

**NAFAZOLİN HİDROKLORÜR'ÜN ELEKTROKİMYASAL
DAVRANIŞI VE ADSORPTİF SIYIRMA
YÖNTEMİ İLE TAYİNİ**

Tuğçe ÇETİNKOL

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

2015

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAFAZOLİN HİDROKLORÜR'ÜN ELEKTROKİMYASAL
DAVRANIŞI VE ADSORPTİF SIYIRMA YÖNTEMİ İLE TAYİNİ**

Tuğçe ÇETİNKOL

KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

TEKİRDAĞ-2015

Her hakkı saklıdır

Bu tez ‘‘Nafazolin hidroklorürün farmasötik uygulamaları için yeni bir voltametik yöntem geliştirilmesi’’ NKÜBAP tarafından NKUBAP.00.10.YL.14.03 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK danışmanlığında, Tuğçe ÇETİNKOL tarafından hazırlanan ve 20.11.2015 tarihinde savunulan “Nafazolin hidroklorür’ün elektrokimyasal davranışı ve adsorptif sıyırma yöntemi ile tayini” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Yusuf DİLGİN

İmza:

Üye: Prof. Dr. Mustafa Kemal SEZGİNTÜRK

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NAFAZOLİN HİDROKLORÜR'ÜN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI VE ADSORPTİF SIYIRMA YÖNTEMİ İLE TAYİNİ

Tuğçe ÇETİNKOL

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

Bu çalışmada simpatomimetik etken madde olarak damar daraltıcı etki yaratması sebebiyle, göz ve burun damlalarında sıkça kullanılan nafazolin hidroklorürün (NFZ-HCl) elektrokimyasal davranışı, sade karbon pasta elektrot (KPE) ve alüminyum oksit nanopartiküllü karbon pasta elektrot (Al_2O_3 -NP-KPE) yüzeyinde, Britton-Robinson (BR) tamponunda dönüşümlü voltametri (DV) ve kare dalga voltametrisi (KDV) yöntemleri ile incelendi. NFZ-HCl'ün adsorpsiyon özellikleri incelenerek yükseltgenme reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı hesaplandı. Ayrıca NFZ-HCl'ün serum örneklerinde tayini için kare dalga anodik adsorptif sıyırma voltametri (KDAAdSV) yöntemi geliştirildi. Bu yöntem ile elde edilen pik akımı-derişim grafiklerinden doğrusal çalışma aralığı $1,0 \times 10^{-8}$ molL⁻¹- $3,0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹ olarak belirlendi. Yapılan kalibrasyon çalışmalarının analitik parametreleri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirildi. Gözlenebilirlik sınırı ve alt tayin sınırı değerleri sırasıyla $2,6 \times 10^{-9}$ molL⁻¹ ve $8,63 \times 10^{-9}$ molL⁻¹ olarak hesaplandı. Geliştirilen yöntemin validasyonu yapıldı. Bu yöntem insan kan serumu ortamında bulunan NFZ-HCl tayini için kullanıldığında; güvenilir, tekrarlanabilir, yüksek doğruluk ve kesinliğe sahip sonuçlar elde edildi. Geliştirilen yöntemin uygulama sonuçları ve validasyon parametreleri söz konusu ilaç etken maddesi için literatürde önerilen standart yöntemlerin sonuçları ve parametreleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, sonuçlar arasında %95 güven seviyesinde anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Nafazolin hidroklorür, voltametri, Al_2O_3 nanopartikülleri, karbon pasta elektrot, kan serumu

2015, 51 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF THE NAPHAZOLINE HYDROCHLORIDE AND DETERMINATION BY ADSORPTIVE STRIPPING VOLTAMMETRY METHOD

Tuğçe ÇETİNKOL

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

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Funda ÖZTÜRK

In this study, electrochemical behavior of naphazoline hydrochloride (NPZ-HCl), which is frequently used in eye and nose drops as sympathomimetic agent due to the impact of the vasoconstrictor was investigated on bare carbon pasta electrode (CPE) and aluminum oxide nanoparticles modified carbon paste electrode (Al_2O_3 -NP-CPE) in Britton-Robinson buffer (BR) by cyclic voltammetry (CV) and square wave voltammetry (SWV). Adsorption properties of NPZ-HCl were investigated and number of electron transferred in the oxidation of NPZ-HCl was determined. Furthermore, square-wave anodic adsorptive stripping voltammetric (SWAAdSV) method was developed to its direct determination in human serum samples. Linear working concentration range for this method was evaluated as $1.0 \times 10^{-8} \text{ molL}^{-1}$ - $3.0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Limit of detection and limit of quantitation were calculated from analytical parameters of calibration studies by using least squared method. Limit of detection and limit of quantitation values calculated as $2.6 \times 10^{-9} \text{ molL}^{-1}$ ve $8.63 \times 10^{-9} \text{ molL}^{-1}$, respectively. Validation of method was also performed. Results of applications of developed method to human blood serum samples were found to have high accuracy and precision, reproducible and high confidence. These results were also compared with those of standart methods proposed for determination of NPZ-HCl and results were found to be insignificant at 95% confidence level.

Keywords: Naphazoline hydrochloride, voltammetry, Al_2O_3 nanoparticles, carbon paste electrode, blood serum

2015, 51 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL DİZİNİ	vi
ÇİZELGE DİZİNİ	viii
SİMGELER DİZİNİ	ix
TEŞEKKÜR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1 Elektrokimyasal Yöntemler.....	3
2.2 Voltametri.....	5
2.2.1 Dönüşümlü voltametri	8
2.2.1.1 Adsorpsiyonun dönüşümlü voltametri ile incelenmesi	8
2.2.2 Diferansiyel puls voltametrisi (DPV).....	9
2.2.3 Kare dalga voltametrisi (KDV)	10
2.2.4 Sıyırma voltametrisi	11
2.3 Elektrokimyasal Reaksiyonlar Reaksiyonlar	12
2.3.1 Tersinir reaksiyonlar	12
2.3.2 Tersinmez ve yarı tersinir reaksiyonlar	14
2.4 Kaynak Araştırması	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	18
3.2 Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler.....	18
3.2.1 Elektrokimyasal analiz cihazı.....	18
3.2.2 Hücre ve elektrotlar	18

3.2.3 pH metre	19
3.2.4 Mikro pipet	19
3.2.5 Azot gazı.....	19
3.2.6 Saf su	19
3.3 Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması	20
3.4 Nafazolin Hidroklorür Analizleri	20
3.4.1 Nafazolin hidroklorür'ün çözünürlüğünün belirlenmesi	20
3.4.2 Nafazolin hidroklorür çözeltilerinin hazırlanması.....	20
3.4.3 Britton –Robinson Tamponunun Hazırlanması.....	20
3.4.4 Serum numunelerinin analize hazırlanması.....	21
3.4.5 Deneylerin yapılışı.....	21
3.4.5.1 Döngüsel voltametri deneylerinin yapılışı.....	21
3.4.5.2 Kare dalga voltametrisi deneylerinin yapılışı.....	21
3.4.5.3 Kare dalga adsorptif sıyırma yönteminin geliştirilmesi	21
3.4.5.4 Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması.....	22
3.4.6 Kalibrasyon parametrelerinin belirlenmesi	22
3.4.6.1 Doğrusal çalışma aralığı	22
3.4.6.2 Doğruluk.....	22
3.4.6.3 Tekrarlanabilirlik	22
3.4.6.4 Duyarlık.....	22
3.4.6.5 Gözlenebilme sınırı (LOD).....	23
3.4.6.7 Aktarılan elektron sayısı (n) ile yük aktarım katsayısının (β) çarpımının bulunması ..	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	24
4.1. NFZ-HCl'ün Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi	24
4.1.1 Dönüşümlü voltametri çalışmaları	24
4.1.2 NFZ-HCl'ün adsorpsiyon özellikleri.....	28
4.1.3 Elektrot reaksiyonunda yer alan H^+ sayısının bulunması ve pH'nın pik akımına ve pik potansiyeline etkisi	29
4.2 NFZ-HCl'ün Sıyırma Voltametrisi ile Tayini için Yöntem Geliştirme	33
4.2.1 Cihaz parametrelerinin optimizasyonu.....	33

4.2.2 Yöntem parametrelerinin optimizasyonu	33
4.2.2.1 Biriktirme potansiyelinin belirlenmesi	33
4.2.2.2. Biriktirme süresinin belirlenmesi	34
4.3 KDAAdSV Yönteminin Analitik Uygulamaları	36
4.3.1 Derişim çalışması	36
4.3.2 Kalibrasyon grafikleri kullanılarak serum örneklerinden nafazolin hidroklorür miktar tayini	37
4.4 Geliştirilen Yöntemin Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi	38
4.4.1 Doğrusal çalışma aralığı	38
4.4.2 Yöntemin doğruluğu	38
4.4.3 Tekrarlanabilirlik	38
4.4.3.1 Aynı çözeltide (gün içi) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik	38
4.4.3.2 Farklı çözeltelerde (günler arası) pik akımı ve pik potansiyeli için	39
tekrarlanabilirlik	39
4.4.4 Yöntemin seçiciliği	40
4.4.5 Gözlenebilme sınırı	40
4.4.6 Alt tayin Sınırı	41
4.4.7 Sağlıklık	41
4.5 Farklı Yöntem Sonuçlarının ve Parametrelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması	42
5. SONUÇ	46
6. KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1: Nafazolin hidroklorür'ün kimyasal yapısı.....	2
Şekil 2.1: Kare dalga voltametrisinde anodik ve katodik akımlar.....	11
Şekil 3.1: Ölçümlerde kullanılan BAS C3 elektrot hücre standı.....	19
Şekil 4.1: $1,0 \times 10^{-3}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün BR ortamında farklı nanopartiküllerle a) SnO b) NiO c) Fe ₂ O ₃ d) CuO e) CdO f) ZnO g) Al ₂ O ₃ -NP-KPE'ta elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	25
Şekil 4.2: $1,50 \times 10^{-3}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün, BR ortamında, Al ₂ O ₃ -NP-KPE ve sade KPE'ta elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	26
Şekil 4.3: $1,50 \times 10^{-3}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün sade KPE'ta pH 7,00 BR tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları.....	27
Şekil 4.4: $1,50 \times 10^{-3}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün Al ₂ O ₃ -NP-KPE'ta pH 7,00 BR tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları.....	28
Şekil 4.5: $1,00 \times 10^{-3}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından elde edilen log ip _a - log v grafiği (A) sade KPE (B) Al ₂ O ₃ -NP-KPE.....	29
Şekil 4.6: Al ₂ O ₃ -NP-KPE'ta $1,0 \times 10^{-5}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün farklı pH'lardaki kare dalga voltamogramları.....	30
Şekil 4.7: Al ₂ O ₃ -NP-KPE'ta $1,0 \times 10^{-5}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün, BR ortamında, KDV yöntemi ile elde edilen pik akımlarının pH ile değişimi	31
Şekil 4.8: Nafazolin hidroklorür'ün yükseltgenme mekanizması.....	32
Şekil 4.9: $1,00 \times 10^{-6}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün Al ₂ O ₃ -NP-KPE ile elde edilen pik akımlarının biriktirme potansiyeli ile değişimi.....	34
Şekil 4.10: $1,00 \times 10^{-6}$ molL ⁻¹ NFZ-HCl'ün Al ₂ O ₃ -NP-KPE ile elde edilen pik akımlarının biriktirme süresi ile değişimi.....	35
Şekil 4.11: NFZ-HCl'nin farklı derişimlerde ve Al ₂ O ₃ -NP-KPE alınan KDAAdSV voltamogramları.....	36
Şekil 4.12: NFZ-HCl'ün akım derişim grafiği.....	37
Şekil 4.13: Al ₂ O ₃ -NP-KPE'ta KDAAdSV yöntemi ile aynı gün, aynı çözeltide yapılan ölçümlere ait voltamogramlar	39

Şekil 4.14: Al₂O₃-NP-KPE’ta KDAAdSV yöntemi ile farklı gün, farklı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar40

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Voltametrik tekniklerin sınıflandırılması.....	4
Çizelge 2.2: Voltametrik teknikler	7
Çizelge 3.1: Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin temin edildiği firma ve saflık dereceleri.....	18
Çizelge 4.1: Sıyırma voltametri yöntemi için optimum cihaz parametreleri.....	33
Çizelge 4.2: KDAAdSV yöntemi için optimum yöntem parametreleri.....	35
Çizelge 4.3: Geliştirilen yöntemin serum örneklerine uygulanmasıyla doğrudan kalibrasyon yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlar.....	37
Çizelge 4.4: Nafazolin hidroklorür tayini için geliştirilen yöntemin bazı validasyon parametreleri.....	42
Çizelge 4.5: Doğrudan kalibrasyon yöntemi ile KDAAdSV yöntemi için hesaplanan bazı değerler.....	43
Çizelge 4.6: NFZ-HCl'e ait literatür özeti.....	44

SİMGELER DİZİNİ

A	: Elektrodun Yüzey Alanı, cm^2
BP	: Biriktirme Potansiyeli
BR	: Britton-Robinson Tamponu
BS	: Biriktirme Süresi
BSS	: Bağlı Standart Sapma
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 C/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
KDAAdSV	: Kare Dalga Anodik Adsorptif Sıyırma Voltametri
KDV	: Kare Dalga Voltametri
n	: Aktarılan Elektron Sayısı
R	: Gaz Sabiti, $8,314 \text{ joule/mol K}$
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
Δ_{Ea}	: Puls Genliği, V
Δ_{Ei}	: Kare Dalga Voltametrisinde Uyarma Sinyalinin Basamak Yüksekliği

ΔE_p	: Pik Potansiyelleri Arasındaki Fark, V
ΔI	: Net Akım, A
π	: Pi Sayısı
v	: Tarama Hızı, V/s, mV/s

TEŞEKKÜR

Öncelikle, tez konumun belirlenmesinde, planlamasında ve yürütülmesinde yardım, emek ve ilgisini esirgemeyen, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK'e, projeme verdiği destekten dolayı NKÜBAP'a, çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Ali Cihan ÇELİK'e ve tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bugünlere gelmemde büyük emeği olan, her koşulda yanımda olan sevgili aileme tüm kalbimle teşekkür ederim.

