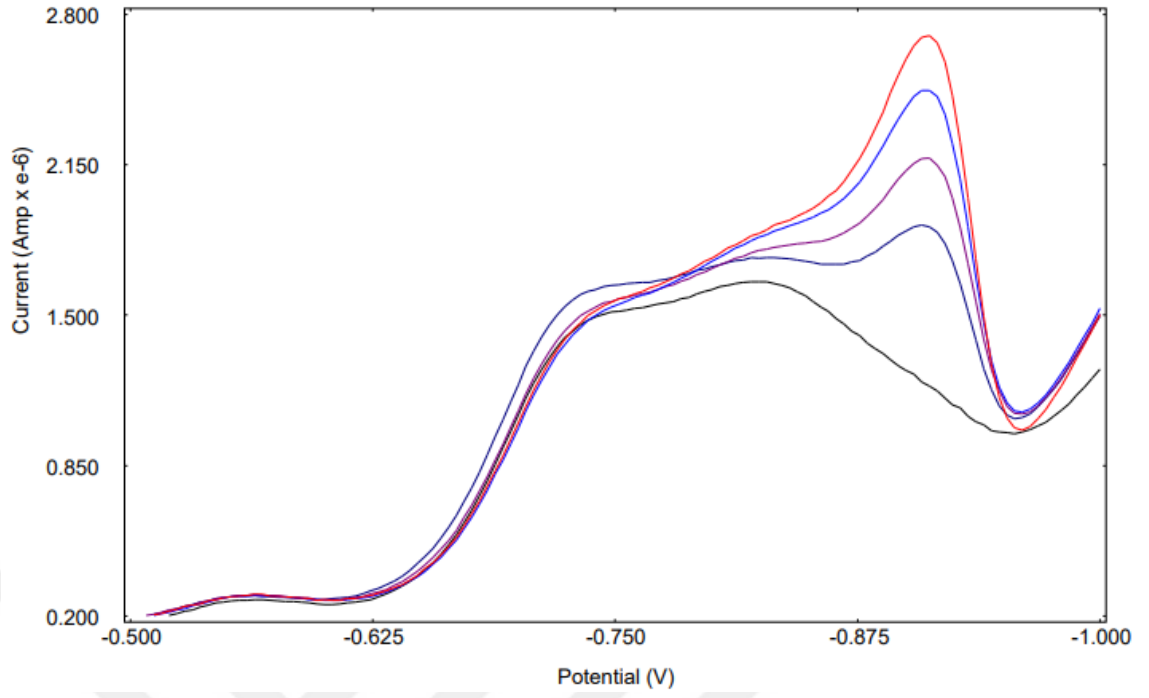
Şekil 4.3.1. Örnek 2 için elde edilen SWSV eğrileri.



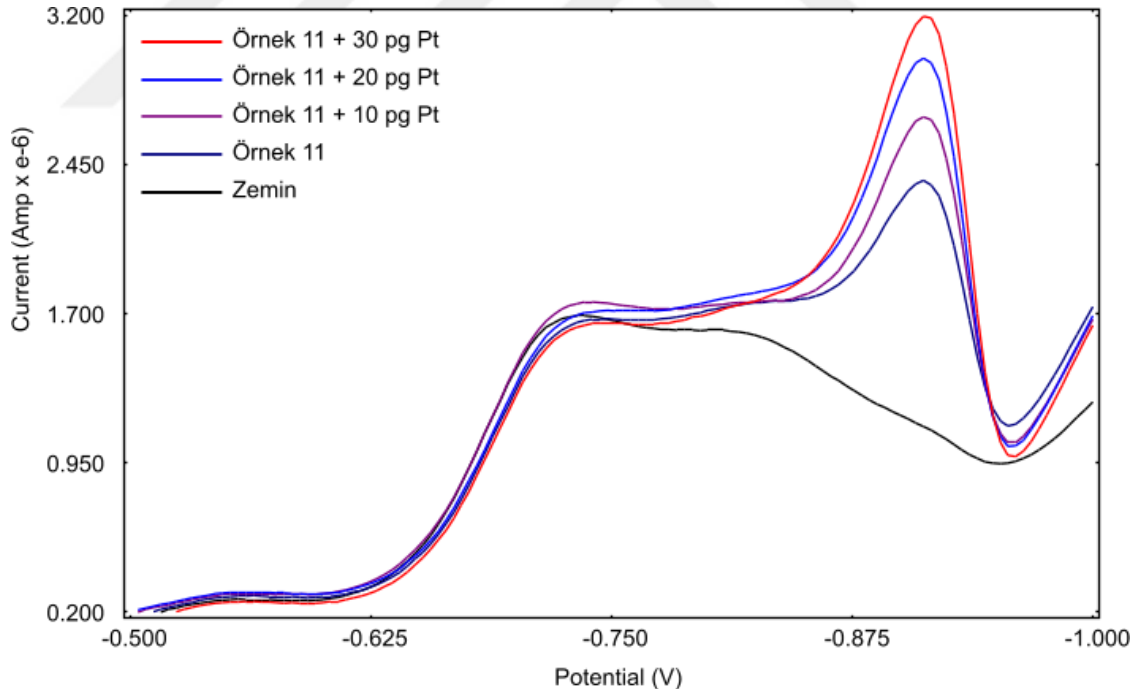
Şekil 4.3.2. Örnek 5 için elde edilen SWSV eğrileri.



