

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

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

Saide CAN

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 27/06/2013

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Selhattin YILMAZ

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

SAİDE CAN tarafından PROF. DR. SELEHATTİN YILMAZ yönetiminde hazırlanan ASİKLOVİRİN POLİ(p-AMINOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

Danışman

Prof. Dr. Necati MENEK

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 27/06/2013

Doç. Dr. Zeki KARACA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

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

Saide CAN

TEŞEKKÜR

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

Tez çalıőmalarım her aşamasında bana vakit ayıran ,yardım ve destekleriyle beni yalnız bırakmayan,tecrübelerinde yararlandığım Araő. Gör. Dr. Sultan YAĞMUR ve Araő. Gör.Dr. Gülően SAĞLIKOĞLU 'na sonsuz teşekkür ederim.

Çalıőmalarım süresince benden yardım ve desteklerini esirgemeyen grup arkadaşlarım Esra APAYDIN, iđdem DEMİRTAŞ ve Zeynep BAŐ' a sonsuz sevgi ve őükranlarımı sunarım.

Beni yetiőtiren, her konuda destekleyen ve hiçbir őeylerini esirgemeyen çok değerli aileme ve Kenan CEYLAN'a tüm yaptıkları için teşekkürü borç bilirim.

Saide CAN

SİMGELER VE KISALTMALAR

$E_{1/2}$	Yarı Dalga Potansiyeli
E_p	Pik Potansiyeli
i_p	Pik Akımı
i_l	Sınır (Limit) Akım
GCE	Camsı Karbon Elektrot
LOD	Belirme Sınırı (Limit of Detection)
LOQ	Kantitatif Tayin Sınırı (Limit of Quantitation)
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
R	Korelasyon Katsayısı
RSD	Bağıl Standart Sapma
$v^{1/2}$	Tarama Hızının Karekökü
N	Voltametrik Hücrede Tekrarlanan Ölçüm Sayısı
NPV	Normal Puls Voltametri
DPV	Diferansiyel Puls Voltametri
SWV	Kare Dalga Voltametri
ACP	Alternatif Akım Voltametri
CV	Dönüşümlü Voltametri
SV	Sıyırma Voltametri
ASV	Anodik Sıyırma Voltametri
CSV	Katodik Sıyırma Voltametri
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametri
PSV	Potansiyometrik Sıyırma Voltametri

ÖZET

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

Saide CAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

27/06/2013, 51

Bu çalışmada, Asiklovir adlı etken maddenin elektrokimyasal yükseltgenme özelliği voltametrik yöntemler ile modifiye camsi karbon elektrot kullanılarak incelendi. Optimum şartları belirlemek için farklı destek elektrolitlerde diferansiyel puls voltametri ve dönüşümlü voltametri ile yükseltgenme özelliği çalışıldı. Asiklovir için modifiye camsi karbon elektrot da keskin pikin ve maksimum akımın gözlemlendiği pH=7,00 fosfat çözeltisi destek elektrolit olarak seçildi. Asiklovir'in pik akımına ve pik potansiyeline pH' ın etkisi diferansiyel puls voltametri tekniği (DPV) ve tarama hızının pik akımına etkisi ise dönüşümlü voltametri tekniği (CV) ile incelendi.

Uygulanan voltametrik yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile ilaç tabletinden Asiklovir'in geri kazanım çalışmaları yapıldı ve ilaç tabletindeki Asiklovir miktarı da belirlendi.

Anahtar Kelimeler : Asiklovir(Aklovir) ,Voltametrik Yöntem, Diferansiyel Puls Voltametri (DPV), Dönüşümlü Voltametri (CV), Modifiye Camsi Karbon Elektrot, Ticari İlaç Tabletleri.

ABSTRACT

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

Saide CAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Chemistry Thesis of Master of Science

Advisor: Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

27/06/2013, 51

In this study, electrochemical properties of active compound named acyclovir was investigated by voltammetric methods using modified glassy carbon electrode. In different supporting electrolyte, oxidation was studied by voltammetric methods to investigate the optimum conditions. pH=7,00 phosphate solution in which sharp peak and maximum current was observed, at ultra trace graphite electrode for Acyclovir, was selected as supporting electrolyte. The effects of pH on the peak current and peak potential for material was investigated by differential pulse voltammetry (DPV) and the effect of scan rate on the peak current was investigated by cyclic voltammetry (CV) techniques.

In order to check accuracy and precision of applied voltammetric method, recovery experiment of Acyclovir was carried out from the drug tablet. Furthermore, the amount of Acyclovir was determined in drug tablets.

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

İÇERİK	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
BÖLÜM 1- GİRİŞ	1
BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1.Elektroanalitik Yöntemler.....	3
2.2.Voltametri.....	4
2.3. Voltametrinin Çalışma Prensibi.....	6
2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri.....	6
2.4.1. Voltametrik kap.....	6
2.4.2. Destek elektrolit.....	6
2.4.3. Çalışma (İndikatör) elektrodu.....	7
2.4.3.1. Cıva kökenli elektrotlar.....	9
2.4.3.1.1. Damlayan cıva elektrot (DCE).....	9
2.4.3.1.2. Asılı cıva damla elektrot.....	9
2.4.3.1.3. Cıva film (Zar) elektrotlar.....	10
2.4.3.2. Katı elektrotlar.....	10
2.4.3.2.1. Platin elektrot.....	11
2.4.3.2.2. Altın elektrot.....	11
2.4.3.2.3. Bizmut elektrot.....	11
2.4.3.2.4. Karbon elektrotlar.....	12
2.4.3.2.4.1.Elmas.....	12
2.4.3.2.4.2.Grafit elektrot.....	12
2.4.3.2.4.3.Karbon pasta elektrot	12
2.4.3.2.4.4.Camsı karbon elektrot.....	13
2.4.3.2.4.5. Emreyene karbon elektrotlar.....	13
2.4.3.2.4.6.Pirolitik grafit elektrot.....	13
2.4.3.2.4.7. Mikro karbon (Lif) elektrotlar.....	13
2.4.3.3. Dönen disk ve halka disk elektrotlar.....	14
2.4.3.4. Modifiye elektrotlar.....	14

2.4.3.4.1. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan metotlar.....	15
2.4.3.4.2.Kompozit elektrotlar.....	17
2.4.3.4.3.Kimyasal modifiye elektrotlar.....	17
2.4.4.Karşılaştırma (Referans) elektrodu.....	17
2.4.5.Yardımcı (Karşıt) elektrot	18
2.5. Voltametrik Teknikler.....	20
2.5.1. Polarografi	20
2.5.2. Puls voltametrisi.....	21
2.5.2.1. Normal puls voltametrisi (NPV).....	21
2.5.2.2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV).....	22
2.5.2.3. Kare dalga voltametrisi (SWV).....	22
2.5.3. Dönüşümlü voltametri (CV).....	22
2.5.4. Sıyırma voltametrisi (SV).....	23
2.5.4.1. Anodik sıyırma voltametrisi (ASV).....	23
2.5.4.2. Katodik sıyırma voltametrisi (CSV).....	23
2.5.4.4. Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi (PSV).....	23
2.5.4.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV).....	23
2.6. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler.....	23
2.7.Önceki Çalışmalar.....	26
2.7.1.Asiklovir'in voltametrik teknikler ile ilaçlardan tayini.....	26
2.7.2.Poli(4-ABSA) - modifiye camısı karbon elektrot ile yapılan çalışmalar.....	27
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM	28
3.1. Materyal	28
3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler	28
3.1.2. Kullanılan cihazlar	28
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	29
3.2.2. Camısı karbon elektrodun modifiye edilmesi.....	29
BÖLÜM 4 -ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	30
4.1. Asiklovir'in Çözünürlüğünün Belirlenmesi.....	30
4.2. Asiklovir'in Çözeltilerinin Hazırlanması.....	30
4.3. Camısı Karbon Elektrodun Modifiye Edilmesi.....	30

4.4. Destek Elektrolitler Hazırlanarak Çalışma Ortamının Belirlenmesi ve pH Taraması	31
4.4.1. Fosfat tamponunun hazırlanması ve pH taraması	31
4.4.2. Çalışma ortamının belirlenmesi.....	32
4.5. Asiklovir'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi	32
4.5.1. Akım türünün belirlenmesi.....	32
4.5.2. Analitik çalışma (Konsantrasyon) aralığının belirlenmesi.....	33
4.5.3. Belirleme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) parametrelerinin hesaplanması.....	34
4.5.4. Aklovir tabletlerinde asiklovir'in voltametrik tayini.....	34
4.5.5. Aklovir tabletlerinden asiklovir'in geri kazanımı.....	35
4.6. Tartışma.....	35
4.6.1. Asiklovir'in yükseltgenmesine modifiye elektrodun etkisi	35
4.6.2. Asiklovir'in modifiye elektrotta çalışma ortamının belirlenmesi.....	36
4.6.3. Asiklovir'in modifiye elektrotta akım türünün belirlenmesi.....	37
4.6.4. Asiklovir'in modifiye elektrotta analitik konsantrasyon parametreleri.....	39
4.6.5. Asiklovir'in modifiye elektrotta ilaçtan miktarının belirlenmesi.....	42
4.7. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonikasinin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması.....	42
4.8. Asiklovir'in Poli(4-ABSA)-Modifiye Camsı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması.....	46
BÖLÜM 5 – SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR.....	48
Çizelgeler.....	I
Şekiller.....	II
Özgeçmiş.....	III

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Guanin ile elde edilen sentetik pürin nükleozidi olan Asiklovir (2-amino-9-[(2-hidroksietoksi)metil]-3,9-dihidro-6*H*-purin-6-on) (Şekil 1.1), herpes simpleks ve varisella zoster virüsüne karşı güçlü ve seçici bir faaliyet göstermektedir. Bu virüs hastalıklarının tedavisinde önemli bir rol oynar (Skrzypek ve ark., 2007).

Asiklovir, özellikle uçuk, suçiçeği gibi deri enfeksiyonlarına neden olan virüslere en fazla seçiciliğe sahip olup tedavide ilk olarak kullanıma sunulan bir bileşiktir. Kimyasal yapısı bakımından guanin analogudur ve etkisini ilgili virüste bulunan DNA'nın kopyalanmasını inhibe ederek gösterir. Bu bileşiğin ilaç olarak kullanımındaki zayıf yanı ise ağız yolu ile alınan dozunun ancak % 15-30'nun biyolojik olarak yararlı olabilmesidir.

Şekil 1.1. Asiklovir'in kimyasal yapısı.

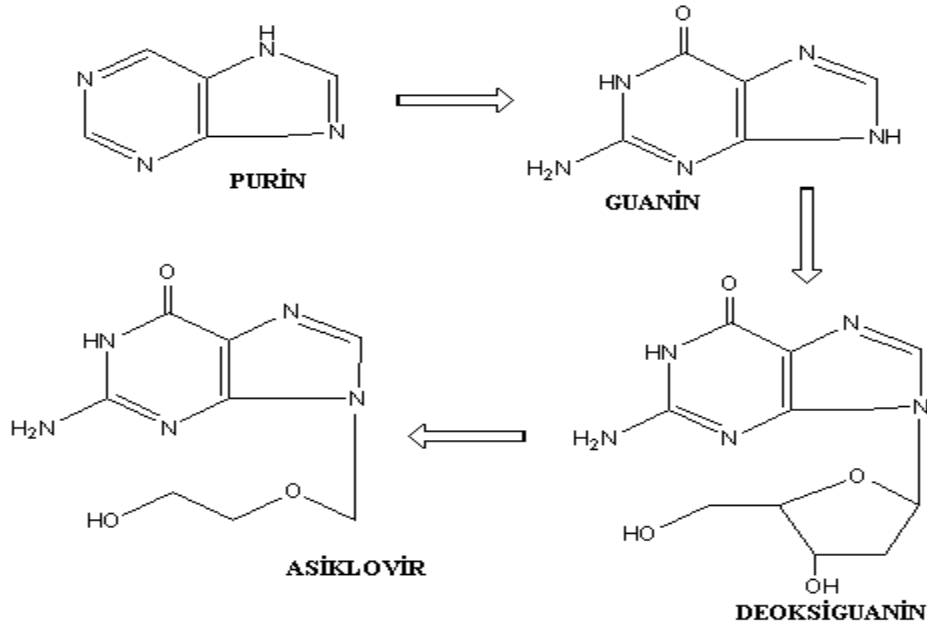
Asiklovir, antiviral kemoterapide ilk spesifik klinik kullanıma giren (1977) ve son 25 yılda özellikle herpes virüsler grubuna karşı başarıyla en fazla denenmiş antiviral bileşiktir (Loregian ve ark., 2001). Sonraki yıllarda pek çok yapısal analogu tedaviye sokulmuştur.

Asiklovir süstitüe pürin türevi bir bileşiktir. Süstitüe pürinler, virüs enfeksiyonlarının tedavisinde ilaç olarak başarıyla kullanılmaktadırlar. Canlı organizmada gelişen olayların pek çoğunda etkin rol oynayan deoksiribonükleik asidin (DNA) en temel bileşenlerinden biri olan guanin de biyolojik temelli bir pürin bazıdır, yani bir nükleobazdır. Deoksiguanosin, guanin nükleosidi'dir. Asiklovir, asiklik deoksiguanosin analogu bir bileşiktir.

Asiklovir'in nicel olarak belirlenmesi çok önemlidir ve kararlılığını belirlemek için HPLC [2-6] sıvı kromatografisi / elektro spreysel kütle spektrometresi [7], kapiller elektroforez [8-10], Raman spektroskopisi [9] ve NIR spektroskopisi [11] gibi bazı analitik yöntemlerle çalışılmıştır.

Voltametriye kullanılan modifiye edilmemiş elektrotların analizleri sınırlaması nedeniyle, bu elektrotlar modifiye edilerek geliştirilmekte ve istenilen analizler başarılı bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Bu tez kapsamında yapılacak çalışmanın ilk bölümünde antiviral etkili pürin türevi olan asiklovir'in voltametrik yöntemle elektrokimyasal redoks özelliklerinin ayrıntılı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

İkinci bölümde ise ilk bölümdeki olumlu bulguların ışığında geliştirilecek voltametrik yöntemin bu grup bileşiklerin değişik ilaç dozaj şekillerine uygulanarak miktar tayinlerinin yapılması amaçlanmıştır.



Şekil 1.2. Purin, guanin, deoksiguanozin, asiklovir'in kimyasal yapısı.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

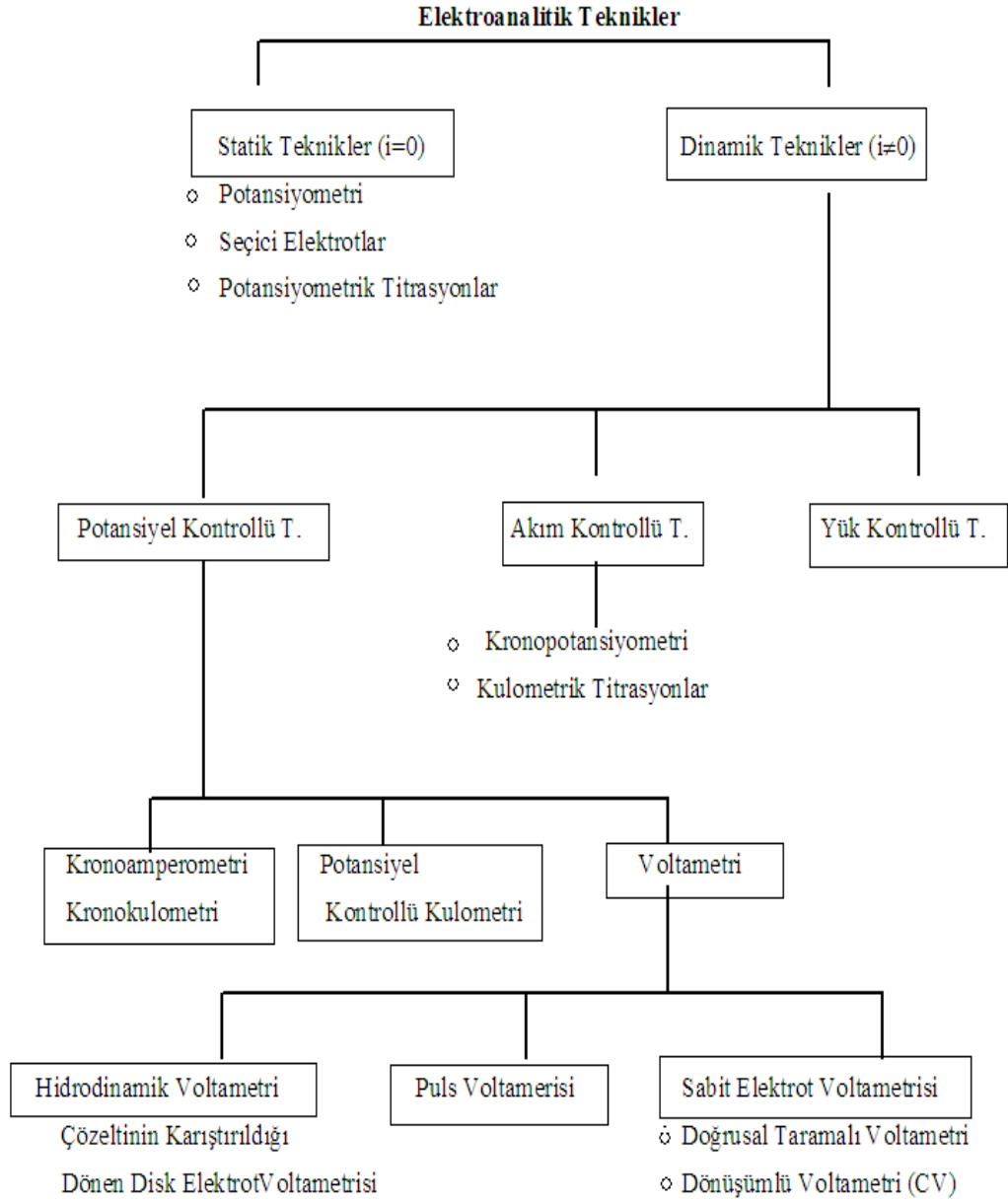
2.1. Elektroanalitik Yöntemler

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

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

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

Elektroanalitik yöntemlerin çok çeşitli sınıflandırma yöntemleri vardır. En yaygın sınıflandırma biçimi Şekil 2.1’de şema halinde verilmiştir.



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

2.2. Voltametri

Voltametri; yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen elektroaktif (elektrot tepkimesine giren) organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden uygun koşullarda elde edilen akım şiddeti – potansiyel eğrilerinin (voltamogramların) özelliklerini inceleyen ve değerlendiren analiz tekniğidir (Yılmaz, 2012).

Voltametrde, çalışma elektrotunun potansiyeli bir potansiyometre yardımıyla referans elektrota karşı değiştirilir ve hücreden (üç elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot arasından, iki elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile referans elektrot arasından) geçen akım galvanometreyle ölçülür. Ölçülen akımın uygulanan potansiyele karşı grafiği çizilir. Bu akım potansiyel eğrilerine voltamogram adı verilir (Bond,1980).

Voltametrinin gelişimi, Çekoslovak kimyacı Heyrovski tarafından 1922 yılında bulunup geliştirilen ve voltametri tekniğinin özel bir tipi olan ‘polarografi’ ile başlamıştır. Bu buluş Heyrovski’ye 1959 yılında Kimya Nobel ödülünü kazandırmıştır. Buna paralel olarak elektrokimyasal önderiştirmeye ilişkin kimi fikirler öne sürülmekle birlikte, sıyırma teknikleri olarak adlandırılan duyarlı tekniklerin doğuşu 1950’li yıllarda Kemula’nın asılı civa damla elektrodunu (ACDE) geliştirmesi ile başlamıştır.Sıyırma tekniklerinin duyarlılığının iyi oluşu,tayin edilecek maddenin elektrot yüzeyinde küçük bir hacimde ön deriştirilmesinden ileri gelmektedir. Bu önderiştirme işlemi genellikle elektroda uygulanan potansiyel altında ve çözelti karıştırılarak yürütülür. Ardından potansiyelin anodik veya katodik yönde taranması sonucu yüzeyde deriştirilen maddeye ilişkin akım potansiyel eğrilerinden gidilerek analiz gerçekleştirilir.1970’li yıllarda diferansiyel puls tekniğininde cihazlarda yer almasıyla birlikte daha duyarlı ölçümlere olanak tanımıştır. Böylelikle spektroskopik yöntemlerde gözlenen atılımla birlikte laboratuarlardan giderek uzaklaştırılan voltametrik cihazlar,duyarlılık ve seçimlilik yönünden büyük artışlar sağlayan değişikliklerle yeniden laboratuarlara dönmüştür (Henden ve Diğ., 2001).

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

Bu yöntemlerin diğer analitik yöntemlere üstünlüğü ise; az miktarda maddenin analiz için yeterli olması, ucuz olmaları, kolay uygulanabilir olmaları, analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması, fazla çözücü gerektirmemeleri ve hassas birer yöntem olmalarıdır (Zuman ve Brezina, 1962; Kissinger ve Heineman, 1996).

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

2.3. Voltametrinin Çalışma Prensibi

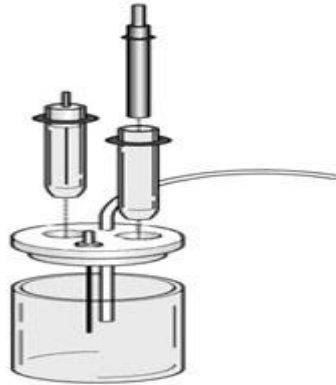
Voltametrinin çalışma prensibi; elektrokimyasal hücrede bulunan, polarize olabilen bir çalışma (indikatör) elektrodu ile karşılaştırma (referans) elektrodu arasında değeri zamanla değiştirilen potansiyel uygulanarak üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı (karşıt) elektrot, iki elektrotlu hücelere ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki akımın ölçülmesi ilkesine dayanır (Yıldız ve Genç, 1993; Bond, 1980). Hücreye uygulanan potansiyel artırılarak bir potansiyel-akım eğrisi (voltamogram) elde edilir. Bu işlemde çalışma elektrodu olarak katı elektrotlar kullanılırsa elde edilen bu eğriye voltamogram, çalışma elektrodu olarak civa elektrodu kullanılırsa polarogram adı verilir.

2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri

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

2.4.1. Voltametrik kap

Voltametrik analizler cam, kuartz veya teflon kaplarda yürütülür. Kabın yapıldığı malzeme kirlenme ve adsorpsiyon yanlıgılarının en az olduğu maddelerden seçilir (Henden, 2001).



Şekil 2.2. Deney hücresi (Yılmaz, 2012).

2.4.2. Destek elektrolit

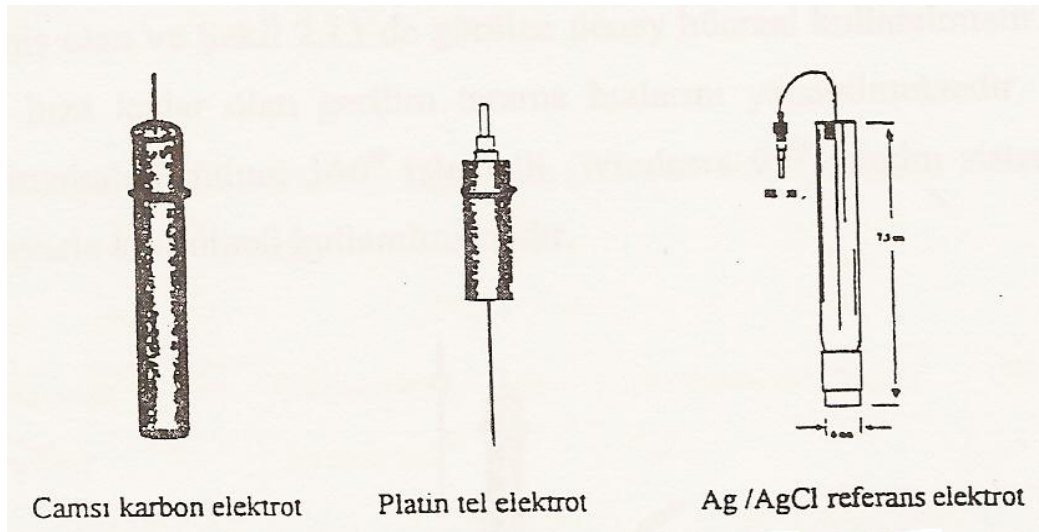
Hücre içindeki çözeltilerde tayini yapılacak maddeden (analitten) başka bir madde daha bulunur. Buna destek maddesi veya destek elektroliti denir. Destek elektrolit deney şartlarında elektroaktif olmayan (elektrolizlenmeyen) maddedir. Hidrodinamik voltametriye iyonların elektrik çekim etkisiyle elektrotlara göç etmelerini en aza indirmek için destek

elektroliti ilave edilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu, tayini yapılan maddenin konsantrasyonunun en az 100 katı olması gerekir. Bu şartlarda tayini yapılanın elektrik etkisiyle elektroda doğru göçü ve dolayısıyla taşıdıkları elektrik miktarı ihmal edilecek seviyeye gelir. Bu da tayini yapılacak iyonun, zıt yüklü elektroda doğru çekiminin veya göçünün elektroda uygulanan potansiyelden artık bağımsız hale geldiğini gösterir.

Voltamtride destek elektrolit, analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilen bir tuzdur. En yaygın tuzlar analit tayininde kullanılan potansiyelde mikroelettotta reaksiyona girmeyen alkali metal tuzlarıdır. Bu amaçla ortama KCl, KNO₃ gibi bir inorganik tuz, bir mineral asidi veya baz katılabilir. Sitrik asit / sitrat veya asetik asit / asetat gibi tampon sistemleri pH kontrolünün gerektiği konularda destek elektrolit olarak kullanılabilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu genellikle 0,1 M dolayındadır. Bu seviye minimum kirlilik ile yüksek iletkenlik arasındaki bir ara değerdir. Çalışmalardaki destek elektrolit konsantrasyonu 0,01-1,0 M arasında değişir. Ohmluk düşmelerdeki değişimlerden sakınmak için, destek elektrolit konsantrasyonu örnekten örneğe hep aynı şekilde olmalıdır. Destek elektrolit hazırlanmasında kullanılan reaktifler çok yüksek saflıkta olmalıdır (Erdoğan, 1995).

2.4.3. Çalışma (İndikatör) elektrodu

Elektroanalitik kimyada çalışma elektrodu ,üzerinde analitin yükseltlendiği veya indirildiği elektrottur. Potansiyeli zamanla değişen mikro elektrottur. İndirgenme-yükseltgenme bu elektrotta gerçekleşir (indikatör veya mikro elektrot da denir).



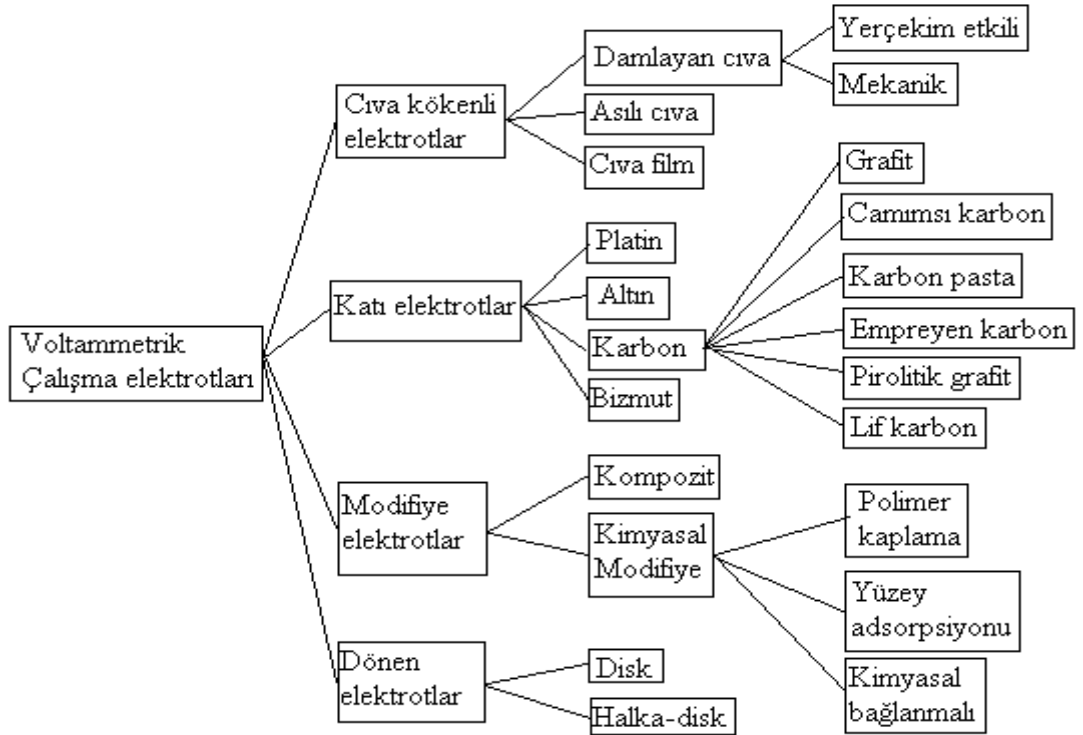
Şekil 2.3. Kullanılan deney elektrotları.

Voltametrik yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotları polarlanmanın olabilmesi için küçük yüzey alanına sahip olmalıdır. Bunun için kullanılan çalışma elektrotları mikro elektrotlardır. Mikro elektrotların kullanılması sonucunda örnekteki elektroaktif türlerin çok küçük bir miktarı elektrokimyasal tepkimeye girmektedir. Böylece örneğin bileşimi hemen hemen aynı kalmaktadır.

Çalışma elektrotu ile referans elektrot arasında potansiyel uygulanırken, çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasında akım kaydedilir (Türe, 2008).



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



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

2.4.3.1. Cıva kökenli elektrotlar

Cıva mikroelektrotları voltametrde birkaç sebepten dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebeplerden biri bu elektrotlarla kullanılabilecek negatif potansiyel sınırının çok yüksek olmasıdır. Ayrıca kolayca oluşturulabilen yeni bir damla ile taze bir metalik yüzey oluşturulabilir. Buna ek olarak, pek çok metal iyonu bir cıva elektrodunun yüzeyinde amalgam oluşturmak suretiyle tersinir olarak indirgenmektedir ki, olayın kimyası basittir (Skoog ve diğ., 1996).

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

Cıva mikroelektrotlar bir kaç sebepten dolayı voltametrde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebepler;

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

2.4.3.1.1. Damlayan cıva elektrot (DCE)

İç çapı 0,03-0,08 mm olan ince bir cam kılcal borunun (kapiler) cıva deposuna bağlanması ile oluşturulur. Bu kılcal borudan cıvanın damlatılması yer çekimin etkisiyle ve mekanik yolla gerçekleştirilebilir. Genelde alanı 2-6 mm² olan damlalar oluşturulur.

2.4.3.1.2. Asılı cıva damla elektrot

Bu elektrot bir cıva deposuna bağlı bir kılcal borudan oluşur. Damla bir vida düzeneği yardımıyla kılcal borunun ucunda oluşturulur. İstenilen büyüklükteki cıva damlası vidanın belli bir oranda döndürülmesi ile elde edilir. Cıva damlasının büyüklüğü, kılcal boru ucunda oluşan damlanın düşürülüp tartılması ile saptanır.

2.4.3.1.3. Civa film (Zar) elektrotlar

Bu elektrotlar, inert bir destek üzerine, 1-100 µm düzeyinde ince bir civa film kaplanarak oluşturulurlar. İnert destek olarak genellikle platin, altın, grafit ve camsı karbon kullanılır. Bu destekler bir tel ya da disk şeklinde olabilirler. Durağan bir elektrot olarak kullanılabildikleri gibi dönen elektrot olarak da kullanılabilirler.

Bütün bu üstün özelliklerine karşın civa elektrotların bazı sınırlamaları da vardır. Metalik civanın düşük pozitif potansiyelde bile kolayca yükseltgenebilmesi, (+0,40 V), civa elektrotun kullanılmasını sınırlayan en önemli özelliklerden birisidir. Ayrıca kullanılan civanın temizlenmesi, damlama süresinin ayarlanmasının zorluğu, civanın damlatılmasında kullanılan kılcalların tıkanması, civa buharlarının toksik olması, tekniğin doğrudan doğruya uygulanamaması bu elektrotun kullanılmasındaki başlıca sorunlardır.

2.4.3.2. Katı elektrotlar

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

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

Voltametricte değişik tipte katı elektrotlar kullanılmaktadır. Soy metal elektrotlar, modifiye elektrotlar bunlardan sadece iki tanesidir. Yeni elektrot şekil ve tasarımı amacı ile geliştirilen modifiye elektrotlar, yeni yüzey temizleme teknikleri, elektroanaliz yöntemleri

(puls dalga formları, adsorptif teknikler, sıyırma) sayesinde, farmasötik preparatlardaki ve vücut sıvılarındaki aktif bileşenler, safsızlıklar, ana ürünler ve metabolitler oldukça geniş tayin sınırlarıyla ($\sim 10^{-11}M$) seçicilikte ve hızlı bir biçimde doğrudan analiz edilebilmektedirler (Wang ve ark., Özkan ve ark., 1994).

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

2.4.3.2.1. Platin elektrot

Platin telden yapılan bu elektrot, en çok kullanılan elektrotlardan biridir. Tel bir cam tübe monte edilmiştir. Eskiden inert olarak dikkate alınmasına karşın; günümüzde, yüzeyinde gaz adsorplaması ve oksit oluşumu nedeniyle voltametric davranışları engelleyebileceği belirtilmektedir. Platin üzerindeki hidrojen aşırı gerilimi pratikçe ihmal edilebilir. Platin elektrotlar, biyolojik örneklerin incelenmesi için de uygundur. Yüksek duyarlılığı ve iyi tekrarlanabilirliği nedeniyle dönen platin elektrot amperometrik titrasyonlarda kullanılabilir (Aycan, 1994). Voltametric tekniklerde mikro elektrot olarak ya da modifiye edilerek kullanılabilir (Henden ve ark., 2001).

2.4.3.2.2. Altın elektrot

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

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

2.4.3.2.3. Bizmut elektrot

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

2.4.3.2.4. Karbon elektrotlar

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

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

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

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

2.4.3.2.4.1. Elmas

Elektrik akımını iletmez. Elektrokimya alanındaki kullanımı da metal yüzeylerin temizlenmesinde toz olarak kullanılmasıyla sınırlıdır.

2.4.3.2.4.2. Grafit elektrot

Elektrokimyasal çalışmalarda geniş bir kullanım alanına sahiptir. Grafit doğal olarak oluşur. Doğal kökenli grafit elektrotların kül içeriği (% 5 - % 20) kullanımını sınırlar. Bu nedenle elektrokimyasal çalışmalarda bu grafiti saflaştırıp kullanmak yerine yapay grafitin kullanımı yeğlenir. Grafit, yumuşak ve gözenekli bir materyal olduğu için yüksek adsorbsiyon kapasitesi vardır (Tural ve ark., 2001).

2.4.3.2.4.3. Karbon pasta elektrot

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

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

2.4.3.2.4.4. Camsı karbon elektrot

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

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

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

2.4.3.2.4.5. Emreyene karbon elektrotlar

Bu elektrotlar, grafitin parafin ve uygun reçinelerle karıştırılması ve eritilip homojenleştirildikten sonra, metalik iletken içeren bir tübe doldurulmasıyla hazırlanır.

2.4.3.2.4.6. Pirolitik grafit elektrot

Prolitik grafit, karbonun bir başka yapay şeklidir. 1200 °C' den yüksek sıcaklıklarda metan gibi bir hidrokarbon içeren maddelerin ısıl bozundurulması ile elde edilir. Bu elektrodun asitli ortamda doygun kalomel elektroduna karşı çalışma potansiyel aralığı +1,00 V ile -0,80 V' dir.

2.4.3.2.4.7. Mikro karbon (Lif) elektrotlar

Yakın zamanda kullanılmaya başlanan elektrotlardır. Daha çok mikroelektrot olarak kullanılırlar. Çapları 5-10 µm düzeyinde olan lif şeklindeki karbon telciklerdir. Daha çok kare dalga voltametrisinde kullanılır.

2.4.3.3. Dönen disk ve halka disk elektrotlar

Dönen disk ve halka disk elektrotlar genelde platin ve camısı karbondan yapılırlar. Diğer katı elektrotlar da doğrudan veya civa ile kaplanarak kullanılabilirler. Dönen elektrotlarla elektrota madde taşınması difüzyonla sağlandığından durgun elektrotlardan daha büyük akım yoğunluğu sağlarlar.

2.4.3.4. Modifiye elektrotlar

Voltametrde kullanılan elektrotların sınırlı olması nedeniyle elektrotların kimyasal ya da elektrokimyasal nitelikleri değiştirilerek çalışma koşulları geliştirilmiştir. Genel olarak ya elektrot yüzeyinde önderiştirme sağlayan kimyasal maddelerle işlem ya da elektrot yüzeyinin elektron aktarma niteliğini değiştiren işlem (elektrokataliz) yapılarak hazırlanır.

Modifiye elektrotların önderiştirme amacıyla kullanımları iki şekilde yürütülebilir;

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

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

Modifiye elektrotların özellikleri;

Modifikasyon terim olarak yenilenme demektir. Voltametrde kullanılan elektrotların sınırlı olması nedeniyle elektrotların kimyasal veya elektrokimyasal özellikleri değiştirilerek çalışma koşullarının değiştirilmesiyle modifiye elektrotlar hazırlanır.

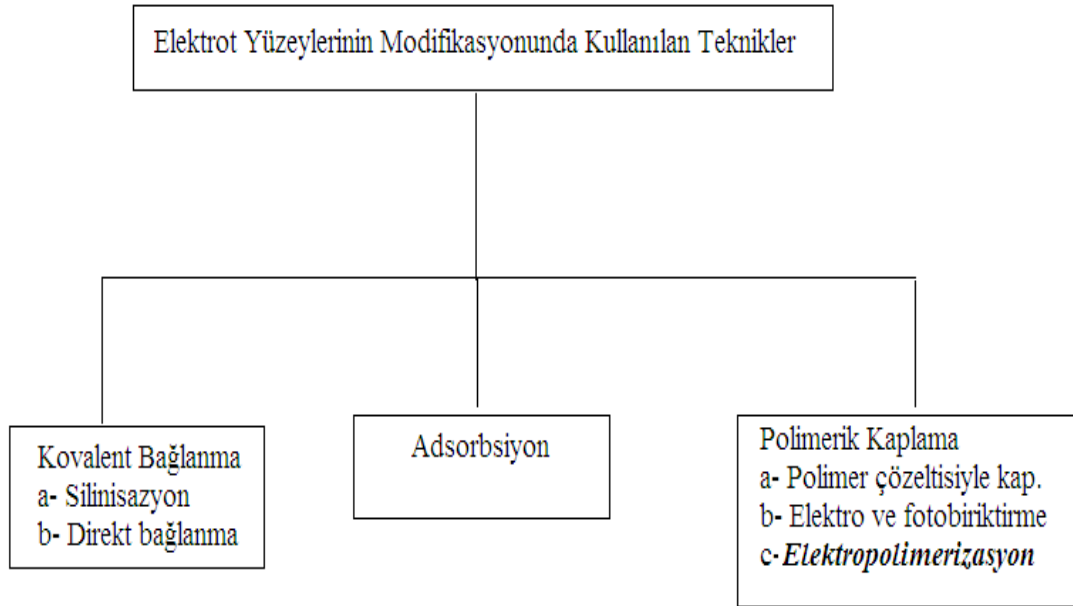
Modifiye edilmemiş katı elektrotların yüzeyleri kararsızdır ve zamanla değişikliğe uğrama gibi dezavantajları vardır. Camısı karbon elektrot yüzeyinde oluşması istenen tepkime, bir süre sonra yüzeyde meydana gelen oksitlenme ve kirlenme nedeniyle engellenebilir ya da farklı mekanizmaya göre yürüyebilir. Bunu önlemek için katı elektrotların yüzeyleri modifiye edilir.

Genellikle iletken bir substratın modifiye edilmesi işlemiyle modifiye elektrotlar hazırlanır. Böylece modifiye edilmemiş substrattan farklı özelliklere sahip istenilen işleve uygun elektrotlar elde edilebilir. Substrat yüzeyleri çok farklı şekillerde modifiye edilerek hazırlanır. Elektrotların hepsi öncelikle elektronik olarak iletken malzemeler kullanılarak modifiye edilirler. Karbon, bir metal, bir yarı iletken, bir iletken polimer ya da organometaller substrat malzeme olarak kullanılabilirler.

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

2.4.3.4.1. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan metotlar

Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan metotlar aşağıdaki gibidir.



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

Kovalent bağlanma, silinisasyon ve direkt bağlanma şeklinde olur.

Silinisasyon, kullanılan ilk modifikasyon tekniğidir. Trialkoksi veya triklorosilanlar ile tepkimeye girecek olan yüzey hidroksil veya oksit gruplarının oluşumunu içermektedir. Silinisasyon tepkimeleri için karbon, pirolitik karbon, platin, altın, metal oksitler ve yarı iletkenler kullanılabilir.

Direkt bağlanma ise, çeşitli karbon elektrotlar ve platin elektrot bu yöntem ile kaplanabilir. Karbon elektrotların modifikasyonunda en çok başvurulan metot, bir diazonyum tuzunun aprotik bir çözücü ortamında indirgenmesiyle çözültide bir aril radikali oluşturulması ve bu radikallerin karbon elektrot yüzeyine kovalent bağlarla bağlanmasıdır.

Adsorpsiyon

Adsorpsiyon birkaç bağlanma formu ile gerçekleşir. Substratın yapısı türler için hareket etme açısından çözeltiliye göre daha uygun olduğu için pek çok bileşen genellikle çözeltiliden substratın yüzeyine adsorbe olur. Örneğin, sülfürüçeren türler; cıva, altın ve diğer metal yüzeylerine kuvvetlice tutunur. Yüzeye tutunan türlerin elektrokimyasal olarak yükseltgenme ve indirgenmesi gözlenebilir.

Polimerik kaplama

Polimer filmi ile kaplanmış elektrot yapımında ya önceden kimyasal yolla sentezlenen polimerler ile kaplama yapılır ya da doğrudan monomer elektrot yüzeyinde polimerleştirilir. Kimyasal yolla sentezlenen polimerler iki şekilde elektrot yüzeyine kaplanabilir.

a)Elektrot yüzeyinde elektrokimyasal çöktürme:

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

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

Daldırıp kurutma yönteminde polimerik materyal bir uçucu çözücü de çözülür.

Polimer çözeltilisi bir mikro pipet yardımıyla bilinen hacimde elektrot yüzeyine aktarılır, çözücü ondan sonra uzaklaştırılır. Bu havada kurutma ve vakum yöntemleriyle yapılabilir.

Düz filmler isteniyorsa çözücü uzaklaştırılması büyük önem taşımaktadır.

Monomerlerin elektrot yüzeyinde doğrudan polimerleştirilmesinde kullanılan üç yöntem vardır:

a)Elektrokimyasal polimerizasyon,

b)Organosilan kondenzasyonu ve

c)Plazma polimerizasyonudur.

Elektrokimyasal polimerizasyon

Elektrokimyasal polimerizasyon; çözücü, monomer konsantrasyonu, elektrolit çeşidi, sıcaklık, pH, elektrot malzemesi ve uygulanan elektriksel şartlar gibi birçok deneysel değişken içerir. Polimer, potansiyostatik, galvonostatik ya da döngülü potansiyel taraması ile biriktirilebilir. Uygulanan elektriksel şartlar ve deneysel değişkenler filmin yapısını, özelliklerini ve polimer üretme hızını etkilemektedir. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler

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

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

2.4.3.4.1. Kompozit elektrotlar

Modifiye edici kimyasal doğrudan iletken elektrot malzemesine katılıp, karıştırılarak elektrot hazırlanabilir. Bu tür elektrotlara kompozit elektrotlar adı verilir.

2.4.3.4.2. Kimyasal modifiye elektrotlar

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

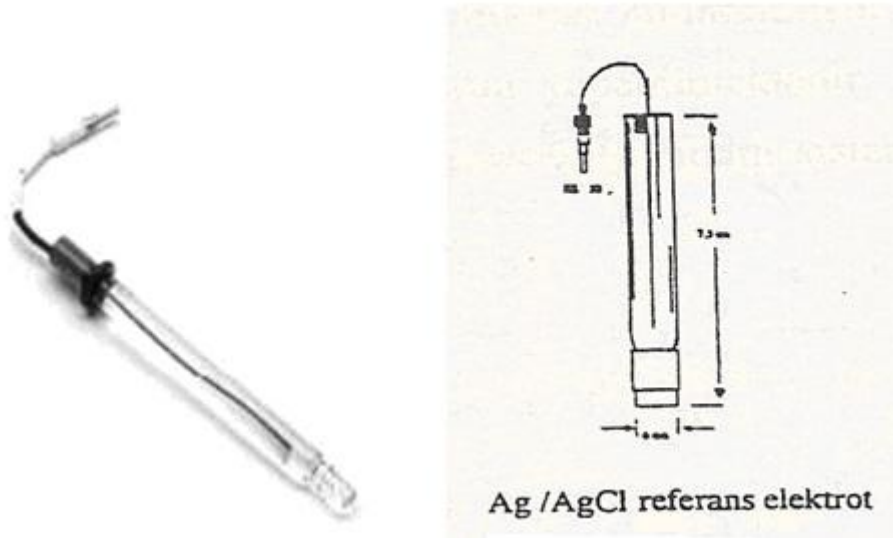
2.4.4. Karşılaştırma (Referans) elektrodu

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

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

Bu elektrotlardan anodik akım geçtiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşırı klorürle çökdüklerinden, elektrot yüzeyindeki derişimleri değişmez, potansiyelleri akımdan bağımsız olur. Katodik akım geçtiğinde ise, çözünürlükten gelen metal iyonları indirgenir, elektrot yüzeyinde çökelek ayrılarak metal iyonu oluşturur, potansiyel yine değişmeden kalır.

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



Şekil 2.7. Karşılaştırma elektrotu (Yılmaz, 2012).

2.4.5.Yardımcı (Karşıt) elektrot

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

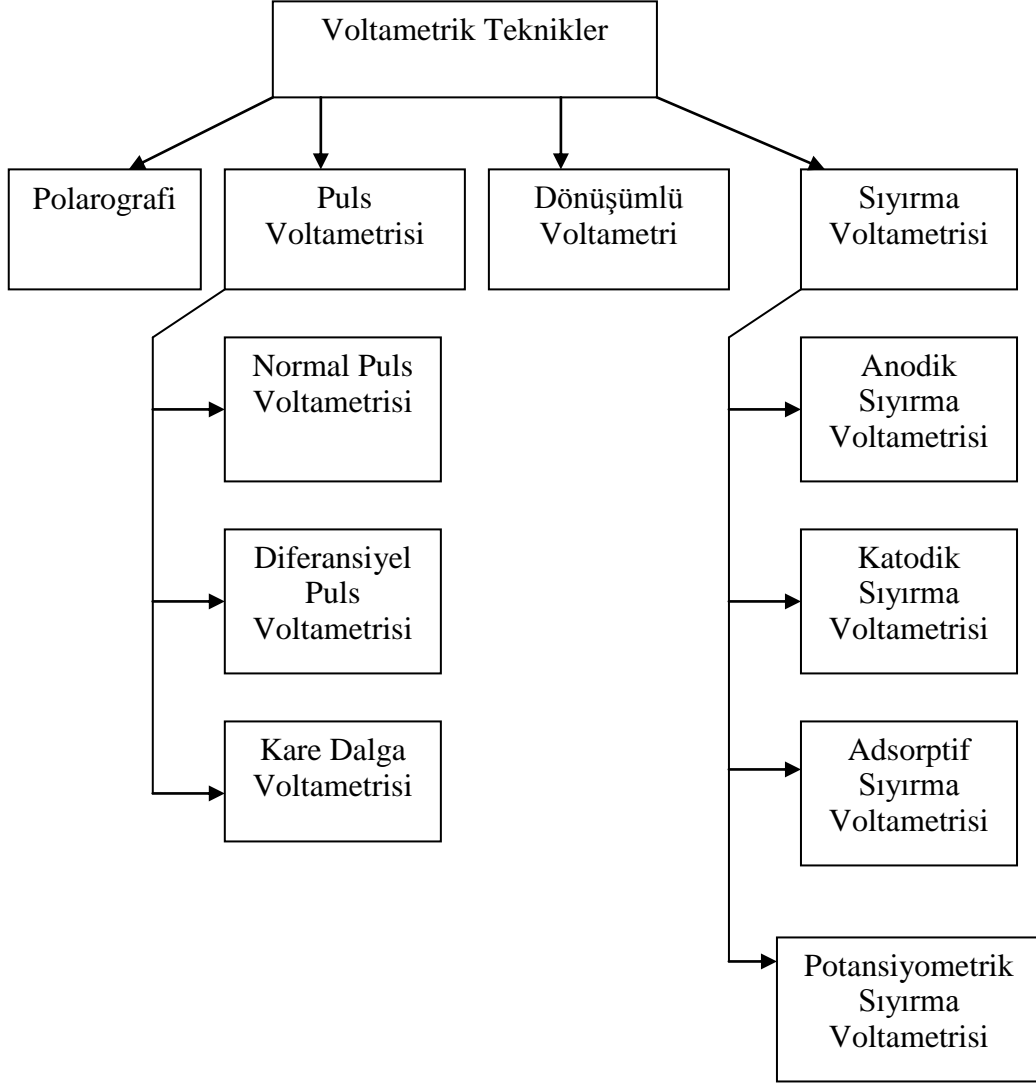


Şekil.2.8. Yardımcı elektrot (Yılmaz, 2012).

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarlanır. Çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli olan potansiyel (IR) önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenden dolayı çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli yanlış algılanır. Bunun sonucu olarak $i = f(E)$ eğrileri yatıklaşırlar ve belirli bir noktadan pikler kaybolur. Bu sorun, sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözümlenir. Akım, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında saptanır. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir. Bu nedenle daha çok platin, grafit, tantal ya da tungsten tel çubuklar kullanılır. Bu elektrotların alanı çalışma elektrodu alanının en az 50 katı olmalıdır. Ayrıca küçük hacimlerle çalışıldığında yardımcı elektrotta oluşan ürünlerin, çalışma elektrodunda girişim yapmayacağı elektrot türü seçilmelidir (Tural ve ark., 2001; Yağmur, 2005).

2.5. Voltametrik Teknikler

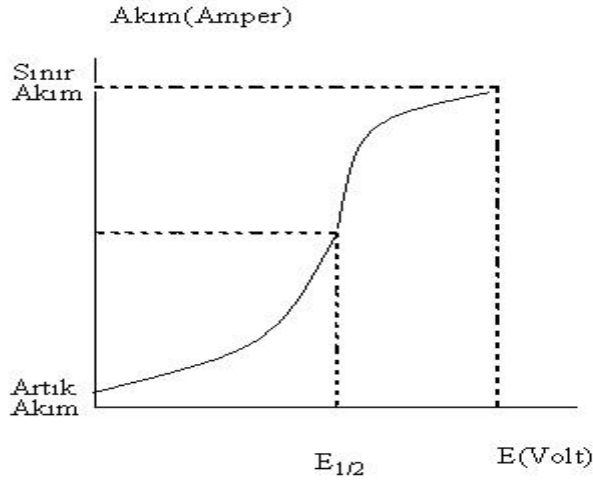
Voltametrik tekniklerin şematik sınıflandırılması Şekil 2.9' da verilmiştir.



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

2.5.1. Polarografi

Çalışma elektrotu olarak damlayan civa elektrotun kullanıldığı voltametrik teknik polarografi olarak adlandırılır. Damlayan civa elektrotun potansiyelinin referans elektrota karşı değiştirilip hücredeki akımın ölçülmesi polarografinin çalışma prensibini oluşturur. Akım elektroaktif maddenin damlayan civa elektrot üzerinde indirgenmesi (katodik akım, +) ya da yükseltgenmesi (anodik akım, -) sonucu meydana gelir. Oluşan akıma karşılık potansiyel grafiği (polarogram) çizilir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Polarografide akım potansiyel grafiği

Polarogramın ilk kısmında artık akım ikinci kısmında sınır (limit) akım yer alır (Şekil 2.10). Artık akım, kapasitif (sığasal) akım ve faradaik akım bileşenlerinin toplamıdır. Duyarlık artık akıma bağlı olduğundan akım giderildiği oranda duyarlık artar. Sınır akım (i_l), elektrot yüzeyindeki elektroaktif maddenin derişiminin sifıra gittiği andaki akım olup sınır akımın büyüklüğü elektroaktif maddenin derişimine ve kütleinin elektrot yüzeyine taşınma hızına bağlıdır. Sınır akımın yarısına ($i_l/2$) karşılık gelen potansiyel yarı dalga potansiyeli olarak adlandırılır ve $E^{1/2}$ ile gösterilir. Yarı dalga potansiyeli, elektroaktif maddenin türüne ve ortama (örneğin pH) bağlı sabit bir değer olduğundan her madde için karakteristiktir. Polarografide kalitatif analiz bu şekilde yapılır.

2.5.2. Puls voltametri

2.5.2.1. Normal puls voltametri (NPV)

Voltametrinin duyarlığı artık akıma bağlı olduğundan duyarlığı arttırmak için artık akımın giderilmesi gerekir. Gerilimlerin puls şeklinde uygulanması artık akımın giderilmesine dolayısıyla duyarlığın artmasına neden olur.

Çalışma elektrotuna puls şeklinde gerilim uygulandığında artık akımın kapasitif bileşeni neredeyse sifır gibidir. Böylece pulsün sonundaki artık akım, faradaik akımdan kaynaklanmakta ve duyarlık $10^{-6} - 10^{-7}$ M düzeyine çıkmaktadır.

2.5.2.2. Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Normal puls voltametrisinde puls sonundaki artık akım az da olsa kapasitif akım içerir. Kapasitif akımın artık akım içindeki payını azaltmak, duyarlılığı arttırmak amacıyla pulsun başlangıcında ve sonunda ölçülen akımların farkları alınmış ve diferansiyel puls voltametri adında yeni bir teknik elde edilmiştir. Bu teknik normal puls voltametrisinden daha duyarlı olup duyarlılığı $10^{-7} - 10^{-8}$ M düzeyindedir.

Pulsar, giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsar bindirilerek uygulanabileceği gibi sabit doğru bir potansiyele giderek artan genlikli pulsar bindirilerek de uygulanabilir. Puls uygulanmasından önce ve sonra akım ölçülüp iki akım arasındaki fark alınıp bulunan akım değeri potansiyele karşı grafiğe geçirilir.

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

Not: Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) katı elektrotların kullanıldığı tekniktir.

2.5.2.3. Kare dalga voltametri (SWV)

Damlayan civa elektrot kullanıldığında civanın bir damlasının düşme süresinde tarama yapma olanağı sağladığından hızlı bir yöntem olarak nitelendirilir. Ayrıca $10^{-7} - 10^{-8}$ M gibi yüksek duyarlılığa sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı HPLC’de (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) dedektör olarak kullanılmaktadır.

2.5.3. Dönüşümlü voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametrinin çalışma prensibi çalışma elektrotuna belli bir tarama hızında belli bir yön ve tersi yönde potansiyel uygulanması ilkesine dayanır. Potansiyel tarama işlemi döngüsel olduğundan teknik dönüşümlü voltametri adını almıştır. Tarama, analize bağlı olarak tek bir döngü ile yapılabildiği gibi arka arkaya birden çok döngüyle de yapılabilir.

Elektrot olaylarının aydınlatılmasında ve indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarının mekanizmalarının aydınlatılmasında dönüşümlü voltametriden yararlanır. Bu yöntemin duyarlılığı $10^{-3} - 10^{-4}$ M’dir.

2.5.4. Sıyırma voltametrisi (SV)

Çok yüksek duyarlılığa sahip iki aşamalı bir yöntemdir. İlk aşamada analit uygun bir potansiyel altında elektrot yüzeyinde önderiştirilir. İkinci aşamada potansiyel anodik veya katodik yönde taranarak madde yüzeyde biriktirilir. Önderiştirmenin niteliği ve potansiyelin tarama yönüne göre farklı isimler alır.

2.5.4.1. Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)

Metal iyonları negatif potansiyel altında önderiştirilir ve sonra potansiyel anodik (+) yönde taranarak yüzeyde toplanan metallerin yükseltgenmesine ait akım değişimi incelenir. Biriktirme katotta, sıyırma anotta olur. Analizin duyarlılığı hem biriktirme hem de sıyırma aşamalarına bağlıdır. Potansiyel taramada en çok diferansiyel puls yöntemi kullanılır.

2.5.4.2. Katodik sıyırma voltametrisi (CSV)

Potansiyel tarama yönü katodik (-) olduğundan katodik sıyırma adını alır. Organik moleküllerin ve anyonik türlerin analizinde bu yöntem kullanılır. Biriktirme anotta, sıyırma katotta olur.

2.5.4.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)

Ortama bir ligand eklenir. Analiz edilecek metal iyonuyla ligandın kompleks oluşturarak elektrot yüzeyinde adsorplandığı bu yöntem adsorptif sıyırma yöntemi adını alır.

2.5.4.4. Potansiyometrik sıyırma voltametrisi (PSV)

Bu yöntem özellikle önderiştirme aşaması anodik sıyırma voltametrisine benzer. Sıyırma aşamasında farklı olarak elektrot yüzeyinde önderiştirilen metallerin çözündürülmesi kimyasal yolla sağlanır.

2.6. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler

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

Ortalama Değer: Bir analizde elde edilen sonuçların toplamının analiz sayısına bölünmesiyle elde edilen sayıya denir. Ortalama değer kendisinin hesaplanmasında kullanılan herhengi bir değer veya sonuçtan daha güven vericidir. Ortalama değer, analiz sayısına göre değişir. Analiz sayısı arttıkça ortalama değer doğru değere yaklaşır.

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

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

(2.11)

s= numune standart sapması

x_i = analiz sonuçları

X= analiz sonuçlarının ortalaması

N= analiz sayısı

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

(2.12)

c) Varyans: Numune standart sapmasının karesi (s^2) olarak ifade edilir.

(2.13)

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

e) Doğruluk: Bir analizde elde edilen en güvenilir sonuçlarla doğru değer veya doğru olarak kabul edilen değer arasındaki farka doğruluk denir. Kesinlikle doğruluk arasındaki en önemli fark, kesinlik az sayıda analiz sonuçlarının birbirine yakınlığı iken, doğruluk ise analiz sonuçlarının gerçek değere yakınlığıdır. 2 şekilde ifade edilir.

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

(2.14)

Ortalamanın bağıl hatası ise aşağıdaki şekilde ifade edilir.

(2.15)

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

(2.16)

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

X_i = Analizi yapılan maddenin bulunan konsantrasyonudur.

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

Kalibrasyon hassaslığı, kalibrasyon doğrusuna dayanır ve kalibrasyon doğrusunun eğimine eşittir. Aynı maddenin tayininde kullanılan iki metottan, kalibrasyon eğimi daha büyük olan metot, daha hassastır denir.

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

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

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

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

(2.17)

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

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

(2.18)

2.7.Önceki Çalışmalar

2.7.1.Asiklovir'in voltametrik teknikler ile ilaçlardan tayini

Yapılan literatür araştırmalarımızda süstitüe pürin türevi antiviral etkili ilaç aktif maddelerinden asiklovir'in voltametrik teknikler ile kantitatif analizi ile ilgili camısı karbon elektrotta ve modifiye elektrotlarda birkaç çalışmaya rastlanmıştır, ancak poli(4-ABSA)-modifiye camısı karbon elektrotta yapılan çalışma bulunmamaktadır.

Visor ve ark. (1985), deoksiguanosin'in çok yeni bir analogu olan asiklovir için ilaç şekillerinden camısı karbon elektrot üzerinde diferansiyel puls voltametrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Pik akımı ve konsantrasyon arasında 0,4-2,0 mM derişiminde doğrusallık bulunmuştur. Saptama sınırı ise 0,1 mM'dır.

Alvarez-Lueje ve ark. (1996), asiklovir'in yükseltgenmesine dayalı olarak camısı karbon elektrot üzerinde dönüşümlü ve diferansiyel puls voltametrisini çalışmışlardır. Asiklovir camısı karbon elektrot üzerinde tek bir diferansiyel puls voltametrik pik vermiştir. Bu pikin asiklovirde bulunan guaninden kaynaklandığı ileri sürülmüş ve bu pik üzerinden tablet ilaç şeklinden miktar tayini yöntemi geliştirilmiştir.

Shetti ve ark. (2012) fulleren-C₆₀-modifiye camısı elektrotta dönüşümlü ve diferansiyel puls voltametrisinden yararlanarak elektrokimyasal yükseltgenmesini incelemişlerdir. pH 7,40 fosfat tamponunda yükseltgenme piki 0,96 V olarak belirlenmiştir. Konsantrasyon aralığını ve belirme sınırını sırasıyla 9.0×10^{-8} - 6.0×10^{-6} M ve 1.48×10^{-8} M olarak bulmuşlardır.

Wang ve ark. (2006) MWNTs-DHP film-kaplanmış GCE (nano yapılı film elektrot) ile doğrusal taramalı voltametri ve dönüşümlü voltametri teknikleri kullanılarak asiklovirin ilaçlardan tayinini gerçekleştirmişlerdir. Konsantrasyon aralığını 8.0×10^{-8} - 1.0×10^{-5} mol/L olarak belirlemişlerdir. Belirme sınırını 3.0×10^{-8} mol/L olarak bulmuşlardır.

Joseph ve ark. (2011) MBZ/TMHPP Cu(II)-modifiye altın elektrot kullanarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH =7,00) kare dalga voltametrisi tekniği ile asikloviri ilaçlardan tayin etmişlerdir. Konsantrasyon aralığını ve belirme sınırını sırasıyla 1×10^{-3} - 1×10^{-8} ve 1×10^{-8} olarak bulmuşlardır.

Li ve ark. (2011) (HPM α FP)-modifiye camısı karbon elektrot ile dönüşümlü voltametri tekniğini kullanarak asiklovirin ilaçlardan tayinini gerçekleştirmişlerdir. pH 5,50 fosfat tamponunda çalışmışlar ve belirme sınırını 1.2×10^{-7} mol/l olarak bulmuşlardır.

2.7.2.Poli(4-ABSA) - modifiye camısı karbon elektrot ile yapılan çalışmalar

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

Jin ve ark. (2005) poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye camısı karbon elektrot ile dopamin ve askorbik asidin eş zamanlı analizini yapmışlardır. Modifiye elektrot dopamin ve askorbik asidin yükseltgenmesi için elektrokatalitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Fizyolojik pH'da (7,00) askorbik asit anyon formunda iken, dopamin katyon olarak bulunmaktadır. Jin ve ark. (2005)'na göre p-(ABSA) yapısında elektronca zengin N atomları ve yüksek elektron yoğunluğuna sahip sülfo grupları bulunmaktadır. Bundan dolayı p-(ABSA) filmleri negatif yüklüdür. Modifiye elektrotta negatif yüklü sülfo grupları ve askorbik asit anyonları arasındaki elektrostatik itmeden dolayı, askorbik asidin potansiyeli daha negatif değere kayar ve dopamin piki askorbik asitten kolayca ayrılabilir. p-(ABSA) modifiye elektrot yüksek seçicilikte amperometrik dopamin sensörü olarak kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir.

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

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

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

Bu çalışmada 4-aminobenzensülfonik asit (Sigma Aldrich, %99), NaH₂PO₄.H₂O (Merck, %99), Na₂HPO₄.2H₂O (Merck, %99,5), Nitrik asit (Merck, %65), Aseton (Merck, %99,8), 1- 3 µm elmas pasta ve 0,05 µm boyutlu Alümina (CH Instruments ve metkom) kimyasalları kullanıldı. Ayrıca ilaç etken maddeler ve ilaç dozaj formları aklovir® (Sandoz) firmasından temin edildi.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

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

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

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

Çözeltilerin pH'ları Metrohm marka pH metre ile ölçüldü.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada ilk olarak sübstütie pürin türevi olan antiviral etkili ilaç etken madde (asiklovir) ilgili ilaç firmasından temin edildi. Temin edilen bu etken maddenin poli(4-ABSA)-modifiye elektrotta voltametrik tekniklerle uygun deney şartları (çözücü-tampon) belirlendi. Asiklovir'in stok çözeltisi (1×10^{-2} M) 20µl % 65'lik HNO₃ içeren 10mL deiyonize su ile çözülerek taze olarak hazırlandı ve kullanıldı. Voltametrik araştırmalar için çalışılan tüm çözeltiler stok çözeltilerinin deiyonize su ile seyreltilmesiyle hazırlandı.

Bu etken maddenin(asiklovir) poli(4-ABSA)-modifiye elektrotta voltametrik tekniklerle uygun deney şartları (çözücü-tampon) belirlendi. Böylece maksimum akım ve pik şeklinin en iyi olduğu çözücü-destek elektrolit ortamı belirlendi. Bu ortamda öncelikle tarama hızı-akım ($v^{1/2}$ -ip ve $\log v$ -logip) grafiklerinin eğim ve korelasyon (R) değerlerine

bakılarak akım türü (difüzyon yada adsorpsiyon) belirlendi. Bundan sonraki çalışmalar buna göre yürütüldü. Modifiye edilmiş elektrot ile elektrokimyasal polimerleşmenin yapıldığı ortam olan 0,1 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ (pH=7,00) tampon çözeltisinde voltamogramlar alındı. Daha sonra seçilen çözücü-destek elektrolit sisteminde değişik konsantrasyonlarda etken maddelerin voltamogramları alınarak, akım-konsantrasyon değerlerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Bu grafikten yararlanılarak doğrusallığın gözlemlendiği konsantrasyon aralığı belirlendi. Kalibrasyon grafiğinin eğim ve standart sapma değerlerinden alt tayin sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) hesaplandı. Daha sonra bu etken maddelerin ticari formlarından analizi gerçekleştirildi. Seçilen ortamda, bu bileşiğin dozaj formlarından modifiye edilmiş elektrotta voltametri teknikleri ile kantitatif analizi yapıldı ve validasyon parametreleri (bulunan miktar, RSD ve geri kazanım v.b.) değerlendirilerek, önerilen tekniklerin söz konusu analizler için geçerlilikleri kanıtlandı.

3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Elektrokimyasal olarak incelenen asiklovirin 1×10^{-2} M stok çözeltisi 20 μL %65'lik HNO_3 içeren 10 mL saf su ile hazırlandı. Bu çözelti hazırlanan stoktan saf su ile gerekli seyreltmeler yapılarak kullanıldı.

Camsı karbon elektrodun kaplanmasında kullanılan 4-aminobenzensülfonik asit, 0,1 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ (pH=7,00) tampon çözeltisinde çözülerek 1×10^{-1} M stok çözeltisi hazırlandı.

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

3.2.2. Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesi

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

Daha sonra temizlenen elektrotun yüzeyi (Jin ve ark., 2005) literatürde verilen yöntem kullanılarak kaplandı. Camsı karbon elektrot 2×10^{-3} M 4-aminobenzensülfonik asit içeren 0,1 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ (pH=7,00) tamponunda elektropolimerisasyon tekniği ile -1,5 V ve + 2,4 V potansiyel aralığında 200 mVs^{-1} tarama hızında 10 döngü alınarak kaplandı.

BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1.Asiklovir'in Çözünürlüğünün Belirlenmesi**

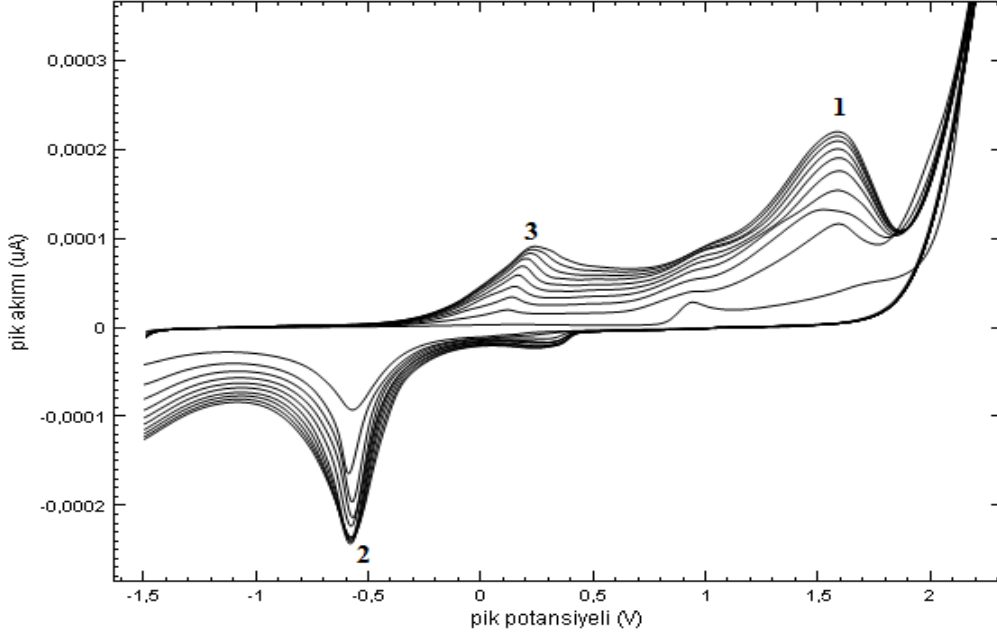
Asiklovir'in, deiyonize su, metanol gibi değişik çözücülerdeki çözünürlüğü araştırıldı. Asiklovir 20 µL %65'lik HNO₃ içeren 10 mL deiyonize suda kolayca çözüldü. Böylece 20 µL %65'lik HNO₃ içeren 10 mL deiyonize su ile asiklovir'in çözeltileri hazırlandı.

4.2. Asiklovir'in Çözeltilerinin Hazırlanması

Asiklovir'in 20 µL %65'lik HNO₃ içeren 10 mL deiyonize suda çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltden uygun hacimler alınarak asiklovir'in seyreltik çözeltileri yapıldı.

4.3. Camsı Karbon Elektrodun Modifiye Edilmesi

Temizlenen elektrotun yüzeyi (Jin ve ark., 2005) literatürde verilen yöntem kullanılarak kaplandı. Camsı karbon elektrot 2×10^{-3} M 4-aminobenzensülfonikası içeren 0,1 M NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ (pH=7,00) tamponunda elektropolimerisasyon tekniği ile -1,5 V ve + 2,4 V potansiyel aralığında 200 mVs⁻¹ tarama hızında 10 döngü alınarak kaplandı. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi 3 tane pik gözlenmiştir. 1. pik +0,57 V, 2. pik -0,93 V civarında gelmiştir. İlk döngüde -1,5 V ve +2,4 V potansiyel aralığında bir anodik yükseltgenme piki (pik 1) ve bir katodik pik (pik 2) gözlenmiştir. Devam eden döngülerde gittikçe büyüyen 3 nolu pik ortaya çıkmıştır. Döngü sayısı arttıkça pik akımları artmış ve koyu mavi renkli polimer camsı karbon elektrodun yüzeyinde oluşmuştur. Buda camsı karbon elektrodun yüzeyinde 4-aminobenzensülfonikası'nın elektropolimerizasyonunu göstermektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. GCE yüzeyinde 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı= 200 mVs⁻¹).

4.4. Destek Elektrolitler Hazırlanarak Çalışma Ortamının Belirlenmesi ve pH Taraması

4.4.1. Fosfat tamponunun hazırlanması ve pH taraması

100 mL'lik balonjojeye 3,12 g NaH₂PO₄.H₂O (Sodyum Di-hidrojen Fosfat) konuldu ve bir miktar deiyonize suda çözüldü. Hacim deiyonize su ile 100 mL'ye tamamlandı. Başka bir balonjojeye 5,34 g Na₂HPO₄.2H₂O (Di-sodyum Hidrojen Fosfat) konuldu ve bir miktar deiyonize suda çözüldü. Hacim deiyonize su ile 150 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan 0,1 M'lık çözeltilerden belirli hacimlerde NaH₂PO₄.H₂O ve Na₂HPO₄.2H₂O karıştırılarak pH'ı 5,00 - 8,00 arasında değişen fosfat tamponları hazırlandı. Asiklovir'in fosfat tamponunda pik potansiyelinin ve pik akımının pH ile değişimi incelendi.

Çizelge 4.1. 10^{-2} M Asiklovir'in 0,1 M fosfat tamponunda (pH=7,00) pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi

pH	Pik Akımı (μ A)	Pik Potansiyeli(V)
5,00	3,33	1,02
6,00	8,93	0,977
7,00	10,1	0,941
8,00	10,9	0,896

4.4.2. Çalışma ortamının belirlenmesi

Asiklovir'in yükseltgenliği tespit edildikten sonra, optimum şartları belirlemek amacı ile tüm destek elektrolitlerde DPV tekniği kullanarak pik akımının ve pik potansiyelinin pH (1 birimlik aralıklarla) ile değişimi incelendi.

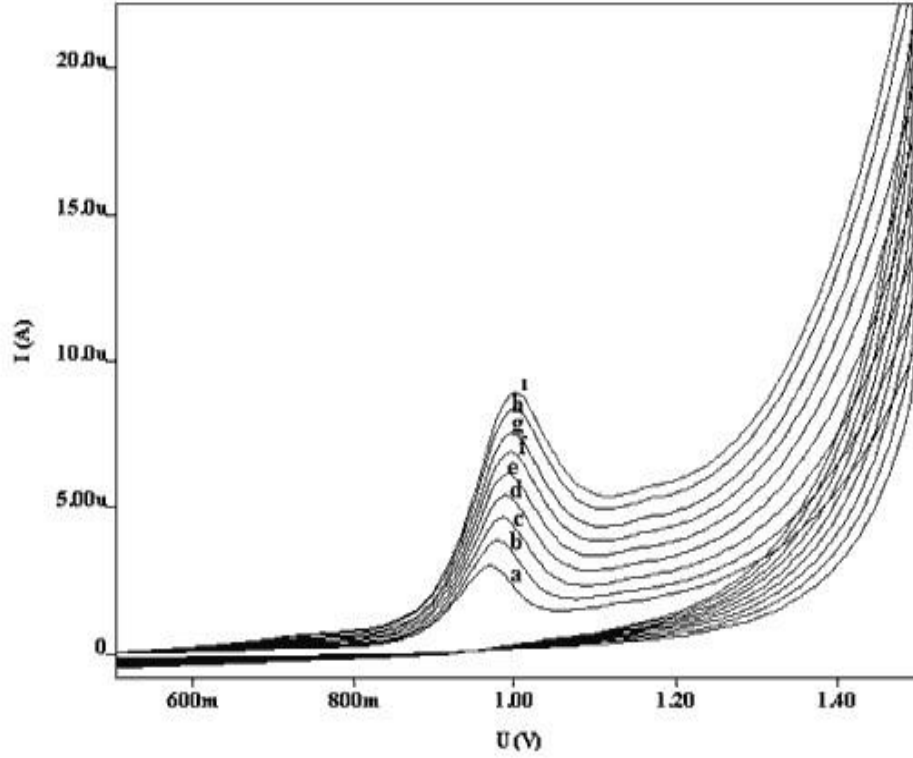
Uygun çalışma ortamı 0,1 M fosfat (pH = 7,00) tamponu olarak belirlendi.

4.5. Asiklovir'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Asiklovir'in günlük 1×10^{-2} M'lık stok çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiden uygun hacimler alınıp deiyonize su ile Asiklovir'in istenilen konsantrasyonlarda seyreltik çözeltileri hazırlandı. Asiklovir'in yükseltgenip yükseltgenmediğini araştırmak amacı ile; 5×10^{-5} M'lık çözeltisi seçilen farklı destek elektrolitlerde, + 0,5 ile + 1,5 V arasındaki anodik bölgede modifiye camı karbon elektrot kullanarak Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) ve Dönüşümlü Voltametri (CV) voltamogramları çözeltiden 5 dakika argon gazı geçirildikten sonra alındı.

4.5.1. Akım türünün belirlenmesi

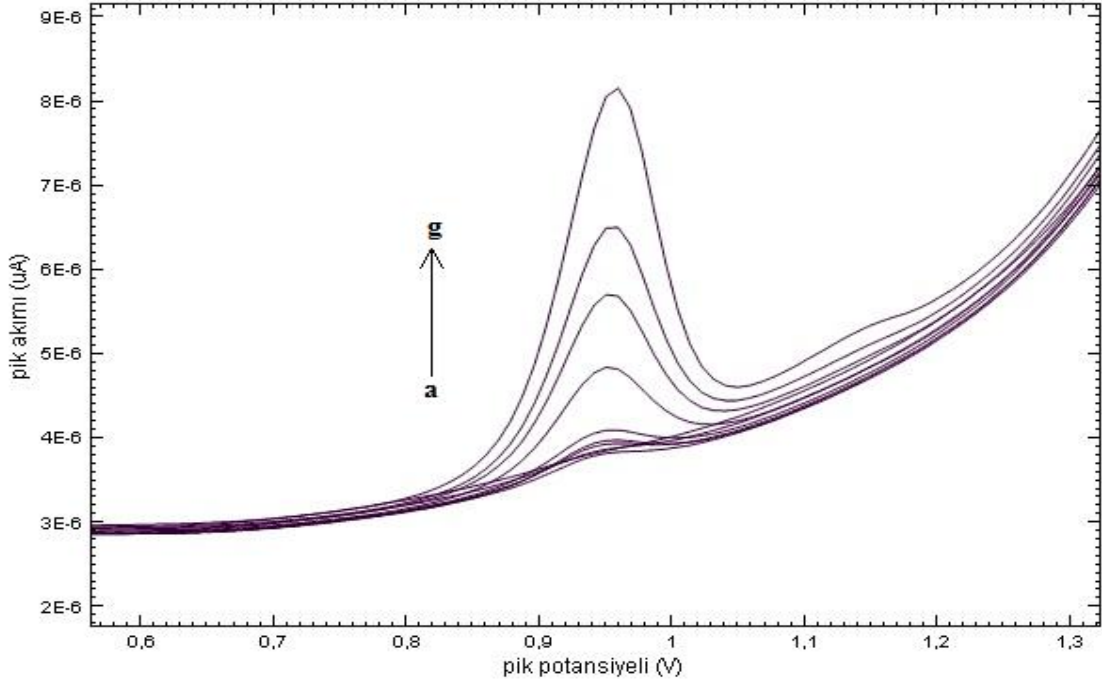
5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda, CV tekniği ile 20-100 mVs^{-1} tarama hızlarındaki voltamogramları alındı (Şekil 4.2). Pik akımına ve pik potansiyeline tarama hızının etkisi incelendi. Akımın difüzyon ya da adsorpsiyon kontrollü olup olmadığını belirlemek için, $v^{1/2}-i_p$; $\log v-\log i_p$ grafikleri çizildi. Grafiklerin eğimlerinden akımın difüzyon kontrollü olduğu bulundu ve diğer çalışmalar buna göre yapıldı.



Şekil 4.2. 5×10^{-5} Asiklovir'in 20-100 mV/s tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı; a)20, b)30, c)40, d)50, e)60, f)70, g)80, h)90, ı)100 mV/s.

4.5.2. Analitik çalışma (Konsantrasyon) aralığının belirlenmesi

Asiklovir'in, fosfat (pH =7,00) tamponunda DPV tekniği ile voltamogramları alındı. Elde edilen konsantrasyon (c) ve akım (i) değerlerine göre doğrusallığın gözlendiği kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 4.3). Analitik konsantrasyon aralığı 2×10^{-7} - 9×10^{-6} M olarak belirlendi. Kalibrasyon grafiğinden korelasyon katsayısı (R) ve eğim (m) bulundu.



Şekil 4.3. DPV tekniği ile Asiklovir'in konsantrasyon-pik akımı değişimi a)Destek elektrolit (fosfat tamponu, pH=7,00); b) $2,0 \times 10^{-7}$; c) $4,0 \times 10^{-7}$; d) $6,0 \times 10^{-7}$; e) $8,0 \times 10^{-7}$; f) $1,0 \times 10^{-6}$; g) $3,0 \times 10^{-6}$; h) $7,0 \times 10^{-6}$; g) $9,0 \times 10^{-6}$ M Asiklovir.

4.5.3. Belirleme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) parametrelerinin hesaplanması

Kalibrasyon grafiğindeki en düşükten bir üstteki Asiklovir konsantrasyonunda (4×10^{-7}), voltamogramlar alındı. Buradan elde edilen akım değerlerin ortalaması alınarak, standart sapması (s) hesaplandı. Bu değer kullanılarak $3s/m$ formülünden LOD (belirleme sınırı), $10s/m$ formülünden LOQ (kantitatif tayin sınırı) hesaplandı.

4.5.4. Aklovir tabletlerinde asiklovir'in voltametrik tayini

Geliştirilen yöntem ile aklovir tabletlerinde asiklovir miktarını belirlemek için, kalibrasyon grafiğindeki yüksek asiklovir konsantrasyonunda (7×10^{-6} M) voltamogramlar alındı ve elde edilen akım değerlerinden 1 tabletteki Asiklovir miktarı hesaplandı. Bu değer gerçek değer ile karşılaştırıldı. Bunun için; Asiklovir'in piyasa preparatı olan Aklovir tabletlerinden 10 tablet tartılıp bunların ortalaması alınarak 1 tabletin miktarı hesaplandı (1 tablet miktarı = 283 mg). (Her bir aklovir tablet 200 mg asiklovir içerir) Tabletler toz haline getirilerek aklovir'in deiyonize suda 1×10^{-3} M asiklovir içeren stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan stoktan voltametrik hücreye gerekli miktar eklenerek ölçümler alındı.

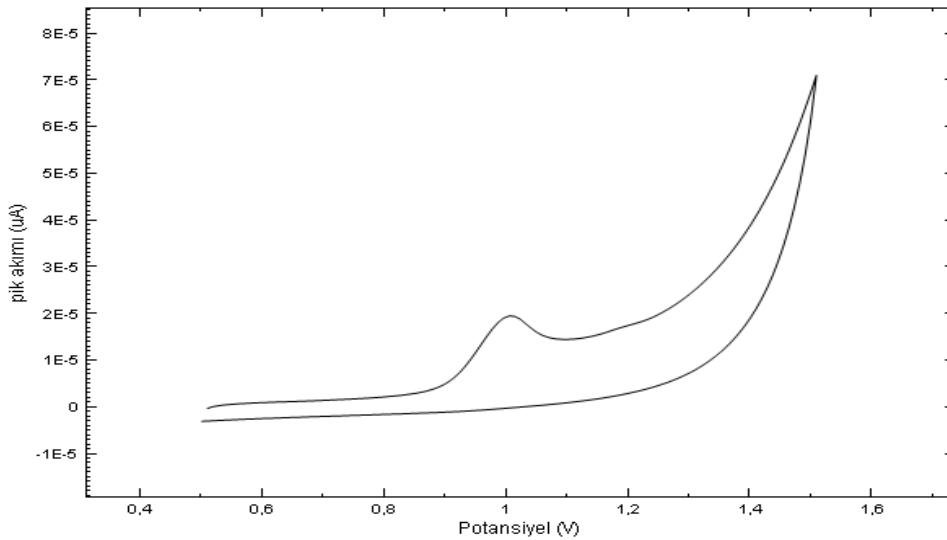
4.5.5. Aklovir tabletlerinden asiklovir'in geri kazanımı

Geri kazanım çalışmaları, geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacıyla yapılır. Geri kazanım için 9×10^{-6} M asiklovir içeren hücre hazırlanarak pik akımı ölçüldü. Elde edilen akım değerleri kalibrasyon grafiğinde yerine konuldu ve bunlara karşılık gelen konsantrasyonlardan tabletlerdeki asiklovir miktarları hesaplandı. Ölçüm sonunda eklenen asiklovir miktarı ile bulunan asiklovir miktarı kıyaslanarak, Asiklovir'in geri kazanımı hesaplandı.

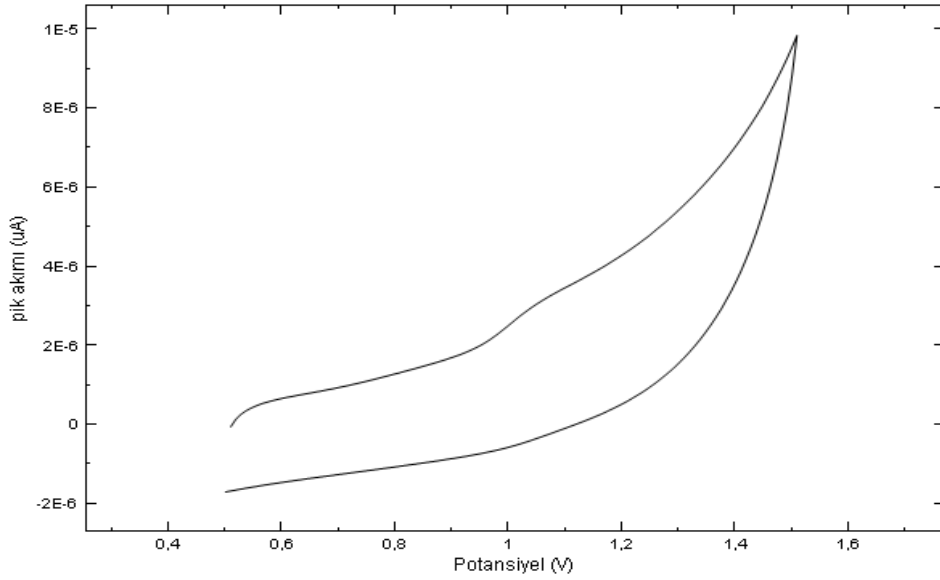
4.6. Tartışma

4.6.1. Asiklovir'in yükseltgenmesine modifiye elektrodun etkisi

Asiklovir'in günlük 1×10^{-2} M'lık stok çözeltisi $20 \mu\text{L}$ %65'lik HNO_3 içeren 10 mL saf su ile hazırlandı. Bu çözeltiden uygun hacimler alınarak 5×10^{-5} M asiklovir çözeltisi elde edildi. Bu çözeltinin 4-(ABSA)-modifiye elektrotta diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği ile voltamogramı alındı. +0,95 V'da $15,3 \mu\text{A}$ 'lık bir indirgenme piki gözlemlendi. Aynı konsantrasyonda dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile alınan ölçümde ise 1,00 V'da $10,37 \mu\text{A}$ akımında katodik pik gözlemlendi (Şekil 4.4). Camsı karbonda CV tekniği ile alınan ölçümde ise 1,049 V'da $0,10 \mu\text{A}$, DPV tekniği ile 0,995 V'da $0,42 \mu\text{A}$ akım ölçüldü (Şekil 4.5).



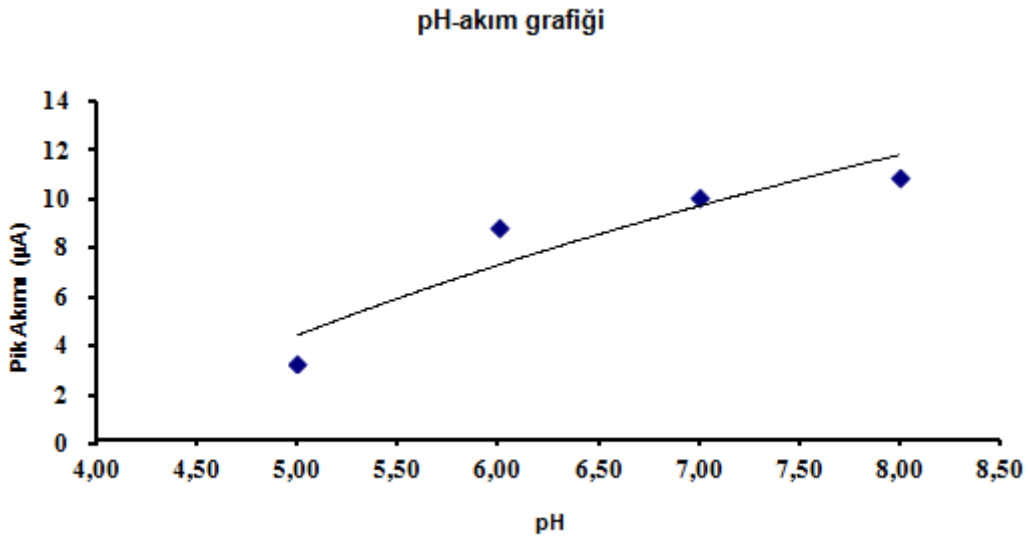
Şekil 4.4. 5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda (pH=7,00) poli(4-ABSA)-modifiye elektrotta dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı= 100 mVs^{-1}).



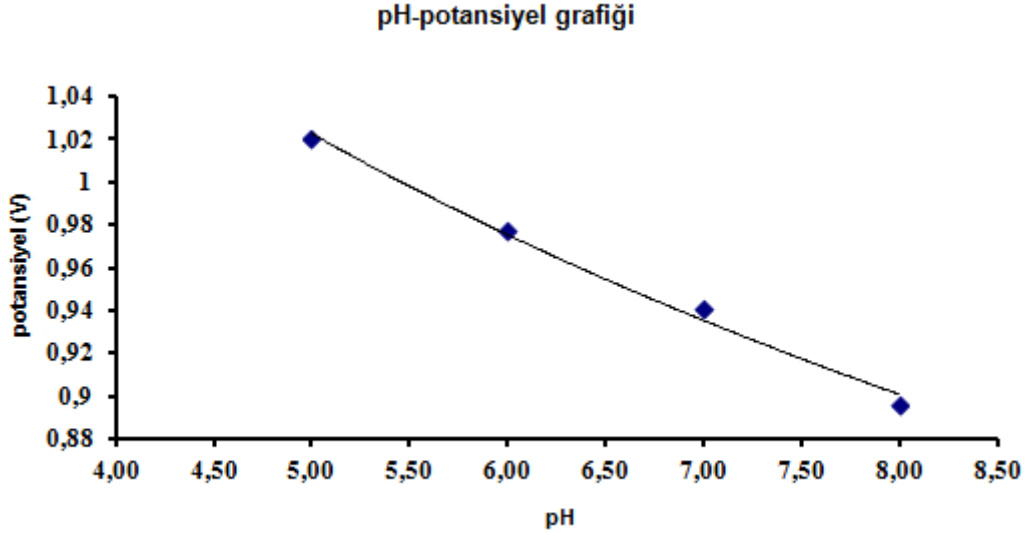
Şekil 4.5. 5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda (pH=7,00) GC elektrotta dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı= 100 mVs^{-1}).

4.6.2. Asiklovir'in modifiye elektrotta çalışma ortamının belirlenmesi

Asiklovir'in yükseltgendiği optimum şartları belirlemek amacı ile tüm destek elektrolitlerde DPV tekniği kullanarak pik akımının ve pik potansiyelinin pH (1 birimlik aralıklarla) ile değişimi incelendi. (Şekil, 4.6, Şekil 4.7)



Şekil 4.6. 5×10^{-5} M Asiklovir'in pik akımına pH etkisi.



Şekil 4.7. 5×10^{-5} M Asiklovir'in pik potansiyeline pH etkisi.

Fosfat(pH =7,00) tamponundaki pik akımının yüksek olması nedeniyle pH=7,00 çalışma ortamı seçildi. Bunun nedeni fosfat 7,00 ortamındaki pikin daha belirgin ve keskin olmasıdır.

4.6.3. Asiklovir'in modifiye elektrotta akım türünün belirlenmesi

Akım türünü belirlemek için 5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat (pH=7,00) tamponunda CV tekniğiyle $20-100 \text{ mVs}^{-1}$ aralığındaki tarama hızlarında voltamogramları alındı. Bu voltamogramlardan elde edilen akım ve potansiyel değerlerinin tarama hızıyla değişimi incelendi (Çizelge 4.2).

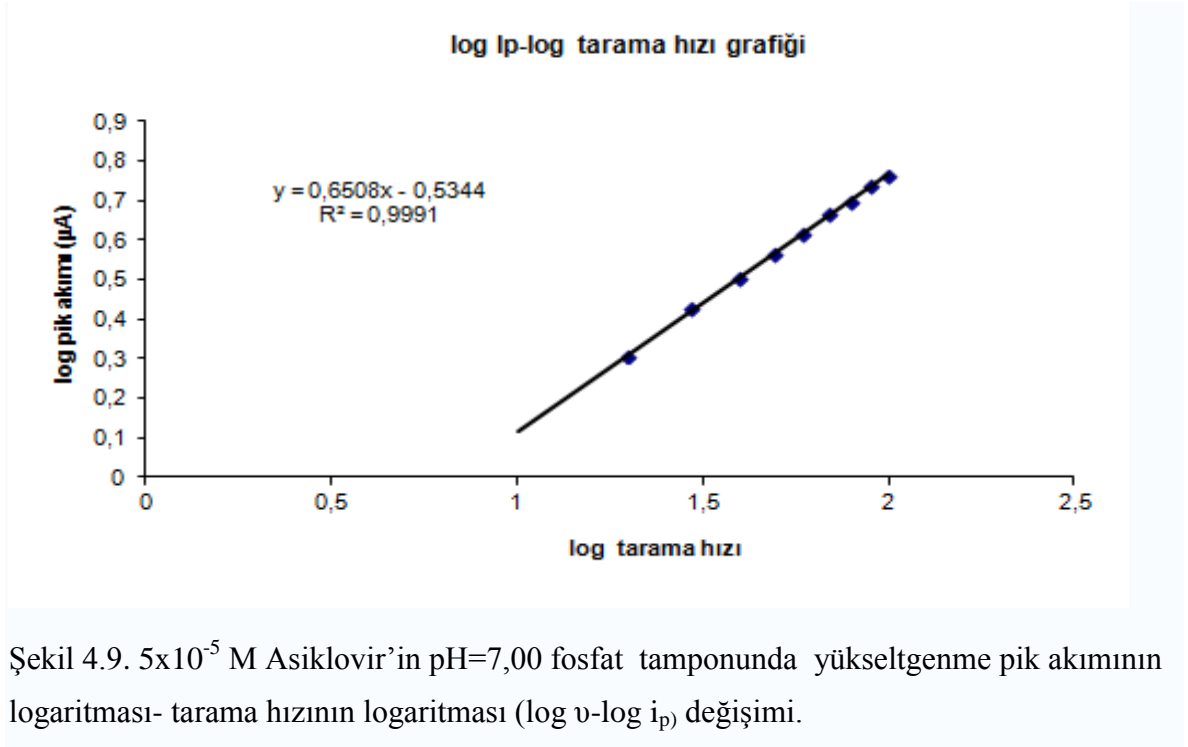
Çizelge 4.2. 5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi

Tarama Hızı, v (mVs^{-1})	Tarama Hızının Karekökü, $v^{1/2}$	Tarama Hızının Logaritması, $\log v$	Pik Akımı, $I_p(\mu A)$	Pik Akımının Logaritması, $\log I_p$
20	4,47	1,3	2,03	0,307
30	5,48	1,47	2,68	0,428
40	6,32	1,6	3,02	0,505
50	7,07	1,69	3,69	0,567
60	7,74	1,77	4,13	0,615
70	8,37	1,84	4,67	0,669
80	8,94	1,9	5,01	0,699
90	9,49	1,95	5,49	0,739
100	10	2	5,78	0,761

CV tekniğiyle alınan ölçümlerden çizilen grafiklerden ve Çizelge 4.2.' den yararlanılarak tarama hızının kareköküne karşılık pik akımı değerleri grafiği $v^{1/2}$ - i_p ; (Şekil 4.8) tarama hızının logaritması – pik akımının logaritması $\log v$ - $\log i_p$; (Şekil 4.9) grafiği çizildi.



Şekil 4.8. 5×10^{-5} M Asiklovir'in pH=7,00 fosfat tamponunda pik akımı- karekök tarama hızı ($v^{1/2}$ - i_p) grafiği.



Şekil 4.9. 5×10^{-5} M Asiklovir'in pH=7,00 fosfat tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması- tarama hızının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$) değişimi.

Log v -log i_p grafiğinin (Şekil 4.9) eğiminin 0,6508 (0,5 civarında) olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Ayrıca yükseltgenme pik akımının, hızın karekökü ile doğrusal olarak artmasından elde edilen $v^{1/2}$ - i_p grafiğinin (Şekil 4.8) korelasyon katsayısının (R) 0,9982 olması (1'e yakın) akımın difüzyon kontrollü olduğunun önemli bir göstergesidir (Skrzpek, 2005).

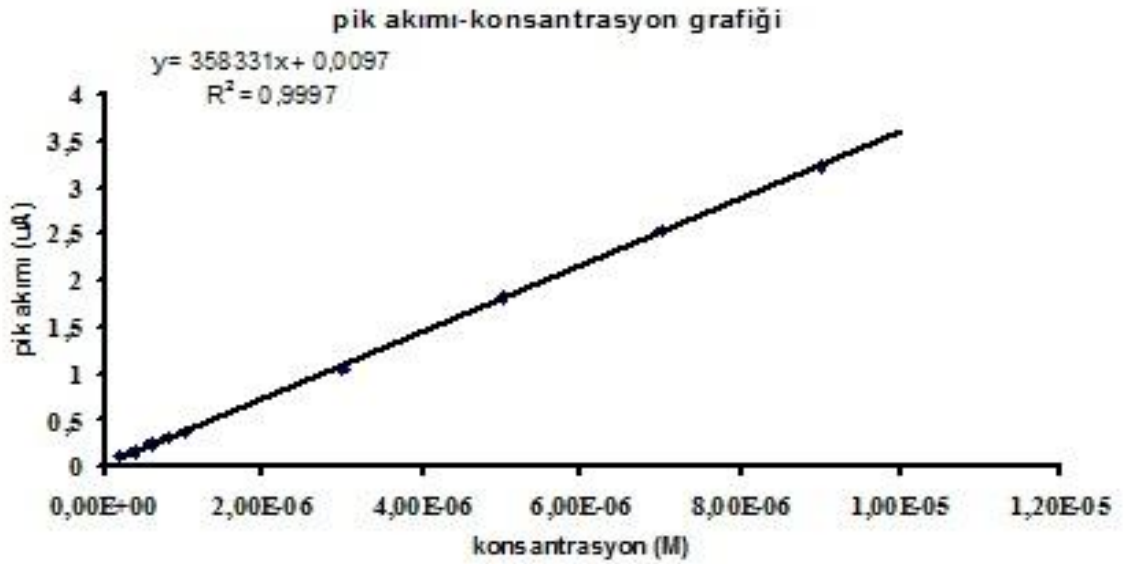
4.6.4. Asiklovir'in modifiye elektrotta analitik konsantrasyon parametreleri

Asiklovir'in analitik konsantrasyon aralığının belirlenmesi ve LOD, LOQ parametrelerinin hesaplanması için modifiye elektrotta elde edilen pik akımları değerleri Çizelge 4.3 'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri

Konsantrasyon (M)	Pik akımı (μA)
2×10^{-7}	0,105
4×10^{-7}	0,152
6×10^{-7}	0,234
8×10^{-7}	0,287
1×10^{-6}	0,364
3×10^{-6}	1,040
5×10^{-6}	1,820
7×10^{-6}	2,530
9×10^{-6}	3,230

Analitik tayin (konsantrasyon) aralığını belirlemek için; Asiklovir'in 2×10^{-7} - 9×10^{-6} M konsantrasyon aralığında, fosfat (pH=7,00) tamponunda DPV tekniği ile alınan voltamogramlarından elde edilen C ve i_p değerlerine göre doğrusallığın gözlemlendiği kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Asiklovir'in fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımı- konsantrasyon ($C-i_p$) grafiği.

Kalibrasyon grafiğinin eğimi $3,69 \times 10^5$ korelasyon katsayısı ise, 0,994 bulundu. Böylece analitik konsantrasyon aralığı $2 \times 10^{-7} - 9 \times 10^{-6}$ M olarak belirlendi. Kalibrasyon grafiğindeki en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyonda (4×10^{-7} M) ölçüm yapılarak akım değerlerinin standart sapması (s) $6,87 \times 10^{-3}$ olarak bulundu. Bu değer 3s/m ve 10s/m eşitliklerinde yerine konularak belirme sınırı (LOD) $5,57 \times 10^{-8}$ ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) $1,85 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplandı (Çizelge 4.4).

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

Parametreler	Sonuçlar
Ölçülen Potansiyel (mV)	0,995
Konsantrasyon Aralığı(M)	$2 \times 10^{-7} - 9 \times 10^{-6}$ M
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	369924
Eğimin Standart Sapması	11988
Kayma (nA)	0,101
Kaymanın Standart Sapması	0,086
Korelasyon Katsayısı, r	0,994
Ölçüm Sayısı, n	4
Belirme Sınırı, LOD (M)	$5,57 \times 10^{-8}$
Kantitatif Tayin Sınırı, LOQ (M)	$1,85 \times 10^{-7}$

4.6.5. Asiklovir'in modifiye elektrotta ilaçtan miktarının belirlenmesi

Asiklovirin ilaçlardan tayini yapıldı. Tablette belirtilen asiklovir miktarı 200,4 mg olarak hesaplandı. Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile aklovir tabletlerinden asiklovir'in geri kazanım çalışmaları yapıldı. Aklovir tabletlerinden Asiklovir % 98 geri kazanımla bulundu (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Aklovir tabletlerinde belirlenen asiklovir miktarı ve asiklovir'in geri kazanımı

Tablette belirtilen Asiklovir Miktarı (mg)	200,00
Bulunan Asiklovir Miktarı (mg)	200,40
Bağlı Standart Sapma, % R.S.D.	0,79
Doğruluktan Sapma, % Bias	0,20
Eklenen asiklovir (mg)	20,00
Bulunan asiklovir (mg)	19,60
Geri Kazanım (%)	98,00
Geri Kazanımın Bağlı Standart Sapması, % R.S.D.	3,18
Doğruluktan Sapma, % Bias	2,00

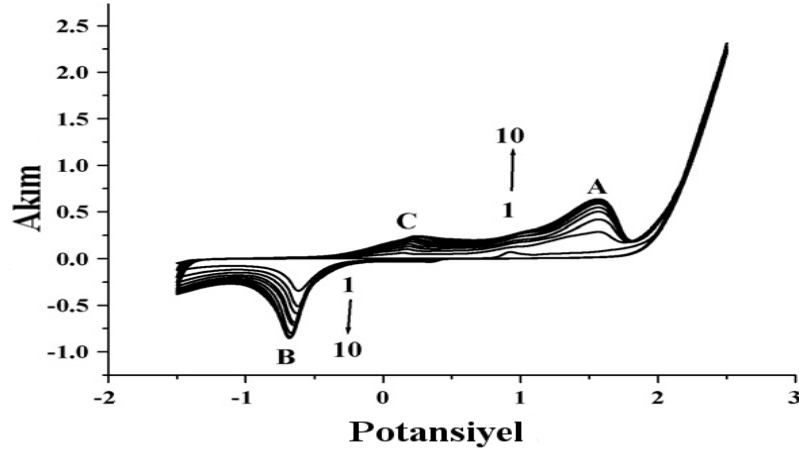
Voltametrik yöntemin geçerliliği için Asiklovir'in ilaca uygulama ve ilaçtan geri kazanım çalışmalarında elde edilen sonuçlardan ve voltamogramlardan, ilaç katkı maddelerinin yöntemlerimizi etkilemediği sonucuna varıldı.

4.7. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonikasinin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması

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

Huang ve ark. (2008)'na göre döngü sayısının artması ile pik akımındaki artış elektrot yüzeyinde filmin büyümesini göstermektedir. Yaptıkları çalışmada ilk 5 döngüde pik akımlarında hızlı bir artış olurken, sonraki döngülerde bu artışın oldukça azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise Huang ve ark. (2008) tarafından önerilen deney şartları kullandı. Sadece farklı olarak kaplama 5 döngü ile gerçekleştirdi.

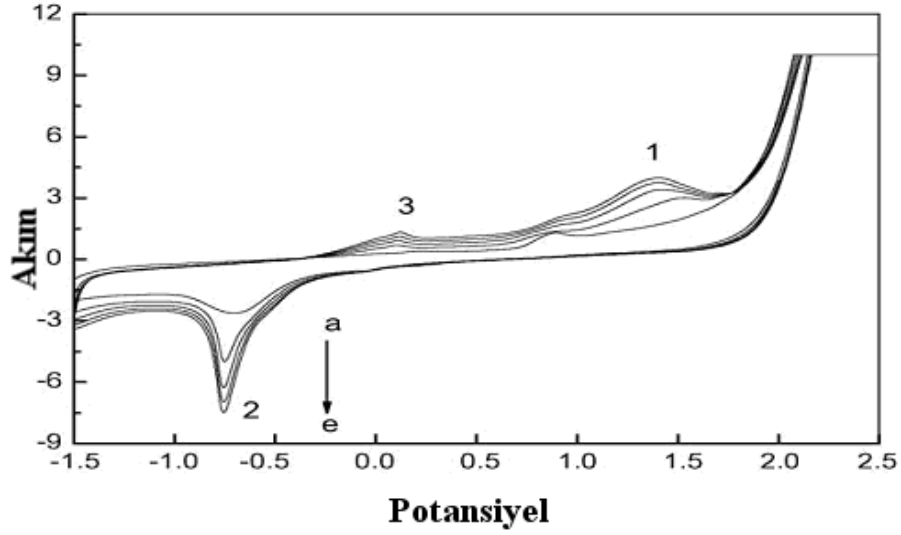
Huang ve ark. tarafından yapılan elektropolimerizasyon Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Bu çalışmada elde edilen elektropolimerizasyon pikleri ise Şekil 4.1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, literatürdeki örnek çalışmadakilerle uyumluluk göstermektedir.



Şekil 4.11. Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

4-aminobenzenesülfonik asidin camı karbon elektrotta elektropolimerleşmesinin mekanizması ise Jin ve ark. (2005) tarafından önerilmiştir (Şekil 4.11). Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizmaya göre p-(ABSA) ilk olarak serbest radikale yükseltgenmektedir (1 nolu pik); 2. aşamada radikallerin dimerleşmesi ile hidrazobenzen sülfonik asid oluşur; daha sonra tersinir olarak hidrazobenzen sülfonik asid, azobenzen sülfonik aside yükseltgenir (3 nolu pik) ve azobenzen sülfonik asid, hidrazobenzen sülfonik aside indirgenir (2 nolu pik).

Şekil 4.12. GCE yüzeyinde 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.



Şekil 4.13. Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

Jin ve ark. (2005) tarafından mekanizma dimerleşme basamağına kadar verilmiştir. Bileşiğin elektropolimerleşmesi ile ilgili bir mekanizma Jin ve arkadaşları da dâhil olmak üzere verilmemiştir. Yaptığımız çalışmada bir polimerleşme çalışması önerilmemekle birlikte muhtemel polimerin dimer üzerinden oluştuğu düşünülmektedir (Şekil 4.14).

Şekil 4.14. GCE yüzeyinde 4-aminobenzen-sulfonik asitin elektropolimerizasyonu.

A bileşiği p-aminobenzen-sulfonik asit ilk aşamada 1 elektron alarak amin radikali B'yi oluşturur. İkinci aşamada iki tane amin radikali B'nin dimerleşmesi ile C bileşiği 4,4'-(hidrazin-1,2-diil)dibenzensulfonik asit oluşur. Bu bileşik C-C' şeklinde tautomerik formlarda bulunur. Son aşamada ise C bileşiğinin polimerleşmesi ile D bileşiği poli[4,4'-(hidrazin-1,2-diil)dibenzensulfonik asit] meydana gelir. Bu bileşik D ile gösterilmektedir ve poli(4,4'-HDBSA) olarak kısaltılmıştır. Meydana gelen polimer camısı karbon elektrot (GCE) üzerine kaplanır (Şekil 4.14).

Şekil 4.15. Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye camısı karbon elektrotun yapısı.

BÖLÜM 5 SONUÇ VE ÖNERİLER

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

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

Asiklovirin yükseltgenme piki modifiye elektrotta ölçülen pik akımı 10,37 μ A, camısı karbon elektrotta ölçülen pik akımı 0,10 μ A olarak belirlenmiştir. Asiklovir'in camısı karbon elektrot ve modifiye elektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 10 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Polimerik filmle kaplı GCE yüzeyinin elektrokatalitik etki göstermesi sonucu elektron transferi kolaylaşmış, yani yükseltgenme daha önce gerçekleşmiştir. Buda modifiye elektrotun daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

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

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

Yapılan literatür taramasında asiklovirin değişik elektrotlar ile ilaçlardan tayininin yapıldığı belirlendi. Fakat 4-ABSA-GC elektrot ile çalışmaya rastlanmamıştır. Elektrokimyasal polimerizasyon ve elde edilen polimerik film ile ilaç analizi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma bu bakımdan önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Aycan S., 1994. *Polarografik ve Voltametik Teknikler*. Yıldız Teknik Üniversitesi Yayını, İstanbul. s. 307.
- Anonim, 2005. *Güncel FARMALİST*, Türkiye Tıbbi İlaç Rehberi. Farmasist Yayıncılık San. ve Tic. Ltd. Sti., Ankara. S. 1136.
- Alvarez-Lueje A., Nunez-Vergara L. J., Vicuna M. ve Squella J. A., 1996. Acyclovir: Voltammetric Behavior and Analytical Application to Pharmaceutical Forms. *Boletin de la Sociedad Chilena de Quimica*, 41:301-306.
- Baltaoğlu E., 2009. Metronidazol'un Elektrokimyasal Özelliklerinden Yararlanılarak İlaç Dozaj Formlarından Miktarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Biryol İ., Kabasakaloğlu M. ve Şentürk Z., 1989. Investigation of Mechanism of The Electrochemical Oxidation of Bamipine Hydrochloride by Voltammetry. *Analyst*, 114, 181 – 184.
- Bond A. M., 1980. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc. N. Y.
- Dao Y. J., Jiao Z. ve Zhong M. K., 2008. Simultaneous Determination of Acyclovir, Ganciclovir and Penciclovir in Human Plasma by Highperformance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 867, 270-276.
- Erdoğan G., 1995. Bazı Biyokimyasal Moleküllerin İletken Polimer Elektrotlardaki Voltametik Davranışlarının İncelenmesi (Doktora Tezi). İnönü Üniversitesi, Malatya.
- Fagan D. T., Hu I. F. ve Kuwana T., 1985. Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrode. *Anal. Chem.*, 57: 2759 – 2763.
- Gerlache M., Sentürk Z., Quarin G. ve Kauffmann J. M., 1997. Electrochemical Detection of H₂O₂ on a Gold Electrode. *Electroanalysis*, 9:1082-1092.
- Greif R., Peat R., Peter L. M., Pletcher D. ve Robinson J., 1990. *Instrumental Methods in Electrochemistry*, London, Ellis Harwood Series in Physical Chemistry.
- Henden E., Gökçel H. İ. ve Ertaş F. N., 2001. Eser Analiz Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilimdalı, İzmir, 151 – 160.
- Huang F., Jin G., Liu Y. ve Kong J., 2008. Sensitive Determination of Phenylephrine and Chlorprothixene at Poly(4-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode, *Talanta*, 1435-1441.

- Izutsu K., 2002. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Jankowski A., Jankowska A. L. ve Lamparczyk H., 1998. Determination and Pharmacokinetics of Acyclovir After Ingestion of Suspension form. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 18, 249-254.
- Jenkins G. M. ve Kawamura K., 1971. Structure of Glassy Carbon. *Nature.*, 231:175-176.
- Jin G., Zhang Y. ve Cheng W., 2005. Poly(*p*-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode for Simultaneous of Dopamine and Ascorbic Acid, *Sensors and Actuators B*, 107: 528-534.
- Jin L., Wei G., Lu W. Y., Xu L. J. ve Pan J., 2006. Quantitative Determination of Acyclovir in Aqueous Humor by LC-MS. *Chromatographia*, 63, 239-242.
- Joseph R. ve Kumar R., 2011. Electrochemical Sensing of Acyclovir at a Gold Electrode Modified with 2-Mercaptobenzothiazole-[5,10,15,20-tetrakis-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)porphyrinato]copper(II).
- Li X. ve Li J., 2011. Direct Determination of Guanine in Aciclovir Dispersible Tablets Solution by Acylpyrazolone Modified Glassy Carbon Electrode.
- Loregian A., Gatti R., Palu G. ve De Palo E. F., 2001. Separation Methods for Acyclovir and Related Antiviral Compounds. *J. Chromatogr.*, 764:289-311.
- Lu G. Q., Waszczuk P. ve Wieckowski A., 2002. Oxidation of CO Adsorbed from CO Saturated Solutions on the Pt (111) /Ru Electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 532:49-55.
- McBreen J. ve Gannon E., 1985. Bismuth Oxide as an Additive in Pasted Zinc Electrodes. *J. Power Sour.*, 15:169-177.
- Özkan S. A., Özkan Y. ve Şentürk Z., 1998. Electrochemical Reduction of Metronidazole at Activated Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17: 299 – 305.
- Özkan S. A., Biryol İ. ve Şentürk Z., 1994. An Activation Method for Glassy Carbon Electrode. *Tr. J. Chem.*, 18: 34–38.
- Sadıkoğlu M., Taşkın G., Demirtaş G. F., Selvi B. ve Barut M., 2012. Voltammetric Determination of Uric Acid on Poly(*p*-Aminobenzene Sulfonic Acid)-Modified Glassy Carbon Electrode.
- Sağlıkoğlu G., 2011. Nitroimidazol Türevi Antibakteriyel Etkili İlaç Aktif Maddelerinin Dozaj Formlarından Modifiye ve Modifiye Edilmemiş Elektrotlarda Voltametrik Teknikler ile Kantitatif Analizi (Doktora Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.

- Shetti N. P., Malode S. J. ve Nandibewoor S. T., 2012. Electrochemical Behavior of an Antiviral Drug Acyclovir at Fullerene –C₆₀- Modified Glassy Carbon Electrode.
- Skrzypek S., Ciesielski W. ve Yilmaz S., 2007. Voltammetric Study of Acyclovir Using Controlled Grow Mercury Drop Electrode. *Chem. Anal. (Warsaw)*, 52, 1071-1078.
- Skoog D. A. ve Leary J. J., 1996. Principles of Instrumental Analysis. 4th Ed. Saunders College Publishing, New York, 538
- Skoog D. A., Holler F. J. ve West D. M., 2000. Enstrümental Analiz İlkeleri 7. Baskı. Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve Ark., Bilim Yayıncılık – Ankara, 489 –492
- Skoulika S. G. ve Georgiou C. A. Rapid, 2003. Noninvasive Quantitative Determination of Acyclovir in Pharmaceutical Solid Dosage Forms Through Their Poly (Vinyl chloride) Blister Package by Solid State Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 57,407-412.
- Tunçel T., Bergisadi M., Akın L., Otuk G. ve Kuşcu İ., 1996. In-Vitro and In-Vivo Studies on Micro Capsules and Tabletted Micro Capsules Cephadrine, *Pharmazie*, 51, 168-171
- Tural H., Gökçel H. İ. ve Ertaş F. N., 2003. Enstrümental Analiz 1 Elektroanalitik Yöntemler, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, 132 –144
- Van der Linden W. E. ve Dieker J. W., 1986. Glassy Carbon as Electrode Material in Electroanalytical Chemistry. *Anal. Chem. Acta*, 199:1-24.
- Visor G. C., Jackson S. E., Kenley R. A. ve Lee G. C., 1985. Electrochemistry of Purine Derivatives. 1: Direct Determination the Antiviral Drug 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl]guanine Anodic Differential Pulse Voltammetry. *J. Pharm. Sci.*, 74:1078- 1081.
- Vo H. C., Henning P. A., Leung D. T. ve Sacks S. L., 2002. Development and Validation of a Plasma Assay for Acyclovir Using Highperformance Capillary Electrophoresis with Sample Stacking. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 772, 291-297.
- Wang J., 2000. Analytical Electrochemistry. Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2ND ed ISBN 0-471-28272-3.
- Wang J. ve Hutchins L. D., 1985. Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical Treatment. *Anal. Chim. Acta.*, 167, 325 – 334.
- Wang F. ve Chen L., 2006. Studies on Electrochemical Behaviors of Acyclovir and its Voltammetric Determination with Nano Structured Film Electrode.

- Yağmur S., 2005. Famotidin ve Natamisin'in Voltametrik Teknikler ile Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi ve İlaçlarda Kantitatif Tayinleri (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Yıldız A. ve Genç Ö., 1993. Enstrümental Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, 352
- Yılmaz S., 2012, Elektroanalitik Kimya, Kriter Yayınları, İSTANBUL
- Yu L. ve Xiang B., 2008. Quantitative determination of acyclovir in plasma by near infrared spectroscopy. *Microchem. J.*, 90, 63-66.
- Yang Z., Hu G., Liu Y., Zhao J. ve Zhao G., 2006. Poly(p-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode for Selective Determination of Hydroquinone in the Presence of Catechol and Resorcinol, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 52 (1): 11-17.
- Zhang S. S., Liu H. X., Chen Y. ve Yuan Z. B., 1996. Comparison of High Performance Capillary Electrophoresis and Liquid Chromatography for the Determination of Acyclovir and Guanine in Pharmaceuticals and Urine. *Biomed. Chromatogr.*, 10, 256-257.
- Zuman P., Fijalek Z., Dumanovic D. ve Suznjevic D., 1992. Polarographic and Electrochemical Studies of Some Aromatic and Heterocyclic Nitro Compounds, Part I: General Mechanistic Aspects. *Electroanalysis*, 4 (8): 783-794.

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 2.1.	İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler.....	17
Çizelge 4.1.	10^{-2} M Asiklovir'in 0,1 M fosfat tamponunda (pH=7,0) pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi.....	32
Çizelge 4.2.	5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi.....	38
Çizelge 4.3.	Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri.....	40
Çizelge 4.4.	Asiklovir'in pH=7,00 fosfat tamponunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen analitik tayin parametreleri.....	41
Çizelge 4.5.	Aklovir tabletlerinde belirlenen asiklovir miktarı ve asiklovir'in geri kazanımı	42

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1.1.	Asiklovir'in kimyasal yapısı	1
Şekil 1.2.	Purin, guanin, deoksiguanozin, asiklovir'in kimyasal yapısı.....	2
Şekil 2.1.	Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	4
Şekil 2.2.	Deney hücresi	6
Şekil 2.3.	Kullanılan deney elektrotları.....	7
Şekil 2.4.	Camsı karbon çalışma elektrodu	8
Şekil 2.5.	Voltametik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması	8
Şekil 2.6.	Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan teknikler.....	15
Şekil 2.7.	Karşılaştırma elektrodu	18
Şekil 2.8.	Yardımcı elektrot	19
Şekil 2.9.	Voltametik tekniklerin sınıflandırılması	20
Şekil 2.10.	Polarografide akım- potansiyel grafiği.....	21
Şekil 4.1.	GCE yüzeyinde 4-aminobenzen-sülfonik asidin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı.....	31
Şekil 4.2.	5×10^{-5} M Asiklovir'in 20-100 mV/s tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı.....	33
Şekil 4.3.	DPV tekniği ile Asiklovir'in konsantrasyon-pik akımı değişimi	34
Şekil 4.4.	5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda (pH=7) poli(4-ABSA)-modifiye elektrotta dönüşümlü voltamogramı.....	35
Şekil 4.5.	5×10^{-5} M Asiklovir'in fosfat tamponunda (pH=7,00) GC elektrotta dönüşümlü voltamogramı	36
Şekil 4.6.	5×10^{-5} M Asiklovir'in pik akımına pH etkisi	36
Şekil 4.7.	5×10^{-5} M Asiklovir'in pik potansiyeline pH etkisi.....	37
Şekil 4.8.	5×10^{-5} M Asiklovir'in pH=7,00 fosfat tamponunda pik akımı-karekök tarama hızı ($v^{1/2}$ - i_p) grafiği.....	38
Şekil 4.9.	5×10^{-5} M Asiklovir'in pH=7,00 fosfat tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması- tarama hızının logaritması ($\log v$ - $\log i_p$) değişimi.....	39
Şekil 4.10.	Asiklovir'in fosfat (pH=7,00) tamponundaki pik akımı-konsantrasyon (C - i_p) grafiği.....	40

Şekil 4.11.	Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerizasyonu.....	43
Şekil 4.12.	GCE yüzeyinde 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.....	43
Şekil 4.13.	Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerizasyonu.....	44
Şekil 4.14.	GCE yüzeyinde 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerizasyonu.....	45
Şekil 4.15.	Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye camşı karbon elektrodun yapısı.....	45
Şekil 4.16.	Asiklovir'in poli(4-ABSA)-modifiye camşı karbon elektrotta yükseltgenme mekanizması.....	46

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Saide CAN

Doğum Yeri : Çanakkale

Doğum Tarih : 24.07.1989

EĞİTİM DURUMU:

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

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

İLETİŞİM : saidecan83@gmail.com