Kasım 2015

Tuğçe ÇETİNKOL

1. GİRİŞ

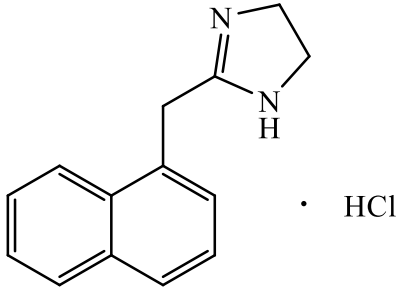
Nafazolin hidroklorür (NFZ-HCl) alfa adrenerjik etkinliği olan simpatomimetik bir ajandır. Mukozaya uygulandığında damar daraltıcı etkisiyle şişme ve benzeri rahatsızlıkları azaltır (**Wenzel ve ark. 2004**). Clear Eyes ve Naphcon gibi göz damlaları dahil olmak üzere bir çok formülasyonda nafazolin hidroklorür aktif bileşen olarak bulunur (**Meloun ve ark. 2004**).

Elektrokimyasal tepkimeler ile biyolojik tepkimeler arasındaki benzerliklerin yanında elektrot ve metabolizma mekanizmalarının da benzer ilkelere sahip olmasından dolayı son yıllarda enstrümental yöntemler yanında, elektroanalitik yöntemler de ilaç etken maddelerin hem nicel tayini hem de etki mekanizmalarının nasıl yürüdüğü hakkında bilgi edinmek amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (**Kılıç ve ark. 1997**).

Voltametrik ve polarografik yöntemlerin, numunelerin kolayca ve çok kısa bir sürede hazırlanabilmesi, az miktarda numune gereksinimi, analiz süresinin kısa olması, ortamda bulunan katkı maddelerinin veya safsızlıkların analiz sonucunu etkilememesi gibi özellikleri bu yöntemlerin eczacılık alanında ve klinik çalışmalarda, yaygın olarak kullanımının bir başka sebebidir (**Doğan ve ark 2005**). Elektrokimyasal yöntemlerle, tablet, kapsül, süspansiyon, şurup v.b. ilaç formülasyonlarının çözünmeyen kısımlarının veya katkı maddelerinin genelde elektroaktiviteleri bulunmadığı için herhangi bir ayırma işlemine gerek olmadan analizleri yapılabilir. Tüm bu üstünlüklerin yanında elektrokimyasal yöntemlerin bir diğer avantajı pahalı ve az miktardaki ilaçların analizinde çok az miktarda numuneyle çalışma imkanı vermesidir (**Zuman ve Brezina 1962**).

Literatür incelendiğinde insan serumunda ve farmasötik örneklerde NFZ-HCl'nin tayini için geliştirilmiş sınırlı sayıda spektrofotometrik (**Sayed ve ark. 2013, Zhu, Liu 2012, Chocholouş ve ark. 2006**), kromatografik (**Saito ve ark. 2008**), potansiyometrik (**Mohamed ve ark. 2013**) ve elektroforetik (**Marchesini ve ark. 2002**) yöntemlere rastlanmıştır. Ancak NFZ-HCl tayinine yönelik elektrokimyasal bir çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı NFZ-HCl tayini için seçici, duyarlı, kolay ve hızlı uygulanan, doğru sonuçlar verip rutin analizlerde kullanılabilecek bir elektrokimyasal yöntem geliştirmek son derece önemlidir.

Bu çalışmada, bir imidazolin türevi olan, sinüzit ve alerji tedavisinde kullanılan NFZ-HCl'ün (Şekil 1.1), voltametrik yöntemlerle elektrokimyasal yükseltgenme davranışı incelendikten sonra biyolojik örneklerde analizinin gerçekleştirilmesi için yöntem geliştirilmesi ve olası yükseltgenme reaksiyon mekanizmasının belirlenmesi hedeflendi. Bu amaçla, molekül yapısında yükseltgenme tepkimeleri için elverişli fonksiyonel grupların bulunmasından yola çıkılarak voltametrik yöntemlerle elektrokimyasal yükseltgenme davranışı incelendi. Katı elektrotlar, cıva elektrotların aksine yükseltgenme tepkimelerinin incelenmesini mümkün kılar. Bu nedenle, çalışma elektrodu olarak katı elektrotlar tercih edildi. Camsı karbon elektrot yüzeyinde belirgin bir pik elde edilememesinden dolayı çalışma elektrotu olarak sade KPE ve Al₂O₃-NP-KPE seçildi.



Şekil 1.1. Nafozolin hidroklorür'ün kimyasal yapısı

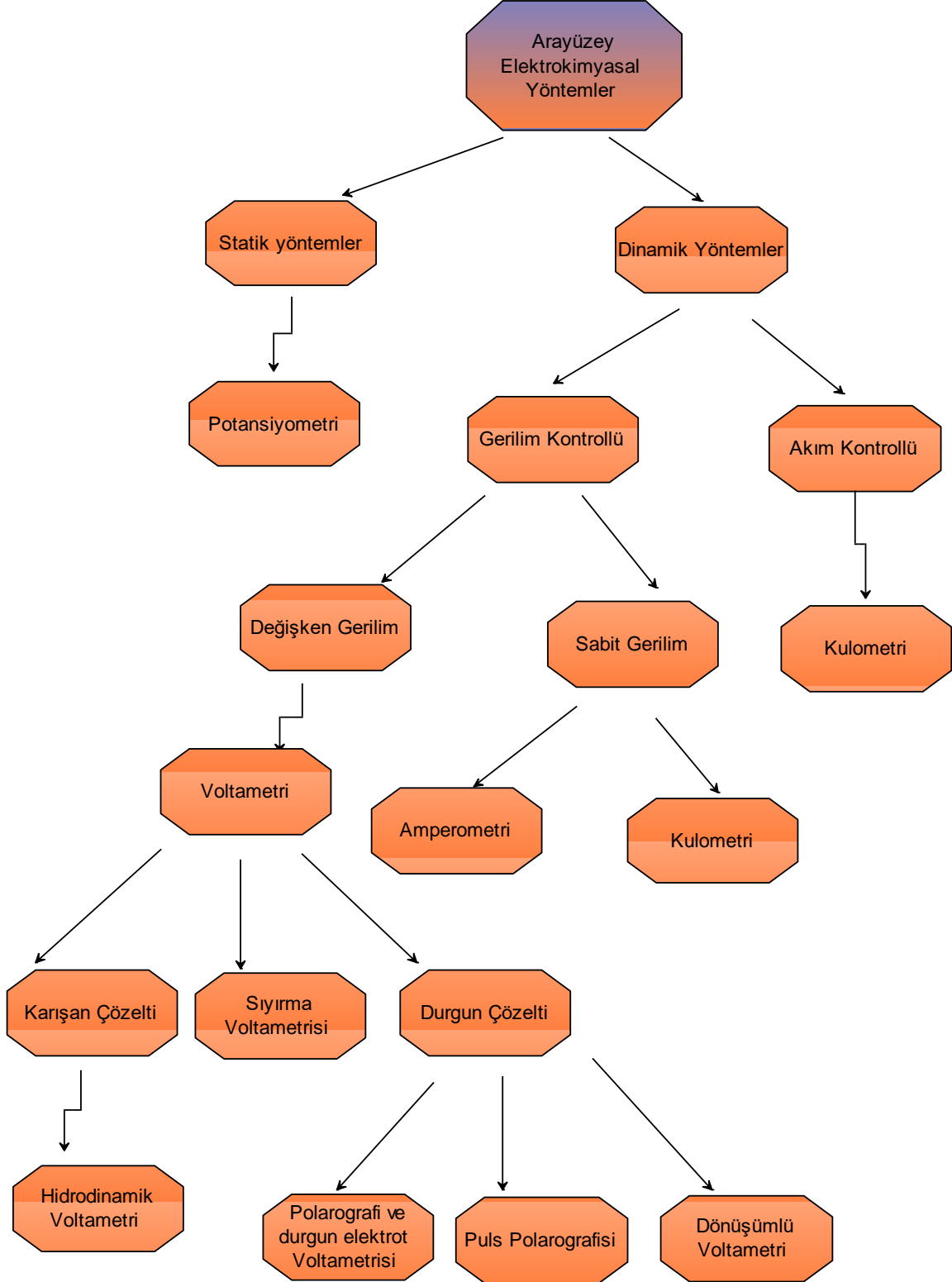
2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimya; redoks (indirgenme-yükseltgenme) tepkimelerini inceler. Elektrokimyasal tekniklerde, elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki uygulanarak sistemin verdiği cevap ölçülür. Daha çok akım olarak ortaya çıkan bu cevap, sistemin özellikleri hakkında bilgi verir (**Greef 1990, Izutsu 2002**). Hemen hemen bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri bulunur. Bu parametrelere tekniğin adında yer verilir. Örneğin voltametri, kronoamperometri, kronokulometri gibi adlandırmalarda sırasıyla potansiyel-akım, zaman-akım ve zaman-yük parametrelerinden teknik hakkında kabaca bilgi edinilebilir.

Elektroanalitik tekniklerin çok çeşitli sınıflandırılmaları vardır. En yaygın kullanılan sınıflandırma Çizelge 2.1'de verilmiştir. Çizelge 2.1'den de görüldüğü gibi elektroanalitik teknikler genelde net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Tekniklerin çok büyük bir kısmında akım gözlenir ve bunlar çoğunlukla potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür (**Asıldağ 2006**).

Çizelge 2.1. Voltametrik tekniklerin sınıflandırılması



2.2 Voltametri

Tarihsel olarak voltametri, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1922 yılında voltametrimin özel bir tipi olan polarografiden geliştirilmiştir (**Bockris ve ark. 1970**).

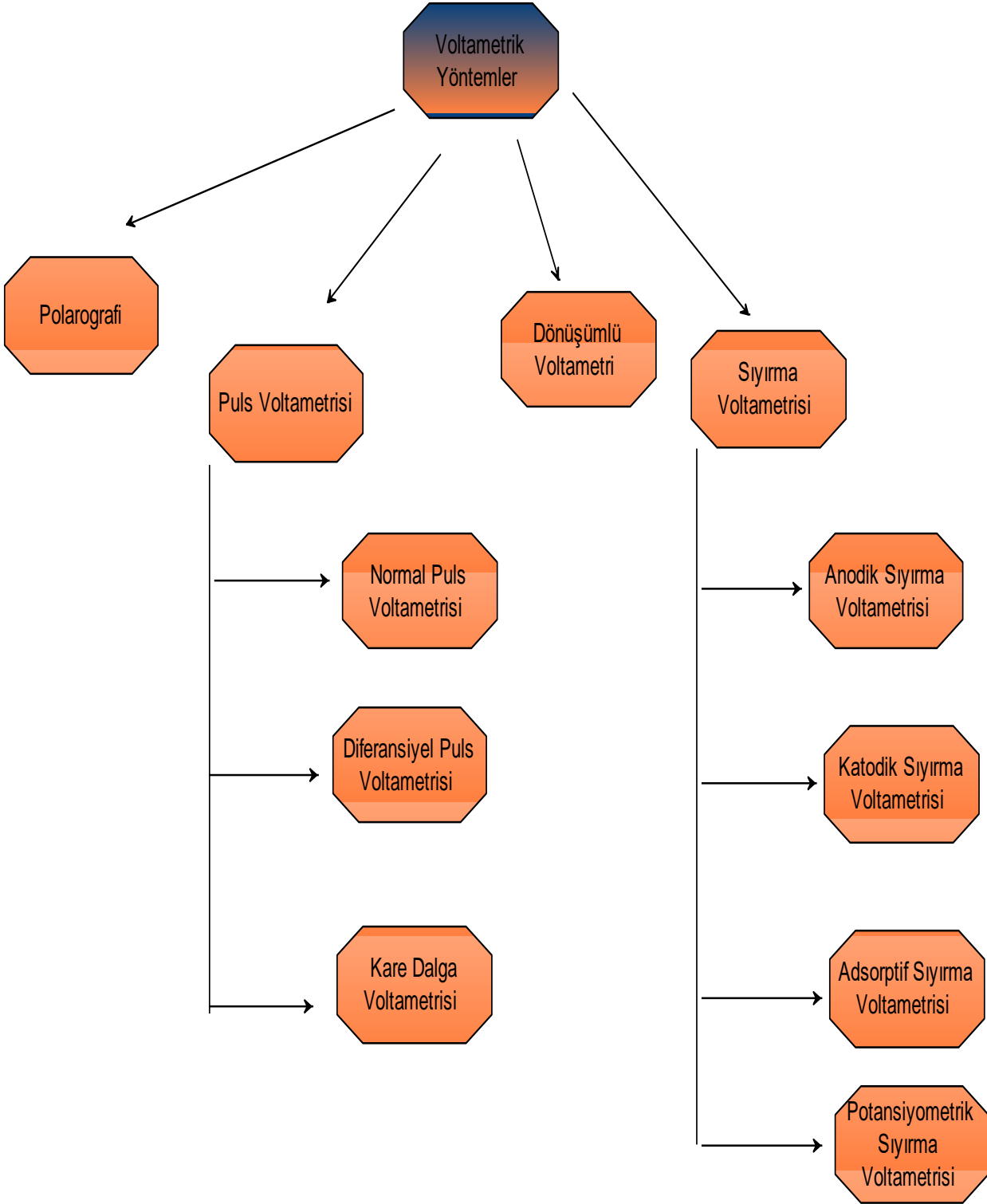
Voltametri, bir çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesine dayanan elektro analitik yöntemlere verilen isimdir. Çizelge 2.2’de voltametrik tekniklerin sınıflandırılması görülmektedir. Polarizasyonu sağlamak için voltametri de kullanılan çalışma elektrotlarının yüzey alanı birkaç milimetre kare ile birkaç mikrometre kare arasında değişir (**Güngör 2012a**). Uygulanan potansiyele karşı ölçülen akımın grafiğe geçirilmesi ile elde edilen akım-potansiyel eğrisine voltamogram denir. Voltametri ile diğer elektrokimyasal yöntemler arasındaki temel farkları belirtmek gerekirse; voltametri, tam derişim polarizasyonu şartlarında bir elektrokimyasal hücrede oluşan akımın ölçülmesine dayanır. Bunun aksine potansiyometrik ölçümler, akımın sıfıra yaklaştığı ve polarizasyonun olmadığı şartlarda yapılır. Voltametri, derişim polarizasyonunun etkilerini en aza indirmek ya da gidermek için gerekli tedbirlerin alınması yönünden elektrogravimetri ve kulometriden farklılıklar göstermektedir. Ayrıca voltametri de analit minimum miktarda harcanırken, elektrogravimetri ve kulometride hemen hemen tüm madde bir reaksiyon ürününe dönüştürülür.

Voltametrik metotlarda üçlü elektrot sistemi kullanılır. Üçlü elektrot sisteminde; potansiyel çalışma elektrotu ile referans elektrot arasına uygulanır, akım ise çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında ölçülür (**Baba 2007**). Böylece çalışma ile referans elektrot arasından hemen hemen hiç akım geçmez. Referans elektrotun potansiyeli çok küçük akımlarda sabit olup akım arttığında potansiyeli sabit kalmaz. Başka bir ifadeyle referans elektrot polarize olmaz. Üçlü elektrot sisteminin kullanılması ile aynı sistemde hem gerilim uygulanabilir hem de oluşan akım ölçülebilir (**Güngör 2012b**). Bu sayede akım geçişi esnasında ikili elektrot sisteminde karşılaştırılması muhtemel potansiyel kaymasının önüne geçilmiş olur.

Voltametri de çalışma elektrotuna uygulanan potansiyel negatif yönde arttırılırsa elektrottaki indirgenme tepkimesi hızlanır. Genelde çalışma elektrodu katot olarak kullanılır ve indirgenme ile katodik akım (i_k) oluşur. Eğer çalışma elektrodunun potansiyeli, pozitif yönde arttırılırsa, bu kez elektrot anot olarak davranır ve anodik akım (i_a) oluşur. Çalışma

elektrotunun hangi potansiyel değerlerinde katot, hangi potansiyel değerlerinde anot olarak davranacağını, elektroaktif maddenin, ortamın ve elektrotun türüne göre belirginlik kazanır **(Yılmazgüç 2008)**.

Çizelge 2.2. Voltametrik teknikler



2.2.1 Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri (DV), oldukça yaygın kullanılan bir elektroanalitik tekniktir. Nicel amaçla kullanımı seyrek olmakla beraber, yükseltgenme/indirgenme tepkimelerinin incelenmesinde, reaksiyon ara ürünlerinin gözlenmesinde ve elektrotlarda oluşan ürünlerin, oluşum sonrası reaksiyonlarını yakalamada yaygın olarak kullanılmaktadır (**Wang 2000**). DV yönteminde, uygulanan potansiyel önce bir yönde sonra ters yönde taranırken akım ölçülür. Bir DV yönteminde tek bir tam döngü, bir yarım döngü veya ardı ardına birçok döngü kullanılabilir. Taramanın ters döndüğü potansiyellere dönüş potansiyeli denir. Belli bir deneyde, dönüş potansiyelleri, bir veya daha çok sayıda türün difüzyon kontrollü yükseltgenmesini veya indirgenmesini gözlemeyi mümkün kılacak şekilde seçilir (**İnan 2013a**). İlk taramanın yönü, aktif maddenin bileşimine bağlı olarak negatif yönde olabileceği gibi, bunun tersi de olabilir. Daha negatif potansiyellere doğru gidilerek tarama yapılıyorsa, buna ileri tarama, diğer yöndekine de geri tarama denir. Tarama süreleri 1 ms veya daha kısa değerlerden başlar; 100 s veya daha uzun değerlere çıkabilir.

Bu yöntemde çoğu zaman platin elektrotlar kullanılır. Negatif potansiyeller bölgesinde cıva film elektrotlar tercih edilebilir. Diğer yaygın çalışma elektrotları arasında; camsı karbon, altın, grafit ve karbon pasta elektrotlar sayılabilir (**İnan 2013b**).

2.2.1.1 Adsorpsiyonun dönüşümlü voltametri ile incelenmesi

Çözelti içerisindeki iyonlar veya moleküller elektrot yüzeyine çeşitli şekillerde adsorbe olabilirler. Adsorbe olan iyon veya molekül ile elektrot yüzeyi arasında bir çeşit bağ meydana gelir. Bu bağ, anyon ve katyonlarda elektrostatik karakterli olabildiği gibi yüklü elektrot yüzeyi ile dipol özellikteki moleküller arasında yük–dipol etkileşmesi şeklinde de olabilir (**Wopschall ve Shain 1967a**). Elektroaktif maddeler, ara ürünler veya son ürünlerin elektrot yüzeyine adsorplanması elektrot reaksiyonunu kuvvetli bir şekilde etkiler. Elektrot reaksiyonunda doğrudan yer almayan iyon veya moleküllerin adsorplanması ise elektron aktarım hızını etkilediği gibi elektrot reaksiyonunun mekanizmasını değiştirerek farklı ürün oluşumuna yol açabilir (**Bard ve Faulkner 2001**). Bu sebeplerden dolayı, beklenmeyen elektrokimyasal davranışlar adsorpsiyon olayına bağlanır.

Ürün kuvvetli bir şekilde adsorbe oluyorsa voltamogramda bir ön pik gözlenir (**Çekirdek 2005a**). Bu ön pikin yüksekliği tarama hızıyla doğru orantılı olduğundan ve difüzyon pikinin akımı ise tarama hızının karekökü ile arttığı için eşitlik 2.1’de görüldüğü gibi;

$$\frac{(i_p)_{ads}}{(i_p)_{dif}} \quad (2.1)$$

oranı, tarama hızı arttıkça artar. Reaktant kuvvetli adsorbe olduğu zaman, difüzyon pikinden sonra bir arka pik gözlenir. Bu arka pik, adsorbe olmuş türün çözeltideki türe göre daha kararlı olmasından dolayı oluşur. Gözlenen bu arka pik tarama hızındaki artış ile artar (**Çekirdek 2005b**). Eğer bileşenin adsorpsiyonu zayıf ise adsorbe olmuş bileşenin ve çözülmüş bileşenin indirgenme enerjileri arasındaki fark küçüktür. Böyle bir durumda arka pik gözlenmez.

Net etki; adsorpsiyonun olmadığı duruma göre katodik pikin daha yüksek olarak ortaya çıkmasıdır (**Wopschall ve Shain 1967b**). Çünkü hem adsorbe olmuş hem de difüzlenen bileşenin akıma katkısı vardır. Ters taramadaki anodik pik de aynı şekilde daha yüksektir, ama katodik taramadaki kadar fazla değildir. Eğer “R” türü zayıf bir şekilde adsorbe oluyorsa, katodik taramadaki pik çok az değişmesine rağmen anodik pik yüksekliği artar. Tarama hızı artması ile anodik pik pozitif potansiyellere kayar. Bunun nedeni elektrot yüzeyine yakın bölgedeki R’lerin adsorbe olmasıdır. Dönüşümlü voltametri tekniği ile kuvvetli ve zayıf adsorpsiyonun varlığı aşağıdaki testlerle belirlenir.

- DV voltamogramlarında ön pik veya arka pik gözlenmelidir.
- $\log(i_p) - \log(v)$ grafiğinin eğimi 0,5’ten büyük olmalıdır.
- Akım fonksiyonu $(i_p / C v_{1/2})$ tarama hızı ile artmalıdır.
- Derişim artışı ile i_p/C oranı azalmalıdır.
- $i_p/C v - v$ değişimi sabit olmalıdır (**Çekirdek 2005c**).

2.2.2 Diferansiyel puls voltametri (DPV)

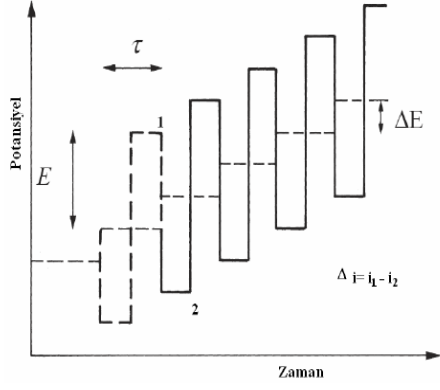
Normal puls voltametrisinde puls sonundaki artık akım az da olsa kapasitif akım içerir. Kapasitif akımın artık akım içindeki payını azaltmak, duyarlılığı arttırmak amacıyla pulsun başlangıcında ve sonunda ölçülen akımların farkları alınmış ve diferansiyel puls voltametri

adında yeni bir teknik elde edilmiştir. Bu teknik normal puls voltametrisinden daha duyar olup duyarlığı 10^{-7} - 10^{-8} molL⁻¹ düzeyindedir (**Scolz 2010**). Pulslar, giderek artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulslar bindirilerek uygulanabileceği gibi sabit doğru bir potansiyele giderek artan genlikli pulslar bindirilerek de uygulanabilir. Puls uygulanmasından önce ve sonra akım ölçülüp iki akım arasındaki fark alınıp bulunan akım değeri potansiyele karşı grafiğe geçirilir (**Wang 2000b**).

2.2.3 Kare dalga voltametri (KDV)

Kare dalga voltametri son derece hızlı ve duyarlı olan bir voltametri tekniğidir. Voltamogramın tamamı 10 ms'den daha az sürede elde edilir. Kare dalga voltametri, asılı cıva damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile birlikte kullanılabilir. Basamaklı sinyalde her basamağın boyu ve puls periyodu (τ) eşittir ve yaklaşık 5 ms civarındadır. Basamaklı sinyalin potansiyel basamağı (ΔE) genellikle 10 mV'dur. Pulsun büyüklüğü 2 E ise, genelde 50 mV'dur. Sistemin bu şartlar altında çalıştırılması 200 Hz'lik puls frekansına karşılık gelir ve bu durumda 1 V'luk bir tarama 0,5 s'de yapılır (**Wang 2000c**).

Tersinir bir indirgenme reaksiyonunda bir pulsun boyutu, ileri tarama sırasında oluşan ürünün, geri tarama sırasında yükseltgenmesini sağlama yetecek kadar büyüktür. Böylece şekil 2.1'de gösterildiği gibi, ileri puls bir katodik akımını (i_1) geri puls da bir anodik akımını (i_2) oluşturur. Genellikle voltamogramları elde etmek için bu akımların farkı (Δi), grafiğe geçirilir. Bu fark derişimle orantıdır; pik potansiyeli de voltametik yarı-dalga potansiyeline karşılık gelir. Ölçüm son derece hızlı yapıldığından, birkaç voltametik taramanın sinyal ortalaması alınarak analizin keskinliğini artırmak mümkündür. Kare dalga voltametrisinin tayin sınırları 10^{-7} ile 10^{-8} molL⁻¹ arasındadır (**Ceylan 2008**).