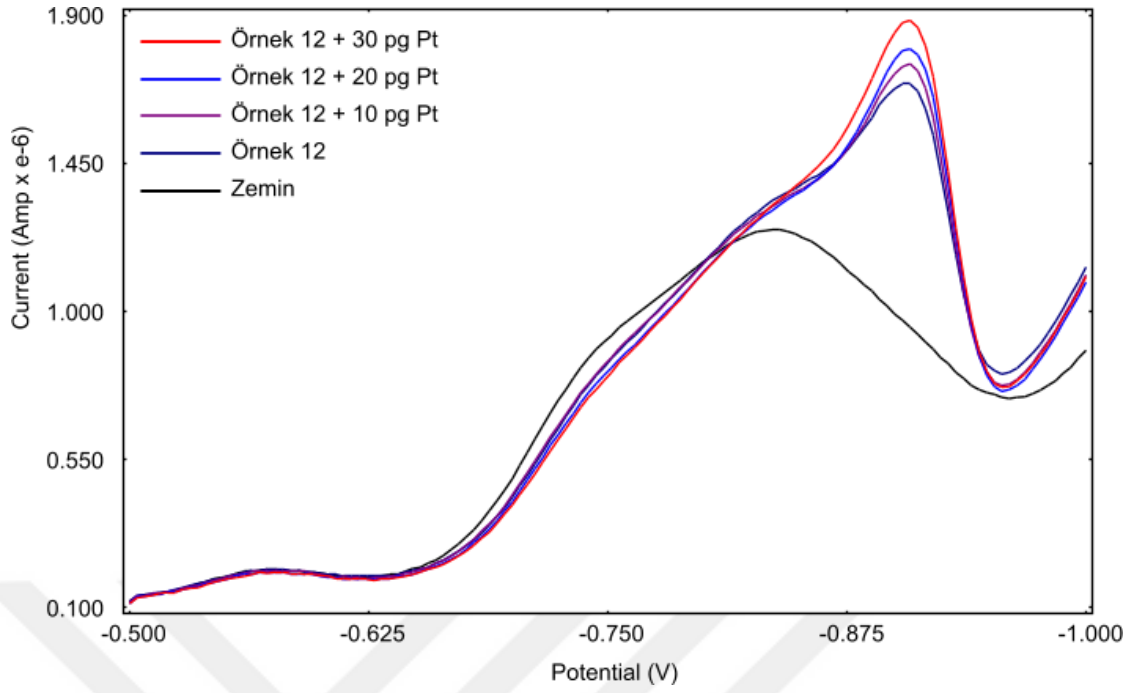
Şekil 4.3.3. Örnek 6 için elde edilen SWSV eğrileri.



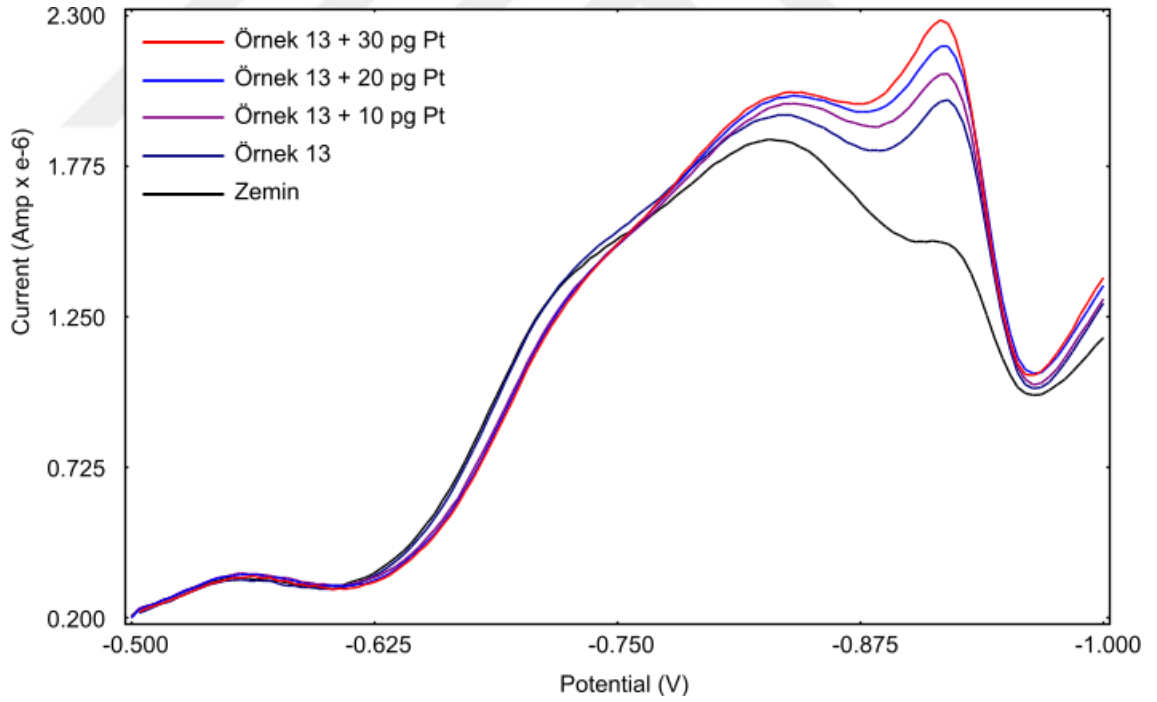
Şekil 4.3.4. Örnek 8 için elde edilen SWSV eğrileri.



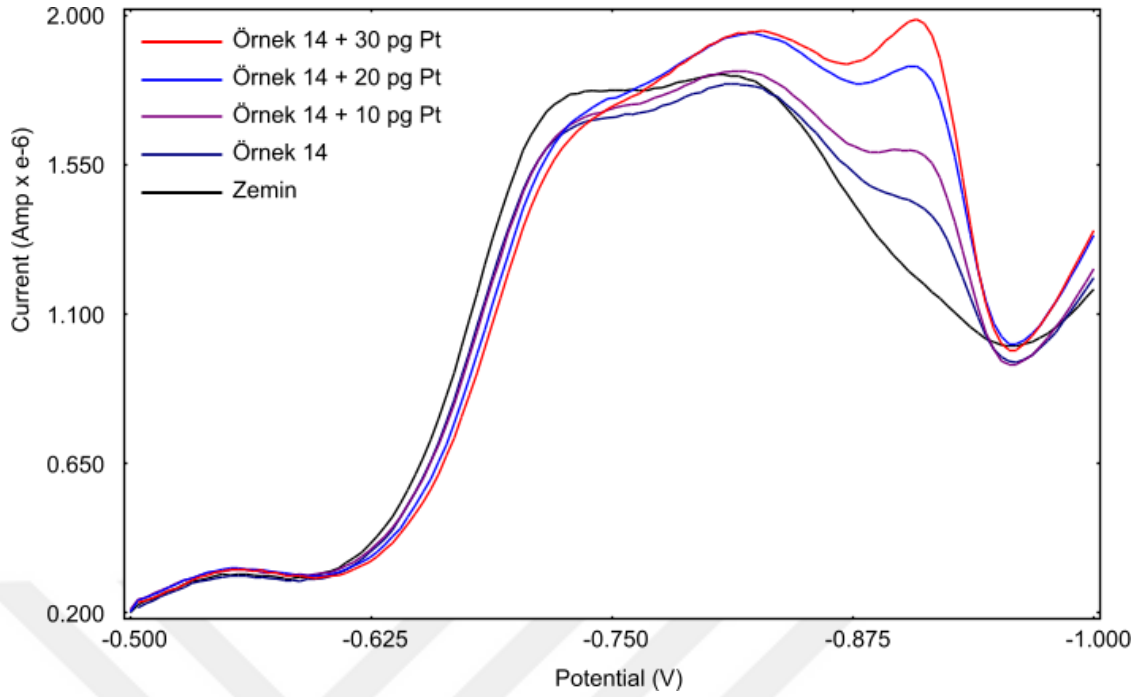
Şekil 4.3.5. Örnek 11 için elde edilen SWSV eğrileri.



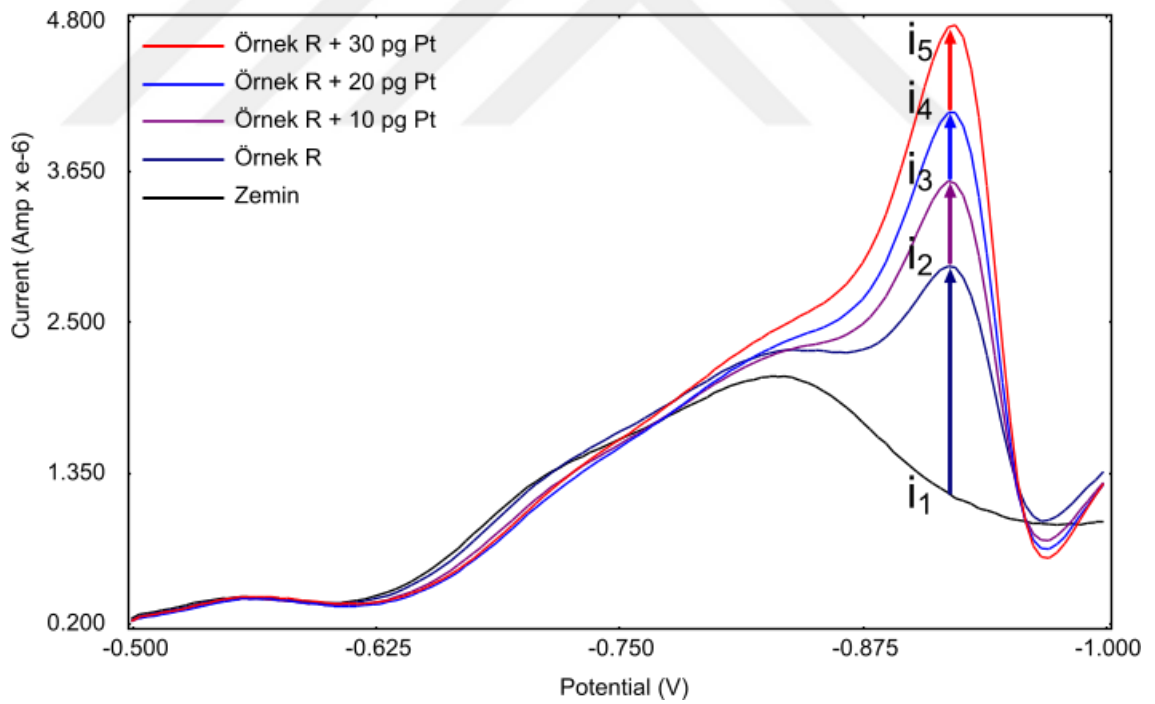
Şekil 4.3.6. Örnek 12 için elde edilen SWSV eğrileri.



Şekil 4.3.7. Örnek 13 için elde edilen SWSV eğrileri.



Şekil 4.3.8. Örnek 14 için elde edilen SWSV eğrileri.



Şekil 4.3.9. Örnek R için elde edilen SWSV eğrileri.

Çizelge 4.3.1. Örnek analizleri sonucu hesaplanan Pt miktarları.

ÖRNEK NUMARALARI	ANALİZ SONUCU Pt MİKTARI (pg)	ELE ALINAN ÖRNEKTEKİ TOPLAM Pt MİKTARI (ng)	EKLENEN ÖRNEK HACİMLERİ (µL) ¹
2	25,8	30,96	5 (x2 seyreltilmiş örnek)
5	34,7	20,82	5 (seyreltme yok)
6	66,8	80,16	5 (x2 seyreltilmiş örnek)
8	19,7	118,2	5 (x10 seyreltilmiş örnek)
11	41,1	49,32	5 (x2 seyreltilmiş örnek)
12	124,9	149,88	5 (x2 seyreltilmiş örnek)
13	52	78,0	20 (x10 seyreltilmiş örnek)
14	12,1	72,60	5 (x10 seyreltilmiş örnek)
R	28,3	16,98	5 (seyreltme yok)

Örnekteki Pt miktarına geçilirken kullanılan hesaplama yaklaşımına örnek olarak "R" kodlu örnek için Şekil 4.3.9. dan $\sim -0,915$ V da okunan katodik pik akımlarından yararlanışı aşağıda açıklanmıştır:

a) i_1 = zemin eğrisi akımı = 1,17 µA

b) i_2 = 5 µL örnek eklenmiş durum = 2,91 µA

c) i_3 = "b" + 10 pg Pt²⁺ içerecek şekilde 20 µL standart eklenmiş durum = 3,56 µA

$$Pt_{R-1} = \frac{i_2 - i_1}{i_3 - i_2} \times 10 = \frac{2,91 - 1,17}{3,56 - 2,91} \times 10 = 26,8 \text{ pg}$$

d) i_4 = "b" + 20 pg Pt²⁺ içerecek şekilde 40 µL standart eklenmiş durum = 4,09 µA

¹ Eklenen örnek hacimlerinde pipetleme hatalarını düşük tutmak için 5 µL' den küçük hacimli pipetlemelerden kaçınılmıştır.

$$Pt_{R-2} = \frac{i_2 - i_1}{i_4 - i_2} \times 20 = \frac{2,91 - 1,17}{4,09 - 2,91} \times 20 = 29,5 \text{ pg}$$

e) $i_5 = \text{“b”} + 30 \text{ pg Pt}^{2+}$ içerecek şekilde 60 μL standart eklenmiş durum = 4,74 μA

$$Pt_{R-3} = \frac{i_2 - i_1}{i_5 - i_2} \times 30 = \frac{2,91 - 1,17}{4,74 - 2,91} \times 30 = 28,5 \text{ pg}$$

f) Örnek R’deki Pt miktarı = $(R_1 + R_2 + R_3) / 3 = (26,8 + 29,5 + 28,5) / 3 = 28,3 \text{ pg Pt}$

g) 5 μL örnekte 28,3 pg Pt bulunduğuna göre;

Ele alınan örneğin toplam hacmi 3 mL = 3000 μL ’ de

$$\frac{3000}{5} \times 28,3 = 16980 \text{ pg} = 16,98 \text{ ng Pt bulunur.}$$

Bu hesaplama, örnek 8 için şekil 4.3.4. ten $\sim - 0,915 \text{ V}$ da okunan katodik pik akımlarından yararlanılarak aşağıdaki gibi yapıldı.

a) $i_1 =$ zemin eğrisi akımı = 1,20 μA

b) $i_2 = 10$ kat seyreltilerek 5 μL örnek eklenmiş durum = 1,83 μA

c) $i_3 = \text{“b”} + 10 \text{ pg Pt}^{2+}$ içerecek şekilde 20 μL standart eklenmiş durum = 2,18 μA

$$Pt_{ör8-1} = \frac{i_2 - i_1}{i_3 - i_2} \times 10 = \frac{1,83 - 1,20}{2,18 - 1,83} \times 10 = 18,0 \text{ pg}$$

d) $i_4 = \text{“b”} + 20 \text{ pg Pt}^{2+}$ içerecek şekilde 40 μL standart eklenmiş durum = 2,47 μA

$$Pt_{ör8-2} = \frac{i_2 - i_1}{i_4 - i_2} \times 20 = \frac{1,83 - 1,20}{2,47 - 1,83} \times 20 = 19,7 \text{ pg}$$

e) $i_5 = \text{“b”} + 30 \text{ pg Pt}^{2+}$ içerecek şekilde 60 μL standart eklenmiş durum = 2,71 μA

$$Pt_{ör8-3} = \frac{i_2 - i_1}{i_5 - i_2} \times 30 = \frac{1,83 - 1,20}{2,71 - 1,83} \times 30 = 21,5 \text{ pg}$$

f) Örnek 8’deki Pt miktarı = $(Ör8_1 + Ör8_2 + Ör8_3) / 3$

$$= (18,0 + 19,7 + 21,5) / 3 = 19,7 \text{ pg Pt}$$

g) 10 kat seyreltilmiş örnekten 5 µL eklenmiştir yani 0,5 µL’ de 19,7 pg Pt bulunduğuna göre;

Ele alınan örneğin toplam hacmi 3 mL = 3000 µL’ de

$$\frac{3000}{0,5} \times 19,7 = 118200 \text{ pg} = 118,2 \text{ ng Pt bulunur.}$$



5. SONUÇ

Çalışmada biyolojik örneklerdeki eser düzeyde bulunan Pt^{+2} miktarları analizlenmeye ve biriktirme süresi ve potansiyeli, kare ve diferensiyel puls teknikleri ile sıyırma, civa elektrotun yüzey büyüklüğü, kompleksleştirici bileşiklerin derişim oranları gibi deneysel parametreler optimize edilmeye çalışıldı.

Günümüzde yaygın olarak görülen ölümcül hastalıklarında başında gelen kanser çeşitlerinin birçoğunun tedavisinde kullanılan platin bazlı ilaçlar ve bu ilaçların vücuda olan olumlu ve olumsuz etkilerini incelemek için yapılan platin analizlerinin önem kazanması ve platinin eser düzey analizlerinin yeterli hassasiyette olmaması bu çalışmanın yapılmasına sebep oldu.

Çalışma literatürde daha çok DPSV ve bir iki farklı teknikle yapılırken bu çalışmada SWSV tekniğı ve DPSV teknikleri birlikte kullanılarak karşılaştırmalar yapıldı. Ayrıca çalışma elektrotu olarak hem GCE hem de HMDE kullanıldı ve ikisi arasındaki fark incelendi. Eser düzeyde voltametrik Pt^{+2} analizi için önceden yapılmış ve literatürde yer alan çalışmaların hemen hepsinde yardımcı elektrot olarak Pt elektrot kullanılmış, bunun bulaş riskini artırıp analiz sonuçlarını etkileyeceğini öngörülmemiştir. Yapılan çalışmada bu sakınca giderilerek, yardımcı elektrot olarak karbon temelli elektrotlar kullanılarak analiz sonuçları daha güvenilir hale getirildi.

Çalışma elektrotu olarak asılı civa damla elektrot (HMDE) ve camsı karbon elektrot (GCE) kullanıldı. GCE ile yapılan anodik sıyırma denemelerinde, -500 mV da 30, 60 ve 120 s biriktirme sonrası +1400 mV' a kadar DSPV ile sıyırma yapıldı, yüksek anodik potansiyellerin GCE elektrot yüzeyine zarar verdiği fark edilerek, ilerleyen denemelerde +700 mV' a kadar uygulamalar yapıldı. Biriktirme süresi olarak 60 ve 120 saniye süreler için elde edilen anodik pik akımlarındaki artışların düzenli ve tekrarlanır olmadığı, 30 saniye biriktirme süresi için Pt^{+2} derişimi ile paralel pik akımları elde edilebildiğı belirlendi. Bu çalışmalarda 0,05-1,00 ng Pt^{+2} aralığında yapılan denemelerden, 0,05-0,25 ng Pt^{+2} derişim aralığında elde edilen pik akımı artışları çok belirgin olmazken, 1 ng' a doğru daha yüksek derişim aralıklarındaki artışların daha düzenli ve belirgin olduğu

görüldü. Örneklerdeki derişimlerin düşük olacağı öngörüldüğü, anodik sıyırma ile istenen duyarlık ve tekrarlanırlık elde edilemediği ve GCE elektrot yüzeyinin zarar gördüğü, çalışmalar arasında yüzeyin tekrar çalışmaya hazır hale getirilmesi süreci uzun olduğu için örneklerin analizinde GCE ile değil, HMDE ile katodik sıyırma tekniğinin uygulanması kararlaştırıldı.

HMDE ile yapılan çalışmalarda ilk olarak kullanılacak voltametrik sıyırma tekniğine karar vermek için DPSV ve SWSV tekniklerinde farklı Pt^{+2} derişimi aralıklarında çalışıldı. SWSV ile 12 mL içinde 5 pg' a kadar analiz yapılabilirken DPSV ile 40 pg' a kadar analiz yapılabilirdi. Daha hassas sonuçlar verdiği ve daha küçük derişimlerle çalışılmaya imkan sağladığı için örnek analizleri SWSV tekniği ile yapıldı.

DPSV ve SWSV tekniklerinde uygun biriktirme potansiyelini belirlemek için yapılan çalışmada 40 ve 80 pg Pt^{+2} derişimleri ile farklı biriktirme potansiyellerinde çalışıldı ve çalışılan derişimler için en iyi ve tekrarlanırlığı en yüksek yanıtın DPSV için -200 mV olduğu belirlendi.

Asılı civa damla elektrotun damla büyüklüğünün, katodik DPSV pikine etkisi olup olmadığını anlamak ve uygun damla büyüklüğünü belirlemek için 80 pg Pt^{+2} derişiminde farklı damla büyüklüklerinde çalışıldı. Kapilerden civa akışını kontrol etmeyi sağlayan ve CGME düzeneğindeki kapilere küçük “disperse” vuruşları yapan selenoid çekileme sayısından yararlanıldı. Damla büyüdükçe kapiler ucundaki yarı küresel civa çalışma yüzeyi de büyümektedir, ancak damladaki Hg miktarı vuruş sayısı ile doğrusal olarak artarken yüzey vuruş sayısının 1/3. kuvveti ile değişmektedir. Bu çalışma sonucunda damla büyüklüğü arttıkça sıyırma pikinin büyüdüğü görüldü. Damlanın çok büyük seçilmesi, deney sürecinde kapilerden istemsiz kopmaya neden olabileceğinden kaçınılmıştır. Seçilen damla büyüklüğünün az olması halinde sıyırma pikinin ve dolayısıyla duyarlılığın küçülmesine yol açacağından orta büyüklük olan 7 çekileme vuruşu ile elde edilen damla büyüklüğü ile çalışmanın uygun olacağına karar verilip örnek analizleri bu damla büyüklüğünde gerçekleştirildi.

HMDE ile yapılan çalışmalarda 0,36 M H₂SO₄, 2,5x10⁻³ M N₂H₆SO₄ ve her 100 mL için 60 µL %37' lik formaldehit eklenmiş bileşimli elektrolit kullanıldı ve çalışmalarda bu bileşimdeki hidrazinyumsülfat ve formaldehit miktarlarının analize etkisi araştırıldı. Formaldehit miktarı 50 mL elektrolit için 30 µL, hidrazinyumsülfat için de 2,5 mM derişimin üzerinde Pt pikinin kaybolduğu görüldü. Bu nedenle örnek analizleri bu miktarlar dikkate alınarak gerçekleştirildi.

Asılı civa damla elektrot ile biriktirme süresinin uzaması ile duyarlılık ve tayin sınırı açısından daha iyi sonuçlar elde edilirken, GCE elektrotta ancak 30 s veya daha küçük biriktirme sürelerinde küçük derişimler için anlamlı ve tekrarlanır sonuçlar elde edilebileceği görüldü. Tayin sınırı karşılaştırmaları açısından HMDE kullanımının üstünlük sağlayacağı belirlendi ve örneklerin analizinde HMDE tercihi yapıldı.

Bursa Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümündeki Prof.Dr. V. Yılmaz' ın kanser çalışma grubundan temin olunan, 7 farklı Pt(II) sakkarinat kompleksi tersiyer fosfinat etkileştirilmesi ile hazırlanmış etken maddelerin, insan göğüs kanseri hücreleri olan MCF-7 hücreleri üzerine etkilerini gösteren çalışmanın (Yılmaz ve diğeri, 2018) biri kontrol amaçlı olmak üzere 9 örneği optimize edilen deneysel şartlarda analizlenmiştir. Farklı sayıda hücre içeren dokulardan hazırlanmış örneklerin analizi sonucu bulunan platin miktarları pikogram (1 pg = 10⁻¹² g) cinsinden aşağıda verilmiştir. Örnekler önce HNO₃ ile yaş yakma yöntemiyle parçalanmış, asit fazlasının girişim etkisi olabileceği bilindiği için HNO₃ kalıntısından kurtulmak amacıyla derişik HCl eklenerek kuruluğa kadar buharlaştırılmış, zemin elektroliti içerisinde çözünerek analize hazır hale gelmeleri sağlanmıştır. Örnekler, temin olunan grubun vermiş olduğu numaralama sistemine sadık kalınarak analizlenmiş ve sonuçları Çizelge 5.1. de verilmiştir. Örnek hazırlama prosedürüne uygun kontrol çözeltileri ile, kontrol çözeltisi hazırlanarak aynı analiz yöntemi kullanılarak zemin çalışması da yapılmıştır.

Çizelge 5.1. Çalışmada analizlenen örnek numaraları ve bulunan Pt miktarları.

Örnek No.	Hücre Sayısı	Kullanılan Platin Bileşiği mol Kütlesi (Dalton)	Analiz Sonucu Pt Miktarı (pg)
2	550.000	959,86	25,8
5	2.400.000	835,72	34,7
6	2.000.000	835,72	66,8
8	440.000	987,92	19,7
11	650.000	813,14	41,1
12	620.000	689,99	124,9
13	3.200.000	841,17	52
14	3.000.000	745,09	12,1
R	2.800.000	300,05	28,3

Çizelge 5.1 deki sonuçlara bakıldığında, çalışılan bileşiklerin molekül kütlesi arttıkça beklenildiği gibi doku ve hücre organellerine girme ve birikme miktarı azalmaktadır. Fakat mol kütlesi en az olan R kodlu örneğe bakıldığında biriken platin miktarı fazla olması beklenildiği halde azdır bu da örnekteki hücre sayısının fazla olması ve kullanılan cisplatin bileşiğine gösterilen ilaç direncidir. Aynı zamanda cisplatinin yağda çözünürlüğünün yüksek olmaması, Emilimi artacak şekilde hazırlanmış Pt komplekslerine oranla hücre emiliminin düşük olmasından kaynaklandığı öngörülebilir. Örneklerdeki platin düzeylerinin hücre başına düşen miktarlarına ilişkin karşılaştırma ve değerlendirmeler, yayınlanan makalede ele alınmıştır (Yılmaz ve diğerleri, 2018).

Yapılan sistematik çalışmalar ve analizler sonucu, optimize edilmiş olan koşullara, nicel tayin sınırı 5,66 ng/mL düzeyinde olup, bu değer literatürdeki emsal çalışmalara oranla daha iyileştirilmiş bulunmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan platin ve platin grubu elementlerin biyolojik dokularda ultra eser düzeydeki tayinlerine gereksinim giderek daha çok önem kazandığı için, benzer çalışmaların sürdürülmesi ve geliştirilmesi önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Adeloju, S. B., Bond, A. M., Tan, S. N., & Wei, G. (1990). Voltammetric determination of platinum in inorganic complexes and in water, geological and biological matrices using laboratory- and field-based instrumentation. *The Analyst*, 115(12), 1569.
- Avramovic, N., Ignjatovic, N., Savic, A. (2019). Platinum and ruthenium complexes as promising molecules in cancer therapy. *Srpski Arhiv Za Celokupno Lekarstvo*, 147(1-2), 105-109.
- Balcerzak, M. (1997). Analytical Methods for the Determination of Platinum in Biological and Environmental Materials A Review. *The Analyst*, 122(5), 67R-74R.
- Bhargava, B., De Scheerder, I., Ping, Q. B., Yanming, H., Chan, R., Soo Kim, H., ... Leon, M. B. (2000). A novel platinum-iridium, potentially gamma radioactive stent: Evaluation in a porcine model. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 51(3), 364-368.
- Bosch Ojeda, C., Sánchez Rojas, F., Cano Pavón, J. M., & García de Torres, A. (2003). Automated on-line separation-preconcentration system for platinum determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 494(1-2), 97-103.
- Chen, C., Gao, C., Yuan, Z., & Jiang, Y. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of a novel platinum(II) complex possessing bioreductive groups for cancer therapy. *Chinese Chemical Letters*, 30(1), 243-246.
- Compton, R. G., Laborda, E., & Ward, K. R. (2013). *Understanding Voltammetry: Simulation of Electrode Processes (Illustrated ed.)*. Imperial College Press. 362-363 pp.
- Çavuşoğlu, A. (2006). Yakıt pilleri ve kullanım alanları. (Yüksek lisans tezi) Erişim adresi: <http://hdl.handle.net/11452/6045>
- Essalik, A., Amouzegar, K., & Savadogo, O. (1995). Quantitative determination of dispersed platinum in carbon by cyclic voltammetry. *Journal of Applied Electrochemistry*, 25(4), 404-407.
- Economou, A., & Fielden, P. R. (1993). Simultaneous determination of nickel(II) and cobalt(II) by square-wave adsorptive stripping voltammetry on a rotating disc mercury film electrode. *The Analyst*, 118(1), 47.
- Garuti, G., Meloni, S., & Oddone, M. (2000). NAA of Platinum Group Elements and Gold in Reference Materials: A comparison of two methods. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 245(1), 17-23.
- Georgieva, M., & Andonovski, B. (2003). Determination of platinum(IV) by UV spectrophotometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375(6), 836-839.

Gorchakov, E., Ustinova, E., & Kolpakova, N. (2012). Anodic stripping determination of Pt(IV) based on the anodic oxidation of Hg and Cd from electrochemically deposited Hg–Pt and Hg–Cd alloy phases. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16(7), 2425–2428.

Greaves, E. D., Angeli-Greaves, M., Jaehde, U., Drescher, A., & von Bohlen, A. (2006). Rapid determination of platinum plasma concentrations of chemotherapy patients using total reflection X-ray fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 61(10–11), 1194–1200.

Higney, E., Olive, V., MacKenzie, A. B., & Pulford, I. D. (2002). Isotope dilution ICP–MS analysis of platinum in road dusts from west central Scotland. *Applied Geochemistry*, 17(8), 1123–1129.

Huszał, S., Kowalska, J., Krzeminska, M., & Golimowski, J. (2005). Determination of Platinum with Thiosemicarbazide by Catalytic Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV). *Electroanalysis*, 17(4), 299–304.

İçsel, C., Yılmaz, V. (2016). Synthesis, structural characterization, DNA/protein binding and biological activity studies of palladium (II) and platinum (II) 5,5-diethylbarbiturate complexes of pyridine-based ligands. (Doktora Tezi) Erişim Adresi: <http://hdl.handle.net/11452/1871>

Kolodziej, M., Baranowska, I., & Matyja, A. (2007). Determination of Platinum in Plant Samples by Voltammetric Analysis. *Electroanalysis*, 19(15), 1585–1589.

Kolpakova, N. A., Smyshlyaeva, E. A., Tuzikov, S. A., & Doroshenko, A. V. (2003b). Determination of Platinum in Biological Materials by Stripping Voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry*, 58(3), 268–270.

Kolpakova, N., Oskina, Y., Dyachenko, E., & Pshenichkin, A. (2015). Determination of Platinum Metals in Carbonaceous Mineral Raw Materials by Stripping Voltammetry. *Procedia Chemistry*, 15, 335–341.

Komendova, R. (2020). Recent advances in the preconcentration and determination of platinum group metals in environmental and biological samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 122, 115708.

Kovacheva, P., & Djingova, R. (2002). Ion-exchange method for separation and concentration of platinum and palladium for analysis of environmental samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 464(1), 7–13.

LeRoy, A. F., Wehling, M. L., Sponseller, H. L., Friauf, W. S., Solomon, R. E., Dedrick, R. L., ... Becker, D. A. (1977). Analysis of platinum in biological materials by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Biochemical Medicine*, 18(2), 184–191.

Locatelli, C., Melucci, D., & Torsi, G. (2005). Determination of platinum-group metals and lead in vegetable environmental bio-monitors by voltammetric and spectroscopic

techniques: critical comparison. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(7), 1567–1573.

Messerschmidt, J., Alt, F., Tölg, G., Angerer, J., & Schaller, K. H. (1992). Adsorptive voltammetric procedure for the determination of platinum baseline levels in human body fluids. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 343(4), 391–394.

Najafi, N. M., Shahparvizi, S., Rafati, H., Ghasemi, E., & Alizadeh, R. (2010). Preconcentration and determination of ultra-traces of platinum in human serum using the combined electrodeposition–electrothermal atomic absorption spectroscopy (ED–ETAAS) and chemometric method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53(1), 58–61.

Nygren, O., Vaughan, G. T., Florence, T. M., Morrison, G. M. P., Warner, I. M., & Dale, L. S. (1990b). Determination of platinum in blood by adsorptive voltammetry. *Analytical Chemistry*, 62(15), 1637–1640.

Orecchio, S., & Amorello, D. (2019). Platinum and Rhodium in Potato Samples by Using Voltammetric Techniques. *Foods*, 8(2), 59.

Pađan, J., Marcinek, S., Cindrić, A. M., Layglon, N., Garnier, C., Salaün, P., . . . Omanović, D. (2020). Determination of sub-picomolar levels of platinum in the pristine Krka River estuary (Croatia) using improved voltammetric methodology. *Environmental Chemistry*, 17(2), 77. <https://doi.org/10.1071/en19157>

Petrosians, A., Whalen III, J. J., Weiland, J. D., & Mansfeld, F. (2011). Electrodeposition and Characterization of Thin-Film Platinum-Iridium Alloys for Biological Interfaces. *Journal of The Electrochemical Society*, 158(5), D269.

Pourbaix, M. J. N., Muylder, J. Van., de Zoubov, N. (1959). A New Approach to studies of corrosion resistance and cathodic protection. *Platinum Metals Rev.*, 3, (2), 47-53.

Rao, C. R. M., & Reddi, G. S. (2000). Platinum group metals (PGM); occurrence, use and recent trends in their determination. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 19(9), 565–586.

Rodrigues, J. A., Rodrigues, C. M., Almeida, P. J., Valente, I. M., Gonçalves, L. M., Compton, R. G., & Barros, A. A. (2011). Increased sensitivity of anodic stripping voltammetry at the hanging mercury drop electrode by ultracathodic deposition. *Analytica Chimica Acta*, 701(2), 152–156.

Saito, Y., & Kikuchi, T. Ed. (2014). *Voltammetry, Theory, Types and Applications*. Nova Science Publishers, 216-217 pp.

Saurat, M., & Bringezu, S. (2008). Platinum Group Metal Flows of Europe, Part 1. *Journal of Industrial Ecology*, 12(5–6), 754–767.

Schmid, G. M., & Atherton, D. R. (1986). Voltammetric determination of platinum from aqueous solutions and from urine. *Analytical Chemistry*, 58(9), 1956–1959.

Scholz. (2010). *Electroanalytical Methods* (2nd ed. 2010 ed.). Springer.

Silwana, B., van der Horst, C., Iwuoha, E., & Somerset, V. (2014). Screen-printed carbon electrodes modified with a bismuth film for stripping voltammetric analysis of platinum group metals in environmental samples. *Electrochimica Acta*, 128, 119–127.

Skoog, D.A., West, M.D., Holler, J.F., Crouch, R.S., 2004. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Thomson Learning Inc., 665-668 pp.

Sures, B., Zimmermann, S., Messerschmidt, J., & von Bohlen, A. (2002). Relevance and Analysis of Traffic Related Platinum Group Metals (Pt, Pd, Rh) in the Aquatic Biosphere, with Emphasis on Palladium. *Ecotoxicology*, 11(5), 385–392.

Uslu, B. (2010b). The Analytical Applications of Square Wave Voltammetry on Pharmaceutical Analysis. *The Open Chemical and Biomedical Methods Journal*, 3(1), 56–73.

Van Meel, K., Smekens, A., Behets, M., Kazandjian, P., & Van Grieken, R. (2007). Determination of Platinum, Palladium, and Rhodium in Automotive Catalysts Using High-Energy Secondary Target X-ray Fluorescence Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 79(16), 6383–6389.

Yilmaz, V. T., Icel, C., Turgut, O. R., Aygun, M., Erkisa, M., Turkdemir, M. H., & Ulukaya, E. (2018). Synthesis, structures and anticancer potentials of platinum(II) saccharinate complexes of tertiary phosphines with phenyl and cyclohexyl groups targeting mitochondria and DNA. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 609–622.

Zhao, Z., & Freiser, H. (1986). Differential pulse polarographic determination of trace levels of platinum. *Analytical Chemistry*, 58(7), 1498–1501.

Zimmermann, S. (2001). Trace analysis of platinum in biological samples: a comparison between sector field ICP-MS and adsorptive cathodic stripping voltammetry following different digestion procedures. *Analytica Chimica Acta*, 439, 203–209.

Zimmermann, S., Menzel, C. M., Berner, Z., Eckhardt, J.-D., Stüben, D., Alt, F., ... Sures, B. (2001). Trace analysis of platinum in biological samples: a comparison between sector field ICP-MS and adsorptive cathodic stripping voltammetry following different digestion procedures. *Analytica Chimica Acta*, 439(2), 203–209.

Živković, M. D., Kljun, J., Ilic-Tomic, T., Pavic, A., Veselinović, A., Manojlović, D. D., ... Turel, I. (2018). A new class of platinum(ii) complexes with the phosphine ligand pta which show potent anticancer activity. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 5(1), 39–53.

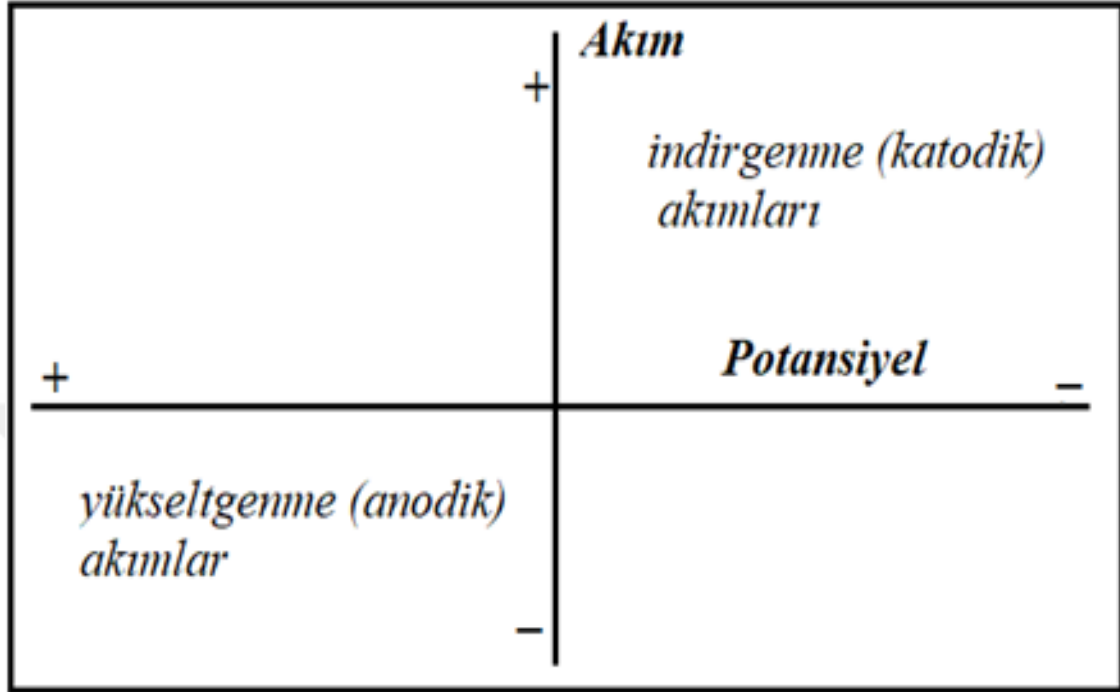
Wang, J., 2006. *Analytical Electrochemistry*. John Wiley & Sons, Inc., 86,262 pp.

Wang, J., Czae, M. Z., Lu, J., & Vuki, M. (1999). Catalytic-Adsorptive Stripping Voltammetric Measurements of Picomolar Levels of Platinum in the Presence of Hydroxylamine: How Low Can We Go? *Microchemical Journal*, 62(1), 121–127.

Wang, T., & Yue, W. (2017). Carbon Nanotubes Heavy Metal Detection with Stripping Voltammetry: A Review Paper. *Electroanalysis*, 29(10), 2178–2189.



EK-1: Deneylerde Kullanılan Epsilon BASi Cihazının Voltamogramlarda Akım / Potansiyel Yönlenmesi İçin Temel Gösterimi



NOT: Cihazın yazılımında bu gösterim IUPAC önerilen gösterim olarak belirtiliyor olsa da, literatürde anodik akımların üstte ve pozitif işaretli olarak yer aldığı gösterimler de mevcuttur.

Kaynak: https://www.basinc.com/manuals/EC_epsilon/Techniques/CycVolt/cv_analysis

