



**FARMASÖTİK VE TARIMSAL İLAÇ ANALİZLERİ İÇİN KARBON TEMELLİ
MODİFİYE ELEKTROTLARIN GELİŞTİRİLMESİ**

Ersin DEMİR

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2017

Ersin DEMİR tarafından hazırlanan “FARMASÖTİK VE TARIMSAL İLAÇ ANALİZLERİ İÇİN KARBON TEMELLİ MODİFİYE ELEKTROTLARIN GELİŞTİRİLMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Recai İNAM

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan : Prof. Dr. Elmas GÖKOĞLU

Kimya Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye : Prof. Dr. Bengi USLU

Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye : Prof. Dr. Olcay ŞENDİL

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye : Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 10 / 03 / 2017

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Hadi GÖKÇEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ersin DEMİR

10/03/2017

FARMASÖTİK VE TARIMSAL İLAÇ ANALİZLERİ İÇİN KARBON TEMELLİ MODİFİYE ELEKTROTLARIN GELİŞTİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Ersin DEMİR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2017

ÖZET

Bu çalışmada tadalafil ve vardenafil farmasötik ilaç etken maddeleri ile fomesafen zirai ilaç etken maddesinin tayinleri için karbon temelli modifiye elektrotlar geliştirilmiştir. Tadalafil için TiO_2 ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO_2 -MWCNTPE), vardenafil için amin fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp/ZnO nanopartikül/grafit kompozit elektrot (NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit) ve fomesafen için de nano yapılı çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) kullanılarak her bir etken maddelerin voltametrik davranışları incelenmiştir. Bu modifiye elektrotlar taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile karakterize edilmiştir. Tadalafil vardenafil ve fomesafenin geliştirilen bu modifiye elektrotlarla farmasötik, zirai ilaç ve doğal numunelerdeki tayinleri için yeni voltametrik yöntemler önerilmiştir. Bu amaçla, dönüşümlü voltametri (CV), kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) teknikleri kullanılmıştır. Sıyırma teknikleri için önemli parametreler olan biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyeli (E_b), puls genliği (ΔE), frekans (f) ve basamak potansiyeli (ΔE_b) her bir analit için ayrı ayrı optimize edilmiştir. Tadalafil, vardenafil ve fomesafen için voltametrik pik potansiyelleri sırasıyla + 1000 mV, + 1375 mV ve - 540 mV olarak bulunmuştur. SWSV ile elde edilen kalibrasyon grafiklerine göre tadalafil için çalışma aralığı 0,27 - 15,2 μM , vardenafil için 0,04 μM - 2,05 μM , fomesafen için 0,68 μM - 91,2 μM bulunmuştur. Diğer yandan, DPSV ile vardenafil için çalışma aralığı 0,02 μM - 1,02 μM 'dir. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ), sırasıyla tadalafil için 0,08 ve 0,27 μM , vardenafil için 0,028 μM ve 0,092 μM , fomesafen için 0,20 μM ve 0,67 μM bulunmuştur. Ayrıca, yöntemin seçiciliğini belirlemek için biyolojik öneme sahip bazı organik bileşiklerle bazı pestisit ve katyonların girişim etkileri incelenmiştir. Kan serumu örneklerine ilave edilen tadalafil % 100,8 \pm 0,8 geri kazanımla, vardenafil ise % 100,8 \pm 1,8 geri kazanımla tayin edilmiştir. Fomesafen, ticari meyve suyu ve göl suyu örneklerinde % 95,8 - 98,2 geri kazanımla tayin edilmiştir. Tadalafil ve vardenafilin ticari tabletlerindeki tayinleri sırasıyla - 0,1 ve - 2,8 % bağıl hata ile ve 1,4 ve 1,9 % bağıl standart sapma ile gerçekleştirilmiştir. Son olarak karbon temelli modifiye elektrotlar üzerinde tadalafil, vardenafil ve fomesafenin elektrot tepkime mekanizmaları önerilmiştir.

Bilim Kodu : 20114
Anahtar Kelimeler : Tadalafil, vardenafil, fomesafen, modifiye nanotüp karbon elektrot, voltametrik tayin, elektroanalitik kimya
Sayfa Adedi : 170
Danışman : Prof. Dr. Recai İNAM

DEVELOPMENT OF MODIFIED ELECTRODES BASED ON CARBON FOR THE
DETERMINATION OF PHARMACEUTICAL AND AGRICULTURAL DRUGS

(Ph. D. Thesis)

Ersin DEMİR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

March 2016

ABSTRACT

In this study, modified electrodes based on carbon have been developed to determine farmasotic medicines such as tadalafil and vardenafil and agricultural pesticide active compound, fomesafen. The voltammetric behaviors of tadalafil, vardenafil and fomesafen have been investigated on the multi walled carbon nanotube paste electrode modified with TiO_2 (TiO_2 -MWCNTPE), amine-functionalized multiwalled carbon nanotube/ZnO nanoparticle/graphite composite electrode (NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit) and nano structured multi walled carbon nanotube paste electrode (MWCNTPE), respectively. The scanning electron microscope (SEM) images were obtained to characterize these modified electrodes. Novel voltammetric methods have been recommended for the determination of tadalafil, vardenafil and fomesafen using these fabricated electrodes in pharmaceuticals, insecticides and natural samples. Cyclic voltammetry (CV), square-wave stripping *voltammetry* (SWSV) and differential pulse stripping *voltammetry* (DPSV) have been used for this purpose. The indispensable instrumental parameters for the stripping voltammetric techniques such as deposition time (t_d), deposition potential (E_d), pulse amplitude (ΔE), frequency (f) and step potentials (ΔE_s) have been optimized for each pharmaceutical and agricultural active compound. The voltammetric peak potentials have been found +1000 mV, +1375 mV and -540 mV for tadalafil, vardenafil and fomesafen, respectively. On the basis of calibration graph obtained by SWSV, the analytical working ranges for tadalafil, vardenafil and fomesafen have been found 0.27 – 15.2 μM , 0.04 μM – 2.05 μM and 0.68 μM – 91.2 μM , respectively. On the other hand, the analytical working ranges for vardenafil obtained with DPSV technique is 0.02 μM – 1.02 μM . Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for tadalafil have been found 0,08 and 0.27 μM , for vardenafil 0.028 μM and 0.092 μM and for fomesafen 0.20 μM and 0.67 μM . In order to exhibit the selectivity of recommended method, interference effects of some pesticides, organic compounds and cations having biological importance have been investigated to present the selectivity of method. Tatalafil and vardenafil in spiked blood samples have been determined with a recovery of $100.8 \pm 0.8 \%$ and $100.8 \pm 1.8 \%$, respectively. Fomesafen has been determined 95.8 % – 98.2 % recovery ranges in spiked commercial fruit juice and lake water samples. Tadalafil and vardenafil in commercial pharmaceutical tablets have been determined with a relative errors of – 0.1 and – 2.8 % and relative standard deviations of 1.4 and 1.9 %, respectively. Finally, electrode reaction mechanisms of tadalafil, vardenafil and fomesafen on carbon based modified electrodes have been elucidated.

Science Code : 20114
Key Words : Tadalafil, Vardenafil, Fomesafen, Modified carbon electrode,
voltammetric determintion, Electroanalytical chemistry
Page Number : 170
Supervisor : Prof. Dr. Recai İNAM

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalındaki doktora çalışmalarım boyunca yakın ilgisini esirgemeyen, tez çalışmalarımın başından sonuna kadar her aşamasında bilgi ve tecrübesinden faydalandığım, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümündeki laboratuvarlar imkânlarını tarafıma sunan ve manevi desteğini benden esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Recai İNAM'a teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım boyunca araştırma sonuçlarımı yakından takip ederek yönlendirmeleriyle tezimin oluşmasında önemli katkı sağlayan Tez İzleme Komitesi'nin değerli üyeleri Sayın Prof. Dr. Bengi USLU'ya ve Sayın Prof. Dr. Olcay ŞENDİL'e, tecrübelerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Güler SOMER'e, Sayın Dr. Tuba SARIGÜL'e, Sayın Arş. Gör. Dr. Demet UZUN'a ve Dr. Özlem ÇOLAK'a teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Ana Bilim Dalı araştırma laboratuvarlarının imkânlarını tarafıma sunan Sayın Prof. Dr. Bengi USLU'ya teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 05-2013-01 numaralı proje ile maddi olarak destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Müdürlüğüne teşekkür ederim.

Verdikleri desteklerle her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarım Dr. Barış KEMER'e, Dr. Burçin BOZAL-PALABIYIK'a, Yüksek Kimyager Doğukan DOYDUK'a teşekkür ederim. Son olarak, her zaman yanımda olan, güven aşılayan, ideallerimin gerçekleşmesi için desteklerini esirgemeyen aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Elektrokimya	5
2.2. Elektrokimyasal Hücreler	11
2.2.1. Referans elektrotlar	12
2.2.2. Karşıt elektrotlar	13
2.2.3. İndikatör (Çalışma) elektrotlar	14
2.3. Voltametri ve Polarografi	27
2.3.1. Voltametricde kullanılan uyarma sinyalleri	29
2.4. Karbon Nanotüpler	38
2.5. İncelenen Farmasötik ve Zirai İlaç Etken Maddeleri ile İlgili Genel Bilgiler ve Literatür Çalışması	40
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	53
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	53
3.2. Deneylede Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
3.3. Voltametric Analizlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	56

	Sayfa
3.3.1. Destek elektrolitlerin hazırlanması	56
3.3.2. Stok çözeltilerin hazırlanması	57
3.3.3. Farmasötik tablet ve numune çözeltilerinin hazırlanması	60
3.3.4. Karbon temelli elektrotların hazırlanması	61
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	63
4.1. Tadalafilin Yalın (MWCNTPE) ve Modifiye Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Pasta Elektrot (TiO ₂ -MWCNTPE) ile Voltametrik Olarak İncelenmesi	63
4.1.1. TiO ₂ nanopartiküllerle modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotlarının (TiO ₂ -MWCNTPE) hazırlanması	64
4.1.2. Tadalafilin dönüşümlü voltametri ile yalın MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ -MWCNTPE elektrotlar üzerinde incelenmesi	68
4.1.3. Tadalafilin kare dalga sıyırma voltametriyle yalın MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ -MWCNTPE elektrotlar kullanılarak tayini	70
4.1.4. Farmasötik numunelerin yalın MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ -MWCNTPE elektrotlar üzerinde kare dalga sıyırma voltametriyle (SWSV) tayini ve % geri kazanımlar	83
4.1.5. Tadalafilin SWSV ile tayininde girişim etkisinin incelenmesi	85
4.1.6. Tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ -MWCNTPE elektrotlar üzerindeki yükseltgenme mekanizmasının model ilaç yöntemi ile aydınlatılması	87
4.2. Vardenafilin Geliştirilen Çeşitli Modifiye Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Elektrotlar Üzerindeki Voltametrik Davranışı	91
4.2.1. ZnO Nanopartiküllerle modifiye NH ₂ -MWCNT elektrot hazırlanması ..	92
4.2.2. NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafilin dönüşümlü voltametri ile incelenmesi	98
4.2.3. Vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde sıyırma voltametri teknikleriyle tayini	100
4.2.4. Vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde SWSV ve DPSV teknikleriyle tayini	105
4.2.5. Vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot üzerinde SWSV ve DPSV teknikleriyle gerçek numunelerde tayini	114

	Sayfa
4.2.6. Vardenafil tayininde girişim etkileri	117
4.2.7. Vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde yükseltgenme mekanizmasının aydınlatılması	120
4.3. Fomesafen Herbisitinin Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Pasta Elektrotu ile Voltametik Tayini	121
4.3.1. Fomesafen herbisidinin dönüşümlü voltametri ile incelenmesi	122
4.3.2. Fomesafen herbisidinin kare dalga sıyırma voltametrisi ile tayini	124
4.3.3. Doğal numunelerde fomesafen tayini ve % geri kazanım	130
4.3.4. SWS voltametrisi ile fomesafen tayinine başka türlerin girişim etkileri .	132
4.3.5. Fomesafen herbisidinin MWCNTTP elektrot üzerindeki indirgenme mekanizmasının aydınlatılması	134
5. TARTIŞMA	137
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	147
KAYNAKLAR	151
ÖZGEÇMİŞ	167

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Tadalafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar	47
Çizelge 2.2. Tadalafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar	48
Çizelge 2.3. Tadalafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar	49
Çizelge 2.4. Vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar	50
Çizelge 2.5. Vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmala	51
Çizelge 2.6. Vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar	52
Çizelge 2.7. Fomesafen tayinine yönelik yapılan çalışmalar	52
Çizelge 3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler	55
Çizelge 4.1. 5 mg/L tadalafilin kare dalga sıyırma voltametrisi ile tayini için optimum parametreler	77
Çizelge 4.2. SWSV ile yalnız MWCNTPE elektrotla elde edilen tadalafilin kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi ve validasyon parametreleri (pH 3 B–R tamponu)	81
Çizelge 4.3. SWSV ile Modifiye TiO ₂ –MWCNTPE elektrotla elde edilen tadalafilin kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi ve validasyon parametreleri (pH 3 B–R tamponu)	82
Çizelge 4.4. Lifta [®] ilaç tabletlerinde yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ –MWCNTPE elektrotlar kullanılarak SWSV ile tadalafil tayini	83
Çizelge 4.5. Kan serumuna ilave edilen tadalafilin yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ –MWCNTPE elektrotlar üzerinde SWS voltametrisi ile tayini	84
Çizelge 4.6. Tadalafilin SWS voltametri ile tayininde bazı iyonların ve organik türlerin girişim etkisi ve % geri kazanım değerleri (10 mg/L tadalafil, pH 3 B–R tamponu)	85
Çizelge 4.7. 5 mg/L vardenafilin farklı pH'larda SWSV tekniğiyle elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımları değerleri	102
Çizelge 4.8. 5 mg/L vardenafilin farklı pH'larda DPSV tekniği ile elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımı değerleri	104
Çizelge 4.9. SWS voltametrisi ile NH ₂ –MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot üzerinde 5,0 mg/L vardenafilin tayini için optimum parametreler	108

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.10. Vardenafilin SWSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi ve validasyon parametreleri	111
Çizelge 4.11. Vardenafilin DPSV ile NH ₂ MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi ve validasyon verileri	113
Çizelge 4.12. Levitra® ilaç tabletlerinde vardenafilin SWS voltametriyle tayini	115
Çizelge 4.13. Levitra® ilaç tabletlerinde vardenafilin DPS voltametriyle tayini	115
Çizelge 4.14. Sentetik kan serumunda SWSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafilin tayini	116
Çizelge 4.15. Sentetik kan serumunda DPSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafilin tayini	117
Çizelge 4.16. 1,0 mg/L vardenafilin bazı türlerin varlığında SWS voltametriyle tayini pH 3,0 fosfat tamponunda)	118
Çizelge 4.17. pH 3,0 fosfat tamponunda, 1,0 mg/L vardenafilin bazı türlerin varlığında DPS voltametriyle tayini	119
Çizelge 4.18. Fomesafenin SWSV ile tayininde optimum deney koşulları	128
Çizelge 4.19. Fomesafenin SWSV yöntemi ile tayininde regresyon analizi ve validasyon parametreleri (pH 3,0 B-R tamponu)	130
Çizelge 4.20. Fomesafen ilaveli numunelerde SWS voltametriyle fomesafen tayini ve % geri kazanım	131
Çizelge 4.21. 5,0 mg/L fomesafenin SWS voltametri ile tayinine bazı iyonların ve pestisitlerin girişim etkileri	132

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi (I=akım, E= potansiyel, R=direnç, G=iletkenlik, Q=yük miktarı, t=zaman)	6
Şekil 2.2. Elektrot yüzeyindeki mesafe derişim profili	7
Şekil 2.3. Elektrot yüzeyine kütle taşınma yolları	8
Şekil 2.4. Elektrot yüzeyi ile çözelti arasındaki tabakalar	9
Şekil 2.5. İki elektrotlu bir hücrenin şematik gösterimi	11
Şekil 2.6. Üç elektrotlu bir hücrenin şematik gösterimi	12
Şekil 2.7. Standart Hidrojen Elektrodun (SHE) genel gösterimi	12
Şekil 2.8. Doygun Kalomel Elektrodun (DKE) genel gösterimi	13
Şekil 2.9. Ag/AgCl Referans Elektrodun genel gösterimi	13
Şekil 2.10. Çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması	16
Şekil 2.11. Cıva Elektrodunun Çeşitleri A) Cıva damla elektrodu B) Asılı cıva damla elektrodu C) Statik cıva damla elektrodu	18
Şekil 2.12. C ₆₀ Fulleren'in yapısal gösterimi	23
Şekil 2.13. Karbon nanotüplerin üç boyutlu yapısı A: Tek duvarlı karbon nanotüp. B: Çok duvarlı karbon nanotüp	25
Şekil 2.14. Polarografi için akım-potansiyel ilişkisi	29
Şekil 2.15. Bazı voltametrik yöntemler ve uyarma sinyalleri	30
Şekil 2.16. Normal puls voltametrinde uyarma sinyali	32
Şekil 2.17. Diferansiyel puls voltametrinde uyarma sinyali	32
Şekil 2.18. 1 mg/L kadmiyum ve kurşun çözeltine ait A) normal puls ve B) diferansiyel puls polarogramları	33
Şekil 2.19. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali ve elde edilen bir voltamogram	34
Şekil 2.20. Anodik sıyırma voltametrisinde biriktirme ve sıyırma basamakları	36

Şekil	Sayfa
Şekil 2.21. Deniz suyunda bulunan eser miktardaki iyodürün katodik sıyırma voltamogramı	38
Şekil 2.22. Grafenin yapısı	39
Şekil 2.23. a) Karbosilik fonksiyonlu karbon nanotüp (COOH–MWCNT b) Amin fonksiyonlu karbon nanotüp (NH ₂ –MWCNT)	40
Şekil 2.24. Tadalafilin kimyasal yapısı	41
Şekil 2.25. Vardenafilin kimyasal yapısı	42
Şekil 2.26. Fomesafenin kimyasal yapısı	42
Şekil 4.1. TiO ₂ nanopartikül modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotlarla (TiO ₂ –MWCNTPE) 5 mg/L tadalafilin kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları a) destek çözeltisi b) % 1 TiO ₂ c) % 5 TiO ₂ d) % 10 TiO ₂ e) % 20 TiO ₂ (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, f = 100 Hz, ΔE _b = 5 mV, ΔE = 50 mV, pH 3 B–R tampon)	65
Şekil 4.2. 5 mg/L tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ –MWCNTPE elektrotlarla elde edilen kare dalga (SW) voltamogramları (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, f = 100 Hz, ΔE _b = 5 mV, ΔE = 50 mV, pH 3 B–R tamponu)	66
Şekil 4.3. 5 mg/L tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye TiO ₂ –MWCNTPE elektrotlarla elde edilen kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, f = 100 Hz, ΔE _b = 5 mV, ΔE = 50 mV, pH 3 B–R tamponu)	66
Şekil 4.4. Çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrodunun (MWCNTPE) SEM görüntüsü	67
Şekil 4.5. TiO ₂ nanopartiküllerle modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrodunun (TiO ₂ –MWCNTPE) SEM görüntüsü	67
Şekil 4.6. Modifiye TiO ₂ –MWCNTPE elektrot ile pH 3,0 B–R tamponunda 50,0 mg/L tadalafilin farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları	68
Şekil 4.7. 5,0 mg/L tadalafilin TiO ₂ ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO ₂ –MWCNTPE) üzerinde farklı pH'lardaki kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları a) Destek çözelti b) 0,1 M H ₂ SO ₄ çözeltisi c) 0,01 M H ₂ SO ₄ çözeltisi d) pH 2,0 B–R tamponu e) pH 3,0 B–R tamponu f) pH 4,0 B–R tamponu g) pH 5,0 B–R tamponu h) pH 6,0 B–R tamponu (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, f = 100 Hz, ΔE _b = 5 mV, ΔE = 50 mV)	71
Şekil 4.8. Yalın MWCNTPE elektrot üzerinde 5,0 mg/L tadalafilin pik potansiyeli ve akımına pH'nın etkisi. • pik potansiyeli, E _p ve Δ pik akımı, i _p	72

Şekil	Sayfa
Şekil 4.9. Modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrot üzerinde 5,0 mg/L tadalafilin pik potansiyeline ve akımına pH'nın etkisi. • pik potansiyeli, E_p ve Δ pik akımı, I_p	72
Şekil 4.10. SWS voltametri ile 5,0 mg/L tadalafilin tayininde biriktirme potansiyelinin optimizasyonu	74
Şekil 4.11. SWS voltametri ile 5,0 mg/L tadalafilin tayininde biriktirme süresinin optimizasyonu	74
Şekil 4.12. SWS voltametri ile 5,0 mg/L tadalafilin tayininde pik akımlarının puls genliği ve basamak potansiyeli ile değişimi	75
Şekil 4.13. 5,0 mg/L tadalafilin SWS voltametri ile tayininde frekansa bağlı olarak pik akımı ve pik potansiyellerinin değişimi	76
Şekil 4.14. SWS voltametri ile tadalafilin yalnız MWCNTPE üzerindeki tayininde derişime karşı pik akımları ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV)	78
Şekil 4.15. Tadalafilin yalnız MWCNTPE kullanılarak kare dalga sıyırma voltametrisi (SWSV) ile elde edilen kalibrasyon grafiği ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV, pH 3 B-R tamponu)	78
Şekil 4.16. Tadalafilin TiO_2 -MWCNTPE modifiye elektrot üzerinde derişime karşı pik akımının elde edildiği SWS voltamogramları a) pH 3,0 B-R tamponu b) 0,6 μ M tadalafil c) 2,6 μ M tadalafil d) 5,12 μ M tadalafil e) 7,7 μ M tadalafil f) 8,9 μ M tadalafil g) 10,2 μ M tadalafil h) 11,5 μ M tadalafil k) 12,7 μ M tadalafil l) 15,2 μ M tadalafil; ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV)	79
Şekil 4.17. Tadalafilin TiO_2 -MWCNTPE modifiye elektrotla SWS voltametriyle elde edilen kalibrasyon grafiği ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV, pH 3 B-R tamponu)	80
Şekil 4.18. 10 mg/L tadalafil varlığında farklı derişimlerdeki dopaminin SWS voltamogramları a) pH 3,0 B-R tamponu b) 10 mg/L tadalafil + 10,0 mg/L dopamin c) b + 10,0 mg/L dopamin d) c + 30,0 mg/L dopamin, ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s, $E_b = 0$ mV)	87
Şekil 4.19. Model ilaç çalışmalarında kullanılan ilaç etken maddelerin kimyasal yapıları	89
Şekil 4.20. Modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrot ile model ilaç çalışması için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Potansiyel tarama hızı = 100 mV/s, pH 3 B-R tamponu)	89

Şekil	Sayfa
Şekil 4.21. Yalın MWCNTP elektrot ile model ilaç çalışması için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Potansiyel tarama hızı = 100 mV/s, pH 3 B-R tamponu)	90
Şekil 4.22. Tadalafilin önerilen elektrot-yükseltgenme mekanizması	91
Şekil 4.23. 5 mg/L vardenafilin yalın grafit pasta elektrot (GPE) ve nanopartiküllerle (ZnO ve Fe ₂ O ₃) hazırlanan kompozit karbon pasta elektrotlarla diferansiyel puls sıyırma (DPS) voltamogramları. 1) ZnO/Grafit elektrot 2) Yalın grafit elektrot(GPE) 3) Fe ₂ O ₃ /Grafit elektrot. (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, ΔE _s = 5 mV, ΔE = 50 mV, pH 5 B-R tamponu)	92
Şekil 4.24. 5 mg/L vardenafilin modifiye elektrotlar üzerinde DPS voltametri ile tayini 1) NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit 2) ZnO/Grafit 3) Yalın-MWCNT/ZnO/Grafit 4) COOH-MWCNT/ZnO/Grafit (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, ΔE _s = 5 mV, ΔE = 50 mV, pH 5 B-R tamponu)	95
Şekil. 4.25. SWS voltametri ile 5 mg/L vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla tayininde NH ₂ fonksiyonlu MWCNT süspansiyonunun etkisi (pH 3 B-R tamponu, E _b = 0 mV, t _b = 60 s, f = 100 Hz, ΔE _s = 5 mV, ΔE = 50 mV)	96
Şekil 4.26. ZnO nanopartiküllerle modifiye edilmiş grafit elektrodun (ZnO/Grafit) SEM görüntüsü	96
Şekil 4.27. Yalın MWCNT süspansiyon ile modifiye edilmiş elektrodun (MWCNT/ZnO/Grafit) SEM görüntüsü	97
Şekil 4.28. COOH fonksiyonlu MWCNT süspansiyon ile modifiye edilmiş elektrodun (COOH-MWCNT/ZnO/Grafit) SEM görüntüsü	97
Şekil 4.29. NH ₂ fonksiyonlu MWCNT süspansiyon ile modifiye edilmiş elektrodun (NH ₂ - MWCNT/ZnO/Grafit) SEM görüntüsü	98
Şekil 4.30. NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot ile 50,0 mg/L vardenafilin farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları (pH 3,0 fosfat tamponu)	99
Şekil 4.31. 5,0 mg/L vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla farklı pH'lardaki SWS voltamogramları (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, f = 100 Hz, ΔE _s = 5 mV, ΔE = 50 mV)	101
Şekil 4.32. 5,0 mg/L vardenafilin modifiye NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit elektrotla farklı pH'lardaki DPS voltamogramları (E _b = 0 mV, t _b = 60 s, ΔE _s = 5 mV, ΔE = 50 mV)	103
Şekil 4.33. 5,0 mg/L vardenafilin SWSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki tayininde biriktirme potansiyelinin etkisi	106

Şekil	Sayfa
Şekil 4.34. SWSV ile 5,0 mg/L vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla tayininde a) puls genliğinin ve b) basamak potansiyelinin etkisi	106
Şekil 4.35. 5,0 mg/L vardenafilin SWSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla tayininde frekansın optimizasyonu	107
Şekil 4.36. 5,0 mg/L vardenafilin SWSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrotla tayininde biriktirme süresinin optimizasyonu	108
Şekil 4.37. 5,0 mg/L vardenafilin DPSV ile NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki tayininde biriktirme potansiyelinin optimizasyonu	109
Şekil 4.38. 5,0 mg/L vardenafilin DPSV ile NH ₂ fonksiyonlu MWCNT/ZnO/Grafit Modifiye elektrot üzerindeki tayininde biriktirme süresinin optimizasyonu	109
Şekil 4.39. Vardenafilinin kalibrasyonu için NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot ile elde edilen SWS voltamogramları a) pH 3,0 fosfat t amponu b) 0,02 mg/L vardenafil c) 0,05 mg/L vardenafil d) 0,1 mg/L vardenafil e) 0,2 mg/L vardenafil f) 0,5 mg/L vardenafil g) 1,0 mg/L vardenafil ($\Delta E_b=9$ mV, $f=60$ Hz, $\Delta E=40$ mV, $t_b=250$ s $E_b=300$ mV)	110
Şekil 4.40. Vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot ile SWS voltamogramlarından elde edilen kalibrasyon grafiği. (pH 3,0 fosfat tamponu)	111
Şekil 4.41. Vardenafilin kalibrasyonu için NH ₂ -MWCNT/ZnO/grafit modifiye karbon elektrot ile elde edilen DPS voltamogramları a) 10 mL pH 3,0 fosfat tamponu b) 0,01 mg/L vardenafil c) 0,02 mg/L vardenafil d) 0,05 mg/L vardenafil e) 0,1 mg/L vardenafil f) 0,2 mg/L vardenafil g) 0,5 mg/L vardenafil ($t_b=300$ s, $E_b=400$ mV)	112
Şekil 4.42. Vardenafilin NH ₂ -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki DPS voltamogramlarından kalibrasyon grafiği	113
Şekil 4.43. Vardenafilin önerilen elektro-yükseltgenme mekanizması	121
Şekil 4.44. 50,0 mg/L fomesafenin MWCNTP elektrot üzerinde farklı potansiyel tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları (pH 3,0 B-R tamponunda)	123
Şekil 4.45. 5,0 mg/L fomesafenin MWCNTP elektrotla farklı pH'lardaki SWS voltamogramları (a) Blank b) 0,1 M H ₂ SO ₄ c) 0,01 M H ₂ SO ₄ d) pH 2,0 B-R tamponu e) pH 3,0 B-R tamponu f) pH 4,0 B-R tamponu g) pH 5,0 B-R tamponu h) pH 6,0 B-R tamponu, ($E_b=0$ mV, $t_b=60$ s, $f=100$ Hz, $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E=0$ mV)	125

Şekil	Sayfa
Şekil 4.46. 5,0 mg/L fomesafenin MWCNTP elektrot üzerinde SWSV ile tayininde pik potansiyeline ve pik akımına pH'nın etkisi (■ pik potansiyeli (E_p) ▲ pik akımı (I_p)	126
Şekil 4.47. 5,0 mg/L fomesafenin MWCNTP elektrodu üzerinde SWSV ile tayininde biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresinin etkisi	127
Şekil 4.48. 5,0 mg/L fomesafenin SWSV ile MWCNTP elektrodu üzerinde tayininde frekans (f), basamak potansiyeli (ΔE_b) ve puls genliğinin (ΔE) optimizasyonu	127
Şekil 4.49. Fomesafenin SWSV ile MWCNTP elektrodu üzerindeki tayini için kalibrasyon grafiği (a) 10 mL pH 3,0 B-R tamponu b) 1,0 mg/L fomesafen c) 2,0 mg/L fomesafen d) 3,0 mg/L fomesafen e) 4,0 mg/L fomesafen f) 6,0 mg/L fomesafen g) 8,0 mg/L fomesafen h) 10,0 mg/L fomesafen i) 15,0 mg/L fomesafen j) 20,0 mg/L fomesafen, $E_b=0$ mV, $t_b=30$ s, $f=30$ Hz, $\Delta E_s=8$ mV, $\Delta E=20$ mV)	128
Şekil 4.50. Fomesafenin MWCNTP elektrodu üzerinde SWS voltametriyle tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği	129
Şekil 4.51. Fomesafen katkılı ticari kayısı suyunda MWCNTPE kullanılarak SWSV ile fomesafen tayini (a)10 ml pH 3,0 B-R tamponu b) kayısı suyu numunesi c) b + 2,5 mg/L fomesafen katkılı kayısı d) c + 2,5 mg/L fomesafen katkılı kayısı e) d + 2,5 mg/L fomesafen f) e + 2,5 mg/L fomesafen ($E_b=0$ mV, $t_b=30$ s, $f=30$ Hz, $\Delta E_s=8$ mV, $\Delta E=20$ mV)	131
Şekil 4.52. Fomesafenin tayininde Pb (II) girişim etkisinin EDTA ile giderilmesi (a) 5 mg/L fomesafen b) a + 5 mg/L Pb (II) c) b + 5mg/L Pb (II) d) c + 5 mg/L Pb (II) e) d + aşırı EDTA ($E_b=0$ mV, $t_b=30$ s, $f=30$ Hz, $\Delta E_s=8$ mV, $\Delta E=20$ mV, pH 3 B-R tamponu)	134
Şekil 4.53. 5 mg/L fomesafenin SWSV ile tayininde girişim etkileri incelenen diğer pestisitler	134
Şekil 4.54. (a) 5,0 mg/L fomesafenin pik akımının frekans (f) ile değişimi. (b) 5,0 mg/L fomesafenin pik potansiyelinin frekans (f) ile değişimi. (pH 3 B-R tamponu)	135
Şekil 4.55. Fomesafenin MWCNTP elektrot üzerinde önerilen elektro-indirgenme mekanizması	136

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Platin tel elektrotlar	13
Resim 2.2. Camsı karbon elektrot ve üç boyutlu yapısı	21
Resim 2.3. Kalem grafit elektrot	21
Resim 2.4. Perde baskılı karbon elektrot	22
Resim 2.5. Karbon fiber malzemenin yapısı	23
Resim 2.6. Katı ince levha bor katkılı elmas elektrot	24
Resim 3.1. BAS model elektrokimyasal analizör	53
Resim 3.2. Autolab model elektrokimyasal analizör	53
Resim 3.3. pH metre	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
ΔE	Puls genliği
ΔE_s	Basamak yüksekliği
A	Elektrot yüzey alanı
C	Derişim
C_O	O yükseltgenmiş türünün derişimi
C_R	R indirgenmiş türünün derişimi
D	Difüzyon katsayısı
E	Elektrot potansiyeli
E°	Standart elektrot potansiyel
$E_{1/2}$	Yarı dalga potansiyeli
E_a	Aktifleşme enerjisi
E_b	Biriktirme potansiyeli
E_p	Pik potansiyeli
E_{sw}	Kare dalga genliği
F	Faraday sabiti
f	Frekans
G	İletkenlik
i	Akım
i_d	Difüzyon akımı
i_s	Sınır akımı
$J_o(x,t)$	Yükseltgenmiş türün akısı
m	Civanın akış hızı
n	Aktarılan elektron sayısı
Q	Yük miktarı

Simgeler	Açıklamalar
-----------------	--------------------

R	Evrensel gaz sabiti
r	Korelasyon katsayısı
R	Direnç
s	Standart sapma
T	Sıcaklık
t	Süre
T_{maks}	Azami derişim
V_{Hg}	Civa elektrodun hacmi
W	Pik genişliği
W_{1/2}	Yarı pik genişliği
α	Elektron aktarım katsayısı
μA	Mikroamper
μL	Mikrolitre
v	Potansiyel tarama hızı

Kısaltmalar	Açıklamalar
--------------------	--------------------

AdSV	Adsorptif sıyırma voltametri
ASV	Anodik sıyırma voltametri
BH	Bağıl hata
B–R	Britton-Rabinson tamponu
BSS	Bağıl standart sapma
COOH-MWCNT	Karboksilik fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp
CSV	Katodik sıyırma voltametri
CV	Dönüşümlü voltametri
DME	Damlayan cıva elektrot
DMF	Dimetil formamid
DPSV	Diferansiyel puls sıyırma voltametri
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
FIA	Akış enjeksiyon analiz

Kısaltmalar	Açıklamalar
GCE	Camsı karbon elektrot
HMDE	Asılı cıva damla elektrot
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LC	Sıvı kromatografisi
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
MFE	Cıva film elektrot
MO	Metil oranj
MRL	Maksimum kalıntı limiti
MS	Kütle spektroskopisi
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
NH₂-MWCNT	Amin fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp
OSW	Osteryoung kare dalga
PDE	Fosfodiesteraz
PSV	Potansiyometrik sıyırma voltametri
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SWCNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
SWSV	Kare dalga sıyırma voltametri
SWV	Kare dalga voltametri
TiO₂-MWCNTPE	TiO ₂ ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

1800 yılında keşfedilen ilk elektrokimyasal cihaz olan volta pilinden bu yana, modern elektrokimyanın temelleri ile birlikte geliştirilen modifiye elektrotlar son yirmi yılda ilgi çeken bir çalışma alanı olmuştur. Elektrokimyasal metotlar polarografinin temellerini oluşturan Çek kimyager Jaroslav Heyrovsky (Patriarche, Chateau-Gossekin, Vandenbalck 1979); (Williard, Merrit, Dean, Settle 1981) ile başlamış ve son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte analitik yöntemler arasında önemli bir yer almıştır. 1980'li yıllardan itibaren mekanik veya kimyasal yollarla modifiye edilmiş elektrotların geliştirilmesinde polimerlerin (Bagheri, Shirzadmehr, Rezaei, 2015; Cotchim, Thavarungkul, Kanatharana, Limbut 2015), organik ligandların (Nourifard, Payehghadr, Kalhor, Nejadali 2015; Jin, Lee, Kang, Heo, Shin, Cha, Nam, Lee, Helal, Kim, Intaek Jeong, Shim, 2015), inorganik killerin (Kemmegne-Mbougouen, Angnes, 2015; Kemmegne-Mbougouen ve Angnes, 2015; Azad, Prajapati, Ganesan, 2015) ve metal-metal oksit nanopartiküllerin (Mazloun-Ardakani, Ahmadi, Mahmoudabadi, Khoshroo, Heydar, 2014; Erogul, Bas, Ozmen, Yildiz, 2015; Idris, Mabuba, Arotiba, 2015; Rafati, Afraz, Hajian, Assari, 2014; Vahedi, Karimi-Maleh, Baghayeri, Sanati, Khalilzadeh, Bahrami, 2013) önemli rolü olmuştur. Modifiye elektrotlar elektroaktif maddelerin indirgenme veya yükseltgenme süreçlerinde etkin ara yüzey oluşturarak daha duyarlı ve daha seçici analizlerin yapılmasını yanısıra daha kısa elektrot tepkime süresiyle önemli birer analitik sensör halini almışlardır.

Gelişen teknoloji ile birlikte elektrokimya güneş enerjisinin dönüşümü ve depolanması, farmasötik ve tarımsal ilaç etken maddelerin tayini, korozyon önleme, elektrokromik malzemelerin üretilmesi, iyon seçici elektrotlar ve biyosensörlerin geliştirilmesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Güney, 2010). Maddenin elektrik enerjisiyle etkileşimi sonucu meydana gelen fiziksel veya kimyasal değişimleri konu alan elektrokimya, günlük hayatta geniş alanlara yayılmış ve rutin analizlerde de yaygın olarak kullanılmaktadır.

Farmasötik ve tarımsal ilaç etken madde tayinlerine yönelik birçok voltametrik, amperometrik, potansiyometrik yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında duyarlılık, seçicilik ve hassasiyet açısından voltametrik yöntemler diğer elektroanalitik yöntemlere göre daha üstündür. Elektroanalitik yöntemler diğer analitik yöntemlerle karşılaştırıldığında, seçicilik, hassasiyet, analiz süresi, daha az ön işlem gerektirmesi ve

matriks ortamlarda tayin yapılabilmesi gibi üstünlüklere sahiptir (Wang, 2006; Bozal-Palabıyık, 2015).

Nobel Kimya Ödüllü Jaroslav Heyrovsky tarafından temelleri atılan polarografi (Giacomino, Redda, Squadrone, Rizzi, Abete, La Gioia, Toniolo, Abollino, Malandrino, 2017; Rana, Mittal, Singh, Singh, Banks, 2017) voltametri tekniğinin gelişmesinde öncü olmuştur. Daha sonra bunu puls teknikleri, kronopotansiyometri, dönüşümlü voltametri ve amperometrik yöntemlerin geliştirilmesi takip etmiştir. Günümüzde değişik voltametrik tekniklerle farmasötik ilaç ve zirai ilaç etken maddelerin doğru, hassas ve eser miktarlardaki tayinlerine yönelik çok sayıda çalışmalar mevcuttur (Amiri, Rezapour, Bezaatpour, 2014; Piech, Rumin, Paczosa-Bator, 2014; Naik, Ashi, Nandibewoor, 2015; Brycht, Burnat, Nosal-Wiercinska, Skrzypek, 2015; Dogan-Topal, Bozal-Palabıyık, Uslu, Ozkan, 2013; Demir ve İnam, 2014; Mercan, İnam, Aboul-Enein, 2011; Brycht Kacmarska, Uslu, Ozkan, Skrzypek, 2016; Ghalkhani, Beheshtian, Salehi, 2016; Tang ve Jin, 2016; İnam ve Çakmak, 2013).

Son yıllarda voltametrik analizlerde civa çalışma elektrodunun alternatifi olarak yeni nesil camsı karbon, karbon pasta, grafit ve bor katkılı elmas elektrotlar kullanılmaktadır. Bu elektrotlar fiziksel veya kimyasal yöntemlerle modifiye edilebilmektedir. Modifiye elektrotların geliştirilmesinde en temel malzeme karbondur. Modifiye elektrotların geliştirilmesinde demir (III) oksit (Bozal-Palabıyık ve Uslu, 2016; Al-Qasmi, Soomro, Aslam, Rehman, Ali, Danish, Ismail, Hameed 2016), çinko (II) oksit (Liu, Zhu, Chen, Ma, Yang, 2016; Fouladgar, 2016), titanyum (IV) oksit (Li, Sheng, Zou, Ye, 2016; Damiri, Pouretedal, Heidari, 2016), ve magnezyum oksit (Vahedi ve diğerleri 2013) gibi pek çok metal oksit nanopartiküller ile birlikte glisin (Zhang, Feng, Ding, Chen, He, Zhang, Dong, 2016; Narayana, Reddy, Gopal, Naidu, 2014) ve anilin (Su, Pan, Han, Lin, Hu, Wu, 2015; Popović, Jugović, Jokić, Knežević-Jugov, Stevanović, Grgur, Gvozdenović, 2015) gibi elektrokimyasal yolla elektrot üzerinde polimer oluşturabilen maddeler kullanılmaktadır. Bu maddelerin yanı sıra kil (Türker-Acar, Ortabay, Hisarlı, Atun, 2015; Azad diğerleri, 2015) ve bazı ligandlarda (Suyanta, Wardani, And Isa, 2014; Chaiyo, Chailapakul, Sakai, Teshima, Siangproh, 2013) yeni nesil elektrotlarının geliştirilmesinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada birer farmasötik ilaç olan tadalafil ve vardenafil ile zirai ilaç olan fomesafenin voltametrik tayinleri için yeni karbon temelli modifiye elektrotlar

geliştirilmiştir. Bu amaçla tadalafil, TiO_2 ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrodu üzerinde kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Vardenafil ise grafit, ZnO ve mineral yağ ile hazırlanan kompozit elektrotların yanısıra NH_2 fonksiyonel gruba sahip çok duvarlı karbon nanotüp içeren süspansiyonlarla modifiye edilmiş NH_2 fonksiyonlu MWCNT/ZnO/Grafit elektrot üzerinde diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV), kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri ile incelenmiştir. Fomesafen zirai ilacı ise çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) üzerinde kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri ile incelenmiştir. Geliştirilen karbon temelli modifiye elektrotların yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir.

Tadalafil, vardenafil ve fomesafenin elektrot yüzeyindeki indirgenme ya da yükseltgenme davranışları geniş bir pH aralığında çalışılmıştır. pH'a bağlı indirgenme ya da yükseltgenme davranışları belirlendikten sonra, en uygun tayin koşullarının belirlenebilmesi için destek elektrolit, frekans, biriktirme süresi gibi pik akımına etki eden parametrelerin optimizasyonu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Daha sonra belirlenen en uygun deney koşullarında, doğal numunelerdeki analitik tayinler gerçekleştirilmiştir. Son olarak kare dalga sıyırma voltametrisinde (SWSV) önemli bir parametre olan frekans ile dönüşümlü voltametri de önemli bir parametre olan tarama hızı çalışmalarından yararlanılarak, indirgenme ya da yükseltgenme tepkimesinde aktarılan elektron sayısı belirlenmiş, elektrot tepkime mekanizmaları önerilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

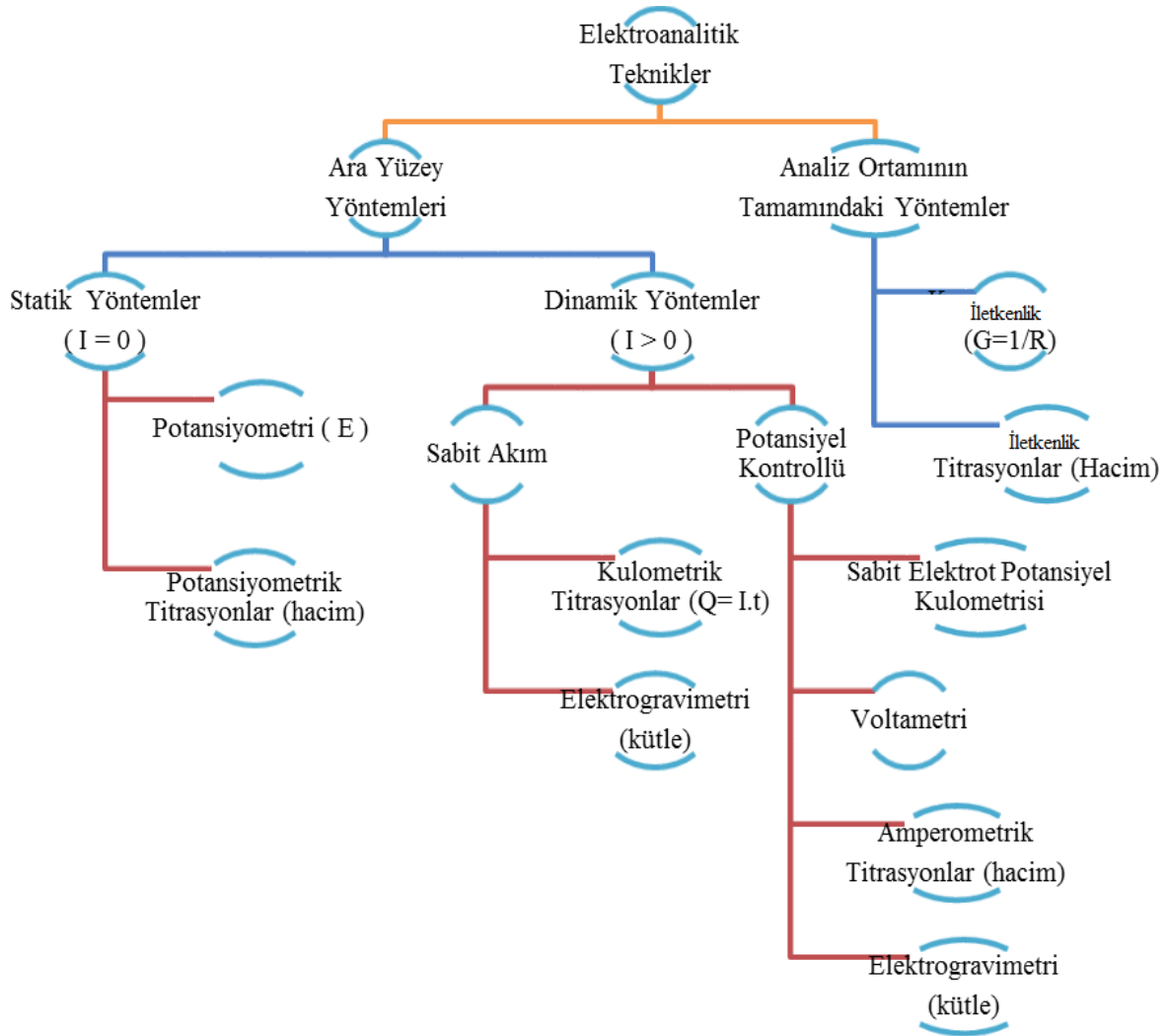
2.1. Elektrokimya

Akım, potansiyel ve yük gibi elektriksel faktörlerle maddenin etkileşimi sonucu meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimi konu alan bilim dalına “elektrokimya” denir (Abacı, Erdem-Gürsan, Kuralay, Karadeniz, 2008). Elektriksel faktörlerin kimyasal dönüşümleri gerçekleştirebilmesi ve kimyasal dönüşümlerin de elektriksel faktörleri üretebilmesi, elektroaktif maddelerin yükseltgenme veya indirgenme tepkime süreçlerine bağlıdır. Bu işlemler elektrokimyasal hücre adı verilen düzenek içerisinde gerçekleşir. Elektrokimyasal hücre, analitinde yer aldığı çözelti ortamını ile elektrot tepkimelerinin gerçekleştiği elektrot sistemini yani çalışma, referans ve karşıt elektrotlardan oluşan sistemi içermektedir.

Elektroanalitik kimya, analit içeren çözeltilerin elektriksel özelliklerinin ölçülmesi ve ölçülen elektriksel sinyallerden yararlanılarak miktar tayinine geçilmesine dayanan elektrokimyasal metotlar topluluğudur (Gündüz, 2004). Elektroanalitik ölçüm yöntemleri potansiyometrik (Statik yöntemler) ve potansiyostatik (Dinamik yöntemler) olmak üzere 2 temel noktaya dayanmaktadır. Potansiyometri, akımın sıfır veya sıfıra yakın olduğu yerde potansiyelin (E) derişime (C) bağlı olarak değişimine dayanan elektrokimyasal bir yöntemdir. Potansiyometrik yöntemlerde bir referans elektrot ile bir çalışma elektrodu analit içeren çözeltiliye daldırılır. Potansiyostatik yöntemler ise, çalışma elektrotunun yüzeyinde gerçekleşen yük transfer sürecinde meydana gelen akımın ölçülmesi prensibine dayanır. Bu elektrokimyasal teknikte analitin indirgenebilen ya da yükseltgenebilen gruplarının bulunması yani elektroaktif bir tür olması gerekir.

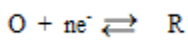
Analiz süresinin kısa olması, düşük tayin sınırlarına inilebilmesi ve mevcut analitik yöntemlere göre daha ekonomik olması nedeniyle elektroanalitik yöntemler tercih edilmektedir. Elektroanalitik yöntemler miktar tayini yanında indirgenme veya yükseltgenme elektrot tepkimelerindeki aktarılan elektron sayısının tespiti, adsorpsiyon, tepkime hızı ve denge sabitleri gibi verilerin elde edilmesinde önemli bir yere sahiptir (İnce, 2008). Kısacası elektroaktif türlerin nicel ve nitel analizleri hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca bu yöntemlerde kullanılan kimyasal maddelerin, özellikle organik çözücülerin miktarının çok az olması çevre açısından oldukça önemlidir (Anastas ve Chief,

2000).



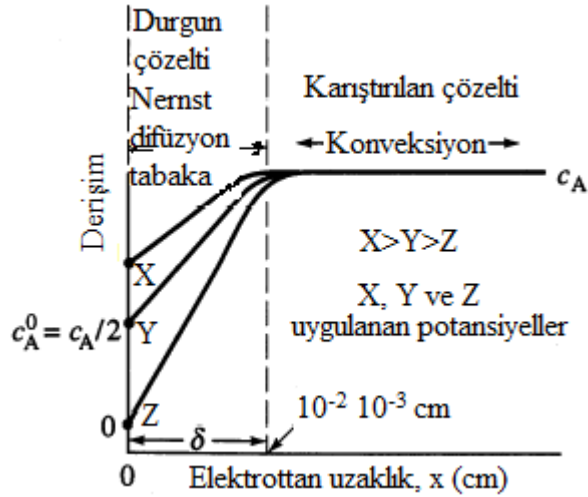
Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi (I=akım, E= potansiyel, R=direnç, G=iletkenlik, Q=yük miktarı, t=zaman)

Potansiyostatik (Dinamik) yöntemler diğer analitik yöntemlere göre daha az maliyetli, daha duyarlı, daha seçici ve geniş bir potansiyel çalışma aralığına sahip olmaları nedeniyle rutin analizler için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin temel prensibi analitin yükseltgenme veya indirgenme tepkimesi esnasında ortaya çıkan akımın ölçülmesidir.



Elektrot tepkimesinde, akım-zaman ilişkisinde meydana gelen değişiklik Şekil 2.2'deki, derişim-zaman grafiğinde gösterilmiştir. Uygulanan potansiyel taramasıyla yükseltgenmiş türün (O) yüzeydeki derişimi sıfır oluncaya kadar yüzeye yakın bir yerde derişim farkı

oluşur. Yükseltgenmiş tür (O), difüzyon tabakası olarak bilinen ve kalınlığı δ ile verilen çözelti bölgesinde uygulanan potansiyelle azalır.



Şekil 2.2. Elektrot yüzeyindeki mesafe derişim profili

Bu tür elektrot tepkimelerinde ilgili parametrelerin Nernst eşitliğinde yerlerine konulmasıyla aşağıdaki bağıntı elde edilir.

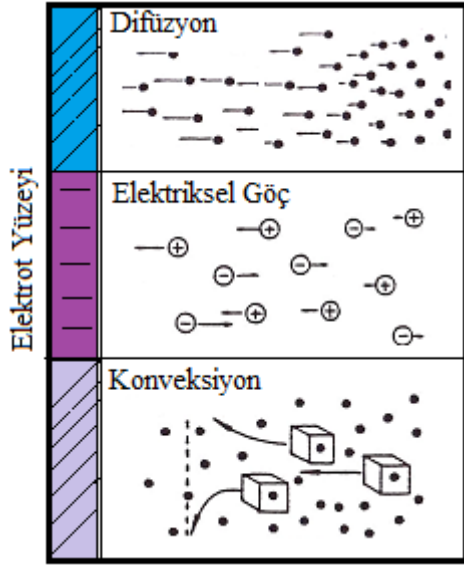
$$E = E^{\circ} + \frac{2,3 RT}{nF} \log \frac{C_O(0, t)}{C_R(0, t)}$$

Burada, E° indirgenen ya da yükseltgenen türün standart elektrot potansiyeli, R evrensel gaz sabiti ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T Sıcaklık (K), n aktarılan elektron sayısı ve F Faraday sabitidir (96485 kulon/mol).

Elektrokimyasal tepkimeler birkaç basamakta gerçekleşebilir. Kinetik olarak en yavaş olan basamak tepkime hızını belirler. Genel olarak elektrot tepkimeleri, analitin çalışma elektrodunun yüzeyine taşınması (kütle taşınması) ve ara yüzeyde elektron aktarımını takiben ürünün ana çözeltiliye taşınması ile gerçekleşir. Bazı tepkimelerde ise elektron aktarımından önce çözeltilide gerçekleşen bazı kimyasal ve yüzey adsorpsiyon işlemleri bulunmaktadır.

Elektrokimyasal tepkimede kütle taşınması ya da elektron aktarımı deneysel

parametrelerden etkilenir. Elektrot malzemesinin yapısı, destek elektrolit türleri uygulanan potansiyel ya da biriktirme süresi gibi parametreler analitin elektrot yüzeyine taşınmasını ve elektron aktarımını etkiler. Analitin çalışma elektrodunun yüzeyine taşınma işlemi üç farklı yolla gerçekleşir (Şekil 2.3). Bunlar difüzyon, elektriksel göç ve konveksiyondur (Olson ve LaCourse, 2004).



Şekil 2.3. Elektrot yüzeyine kütle taşınma yolları

Difüzyon genel olarak analitin derişimin daha fazla olduğu ana çözültiden elektrot yüzeyine doğru taşınmasıdır. Derişim farkından dolayı elektroaktif tür elektrot yüzeyine doğru taşınır. Voltametrik analizlerin gerçekleştiği hücrelerde difüzyon ile madde taşınması Fick tarafından ortaya konulan aşağıdaki bağıntıya göre gerçekleşir (Ciobanu ve ark., 2007).

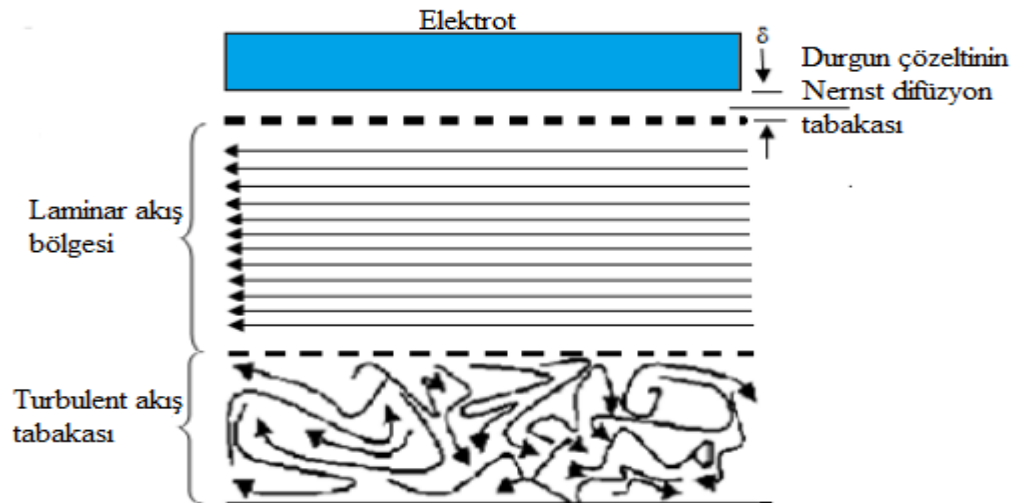
$$-J_o(x,t) = D_o \frac{\partial C_o(x,t)}{\partial x}$$

Fick'in birinci kanununda yer alan x , maddenin elektrot yüzeyine uzaklığını (cm türünden), t zaman (s cinsinden), C_o (mol/cm³) ana çözültideki derişimi ifade eder. $J_o(x,t)$ (mol/(cm²s)) maddenin akısını, D_o (cm²/s) ise difüzyon katsayısını ifade eder. Fick'in diğer kanununda ise derişimde zamanla meydana gelen değişim, akının hücre içerisinde konumu ile ilişkilendirilir. Kısacası yüzey derişiminin hem zaman hem de uzaklığa bağlı olarak değişimi aşağıdaki formülle ortaya konulmuştur (Ciobanu, Wilburn, Krim, Cliffler, 2007).

$$\frac{\partial^2 C_O(x,t)}{\partial t} = D_O \frac{\partial^2 C_O(x,t)}{\partial x^2}$$

Kütle aktarımının bir başka şekli ise elektriksel göçtür. Genel olarak yüklü taneciklerin potansiyel uygulanan ara yüzeyde elektriksel yüklerine göre hareket etmesidir. Elektrostatik etkileşimin meydana geldiği elektrokimyasal hücrede katyonlar katoda, anyonlar anoda doğru göç eder. Kısacası elektrot yüzeyine doğru yüklü taneciklerin elektrostatik göçle çekilerek taşınmasıdır (Pletcher ve Walsh, 1990; Tural, Gökçel, Ertaş, 2003).

Kütle aktarımının son şekli ise konveksiyondur ve bir maddenin elektrot yüzeyine karıştırma ya da çözelti akışı gibi mekanik bir güç uygulanmasıyla madde taşınması olayına denir. Sıyırma voltametrisinde konveksiyonla yani karıştırmayla madde taşınması genellikle pik akımını artırıcı bir etki sağlar (Olson ve Lacourse, 2004; Bozal-Palabıyık, 2015). Çözeltinin karıştırılması esnasında ise karıştırma hızına bağlı olarak Laminar akış ve Turbulent akış bölgesi olmak üzere iki farklı bölge oluşur (Şekil 2.4). Laminar akış bölgesi karıştırma hızının az olduğu durumlarda ortaya çıkar. Turbulent akış bölgesi karıştırma hızının yüksek olduğu durumlarda meydana gelir. Bu bölgede akış düzensiz ve dalgalıdır. Karıştırılan bir elektrokimyasal hücrede çalkantılı akış bölgesi elektrot yüzeyinden uzakta iken, laminar akış bölgesi elektrot yüzeyine yakındır (Skoog ve ark., 2004).



Şekil 2.4. Elektrot yüzeyi ile çözelti arasındaki tabakalar(Skoog, West, Holler, 1996)

Bu akış bölgeleri ile elektrot yüzeyi arasında, elektrot yüzeyine δ cm uzaklıkta akış hızının sıfıra çok yakın olduğu bir bölge vardır ki bu bölgeye “Nernst Difüzyon Tabakası” adı verilir (Skoog West, Holler, Crouch, 2004). Bu tabakada madde taşınması sadece difüzyonla gerçekleşir. Bu tabakanın kalınlığı karıştırma hızına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Masuko, Osaka, Ito, 1996).

Bir voltametrik hücrede akım, potansiyel ve elektrot tepkime hızını etkileyen bazı faktörler bulunmaktadır. Bu faktörleri aşağıdaki gibi sıralayabiliriz;

- Elektrot yüzeyinde kütle aktarımı
- Elektron aktarımının kinetiği
- Elektron aktarımında önce ve sonra oluşan kimyasal tepkime
- Adsorpsiyon, desorpsiyon veya kristalleşme gibi diğer yüzey tepkimeleri (Ciobanu ve ark., 2007)

Temel olarak bir elektrokimyasal hücreden akım geçtiğinde çalışma elektrodunun yüzeyinde anodik ve katodik polarizasyon gerçekleşir. Bu akım-gerilim $I = f(E)$ eşitliği ile ifade edilir. Burada ki E çalışma elektrot ile referans elektrot arasında uygulanan gerilimi gösterir.

Elektrokimyasal hücrede polarizasyon üç şekilde meydana gelebilmektedir. Birincisi, derişim polarizasyonudur ve analitin ana çözeltideki derişimiyle elektrot yüzeyindeki derişim farkından kaynaklanır. İkincisi ise omik polirazyonudur ve çözelti direnci ile ilişkilidir. Sonuncusu da kinetik polarisazyon olup elektron aktarım hızına bağlıdır (Bagotsky, 2006; Olsun ve LaCourse, 2004).