Şekil 2.1. Kare dalga voltametrisinde anodik ve katodik akımlar

2.2.4 Sıyırma voltametri

Voltametik sıyırma yöntemleri, eser miktardaki elektro aktif türlerin analizi için geliştirilen oldukça yüksek duyarlılığa sahip elektro analitik yöntemlerdir. Bu yöntemlerin yüksek duyarlılığa sahip olmasının en önemli sebebi elektro aktif türün yöntem sonucunda alınan ölçümde sinyal-gürültü oranını kayda değer derecede artıracak şekilde çalışma elektrodu yüzeyine biriktirilebilmesidir. Ön deriştirme basamağı olarak ta kabul edilen bu biriktirme işleminden sonra belirli bir yönde (anodik veya katodik yönde) potansiyel taraması yapılarak sıyırma işlemi gerçekleştirilir. Biriktirme basamağından sonra yapılan sıyırma basamağında yüzeye biriktirilen tür yükseltgenerek sıyırılacaksa potansiyel taraması anodik yönde (yükseltgenme yönünde) yapılır ve yöntemin adı “Anodik Sıyırma Voltametri”, (ASV) olur. Bunun yanında yüzeye biriktirilen türün sıyırılması indirgenerek gerçekleştirilecekse potansiyel taraması katodik yönde (indirgenme yönünde) yapılır, bu durumda yöntem “Katodik Sıyırma Voltametri”, (KSV) adını alır.

Sıyırma voltametride yöntem elektro aktif türün yüzeye biriktirilmesi için seçilen potansiyel değerine göre de farklı isimler alır. Şöyle ki, biriktirme için seçilen potansiyel değerinde herhangi bir elektron transferi gerçekleşmiyorsa (elektrokimyasal dönüşüm gerçekleşmiyorsa) biriktirme adsorptif biriktirme, yöntemin adı ise “Adsorptif Sıyırma Voltametri”, (AdSV) olur. Adsorptif biriktirme basamağından sonra uygulanan sıyırma basamağı yükseltgenme yönünde yapılırsa yöntem “Anodik Adsorptif Sıyırma Voltametri”, (AAdSV) adsorptif biriktirme basamağından sonra uygulanan sıyırma basamağı indirgenme yönünde yapılırsa yöntem “Katodik Adsorptif Sıyırma Voltametri”, (KAdSV) adını alır. Bu

durumda, adsorptif sıyırma yöntemi için indirgenme davranışı çalışılan elektro aktif türün elektrot yüzeyine biriktirilmesi için seçilen potansiyel değeri türün indirgenme potansiyelinden daha küçük bir potansiyel değerinde (türün indirgenme potansiyeline göre daha anodik değerde), yükseltgenme davranışı çalışılan elektro aktif türün yüzeye biriktirilmesi için ise türün yükseltgenme potansiyelinden daha küçük bir potansiyel değerinde (türün yükseltgenme potansiyeline göre daha katodik bir değerde) biriktirme yapılmalıdır (**Bond 1980, Zoski ve ark. 2007, Barek ve ark. 2008, Scholz 2010**). Analizi yapılacak elektro aktif tür elektron aktarımı yaparak elektrot yüzeyine biriktiriliyorsa yöntemin adı sıyırma voltametridir. Bu durumda anodik sıyırma voltametri için biriktirme basamağında tür indirgenerek elektrot yüzeyinde biriktirilir. Sıyırma basamağında yükseltgenme yönünde tarama yapıldığından indirgenerek yüzeyde biriktirilen tür tekrar yükseltgenerek elektrot yüzeyinden sıyırılır. Katodik sıyırma voltametri ise biriktirme basamağında madde yükseltgenerek elektrot yüzeyinde biriktirilir. Sıyırma basamağında katodik yönde potansiyel taraması yapılarak yüzeyde yükseltgenme sonucu biriktirilen madde indirgenerek yüzeyden sıyırılır.

Sıyırma voltametri yönteminde çalışılacak yöntem belirlendikten sonra biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi için optimizasyon çalışması yapılmalıdır. Biriktirme potansiyeli seçimi için yöntemin adsorptif olup olmadığına karar verildikten sonra, 52 analizi yapılacak çözeltilerde bulunan türlerin potansiyelleri de (özellikle karışımdaki bileşenlerin eş zamanlı tayininde önemlidir) dikkate alınarak birkaç biriktirme potansiyelinde ölçümler alınıp optimizasyon yapılır. Biriktirme süresini optimize ederken optimizasyon çözeltilerindeki hedef türün derişimi önemlidir. Zira biriktirme süresi bir nevi yüzeyin ne kadar sürede hedef türe doyacağına bir ölçüsüdür. Bundan dolayı geliştirilecek yöntemin olası uygulama alanları ve bu alanlarda çalışmaların yapılacağı örneklerde bulunacak madde derişimi göz önüne alınarak biriktirme süresi optimize edilmelidir (**Taşdemir 2011**).

2.3 Elektrokimyasal Reaksiyonlar

2.3.1 Tersinir reaksiyonlar

Tersinir bir çift için pik akımı (25°C), Randles-Sevcik eşitliğiyle verilir (Eşitlik 2.2).

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

Burada n , aktarılan elektron sayısı; A , elektrodun alanı (cm^2), C , derişim (mol/cm^3), D , difüzyon katsayısı (cm^2/s) ve v , 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 çiftlerinin formal potansiyeline bağlıdır. Tersinir bir sistem için formal potansiyel, aşağıdaki gibi verilir (Eşitlik 2.3).

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

Tersinir bir sistemde, pik potansiyelleri arasındaki fark Eşitlik 2.4.'te verilmiştir.

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

Bu yüzden, pik potansiyelleri farkı, aktarılan elektron sayısının hesaplanmasında ve redoks çiftinin Nerst davranışı gösterip göstermediğinin belirlenmesinde kullanılır. Buna göre, hızlı bir $1e^-$ lu reaksiyon, 59 mV 'luk bir E_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 2000d**).

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

- $E_p^k - E_p^a = 59/n \text{ mV}$ veya $E_p - E_p/2 = 57/n \text{ mV}$ '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.

2.3.2 Tersinmez ve yarı tersinir reaksiyonlar

Elektron transferinin yavaş olduğu tersinmez sistemler için, piklerin büyüklüğü tersinir sistemlere göre azdır ve pikler birbirinden epeyce ayrılır (Wang 2000e). Tersinmez sistemlerde, tarama hızıyla pik potansiyelinde kayma olur (Eşitlik 2.5).

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

Burada, a , transfer katsayısıdır ve n yük-transfer basamağındaki elektron sayısıdır. Bu yüzden, E_p , E^o 'dan daha yüksek potansiyellerde oluşur. Pik potansiyeli, yarı-pik potansiyelinden $48/n$ mV kadar farklı olur. Pik akımı, aşağıdaki eşitlikten Eşitlik 2.6'dan görüldüğü gibi, çözeltinin derişimiyle orantılıdır fakat transfer katsayısına bağlı olarak pik yüksekliği daha düşüktür. =0,5 ise, tersinir pik akımının tersinmez pik akımına oranı 1,27'dir.

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

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/D 'nin bir fonksiyonudur ($= nFv/RT$). k^0/D arttıkça, sistem tersinirliğe yaklaşır. k^0/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 yararlanılır. Bu amaçla, aşağıdaki kriterler incelenir (Greef ve ark. 1990, Bard ve Faulkner 2001). Yarı-tersinir bir sistem için:

- $i_p/v^{1/2}$ tarama hızına bağlı değildir.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir. (= 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 (Kaçar 2010).

2.4 Kaynak Araştırması

Chocholouşs ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan çalışmada nafazolin nitrat ve metil paraben sıralı enjeksiyon kromatografisi yöntemi ile spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bu yöntem klasik HPLC metoduna alternatif olarak geliştirilmiştir. Mobil faz olarak metanol/su kullanılmış ve asetik asit-trietilamin ile pH 5,2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Akış hızı ise 0,9 mLdak⁻¹ olarak seçilmiştir. UV ile yapılan tayinlerde nafazolin için λ 220 nm ve metil paraben için 256 nm dalga boyu kullanılmıştır. İki bileşen (metil paraben ve nafazolin) için kolerasyon katsayısı >0,999 ve bağlı standart sapma ise % 0,5-1,6 olarak verilmiştir. Tüm lmler 4 dakikadan daha kısa bir sürede gerçekleştirilmiş ve burun damlasında yapılan ölçümlerde geri kazanım % 100,06-102,55 olarak belirtilmiştir.

Mohammed ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada nafazolin, screen-printed ve karbon pasta elektrot kullanılarak potansiyometrik yöntemle tayin edilmiştir. Nafazolinin potansiyometrik tayininde 25°C'de $7,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-2}$ molL⁻¹ derişim aralığında ve pH 3,1 ve 7,9 aralığında çalışılmıştır. Screen-printed ve karbon pasta elektrotlar sırasıyla 4 ve 7 s'de cevap vermiş ve raf ömürleri yine sırasıyla 28 ve 30 gün olarak verilmiştir. Bu yöntemle yapılan çalışmada inorganik anyonlar, katyonlar, şekerler ve diğer ilaç etken maddelere ait herhangi bir girişim etkisi olmamıştır. İlaç karışımlarında yapılan çalışmalarda geri kazanım %100,2-102,6 olarak belirlenmiştir.

Hemmateenejad ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada antazolin ve nafazolinin eş zamanlı tayini, deneysel olarak üretilmiş sinir ağlarında dalga boyu seçimine dayanan net analit sinyalinden yararlanılarak kalibrasyon yöntemi gerçekleştirilmiştir. Antazolin ve nafazoline ait net analit sinyal vektörleri, bu iki etken maddenin karışımına ait absorbans verilerinden en küçük kareler yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Dalga boyu seçme yöntemi ise bu iki ilaç etken maddenin birbirinden etkin bir biçimde ayrılması için kullanılmıştır (antazolin ve nafazolin için sırasıyla λ_{max} 242 nm ve 280 nm olarak verilmiştir). Bu çalışmada yeni bir prosedür olarak dalga boyu seçimi için deneysel olarak tasarlanmış üç katmanlı bir sinir ağı sistemi kullanılmıştır. Tasarlanan bu model ile yapılan çalışmalarda diğer yöntemlere göre daha az hata veren ölçümler alınabildiği belirtilmiş (%2,0) ve bu model ile göz damlalarında antazolin ve nafazolin başarılı bir şekilde tayin edilmiştir. Gz

damlasında yapılan ölçümlere ait geri kazanımlar antazolin ve nafazolin için sırasıyla % 98,5–103,8 ve % 97,4–105,8 olarak verilmiştir.

Marchesini ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada nafazolin, difenhidramin ve fenilefrini kapiler elektroforez yöntemi kullanılarak eş zamanlı olarak tayin etmişlerdir. Her bir etken maddenin 1:25 oranında su ile seyreltilmesinden sonra ölçümler alınmıştır. Ayırmada kullanılan silikadan yapılmış kapilerin kalınlığı 75 µm ve uzunluğu 70 cm olarak seçilmiştir. Uygulanan voltaj 17,7 kV olarak belirlenmiş ve 0,063 molL⁻¹ pH 3,72 fosfat tamponu kullanılmıştır. Bu yöntemle yapılan nafazolin, difenhidramin ve fenilefrin tayininde HPLC ve kromatografi yöntemlerine göre daha hızlı ve doğru sonuçlar elde edilmiştir.

Terrones ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada nafazolinin farmasötik karışımlarda tayini için bir optik sensör geliştirilmiştir. Çalışma nafazolinin floresans özelliklerinden yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Terrones ve ark. nafazolinin floresans sinyalini 294/306 nm’de gözlemlemişlerdir. Bu optik sensörün 80 s gibi kısa bir sürede nafazolin ölçümünü yapabilmekte olduğu ve en düşük belirleme limitinin 1×10⁻⁸ molL⁻¹ olduğu belirtilmiştir. Geliştirilen optik sensör nafazolinin farmasötik karışımlarında kullanılmış ve herhangi bir girişim etkisine rastlanmamıştır.

Saito ve arkadaşları (2008) tarafından yapılan çalışmada dibukain ve nafazolin sıvı kromatografisi ve kütle spektroskopisi ile eş zamanlı olarak tayin edilmiştir. Sıvı kromatografisi, momolitik silika kolon ve C₁₈ ters faz kolonu ile mobil faz A: 10 mmolL⁻¹ amonyum format, B: asetonitril kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Akış hızı olarak 0,2 mLdak⁻¹ seçilmiştir. Dibukain ve nafazolin için en düşük belirleme limitleri sırasıyla 2×10⁻⁸ molL⁻¹ ve 4×10⁻⁸ molL⁻¹ olarak verilmiştir. Bu çalışmada ölçüm yaklaşık 20 dakika sürmekte ve geri kazanım %70,0 civarında olmaktadır.

Ghoreishi ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada nafazolin tayini için yeni bir nafazolin seçimli membran geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu iyon seçimli membran elektrot grafitle kaplanmıştır. Çalışmada derişim aralığı olarak 1,0×10⁻⁵-5,0×10⁻² molL⁻¹ seçilmiş ve pH çalışmaları 3,0-8,0 arasında gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem kullanılarak yapılan ölçümler yaklaşık 20 s’de tamamlanmıştır. İyon seçimli membran ile yapılan çalışmada inorganik anyonlar, katyonlar, şekerler ve diğer ilaç etken maddelere ait herhangi

bir girişim etkisi olmadığı belirtilmiştir. Ghoreishi ve arkadaşları iyon seçimli membranın raf ömrünü yaklaşık 1 ay olarak belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

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

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin temin edildiği firma ve saflık dereceleri

Kullanılan kimyasal maddeler	Temin edildiği firma	Saflık derecesi %
Asetik asit	Sigma Aldrich	99,8
Azot gazı	Yüksel Ltd. Şti	99,99
Borik asit	Sigma Aldrich	99,5
Fosforik asit	Sigma Aldrich	85,0
Hidroklorik asit	Sigma Aldrich	≥37,0
Metanol	Sigma Aldrich	99,9
Nafazolin Hidroklorür	Yenişehir Lab. Ltd. Şti.	<99 HPLC
Sodyum hidroksit	Sigma Aldrich	≥98,0

3.2 Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

3.2.1 Elektrokimyasal analiz cihazı

Voltametik ölçme deneyleri, Electrochemical Analyzer Dropsens µstatt 400 (İspanya) elektrokimyasal çalışma sistemi kullanılarak yapıldı. Elektrokimyasal sisteme BAS C3 elektrot hücre standı bağlanarak tüm deneyler bu hücrelerde gerçekleştirildi.

3.2.2 Hücre ve elektrotlar

Voltametik ölçme deneylerinde Şekil 3.1’de verilen üç elektrotlu ölçme sistemi kullanıldı. Referans elektrot olarak BAS MF-2052 Ag/AgCl, karşıt elektrot olarak BAS MW-1034 platin tel ve çalışma elektrodu olarak 15 mg iç hacimli karbon pasta elektrot kullanıldı.



Şekil 3.1. Ölçümlerde kullanılan BAS C3 elektrot hücre standı

3.2.3 pH metre

Tampon çözeltinin pH ölçümlerinde Hanna Instruments HI 2211 marka pH metre cihazı kullanıldı.

3.2.4 Mikro pipet

Çözelti ilaveleri için Autolab $\pm 0,05 \mu\text{L}$ hassasiyeti olan 10-100 μL 'lik mikro pipetler kullanıldı.

3.2.5 Azot gazı

Çözeltide çözülmüş halde bulunan oksijeni uzaklaştırmak için Yüksel Yedek Parça Ltd. Şti. tarafından temin edilen yüksek saflıktaki (% 99,99) azot gazı kullanıldı.

3.2.6 Saf su

Çözeltinin hazırlanmasında kullanılan saf su Purelab Option Q DV 25 marka saf su cihazından sağlandı.

3.3 Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması

Çalışmada çalışma elektrodu olarak hem sade karbon pasta elektrot hem de Al_2O_3 nanopartikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot (Al_2O_3 -NP-KPE) kullanıldı. Sade karbon pasta elektrot, 15,00 mg grafit tozu ve 10,00 μ L parafin yağının homojen karışım elde edilinceye 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 karbon pasta elektrotlar hazırlandı.

Al_2O_3 -NP-KPE ise 3,00 mg Al_2O_3 nanopartikülleri ve 12,00 mg grafit tozu üzerine 10,00 μ L parafin yağı eklenerek yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlandı ve karbon pasta elektrot gövdesine doldurularak yüzeyi pürüzsüz hale getirildi.

3.4 Nafazolin Hidroklorür Analizleri

3.4.1 Nafazolin hidroklorür'ün çözünürlüğünün belirlenmesi

Nafazolin Hidroklorür'ün farklı çözücülerde (su, metanol, etanol, aseton) çözünürlüğü araştırıldı ve suda tamamen çözüldüğü belirlendi.

3.4.2 Nafazolin hidroklorür çözeltilerinin hazırlanması

Çalışmada kullanılan nafazolin hidroklorür stok çözeltisi toplam hacmi 25 ml, derişimi $1,00 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ olacak şekilde saf NFZ-HCl tartıldıktan sonra saf suda çözülerek hazırlandı.

Çalışmada kalibrasyon eğrisi hazırlamak için kullanılan NFZ-HCl çözeltileri, stok çözeltinin BR tamponu ile seyreltilmesiyle hazırlandı.

3.4.3 Britton –Robinson Tamponunun Hazırlanması

BR tamponu, asetik asit, borik asit ve fosforik asit çözeltilerinden her bir bileşenin analitik derişimi $0,04 \text{ molL}^{-1}$ olacak şekilde gerekli miktarlarda alınıp hacim 1000 mL olacak şekilde suda çözülerek hazırlandı. Çözeltilerin pH'ları $0,20 \text{ molL}^{-1}$ NaOH kullanılarak

istenilen değere ayarlandı. BR tamponu hazırlandıktan sonra kullanılıncaya kadar +4°C’de saklandı (Rege 2011).

3.4.4 Serum numunelerinin analize hazırlanması

Serum çözeltilerinin hazırlanmasında sağlıklı ve NFZ kullanmayan insanlardan temin edilen serum örnekleri kullanıldı. Bu örneklerin üzerine belirli oranda (1:1) metanol ilave edilerek serum proteinleri çöktürüldü ve çöken proteinler santrifüj yardımıyla ayrıldı. Proteini çöktürülüp ayrılan serum örneğinden 1 mL alındı ve içerisinde 9,0 mL tamponlanmış (pH 7,0) BR çözeltisi bulunan hücreye eklenerek serum çözeltisi hazırlandı.

3.4.5 Deneylerin yapılışı

3.4.5.1 Döngüsel voltametri deneylerinin yapılışı

Döngüsel voltametri (DV) deneyleri Şekil 3.1’de görülen elektrokimyasal hücrede gerçekleştirildi. Destek elektrolit olarak seçilen ve pH 7,00’ye ayarlanmış BR tamponu belirli hacimde alınarak elektrokimyasal hücreye konuldu ve 2 dakika süre ile azot gazı geçirildi. İnert gaz geçişi kesildikten sonra başlangıç ve bitiş potansiyeli aynı olacak şekilde ayarlama yapıp çeşitli tarama hızlarında döngüsel voltamogramlar kaydedildi.

3.4.5.2 Kare dalga voltametrisi deneylerinin yapılışı

Çalışma çözeltisinin 10 ml’sine çalışma, referans ve karşıt elektrotlar daldırıldıktan sonra, çözeltiden çözünmüş oksijenin giderilmesi için 2 dakika azot gazı geçirildi. İnert gaz geçişi kesildikten sonra basamaklı adım yüksekliği 0,005 V sinyal genliği 0,005 V ve sinyalin frekansı 5-20 Hz aralığında değiştirilerek voltamogramlar kaydedildi. Pik akımı ve pik şekli dikkate alınarak optimum parametreler belirlendi.

3.4.5.3 Kare dalga adsorptif sıyırma yönteminin geliştirilmesi

Çalışma çözeltisinin 10 ml’sine çalışma, referans ve karşıt elektrotlar daldırıldıktan sonra, çözeltiden çözünmüş oksijenin giderilmesi için 2 dakika azot gazı geçirildi. İnert gaz geçişi kesildikten sonra, biriktirme süresi 0-150 s, biriktirme potansiyeli 0,0-0,8 V aralığında değiştirilip kare dalga voltametri voltamogramları kaydedildi. Pik akımının en yüksek ve pik şeklinin en yüksek olduğu süre ve potansiyel belirlendi.

3.4.5.4 Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması

Kare dalga voltametri (KDV) ve kare dalga anodik adsorbif sıyırma voltametri (KDAAdSV) yöntemlerinde çeşitli derişimlerdeki bir seri NFZ-HCl çözeltilerinin belirlenen optimum koşullarda voltamogramları alındı ve pik akımları belirlendi. Ölçülen pik akımları etken madde derişine karşı grafiğe geçirilip kalibrasyon grafikleri oluşturularak çizilen regresyon eğrisinden doğrusal çalışma aralığı, alt tayin ve gözlenebilme sınırları hesaplandı.

3.4.6 Kalibrasyon parametrelerinin belirlenmesi

3.4.6.1 Doğrusal çalışma aralığı

Bölüm 3.4.5.4'te belirtildiği şekilde elde edilen kalibrasyon grafiklerinin regresyon katsayısının $R^2=0,9948$ olduğu derişim aralığı doğrusal çalışma aralığı olarak belirlendi.

3.4.6.2 Doğruluk

Serum numunelerinde eklenen ilaç etken madde miktarları (μ) ile voltametrik yöntemler kullanılarak bulunan ortalama miktarlardan (x) yararlanarak % geri kazanım eşitlik 3.1 kullanılarak hazırlandı.

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

3.4.6.3 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 bağıl standart sapma değerleri en az üç ölçüm için hesaplandı.

3.4.6.4 Duyarlık

Bölüm 3.4.5.4'te belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafiklerinin eğimi (birim derişim başına sinyal) yöntemin duyarlılığı olarak değerlendirildi.

3.4.6.5 Gözlenebilme sınırı (LOD)

Bölüm 3.4.5.4'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.

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

Aktarılan elektron sayısı n ve yükseltgenme reaksiyonu için anodik tük aktarım katsayısı β 'nin çarpımı, dönüşümlü voltametri çalışmalarında pik potansiyeli ile yarı-pik potansiyeli arasındaki fark literatürlerde verilen (Aşangil ve ark. 2012, Taşdemir 2011) aşağıdaki eşitliğin kullanılması sonucu hesaplandı.

$$[E_p - E_{p,h}](mV) = \frac{1,857RT}{\beta n F} = \frac{47,7}{\beta n} \quad (3.4)$$

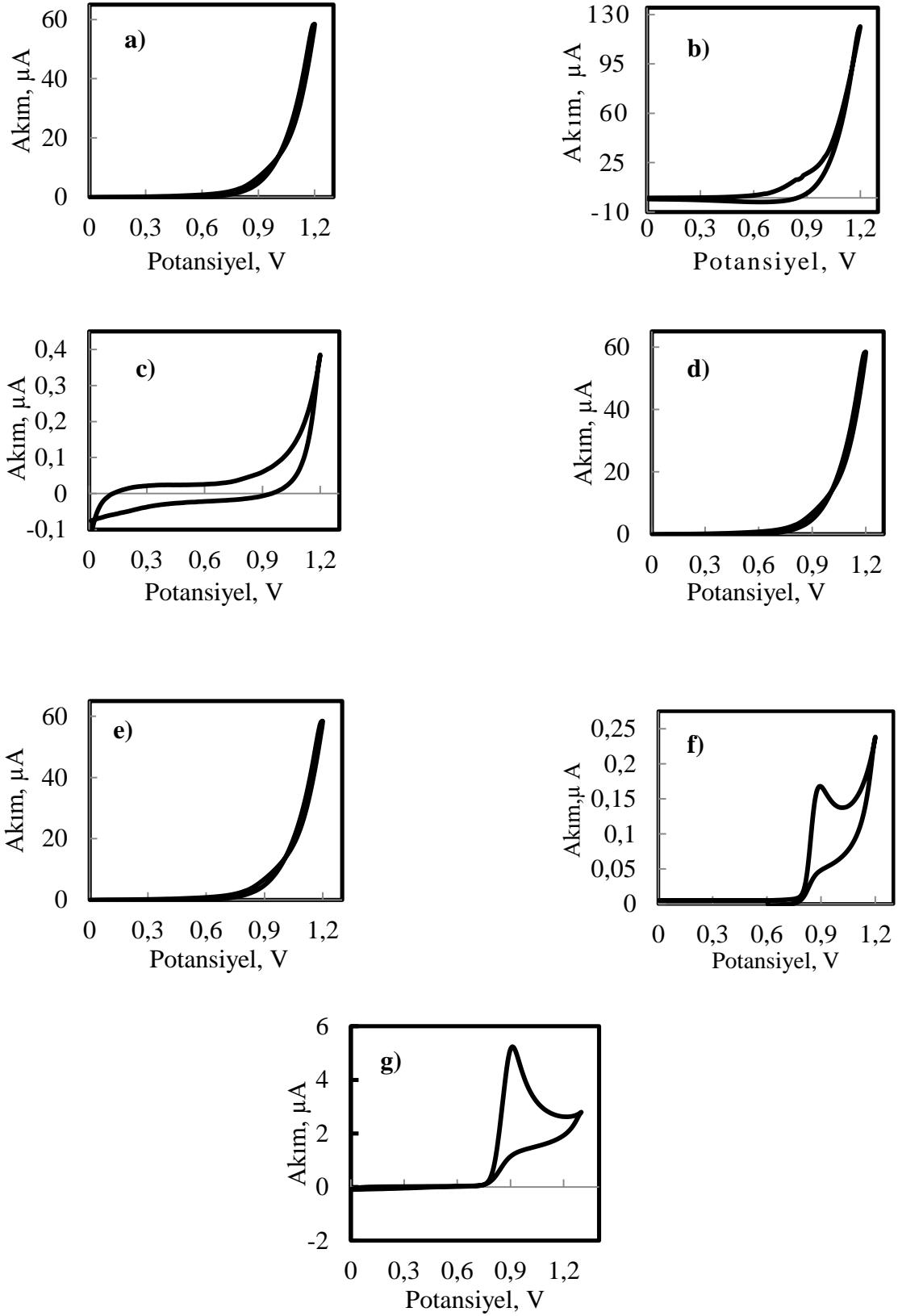
Burada E_p , pik potansiyelini (mV), $E_{p,h}$ yarı pik potansiyelini (mV), T mutlak sıcaklığı (K), R , ideal gaz sabitini (J/molK; n , aktarılan elektron sayısını (mol elektron/mol molekül); β , anodik yük aktarım katsayısını, F faraday sabitini (K/mol elektron) ifade etmektedir. Ayrıca aktarılan elektron sayısı, n ve yükseltgenme reaksiyonu için anodik yük aktarım sayısı β 'nin çarpımı dönüşümlü voltametri çalışmalarında pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi kullanılarak, kare dalga voltametri çalışmalarında ise, pik potansiyelinin frekansın logaritması ile değişimi kullanılarak hesaplandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. NFZ-HCl'ün Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

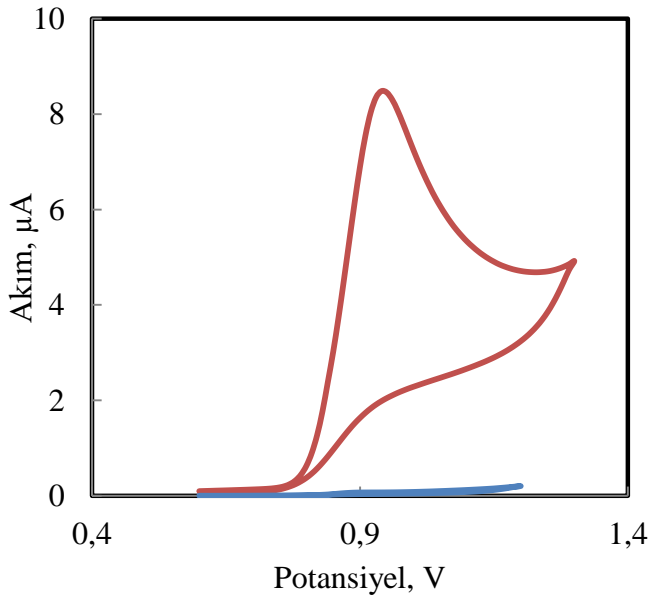
4.1.1 Dönüşümlü voltametri çalışmaları

Bu çalışmada NFZ-HCl'ün, sade KPE ve çeşitli nanopartiküller ile modifiye edilmiş KPE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı incelenerek olası yükseltgenme mekanizması önerildi. Daha sonra NFZ-HCl'ün biyolojik örneklerde tayinine yönelik kare dalga anodik adsorptif sıyrma voltametri yöntemi geliştirildi. NFZ-HCl'ün voltametrik yöntemle tayini için en uygun nanopartikül belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla, çeşitli nanopartiküller kullanılarak modifiye edilmiş KPE ile dönüşümlü voltametri (DV) deneyleri yapıldı. Şekil 4.1'de de görüldüğü gibi $1,00 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ sabit NFZ-HCl derişiminde, BR tamponunda SnO, CuO, CdO, Fe₂O₃ ve NiO nanopartikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrotlarda 0,00 V ile +1,20 V potansiyel aralığında herhangi bir indirgenme-yükseltgenme piki gözlenmezken ZnO ve Al₂O₃ nanopartikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot yüzeyinde NFZ-HCl'e ait tekli yükseltgenme pikine rastlandı. $1,00 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün Al₂O₃ nanopartikülleri ile modifiye edilmiş KP elektrotta (Al₂O₃-NP-KPE) gözlenen pikin ZnO nanopartikülleri ile modifiye edilmiş KPE'a göre yaklaşık 30 kat daha yüksek akıma sahip olduğu görüldü ve çalışmalara Al₂O₃-NP-KPE yüzeyinde devam edildi.



Şekil 4.1. $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün BR ortamında a) SnO b) NiO c) Fe₂O₃ d) CuO e) CdO f) ZnO g) Al₂O₃-NP-KPE'ta elde edilen dönüşümlü voltamogramları (v: 0,1 V/s, pH: 7,0)

NFZ-HCl'ün elektrokimyasal yükseltgenme davranışı incelenmeden önce BR ortamı için potansiyel penceresi belirlendi. Bu amaçla, hem pH 7,0'de hazırlanan BR çözeltisinin hem de BR ortamında $1,50 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ olarak hazırlanan ve pH'sı 7,0 olan NFZ-HCl çözeltisinin sade KPE ve $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP-KPE}$ yüzeyinde dönüşümlü voltamogramları alındı (Şekil 4.2). Şekil 4.2'den de görüldüğü gibi, 0,6 ile 1,2 V aralığında BR'den oluşan çözücü sistemine ait herhangi bir indirgenme yükseltgenme pikine rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmaya uygun potansiyel penceresinin 0,6-1,2 V olarak seçilmesine karar verildi. Şekil 4.2 incelendiğinde $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP-KPE}$ 'ta alınan dönüşümlü voltamogramlardan elde edilen pik akımlarının sade KPE'ta elde edilen pik akımlarından daha keskin ve yüksek olduğu görüldü.

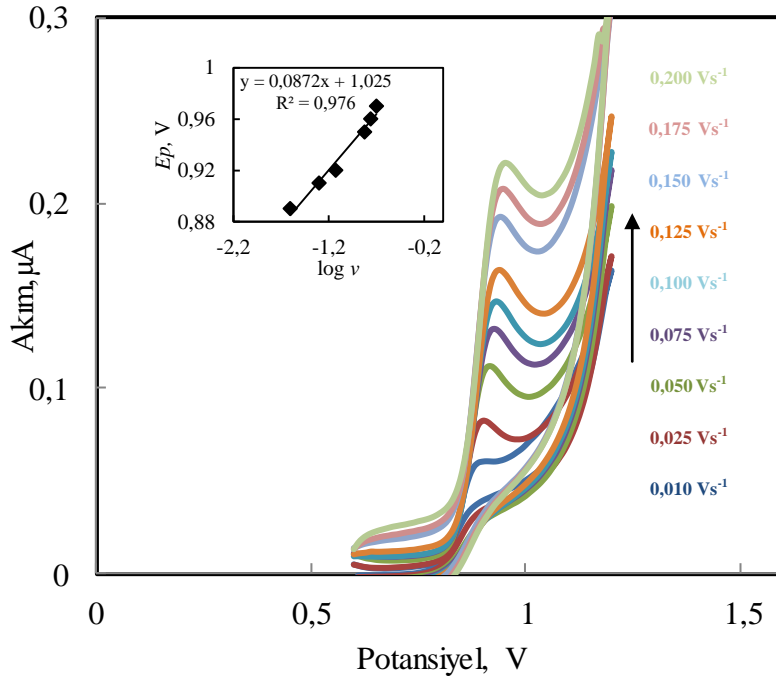


Şekil 4.2. $1,50 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün, BR ortamında, $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP-KPE}$ ve sade KPE'ta elde edilen dönüşümlü voltamogramları (v: 0,1 V/s, pH: 7,0; sade KPE'ta alınan dönüşümlü voltamogram iç grafik olarak verildi.)

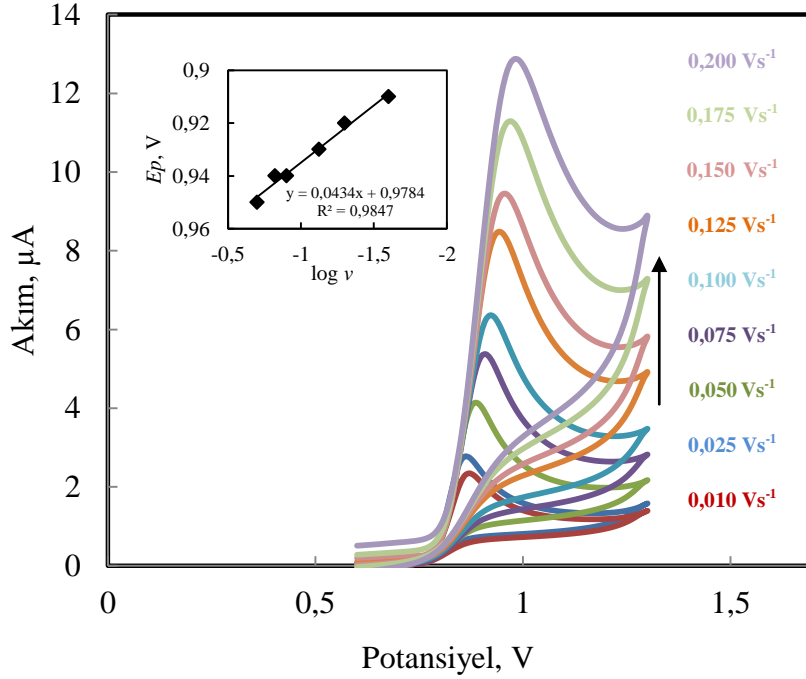
Şekil 4.2'de görüldüğü gibi +0,60 V ve +1,20 V potansiyel aralığında, +0,9 V'da nafazolin hidroklorüre ait bir anodik pik gözlenirken katodik pike rastlanmadı. Voltamogramda herhangi bir katodik pikin gözlenmemesi, NFZ-HCl'ün yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğini düşündürdü.

Ayrıca farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltametri deneylerinden elde edilen voltamogramlardan yararlanarak da bu düşüncemiz doğrulandı (Şekil 4.3-4.4).

$1,5 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün, sade KPE ve $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP-KPE}$ 'ta, pH 7,0'de $0,01\text{-}0,2 \text{ Vs}^{-1}$ arasındaki farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarında, tarama hızı arttıkça pik akımlarının arttığı ve pik potansiyellerinin anodik potansiyellere kaydığı gözlemlendi. E_{pa} 'lerin yüksek tarama hızlarında değişmesi kriteri de sistemin tersinir olmadığını bir göstergesidir (Nicholson ve Shain 1964, Greef ve ark. 1990, Bard ve Faulkner 2001). Elde edilen sonuçlar, NFZ-HCl'ün sade KPE ve $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-NP-KPE}$ yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun tersinir olmadığını gösterdi.



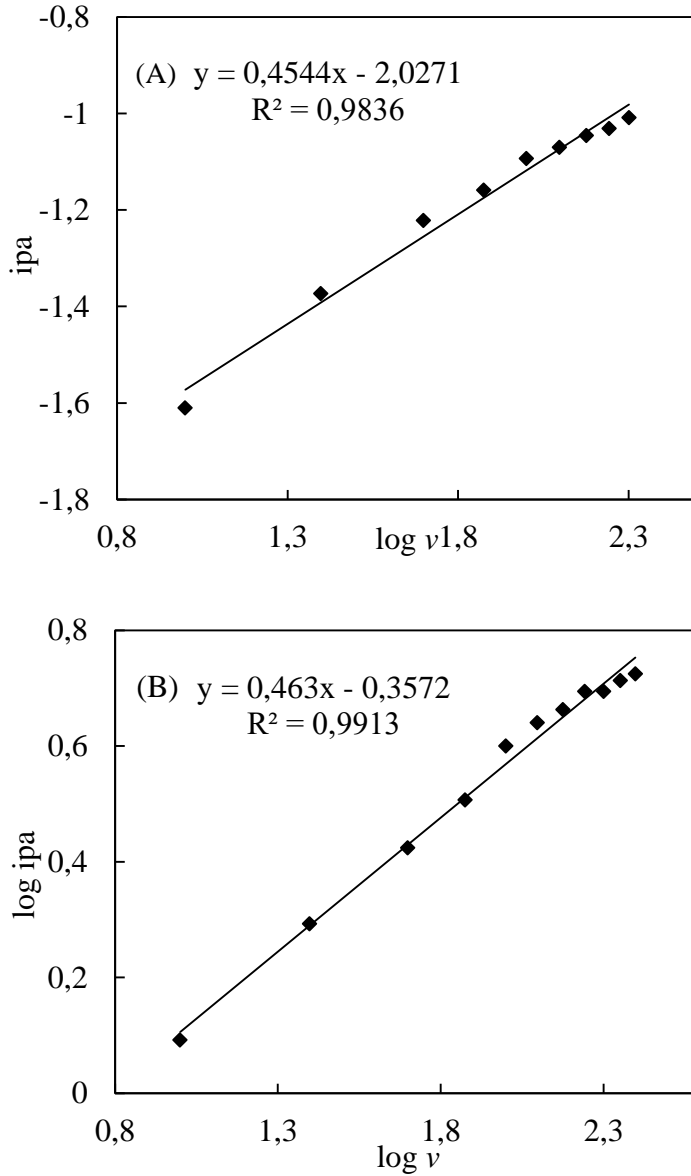
Şekil 4.3. $1,50 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün sade KPE'ta pH 7,00 BR tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızının pik potansiyeline etkisini gösteren grafik iç grafik olarak verilmiştir)



Şekil 4.4. $1,50 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün Al_2O_3 -NP-KPE'ta pH 7,00 BR tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızının pik potansiyeline etkisini gösteren grafik iç grafik olarak verilmiştir)

4.1.2 NFZ-HCl'ün adsorpsiyon özellikleri

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. Bu amaçla kullanılan en önemli elektrokimyasal yöntemlerden biri, dönüşümlü voltametridir. Adsorpsiyonun olup olmadığı, NFZ-HCl'ün farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları alınarak pik akımlarının tarama hızıyla değişiminden yararlanılarak incelendi. Bu amaçla, $\log ip_a - \log v$ grafikleri çizildi. Bilindiği gibi, difüzyon dikkate alınarak türetilen ve dönüşümlü voltamogramdaki pik akımını veren Randless-Sevcik eşitliğinden, $\log ip_a$ 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 and Faulkner 2001b**). Şekil 4.5 incelendiğinde $\log v - \log ip_a$ grafiklerinin eğimlerinin 0,5'ten küçük olması NFZ-HCl'ün her iki elektrot yüzeyine de adsorbe olmadığını gösterdi.

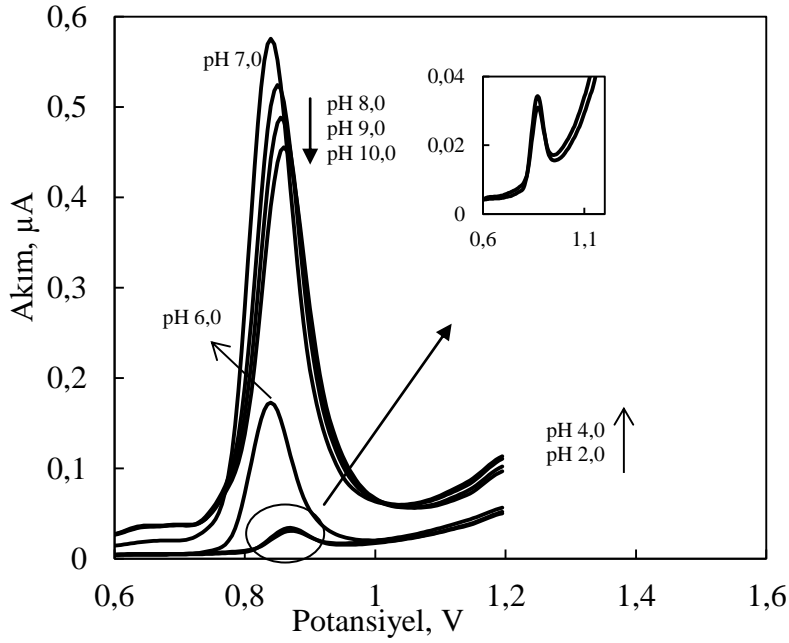


Şekil 4.5. $1,00 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından elde edilen $\log i_p$ - $\log v$ grafiği (A) sade KPE (B) Al_2O_3 -NP-KPE

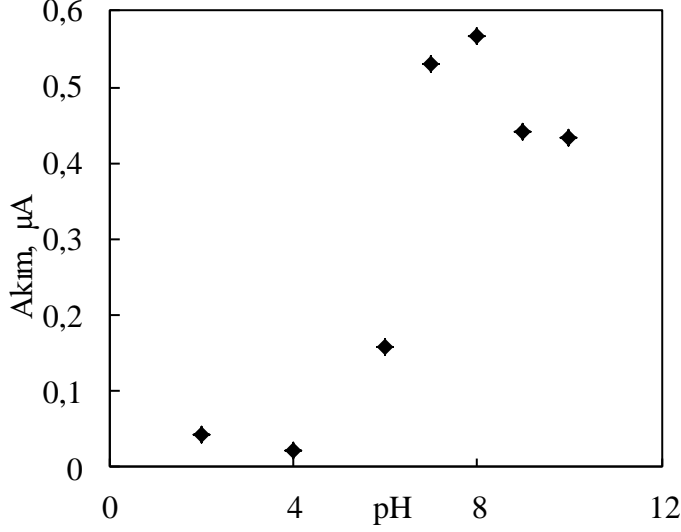
4.1.3 Elektrot reaksiyonunda yer alan H^+ sayısının bulunması ve pH'nın pik akımına ve pik potansiyeline etkisi

Çalışmaların yapıldığı ortamda bulunan H^+ iyonları derişiminin bir ölçüsü olan pH değeri, elektrokimyasal sinyalin konumu (E_p) ve şiddetini (i_p) değiştirebilen en önemli parametrelerden birisidir. Bu nedenle H^+ iyonlarının NFZ-HCl'ün elektrokimyasal reaksiyonuna olan etkisi incelendi (Kaçar 2000b). NFZ-HCl'ün pik akımı ve pik potansiyeline pH'ın etkisini incelemek amacıyla, kare dalga voltamogramlarından yararlanıldı. (Şekil 4.6). BR tamponu ve $0,10 \text{ molL}^{-1}$ NaOH kullanılarak farklı pH'larda

hazırlanan 10 mL'lik $1,0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹ çözeltilerde çalışıldı. Elde edilen pik akımları ve pik potansiyellerinin pH ile değişimi grafiğe geçirildi. pH 2,0 ile 7,0 aralığında pik potansiyellerinin negatife kaydığı ve pik akımlarının giderek arttığı görüldü. pH 7,0-10,0 aralığında değiştirildiğinde ise pik potansiyelleri daha pozitif kayarken pik akımlarının da azaldığı görüldü. Optimum pH olarak en yüksek pik akımının görüldüğü pH 7,0 seçildi (Şekil 4.7). Ayrıca, pik potansiyeli ve pik akımının pH ile değişmesi, elektrot reaksiyonunda hidrojen iyonunun (protonun) yer aldığını gösterdi (Malik 1982, Kameswara Rao ve ark. 1988, İsmail 1991, El-Hallag ve ark. 2000). Ayrıca, pik potansiyelinin pH ile değişiminde farklı eğimlerde doğrusal kısımların gözlenmesi de yükseltgenme olayında hidrojen iyonlarının rol aldığının bir başka göstergesidir (İsmail 1991).



Şekil 4.6. Al₂O₃-NP-KPE'ta $1,0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹ NFZ-HCl'ün farklı pH'lardaki kare dalga voltamogramları



Şekil 4.7. Al₂O₃-NP-KPE’ta 1,0×10⁻⁵ molL⁻¹ NFZ-HCl’ün, BR ortamında, KDV yöntemi ile elde edilen pik akımlarının pH ile değişimi

NFZ-HCl’nin elektrot tepkimesinde hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısını belirlemek için eşitlik 4.1’den kullanıldı. (Wang ve ark. 2006, Öztürk ve ark. 2010, Taşdemir ve ark. 2011).

$$E_p = k + \frac{RT}{(n\beta)F} \log v \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte: E_p : Pik potansiyeli, V, R :ideal gaz sabiti, J/(molK), T :mutlak sıcaklık, K, n :hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısı, mol elektron / mol molekül, F :Faraday sabiti, C/mol elektron, β :anodik yük aktarım katsayısı v : tarama hızı, Vs⁻¹, k :sabit’i ifade etmektedir.

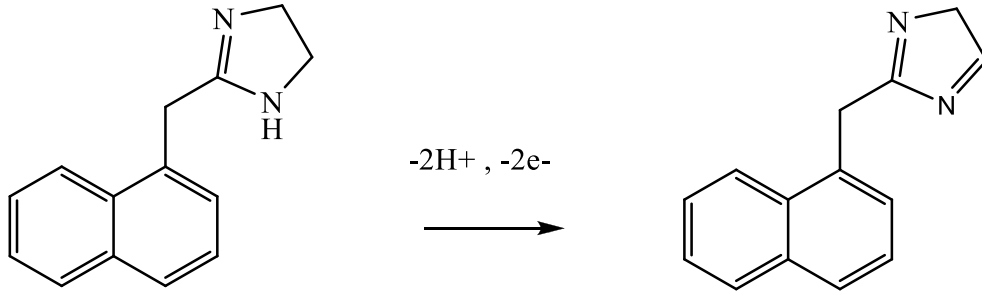
Yapılan tarama hızı çalışmasında, tarama hızının pik potansiyeline etkisini değerlendirmek için tarama hızının logaritmasına karşı, pik potansiyeli grafiğe geçirilmiş ve pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile $E_p = 0,0732 \log v + 1,0113$ $R^2 = 0,9843$ eşitliğini sağlayacak şekilde değiştiği görülmüştür. Bu denkleme ait eğim değeri Eşitlik 4.1’de yerine konulduğunda anodik yük aktarım katsayısı olan β ile elektrot tepkimesinin hız belirleyen basamağında aktarılan elektron sayısının (n) çarpımı ($n \times \beta$) değeri 0,35 olarak hesaplanmıştır. Aynı parametre kare dalga voltametri de yapılan frekans çalışmalarında ise 0,48 olarak bulunmuştur (Radi 2003). Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği (Brett ve Brett 1992) ve birçok çalışma elektrodu için bu parametrenin 0,50 olduğu düşünüldüğünde NFZ-HCl’ün yükseltgenme mekanizmasındaki hız belirleyen basamakta bir elektron aktarıldığı söylenebilir.

NFZ-HCl'ün yükseltgenmesinde aktarılan elektron sayısının belirlenmesinde literatürde benzer elektroaktif gruplara sahip moleküller incelendiğinde 2 elektron 2 proton aktarımı ile yükseltgenmenin gerçekleştiği görüldü (Öztürk ve Ark 2014, Goyal ve Bishnoi 2010).

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde NFZ-HCl'ün Al₂O₃-NP-KPE yüzeyinde

- Yükseltgenmesinin tersinmez olduğuna
- Yükseltgenme reaksiyonunda protonunda yer aldığına,
- Yükseltgenme reaksiyonunda hız belirleyici basamakta aktarılan elektron sayısının 1, toplamda 2 elektron aktarıldığına,
- Yükseltgenme tepkimesinin çözelti elektrot ara yüzeyinde difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiğine karar verildi.

Buna göre gerçekleşen elektrokimyasal yükseltgenmede diazin grubundaki proton yapıdan ayrılırken deprotonasyona uğrayan yapının elektron aktararak aktifleşmiş kompleks oluşturduğu sonra hızlı bir şekilde 1H⁺/1e⁻'nin aktarılması ile yükseltgenmenin tamamlandığı sonucuna varıldı. Olası yükseltgenme mekanizması Şekil 4.8'de verildi.



Şekil 4.8. NFZ-HCl'ün yükseltgenme mekanizması

4.2 NFZ-HCl'ün Sıyırma Voltametri ile Tayini için Yöntem Geliştirme

4.2.1 Cihaz parametrelerinin optimizasyonu

Voltametik 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 NFZ-HCl'ün yükseltgenme pik akımı ve pikin şekli dikkate alınarak yapılan çalışmalarda optimum cihaz parametreleri belirlendi ve sonuçlar Çizelge 4.1'de verildi.

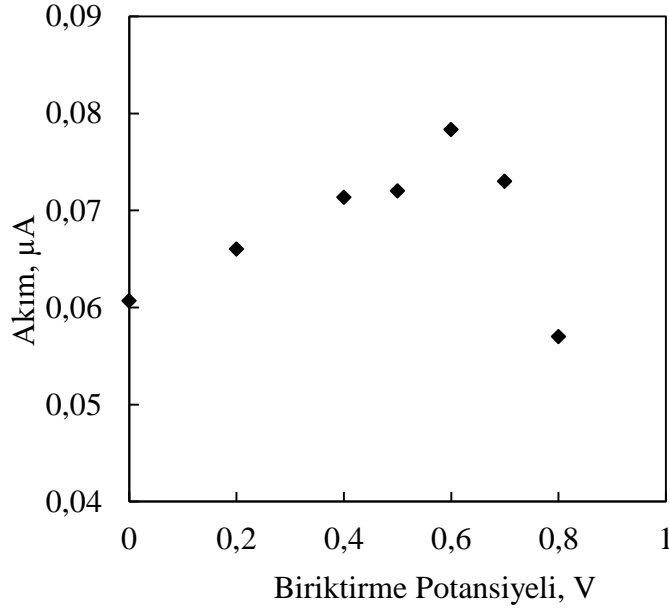
Çizelge 4.1. Sıyırma voltametri yöntemi için optimum cihaz parametreleri

Parametre	KDAAdSV
Başlangıç Potansiyeli, V	0,6
Bitiş Potansiyeli, V	1,2
Genlik Frekans, mVs ⁻¹	10
Basamak potansiyeli, V	0,005
Örnekleme Genişliği, V	0,005
Durulma süresi, s	3

4.2.2 Yöntem parametrelerinin optimizasyonu

4.2.2.1 Biriktirme potansiyelinin belirlenmesi

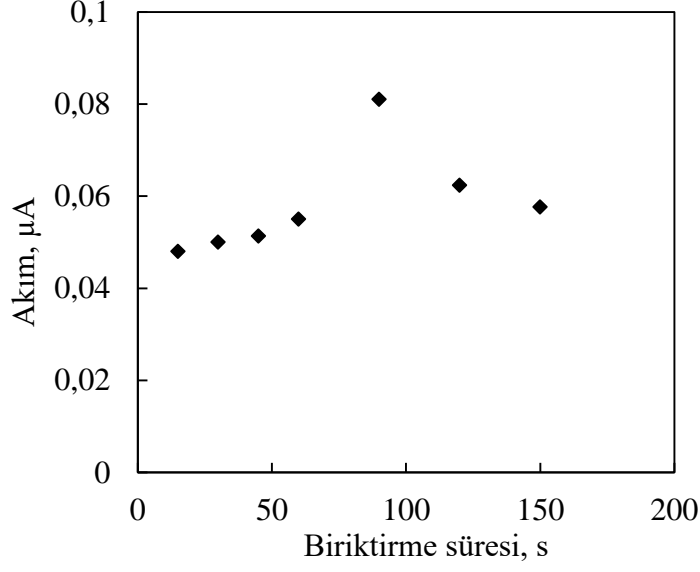
NFZ-HCl'ün pik akımına biriktirme potansiyelinin (E_{bir}) etkisi, kare dalga anodik adsorptif sıyırma voltametri yöntemi ile incelendi. Biriktirme potansiyeli 0,0 V-0,8 V aralığında değiştirilerek pik akımı değişimi pik potansiyeline karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.9). Pik akımının, 0,0 V-0,6 V biriktirme potansiyel aralığında artarken 0,6 V'dan sonra azalmaya başladığı görüldü. KDAAdSV yöntemi için 0,6 V optimum biriktirme potansiyeli olarak belirlendi.



Şekil 4.9. $1,00 \times 10^{-6}$ molL⁻¹ NFZ-HCl'ün Al₂O₃-NP-KPE ile elde edilen pik akımlarının biriktirme potansiyeli ile değişimi (pH 7,0).

4.2.2.2. Biriktirme süresinin belirlenmesi

Biriktirme potansiyeli 0,60 V olarak belirlendikten sonra, bu potansiyelde $1,00 \times 10^{-6}$ molL⁻¹ nafazolin hidroklorür içeren hücrede biriktirme süresi 15-150 s arasında değiştirilerek pik akımının zamanla değişimi grafiğe geçirildi (Şekil 4.10). Pik akımları 15 s-90 s aralığında artarken, 90 s'den sonra akımların azaldığı görüldü. Optimum biriktirme süresi en yüksek pik akımının gözlemlendiği 90 s olarak seçildi.



Şekil 4.10. $1,00 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün Al_2O_3 -NP-KPE ile elde edilen pik akımlarının biriktirme süresi ile değişimi (pH 7,0).

Elde edilen sonuçlara göre, NFZ-HCl'ün KDVAAdSV yöntemi ile tayini için belirlenen parametreler Çizelge 4.2'de verildi.

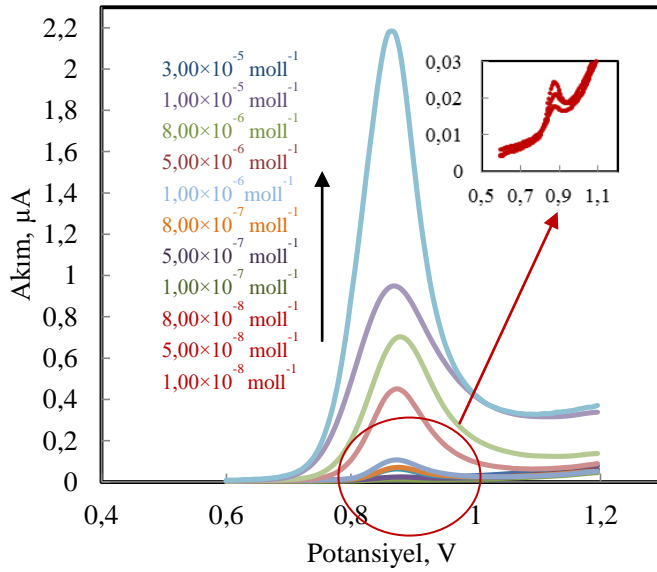
Çizelge 4.2. KDAAdSV Yöntemi için optimum yöntem parametreleri

Parametre	Değer
Destek elektrolitin türü	BR tamponu
Destek elektrolitin derişimi, molL^{-1}	0,04
pH	7,0
Biriktirme potansiyeli, V	0,6
Biriktirme süresi, s	90

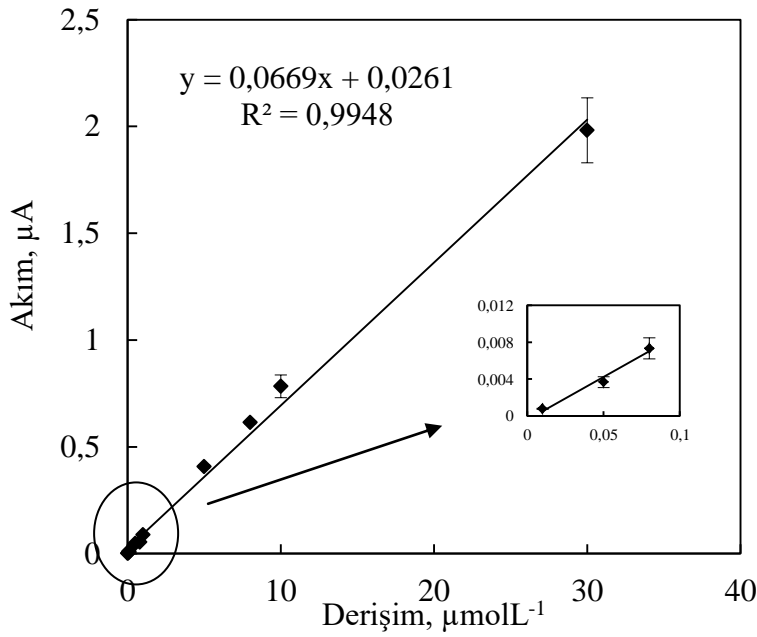
4.3 KDAAdSV Yönteminin Analitik Uygulamaları

4.3.1 Derişim çalışması

Geliştirilen KDAAdSV 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 7,0'sı ayarlanmış, bilinen hacimde BR bulunan elektrokimyasal hücreye, NFZ-HCl'ün stok çözeltilerinden ($1,00 \times 10^{-5}$ molL⁻¹ ve $1,00 \times 10^{-3}$ molL⁻¹) bilinen miktarlarda ilaveler yapıldı. Her bir ilaveden sonra hücredeki hacim değişimleri de dikkate alınarak NFZ-HCl'ün derişimleri hesaplandı ve KDAAdSV yöntemi ile alınan voltamogramlar her bir derişim için ayrı ayrı kaydedildi (Şekil 4.11). Derişime karşı elde edilen voltamogramlardan okunan akım değerleri grafiğe geçilerek kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. NFZ-HCl'nin farklı derişimlerde ve Al₂O₃-NP-KPE alınan KDAAdSV voltamogramları (pH: 7,0, E_{bir}: 0,6 V, t_{bir}: 90 s).



Şekil 4.12. NFZ-HCl'ün akım derişim grafiği

4.3.2 Kalibrasyon grafikleri kullanılarak serum örneklerinden nafazolin hidroklorür miktar tayini

Geliştirilen KDAAdSV yönteminin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilen optimum cihaz ve yöntem koşullarında ve Bölüm 4.2'de verilen kalibrasyon çalışmalarının analitik parametreleri kullanılarak serum örneklerinde doğrudan kalibrasyon yöntemi kullanılarak geri kazanım çalışması yapıldı. Serum örnekleri Bölüm 3.4.4'de anlatıldığı gibi hazırlandıktan sonra KDAAdSV yöntemi ile voltamogramları alındı. NFZ-HCl'ün geri kazanım sonuçları ve istatistik değerlendirmeleri ise Çizelge 4.3'te verildi.

Çizelge 4.3. Geliştirilen yöntemin serum örneklerine uygulanmasıyla doğrudan kalibrasyon yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlar

Eklenen NFZ-HCl, µg	Bulunan NFZ-HCl, µg	Geri kazanım ^a , %	BSS ^b , %
2467,30	2393,28; 2393,28 2392,97	97;0 ± 0,32	0,007
123,36	125,83; 125,66; 126,12	102,0 ± 0,38	0,018

^aGeri kazanım değerleri % 95 güven seviyesinde (ortalama±ts/ \sqrt{N}) eşitliğine göre hesaplanmıştır.

^bBSS: Hesaplanan her değer için geri kazanım değeri bulunup bu değerlerin % bağıl standart sapmaları verilmiştir.

4.4 Geliştirilen Yöntemin Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi

Analitik yöntem geliştirmede, geliştirilen yöntemin performans karakteristiklerinin belirlenmesi önemlidir. Bu amaçla NFZ-HCl miktar tayini için geliştirilen KDAAdSV yönteminin aşağıdaki parametreler değerlendirilerek validasyonu yapıldı.

4.4.1 Doğrusal çalışma aralığı

Farklı derişimlerde NFZ-HCl için, 0,60 V biriktirme potansiyeli ve 90 s biriktirme süresi uygulanarak pH 7,00 BR tamponunda adsorptif sıyırma voltametrisi ile elde edilen akımların grafiğe geçirilmesiyle elde edilen bir kalibrasyon eğrisi incelendiğinde pik akımlarının $1,00 \times 10^{-8}$ ile $3,00 \times 10^{-5}$ arasında doğrusal olarak değiştiği görüldü.

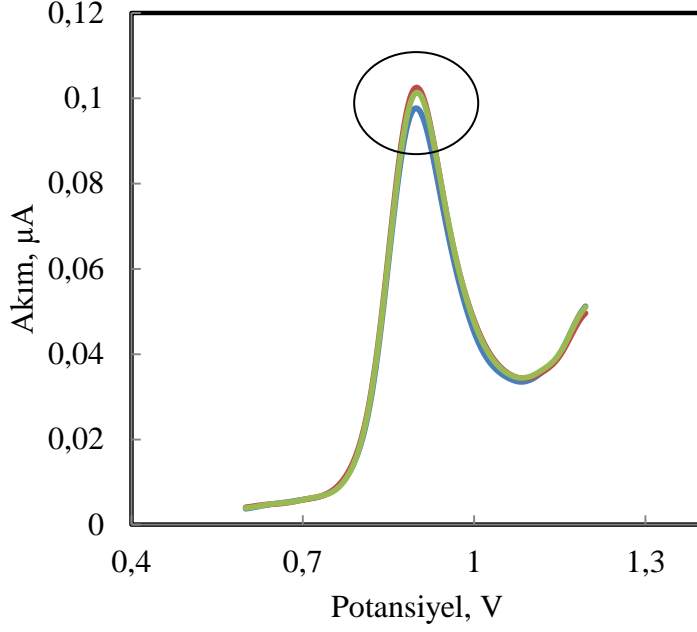
4.4.2 Yöntemin doğruluğu

Yapılan analitik uygulamalar ile geliştirilen yöntemin doğruluğu araştırıldı. Bunun için, önerilen yönteme ait kalibrasyon parametreleri kullanılarak, hesaplanan % geri kazanım değerleri hesaplandı. Serum örnekleri için geri kazanım değeri %97,00 ile %102,00 arasında değiştiği görüldü. Sonuç olarak, geliştirilen yöntemin doğruluğunun yüksek olduğu ve girişim etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

4.4.3 Tekrarlanabilirlik

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

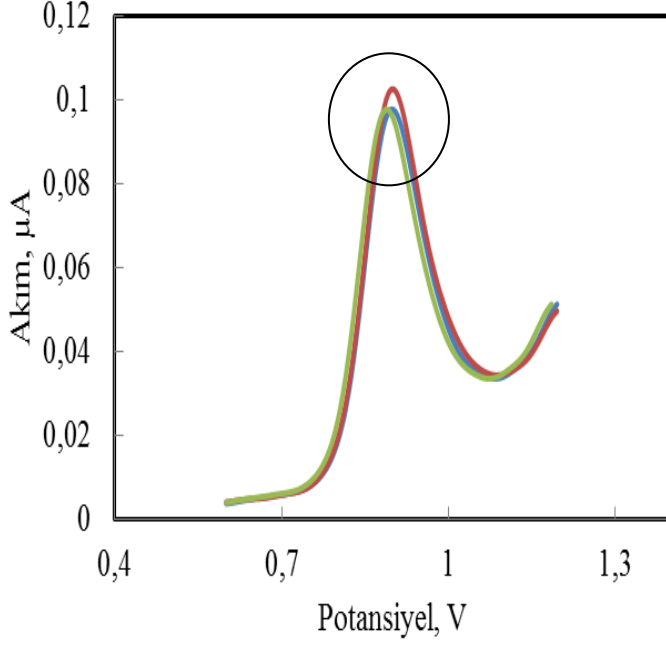
$1,00 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ NFZ-HCl'ün, pH 7,00'de optimum koşullarda voltamogramları alındı. