

**ZnO MODİFİYE KARBON PASTA ELEKTROT
İLE MONTELUKAST SODYUMUN
VOLTAMETRİK TAYİNİ**

Bernu HATİPOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

2019

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZnO MODİFİYE KARBON PASTA ELEKTROT İLE MONTELUKAST SODYUMUN
VOLTAMETRİK TAYİNİ

Bernu HATİPOĞLU

KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK danışmanlığında, Bernu HATİPOĞLU tarafından hazırlanan “ZnO Modifiye Karbon Pasta Elektrot ile Montelukast Sodyum’un Voltametrik Tayini” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Pınar Esra ERDEN

İmza:

Üye: Doç. Dr. İbrahim İsmet ÖZTÜRK

İmza:

Üye: Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ZnO MODİFİYE KARBON PASTA ELEKTROT İLE MONTELUKAST SODYUMUN VOLTAMETRİK TAYİNİ

Bernu HATİPOĞLU

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

Bu çalışmada, astım inhibitörü özelliğe sahip bir aktif madde olan Montelukast sodyumun elektrokimyasal davranışları; metanol - Britton-Robinson ortamında pH 2,3 de, çinko oksit nanopartiküllü modifiye karbon pasta elektrot kullanılarak, dönüşümlü voltametri (CV), kare dalga voltametri (SWV) ve kare dalga katodik adsorptif sıyırma voltametri teknikleri kullanılarak incelendi. Montelukast sodyumun çinko oksit nanopartiküllü modifiye karbon pasta elektrot yüzeyinde adsorpsiyon özellikleri incelenerek indirgenme reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı difüzyon katsayısı gibi bazı elektrokimyasal parametreleri hesaplandı. Montelukast sodyumunun farmasötik örnekler ve serumda tayini için kare dalga katodik adsorptif sıyırma voltametri (KDKAdSV) yöntemi geliştirildi. Bu yöntem ile elde edilen pik akımı-derişim grafiklerinden doğrusal çalışma aralığı ve alt tayin sınırı sırasıyla $1,0 \times 10^{-8}$ – $1,28 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ ve $7,7 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ olarak belirlendi. Uygulanan voltametrik yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile tablet ve insan serumu örneklerine eklenen Montelukast sodyumun geri kazanım çalışmaları yapıldı. Bu yöntem farmasötik örnekler ile serum ortamında bulunan montelukast sodyumun tayini için kullanıldığında; güvenilir, tekrarlanabilir, yüksek doğruluk ve kesinliğe sahip sonuçlar elde edildi. Geliştirilen yöntemlerin uygulama sonuçları ve validasyon parametreleri söz konusu ilaç etken maddesi için literatürde önerilen standart yöntemlerin sonuçları ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sonuçlar arasında % 95 güven seviyesinde anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Montelukast sodyum, voltametri, ZnO nanopartikülleri, karbon pasta elektrot, tablet, insan serumu

2019, 68 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

ZnO MODIFIED CARBON PASTE ELECTRODE WITH MONTELUKAST SODIUM VOLTAMMETRIC DETERMINATION

Bernu HATİPOĞLU

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Funda ÖZTÜRK

In this study, electrochemical behaviors of Montelukast Sodium, the asthma inhibitor active substance, was investigated on zinc oxide nanoparticles modified carbon paste electrode in methanol-Britton-Robinson buffer mixture (pH 2,3) by cyclic voltammetry (CV) and square wave voltammetry. The number of electron transferred in the reduction of Montelukast Sodium and adsorption properties were determined as the related to electrochemical behavior of Montelukast sodium. Also in biological media, such as drug and serum samples, the pharmaceutical active substance used with the cases question for the determination of substances have been studied. Peak current of electrochemical reduction of montelukast sodium was found to vary linearly with the concentration in the range from $1,0 \times 10^{-8}$ to $1,28 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. In this method, limit of detection was found to be $7,7 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Proposed methods were applied to pharmaceutical and biological samples and reproducible results with high accuracy, precision and confidence were obtained. The results obtained through the experiments were compared with the other electrochemical methods in the literature.

Keywords: Montelukast sodium, voltammetry, ZnO nanoparticles, carbon paste, pharmaceutical preparation, human serum

2019, 68 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGE DİZİNİ.....	viii
SİMGELER DİZİNİ	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	4
2.1 Astım ve Tedavi Yöntemleri.....	4
2.1.1 Montelukast sodyum (MKST)	6
2.2 Elektrokimyasal Yöntemler	7
2.3 Voltametik Yöntemler	9
2.3.1 Dönüşümlü Voltametri.....	13
2.3.1.1 Adsorpsiyonun dönüşümlü voltametri ile incelenmesi.....	14
2.3.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)	15
2.3.3 Kare Dalga Voltametrisi (KDV).....	16
2.3.4 Sıyırma Voltametrisi.....	17
2.3.4.1 Anodik sıyırma voltametrisi (ASV).....	18
2.3.4.2 Katodik sıyırma voltametrisi (KSV).....	19
2.3.4.3 Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)	20
2.4 Elektrokimyasal Reaksiyonlar	21
2.4.1 Tersinir Reaksiyonlar.....	21
2.4.2 Tersinmez ve Yarı-Tersinir Sistemler.....	22
2.5 Alternatif Akım (A.C.) Empedans Yöntemi	23
2.6 Nanoteknoloji.....	27
2.5.1 Nanopartiküller	28
2.6 Kaynak Araştırması	30
3. MATERYAL ve METOD	36
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	36

3.2 Kullanılan Elektrokimyasal Ölçme Sistemleri ve Yazılımlar.....	36
3.3 Kullanılan Elektrotlar.....	38
3.4 Kullanılan Diğer Cihaz ve Malzemeler	38
3.5 Hazırlanan Çözeltiler	38
3.5.1 Standart MKST çözeltisinin hazırlanması	38
3.5.2 Destek elektrolit stok çözeltilerin hazırlanması.....	39
3.5.3 Farmasötik örneklerin ve biyolojik sıvıların hazırlanması	39
3.6 Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması.....	40
3.7 Elektrokimyasal Deneyler ve Ölçümlerin Yapılışı	40
3.7.1 Dönüşümlü voltametri (DV) deneylerinin yapılışı	40
3.7.2 Kare dalga voltametri (KDV) deneylerinin yapılışı.....	40
3.7.3 Kare dalga adsorptif sıyırma (KDKAdSV) deneylerinin yapılışı.....	41
3.7.4 Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması.....	41
3.7.5 Kalibrasyon parametrelerinin belirlenmesi.....	41
3.7.5.1 Doğrusal çalışma aralığı	41
3.7.5.2 Doğruluk	41
3.7.5.3 Tekrarlanabilirlik	42
3.7.5.4 Duyarlık	42
3.7.5.5 Gözlenebilme sınırı (LOD).....	42
3.7.5.6 Aktarılan elektron sayısı (n) ile yük aktarım katsayısının (β) çarpımının bulunması...42	
4. DENEY SONUÇLARI VE BULGULAR.....	44
4.1 MKST' nin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	44
4.1.1 Dönüşümlü Voltametri çalışmaları	44
4.1.2 MKST' nin adsorpsiyon özelliği.....	47
4.1.4 Elektrot reaksiyonunda yer alan H^+ sayısının bulunması ve pH' nın pik akımına ve pik potansiyeline etkisi.....	47
4.1.3 Empedans Ölçümleri.....	51
4.2 MKST' nin Sıyırma Voltametri ile Tayini için Yöntem Geliştirme	52
4.2.1 Cihaz parametrelerinin optimizasyonu	52
4.2.2 Yöntem parametrelerinin optimizasyonu.....	52
4.2.2.1 Biriktirme potansiyelinin belirlenmesi	52
4.2.2.2. Biriktirme süresinin belirlenmesi.....	53
4.3 KDKAdSV Yönteminin Analitik Uygulamaları.....	54

4.3.1 Derişim çalışması.....	54
4.4 Kalibrasyon grafikleri kullanılarak farmasötik örneklerden ve serum örneklerinden madde miktarı tayini.....	55
4.4 Geliştirilen Yöntemin Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi	56
4.4.1 Doğrusal çalışma aralığı	56
4.4.2 Yöntemin doğruluğu	56
4.4.3 Tekrarlanabilirlik	56
4.4.3.1 Aynı çözeltide (gün içi) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik.....	57
4.4.3.2 Farklı çözeltilerde (günler arası) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik ..	57
5.4.4 Yöntemin kesinliği.....	58
5.4.5 Yöntemin seçiciliği	58
5.4.7 Gözlenebilme sınırı.....	59
5.4.8 Alt tayin sınırı	59
5.4.9 Sağlamlık	59
4.5 Yöntem Sonuçlarının ve Parametrelerinin İstatiksel Olarak Karşılaştırılması	60
5. SONUÇLAR.....	62
6. KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1: Elektrokimyasal hücre giriş ve çıkışlar (www.basinc.com, 20.08.2018)	10
Şekil 2.2: Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametrde potansiyel taramasının zamanla değişimi.....	13
Şekil 2.3: (a) Giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması, (b) diferansiyel puls polarografisinde elde edilen akım-potansiyel eğrisi	15
Şekil 2.4: Kare dalga voltametrde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli.....	16
Şekil 2.5: Sıyırma voltametrinde potansiyel-zaman göstergesi	17
Şekil 2.6: DV' de tersinmez (A) ve yarı tersinir (B) mekanizmalara ait voltamogramlar (x ve y eks birimleri ile beraber enlerini yaz x eksen potansiyel y eksen akım.....	223
Şekil 2.7: Empedans eğrilerinin şematik yaklaşımı (Erbil 2002)	25
Şekil 2.8: Eşdeğer devre modeli	25
Şekil 2.9: Şekil 2.8' de verilen elektrik devresinin empedansının Nyquist diyagramı.....	27
Şekil 3.0: Drop-Sense çalışma ünitesi (www.dropsens.com, erişim tarihi 20.08.2018).....	37
Şekil 3.1: BAS C3 elektrot hücre standı (www.basinc.com, erişim tarihi 20.08.2018)	37
Şekil 4.1: MKST'nin molekül yapısı.....	44
Şekil 4.2: $2,5 \times 10^{-4}$ M MKST'nin MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisi ortamında, sade KPE	45
Şekil 4.3: $2,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE'de pH 2,3'te MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları.....	46
Şekil 4.4: ZnO-NP-KPE' ta $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ MKST'nin, farklı pH değerlerindeki kare dalga voltamogramları (pik potansiyellerinin ve pik akımlarının pH ile değişimini gösteren grafik iç grafik olarak verildi).	48
Şekil 4.5: $2,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE'de pH 2,3'te MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından elde edilen log $v-E_p^k$ grafiği.....	49
Şekil 4.6 MKST' nin elektrokimyasal reaksiyon mekanizması.....	50
Şekil 4.7 Nyquist eğrisi sade KPE (Δ), ZnO-NP-KPE (\diamond) $5,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ içeren $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ çözeltisi içinde	51
Şekil 4.8 $1,00 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE ile elde edilen pik akımlarının biriktirme potansiyeli ile değişimi (pH 2,3).....	53
Şekil 4.9: $1,00 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE' ta elde edilen pik akımlarının biriktirme süresi ile değişimi (pH 2,3).....	54

Şekil 4.10 MKST' nin ZnO-NP-KPE' ta farklı derişimlerde alınan voltamogramları (a) 0,01; b) 0,04; c) 0,08; d) 0,16; e) 0,32; f) 0,64; g) 1,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (pH: 2,3, E_{bir} : 0,0 V, t_{bir} : 60 s MKST' nin akım-derişim grafiği iç grafik olarak verilmiştir).....	55
Şekil 4.11: KDKAdSV yönemi ile aynı gün, aynı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (E_{bir} : 0,0 V, t_{bir} : 60 s, C_{MKST} : $6,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, pH: 2,3).	57
Şekil 4.12: KDKAdSV yönemi ile farklı gün, aynı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (E_{bir} : 0,0 V, t_{bir} : 60 s, C_{MKST} : $6,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, pH: 2,3).	58

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 1.1 Astım tedavisinde kullanılan farmakolojik tedavi yöntemleri.....	5
Çizelge 2.1: Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	9
Çizelge 2.2: Voltametrik çalışma elektrotlarının sınıflandırılması	12
Çizelge 3.1: Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firma ve saflık dereceleri	36
Çizelge 4.1: Sıyırma voltametri yöntemi için optimum cihaz parametreleri.....	52
Çizelge 4.2 KDKAdSV Yöntemi için optimum yöntem parametreleri.....	54
Çizelge 4.3: KDKAdSV yönteminin tablet örneklerine uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar	55
Çizelge 4.4: KDKAdSV yönteminin serum örneklerine uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar	56
Çizelge 4.5: MKST tayini için geliştirilen yöntemin bazı validasyon parametreleri.....	59
Çizelge 4.6: MKST' a ait literatür özeti.....	61

SİMGELER DİZİNİ

A	: Elektrodun Yüzey Alanı, cm^2
BP	: Biriktirme Potansiyeli
BR	: Britton-Robinson Tamponu
BS	: Biriktirme Süresi
BSS	: Bağlı Standart Sapma
C	: Ana Çözeltideki Elektroaktif Maddenin Analitik Derişimi, mol/cm^3 , molL^{-1}
DV	: Dönüşümlü Voltametri
D	: Difüzyon Katsayısı, cm^2/s
E	: Uygulanan Potansiyel
E_{bir}	: Biriktirme Potansiyeli, V
E_0	: Standart Potansiyel, V
E_p	: Pik Potansiyeli, V
E_{pa}	: Anodik Pik Potansiyeli, V
E_{pk}	: Katodik Pik Potansiyeli, V
f	: Kare Dalganın Frekansı, s^{-1}
F	: Faraday Sabiti, $96485 \text{ C}/\text{mol e}^-$
i_d	: Difüzyon Akımı, A
\dot{I}_{nd}	: İndirgenmiş Tür
i_p	: Pik Akımı, A
i_{pa}	: Anodik Pik Akımı, A
i_{pk}	: Katodik Pik Akımı, A
KDKAdSV	: Kare Dalga Katodik Adsoratif Sıyırma Voltametri
KDV	: Kare Dalga Voltametri
n	: Aktarılan Elektron Sayısı
R	: Gaz Sabiti, $8,314 \text{ joule}/\text{mol K}$
SS	: Standart Sapma
T	: Mutlak Sıcaklık
t	: Zaman
t_{bir}	: Biriktirme Süresi, s
α	: Elektrot Reaksiyonunun Yük Transfer Katsayısı
Γ	: Elektrot Yüzeyine Adsorbe Olan Madde Miktarı, mol/cm^2

ΔE_a	: Puls Genliği, V
ΔE_i	: Kare Dalga Voltametrisinde Uyarma Sinyalinin Basamak Yüksekliği
ΔE_p	: Pik Potansiyelleri Arasındaki Fark, V
ΔI	: Net Akım, A
ΔI_{puls}	: Puls Voltameteilerinde Puls Öcesi ve Puls Sonrası Ölçülen Akımların Farkı
π	: Pi Sayısı
v	: Tarama Hızı, V/s, mV/s

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, izin günlerinde dahi yanımda olarak çalıőmalarıma destek olan büyük sabır ve emeğini gördüğüm saygıdeğer hocam Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK'e teőekkürlerimi sunarım.

Tüm tez çalıőmam boyunca manevi desteğini esirgemeyen, moral ve destekleri için eőim Ahmet HATIPOğLU' na ve destek olan tüm arkadaőlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca, her koőulda destekleri ile beni yreklendiren sevgili aileme tüm kalbimle teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Montelukast sodyum (MKST), kronik astım ve alerjik rinit tedavisinde kullanılan sisteinil lökotrien reseptörü güçlü ve seçici bir antagonisttir (**Satish ve ark. 2011**). Basit formülü $C_{35}H_{36}ClNO_3S$ 'dir. MKST etanol ve metanol içerisinde serbestçe çözünürken, asetonitril ve su içinde hemen hemen hiç çözünmez (**Sane ve ark. 2004**).

MKST ilaç etkileşimleri ve yan etkisi olmayan, bu sayede günde birkaç kez oral yoldan kullanılan, alerjen ve egzersiz kaynaklı bronkokonstriksiyonuna karşı etkinlik göstermiş olan ve 2 ve 12 yaş arasında çocuklar arasında kullanılmak üzere ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmış tek lökotrien niteleyicidir (**Capra ve ark. 2006**).

İlaç analizleri; formülasyon, kalite kontrol, kararlılık çalışmaları, farmakolojik testler gibi farmasötik işlemlerin çeşitli aşamalarında önem kazanmaktadır. Hastanelerde klinik çalışmaların desteklenmesi amacıyla ilaç analiz çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalar, formülasyon ve biyolojik sıvı gibi karmaşık ortamlardaki ilaçların analizleri için güvenilir ve geçerli analitik bir yöntem gerektirmektedir. Ayrıca gerekli çalışmalardan sonra üretime sunulan her etken madde için ayrı bir analiz yöntemine ihtiyaç duyulmaktadır. Uygulamada olan analiz yöntemlerinin maliyetlerini azaltmak, daha güvenilir ve daha hassas duruma getirmek için çalışmalar yapılmaktadır (**Zorluoğlu 2012**).

Montelukast sodyumun farmasötik formülasyonlarda ve biyolojik örneklerde tayini için literatürde, **Alsarra ve ark. 2005** yılında dönüşümlü voltametri (CV), doğru akım diferansiyel puls polarografi (DPP) ve alternatif akım polarografi yöntemlerini kullanarak montelukastın voltammetrik davranışlarını araştırdılar. **Shakalisava ve ark. 2008** yılında, montelukastın önemli safsızlıklarının analizinde kapiler elektroforez yöntemini kullandılar. Bu çalışmada ilk defa kapiler elektroforez yöntemi ile montelukastın bozulması, zamansal çalışma için kullanılmıştır. **Rathore ve ark. 2010** yılında montelukast sodyum ve levosetirizin etken maddelerinin eş zamanlı tayini için yüksek performans ince tabaka kromatografisi (HPTLC) yöntemi geliştirdiler. **Aslan ve ark. 2014 yılında** montelukast sodyumun tayini için titrant olarak hidroklorik asit kullanarak bir potansiyometrik titrasyon yöntemi geliştirildi ve doğruladı. **Gülcemal ve ark. 2014** yılında, kitosan modifiye karbon pasta elektrot (CPE)'de dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemlerini kullanarak montelukastın elektrokimyasal indirgenmesini bildirdiler.

Heli ve ark. 2014 yılında, arginin varlığında nano yapraklar sentezlediler. Sentezlenen nano yapraklar ile modifiye ettikleri karbon pasta elektrot varlığında; CV ve Amperometrik yöntemleri kullanılarak montelukast sodyumun tayinin bildirdiler. **Alghamdi 2014** yılında asılı cıva damla elektrot kullanarak adsorptif sıyırma voltametri yöntemi ile montelukast sodyumun tayinini rapor etti. Ancak, tüm bu yöntemlerin çeşitli sınırlamaları vardır. Spektrofotometrik yöntemlerde karışım analizlerinde veya diğer metabolitlerde düşük hassasiyet ve girişim söz konusu iken, kromatografik yöntemlerde pahalı malzemeler ve çoğu zaman zahmetli türevlendirme işlemi zaman alıcıdır. Titrimetrik yöntemler, HPLC veya kapiler elektroforez gibi modern ayırma teknikleri ile karşılaştırıldığında, seçicilik ve yüksek tayin limitleri bakımından eksiklik gösterir. Ayrıca kapiler elektroforez ayırımlarında, kantitatif tekrarlanabilirliğin düşük olması, yöntemin pratikte kullanılabilirliğini sınırlandırır (**Bonfilio ve ark. 2010**).

Bu nedenle, hızlı, basit, düşük maliyetli, doğru, hassas ve duyarlı bir yöntemin geliştirilmesi MKST' nin rutin analizleri için oldukça önemlidir. Elektroanalitik yöntemler farmasötik analizlerde, yukarıda belirtilen analitik yöntemlerle kıyaslandığında enstrümantal kolaylık, kısa analiz süresi, düşük maliyet, yüksek hassasiyet, geniş lineer aralık, düşük tayin sınırı gibi birçok avantaja sahiptir (**Siddiqui ve ark. 2013**). Literatür incelendiğinde, MKST'nin farmasötik ve biyolojik örneklerde tayinine yönelik az sayıda elektrokimyasal yöntemin olduğu görülmüştür. (Çizelge 4.6)

Bu tez çalışmasında kullanılan karbon pasta elektrotlar (KPE), 1958 yılında Adams' ın kullanmaya başlamasından bu yana elektroanalitik uygulamalar için kullanılmaktadır (**Adams, 1958**). Bu elektrotlar, düşük artık akım, düşük maliyet ve kolay modifikasyon avantajlarına sahiptir.

Nano boyutlu partiküller, geniş bir yüzey alanına ve farklı optik ve elektronik özelliklere sahip olduklarından dolayı modern teknolojik sistemlerde kullanılabilirliklerinin araştırılması önem kazanmıştır. Nano malzemeler, boyutlarının küçük olması sebebiyle üstün fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellik sergilerler. Metal ve metal oksitlerin nanopartiküllerde kullanımının elektrokimyasal yöntemlerin performans özelliklerini geliştirdiği bildirilmiştir (**Dalkıran ve ark. 2014, Toh ve ark. 2013**). Farklı nanomalzemeler arasında çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri, spesifik yüzey alanı, optik saydamlık, yüksek katalitik verimlilik, güçlü adsorpsiyon kabiliyeti, biyoyumluluk, kimyasal stabilite, hızlı elektron transferi gibi eşsiz özelliklerden dolayı, elektrokimyasal uygulamalarda önemli bir yer edinmiştir (**Hwa ve ark. 2014, Gupta ve ark. 2013**).

Karbon pasta elektrotlarda nanopartiküllerin kullanılması, elektrokimyasal yöntemlerin performansını arttırmak için umut verici bir yaklaşımdır (**Taherkhani ve ark. 2014**).

Bu tez çalışmasında da, astım tedavisinde kullanılan bazı ilaçlarda etken madde olarak bulunan montelukast sodyum (MKST) molekülünün ZnO nanopartikülü ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot (ZnO-NP-KPE) yüzeyinde elektrokimyasal davranışının dönüşümlü voltametri yöntemi ile incelenmesi ve çalışmalar sonunda tersinirlik, aktarılan elektron sayısı, adsorpsiyon özellikleri gibi elektrokimyasal parametrelerinin belirlenmesi amaçlandı. Daha sonra MKST' nin nicel tayini için voltametrik sıyırma yöntemlerinden kare dalga katodik adsorptif sıyırma voltametri (KDKAdSV) yöntemi kullanılarak yeni bir yöntem geliştirildi. Bu amaçla, deneysel ve cihaz parametreleri değiştirilerek uygun çalışma koşulları belirlendi. KDKAdSV yöntemi, MKST içeren farmasötik ve serum örneklerine uygulandı ve elde edilen veriler, gerçek değerle karşılaştırıldı.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Astım ve Tedavi Yöntemleri

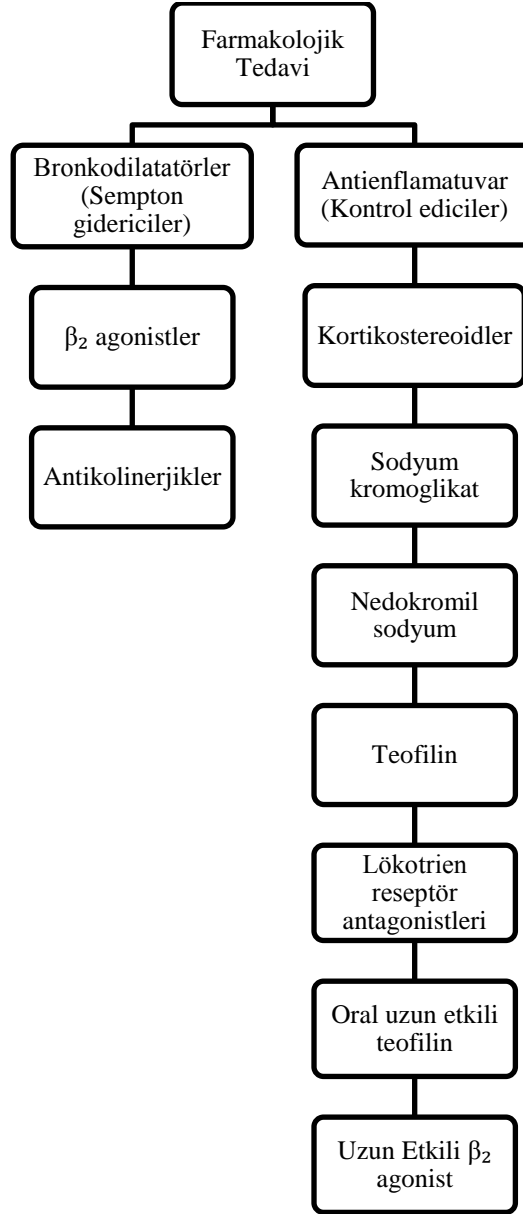
Astım birçok hücre ve hücre bileşeninin katıldığı genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldıkları kronik ve enflamatuvar bir hava yolu hastalığıdır. Kronik enflamasyon, özellikle gece veya sabahın erken saatlerinde meydana gelen tekrarlayan hışıltılı solunum, nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi ve öksürük ataklarına neden olan hava yolu aşırı duyarlılığıyla ilişkilidir. Bu ataklar genellikle akciğerlerde yaygın ama değişken ve çoğunlukla kendiliğinden veya tedaviyle geri dönüşlü bir hava yolu obstrüksiyonu ile ilişkilidir (**www.ginasthma.org, Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2011**).

Astımın dünyada yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilediği düşünülmektedir. Dünyanın farklı bölgelerinden bildirilen çok sayıda araştırma sonuçları, prevalans oranlarında büyük farklılıklar göstermektedir. Çocuk ve erişkinler için nispeten standardize ve karşılaştırılabilir yöntemlerle yapılan araştırmalarda, bu rakamların farklı ülkelerde %1 - 18 arasında değiştiği bulunmuştur. Erişkinlerdeki araştırmaların hemen tamamı European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) anketidir. Bu araştırma sonuçlarına göre astım prevalansının çocuklarda % 2 - 15 ve erişkinlerde ise % 2 - 5 arasında dağılım gösterdiği görülmektedir. Bazı çocukluk dönemi çalışmalarında elde edilen yüksek prevalans değerleri astım prevalansının yaşla azaldığını düşündürmektedir, ancak aksine bu yüksek değerler çocukluk döneminde bazı hışıltılı ile seyreden hastalıkların yanlışlıkla astım olarak tanı aldığı gerçeğine dayalı olabilir.

Astım prevalansı ülkemizde şehirler ve bölgeler arasında önemli farklılıklar göstermektedir. Genelde kıyı kesimleri, şehirler, büyük anakentler ve düşük sosyoekonomik yaşam koşullarında daha sıktır. Çocuklukta erkeklerde, erişkin dönemde kadınlarda biraz daha sıktır. Ülke çapında morbidite, mortalite ve maliyete ilişkin net bilgiler yoktur. Farklı ülkelerde son 30 yılda yapılan araştırmalar astım prevalansında artış olduğunu göstermekte iken, yakın dönemdeki araştırmalar ise bu artışın durduğunu, kimi yerlerde tersine döndüğünü göstermiştir (**Von Hertzen ve ark. 2002**).

Astım tedavisi eğitim, korunma ve farmakolojik tedavi olmak üzere üç basamaktan oluşur. Farmakolojik tedavide kullanılan ilaçlar bronkodilatatörler ve antiinflamatuvarlar olmak

üzere iki gruba ayrılır. Bronkodilatatör olarak β_2 agonistler, antikolinerjikler, teofilin, antiinflamatuar olarak kortikosteroidler, kromonlar, lökotrien reseptör antagonistleri, oral uzun etkili teofilin, uzun etkili β_2 agonistler kullanılmaktadır (**Toraks Dergisi 2000**).



Çizelge 1.1 Astım tedavisinde kullanılan farmakolojik tedavi yöntemleri

Bu tez çalışması kapsamında molantiinflamatuvarlar grubunun lökotrien reseptör antagonistleri grubuna ait montelukast sodyum (MKST) ilaç etken maddesi incelenmiştir.

2.1.1 Montelukast sodyum (MKST)

MK-0476(1-(((1(R)-3-(2-(7-chloro-2-quinolinyl)-(E)-ethenyl)phenyl)(3-2-1(1-hydroxy-1-methylethyl)phenyl)propyl)thio)methyl)cyclopropane asetik asit sodyum tuzu olarak da bilinir. Montelukast sodyum, LTD4 ün kuvvetli ve selektif bir inhibitörüdür. Biyokimyasal ve farmakolojik biyoanalizlere dayanarak CysLT1 reseptörüne yüksek bir afinite ve seçicilikle bağlanır.

Montelukast, herhangi bir agonistlik aktivite göstermeksizin CysLT1 reseptörüne LTC4, LTD4 ve LTE4'ün fizyolojik etkilerini kuvvetle inhibe eder (**Jones ve ark. 1995**).

Farmakokinetik özellikleri

Oral uygulamadan sonra montelukast hızla ve hemen hemen tümüyle emilir. Doruk plazma konsantrasyonuna (C_{max}) 3 saatte ulaşır. Montelukast plazma proteinlerine % 99'dan fazla bağlanır. Montelukast karalı durum dağılım hacmi ortalama 8 - 11 litredir. Montelukast büyük oranda metabolize olur.

Montelukastın metabolitlerinin hemen hemen tümü safra ile atılmaktadır. Montelukastın ortalama plazma yarılanma ömrünün 2,7 - 5,5 saat arasında değiştiği gösterilmiştir (**Balani ve ark. 1997**).

Oral uygulamadan sonra montelukast hızla ve hemen hemen tümüyle emilir. Ortalama oral biyoyararlanım, % 64'tür. Tedavi dozlarıyla yapılan çalışmalarda, erişkin ve çocuk hastalarda montelukastın metabolitlerinin plazma konsantrasyonları kararlı durumda saptanamaz.

Farmakolojik etkileri

Montelukast sodyum sisteinil lökotrien CysLT1 reseptörünü spesifik olarak inhibe eden, selektif ve oral yoldan etkin bir lökotrien reseptör antagonistidir.

Montelukast, astıma bağlı enflamasyon parametrelerini anlamlı derecede iyileştiren, güçlü oral yoldan etkin bir bileşiktir. Biyokimyasal ve farmakolojik biyoanalizlere dayanarak

CysLT1 reseptörüne (prostanoid, kolinerjik veya β - adrenejik reseptör gibi diğer farmakolojik açıdan önemli havayolu reseptörleri yerine) yüksek bir afinite ve seçicilikle bağlanır. Montelukast herhangi bir agonist aktivite göstermeksizin CysLT1 reseptöründe LTC₄, LTD₄, LTE₄ 'ün fizyolojik etkilerini kuvvetle inhibe eder (**Balani ve ark. 1997**).

Sisteinil LT'ler astımın akut ve kronik belirtileri ile alerjik rinit (AR) ve diğer nasal hastalıkların fizyopatolojisinde önemli rol oynarlar. Sisteinil LT'lerin astım ve AR'in klinik belirtilerindeki önemi Lökotrien reseptör antagonistlerinin tedavideki faydaları gösterilerek anlaşılmıştır. Kolon kanseri, atopik dermatit (AD) ve ürtiker dâhil diğer enflamatuvar durumların fizyopatolojisinde sisteinil LT lerin oynadığı rol üzerine yazılan güncel yazılar LT reseptör antagonistlerinin bu hastalıkların tedavisinde potansiyel etkisi olduğuna dikkat çekilmesi için yeterlidir (**Capra ve ark. 2006**).

İskemi, travma, tümör, MS, ensefalomyelit ve yaşlanma gibi çeşitli SSS hastalıklarında yer alan güçlü enflamatuvar mediatörlerdir. İskemik beyinlerde CysLT'lerin üretimi artar. Artan CysLT'ler kan-beyin bariyer disfonksiyonu ve beyin ödemi ile uyumludur. Bu nedenle CysLT'lerin beyinde birikimi serebral iskemi anahtar rol oynayabilir (**Yu ve ark. 2005**).

Sisteinil LT1 reseptör antagonisti olan montelukastın, iskemik reperfüzyonun indüklediği nötrofil birikmesini, oksidatif hasarı ve renal disfonksiyonunu azalttığını kesin olarak gösterilmiştir. Montelukastın reperfüzyonun neden olduğu hasarı önleyici bu etkileri en azından nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmesine, oksidan-antioksidan durumu dengelemesine ve enflamatuvar mediyatör oluşumunu düzenlemesine bağlanabilir (**Sener ve ark. 2007**).

Spinal kord yaralanması modelinde nöroproteksiyon etki yaptığını gösterilmiştir (**Genovese ve ark. 2008**).

2.2 Elektrokimyasal Yöntemler

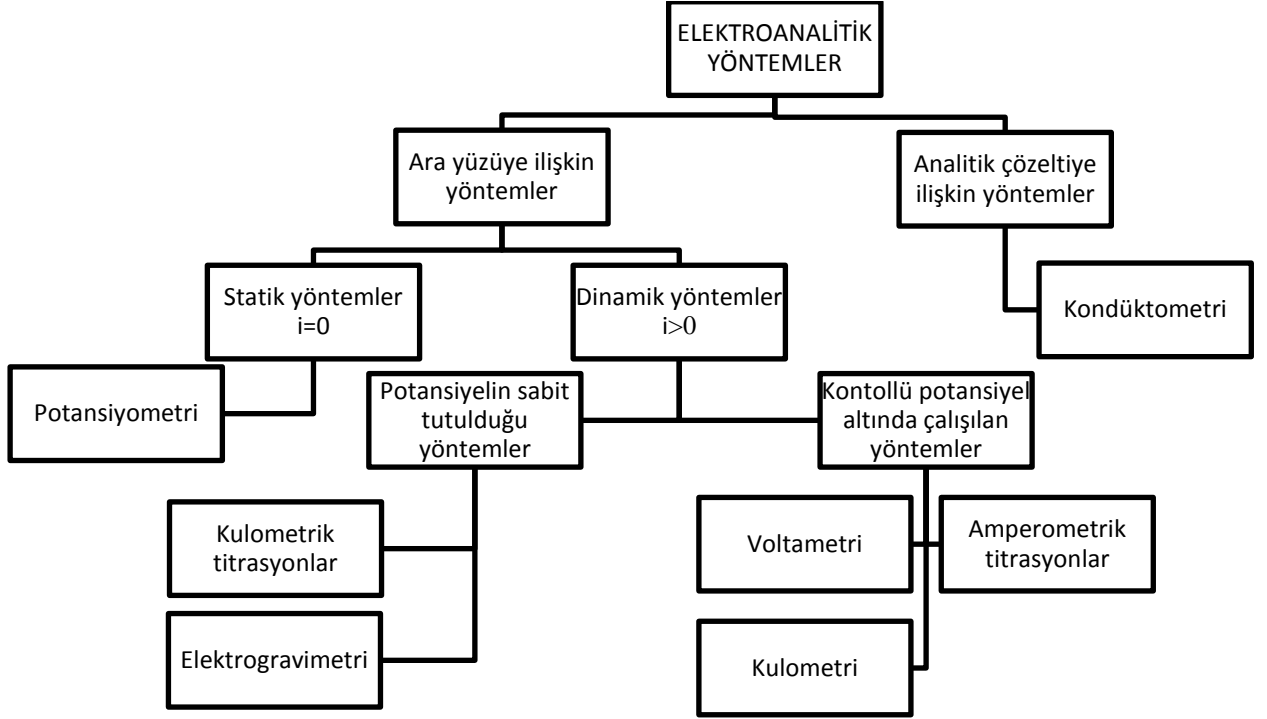
Elektrokimya, çözücülerde homojen olarak ya da elektrot çözücü ara yüzeyinde heterojen olarak meydana gelen yük ayrılması ve yük aktarımı ile ilişkili olan olaylarla ilgilenir. Elektrokimya uzun bir geçmişe sahiptir ve 200 yıl önce Volta'nın elektrik pilini (1799) keşfi ile başlar.

Son yıllardaki ilerlemeler oldukça fazladır. Bugün, bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar ve küresel enerji ve çevre sorunlarının çözümüne gerekli katkılar yapar (**Izutsu 2002**).

Elektrokimya, elektriksel ve kimyasal etkilerin birbiri arasındaki ilişkileriyle ilgilenen bir kimya dalıdır. Elektrokimyanın büyük bir kısmı, bir elektrik akımının geçmesinin neden olduğu kimyasal değişikliklerin araştırılmasıyla ve kimyasal reaksiyonlar sonucu elektrik enerjisinin üretilmesiyle ilgilenir. Aslında, elektrokimya, çok sayıda farklı olayların, araçların ve teknolojilerin yer aldığı bir daldır (**Bard and Faulkner 2001**).

Elektroanalitik yöntemlerin diğer analitik yöntemlere göre üstünlükleri: (**Zuman ve ark. 1962**)

- Az miktarda maddenin analiz için yeterli olması,
- Ucuz olmaları,
- Kolay uygulanabilir olmaları,
- Analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması,
- Fazla çözücü gerektirmemeleri,
- Çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağı için spesifik olmaları ve hassas birer yöntem olmalarıdır.



Çizelge 2.1: Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

2.3 Voltametrik Yöntemler

Tarihsel olarak, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1920' lerin başında geliştirilen ve voltametrinin özel bir tipi olan polarografi tekniğine dayanarak geliştirilmiştir.

Voltametri, bir indikatör yada çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik metottur. Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine voltamogram denir.

Voltametri; çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi, yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve elektrot yüzeylerinde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması, moleküler oksijen tayini, farmasötik açıdan önemli türlerin tayini gibi birçok uygulamada kullanılır. Voltametride yüzey alanı birkaç mm^2 'den daha küçük çalışma elektrotları kullanılır (mikroelektrotlar). Hatta yüzey alanı birkaç mikrometrekare veya daha küçük elektrotlar kullanılmaktadır.

Anot, yükseltgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği, katot ise indirgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği elektrottur. Katot materyali olarak Hg, C, Ag, Pt, Au ve pek çok metal kullanılabilir.

Anot materyali olarak Pt, C, Au veya çeşitli metal oksitler gibi daha sınırlı sayıda materyal kullanılır.

Katot olarak kullanılan bazı metaller, elektrolitik oksidasyon esnasında kolayca oksitleneceğinden anot olarak kullanılmazlar.

Voltametri ile eser düzeyde metallerin ve türlerinin, S^{2-} , CN^- , Cl^- , F^- anyonlarının, IO_3^- , NO_2^- , SCN^- , $S_2O_3^{2-}$, SO_3^{2-} ve SO_2 gibi inorganik bileşiklerin; aromatikler, peroksitler, eterler, nitroaromatikler, aminler, heterosiklik aminler, fenoller, alifatik halojenler, kinonlar, karboksilli asitler, dienler, asetilen gibi organik bileşiklerin tayini yapılmaktadır (**Skoog ve ark. 1996**).

Voltametri, inorganik, fizikokimya, biyokimyada yükseltgenme, indirgenme ve adsorpsiyon olaylarının incelenmesi, hidroliz, çözünürlük, kompleks oluşumu, kimyasal reaksiyonların stokiyometrik ve kinetik incelemelerinde, elektrot reaksiyonlarının mekanizmalarının aydınlatılmasında ve ilaç etken maddeleriyle ilgili çalışmalarda da kullanılmaktadır (**Yenigül ve ark. 2001**).

Voltametrik ölçümlerde iki ya da üç elektrotlu sistemler kullanılır. Üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu ile ölçüm yapılır.

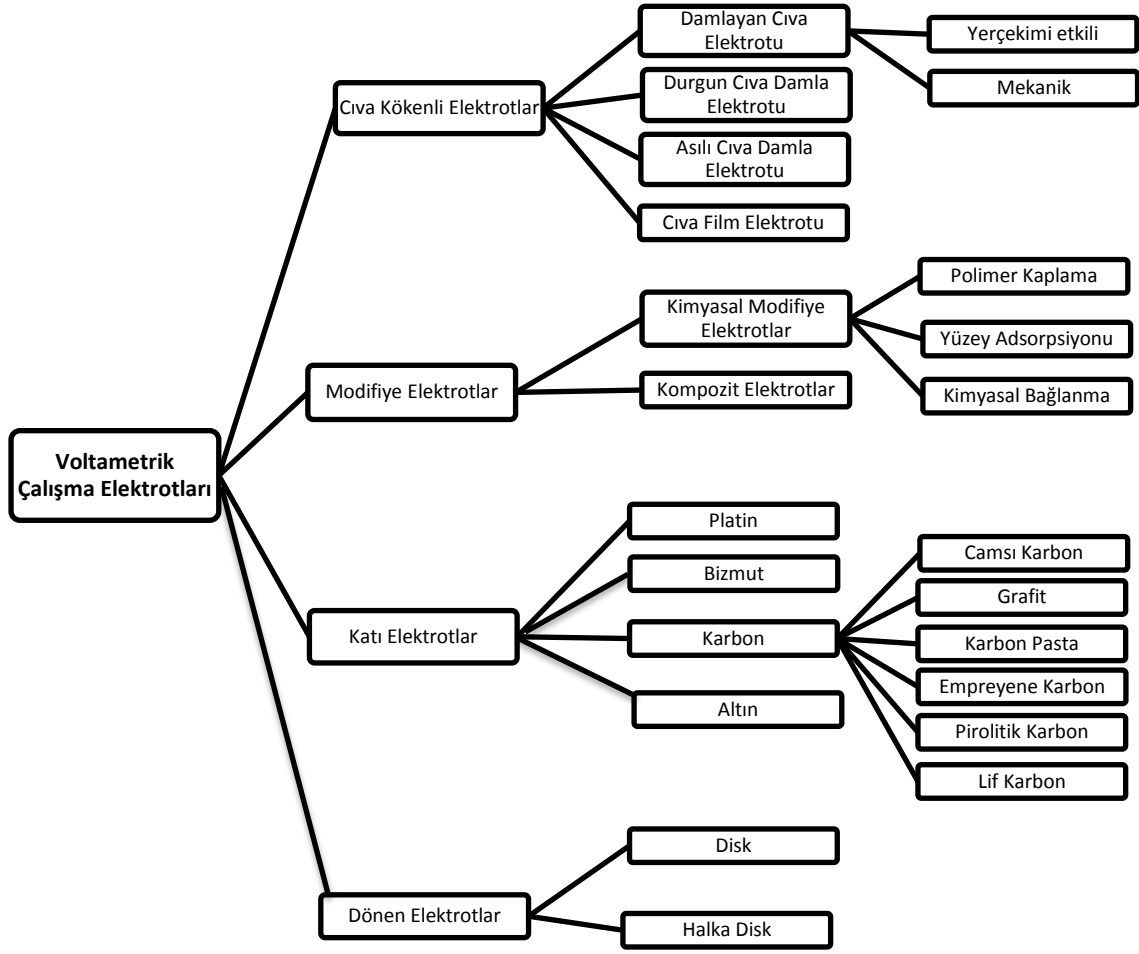


Şekil 2.1: Elektrokimyasal hücre giriş ve çıkışlar (www.basinc.com, 20.08.2018)

Elektrokimyasal ölçümler genellikle bir destek elektrolit içeren çözelti ortamlarında gerçekleştirilir. Çözücü seçiminde öncelikle analitin bu ortamdaki çözünürlüğünün iyi olmasına dikkat edilir. Çözücü, analitle tepkime vermemeli ve elektrotta da tepkimeye girmemelidir. Destek elektrolit, analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilen ve elektrotta tepkimeye girmeyen alkali metal tuzlarıdır. Voltametrde elde edilen akımın yalnız difüzyon kontrollü olabilmesi için ortama iyonik göçün tamamını üstlenmek üzere destek elektrolit eklenir.

Çalışma elektrotu, zamanla analit derişimindeki değişimlerle potansiyeli doğrusal olarak değişen elektrottur. Analit bu elektrot üzerinde yükseltgenir veya indirgenir. Potansiyometrik ölçümlerde her zaman katot olarak işlem görür (**Yeniğül ve ark. 2001**).

Başarılı bir çalışma elektrotu için elektrotun hazırlandığı materyal; kullanıldığı koşullarda kimyasal olarak inert, geniş bir potansiyel aralığında elektrokimyasal olarak inert, elektron aktarabilir ve elektriksel direnci düşük ve geniş potansiyel aralığındaki artık akımı düşük olmalıdır.



Çizelge 2.2: Voltametrik çalışma elektrotlarının sınıflandırılması

Referans elektrotlar, yarı hücre potansiyeli sabit, çalışılan çözeltinin bileşiminden bağımsız ve potansiyel değeri bilinen elektrotlardır. Referans elektrot, çalışma elektrotunun potansiyelini ölçer, tepkime ile hiç bir ilgisi yoktur. İndirgenme ve yükseltgenme potansiyellerinin tam olarak belirlenebilmesi, bağlantılardaki ve çözelti içindeki potansiyel kaybının ve ayrıca çözelti direncinin giderilmesi için referans elektrot kullanılmalıdır. Bir referans elektrot kolay hazırlanabilmeli, belli bir akım aralığında tersinir davranmalı, geriliminin sıcaklıkla değişme katsayısı küçük olmalıdır. Voltametriye karşılaştırma elektrotu olarak ikinci sınıftan metal-metal iyonu elektrotları kullanılır. En çok kullanılan referans elektrotlar; standart hidrojen elektrodu, doygun kalomel elektrot (DKE) ve gümüş-gümüş klorür elektrotlarıdır.

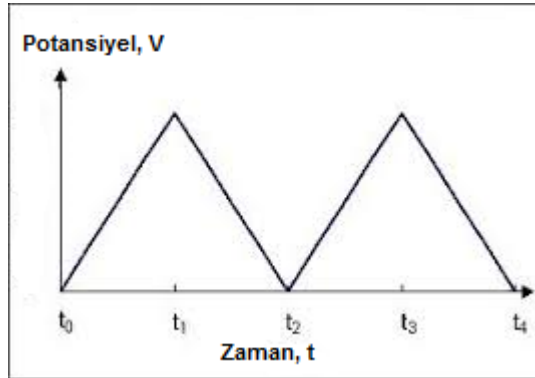
Karşıtlı elektrot, iki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için

gerekli olan potansiyel önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenden çalışma elektrotunun polarizasyon potansiyeli hatalı okunabilir. Bu sorun, sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözümlenir. Akım, çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrotunun potansiyeli karşılaştırma elektrotuna karşı sıfır akım altında saptanır. *Yardımcı elektrot*, reaksiyon ilgisi olmayan ve elektrokimyasal hücrede akımı taşıyan elektrottur. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir. Bu nedenle daha çok platin, grafit, tantal ya da tungsten tel çubuklar kullanılır. Bu elektrotların alanı çalışma elektrotu alanının en az elli katı olmalıdır. Ayrıca çok küçük hacimlerle çalışıldığında yardımcı elektrotta oluşan ürünlerin, çalışma elektrotunda girişim yapmayacağı elektrot türü seçilmelidir.

Aşağıda, voltametrde yaygın olarak kullanılan uyarma sinyallerinden ve kimyasal sistemlerin incelenmesinde uygulanan çeşitli elektrokimyasal yöntemler kısaca anlatılmaktadır.

2.3.1 Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri (DV), karıştırılmayan bir çözeltilerdeki, küçük bir durgun elektrodun akım cevabının, Şekil 2.4' de gösterildiği gibi üçgen dalga şekilli potansiyel ile uyarılması ile akımın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Potansiyelin zamanla değişme hızına tarama hızı adı verilmektedir.



Şekil 2.2: Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametrde potansiyel taramasının zamanla değişimi

Potansiyel taramasının E1 ve E2 potansiyel değerleri arasında yapılması durumunda metot, doğrusal taramalı voltametri; E2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra, aynı tarama hızıyla, ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılması durumunda ise, dönüşümlü voltametri (DV)

olarak adlandırılır. Ters taramada potansiyel E1 'de sonuçlanabileceği gibi, farklı bir E3 potansiyeline de götürebilir. İleri tarama esnasında oluşan ürün, ters taramada tekrar reaktife dönüştürülebilir. İleri taramada indirgenme olmuşsa, ters taramada yükseltgenme meydana gelir. DV' de akım, potansiyele karşı grafiğe geçirilir.

Dönüşümlü voltametri tekniğinde, tarama hızı önemli parametrelerden biridir ve tarama hızı-pik akımı değişiminden faydalanılarak adsorpsiyon, difüzyon ve heterojen elektrot reaksiyonunu takip eden kimyasal reaksiyonların özellikleri incelenebilir. Ayrıca bu teknikte, tarama yönünün değiştirilmesi ile reaksiyon mekanizması ve kinetik veriler hakkında fikir edinilebilir.

Dönüşümlü voltametri, susuz çözeltilerdeki elektrokimyasal çalışmalarda en kullanışlı yöntemlerden biridir. Özellikle, kararsız bir ara ürün veya ürün içeren elektrot reaksiyonlarının incelenmesinde faydalıdır. Elde edilen voltamogramlar incelenerek reaksiyon mekanizmaları tahmin edilebilir ve kararsız türlerin termodinamik ve kinetik özellikleri belirlenebilir. Ayrıca, kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonların her biri farklı reaksiyon hızlarına ve tersinirliklere sahiptir. Bunların hepsi, voltamogramlara yansır. Potansiyel aralığı, tarama hızı, sıcaklık, elektrodun cinsi, çözeltinin bileşimi gibi çeşitli parametreleri değiştirerek bir elektrot reaksiyonunun dönüşümlü voltamogramı alınır ve voltamogramlar uygun bir şekilde analiz edilirse, elektrot reaksiyonuyla ilgili bilgi edinilebilir (**Izutsu 2002**).

Dönüşümlü voltametri tekniğinin, nicel amaçla kullanımı seyrek olmakla beraber, elektrokimyasal reaksiyonlar hakkında nitel bilgi edinilmesinde en yaygın olarak kullanılan teknik olmasının nedeni, redoks olaylarının termodinamiği, heterojen elektron-transfer reaksiyonlarının kinetiği ve takip eden kimyasal reaksiyonlar ve adsorpsiyon olaylarıyla ilgili güvenilir bilgileri hızlı bir şekilde sağlamasıdır. Elektroanalitik çalışmalarda genellikle ilk olarak uygulanan deneysel basamaktır. Özellikle, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin yerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisinin değerlendirilmesini sağlar (**Wang 2000**).

2.3.1.1 Adsorpsiyonun dönüşümlü voltametri ile incelenmesi

Dönüşümlü voltametri aynı zamanda, elektroaktif türlerin arayüzeydeki davranışının incelenmesinde de kullanılır. Reaktif ve ürünün her ikisi de, adsorpsiyon-desorpsiyon olayında yer alabilir. Bu durumda, alınan çoklu voltamogramlarda, katodik ve anodik pik akımlarının dereceli

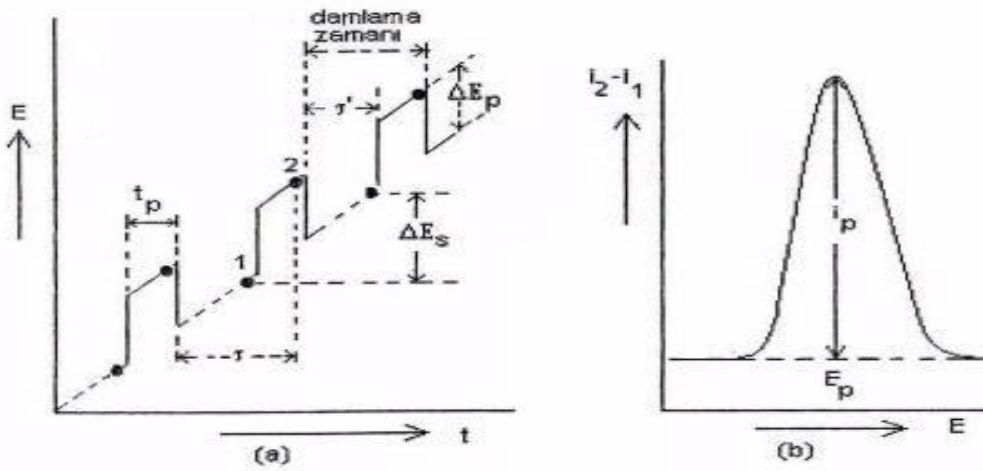
olarak artması, elektrot yüzeyinde adsorpsiyonun göstergesidir. Reaktif veya ürünün her ikisi değil de, sadece biri elektrot yüzeyine kuvvetli adsorbe olabilir. Bu durumda, reaktif elektrot yüzeyine kuvvetli adsorpsiyonu varsa difüzyon pikinden daha negatif bir potansiyelde bir arka pik gözlenirken, ürünün elektrot yüzeyine kuvvetli adsorpsiyonu varsa difüzyon pikinden daha pozitif bir potansiyelde bir ön pik gözlenir (Wang 2000).

2.3.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

Bu teknikte voltametrik hücreye potansiyel pulsları uygulanarak, oluşan akım bu pulsların ömrü süresince zamanın fonksiyonu olarak ölçülür. Diferansiyel puls voltametrisinde (DPV), şekilde görüldüğü gibi iki tane akım ölçümü yapılmaktadır. Bunlardan birincisi I_1 ve diğeri ise I_2 'dir. Puls başına akımdaki fark ($I_2 - I_1$) potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup yüksekliği derişimle doğru orantılıdır. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli yarı-reaksiyonun standart elektrot potansiyeline yaklaşık olarak eşittir. Yöntemin duyarlılığı 10^{-8} mol L^{-1} dir. Bu nedenle, doğrusal taramalı voltametriye tercih edilir.

Diferansiyel puls polarografisinde pik maksimumunda ölçülen akım Δi ,

$$\Delta i = \frac{nFAD^{1/2}C}{\pi^{1/2}(t_1 - t_2)} \text{ eşitliği ile verilir.} \quad (2.1)$$

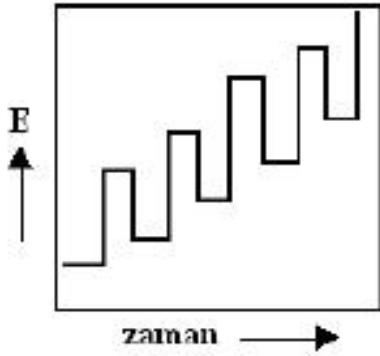


Şekil 2.3: (a) Giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması, (b) diferansiyel puls polarografisinde elde edilen akım-potansiyel eğrisi

DPV, en çok kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. Normal puls voltametriyle karşılaştırıldığında iki üstünlüğü vardır. Birincisi, her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayrılabilirdiği için tek bir voltamogramda pek çok analitin belirlenebilmesini sağlamaktır. İkinci üstünlüğü ise, diferansiyel akımla çalışılması ve böylece voltametrik bir pikin elde edilmesiyle analitik duyarlılığın $5,0 \times 10^{-8} M'$ dan $1,0 \times 10^{-8} M'$ a kadar gelişmesidir (Wang 2000).

2.3.3 Kare Dalga Voltametrisi (KDV)

Kare dalga voltametrisi, diferansiyel pulstan daha sık tercih edilen elektroanalitik yöntemdir. Kısaca KDV olarak gösterilir ve çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, büyük genişlikli bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Birincisi, ileri yöndeki pulsun sonunda (t_1) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır (t_2). Bu iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde kare dalga voltamogramı elde edilir.



Şekil 2.4: Kare dalga voltametriye puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

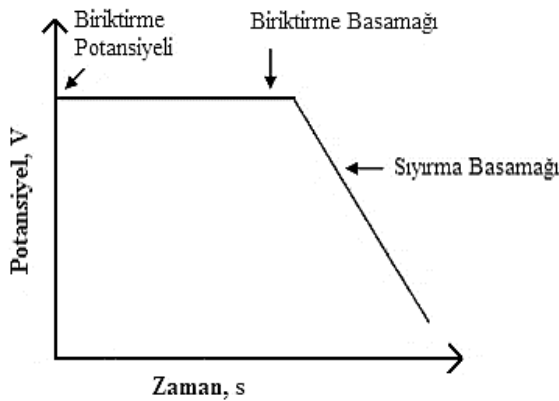
KDV'nin en büyük üstünlüğü oldukça hızlı bir teknik olmasıdır. Etkin tarama hızı, kare dalganın frekansı (f) ve basamak yüksekliği (ΔE_s) değiştirilerek belirlenir. Böylece, birkaç saniye içinde voltamogramlar kaydedilebilmektedir. Bu, ortalama 2 - 3 dakikayı bulan diferansiyel puls voltamogramının tamamlanması ile karşılaştırıldığında, kare dalga voltametrisinin analiz süresini oldukça kısalttığına bir göstergesidir (Wang 2000).

KDV yönteminin ikinci büyük üstünlüğü de, kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkılarının minimuma indirilmiş olmasıdır. Böylece, tarama hızı çarpıcı bir şekilde arttırılabilir, 1 V/s' lik tarama hızına kolaylıkla ulaşılabilir.

KDV'de net akım (ΔI) hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyüktür. Bu nedenle, voltametrik pik genellikle oldukça kolay okunmaktadır. Bu da, yöntemin doğruluğunu arttırmakta ve diferansiyel puls voltametrisinden daha yüksek duyarlılığın elde edilmesini sağlamaktadır. Böylece, $1,0 \times 10^{-8}$ M' a yakın çok düşük tayin sınırlarına inilebilmektedir. Kare dalga ve diferansiyel puls voltametrisi karşılaştırılırsa, kare dalga akımlarının benzer diferansiyel puls cevaplarından, tersinir ve tersinmez sistemler için sırasıyla 4 ve 3,3 kat daha yüksek olduğu söylenebilir (Mandal, 2004).

2.3.4 Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma teknikleri voltametrik analizlerde duyarlılığı artırmaya yönelik olarak geliştirilen iki aşamalı tekniklerdir. İlk aşamada eser düzeydeki türler, uygun bir potansiyel altında genellikle karıştırılan bir çözeltide, elektrot yüzeyinde önderiştirilir. Ardından potansiyelin anodik veya katodik yönde taranması sonucu yüzeyde deriştirilen maddeye ilişkin akım-potansiyel eğrilerinden gidilerek analiz gerçekleştirilir. Sıyırma teknikleri; biriktirme, durulma ve sıyırma basamaklarından oluşur. Elektrobiriktirme basamağında analitin yalnızca ufak bir kesri elektrot yüzeyinde birikir. Bu yüzden kantitatif sonuçlar, elektrot potansiyelinin kontrol edilmesinin yanı sıra elektrot boyutu, biriktirme süresi, hem numunenin hem de kalibrasyonda kullanılan standart çözeltilerin karıştırma hızı gibi faktörlere de bağlıdır.



Şekil 2.5: Sıyırma voltametrisinde potansiyel-zaman göstergesi

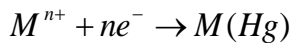
Sıyırma adımımda birçok voltametrik teknik kullanılabilir. Bunlardan en çok kullanılanı diferansiyel puls anodik sıyırma voltametrisedir. Bu yöntem ile elde edilen pikler daha keskin olduğundan karışımların analizinde büyük kolaylık sağlar (Aycan ve ark. 1994).

Önderiştirme niteliği ve sıyırma aşamasında potansiyelin tarama yönüne göre sıyırma teknikleri farklı adlar alır. Bunlar; anodik sıyırma voltametrisi (ASV), katodik sıyırma voltametrisi (CSV) ve adsorptif sıyırma voltametrisedir (AdSV).

2.3.4.1 Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)

Anodik sıyırma voltametrisi, çözelti içeriğindeki metal iyonlarının yeterince negatif potansiyel altında elektrot yüzeyinde metalik olarak önderiştirildiği ve ardından potansiyelin anodik yönde taranarak bu metallerin yükseltgenmesine ilişkin akım değişiminin izlendiği yöntemin adıdır. Bir başka deyişle metalik halde elektrot yüzeyinde toplanan maddenin yüzeyden anodik çözünmesi söz konusudur.

Biriktirme aşaması, genellikle kontrollü potansiyelde çözelti belli bir süre karıştırılarak gerçekleştirilir. ASV' de metal iyonu kontrollü bir negatif potansiyelde indirgenir.

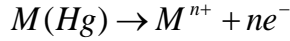


Çalışma elektrodu olarak civa kullanılırsa, amalgam oluşumu gerçekleşir. Amalgam oluşumu metal iyonunun civa içinde çözünürlüğüne bağlıdır. Çözünürlük değeri arttıkça o metal için duyarlık da artar, ancak yüksek metal iyonu derişimlerinde doygunluk sınırına ulaşp ulaşpmadığı kontrol edilmelidir. Ayrıca çalışma elektroduna uygulanan biriktirme potansiyeli saptanacak metal iyonunun yarı dalga potansiyelinden 0,3 veya 0,5 V daha negatif değerlerde seçilmeli ve analiz öncesi denel olarak saptanmalıdır. Böylelikle seçimlilik de artırılır. Biriktirme süresinin doğru saptanması da çok önemlidir.

Biriktirme aşaması sırasında metaller civa yüzeyinde birikerek içeriye doğru difüzlenir. Bu derişim dağılımı uzun biriktirme süresi uygulandığında ve elektrot olarak çok ince civa filmi

kullanıldığında daha homojen olur. Metallerin civa içerisinde homojen dağılımını sağlamak için biriktirme aşaması ve sıyırma işlemi arasında bir durulma sürecine gereksinim vardır ve bu süre genellikle 10 saniyeden fazla değildir.

ASV' de sıyırma aşamasında potansiyel anodik yönde doğrusal veya diğer tekniklerle taranır ve böylelikle metal iyonunun yükseltgenerek çözeltiye geri difüzyonu gerçekleşir.



Elde edilen voltamogramdaki sıyırma piki, biriktirilen metalin yükseltgenmesine ilişkin olduğundan metalin elektrottaki ve dolayısıyla çözeltideki derişimine ilişkin bilgi verir. Pik potansiyelleri yardımıyla nitel analiz de gerçekleştirilir (**Yenigül ve ark. 2001**).

Anodik sıyırma voltametri, tayin edilen türe, elektroliz süresine, karıştırma hızına, çözelti pH'sına, örnek matrisine ve sıyırma moduna (DP veya SW) bağlıdır. Her iki sıyırma modu da ölçülen toplam sıyırma akımındaki adsorpsiyon akımının etkisini minimize etmek için kullanılabilir. Ama SW sıyırma, DP sıyırmasından önemli derecede hızlı ve daha duyarlıdır (**Skoog ve ark. 1996**).

2.3.4.2 Katodik sıyırma voltametri (KSV)

Katodik sıyırma voltametri, elektroaktif türün elektrot materyali ile çözünmeyen tuzlar oluşturarak elektrot yüzeyinde önderştirilmesi ve ardından potansiyelin katodik yönde taranması ilkesine dayanır. Çalışma elektroduna bağlı olarak pozitif bir biriktirme potansiyelinin uygulanması sonucunda elektrot ile elektroaktif türün çözünmeyen bir tuzu oluşur. Elektrot, biriktirme basamağında anot sıyırma basamağında ise katot gibi davranır ve elektroaktif türün indirgenmesine ilişkin akım izlenir (**Demir ve ark. 2004**). Çalışma elektrodu olarak genellikle bir civa elektrot kullanılır. Ag elektrotlar da halojenler ya da sülfürlerin incelenmesi için kullanılır.

Katodik sıyırma voltametrisinin duyarlığı, verilen bir periyotta toplanabilen madde miktarına bağlıdır. Bu miktar oluşum kinetiklerinin, biriken bileşiğin çözünürlüğünün, oluşan filmdeki aktif iyonun difüzyon katsayısının ve filmin yoğunluğunun bir fonksiyonudur. Duyarlık,

sıyırma basamağında çözünmeyen civa bileşiğinin dissosiyasyonuna da bağlıdır. Elektrot yüzeyindeki civa bileşiğinin miktarı, geniş yüzey alanlı elektrot ya da daha büyük civa damlası kullanılarak duyarlık artırılabilir.

Bütün katodik sıyırma işlemlerinde, toplama basamağında elektrot yüzeyi üzerinde çözünmeyen bir tabaka oluşur. Eğer çok madde toplanırsa sıyırma piki bozulur. Bu nedenle KSV, çok seyreltik çözeltilerin analizi için uygun bir yöntemdir (Aycan, 1994).

2.3.4.3 Adsorptif sıyırma voltametri (AdSV)

AdSV, maddelerin analizlerinde son bir kaç yıldır önemli derecede ilgi çekmiş yöntemlerden biridir. Bu ilginin nedeni yöntemin mükemmel duyarlılığı, doğruluğu, hızı ve düşük maliyetidir. AdSV; ASV ve KSV ile tayin edilmesi çok zor veya mümkün olmayan eser miktardaki maddelerin tayininde başvurulan bir yöntemdir. Ayrıca bu yöntemle hem inorganik hem de organik maddelerin tayini yapılabilmektedir.

Voltammetrik yöntemlerde adsorpsiyon genel olarak iyon ya da moleküllerin elektrot yüzeyine tutunmasını ifade eder. Bu tutunma olayı voltammetrik ölçüm sonuçlarını etkiler ve genelde ASV’de bu olaya istenmeyen durum gözüyle bakılır ve olmaması istenir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, türlerin elektrot yüzeyine kontrollü adsorpsiyonunun bir avantaj olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Adsorptif sıyırma voltametri, önderiştirme, karıştırılan bir çözeltiden elektrot yüzeyine fiziksel adsorpsiyonla sağlanır. Bu yöntem ile elektroaktif ve yüzey aktif özellikte birçok önemli madde hassas olarak tayin edilebilmektedir. Ayrıca çalışma elektrodunun yüzeyi modifiye edilerek, kimi bileşikler için adsorpsiyon daha seçimli hale getirilebilir. Çalışma koşulları optimize edilerek uygun çözücü, pH, iyon şiddeti, karıştırma hızı ve sıcaklıkta çalışılır.

Kalibrasyon grafiğinin doğrusal aralığı önderiştirilen bileşiğin büyüklüğüne, hidrofobik özelliğine ve elektrot yüzeyine yönelimine göre değişir. Genellikle de seyreltik çözeltilerde ve kısa sürelerde biriktirme uygulanır. Bu da analizler için tercih edilir bir durumdur (Wang, 1994).

2.4 Elektrokimyasal Reaksiyonlar

2.4.1 Tersinir Reaksiyonlar

Tersinir bir çift için pik akımı (25 °C), Randles-Sevcik eşitliğiyle verilir:

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (2.2)$$

Burada n , aktarılan elektron sayısı; A , elektrodun alanı (cm^2); C , derişim (mol/cm^3); D , difüzyon katsayısı (cm^2/s) ve ν , tarama hızıdır (V/s). Buna göre, akım, derişimle doğru orantılıdır ve tarama hızının kareköküyle artar. Basit bir tersinir çift için, anodik pik akımının katodik pik akımına oranı 1'dir. Bu oran, redoks reaksiyonuna eşlik eden kimyasal reaksiyonların varlığından oldukça güçlü bir şekilde etkilenir.

Potansiyel eksenindeki piklerin konumu, redoks işleminin formal potansiyeline bağlıdır. Tersinir bir sistem için formal potansiyel, aşağıdaki gibi verilir:

$$E^0 = \frac{E_p^a + E_p^k}{2} \quad (2.3)$$

Tersinir bir sistemde, pik potansiyelleri arasındaki fark aşağıdaki eşitlikle verilir:

$$\Delta E_p = E_p^a - E_p^k = \frac{0,059}{n} \nu \quad (2.4)$$

Bu yüzden, pik potansiyelleri farkı, aktarılan elektron sayısının belirlenmesinde ve Nernstian bir davranış kriteri olarak kullanılabilir. Buna göre, hızlı bir $1e^-$ lu reaksiyon, 59 mV luk bir ΔE_p gösterir. Katodik ve anodik piklerin her ikisi de tarama hızından bağımsızdır. Çok elektronlu bir indirgenme gerçekleşiyorsa, sistemin tersinir olması için voltamogramda, birbirinden iyi bir şekilde ayrılmış ve E^0 değerleri birbirinden sırayla artış gösteren çok sayıda pikin olması gerekir (**Wang 2000**).

Bir reaksiyonun tersinir olduğunun belirlenmesinde, dönüşümlü voltametri çalışmalarından yararlanır ve aşağıdaki kriterlerin sağlanması elektrot reaksiyonunun tersinir olduğunu gösterir. Bu kriterler şunlardır:

- $E_p^k - E_p^a = 59/n$ mV veya $E_p - E_{p/2} = 57/n$ mV'tur.
- E_p tarama hızı ile değişmez.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir ve bu oran tarama hızıyla değişmez.
- $i_p / v^{1/2}$, tarama hızıyla değişmez.
- Dalga şekli tarama hızıyla değişmez.

2.4.2 Tersinmez ve Yarı-Tersinir Sistemler

Elektron transferinin yavaş olduğu tersinmez sistemler için, piklerin büyüklüğü tersinir sistemlere göre daha azalır ve pikler birbirinden epeyce ayrılır (**Wang 2000**). Tersinmez sistemlerde, tarama hızıyla pik potansiyelinde kayma olur.

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha n_a F} \left[0,78 - \ln \left(\frac{\alpha n_a F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (2.5)$$

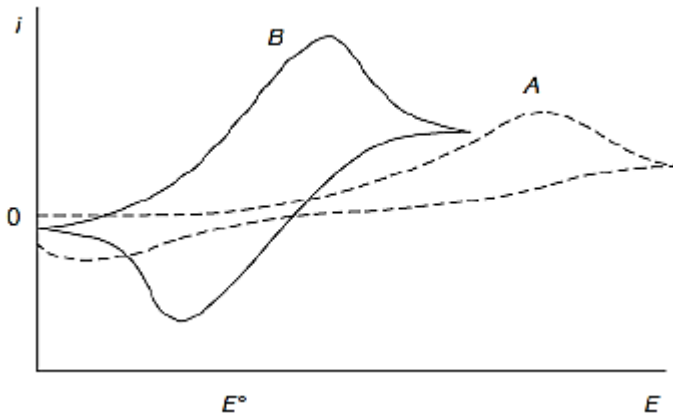
Burada, α , transfer katsayısıdır ve n_a yük - transfer basamağındaki elektron sayısıdır. Bu yüzden, E_p , E^0 'dan daha yüksek potansiyellerde oluşur. Pik potansiyeli ve yarı - pik potansiyeli $48/\alpha n$ mV'tan farklı olur. Pik akımı, aşağıdaki eşitlikten görüldüğü gibi, çözeltinin derişimiyle orantılıdır fakat α transfer katsayısına bağlı olarak pik yüksekliği daha düşüktür. $\alpha = 0,5$ ise, tersinir pik akımının tersinmez pik akımına oranı 1,27'dir.

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n (\alpha n_a)^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.6)$$

Standart hız sabitinin $10^{-1} > k^0 > 10^{-5}$ cm/s olduğu yarı-tersinir sistemler için akım, hem yük transferi hem de kütle aktarımıyla kontrol edilir. Dönüşümlü voltamogramın şekli, $k^0 / \sqrt{\pi \alpha D}$ 'nin bir fonksiyonudur ($\alpha = n F v / RT$). $k^0 / \sqrt{\pi \alpha D}$ arttıkça, sistem tersinirliğe yaklaşır. $k^0 / \sqrt{\pi \alpha D}$ 'nin, yüksek tarama hızlarındaki küçük değerleri için sistem tersinmez davranış gösterir. Yarı-tersinir sistemlerde, pik potansiyelleri, tersinir sistemlerle karşılaştırıldığında, birbirinden oldukça ayrıdır.

Bir reaksiyonun yarı - tersinir olduğunun belirlenmesinde de dönüşümlü voltametri çalışmalarından elde edilen verilerden yararlanır. Bu amaçla, aşağıdaki kriterler incelenir (**Nicholson and Shain 1964, Bard and Faulkner 2001**). Yarı-tersinir bir sistem için:

- $i_p / \nu^{1/2}$ tarama hızına bağlı değildir.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ ' dir. ($\alpha = 0,5$ ise)
- E_p^k tarama hızı ile değişir. Bu değişme genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
- $E_p^k - E_p^a$ farkı düşük tarama hızlarında $59/n$ ' e yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında bu değerden daha büyüktür ve tarama hızı ile artar.
- Tarama hızı arttıkça pik genişlemesi olur.



Şekil 2.6: DV' de tersinmez (A) ve yarı tersinir (B) mekanizmalara ait voltamogramlar (x ve y eks birimleri ile beraber enlerini yaz x eksen potansiyel y eksen akım)

2.5 Alternatif Akım (A.C.) Empedans Yöntemi

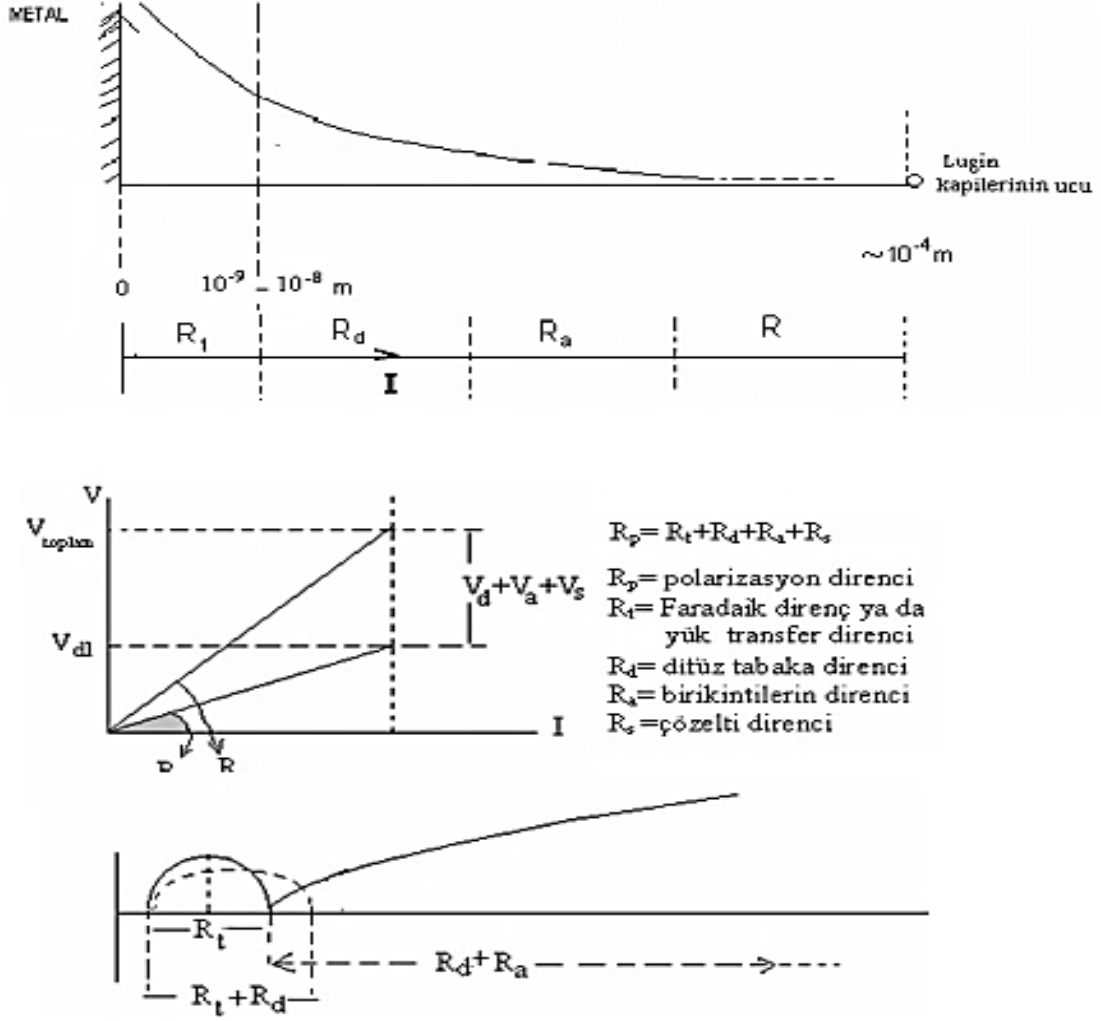
Elektrot direncini belirleme yöntemlerinden birisi de elektrodun yüzey yapısını bozmayan elektrokimyasal bir teknik olan alternatif akım (AC) empedans tekniğidir. Yüksek dirençli ortamlarda da ölçme yapılabilmesi, diğer yöntemlere göre bir üstünlük sağlamaktadır. Yöntemin özü, metal/çözelti ara yüzeyinde oluşan çift tabakanın uygulanan alternatif akım empedansının ölçülmesine dayanmaktadır. Elektrot yüzeyine değişik frekans aralığında küçük genlikli, düşük

frekanslı alternatif akım belli sürelerde uygulanmaktadır. AC empedans tekniği ile ölçülen polarizasyon direnci (R_p) toplam dirence eşittir. Polarizasyon direnci; yük transfer direncine $R_1=R_f$ faradik direnç de denir) ek olarak çift tabakanın kapasitif direncini (R_c), difüz tabaka boyunca oluşabilecek indüktif direnci (R_d) ve dışa doğru birikintilerin oluşturduğu birikinti direncini (R_a) vb. içermektedir (McCafferty, 2005). AC impedans yöntemiyle değişik ortamlarda elde edilen kompleks diyagramlar incelendiğinde genel olarak yarım daireden sapan koniklerin (basık yarı-daire) elde edildiği görülür. Sapma daha çok düşey eksen boyunca gösterilen kompleks empedans üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Yapay elektronik bir eşdeğer devre yardımıyla elde edilen kompleks diyagramlar teoriden beklenen yarım daire biçimine tam uymakta, alümiyum ile elde edilen diyagramlar ise yarım daireye çok yaklaşmaktadır. Yapay hücrelerde gerçek kondansatörler kullanılmakta, alümiyum yüzeyinde oluşan ince oksit filmi gerçek bir kondansatöre yakın özellik göstermektedir. Alümiyum yüzeyindeki ince oksit filmi dışında kalan poröz oksit ve difüz tabakanın toplam kapasiteye katkısı önemsiz kalmaktadır. Oysa herhangi bir basit sistemde, örneğin metal/çözelti sisteminde difüz tabakanın etkisi önemli olmakta ve metal / çözelti ara yüzeyinin temsil ettiği kondansatör gerçek bir kondansatörden farklı davranmaktadır. Gerçek bir kondansatörün plakalarında yükler elektron hareketleri ile denetlenirken metal / çözelti ara yüzeyinde; metal tarafını elektronlar, çözelti tarafını ise iyonlar denetlemektedir. Elektron ve iyonların büyüklük ve hareketlilik bakımından farklılıkları, teoriden beklenen değerlerin sapmasına neden olmaktadır. AC empedansı yönteminde küçük alternatif akım frekanslarında gözlenen indüktif lupların oluşması da aynı nedenlere dayanıyor olmalıdır (Erbil, 1987).

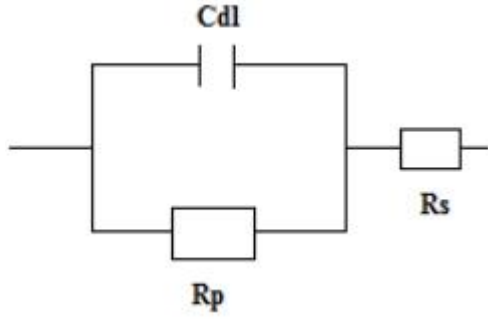
Nyquist diyagramlarında düşük ve yüksek frekanslardaki reel empedans farkı R_t çift tabakanın yapısına göre; iyonik kısımda metal yüzeyine adsorbe olan iyonlar ile metal yüzeyinden çözeltiye doğru en az 10^{-9} - 10^{-8} m uzakta bir OHP (dış Helmholtz tabakası) tasarlanabilir. Lugin kapillerinin metal yüzeyinden en fazla 10^{-4} m uzakta olduğu varsayıldığında, Lugin kapileri ve OHP arasında önemli bir mesafe vardır (OHP' nin kalınlığından 10^4 - 10^5 kat daha fazla uzığında). Difüz tabakada adsorplanmış türler (herhangi bir molekül ya da iyon varlığı) ve çözelti bölgesine karşılık gelen her bir katkı, ölçülen dirençte hesaba katılmak zorundadır. (Şekil 2.7). Bu görüşe göre, direnç, metal/OHP arasında R_t ' ye eşit olmak zorundadır. Diğer bütün dirençler akım üzerinde basit (küçük) dirençler olarak düşünülmelidir. Öyle ise ölçülen R_p - R_t ilişkisi Şekil

2.9’ da verildiği gibidir, burada akıma karşılık gelen toplam potansiyel düşmesi, V_{toplam} ve difüz tabakadaki potansiyel düşmesi V_{dl} ’ dir. Nyquist diyagramlarında düşük ve yüksek frekanslardaki reel empedans farkı, R_p olarak değerlendirilmektedir ve R_p bütün dirençlerin toplamı olarak alınmaktadır (Tüken 2000 ve Özcan 2004).



Şekil 2.7: Empedans eğrilerinin şematik yaklaşımı (Erbil 2002)

AC empedans yönteminin uygulamasında, çift tabaka kapasitesi ve metal yüzeyi ile çözeltinin iç kısmı arasındaki dirençlerden oluşan bir “elektronik eşdeğer devre” tasarlanarak polarizasyon direnci belirlenir. (Şekil 2.8)



Şekil 2.8: Eşdeğer devre modeli

R_s : elektrolit direnci, R_p : polarizasyon direnci, C_{dl} : çift tabakanın kapasite eşdeğeri (kapasitans) dir. Şekil 2.8, bir elektrokimyasal sistemde metal/elektrolit ara yüzeyinde oluşan çift tabakayı temsil etmektedir. Çift tabaka, kapasitesi “C” olan bir kondansatöre eşdeğere kabul edilmektedir. Empedans spektroskopinin temelini oluşturmaktadır.

Bu devrenin impedansı:

$$Z = Z_r + iZ_i = R_c + \frac{R_p}{1 + i\omega R_p C_{dl}} \quad (2.7)$$

$$\omega = 2\pi f i = \sqrt{-1} \quad (2.8)$$

Burada denklem (2.7)'in son teriminin pay ve paydası $1 - i\omega R_p C_{dl}$ ile çarpımı

$$Z = R_c + \frac{R_p}{1 + \omega^2 R_p^2 C_{dl}^2} - \frac{i\omega R_p^2 C_{dl}}{1 + \omega^2 R_p^2 C_{dl}^2} \quad (2.9)$$

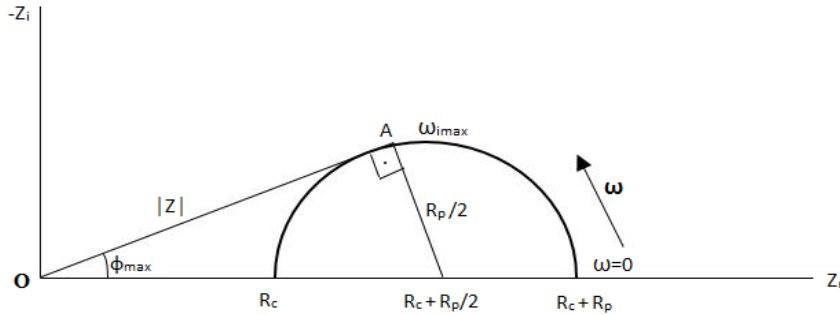
Denklem (2.7) ve (2.8) karşılaştırılırsa, Z_r ve Z_i aşağıdaki eşitliklere eşit olduğu görülür:

$$Z_r = R_c + \frac{R_p}{1 + \omega^2 R_p^2 C_{dl}^2} \quad (2.10)$$

$$Z_i = - \frac{\omega R_p^2 C_{dl}}{1 + \omega^2 R_p^2 C_{dl}^2} \quad (2.11)$$

$$\left[Z_r - \left[R_c + \frac{R_p}{2} \right] \right]^2 + Z_i^2 = \left(\frac{R_p}{2} \right)^2 \quad (2.12)$$

Denklem (2.12) merkezi $(R_c + R_p/2, 0)$ ve yarıçapı $R_p/2$ olan bir çember denklemdir. Bu denklemin grafiği Z_r yatay eksen ve Z_i dikey eksen üzerinde gösterilerek bir grafik çizilirse Şekil 2.9' de verilen Nyquist diyagramı elde edilir. Şekil 2.8' de görüldüğü gibi Nyquist diyagramları, iki bölümden oluşmaktadır. Yüksek frekans bölgesinde diyagram yarım daireseldir: $1/2 R_p$, $Z_{i\max}$ 'a eşittir (Gabrieli 1992). Denklem (1) ve (2)' den, frekans sıfıra yaklaştıkça Z_r 'nin $R_c + R_p$ ' ye eşit olduğu, frekans sonsuza yaklaştıkça Z_i 'nin R_c ' ye eşit olduğu kolayca görülür. Nyquist diyagramında büyük çaplı yarım daireler, polarizasyon direncinin sayısal olarak dairenin çapına eşit olduğunu gösterir. Bu durumda, korozyon hızı küçük olmaktadır. Korozyon arttıkça, yük transfer direnci diğerleri azalır, dolayısıyla, Nyquist diyagramlarında yarı dairelerin çapı azalır. Teorik olarak elde edilen denklem (1) ve (2)' ye göre deneysel bulgular bir yarım dairesel eğriyi vermelidir. Ancak, gerçek deneysel sonuçlarda bazı düzeltme faktörleri gerekmektedir.



Şekil 2.9: Şekil 2.8' de verilen elektrik devresinin empedansının Nyquist diyagramı

2.6 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, maddenin nanometre boyutunda, yani atomsal, moleküler ve supramoleküler yapılar düzeyinde denetlenmesi yoluyla yeni malzeme, cihaz ve sistemlerin tasarlanmasını ve üretilmesini konu alan bir teknoloji dalıdır. Maddeleri moleküler ya da nanometre düzeyinde

ele alan bir mühendislik bilimi olan nanoteknoloji, daha güçlü ve daha hafif elektronik malzemelerin kullanıldığı yeni bir süreç vaat ederek bilim insanlarının son yıllarda umutlarını arttırmaya devam etmektedir.

Günümüzde birçok sektörde devrim niteliğinde bir potansiyele sahip olan ve heyecan verici bir hızla gelişen nanoteknoloji başka bir ifadeyle, çeşitli araçların, malzemelerin ve yapıların moleküler düzeyde işlenmesi, düzenlenmesi ve tasarlanması olarak tanımlanmaktadır. Bugün bilim adamları bu nano ölçekteki olguları ve yöntemleri öğrenmeye ve kendi kendini çoğaltabilen, denetleyebilen, kontrol edebilen, onarabilen araçlar, malzemeler ve yapılar oluşturmaya çalışmaktadırlar. Nano birimi ile 100 – 0,1 nanometre (nm) (10^{-7} metre ile 10^{-10} metre) arasındaki herhangi bir büyüklük ifade edilmektedir.

Nanoteknoloji ayrıca, nanometre ölçeğindeki fiziksel, kimyasal ve biyolojik olayların anlaşılması, kontrolü ve üretimi amacıyla, fonksiyonel malzemelerin, cihazların ve sistemlerin geliştirilmesini amaçlayan disiplinlerarası bir bilim dalıdır. Nanoteknolojinin günümüzde diğer bilim dallarına sağladığı avantajlar ve bunu takiben hemen hemen her alanda hızlı bir ilerlemenin kaydedilmesi sonucunda, bilim ve teknolojide yeni ufuklar açılmaya başlamıştır. Nanoteknoloji ile üretilen nanopartikül, nanotüp ve nanokablolar gibi gelişmiş fizikokimyasal özelliklere sahip nanomalzemeler, biyomoleküler algılamaya yönelik elektrokimyasal sensörlerin daha seçici ve daha hassas bir şekilde geliştirilebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (**Toh ve ark. 2013**).

2.5.1 Nanopartiküller

Nanopartiküller genellikle büyüklükleri, şekil ve kararlılık ajanları açısından çok farklı özellikler gösterirler. Kataliz, metallerin, özellikle soy metallerin yüksek katalitik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle pek çok kimyasal reaksiyonda en popüler uygulamalarından biri olarak ele alınabilir. Nanopartiküller, aynı zamanda elektron transferini kolaylaştırır ve kimyasal ligandlar ve biyomoleküllerle geniş oranda kolayca modifiye edilebilir. Bu özellikler, nano boyutların minyatürleştirilmesi ve algılama cihazlarına uygulanmasının kolaylığı ile birleştirildiğinde, nanopartikülleri, kimyasal/biyokimyasal algılamadaki önemli uygulamalar için çok uygun hale getirir (**Hrapovic ve ark. 2004**).

Nanopartiküller sadece yapısal özellikleri ile değil fonksiyonel özellikleri ile de üstün malzemelerdir. Çeşitli yöntemler kullanılarak yığın özelliklerinin yanında fonksiyonel özelliklerinin değiştirilmesi sağlanabilir. Nanopartiküllerin elektronik, optik ve katalitik özellikleri, onların kuantum seviyesindeki boyutlarından kaynaklanmaktadır.

Nano boyutlu partiküller, geniş bir yüzey alanına ve farklı optik ve elektronik özelliklere sahip olduklarından dolayı modern teknolojik sistemlerde kullanılabilirliklerinin araştırılması önem kazanmıştır.

2.6 Kaynak Araştırması

Montelukast Sodyum' un tayini için yapılmış spektrofotometrik, kromatografik ve elektrokimyasal çalışmalar aşağıdaki gibi kısaca özetlenmiştir:

Hisao Ochiai ve arkadaşları (1998), floresans dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile insan plazmasında montelukast sodyum tayini için yaptıkları çalışmada ilk olarak (Capcell pak TF) ve (Capcell Pak C18)' den oluşan analitik kolonlar 6 portlu geçiş vanası ile bağlandıktan sonra, plazma örneği HPLC sistemi üzerine direk enjekte edilmiştir. Kolon sıyırma sıvısı floresans dedektörü ile izlenmiştir (Uyarma 350 nm, emisyon 400 nm). Kalibrasyon eğrisi, insan plazmasında MK-0476 için 1 - 500 ng ml⁻¹ 'lik bir konsantrasyon aralığında doğrusaldır. Tüm konsantrasyon aralıklarında gün içi varyasyon katsayısı % 9,2 den az, gün içi doğruluk değeri % 97,2 ile % 114,6 aralığındadır. Bu yöntem, insanlarda ilacın oral uygulamasının ardından MK-0476 plazma konsantrasyonunu ölçmek için kullanılmıştır.

K. Pallavi and ve arkadaşları (2002) montelukast sodyumun tablet formu için UV spektroskopik metod oluşturulması için yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Montelukast Sodyum' un tablet formundan, UV spektrofotometrik yöntemi ile nicel analiz yapılmıştır. Numunelerin analize hazırlanması için fosfat tamponu ile ekstraksiyon işleminden sonra santrifuj ve seyreltme işlemleri yapılmıştır. Spektrofotometrik ölçümlerde UV bölgede 287,3 nm de absorban değeri kaydedilmiştir. Spektrofotometrik tayinde, doğruluk (% 100,13 geri kazanım), alt tayin sınırı (1,234 LOD) ve kantitatif ölçme sınırı (3,735 LOQ) belirlenmiş, önerilen yöntemin Montelukast Sodyum analizi için hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

RM Singh ve arkadaşları 2004 yılında dökme ve tablet dozaj formunda montelukast sodyumun tayini için bir RP - HPLC metodu geliştirmişlerdir. Bu çalışma, dökme ve tablet dozaj formunda montelukast sodyumun tahmini için basit, hassas ve doğru HPLC yöntemi tarif etmektedir. Ayrım, mobil faz olarak 1,5 ml/dk akış hızında 90:10 h/h oranında asetik asit ile pH değeri 6,3' e ayarlanmış 1 mM sodyum asetat ile asetonitril kullanılarak, oktadesilsilan kolonu (C18)

yardımıyla gerçekleşmiştir. Montelukast sodyumun retansiyon süresi 3,4 dakika olduğu bulunmuştur. Saptama sınırı 1,31 µg / ml ve miktar 3,97 µg / ml sınır bulunmuştur. Önerilen yöntemin doğruluğu ve güvenilirliği ICH kurallarına göre doğrusalık (1-100 mg / ml), hassasiyet, doğruluk ve özgünlüğü gibi çeşitli doğrulama parametreleri değerlendirilerek tespit edilmiştir. Önerilen yöntem, dökme halde ve tablet dozaj formunda, montelukast sodyumun rutin analizler için doğru ve hassas bir kalite kontrol aracı içerir.

M.Al-Omar ve arkadaşları 2005 yılında tablet ve plazmada montelukast sodyumun voltametrik tayini için polarografi yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntemle yapılan tayinde çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrot, karşıt elektrot olarak platin tel ve referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Metanol ile çözünen Montelukast Sodyum' un pH 1 - 5 aralığında BR tamponu ile çözeltisi hazırlanmıştır. Önerilen yöntem ile plazma ve tablet formlarında çalışılan analitin gözlenebilme sınırı $3,41 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ olarak belirlenmiş ve geri kazanımı % 101,992 olarak bulunmuştur. Yöntemin hassasiyeti kromatografik yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Plazmada uygulanan yöntemin en önemli avantajı, daha önce hiçbir ekstraksiyon aşamasına gerek duyulmaması olarak belirtilmiştir.

B. Chauhan ve arkadaşları (2006) sıvı-sıvı ekstraksiyon bazlı ters faz sıvı kromatografi yöntemi geliştirerek insan plazmasındaki montelukastın belirlenmesi için doğrulanmıştır. Ayrılma, C8 kolonu (150 x 4.6 mm, 5 mikron) ile sağlanmış ve 10 mM amonyum asetat tamponu (pH 3.0) ve asetonitrilin 35:65 v/v oranında bir karışımından oluşan bir mobil faz ile gerçekleştirdikleri belirtilmiştir. Montelukast ter-butiletiller ile sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği kullanılarak insan plazmasından ekstre edilmiştir. Tayin limiti ve en düşük kantifikasyon limiti sırasıyla 5 ve 10 ng/mL olarak bulunmuştur. Bu yöntemin, % 53 ila 62'lik bir geri kazanım ile 10 ila 1000 ng / ml aralığında doğrusal olduğu belirtilmiştir. Stabilitate çalışmaları, insan plazmasındaki montelukastın, kısa süreli numune hazırlama ve analiz süresince stabil olduğunu göstermiştir. Bu yöntemin farmakokinetik çalışmalar arasında az miktarda örnekten temin edilebilmesi, basit, ekonomik bir HPLC yöntemi olduğu belirtilmiştir.

Shubha Rani ve arkadaşları (2006) floresans dedektörlü HPLC kullanarak insan plazmasında montelukast tayini için yeni bir sıvı-sıvı ayırma yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntemde ters fazlı sıvı kromatografisi yeni bir sıvı-sıvı ayırma yöntemi ile geliştirilmiş ve daha sonra insan plazmasında montelukast sodyumun belirlenmesi için valide edilmiştir. Ayırım, C8 kolonu (150 × 4,6 mm, 5 mikron) ve mobil faz olarak 35:65 v/v oranında 10 mM amonyum asetat tamponu (pH 3,0) ve asetonitril ihtiva eden bir mobil faz ile gerçekleşmiştir. Montelukast, ter-butil metil eter içeren bir sıvı-sıvı ayırma tekniği kullanılarak, insan plazmasından izole edildi. En düşük tayin limiti sırasıyla 5 ve 10 ng/mL olarak ölçüldü. Bu yöntemin, 53 - 62 % bir geri kazanımla 10 ila 1000 ng / ml aralığı üzerinde doğrusal olduğu bulunmuştur. Gün içi hassasiyeti (% CV) < % 15 ve doğruluğu 96,23 ile 108,39 % arasında değişmektedir. Stabilitate çalışmaları, insan plazmasındaki montelukastın numune hazırlama ve analiz çalışmalarında, kısa dönem dönem boyunca stabil olduğunu göstermiştir. Bu yöntem, farmakokinetik çalışmalar sırasında küçük hacimli örnek ile kullanılabilir.

Nitesh K. Patel ve arkadaşları (2009) insan plazmasında montelukast sodyumun tayini için hızlı sıvı kromatografisi-elektrosprey iyonizasyon-tandem kütle spektrometresi (LC-ESI-MS / MS) yöntemi geliştirilmiştir. Montelukastın plazmadan (300 µL) ekstraksiyonu protein çöktürme ile ilgilidir. Kantitasyon, pozitif iyon ve seçici reaksiyon izleme (SRM) modunda çalışan LC-ESI-MS/MS kullanılarak yapılmıştır. Analiz için toplam kromatografik çalışma süresi 1,5 dk' dır. Montelukast için 5 ila 800 ng mL⁻¹ arasında lineer bir dinamik aralık sağlanmıştır. Yöntem, 18 sağlıklı insan denek üzerinde bir biyoeşdeğerlik çalışmasına başarıyla uygulanmıştır (İnsan deneklerde biyoeşdeğerlik çalışması için reçete edilen diyeteye göre beslenme sağlanmıştır).

F. Belal ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada çeşitli tablet dozaj formlarında montelukast sodyum tahmini için bir RP-HPLC yöntemi geliştirmişleridir. Montelukastın tablet formu pH: 3,5 ta asetat tamponu ile ekstraksiyon işleminden sonra seyreltmeler yapılmıştır. Mobil faz olarak 15:85 v/v oranında amonyum asetat tamponu ve metanol kullanılmıştır. 10 dk çalışma süresi, 10 µL enjeksiyon döngüsü, 25 °C sıcaklık ile 50 - 150 µg / ml aralığında doğrusal tayin edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntemle dalga boyu 254 nm olarak bulunan analitin, geri kazanımı % 99,12 olarak bulunmuş ve önerilen yöntemin hızlı, basit bir numune hazır-

lama prosedürü, düşük maliyetli bir çözücü kullanılması, çalışılan konsantrasyon aralığında hassas, doğru ve doğrusal olması ve analizin hızlı gerçekleşmesi sebepleriyle avantajlı olduğu belirtilmiştir.

K. Naga Raju ve arkadaşları 2011 yılında dökme ve farmasötik formülasyonlarda montelukast sodyumun belirlenmesi için bir RP-HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Dökme halde ve farmasötik formülasyon içinde, montelukast sodyumun rutin analizler için UV algılaması olan hızlı ve hassas bir RP-HPLC metodu geliştirilmiştir. Kromatografi, mobil faz akışı 15:85 h/h oranında amonyum asetat tamponu ve metanol karışımı ile 1,0 ml/dk akışta uygulanmıştır. 50 - 150 ug / ml aralığında, montelukast sodyumun doğrusallık 0,999 korelasyon katsayısını göstermektedir. Önerilen yöntem hassasiyet doğruluk, kesinlik, sağlamlık, kararlılık, seçicilik, seçicilik ve sistem uygunluk parametrelerinin belirlenmesi ile doğrulandı.

Lovleen Kumar ve arkadaşları (2011) oral granül dozaj formlarında spektrofotometrik yöntemlerle montelukast sodyumun belirlenmesi için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada Montelukast Sodyumun dalga boyu 285 nm de karakterize edilmiştir. Yöntemin korelasyon katsayısı (r) 2,4 ppm - 24 ppm doğrusal aralığında 0,9998 olarak bulunmuştur. Bu hassas yöntemde geri kazanım hedef konsantrasyonun % 50 seviyesinden % 150 ye ulaşmıştır. Buna ek olarak önerilen yöntem kirlenici reaktifler kullanılmadan, uygulaması kolay duyarlı basit ve ucuz bir yöntemdir. Önerilen yöntem ilaç endüstrisinde oral granüller dozaj formunda Montelukas Sodyumun kantitatif tayini için rutin kalite kontrol analizlerinde kullanılabilir.

Shanmukha Kumar ve arkadaşları 2012 yılında dökme ve farmasötik formülasyonlarda, montelukast sodyumun spektrofotometrik tayini bir yöntem geliştirmişlerdir. Saf ve çeşitli dozaj formlarında montelukast sodyumun belirlenebilmesi için iki basit, hassas bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Her iki yöntem sulu fazdan kloroform içine ekstre edilebilen asidik boyalar olan BTB ve BCP' nin iyon ilişkili kompleks oluşumu üzerine dayanır. A yönteminde renkli kromojen limitleri 5,0 - 25,0 mg/ml içinde 410 nm ve doğrusal olarak maksimum absorpsiyon gösterir. B yönteminde üretilen renkli kromojen 415 nm' de ölçülmüştür. Geliştirilen yöntemin

4,0 - 20,0 mg/mL konsantrasyon aralığında olması Beer Yasası'na uyar. Geliştirilen yöntem farmasötik formülasyonlara başarıyla uygulanabilir. Elde edilen sonuçlar, resmi yöntemler kullanılarak elde edilen sonuçlar ile iyi bir uyum içindedir.

Gülcemal Yıldız ve arkadaşları (2013) doğrusal voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemlerini kullanarak kitosan modifiye karbon pasta elektrot ile montelukast sodyumun voltametrik tayini için bir yöntem geliştirmişlerdir. Çalışma Metanol-0,1 mol L⁻¹ HCl (1: 1, v / v) elektrolit ortamında yapılmış olup, DPV yöntemi için doğrusal aralık $1,70 \times 10^{-7}$ – $1,83 \times 10^{-5}$ M olarak bulunmuştur. Yöntemin tayin sınırı (LOD) $5,32 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ ve alt tayin limiti (LOQ) $1,61 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem, insan plazmasında ve farmasötik tabletlerde montelukast sodyumun başarılı bir şekilde tayin edilmesine olanak sunmaktadır. Elde edilen sonuçların, spektrofotometrik yöntemler kullanılarak elde edilen sonuçlar ile iyi bir uyum içinde olduğu belirtilmiştir.

Syed Saeed-Ul-Hassan ve arkadaşları 2013 yılında montelukast sodyumun dökme ve farmasötik tablet dozaj formunda tayini için lichorosovol üzerinde ters faz HPLC yöntemi geliştirmiştir. Çalışma, oktilsilil (5 µm 250 mm x 4.6 mm) C8 kolonu ve hareketli faz, asetronitril ve sodyum asetat tamponuna (asetik asit ile pH 4' e ayarlandı) gerçekleştirilmiştir. 80:20 v / v oranında, UV saptaması 1,0 mL / dak akış hızında 350 nm'de gerçekleştirildi. Metodun korelasyon katsayısı 0,00008-0,2 mg/mL uyulduğunu göstermiştir. İlacın LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,00008 mg/mL ve 0,004 mg/mL olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem için bağıl standart sapma değerleri % 2' nin altında bulunmuştur. Önerilen yöntemin düşük maliyetli, doğru, seçici, hassas ve hızlı bir yöntem olduğu belirtilmiştir

Nazife Aslan ve arkadaşları (2014) potansiyometrik titrasyon yöntemi ile montelukast sodyumun tayini için bir yöntem geliştirmiştir. Bu çalışmada montelukast sodyumun protonasyon sabitinin tayini ve farmasötik preparatlarda miktar analizinin yapılması amaçlanmıştır. Çalışmanın ilk kısmında, (i) $5,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ NaOH (hücre kalibrasyonu için); (ii) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ montelukast sodyumun suda ve % 40 etanol % 60 su ve % 60 etanol % 40 su ortamlarında

hazırlanan çözeltileri standart $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ HCl ile potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Titrasyonlar $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ sabit sıcaklıkta ve $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ NaCl iyonik şiddetinde yapılmıştır. Titrasyon verilerinden yararlanılarak her iki ortam içinde protonasyon sabitleri hesaplanmıştır. Çeşitli pH' larda iyonlaşmış ve iyonlaşmamış türlerin bağıl bollukları hesaplanarak dağılım eğrileri çizilmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında standart montelukast sodyum ve bu etken maddeyi içeren ticari ilaçların potansiyometrik titrasyonu % 40 etanol % 60 su ve % 60 etanol % 40 su ortamlarında yapıldı. Elde edilen verilerden % geri kazanım değerleri ve geri kazanımın hem standart montelukast sodyum için hem de ticari ilaçlar için % 100' e yakın olduğu bulunmuştur. İlaçlar için bulunan bu yüksek geri kazanım değeri ilaçlara katılan katkı maddelerinin geliştirilen titrasyon yöntemine herhangi bir girişim etkisi olmadığını göstermiştir. Sonuç olarak; geliştirilen yöntem ile ticari ilaç tabletlerinde montelukast sodyumun ucuz, basit, hızlı ve doğru biçimde tayin edilebileceği gösterilmiştir.

Kuldeep Singh ve arkadaşları (2017) montelukast sodyumun tayini için UV Spektroskopik metod geliştirmiştir. Montelukast sodyum için maksimum absorbanans değeri (λ_{max}) 286,5 nm olarak bulunmuştur. Yöntemin standart sapma (RSD) değeri % 2,0' den daha az olup, farmasötik formülasyonlarda yardımcı maddelerin girişim etkisi olmadan montelukast sodyumun hassas olarak tayin edilebilmesi için kullanılabilir bir yöntem olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve METOD

Bu bölümde kullanılan kimyasal maddeler, elektrokimyasal ölçme sistemi, yazılımlar, üçlü elektrot sistemleri ile diğer cihaz ve malzemeler hakkında bilgi verildi.

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firma ve saflık dereceleri belirtilerek, çizelge 3.1’ de verildi.

Çizelge 3.1: Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firma ve saflık dereceleri

Kullanılan kimyasal maddeler	Temin edildiği firma	Saflık derecesi %
Çinko Oksit (ZnO)	Sigma Aldrich	% 99,0
Montelukast sodyum	Fako	% 99,0
Grafit Tozu	Sigma Aldrich	% 99,0
Azot gazı (N ₂)	Habaş	% 99,99
Metanol (CH ₃ OH)	Sigma Aldrich	% 99,7
Asetik Asit (CH ₃ COOH)	Sigma Aldrich	% 99,8
Borik Asit (H ₃ BO ₃)	Sigma Aldrich	% 99,8
Fosforik Asit (H ₃ PO ₄)	Sigma Aldrich	% 85,0
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma Aldrich	% 99,0
Potasyum Klorür (KCl)	Sigma Aldrich	% 99,0

3.2 Kullanılan Elektrokimyasal Ölçme Sistemleri ve Yazılımlar

MKST’un elektrokimyasal davranışlarının incelendiği çalışmalar; DROP-SENSE µstat 400 (DRP-STAT400, İspanya) marka elektrokimyasal çalışma sistemi ile yapıldı.



Şekil 3.0: Drop-Sense çalışma ünitesi (www.dropsens.com, erişim tarihi 20.08.2018)

Bu sisteme BAS C3 elektrot hücre standı bağlanarak tüm deneyler bu hücrelerde gerçekleştirildi.



Şekil 3.1: BAS C3 elektrot hücre standı (www.basinc.com, erişim tarihi 20.08.2018)

Uygulanan yöntemlerin deneylerini otomatik olarak gerçekleştirmek ve bilgisayar kontrollü olan bu elektrokimyasal ölçme sisteminden elde edilen verileri değerlendirmek için ana üniteye bağlı bilgisayar sistemindeki DropView 3.0 yazılımından yararlanıldı.

Empedans ölçümleri bilgisayar bağlantılı IVIUM marka elektrokimyasal analiz cihazı ile gerçekleştirildi.

Elektrokimyasal sistemde, deneye başlamadan önce hazırlanan çözeltilerden gaz geçirilmesi ve çözeltilerin karıştırılması otomatik olarak yapıldı. Uygun görülen deney parametreleri sisteme girildikten sonra deney tamamlandığında deney verileri, grafik olarak elde edildi ve grafikler, daha önce elde edilen grafiklerle üst üste karşılaştırılarak karşılaştırıldı. Ayrıca, kullanılan yazılım, elde edilen deney verilerinin farklı bilgisayarlara aktarılmasına olanak sağlamaktadır.

3.3 Kullanılan Elektrotlar

Deneyleerde alışma elektrodu olarak sade KPE ve ZnO-NP-KPE, karşıt elektrot olarak 0,5 mm çapında Pt tel (BAS MW-1034) ve referans elektrot olarak Ag/AgCl referans elektrodu (BAS-MF 2052, USA) kullanıldı. Çalışmalarda kullanılan Ag/AgCl referans elektrodu, kullanılmadığı zamanlarda 3,0 mol L⁻¹ KCl özeltisi içerisinde bekletildi.

3.4 Kullanılan Diğer Cihaz ve Malzemeler

Çözelti hazırlanırken kullanılan kimyasal maddelerin tartımı 0,1 mg hassasiyetle tartım yapan Ohaus marka elektronik terazi kullanılarak yapıldı.

Sulu ortam çalışmalarında ortamın pH' sını ölçmek için HI 2211 pH / ORP marka pH - iyon metre ve onun bağlı bulunduğu HI 1131 cam pH elektrodu kullanıldı. pH iyonmetre her kullanımdan önce potasyum hidrojen ftalat ve sodyum bikarbonat çözeltileri ile hazırlanan ve pH değerleri sırasıyla 4,0 ve 10,0 olan tampon özeltiilerle oda sıcaklığında (25 ) kalibre edildi.

özeltiileri karıştırmak için Wisestir MSH – 20 D marka magnetik karıştırıcı kullanıldı. Sulu özeltiiler, Elga Purelab Option DU2 (USA) marka saf su cihazından elde edilen bidestile su sisteminden temin edildi.

Çözelti ilaveleri ve yapılan standart eklemeleri için; Axygen marka $\pm 0,05 \mu\text{L}$ hassasiyetli mikro pipetler kullanıldı.

3.5 Hazırlanan özeltiiler

3.5.1 Standart MKST özeltisinin hazırlanması

Çalışmada kullanılan montelukast sodyum stok çözeltisi toplam hacmi 10 ml, derişimi $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ olacak şekilde MKST tartıldıktan sonra metanolde çözölerek hazırlandı.

Çalışmada kalibrasyon eğrisi elde etmek için kullanılan MKST çözeltileri, stok çözeltinin metanol (MeOH) – Britton Robinson (BR) (1:1) destek elektrolit ortamında çeşitli oranlarda seyreltilmesiyle hazırlandı.

3.5.2 Destek elektrolit stok çözeltilerin hazırlanması

Elektrokimyasal çalışmalarda, pH 1,81 - 11,98 arasında kullanılabilen BR tamponu kullanıldı. Bu tampon hazırlanırken 2,29 mL asetik asit, 2,69 mL % 85'lik fosforik asit ve 2,47 g borik asit tartılarak bidistile su ile hacmi 1,0 L' ye tamamlandı. Hazırlanan BR tamponuna uygun hacimlerde 1,0 mol L⁻¹ NaOH ilave edilerek istenilen pH'da çözeltiler elde edildi.

Destek elektrolit çözeltisi, BR – MeOH (1:1) karıştırılarak hazırlandı.

3.5.3 Farmasötik örneklerin ve biyolojik sıvıların hazırlanması

Farmasötik örnek olarak kullanılan Singulair marka tabletler, Merck Sharp & Dohme İlaçları tarafından üretilmiştir ve her tablette 10 mg MKST olduğu belirtilmiştir.

İlaç tabletlerinin analize hazırlanması için 10 adet tablet alındı ve 10 tabletin kütlesi hassas bir şekilde belirlendikten sonra ortalama bir tablet kütlesi hesaplandı. 10 adet tablet porselen havanda ezilerek homojen toz haline getirildi. Bir tabletin ortalama kütlesine eşdeğer miktarda toz örnek ölçülü bir balona alınarak üzerine 50 mL MeOH ilave edildi ve çözünme için yaklaşık 90 dakika ultrasonik banyoda bekletildi ve MKST'nin tamamen çözünmesi sağlandı. Elde edilen karışım 30 dakika boyunca 1500 rpm' de santrifüjlenerek çökelek ile çözeltinin ayrılması sağlandı. Çözelti kısmı ölçülü balona aktarılarak hacmi bidistile su ile 100 mL' ye tamamlanarak MKST'nin tablet stok çözeltisi hazırlandı. Daha sonra stok çözeltiden uygun hacimler alınarak çalışma çözeltileri hazırlandı.

Serum çözeltilerinin hazırlanmasında ise, sağlıklı ve MKST kullanmayan insanlardan temin edilen serum örnekleri kullanıldı. Bu örnekler üzerine belirli MeOH ilave edilerek serum proteinleri çöktürüldü ve çöken proteinler santrifüj yardımıyla ayrıldı. Proteinleri çöktürülüp ayrılan serum örneğinden 1 mL alındı ve hücrede BR – MeOH (1:1) karışımı ile 10 mL' ye tamamlandı. Bu çözeltiliye farklı miktarlarda MKST stok çözeltisinden ilave edilerek elektrokimyasal ölçümler yapıldı.

3.6 Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması

Çalışmada hem sade KPE hem de ZnO-NP-KPE kullanıldı. Sade KPE, 15,00 mg grafit tozu ve 10,00 µL parafin yağının homojen karışım elde edilmeye kadar karıştırılması ve 15 mg iç hacimli karbon pasta elektrot gövdesine sıkı bir şekilde doldurulmasıyla elde edildi. Daha sonra düz bir kağıt üzerinde elektrot yüzeyi pürüzsüz hale getirilerek KP elektrotlar hazırlandı.

ZnO NP KPE ise; 2,5 mg ZnO nanopartikülleri ve 12,5 mg grafit tozu üzerine 10,00 µL parafin yağı eklenerek yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlandı ve KP elektrot gövdesine doldurularak yüzeyi pürüzsüz hale getirildi.

3.7 Elektrokimyasal Deneyler ve Ölçümlerin Yapılışı

Elektrokimyasal deneyler Şekil 3.1' de gösterilen BAS C3 elektrot hücre standında, 10 mL' lik hücreler kullanıldı. Deneylerde çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrottan oluşan üçlü elektrot sistemi kullanıldı.

Herbir ölçümden önce çözeltilerden 10 dakika, ölçüm aralarında 30 saniye azot gazı geçirilerek ortamdan oksijenin uzaklaşması sağlandı. Voltametrik çalışmalarda destek elektrolit çözeltisi kullanılarak çalışmanın yapılacağı potansiyel aralığı belirlendi ve daha sonra değişen miktarlarda standart, tablet veya serum çözeltilerinden ilaveler yapılarak belirlenen potansiyel değerler arasında elektrokimyasal ölçümler alındı.

3.7.1 Dönüşümlü voltametri (DV) deneylerinin yapılışı

MKST' nin DV çalışmaları Bölüm 3.5' te belirtilen çözeltilerle gerçekleştirildi. Çalışmalar (-0,3) - (-1,2) V potansiyel aralığında 0,1 Vs⁻¹ tarama hızında pH 2,3 de %50 MeOH - %50 BR destek elektrolit ortamında, ZnO-NP-KPE ile gerçekleştirildi.

3.7.2 Kare dalga voltametri (KDV) deneylerinin yapılışı

MKST' nin KDV çalışmaları Bölüm 3.5' te belirtilen çözeltilerle gerçekleştirildi. Çalışmalar (-0.2) – (-1.8) V potansiyel aralığında, 10 Hz frekansta, 25 mV kare dalga genliğinde, basamaklı adım yüksekliği 4 mV değerinde, pH 2,3' te % 50 MeOH - % 50 BR destek elektrolit ortamında, ZnO-NP-KPE yüzeyinde gerçekleştirildi.

3.7.3 Kare dalga adsorptif sıyırma (KDKAdSV) deneylerinin yapılışı

MKST'un kare dalga adsorptif sıyırma çalışmaları Bölüm 3.5' te belirtilen çözeltilerle gerçekleştirildi. Çalışmalar öncesi biriktirme potansiyel ve biriktirme süresi optimize edildi. Çalışmalar 0,0 V biriktirme potansiyelinde, 10 Hz frekansta, 60 saniye biriktirme süresinde 0 – (-1,2) V potansiyel aralığında, pH 2,3' de % 50 MeOH - % 50 BR ortamında, ZnO-NP-KPE yüzeyinde gerçekleştirildi.

3.7.4 Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması

KDV ve KDKAdSV yöntemlerinde çeşitli derişimlerdeki MKST çözeltilisinin belirlenen optimum koşullarda voltamogramları alındı ve pik akımları belirlendi. Ölçülen pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri oluşturuldu. Elde edilen doğru denkleminden yararlanarak doğrusal çalışma aralığı, alt tayin sınırı (LOD) ve gözlenebilme (LOQ) sınırı değerleri hesaplandı.

3.7.5 Kalibrasyon parametrelerinin belirlenmesi

3.7.5.1 Doğrusal çalışma aralığı

Bölüm 3.7.4'te belirtildiği gibi elde edilen kalibrasyon grafiklerinin regresyon katsayısının $R^2=0,9874$ olduğu derişim aralığı doğrusal çalışma aralığı olarak belirlendi.

3.7.5.2 Doğruluk

Tablet ve serum numunelerinde eklenen ilaç etken madde miktarları (μ) ile voltametrik yöntemler kullanılarak bulunan ortalama ilaç etken madde miktarlarından (\times) yararlanarak % geri kazanım eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplandı.

$$\%GK = \frac{\chi}{\mu} \times 100 \quad (3.1)$$

3.7.5.3 Tekrarlanabilirlik

Pik akımı ve pik potansiyeli tekrarlanabilirliklerinin belirlenmesi için aynı çözelti kullanılarak aynı gün içerisinde, aynı şekilde hazırlanmış farklı çözeltiler kullanılarak farklı günler içerisinde optimum şartlarda voltamogramlar kaydedildi ve belirtilen parametreler için bağlı standart sapma değerleri en az üç ölçüm için hesaplandı.

3.7.5.4 Duyarlık

Bölüm 3.7.4'te belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafiklerinin eğimi (birim derişim başına sinyal) yöntemin duyarlılığı olarak değerlendirildi.

3.7.5.5 Gözlenebilme sınırı (LOD)

Bölüm 3.7.4'te belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafikleri en küçük kareler yöntemiyle değerlendirildi ve Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3 kullanılarak gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) hesaplandı.

$$LOD = \frac{3s_b}{m} \quad (3.2)$$

$$LOQ = \frac{10s_b}{m} \quad (3.3)$$

Burada s_b , kalibrasyon doğrusunda başlangıç ordinatının standart sapması, m ise kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

3.7.5.6 Aktarılan elektron sayısı (n) ile yük aktarım katsayısının (β) çarpımının bulunması

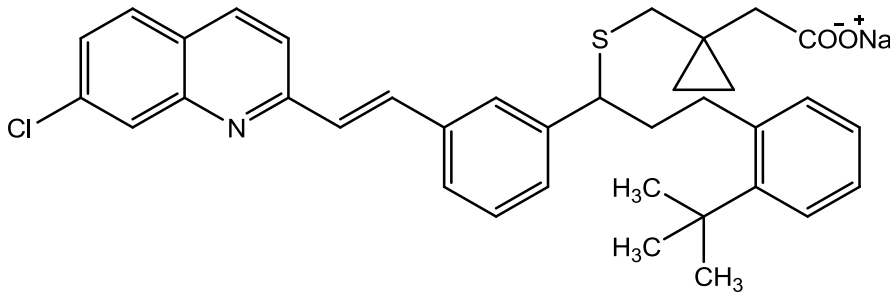
İndirgenme tepkimesi için yük aktarım katsayısı (β), dönüşümlü voltametri çalışmalarındaki pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişiminin, kare dalga voltametri çalışmalarında ise pik potansiyelinin uyarma sinyalinin (f) logaritması ile değişiminin Eşitlik 3.4 ve literatürde verilen eşitlikler (**Wang vd. 2006**) ile birlikte kullanılması sonucu hesaplanmıştır.

$$E_p = k + \frac{RT}{(\beta n)F} \ln v \quad (3.4)$$

Burada E_p , pik potansiyelini (V), T mutlak sıcaklığı (K), R , ideal gaz sabitini (J/molK); n , aktarılan elektron sayısını (mol elektron/mol molekül); β , yük aktarım katsayısını, F faraday sabitini (K/mol elektron) ifade etmektedir.

4. DENEY SONUÇLARI VE BULGULAR

Bu çalışmada, MKST'nin (Şekil 4.1) voltametrik yöntemlerle elektrokimyasal indirgenme davranışı incelendikten sonra hem tabletlerde hem de biyolojik örneklerde analizinin gerçekleştirilmesi ve olası reaksiyon mekanizmasının önerilmesi hedeflendi. Bu amaçla, molekül yapısında indirgenme tepkimeleri için elverişli fonksiyonel grupların bulunmasından yola çıkılarak voltametrik yöntemlerle elektrokimyasal indirgenme davranışı, camsı karbon elektrot (CKE) yüzeyinde incelendi. Söz konusu etken maddenin CKE yüzeyinde elektroaktif olmamasından dolayı çalışmalara KPE yüzeyinde devam edildi. Nanoteknoloji ile üretilen üstün fiziksel özelliklere sahip nanopartikül teknolojisi, elektrokimyasal tekniklerin kullanıldığı yöntemlerde daha seçimli, daha hassas ve gözlenebilir sınırları çok daha düşük elektrokimyasal analizleri mümkün kılmaktadır (Hrapovic ve ark 2004). Bu yüzden, KPE yüzeyi çeşitli nanopartiküller ile modifiye edilerek en uygun nanopartikül belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla, çeşitli nanopartiküller kullanılarak modifiye edilmiş KPE ile dönüşümlü voltametri (DV) deneyleri yapıldı. $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ MKST derişiminde, MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisinde Al₂O₃, CoO, CuO, Fe₃O₄ ve Fe₂O₃ nanopartikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrotlarda, çalışılan potansiyel aralığında herhangi bir indirgenme-yükseltgenme piki gözlenmezken NiO ve ZnO nanopartikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot yüzeyinde MKST'nin tekli indirgenme piki gözlemlendi. ZnO nanopartikülleri ile modifiye edilmiş KPE' de gözlenen indirgenme pikinin, NiO nanopartikülleri ile modifiye edilmiş KPE'de elde edilen indirgenme pikine göre daha yüksek akım şiddetine sahip olmasından dolayı çalışma elektrodu olarak ZnO-NP-KPE seçildi.

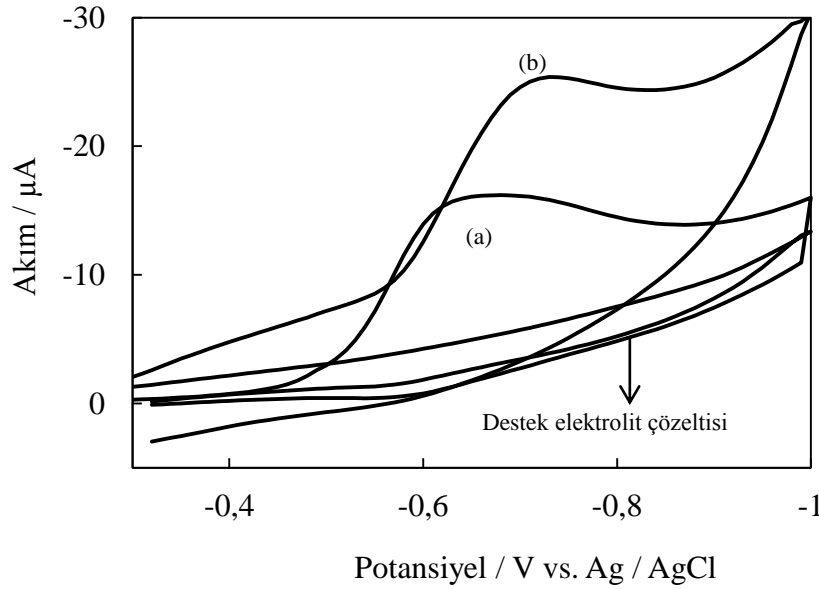


Şekil 4.1 MKST'nin molekül yapısı

4.1 MKST' nin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

4.1.1 Dönüşümlü Voltametri çalışmaları

MKST' nin elektrokimyasal indirgenme davranışı incelenmeden önce MeOH - BR (1:1) ortamı için uygun potansiyel penceresi belirlendi. Bu amaçla, hem MeOH - BR (1:1) çözücü sisteminin (pH: 2,3) hem de MeOH - BR (1:1) çözücü sisteminde $2,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ MKST çözeltisinin (pH: 2,3), sade KPE ve ZnO-NP-KPE yüzeyinde dönüşümlü voltamogramları alındı (Şekil 4.2). Şekil 4.2' den de görüldüğü gibi, -0,3 ile -1,2 V aralığında MeOH-BR (1:1) çözücü karışımına ait herhangi bir indirgenme yükseltgenme pikine rastlanmazken, $2,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ MKST çözeltisinin yaklaşık -0,70 V' da indirgenme piki gözlemlendi. Bu nedenle, çalışmaya uygun potansiyel aralığının -0,3 ile -1,2 V olarak seçilmesine karar verildi. Şekil 4.2 incelendiğinde ZnO-NP-KPE' ta alınan dönüşümlü voltamogramlardan elde edilen pik akımlarının sade KPE' ta elde edilen pik akımlarından daha yüksek olduğu görüldü.

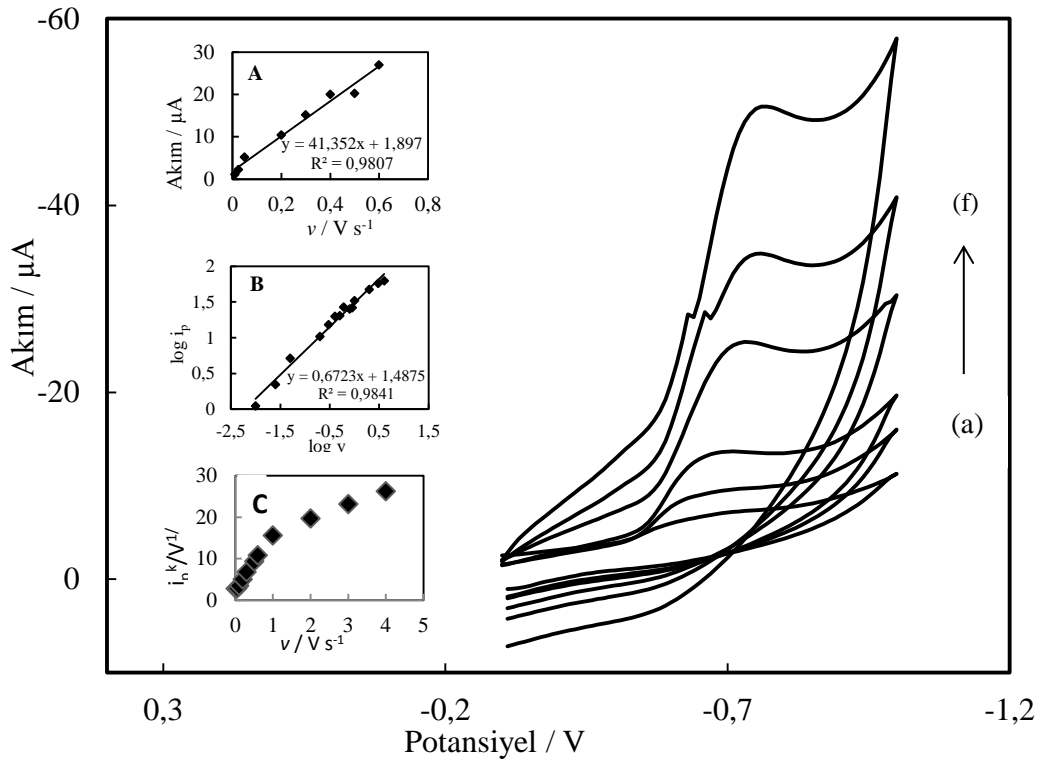


Şekil 4.2: $2,5 \times 10^{-4}$ M MKST' nin MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisi ortamında, sade KPE (a) ve ZnO-NP-KPE' de (b) elde edilen dönüşümlü voltamogramları (pH 2,3, tarama hızı $0,1 \text{ V.s}^{-1}$)

Şekil 4.2' de verilen voltamogram incelendiğinde -0,3 ile -1,2 V potansiyel aralığında, MKST' e ait yaklaşık -0,7 V' da bir indirgenme piki gözlenirken, yapılan geri taramada herhangi bir yükseltgenme pikine rastlanmadı. Voltamogramda yükseltgenme pikinin gözlenmesi, MKST' nin indirgenmesinin tersinir olmadığını düşündürdü. Ancak, kaydedilen dönüşümlü voltamogramda yükseltgenme pikine rastlanmaması elektrot yüzeyinde oluşan elektrokimyasal reaksiyonun tersinmez olduğunun kesin göstergesi değildir. Eğer elektron aktarım

basamağını takip eden hızlı bir kimyasal reaksiyon gerçekleşirse, yükseltgenme piki gözlenemeyebilir (Nicholson ve Shain 1964, Greef ve ark. 1990, Bard ve Faulkner 2001). Bu yüzden farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltametri deneylerinden elde edilen voltamogramdan yararlanıldı (Şekil 4.3).

$2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ MKST' nin, ZnO-NP-KPE' ta, pH 2,3' de, -0,3 ile -1,2 V s⁻¹ potansiyel aralığında, farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarında, tarama hızı arttıkça pik akımlarının arttığı ve pik potansiyellerinin daha negatif potansiyellere kaydığı gözlemlendi. E_{pk} ' lerin yüksek tarama hızlarında daha negatif değerlere kayması kriteri de, sistemin tersinir olmadığına bir göstergesidir. Ayrıca ($i_p^k/v^{1/2}$) akım fonksiyonunun tarama hızına bağlı olması da sistemin tersinmez olabileceğinin bir başka göstergesi olarak kabul edilir (Nicholson ve Shain 1964, Greef ve ark. 1990, Bard ve Faulkner 2001). Şekil 4.3 incelendiğinde elde edilen sonuçlar, MKST' nin ZnO-NP-KPE yüzeyindeki indirgenme reaksiyonunun tersinir olmadığını gösterdi.



Şekil 4.3: $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE' de pH 2,3'te MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları (a) 0,025 Vs-1; (b) 0,05 Vs-1;

(c) 0,075; (d) 0,1; (e) 0, 2 Vs-1; (f) 0,3Vs-1 ($i_p^k - v$ grafiği, $\log i_p^k - \log v$ ve $i_p^k / V^{1/2} - v$ grafikleri i grafik olarak verildi).

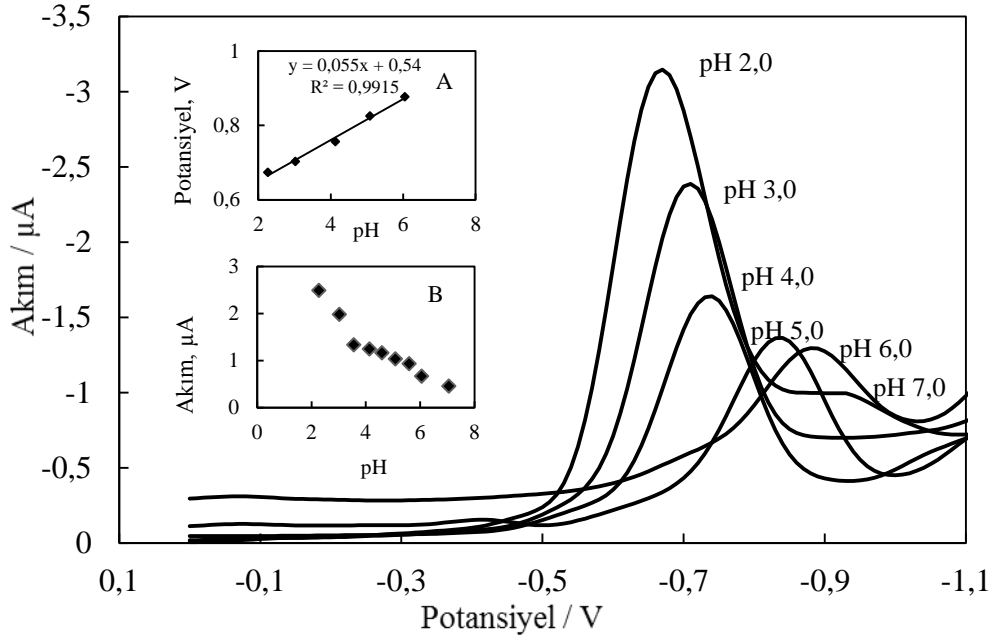
4.1.2 MKST' nin adsorpsiyon özelliği

İlaç etken maddeler gibi büyük moleküllü organik maddelerin önemli bir kısmı, elektrot yüzeyine adsorbe olur ve bu moleküllerin elektrot yüzeyine adsorbe olması elektrot reaksiyonlarını önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle, maddelerin elektrot yüzeyine adsorplanıp adsorplanmadığının belirlenmesi gerekir. DV, bu amaçla kullanılan en önemli elektrokimyasal yöntemlerden biridir. Bu alışmada, MKST' nin elektrot yüzeyinde adsorbe olup olmadığı, farklı tarama hızlarında alınan DV deneylerinden yararlanılarak incelendi. Bu amaçla, $\log i_p^k - \log v$ grafikleri çizildi. Bilindiği gibi, difüzyon dikkate alınarak türetilen ve dönüşümlü voltamogramdaki pik akımını veren Randles-Sevcik eşitliğinden, $\log i_p^k$ ve $\log v$ arasında, eğimi 0,5 olan bir doğru elde edilir. Maddenin elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu söz konusu ise, bu bağıntıdan ve dolayısıyla 0,5' den sapmalar meydana gelir ve genellikle bu durumda grafiklerin eğimi 0,5' den büyük olur (**Bard ve Faulkner 2001**). Şekil 4.3' te i grafik incelendiğinde $\log i_p^k - \log v$ grafiğinin eğimi 0,67 olduğu görüldü. Bulunan eğim değeri 0,5 ile 1,0 aralığında ve 0,5 değerine daha yakın bulunması MKST' nin ZnO-NP-KPE yüzeyindeki elektrokimyasal indirgenme reaksiyonunun hem adsorpsiyon, hem de difüzyon kontrollü olduğunu düşündürdü.

4.1.4 Elektrot reaksiyonunda yer alan H^+ sayısının bulunması ve pH' nin pik akımına ve pik potansiyeline etkisi

Çalışmaların yapıldığı ortamda bulunan H^+ iyonları derişiminin bir ölçüsü olan pH değeri, elektrokimyasal cevabın potansiyelini (E_p) ve akım Őiddetini (i_p) değiştirebilen en önemli parametrelerden birisidir (**Kaçar 2000**). Bu nedenle H^+ iyonlarının MKST' nin elektrokimyasal reaksiyonuna olan etkisi incelendi. MKST' nin pik akımı ve pik potansiyeline pH' ın etkisini incelemek amacıyla, Bölüm 3.7.2' de anlatılan kare dalga voltametri deneylerinden yararlanıldı (Şekil 4.4). MeOH - BR (1:1) destek elektrolit zltisi ve 0,10 mol L⁻¹ NaOH kullanılarak farklı pH' larda hazırlanan 10 mL' lik 1,0×10⁻⁵ mol L⁻¹ zltilerde çalışıldı. Elde edilen pik akımları ve

pik potansiyellerinin pH ile değişimi grafiğe geçirildi. Pik akımlarının pH değerine etkisi incelendiğinde kare dalga voltametri yönteminde en yüksek pik akımının pH 2,3’ de elde edildi. Bu yüzden optimum pH olarak en yüksek pik akımının görüldüğü pH 2,3 seçildi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: ZnO-NP-KPE’ ta $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ MKST’nin, farklı pH değerlerindeki kare dalga voltamogramları (pik potansiyellerinin ve pik akımlarının pH ile değişimini gösteren grafik iç grafik olarak verildi).

Şekil 4.4 incelendiğinde artan pH ile pik potansiyellerinin düzenli olarak negatif değerlere kaydığı gözlendi. Pik potansiyelinin pH ile değişmesi elektrot reaksiyonunda protonun yer aldığını göstermektedir. Bu amaçla, MKST’ nin elektrokimyasal indirgenme reaksiyonuna eşlik eden proton sayısı Eşitlik 4.1’ den hesaplandı (Wang ve ark., 2006).

$$E_p = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \left[\frac{Q}{R} \right] - \frac{\partial RT}{nF} \ln [H^+] \quad (4.1)$$

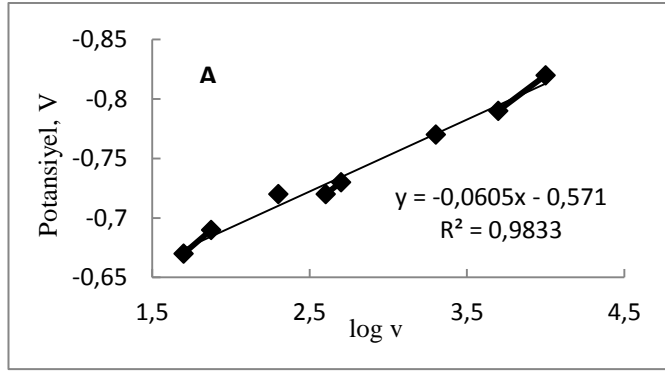
Bu eşitlikte; E_p : Pik potansiyeli, (V); E^0 : Standart pik potansiyeli, (V); R: İdeal gaz sabiti, (J.mol⁻¹.K⁻¹); T: Mutlak sıcaklık, (K); ∂ : Mekanizmadaki proton sayısı, (mol.proton⁻¹ / mol.molekül⁻¹); n: Aktarılan elektron sayısı, (mol.elektron⁻¹ / mol.molekül⁻¹); F: Faraday sabiti, (C.mol⁻¹.elektron⁻¹)’dir.

Eşitlik 4.1’ de verilen bilinen büyüklüklerin değerleri ile birlikte pik potansiyelinin ortamın pH değeri ile değişimi grafiğinin (Şekil 4.4 i grafik) eğimi kullanıldığında proton sayısının

elektron sayısına oranı 1,07 yaklaşık 1,0 olarak bulundu. Bu sonuca göre elektrokimyasal basamakta eşit sayıda H^+ (proton) ve e^- (elektron) yer aldığı sonucuna varıldı.

MKST' nin elektrot tepkimesinde hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısını belirlemek için eşitlik 3.4' den yararlanıldı (Wang ve ark. 2006, Öztürk ve ark. 2010, Taşdemir ve ark. 2011).

Şekil 4.5 incelendiğinde yapılan tarama hızı çalışmasında tarama hızının logaritmasına karşı, pik potansiyeli değerleri grafiğe geçirilmiş ve pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile $E_p = -0,0605 \log v - 0,571$, $R^2=0,9833$ eşitliğini sağlayacak şekilde değiştiği görülmüştür.



Şekil 4.5: $2,5 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} MKST' nin ZnO-NP-KPE'de pH 2,3'te MeOH-BR (1:1) destek elektrolit çözeltisinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından elde edilen $\log v-E_p^k$ grafiği

Bu denkleme ait eğim değeri Eşitlik (3.4)' de yerine yazıldığında katodik yük aktarım katsayısı olan β ile elektrot tepkimesinin hız belirleyen basamağında aktarılan elektron sayısının (n) çarpımı ($n \times \beta$) değeri 0,97 yaklaşık 1,0 olarak bulundu. Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği (Brett ve Brett 1994) ve birçok çalışma elektrodu için bu parametrenin 0,50 olduğu düşünüldüğünde MKST' nin indirgenme mekanizmasındaki hız belirleyen basamakta iki elektron aktarıldığı söylenebilir.

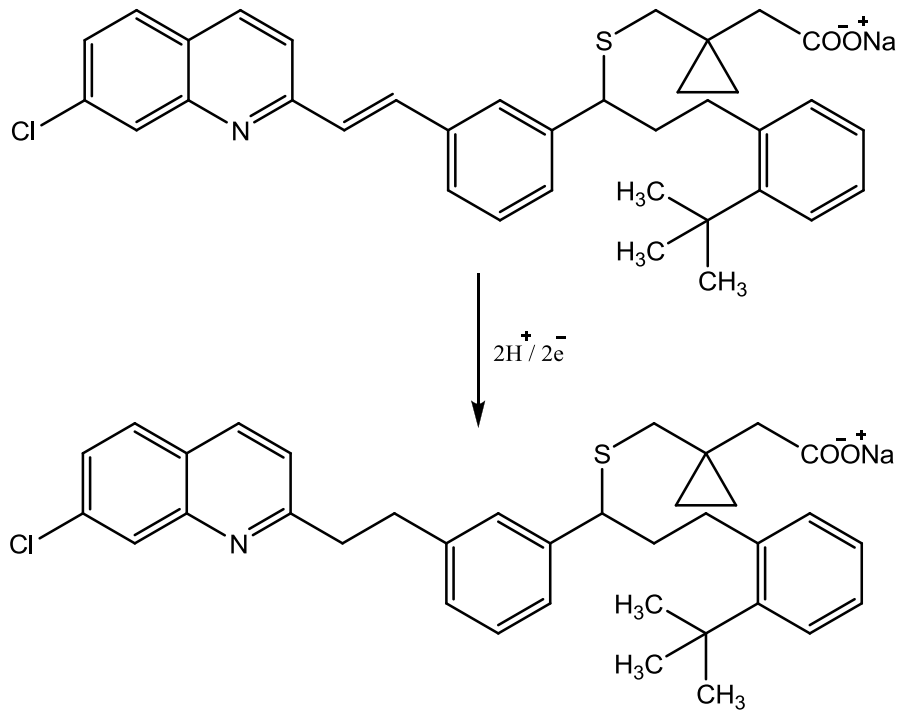
MKST' nin ZnO-NP-KPE' ta indirgenmesinde aktarılan elektron sayısının belirlenmesinde, yukarıda elde edilen tüm sonuçların değerlendirilmesi ve literatürde MKST' nin ve benzer elektroaktif gruplara sahip moleküllerin elektrokimyasal reaksiyon çalışmalarının incelenmesi ile 2 elektron 2 proton aktarımı ile indirgenmenin gerçekleştiği sonucuna varıldı (Wang 2000, Barek ve ark. 2008).

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde MKST' nin ZnO-NP-KPE yüzeyinde;

- İndirgenmesinin tersinmez olduğuna,

- İndirgenme reaksiyonunda protonun yer aldığına,
- İndirgenme reaksiyonunda, 2 elektron 2 proton aktarımı ile indirgenmenin gerçekleştiğine,
- İndirgenme tepkimesinin çözelti elektrot ara yüzeyinde hem adsorpsiyon, hem de difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiğine karar verildi.

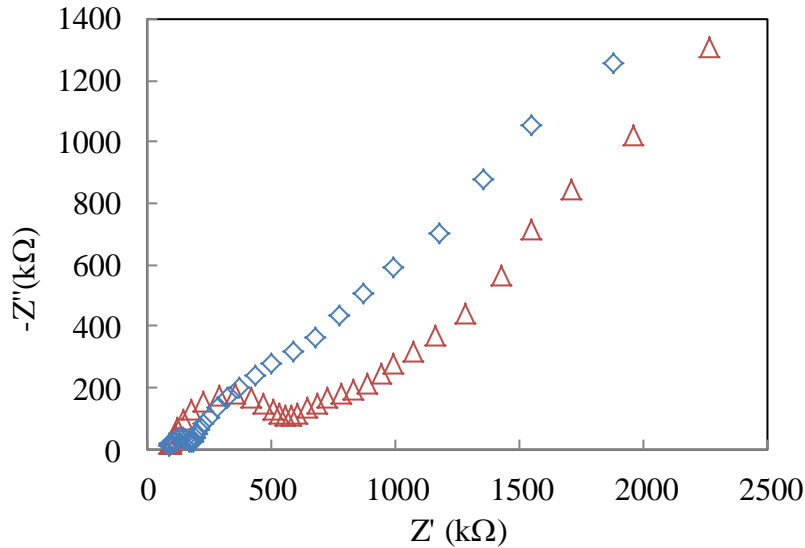
Elde edilen verilere göre molekülün yapısındaki konjuge bağa $2e^-/2H^+$ aktarımı ile eletrot yüzeyinde gerçekleşen indirgenme reaksiyonun tamamlandığı sonucuna varıldı. Bu sonucun literatürde önerilen reaksiyon mekanizmaları ile de uyum içinde olduğu görüldü (**Gülcemal ve ark. 2013**). MKST'nin ZnO NP KPE yüzeyindeki olası indirgenme mekanizması Şekil 4.5' te verildi.



Şekil 4.6 MKST' nin elektrokimyasal reaksiyon mekanizması

4.1.3 Empedans Ölçümleri

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi elektrotların modifikasyonu sırasında elektrot yüzeyindeki empedans değişimleri gösteren bir tekniktir. Çalışmada bölüm 2.5' te anlatıldığı gibi sade KPE ve ZnO-NP-KPE elektrotlarının empedans ölçümleri alındı. Şekil 4.7 modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş KPE' nin $5,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ içeren $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ çözeltisindeki Nyquist eğrilerini göstermektedir. Nyquist eğrilerinde sanal empedans (Z'') gerçek empedansa (Z') karşı grafiğe geçirilir. Empedans spektrumunun Nyquist eğrisi, bir doğrusal ve bir yarım halka şeklinde iki kısımdan oluşur. Yüksek frekanslardaki yarım halka elektron transferinin sınırlı olduğu duruma, düşük frekanslardaki doğrusal kısım da difüzyon prosesine karşılık gelir. Yarım dairenin çapı elektrot yüzeyindeki elektron transfer direncine eşittir. (Wang 2008). Şekil 4.7 incelendiğinde sade KPE ile iyi tanımlanmış bir yarım halka elde edildiği görüldü. Sade KPE' nin oluşturduğu halkanın çapının en büyük olması çözelti/elektrot ara yüzeyinde direncin daha yüksek olduğu dolayısıyla elektron aktarımının en düşük olduğu şeklinde yorumlandı. ZnO-NP-KPE' de elde edilen halkaların çapları sade KPE ile karşılaştırıldığında çok daha düşük bulundu. Bu durumda ZnO-NP-KPE' nin çözelti/elektrot ara yüzeyinde elektron aktarım direncini düşürdüğü düşünüldü. Sonuç olarak ZnO-NP-KPE çapının küçük olması elektron aktarımının hızlı olması ve çözelti / elektrot ara yüzeyini direncinin daha düşük olduğunu gösterdi.



Şekil 4.7 Nyquist eğrisi sade KPE (Δ), ZnO-NP-KPE (\diamond) $5,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ içeren $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ çözeltisi içinde

4.2 MKST'nin Sıyırma Voltametri ile Tayini için Yöntem Geliştirme

4.2.1 Cihaz parametrelerinin optimizasyonu

Voltametrik yöntemlerde, elektroaktif maddeye ait piklerin oluşmasında ve keskinleşmesinde, kullanılan yazılım ve cihazın sinyal parametreleri önemlidir. Bundan dolayı bu parametrelerin de optimize edilmesi gereklidir. Bu sebeple MKST'nin indirgenme pik akımı ve pikin şekli dikkate alınarak yapılan çalışmalarda optimum cihaz parametreler belirlendi ve sonuçlar Çizelge (4.1)'de verildi.

Çizelge 4.1: Sıyırma voltametri yöntemi için optimum cihaz parametreleri

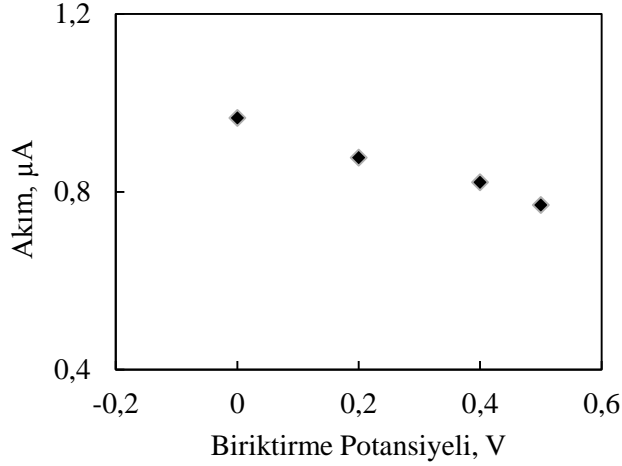
Parametre	KDKAdSV
Başlangıç Potansiyeli, V	0,0
Bitiş Potansiyeli, V	-1,2
Genlik Frekans, mVs ⁻¹	10
Basamak potansiyeli, V	0,01
Örnekleme Genişliği, V	0,01
Durulma süresi, s	3

4.2.2 Yöntem parametrelerinin optimizasyonu

MKST elektrot yüzeyine adsorbe olabilen bir ilaç etken maddedir. Bu nedenle, MKST'nin elektrokimyasal davranış çalışmalarından sonra farmasötik ve serum örneklerinde hızlı, güvenilir, tekrarlanabilir ve yüksek doğrulukta tayin edilebilmesi için voltametrik yöntem geliştirildi. Çalışmada kare dalga katodik adsorptif sıyırma voltametri (KDKAdSV) yöntemi kullanıldı. Kullanılan yöntemde, doğrudan voltametrik yöntemlerdeki parametrelere ek olarak biriktirme potansiyelinin ve biriktirme süresinin optimizasyonu yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıda verildi.

4.2.2.1 Biriktirme potansiyelinin belirlenmesi

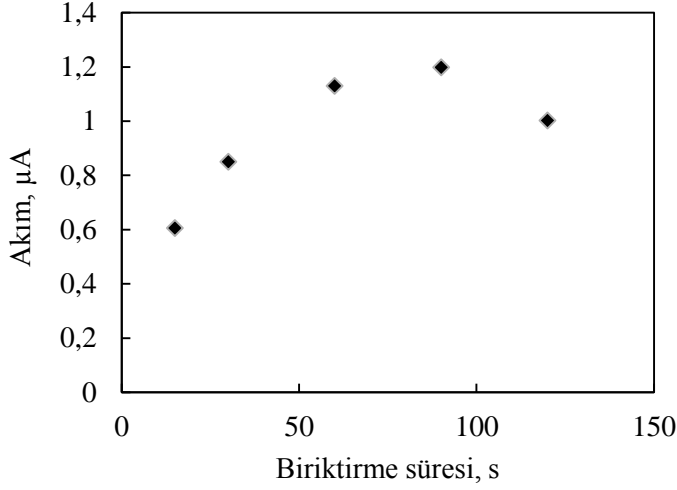
MKST' nin pik akımına biriktirme potansiyelinin (E_{bir}) etkisi, KDKAdSV yöntemi ile incelendi. Biriktirme potansiyeli 0,0 V – (-0,5 V) aralığında değiştirilerek pik akımı değişimi pik potansiyeline karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.7). En yüksek pik akımı 0,0 V biriktirme potansiyelinde (E_{bir}) elde edildi (Şekil 4.7). KDKAdSV yöntemi için 0,0 V optimum biriktirme potansiyeli olarak belirlendi.



Şekil 4.8 $1,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE ile elde edilen pik akımlarının biriktirme potansiyeli ile değişimi (pH 2,3).

4.2.2.2. Biriktirme süresinin belirlenmesi

Belirlenen optimum biriktirme potansiyelinde $1,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ MKST içeren hücrede biriktirme süresi 15 - 150 s arasında değiştirilerek ölçümler alındı. Değişen biriktirme sürelerine karşı elde edilen pik akımlarının değişim grafiği (Şekil 4.8) incelendiğinde, en yüksek pik akımının 90 s olduğu görüldü. Ancak, pik şekli ve artık akım parametrelerine göre değerlendirme yapıldığında optimum biriktirme süresi 60 s olarak belirlendi.



Şekil 4.9: $1,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ MKST' nin ZnO-NP-KPE' ta elde edilen pik akımlarının biriktirme süresi ile değişimi (pH 2,3).

Elde edilen sonuçlara göre, MKST' nin KDKAdSV yöntemi ile tayini için belirlenen optimum parametreler Çizelge 4.2' de verildi.

Çizelge 4.2 KDKAdSV Yöntemi için optimum yöntem parametreleri

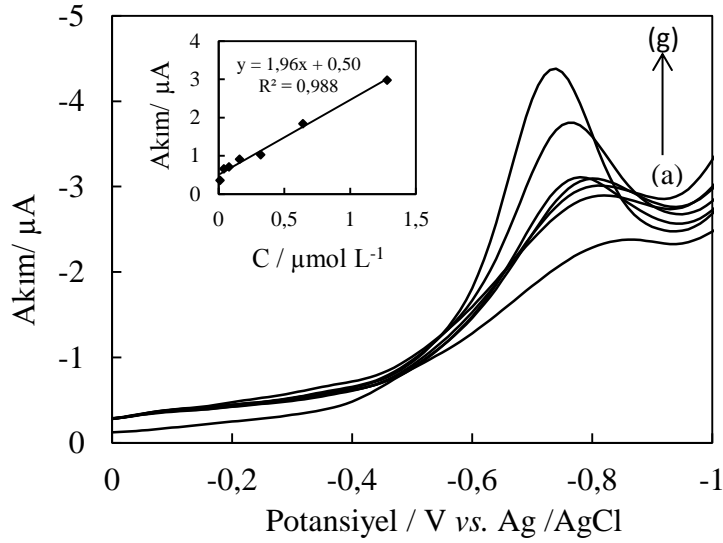
Destek elektrolitin türü	MeOH-BR (1:1) karışımı
pH	2,3
Biriktirme potansiyeli, V	0,0
Biriktirme süresi, s	60

4.3 KDKAdSV Yönteminin Analitik Uygulamaları

4.3.1 Derişim çalışması

Geliştirilen KDKAdSV yöntemi için optimum cihaz parametreleri (Çizelge 4.1) ve optimum yöntem parametreleri (Çizelge 4.2) kullanılarak derişim çalışmaları yapıldı. Yapılan derişim çalışmaları sonucunda doğrusal çalışma aralığı ve yönteme ait bazı kalibrasyon parametreleri hesaplandı. Derişim çalışmalarında, içerisinde pH 2,3' a ayarlanmış, bilinen hacimde MeOH – BR (1:1) bulunan elektrokimyasal hücreye, MKST' nin stok çözeltilerinden $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ ve $1,28 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ aralığında olacak şekilde bilinen miktarlarda ilaveler yapıldı. Her bir ilaveden sonra hücredeki hacim değişimleri de dikkate alınarak MKST' nin derişimleri hesaplandı ve KDKAdSV yöntemi ile alınan voltamogramlar her bir derişim için ayrı ayrı kaydedildi. Derişime

karşı elde edilen voltamogramlardan okunan akım değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 MKST' nin ZnO-NP-KPE' ta farklı derişimlerde alınan voltamogramları (a) 0,01; b) 0,04; c) 0,08; d) 0,16; e) 0,32; f) 0,64; g) 1,28 µmol L⁻¹, (pH: 2,3, E_{bir}: 0,0 V, t_{bir}: 60 s MKST' nin akım-derişim grafiği iç grafik olarak verilmiştir).

4.4 Kalibrasyon grafikleri kullanılarak farmasötik örneklerden ve serum örneklerinden madde miktarı tayini

Geliştirilen yöntemlerin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile Çizelge 4.2' de verilen optimum koşullarda ve Bölüm 4.3' de verilen derişim çalışmalarının analitik parametreleri kullanılarak MKST'nin hem farmasötik hem de biyolojik örneklerde geri kazanım çalışmaları yapıldı. Tablet ve serum örnekleri Bölüm 3.5.3' de anlatıldığı gibi hazırlandıktan sonra KDKAdSV yöntemi ile sıyırma voltamogramları alındı. MKST' nin geri kazanım sonuçları ve istatistik değerlendirmeleri çizelge 4.3 ve çizelge 4.4' de verildi.

Çizelge 4.3: KDKAdSV yönteminin tablet örneklerine uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar

Örnek	Tablet başına nominal değer / mg	Tablet başına bulunan değer / mg	Geri kazanım ^a / %	RSD ^b / %	t _{deneyisel}
Tablet I	10	10,79; 10,00; 10,55	104,46 ± 10,07	3,88	1,91
Tablet II	10	9,97; 10,34; 10,69	103,29 ± 8,94	3,48	1,60

^a Geri kazanım değerleri % 95 güven seviyesinde (ortalama ± ts / N eşitliğine göre hesaplanmıştır).

^b Hesaplanan her değer için geri kazanım değeri bulunup bu değerlerin % bağıl standart sapmaları verilmiştir. % 95 güven seviyesinde iki serbestlik derecesi için t_{deneyisel}:4,30'dur.

Çizelge 4.4: KDKAdSV yönteminin serum örneklerine uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar

Serum	Eklenen miktar µg	Bulunan miktar µg	Geri kazanım ^a / %	RSD ^b / %	t _{deneyssel}
Serum I	2,25	2,34; 2,24; 2,26	101,10 ± 6,10	2,43	0,98
Serum II	0,23	0,23; 0,24; 0,24	101,34 ± 7,85	3,12	2,0

^a Geri kazanım değerleri % 95 güven seviyesinde (ortalama ± ts / N eşitliğine göre hesaplanmıştır.

^b Hesaplanan her değer için geri kazanım değeri bulunup bu değerlerin % bağıl standart sapmaları verilmiştir. % 95 güven seviyesinde iki serbestlik derecesi için t_{deneyssel}:4,30'dur.

4.4 Geliştirilen Yöntemin Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi

Analitik yöntem geliştirmede, geliştirilen yöntemin performans karakteristiklerinin belirlenmesi önemlidir. Bu amaçla MKST miktar tayini için geliştirilen KDKAdSV yönteminin aşağıdaki parametreler değerlendirilerek validasyonu yapıldı.

4.4.1 Doğrusal çalışma aralığı

Farklı derişimlerde MKST için, 0,0 V biriktirme potansiyeli ve 60 s biriktirme süresi uygulanarak pH 2,3 MeOH – BR (1:1) destek elektrolit ortamında adsorptif sıyırma voltametri ile elde edilen akımların grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon eğrisi incelendiğinde pik akımlarının $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ ve $1,28 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ arasında doğrusal olarak değiştiği görüldü.

4.4.2 Yöntemin doğruluğu

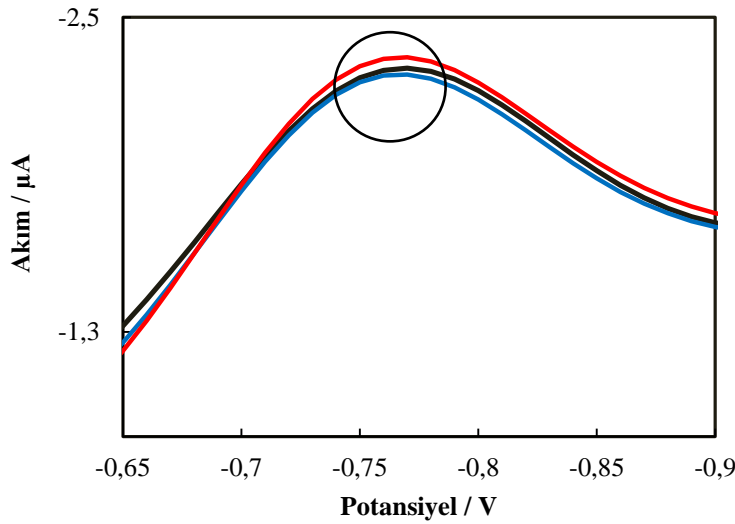
Bir yöntemin doğruluğu, gözlenen analiz sonuçlarının gerçek değere yakınlığının derecesi olarak ifade edilebilir. Yapılan analitik uygulamalar ile geliştirilen yöntemlerin doğruluğu araştırıldı. Bunun için, önerilen yönteme ait kalibrasyon parametreleri kullanılarak, çalışma hücrelerine ilave edilmiş olan bilinen miktarlarda MKST'nin geri kazanım %'si hesaplandı. Hesaplanan değerlere bakıldığında (Çizelge 4.3 ve 4.4) KDKAdSV yönteminde % geri kazanımın tablet çözeltileri için %103,29 ile %104,46 arasında, serum örnekleri için ise %101,10 ile %101,34 arasında olduğu görüldü. Sonuç olarak, geliştirilen yöntemin doğruluğunun oldukça iyi olduğu ve herhangi bir girişim etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

4.4.3 Tekrarlanabilirlik

4.4.3.1 Aynı çözeltide (gün içi) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik

$6,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ MKST içeren, pH değeri 2,3' e ayarlanan çözelti kullanılarak optimum koşullarda ZnO-NP-KPE' ta 0,0 V' da biriktirme yapıldıktan sonra, KDKAdSV yöntemi ile voltamogramlar alındı. Ölçümler ard arda üç kez tekrarlandı ve elde edilen voltamogramlar üst üste çakıştırıldı. (Şekil 4.11) Aynı gün, aynı çözeltide ard arda üç defa alınan sıyırma voltamogramlarından elde edilen pik akımlarının ve pik potansiyellerinin bağıl standart sapma (B.S.S) değerleri söz konusu yöntem için sırasıyla % 3,43 ve % 0,75 olarak hesaplandı.

Bu sonuçlardan, aynı gün içinde sıyırma piklerinin akım ve potansiyel değerlerindeki tekrarlanabilirliğin oldukça yüksek olduğu belirlendi.

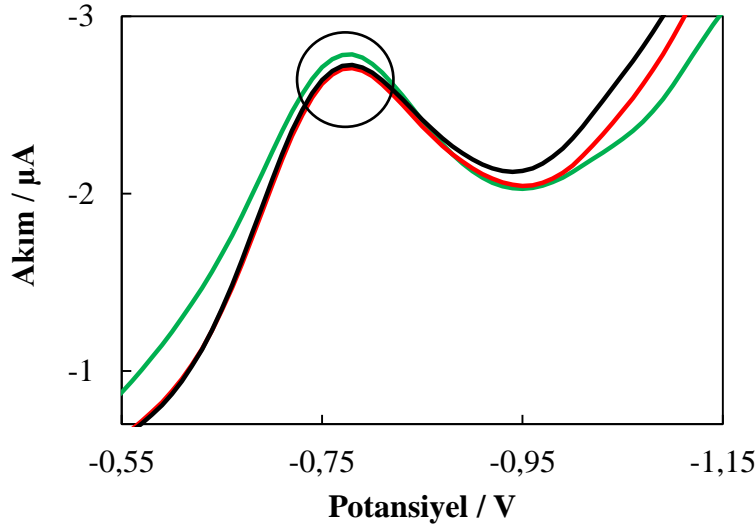


Şekil 4.11: KDKAdSV yöntemi ile aynı gün, aynı çözeltide yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (E_{bir} : 0,0 V, t_{bir} : 60 s, C_{MKST} : $6,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, pH: 2,3).

4.4.3.2 Farklı çözeltilerde (günler arası) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik

Bölüm 4.4.3.1' de anlatıldığı gibi, farklı zamanlarda hazırlanan çözeltilerde, optimum koşullarda ZnO-NP-KPE yüzeyinde biriktirme yapıldıktan sonra, KDKAdSV yöntemi ile voltamogramlar alındı. Bu işlemler üçer kez tekrarlandı ve elde edilen voltamogramlar üst üste çakıştırıldı (Şekil 4.12). Farklı günlerde, aynı derişimdeki çözeltiler kullanılarak ard arda üç defa alınan sıyırma voltamogramlarından elde edilen pik akımlarının ve pik potansiyellerinin bağıl standart sapma (B.S.S) değerleri KDKAdSV yöntemi için sırasıyla % 2,44 ve % 0,74 olarak hesaplandı.

Sonuç olarak, sıyırma pikinin hem gün içindeki hem de günler arasındaki tekrarlanabilirliğinin oldukça iyi olduğu belirlendi.



Şekil 4.12: KDKAdSV yöntemi ile farklı gün, aynı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (E_{bir} : 0,0 V, t_{bir} : 60 s, C_{MKST} : $6,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, pH: 2,3).

5.4.4 Yöntemin kesinliği

Geliştirilen yöntemlere ait kesinlik değerleri, pik akımı ve pik potansiyeli değerlerinin gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliği ve analitik uygulamalarda elde edilen geri kazanım değerlerinin bağıl standart sapmaları (BSS) ile test edildi. KDKAdSV yönteminin analitik uygulamaları sonucu elde edilen geri kazanım değerlerine ait BSS değerleri tablet örnekleri için % 3,48 - % 3,88 aralığında, serum numunelerine ait geri kazanım değerlerinin BSS değerleri ise % 2,43 - % 3,12 aralığında değiştiği görüldü. (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4)

5.4.5 Yöntemin seçiciliği

Serum ve tablet örneklerinde yapılan çalışmalarda çalışma hücrelerine MKST ilavesi yapılmadan önce aynı potansiyel aralığında voltametrik ölçümler yapıldı ve MKST moleküllerine ait indirgenme pikinin akım ve potansiyel değerini etkileyecek herhangi bir voltametrik sinyale rastlanmadı. (Şekil 4.2) Buna göre çalışmaların dayandırıldığı indirgenme potansiyeli, serum ortamında bile MKST molekülü için seçici bir değerdir denilebilir.

5.4.7 Gözlenebilme sınırı

Geliştirilen KDKAdSV yöntemi için gözlenebilme sınırı $3 \times \frac{s}{m}$ bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Bu eşitlikte s başlangıç ordinatının standart sapması, m ise ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğimidir. Bu eşitliğe göre KDKAdSV yönteminin gözlenebilme sınırı $7,7 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ olarak hesaplandı.

5.4.8 Alt tayin sınırı

Benzer şekilde geliştirilen yöntemler için alt tayin sınırı $10 \times \frac{s}{m}$ bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Bu eşitliğe göre KDKAdSV için alt tayin sınırı $2,60 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ olarak hesaplandı.

5.4.9 Sağlamlık

Geliştirilen yöntemin performans parametrelerinin, ortam şartlarındaki ve deneysel koşullardaki (oda sıcaklığı, tampon derişimi, pH, biriktirme süresi, biriktirme potansiyeli v.b.) küçük değişikliklerden analiz performansını ciddi şekilde değiştirecek kadar etkilenmemekte olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.5: MKST tayini için geliştirilen yöntemin bazı validasyon parametreleri

Validasyon parametreleri	
Lineer aralık / (mol L ⁻¹)	$1,0 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹ – $1,28 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹
Kalibrasyon eğrisinin eğimi (m) / (μA L mol ⁻¹)	1,96
Kesim Noktası / A	$5,0 \times 10^{-7}$
Kalibrasyon standart sapması / A	$1,11 \times 10^{-7}$
Eğimin standart sapması / (μA L mol ⁻¹)	$9,87 \times 10^{-2}$
Kesim noktasının standart sapması (s) / A	$5,51 \times 10^{-8}$
Gözlenebilme sınırı (LOD) / (mol L ⁻¹)	$7,7 \times 10^{-9}$

Alt tayin sınırı (LOQ) / (mol L ⁻¹)	2,6×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (R ²)	0,9874
Pik akımının tekrarlanabilirliği (RSD) ^a / %	3,0
Pik potansiyelinin tekrarlanabilirliği (RSD) ^a / %	0,08

^a 3 tekrarlı ölçümler için hesaplandı.

4.5 Yöntem Sonuçlarının ve Parametrelerinin İstatiksel Olarak Karşılaştırılması

MKST tayini için geliştirilen yöntemin doğruluğu % 95 güven seviyesinde t testi uygulanarak belirlendi. MKST' nin geri kazanım sonuçlarına ve istatistik değerlendirmelerine göre, farmasötik ve biyolojik örneklerdeki geri kazanım sonuçlarının yüzde bağıl standart sapma (%RSD) değerlerinin %5' in altında olduğu görüldü. Çizelge 4.3 ve çizelge 4.4'de verilen MKST'nin tablet ve serum örneklerinden elde edilen geri kazanım değerleri sırasıyla %104,46-%101,10, bağıl standart sapma değerleri %2,43-%3,88 olarak bulundu. Bu sonuçlar, farmasötik maddeler ve biyolojik örneklerdeki MKST içeriğinin, önerilen voltametrik yöntemi kullanarak, basit bir seyreltme aşamasından sonra numunelerdeki diğer maddelerin girişimi olmadan, güvenli bir şekilde tayin edilebildiğini gösterdi.

Yöntemin performansı, nominal değer ve geri kazanım sonuçları kullanılarak deneysel değerinin hesaplanması ile belirlendi. Çizelge 4.3 ve çizelge 4.4'de kaydedilen deneysel değerlerinin, iki serbestlik derecesi için % 95 güven seviyesinde 4,30 olan t_{kritik} değerini aşmadığı görüldü. Bu sonuçtan yola çıkarak önerilen yöntem kullanılarak elde edilen tablet ve serum örneklerindeki değerler ile gerçek değerler arasında % 95 güven seviyesinde anlamlı bir fark olmadığı görüldü. T testini uygulamak için Eşitlik 4.2' den yararlanıldı.

$$t_{kritik} = \frac{\chi_1 - \chi_2}{s / \sqrt{N}} \quad (4.2)$$

MKST' nin tayini için önerilen yöntem ile literatürde yer alan MKST tayini ile ilgili diğer elektrokimyasal yöntemler Çizelge 4.6' da verilmiştir.

Çizelge 4.6: MKST' a ait literatür özeti

Kullanılan yöntem	Çalışma elektrodu	Doğrusal çalışma aralığı / mol L ⁻¹	Gözlenebilme sınırı / mol L ⁻¹	Geri kazanım tablet / %	Geri kazanım serum / %	Kaynak
CV ve DPV	CH-CPE	1,7×10 ⁻⁷ -1,83×10 ⁻⁵	5,3×10 ⁻⁸	99,5-101,6	89,1-99,9	Gülcemal ve ark. 2013
CV ve CA	NHN-CPE	1,0×10 ⁻⁴ -1,77×10 ⁻³	8,9×10 ⁻⁶	96,0-103,4	96,0-103,4	Heli ve ark. 2014
AdSV	HMDE	5×10 ⁻⁸ -1,0×10 ⁻⁶	4,0×10 ⁻⁹	98,0-102,0	100,0-102,0	Alghamdi ve ark. 2014
DPP	HMDE	3,4×10 ⁻⁶ -3,4×10 ⁻⁵	3,41×10 ⁻⁷	99,6-102,7	98,7-105,8	Alsarra ve ark. 2005
SWAdSV	ZnO-NP-CPE	1,0×10 ⁻⁸ -1,28×10 ⁻⁶	7,7×10 ⁻⁹	99,7-107,9	98,0-103,9	Bu çalışmada

DPV: diferansiyel puls voltametri, CH: kitosan, CA: kronoamperometri, NHN-CPE: nikel hidroksit nanopartikülü modifiye karbon pasta elektrot, AdSV: adsorptif sıyırma voltametri, HMDE: damlayan cıva elektrot, DPP: diferansiyel puls poligrafisi, SWAdSV: kare dalga adsorptif sıyırma voltametri, ZnO-NP-CPE: Çinko oksit nanopartikülü modifiye karbon pasta elektrot

Çizelge 4.6 incelendiğinde, önerilen yöntemin literatürde yer alan diğer elektrokimyasal yöntemlere göre düşük tayin sınırı, geniş doğrusal aralık ve iyi geri kazanım gibi üstün karakteristik özellikler gösterdiği görüldü. Sonuç olarak önerilen yöntem, literatürde yer alan karbon pasta temelli yöntemler arasında en iyi analitik performansa sahip olduğu söylenebilir.

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, MKST' ün elektrokimyasal davranışı ZnO-NP-KPE yüzeyinde ilk kez incelenmiş ve olası indirgenme mekanizması önerilmiştir. Voltametrik davranışlarına bağlı olarak MKST'nin hem tabletlerde, hemde serum örneklerinde analizi için KDKAdSV yöntemi geliştirildi. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda verildi.

- MKST' nin, ZnO-NP-KPE' de MeOH - BR (1:1) destek elektrolit ortamında pH 2,3' te tek bir indirgenme pikine rastlandı. İndirgenme reaksiyonunun tersinmez ve adsorpsiyon kontrollü olduğu sonucuna varıldı.
- MKST' nin elektrokimyasal indirgenme mekanizmasının $2e^- / 2H^+$ transferi ile gerçekleştiği belirlendi ve olası indirgenme reaksiyon mekanizması önerildi. Önerilen mekanizma literatürde yer alan çalışmalar ile desteklendi.
- MKST' nin hem tablet hemde serum örneklerinde tayini için KDKAdSV yöntemi geliştirildi. Geliştirilen yöntemin duyarlılığının yüksek olduğu belirlendi.
- Geliştirilen KDKAdSV yöntemi için doğrusal çalışma aralığı $1,0 \times 10^{-8} - 1,28 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} ; gözlenebilme sınırı $7,7 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} olarak belirlendi.
- Geliştirilen yöntemin doğruluğunu belirlemek için, tablet ve serum örneklerinde geri kazanım çalışmaları yapıldı. İlaç katkı maddelerinin ve serumda bulunabilecek diğer türlerin analizde herhangi bir girişim etkisinin olmadığı görüldü.
- Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğin BSS değerleri % 5' in altında bulundu. Geliştirilen yöntemin kesinliğinin yüksek olduğu sonucuna varıldı.
- Geliştirilen yöntemin, doğrusal çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı ve geri kazanım değerleri incelendiğinde literatürlerde bulunan diğer yöntemlerden üstün olduğu görüldü.
- MKST'nin serum ve tablet örneklerinde tayini için geliştirilen KDKAdSV yönteminin, ekonomik, hızlı, duyarlı olması, az miktarda numune ile çalışılması ve ayırma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan analiz yapılabilmesi gibi üstünlüklerinden dolayı literatürde verilen yöntemlere alternatif olabileceği sonucuna varıldı.

6. KAYNAKLAR

- Adams RN. Carbon paste electrodes. Voltammetric Analysis of Montelukast Sodium in Commercial Tablet and Biological Samples Using the Hanging Mercury Drop Electrode. *Anal Chem.* 1958;30: 1576. doi: 10.1021/ac60141a600
- Alghamdi, A. F. Voltammetric Analysis of Montelukast Sodium in Commercial Tablet and Biological Samples Using the Hanging Mercury Drop Electrode. *Electrochimica Acta* 2014, 32, 51.
- Alsarra, I. A.; Saudi Pharm. J. 2004, 12, 136.
- Alsarra, I.; Al-Omar, M.; Gadkariem, E. A.; Belal, F.; *Farmaco* 2005, 60, 563.
- Anonim (Erişim yılı 2018). BAS C3 elektrot hücre standı. <https://www.basinc.com/products/EF-1085>. (Erişim tarihi 20.08.2018).
- Anonim (Erişim yılı 2018). Drop-Sense µstat 400. http://www.dropsens.com/pdfs_products/new_brochures/stat400.pdf. (Erişim tarihi 20.08.2018).
- Aslan, N.; Erden, P. E.; Canel, E.; Kiliç, E.; *Bulg. Chem. Commun.* 2014, 46, 497.
- Aycan S. Polarografik ve Voltametrik Teknikler, Yıldız Teknik Üniversitesi Yayını No: 293, İstanbul (1994) p.1.
- Balani SK, Xu X, Pratha V, Koss MA, Amin RD, Dufresne C, Miller RR, Arison BH, Doss GA, Chiba M, Freeman A, Holland SD, Schwartz JI, Lasseter KC, Gertz BJ, Isenberg JI, Rogers JD, Lin JH, Baillie TA (1997). Metabolic profiles of montelukast sodium (Singulair), a potent cysteinyl leukotriene1 receptor antagonist, in human plasma and bile. *Drug Metab Dispos* 25(11): 1282–1287.
- Bard AJ and Faulkner LR (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons Incorporated, New York.
- Barek J, Peckova K, Vyskocil V (2008). Adsorptive Stripping Voltammetry of Environmental Carcinogens. *Current Analytical Chemistry, Volume 4 (3)*; 242–249.
- Bonfilio, R.; de Araujo, M. B.; Salgado, H. R. N.; *WSEAS Trans. Biol. Biomed.* 2010, 7, 316.
- Brett, C.M.A., Brett, A.M.O. 1994. *Electrochemistry, Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press, New York, USA.
- B. Chauhan, Shubha Rani, M. Nivsarkar and H. Padh 2006. A new liquid-liquid extraction method for determination of montelukast in small volume human plasma samples using HPLC with fluorescence detector. *B. V. Patel Pharmaceutical Education and Research*

Development (PERD) Centre, Thaltej-Gandhinagar Highway, Thaltej, Ahmedabad-380 054, India.

B.V. Patel Pharmaceutical Education and Research Development (PERD) Centre, Thaltej-Gandhinagar Highway, Thaltej, Ahmedabad-380 054, India.

Capra V, Ambrosio M, Riccioni G, Rovati GE (2006). Cysteinyl-leukotriene receptor antagonists: present situation and future opportunities. *Curr Med Chem*13(26): 3213-3226.

Demir AU, Karakaya G, Bozkurt B, Sekerel BE, Kalyoncu AF. Asthma and allergic diseases in schoolchildren: Third cross-sectional survey in The same primary school in Ankara, Turkey. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15:531-538.

E. D. Bateman, S. S. Hurd, P. J. Barnes, J. Bousquet, J. M. Drazen, M. FitzGerald, P. Gibson, K. Ohta, P. O'Byrne, S. E. Pedersen, E. Pizzichini, S. D. Sullivan, S. E. Wenzel, H. J. Zar 2006.

Erbil, M.(1987), Alternatif Akım (A.C.) impedansı yöntemiyle korozyon hızı belirlenmesi, Doğa, TU Kim.D.C., 11/3, 100-111.

Gabrielli G. And Keddan M. (1992), Review of application of impedance and noise analysis to uniform and localized corrosion, *Corrosion.*, 48, 794-810.

Genovese T, Rossi A, Mazzon E, Di Paola R, Muià C, Caminiti R, Bramanti P, Sautebin L, Cuzzocrea S (2008). Effects of zileuton and montelukast in mouse experimental spinal cord injury. *Br J Pharmacol* 153(3): 568–582.

Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. Revised. *European Respiratory Journal* 2008 31: 143-178
(Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2011, www.ginasthma.org, Erişim Tarihi: 24.03.2017)

Goyal RH, Bishnoi S (2010). Voltammetric Determination of Amlodipine Besylate in Human Urine and Pharmaceuticals. *Bioelectrochemistry*, 79 (2) 234-240.

Greef RG, Peat R, Peter LM, Pletcher D, Robinson J (1990). *Instrumental Methods in Electro Chemistry*, Ellis Horwood series in Physical Chemistry. London.

Gupta, V. K.; Norouzi, P.; Ganjali, H.; Faridbod, F.; Ganjali, M. R.; *Electrochim. Acta* 2013, 100, 29.

Gülcemal, Y.; Aydogmus, Z.; Kauffmann, J. M.; *Electroanalysis* 2013, 25, 1796.

Heli, H.; Sattarahmadya, N. R.; Vais, D.; Karimian, K.; *Sens. Actuators, B* 2014, 196, 631.

Hrapovic, S, Liu, Y., Male, K. B., Luong, J. H. T. 2004. Electrochemical biosensing platforms using platinum nanoparticles and carbon nanotubes. *Anal. Chem.*, 76: 1083–1088.

- Hwa, K. Y.; Subramani, B.; *Biosens. Bioelectron.* 2014, 62, 127.
- Izutsu K (2002). *Electrochemistry In Nonaqueous Solutions*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- İnan D. (2013). *Histaminin Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi ile Tayini ve Uygulanması*. Yüksek Lisans Tezi. Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir.
- Kaçar C. (2010). *Trazodon'un Elektrokimyasal Davranışı ve Adsorptif Sıyırma Yöntemleriyle Tayini*. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kuldeep Singh, Paramdeep Bagga, Pragati Shakya, Arun Kumar, M. Khalid, J. Akhtar and M. Arif (2017). *Validated UV Spectroscopic Method for Estimation of Montelukast Sodium*, Faculty of Pharmacy, Integral University, Kursi road, Lucknow-226026, Uttar Pradesh, India.
- Malik WU, Jain R, Agarwal S (1982). *Redox Behavior of Some 2 benzothiazolyhydrazones of Ethyl 2-cyanoethanoate*. *Procedure Indian National Science Academy, Part A: Physical Sciences* 48(1); 85-91.
- Mandal, P.C. 2004. *Reactions of the nitro radical anion of metronidazole in aqueous and mixed solvent: a cyclic voltammetric study*. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 570; 55-61
- McCafferty, E.(2005), *Validation of corrosion rates measured by the Tafel extrapolation method*, *Corros. Sci.*, 47, 3202-3215
- Nicholson RS., Shain I (1964). *Theory of Stationary Electrode Polarography: Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems*. *Analitical Chemistry*, 36(4), 706-724.
- Öztürk F. (2008). *Bazı Benzo[c]sinnolin Türevlerinin Spektroskopik ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi*. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Öztürk F, Taşdemir İH, Durmuş Z Kılıç E (2010). *Electrochemical Behavior of Disopyramide and Its Adsorptive Stripping Determination in Pharmaceutical Dosage Forms and Biological Fluids*. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 75(6), 685-702.
- Öztürk F, Koyuncu Zeybek D, Kılıç E (2014). *Voltammetric Behavior of Lercanidipine and Anodic Stripping Voltammetric Method for Assay in Pharmaceutical dosage Forms and Biological Fluids*. *Bulgarian Chemical Communications*, 46 (4) 764-770.
- Rathore, A. S.; Sathiyarayanan, L.; Mahadik, K. R.; *Pharm. Anal. Acta* 2010, 1, 1.
- Satish, A. P.; Patel, D. J.; Patel, N. J.; *Int. Res. J. Pharm.* 2011, 2, 154.
- Sane, R. T.; Menezes, A.; Mote, M.; Moghe, A.; Gundi, G.; *J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* 2004, 17, 75.

- Sener G, Sehirli O, Toklu H, Ercan F, Alican I (2007). Montelukast reduces ischaemia/ reperfusion-induced bladder dysfunction and oxidant damage in the rat. *J Pharm Pharmacol* 59(6): 837–842.
- Scholz F (2010). *Electroanalytical Methods*. Greifswald, Germany.
- Shakalisava, Y.; Regan, F.; *J. Sep. Sci.* 2008, 31, 1137.
- Skoog D, West D, Holler J. (1996). *Analitik Kimya, Bilim Yayıncılık, Ankara, 497s.*
- Siddiqui, M. R.; AlOthman, Z. A.; Rahman, N.; *Arabian J. Chem.* 2013, DOI:10.1016/j.arabjc.2013.04.016
- Syed Saeed-Ul-Hassan, Ahsan-Ul-Haq Ahter, Muhammad Tayyab Ansari, Imran Tariq ve Sabiha Karim. Determination of Montelukast Sodium in Raw Material and Solid Dosage Form Using Reverse Phase HPLC. University College of Pharmacy, University of the Punjab, Lahore-54000, Pakistan Department of Pharmacy, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan.
- Jones TR, Labelle M, Belley M, Champion E, Charette L, Evans J, Ford-Hutchinson AW, Gauthier JY, Lord A, Masson P, McAuliffe M, McFarlane CS, Metters KM, Pickett C, Piechuta H, Rochette C, Sawyer R, Rodger IW, Yoyng RN, Zamboni R, Abraham WM (1995). Pharmacology of montelukast sodium (Singulair), a potent and selective leukotriene D4 receptor antagonist. *Can J Physiol Pharmacol*, 73(2): 191–201.
- Taherkhani, A., Jamali, T.; Hadadzadeh, H.; Karimi-Maleh, H., Beitollahi, H.; Taghavi, M.; Karimi, F.; *Ionics* 2014, 20, 421.
- Taşdemir İH (2011). Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan Bazı İlaçlardaki Etken Maddelerin Tayini için Elektrokimyasal Yöntemlerin Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Toh, C Batchelor-McAuley, K Tschulik, M Uhlemann, A Crossley, RG Compton, *Nanoscale*, 5, (2013), 4884-4893. Toraks Derneği Astım Çalışma Grubu. Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Dergisi* 2000; 1 (Suppl 1): 4-27.
- Tüken, T.(2000), Nikotin, nikotinik asit (niasin) ve nikotinamidin demirli malzemelerin klorür (Cl⁻) içeren sulu ortamlardaki korozyonu üzerine etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana
- Von Herten LC. Role of persistent infection in the control and severity of asthma: focus on *Chlamydia pneumoniae*. *Eur Respir J* 2002;19: 546–556.
- Wang J (2000). *Analytical Electrochemistry*. 2nd edition. John Wiley and Sons Incorporated New York.
- Wang, J.; *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed.; Wiley-VCH: New York, 2000.
- Wang, J. (2006). *Analytical electrochemistry*. Third edition, John Wiley, 250 p., New Jersey Yu GL, Wei EQ, Zhang SH, Xu HM, Chu LS, Zhang WP, Zhang Q, Chen Z, Mei RH, Zhao

- MH (2005). Montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist, dose and time dependently protects against focal cerebral ischemia in mice. *Pharmacology* 73(1): 31-40.
- Yenigül B, Ertaş F.N, Voltametric Analiz Yöntemleri I. Eser Analiz Yaz Okulu Kitabı Ed. Henden E, Gökçel İ, Ertaş F.N. Ege Üniversitesi, (2001), p.154.
- Yılmazgüç B. (2008). Telmisartan'ın Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi ve Voltametric Yöntemle Tayini. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yu GL, Wei EQ, Zhang SH, Xu HM, Chu LS, Zhang WP, Zhang Q, Chen Z, Mei RH, Zhao MH. Montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist, dose and time-dependently protects against focal cerebral ischemia in mice. *Pharmacology* 73(1): 31-40, 2005.
- Zhu S, Liu Y. (2012). Spectroscopic Analyses on Interaction of Naphazoline Hydrochloride With Bovine Serum Albumin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 98, 142-147.
- Zorluoğlu L (2012). Metoprolol ile Hidroklorazit İçeren İlaçlarda Etken Maddelerin Tayini için Voltametric Yöntem Geliştirilmesi. Y. Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Zuman P, Brezina M (1962). *Polarographic Analysis in Pharmacy Progress in Polarography*. Volume. 2th Ed. P. Zuman, I.M. Interscience Publishers, Kolthoff, New York.

ÖZGEÇMİŞ

Bernu HATİPOĞLU 15.08.1989 tarihinde İstanbul'da doğdu. Avcılar Süleyman Nazif Lisesi' ni bitirdikten sonra Tekirdağ, Namık Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. 2012 yılında Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Yüksek Lisans programına başladı. 2013 yılında Zed İlaç ve Kimya San.Tic.A.Ş. de Kimyager olarak göreve başlayan Bernu Hatipoğlu, buradan ayrılıp, 2014 yılında Nano-Lab Gıda Yem ve Su Analiz Laboratuvarı'nda, enstrümental analiz laboratruvarında çalışmaya başladı. 2015 yılından bu yana Bıçakçılar Tıbbi Cihazlar San. Ve Tic. A.Ş.' de Ürün Kalite Güvence Uzmanı olarak görevine devam etmektedir.