Meydana gelen üç farklı polarizasyon, elektrot yüzeyinde aşırı gerilime (η) neden olur. Aşırı gerilim elektrodun polarize olduğu şartlarda termodinamik potansiyelden daha fazlasının uygulanmasıdır. Normal şartlarda gerçekleşen bir elektrokimyasal tepkimede hücre potansiyeli şöyle hesaplanır:

$$E_{\text{hücre}} = E_{\text{katot}} - E_{\text{anot}} - IR$$

Aşırı gerilim varlığında ise hücre potansiyeli aşağıdaki gibi hesaplanır (Iwunze, 2008).

$$E_{\text{hücre}} = E_{\text{katot}} - E_{\text{anot}} - IR - \eta$$

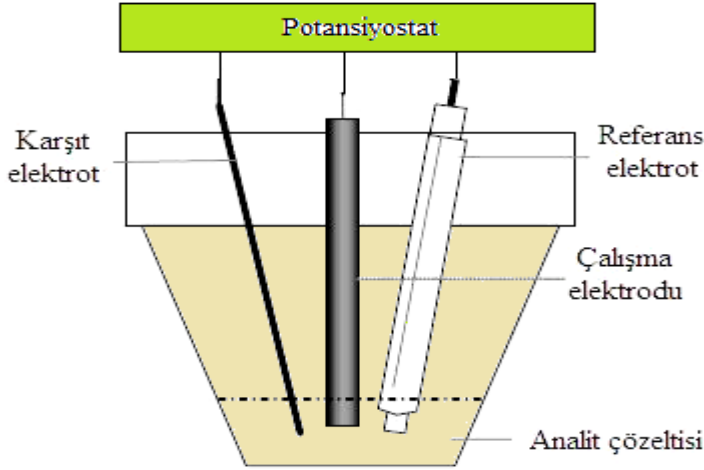
2.2. Elektrokimyasal Hücreler

Elektrokimyasal hücreler ikili ve üçlü elektrot sistemi olmak üzere 2 grupta toplanabilir. İki elektrotlu hücrede bir çalışma elektrodu (indikatör elektrot) ve bir karşılaştırma elektrodu (referans elektrot) bulunur. Bu tip bir elektrokimyasal hücre sistemi Şekil 2.5’de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. İki elektrotlu bir hücrenin şematik gösterimi

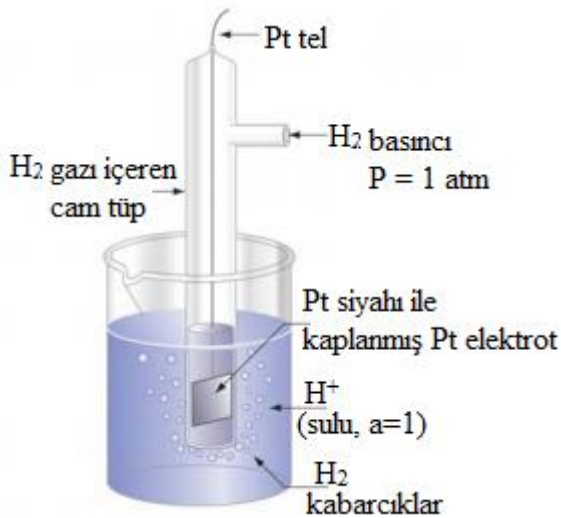
Voltametik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan üçlü elektrokimyasal hücre sistemi çalışma, referans ve karşıt elektrotlardan oluşur. Üçlü elektrot sisteminde hücre genellikle 5 – 10 mL hacminde olup içerisine daldırılmış çalışma, referans ve karşıt elektrotlar içerir (Şekil 2.6). Çalışma elektrodu, yüzeyinde elektrot tepkimelerin gerçekleştiği ve zamana bağlı olarak gerilim uygulamasının yapıldığı elektrottur. Referans elektrot ise polarize olmayan sabit bir potansiyele sahip, çalışma elektrodunun geriliminin kıyaslandığı elektrottur. Referans elektrot olarak gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) ya da doymuş kalomel (Hg/Hg₂Cl₂) elektrotlar kullanılır. Referans elektrotların potansiyel değeri sabittir ve derişimden bağımsızdır. Uygulanan gerilimle polarize olmazlar. Karşıt elektrot ise, genel olarak platin tel ya da grafit çubuk gibi inert bir maddeden oluşan ve elektrokimyasal hücre içerisinde referans elektrodun polarize olmasını engelleyerek akımın aktarılması sağlayan elektrottur (Ciobanu ve diğerleri, 2007).



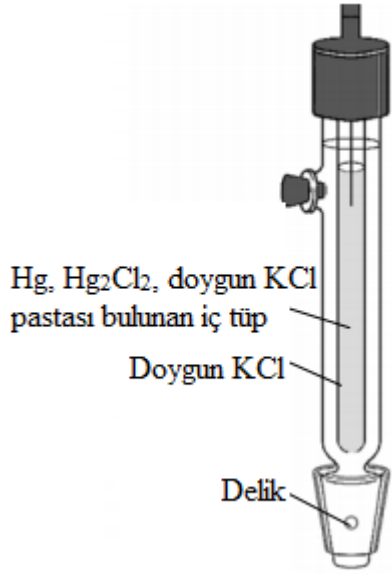
Şekil 2.6. Üç elektrotlu bir hücrenin şematik gösterimi

2.2.1. Referans elektrotlar

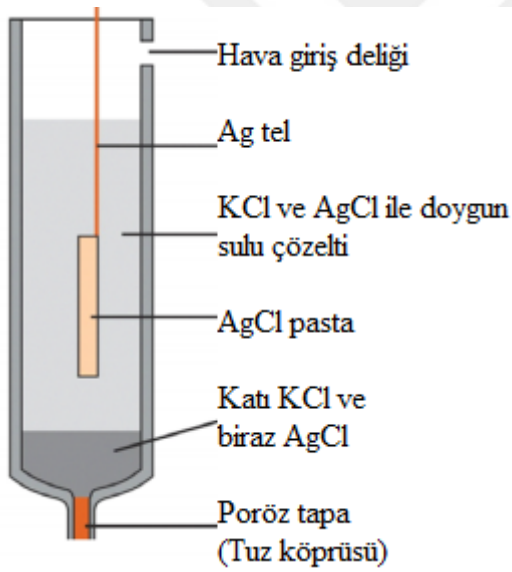
Çalışma elektrodunun potansiyelinin bağıl olarak ölçülebilmesine olanak sağlayan, kararlı bir potansiyele sahip ve polarize olmayan elektrotlara referans elektrotlar denir. Referans elektrotların akım uygulandığında potansiyelleri sabittir ve polarize olmazlar (Bard, Inzelt, Scholz, 2008). Referans elektrotlar kolay hazırlanabilmeli, potansiyeli ölçüm sırasında sabit kalmalı, Nernst eşitliğine uygun davranmalı ve tekrar tekrar kullanılabilir (Skoog ve diğerleri, 2004). Doygun kalomel elektrot (DKE) ve gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot yaygın olarak kullanılan referans elektrotlardır. Standart hidrojen elektrotunun (SHE) ise laboratuvar şartlarında kullanımı zordur.



Şekil 2.7. Standart Hidrojen Elektrodun (SHE) genel gösterimi



Şekil 2.8. Doymun Kalomel Elektrodun (DKE) genel gösterimi



Şekil 2.9. Ag/AgCl Referans Elektrodun genel gösterimi

2.2.2. Karşıt elektrotlar

Bir elektrokimyasal hücrede referans elektrodun polarize olmasını engelleyerek elektrik akımını indikatör elektroda aktaran elektrotlar karşıt elektrotlardır. Bu elektrotlar kimyasal olarak inert olan ve elektrik akımını ileten malzemelerden oluşur. Genellikle platin tel karşıt elektrot olarak kullanılmaktadır (Resim 2.1). Platin telin yanı sıra cıva havuzu da karşıt elektrot olarak kullanabilmektedir (Bard ve diğerleri, 2008).



Resim 2.1. Platin tel elektrotlar

2.2.3. İndikatör (Çalışma) elektrotlar

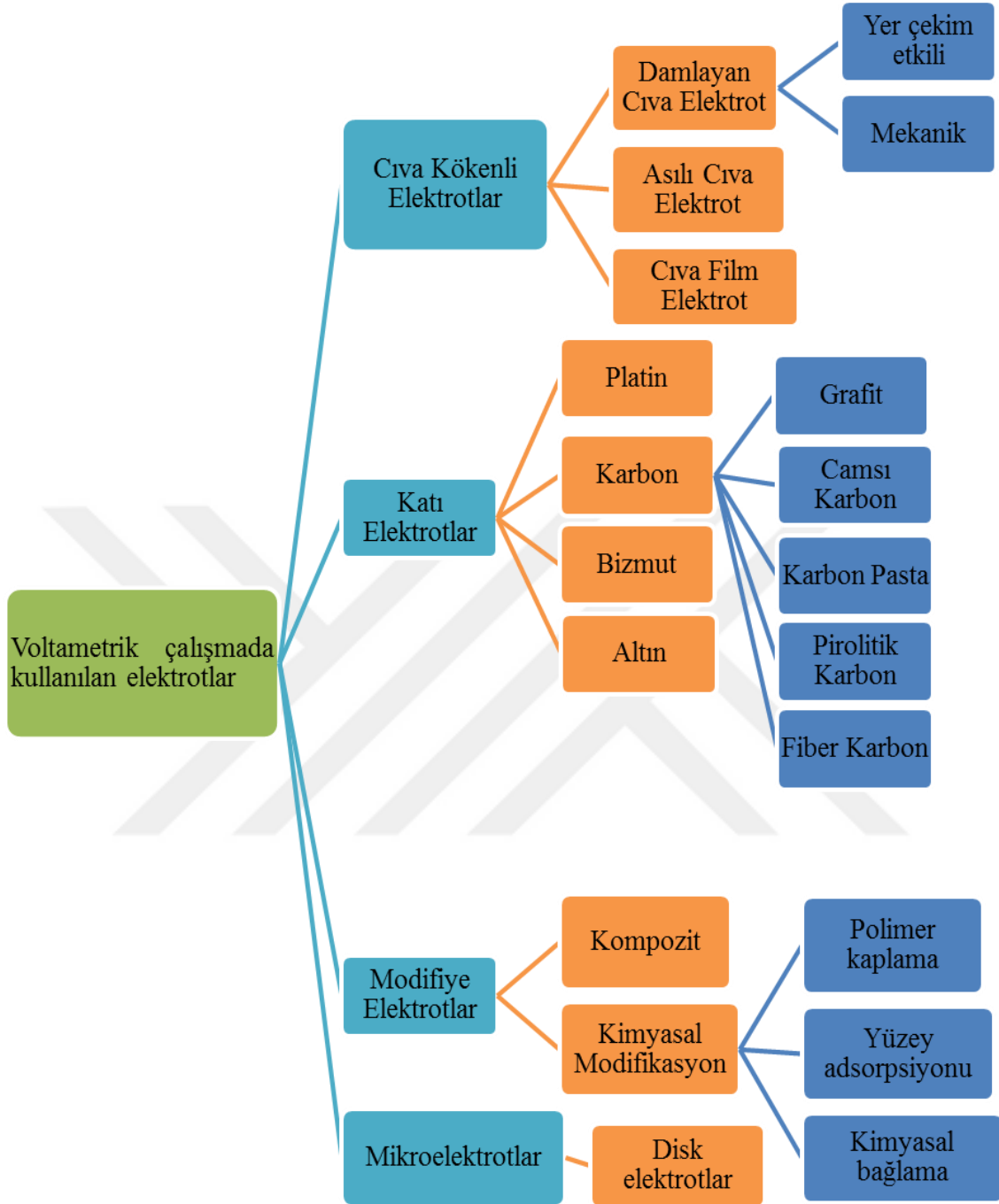
Çalışma elektrodu, elektrokimyasal basamakların gerçekleştiği elektrotlardır. Polarografinin temellerini oluşturan Çek kimyager Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilen cıva elektrotlardan günümüze kadar, birçok materyalden yapılmış çalışma elektrotları üretilmiştir (Giacomino ve diğerleri, 2017; Rana ve diğerleri, 2017; Jo, Her, Lee, Shim, Ban, 2017; Özcan, İlkbaş, Atılır-Özcan, 2017; Manasa, Ronald, Ashis, Ozma, Dhason, 2017). Basit çalışma elektrotlarının yanı sıra yapımı son derece zor ve karmaşık işlemler gerektiren çalışma elektrotları da bulunmaktadır. Basit çalışma elektrotları altın, platin, bizmut gibi metal malzemelerden üretilmiştir. 1980'li yıllarda fulleren'in keşfi ile başlayan ve 2010 yıllarında ise grafen ile devam eden karbon temelli elektrotlar indikatör elektrot olarak kullanılmaktadır. Ayrıca karbon temelli elektrotlar ile bazı nano malzemelerin (Zhan, Song, Tan, Hou, 2017), iletken polimerlerin (Huang, Bao, Hu, Wen, Zhang, Wang, 2017) ve organik ve inorganik maddelerin (Bayraktepe, Yazan, Polat, 2017) birlikte kullanıldığı modifiye elektrotlar gelecek vadede yeni kompozit elektrotlardır. Çalışma elektrotlarının şekilsel olarak birçok çeşidi bulunabilmektedir. Bunlar disk, tel, çubuk, tabaka ve küre halinde olabilir. Boyut olarak ise birçok farklı formasyonlar mevcuttur. Son zamanlarda ultra mikro elektrotlar diğer adıyla nano elektrotlar büyük ilgi görmektedir (Bard ve diğerleri, 2008; Jo ve diğerleri, 2017; Li, Li, Li, Long, 2012; Metters, Kadara, Banks, 2011).

Cıva elektrot ile başlayan ve günümüzde farklı şekil, boyut ve malzemeden oluşan sayısız çalışma elektrodu arasında seçim yapılırken, ilk olarak elektrodun çalışma potansiyel aralığı dikkate alınır. Pozitif potansiyel yönünü temel alındığında platin, altın ve karbon

elektrot ön plana çıkmaktadır. Negatif potansiyelerde ise cıva elektrot en avantajlı elektrottur. Cıva elektrodun yanı sıra sınırlı negatif potansiyel bölgesine sahip olan karbon temelli elektrotlarda kullanılabilir. Bu elektrotlar hem negatif hem de pozitif bölgelerde kullanılabilirler.

Bir çalışma elektrodu, ohmik direnci düşük olmalı, geniş bir çalışma potansiyeli aralığına sahip olmalı, kimyasal tepkimeye girmemeli (inert olmalı), düşük artık akıma sahip olmalı, elektrot yüzeyi homojen olmalı, kolaylıkla üretilebilmeli, düşük maliyetli ve düşük toksisiteye gibi özelliklere sahip olmalıdır (Merkoçi ve Alegret, 2007).

Voltametrik yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotlarını cıva elektrotlar, katı elektrotlar, modifiye elektrotlar ve mikro elektrotlar olmak üzere dört ana başlıkta toplayabiliriz (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması

Cıva elektrotlar

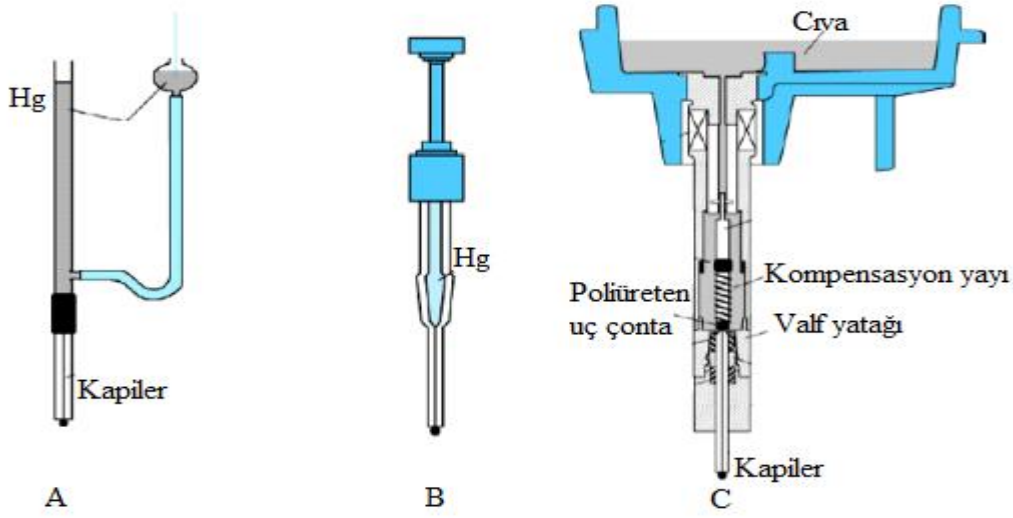
Cıva, polarografinin temellerini oluşturan ve en çok kullanılan çalışma elektrotlarından birisidir. Özellikle oda sıcaklığında sıvı olması, yüksek yüzey gerilimine sahip olması ve birçok metal ile amalgam oluşturabilmesi nedeniyle voltametrik çalışmalarda tercih edilmektedir. Bir diğer önemli özelliği ise yüksek hidrojen aşırı geriliminden dolayı geniş bir katodik potansiyel çalışma aralığına sahip olmasıdır (Komorsky-Lovrić, 2010, 276).

Cıva elektrotlar tekrarlanabilir, yenilenebilir ve pürüzsüz yüzeyi nedeniyle elektrot malzemesi olarak oldukça caziptir. Cıvanın dezavantajı, sınırlı bir anodik potansiyel çalışma aralığına sahip olması ve toksik oluşudur. Fakat gerekli tedbirler alındığı takdirde toksik özelliğinin bertaraf edilmesi mümkündür.

Cıva elektrodunun farklı türleri mevcuttur (Şekil 2.11). Bunlardan en çok kullanılanlar damlayan cıva elektrodu (DME), asılı cıva damla elektrodu (HMDE) ve cıva film elektrotudur (MFE). Damlayan cıva elektrot, cam bir kapiler borudan cıva haznesinde cıva basıncına göre ardı ardına damlayan cıvadan oluşur. Bu elektrot her yeni damla sonucu elde edilen temiz yüzey nedeniyle büyük avantaj sağlamaktadır. Hidrojen aşırı geriliminin büyük olması nedeniyle çinko, kadmiyum gibi termodinamik olarak hidrojeden daha zor indirgenen metallere bile asidik ortamlarda tayinine olanak sağlar. Elektrot yüzeyinin yenilenmesi nedeniyle tayinlerdeki tekrarlanabilirlik ve doğruluğu yüksektir.

Asılı cıva damla elektrot ise yüzey alanı birkaç milimetrekare olan ve statik bir etki ile asılı duran elektrottur. Bir cıva haznesi içine konulan cıva, mikrometrelik bir vida sıkıştırılarak istenen boyutta cıva damlası oluşumu sağlanır. Böylece kapiler cam borunun uç kısmında asılı halde cıva oluşturulur. Asılı cıva damlası ile yapılan tayinlerdeki çalışma ilkesi katı elektrotların çalışma mekanizmasına benzer olup cıva damlası üzerinde elektro-aktif maddelerin kalitatif ve kantitatif tayini gerçekleştirilebilir (Demir ve İnam, 2016; İnam ve Tekalp, 2012).

Cıva film elektrotlarda, eser miktardaki türlerin tayinleri için son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır (Yosypchuk, Fojta, Barek, 2010). Bazen ince amalgam film elektrot oluşturularak cıvanın toksik özelliği bertaraf edilebilmektedir. Cıva film elektrotlar genellikle, iletken bir malzeme olan camsı karbon elektrot yüzeyine cıva nitrat çözeltisinden katodik bir elektrodepozisyon yöntemiyle tutturulması sonucu elde edilir (Galus, 1996; Sarıgül, 2010).



Şekil 2.11. Cıva Elektrodunun Çeşitleri A) Cıva damla elektrodu B) Asılı cıva damla elektrodu C) Statik cıva damla elektrodu

Katı elektrotlar

Cıva elektrodun keşfi ile başlayan ve 1950'li yıllarından itibaren katı elektrotların geliştirilmesiyle geniş bir yelpazeye açılan elektroanalitik kimya, elektroaktif maddelerin eser miktarlardaki tayinlerine olanak sağlamıştır (Farghaly, Abdel Hameed, Abu-Nawwas, 2014). Negatif çalışma potansiyellerinde analizlerin gerçekleştirildiği cıva elektrotların yaygın kullanımına rağmen, pozitif potansiyellerdeki eksiklik bu alanda çalışanları alternatif elektrotların arayışına itmiştir. Cıva elektrot ile analitik tayinleri mümkün olmayan birçok organik molekülün tayin edilmesinde katı elektrotların geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bu katı elektrotlarla oldukça geniş bir anodik potansiyel aralığında çalışabildiğinden, cıva elektroduna göre organik türlerin analizinden üstünlük sağlamaktadır. Bazı katı elektrotlar akış enjeksiyon analiz (FIA) sistemlerinde de kullanılmaktadır (Wang, Liu, Wang, Yu, Peng, Zhu, 2017).

Bir malzemenin katı elektrot olarak kullanılabilmesi için bazı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olması gerekir. İdeal katı elektrotlar, iletken olmalı, kararlı bir yapıda bulunmalı, analitle herhangi bir kimyasal tepkimeye girmemeli, polarize olabilecek kadar küçük yüzey alanına sahip olmalı, pürüzsüz yüzey alanına sahip olmalı, kolay üretebilmeli, elektrot yüzeyine modifikasyon işlemleri uygulanabilmeli ve düşük maliyetle üretilebilmelidir (Swain, 2007).

Katı elektrotların yüzeyi voltametrik çalışmalarda dikkat edilmesi gereken en önemli hususlardan birisidir. Elektrot malzemesinin yüzey alanının homojen ve temiz olması gerekmektedir. Aksi takdirde analizlerin tekrarlanabilir olması mümkün değildir. Elektrot yüzeyinin homojen olmaması elektrot tepkimesine eşlik eden elektron transfer kinetiğini de etkilemektedir. Katı elektrotlarda temiz ve homojen bir yüzey elde edilebilmesi için elektrot yüzeyine genellikle parlatma, cilalama ve zımparalama gibi ön işlemler uygulanır. (Swain, 2007).

Elektrot yapımında birçok farklı malzeme kullanılmasına rağmen katı elektrot olarak kullanılan malzemeler temel alındığında, metal ve karbon temelli elektrotlar iki ana başlığı oluşturur.

Metal elektrotlar genellikle, soy metal malzemelerden üretilen katı elektrotlardır. Bunlardan en yaygınları platin ve altın olmakla birlikte gümüş, nikel ve bakır gibi metallerden üretilmiş çalışma elektrotları da bulunmaktadır (Wang, 2006). Metal elektrotların yüksek iletkenlik özellikleri, hızlı elektron transfer kinetiğine sahip olmaları, geniş bir yüzey alanına sahip olmaları ve geniş bir anodik potansiyel çalışma aralığına sahip olmaları gibi üstün özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca düşük zemin akımına sahip olmaları, düşük maliyetli olmaları ve eser miktarlarda madde tayinine olanak sağlamaları gibi önemli avantajları da bulunmaktadır (Uslu ve Özkan 2007). Buna karşın, metal yüzeyinde oksit tabakalarının oluşması, düşük hidrojen aşırı gerilimine sahip olmaları gibi eksiklikleri de bulunmaktadır. Buna ilaveten, sıyırma yöntemlerinde elektrot ile çözeltideki metal iyonlarının etkileşimi nedeniyle sistematik hatalar olabilmektedir (Uslu ve Özkan, 2007).

Karbon temelli elektrotlar elektrokimya alanında yeni bir devir açmıştır. Eşsiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmaları nedeniyle günümüzde en çok kullanılan çalışma elektrotlarının başında yer alırlar. Elektrik akımını iyi iletmeleri, geniş bir potansiyel çalışma aralığına sahip olmaları, zemin akımlarının düşük olması ve düşük maliyetli olmaları gibi bir çok önemli üstünlükleri bulunmaktadır (Demircigil, 2010; Terbouche ve ark., 2016; Sanghavi ve Srivastava, 2010; Ozkan ve Uslu, 2016). Ayrıca, karbon elektrotların birçok farklı şekilde bulunması, (toz, fiber, büyük bloklar, ince gözenekli tabaka, nanotüpler, fullerenler, grafit ve elmas gibi) bu elektrotlara ayrı ayrı özellikler katmaktadır. Karbon temelli elektrotları da kendi arasında üç alt grupta toplayabiliriz;

- Elmas Elektrotlar
- Grafit Elektrotlar
- Amorf karbon Elektrotlar

Bu elektrotlar elektrokimyasal uygulamaları açısından farklılık göstermektedir. Her bir elektrot temelde karbon yapılı olmasına rağmen fiziksel özellikleri bakımından farklı olmaları nedeniyle uygulama potansiyelleri (çalışma potansiyel aralığı), zemin akımı, elektron transfer kinetiği gibi elektroanalitik parametrelerde farklıdır. Bundan dolayı karbon temelli katı elektrot seçimi yapılırken aşağıdaki özellikler dikkate alınmalıdır (Uslu ve Ozkan, 2007);

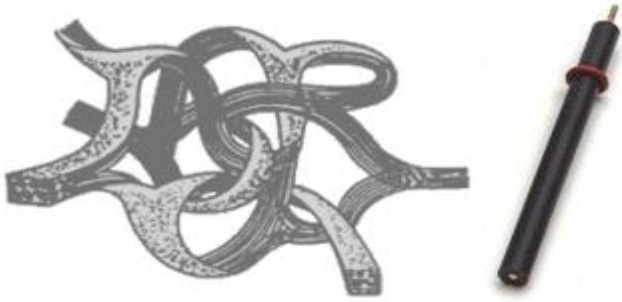
- Zemin akımı ve çalışma potansiyel aralığı
- Elektron transfer kinetiği
- Kararlılık ve tekrarlanabilirlik
- Adsorpsiyon

Karbon elektrotların yüzey morfolojisi temel alındığında, homojen ve heterojen olmak üzere ikiye ayrılabilir. Camsı karbon, grafit, perde baskılı elektrotlar, fulleren, karbon fiber ve elmas elektrotlar homojen, karbon pasta ve kompozit karbon pasta elektrotlar ise heterojen olarak sayılabilir.

Camsı karbon elektrotlar

Camsı karbon elektrotlar (GCE), polimerik (fenol-formaldehit) reçinenin inert atmosferde kontrollü olarak ısıtılması yoluyla hazırlanır. Karbonizasyon, oksijen, azot ve hidrojen uzaklaştırıldıktan sonra, 300 –1200 °C gibi yüksek sıcaklıklarda sağlanır. Bu yüzden yüksek sıcaklığa ve kimyasal tepkimelere karşı dirençlidirler. Üstün mekanik ve elektriksel özellikleri, geniş çalışma potansiyel aralıkları, kimyasal inertlik ve oldukça tekrarlanabilir olmaları nedeniyle elektroanalitik tayinlerde yaygın olarak kullanılırlar. Camsı karbon elektrodun yapısı, çapraz bağlı kurdeleler gibi grafit levhaların oluşturduğu saç yumağı şeklindedir (Resim 2.2). Ancak elektrokimyasal çalışmalardan önce camsı karbon elektrotların yüzeylerini aktive etmek ve yüksek tekrarlanabilirlik sağlamak için bir ön işlem yapılır. Bu işlemde genellikle alümina parçacıkları kullanılır ve elektrot yüzeyi

cilalanır. Daha sonra elektrot yüzeyi deiyonize su ile yıkanır. Elektrodun performansını arttırmak amacıyla camsı karbon elektrotların yüzeyleri bazen kimyasal ve fiziksel modifikasyona da tabi tutulur (Tang ve Jin, 2016; Kiss, David, Lazăr, Mihailciuc, Stamatın, Ciobanu, Ștefănescu, Nagy, Nahy, Ciucu, 2016; Zhao, Wang, Liu, Wang, 2016; Fan, Tian, Shuang, Dong, 2016; Öztekin, 2008; Chen, Tang, Wang, Liu, Luo, 2011). Böylece daha duyarlı ve tekrarlanabilir akımlar veren modifiye camsı karbon elektrotlar elde edilmiş olunur.



Resim 2.2. Camsı karbon elektrot ve üç boyutlu yapısı

Kalem grafit elektrotlar

Karbon temelli elektrotların en önemli eksikliği elektrokimyasal işlem sürecinde elektrot yüzeyine analitin ince bir tabaka şeklinde adsorplanmasıdır. Bu durum elektrodun duyarlılığı, seçiciliği ve tekrarlanabilirliği gibi önemli validasyon parametrelerini doğrudan etkilemektedir. Bu sorunu aşılmasında tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar alternatif olarak literatüre girmiştir (Ebbing ve Gammon, 2008) (Resim 2.3). Bu elektrotların ucuz olması, kolay elde edilebilmesi, mekanik dayanıklılığının yüksek olması ve kolay modifiye edilebilmesi gibi avantajları bulunmaktadır (Vu, Ertek, Cervenka, And Dilgin, 2013; Özcan ve Şahin, 2007; Özcan, Şahin, Şahin, 2008).



Resim 2.3. Kalem grafit elektrot

Perde baskılı karbon elektrot

Perde baskılı karbon elektrotlar (SPE) plastik ya da seramik bir malzeme üzerine perde baskı tekniği ile ince bir film elektrodun kaplanması sonucu elde edilir (Resim 2.4). Teknik olarak elektrot malzemesi bir perde kalemi yardımıyla inert yüzeye püskürtülür. Karbon ve platin bazlı materyaller çalışma elektrodu, gümüş baskı materyal ise referans elektrot olarak işlem görür. Yüzey püskürtme işleminde, 1 damla çözelti ile perde baskılı karbon elektrot elde etmek mümkündür. Bu teknik aynı zamanda biyosenör yapımında da sıklıkla kullanılmaktadır (Bard ve diğerleri, 2008).

Perde baskılı karbon elektrotlar tek kullanımlık olması ve tek ölçüm için kullanılması nedeniyle herhangi bir yüzey kirliliği söz konusu olmamaktadır. Her yeni ölçümde temiz yüzeyin oluşu biyosensör yapımında tercih nedenidir. Ayrıca kolay imal edilebilmesi ve kısa sürede seri olarak hazırlanması, yüzey modifikasyonlarının kolay bir şekilde gerçekleşmesi gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda elektroanalitik kimya alanında bu tür elektrotlarla yapılan çalışmalar yaygınlaşmıştır (Hosu, Constantinescu-Aruxandei, Jecu, Oancea, Doni, 2016; Tukur, Yusof, Hajian, 2015; Jo ve diğerleri, 2017; Li ve diğerleri, 2012; Metters ve diğerleri, 2011).



Resim 2.4. Perde baskılı karbon elektrot

Karbon fiber elektrotlar

Nanomalzemelerin geliştirilmesi ultramikro elektrotların üretimine olanak sağlamıştır. Karbon fiber elektrotların nano boyutlarda üretilebilmesi (Resim 2.5) ve küçük boyutlarda

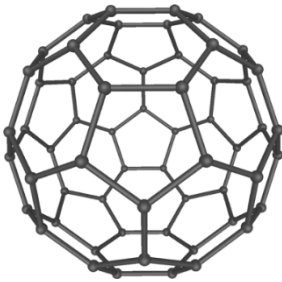
oluşu mikro hacim ve miktarlardaki elektroaktif maddelerin tayin edilebilmesine imkân tanımaktadır. Bu tür elektrotların üretimi fiber malzemelerin iyon ışmasına ya da yüksek ısıya maruz bırakılmasıyla gerçekleştirilir (Wang, 2006).



Resim 2.5. Karbon fiber malzemenin yapısı

Fulleren elektrotlar

Fullerenler beş ya da altı halkalı küresel veya uzatılmış kapalı kafes formunda bulunan karbon allotroplarıdır (Şekil 2.12). Kafes formundaki yapı atomları ve küçük molekülleri hapsediğinde bu bileşiklere endohedral fullerenler adı verilir. En sık kullanılan fullerenler arasında C_{60} ön plana çıkmaktadır. 12 beşgen ve 20 altıgenlik bir küresel poligondan oluşan yapı içerisinde 60 tane karbon atomu bulunur. Bu yapıda tüm karbon atomları sp^2 hibritleşmesi yapmaktadır. Ayrıca C_{70} , C_{76} , C_{78} , ve C_{84} gibi farklı sayıda karbon atomu içeren fullerenler de bulunmaktadır. Bunlar yüksek sayıda ortaklanmamış elektron çifti içerdiğinden elektron ilgileri yüksektir ve kolaylıkla indirgenebilirler, ancak yükseltgenmeleri için yüksek enerji gerektiğinden bu pek mümkün değildir (Bard ve diğerleri, 2008).

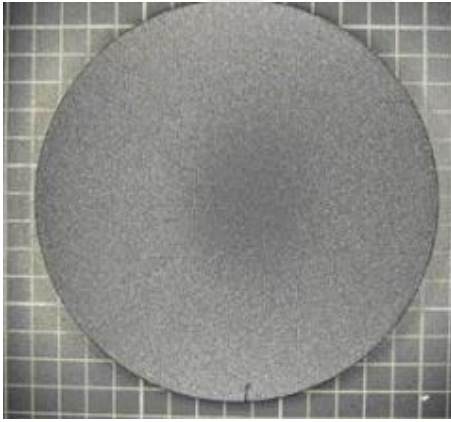


Şekil 2.12. C_{60} Fulleren'in yapısal gösterimi

Elmas elektrotlar

Bilinen en sert maddelerden olan elmas, karbon temellidir. Karbon yüksek basınç ve sıcaklığa maruz bırakıldığında elmas elde edilir. Elmas elektrotların diğer elektrotlara göre

bazı istisnai özellikleri vardır. Yüksek ısıya dayanıklılığı, UV, infrared (IR), ve mikrodalga radyasyonuna yönelik optik şeffaflığı, mekanik kararlılığı, kuvvetli asidik ve bazik bölgelerde çalışma olanağı sağlaması bu özelliklerinden bazılarıdır. Elmas yalnız başına elektriği iletmez. Elektrot olarak kullanılabilmesi için iletken bir malzemeye ihtiyaç vardır. Bunun için genelde bor ile katkılandırılırlar. Böylece bor doplanmış elektrotlar yarı iletken ve yarı metalik özellik kazanır. Son yıllarda bor katkılı elmas elektrotlar (BDE) voltametrik çalışmalarda yer almaktadır (Sadok, Tyszcuk-Rotko, Nosal-Wiercinska, 2016; Cinková, Švorc, Šatkovská, Vojs, Michniak, Marton, 2016; Deroco, Vicentini, Oliveira, Rocha-Filho, Fatibello-Filho, 2014) (Resim 2.6). Bor ile katkılandırılan elmas elektrotlar elektrokimya da geniş çalışma potansiyel aralığı, düşük zemin akımı ve yüksek kararlılığa sahiptir (Wang, 2006). Elmas elektronların elektro katalitik aktivitelerinin ve seçiciliklerinin düşük olması nedeniyle bazen elektrot yüzeyi platin, altın gibi metal katalizörlerle modifiye edilebilmektedir (Pleskov, 2007). Bu tip elektrotlar bazı iyileştirme ve modifikasyonlarla birçok ilaç etken maddenin analizinde kullanılabilir (Sadok ve diğerleri, 2016; Cinková ve diğerleri, 2016; Pinar, Yardim, Senturk, 2013).

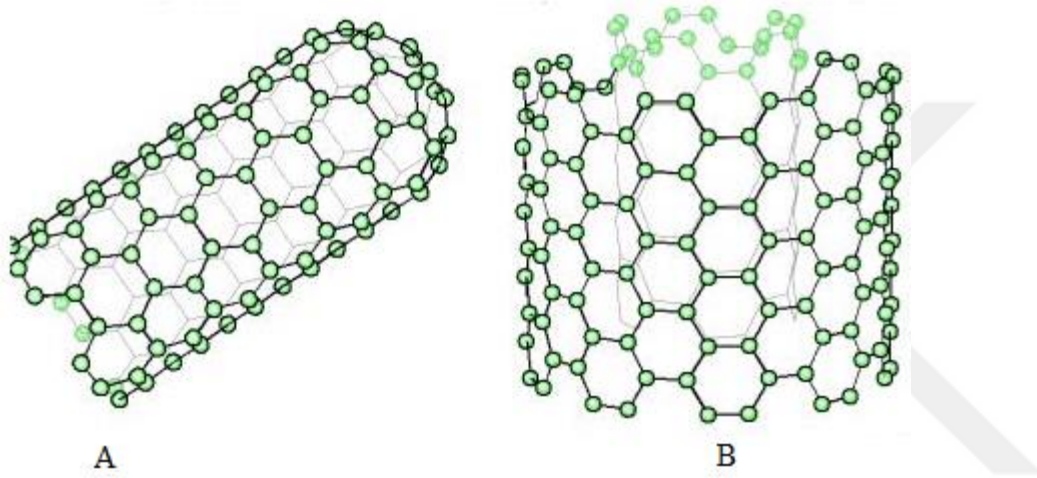


Resim 2.6. Katı ince levha bor katkılı elmas elektrot (Kısacık, 2010)

Karbon pasta elektrotlar

Grafit tozunun çeşitli organik bağlayıcılarla karıştırılmasıyla elde edilen karbon pasta elektrotlar, düşük maliyetle kolay hazırlanabilmeleri, zemin akımı vermeleri, kolay yenilenebilir yüzeye sahip olmaları ve yüzeylerinin kolay modifiye edilebilmeleri nedeniyle ilgi çekmektedirler. Karbon pasta elektrot yapımında mineral yağı, parafin yağı, silikon yağı ve bromonaftalin gibi çeşitli bağlayıcı sıvılar kullanılmaktadır. Fakat bu maddelerin seçiminde, düşük uçuculuk, saflık ve ekonomik olması gibi özellikler dikkate

alınmalıdır. Çalışma ortamında organik çözücüler olduğunda, bağlayıcı maddelerin çözünmesi karbon pasta elektrotların tekrarlanabilirliğini ve duyarlılığını etkilemektedir. Karbon pastanın yüzde bileşimi de bu tür elektrotların performansını etkilemektedir. Karbon pasta elektrotların yapımında genelde % 70 – 85 karbon tozu ile % 30 – 15 bağlayıcı madde kullanılmaktadır (İnam ve Çakmak, 2013; Rubianes ve Rivas, 2003). Ayrıca bağlayıcı bileşimi arttıkça elektron transfer hızı ve zemin akımı azalır (Wang, 2006).



Şekil 2.13. Karbon nanotüplerin üç boyutlu yapısı A: Tek duvarlı karbon nanotüp. B: Çok duvarlı karbon nanotüp

Karbon pasta elektrotlar, karbon ve bağlayıcı türlerin karıştırılmasıyla elde edilen pastanın 2 – 4 mm çapındaki cam veya teflon boruların içerisine doldurulmasıyla elde edilir ve elektriksel iletkenliği sağlamak için bir tel daldırılır (Rebec, 2007).

Modifiye elektrotlar

Elektrot yüzeylerinin kimyasal ve biyolojik yollarla iyileştirilmesi elektrot performansının artmasına yardımcı olur. Böylece daha duyarlı, hassas ve seçici elektrotlar elde edilir. Modifikasyon sonucu elektrot yüzeyinin bozulması yavaşlatılabilir. Sıyırma tekniklerinde önemli bir parametre olan analitin elektrot yüzeyinde biriktirilmesiyle gerçekleştirilen elektro biriktirme basamağının performansı artırılabilir. Modifikasyonla elektrotların katalitik özellikleri artırılabilir ve girişim etkileri azaltılabilir (Gooding, Lai, Goon, 2009).

Modifiye elektrotların üstün özellikleri sayesinde geliştirilen yeni nesil elektrotlar farmasötik ve zirai ilaç etken madde tayinlerinde yeni bir çığır açmıştır. Son otuz yıldır büyük ivme kazanan kompozit elektrotların geliştirilmesinde birçok malzeme ile modifikasyon işlemleri yapılmıştır (Sadok ve diğerleri, 2016). Bu modifikasyon işlemlerinde en çok kullanılan materyaller polimerler, metal oksit nanopartiküller, kil ve inorganik maddeleridir. Modifikasyon işlemleri biyolojik ve kimyasal olmak üzere ikiye ayrılır (Özkan, Biryol, Şentürk, 1993; Merz, 2005).

Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar

Genel olarak çalışma elektrot yüzeyinin elektro-biriktirme yöntemiyle, polimer ya da farklı bağlayıcı maddelerle kaplanmasıdır. Kimyasal modifikasyon sonucu elde edilen elektrotların analitik performansları oldukça iyidir. Bu işlemle kararlılık, elektron transfer hızı, hassasiyet, tekrarlanabilirlik ve seçicilik gibi elektroanalitik kimyada önemli olan parametreler sağlanmış olur (Wang, 2006).

Elektrot yüzeyinin uygun bir polimerle kaplanma işlemi elektrokimyasal olarak yapılır ve buna elektropolimerizasyon denir. Elektropolimerizasyonla kaplama ardı ardına alınan dönüşümlü voltametri ile yapılabilir. Diğer bir yöntem ise, elektrot yüzeyine çözünmüş malzemelerin damlatılması ve çözücünün uçurulması ile gerçekleştirilir. Modifikasyon işleminde dört çeşit polimer kullanılmaktadır. Bunlar, redoks, iyon değişimi, iletken ve iletken olmayan polimerlerdir. Buradaki hedef, duyarlılığın iyileştirilmesi, düşük tayin limitlerine inilerek eser düzeyde maddelerin analizini sağlamaktır. Ayrıca enzim ve proteinlerin kullanılmasıyla immobilize elektrotlarda hazırlanabilmektedir (Li ve Maio, 2013). Kimyasal modifikasyon işleminde nanopartiküller kullanıldığı takdirde, bağlayıcı ve elektrot malzemesi içerisine istenilen nanopartiküller katılır ve homojen bir karışım elde edilerek elektrot yüzeyine ince bir film tabaka kaplanır.

Biyolojik olarak modifiye edilmiş elektrotlar

Çalışma elektrodu yüzeyine biyolojik materyallerin tutturulmasıyla oluşan elektrotlardır. Uygulama alanı olarak biyosensör yapımında sıklıkla kullanılırlar. Bu tür çalışma elektrotları enzim elektrotları, doku elektrotları, DNA elektrotları ve elektrokimyasal immünosensörler olmak üzere dört farklı sınıfta toplanabilirler (Svancara, 2012).

Mikro elektrotlar

Bilim dünyasında nanomalzemenin büyük önem kazanılması ile birlikte çalışma elektrotlarının çok küçük boyutlarda üretilmesi ve elektrokimyasal sensör olarak kullanımı hız kazanmıştır. Tanım olarak 25 mikrometrenin altında olan elektrotlara mikro elektrotlar denir. Özellikle akım enjeksiyon analiz sisteminde mikro elektrotların kullanımı yaygındır. Ayrıca çok küçük miktarlardaki (μL) örneklerde tayin yapılabilindiğinden göz sıvıları, beyin sıvısı ve kas sıvıları gibi biyolojik örneklerde analiz yapmak mümkündür. Bu özelliklerinden dolayı mikroelektrotlar geleceğin en önemli çalışma alanlarından biridir (Wang, 2006).

2.3. Voltametri ve Polarografi

Voltametrik yöntemler, elektroaktif maddelerin uygulanan potansiyel taramasına karşı oluşturdukları pik akımları sonucu ortaya çıkan voltamogramlar sayesinde nitel ve nicel analizleri mümkün kılan elektroanalitik yöntemlerdir (Bockris ve Reddy 1970; Yıldız ve Genç 1993). Voltametri tekniğinde akım, uygulanan gerilimin bir fonksiyonudur ve $I = f(E)$ şeklinde ifade edilebilmektedir.

Polarografi, çalışma elektrodu olarak damlayan cıvanın kullanıldığı voltametrinin bir alt sınıfıdır. İlk olarak 1922'de J. Heyrovsky tarafından keşfedilmiştir ve elektroanalitik kimyanın ilk uygulamalarındandır. Geliştirdiği bu analitik teknik sayesinde Heyrovsky 1959'da kimya dalında Nobel ödülünü almıştır (Bond, 1980).

Polarografi tekniğinde kullanılan uyarma sinyali doğrusal bir potansiyel taramasıdır. Çalışma elektrotuna doğrusal bir potansiyel taraması uygulanarak analite ait bir indirgenme ya da yükseltgenme difüzyon akımı elde edilir. Bu teknikte katodik yönde potansiyel taraması yapıldığında katodik pik akımı ölçülür ve uygun bir potansiyelde analit indirgenmeye başlar. Elektrot yüzeyinde indirgenen analit nedeniyle ana çözeltideki derişime göre elektrot yüzeyinde bir derişim farkı oluşur ve difüzyon kontrollü olarak gerçekleşen bu akıma difüzyon akımı denir.

Difüzyon akımı Ilkovic eşitliği ile şöyle gösterilir;

- $i_d = 708 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C$

İlkovic eşitliğinde yer alan i_d difüzyon akımını (A), n mol başına aktarılan elektron sayısını, m cıvanın kütle akış hızını (g/s), t damla ömrünü (s), C çözeltildeki analite ait derişimi (mol/cm^3) gösterir.

Damla ömrü boyunca ortalama akım ise aşağıdaki eşitlikle verilir

$$i_{\text{ort}} = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C$$

Burada i_{ort} ortalama difüzyon akımını (A), n analitin mol başına aktarılan elektron sayısını, C ana çözeltildeki analit derişimini (mol/cm^3), D difüzyon katsayısını (cm^2/s), m cıvanın akış hızını (g/s) ve t damla ömrünü (s) belirtir (Wang, 2006).

Sınır akımı değerinin yarısına karşılık gelen potansiyel, yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$) olarak adlandırılır. Yarı dalga potansiyeli tersinir bir elektrot tepkimesi için aşağıdaki şekilde ifade edilir.

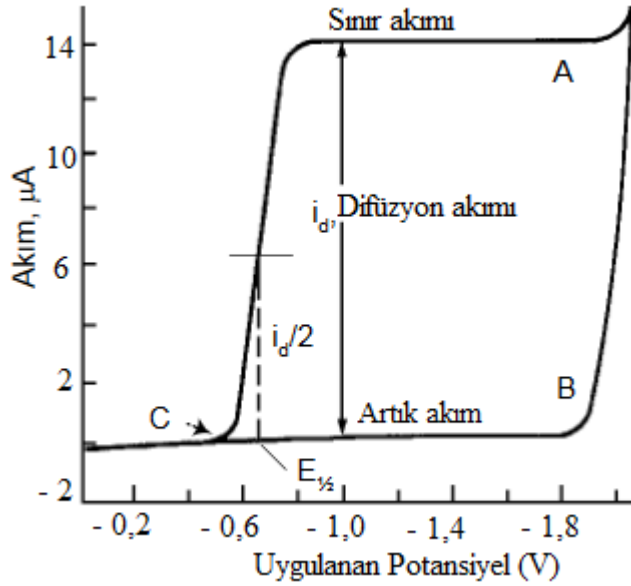
$$E_{1/2} = E^\circ + 2,303 \frac{RT}{nF} \log \frac{D_i}{D_y}$$

Burada D_i indirgenmiş türün difüzyon katsayısını, D_y yükseltgenmiş türün difüzyon katsayısını gösterir. Analitin indirgenmiş ve yükseltgenmiş türlerinin difüzyon katsayılarının birbirine yakın olmaları durumunda yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$) ile formal (E°) potansiyelleri birbirine yaklaşık eşit olur.

Tersinir bir elektrokimyasal tepkime için potansiyel akım eşitliği Heyrovsky-Ilkovic eşitliği ile verilir:

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_d - i}{i}$$

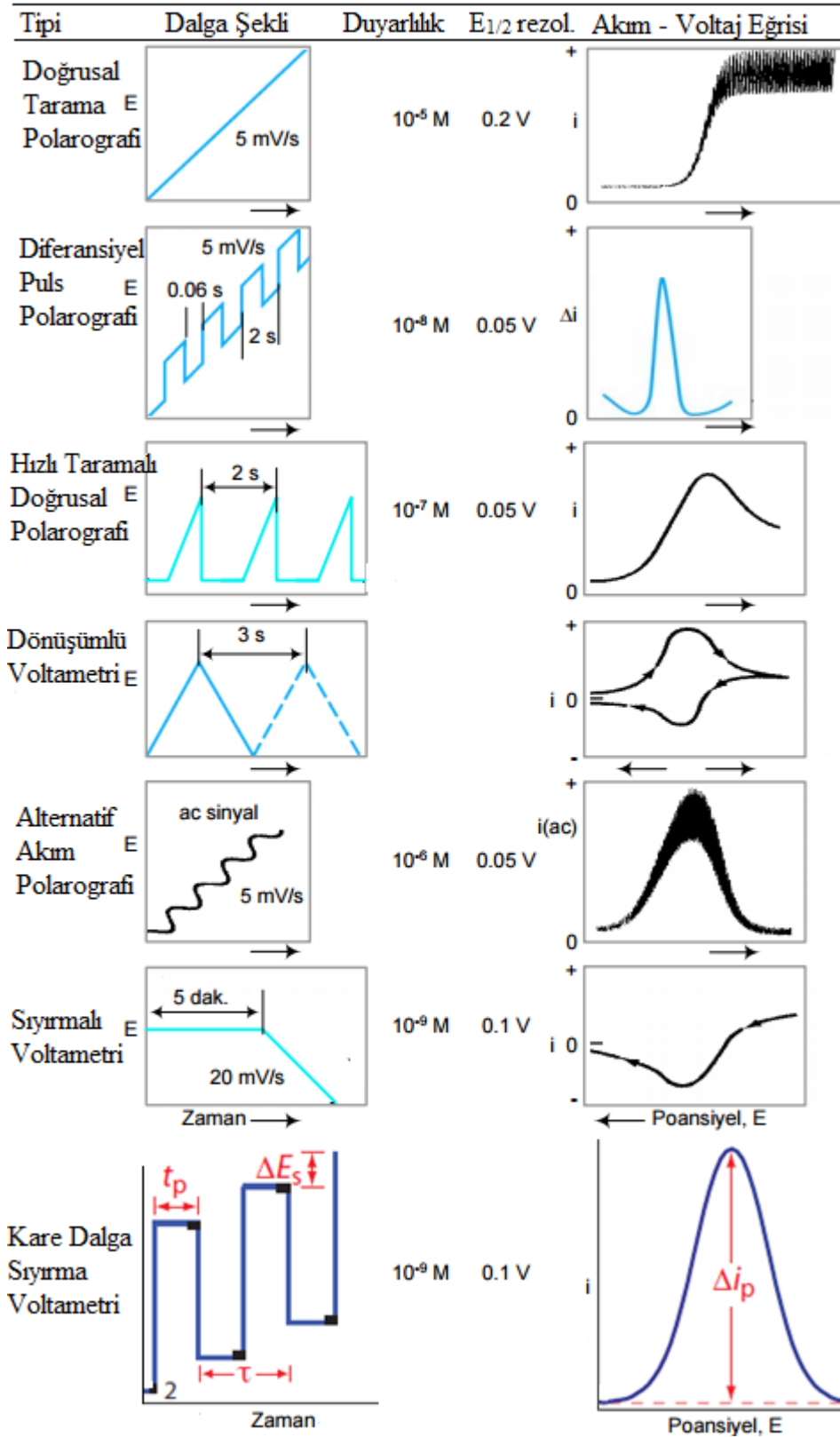
Elektrokimyasal hücrede birden fazla elektroaktif tür bulunduğunda eğer yarı dalga potansiyelleri arasında 0,2 V'dan daha fazla potansiyel farkı varsa analitlerin birbirini izleyen dalgaları ayrı ayrı gözlenebilir. Bu durumda her bir dalgadan kalitatif ve kantatif analiz yapılabilir.



Şekil 2.14. Polarografi için akım-potansiyel ilişkisi

2.3.1. Voltametri de kullanılan uyarma sinyalleri

Voltametik teknikler uyarma sinyallerine göre değişik isimler alırlar. Örneğin dönüşümlü voltametri de uyarma sinyali olarak üçgen dalga kullanılırken, diferansiyel puls polarografisinde ise doğrusal potansiyel tarama üzerinde her bir civa damlasının sonuna doğru pulslar uygulanır. Voltametik teknikte ayrıca kare dalga da kullanılır ve bu tür voltametik teknik kare dalga voltametrisi (SWV) adını alır. Şekil 2.15'de bazı voltametik yöntemler ve uyarma sinyalleri görülmektedir.



Şekil 2.15. Bazı voltametrik yöntemler ve uyarma sinyalleri

Doğrusal taramalı voltametri

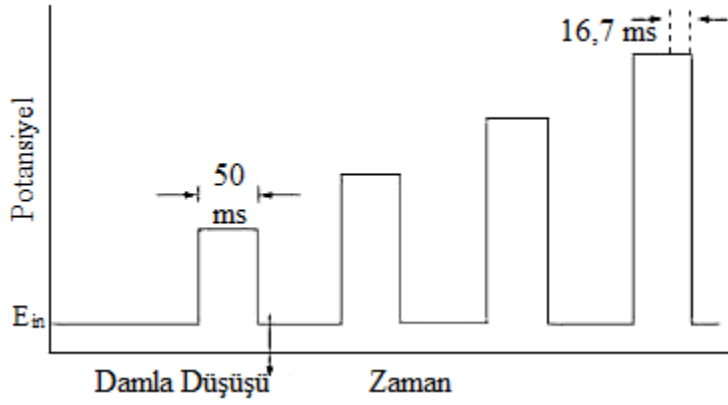
Bu teknikte çalışma elektrotuna belirli hızlarda doğrusal bir d-c potansiyeli uygulanır. Tarama hızı çalışma elektrodunun türüne ve elektron aktarım kinetiğine bağlı olup 1 mV/s ile 1000 mV/s arasında değişebilir. Mikro elektrotlara 10^6 V/s tarama hızlarına kadar uygulama yapmak mümkündür.

Puls Voltametrisi

Puls voltametri teknikleri daha duyarlı bir ölçüm yöntemi olarak Barker ve Jenkin tarafından 1952 yılında önerilmiştir (Duran, 2010). Puls voltametrisi ile faradayik ve faradayik olmayan akım arasındaki oranı artırılarak 10^{-8} M civarında tayinler mümkün olmuştur. Bu teknikle çalışma elektroduna 50 ms boyunca artan genlikte birbiri ardına gelen potansiyel adımları uygulanır. Bu potansiyel adımlarından sonra yükleme akımı hızla azalırken, faradayik akım artar. Normal puls ve diferansiyel puls olmak üzere ikiye ayrılır.

Normal puls voltametri

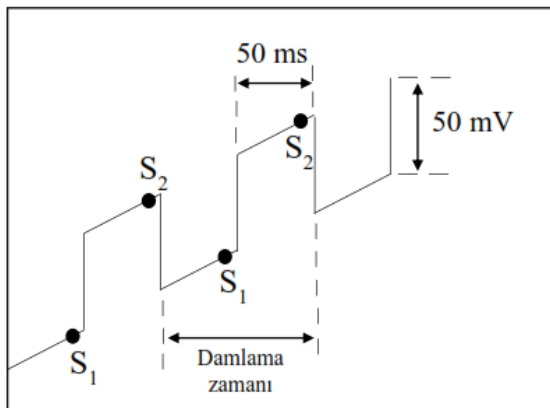
Cıva elektrodun kullanıldığı normal puls polarografisinde cıva damla elektrotta ya da ardarda gelen damlalara, her bir damlanın ömrünün sonuna yakın belli bir zamanda artan genlikte puls uygulanır. Pulslar damla sonuna doğru uygulanır ve bu noktada elektrot yüzeyi neredeyse sabittir. Puls genliği herbir damlada doğrusal olarak artırılır. Akım, puls uygulandıktan yaklaşık 50 ms sonra yükleme akımının sıfıra yaklaştığı anda ölçülür. Puls süresinin kısa olmasının nedeni difüzyon tabakasının DC polarografiden daha ince olması ve bundan dolayı faradayik akımın artmasıdır. Elde edilen voltamogram sigmoidal şekildedir.



Şekil 2.16. Normal puls voltametri uyarma sinyali

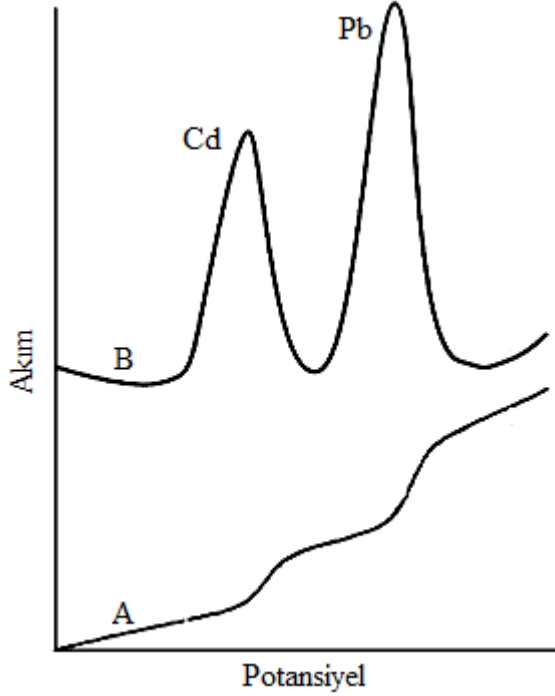
Diferansiyel puls voltametri

En çok kullanılan voltametrik teknikler arasındadır. Hem organik hemde inorganik türlerin analizleri için yaygın olarak kullanılmaktadır. Diferansiyel puls voltametri, asılı civa damlası çalışma elektroduna ya da damlayan civa elektroduna, damla düşmeden hemen önce doğrusal olarak artan potansiyellere bindirilmiş sabit büyüklükte pulslar uygulanır. Şekil 2.17'de görüldüğü gibi akım puls uygulanmadan hemen önce (S_1 'de) ve yaklaşık 40 ms sonra süresinin sonunda (S_2 'de) yani yükleme akımının azaldığı anda ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark uygulanan potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Sonuçta elde edilen diferansiyel puls voltamogramı pik şeklindedir ve yüksekliği doğrudan analitin derişimi ile orantılıdır. Diferansiyel puls voltametri tekniği ile 10^{-8} M'a kadar tayinler yapılabilmektedir. Pik akımı (i_p) elektroaktif türlerin derişiminin bir fonksiyonudur ve $i_p = f(C)$ olacak şekilde doğrusaldır (Bard ve diğerleri, 2008; Cummings, 2010).



Şekil 2.17. Diferansiyel puls voltametri uyarma sinyali (Skoog ve diğerleri, 1996)

Her iki puls tekniği ile nitel ve nicel olarak analiz yapmak mümkündür. Şekil 2.18’de normal puls ve diferansiyel puls teknikleri karşılaştırmalı olarak verilmektedir.



Şekil 2.18. 1 mg/L kadmiyum ve kurşun çözeltisine ait A) normal puls ve B) diferansiyel puls polarogramları (Sarıgül, 2010)

Pik genişliği elektron transfer sayısına bağlıdır. DPP’de pik yarı genişliği aşığıdaki bağıntı ile verilebilir.

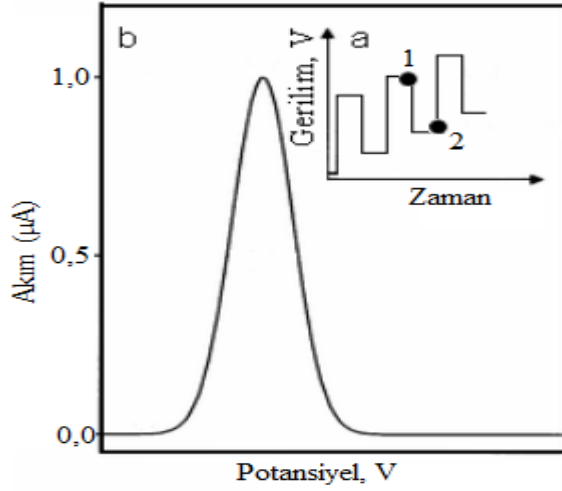
$$W_{1/2} = 3,52 \left(\frac{RT}{nF} \right)$$

Burada $W_{1/2}$ pik yarı genişliğini, n transfer edilen elektron sayısını, F Faraday sabitini, R gaz sabitini, T mutlak sıcaklığı göstermektedir.

Kare dalga voltametri

Kare dalga voltametri, alternatif akım voltametrisinde kullanılan sinüsoidal dalgalı gerilim yerine düşük şiddetli kare dalga gerilimi uygulanmasıyla oluşur (Şekil 2.19). Akım herbir kare dalga devirinde, biri ileri yönlü pulsun sonunda (t_1), diğeri geri yönlü pulsun sonunda (t_2) olmak üzere iki kere ölçülür. Kare dalga genliğinin zamana bağlı değişimi çok

büyük olduğundan ürünün ters tepkimeye girmesine neden olur. Bunun nedeni geri yönlü puls, ileri yönlü pulsun oluşmasıdır. Bu iki yönlü puls arasındaki fark basamaklı potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Elde edilen voltamogram pik şeklindedir ve akım elektroaktif türün derişimi ile orantılıdır. İleri ve geri yönlü akımlar kullanıldığından, duyarlık diferansiyel puls voltametrisinden daha yüksektir.



Şekil 2.19. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali ve elde edilen bir voltamogram

Bu yöntemde çok hızlı bir gerilim taraması hızıyla tüm ölçümün kısa sürede tamamlanması sağlanır. Gerilim çalışma elektroduna göreceli olarak geniş dikdörtgensel dalgalar halinde uygulanır. Gerilimin şiddetindeki değişim $\Delta E = 50 \text{ mV}$ ölçülür ve bu gerilim basamaklı bir gerilim rampası üzerine 10 mV 'luk gerilim basamakları şeklinde uygulanır (Bozal-Palabıyık, 2015). Dikdörtgensel dalga döngüsünün süresi (t) merdiven şeklindeki gerilim basamaklarının süresine eşittir ve genellikle $5 - 10 \text{ ms}$ 'dir (Thomas ve Henze, 2001). 1 saniye içinde 1 ile 100 kare dalga sayısına ulaşılabilecek bir hız sözkonusudur. Böylelikle bir voltamogramın birkaç saniye içinde elde edilebileceği bir hıza ulaşılır. Bundan dolayı kare dalga voltametrisinde tayin süresi oldukça kısadır (Wang, 2006).

Sıyırma voltametri

Sıyırma voltametri tekniği, eser düzeydeki madde tayinleri için sıklıkla kullanılan ve diğer elektrokimyasal yöntemlere göre oldukça duyarlı olan bir tekniktir. Bu tekniğin diğerlerinden farkı ön biriktirme aşamasıdır. Bu işlem sayesinde son derece duyarlı bir sinyal elde edilebilmektedir. Biriktirme işlemi yardımıyla eser düzeydeki türler elektrot

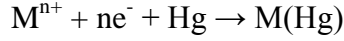
yüzeyinde deriştirilerek yüksek bir duyarlılıkla tayin edilebilmektedir. Bu işleme ön zenginleştirme de denilmektedir. Özellikle ağır metal tayinlerinde, biriktirme tekniğiyle elektrot yüzeyinde 100 – 1000 oranında zenginleştirme sağlanabildiğinden, tayin sınırı 10^{-10} M'dan daha düşük derişim seviyelerine inilebilir (Wang, 2006).

Cıva elektrotların ya da diğer katı elektrotların kullanıldığı sıyırma analizleri temel olarak iki adımlı bir tekniktir. Birinci adımda yani biriktirme basamağında, elektroaktif tür elektrot yüzeyine hidrodinamik ortamda taşınır ve indirgenerek amalgam ya da çözünmeyen bir cıva tuzu oluşturur. İkinci basamakta ise karışırma yani konveksiyonla yüzeye taşıma işlemi durdurulur ve elektrot yüzeyinde indirgenerek biriktirilen tür yüzeyden potansiyel taramasıyla çözeltiye sıyrılır.

Sıyırma yöntemleri eser düzeylerdeki madde tayinlerine olanak sağladıklarından birçok rutin analizlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alanların en başında farmasötik ve zirai ilaç etken madde analizleri gelmektedir (Rezaei, Askarpour, Ensafi, 2013; Gupta, Jain, Antonijevic, Khani, Siddiqui, Divedi, Mishra, Agarwal 2011). Serum, idrar gibi numunelerde ilaç analizlerinin yanı sıra bakır, kadmiyum gibi eser düzeydeki metal iyonlarının da tayin edildiği çalışmalar bulunmaktadır (Attar, Harek, Lahcenn, 2013; Attar, Harek, Dennouni-Medjati, Lahcenn, 2012). İçme suları ve deniz suyu gibi gerçek numunelerde çinko ve kurşun gibi ağır metallerin analizleri mümkündür. Anodik sıyırma, katodik sıyırma, potansiyometrik sıyırma ve adsorptif sıyırma voltametri olmak üzere 4 çeşit sıyırma tekniğinden bahsedilebilir.

Anodik sıyırma voltametri

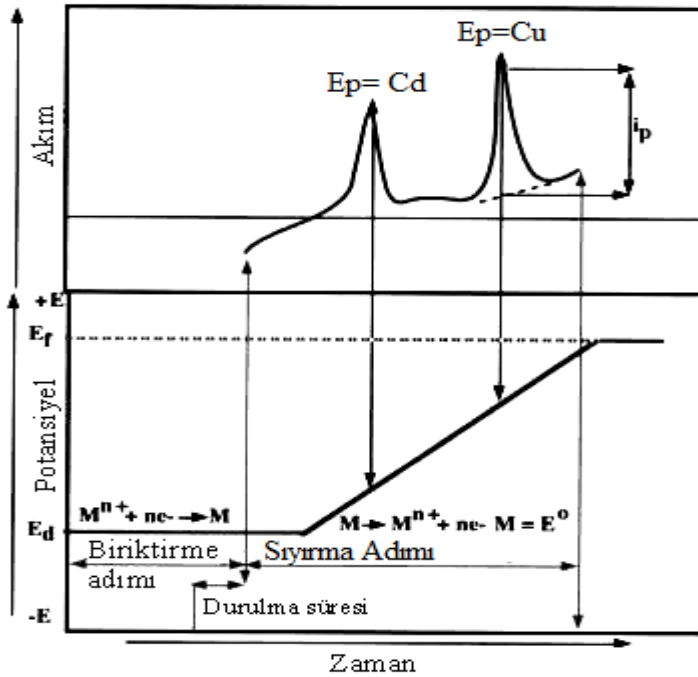
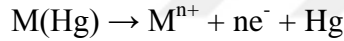
Anodik sıyırma voltametri (ASV) sıyırma analizleri içerisinde en yaygın olarak kullanılan tekniktir. Bu teknikte analit biriktirme basamağında orjinal formuna geri dönecek şekilde cıva ile amalgam $M(Hg)$ oluşturularak indirgenir (Skoog ve diperleri, 2004). Biriktirme basamağında sabit bir potansiyel belirli bir zaman uygulanarak, katodik biriktirme ile analitin elektrot yüzeyindeki indirgenmesi ya da zenginleştirilmesi gerçekleştirilir. Biriktirme ön işleminde metal iyonları cıva elektrot üzerinde difüzyon ve konveksiyon ile biriktirilir. Bu işlemde analit cıva ile amalgam oluşturularak indirgenir. Elektrolitik biriktirme basamağında gerçekleşen elektrot tepkimesi ve amalgam oluşumuna ait eşitlik şöyledir (Wang, 2006).



Konveksiyonla yüzeye taşındıktan sonra difüzyon kontrollü bir biriktirme işlemi 30 s ile 10 dakika arasında gerçekleşebilir. Biriktirme süresi metal iyonunun derişimine göre seçilir. Civa ile amalgam oluşturan analitin civa içerisindeki derişimi, C_{Hg} , Faraday yasasıyla verilir.

$$C_{Hg} = \frac{i_s t_d}{nFV_{Hg}}$$

Bu eşitlikte yer alan i_s analitin sınır akımını, t_d biriktirme süresini (s) ve V_{Hg} civa elektrodun hacmini gösterir. Elektrolitik olarak analitin ya da metal iyonunun civa elektrotunda biriktirilmesinden sonra karıştırma durdurulur ve anodik yönde potansiyel taraması yapılır. Tarama sırasında amalgamı oluşturan metal iyonu tekrar çözeltilmeye yükseltgenir ve elektrot yüzeyinden ayrılırken derişimiyle orantılı bir anodik akım oluturur.



Şekil 2.20. Anodik sıyırma voltametrisinde biriktirme ve sıyırma basamakları (Sarıgül, 2010)

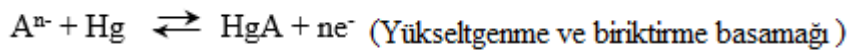
Anodik sıyırma voltametrisinin en önemli avantajı katodik olarak biriktirilen çok küçük miktardaki türlerin tayinine imkân sağlamasıdır. Bu nedenle özellikle hava, su, gıda, toprak ve biyolojik örneklerde eser miktardaki türlerin tayininde sıklıkla uygulanmaktadır (Cummings, 2010; İnam ve Aydın, 1996).

Adsorptif sıyırma voltametri

Adsorptif sıyırma voltametri (AdSV) yönteminde genellikle organik moleküller ya da metal kompleksleri elektrot yüzeyinde belirli bir potansiyel uygulaması yapılarak adsorpsiyonla biriktirilir. Analitin karıştırılan bir çözeltide, hidrodinamik ortamda, adsorptif olarak elektrot yüzeyinde biriktirilir. Genellikle 1 – 5 dakikalık biriktirme süreleri analitin elektrot yüzeyinde birikmesi için yeterlidir. Bu yöntemle eser düzeylerdeki uranyum (Pournaghi-Azar, Dastango, Baj, 2010), selenyum (İnam ve Somer, 1997) vanadyum, alüminyum ve molibden gibi metallerin yanı sıra organik türlerin analizleri de mümkündür. AdSV yöntemiyle eser elementlerin yanı sıra bazı yüzey aktif organik bileşiklerin tayinleri de gerçekleştirilebilir (Wang, 2006).

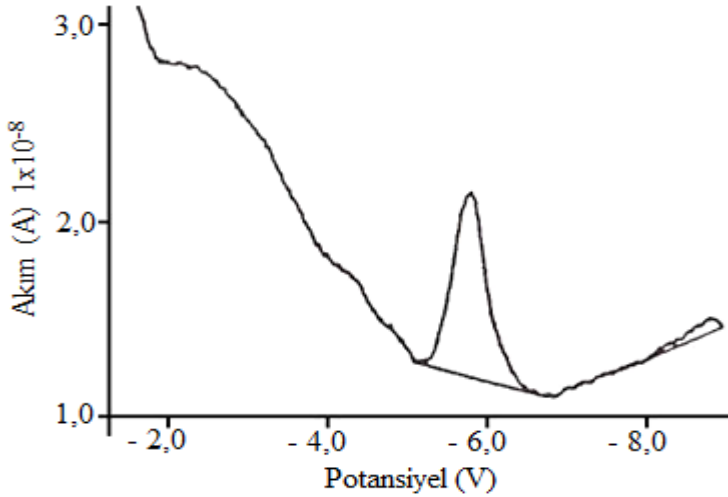
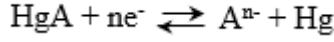
Katodik sıyırma voltametri

Katodik sıyırma voltametri (CSV), anodik sıyırma voltametrisinin tam tersi bir biriktirme ve sıyırma işlemiyle gerçekleştirilir. Bu yöntem de tıpkı ASV gibi iki basamakta oluşur. Birinci basamakta analit anodik olarak elektrot yüzeyinde biriktirilir ve daha sonra ikinci basamakta negatif yönde bir potansiyel taramasıyla elektrot yüzeyinden çözüme sıyırılır. İlk basamakta örneğin bir halojenür ya da kükürt içeren türler (X) elektrot yüzeyinde çözünmeyen bir film (HgX) tabakası oluşturur. Bu yüzden çalışma elektrodu ile organik veya inorganik türlerin çözünmeyen bir film tabakası oluşturan analitleri analiz edilebilmektedir. Tiyol, penisilin, siyanür, sülfid ve kükürt içeren bileşiklerin bu yöntemle tayinleri mümkündür. Katodik sıyırma voltametrisinde ayrıca cıva elektrodun yanı sıra gümüş disk elektrot ve bakır bazlı elektrotlarda kullanılabilir (Wang, 2006).



Bu yöntemle elde edilen indirgenme pik akımı ile kantitatif analiz yapılabilir. Birçok farklı matriks ortamında eser düzeydeki analitlerin tayinleri yapılabilir. Bu yolla

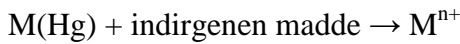
deniz suyunda bulunan 10^{-9} M'dan daha düşük derişimdeki iyodürün tayini gerçekleştirilebilir (Luter ve diğerleri, 1988). Katodik sıyırma sürecinde oluşan elektrot tepkimesi şöyledir.



Şekil 2.21. Deniz suyunda bulunan eser miktardaki iyodürün katodik sıyırma voltamogramı (Luter ve diğerleri, 1988)

Potansiyometrik sıyırma voltametri (PSV)

Bu teknik az kullanılan bir teknik olmasına rağmen oksijenin uzaklaştırılmasına gerek duyulmadığı için bazen metal tayinlerinde kullanılır. Bu yöntem iki basamakta gerçekleşir. İlk basamakta M(Hg) amalgamı oluşturulur. Sonra ortama yükseltgeyici bir tür ilave edilir ve çözeltisi içerisinde akım geçilir. Çalışma elektrodunun potansiyel değişimleri kaydedilir (Wang, 2006).

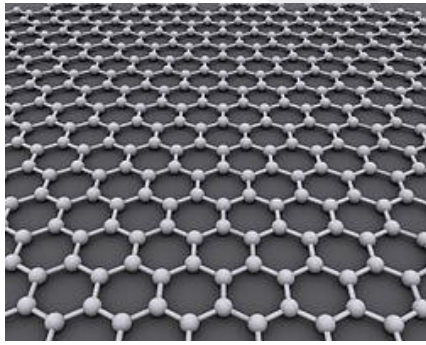


2.4. Karbon Nanotüpler

1991 yılında Japon bilim adamı Sumio Ijima tarafından karbon nanotüplerin keşfi ile başlayan ve günümüzde birçok farklı kombinasyonlarda bulunan nanotüpler, mekanik ve elektronik özellikleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedir. Yüksek sıcaklıklardaki

kararlılıkları, iletkenlikleri, inert olmaları ve çok küçük boyutlarda elde edilebilmeleri nedeniyle nanoteknoloji de, endüstri de, güneş panellerinde ve elektrot geliştirilmesinde kullanılabilmektedirler (Henrich, Chan, Moore, Rolandi, O'Connell, 2006).

Grafite türevleri, elmas, karbinler, amorf karbon malzemeler, fullerenler ve nanotüpler karbon temellidir (Suarez-Martinez ve ark., 2012). Karbon nanotüplerin en temel yapısı grafendir. Grafen tek bir atom kalınlığında bir tabaka oluşturacak şekilde bir araya gelmiş karbon atomlarından oluşur. İlk olarak 2005 yılında Geim ve Novoselov'un çalışma ekipleri tarafından mekanik soyma yoluyla sentezlenmiştir. Kimyasal aşınmaya ve neme karşı dayanıklı olması, iyi iletkenlik göstermesi, düşük yoğunluğa sahip olması, geniş yüzey alanı ve yüksek sıcaklıklarda bile dayanıklılık göstermesi grafeni eşsiz kılmaktadır. Eşsiz özellikleri olan bu maddeyi icat ettikleri için Andre Geim ve Konstantin Novoselov 2010 yılında Fizik Nobel ödülüne layık görülmüşlerdir.

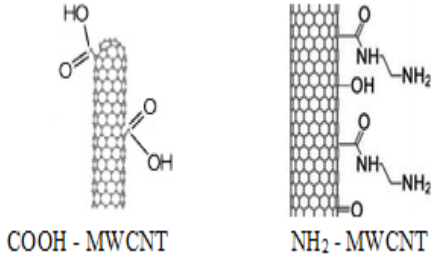


Şekil 2.22. Grafenin yapısı

Karbon nanotüpler grafen tabakaların karbon atomlarının bal peteği şeklinde iç içe geçmiş heksagonal şekilleridirler. Grafen tek bir tabakadan oluşuyorsa tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNT), birden fazla grafen tabakasından oluşuyorsa çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) olarak adlandırılır. Karbon nanotüpler birkaç nm genişliğinde ve 50 mikron uzunluklarda üretilebilmektedir (Rümmeli, Ayala, Pichler, 2010).

Nanotüplerle ilk yapılan elektrokimyasal analizde, MWCNT ile bromoform karıştırılarak bir pasta elde edilmiştir. Daha sonra bu pasta, cam bir tüpe doldurulmuş ve oluşturulan indikatör elektrot üzerinde dopamin yükseltgenerek tayin edilmiştir (Britto ve diğerleri 1996; Güney, 2010). Nanotüp elektrot ile dopaminin yükseltgenmesi düşük bir potansiyelde ve grafit elektroda göre daha hızlı gerçekleşmiştir. Bu çalışma, karbon

nanotüplerin elektrokimyada kullanımına hız vermiştir. Ayrıca amin, ve karboksil gibi fonksiyonlu karbon nanotüpler (Şekil 2.23) yeni nesil elektrotların yapımına da öncülük etmektedir (Xi, Zhang, Wang, Huang, Ni, 2016; Zhao ve diğerleri 2016).



Şekil 2.23. a) Karboksilik fonksiyonlu karbon nanotüp (COOH–MWCNT) b) Amin fonksiyonlu karbon nanotüp (NH₂–MWCNT)

2.5. İncelenen Farmasötik ve Zirai İlaç Etken Maddeleri ile İlgili Genel Bilgiler ve Literatür Çalışması

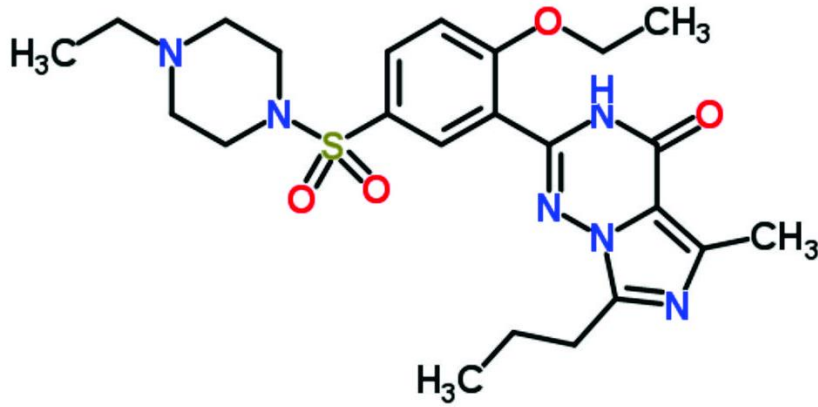
Tadalafil, erkeklerde erektil fonksiyon bozukluğunun tedavisi için kullanılan selektif fosfodiesteraz inhibitörü türü bir ilaçtır. Tadalafil, Viagra® isimli ilacın etken maddesi olan sildenafil gibi selektif bir fosfodiesteraz (PDE) tip 5 inhibitörüdür. Fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) akciğer dokusunda ve özofagus düz kasında da bol miktarda bulunur. Bu gruptaki ilaçlar (sildenafil, tadalafil ve vardenafil) impotans tedavisinde kullanılan bazı ilaçların yaptığı gibi prostagladin sentezini inhibe etmezler. Tadalafil 24 saat kadar uzayan etki süresi ile sildenafil ve vardenafil'e kıyasla daha uzun etkin süreye sahiptir. Sildenafil görsel bozukluğa neden olurken, tadalafil'in görsel bozukluklara neden olduğuna dair bir bilgi yoktur. Bunun nedeni tadalafil'in PDE5 retinada bulunan PDE6'ya kıyasla daha selektif olmasıdır. Tadalafil Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 21 Kasım 2003 tarihinde erkekte erektil fonksiyon bozukluğunun tedavisi için onaylanırken Türkiye'de aynı indikasyon Sağlık Bakanlığı tarafından 28 Mart 2005'te onay almıştır. Tadalafil izole insan corpus cavernosum'unda direkt rahatlatma etkisi göstermez. In vitro araştırmalarda tadalafilin PDE5 seçici olduğu ispat edilmiştir. PDE5'e olan bu seçiciliği PDE6 hariç diğer fosfodiesterazlara göre 10 000 kat daha fazladır. Tadalafilin PDE5 enzimine seçiciliği, retinada bulunan ve fototransdüksiyon ile ilgili PDE6 ile kıyaslandığında yaklaşık 780 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir.



Şekil 2.24. Tadalafilin kimyasal yapısı

Tadalafil oral yoldan kullanılan bir ilaçtır. Farmakokinetik çalışmaları sağlıklı genç gönüllü kişilerde araştırılmıştır. Yiyeceklerin tadalafilin farmakokinetiğini etkilemediği belirtilmiştir. Genel olarak ilacın etkisi 30 ile 45 dakika sonra görülmektedir. Maksimum derişime ulaşma süresi (T_{maks}) yaklaşık 2 saattir ve ilacın etkisi yaklaşık 24 saat sürebilmektedir. Tadalafilin ortalama yarı-ömrü 17,5 saattir. Maksimum doz sınırı 20 mg/gün şeklinde belirtilmiştir. Tadalafil etken maddesi içeren ticari olarak birden fazla farklı farmülasyon bulunmaktadır. Deneysel çalışmamızda Abdi İbrahim firması tarafından üretilen Lifta[®] tabletleri kullanılmıştır.

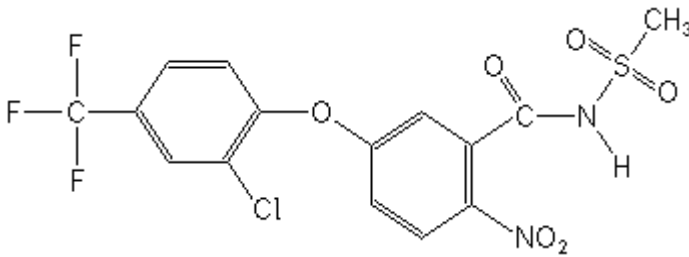
Vardenafil, erkeklerde erektil fonksiyon bozukluğunun tedavisi için kullanılan fosfodiesteraz inhibitörü türü bir ilaçtır. Vardenafil, Viagra[®] ilacın etken maddesi olan Sildenafil, Lifta[®] ilacının etken maddesi olan Tadalafil gibi selektif bir fosfodiesteraz (PDE) tip 5 inhibitörüdür. Bu gruptaki ilaçlar (sildenafil, tadalafil ve vardenafil) impotans tedavisinde kullanılan bazı ilaçların yaptığı gibi prostagladin sentezini inhibe etmezler. Vardenafil etken maddesi tadalafil ve sildenafil göre daha kısa sürede etkinliğini göstermektedir. Maksimum derişime ulaşma süresi (T_{maks}) diğer etken maddelere göre oldukça kısadır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2003 tarihinde erkekte erektil fonksiyon bozukluğunun tedavisi için onaylanmıştır.



Şekil 2.25. Vardenafilin kimyasal yapısı

Vardenafil oral yoldan kullanılan bir ilaçtır. Oral yollarla alındıktan sonra hızla emilir. 15 dakika gibi kısa bir sürede en yüksek derişimine ulaşır. Vardenafil'in insan vücundundan atılması esas olarak feçes (yaklaşık % 91 – 95) ve çok az kısmı (% 2 – 6) idrar yoluyla metabolitler şeklindedir. Vardenafilin ortalama yarı-ömrü 4 – 5 saattir. Maksimum doz sınırı yetişkin ve yaşlılarda 40 mg/gün şeklinde belirtilmiştir. Vardenafil etken maddesi içeren ticari olarak birden fazla farklı formülasyon bulunmaktadır. Deneysel çalışmamızda Bayer firması tarafında üretilen Levitra® tabletleri kullanılmıştır.

Fomesafen (5-[2-kloro-4-(trifluorometil) fenoksi]- N-(metilsulfonyl)-2-nitrobenzamid) pestisiti difenil eter grubu herbisitlerdendir. Genel olarak pamuk, soya, patates ve domates gibi ürünlerin yetiştirilmesi esnasında kanarya otu, kadife otu gibi yabancı geniş yapraklı otların kontrolü için kullanılır (Laganà ve ark., 2000; Higgisn ve ark., 1988). Difenil-eter herbisitlerin biyolojik etkinliği, difenil-eter molekülündeki farklı konumlarda yer alan Cl, CF₃ ve NO₂ grupları tarafından belirlenir (Hayashi ve Kouji, 1990).



Şekil 2.26. Fomesafenin kimyasal yapısı

Asifluorfen, bifenoks, oksifluorfen, floroglikofen, laktofen, nitrofluorfen gibi pestisitlerde bu gruptadır. Fomesafen diğer difenil-eter herbisitlerle karşılaştırıldığında, oksifluorfen, laktofen ve acifluorfen gibi diğer herbisitlere göre daha uzun yarılanma ömrüne sahiptir (Vencill, 2002; Tseng ve ark., 1988). Bu tür zirai ilaçlar bitkilerin yaprak ve kökleri tarafında emilir. Bitkilerde inhibe protoporfirinojen oksidaz (PROTOX) enzimi yardımıyla geri dönüşümsüz hücre zarı hasarına yol açar. Aseton (300000 mg/L, 20 °C) ve metanol (25000 mg/L, 20 °C) gibi organik çözücülerde kolay çözünürler (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/355.htm>). Kurutulmuş soya fasülyesinde fomesafen için maksimum kalıntı limitleri (MRL) 0,025 ppm (PMRL 2014) ve 0,05 ppm (JFCRF 2015) olarak rapor edilmiştir.

<i>Molekül kütlesi</i>	: 438,76 g/mol
<i>Yoğunluk</i>	: 1,61 g/mL (20 °C)
<i>LD₅₀</i>	: 1250 mg/kg
<i>Zehirlilik Sınıfı</i>	: II (WHO)
<i>Arılara/Balıklara Zehirliliği</i>	: Arılara zehirsiz, balıklara zehirlidir.
<i>Suda Dağılabilen Granül Formülasyonlar (WG):</i>	Lintur 70WG (% 4,1 triasulfuron)

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde tadalafil, vardenafil ve fomesafen için kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerle yapılmış çalışmalar ağırlıktadır. Bu maddeler arasında sadece vardenafilin elektrokimyasal yöntemle tayinine yönelik 3 adet çalışma (Ghoneim ve diğerleri 2013; Uslu, Dogan, Ozkan, Aboul-Enein, 2005; Aydın, Yaman, Yaşacan, Çırak, Abacı, 2016) mevcuttur. Literatürdeki bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiş ve Tablolar halinde verilmiştir.

Jeong, Suh, Kim, In, Paeng, (2016) tarafından geliştirilen yüksek-sıcaklık gaz kromatografisi/kütle spektrumu (HTGC/MS) ile sildenafilin, tadalafilin ve vardenafilin analizleri gerçekleştirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada tadalafil için çalışma aralığı 12,5 – 100 µg/mg, gözlenebilirlik sınırı (LOD) 0,02 µg/mg ve tayin sınırı (LOQ) ise 0,61 µg/mg olarak bulunmuştur. Vardenafil için de bu değerler sırasıyla 12,5 – 100 µg/mg, 0,04 µg/mg ve 0,13 µg/mg olarak belirlenmiştir. Tadalafilin ve vardenafilin analitik uygulamasını ticari tablet numunelerinde gerçekleştirmişlerdir. Tadalafilin ve vardenafil için yüzde geri kazanımı sırasıyla % 92,1 – 98,9 ve 87,3 – 100,6 olarak belirlenmiştir.

Causanilles, Emke, Voogt, (2016) yaptıkları çalışmada sıvı kromatografisi/kütle spektrumu (LC/MS) kullanarak sildenafil, tadalafil ve vardenafilin atık sularındaki tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Tadalafil ve vardenafil için sırasıyla çalışma aralığını 2,3 – 500 ng/L, ve 7,2 – 500 ng/L gözlenebilme sınırını (LOD) 2,3 ng/L ve 7,2 ng/L, tayin sınırını (LOQ) 7,5 ng/L ve 24 ng/L olarak tespit etmişlerdir. Tadalafil ve vardenafilin analitik uygulamasını atık su örneklerinde gerçekleştirmişler genel olarak % 72,2 – 102,1 aralığında yüzde geri kazanım elde etmişlerdir.

Strano–Rossi, Odoardi, Castringnano, Serpelloni, Chiarotti, (2015) yaptıkları çalışmada efedrin, kafein, fentermin, fendimetrazin, fenmetrazin, fenfluramin, benfluorex, mefentermin, fen-canfamin, sibutramin, sildenafil, vardenafil ve tadalafil gibi bileşiklerinin tayini için sıvı kromatografisi/yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (LC/HRMS) ile yeni bir metot geliştirmişlerdir. Bu çalışmada yer alan tadalafil ve vardenafilin gıda katkı maddelerinde tayinleri için sırasıyla çalışma aralığını 50 – 2000 ng/g ve 50 – 2000 ng/g, gözlenebilme sınırını (LOD) 5 ng/g ve 25 ng/g, tayin sınırını (LOQ) 50 ng/g ve 50 ng/g olarak tespit etmişlerdir. Analitik uygulamasını gıda katkı madde örneklerinde gerçekleştirmişlerdir. Analitik uygulamasında tadalafilin yüzde geri kazanımı % 99 – 108, vardenafilin de % 94 – 107 olarak bulmuşlardır.

Yang, Song, Jiang, Xiang, (2010) tarafından ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP–HPLC/DAD) kullanılarak yapılan çalışmada sildenafil, vardenafil ve tadalafilin farmasötik numunelerdeki tayinleri gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon grafiğinde, üç bileşik için de çalışma aralığını 0,2 – 200 µg/mL olarak belirtmişlerdir. Sildenafil, vardenafil ve tadalafil için gözlenebilme sınırını (LOD) sırasıyla 1,0 ng, 1,1 ng ve 1,0 ng, tayin sınırını (LOQ) ise 2,0 ng, 2,1 ng, ve 2,0 ng olarak belirlemişlerdir. Ticari ilaç tableti numunelerinde analitik tayinler yapmışlar ve geri kazanım değerlerini % 99,97 – 100,45 aralığında bulmuşlardır.

Kaf ve Gouda (2011) geliştirdikleri spektrofotometrik yöntem ile tadalafilin bromokresol moru (BCP) ve metil oranj (MO) ile komplekslerini oluşturarak analizini gerçekleştirmişlerdir. Tadalafilin Bromokresol moru (BCP) ve metil oranj (MO) bileşikleriyle Job's metodunu kullanılarak 1:1 oranında kompleks oluşturduklarını göstermişlerdir. Bu kompleksler sırasıyla 410 nm ve 425 nm'de spektrum piki vermektedir. Tadalafilin BCP ile oluşturduğu kompleksin gözlenebilme sınırı (LOD) 0,092 mg/L, MO ile de 0,11

mg/L olarak bulunmuştur. Tayin sınırını (LOQ) ise sırasıyla 0,31 mg/L ve 0,37 mg/L olarak elde edilmiştir. Analitik uygulamasını ticari ilaç tableti numunelerinde gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada tadalafilin BCP ile oluşturduğu kompleksin yüzde geri kazanımı % 99,8 – 100,1, MO ile de oluşturduğu kompleksin yüzde geri kazanımı % 99,7 – 99,9 şeklinde bulunmuştur.

Karavadi ve Challa (2010) sıvı-sıvı ekstraksiyonuna dayanan sıvı kromatografisi LC-MS/MS ile sıçan plazmasında tadalafilin analizini gerçekleştirmişlerdir. Geliştirilen yöntemle tadalafilin çalışma aralığını 0,0005 – 1,0 µg/mL, gözlenebilme sınırını (LOD) 1×10^{-8} µg/mL ve tayin sınırını (LOQ) ise 0,0005 µg/mL olarak bulmuşlardır. Analitik uygulamasını sıçan plazması numunelerinde gerçekleştirmişler ve tadalafilin sıçan plazmalarındaki yüzde geri kazanımı % 91,1 olarak bulmuşlardır.

Yunoos ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada tadalafil tayini için basit, duyarlı, ve tekrarlanabilir bir UV spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Tadalafilin metanol çözücüsünde gösterdiği maksimum absorbans olan 284 nm'de çalışmışlardır. Tadalafilin 284 nm'deki absorbans piki ile kalibrasyon grafiğinden, çalışma aralığını 2 – 20 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Önerilen yöntemle, tadalafilin saf ve tablet dozaj formlarından analizini gerçekleştirmişler. Tadalafilin ilaç tabletindeki yüzde geri kazanımı % 99,5 – 100,2 olarak hesaplanmıştır.

Hasegawa ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada sildenafil, tadalafil, ve vardenafil tayinlerini, izotop seyreltme ile sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (LC/MS-MS) tekniğiyle gerçekleştirmişlerdir. Bu üç maddenin kalibrasyon grafiğini oluşturmuşlar ve çalışma aralığını 1 – 100 ng/mL olarak tespit etmişlerdir. Geliştirilen yöntemle, kan ve idrar örneklerinde tadalafil ve vardenafil analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Tadalafil ve vardenafilin analitik uygulamasında % 84,0 – 99,0 aralığında geri kazanım elde etmişlerdir.

Ghoneim ve diğerleri, (2013) karbon pasta elektrotla yaptıkları çalışmada vardenafil tayini için basit, duyarlı ve tekrarlanabilir bir elektroanalitik yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmalarında kare dalga adsorptif anodik sıyırma voltametri (SWAdsSV) tekniğini kullanmışlardır. Vardenafilin pH 3 Britton-Robinson (B-R) tamponunda karbon pasta elektrot kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiğinden, çalışma aralığını 1×10^{-9} – $1 \times$

10^{-7} M, gözlenebilme sınırını (LOD) 3×10^{-10} M, tayin sınırını (LOQ) ise 1×10^{-9} M bulmuşlardır. Önerilen yöntemle, vardenafilin serum ve tablet dozaj formlarından analizini gerçekleştirmişler ve vardenafilin yüzde geri kazanımını % 99,7 – 101,2 olarak hesaplamışlardır.

Uslu ve diğerleri, (2005) camsı karbon elektrotla yaptıkları çalışmada vardenafil tayini için yeni bir elektroanalitik yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmalarında Osteryoung kare dalga voltametri (OSW) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniklerini kullanmışlardır. Vardenafilin farklı destek elektrolitlerde pH 1,00-12,00 aralığında anodik pikler verdiğini ve bu piklerin tersinmez olduğunu göstermişlerdir. Vardenafilin pH 2 fosfat tamponunda DPV tekniğiyle oluşturan kalibrasyon grafiğinden, çalışma aralığını $4 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-5}$ M, gözlenebilme sınırını (LOD) $2,53 \times 10^{-8}$ M, tayin sınırını (LOQ) ise $8,4 \times 10^{-8}$ M olarak buldular. OSW tekniği ile yaptıkları çalışmalarda ise, çalışma aralığını $4 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-5}$ M, gözlenebilme sınırını (LOD) $2,69 \times 10^{-8}$ M, tayin sınırını (LOQ) ise $8,95 \times 10^{-8}$ M olarak buldular. Geliştirilen elektroanalitik tekniklerle, vardenafilin serum ve tablet dozaj formlarından analizini gerçekleştirdiler. Vardenafilin DPV ile yüzde geri kazanımını % 100,36 ve OSW ile geri kazanımını % 100,17 hesapladılar.

Costa, Queiroz, Neves, De Assis, dos Soares, da Silva, D'Antonino, De Oliveira, Bellato, (2015) tarafından katı-sıvı özütleme/düşük sıcaklık faz (SLE/LTP) ve yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC/DAD) kullanılarak fomesafenin toprak numunelerinde tayini gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarında fasulye bitkileri yetiştirilen farklı toprak numuneleri kullanılmıştır. Fomesafen toprak numunelerinde \leq % 15 geri kazanımla tayin edilmiş ve kalibrasyon grafiğinden çalışma aralığı 25 – 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$, gözlenebilme sınırı (LOD) 7,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve tayin sınırı (LOQ) 22,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bulunmuştur. Ayrıca fomesafenin yarılanma ömrünün toprak numunesine bağlı olarak 60 – 114 gün arasında değiştiği belirtilmiştir.

Chen, Song, Liu, Zheng, Xing, Liu, (2012) Çin ziraatında kullanılan 116 zirai ilaçın ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (UHPLC-MS / MS) ile eş zamanlı tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında kullanılan zirai ilaçlar arasındaki fomesafenin çalışma aralığı 5 – 100 ng/mL ve tayin sınırı (LOQ) 0,01 mg/kg bulunmuştur. Fomesafenin analitik uygulamasından yüzde geri kazanım % 70- 120 arasında hesaplanmıştır.

Laganà, Fago, Fasciani, Marino, Mosso, (2000) yaptıkları çalışmada difenil-eter grubundan olan asilonifen, bifenoks, floroglikofen, laktofen, oksifluorfen eil asit metabolitlerinden olan asifluorfen, bifenoks asitin ve fomesafenin tayinini yüksek performanslı sıvı kromatografisi/tandem kütle spektrometresi (HPLC/MS-MS) kullanarak yapmışlardır. Bu çalışmada yer alan fomesafenin içme suyu, yeraltı suyu ve nehir suları gibi değişik su numunelerinde tayinleri yapılmıştır. Fomesafen için çalışma aralığını 17,5 – 36,2 ng/L ve gözlenebilme sınırını (LOD) 9,5 ng/L olarak tespit etmişlerdir. Fomesafenin analitik uygulamasında yüzde geri kazanımı % 94 bulmuşlardır.

Literatürde fomesafenini voltametik ya da diğer elektroanalitik yöntemlerle tayinine rastlanmamıştır ve ilk bu tez çalışmasında voltametik tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2.1. Tadalafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar

% Geri Kazanım	---	100,26	98,84	100,95	---	>77
Uygulama						
LOQ($\mu\text{g/mL}$)	0,033	---	0,025	0,066	0,010	0,01
LOD($\mu\text{g/mL}$)	0,001	---	0,01	0,021	0,0015	
Çalışma Aralığı ($\mu\text{g/mL}$)	0,005 – 2	50,7 – 152,10	50 - 150	10 – 200	0,01 – 0,8	0,01 – 2
Yöntem(TADALAFİL)	LC-UV	LC	LC-UV	LC	LC-UV	LC-UV

Çizelge 2.2. Tadalafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar

Kaynak	Ali ve Aboul-Enein, 2004.	Yunoos ve diğerleri, 2010	Lakshmi ve diğerleri, 2009	Rajput ve Patel, 2008	Causanilles ve diğerleri, 2016	Strano-Rossi diğerleri, 2015
% Geri Kazanım	99,5	99,5- 100,2	99,89	97,18-100,02	72,2 – 97,7	99- 108
Uygulama					Atık Su	Gıda katkı Maddeleri
LOQ (µg/mL)	350	---	---	$6,94 \times 10^{-4}$	7,5 ng/L	50 ng/g
LOD (µg/mL)	200	---	---	$2,08 \times 10^{-4}$	2,3 ng/L	5 ng/g
Çalışma Aralığı (µg/mL)	200-5000	2 – 20	0,4 – 2	0,01-0,05	2,3 – 500 ng/L	50 – 2000 ng/g
Yöntem (TADALAFİL)	Capillary electrophoresis	UV spektrophotometric	UV-visible spektrophotometric	Spektrofluorometric	LC/MS	LC-HRMS

Çizelge 2.3. Tadalafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar

Kaynak	Nikolaou ve diğerleri, 2011	Flores ve diğerleri, 2004	Jeong ve diğerleri, 2016	Subba Rao ve diğerleri, 2008	Farthing ve diğerleri, 2010	Karavadi ve Challa, 2010
% Geri Kazanım	92,1-98,9	98,0	99,4-101,1	---	>98,0	91,07
Uygulama			Tablet			Plazma
LOQ (µg/mL)	0,002	2,0	0,7 µg/mg	---	0,1	0,0005
LOD (µg/mL)	0,0007	0,61	0,02 µg/mg	---	0,04	1x10 ⁻⁸
Çalışma Aralığı (µg/mL)	0,002-0,5	1 -20	12,5 -100 µg/mg	10 – 100	0,1- 2	0,0005 – 1
Yöntem (TADALAFİL)	GC/MS	Micellar Electrokinetic capillary Ch.	HTGC/MS	Stability-indicating LC	LC-Fluorescence	LC-MS/MS

Çizelge 2.4. Vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar

Kaynak	Jeong ve diğeri, 2016	Causanilles ve diğeri, 2016	Strano-Rossi ve diğeri, 2015	Soliman ve diğeri, 2014	Xiao ve diğeri, 2013	Ghoneim ve diğeri, 2013	Proença ve diğeri, 2013
% Geri Kazanım	87,3-100,6	83,4 – 102,1	94- 107	97,80- 101,5	103,9	99,7-101,2	68,1-80,7
Uygulama	Tablet	Atık Su	Gıda katkı Maddeleri	Tablet	Plazma	Tablet, Serum	Serum
LOQ (µg/mL)	0,13 µg/mg	24 ng/L	50 ng/g	190 ng/mL	---	1x10 ⁻⁹ M	8ng/mL
LOD (µg/mL)	0,04 µg/mg	7,2 ng/L	25 ng/g	62,5 ng/mL	0,92 ng/mL	3x10 ⁻¹⁰ M	3 ng/mL
Çalışma Aralığı (µg/mL)	12,5 -100 µg/mg	7,2 – 500 ng/L	50 – 2000 ng/g	0,2 – 2 µg/mL	10 -200 ng/mL	1x10 ⁻⁹ – 1x10 ⁻⁷ M	5 -1000 ng/mL
Yöntem (Vardenafil)	HTGC/MS	LC/MS	LC–HRMS	SDSFS	DLLME	ADSV (karbon pasta)	UPLC-MS/MS

Çizelge 2.5. Vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar

Kaynak	Nieto ve diğerleri, 2010	De Orsi ve diğerleri, 2009	De Orsi ve diğerleri, 2009	Ku ve diğerleri, 2009	Reepmeyer ve Woodruff, 2006	Zau ve diğerleri, 2006	Zau ve diğerleri, 2006	Zhu ve diğerleri, 2005
% Geri Kazanım	102	94,5 - 97,8	92,8 - 96,9	---	---	107,3	107,3	95,4 - 105,2
Uygulama	Atık Su	Kozmetik Krem	Kozmetik Krem	Plazma	Herbal dietary Supplement	Kapsül	Kapsül	Şarap
LOQ (µg/mL)	5 ng/g	3,6 µg/g	8,9 µg/g	---	1 mg/L	7,0 µg/mL	0,07 µg/mL	4,48 ng
LOD (µg/mL)	2 ng/g	1,1 µg/g	2,7 µg/g	---	0,1 mg/L	2,0 µg/mL	0,02 µg/mL	1,12 ng
Çalışma Aralığı (µg/mL)	5- 100 ng/g	3,6-250 µg/g	8,9-250 µg/g	0,5 - 200 ng/mL	1,28 - 255,2 mg/L	0,61 - 12,1 µg/mL	0,61 - 12,1 µg/mL	2,25 - 225 µg/mL
Yöntem (Vardenafil)	HPLC-MS/MS	HPLC UV/DAD	HPLC ESI/MS	LC-MS/MS	LC-UV	HPLC UV/DAD	LC ESI/MS/MS	HPLCU-UV-ESI-MS

Çizelge 2.6. Vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmalar

Kaynak	Hasegawa ve diğerleri, 2012	Bartosova ve diğerleri, 2011	Yang ve diğerleri, 2010	Uslu ve diğerleri, 2005	Uslu ve diğerleri, 2005
% Geri Kazanım	84,0- 99,0	---	99,79- 100,45	100,36	100,17
Uygulama	Kan ve idrar	Plazma	Tablet	Serum ve Tablet	Serum ve Tablet
LOQ (µg/mL)	---	9,3 ng/mL	2,1 ng	$8,4 \times 10^{-8}$ M	$8,95 \times 10^{-8}$ M
LOD (µg/mL)	---	3 ng/mL	1,1 ng	$2,53 \times 10^{-8}$ M	$2,69 \times 10^{-8}$ M
Çalışma Aralığı (µg/mL)	1 -100 ng/mL	10 - 400 ng/mL	0,2 -200 µg/mL	4×10^{-7} – 2×10^{-5} M	4×10^{-7} – 2×10^{-5} M
Yöntem (Vardenafil)	LC-MS-MS	HPLC-BDDE Amperometrik	HPLC/DAD	Voltametri (Camsı Karbon) DPV	Voltametri (Camsı Karbon) OSW

Çizelge 2.7. Fomesafen tayinine yönelik yapılan çalışmalar

Kaynak	Costa ve diğerleri, 2015	Chen ve diğerleri, 2012	Laganà ve diğerleri, 2000
% Geri Kazanım	≥98,9	70 – 120	94
Uygulama	Toprak Örnekleri	Bitki Örmenkelri	Göl Suyu
LOQ (µg/mL)	22,1 µg/kg	0,01 mg/kg	---
LOD (µg/mL)	7,3 µg/kg	---	9,5 ng/L
Çalışma Aralığı	25 – 270 µg/kg	5 -100 ng/mL	17,5- 36,2 ng/l
Yöntem (Fomesafen)	SLE/LTP ve HPLC/DAD	UHPLC-MS/MS	HPLC-MS-MS

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Elektrokimyasal ölçümleri için Epsilon model BAS marka (Bioanalytical Systems, Epsilon potentiostat/galvanostat, IN 47906, US) (Resim 3.1) ve Autolab PGSTANT 100 N (Eco Chemie, Hollanda) (Resim 3.2) elektrokimyasal analizörleri kullanılmıştır.



Resim 3.1. BAS model elektrokimyasal analizör



Resim 3.2. Autolab model elektrokimyasal analizör

Elektrotlar

Deneysel çalışmalarda üç elektrotlu elektrokimyasal hücre sistemi kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olarak indirgenme yönündeki çalışmalarda nano yapılı karbon pasta elektrotlar, yükseltgenme çalışmalarında ise TiO_2 ve ZnO ile modifiye edilmiş karbon temelli modifiye elektrotlar kullanılmıştır. Referans elektrot olarak $Ag/AgCl$ (3 M $NaCl$), karşıt elektrot olarak ise platin tel kullanılmıştır.

pH metre

pH ölçümleri, HANNA 211 dijital pH metre ile kombine cam elektrot kullanılarak yapılmıştır (Resim 3.3).



Resim 3.3. pH metre

Terazi

Tartma işlemlerinde, ($\pm 0,0001$ g hassasiyetli) Sartorius marka (Almanya) terazi kullanılmıştır.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Geliştirilen elektrotların yüzey morfolojisini görüntülemek için Zeiss Evo[®] 40 markalı taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır.

3.2. DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Eser düzeydeki çalışmalarda, kullanılan kimyasal maddelerin analitik saflıkta olması gerekir. Bu tez kapsamında çözelti hazırlamalarında kullanılan kimyasal maddeler kromatografik ya da analitik saflıktadır. İlaç etken maddesi olarak tadalafil ve vardenafil, zirai ilaç etken maddesi olarak ise fomesafen analitik saflıkta temin edilmiştir (Sigma-Aldrich). İlaç etken maddelerin stok çözeltileri günlük olarak hazırlanmıştır.

DeneYlerde asetonitril (sigma-aldrich, % 99.93), sodyum hidroksit (Sigma-aldrich, % $\geq 98,0$), borik asit (Sigma-aldrich, % $\geq 99,5$), fosforik asit (Merck, % 85), asetik asit (Merck,

% 100,0), hidroklorik asit (Sigma–aldrich, % 36,5 – 38,0), sülfürik asit (Merck, % 98) ve sodyum hidroksit (Sigma–aldrich, % \geq 98,0) kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler, üretici firma ve saflık dereceleri Çizelge 3.1’de özetlenmektedir.

Çizelge 3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal madde	Firma
2-mercapto benzimidazole	Sigma – Aldrich (% 98)
Anilazin	Sigma – Aldrich (% \geq 99,5)
Asetonitril	Sigma – Aldrich (% \geq 99,93)
Borik Asit	Sigma – Aldrich (% \geq 99,5)
Ca(NO ₃) ₂ ·4 H ₂ O	Sigma – Aldrich (% \geq 99,0)
Cu(SO ₄) ₂ ·5 H ₂ O	Sigma – Aldrich (% 98)
Asetik Asit	Merck (% 100)
Dimetilformamid (DMF)	Sigma – Aldrich (% \geq 99,5)
Dopamin Hidrojen Klorür	Sigma – Aldrich (% 98)
Fe ₂ O ₃ nanopartikül (< 50 nm)	Sigma – Aldrich
FeCl ₃	Sigma – Aldrich (% \geq 99,93)
Fosforik asit	Merck (% 85)
Grafit	Merck (<50 μ m, % > 99,5)
KNO ₃	Sigma – Aldrich (% 98,0)
Çok duvarlı karbon nanotüp	Sigma – Aldrich
Co(NO ₃) ₂ ·6 H ₂ O	Sigma – Aldrich (% \geq 98,0)
Ni(NO ₃) ₂ ·6 H ₂ O	Sigma – Aldrich (% \geq 96,0)
Pymetrozine	Sigma – Aldrich (Analitik Standart)
Sodyum Hidroksit	Sigma – Aldrich (% \geq 98,0)
Sülfürik Asit	Merck (% 95 – 98)
Tiyo üre	Sigma – Aldrich (% \geq 99,0)
TiO ₂ nanopartikül (< 25 nm)	Sigma – Aldrich (% \geq 99,7)
Triflumizole	Sigma – Aldrich (Analitik Standart)
Ürik asit	Sigma – Aldrich (% \geq 99,0)
ZnO nanopartikül (< 50 nm)	Sigma – Aldrich (% >97)
HCl	Sigma – Aldrich (% 36,5 – 38,0)

Çizelge 3.1. (devam) Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Glikoz	Sigma – Aldrich (% \geq 99,5)
NH ₂ -Fonksiyonlu karbon nanotüp	Sigma – Aldrich
COOH-Fonksiyonlu karbon nanotüp	Sigma – Aldrich
NaNO ₃	Sigma – Aldrich (% \geq 99,0)
Pb(NO ₃) ₂	Sigma – Aldrich (% \geq 99,0)
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	Sigma – Aldrich (% \geq 99,5)
Mineral yağ	Sigma-Aldrich
Sentetik kan	Sigma-Aldrich (Hemoglobin, \leq 20 mg/dL)
Grafit	Sigma-Aldrich

3.3. Voltametrik Analizlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. Destek elektrolitlerin hazırlanması

Deneysel çalışmalarda destek elektolit olarak fosfat tamponu, Britton-Robinson tamponu ve H₂SO₄ çözeltileri kullanılmıştır.

Britton-Robinson tampon çözeltisi (B-R tamponu)

2,5 g borik asit, 2,3 mL asetik asit ve 2,7 mL kütlece % 85'lik fosforik asit karışımı saf su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu karışımdan 100 mL'lik kısımlar alınıp 5,0 M NaOH veya 5,0 M HCl çözeltileri ilaveleriyle pH 2'den 10'a kadar B-R Britton Robinson tampon çözeltileri hazırlanmıştır.

0,1 M H₂SO₄ çözeltisi

Yoğunluğu 1,84 g/mL ve kütlece % 98 (a/a) olan derişik H₂SO₄ çözeltisinden 2,72 mL alınarak hacmi saf su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M H₂SO₄ çözeltisi

Yoğunluğu 1,84 g/mL ve kütlece % 98 (a/a) olan derişik H₂SO₄ çözeltisinden 0,27 mL alınarak hacmi saf su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır.

Fosfat Tampon çözeltisi

pH 2 ve 3 fosfat tamponu hazırlamak için stok H₃PO₄ (% 85, d = 1,70 g/mL) çözeltisinden 13,4 ml alınıp 1 L'ye saf su ile tamamlanır. Hazırlanan bu stok çözeltinin pH değeri yaklaşık 1,70 civarındadır. pH 2 ve 3 fosfat tamponu hazırlanmak için uygun hacimde 5 M NaOH ilave edilerek istenen pH değerlerine getirilmiştir.

5 M NaOH Çözeltisi

İstenen pH değerlerinde tampon çözeltiler hazırlamak için 5 M NaOH çözeltisi kullanılmıştır. 5 M 100 mL NaOH çözeltisi hazırlamak için 20 g NaOH katısı tartılıp hacmi ölçülü balonda 100 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır.

5 M HCl Çözeltisi

İstenen pH değerlerinde tampon çözelti hazırlamak için 5 M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Yoğunluğu 1,2 g/mL ve kütlece % 37 (a/a) olan derişik HCl çözeltisinden 41,11 mL alınarak hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.2. Stok çözeltilerin hazırlanması

Tadalafilin organik çözücülerde çözünürlüğü fazla olduğundan, tadalafil stok çözeltisi asetonitril organik çözücünde hazırlanmıştır. 0,0050 g tadalafil farmasötik etken maddesi tartılıp ölçülü balonda hacmi 10 mL'ye asetonitril ile tamamlanmıştır.

0,5 g/L (1,02 mM) vardenafil

Vardenafil suda kolay çözünebilen (20 °C'de 110 mg/L) bir organik bileşik olduğundan çözücüsü su seçilmiştir. 0,0050 g vardenafil ilaç etken maddesi tartılıp ölçülü balonda saf su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (1,14 mM) fomesafen: Fomesafenin suda çözünürlüğü az olduğundan (20 °C'de 50 mg/L) % 50 aseton-saf su karışımında hazırlanmıştır (asetonda 20 °C'de 300 g/L). 0,0050 g fomesafen tartılarak önce 5 mL asetonunda çözülmüş sonra saf su ile hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır. Kullanılan fomesafen stok çözeltisi günlük olarak hazırlanmıştır.

0,5 g/L anilazin (1,81 mM): Anilazin stok çözeltisi, sudaki çözünürlüğü az olduğundan (20 °C'de 8 mg/L) % 50 asetonitril-saf su karışımında hazırlanmıştır. 0,0050 g anilazin tartılarak, 5 mL asetonitrilde çözüldükten sonra damıtık su ile hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (2,30 mM) pimetrozin: Pymetrozin stok çözeltisi, suda çözünürlüğü az olduğundan (20 °C'de 270 mg/L) % 50 asetonitril-saf su karışımında hazırlanmıştır. 0,0050 g pymetrozine tartılarak, 5 mL asetonitrilde çözüldükten sonra damıtık su ile hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (1,45 mM) triflumizol: Triflumizol stok çözeltisi, suda çözünürlüğü az olduğundan (20 °C'de 10,5 mg/L) % 50 aseton-saf su karışımında hazırlanmıştır. 0,0050 g triflumizol tartılarak, 5 mL asetonunda çözüldükten sonra damıtık su ile hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (6,57 mM) tiyoüre: Tiyoüre suda kolay çözünebilen organik bir bileşik olduğu için çözücüsü su seçilmiştir. 0,0050 g tiyoüre tartılıp balon jodede saf su ile çözüldükten sonra hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (3,26 mM) dopamin: Dopamin suda kolay çözünebilen bir bileşik olduğundan çözücü olarak su seçilmiştir. 0,0050 g dopamin tartılıp daha sonra balon jodede saf su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Dopamin çözeltisi ışık ve sıcaklıktan etkilendiğinden günlük olarak hazırlanmıştır.

0,5 g/L (2,94 mM) *ürük asit*: Ürik asit suda zor çözünebilen bir bileşik olduğundan çözücü olarak 0,1 M NaOH çözeltisi seçilmiştir. 0,0050 g ürik asit tartılıp daha sonra balon jode 0,1 M NaOH çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (2,78 mM) *glikoz*; Glikoz suda kolay çözünebilen bir bileşik olduğundan çözücü olarak su seçilmiştir. 0,0050 g glikoz tartılıp ölçülü balonda damıtık su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (3,33 mM) *2-merkaptobenzimidazol*; 2-merkaptobenzimidazol suda az çözünen bir madde olmasına rağmen seyreltik çözeltisi için çözücüsü su seçilmiştir. 0,0050 g 2-merkaptobenzimidazol hassas bir şekilde tartılıp daha sonra ölçülü balonda saf su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (8,48 mM) *Co(II)*; 0,0248 g kobalt (II) nitrat heksahidrat [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile çözülerek toplam hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (2,41 mM) *Pb(II)*; 0,0080 g kurşun (II) nitrat [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (7,87 mM) *Cu(II)*; 0,0195 g bakır (II) sülfat pentahidrat [$(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (8,52 mM) *Ni(II)*; 0,0248 g nikel (II) nitrat heksahidrat [$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (12,48 mM) *Ca(II)*; 0,0295 g kalsiyum (II) nitrat [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (21,75 mM) *Na(I)*; 0,0185 g sodyum nitrat [NaNO_3] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile toplam hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (12,79 mM) *K(I)*; 0,0130 g potasyum nitrat [KNO_3] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (20,57 mM) Mg(II); 0,0513 g magnezyum sülfat [MgSO₄·7H₂O] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

0,5 g/L (8,95 mM) Fe(III); 0,0145 g demir (III) klorür [FeCl₃] tartılıp 10 mL'lik ölçülü balonda saf su ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.3. Farmasötik tablet ve numune çözeltilerinin hazırlanması

Tadalafil etken maddesi içeren tablet çözeltisinin hazırlanması

20 mg tadalafil etken maddesi içeren Lifta[®] tableti bir havanda toz halinde getirilmiştir. Toz haline getirilen tadalafil bir balon joje içerisine alınıp üzerine 40 mL asetonitril ilave edilerek son derişimi 500 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan tablet çözeltisi oda sıcaklığında yaklaşık olarak 2 saat boyunca ultrasonik banyoda karıştırılmıştır.

Tadalafil etken maddesi içeren kan serumu çözeltisinin hazırlanması

Tadalafilin analitik uygulaması için gönüllü bir kişiden elde edilen kan 3000 rpm'de 10 dakika santritüj edilip kan içindeki proteinler serumdan ayrıştırılmıştır. Daha sonra 3,6 mL serum numunesi üzerine 5,4 mL asetonitril ve 1 mL tadalafil stok çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan serum örnekleri analiz edilene kadar – 4 °C'de saklanmıştır.

Vardenafil etken maddesi içeren tablet çözeltisinin hazırlanması

20 mg vardenafil etken maddesi içeren Levitra[®] tableti balon joje içerisine alınıp üzerine 100 mL saf su ilave edilerek son derişimi 200 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan tablet çözeltisi oda sıcaklığında yaklaşık olarak 2 saat boyunca ultrasonik banyoda karıştırılmıştır. Hazırlanan stok çözelti 1 gün boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Vardenafil etken maddesi içeren sentetik kan serum çözeltisinin hazırlanması

Vardenafilin analitik tayinin uygulaması için sentetik kan serumu kullanılmıştır. 9,0 mL sentetik kan serumu örneklerine, 500 mg/L vardenafil stok çözeltisinden 1 mL eklenerek

50 mg/L derişimli numuneler hazırlanmıştır. Hazırlanan numuneler oda sıcaklığında yaklaşık 1 saat boyunca ultrasonik banyoda karıştırıldıktan sonra 12 saat bekletilmiştir. Daha sonra vardenafil için geliştirilen voltametrik yöntemlerle analiz edilmiştir.

Fomesafen katkılı baraj suyu ve ticari meyve suları numunelerinin hazırlanması

Fomesafen herbisidin tayini için geliştirilen yöntemin analitik uygulamalarında kullanılan doğal su numuneleri Ankara Mogan gölünden alınmıştır. 9,0 mL göl suyu örneklerine, 500 mg/L fomesafen stok çözeltisinden 1 mL eklenerek 50 mg/L derişimli numuneler hazırlanmıştır. Hazırlanan numuneler oda sıcaklığında yaklaşık 1 saat boyunca ultrasonik banyoda karıştırıldıktan sonra fomesafen için geliştirilen voltametrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Fomesafen için geliştirilen yöntem ticari meyve sularına da uygulanmıştır. 500 mg/L fomesafen stok çözeltisinden 1 mL alınıp üzerine 9 mL meyve suyu ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler 1 saat boyunca ultrasonik banyosunda karıştırılmıştır.

3.3.4. Karbon temelli elektrotların hazırlanması

Tadalafil tayini için çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) ve TiO₂ nanopartiküllerle modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO₂-MWCNTPE) olmak üzere iki tip elektrot hazırlanmıştır. Yalın elektrotlar (MWCNTPE) kütlece % 70 çok duvarlı karbon nanotüp tozu ile % 30 mineral yağ karışımından hazırlanmıştır. TiO₂-modifiye elektrotlar (TiO₂-MWCNTPE) ise kütlece % 30 mineral yağ ile yine kütlece % 1, 5, 10 ve 20 TiO₂ nanopartikül ve çok duvarlı karbon nanotüp tozundan hazırlanmıştır.

Vardenafil tayini için hazırlanan elektrotların yapımı daha farklıdır. Tadalafil ve fomesafen için hazırlanan elektrotlarda çok duvarlı karbon nanotüp tozu pasta halinde doğrudan kullanılırken, vardenafil çalışmasında çok duvarlı karbon nanotüpün süspansiyon çözeltisi elektrot yüzeyine damlatılarak kullanılmıştır. Vardenafil için geliştirilen yöntemde çok duvarlı karbon nanotüplerin yanı sıra COOH ve NH₂ fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüpler de kullanılmıştır. Yapılan işlemde 0,5 mg çok duvarlı karbon nanotüp tozları tartılıp üzerine 1 mL dimetil formamid (DMF) ilave edilmiştir. Daha sonra bu süspansiyon 2 saat boyunca ultrasonik banyosunda karıştırılmıştır. İlk olarak % 70 grafit ile % 30 mineral yağ karışımı içeren yalın elektrotlar hazırlanmıştır. Daha sonra % 30 mineral yağ,

% 5 Fe₂O₃ veya ZnO nanopartiküllerle % 65 grafit tozu karışımı içeren çalışma elektrotları hazırlanmıştır. Metal oksit içeren kompozit elektrotların yüzeylerine DMF içerisinde hazırlanan çok duvarlı karbon nanotüp süspansiyon çözeltilerinden mikro pipetler yardımıyla damlat-kurut yöntemiyle modifiye film elektrotlar hazırlanmıştır.

Fomesafenin analitik tayini için çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) ile mineral yağ karışımını içeren çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotları (MWCNTPE) hazırlanmıştır. Literatürde karbon pasta elektrot için genel olarak kütlece % 55 – 75 çok duvarlı karbon nanotüp tozu ile % 25 – 45 arasında mineral yağı karışımı kullanılmıştır (Demir ve İnam, 2017; İnam ve diğerleri, 2013; Rubianes ve Rivas, 2003). Bu çalışmada mineral yağı ile çok duvarlı karbon nanotüp tozu oranı kütlece % 30 – 70 olacak şekilde alınmıştır. Mineral yağı ile karbon nanotüp tozu saat camı ya da havanda homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra, karbon oyuk elektroduna tıkanmış ve kurutulduktan sonra zımpara ile parlatılarak çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında tadalafil ve vardenafil ilaç etken maddeleri ile fomesafen zirai ilaç etken maddesinin elektrokimyasal davranışları, geliştirilen karbon temelli modifiye elektrotlar kullanılarak kare dalga sıyırma (SWSV), diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) gibi elektroanalitik tekniklerle incelenmiştir. Her bir madde için uygun destek elektrolitin belirlenmesinde pH 1 ile 10 arasında hazırlanan tampon çözeltiler kullanılmıştır. Önce ilaç etken maddelerinin elektrotlar üzerindeki indirgenme-yükseltgenme davranışları belirlenmiş, daha sonra doğal örneklerde ve gerçek numunelerde analizlerinin gerçekleştirilebilmesi için optimum deney koşulları sağlanmıştır. Optimize edilen koşullarda kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Yöntemin geçerliliği için (validasyon çalışması), tayin ve gözlenebilirlik sınırlarının belirlenmesi, bağıl hataların ve bağıl standart sapmaların bulunması, girişim etkisinin incelenmesi, farmasötik ve doğal numunelere uygulama, ilaç tabletlerinde ve sentetik numunelerde % geri kazanım ve son olarak elektrot tepkime mekanizma aydınlatma çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

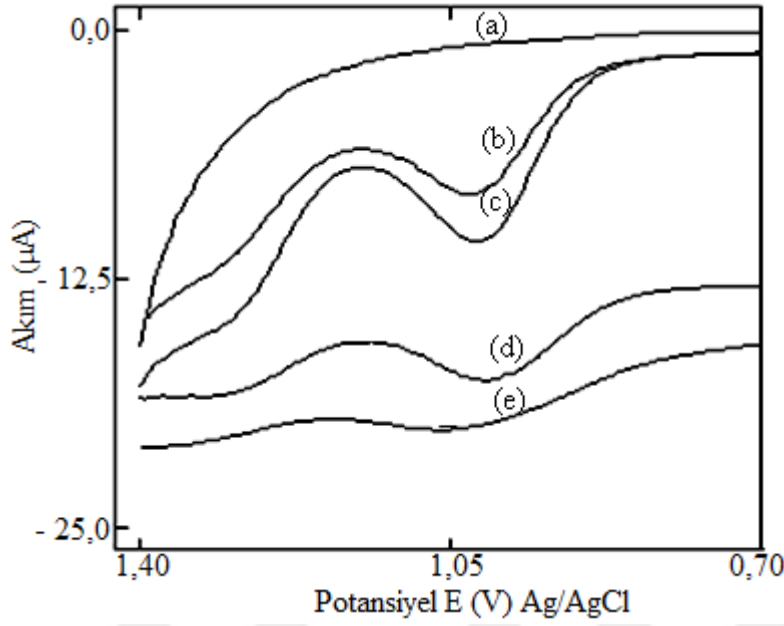
4.1. Tadalafilin Yalın (MWCNTPE) ve Modifiye Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Pasta Elektrot (TiO₂-MWCNTPE) ile Voltametrik Olarak İncelenmesi

Tadalafilin voltametrik davranışı yalın elektrot olarak hazırlanan çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) ve modifiye elektrot olarak hazırlanan TiO₂ nanopartiküllerle modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotları (TiO₂-MWCNTPE) üzerinde incelenmiştir. Geliştirilen karbon temelli modifiye elektrotların yüzey morfolojisi SEM ile aydınlatılmıştır. Tadalafilin elektroanalitik çalışmalarında kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) kullanılmıştır. Deneysel çalışmalara geliştirilen elektrot yüzeylerinde tadalafilin indirgenme ya da yükseltgenme yönündeki elektrokimyasal davranışları incelenerek başlanmıştır. Tadalafilin tayini için ilk olarak uygun destek elektrolit (pH ortamı) araştırılmıştır. pH 1 ile 10 arasında hazırlanan tampon çözeltilerinin pik akımı ve pik potansiyelleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve uygun destek elektrolit belirlenmiştir. Tadalafilin yalın ve modifiye elektrotlar üzerinde kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ile incelenmesinde aletsel parametreler optimize edilmiştir. Optimize edilen koşullarda tadalafilin tayini için kalibrasyon grafiği elde edilmiş, çalışma aralığı, gözlenebilme ve

tayin sınırları belirlenmiştir. Tadalafil tayini için geliştirilen voltametrik yöntemle tadalafil içeren tablet örneklerinde analizler gerçekleştirilmiş, ayrıca kan ve idrar gibi örneklerde analitik uygulamalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım olarak değerlendirilmiştir. Doğal numunelerde sıkça rastlanan metal iyonları ve bazı organik moleküllerin girişim etkileri de incelenmiştir. Son olarak geliştirilen elektrot yüzeylerindeki yükseltgenme mekanizması aydınlatılmıştır. Yalın ve modifiye elektrotlar üzerinde, tadalafilin yükseltgenme mekanizması örnek model ilaçlar ile kıyaslama yapılarak aydınlatılmıştır.

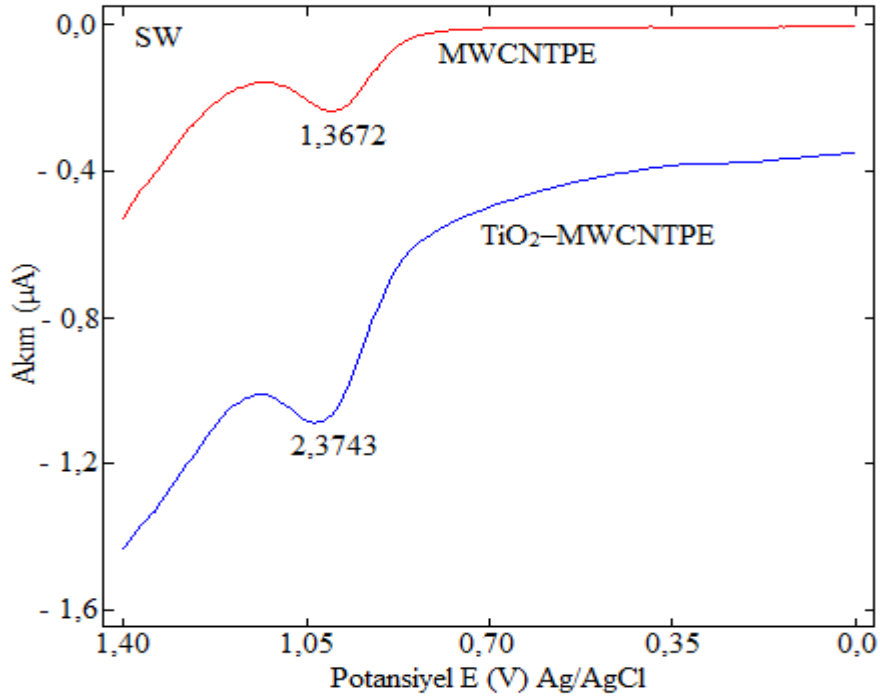
4.1.1. TiO₂ nanopartiküllerle modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotlarının (TiO₂-MWCNTP) hazırlanması

Tadalafil ilaç etken maddesinin tayinine yönelik olarak çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) tozu farklı oranlarda TiO₂ nanopartikülleri ile karıştırılarak kompozit elektrotlar hazırlanmıştır. İlk olarak kütlece % 70 çok duvarlı karbon nanotüp tozu ile % 30 mineral yağ karışımından yalın elektrot (MWCNTPE) hazırlanmıştır. Ayrıca % 30 mineral yağ oranı sabit kalacak şekilde kütlece sırasıyla % 1, % 5, % 10 ve % 20 TiO₂ nanopartikül ile % 69, % 65, % 60 ve % 50 çok duvarlı karbon nanotüp toz içeren modifiye elektrotlar (TiO₂-MWCNTP) hazırlanmıştır. Hazırlanan TiO₂-MWCNTP içeren modifiye elektrotlar üzerinde pH 3 B–R tamponunda 5 mg/L tadalafilin kare dalga sıyırma voltamogramları (SWSV) elde edilmiştir. Elde edilen SWS voltamogramları Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Tadalafilin tayininde en duyarlı pik akımı % 5 TiO₂ nanopartikül ile hazırlanan modifiye karbon pasta elektrotuyla sağlanmıştır. TiO₂ nanopartikül miktarı % 1’den % 5’e doğru artırıldığında tadalafil pik akımı yüksekliğinde artış gözlenirken % 5’den sonra pik akımı azalmıştır. % 20 TiO₂ içeren kompozit elektrotlar üzerinde tadalafilin yükseltgenme piki kaybolmuştur. Bundan sonraki çalışmalara en duyarlı piklerin elde edildiği % 5 TiO₂ nanopartikül, % 65 çok duvarlı karbon pasta tozu ve % 30 mineral yağ içeren modifiye çok duvarlı karbon pasta elektrotlarla devam edilmiştir.

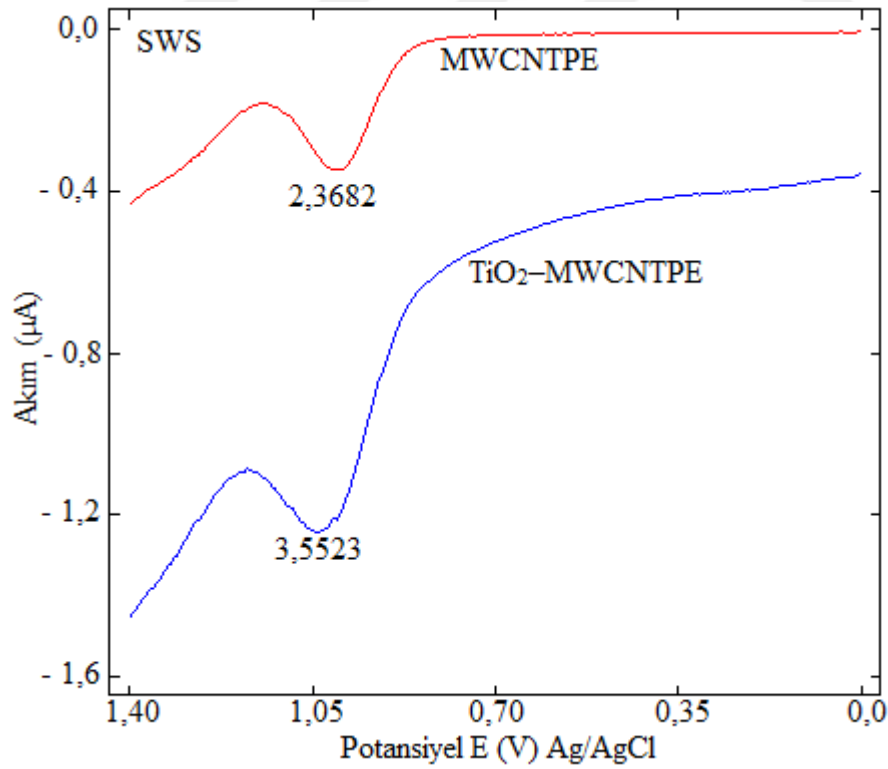


Şekil 4.1. TiO_2 nanopartikül modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotlarla (TiO_2 -MWNCTPE) 5 mg/L tadalafilin kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları a) destek çözeltisi b) % 1 TiO_2 c) % 5 TiO_2 d) % 10 TiO_2 e) % 20 TiO_2 ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $f = 100$ Hz, $\Delta E_b = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV, pH 3 B-R tampon)

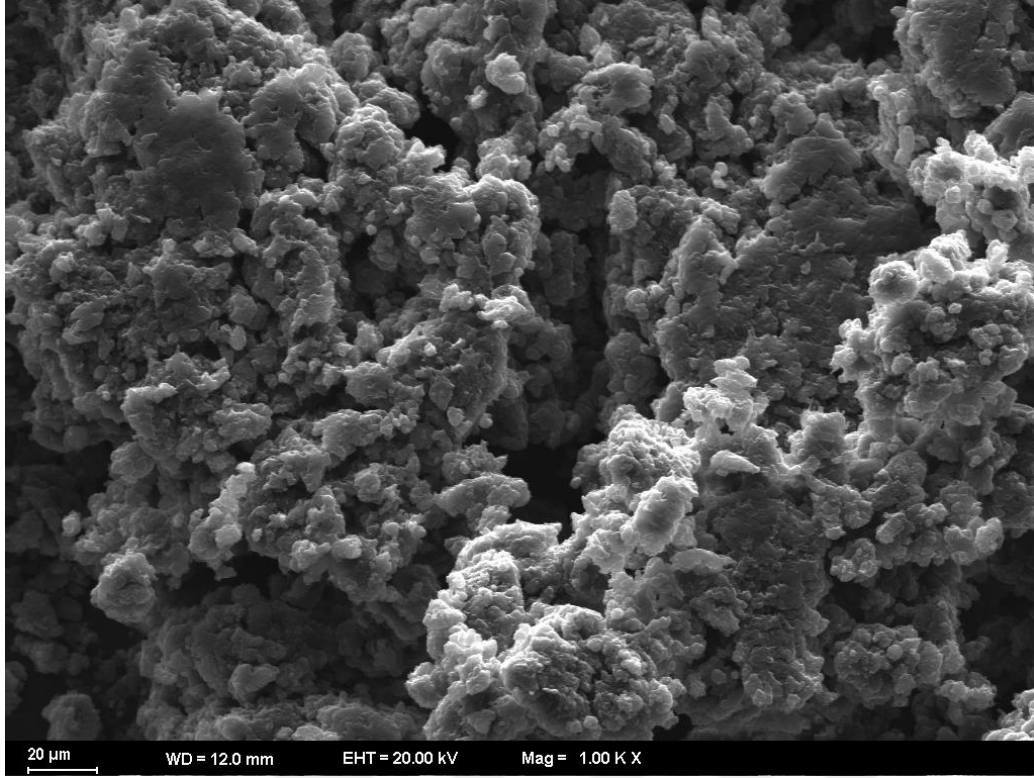
Hazırlanan yalın MWNCTPE ve modifiye TiO_2 -MWNCTPE elektrotlar üzerinde tadalafilin kare dalga (SW) ve kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları incelenmiştir (Şekil 4.2 ve 4.3). İlk olarak SW ve SWS voltametri ile elde edilen voltamogramlardan çalışma elektrotlarının duyarlılığı karşılaştırılmıştır. SW ile kaydedilen voltogramlara bakıldığında modifiye elektrotların pik akımının yalın elektrotlara göre % 74 daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4.2). SWS voltametrisinde ise bu artış % 50'dir. Bu veriler TiO_2 ile modifiye edilmiş karbon nanotüp pasta elektrotların tadalafil tayininde daha duyarlı sonuçlar verdiğini göstermektedir. İkinci olarak her iki elektrot üzerinde SW ve SWS teknikleri karşılaştırılmıştır. Yalın MWNCTP elektrot ile alınan kare dalga voltamogramları, sıyırma yöntemlerinin sıyrımsız yöntemlere göre tadalafilin pik akımını % 73 artırdığı, modifiye TiO_2 -MWNCTP elektrodun ise % 47' artırdığını göstermiştir. Bundan dolayı, daha sonraki çalışmalarda tadalafil tayini için TiO_2 içeren modifiye karbon pasta elektrotlar üzerinde kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) uygulanmıştır. Ayrıca hazırlanan yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotların yüzey morfolojisi SEM ile belirlenmiştir (Şekil 4.4 ve 4.5). TiO_2 -MWCNTPE elektrotların yüzey alanının artışı ve morfolojisindeki değişim elektron aktarım basamağını etkileyerek daha duyarlı piklerin eldesini sağlamıştır.



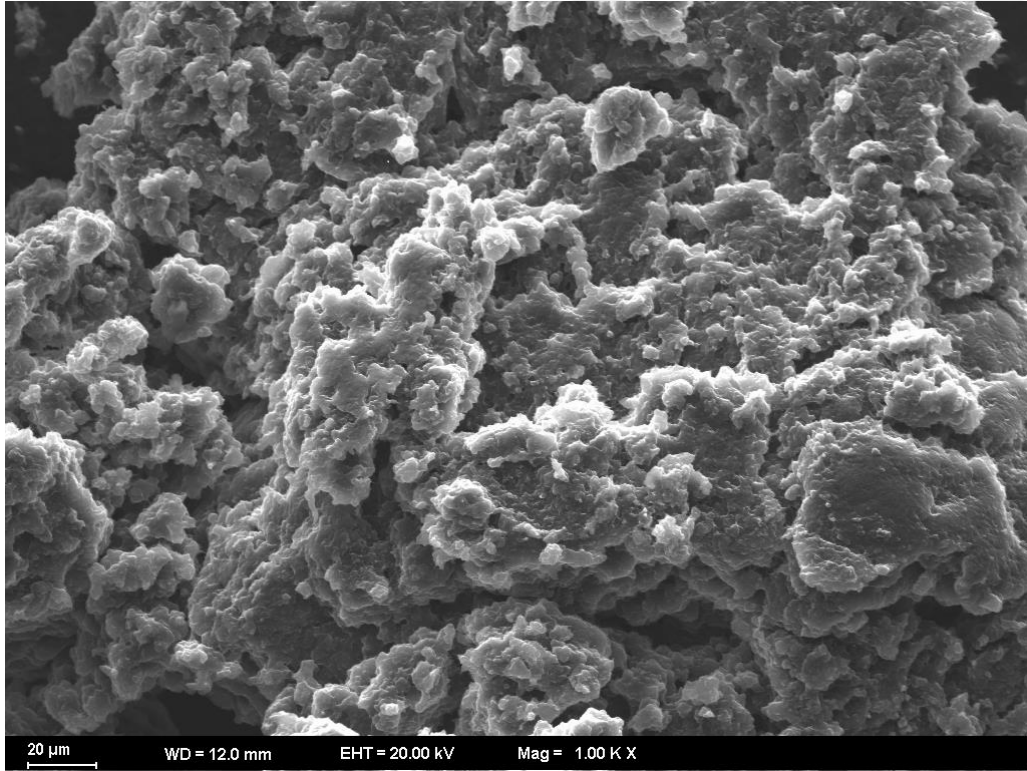
Şekil 4.2. 5 mg/L tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye $\text{TiO}_2\text{-MWCNTPE}$ elektrotlarla elde edilen kare dalga (SW) voltamogramları ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $f = 100$ Hz, $\Delta E_b = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV, pH 3 B-R tamponu)



Şekil 4.3. 5 mg/L tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye $\text{TiO}_2\text{-MWCNTPE}$ elektrotlarla elde edilen kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $f = 100$ Hz, $\Delta E_b = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV, pH 3 B-R tamponu)



Şekil 4.4. Çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrodunun (MWCNTPE) SEM görüntüsü

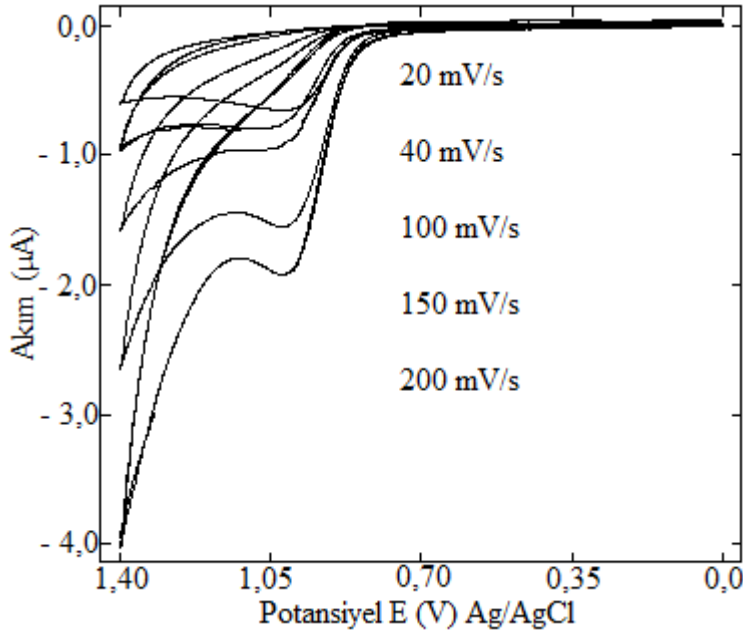


Şekil 4.5. TiO₂ nanopartiküllerle modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrodunun (TiO₂-MWCNTPE) SEM görüntüsü

4.1.2. Tadalafilin dönüşümlü voltametri ile yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotlar üzerinde incelenmesi

Tadalafilin voltametrik davranışı ve elektrot tepkimesi yalın MWCNTPE ve TiO_2 ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta (TiO_2 -MWCNTPE) elektrotları üzerinde dönüşümlü voltametri tekniğiyle incelenmiştir.

50 mg/L tadalafil TiO_2 ile modifiye edilmiş olan çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot üzerinde dönüşümlü voltametri tekniği ile pH 3,0 B-R tampon çözeltisinde farklı tarama hızlarında incelenmiştir. Tadalafilin dönüşümlü voltamogramlarının elde edilebilmesi için 0 mV'dan başlayarak +1400 mV'a kadar önce pozitif yönde bir potansiyel taraması daha sonrada +1400 mV'dan 0 mV'a kadar negatif yönde bir potansiyel taraması yapılmıştır. Şekil 4.6'de görüldüğü gibi pozitif yöndeki potansiyel taramasında yaklaşık +1000 mV'da tek bir anodik pik elde edilmiştir. Negatif yöndeki potansiyel taramasında ise tadalafile ait herhangi bir katodik pik gözlenmemiştir. Ayrıca 50 mg/L tadalafilin dönüşümlü voltamogramları yalın MWCNTPE elektrot üzerinde, farklı tarama hızlarında elde edilmiştir. Bu çalışmada +1020 mV' de tadalafile ait tek bir anodik pik gözlenirken negatif yöndeki taramada herhangi bir katodik pik gözlenmemiştir.



Şekil 4.6. Modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrot ile pH 3,0 B-R tamponunda 50,0 mg/L tadalafilin farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları

Her iki elektrotla tarama hızının (v) tadalafilin pik potansiyeline (E_p) etkisi 20 –250 mV/s aralığında çalışılmıştır. Artan tarama hızının (v) pik potansiyelerine etkisini (E_p) ifade eden bağıntılar aşağıda verilmektedir.

$$E_p \text{ (V)} = - 0,051 \log v \text{ (V/s)} + 0,949 \quad r = 0,990 \text{ (Yalın MWCNTPE)}$$

$$E_p \text{ (V)} = - 0,056 \log v \text{ (V/s)} + 0,927 \quad r = 0,986 \text{ (TiO}_2\text{-MWCNTPE)}$$

E_p tadalafilinün yükseltgenme pik potansiyelerini v ise potansiyel tarama hızlarını göstermektedir. Her iki elektrotla kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde, pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında bir tane anodik pikin gözlenmesi, negatif yönde yapılan potansiyel taramasında ise herhangi bir pikin gözlenmemesi ve tarama hızı arttıkça anodik pik potansiyellerinin daha az pozitif değerlere kayması, tadalafilin yükseltgenme tepkimesinin tersinmez olduğunu göstermektedir. Her iki elektrotla yapılan çalışmalarda tadalafilinün pik potansiyelleri daha az pozitif yönde kaymaktadır.

pH 3,0 B–R destek elektrolit içerisinde 50,0 mg/L tadalafilin her iki elektrotla yapılan farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına bakıldığında, pik akımı (i_p) ile tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasındaki bağıntının doğrusal olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen pik akımına (i_p) karşı potansiyel tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) doğru denklemleri aşağıda verilmiştir.

$$i_p \text{ (}\mu\text{A)} = 0,44 v^{1/2} \text{ (V/s)} - 0,595 \quad r = 0,998 \text{ (Yalın MWCNTPE)}$$

$$i_p \text{ (}\mu\text{A)} = 0,67 v^{1/2} \text{ (V/s)} - 0,847 \quad r = 0,999 \text{ (Modifiye TiO}_2\text{-MWCNTPE)}$$

Dönüşümlü voltametri çalışmalarından elde edilen verilerle tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log i_p$) grafiğe geçirildiğinde yalın MWCNTPE ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotlar için doğrusal denklemler elde edilmiştir. Bu doğru denklemleri aşağıda ifade edildiği gibidir.

$$\log (i_p) = 0,43 \log v \text{ (mV/s)} - 0,28 \quad r = 0,991 \text{ (Yalın MWCNTPE)}$$

$$\log (i_p) = 0,63 \log v \text{ (mV/s)} - 0,48 \quad r = 0,994 \text{ (Modifiye TiO}_2\text{-MWCNTPE)}$$

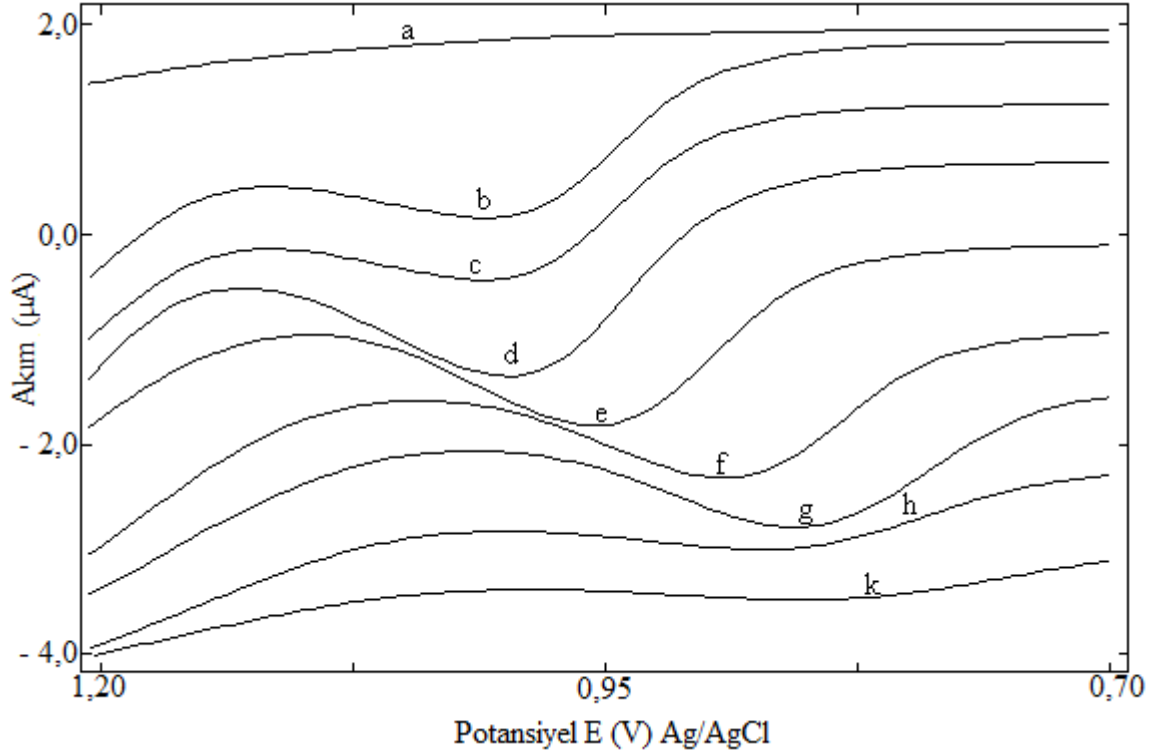
Yalın MWCNTP ve modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrotlarla potansiyel tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log i_p$) grafiğinin eğimleri sırasıyla 0,43 ve 0,63 olarak bulunmuştur. Elde edilen deneysel değerlerin, difüzyon akımı için teorik değer olan 0,5'e oldukça yakın olması elektrot tepkimesinin difüzyon kontrollü olduğunu yani tadalafilin elektrot yüzeyine taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Ancak TiO_2 -MWCNTPE modifiye elektrodu ile yapılan çalışmalarda potansiyel tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log i_p$) grafiğinin eğiminin 0,5 ile 1 arasında olması, tadalafilin elektrot yüzeyine taşınmasında az da olsa adsorpsiyon etkisinin olduğunu, yani elektrot tepkimesinin difüzyon-adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Buna göre, TiO_2 -MWCNTP modifiye elektrot ile yapılan çalışmalarda madde taşınmasının karışık kontrollü olduğunu, nanopartiküllerin adsorplayıcı özelliğinden dolayı tadalafilin elektrot yüzeyine taşınmasında adsorpsiyonunda etkili olabileceğini söyleyebiliriz. Modifiye elektrot hazırlanmasında TiO_2 oranı arttıkça tadalafil yükseltgenme pikinin azaldığı ve TiO_2 kütlece % 20 olduğunda tadalafilin yükseltgenme pikinin kaybolduğu görülmektedir (Şekil 4.1). Yüksek oranlardaki TiO_2 nanopartikül içeren modifiye karbon nanotüp pasta elektrotlarda, elektrot yüzeyindeki elektron aktarımının yavaş olmasıyla herhangi bir pik elde edilememiştir.

4.1.3. Tadalafilin kare dalga sıyırma voltametriyle yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotlar kullanılarak tayini

Tadalafilin voltametrik tayini için yapılan çalışmalarda kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) tekniği kullanılmıştır. Tadalafilin voltametrik davranışı çok duvarlı karbon nanotüp pasta (MWCNTPE) ve karbon nanotüp tozu ile TiO_2 nanopartiküllerinden hazırlanan modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta (TiO_2 -MWCNTPE) elektrotlar kullanılarak geniş bir pH aralığında incelenmiştir. pH 1,0 – 2,0 için 0,1 M ve 0,01 M H_2SO_4 çözeltileri ve pH 2,0 – 10,0 için ise Britton-Robinson (B-R) tampon çözeltileri kullanılmıştır. Tadalafilin SWS voltamogramlarının kaydedilebilmesi için daha önce dönüşümlü voltamogramlardan elde edilen bilgiler doğrultusunda 0 mV'dan başlanarak pozitif yönde +1600 mV'a kadar potansiyel taramaları yapılmıştır.

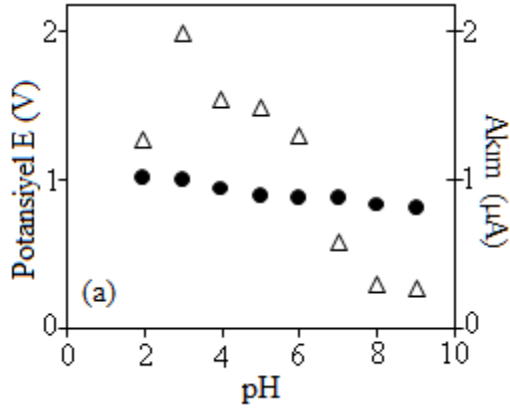
Uygun destek elektrolit ortamını belirlemek için kare dalga sıyırma voltametri tekniği kullanılarak 5 mg/L tadalafilin yükseltgenme davranışı farklı pH'larda her iki elektrotla incelenmiştir. pH 1,0 ile 6,0 arasında yapılan çalışmalarda tadalafile ait tek bir

yükseltgenme piki gözlenmiştir. pH 7 ve üzerindeki değerlerde ise her iki elektrot üzerinde tadalafilin yükseltgenme piki gözlenmemiştir. TiO₂ nanopartikül ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrodu kullanılarak farklı pH'larda elde edilen kare dalga sıyırma voltamogramları Şekil 4.7'de verilmiştir.

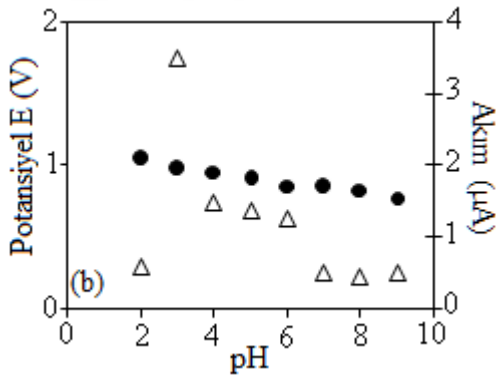


Şekil 4.7. 5,0 mg/L tadalafilin TiO₂ ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO₂-MWCNTPE) üzerinde farklı pH'lardaki kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları a) Destek çözelti b) 0,1 M H₂SO₄ çözeltisi c) 0,01 M H₂SO₄ çözeltisi d) pH 2,0 B-R tamponu e) pH 3,0 B-R tamponu f) pH 4,0 B-R tamponu g) pH 5,0 B-R tamponu h) pH 6,0 B-R tamponu ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $f = 100$ Hz, $\Delta E_b = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV)

Değişik pH'larda kare dalga sıyırma voltametriyle (SWSV) yalnız MWCNTPE elektrot ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrot kullanılarak elde edilen voltamogramlardan pH'ya karşı tadalafilin pik potansiyelleri (E_p) grafiği Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da gösterilmektedir.



Şekil 4.8. Yalın MWCNTP elektrot üzerinde 5,0 mg/L tadalafilin pik potansiyeli ve akımına pH'nın etkisi. ● pik potansiyeli, E_p ve Δ pik akımı, i_p



Şekil 4.9. Modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrot üzerinde 5,0 mg/L tadalafilin pik potansiyeline ve akımına pH'nın etkisi. ● pik potansiyeli, E_p ve Δ pik akımı, i_p

Yalın MWCNTP elektrot ve modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrotlar kullanılarak değişik pH'larda elde edilen tadalafilin SWS voltamogramlarından, pH'ya karşı pik potansiyellerinin (E_p) değişimi incelenmiştir. Yalın MWCNTP elektrotla her bir birimlik pH değişimine karşı tadalafilin yükseltgenme pik potansiyeli 29,2 mV daha az pozitif değerlere kaymıştır. Modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotla ise her bir birimlik pH değişimine karşı tadalafil pik potansiyelinde 36,3 mV'luk bir kayma görülmüştür. Her iki elektrotla artan pH değerine karşı tadalafilin yükseltgenme pikinin negatif yöne kayması elektrot yüzeyindeki yükseltgenmenin bazik bölgelerde kolaylaştığını, asidik pH'lara gidildikçe zorlaştığını göstermektedir. Ayrıca yüksek pH'larda tadalafilin pik potansiyelinin negatif yöne kayması elektrot tepkime mekanizmasının aydınlatılması için önemli bir veridir. Buradan elde edilen veriler yükseltgenme tepkimesine hidrojen iyonunun (H^+) eşlik ettiğini göstermektedir. Yalın MWCNTP elektrot ve modifiye

TiO₂-MWCNTPE elektrotlar ile elde edilen pH'ya karşı pik potansiyelleri E (mV) kayması eşitlikleri aşağıda verilmektedir.

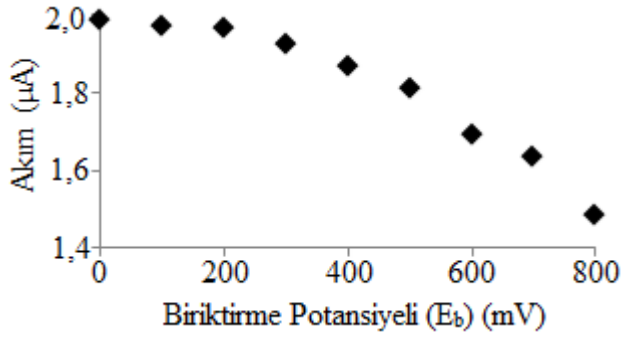
$$E_p \text{ (mV)} = -29,2 \pm 0,03 \text{ pH} + 1107,9 \pm 0,8 \text{ (mV)} \quad r=0,991 \text{ (Yalın MWCNTPE)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = -36,3 \pm 0,06 \text{ pH} + 1109,0 \pm 1,0 \text{ (mV)} \quad r=0,995 \text{ (TiO}_2\text{-MWCNTPE)}$$

Her iki elektrot üzerinde tadalafilin yükseltgenme pik potansiyelinin pH'ya bağlı olduğu anlaşılmıştır. pH artıkça, yükseltgenme pik potansiyeli daha negatif yöndeki potansiyellere kaymıştır. Her iki elektrot üzerinde yapılan çalışmalarda pH 3'e kadar pik yüksekliği artmıştır. pH 3'den pH 6'ya kadar ise pik yüksekliği azalmış ve sonunda pH 6'dan sonra yükseltgenme piki kaybolmuştur. Her iki karbon nanotüp pasta elektrotla yapılan çalışmalara göre en iyi pH en yüksek pik akımının elde edildiği pH 3 B-R tamponu olarak belirlenmiştir.

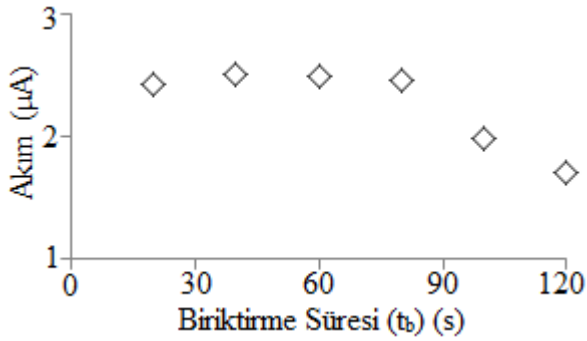
Tadalafilin tayini için yalın MWCNTPE elektrot ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrodu kullanılarak kare dalga sıyırma voltammetri tekniğiyle pH 3 B-R tamponunda optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Öncelikle SWSV tekniği ile yapılan çalışmalarda pik akımı ve pik potansiyeline önemli ölçüde etki eden biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyeli (E_b), frekans (f), puls genliği (ΔE), basamak potansiyel (ΔE_b) parametreleri optimize edilmiştir. Optimize edilen koşullarında her iki elektrot ile elde edilen sonuçlar duyarlık, tekrarlanabilirlik, doğruluk ve tayin sınır değerleri açısından karşılaştırılmıştır.

İlk olarak biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresinin optimize edilmesi için çalışmalar yapılmıştır. Sıyırma tekniklerinde pik akımı ve pik potansiyeli değerlerine büyük ölçüde etki eden bu iki parametre pH 3 B-R tamponu içerisinde 5,0 mg/L derişimdeki tadalafilin SWS voltamogramlarından elde edilen bilgilerle incelenmiştir. Biriktirme potansiyeli optimizasyonu için yapılan çalışmalarda 0 mV ile + 800 mV arasındaki potansiyellerde biriktirme yapılmıştır. Bu biriktirme potansiyelleri aralığından tadalafil için en yüksek akım değerinin elde edildiği biriktirme potansiyeli 0 mV olduğundan, optimum biriktirme potansiyeli 0 mV olarak seçilmiştir (Şekil 4.10).



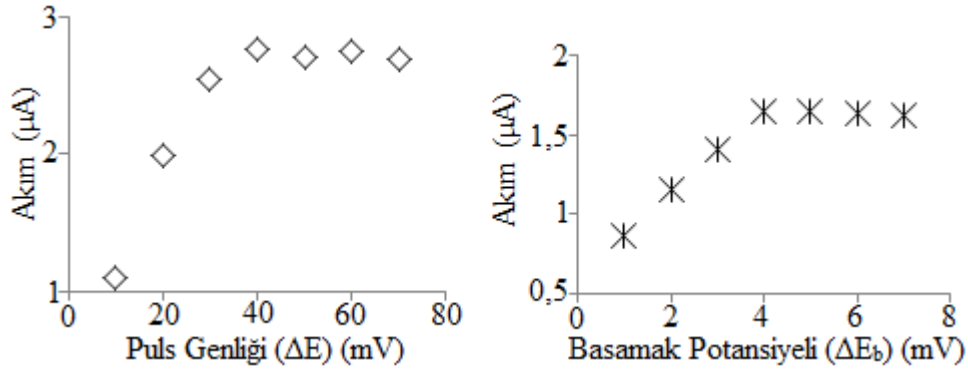
Şekil 4.10. SWS voltametri ile 5,0 mg/L tadalafilin tayininde biriktirme potansiyelinin optimizasyonu

Daha sonra biriktirme süresi için optimizasyon yapılmış ve 5 mg/L tadalafilin 20 s ile 120 s aralığındaki biriktirme sürelerinde SWS voltamogramları kaydedilmiştir. Bu biriktirme süresi aralığında elde edilen tadalafiline ait voltamogramlara bakıldığında en yüksek pik akımın elde edildiği voltamogram 40 s biriktirme süresiyle gerçekleşmiş ve bu biriktirme süresi optimum biriktirme süresi olarak seçilmiştir (Şekil 4.11).



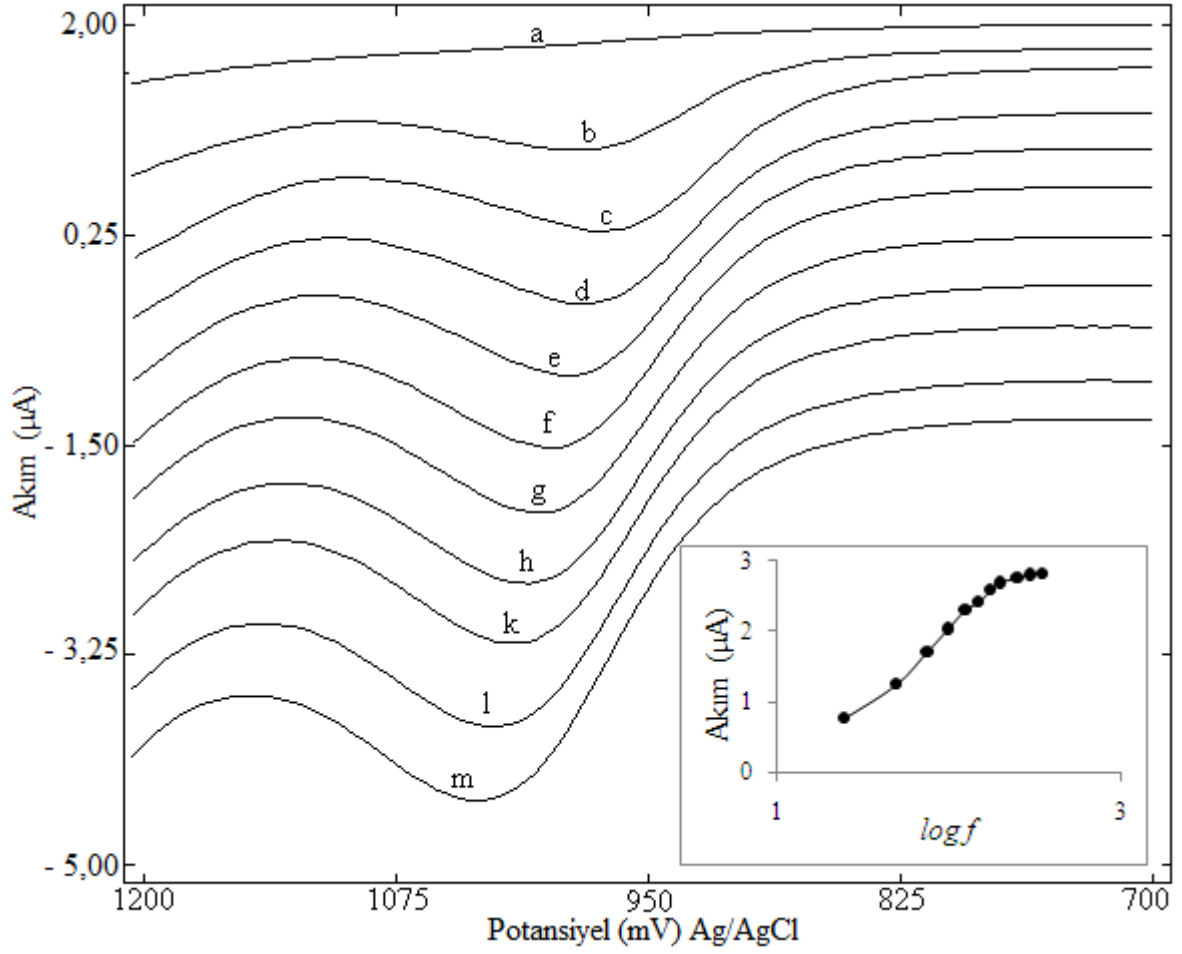
Şekil 4.11. SWS voltametri ile 5,0 mg/L tadalafilin tayininde biriktirme süresinin optimizasyonu

Bundan sonraki çalışmalarda tadalafilin SWS voltametriyle tayininde pik akımı yüksekliğine etki eden basamak potansiyeli ve puls genliği parametreleri de optimize edilmiştir. Bunun için 5 mg/L tadalafilin puls genliği için 10 ile 70 mV, basamak potansiyeli için ise 1 ile 7 mV arasında kare dalga sıyrma voltamogramları kaydedilmiştir. İncelenen puls genliği ve basamak potansiyelleri aralığında tadalafiline ait en yüksek pik akımı 40 mV puls genliğinde ve 4 mV basamak potansiyelinde gerçekleşmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. SWS voltametri ile 5,0 mg/L tadalafilin tayininde pik akımlarının puls genliği ve basamak potansiyeli ile değişimi

Tadalafilin SWS voltametri ile tayininde diğer önemli optimizasyon parametresi olan frekansın etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 25 Hz ile 300 Hz arasında değişen frekanslarda uygulama yapılmış ve SWS voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.13). Artan frekans değerlerine karşı tadalafilin pik akımı yüksekliği 200 Hz'e kadar doğrusal olarak artmıştır. Uygulanan frekans tarama aralığında, tadalafilin en keskin ve en düzgün pik şeklinin elde edildiği 200 Hz optimum frekans olarak seçilmiştir.



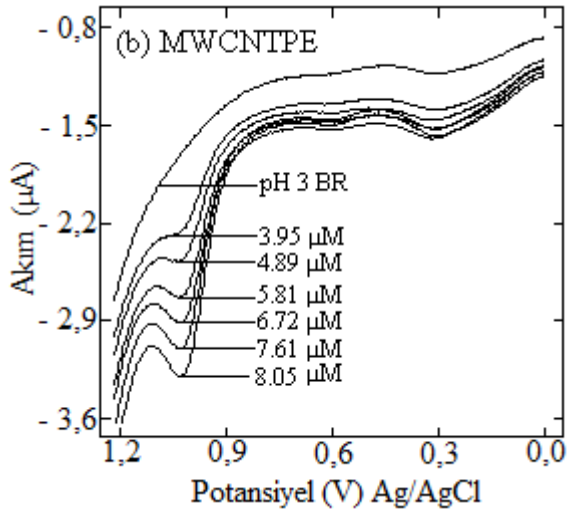
Şekil 4.13. 5,0 mg/L tadalafilin SWS voltametri ile tayininde frekansa bağlı olarak pik akımı ve pik potansiyellerinin değişimi

Tadalafil tayinine yönelik olarak geliştirilen SWS voltametri yönteminde, yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotlarını karşılaştırmak için elde edilen optimizasyon parametreleri, her iki elektrotun performanslarının karşılaştırılmasında kullanılmıştır ve tüm optimizasyon parametreleri Çizelge 4.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. 5 mg/L tadalafilin kare dalga sıyrma voltametrisi ile tayini için optimum parametreler

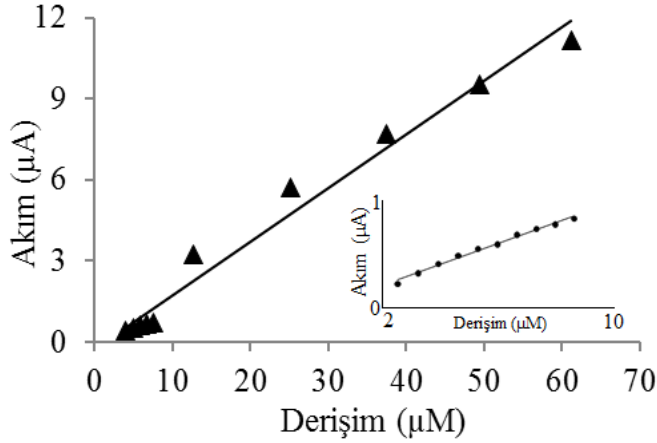
Parametreler	Optimize Değerler Yalın Elektrot (MWCNTPE)	Optimize Değerler Modifiye Elektrot (TiO ₂ -MWCNTPE)
Biriktirme Potansiyeli (mV)	0	0
Biriktirme Süresi (s)	40	40
Frekans (Hz)	200	200
Puls Genliği (mV)	40	40
Basamak Potansiyel (mV)	4	4
Destek Elektrolit	pH 3 B-R Tamponu	pH 3 B-R Tamponu
Pik Potansiyeli (mV)	+1016	+1000
Pik Akımları (µA)	2,37	2,55

Tadalafilin tayini için en uygun deney koşulları belirlendikten sonra analitik tayinler için kalibrasyon grafiklerinin hazırlanması çalışmasına geçilmiştir. Bu amaçla 10,0 mL pH 3,0 B-R tamponu içerisine 500 mg/L tadalafil stok çözeltisinden µL düzeyindeki hacimlerde ilaveler yapılmış ve her ilaveden sonra her iki elektrot üzerinde SWS voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 4.14'de yalın MWCNTPE elektrot üzerinde tadalafilin farklı derişimlerdeki kare dalga sıyrma voltamogramları görülmektedir. Daha sonra tadalafil derişimine karşı pik akımlarından kalibrasyon grafiği çizilmiştir.



Şekil 4.14. SWS voltametri ile tadalafilin yalın MWCNTPE üzerindeki tayininde derişime karşı pik akımları ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV)

Tadalafilin MWCNTPE elektrot üzerinde SWS voltametri tekniği ile optimize edilen koşullardaki tayini için derişime karşı pik akımları (i_p) grafiği Şekil 4. 15’de görülmektedir.



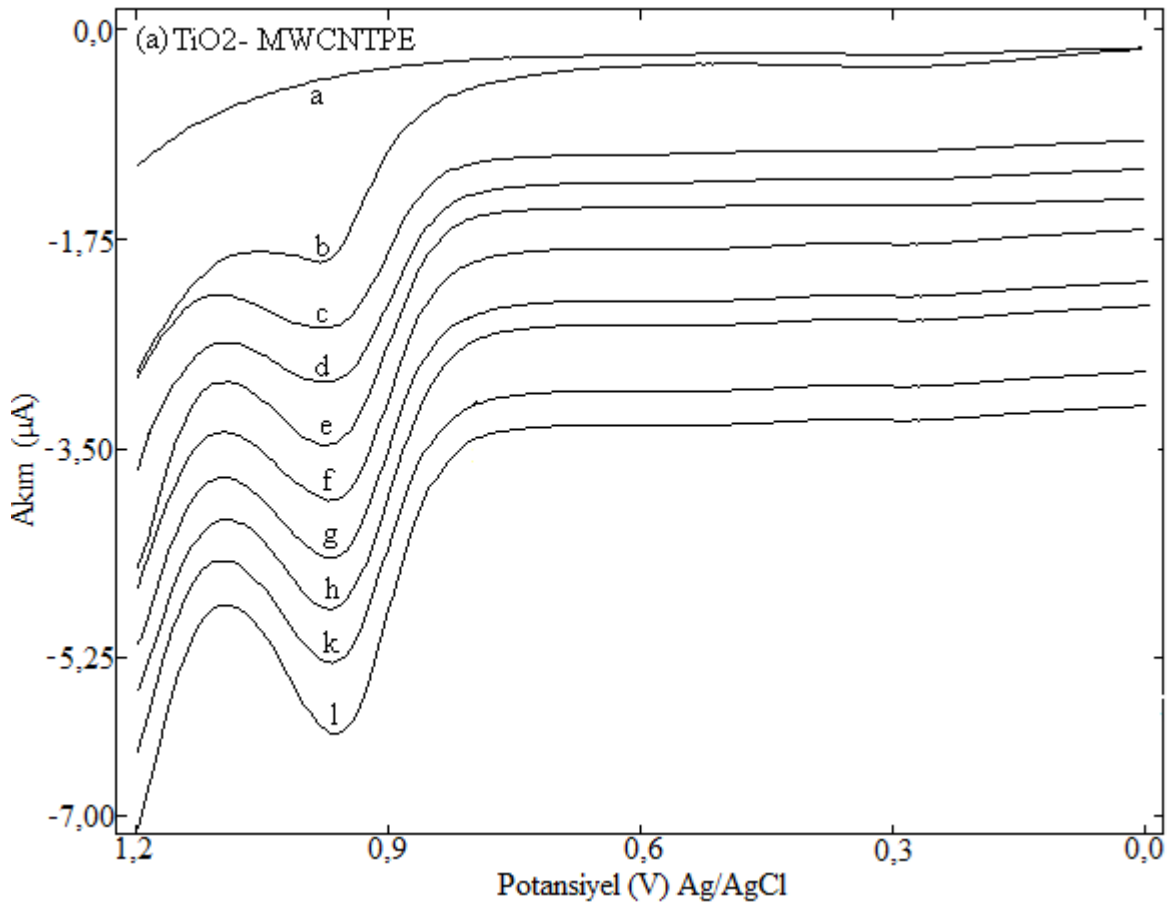
Şekil 4.15. Tadalafilin yalın MWCNTPE kullanılarak kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ile elde edilen kalibrasyon grafiği ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV, pH 3 B–R tamponu)

Yalın MWCNTPE elektrotla elde edilen kalibrasyon grafiğine bakıldığında düşük ve yüksek derişimlerde olmak üzere iki farklı duyarlılığına sahip çalışma aralıkları elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon grafiklerinin iki farklı eğime sahip denklemleri aşağıda verilmiştir.

$I_p (\mu A) = 0,082 \pm 0,003 C (\mu M) + 0,12 \pm 0,02$ $r = 0,995$ (Yalın MWCNTPE ile düşük derişimlerde)

$I_p (\mu A) = 0,163 \pm 0,007 C (\mu M) + 1,41 \pm 0,028$ $r = 0,997$ (Yalın MWCNTPE ile yüksek derişimlerde)

Tadalafilin TiO_2 -MWCNTPE modifiye elektrotla farklı derişimlerde tadalafil için elde edilen SWS voltamogramları Şekil 4.16'da gösterilmiştir.

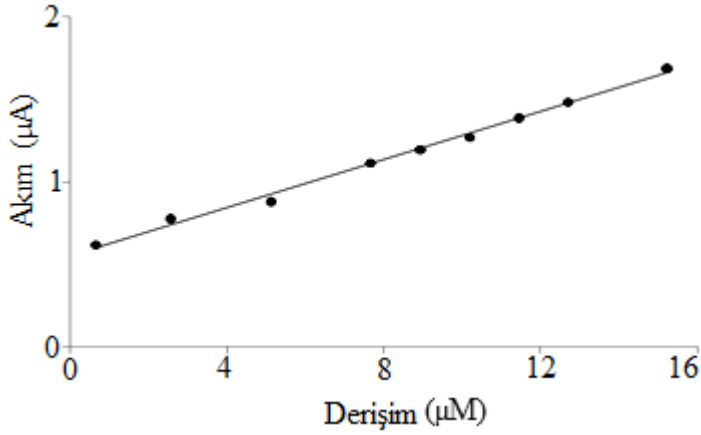


Şekil 4.16. Tadalafilin TiO_2 -MWCNTPE modifiye elektrot üzerinde derişime karşı pik akımının elde edildiği SWS voltamogramları (a) pH 3,0 B-R tamponu b) 0,6 μM tadalafil c) 2,6 μM tadalafil d) 5,12 μM tadalafil e) 7,7 μM tadalafil f) 8,9 μM tadalafil g) 10,2 μM tadalafil h) 11,5 μM tadalafil k) 12,7 μM tadalafil l) 15,2 μM tadalafil; ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s ve $E_b = 0$ mV)

pH 3 B-R destek elektrolit çözeltisinde TiO_2 ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO_2 -MWCNTPE) kullanılarak alınan kare dalga sıyırma (SWS)

voltamogramlardan elde edilen pik akımına (i_p) karşı derişimler grafiğe geçirilmiştir (şekil 2.17). Elde edilen kalibrasyon doğru denklemi aşağıda verilmiştir.

$$I_p (\mu\text{A}) = 0,072 \pm 0,002 C (\mu\text{M}) + 0,56 \pm 0,02 \quad r = 0,997 \quad (\text{TiO}_2\text{-MWCNTP elektrot})$$



şekil 4.17. Tadalafilin $\text{TiO}_2\text{-MWCNTPE}$ modifiye elektrotla SWS voltametriyle elde edilen kalibrasyon grafiği ($\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $f = 200 \text{ Hz}$, $\Delta E = 40 \text{ mV}$, $t_b = 40 \text{ s}$ ve $E_b = 0 \text{ mV}$, pH 3 B-R tamponu)

Yalın MWCNTP elektrot ve modifiye $\text{TiO}_2\text{-MWCNTP}$ elektrodu kullanarak kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ile optimum koşullarda elde edilen veriler doğrultusunda oluşturulan kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi sonuşları ve validasyon parametreleri çizelgeler 4.2 ve 4.3'de özetlenmiştir. Bu iki elektrodu karşılaştırdığımızda modifiye $\text{TiO}_2\text{-MWCNTP}$ elektrodunun daha duyarlı olduğu ve tayin sınırının daha dūřuk olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. SWSV ile yalın MWCNTPE elektrotla elde edilen tadalafilin kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi ve validasyon parametreleri (pH 3 B-R tamponu)

Parametreler	Performans verileri (Yalın MWCNTPE)	
	Düşük derişim bölgesi	Yüksek derişim bölgesi
Pik Potansiyeli (V)	+1,02	+1,02
Çalışma Aralığı (µM)	3,60 – 8,05	12,70 – 61,10
Eğim (µA/µM)	0,082 ± 0,003	0,163 ± 0,007
Kesim Noktası (µA)	0,12 ± 0,02	1,41 ± 0,28
Korelasyon Katsayısı	0,995	0,997
Gözlenebilirlik Sınırı, LOD (µM)	1,10	3,70
Tayin Sınırı, LOQ (µM)	3,60	12,30
Pik potansiyelinin gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,237	0,158
Pik akımının gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,551	0,238
Pik potansiyelinin günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^b	0,27	0,25
Pik akımının günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^b	1,54	0,76

^a $n = 7$; ^b $n = 9$. Bağlı standart sapma (% BSS) = $(\frac{s}{\bar{x}}) \times 100$

Çizelge 4.3. SWSV ile Modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotla elde edilen tadalafilin kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi ve validasyon parametreleri (pH 3 B-R tamponu)

Parametreler	Performans verileri (TiO ₂ -MWCNTPE)
Pik Potansiyeli (V)	+1,0
Çalışma Aralığı (µM)	0,27 –15,20
Eğim (µA/µM)	0,072 ± 0,002
Kesim Noktası (µA)	0,56 ± ,02
Korelasyon Katsayısı	0,997
Gözlenebilirlik Sınır, LOD (µM)	0,08
Tayin Sınırı, LOQ (µM)	0,27
Pik potansiyelinin gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,447
Pik akımının gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,322
Pik potansiyelinin günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^b	0,50
Pik akımının günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^b	0,90

^a n=7 ; ^b n = 9; ^{a,b} % Bağıl standart sapma (% BSS) = $(\frac{s}{\bar{x}}) \times 100$

Belirlenen optimum şartlarda yalnız MWCNTPE elektrot ile gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) düşük derişimli bölgede sırasıyla 0,11 µM ve 0,36 µM iken yüksek derişimli doğrusal bölgede sırasıyla 3,79 µM ve 12,30 µM olarak hesaplanmıştır. Modifiye elektrotla (TiO₂-MWCNTPE) LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,08 µM ve 0,27 µM olarak bulunmuştur. Tayin sınırı değerleri karşılaştırıldığında modifiye elektrotla yalnız elektrota göre % 25 daha düşük derişimlerdeki tadalafil tayin edilebilmektedir. Gözlenebilirlik sınırı ve tayin sınırı değerleri $LOD = 3S_b/m$ ve $LOQ = 10S_b/m$ formülleri kullanılarak hesaplanmıştır (Miller ve Miller, 1988; Özkan, 2012). Burada, S_b blank çözeltisinin pik akımının standart sapmasını (n = 9), m ise tadalafilin kalibrasyon grafiklerinin eğimini göstermektedir.

4.1.4. Farmasötik numunelerin yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotlar üzerinde kare dalga sıyırma voltametriyle (SWSV) tayini ve % geri kazanımlar

Yalnız MWCNTPE elektrot ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotla SWSV tekniği kullanılarak Lifta[®] ilacında tadalafil tayini gerçekleştirilmiştir. İlk olarak tadalafil ilaç formülasyonu çözeltisi Bölüm 2.4.2’de belirtilen işlemlere göre hazırlanmıştır. Tadalafilin SWSV ile tayini için ortaya konulan optimum deney koşullarında kare dalga sıyırma voltamogramları elde edilmiştir. Daha sonra voltametrik hücrede bulunan tablet örnek çözeltilerine 500 mg/L tadalafil stok çözeltisinden standart ilaveler yapılarak her iki elektrotla SWS voltamogramları kaydedilmiştir. Lifta[®] tabletlerindeki tadalafil etken maddesinin tayini standart ekleme yöntemi kullanılarak tadalafil pik akımlarının artışından yapılmış ve tablet örneklerindeki etken maddenin miktarı hesaplanmıştır. Her iki elektrotla Lifta[®] ilacında yapılan etken madde tayini % – 0,1 ve – 0,05 bağıl hatayla gerçekleştirilmiştir. Ayrıca 20 mg olarak etiketlenen tadalafil tablet çözeltilerine 20 mg tadalafil katkısı yapılmış ve bu miktarın geri kazanımı TiO₂-MWCNTPE elektrotla yapılan çalışmada % – 0,20 bağıl hata ve % 0,91 bağıl standart sapmayla sağlanmıştır. Çizelge 4.4’de özetlenen bu sonuçlardan da görüldüğü gibi tadalafil tayini her iki elektrotla oldukça düşük bağıl hata ve bağıl standart sapmayla gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.4’teki verilere göre, yeni geliştirilen elektrotlarla tadalafil tayini için önerilen SWSV yönteminin doğruluğunun ve kesinliğinin kabul edilebilir olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.4. Lifta[®] ilaç tabletlerinde yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotlar kullanılarak SWSV ile tadalafil tayini

	MWCNTPE	TiO ₂ -MWCNTPE
Etiket Miktarı (mg)	20,0	20,0
Bulunan (mg ± mg) ^a	19,98 ± 0,3	19,99 ± 0,4
BSS (%)	1,4	1,8
Bağıl Hata (%)	– 0,1	– 0,05
Eklene(mg)	20,0	20,0
Bulunan (mg ± mg) ^a	19,95 ± 0,23	19,96 ± 0,21
BSS (%)	1,00	0,91
Bağıl Hata (%)	– 0,25	– 0,20

$$n = 6 ; t = \% 95 \text{ Güven seviyesi} = \left\{ \bar{X} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} \right\}$$

Tadalafil tayini için Lifta[®] ilacına uygulanan standart ekleme yöntemi aynı şekilde kan serumu örneklerine de uygulanmıştır. Kan serumu örnekleri Bölüm 3.2.2'deki işlemlere göre hazırlanmıştır. Hazırlanan kan serumu örneklerine ilave edilen tadalafil yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotlar kullanılarak SWS voltametri ile tayin edilmiştir. Bunun için kan serumu örneklerinden elde edilen voltamogramların üzerine 500 mg/L tadalafil stok çözeltisinden standart ilaveler yapılmış ve her iki elektrotla tekrar SWS voltamogramları alınmıştır. Böylece standart ekleme yöntemi ile sonuçlar yüzde geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Kan serumu örneklerinden elde edilen tadalafil sonuçları % 95 güven seviyesinde hesaplanmış ve % geri kazanım sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kan serumuna ilave edilen tadalafilin yalnız MWCNTPE ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotlar üzerinde SWS voltametri ile tayini

	MWCNTPE	TiO ₂ -MWCNTPE
Numune	Serum	Serum
Eklenen tadalafil miktarı (mg)	0,500	0,500
Bulunan tadalafil miktarı (mg ± mg)	0,502 ± 0,004	0,504 ± 0,012
Geri Kazanım (%)	100,4	100,8
BSS (%)	0,32	0,96
Bağıl Hata (%)	+ 0,4	+ 0,8

$$n = 3; t = \% 95 \text{ Güven seviyesi} = \left\{ \bar{X} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} \right\}$$

Geliştirilen her iki elektrotla, farmasötik tabletlerdeki ve kan serumu numunelerindeki tadalafil tayinleri için elde edilen % - 0,1 ve - 0,05 gibi düşük bağıl hatalar ve % 100,4 ve 100,8 gibi yüksek geri kazanımlar, elde edilen düşük bağıl standart sapmalarla birlikte değerlendirildiğinde, geliştirilen kare dalga sıyrma voltametri (SWSV) yöntemin doğruluğunun ve kesinliğinin oldukça kabul edilebilir olduğunu söyleyebiliriz.

4.1.5. Tadalafilin SWSV ile tayininde girişim etkisinin incelenmesi

Tadalafil farmasötik etken maddesinin tayini için modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin seçiciliği ve doğruluğu bazı metal iyonlarının ve yükseltgenme yönünde elektroaktif olan ve olmayan bazı türlerin varlığında incelenmiştir. Girişim yapabilecek türlerin yokluğunda elde edilen tadalafil pik akımının, bu türler olduğunda elde edilen pik akımına oranı % geri kazanım şeklinde değerlendirilmiştir. Girişim etkisi için 10 mg/L tadalafil varlığında girişim türlerinin tadalafile kütlece oranları (a/a) 1:1, 1:2, 1:5 ve 1:10 olmak üzere 4 farklı bileşimde incelenmiştir. Girişim etkisini hesaplama işleminde, standart ekleme yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla % geri kazanım başka bir tür olmadığında 10,0 mg/L tadalafilin pik akımının, girişim yaptığı düşünülen türlerin varlığındaki pik akımına oranı alınarak hesaplanmıştır. Tadalafil tayini için geliştirilen SWS voltametrisinde bazı türlerin girişim etkisinin sonuçları Çizelge 4.6'da % geri kazanım olarak verilmiştir.

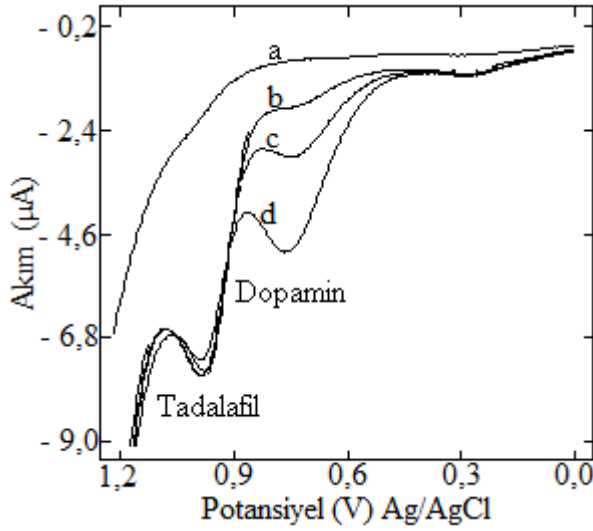
Çizelge 4.6. Tadalafilin SWS voltametri ile tayininde bazı iyonların ve organik türlerin girişim etkisi ve % geri kazanım değerleri (10 mg/L tadalafil, pH 3 B-R tamponu)

Girişim Türleri	% Geri Kazanım			
	1:1 (a/a)	1:2 (a/a)	1:5 (a/a)	1:10(a/a)
2-mercapto benzimidazole	97,1	95,5	94,1	93,6
Kalsiyum (II)	93,4	86,9	84,3	80,3
Potasyum (I)	100,2	95,3	95,4	88,7
Sodyum (I)	98,4	92,4	89,3	86,7
Tiyo üre	99,5	99,4	87,5	82,7
Dopamin	93,4	82,7	78,6	63,3
Ürik asit	96,2	83,6	80,3	76,5

Ca(II), K(I) ve Na(I) iyonlarının tadalafil tayinine girişim etkisi için Çizelge 4.6'ya bakıldığında bu iyonların 1:1 oranındaki varlığında tadalafilin pik akımı çok az değiştiği bu tür katyonların tadalafil tayinine yönelik önemli bir girişim etkisi göstermediği görülmektedir.

Ayrıca tadalafil tayininde, tiyoüre, dopamin, ürik asit ve 2-merkaptobenzimidazol türlerinin önemli bir girişim etkisi gösterip göstermedikleri incelenmiştir. Bu türlerden elektroaktif olan tiyoüre, dopamin ve ürik asit biyolojik öneme sahip olduğundan ve yükseltgenme yönünde pik verdiklerinden seçilmiştir. 2-merkaptobenzimidazol ve tiyoüre tadalafilin 2 katı olmalarına rağmen çok fazla girişim etkisi göstermezken (\leq % 5) aynı orandaki dopamin ve ürik asit tadalafilin tayininde önemli bir girişim etkisi göstermektedir (\leq %20). Tiyoüre, dopamin, ürik asit ve 2-merkaptobenzimidazol tadalafil ile aynı kütle oranında (1:1) olduğunda bu türlerin girişim etkileri kabul edilebilir düzeydedir (\leq %10). Dopamin tadalafilin 10 kat olduğunda tadalafil pik akımının % 36,7 azalması tadalafilin pik potansiyelinin (+1000 mV) dopaminin pik potansiyeli (+750 mV) ile yakın olmasından kaynaklanmaktadır. Buna rağmen, önerilen voltametrik yöntemle modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrot kullanılarak tadalafil ile dopamin eş zamanlı olarak tayin edilebilmektedir.

Şekil 4.18'de modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotla, 10 mg/L tadalafil varlığında dopamin tayinine ait SWS voltamogramları görülmektedir. pH 3 B-R destek çözeltisinde 10 mg/L tadalafil varlığında 10 mg/L, 20 mg/L ve 50 mg/L dopamin içeren karışımların tayinleri gerçekleştirilmiştir. Dopaminin bu derişimlerdeki SWS voltamogramlarından görüldüğü gibi, tadalafilin hem pik akımında hem de pik potansiyelinde önemli bir değişiklik yoktur. 10 mg/L tadalafil ve 10 mg/L dopamin içeren numunedeki dopamin, standart dopamin ilaveleriyle elde edilen +750 mV'daki pikten $9,85 \pm 0,5$ olarak % - 1,5 bağıl hatayla tayin edilmiştir.



Şekil 4.18. 10 mg/L tadalafil varlığında farklı derişimlerdeki dopaminin SWS voltamogramları a) pH 3,0 B–R tamponu b) 10 mg/L tadalafil + 10,0 mg/L dopamin c) b + 10,0 mg/L dopamin d) c + 30,0 mg/L dopamin, ($\Delta E_s = 4$ mV, $f = 200$ Hz, $\Delta E = 40$ mV, $t_b = 40$ s, $E_b = 0$ mV)

4.1.6. Tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 –MWCNTPE elektrotlar üzerindeki yükseltgenme mekanizmasının model ilaç yöntemi ile aydınlatılması

Bir elektrokimyasal süreçte aktarılan elektrot sayısının bulunmasında potansiyel tarama hızı en önemli parametredir. Bu çalışmada farklı tarama hızlarında yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 –MWCNTPE elektrotlar kullanılarak dönüşümlü voltamogramlar alınmıştır. Her iki elektrotla alınan bu voltamogramlardaki tadalafilin pik potansiyelleri (E_p) ile tarama hızının logaritma ($\log v$) değerleri grafiğe geçirilmiştir. Pik potansiyeli (E_p) ve tarama hızları (V/s) arasındaki doğrusal bağıntılar şöyledir:

$$E_p (V) = 0,051 \log v (V/s) + 0,949 \quad r = 0,990 \quad (\text{Yalın MWCNTPE})$$

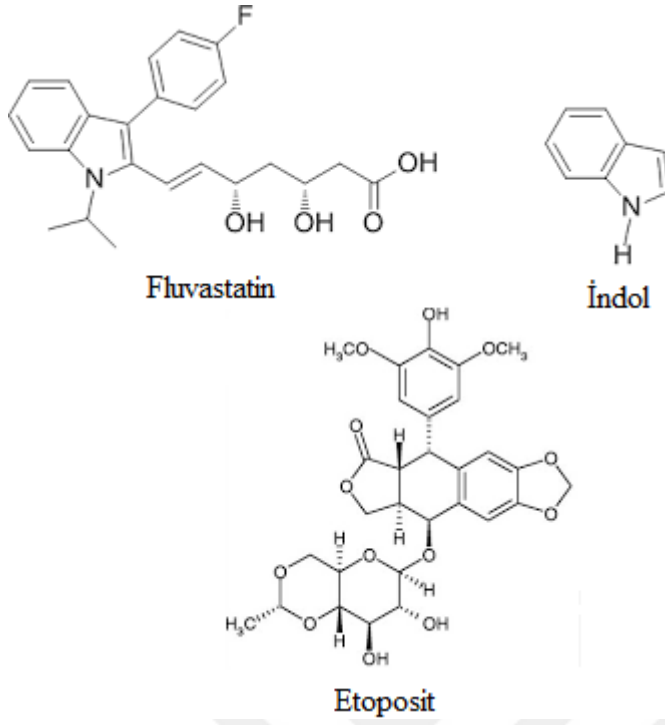
$$E_p (V) = 0,056 \log v (V/s) + 0,927 \quad r = 0,986 \quad (\text{Modifiye } TiO_2\text{–MWCNTPE})$$

Tadalafilin elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı her iki elektrot için aşağıdaki belirtilen eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır (Laviron, 1979).

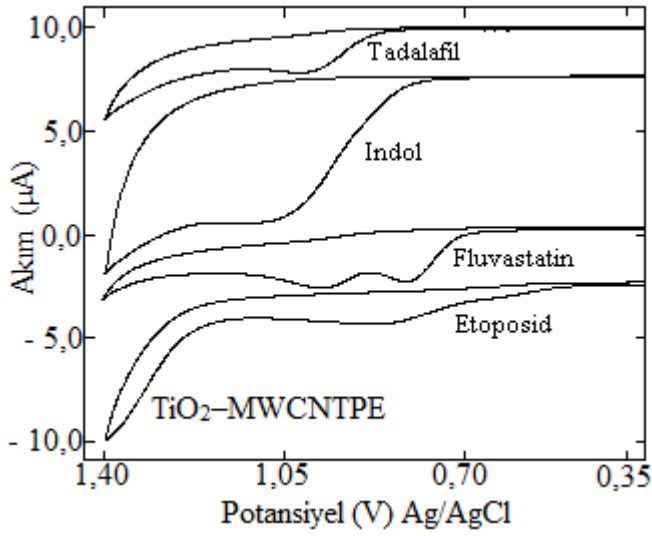
$$E_p = E^0 + \left(\frac{2.303RT}{cnF} \right) \log \left(\frac{RTk^0}{cnF} \right) + \left(\frac{2.303RT}{cnF} \right) \log v$$

Bu eşitlikte yer alan F faraday sabiti (96485 C / mol), T sıcaklık (298,15 K), R evrensel gaz sabiti (8,314 J/K·mol), α elektron transfer katsayısı ve n tepkimede aktarılan elektron sayısını göstermektedir. Tadalafilin pik potansiyeline (E_p) karşı $\log v$ grafiğinin eğimi yalın ve modifiye elektrot için sırasıyla 0,051 ve 0,056 olarak bulunmuştur. İlgili eşitlikte yerine yazıldığında an değerleri yalın elektrot için 1,16 modifiye elektrot için ise 1,06 olarak hesaplanmıştır. Tersinmez tepkimeler için α değeri 0,5 (Laviron ve ark., 1980; Wu ve ark., 2003) olarak kabul edildiğinden, her iki elektrot üzerinde tadalafilin yükseltgenme tepkimesindeki aktarılan elektron sayısı 2,32 ve 2,12 olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamalara göre, tadalafilin geliştirilen elektrot yüzeylerindeki elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı yaklaşık olarak 2 alınabilir. Tadalafilin elektro-yükseltgenme mekanizmasında yer alan elektron sayısı $n \sim 2$ olarak kabul edilebilir.

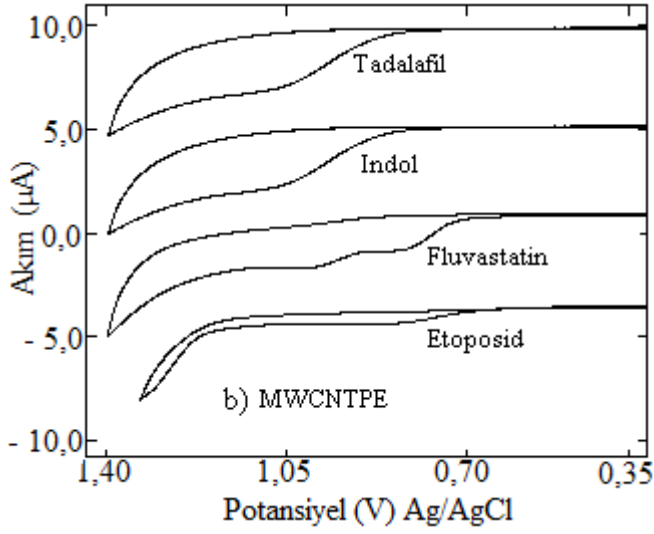
Elektrot tepkimesi mekanizması önerebilmek için, elektro-oksidasyon mekanizmasında yer alan elektron sayısının belirlenmesi yanında bu oksidasyonun molekül üzerindeki hangi fonksiyonel grup üzerinden gerçekleştiği de tespit edilmelidir. Bu amaçla yapılan çalışmada, tadalafilin molekül yapısında yer alan indol ve benzodioksol gruplarının hangisinin elektrokimyasal olarak yükseltgendiğini belirlemek için yalın MWCNTP ve modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrotlar kullanılarak dönüşümlü voltametri tekniği ile model ilaç çalışması yapılmıştır. Tadalafilin yükseltgenebilen grubunu belirlemek için indol, fluvastatin ve etoposit (Şekil 4.19) ilaç etken maddeleri model ilaç olarak seçilmiştir. Her iki elektrotla, tadalafil tayini için geliştirilen voltametrik yöntemin optimum koşullarında, 5 mg/L derişimlerdeki model ilaç etken gruplarının dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de gösterilen dönüşümlü voltamogramlarda, indol ile tadalafil yaklaşık aynı potansiyelde (+1000 mV) tek bir yükseltgenme piki verirken, benzodioksit grubu içeren etoposit daha az pozitif bir potansiyelde (+750 mV) tek bir pik vermektedir. Ayrıca hem indol hem de benzidioksit grubunu içeren fluvastatinin + 950 mV ve +730 mV’da olmak üzere 2 adet yükseltgenme piki vermiştir. Bunlarda birincisi +730 mV’daki benzidioksit grubuna ait yükseltgenme piki iken diğeri +950 mV’deki indol grubuna ait yükseltgenme pikidir. Sonuç olarak yalın MWCNTP ve modifiye TiO_2 -MWCNTP elektrotlar üzerinde tadalafilin yükseltgenmesinin indol grubu üzerinden gerçekleşmiş olabileceği anlaşılmaktadır. Buna göre tadalafilin elektrot tepkimesindeki yükseltgenme mekanizması indol grubu üzerinden önerilebilir.



Şekil 4.19. Model ilaç çalışmalarında kullanılan ilaç etken maddelerin kimyasal yapıları

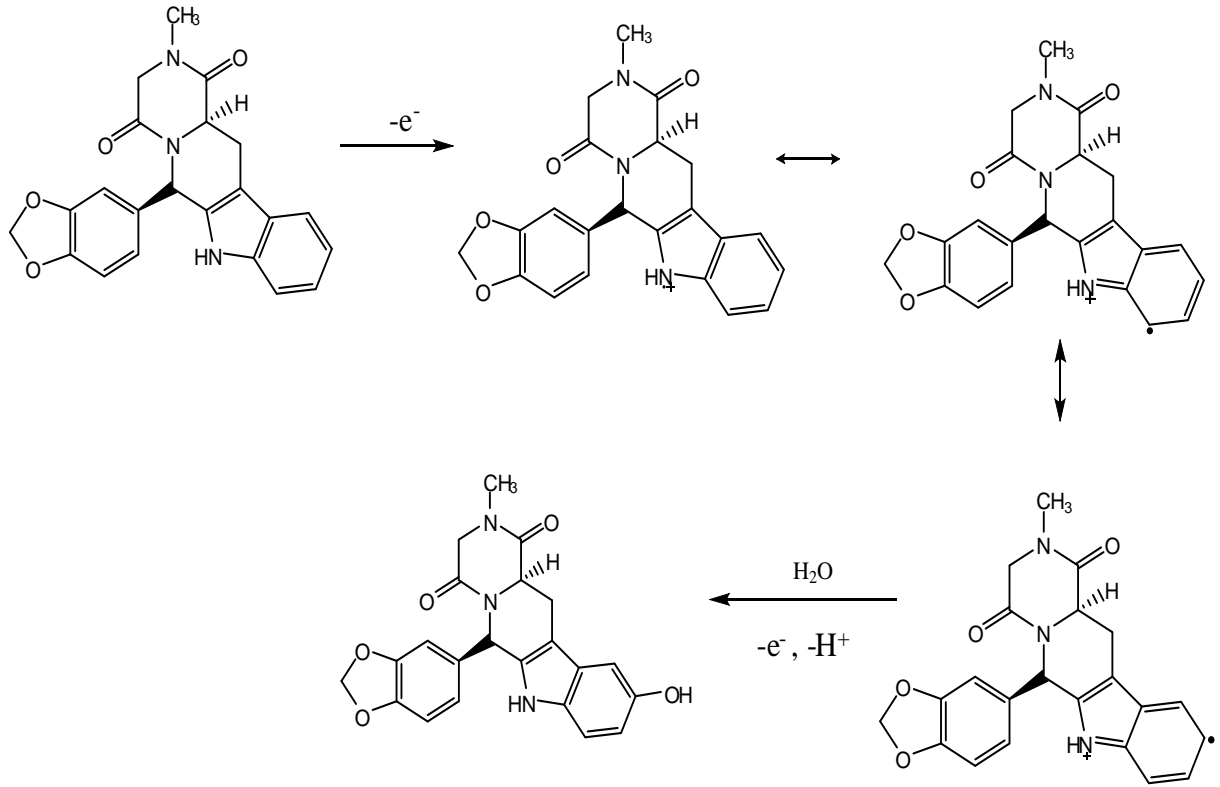


Şekil 4.20. Modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrot ile model ilaç çalışması için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Potansiyel tarama hızı = 100 mV/s, pH 3 B-R tamponu)



Şekil 4.21. Yalın MWCNTPE elektrot ile model ilaç çalışması için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Potansiyel tarama hızı = 100 mV/s, pH 3 B-R tamponu)

Buna göre önerebileceğimiz elektrot tepkime mekanizmasında (Şekil 4.22) indol grubunda bulunan $-NH$, bir elektron kaybederek N atomu pozitif yüklü radikal haline gelir. Daha sonra rezonans kararlılığı nedeniyle radikal benzen halkasının önce meta, daha sonra orto konumda yer alır. Bir elektron vererek ve rezonans kararlıkla katyonik radikale $+H_2O$ ilavesinde sonra bir proton ve bir elektron çıkar ve benzen halkası fenola dönüşür. Sonuçta önerilen mekanizmada 2 elektron ve 1 proton eşlik etmektedir. Sonuç olarak, tadalafil için önerilen elektrot-yükseltgenme mekanizması potansiyel tarama hızı çalışmaları, transfer edilen elektron sayısı ve model ilaç çalışmalarının sonuçlarıyla uyum içerisindedir.



Şekil 4.22. Tadalafilin önerilen elektrot-yükseltgenme mekanizması

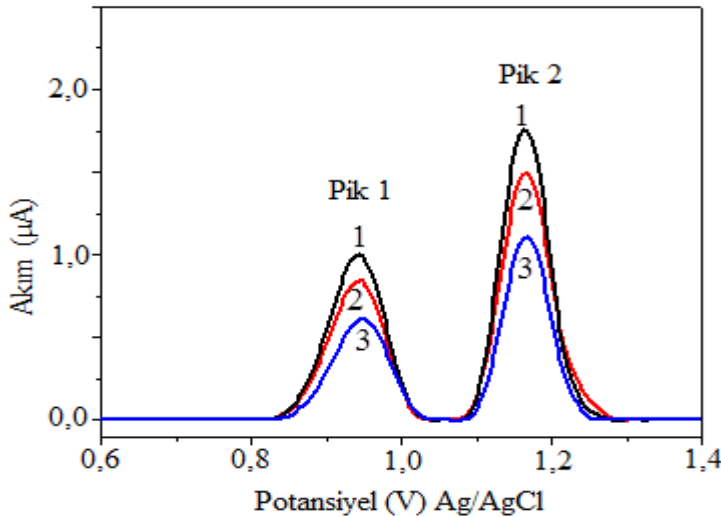
4.2. Vardenafilin Geliştirilen Çeşitli Modifiye Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Elektrotlar Üzerindeki Voltametrik Davranışı

Vardenafil farmasötik etken maddesinin voltametrik davranışları grafit, metal oksit ve fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp içeren modifiye elektrotlarla kare dalga sıyırma voltametri (SWSV), diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleriyle incelenmiştir. Bu amaçla grafit, Fe_2O_3 ve ZnO nanopartikülleri ile fonksiyonlu ve foksiyonsuz çok duvarlı karbon nanotüp kompozit elektrotlar hazırlanmıştır. Vardenafil tayini için geliştirilen elektrotlarının yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile aydınlatılmıştır. Hazırlanan bu elektrotlarla kare dalga sıyırma (SWS) ve diferansiyel puls sıyırma (DPS) voltametri kullanılarak pH 5 B-R tampon çözeltisinde vardenafilin elektrot yüzeylerindeki davranışları incelenmiştir. Uygun destek elektroliti belirlemek için pH 1 ile 10 arasındaki farklı tampon çözeltilerinde vardenafilin pik akımı ve pik potansiyelleri incelenmiştir. Daha sonra en uygun ortam olarak belirlenen pH 3 fosfat tamponunda, vardenafil tayininde kullanılan SWSV yöntemi için biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyel (E_b), frekans (f), basamak potansiyel (ΔE_b) ve genlik (ΔE) optimize edilmiştir. DPV yöntemi için ise

biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyeli (E_b) parametreleri pH 3 fosfat tamponunda optimize edilmiştir. Her iki voltametrik yöntem için optimum deney koşulları belirlendikten sonra vardenafilin tayini için kalibrasyon grafiği çizilmiştir ve çalışma aralığı, tayin sınırı ve diğer validasyon parametreleri belirlenmiştir. Daha sonra modifiye elektrotlar kullanılarak SWSV ve DPSV ile farmasötik örnekler ve sentetik serum numunelerinde standart ekleme yöntemiyle vardenafil tayin edilmiştir. Son olarak bazı metal iyonlarının ve elektroaktif organik türlerin girişim etkileri incelenmiştir. Girişim etkilerinin sonuçları yüzde geri kazanım olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca vardenafilin geliştirilen elektrotlar üzerindeki elektro-yükseltgenme mekanizması da aydınlatılmıştır.

4.2.1. ZnO Nanopartiküllerle modifiye NH_2 -MWCNT elektrot hazırlanması

Vardenafil farmasötik etken maddesinin tayinine yönelik grafit ve metal oksit içeren kompozit elektrotlar hazırlanmıştır. İlk olarak kütlece % 70 grafit tozu ile % 30 mineral yağ karışımından oluşan yalın elektrotlar hazırlanmıştır. Daha sonra mineral yağ oranı sabit kalacak şekilde kütlece % 5 oranlarında ZnO ya da Fe_2O_3 ile % 65 grafit içeren modifiye elektrotlar hazırlanmıştır. ZnO ve Fe_2O_3 nanopatiküllerini içeren modifiye elektrotlar ile pH 5 B-R tamponunda 5 mg/L vardenafilin diferansiyel puls sıyırma (DPS) voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.23).



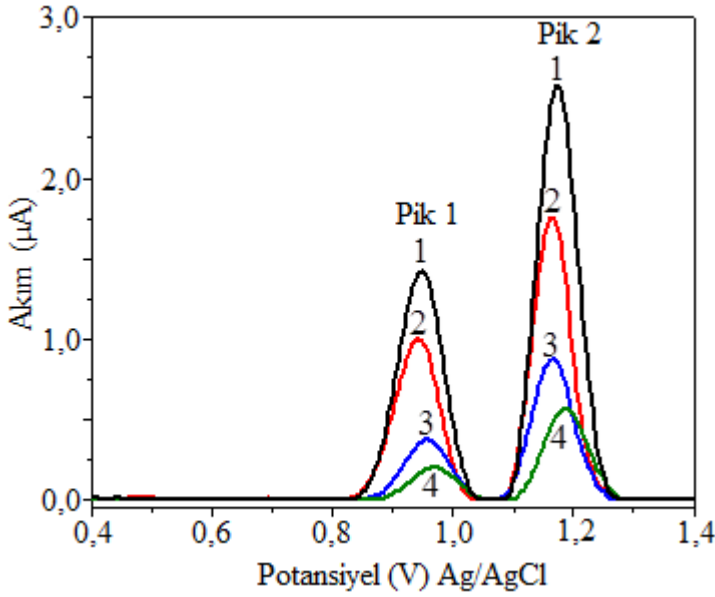
Şekil 4.23. 5 mg/L vardenafilin yalın grafit pasta elektrot (GPE) ve nanopatiküllerle (ZnO ve Fe_2O_3) hazırlanan kompozit karbon pasta elektrotlarla diferansiyel puls sıyırma (DPS) voltamogramları. 1) ZnO/Grafit elektrot 2) Yalın grafit elektrot (GPE) 3) Fe_2O_3 /Grafit elektrot. ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV, pH 5 B-R tamponu)

Şekil 4.23'deki voltamogramlara bakıldığında vardenafil için en yüksek pik akımı % 5 ZnO, % 65 grafit ve % 30 mineral yağ ile hazırlanan modifiye elektrotla (ZnO/Grafit) elde edilmiştir. Bu üç elektrodu karşılaştırdığımızda % 5 ZnO nanopartiküllerle hazırlanan modifiye elektrodun (ZnO/Grafit) yalın elektroda (GPE) göre vardenafil pik akımını % 23,6 artırdığı, Fe₂O₃ nanopartikül ile hazırlanan kompozit elektrotla % 5,7 azaltığı görülmüştür. Bundan sonraki çalışmalar % 5 ZnO ve % 65 grafit içeren karbon pasta elektrot (ZnO/Grafit) üzerinden yapılmıştır. Ayrıca bu üç elektrotla sıyırma ve sıyırmasız kare dalga voltametik ölçümleri de karşılaştırılmıştır. Yalın GPE ile elde edilen kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) pik akımları kare dalga voltametri (SWV) ile elde edilen pik akımlarına göre % 122,7 artmıştır. Bu oran ZnO modifiye elektrot için % 331 iken Fe₂O₃ kompozit elektrot için ise % 104 olarak hesaplanmıştır. Bundan dolayı vardenafil tayini ZnO nanopartikülleri içeren modifiye karbon pasta elektrot (ZnO/Grafit) ile SWSV ve DPSV teknikleri kullanılarak yapılmıştır.

Kompozit elektrot için uygun nanopartikül % 5 ZnO olarak belirlendikten sonra aynı elektrot üzerinde ikinci modifikasyon işlemine geçilmiştir. Bölüm 3.2.3'de anlatıldığı gibi, dimetil formamid çözeltisinde hazırlanan yalın çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) ile COOH ve NH₂ fonksiyonel gruplu çok duvarlı karbon nanotüp (COOH-MWCNT ve NH₂-MWCNT) süspansiyon çözeltileri % 5 ZnO nanopartikül içeren kompozit elektrot (ZnO/Grafit) üzerine damlatılıp oda sıcaklığında 1 gün bekletilerek kurutulmuştur. Kompozit ZnO/Grafit elektrot yüzeyine MWCNT, COOH-MWCNT ve NH₂-MWCNT süspansiyonları damlatılarak hazırlanan yalın MWCNT/ZnO/Grafit, NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit ve COOH-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotlarla, kare dalga voltametri (SW) ve diferansiyel puls sıyırma (DPS) voltametriyle vardenafilin voltametik davranışları incelenmiştir. Yalın MWCNT/ZnO/Grafit, NH₂ fonksiyonlu NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit ve COOH fonksiyonlu COOH-MWCNT/ZnO/Grafit elektrotlarla 5 mg/L vardenafilin kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları elde edilmiştir. Yalın MWCNT, COOH-MWCNT ve NH₂-MWCNT elektrotlarla elde edilen SWS voltamogramları karşılaştırıldığında bu elektrotlar arasında NH₂ fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp elektrodun (NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit) vardenafil tayininde daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Yalın MWCNT/ZnO/Grafit ve NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla yapılan çalışmalarda vardenafile ait +1170 mV ve +1290 mV'da iki pik elde edilmiştir. COOH-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon nanotüp elektrotla ise vardenafile ait biri +1140 mV ve diğeri +1260 mV'ta olmak üzere birbirinden tamamen ayrılmış iki pik elde

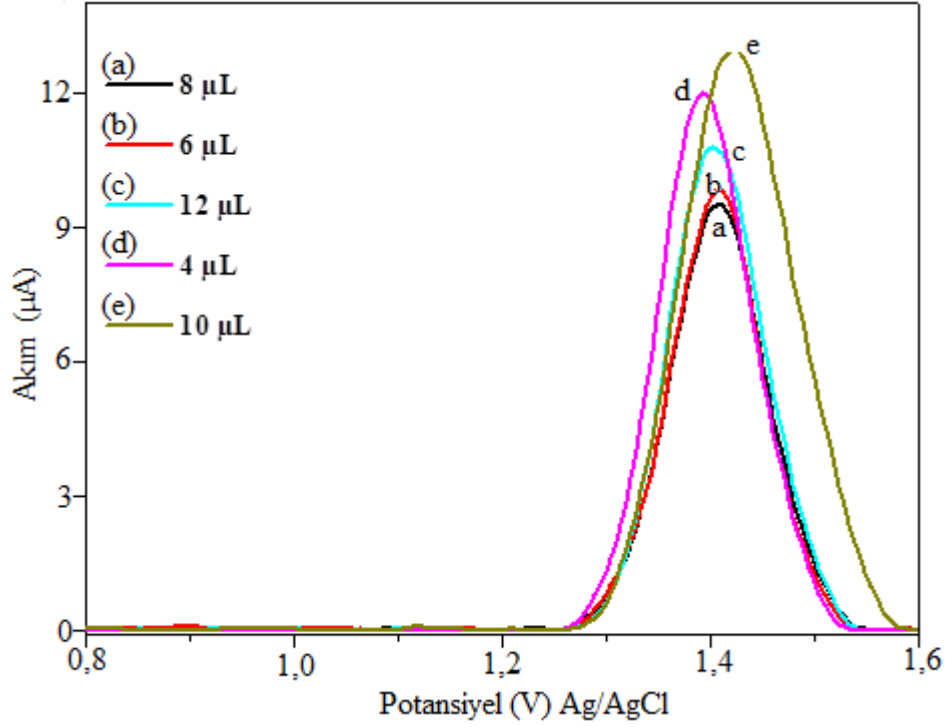
edilmiştir. Modifikasyonla geliştirilen elektrotlar kullanılarak elde edilen vardenafilin pik akımlarına bakıldığında $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrodunun duyarlılığı yalnız MWCNT/ZnO/Grafit elektroduna göre daha fazladır. $\text{COOH-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrotla alınan SWS voltamogramına göre ise vardenafil pik akımı değeri yalnız MWCNT/ZnO/Grafit elektroduna göre daha da azalmıştır. SWS voltametri ile elde edilen sonuçlara göre pH 5 B-R tamponunda 5 mg/L vardenafil tayinine en duyarlı elektrot $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrottur.

Şekil 4.24'de yalnız MWCNT/ZnO/Grafit elektrot NH_2 fonksiyonlu $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrot ve COOH fonksiyonlu $\text{COOH-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrotla 5 mg/L vardenafilin diferansiyel puls sıyırma (DPS) voltamogramları görülmektedir. Elde edilen DPS voltamogramlarına bakıldığında bu elektrotlar arasında NH_2 fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp elektrodun ($\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$) vardenafil tayininde daha duyarlı olduğu görülmektedir. Modifikasyonla geliştirilen bu elektrotlar ile elde edilen vardenafilin pik akımlarına bakıldığında $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrodunun yalnız MWCNT/ZnO/Grafit elektroduna göre pik akımı duyarlılığı % 158 artmıştır. $\text{COOH-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrotla alınan DPV voltamogramında ise vardenafil pik akım değeri yalnız elektroda göre % 43 azalmıştır. Sonuç olarak DPV voltametri ile elde edilen sonuçlara göre pH 5 B-R tamponunda 5 mg/L vardenafil tayinine en duyarlı elektrot $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye karbon elektrottur. Bunun nedeni amin fonksiyonel gruplu karbon nanotüp elektrottaki elektron donor grupların vardenafil üzerindeki sulfonil fenil grubuyla etkileşmesi olabilir. Bu aşamadan sonra $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye karbon elektrotun eldesinde kullanılan NH_2 fonksiyonlu MWCNT süspansiyonunun optimizasyon işlemine geçilmiştir.

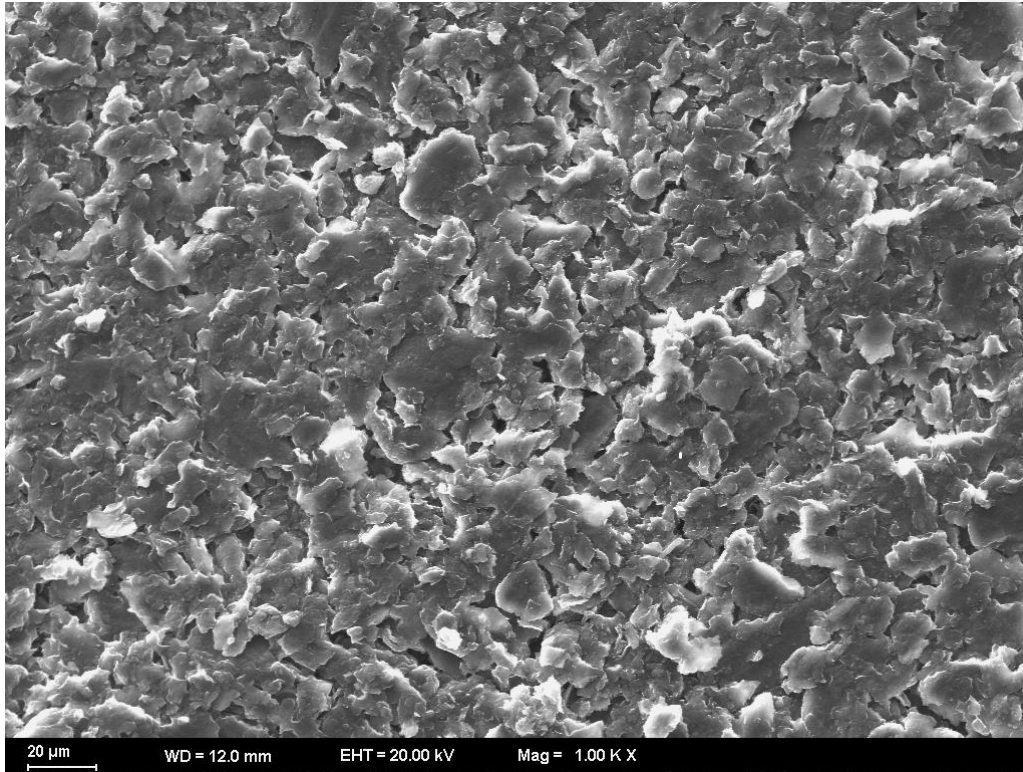


Şekil 4.24. 5 mg/L vardenafilin modifiye elektrotlar üzerinde DPS voltametri ile tayini 1) NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit 2) ZnO/Grafit 3) Yalın-MWCNT/ZnO/Grafit 4) COOH-MWCNT/ZnO/Grafit ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV, pH 5 B-R tamponu)

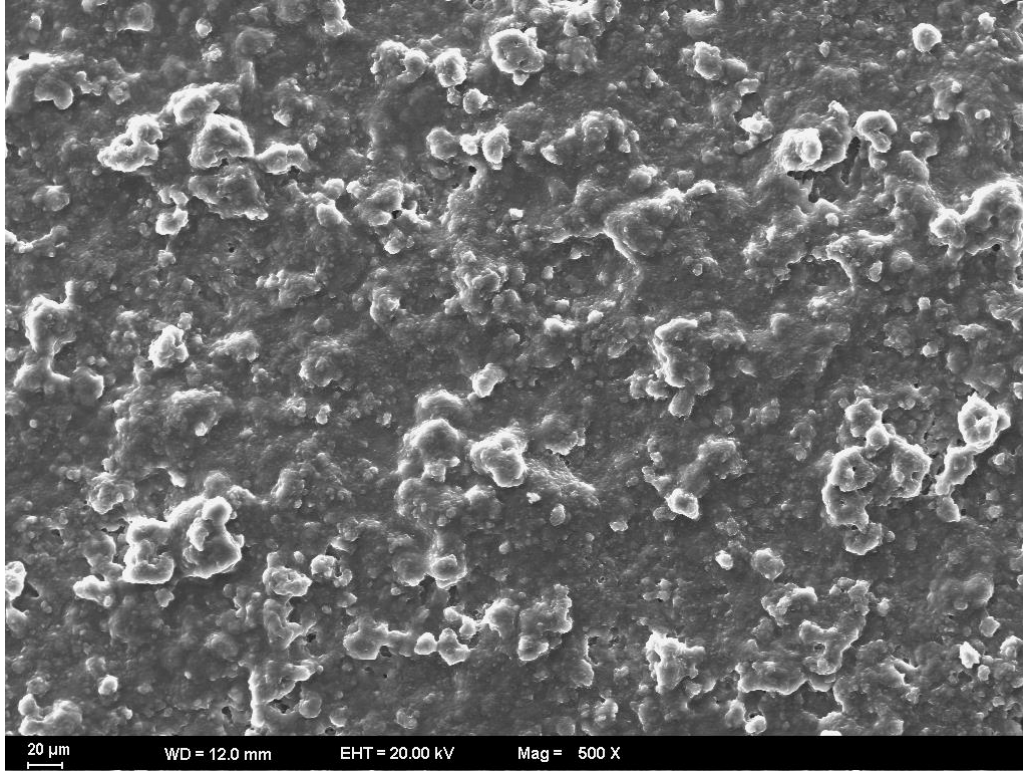
ZnO/Grafit kompozit pasta elektrot üzerine damlatılan NH₂ fonksiyonlu MWCNT süspansiyon çözeltisinin miktarı elektroaktif türün pik akımı ve potansiyeline önemli ölçüde etki edebilmektedir. Bu nedenle 0,5 mg çok duvarlı karbon nanotüp tozları üzerine 1 mL dimetil formamid (DMF) ilave edildikten sonra 2 saat boyunca ultrasonik banyoda karıştırılarak hazırlanan süspansiyon çözeltisinin elektrot yüzeyindeki derişiminin optimize edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla % 5 ZnO, % 65 grafit ve % 30 mineral yağ karışımından oluşan kompozit elektrot yüzeyine 4, 6, 8, 10 ve 12 µL NH₂ fonksiyonlu MWCNT süspansiyon çözeltileri damlatılıp oda sıcaklığında 1 gün kurutulmuştur. Daha sonra vardenafil'in en duyarlı yükseltgenme pikini elde etmek için her bir elektrotla pH 3 B-R tamponunda 5 mg/L vardenafilin SWS voltamogramları alınmıştır. Şekil 4.25'de verilen voltamogramlarda görüldüğü gibi vardenafil tayini için en duyarlı pik akımı 10 µL NH₂ fonksiyonlu MWCNT süspansiyon çözeltisinin ZnO/Grafit kompozit elektrot yüzeyine damlatılmasıyla elde edilmiştir. Bundan sonra yapılan vardenafilin voltametrik analizlerine % 65 grafit, % 5 ZnO ve % 30 mineral yağı ile hazırlanan ZnO/Grafit kompozit elektrotlara 10 µL NH₂ fonksiyonel gruba sahip çok duvarlı karbon nanotüp içeren süspansiyonlarla hazırlanan NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit kompozit elektrotlarla devam edilmiştir.



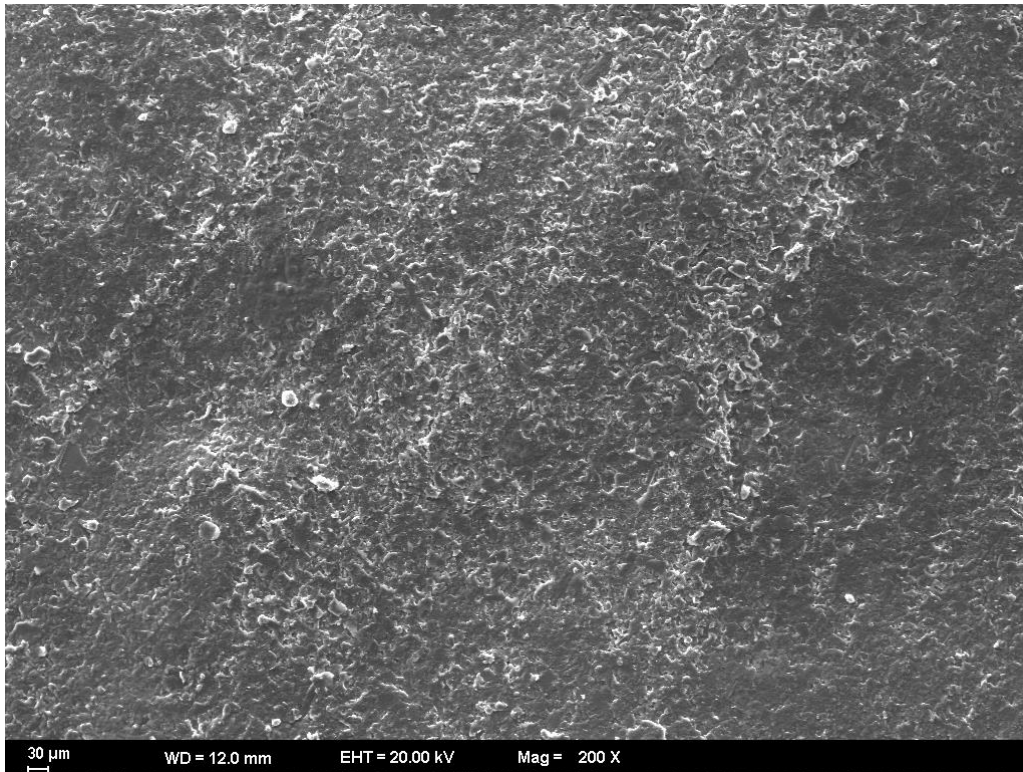
Şekil. 4.25. SWS voltametri ile 5 mg/L vardenafilin NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla tayininde NH_2 fonksiyonlu MWCNT süspansiyonunun etkisi (pH 3 B-R tamponu, $E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $f = 100$ Hz, $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV)



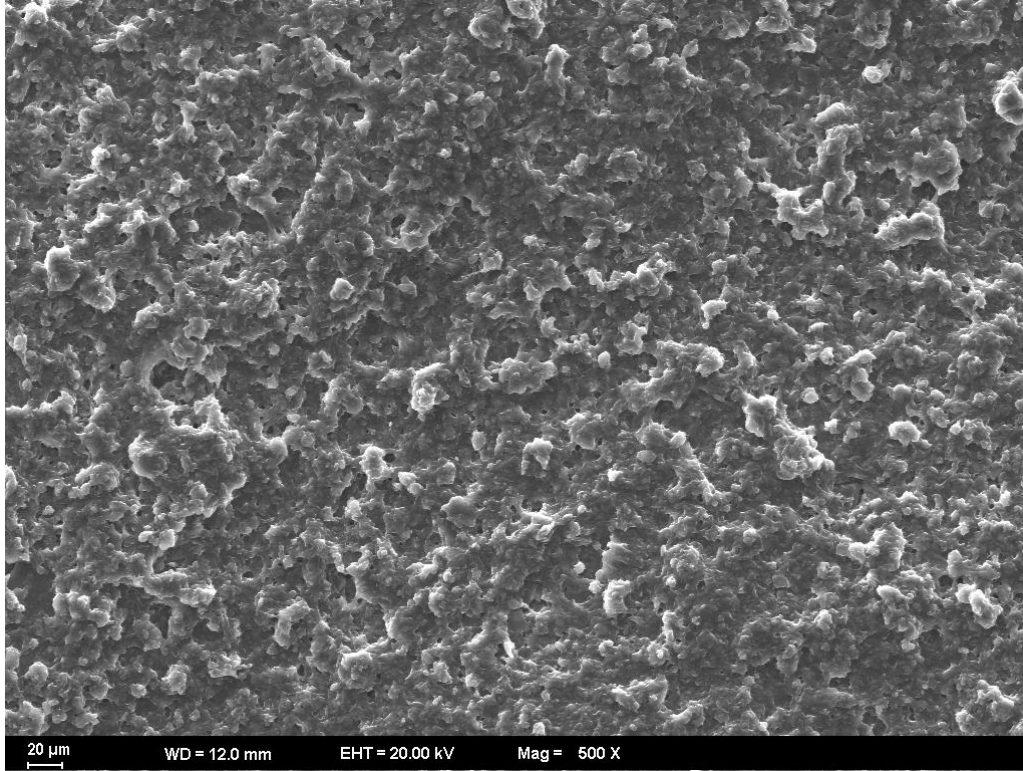
Şekil 4.26. ZnO nanopartiküllerle modifiye edilmiş grafit elektrodun (ZnO/Grafit) SEM görüntüsü



Şekil 4.27. Yalın MWCNT süspansiyon ile modifiye edilmiş elektrodun (MWC NT/ZnO/Grafit) SEM görüntüsü



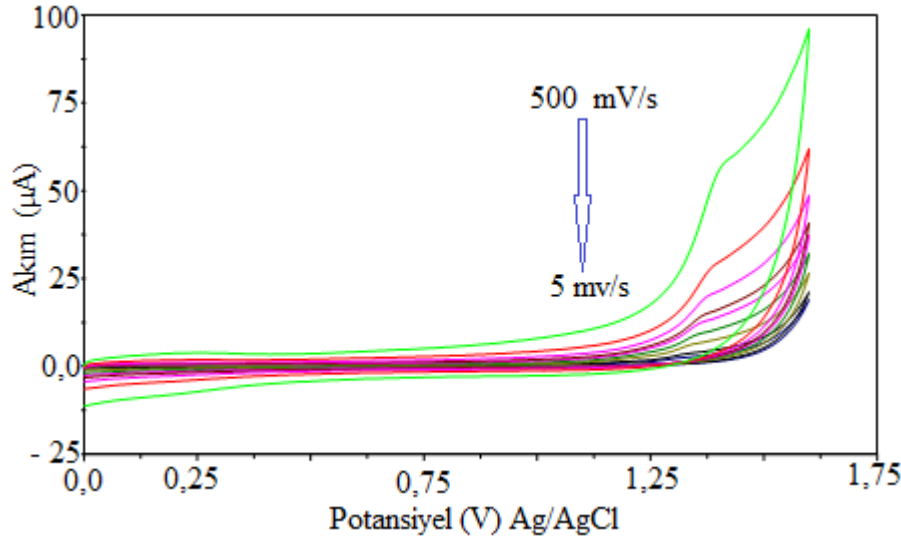
Şekil 4.28. COOH fonksiyonlu MWCNT süspansiyon ile modifiye edilmiş elektrodun (COOH-MWCNT/ZnO/Grafit) SEM görüntüsü



Şekil 4.29. NH_2 fonksiyonlu MWCNT süspansiyon ile modifiye edilmiş elektrodun (NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit) SEM görüntüsü

4.2.2. NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafilin dönüşümlü voltametri ile incelenmesi

Vardenafilin voltametrik davranışı NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit elektrot üzerinde farklı potansiyel tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar kaydedilerek incelenmiştir. Bu amaçla 50 mg/L vardenafilin NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde pH 3,0 fosfat tamponunda 5 ile 500 mV/s arasındaki farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Bu işlemde, 0 mV'dan başlayarak +1600 mV'a kadar önce pozitif yönde bir potansiyel taraması daha sonrada +1600'dan 0 mV'a kadar negatif yönde bir potansiyel taraması yapılmıştır. Şekil 4.30'da görüldüğü gibi, geliştirilen NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla pH 3 fosfat tamponunda yapılan pozitif yöndeki potansiyel tarama hızı çalışmasında, vardenafile ait yaklaşık +1350 mV'da tek bir anodik pik gözlenmiştir. Negatif yöndeki potansiyel taramasında ise bağımsız ya da bu pike karşılık gelen herhangi bir katodik pik gözlenmemiştir.



Şekil 4.30. NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot ile 50,0 mg/L vardenafilin farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları (pH 3,0 fosfat tamponu)

Modifiye kompozit elektrotla (NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit) potansiyel tarama hızının (v) vardenafilin pik potansiyeline (E_p) etkisi 5 – 500 mV/s aralığında incelenmiştir (Şekil 4.30). Artan potansiyel tarama hızına (v) karşı vardenafilin yükseltgenmesine ait pik potansiyelleri (E_p) değişimi aşağıdaki eşitlikte verilmektedir.

$$E_p \text{ (V)} = 0,049 \log v \text{ (V/s)} + 1,415 \quad (r = 0,9989)$$

Modifiye elektrotla kaydedilen dönüşümlü voltamogramlara bakıldığında pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında bir anodik pikin gözlenmesi, ancak katodik yönde herhangi bir pikin gözlenmemesi ve tarama hızı arttıkça pik potansiyelinin daha az pozitif değerlere kayması, vardenafilin elektrot yüzeyindeki yükseltgenme tepkimesinin tersinmez olduğunu göstermektedir.

pH 3,0 fosfat tamponunda 50,0 mg/L vardenafilin farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları, pik akımı (i_p) ile tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasındaki bağıntının doğrusal olduğunu göstermektedir. Elde edilen $v^{1/2}$ ya karşı i_p doğru denklemi aşağıda verilmiştir.

$$i_p \text{ (}\mu\text{A)} = 0,21 v^{1/2} \text{ (V/s)} - 0,48 \quad (r = 0,9898)$$

Elde edilen pik akımına (i_p) karşı tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) grafiğinin doğrusal çıkması vardenafilin elektrot yüzeyine doğru olan kütle transferinin difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

Dönüşümlü voltametri yöntemiyle tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafiğe geçirildiğinde doğrusal bir denklem elde edilmiştir. Doğru denklemi şöyledir:

$$\log(i_p) = 0,76 \log v \text{ (mV/s)} - 1,33 \quad (r = 0,9966)$$

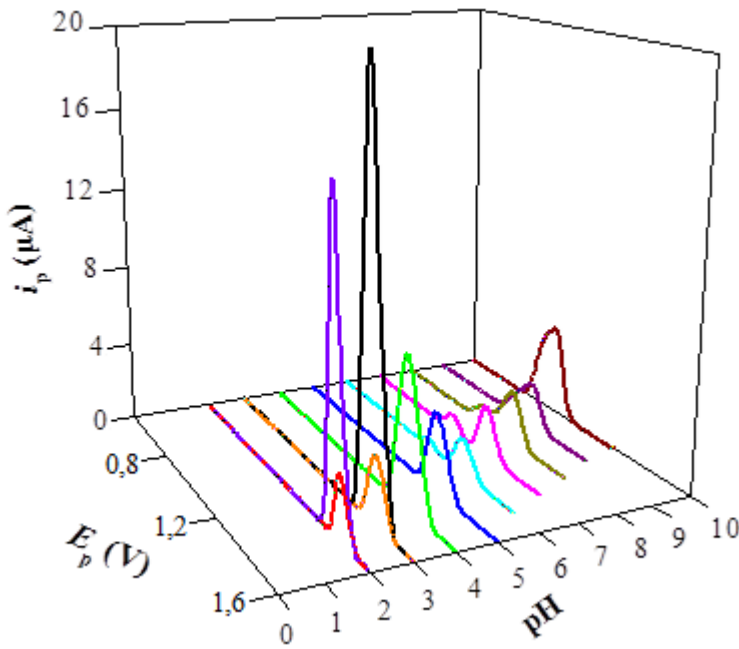
Modifiye $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ elektrota uygulanan potansiyel tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log i_p$) grafiğinin eğimi 0,76 olarak bulunmuştur. Teorik olarak $\log v$ 'ye karşı $\log i_p$ eğimi 0,5 olduğunda elektrot yüzeyine kütle transferi difüzyon kontrollü, 1,0 olduğunda ise adsorpsiyon kontrollüdür (Laviron ve ark., 1980; Wu ve ark., 2003). Elde edilen deneysel değer olan 0,76'nın 0,5 ile 1,0 arasında olması vardenafilin elektrot yüzeyine taşınmasının karışık kontrollü olduğunu göstermektedir. Başka bir deyişle, modifiye elektrot yüzeyine kütle aktarımında hem difüzyon hemde adsorpsiyon etkilidir, yani vardenafilin elektrot yüzeyine doğru olan kütle transferi difüzyon–adsorpsiyon karışık kontrollüdür.

4.2.3. Vardenafilin $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrot üzerinde sıyırma voltametrisi teknikleriyle tayini

Vardenafilin voltametrik tayinlerine kare dalga sıyırma (SWS) ve diferansiyel puls sıyırma (DPV) teknikleri kullanılmıştır. Önce 5 mg/L vardenafilin $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrot üzerinde geniş bir pH aralığında SWS ve DPS voltamogramları kaydedilmiştir. Uygun destek elektrolitin belirlenmesinde pH 1,0 – 2,0 için 0,1 M ve 0,01 M H_2SO_4 çözeltisi, pH 2,0 – 3,0 için fosfat tamponu ve pH 2,0 – 10,0 için Britton-Robinson tamponu çözeltileri kullanılmıştır. 5 mg/L vardenafilin her iki voltametrik yöntemle voltamogramları 0 mV'dan başlanarak pozitif yönde +1600 mV'a kadar potansiyel taraması yapılarak kaydedilmiştir.

Kare dalga sıyrma voltametri (SWSV) ile vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit elektrot üzerindeki tayinine pH etkisi

İlk olarak kare dalga sıyrma voltametri (SWSV) tekniği kullanılmış ve 5 mg/L vardenafilin voltametrik davranışı farklı pH tamponları içerisinde araştırılmıştır. Yapılan pH taramasında pH 2,0 ile 5,0 arasında +1400 mV'da tek bir pik gözlenirken, pH 6 ile 8 arasında biri +1000 mV'da ve diğeri +1150 mV'da olmak üzere iki adet yükseltgenme piki elde edilmiştir. pH 9 ve pH 10 tampon çözeltilerinde ise bu iki pikin üst üste çakışması sebebiyle yaklaşık +900 mV'da yayvan şeklinde tek bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. SWSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot kullanılarak farklı pH'larda elde edilen voltamogramlar Şekil 4.31'de görülmektedir.



Şekil 4.31. 5,0 mg/L vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla farklı pH'lardaki SWS voltamogramları ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $f = 100$ Hz, $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV)

Şekil 4.31'deki voltamogramlardan da görüldüğü gibi B-R tamponunda pH 4'e kadar vardenafilin pik akımı artmıştır. pH 4'den sonra pik akımı yüksekliği pH 9'a kadar azalmaktadır. pH 10'da ise vardenafilin iki yükseltgenme pikinin iç içe girmesi nedeniyle pik akımı yüksekliği tekrar artmıştır. Şekil 4.31'de görüldüğü gibi, 5 mg/L vardenafilin SWS voltamogramının maksimum pik akımı pH 4 B-R tamponunda elde edilirken, fosfat tamponundaki maksimum pik akımı ise pH 3,0'de elde edilmiştir. Aynı koşullarda fosfat

tamponunda elde edilen maksimum pik akımı B–R tamponunda elde edilen maksimum pik akımına göre yaklaşık % 300 daha fazladır. Bu nedenle vardenafilin NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde SWS voltametri ile tayininde destek elektrolit olarak pH 3,0 fosfat tamponu seçilmiştir. SWS voltametriyle bu elektrot kullanılarak geniş bir pH aralığında elde edilen pik akımı ve pik potansiyelleri değerleri Çizelge 4.7’de özetlenmiştir.

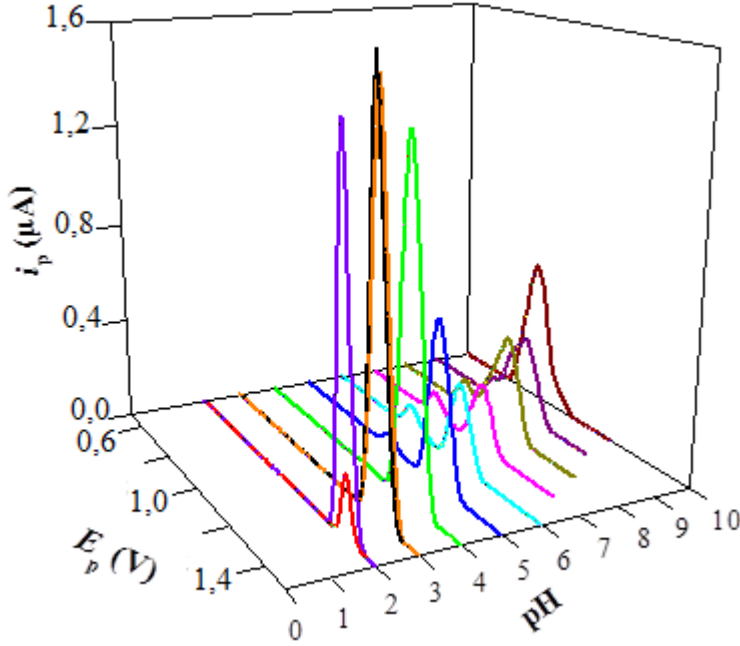
Çizelge 4.7. 5 mg/L vardenafilin farklı pH’larda SWSV tekniğiyle elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımları değerleri

SWSV					
pH	İp ₁ (µA)	Ep ₁ (mV)	İp ₂ (µA)	Ep ₂ (mV)	
B-R Tamponu	2		3,17	1440	
	3		3,32	1401	
	4		7,51	1348	
	5	0,0104	1133	3,85	1289
	6	0,368	1040	1,73	1226
	7	0,809	972	2,52	1152
	8	0,357	942	2,86	1104
	9			2,31	1025
	10			4,66	967
Fosfat Tamponu	2		15,6	1411	
	3		21,8	1372	

Diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) ile vardenafilin NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit elektrot üzerindeki tayinine pH etkisi

Uygun destek elektroliti belirlemek amacıyla NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrodunu kullanılarak diferansiyel puls voltametri (DPSV) tekniğiyle 5 mg/L vardenafilin yükseltgenme davranışı farklı pH tampon çözeltilerinde incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda pH 2,0 ile 4,0 arasında +1350 mV civarında tek bir pik gözlenirken pH 5 ile 9 arasında + 900 mV ve +1100 mV’da olmak üzere iki tane yükseltgenme piki gözlenmiştir.

pH 10 B–R tampon çözeltisinde ise bu iki pikin üst üste çakışması sebebiyle yaklaşık +850 mV’da yayvan tek bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. DPSV ile $\text{NH}_2\text{-MWCNTP/ZnO/Grafit}$ modifiye karbon elektrot kullanılarak farklı pH’larda elde edilen voltamogramlar Şekil 4.32’de görülmektedir.



Şekil 4.32. 5,0 mg/L vardenafilin modifiye $\text{NH}_2\text{-MWCNTP/ZnO/Grafit}$ elektrotla farklı pH’lardaki DPS voltamogramları ($E_b = 0$ mV, $t_b = 60$ s, $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E = 50$ mV)

B–R tamponunda pH 3,0’e kadar vardenafilin pik akımı artmıştır. pH 3,0’den sonra ise pik akımı yüksekliği pH 8’a kadar azalmıştır. pH 9 ve 10’da ise vardenafilin iki yükseltgenme pikinin iç içe girmesi nedeniyle pik akımı yüksekliği tekrar artmıştır. Şekil 4.32’deki 5 mg/L vardenafilin DPS voltamogramlarına bakıldığında B–R tamponları arasında maksimum pik akımının pH 3,0 destek elektrolit çözeltisinde elde edildiği, fosfat tamponunda da maksimum pik akımının pH 3’de elde edildiği görülmektedir. Fosfat tamponunda elde edilen maksimum pik yüksekliği ile B–R tamponunda elde edilen maksimum pik yüksekliği birbirine çok yakındır. Bu nedenle vardenafilin analizi için kullanılan kare dalga sıyırma voltametrisinde optimum destek elektrolit olarak pH 3,0 fosfat tamponu seçildiğinden, DPSV yönteminde de pH 3,0 fosfat tamponu ile devam edilmiştir. DPS voltametri ile vardenafilin pH taramasından elde edilen pik akımı ve potansiyelleri Çizelge 4.8’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.8. 5 mg/L vardenafilin farklı pH'larda DPSV tekniği ile elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımı değerleri

DPSV					
pH		İp ₁ (µA)	Ep ₁ (mV)	İp ₂ (µA)	Ep ₂ (mV)
B-R Tamponu	2			0,234	1367
	3			1,56	1318
	4			1,36	1270
	5	0,046	981	0,642	1221
	6	0,095	908	0,329	1147
	7	0,089	850	0,256	1084
	8	0,080	825	0,446	1035
	9			0,362	957
	10			0,602	850
Fosfat Tamponu	2			1,44	1353
	3			1,59	1309

Modifiye NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit elektrot kullanılarak SWS ve DPS voltametri teknikleriyle yapılan pH taraması sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda pH'ya karşı vardenafilin pik potansiyelleri (E_p) grafiğe geçirilmiştir. Her iki voltametrik yöntemle elde edilen pH ile pik potansiyelleri (E_p) arasındaki bağıntıyı veren eşitlikler aşağıda verilmiştir.

$$E_p \text{ (mV)} = -49,0 \text{ pH} + 1180,7 \text{ (mV)} \quad r=0,9759 \text{ (pH 6-8) 1. piki (SWSV)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = -60,8 \text{ pH} + 1581,4 \text{ (mV)} \quad r=0,9979 \text{ (pH 6-8) 2. piki (SWSV)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = -52,6 \text{ pH} + 1075,1 \text{ (mV)} \quad r=0,9793 \text{ (pH 6-8) 1. piki (DPSV)}$$

$$E_p \text{ (mV)} = -62,6 \text{ pH} + 1514,6 \text{ (mV)} \quad r=0,9935 \text{ (pH 6-8) 2. piki (DPSV)}$$

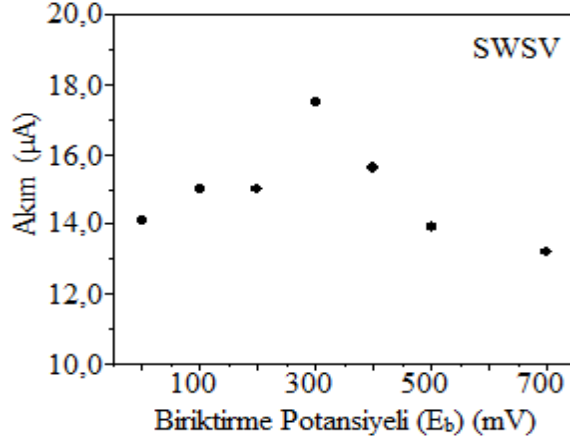
SWS voltametri ile yapılan çalışmada, vardenafilin birinci yükseltgenme piki birim pH başına 49,0 mV, ikinci yükseltgenme piki ise 60,8 mV daha az pozitif potansiyel yönünde kaymaktadır. DPS voltametrisinde ise birim pH başına birinci pik 52,6 mV ikinci pik ise 62,6 mV daha az pozitif potansiyel yönünde kaymaktadır. Başka bir deyişle her iki voltametrik yöntemde de vardenafilin yükseltgenmesi pH artışıyla kolaylaşmakta, asidik pH'larda ise yükseltgenme tepkimesi zorlaşmaktadır. pH taramasında elde edilen pH başına yaklaşık 60 mV'luk potansiyel kayması, teorik değer olan 59 mV'a çok yakın olması nedeniyle elektro-yükseltgenme tepkimesinde 2 protonun ($2 H^+$) yer aldığı düşünülebilir. Ayrıca, daha önce yapılan çalışmalarda ikinci pik için bu değer 60 mV civarında bulunması ve önerilen elektrot tepkimesi mekanizmasında 2 protonun eşlik etmesi, NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot kullanarak elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.

Her iki voltametrik yöntemle yapılan pH taraması sonuçları, vardenafilin elektrot tepkimesinin pH'ya bağlı olduğunu göstermektedir. pH arttıkça, vardenafilin yükseltgenme pik akımı daha az pozitif potansiyellere kaymıştır. Her iki voltametrik teknikte de analitik tayinler için NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrotla pH 3,0 fosfat tamponunda çalışılmıştır.

4.2.4. Vardenafilin NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde SWSV ve DPSV teknikleriyle tayini

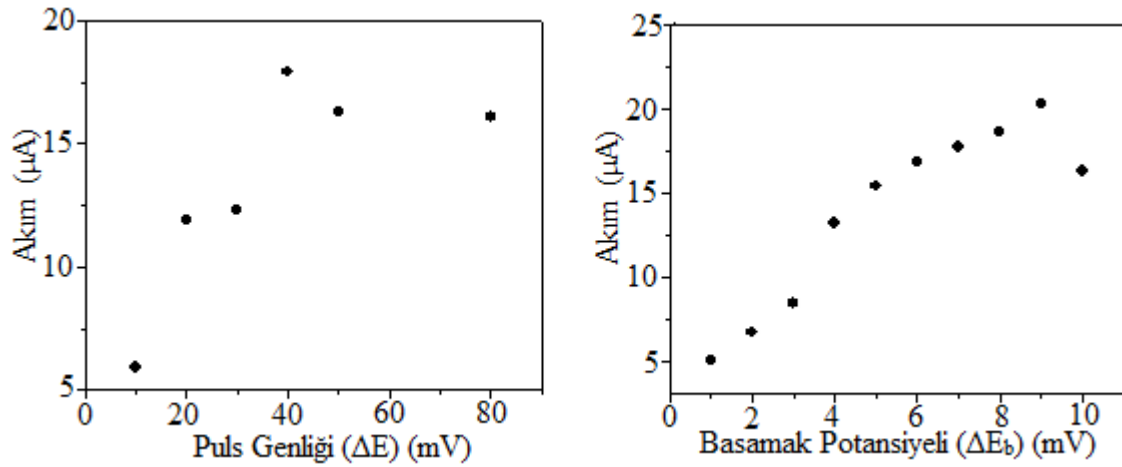
NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafilin SWS ve DPS voltametri teknikleriyle pH 3,0 fosfat tamponundaki tayinlerine geçmeden önce, kare dalga sıyırma voltametri çalışmaları önemli parametreler olan biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyeli (E_b), frekans (f), puls genliği (ΔE) ve basamak potansiyeli (ΔE_b) parametreleri optimize edilmiştir. Sıyırma tekniklerinde pik akımına ve potansiyeline önemli ölçüde etki eden bu parametreler 5,0 mg/L vardenafil ile pH 3,0 fosfat tamponunda optimize edilmiştir. İlk olarak biriktirme potansiyeli optimize edilmiştir. Bu amaçla, 0 mV ile +700 mV arasında değişen potansiyellerde biriktirme yapılarak optimum biriktirme potansiyeli (E_b) değeri bulunmuştur (Şekil 4.33). NH_2 -MWCNT/ZnO/grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafil için uygulanan biriktirme potansiyellerine karşı pik akımları grafiğine bakıldığında en yüksek pik akımı değerinin +300 mV'da yapılan biriktirme

potansiyeliyle sağlandığı görülmektedir. Bu nedenle +300 mV optimum biriktirme potansiyeli olarak belirlenmiştir.



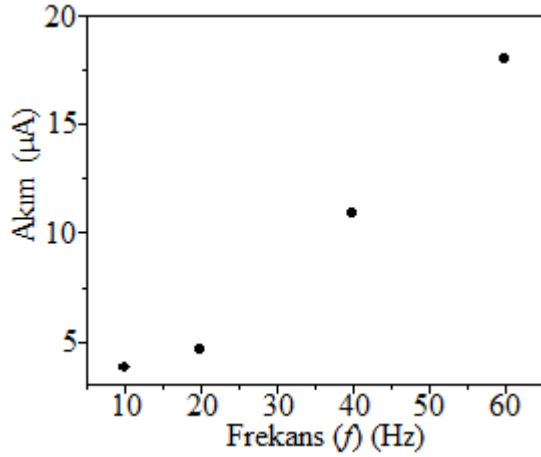
Şekil 4.33. 5,0 mg/L vardenafilin SWSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki tayininde biriktirme potansiyelinin etkisi

Optimizasyon çalışmasında puls genliği ve basamak potansiyeli parametrelerine geçilmiştir. Puls genliği için 10 mV ile 80 mV arasında belirlenen potansiyelerde, basamak potansiyeli için ise 1 mV ile 10 mV arasında belirlenen potansiyelerde 5,0 mg/L vardenafilin SWS voltamogramları alınmıştır. Vardenafil tayini için en yüksek pik akımının elde edildiği puls genliği 40 mV ve en yüksek pik akımının elde edildiği basamak potansiyeli 9 mV optimum değerler olarak daha sonraki çalışmalarda kullanılmıştır (Şekil 4.34).



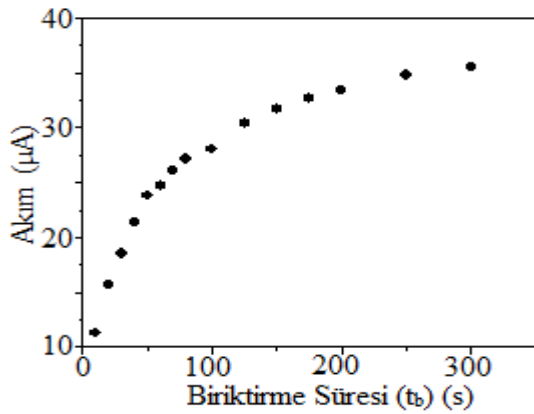
Şekil 4.34. SWSV ile 5,0 mg/L vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla tayininde a) puls genliğinin ve b) basamak potansiyelinin etkisi

Daha sonra vardenafil pik akımına frekansın etkisi incelenmiştir (Şekil 4.35). Bu amaçla 10 Hz ile 200 Hz arasında değişen frekanslarda SWS voltamogramları alınmıştır. Artan frekans ile birlikte vardenafilin pik akımında doğrusal bir artış görülmektedir. Frekans seçiminde en düzgün ve en keskin pikin elde edildi 60 Hz optimum frekans olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.35. 5,0 mg/L vardenafilin SWSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla tayininde frekansın optimizasyonu

Son olarak biriktirme süresinin pik akımları üzerine etkisi incelenmiştir. 5,0 mg/L vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde 10 s ile 300 s arasındaki farklı biriktirme sürelerinde SWS voltamogramları alınmıştır. Vardenafilin pik akımı biriktirme süresi 150 s oluncaya kadar doğrusal bir şekilde artmıştır (Şekil 4.36). 150 s'den sonra doğrusal olmayan bir artış görülmektedir. 300 s sonra ise elektrot yüzeyi tamamen doygunluğa ulaştığından vardenafilin pik akımında bir artış olmamıştır. Elde edilen biriktirme sürelerine bakıldığında 250 s ile 300 s arasında çok bir fark olmadığından vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot üzerindeki tayininde optimum biriktirme süresi 250 s olarak seçilmiştir. Son olarak SWS voltametri ile vardenafil tayini için tüm optimum parametreler Çizelge 4.9'da özetlenmiştir.



Şekil 4.36. 5,0 mg/L vardenafilin SWSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrotla tayininde biriktirme süresinin optimizasyonu

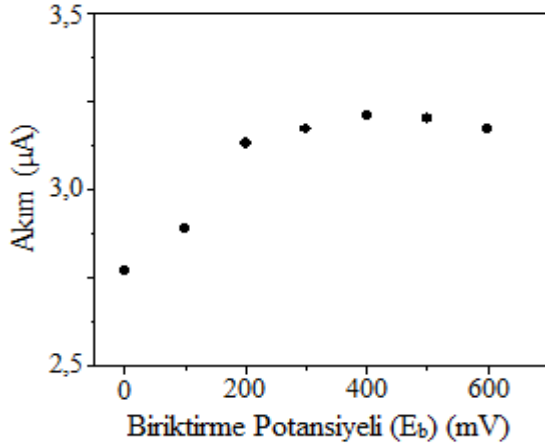
Çizelge 4.9. SWS voltametri ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot üzerinde 5,0 mg/L vardenafilin tayini için optimum parametreler

Parametreler (Birimler)	Optimum Değerler
Biriktirme Potansiyeli (mV)	300
Biriktirme Süresi (s)	250
Frekans (Hz)	60
Pulse Genliği (mV)	40
Basamak Potansiyeli (mV)	9
Destek Elektrolit	pH 3,0 Fosfat tamponu
Pik Potansiyeli (mV)	+1375

5 mg/L vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot ile diferansiyel puls sıyırma voltammetrisi (DPSV) tekniği kullanılarak pH 3 fosfat destek elektrolit içerisindeki voltamogramları kaydedildi. Vardenafil tayininde kullanılan DPSV tekniğinde pik yüksekliğine önemli ölçüde etki eden biriktirme süresi (t_b) ve biriktirme potansiyeli (E_b) parametreleri optimize edilmiştir.

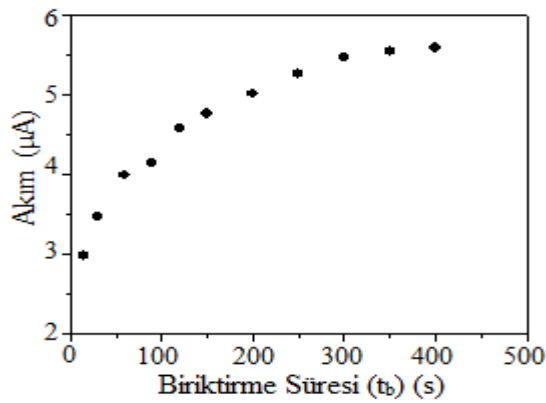
İlk olarak DPSV tekniğinde pik akımına önemli ölçüde etki eden biriktirme potansiyelinin optimizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla 5 mg/L vardenafilin pH 3,0 fosfat tamponundaki çözeltisine 0 mV ile +600 mV arasında çeşitli biriktirme potansiyelleri uygulanarak elektro-yükseltgenme pik akımına biriktirme potansiyellerinin etkisi araştırılmıştır. 0 mV ile +600 mV arasında uygulanan biriktirme potansiyellerinden +400 mV'a kadar vardenafilin pik akımı yüksekliğinde artma gözlenirken +400 mV'dan sonra sabit kaldığı

gözlemlenmiştir (Şekil 4.37). Vardenafilin maksimum pik akım şiddeti +400 mV'da uygulanan biriktirme potansiyelinde gerçekleştiğinden optimum biriktirme potansiyeli olarak +400 mV seçilmiştir.



Şekil 4.37. 5,0 mg/L vardenafilin DPSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki tayininde biriktirme potansiyelinin optimizasyonu

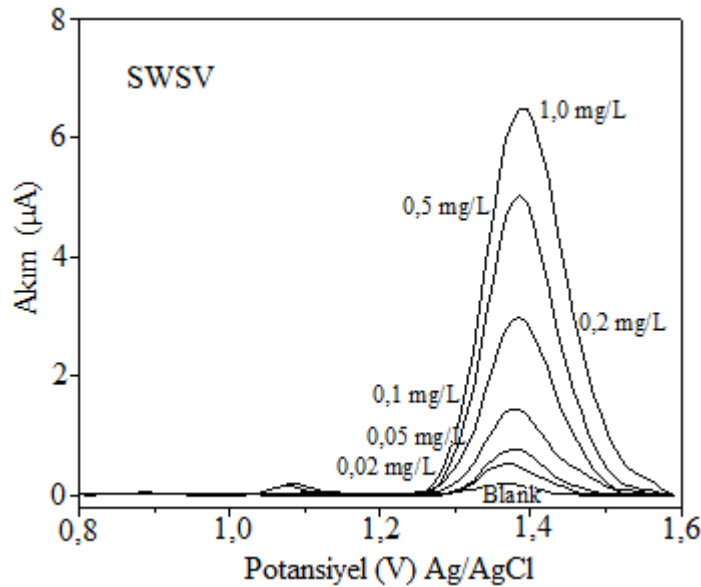
Daha sonra NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki biriktirme süresi 5 mg/L vardenafilin için incelenmiştir. 5 mg/L vardenafilin +400 mV'daki biriktirme potansiyeli ile 10 s ile 400 s arasındaki farklı sürelerde biriktirilmesinden sonra DPS voltamogramları alınmıştır. İncelenen biriktirme süresi aralığında vardenafilin pik akımı 300 saniyeye kadar bir artış göstermiştir. 300 saniyeden sonra pik yüksekliğinde kaydeğer bir artış görülmemekte, neredeyse sabit kalmaktadır (Şekil 4.38). 300 s ile 400 s arasındaki biriktirme sürelerinde pik şiddetleri açısından çok bir fark olmadığından, vardenafil tayini için optimum biriktirme süresi 300 s olarak seçilmiştir.



Şekil 4.38. 5,0 mg/L vardenafilin DPSV ile NH₂ fonksiyonlu MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki tayininde biriktirme süresinin optimizasyonu

Vardenafilin hem SWSV hemde DPSV teknikleriyle tayinleri için en uygun deney koşulları belirlendikten sonra kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması çalışmalarına geçilmiştir. Bu amaçla 10,0 mL pH 3,0 fosfat çözeltisinde bulunan 0,02 mg/L vardenafil üzerine 500 mg/L stok çözeltiden μL 'ler düzeyindeki hacimlerde ilaveler yapılmış, SWS ve DPS voltamogramları kaydedilmiştir.

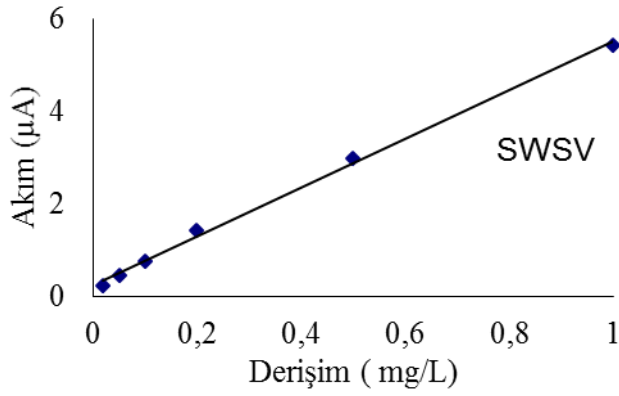
Kalibrasyon grafiği hazırlamak amacıyla NH_2 fonksiyonlu MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde pH 3,0 fosfat tamponunda hazırlanan farklı derişimlerdeki vardenafilin SWS voltamogramları Şekil 4.39'da verilmektedir.



Şekil 4.39. Vardenafilinin kalibrasyonu için NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot ile elde edilen SWS voltamogramları a) pH 3,0 fosfat tamponu b) 0,02 mg/L vardenafil c) 0,05 mg/L vardenafil d) 0,1 mg/L vardenafil e) 0,2 mg/L vardenafil f) 0,5 mg/L vardenafil g) 1,0 mg/L vardenafil ($\Delta E_b = 9 \text{ mV}$, $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E = 40 \text{ mV}$, $t_b = 250 \text{ s}$ $E_b = 300 \text{ mV}$)

Daha önce optimize edilen şartlarda pH 3,0 fosfat tamponunda farklı derişimlerdeki vardenafilin derişimlerine (mg/L) karşı pik akımları (i_p) grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.40). SWS voltametri ile NH_2 -MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak 0,02 ile 1,0 mg/L vardenafil aralığında doğrusal bir bağıntı elde edilmiştir.

$$I_p (\mu\text{A}) = 5,279 C (\text{mg/L}) + 0,236 \quad (r = 0,9987, \text{SWSV}).$$



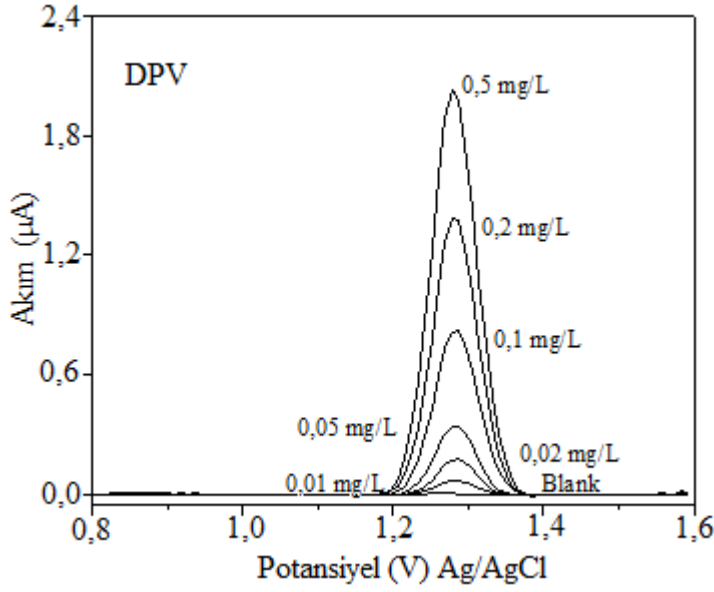
Şekil 4.40. Vardenafilin $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrot ile SWS voltamogramlarından elde edilen kalibrasyon grafiği. (pH 3,0 fosfat tamponu)

SWS voltametri ile optimize edilen koşullarda elde edilen veriler kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri Çizelge 4.10'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.10. Vardenafilin SWSV ile $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi ve validasyon parametreleri

Parametreler	SWSV
Pik Potansiyeli (mV)	+1375
Çalışma derişim Aralığı (mg/L)	0,02 – 1,00
Eğim ($\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$)	$5,28 \pm 0,24$
Kesim Noktası (μA)	$0,24 \pm 0,06$
Korelasyon Katsayısı	0,9975
Gözlenebilirlik Sınırı, LOD ($\mu\text{g}/\text{L}$)	13,6
Tayin Sınırı, LOQ ($\mu\text{g}/\text{L}$)	44,88
Pik potansiyelinin gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,69
Pik akımının gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	1,81
Pik potansiyelinin günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,73
Pik akımının günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	3,44

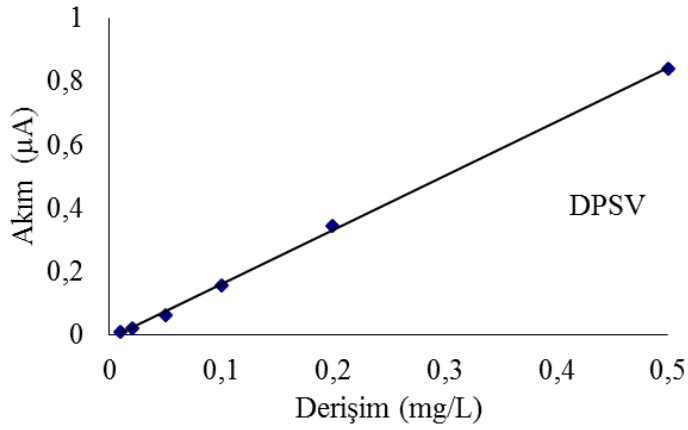
^an = 7,



Şekil 4.41. Vardenafilin kalibrasyonu için $\text{NH}_2\text{-MWCNTP/ZnO/grafit}$ modifiye karbon elektrot ile elde edilen DPS voltamogramları a) 10 mL pH 3,0 fosfat tamponu b) 0,01 mg/L vardenafil c) 0,02 mg/L vardenafil d) 0,05 mg/L vardenafil e) 0,1 mg/L vardenafil f) 0,2 mg/L vardenafil g) 0,5 mg/L vardenafil ($t_b = 300$ s, $E_b = 400$ mV)

Daha önce optimize edilen şartlarda ve pH 3,0 fosfat tamponunda farklı derişimlerdeki vardenafilin DPS voltamogramlarından elde edilen pik akımları (i_p) derişime karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.42). DPS voltametri ile $\text{NH}_2\text{-MWCNTP/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrot kullanılarak elde edilen pik akımları 0,01 – 0,5 mg/L aralığındaki derişimlere karşı grafiğe alınmış ve doğrusal bir denklem elde edilmiştir. Bu kalibrasyon denklemi aşağıda verilmiştir. Ayrıca DPS voltametriyle optimum koşullarda elde edilen kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi sonuçları ve diğer validasyon parametreleri Çizelge 4.11’de özetlenmiştir.

$$I_p (\mu\text{A}) = 1,713 C (\text{mg/L}) + 0,011 \quad (r = 0,9991)$$



Şekil 4.42. Vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerindeki DPS voltamogramlarından kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.11. Vardenafilin DPSV ile NH₂ MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi ve validasyon verileri

Parametreler	DPSV
Pik Potansiyeli (mV)	+1280
Çalışma Aralığı (mg/L)	0,01 – 0,5
Eğim (µA·L/ µg)	1,74 ± 0,025
Kesim Noktası (µA)	-0,01 ± 0,0056
Korelasyon Katsayısı	0,9991
Gözlenebilirlik Sınırı, LOD (µg/L)	4,38
Tayin Sınırı, LOQ (µg/L)	13,3
Pik potansiyelinin gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,30
Pik akımının gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,96
Pik potansiyelinin günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	0,45
Pik akımının günler arası tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	1,76

^an = 7

Kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) teknikleri ile vardenafil tayini için elde edilen kalibrasyon grafiklerine ait regresyon analizi ve validasyon sonuçları Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.11’de özetlenmiştir. SWSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak yapılan vardenafil tayininde gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri sırasıyla 13,6 µg/L ve 44,88 µg/L bulunmuştur. DPS voltametrisinde ise LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 4,38 µg/L ve 13,3 µg/L bulunmuştur. Her iki voltametrik teknikte gözlenebilirlik ve tayin sınırlarının hesaplanmasında $LOD = 3S_b/m$ ve $LOQ = 10S_b/m$ eşitlikleri kullanılmıştır (Miller ve Miller, 1988; Özkan, 2012). Burada, S_b vardenafilin gözlenen pik akımının standart sapmasını ($n=7$), m ise kalibrasyon grafiklerinin eğimini göstermektedir.

4.2.5. Vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot üzerinde SWSV ve DPSV teknikleriyle gerçek numunelerde tayini

Vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/grafit modifiye elektrot kullanılarak kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) teknikleriyle ticari farmasötik tabletlerde ve sentetik kan serumunda tayinleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar standart ekleme yöntemi ile yüzde geri kazanım olarak hesaplanmıştır. 20 mg vardenafil etken maddesi içeren Levitra[®] ilacı 100 mL saf suda ultrasonik banyoda karıştırılıp çözüldükten sonra, daha önce optimize edilen şartlarda geliştirdiğimiz NH₂-MWCNT/ZnO/grafit modifiye elektrotla vardenafilin SWS ve DPS voltamogramları kaydedilmiştir. Daha sonra günlük hazırlanan 500 mg/L vardenafil stok çözeltisinden elektrolitik hücreye µL düzeylerinde standart ilaveler yapılarak her iki voltametrik yöntemle tayinler gerçekleştirilmiştir. Voltametrik hücreye standart vardenafil ilaveleriyle gerçekleşen pik akımlarının artışından Levitra[®] tabletlerindeki vardenafil etken maddesinin miktarları hesaplanmıştır. Tablet dozaj şeklindeki örneklerinde her iki yöntemle elde edilen sonuçlar % 95 güven seviyesi ile hesaplanmış ve validasyon parametrelerinden olan % bağıl standart sapma ve % bağıl hatayla birlikte sonuçlar Çizelge 4.12 ve 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Levitra® ilaç tabletlerinde vardenafilin SWS voltametriyle tayini

Vardenafil*	SWSV
Etiketlenen miktar (mg/L)	20,0
Bulunan miktar (mg/L \pm mg/L)	19,4 \pm 0,35
Geri kazanım (%)	97,0
BSS(%)	1,9
Bağıl hata (%)	- 2,8
Eklenen	20,0
Bulunan	20,5 \pm 0,39
BSS (%)	1,9
Bağıl hata (%)	+ 2,3

(*N= 5 and t: % 95güven seviyesi)

Çizelge 4.13. Levitra® ilaç tabletlerinde vardenafilin DPS voltametriyle tayini

Vardenafil*	DPSV
Etiketlenen miktar (mg/L)	20,0
Bulunan miktar (mg/L \pm mg/L)	21,0 \pm 0,45
Geri kazanım (%)	105,0
BSS (%)	1,2
Bağıl hata (%)	+ 5,0
Eklenen	20,0
Bulunan	20,6 \pm 0,27
BSS (%)	1,3
Bağıl hata (%)	+ 2,8

(*N= 5 and t: % 95 güven seviyesi)

Kare dalga sıyırma voltametrisi (SWSV) ve diferansiyel puls sıyırma voltametrisi (DPSV) teknikleriyle Levitra® ilaç tabletlerindeki vardenafil tayininde % bağıl standart sapmalar

sırasıyla $-1,9$ ve $+1,2$ şeklinde bulunmuştur. Bağlı hatalar ise $\% -2,8$ ve $\% +5,0$ bulunmuştur. Ayrıca ilaç tableti numune çözeltilerine ilave edilen 20 mg vardenafil SWSV ve DPSV ile yapılan çalışmalarda sırasıyla $\% +2,3$ ve $\% 2,8$ bağlı hata ile tayin edilmiştir. Her iki voltametrik teknikle ilaç tabletlerinin tayinlerindeki düşük $\%$ bağlı standart sapma ve düşük $\%$ bağlı hatalar vardenafil tayini için geliştirilen SWSV ve DPSV tekniklerin doğruluğunun ve kesinliğinin iyi olduğunu göstermektedir.

Levitra[®] ticari ilacına uygulanan voltametrik yöntem sentetik kan serumuna da uygulanmış ve kan serumunda vardenafil tayinleri yapılmıştır. Sentetik kan serumu örnekleri Bölüm 3.2.2.'de bahsedildiği gibi hazırlanmıştır. Hazırlanan kan serumu örneklerine ilave edilen vardenafilin $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrotla pH 3,0 fosfat tamponunda SWS ve DPS voltamogramları alındı. Daha sonra yeni hazırlanan 500 mg/L vardenafil stok çözeltisinden voltametrik hücreye standart ilaveler yapılarak her iki voltametrik yöntemle tekrar voltamogramlar kaydedildi. Sonuçlar yüzde geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Kan serumu örneklerinden elde edilen sonuçlar $\% 95$ güven seviyesinde hesaplanmış ve $\%$ geri kazanımlarla birlikte Çizelge 4.14 ve 4.15'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Sentetik kan serumunda SWSV ile $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/grafit}$ modifiye elektrot üzerinde vardenafilin tayini

Vardenafil*	SWSV
Eklenen miktar ($\mu\text{g/L}$)	50,00
Bulunan miktar ($\mu\text{g/L} \pm \mu\text{g/L}$)	$50,04 \pm 0,77$
Geri kazanım (%)	100,8
BSS (%)	1,9
Bağlı hata (%)	$-2,8$

(*N = 5 and t: $\% 95$ güven seviyesi)

Çizelge 4.15. Sentetik kan serumunda DPSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde vardenafilin tayini

Vardenafil*	DPSV
Eklenen miktar (µg/L)	50,00
Bulunan miktar (µg/L ± µg/L)	50,22 ± 1,59
Geri kazanım (%)	104,4
BSS (%)	1,2
Bağıl hata (%)	- 2,8

(*N = 5 and t: % 95 güven seviyesi)

Geliştirilen voltametrik yöntemlerin gerçek numunelere uygulanması sonucu elde edilen % - 2,8 bağıl hata ve % 1-2 bağıl standart sapma değerleri geliştirilen yöntemin doğruluğunun ve kesinliğinin iyi olduğunu göstermektedir.

4.2.6. Vardenafil tayininde girişim etkileri

Geliştirilen voltametrik yöntemlerin seçiciliği ve doğruluğunu anlamak için bazı metal iyonlarının varlığında ya da yükseltgenme yönünde elektroaktif olan veya olmayan bazı organik türlerin varlığında vardenafil tayinleri gerçekleştirilmiştir. NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak SWSV ve DPSV teknikleriyle voltamogramlar elde edilmiştir. Girişim etkisinin incelenmesinde, standart ekleme yöntemiyle tayinler yapılmış ve sonuçlar % geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Yüzde geri kazanımlar, herhangi bir girişim yapan tür olmadığında 1,0 mg/L vardenafilin pik akımının, girişimi denenen türlerin kütlece 1:1, 1:5 ve 1:10 alındığı zamanki pik akımına oranı alınarak hesaplanmıştır. SWSV ve DPSV teknikleriyle NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak elde edilen sonuçlar % geri kazanım olarak Çizelge 4.16'da ve 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. 1,0 mg/L vardenafilin bazı türlerin varlığında SWS voltametriyle tayini (pH 3,0 fosfat tamponunda)

Girişimci Türler	Geri Kazanım (%)		
	Vardenafilin girişimci türlere kütlece (m/m) oranı		
	1:1 (m/m)	1:5 (m/m)	1:10 (m/m)
Askorbik Asit	101,70 ± 3,90	95,38 ± 3,52	93,42 ± 2,47
Ürik Asit	99,36 ± 0,59	99,74 ± 1,24	94,23 ± 1,54
Dopamin	97,73 ± 1,82	90,19 ± 2,25	87,50 ± 0,97
Glikoz	101,35 ± 1,96	100,30 ± 0,27	99,85 ± 0,69
Bakır (II)	99,39 ± 0,93	86,47 ± 2,24	82,00 ± 0,97
Potasyum (I)	101,08 ± 0,53	99,23 ± 3,90	97,85 ± 1,75
Sodyum (I)	100,73 ± 1,14	100,39 ± 1,74	100,76 ± 1,73
Demir (III)	99,81 ± 0,32	98,13 ± 1,41	97,94 ± 0,31

1, 5, 10 mg/L girişimci türler yanında 1 mg/L vardenafilin tayini (n=3)

Her iki voltametik teknikle Cu (II), K(I), Na(I) ve Fe(III) iyonlarının girişim etkileri incelenmiştir. Girişim etkisi için 1 mg/L vardenafilin tayini 1, 5 ve 10 mg/L girişimci türler yanında yapılmış ve SWS ve DPS voltamogramları kaydedilmiştir. Bu türler arasında herhangi bir katyonun vardenafil tayininde önemli bir girişim etkisi görülmemektedir. Askorbik asit, ürik asit ve dopamin gibi bazı elektroaktif türler yanında elektroaktif olmayan glikozun da girişim etkisi incelenmiştir. Çizelge 4.16 ve Çizelge 4,17'ye bakıldığında her iki yöntemle yapılan çalışmalarda vardenafilin pik şiddetinde kaydeğer bir değişiklik görülmemiştir.

Çizelge 4.17. pH 3,0 fosfat tamponunda, 1,0 mg/L vardenafilin bazı türlerin varlığında DPS voltametriyle tayini

Girişimci Türler	Geri Kazanım (%)		
	Vardenafilin girişimci türlere kütlece (m/m) oranı		
	1:1 (m/m)	1:5 (m/m)	1:10 (m/m)
Askorbik Asit	101,07 ± 3,13	98,06 ± 2,61	95,79 ± 1,82
Ürik Asit	100,14 ± 0,48	97,15 ± 0,79	92,72 ± 0,21
Dopamin	98,71 ± 1,75	93,14 ± 0,38	91,37 ± 0,96
Glikoz	99,78 ± 1,54	100,44 ± 1,25	100,33 ± 1,09
Bakır (II)	99,37 ± 0,79	93,78 ± 0,30	86,77 ± 1,54
Potasyum (I)	100,24 ± 0,64	99,92 ± 0,14	99,52 ± 0,48
Sodyum (I)	101,74 ± 0,70	98,86 ± 0,66	98,68 ± 1,83
Demir (III)	99,83 ± 1,04	99,17 ± 1,88	97,82 ± 0,29

1, 5, 10 mg/L girişimci türler yanında 1 mg/L vardenafilin tayini (n=3)

Vardenafilin ve girişimi incelenen türlerin kütlece derişimleri eşit alındığında yani her iki tür 1 mg/L olduğunda, hem SWSV hemde DPSV ile NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde yapılan tayinlerde girişim etkisi % 2 tolerans sınırı içerisinde değerlendirilebilir. 1 mg/L vardenafilin 5 mg/L derişimdeki girişimi incelenen türlerin yanında tayini yapıldığında, askorbik asit, glikoz ve ürik asit her iki yöntemle % 5 tolerans sınırında, dopamin ve glikoz % 10 tolerans sınırında girişim etkisine neden olmaktadır. Askorbik asit vardenafilin kütlece 10 katı olduğu halde (1 mg/L vardenafil ve 10 mg/L askorbik asit), vardenafil tayinine girişim etkisi % 10 tolerans sınırında değerlendirilebilir. En az girişim etkisini glikoz göstermiştir. Glikoz vardenafilin elektroaktif olduğu bölgede herhangi bir pik vermemektedir ve çözelti içerisinde de vardenafil ile herhangi bir etkileşime girmediği anlaşılmaktadır. 1 mg/L vardenafil 10 mg/L glikoz varlığında % 1 bağıl hata aralığında her iki yöntemle vardenafil tayin edilebilmektedir. Girişim etkisinin incelenmesiyle NH₂-MWCNT/ZnO/grafit modifiye elektrodu kullanılarak SWSV ve

DPSV teknikleriyle yapılan vardenafil tayininin seçiciliğinin ve doğruluğunun iyi olduğu anlaşılmaktadır.

4.2.7. Vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot üzerinde yükseltgenme mekanizmasının aydınlatılması

Voltametrik yöntemlerde aktarılan elektron sayısının bulunmasında potansiyel tarama hızı en önemli parametredir. Bu çalışmada vardenafilin NH₂-MWCNT/ZnO/grafit modifiye elektrodu üzerinde farklı potansiyel tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Kaydedilen bu voltamogramlardaki vardenafil pik potansiyelleri (E_p) ile potansiyel tarama hızlarının logaritması (log *v*) grafiğe geçirilmiştir. Pik potansiyeli (E_p) ve tarama hızları (V/s) arasında aşağıdaki doğrusal bağıntı elde edilmiştir.

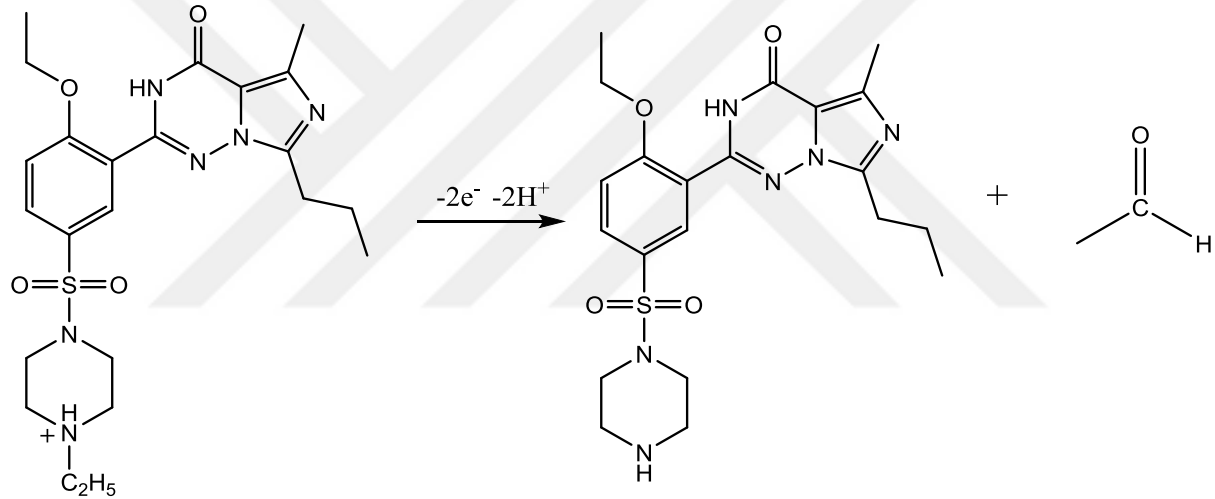
$$E_p \text{ (V)} = 0,049 \log v \text{ (V/s)} + 1,415 \quad (r = 0,9989)$$

Vardenafilin elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı aşağıdaki eşitlikten faydalanılarak hesaplanmıştır (Laviron, 1979).

$$E_p = E^0 + \left(\frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log \left(\frac{RTk^0}{\alpha nF} \right) + \left(\frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log v$$

Bu eşitlikte yer alan *F* faraday sabitini (96480 c/mol), *T* sıcaklığı (K), *R* evrensel gaz sabitini (J/K·mol), *α* elektron transfer katsayısını ve *n* tepkimede aktarılan elektron sayısını göstermektedir. Vardenafilin pik potansiyellerine (E_p) karşı tarama hızı (log *v*) grafiğinin eğimi 0,049 olarak bulunmuştur. Bu değer ilgili eşitlikte yerine yazıldığında *αn* değerleri 1,2 olarak hesaplanmıştır. Tersinmez tepkimeler için *α* değeri 0,5 (Laviron, 1980; Wu ve diğerleri, 2003) olarak kabul edildiğinden, modifiye elektrot üzerinden vardenafilin yükseltgenme tepkimesindeki aktarılan elektron sayısı 2,3 olarak hesaplanmıştır. Bu değer yaklaşık 2 olarak düşünülerek elektrot tepkime mekanizması yazılmıştır. Başka bir deyişle vardenafilin geliştirilen elektrot yüzeyindeki elektrot tepkimesine ait mekanizmada yer alan elektron sayısı *n* ~2 olarak kabul edilmiştir.

Vardenafilin SWSV ve DPSV teknikleriyle farklı pH'larda elde edilen voltamogramlarında her bir birimlik pH değişime karşı birinci yükseltgenme pikinde yaklaşık 50 mV ikincisinde ise 60 mV'luk daha az pozitif potansiyel bölgesine kayma görülmüştür. pH çalışmasında elde edilen yaklaşık 60 mV potansiyel kayması teorik değer olan 59 mV'a çok yakın olduğundan vardenafilin elektro-yükseltgenme tepkimesinde 2 proton yer almalıdır. Ayrıca, daha önce yapılan çalışmalarda vardenafilin ikinci piki için her bir birimlik pH değişimine karşı 60 mV potansiyel kayması gözlenmiş ve önerilen yükseltgenme mekanizmasında 2 protonun yer aldığı gösterilmiştir (Ghoneim ve diğerleri, 2013). Bu gözlem NH₂-MWCNT/ZnO/grafit modifiye karbon pasta elektrotla elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.



Şekil 4.43. Vardenafilin önerilen elektro-yükseltgenme mekanizması (Ghoneim ve diğerleri 2013)

4.3. Fomesafen Herbisitinin Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Pasta Elektrotu ile Voltametrik Tayini

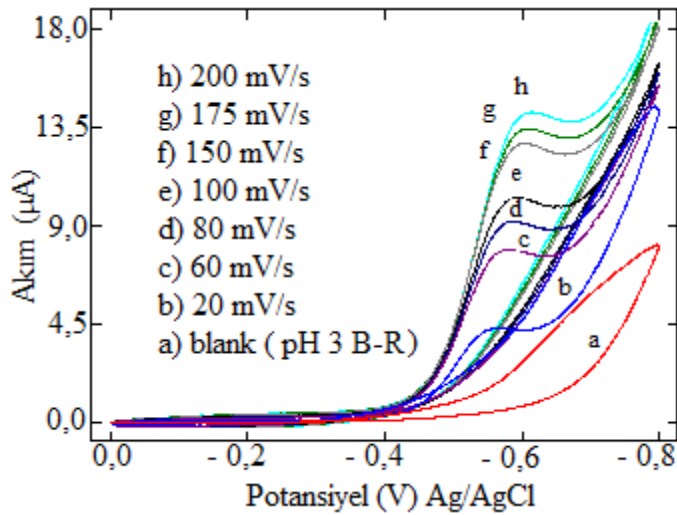
Fomesafenin elektrokimyasal davranışını incelemek için kütlece % 30 mineral yağı ile % 70 çok duvarlı karbon nanotüp pasta (MWCNTP) içeren kompozit elektrot hazırlanmıştır. Hazırlanan MWCNTP elektrodunun yüzey morfolojisi SEM ile görüntülenmiş ve SEM görüntüleri Şekil 4.4'de gösterilmektedir.

Fomesafenin voltametrik davranışları hazırlanan çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPPE) üzerinde kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ve dönüşümlü (CV) voltametri ile incelenmiştir. Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak fomesafen zirai

ilacının indirgenme ya da yükseltgenme davranışları MWCNTP elektrodu üzerinde incelenmiştir. Uygun destek elektrolit ve pH'nın belirlenmesi için pH 1 ile 10 arasındaki tampon çözeltilerde fomesafenin pik akımları ve pik potansiyelleri kaydedilmiştir. Fomesafen için geliştirilen voltametrik yöntemin (SWSV) biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyeli (E_b), frekansı (f), basamak potansiyeli (ΔE) gibi parametrelerinin optimizasyonu yapılmıştır. Optimize edilen şartlar altında fomesafenin tayini için kalibrasyon grafiği çizilmiş, çalışma aralığı ve tayin sınırı belirlenmiştir. Geliştirilen elektroanalitik yöntemle Mogan göl suyu ve ticari meyve suları gibi gerçek numunelerde analitik uygulamalar yapılmıştır. Ayrıca girişim yapabilecek metal iyonları ve farklı tür pestisitlerin girişim etkileri de incelenmiş ve fomesafen tayininde geri kazanımlar hesaplanmıştır. Son olarak fomesafen herbisidinin nano yapılı MWCNTP elektrotu üzerindeki indirgenme pikine ait indirgenme mekanizması önerilmeye çalışılmıştır.

4.3.1. Fomesafen herbisidinin dönüşümlü voltametri ile incelenmesi

Bu çalışmada 50 mg/L fomesafen herbisidinin elektrokimyasal davranışı ve elektrot tepkimesi nano yapılı MWCNTP elektrodu üzerindeki dönüşümlü voltametri (CV) ile incelenmiştir. Bu amaçla 50 mg/L fomesafenin pH 3,0 B-R tamponunda farklı tarama hızlarına karşı dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Fomesafenin dönüşümlü voltamogramlarının alınabilmesi için 0 mV'dan başlanarak -800 mV'a kadar önce negatif yönde bir potansiyel taraması ve daha sonrada -800 mV'dan başlayarak 0 mV'a kadar pozitif yönde bir potansiyel taraması yapılmıştır. Şekil 4.4'de görüldüğü gibi, negatif yöndeki potansiyel taramasında -540 mV'da tek bir katodik pik elde edilmiştir. Pozitif yöndeki potansiyel taramasında ise herhangi bir anodik pik gözlenmemiştir. Elektrot tepkimesinin karakterizasyonu için 20 ile 200 mV/s arasındaki potansiyel tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar (CV) kaydedilmiştir.



Şekil 4.44. 50,0 mg/L fomesafenin MWCNT/PE elektrot üzerinde farklı potansiyel tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları (pH 3,0 B-R tamponunda)

Dönüşümlü voltametri ile yapılan çalışmalarda, potansiyel tarama hızının (v) fomesafenin pik potansiyeline (E_p) etkisinin incelemek amacıyla 20 – 200 mV/s arasındaki tarama hızlarında voltamogramlar kaydedilmiştir. Değişik tarama hızlarının pik potansiyeline etkisini veren eşitlik aşağıdaki eşitlikte verilmiştir.

$$E_p \text{ (V)} = -0,031 \log v \text{ (V/s)} - 0,622 \quad (r = 0,9708; 20 - 200 \text{ mV/s})$$

Şekil 4.44'deki fomesafenin dönüşümlü voltamogramlarına bakıldığında, pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında herhangi bir anodik pik gözlenmemiştir. Ayrıca tarama hızı arttıkça pik potansiyelleri daha negatif değerlere kaymıştır. Fomesafenin bu voltametrik davranışı indirgenme tepkimesinin tersinmez olduğunu göstermektedir.

Dönüşümlü voltametri (CV) ile yapılan çalışmalarda pik akımı (i_p) ile tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasındaki eşitliğin eğimi elektrot tepkimesinin difüzyon ya da adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı hakkında bilgi verir. Fomesafenin pik akımı (i_p) ile tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasındaki bağıntının doğrusallığı elektroaktif türün elektrot yüzeyine taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

$$i_p \text{ (}\mu\text{A)} = 0,764 v^{1/2} \text{ (V/s)} + 0,294 \quad (r = 0,9875)$$

Potansiyel tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğimi 0,5 olduğunda elektrot tepkimesinin difüzyon kontrollü olduğu 1 olduğunda ise adsorpsiyon kontrollü olduğu bilinmektedir (Laviron ve diğerleri, 1980). Fomesafenin tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$) grafiğe geçildiğinde elde edilen doğru denklemi aşağıda ifade edildiği gibidir.

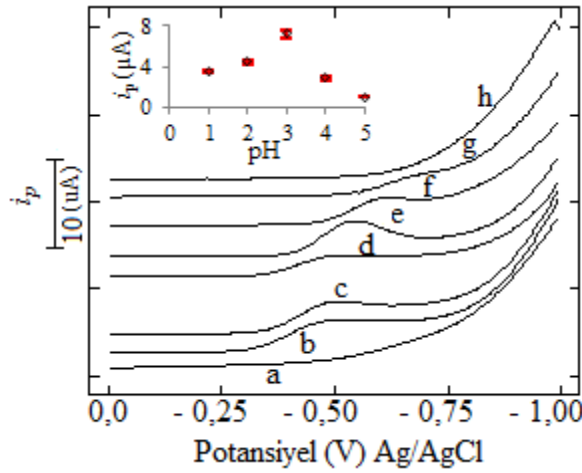
$$\log (i_p) = 0,463 \log v \text{ (V/s)} + 1,361 \quad (r = 0,9795)$$

Dönüşümlü voltametri (CV) ile yapılan çalışmada fomesafenin potansiyel tarama hızının logaritmasına ($\log v$) karşı pik akımının logaritması ($\log i_p$) grafiğinin eğimi 0,463 olarak bulunmuştur. Elde edilen deneysel değer, teorik değer olan 0,5'e oldukça yakın olması fomesafenin elektrot tepkimesinin difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

4.3.2. Fomesafen herbisidinin kare dalga sıyırma voltametri ile tayini

Fomesafen herbisidinin voltametrik davranışının incelenmesi ve analitik tayini için kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) tekniği kullanılmıştır. Fomesafenin voltametrik davranışı nano yapılı MWCNTPE elektrodu üzerinde geniş bir pH aralığında incelenmiştir. pH 1,0 – 2,0 için 0,1 ve 0,01 M H₂SO₄ çözeltisi, pH 3,0 – 10,0 çözeltileri için ise B–R tampon çözeltileri kullanılmıştır. Fomesafenin SWS voltamogramları 0 mV'dan başlanarak negatif yönde –1000 mV'a kadar yapılan potansiyel taraması ile elde edilmiştir.

SWS voltametri ile 5 mg/L fomesafenin pH 1 ile 10 arasında voltamogramları elde edilmiş ve pH 1,0 ile 5,0 arasında yaklaşık –500 mV'da tek bir indirgenme piki gözlenmiştir. SWSV ile nano yapılı MWCNTPE modifiye karbon elektrot üzerinde farklı pH'larda elde edilen SWS voltamogramları Şekil 4.45'de görülmektedir.

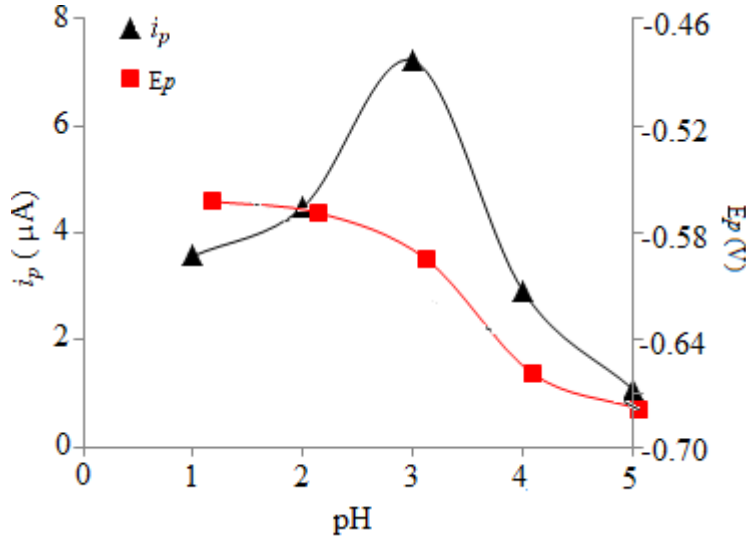


Şekil 4.45. 5,0 mg/L fomesafenin MWCNTPE elektrotla farklı pH'lardaki SWS voltamogramları (a) Blank b) 0,1 M H₂SO₄ c) 0,01 M H₂SO₄ d) pH 2,0 B-R tamponu e) pH 3,0 B-R tamponu f) pH 4,0 B-R tamponu g) pH 5,0 B-R tamponu h) pH 6,0 B-R tamponu, ($E_b=0$ mV, $t_b=60$ s, $f=100$ Hz, $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E=0$ mV)

SWSV tekniği ile yapılan pH taraması sonucunda elde edilen verilerden pH'ya karşı pik potansiyelleri (E_p) grafiği oluşturuldu (Şekil 4.46). Artan pH ile fomesafenin pik potansiyeli (E_p) negatif yöne kaymıştır. Her bir birimlik pH değişimine karşı fomesafenin indirgenme piki 40 mV daha negatif yönde kaymıştır. Bu gözlem fomesafenin indirgenmesinin asidik bölgelerde daha kolay olduğunu bazik pH'lara gidildikçe indirgenmenin zorlaştığını göstermektedir. pH ile pik potansiyellerinin negatif yönde değişimi fomesafenin elektrot tepkimesi mekanizması için öngörülen indirgenme tepkimesinde hidrojen iyonunun da yer aldığı bilgisini vermektedir.

$$E_p \text{ (mV)} = -40,0 \text{ pH} - 446 \text{ (mV)} \quad (r=0,9611)$$

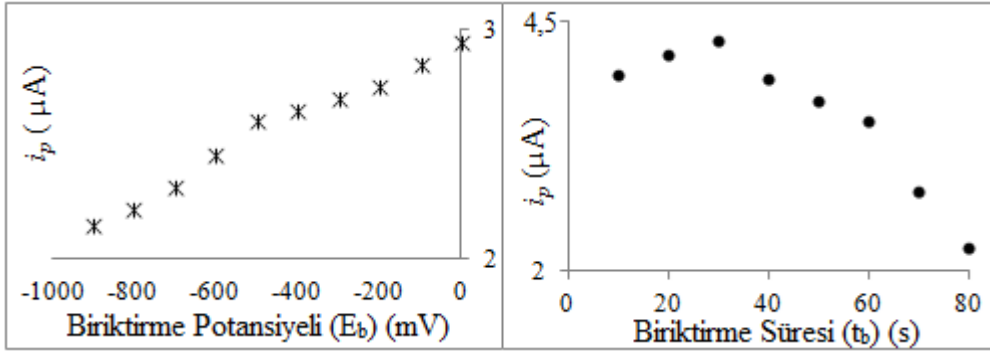
pH taraması sonucunda, fomesafenin indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu anlaşılmıştır. pH arttıkça, fomesafenin indirgenme pik potansiyeli daha negatif potansiyellere kaymıştır. Fomesafenin pik akım yüksekliği ise pH 3,0'e kadar artmış daha yüksek pH'larda azalmıştır. pH 5,0'ten sonra fomesafene ait herhangi bir pik gözlenmemiştir. Bazik pH'larda fomesafen MWCNTPE elektrot üzerinde indirgenme piki vermemektedir. Optimum pH ve destek elektrolit olarak ise en keskin, düzgün ve duyarlı pik akımının elde edildiği pH 3 B-R tamponu ortamı seçilmiştir.



Şekil 4.46. 5,0 mg/L fomesafenin MWCNTP elektrot üzerinde SWSV ile tayininde pik potansiyeline ve pik akımına pH'nın etkisi (■ pik potansiyeli (E_p) ▲ pik akımı (I_p))

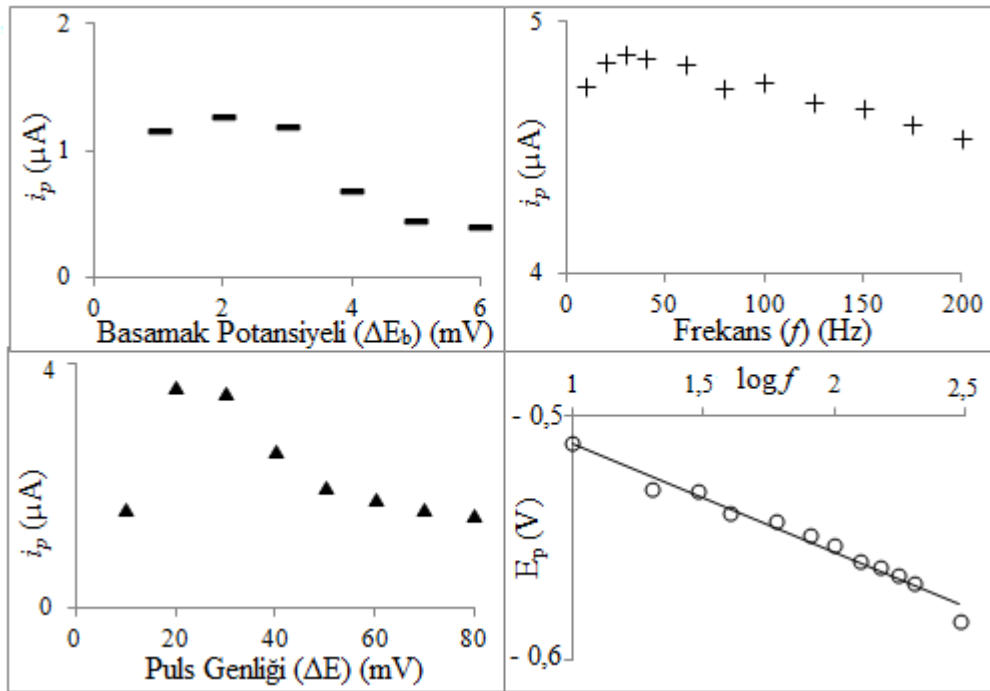
pH 3,0 B–R tamponunda, kare dalga sıyırma voltammetri (SWSV) tekniği kullanılarak MWCNTP elektrot üzerinde fomesafenin kantitatif tayini için çalışmalar yapılmıştır. Öncelikle SWSV ile yapılan tayinlerde pik potansiyeli ve pik akımına önemli ölçüde etki eden biriktirme süresi (t_b), biriktirme potansiyeli (E_b), frekans (f), puls genliği (ΔE), ve basamak potansiyeli (ΔE_b) gibi parametrelerin optimizasyonu yapılmıştır.

İlk olarak pH 3,0 B–R tampon içerisinde 5,0 mg/L fomesafenin değişik biriktirme potansiyelleri ve biriktirme sürelerinde SWS voltamogramları kaydedilmiştir. 0 mV ile –900 mV arasında biriktirme potansiyelleri uygulanmıştır. Şekil 4.47'de görüldüğü gibi 0 mV'da en yüksek pik akımı elde edilmiş –900 mV'a gidildikçe pik akımı sürekli olarak azalmıştır. En yüksek pik akımı değerinin elde edildiği biriktirme potansiyeli 0 mV olarak belirlendikten sonra biriktirme süresinin optimizasyonuna geçilmiştir. Biriktirme süresi için uygulanan 0 mV sabit biriktirme potansiyelinde 10 s ile 80 s aralığındaki zaman dilimlerinde biriktirme yapılmıştır. En yüksek pik akımın elde edildiği 30 s optimum biriktirme süresi olarak seçilmiştir (Şekil 4. 47).



Şekil 4.47. 5,0 mg/L fomesafenin MWCNTP elektrodu üzerinde SWSV ile tayininde biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresinin etkisi

Fomesafenin SWS voltametri ile tayininde frekans (f), basamak potansiyeli (ΔE_b) ve puls genliği (ΔE) gibi parametrelerinin optimizasyonuna geçilmiştir. 5 mg/L fomesafenin tayininde frekans için 20 Hz ile 200 Hz aralığında, basamak potansiyelin için 1 mV ile 6 mV aralığında, puls genliğinin için ise 10 mV ile 80 mV aralığındaki belirli noktalarda SWS voltamogramları alınmıştır. Optimum frekans, basamak potansiyeli ve puls genliği sırasıyla 30 Hz, 3 mV ve 30 mV seçilmiş (Şekil 4.48) ve ayrıca tüm optimizasyon parametreleri Çizelge 4.18'de özetlenmiştir.

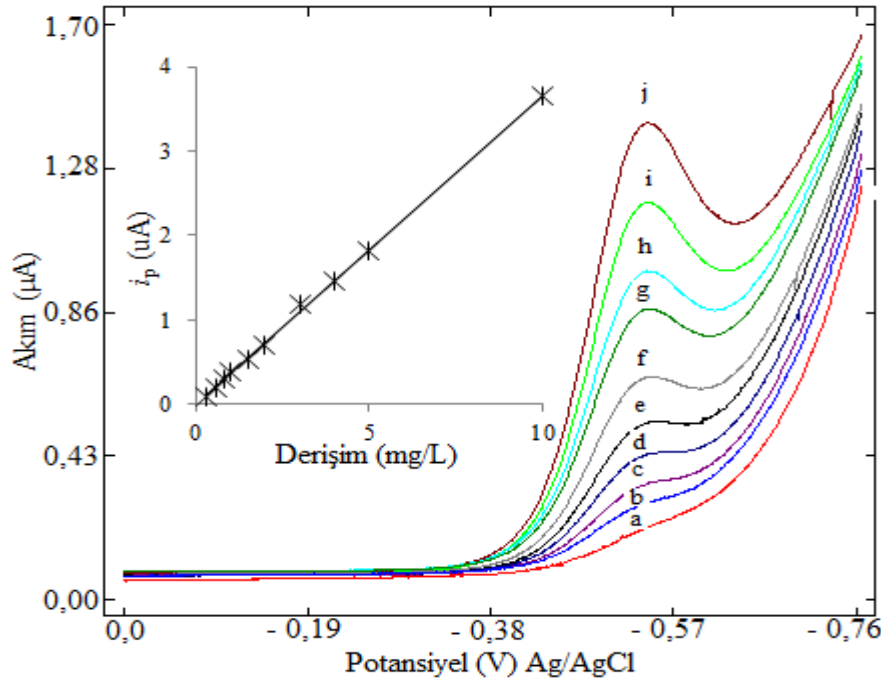


Şekil 4.48. 5,0 mg/L fomesafenin SWSV ile MWCNTP elektrodu üzerinde tayininde frekans (f), basamak potansiyeli (ΔE_b) ve puls genliğinin (ΔE) optimizasyonu

Çizelge 4.18. Fomesafenin SWSV ile tayininde optimum deney koşulları

Parametreler (Birim)	Optimum Değerler
Biriktirme potansiyeli (mV)	0
Biriktirme süresi (s)	30
Frekans (Hz)	30
Pulse genliği (mV)	20
Basamak potansiyeli (mV)	3
Destek elektrolit	pH 3 B–R Tamponu
Pik potansiyeli (mV)	–540

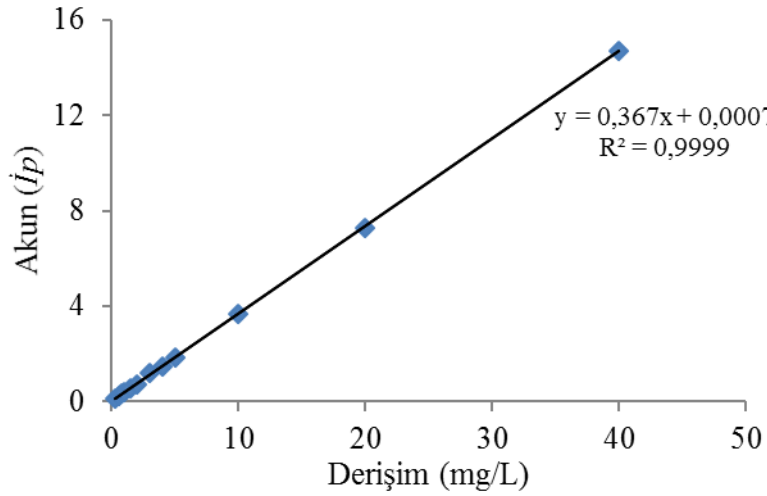
Fomesafenin tayini için en iyi deney koşulları belirlendikten sonra bu koşullarda kalibrasyon grafiğinin hazırlanması için çalışmalar yapılmıştır. 10,0 mL pH 3,0 B–R tamponuna 500 mg/L fomesafen stok çözeltisinden μL düzeyindeki hacimlerde ilaveler yapılmış ve SWS voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 4.49’da fomesafenin farklı derişimlerdeki kare dalga sıyırma (SWS) voltamogramları görülmektedir.



Şekil 4.49. Fomesafenin SWSV ile MWCNTP elektrodu üzerindeki tayini için kalibrasyon grafiği (a) 10 mL pH 3,0 B–R tamponu b) 1,0 mg/L fomesafen c) 2,0 mg/L fomesafen d) 3,0 mg/L fomesafen e) 4,0 mg/L fomesafen f) 6,0 mg/L fomesafen g) 8,0 mg/L fomesafen h) 10,0 mg/L fomesafen i) 15,0 mg/L fomesafen j) 20,0 mg/L fomesafen, $E_b=0$ mV, $t_b=30$ s, $f=30$ Hz, $\Delta E_s=8$ mV, $\Delta E=20$ mV)

MWCNTP elektrot kullanılarak SWS voltamogramlarından elde edilen pik akımı (i_p) değerleri derişime (mg/L) karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.50). Pik akımı ile fomesafen derişimi arasında 0,30 – 40,0 mg/L aralığında doğrusal bir eşitlik elde edilmiştir.

$$I_p (\mu A) = 0,367 C (\text{mg/L}) + 0,001 \quad (r = 0,9999)$$



Şekil 4.50. Fomesafenin MWCNTP elektrodu üzerinde SWS voltametriyle tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği

SWS voltametri ile Çizelge 4.18'deki optimum koşullar kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğine ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri Çizelge 4.19'da özetlenmiştir. Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri sırasıyla 0,089 mg/L ve 0,297 mg/L olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı $LOD = 3S_b/m$ ve $LOQ = 10S_b/m$ eşitlikleri kullanılarak hesaplanmıştır (Miller ve Miller, 1988; Özkan, 2012). Burada S_b fomesafenin pik akımının standart sapmasını ($n=9$), m ise kalibrasyon grafiğinin eğimini göstermektedir.

Çizelge 4.19. Fomesafenin SWSV yöntemi ile tayininde regresyon analizi ve validasyon parametreleri (pH 3,0 B-R tamponu)

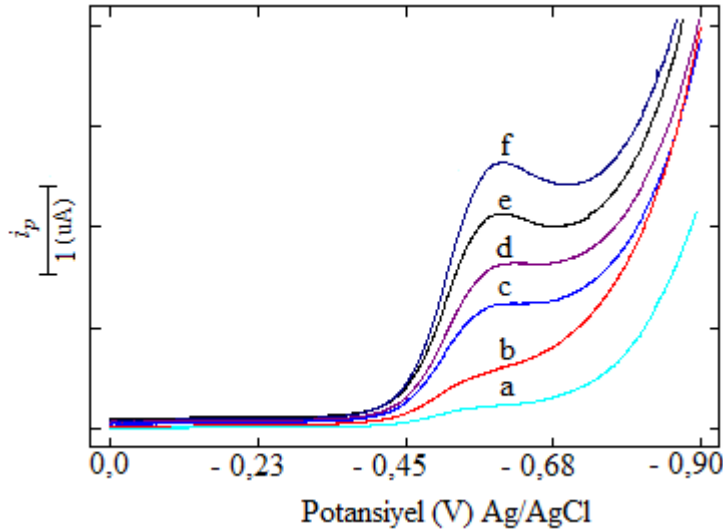
Parametreler	SWSV
Pik Potansiyel (mV)	-540
Doğrusal aralık ($\mu\text{g/mL}$)	0,3 – 40,0
Eğim ($\mu\text{A}\cdot\text{mL}/\mu\text{g}$)	0,367
Eğimin standart sapması ($\mu\text{A}\cdot\text{mL}/\mu\text{g}$)	0,001
Kesim noktası (μA)	0,001
Kesim noktasının standart sapması (μA)	0,013
Korelasyon katsayısı	0,9999
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	0,089 ^a
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	0,297 ^a
Pik potansiyelinin gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	1,36
Pik akımının gün içi tekrarlanabilirliği (% BSS) ^a	3,93

^an=10

4.3.3. Doğal numunelerde fomesafen tayini ve % geri kazanım

Geliştirilen karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) kullanılarak kare dalga sıyırma voltametri (SWSV) ile Mogan gölü ve ticari meyve sularında fomesafen herbisitinin tayinleri yapılmış ve sonuçlar % geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Mogan gölü suyundan alınan 9,0 mL'lik numuneye 1,0 mL pH 3,0 B-R tamponu ilavesinden sonra SWS voltamogramları alınmış ve fomesafene ait bir pike rastlanmamıştır. Daha sonra 9,0 mL Mogan gölü suyu ve 1,0 mL pH 3,0 B-R tamponu içeren numunelere 0,1 mL 500 mg/L fomesafen stok çözeltisinden ilave edilerek 5,0 mg/L fomesafen katkılı gölsuyu numuneleri hazırlanmış ve fomesafen stok çözeltisinde standart ilaveler yapılarak SWS voltamogramları alınmıştır. Aynı şekilde hazırlanan ticari meyve suyu sularında da

kantitatif tayinler yapılmıştır (Şekil 4.51). Elde edilen sonuçlar % 95 güven seviyesi ile hesaplanmış ve % geri kazanımlarla birlikte Çizelge 4.20’de özetlenmiştir.



Şekil 4.51. Fomesafen katkılı ticari kayısı suyunda MWCNTPE kullanılarak SWSV ile Fomesafen tayini (a)10 ml pH 3,0 B–R tamponu b) kayısı suyu numunesi c) b + 2,5 mg/L fomesafen katkılı kayısı d) c + 2,5 mg/L fomesafen katkılı kayısı e) d + 2,5 mg/L fomesafen f) e + 2,5 mg/L fomesafen ($E_b = 0$ mV, $t_b = 30$ s, $f = 30$ Hz, $\Delta E_s = 8$ mV, $\Delta E = 20$ mV)

Çizelge 4.20. Fomesafen ilaveli numunelerde SWS voltametriyle fomesafen tayini ve % geri kazanım

Fomesafen*	Kayısı Suyu $\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$	Vişne Suyu $\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$	Göl Suyu $\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$
Eklenen (mg/L)	5,0	5,0	5,0
Bulunan (mg/L \pm mg/L)	4,79 \pm 0,35	4,86 \pm 0,45	4,91 \pm 0,28
% Geri kazanım	95,80	97,20	98,20
% BSS	2,92	3,70	2,24
% Bağlı Hata	-4,2	-2,8	-1,8

*N = 3 and t = % 95 güven seviyesi

Doğal numunelerindeki matriks ortamından fomesafenin yüksek % geri kazanım, düşük bağlı hata ve düşük bağlı standart sapma ile tayinleri yöntemin doğruluğunun ve kesinliğinin iyi olduğunu göstermektedir.

4.3.4. SWS voltametri ile fomesafen tayinine başka türlerin girişim etkileri

Fomesafenin doğal numunelerde tayini için geliştirilen SWSV yöntemin seçiciliğini anlamak için, bazı metal iyonlarının ve indirgenme yönünde elektroaktif olan zirai ilaçların (Şekil 4.53) varlığında çalışmalar yapılmıştır. Fomesafen tayinine diğer türlerin girişim etkilerinin incelenmesinde, girişimi incelenen türler kütlece 1:1, 1:2 ve 1:3 gibi değişik oranlarda alınmış ve bunların varlığında fomesafen tayini geliştirilen modifiye karbon elektrotla SWSV ile yapılmıştır. Sonuçlar fomesafenin diğer türler yanındaki % geri kazanımı olarak hesaplanmıştır. Yüzde geri kazanımlar, girişimi incelenen türler olmadığından 5,0 mg/L fomesafenin pik akımının, girişimi incelenen türler olduğunda kaydedilen pik akımına oranı esas alınarak hesaplanmıştır. Girişim etkisi incelenen diğer pestisitlerin ve metal iyonlarının varlığında elde edilen % geri kazanımlar Çizelge 4.21'de verilmiştir.

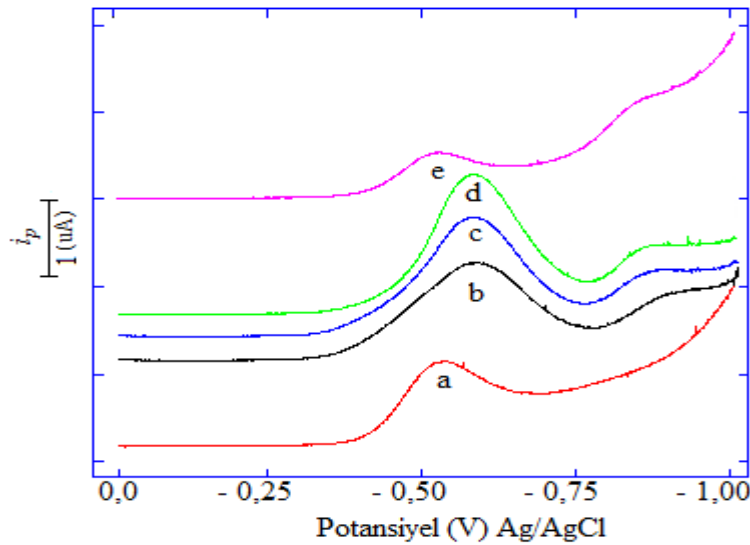
Çizelge 4.21. 5,0 mg/L fomesafenin SWS voltametri ile tayinine bazı iyonların ve pestisitlerin girişim etkileri

Girişimi incelenen Türler	% Geri kazanım ($x \pm s$) Fomesafenin diğer türlere oranı (m/m)*		
	1:1 (m/m)	1:2 (m/m)	1:3 (m/m)
Anilazin	103,7 \pm 0,9	119,5 \pm 0,9	123,2 \pm 0,6
Pimetrozin	94,3 \pm 0,4	95,2 \pm 0,2	96,5 \pm 0,5
Triflumizol	97,9 \pm 0,5	100,6 \pm 0,7	105,2 \pm 0,6
Kobalt (III)	104,7 \pm 0,7	113,3 \pm 0,6	121,5 \pm 0,8
Kurşun (II)	125,3 \pm 0,6	162,5 \pm 0,5	198,8 \pm 0,3
Magnezyum (II)	101,0 \pm 0,6	102,7 \pm 0,9	104,9 \pm 0,8
Nikel (II)	100,2 \pm 0,6	100,1 \pm 0,5	102,2 \pm 0,6

*N=3. 5 mg/L fomesafen yanında 5, 10, 15 mg/L derişimlerdeki girişimi incelenen türler. ($E_b = 0$ mV, $t_b = 30$ s, $f = 30$ Hz, $\Delta E_s = 8$ mV, $\Delta E = 20$ mV, pH 3 B-R tamponu)

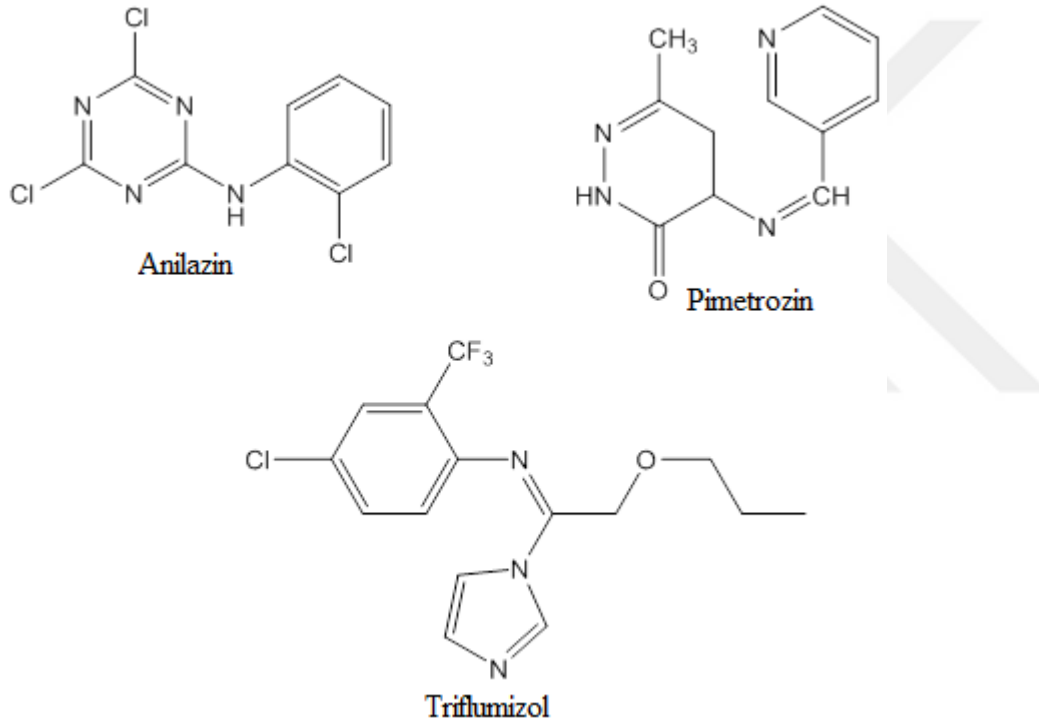
Co (II), Ni (II), Pb (II) ve Mg (II) iyonlarının fomesafen tayinine girişim etkileri MWCNTPE elektrodu üzerinde SWSV tekniğiyle incelenmiştir. 15 mg/L Mg (II) ve Ni (II)'in fomesafen tayininin % 5 tolerans limitinde önemli bir girişim etkisi göstermediği gözlenmiştir. Girişim etkisi denenen iyonlar arasında sadece Pb (II) iyonunun fomesafen tayininde girişim etkisi oldukça büyüktür. Bunun nedeni Pb (II) iyonunun indirgenme

potansiyelinin(-700 mV) fomesafenin indirgenme potansiyeline (-540 mV) çok yakın bir yerde olmasıdır. Şekil 4.52'deki *a* voltamogramında görüldüğü gibi girişimi incelenen iyonlar olmadan 5 mg/L fomesafene ait -540 mV bir indirgenme piki gözlenmiştir. Bunun üzerine 5 mg/L Pb (II) ilave elde edildiğinde -540 mV'da ve -750 mV'da iki pik elde edilmiştir. Şekil 4.52'deki *b* voltamogramında görüldüğü gibi fomesafene ait -540 mV'daki pik yüksekliği % 25,3 artış görülmektedir. Kurşun derişimi kütlece 1:2 olduğunda fomesafenin % 62,5 artmış görünüyor. Fomesafen/Pb (II) iyon oranı kütlece 1:3 olduğunda (5 mg/L fomesafen/15 mg/L Pb (II)) fomesafenin -540 mV'daki pik yüksekliği yaklaşık olarak % 100 artmıştır. Pb (II) iyonun EDTA ile oluşturduğu kompleks sayesinde girişim etkisinin bertaraf edilebileceği düşünülmüştür. 5 mg/L fomesafen ve 15 mg/L Pb (II) içeren çözeltilerde her iki türün pik potansiyellerinin kısmen örtüşmesinden kaynaklanan girişim etkisi ortama aşırı EDTA çözeltisi ilavesiyle Pb(II) komplekse alınarak giderilmiştir. Fomesafen gibi gözükken ancak fomesafen ile birlikte Pb(II) iyonunuda barındırdığından daha negatif bir potansiyelde yayvan bir pik olarak yer alan Şekil 4.52'deki *d* voltamogramı, EDTA ilavesiyle ikiye ayrılarak fomesafen ve Pb(II)-EDTA pikleri ortaya çıkmıştır (Şekil 4.52'deki *e* voltamogramı). EDTA ilavesinden sonra Pb(II) piki Pb(II)-EDTA piki olarak oldukça negatif potansiyellere kaydığından, fomesafen piki -540 mV'da tekrar yerini almış ve *e* voltamogramı üzerinden standart fomesafen ilaveleriyle bu pestisitinin tayinleri yapılabilmektedir.



Şekil 4.52. Fomesafenin tayininde Pb (II) girişim etkisinin EDTA ile giderilmesi (a) 5mg /L fomesafen b) a + 5 mg/L Pb (II) c) b + 5mg/L Pb (II) d) c + 5 mg/L Pb (II) e) d + aşırı EDTA ($E_b= 0$ mV, $t_b= 30$ s, $f= 30$ Hz, $\Delta E_s= 8$ mV, $\Delta E= 20$ mV, pH 3 B-R tamponu)

Ayrıca 5 mg/L fomesafen tayinine, anilazin (–600 mV), pymetrozine ve triflumizol (–800 mV) gibi diğer pestisitlerin girişim etkileri de incelenmiştir. Bu pestisitlerin girişim etkilerinin inceleme nedeni indirgenme yönünde pik vermeleridir. Girişimleri denenen bu zirai ilaç etken maddeleri arasında, anilazinin indirgenme piki ile fomesafenin piki örtüşmektedir. 5 mg/L fomesafenin yanında anilazin kütleye 1:1 olduğunda fomesafenin pik yüksekliğinde önemli bir girişim etkisi gözlenmemiştir. Fakat bu oran 1:2 ve 1:3 iken anilazinin fomesafen pik yüksekliğine girişim etkisi % 19,5 ve % 23,2 bulunmuştur. 5 mg/L fomesafenin 5, 10 ve 15 mg/L pymetrozine ve triflumizol varlığında % \pm 5 bağıl hata ile tayin edilebileceği anlaşılmaktadır.

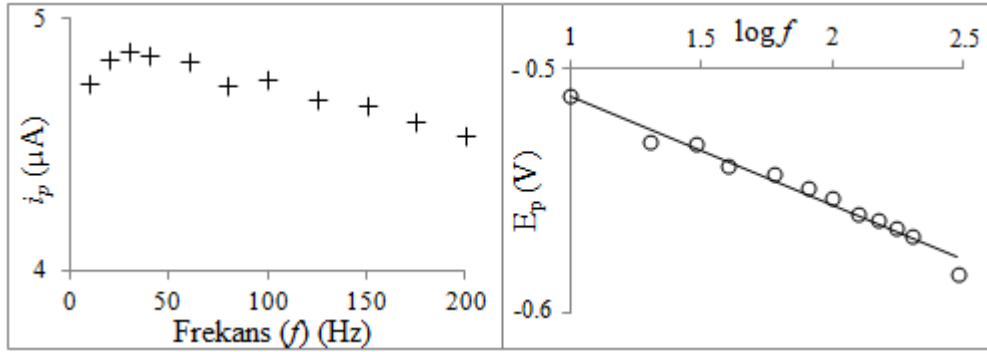


Şekil 4.53. 5 mg/L fomesafenin SWSV ile tayininde girişim etkileri incelenen diğer pestisitler

4.3.5. Fomesafen herbisidinin MWCNTP elektrot üzerindeki indirgenme mekanizmasının aydınlatılması

Kare dalga sıyırma voltametrisinde (SWSV) uygulanan frekans pik potansiyelleri üzerinde etkilidir. 5 mg/L fomesafenin farklı frekanslarda kaydedilen SWS voltamogramlarından faydalanılarak, pik potansiyellerine (E_p) karşı frekansın logaritması ($\log f$) grafiğe geçirilmiştir. Pik potansiyelleri ile frekans arasındaki doğrusal bağıntı aşağıdaki eşitlikte verildiği gibidir.

$$E_p(\text{mV}) = -33,0 \log f(\text{Hz}) - 487(\text{mV}) \quad (r = 0,9762)$$



Şekil 4.54. (a) 5,0 mg/L fomesafenin pik akımının frekans (f) ile değişimi. (b) 5,0 mg/L fomesafenin pik potansiyelinin frekans (f) ile değişimi. (pH 3 B-R tamponu)

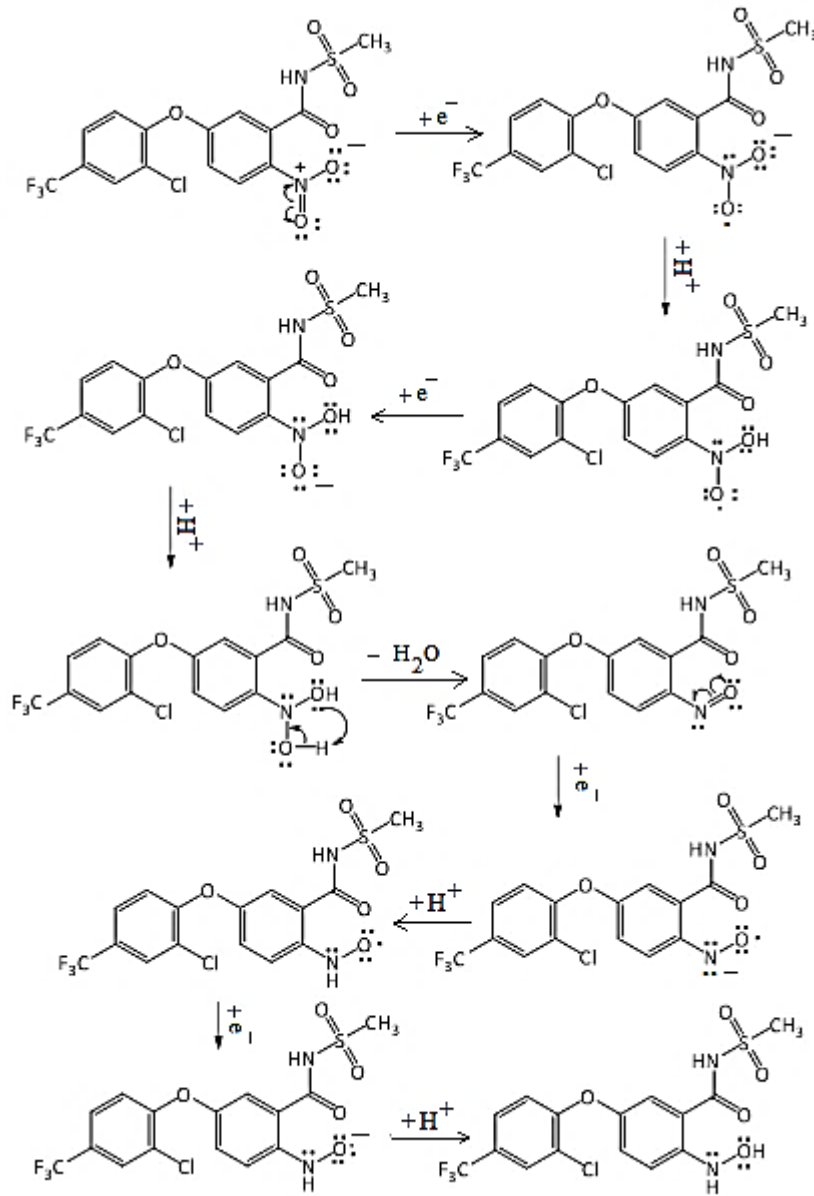
Fomesafenin elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı Lovric ve Komorsky Lovric eşitliğinden yararlanarak hesaplanabilir (Lovric ve Komorsky Lovric, 1988).

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = \frac{2.3RT}{\alpha nF}$$

Lovric ve Komorsky eşitliğinde yer alan $\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f}$ Şekil 4.54 (b)'deki $\log f$ 'ye karşı E_p

grafığının eğimini, F faraday sabitini (96485 C/mol), T kelvin cinsinden sıcaklığı (298 K), R evrensel gaz sabitini (0,082 atm·L/molK), α elektron transfer katsayısını ve n ise tepkimede aktarılan elektron sayısını göstermektedir. $E_p - \log f$ grafiğinin eğimi 0,033 V olarak bulunmuştur. İlgili eşitlikler yerine yazıldığında αn değeri 1,79 olarak hesaplanmıştır. Tersinmez tepkimeler için α değeri 0,5 olarak kabul edildiğinden (Laviron ve ark., 1980; Wu ve ark., 2003), fomesafenin indirgenme tepkimesinde yer alan elektron sayısı (n) 3,58 olarak hesaplanmış olup yaklaşık 4 kabul edilmiştir. SWSV ile kaydedilen fomesafen pik potansiyelleri her bir birimlik pH değişimi ile yaklaşık 40 mV negatife potansiyel yönünde kaymıştır. Bir birimlik pH değişimi ile 40 mV'luk potansiyel kayması fomesafenin indirgenme tepkimesinde H^+ iyonunun eşlik ettiğini göstermektedir.

Fomesafenin kimyasal yapısında yer alan $-NO_2$ grubundan indirgenme olasılığı yüksektir. Kaydedilen dönüşümlü voltamogramlar, pH etkisi, frekans etkisi ve literatürde verilen aromatik nitro bileşiklerinin elektrot tepkimeleri (Kotoucek ve Opraviola, 2006; Zuman, 1997) doğrultusunda MWCNTP elektrodu üzerinde fomesafenin elektrot tepkimesi için aşağıdaki indirgenme mekanizması (Şekil 4.55) önerilmiştir.



Şekil 4.55. Fomesafenin MWCNTP elektrot üzerinde önerilen elektro-indirgenme mekanizması

Fomesafen için önerilen elektrot tepkimesi mekanizmasında, benzen halkasına bağlı $-\text{NO}_2$ grubu bir elektron alarak molekül anyonik radikal haline gelir. Yüksek elektron yoğunluğundan dolayı negatif uçlu oksijen asidik ortamda protonlanır. Radikalik yapı tekrar bir elektron alarak negatif yüklü anyonik yapı oluşmaktadır. Bu yapı bir proton daha alarak $-\text{NO}_2$ grubu üzerinde iki adet $-\text{OH}$ grubu bulunan kararsız bir moleküle dönüşür. Bu kararsız yapıdan bir iç düzenlenmeyle su çıkarak molekül nitroso bileşiğine dönüşür. Bundan sonra 2 elektron ve 2 H^+ daha alarak hidorksil amin grubuna kadar indirgenir. Buraya kadar toplam olarak indirgenmede 4 elektron ve 2H^+ yer alır.

5. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında tadalafil, vardenafil ve fomesafenin hazırlanan karbon temelli modifiye elektrotlarla tayinlerine yönelik yeni voltametrik yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler doğal numunelere de uygulanmıştır. Ayrıca bu farmasötik ve tarımsal ilaç etken maddelerin elektrokimyasal davranışları incelenerek elektrot tepkime mekanizmaları da önerilmiştir.

Bir tıbbi ilaç olan tadalafil etken maddesinin elektrokimyasal davranışını araştırmak için çok duvarlı karbon nanotüp pasta (MWCNTPE) ve TiO_2 nanopartiküllerinden modifiye edilmiş TiO_2 -MWCNTPE elektrotları kullanılmıştır. Bu modifiye elektrotların hazırlanmasında optimum TiO_2 nanopartikül miktarını belirlemek için kütlece % 1, 5, 10 ve 20 TiO_2 , % 69, 65, 60 ve 50 çok duvarlı karbon nanotüp ve % 30 mineral yağı içeren farklı kompozit elektrotlar hazırlanmıştır. Hazırlanan farklı kompozit elektrotlar arasında tadalafilin en duyarlı yükseltgenme piki % 5 TiO_2 , % 65 MWCNT tozu ve % 30 mineral yağı içeren karbon temelli modifiye elektrotla elde edilmiştir. Yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotlarla 0,1 M ve 0,01 M H_2SO_4 ile pH 2,0 – 10,0 aralığındaki B-R tamponlarında SWSV tekniği ile tadalafilin yükseltgenme davranışı incelenmiştir. Çalışılan tüm pH değerlerinde tadalafil için anodik yönde bir pik gözlenirken katodik yönde herhangi bir pik gözlenmemiştir.

50 mg/L tadalafilin yükseltgenme pik akımının ve pik potansiyelinin farklı tarama hızlarındaki (20 mV/s – 200 mV/s) değişimi dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile 20 incelenmiştir. pH 3,0 BR tamponu ortamında yapılan potansiyel tarama hızı çalışmaları incelendiğinde $\log i_p - \log v$ doğrusal grafiğinin eğimi yalın elektrot MWCNTPE için 0,43 ve modifiye elektrot TiO_2 -MWCNTPE için ise 0,63 bulunmuştur. Yalın elektrot yani çok duvarlı karbon nano pasta elektrot ile bulunan eğim değerinin teorik değer olan 0,5'a yakın olması tadalafilin elektrot yüzeyine taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu (Laviron ve ark., 1980) modifiye TiO_2 -MWCNTPE elektrotla bulunan $\log i_p - \log v$ grafiğinin eğiminin ise 0,5 ile 1 arasında olması ise elektrot yüzeyine taşınmanın difüzyon-adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Ayrıca pH 3,0 B-R tamponunda potansiyel tarama hızı arttıkça tadalafilin pik potansiyelleri (E_p) ortalama 54

mV daha negatif potansiyel yönünde kaymakta ve bu gözlem elektrot tepkimesinin tersinmez olduğunu göstermektedir.

En uygun destek elektrolit ve pH ortamını bulmak için geliştirilen her iki elektrotla pH 1 – 10 arasında 5 mg/L tadalafilin SWS voltamogramları alınmıştır. Elde edilen $E_p - \text{pH}$ doğrusundan tadalafilin yükseltgenme pik potansiyellerinin pH arttıkça daha az pozitif potansiyellere kaydığı anlaşılmıştır. Yalın MWCNTPE elektrotla her bir birimlik pH değişimine karşı tadalafilin yükseltgenme piki 29,2 mV/pH daha az pozitif yöne kayarken, modifiye $\text{TiO}_2\text{-MWCNTPE}$ elektrotla 36,3 mV/pH daha az pozitif yöne kaymıştır. Bu durum tadalafilin elektrot yüzeyindeki yükseltgenmesinin bazik bölgelerde daha kolay olduğunu asidik pH'lara gidildikçe zorlaştığını göstermektedir. Buna göre tadalafilin elektrot yüzeyindeki yükseltgenme tepkimesinde aktarılan elektronlara protonların da (H^+) eşlik ettiği söylenebilir (Grimshaw, 2000). Başka bir deyişle elektrot tepkimesi proton (H^+) tarafından katalizlenmiştir.

pH 3,0 B-R tamponu içerisinde yapılan potansiyel tarama hızı çalışmalarından faydalanarak tadalafilin elektrokimyasal tepkimesinde transfer edilen elektron sayısı hesaplanmıştır. Bunun için tersinmez tepkimeler için aşağıda verilen $E_p - \log v$ bağıntısından yararlanılmıştır (Laviron, 1979);

$$E_p = E^0 + \left(\frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log \left(\frac{RTk^0}{\alpha nF} \right) + \left(\frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log v$$

Bu eşitlikte k^0 heterojen hız sabiti α elektron transfer katsayısı n aktarılan elektron sayısı v potansiyel tarama hızı (V/s), E^0 formal potansiyel(V), R evrensel gaz sbiti, T sıcaklık (K) ve F faraday sabitidir (96485 C/mol). αn değeri $E_p - \log v$ doğrusunun eğiminden yukarıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanabilmektedir. Yalın MWCNTPE elektrot ve modifiye $\text{TiO}_2\text{-MWCNTPE}$ elektrotla $E_p - \log v$ eğrisinin eğimleri sırasıyla 0,045 ve 0,056 bulunmuştur. Buradan αn değeri 1,16 ve 1,06 olarak hesaplanmıştır. a değeri tersinmez elektrot tepkimelerinde 0,5 olarak kullanılmaktadır. Buradan yola çıkarak tadalafilin elektrot yüzeyindeki yükseltgenme tepkimesinde transfer edilen elektron sayısı her iki elektrotla sırasıyla 2,32 ve 2,12 olarak hesaplanmış ve bu değerler yaklaşık 2 olarak kabul edilmiştir. Ayrıca tadalafilin yükseltgenme mekanizmasını aydınlatmak için tadalafil

molekülün içerdiği indol ve epoksit fonksiyonel gruplarını içeren indol, fluvastatin ve etoposid ile model ilaç çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla 5 mg/L tadalafilin pH 3,0 B–R tampon çözeltisindeki dönüşümlü voltamogramları alınarak aynı pH tampon çözeltisi içerisindeki 5 mg/L indol, fluvastatin ve etoposidin voltamogramları ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen voltamogramlar değerlendirildiğinde indol gruplarının +1000 mV civarında yükseltgenme piki verdiği anlaşıldığından tadalafilin de indol grubu üzerinden yükseltgenebileceği düşünülmüş ve buna göre elektrot tepkimesi mekanizması önerilmiştir.

Tadalafilin yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 –MWCNTPE elektrotlar ile tayini için SWS voltametri tekniği kullanılmıştır. Tadalafilin her iki elektrotla miktar tayininde önceden optimize edilen pH 3,0 B–R tamponu seçilmiştir. Ayrıca kare dalga sıyrma voltametri (SWSV) için önemli parametreler olan biriktirme potansiyeli (E_b), biriktirme süresi (t_b), frekans (f), puls genliği (ΔE) ve basamak potansiyeli (ΔE_b) optimize edilmiştir. Tadalafilin SWS voltametri ile tayini için biriktirme potansiyeli 0 mV, biriktirme süresi 40 s, basamak potansiyeli 4 mV, puls yüksekliği 40 mV ve frekans 200 Hz olarak belirlenmiştir. SWS voltametrisinde optimize edilen parametreler her iki elektrot için de kullanılmıştır. Yalın MWCNTPE ve modifiye TiO_2 –MWCNTPE elektrotlarla tadalafilin yükseltgenme pik potansiyeleri sırasıyla +1016 mV ve +1000 mV bulunmuştur. Modifiye elektrotla tadalafilin daha az pozitif potansiyelde yükseltgenmesi yalın elektroda göre daha fazla katalitik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. pH 3,0 B–R tamponu içerisinde adsorptif kare dalga sıyrma voltametri (AdSWSV) tekniği ile yalın MWCNTPE elektrot kullanılarak biri 3,60 μM – 8,05 μM ve diğeri 12,70 μM – 61,10 μM aralığında olmak üzere iki farklı eğime sahip doğrusallık elde edilmiştir. TiO_2 ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotla (TiO_2 –MWCNTPE) ise sadece 0,27 μM – 15,20 μM aralığında doğrusallık gözlenmiştir. Yalın MWCNTPE elektrotla AdSWSV tekniği kullanılarak tadalafil tayini için elde edilen LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,11 μM ve 3,70 μM 'dır. Modifiye TiO_2 –MWCNTPE elektrotla ise LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,08 μM ve 0,27 μM bulunmuştur. LOD ve LOQ değerlerine bakılarak tadalafil tayininde modifiye elektrodun daha duyarlı olduğu anlaşılmaktadır.

Dopamin, ürik asit, tiyoüre, 2–mercaptobenzimidol bileşiklerinin tadalafil tayini için geliştirilen yöntemin doğruluğunu ve seçiciliğini etkileyip etkilemediğini göstermek için modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO_2 –MWCNTPE) kullanılarak SWS voltametri tekniğiyle çalışmalar yapılmıştır. Girişim etkisi denenilen bu türlerin yanında

tadalafil tayini için % geri kazanımlar hesaplanmıştır. 10 mg/L tadalafilin yanında girişim etkisi denenilen türler kütlece 1:1, 1:2, 1:5 ve 1:10 oranlarında alınarak çalışmalar yapılmıştır. Bu türlerin tadalafil tayinine girişim etkisi % 63,3 – 97,1 aralığında bulunmuştur. Tadalafil varlığında girişim etkisi denenilen dopaminin tadalafil ile eş zamanlı tayini yapılmıştır. 10 mg/L tadalafil yanında 10, 20 ve 50 mg/L dopaminin eş zamanlı tayinleri yapılmıştır. Ca(II), K(I), ve Na(I) gibi bazı katyonların da tadalafil pik akım üzerindeki girişim etkisi incelenmiştir. Bu katyonlar varlığında tadalafil % 80,3 – 100,2 % geri kazanımla tayin edilmiştir.

Tadalafil tayini için geliştirilen yöntem tadalafil içeren Lifta[®] ilaç tabletlerine de uygulanmış ve tablette bulunan diğer bileşenlerin geliştirilen yöntemin doğruluğunu etkileyip etkilemediğini göstermek için % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. SWSV tekniği ile yalın MWCNTPE elektrotlar ve modifiye (TiO₂-MWCNTPE) elektrotlar kullanılarak yapılan tayinlerde tadalafilin geri kazanımı sırasıyla % 99,90 ± 1,5 ve 99,95 ± 2,0 olarak bulunmuştur. Geri kazanım çalışması sonuçlarına göre, geliştirilen voltametrik yöntemin doğruluğunun ve seçiciliğinin iyi olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca yapılan validasyon çalışmalarının sonuçları da değerlendirildiğinde geliştirilen elektrotların SWSV tekniği ile tadalafil tayininde doğru, duyarlı, tekrar edilebilir, seçici ve uygulanabilir sonuçlar verdiği görülmektedir.

Tadalafil için geliştirilen SWS tekniği ile yalın ve modifiye çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotları kullanılarak kan serumunda analitik uygulamalar yapılmıştır. 10 mL kan serumuna ilave edilen 0,5 mg tadalafil için tayinler gerçekleştirilmiş ve yüzde geri kazanımlar hesaplanmıştır. Yalın MWCNTPE elektrot ve modifiye TiO₂-MWCNTPE elektrotları kullanılarak elde edilen SWS voltamogramlarından sırasıyla % 100,4 ± 1,0 ve 100,8 ± 2,3 geri kazanım hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, geliştirilen voltametrik tekniğin gerçek numunelerdeki matriks ortamında oldukça seçici, doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Tez kapsamında çalışılan diğer farmasötik tür olan vardenafilin voltametrik davranışını araştırmak ve doğal numunelerde tayinini gerçekleştirmek için grafit, ZnO, Fe₂O₃ nanopartikülleriyle yalın MWCNT ya da COOH ve NH₂ fonksiyonel grubu içeren çok duvarlı karbon nanotüp modifiye kompozit elektrotlar hazırlanmıştır. İlk olarak % 70 grafit

% 30 mineral yağ karışımı ile grafit pasta elektrotlar (GPE) hazırlanmıştır. Modifiye elektrotlar için kütlece % 65 grafit, % 5 ZnO ile % 30 mineral yağ karışımı içeren kompozit elektrotlar hazırlanmıştır. Aynı oranlarda Fe₂O₃ nanopartiküllü içeren % 65 grafit, % 5 Fe₂O₃ ile % 30 mineral yağ karışımı ile bir diğer kompozit elektrot hazırlanmıştır. Hazırlanan 3 farklı sensör ile pH 5 B–R tampon çözeltisinde DPSV ve SWSV teknikleriyle vardenafil tayinine yönelik yapılan çalışmalarda en duyarlı kompozit elektrodun % 5 ZnO karışımı içeren grafit pasta elektrot olduğu tespit edilmiştir. Bu aşamadan sonra % 65 grafit, % 5 ZnO ve % 30 mineral yağı içeren kompozit elektrot yüzeyi çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT), amin ve karboksil fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp (NH₂–MWCNT ve COOH–MWCNT) süspansiyon çözeltisi ile modifiye edilmiştir. Bu elektrotlar arasında NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit kompozit elektrotun vardenafil tayininde daha duyarlı ve seçici davrandığı tespit edilmiştir. Geliştirilen bu modifiye NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit elektrotla 0,1 M ve 0,01 M H₂SO₄, pH 2 - 3 fosfat tamponu ve pH 2,0 – 10,0 aralığındaki B–R tamponu çözeltilerinde CV, SWSV ve DPSV teknikleri kullanılarak vardenafilin voltametrik davranışı incelenmiş ve analitik tayinleri gerçekleştirilmiştir. Çalışılan tüm pH değerlerinde vardenafil için anodik yönde iki pik gözlenirken katodik yönde herhangi bir pik gözlenmemiştir.

Vardenafilin NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit karbon temelli modifiye elektrot üzerindeki yükseltgenme davranışına farklı potansiyel tarama hızlarının etkisi CV tekniği ile pH 3,0 fosfat tamponu içerisinde 5 mV/s – 500 mV/s tarama hızı aralığında incelenmiştir. Pozitif yöndeki potansiyel taramalarında anodik pik gözlenirken negatif yönde herhangi bir katodik pik gözlenmemesi ve tarama hızı arttıkça pik potansiyelinin daha pozitif yöne kayması, vardenafilin elektrot tepkimesinin tersinmez olduğunu göstermektedir. NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit karbon temelli modifiye elektrot üzerindeki log *i*_p – log *v* doğrusunun eğimi 0,43 olarak bulunmuştur. Bu değerinin teorik değer olan 0,5'a yakın olması vardenafilin elektrot yüzeyine taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Laviron ve ark., 1980).

En uygun destek elektroliti bulmak için NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrotla pH 1,0 – 10,0 arasında farklı destek elektrotlit çözeltilerinde 5 mg/L vardenafilin SWS ve DPS voltamogramları alınmıştır. pH 1,0 ve 2,0 için H₂SO₄, pH 2,0 ve 3,0 için fosfat ve pH 2,0 ile 10,0 arasında B–R tampon çözeltileri kullanılmıştır. SWSV tekniğiyle yapılan pH taramasında pH 2,0 – 5,0 arasında +1400 mV civarında vardenafile ait tek bir

yükseltgenme piki gözlenirken pH 6 – 8 arasında biri +1000 ve diğeri +1150 mV’da olmak üzere iki yükseltgenme piki gözlenmiştir. pH 9,0 –10,0 arasında ise iki pikin birbirine girmesi nedeniyle +900 mV’da yayvan bir pik elde edilmiştir. SWSV için elde edilen $E_p - \text{pH}$ linear bağıntısı incelendiğinde vardenafil pik potansiyellerinin pH değeri arttıkça daha az pozitif potansiyellere kaydığı gözlenmiştir. SWSV tekniği ile geliştirdiğimiz $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ karbon temelli modifiye elektrot kullanılarak her bir birimlik pH değişime karşı vardenafilin birinci piki 49,0 mV/pH ikinci piki ise 60,8 mV/pH daha negatif yöne kaymıştır. DPV tekniğiyle yapılan pH çalışmasında ise pH 2,0 – 4,0 arasında +1350 mV civarında vardenafile ait tek bir yükseltgenme piki gözlenirken pH 5,0 – 9,0 arasında biri +900 mV ve diğeri +1100 mV’da olmak üzere iki yükseltgenme piki gözlenmiştir. pH 10’da ise iki pikin birbirini örtmesi nedeniyle +850 mV’da yayvan bir pik elde edilmiştir. DPV tekniğinde $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye karbon pasta elektrot üzerinde her bir birimlik pH değişime karşı vardenafilin birinci piki 52,6 mV/pH ve ikinci piki ise 62,6 mV/pH daha negatif yöne doğru kaymıştır. Buna göre vardenafilin modifiye elektrot üzerindeki yükseltgenmesi bazik pH’larda daha kolay asidik pH’lara doğru zorlaşmaktadır. Bu eğim değerleri teorik değer olan 59 mV/pH’ya yakın olduğu için vardenafilin elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı kadar protonun eşlik ettiği söylenebilir. Hem SWS hemde DPS voltametri ile yapılan çalışmalarda pH 3,0 fosfat tamponunda en duyarlı ve düzgün pikler elde edildiğinden optimum pH olarak pH 3,0 fosfat tamponu seçilmiştir.

pH 3,0 fosfat tamponu içerisinde yapılan potansiyel tarama hızına karşı pik potansiyellerinden elde edilen bağıntıdan faydalanarak aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. Bunun için tersinmez elektrot tepkimlerinde geçerli olan aşağıdaki $E_p - \log v$ eşitliğinden yararlanılmıştır (Laviron, 1979);

$$E_p = E^{\circ} + \left(\frac{2.303RT}{anF} \right) \log \left(\frac{RTk^0}{anF} \right) + \left(\frac{2.303RT}{anF} \right) \log v$$

Bu eşitlikte k^0 heterojen hız sabitini, n aktarılan elektron sayısını, v potansiyel tarama hızını (V/s), E° incelenen türün formal potansiyelini, R evresel gaz sabitini (J/mol K), T sıcaklığı (K) ve F faraday sabitini (96485 C/mol) ifade etmektedir. Eşitlikteki an değerleri $E_p - \log v$ eğrilerinin eğiminden hesaplanabilmektedir. $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye karbon elektrotlarla $E_p - \log v$ eğrisinin eğimi 0,049 olarak bulunmuş ve an değeri 1,2

olarak hesaplanmıştır. α tersinmez tepkimelerde 0,5 olarak kullanılmaktadır. Buradan yola çıkarak vardenafilin yükseltgenme reaksiyonunda transfer edilen elektron sayısı 2,4 (~2,0) olarak hesaplanmıştır.

Vardenafilin kantitatif tayininde SWS ve DPS voltametri teknikleri kullanılmıştır. Her iki elektroanalitik yöntemle miktar tayininde pH 3,0 fosfat tamponu seçilmiştir. SWS voltametri teknikleri için önemli parametreler olan biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi, frekans, puls genliği ve basamak potansiyeli optimize edilmiştir. Bu parametrelerden biriktirme potansiyeli 300 mV, biriktirme süresi 250 s, basamak potansiyeli 9 mV, puls genliği 40 mV, frekans 60 Hz olarak optimize edilmiştir. DPSV voltametri için biriktirme süresi 300 s, biriktirme potansiyeli 400 mV optimize edilmiştir. SWSV ve DPSV teknikleriyle NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye elektrot kullanılarak vardenafilin pik potansiyelleri sırasıyla +1375 mV ve +1280 mV olarak bulunmuştur. Elde edilen kalibrasyon grafiklerine göre SWSV ve DPV teknikleriyle modifiye kompozit elektrotla pH 3,0 fosfat tamponu içerisinde sırasıyla 0,02 – 1,0 ve 0,01 – 0,5 mg/mL derişim aralıklarında doğrusallık elde edilmiştir. Her iki teknikle elde edilen LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 13,6 µg/mL ve 4,38 µg/mL, 44,88 µg/mL ve 13,3 µg/mL olarak bulunmuştur.

Dopamin, askorbik asit, ürik asit, glikoz gibi biyolojik önemi olan bileşiklerin vardenafil tayinine etkisini göstermek için NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit modifiye karbon elektrot kullanılarak SWS ve DPS voltametriyle % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu bileşiklerin girişim etkisi 1,0 mg/L vardenafil varlığında 1,0 mg/L, 5,0 mg/L ve 10,0 mg/L alınarak (kütlece 1:1, 1:5 ve 1:10) incelenmiştir. SWS voltametri ile yapılan çalışmalarda geri kazanım % 87,5 – 101,7 arasında bulunmuştur. Sadece vardenafil ile dopamin kütlece 1: 10 olduğunda (1 mg/L vardenafil:10 mg/L dopamin) vardenafilin pik akımı yüksekliğinde % 12,5 azalma gözlenmiştir. Bunun nedeni dopaminin yükseltgenme pik potansiyelinin vardenafilin yükseltgenme pik potansiyeline yakın bir yerde gözlenmesidir. Cu(II), K(I), Na(I) ve Fe(III) katyonlarında girişim etkisi de incelenmiştir. Bu katyonların vardenafil pik akımında kaydeğer bir girişim etkisi gözlenmemiştir. Bu katyonların varlığında vardenafil % 82,0 – 101,1 aralığında geri kazanımla tayin edilmiştir. DPS voltametri tekniği ile yapılan çalışmalarda % geri kazanımlar 86,8 ile 101,7 arasında bulunmuştur. Vardenafil geliştirilen NH₂-MWCNT/ZnO/Grafit karbon

temelli elektrotlar üzerinde SWSV ve DPSV teknikleriyle doğru, duyarlı, tekrarlanabilir ve seçici olarak tayin edilebilmektedir.

Geliştirilen yöntem vardenafil içeren Levitra® ilaç tabletlerine de uygulanmış ve SWSV ve DPSV teknikleri ile % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. SWSV ve DPSV teknikleriyle modifiye elektrot üzerinde vardenafil sırasıyla % $97,0 \pm 1,8$ ve $105,0 \pm 2,3$ % geri kazanım ile tayin edilmiştir. Geri kazanım sonuçları vardenafil tayini için geliştirilen yöntemin doğruluğunu göstermektedir. Yapılan validasyon çalışmalarının sonuçları da değerlendirildiğinde geliştirilen vardenafil tayini yönteminin doğru, duyarlı, tekrarlanabilir, seçici ve uygulanabilir olduğu görülmektedir.

Vardenafil tayini için geliştirilen $\text{NH}_2\text{-MWCNT/ZnO/Grafit}$ modifiye elektrotla SWSV ve DPSV teknikleri kullanılarak sentetik kan serumunda vardenafil tayinleri yapılmıştır. Bunun için 9,0 mL kan serumuna 1,0 mL stok vardenafil çözeltisinden ilave edilip % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Her iki voltametrik yöntemle yapılan analitik uygulamalarda vardenafil için sırasıyla % $100,8 \pm 1,5$ ve $104,8 \pm 1,5$ geri kazanım elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen yöntemin matris ortamda da uygulanabileceğini ve oldukça seçici olduğunu göstermiştir.

Fomesafenin voltametrik davranışı nano yapılı modifiye karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) kullanılarak incelenmiştir. Bu elektrotla 0,1 M H_2SO_4 , 0,01 M H_2SO_4 ve pH 2,0 – 8,0 aralığındaki B-R tamponlarında SWSV tekniği ile fomesafen'in indirgenme davranışı incelenmiştir. Çalışılan tüm pH değerlerinde fomesafen için katodik yönde bir pik gözlenirken anodik yönde herhangi bir pik gözlenmemiştir.

50 mg/L derişimdeki fomesafenin indirgenme davranışı farklı potansiyel tarama hızlarında CV tekniği ile pH 3,0 B-R tamponu içerisinde 20 mV/s – 200 mV/s tarama hızı aralığında incelenmiştir. Bu ortamda yapılan çalışmalarda $\log i_p - \log v$ eğrisinin eğimi 0,463 bulunmuş ve bu değerinin teorik değer olan 0,5'e yakın olması maddenin elektrot yüzeyine taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Laviron ve diğerleri, 1980). Ayrıca yapılan potansiyel tarama hızı çalışmalarına göre $i_p - v^{1/2}$ eğrisinin doğrusal olması elektrot yüzeyine madde taşınmasının difüzyon kontrollü olduğunu doğrulamaktadır.

E_p – pH eğrileri incelendiğinde fomesafenin pik potansiyeli pH değeri arttıkça daha negatif bölgelere kaymıştır. Her 1 birimlik pH değişimine karşı fomesafenin indirgenme pik potansiyelinde – 40 mV bir kayma gözlemiştir. Bu durum artan pH ile fomesafenin indirgenmesinin zorlaştığını göstermektedir. pH 5,0'den sonra ise fomesafene ait indirgenme piki gözlenememiştir. Böylece pH 1,0 – 5,0 arasında doğrusallık elde edilmiştir.

Fomesafenin karbon temelli modifiye elektrot olan MWCNTPE ile tayini için duyarlı bir elektroanalitik teknik olan SWS voltametri kullanılmıştır. Elde edilen voltamogramlar değerlendirildiğinde miktar tayini için en yüksek pik akımının elde edildiği pH 3,0 B–R tamponu destek elektrolit olarak seçilmiştir. Modifiye karbon pasta elektrot kullanılarak SWSV tekniğinin optimum aletsel parametreleri şöyledir: biriktirme süresi 30 s, biriktirme potansiyeli 0 mV, basamak potansiyeli 3 mV, puls yüksekliği 20 mV ve frekans 20 Hz. SWSV tekniğiyle optimize edilen şartlarda elde edilen kalibrasyon grafiğine göre 0,3 – 40,0 mg/L derişim aralıklarında doğrusallık gözlenmiştir. Fomesafenin SWSV ile tayininde LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,089 mg/L ve 0,297 mg/L bulunmuştur.

Gerçek numunelerdeki yardımcı maddelerin ve matriks ortamının geliştirilen yöntemin doğruluğunu ve seçiciliğini etkileyip etkilemediğini göstermek için % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Elektroaktif pestisitlerden 5, 10 ve 15 mg/L anilazin, pimetrozin ve triflumizol ile birlikte ortamda bulunan 5 mg/L fomesafenin tayini çalışılmış ve girişim etkileri incelenmiştir. Bu ortamda % 94 – 123 aralığındaki geri kazanımlarla fomesafenin tayini gerçekleştirilmiştir. Anilazin ve fomesafenin pik potansiyelleri birbirine yakın olduğundan 5 mg/L fomesafen ve 10 mg/L anilazin bulunan ortamda fomesafen pik akımı % 19,5 artmış, 5 mg/L fomesafen ve 15 mg/L anilazin bulunan ortamda ise pik akımı % 23,2 artmıştır. Co(II), Pb(II), Mg(II), ve Ni(II) katyonların girişim etkileri de incelenmiştir. Pb^{2+} hariç diğer katyon türlerinin fomesafen pik akımında kaydeğer bir girişim etkisi göstermedikleri anlaşılmıştır. Pb^{2+} indirgerme pik potansiyeli ile fomesafenin pik potansiyeli üst üste çakıştığından Pb^{2+} in girişim etkisinin giderilmesi için ortama EDTA ilavesi yapılarak Pb^{2+} komplekse alınıp (EDTA–Pb kompleksi) fomesafen tayini yapılmıştır.

Gerçek numuneler içerisindeki yardımcı maddelerin geliştirilen yöntemi doğruluğunun etkileyip etkilemediğini göstermek için % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Ticari

meyve sularına ve Mogan Göl suyuna ilave edilen fomesafenin tayini için analitik uygulama yapılmıştır. Gerçek numunelerde elde edilen % 95,8 – 98,2 aralığındaki geri kazanım geliştirilen yönteminin seçiciliğinin ve doğruluğunun iyi olduğunu göstermektedir. Ayrıca, fomesafen için geliştirilen karbon temelli modifiye elektrotla SWSV tekniği kullanılarak yapılan validasyon çalışmalarının sonuçları da yöntemin tekrarlanabilir, seçici, duyarlı ve farklı matriks ortamlarda uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

pH 3,0 B–R tamponu içerisinde yapılan potansiyel tarama hızı çalışmalarından faydalanılarak elektro-indirgenmede aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. Aktarılan elektron sayısını hesaplamak için tersinmez reaksiyonlardaki $E_p - \log f$ arasındaki bağıntıdan yararlanılmıştır (Lovric ve Komorsky Lovric);

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = \frac{2,3RT}{\alpha nF}$$

Bu eşitlikte α elektron transfer katsayısı, f tarama hızı (V/s), n elektron sayısı, E_p formal potansiyel (V), R evresel gaz sabiti (J/mol K), T sıcaklık (K) ve F Faraday sabitini (96485 c/mol) göstermektedir. αn değeri yukarıdaki eşitlik kullanılarak $E_p - \log f$ doğru denklemin eğiminden hesaplanabilmektedir. $E_p - \log f$ doğru denklemin eğimi 0,033 olarak bulunmuş ve αn değeri 1,78 olarak hesaplanmıştır. α tersinmez elektrot tepkimelerinde 0,5 olarak kullanılmaktadır (Wu ve ark., 2003). Buradan fomesafenin elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı 3,58 (~4) olarak hesaplanmıştır. Bu değer literatürdeki –NO₂ grubu içeren türlerin indirgenmesine ait çalışmalarla uyumlu olduğunu görülmektedir (Kotoucek ve Opraviola, 2006; Zuman, 1997). Fomesafen için önerilen elektrot tepkimesi mekanizmasında, benzen halkasına bağlı –NO₂ grubu bir elektron alarak molekül anyonik radikal haline gelir. Yüksek elektron yoğunluğundan dolayı negatif uçlu oksijen asidik ortamda protonlanır. Radikalik yapı tekrar bir elektron alarak negatif yüklü anyonik yapı oluşmaktadır. Bu yapı bir proton daha alarak –NO₂ grubu üzerinde iki adet –OH grubu bulunan kararsız bir moleküle dönüşür. Bu kararsız yapıdan bir iç düzenlenmeyle su çıkarak molekül nitroso bileşiğine dönüşür. Bundan sonra 2 elektron ve 2 H⁺ daha alarak hidorksil amin grubuna kadar indirgenir. Buraya kadar toplam olarak indirgenmede 4 elektron ve 2H⁺ yer alır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez kapsamında tadalafil, vardenafil ve fomesafen farmasötik ve zirai ilaç etken maddelerinin tayini için karbon temelli modifiye elektrotlar (nanosensörler) geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu etken maddelerin voltametrik davranışları geliştirilen karbon temelli modifiye elektrotlar üzerinde kare dalga sıyırma voltametrisi (SWSV), diferansiyel puls sıyırma voltametrisi (DPSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) gibi tekniklerle incelenmiştir.

Çalışmalarda pH 2,0 – 10,0 B–R tamponu, pH 2,0 – 3,0 fosfat tamponu ve 0,1 M ve 0,01 M H₂SO₄ çözeltilerinden uygun olanlar seçilerek kullanılmıştır. Bu ortamlarda CV, DPSV ve SWSV teknikleri ile tadalafil, vardenafil ve fomesafen için voltamogramlar elde edilmiştir. CV tekniği ile yapılan çalışmalarda tadalafil ve vardenafil için katodik yönde herhangi bir pik gözlenmemiştir. Fomesafen için ise aynı teknik ile anodik yönde herhangi bir pik gözlenmemiştir. Tadalafilin farmasötik dozaj şekillerinden miktar tayini için TiO₂ ile modifiye edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (TiO₂–MWCNTPE) ile pH 3,0 B–R tamponunda çalışılmıştır. Vardenafil çalışmalarında ise amin fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp/ZnO nanopartikülleri/grafit (NH₂–MWCNT/ZnO/Grafit) elektrot ile pH 3,0 fosfat tamponunda deneyler yapılmıştır. Fomesafen zirai ilaç tayini nano yapıli modifiye karbon nanotüp pasta (MWCNTPE) elektrotla pH 3,0 B–R tamponunda yapılmıştır.

Tadalafil, vardenafil ve fomesafenin elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri ile değişik potansiyel tarama hızlarında incelenmiştir. Potansiyel tarama hızına karşı pik akımları ($\log v - \log ip$) grafiklerinin eğimleri hesaplanarak karbon temelli modifiye elektrotlarla vardenafil ve fomesafenin elektrot yüzeyine taşınma mekanizması difüzyon kontrollü, tadalafilin ise difüzyon-adsorpsiyon karışık kontrollü bulunmuştur.

Dönüşümlü voltametri (CV) ile potansiyel taraması çalışmalarından elde edilen $E_p - \log v$ eğrisinin eğiminden reaksiyona giren elektron sayıları da hesaplanmıştır. Tadalafil ve vardenafilin modifiye elektrotla elektro-yükseltgenmesinde 2 elektron aktarımı bulunmuştur. Fomesafenin elektrot üzerindeki indirgenme tepkimenin iki basamaklı olduğu anlaşılmış ve her bir basamak için 2 elektron olmak üzere toplam da 4 elektronlu mekanizma önerilmiştir.

Tadalafil için seçilen optimum şartlarda kalibrasyon grafiği çizilmiş ve tüm validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yalın MWCNTPE ve TiO_2 ile modifiye edilen çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotlar (TiO_2 -MWCNTPE) kullanılarak pH 3,0 B-R tamponunda SWSV tekniği ile yapılan çalışmalarda tayin sınırı değerleri sırasıyla $3,7 \mu\text{M}$ ve $0,08 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur. TiO_2 -MWCNTPE karbon temelli modifiye elektrot ile elde edilen tayin sınırı değeri yalın MWCNTPE elektrot ile elde edilene göre 4 kat daha küçüktür. Geliştirilen AdsSWSV tekniği tadalafilin içeren farmasötik tabletlere de uygulanmış ve tabletlerde bulunan yardımcı maddeler yanında % geri kazanım değerleri yöntemin seçiciliğinin ve doğruluğunun iyi olduğunu göstermiştir. Geliştirilen yöntemle AdsSWSV tekniği kullanılarak yapılan tadalafil tayininin Ca(II) , Na(I) , K(I) , glikoz, askorbik asit, 2-merkaptobenzimidazol ve dopamin yanında yüksek seçiciliğe sahip olduğu ancak ürik asidin tadalafil sinyalini % 10'dan daha fazla etkilediği gözlenmiştir. Tadalafilin elektrot yüzeyindeki yükseltgenme tepkimesinde yer alan 2 elektron ve 1 proton (H^+) ile model ilaçlarla yapılan çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, indol grubu üzerinden elektrot tepkimesi mekanizması aydınlatılmıştır.

Vardenafilin amin fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp/ ZnO nanopartikülleri/grafit (NH_2 -MWCNT/ ZnO /Grafite) elektrot ile voltametrik tayinine yönelik yeni bir yöntem geliştirilmiştir. pH 3,0 fosfat tamponunda kalibrasyon grafiği çizilmiş ve ayrıca validasyon çalışmaları yapılmıştır. Geliştirilen NH_2 -MWCNT/ ZnO /Grafite karbon temelli modifiye elektrotla pH 3,0 fosfat tamponunda SWSV ve DPSV teknikleri kullanılarak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tayin sınırı değerleri SWSV ve DPSV teknikleri için sırasıyla $13,6 \mu\text{g/L}$ ve $4,38 \mu\text{g/L}$ M bulunmuştur. Farmasötik tabletlerde her iki elektroanalitik yöntemle vardenafil tayinleri oldukça yüksek % geri kazanımlarla gerçekleştirilmiştir. Vardenafil için geliştirilen NH_2 -MWCNT/ ZnO /Grafite karbon temelli modifiye elektrotla SWSV ve DPSV teknikleri kullanılarak Cu(II) , Na(I) , Fe(III) , K(I) , glikoz, askorbik asit, dopamin ve ürik asit varlığında vardenafil tayini yüksek seçicilik ve doğrulukla gerçekleştirilmiştir.

Fomesafen için seçilen ortamlarda nano yapılı çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrot (MWCNTPE) üzerinde SWSV tekniği ile elde edilen verilerden kalibrasyon grafikleri çizilmiş ve gerekli validasyon çalışmaları yapılmıştır. Biriktirme süresi, biriktirme potansiyeli, frekans, basamak potansiyeli ve puls genliği analiz öncesinde optimize edilmiş ve $E_b=0 \text{ mV}$, $t_b=30 \text{ s}$, $f=30 \text{ Hz}$, $\Delta E_b=3 \text{ mV}$, $\Delta E=20 \text{ mV}$ olarak tespit edilmiştir. Optimum koşullarda nano yapılı modifiye karbon nanotüp pasta elektrotla (MWCNTPE) pH 3,0 B-R

tamponu içerisinde fomesafenin SWS voltamogramları kaydedilmiş, çalışma aralığı 0,3 – 40 mg/L bulunmuştur. Tayin ve gözlenebilir sınırları sırasıyla 0,297 mg/L ve 0,089 mg/L olarak bulunmuştur. SWS voltametri ile fomesafen katkılı ticari meyve sularında ve Mogan Göl suyunda fomesafen tayinleri % 95,8 - 98,2 % geri kazanımla gerçekleştirilmiştir. Ayrıca fomesafen tayininde seçicilik ve doğruluğun test edilmesi için anilazin, pimetrozin, triflumizol gibi diğer pestisitler varlığında ve Co(II), Pb(II), Mg(II) ve Ni(II) katyonların varlığında tayinler yapılmıştır. Fomesafen tayini için geliştirilen SWS voltametri tekniğinin pimetrozin, triflumizol, Mg(II) ve Ni(II) yanında seçici, tekrarlanabilir ve doğru sonuçlar verdiği ancak anilazin ve Co(II) varlığında fomesafen pik akımının % 20 azalttığı gözlenmiştir. Fomesafen indirgenme tepkimesinde hesaplanan 4 elektron ve 2 proton düşünüldüğünde indirgenmenin $-NO_2$ grubu üzerinden olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak;

- Geliştirilen karbon temelli modifiye elektrotların tadalafil, vardenafil ve fomesafen tayinleri için oldukça duyarlı, doğru ve tekrarlanabilir tayinlere imkan verdiği görülmüştür.
- Tadalafil ve fomesafen ilaç etken madde tayinleri için yeni bir voltametrik yöntem literatüre kazandırılmıştır (Demir ve diğerleri, 2014; Demir ve İnam, 2017).
- Geliştirdiğimiz çok duvarlı karbon nanotüp modifiye elektrotlarla hem anodik hemde katodik bölgelerde analitik tayinlerin yapılabileceği gösterilmiştir.
- Voltametrik yöntemlerle tadalafil ve fomesafenin ilk kez tayini gerçekleştirilmiş olup, modifiye elektrotların farmasötik ve gerçek numunelerin analizlerinde başarıyla uygulanabileceği kanıtlanmıştır.
- Geliştirilen modifiye elektrotların, benzer yapıdaki diğer pestisitlerin ve farmasötik etken maddelerin tayinlerinde kullanılabileceği ve bu alanda yapılacak diğer çalışmalara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abacı, S., Erdem-Gürsan, A., Kuralay, F. ve Karadeniz, H. (2008). Poli(vinilferrosenyum) Modifiye Elektrotlar Kullanılarak Elektrokimyasal DNA Biyosensörlerinin Hazırlanması, *Tübitak Projesi*, Proje No: 106T65, Tübitak, Ankara.
- Ali, I. and Aboul-Enein, H. Y. (2004). Valited method for tadalafil analysis in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis. *Chromatographia*, 65(3-4), 187–191.
- Al-Qasbi, N., Soomro, M. T., Aslam, M., Rehman, A. U., Ali, S., Danish, E. Y., Ismail, M. I. and Hameed, A. (2016). The efficacy of the ZnO: α -Fe₂O₃ composites modified carbon paste electrode for the sensitive electrochemical detection of loperamide: A detailed investigation. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 783, 112 – 124.
- Amiri, M., Rezapour, F. and Bezaatpour, A. (2014). Hydrophilic carbon nanoparticulates at the surface of carbon paste electrode improve determination of paracetamol, phenylephrine and dextromethorphan. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 735, 10–18.
- Anastas, P. T. and Chief, J. C. (2000). *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press.
- Attar, T., Harek, Y. and Lahcenn, L. (2013). Determination of ultra trace levels of copper in whole blood by adsorptive stripping voltammetry. *Journal of the Korean Chemical Society*, 57, 568–59.
- Attar, T., Harek, Y., Dennouni-Medjati, N. and Lahcenn, L. (2012). Dosage of cadmium and lead in human blood by anodic stripping voltammetry. *Annaes De Biologie Clinique*, 70, 595–598.
- Aydın, Z. Y., Yaman, Y. T., Yaşacan, M., Çırak, T. and Abacı, S. (2016). Anodic stripping voltammetric determination of vardenafil hydrochloride at pencil graphite electrode. *Journal of Iranian Chemical Society*, In Press.
- Azad, U. P., Prajapati, N. and Ganesan, V. (2015). Selective determination of isoniazid using bentonite clay modified electrodes. *Bioelectrochemistry*, 101, 120 – 125.
- Bagheri, H., Shirzadmehr, A. and Rezaei, M. (2015). Designing and fabrication of new molecularly imprinted polymer-based potentiometric nano-graphene/ionic liquid/carbon paste electrode for the determination of losartan. *Journal of Molecular Liquids*, 212, 96 – 102.
- Bagotsky, V. S. (2006). *Fundamentals of Electrochemistry*, 2nd Ed. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Bard, A. J., Inzelt, G., and Scholz F. (2008). *I Elektrochemical Dictionary*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag.

- Barot, B. G. and Patel P. K. (2010). Determination of tadalafil in pure powder and tablet dosage form by high-performance liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 93, 516–522.
- Bartosova, Z., Jirovsky, D. and Horna, A. (2011). High-performance liquid chromatographic method with amperometric detection employing boron-doped diamond electrode for the determination of sildenafil, vardenafil and their main metabolites in plasma. *Journal of Chromatography A*, 1218, 7996–8001.
- Bayraktepe-Eskiköy, D., Yazan, Z. and Polat, K. (2017). Sensitive and selective voltammetric determination of anti-cancer agent shikonin on sepiolite clay/TiO₂ nanoparticle/MWCNTs composite carbon paste sensor and investigation of its electro-oxidation mechanism. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 780, 38–45.
- Bockris, J. O. M. and Reddy, A. K. N. (1970). *Modern Electrochemistry*. London: Mc Donald Co Ltd. 2.
- Bond, A. M (1980). *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. New York, NY: Marcel Dekker Inc.
- Bozal-Palabıyık, B. (2015). *Yeni Nesil nanosensör Tasarımı ve Antiparkinson İlaç Analizlerinde Kullanımı*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bozal-Palabıyık, B. and Uslu, B. (2016). A novel electroanalytical nanosensor based on MWCNT/Fe₂O₃ nanoparticles for the determination of antiparkinson drug ropinirole. *Ionics*, 22, 115 – 123.
- Britto, P. J., Santhanam, K. S. V. and Ajayan, P. M. (1996). Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 41, 121–125.
- Brycht, M., Burnat, B., Nosal-Wiercinska, A. and Skrzypek, S. (2015). New sensitive square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of pesticide chlornitrofen, and an evaluation of its corrosivity towards steel agricultural equipment. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 777, 8–18.
- Brycht, M., Kacmarska, K., Uslu, B., Ozkan, S. A. and Skrzypek, S. (2016). Sensitive determination of anticancer drug imatinib in spiked human urine samples by differential pulse voltammetry on anodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Diamond & Related Materials*, 68, 13–22.
- Causanilles, A., Emke, E. and Voogt, P. (2016). Determination of phosphodiesterase type V inhibitors in wastewater by direct injection followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, 565, 140–147.
- Chaiyo, S., Chailapakul, O., Sakai, T., Teshima, N. and Siangproh, W. (2013). Highly sensitive determination of trace copper in food by adsorptive stripping voltammetry in the presence of 1,10-phenanthroline. *Talanta*, 108, 1–6.

- Chen, L., Song, F., Liu, Z., Zheng, Z., Xing, J. and Liu, S. (2012). Multi-residue method for fast determination of pesticide residues in plants used in traditional chinese medicine by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1225, 132–140.
- Chen, L., Tang, Y., Wang, K., Liu, C. and Luo, S. (2011). Direct electrodeposition of reduced graphene oxide on glassy carbon electrode and its electrochemical application. *Electrochemistry Communications*, 13, 133–137.
- Cheng, C. L. and Chou, C. H. (2005). Determination of tadalafil in small volumes of plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection. *Journal of Chromatography B*, 822, 278–284.
- Cinková, K., Švorc, L., Šatková, P., Vojs, M., Michniak, P. and Marton, M. (2016). Simple and rapid quantification of folic acid in pharmaceutical tablets using a cathodically pretreated highly boron-doped polycrystalline diamond electrode. *Analytical Letters*, 49(1), 107–121.
- Ciobanu, M., Wilburn J., Krim M. L. and Cliffel D. E. (2007). *Fundamentals*. In: *Handbook of Electrochemistry*, Ed.: Zoski, C.G., Amsterdam: Elsevier. 3 – 29.
- Costa A. I. G., Queiroz, M. E., Neves, A. A., De Assis, R. C. dos Soares, C. E., da Silva, A. A., D'Antonino, L. De Oliveira, A. F. and Bellato, C. R. (2015). Mobility and persistence of the herbicide fomesafen in soils cultivated with bean plants using SLE/LTP and HPLC/DAD. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 3457–3466.
- Cotchim, S., Thavarungkul, P., Kanatharana, P. and Limbut, W. (2015). A new strategy for 2,4,6-Trinitrotoluene adsorption and electrochemical reduction on poly(melamine)/graphene oxide modified electrode. *Electrochimica Acta*, 184, 102 – 110.
- Cummings W. G. (2010). *Chemical Analysis: Introduction In: Instrumentation Reference Book*, Ed.: Boyes, 4th Ed. Burlington, M. A.: Butterworth-Heinemann, 303-317.
- Damiri, S., Pouretedal, H. R. and Heidari, A. (2016). Fabrication of a nanostructured TiO₂/carbon nanotube composite electrode for voltammetric and impedimetric determination of NTO explosive in the water and soil samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 96(11), 1059 – 1073.
- De Orsi, D., Pellegrini, M., Marchei, E., Nebuloni, P., Gallinella, B., Scaravelli, G., Martufi, A., Gagliardi, L. and Pichini S. (2009). High performance liquid chromatography-diode array and electrospray-mass spectrometry analysis of vardenafil, sildenafil, tadalafil, testosterone and local anesthetics in cosmetic creams sold on the Internet web sites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50, 362–369.
- Demir, E. and İnam, R. (2014). Electrochemical behaviour and determination of rimsulfuron herbicide by square wave voltammetry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94(13), 1330–1341.

- Demir, E. and İnam, R. (2016). Voltammetric behavior of bupirimate fungicide and its square wave voltammetric determination. *Ionics*, 22, 269–276.
- Demir, E. and İnam, R. (2017). Square wave voltammetric determination of fomesafen herbicide using modified nanostructure carbon pasta electrodes as a sensor and application to food sample. *Food Analytical Methods*, 10(1), 74–82.
- Demir, E., İnam, R., Ozkan, S. A. and Uslu, B. (2014). Electrochemical behavior of tadalafil on TiO₂ nanoparticles-MWCNT composite paste electrode and its determination in pharmaceutical dosage forms and human serum samples using adsorptive stripping square wave voltammetry. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 18(10), 2709–2720.
- Demircigil, B. T. (2010). *İkili İlaç Etkin Madde Karışımlarının Elektrokimyasal Olarak İncelenmesi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Deroco, P. B., Vicentini, F. C., Oliveira, G. G., Rocha-Filho, R. C. and Fatibello-Filho, O. (2014). Square-wave voltammetric determination of hydroxychloroquine in pharmaceutical and synthetic urine samples using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 719, 19–23.
- Dogan-Topal, B., Bozal-Palabıyık, B., Uslu, B. and Ozkan, S. A. (2013). Multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a voltammetric nanosensor for the sensitive determination of anti-viral drug valganciclovir in pharmaceuticals. *Sensors and Actuators B*, 177, 841–847.
- Duran, M. (2010). *Disopiramidin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi ve Tayini için Anodik Adsorptif Sıyırma Yönteminin Geliştirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ebbing, D. and Gammon S. D. (2008). *General Chemistry*, 8th Ed.: Boston, MA: Houghton Mifflin Company.
- Erogul, S., Bas, S. Z., Ozmen, M. and Yildiz, S. (2015). A new electrochemical sensor based on Fe₃O₄ functionalized graphene oxide-gold nanoparticle composite film for simultaneous determination of catechol and hydroquinone. *Electrochimica Acta*, 186, 302 – 313.
- Fan, L., Tian, X., Shuang, S. and Dong, C. (2016). A simple and novel electrochemical sensor based on phosphomolybdc-polypyrrole film modified electrode for highly sensitive detection of cholic acid. *Chinese Journal of Chemistry*, 34, 1177–1182.
- Farghaly, O. A., Abdel Hameed, R. S. and Abu-Nawwas, A. (2014). Analytical application using modern electrochemical techniques. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 3287–3318.
- Farthing, C. A., Farthing, D. E., Koka, S., Larus, T., Fakhry, I., Xi, L., Kukreja, R. C., Sica, D. and Gehr, T. W. (2010). A simple and sensitive HPLC fluorescence method for determination of Tadalafil in mouse plasma. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 878, 2891–2895.

- Flores, J. R., Nevado, J. J. B., Penalvo, G. C. and Diez, N. M. (2004). Development of a micellar electrokinetic capillary chromatography method for the determination of three drugs employed in the erectile dysfunction therapy. *Journal of Chromatography*, 811, 231–236.
- Fouladgar, M. (2016). A high sensitive square wave voltammetric sensor based on ZnO nanoparticle ionic liquid paste electrode for determination of benserazide in biological samples. *Measurement*, 86, 141 – 147.
- Galus, Z. (1996). *Mercury Electrodes. In: Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, Ed.: Kissinger, P. T., Heineman, W. R., 2nd Ed. New York, NY: Marcel Dekker. 443-468.
- Ghalkhani, M., Beheshtian, J. and Salehi, M. (2016). Electrochemical and DFT study of an anticancer and active anthelmintic drug at carbon nanostructured modified electrode. *Materials Science and Engineering C*, 69, 1345–1353.
- Ghoneim, M. M., Hassanein, A. M., Salahuddin, N. A., El-Desoky, H. S. and Elfiky, M. N. (2013). Trace determination of vardenafil hydrochloride in commercial formulation and human serum by adsorptive anodic stripping voltammetry at a carbon paste electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 17, 1891–1902.
- Giacomino, A., Redda, A. R., Squadrone, S., Rizzi, M., Abete, M. C., La Gioia, C., Toniolo, R., Abollino, O. and Malandrino, M. (2017). Anodic stripping voltammetry with gold electrodes as an alternative method for the routine determination of mercury in fish. Comparison with spectroscopic approaches. *Food Chemistry*, 221, 737–745.
- Gooding, J. J., Lai L. M. H. and Goon I. Y (2009). *Nanostructured Electrodes with Unique Properties for Biological and Other Applications. In: Chemically Modified Electrodes*, Ed.: Alkire, R. C., Kolb, D. M.; Lipowski, J., Ross. P. N., Weinheim: Wiley-WCH. 1-56.
- Grimshaw, J. (2000). *Electrochemical Reactions and Mechanisms in Organic Chemistry*, 1st Ed. Elsevier Science.
- Gupta, V. K., Jain, R., Antonijevic, M. M., Khani, H., Siddiqui, M. N., Divedi, A., Mishra, R. and Agarwal, S., (2011). Assay of nimodipine - an anti hypertensive drug, in bulk form and pharmaceutical formulations by cathodic adsorptive stripping voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science*, 6, 37–51.
- Gündüz, T. (2004). *İnstrümental Analiz*. Ankara: Gazi Kitabevi Yayınları, Fersa Matbaacılık, 43, 1357.
- Güney, S. (2010). *Modifiye Elektrotların Geliştirilmesi ve Voltametrik Tayinlerde Kullanılmalarının İncelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Hasegawa, K., Suzuki, O., Gonmori, K., Yamagishi, I., Nozawa, H. and Watanabe, K. (2012). Simultaneous analysis of sildenafil, vardenafil, tadalafil, and their desalkyl

- metabolites in human whole blood and urine by isotope dilution LC–MS–MS. *Forensic Toxicology*, 30(1), 25–32.
- Hayashi, Y. and Kouji, H. (1990). Synthesis and herbicidal activity of geometrical isomers of methyl [[[1-[5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-2-nitrophenyl]-2-methoxyethylidene]amino]oxy]acetate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 845–850.
- Henrich, F., Chan, C., Moore, V., Rolandi, M. and O’Connell, M. (2006). *The Element Carbon in: Carbon Nanotubes: Properties and Applications*, Ed.: O’Connell, M. J., Boca Raton, FL: CRC Press. 1-18.
- Higgins, J. M., Whitwell, T., Murdock, E. C. and Toler, J. E. (1988). Recovery of pitted morningglory (ipomoea-lacunosa) and ivyleaf morningglory (ipomoea-hederacea) following applications of acifluorfen, fomesafen, and lactofen. *Weed Science*, 36, 345–353.
- Hosu, I. S., Constantinescu-Aruxandei, D., Jecu, M. L., Oancea, F., and Doni, M. B. (2016). Peroxynitrite sensor based on a screen printed carbon electrode modified with a poly(2,6-dihydroxynaphthalene) film. *Sensors*, 16, 1975–1990.
- Huang, J., Bao, T., Hu, T. X., Wen, W., Zhang, X. and Wang, S.F. (2017). Voltammetric determination of levofloxacin using a glassy carbon electrode modified with poly(o-aminophenol) and graphene quantum dots. *Microchim Acta*, 184, 127–135.
- Idris, A. O., Mabuba, N. and Arotiba, O. A. (2015). Electroanalysis of selenium in water on an electrodeposited gold-nanoparticle modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 758, 7 – 11.
- İnam, R. and Aydın, H. (1996). Determination of lead, copper and selenium in Turkish and American cigarette tobaccos by anodic stripping voltammetry. *Analytical Sciences*, 12(6), 911–915.
- İnam, R. and Çakmak, Z. (2013). A simple square wave voltammetric method for the determination of acetonifin herbicide. *Analytical Methods*, 5, 3314–3320.
- İnam, R. and Tekalp, F. (2012). Square wave voltammetric determination of diafenthiuron and its application to water, soil and insecticide formulation. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 92(1), 85–95.
- İnam, R., Can, E. and Demir, E. (2013). Electrooxidation and determination of methacetin (p-acetanisidide) by square wave voltammetry using multi walled carbon nanotube electrode. *Analytical Methods*, 5, 6338–6344.
- İnam, R. and Somer, G. (1997). Adsorptive stripping voltammetry of selenium(IV) in the presence of thioglycolic acid. *Analytical Sciences*, 13(4), 653–656.
- İnce, A. (2008). *Ferrosen Bulunduran Bazı Tiyofosfanat Türevlerinin Elektrokimyasal Davranışları ve Yüzey Adsorpsiyonlarının İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Şelçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

- Jeong, Y., Suh, S., Kim, J. Y., In, M. K. and Paeng, K. (2016). Simultaneous determination of Sildenafil, Tadalafil, and Vardenafil in pharmaceutical preparations by high-temperature gas chromatography/mass spectrometry. *Chromatographia*, 79(23), 1671–1678.
- Jin, S., Lee, L. S., Kang, Y., Heo, M., Shin, J. H., Cha, G. S., Nam, H., Lee, J. Y., Helal, A., Kim, H., Intaek Jeong, I. and Shim, J. H. (2015). Voltammetric ion-channel sensing of ammonium ion using self-assembled monolayers modified with ionophoric receptors. *Sensors and Actuators B*, 207, 1026 – 1034.
- Jo, H., Her, J., Lee, H., Shim, Y. and Ban, C. (2017). Highly sensitive amperometric detection of cardiac troponin I using sandwich aptamers and screen-printed carbon electrodes. *Talanta*, 165, 442–448.
- Kaf A. A. and Gouda, A. A. (2011). Spectrophotometric determination of Tadalafil in pure and dosage forms. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 17(2), 125–132.
- Kannappan, N., Deepthi, Y., Divya, Y., Shashikanth, S. and Manavalan R. (2010). Methods development and validation of stability indicating methods for assay of Tadalafil and Sildenafil citrate by HPLC. *International Journal of ChemTech Research*, 2, 329–33.
- Karavadi, T. and Challa B. R. (2010). Determination of Tadalafil in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Application to a pharmacokinetic study. *Der Pharm Letter*, 4(5), 1401–1413.
- Kemmegne-Mbouguen, J. C. and Angnes, L. (2015). Simultaneous quantification of ascorbic acid, uric acid and nitrite using a clay/porphyrin modified electrode. *Sensors and Actuators B*, 212, 464 – 471.
- Kemmegne-Mbouguen, J. C., Angnes, L., Mouafo-Tchinda, E. and Ngameni, E. (2015). Electrochemical determination of uric acid, dopamine and tryptophan at zinc hexacyanoferrate clay modified electrode. *Electroanalysis*, 27, 2387 – 2398.
- Kısacık, İ. (2010). *Benzenin Bor Katılı Elmas (BDD) Elektrot Üzerinde Elektrokimyasal Oksidasyon*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kiss, L., David, V., David, I. G., Lazăr, P., Mihailciuc, C., Stamatina, I., Ciobanu, A., Ștefănescu, C. D., Nagy, L., Nahy, G. and Ciucu, A. A. (2016). Electropolymerized molecular imprinting on glassy carbon electrode for voltammetric detection of dopamine in biological samples. *Talanta*, 16, 489–498.
- Komorsky-Lovric, S. (2010). *Working Electrodes. In: Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*. Ed.: Scholz, F.; 2nd Ed. Heidelberg: Springer. 273–290.
- Kotoucek, M. and Opravilova, M. (1996). Voltammetric behaviour of some nitropesticides at the mercury drop electrode. *Analytica Chimica Acta*, 329(1-2),

73–81.

- Ku, H. Y., Shon, J. H., Liu, K. H., Shin, J. G. and Bae, S. K. (2009). Liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of vardenafil and its major metabolite, N-desethylvardenafil, in human plasma: Application to a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatograph*, 877, 95–100.
- Laganà, A., Fago, G., Fasciani, L., Marino, A. and Mosso, M. (2000). Determination of diphenyl-ether herbicides and metabolites in natural waters using high-performance liquid chromatography with diode array tandem mass spectrometric detection. *Analytical Chimica Acta*, 414, 79–94.
- Lakshmi, V. N., Kumar, D. R., Vardhan, S. V. M. and Rambabu, C. (2009). Validated spectrophotometric methods for the determination of tadalafil in pharmaceutical formulations. *Oriental Journal of Chemistry*, 25, 791–794.
- Laviron, E. (1979). General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 101(1), 19–28.
- Laviron, E. Roullier, L. and Degrand, C. (1980). A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. Part II. Theory and application of linear potential sweep voltammetry for a simple reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 102(1), 11–23.
- Li, G. and Miao P. (2013). *Electrochemical Analysis of Proteins and Cells*, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Li, H., Wang, L., Sheng, K., Zou, L. and Ye, B. (2016). Highly sensitive determination of esculetin on TiO₂-NPs-coated poly(diallyldimethylammonium chloride)-functionalized graphene modified electrode. *Talanta*, 161, 838 – 846.
- Li, M., Li, Y., Li, D. and Long, Y. (2012). Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays—A review. *Analytica Chimica Acta*, 734, 31–44.
- Liu, J., Zhu, G., Chen, M., Ma, X. and Yang, J. (2016). Fabrication of electrospun ZnO nanofiber-modified electrode for the determination of trace Cd(II). *Sensors and Actuators B*, 234, 84 – 91.
- Lovric, M. And Komorsky-Lovric, S. (1988). Square-wave voltammetry of an adsorbed reactant. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 248(2), 239–253.
- Luther, G. W., Swartz, C. B. and Ullman, W. J. (1988). Determination of iodide in seawater by cathodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry*, 60, 1721–1724.
- Manasa, G., Ronald, J. M., Ashis, K. S., Ozma, J. D. and Dhason, A. (2017). Facile preparation of poly(methylene blue) modified carbon paste electrode for the

- detection and quantification of catechin. *Materials Science and Engineering C*, 73, 552–561.
- Masuko, N., Osaka, T. and Ito, Y. (1996). *Electrochemical Technology: Innovation and New Developments*. Tokyo: Kodansha Ltd.
- Mathpati, M. M., Sangshetti, J. N., Rane, V. P., Patil, K. R. and Shinde, D. B. (2009). Stability-indicating LC method for determination of tadalafil in bulk drug and pharmaceutical dosage form. *Chemia Analityczna*, 54(4), 679–689.
- Mazloun-Ardakani, M., Ahmadi, S. H., Mahmoudabadi, Z. S., Khoshroo, A. and Heydar, K. T. (2014). Electrochemical and catalytic investigations of epinephrine, acetaminophen and folic acid at the surface of titanium dioxide nanoparticle-modified carbon paste electrode. *Ionics*, 20, 1757 – 1765.
- Mehanna, M. M., Motawaa, A. M. and Samaha, M. W. (2012). Quantitation of transdermal Tadalafil in human skin by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 95, 1064–1068.
- Mercan, H., İnam, R. and Aboul-Enein, H. Y. (2011). Square wave adsorptive stripping voltammetric determination of cyromazine insecticide with multi-walled carbon nanotube paste electrode. *Analytical Letters*, 44, 1392–1404.
- Merz A(2005) Chemically modified electrodes, Volume 152 of the series *Topics in Current Chemistry* pp 49-90
- Merkoçi, A. and Alegret S. (2007). *Graphite-Epoxy Electrodes for Stripping Analysis*. In: *Comprehensive Analytical Chemistry*. Ed.: Barcelo, D., Amsterdam: Elsevier. 143-162.
- Metters, J. P., Kadara, R. O. and Banks, C. E. (2011). New directions in screen printed electroanalytical sensors: an overview of recent developments. *Analyst*, 136(6), 1067–1076.
- Miller, J. C. and Miller, J. N. (1988). *Statistics for Analytical Chemistr*, 2nd Ed. New York: John Wiley and Sons.
- Naik, K. M., Ashi, C. R. and Nandibewoor, S. T. (2015). Anodic voltammetric behavior of hydroxyurea and its electroanalytical determination in pharmaceutical dosage form and urine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 755, 109–114.
- Narayana, P. V., Reddy, T. M., Gopal, P and Naidu, G. R. (2014). Electrochemical sensing of paracetamol and its simultaneous resolution in the presence of dopamine and folic acid at a multi-walled carbon nanotubes/poly(glycine) composite modified electrode. *Analytical Methods*, 6(23), 9459–9468.
- Nieto, A., Peschka, M., Borrull, F., Pocurull, E., Rosa Maria Marce, R. M. And Knepper, T. P. (2013). Phosphodiesterase type V inhibitors: Occurrence and fate in wastewater and sewage sludge. *Water Research*, 44, 1607–1615.

- Nikolaou, P., Papoutsis, I., Athanaselis, S., Alevisopoulos, G., Khraiweh, A., Pistos, C. and Spiliopoulou, C. (2011). Development and validation of a GC/MS method for the determination of tadalafil in whole blood. *Der Pharm Letter*, 56, 577–581.
- Nourifard, F., Payehghadr, M., Kalhor, M. and Nejadali, A. (2015). An electrochemical sensor for determination of ultratrace Cd, Cu and Hg in water samples by modified carbon paste electrode base on a new schiff base ligand. *Electroanalysis*, 27, 2479 – 2485.
- Olsun, M. P. and Lacourse W. R. (2004). Voltammetry. In: Ewing's Analytical Instrumentation Handbook, Ed.: Cazes, J., 3rd Ed. Boca Raton FL: CRC Press. 529 – 544.
- Ozkan, B., Biryol, İ., ve Şentürk, Z. (1993). Modifiye elektrotlara genel bir bakış. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 18(2), 95–101.
- Ozkan, S. A. and Uslu, B. (2016). From mercury to nanosensors: past, present and the future perspective of electrochemistry in pharmaceutical and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 130, 126–140.
- Özcan, A., İlkbaş, S. and Atılır-Özcan, A. (2017). Development of a disposable and low-cost electrochemical sensor for dopamine detection based on poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-modified electrochemically over-oxidized pencil graphite electrode. *Talanta*, 165, 489–495.
- Özcan, L. and Şahin, Y. (2007). Determination of paracetamol based on electropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode. *Sensors and Actuators*, 127, 362–369.
- Özcan, L., Şahin, M. and Şahin Y. (2008). Electrochemical preparation of a molecularly imprinted polypyrrole-modified pencil graphite electrode for determination of ascorbic acid. *Sensors*, 8(9), 5792–5805.
- Özkan, S. A. (2012). *Electroanalytical methods in pharmaceutical analysis and their validation*. HNB Pub., USA, ISBN: 978-0-9664286-7-4.
- Öztekin, Y. (2008). *Camsı Karbon Yüzeyine Çeşitli Fenantrolin Türevlerinin Modifikasyonu, Yüzey Karakterizasyonu, Elektrokimyasal, ve Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Şelçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Patriarche, G. J., Chateau-Gossekin, M. and Vandenbalck, J. L. (1979). *Polarography and Related Electroanalytical Techniques in Pharmacy and Pharmacology*, Electroanalytical Chem. Vol 11 Ed. J.A. Bard, New York: Marcel Dekker, 141 – 189.
- Piech, R., Rumin, M. and Paczosa-Bator, B. (2014). High sensitive voltammetric determination of paroxetine on glassy carbon electrode modified with nafion/MWCNTS. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 7528–7539.

- Pinar, P. T., Yardim, Y. And Senturk, Z. (2013). Voltammetric behavior of rutin at a boron-doped diamond electrode. Its electroanalytical determination in a pharmaceutical formulation. *Central European Journal of Chemistry*, 11(10), 1674–1681.
- Pleskov, Y. V. (2007). *Synthetic Diamond Electrodes for Electroanalysis and Electrolysis*. In: *Electroanalytical Chemistry: Research Developments*, Ed.: Jiang, P. N., New York, NY: Nova Science Publishers. 183-228.
- Pletcher, D. and Walsh F. C. (1990). *Industrial Electrochemistry*. London: Chapman and Hall.
- Popović, N., Jugović, B., Jokić, B., Knežević-Jugov, J., Stevanović, J., Grgur, B. and Gvozdenović, M. (2015). Electrochemical template-free synthesis of nanofibrous polyaniline modified electrode for ascorbic acid determination. *International Journal of Electrochemical Science*, 10, 1208–1220.
- Pournaghi-Azar, M. H., Dastango, H. and Baj, R. F. B. (2005). Anodic stripping voltammetric determination of uranium at a thin palladium film-aluminum electrode: Analysis of some uranium mineral ores. *Radiochimica Acta*, 98(4), 203–208.
- Proença, P., Mustra, C., Marcos, M., Franci, J. M., Corte-Real, F. And Vieira, D. N. (2013). Validated UPLC-MS/MS assay for the determination of synthetic phosphodiesterase type-5 inhibitors in postmortem blood samples. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 20, 655–658.
- Rabbaa-Khabbaz, L. and Daoud, R. A. (2006). A Sensitive and Simple High Performance Liquid Chromatographic Method for Quantification of Tadalafil in Human Serum. *The Journal of Applied Research*, 6, 170–175.
- Rafati, A. A., Afraz, A., Hajian, A. and Assari, P. (2014). Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using a carbon paste electrode modified with multiwalled carbon nanotubes, ionic liquid, and palladium nanoparticles. *Microchim Acta*, 181, 1999 – 2008.
- Rajput, S. J. and Patel, S.G. (2008). Spectrofluorophotometric method for estimation of tadalafil in pharmaceutical dosage form. *Indian Drugs*, 45, 490–492.
- Rana, S., Mittal, S. K., Singh, N., Singh, J. and Banks, C. E. (2017). Schiff base modified screen printed electrode for selectivedetermination of aluminium(III) at trace level. *Sensors and Actuators B*, 239, 17–27.
- Rebec, G. V. (2007). *From Interferent Anion to Neuromodulator: Ascorbate Oxidizes its Way to Respectability*. In: *Electrochemical Methods for Neuroscience*, Ed.: Michael, A. C., Borland, L. M.; Boca Raton, FL: CRC Press. 149-166.
- Reepmeyer, J. C. and Woodruff, J. T. (2006). Use of liquid chromatography–mass spectrometry and a hydrolytic technique for the detection and structure elucidation of a novel synthetic vardenafil designer drug added illegally to a “natural” herbal dietary supplement. *Journal of Chromatography A*, 1125, 67–75.

- Rezaei, B., Askarpour, N., Ensafi, A. A. (2013). Adsorptive stripping voltammetry determination of methyl dopa on the surface of a carboxylated multiwall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode in biological and pharmaceutical samples. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*, 109, 235–258.
- Rubianes, M. D. and Rivas, G. A. (2013). Carbon nanotube pasta electrode. *Electrochemistry Communications*, 5, 689–694.
- Rummeli, M. H., Ayala, P. and Pichler T. (2010). *Carbon nanotubes and Related Structures: Production and Formation*, In: *Carbon Nanotubes and Related Structures: Synthesis, Characterization, Functionalization and Applications*, Ed.: Guldi, D. M., Martin, N., Weinheim: Wiley – VCH. 1-21.
- Sadok, I., Tyszczyk-Rotko, K. and Nosal-Wiercinska, A. (2016). Bismuth particles Nafion covered boron-doped diamond electrode for simultaneous and individual voltammetric assays of paracetamol and caffeine. *Sensors and Actuators B*, 235, 263–272.
- Sanghavi, B. J. and Srivastava, A. K. (2016). Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode. *Electrochimica Acta*, 55, 8638–8648.
- Sarıgül, T. (2010). *Bazı sulfonilüre grubu pestisitlerin elektrokimyasal tekniklerle incelenmesi ve tayinleri*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. and Crouch, S. R. (2004). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 8th Ed. Belmont, CA: Brooks–Cole–Thomson Learning.
- Soliman, S. M., El-Agizy, H. M. Y. and El-Bayoumib, A. E. A (2014). Derivative synchronous fluorescence spectroscopy for the simultaneous determination of dapoxetine hydrochloride and vardenafil in binary mixtures. *Journal of Applied Spectroscopy*, 81(3), 509–518.
- Strano-Rossi, S., Odoardi, S., Castrignano, E., Serpelloni, G. and Chiarotti M. (2015). Liquid chromatography–high resolution mass spectrometry (LC–HRMS) determination of stimulants, anorectic drugs and phosphodiesterase 5 inhibitors (PDE5I) in food supplements. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 106, 144–152.
- Su, Z., Pan, D., Han, H., Lin, M., Hu, X. and Wu, X. (2015). Synthesis, properties and application of polyaniline/titanium carbide nanoparticles modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 10, 2413–2420.
- Suarez-Martinez, I., Grober, N. and Ewels, C. P. (2012). *Encyclopedia of Carbon Nanoforms*. In: *Advances in Carbon Nanomaterials: Science and Applications*. Ed.: Tagmatarchis N., Singapore: Pan Stanford Publishing. 1–66.

- Subba Rao, D. V., Radhakrishnan, P. and Himabindu, V. (2008). Development of a validated LC assay for Valgancic bulk drug and pharmaceutical dosage form. *Chromatographia*, 67, 183–188.
- Suyanta, Sunarto, Sari, L. P., Wardani, N. I. And Isa, I. (2014). Differential adsorptive stripping voltammetric determination of ultra trace lanthanum (III) based on carbon paste electrode modified with 3-methyl-2-hydrazinobenzothiazole. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 7763–7772.
- Svancara, I., Kalcher K., Walcarius A and Vytras K. (2012). *Electroanalysis with Carbon Pasta Electrodes*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Swain, G. M. (2007). *Solid Electrode Materials: Pretreatment and Activation*. In: *Handbook of Electrochemistry*, Ed.: Zoski, C.G., Amsterdam, Elsevier. 111–154.
- Tang, J. and Jin, B. (2016). Poly (crystal violet)–Multi-walled carbon nanotubes modified electrode for electroanalytical determination of luteolin. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 780, 46–52.
- Tang, J., Wang, W., Zheng, S., Zhang, Y., Wei, J. and Wang, J. (2016). Electrochemical determination of tert-butyl hydroquinone in edible oil samples at poly (crystal violet) modified glassy carbon electrode. *Food Analytical Methods*, 9, 3044–3052.
- Terbouche, A., Lameche, S., Ait-Ramdane-Terbouche, C., Guerniche, D., Lerari, D., Bachari, K. and Hauchard, D. (2016). A new electrochemical sensor based on carbon paste electrode/Ru(III) complex for determination of nitrite: Electrochemical impedance and cyclic voltammetry measurements. *Measurement*, 92, 524–533.
- Thomas, F. G. and Henze, G. (2001). *Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice*. Colingwood: CSIRO Publishing.
- Tseng, S. H., Lee, W. C., Chang, P. C. and Chou, S. S. (1988). Analytical methods for the determination of acifluorfen and bentazone residues in crops. *Journal of Food Drug Analysis*, 6, 559–572.
- Tukur, S. A., Yusof, N. A. and Hajian, R. (2015). Gold nanoparticles-modified screen-printed electrode for determination of Pb(II) ion using linear sweep anodic stripping voltammetry. *IEEE Sensors Journal*, 15(5), 2780–2784.
- Tural, H., Gökçel, H. İ. ve Ertaş, F. N. (2003). *Enstrümantal Analiz I Elektroanalitik Yöntemler*, İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Basımevi, 186, 315.
- Türker-Acar, E., Ortaboy, S., Hisarlı, G. and Atun, G. (2015). Sensitive determination and electro-oxidative polymerization of azodyes on a carbon paste electrode modified with bentonite. *Applied Clay Science*, 105-106, 131–141.
- Uslu, B. and Ozkan, S. A. (2007). Solid Electrodes in Electroanalytical Chemistry: Present Applications and Prospects for High Throughput Screening of Drug Compounds. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 10, 495–513.

- Uslu, B., Dogan, B., Ozkan, S. A. and Aboul-Enein, H. Y. (2005). Electrochemical behavior of vardenafil on glassy carbon electrode: Determination in tablets and human serum. *Analytica Chimica Acta*, 552, 127–134.
- Vahedi, J., Karimi-Maleh, H., Baghayeri, M., Sanati, A. L., Khalilzadeh, M. A. and Bahrami, M. (2013). A fast and sensitive nanosensor based on MgO nanoparticle room-temperature ionic liquid carbon paste electrode for determination of methyl dopa in pharmaceutical and patient human urine samples. *Ionics*, 19, 1907 – 1914.
- Vu D. L., Ertek, B., Cervenka, L. And Dilgin, Y. (2013). Determination of insulin using a pretreated pencil graphite electrode. *Sensing in Electroanalysis*, 3, 305–313.
- Wang, J. (2006). *Analytical Electrochemistry*, 3 rd Ed.: Hoboken, NJ: John Wiley and Sons.
- Wang, J., Liu, X., Wang, Y., Yu, L., Peng, H. and Zhu, J. Z. (2017). Fe NPs and MWCNTs based electrode as FIA detector for determination of amino acids in hypothalamus microdialysis fluids. *Sensors and Actuators B*, 238, 834–841.
- Williard H. H., Merrit, L. L., Dean, J. A. and Settle, F. A. (1981). Instrumental methods of analysis. 6th Ed., New York: Litton Educational Publishing Inc. 691 – 734.
- Wu, K., Sun, Y. and Hu S. (2003). Development of an amperometric indole-3-acetic acid sensor based on carbon nanotubes film coated glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 96, 658–662.
- Xi, L., Zhang, D., Wang, F., Huang, Z. and Ni, T. (2016). Layer-by-layer assembly of poly(p-aminobenzene sulfonic acid)/ quaternary amine functionalized carbon nanotube/p-aminobenzene sulfonic acid composite film on glassy carbon electrode for the determination of ascorbic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 767, 91–99.
- Xiao, C., Tang, M., Li, J., Yin, C., Xiang, G. and Xu, L. (2013). Determination of sildenafil, vardenafil and aildenafil in human plasma by dispersive liquid–liquid microextraction-back extraction based on ionic liquid and high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *Journal of Chromatography*, 931, 111–116.
- Yang, Y. J., Song, D. M., Jiang, W. M. and Xiang, B. R. (2010). Rapid Resolution RP-HPLC-DAD Method for Simultaneous Determination of Sildenafil, Vardenafil, and Tadalafil in Pharmaceutical Preparations and Counterfeit Drugs. *Analytical Letters*, 43(3), 373–380.
- Yıldız, A ve Genç, Ö. (1993). *Enstrümental Analiz*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Yosypchuk, B., Fojta, M., and Barek, J. (2010). Preparation and properties of mercury film electrodes on solid amalgam surface. *Electroanalysis*, 22(17-18), 1967–1973.

- Yunoos, M., Sankar, D. G., Kumar, B. P. and Hameed S (2010). UV spectrophotometric method for the estimation of tadalafil in bulk and tablet dosage form. *E-Journal of Chemistry*, 7, 833–836.
- Zau, P., Oh, S. S. Y., Hou, P., Low, M. Y. and Koh, H. L. (2005). Simultaneous determination of synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors found in a dietary supplement and pre-mixed bulk powders for dietary supplements using high-performance liquid chromatography with diode array detection and liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1104, 113–122.
- Zhan, T., Song, Y., Tan, Z. and Hou, W. (2017). Electrochemical bisphenol A sensor based on exfoliated Ni₂Al-layered double hydroxide nanosheets modified electrode. *Sensors and Actuators B*, 238, 962–971.
- Zhang, G., He, P., Feng, W., Ding, S., Chen, J., Li, L., He, H., Zhang, S. and Dong, F. (2016). Carbon nanohorns/poly(glycine) modified glassy carbon electrode: Preparation, characterization and simultaneous electrochemical determination of uric acid, dopamine and ascorbic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 760, 24–31.
- Zhao, G., Wang, H., Liu, G. and Wang, Z. (2016). Box–Behnken response surface design for the optimization of electrochemical detection of cadmium by square wave anodic stripping voltammetry on bismuth film/glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B*, 235, 67–73.
- Zhao, G., Wang, H., Liu, G. and Wang, Z. (2016). Simultaneous Determination of Cd(II) and Pb(II) Based on Bismuth Film/Carboxylic Acid Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes- β -cyclodextrin-Nafion Nanocomposite Modified Electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 11, 8109–8122.
- Zhu, X., Xiao, S., Chen, B., Zhang, F., Yao, S., Wan, Z., Yang, D. and Han, H., (2005). Simultaneous determination of sildenafil, vardenafil and tadalafil as forbidden components in natural dietary supplements for male sexual potency by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1066, 89–95.
- Zuman, P. (1997). Half a century of research using polarography. *Microchemical Journal*, 57, 4–51.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DEMİR, Ersin
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 15.07.1986, Malatya
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (506) 606 40 44
 Faks : 0 (312) 202 37 10
 e-mail : ersin.demir2012@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi /Kimya	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Erzincan Üniversitesi /Kimya	2012
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi /Kimya	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2013-Halen	Okan Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

İnam, R., Can, E., Demir, E., “Electrooxidation and determination of methacetin (p-acetinsidide) by square wave voltammetry using multiwalled carbon nanotube electrode” Analytical Methods, 5 (22), 6338-6344 (2013).

Sarıgül, T., İnam, R., Demir, E., Aboul-Enein, H. Y., “Electro-oxidation and determination of benomyl by square wave adsorptive stripping voltammetry” Journal of JAOAC International, 97 (4), 995-1000 (2014).

- Demir, E., İnam, R., Özkan, S. A., Uslu, B., Ersin Demir, “Electrochemical behavior of tadalafil on TiO₂ nanoparticles MWCNT composite paste electrode and determination in pharmaceutical dosage forms and human serum samples using adsorptive stripping square wave voltammetry” *Journal of Solid State Electrochemistry*, 18 (10), 2709-2720 (2014).
- Demir, E., İnam, R., “Study and determination of the rimsulfuron herbicide on hanging mercury electrode by square wave voltammetry”, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94 (13), 1330-1341 (2014).
- Demir, E., Kemer, B., Bekircan, O., Aboul-Enein, H. Y., “A Novel Iron(III)-Selective Membrane Potentiometric Sensor Based on 5-chloro-3-[4-(trifluoromethoxy)phenylimino] indolin-2-one”, *Current Analytical Chemistry*, 11 (1), 29-35 (2015).
- Demir, E., Kemer, B., Işıldak, İ., Aboul-Enein, H. Y., “Fe³⁺-Ion Selective Electrode Developed as a Detector in Flow Injection Analysis”, *Current Analytical Chemistry*, 11 (2), 104-108 (2015).
- Çaglar, B., Çubuk, O., Demir, E., Coldur, F., Catir, M., Topcu, C., Tabak, A., Characterization of AlFe-pillared Unye bentonite: A study of the surface acidity and catalytic property” *Journal of Molecular Structure*, 1089, 59 – 65 (2015).
- Demir, E., İnam, R., “Voltammetric behavior of bupirimate fungicide and its square wave voltammetric determination in water and peach juice sample”, *Ionics*, 22 (2), 269-276 (2016).
- Demir, E., İnam, R., “Square Wave Voltammetric Determination of Fomesafen Herbicide Using Modified Nanostructure Carbon Paste Electrode as a Sensor and Application to Food Samples”, *Food Analytical Methods*, Kabul edildi (2016).

Bildiriler

Uluslararası bildiriler

- B. Kemer, Ersin Demir, İ. Işıldak, O. Bekircan, “Iron(III)-selective membrane potentiometric sensor based on 5-chloro-3-[4-(trifluoromethoxy) phenylimino] indolin-2-one”, 8th International Electrochemistry Meeting in Turkey, PII-20, Ankara University, Antalya, Turkey (2009).
- O. Çubuk, C. Topçu, Ersin Demir, B. Kemer, O. Bekircan, İ. Işıldak, “Fe(III)-ion selective electrode developed as a detector in flow injection analysis for the determination of Fe(III) ions in several sample matrices”, 9th International Electrochemistry Meeting in Turkey, Ege University, İzmir, Turkey, 2011.
- Ersin Demir, Recai İnam, Bengi Uslu, Sibel A. Ozkan, “Electrochemical behavior of tadalafil on the TiO₂-modified carbon nanotube electrode and its application to pharmaceutical drugs”, XVII European Conference on Analytical Chemistry, Warsaw, Poland, 2013.

Ersin Demir, Recai İnam, Eda Can, “Determination of methacetin [N-(4-methoxyphenyl)acetamide] by square wave voltammetry using multiwalled carbon nanotube electrode”, 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry (6BBCAC), Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey, 2013.

Ersin Demir, Recai İnam, “Determination of rimsulfuron by square wave voltammetry using static mercury drop electrode”, 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry (6BBCAC), Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey, 2013

Betül Yasemin AKAR, Ersin Demir, Kadir Taylan ÇETİN, Cihangir KARALAR, “Pre-Harvest Crop Pesticide Analysis In It’s Structure to Do Hand – Held Multi Meter”, 8th MGPR International Symposium of Pesticides in Food and the Environment in Mediterranean Countries" Cappadocia, Turkey, 2013.

Ersin Demir, Recai İnam, Bengi Uslu, Sibel A. Ozkan, “Electrochemical behavior of tadalafil on the TiO₂-modified carbon nanotube electrode and its application to pharmaceutical drugs”, 44th World Chemistry Congress, Istanbul, Turkey, 2013.

Ersin Demir, Onur İnam, Recai İnam; “Electro-oxidation behavior of dexamethasone on the modified-multi walled carbon nanotube electrode and its application to biological samples,” International Eurasia Pharmacy Congress, Erzincan University, Erzincan, Turkey, 2015.

Burcin Bozal-Palabıyık, Bengi Uslu*, Ersin Demir, Recai İnam; “Modified Electrode Design for Sensitive Detection of Vardenafil From Pharmaceutical Dosage Forms” 7th Szeged Internaional Workshop on Advances in Nanoscience (SIWAN7), Hungary, 2016.

Ulusal bildiriler

B. Kemer, Ersin Demir, N. Beyik, Ü. Ocak, İ. Işıldak, M. Özdemir, “Yeni katı-hal kontakt PVC membran Be²⁺- seçici elektrot ve uygulamaları”, I. Eser Analiz Çalıştayı, P 07, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye, 2010.

B. Çağlar, O. Çubuk, Ersin Demir, Ö. Sungur, A. Tabak, “Fe/Al-sütunlanmış bentonitin yapısal özellikleri ve katalitik etkisi”, III. Fiziksel Kimya Günleri, Burhaniye/Balikesir, Türkiye, 2012.

Ersin Demir, Recai İnam, Bengi Uslu, Sibel A. Ozkan, “TiO₂-Nanopartiküller ile Modifiye Elektrotlar Geliştirilmesi ve Analitik Uygulaması”, III. Ulusal Uygulamalı Elektrokimya Lisansüstü Yaz Okulu ve Çalıştayı, Balıkesir Üniversitesi, Ayvalık, Türkiye, 2014.

Ersin Demir, Barış Kemer, Olcay Bekircan, “Potansiyometrik Yöntemlerle Fe⁺² Varlığında Direk Fe⁺³ Ölçümü”, 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, Türkiye, 2014.

Ersin Demir, Barış Kemer, “Hidrojen İyon Seçici Elektrotların Geliştirilmesi ve Analitik Uygulaması”, 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye, 2015.

Ersin Demir, Şükran Cenikli Başeren, “Fe(III) İyon Seçici Elektrotların Geliştirilmesi ve Uygulamalarına Genel Bakış”, 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye, 2015.

Sözlü bildiriler

Ersin Demir, Recai İnam, “Asılı Cıva Damla Elektrot ile Bupirimat Fungisidin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi ve Yöntemin Gıda Nunumelerine Uygulanması”, III. Eser Analiz Çalıştayı, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye, 2014.

Ersin Demir, Onur Yarar, Serhat Bülbül, Kamil Şahin, Mustafa Güler, “Türkiye’deki Perfüzyon Tekniklerin Eğitimi”, 13. Kalp ve Damar Kongresi, Perfüzyon Bölümü, Antalya, Türkiye, 2014.

Recai İnam, Ersin Demir, “Fomesafen Herbisitinin Karbon Nanotüp Pasta Elektrot Kullanılarak Kare Dalga Voltametri İle Tayini” IV. Eser Analiz Çalıştayı, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, Türkiye, 2016.

Ersin Demir, Recai İnam, Burçin Bozal-Palabıyık, Bengi Uslu, “Vardenafil’in Farmasötik Dozaj Şekillerinden Duyarlı Tayini için Modifiye Elektrot Tasarımı” 8. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye, 2016.

Hobiler

Masa Tenisi, Futbol, Doğa Yürüyüşü, Halk Oyunları, Gezinti



GAZİ GELECEKTİR...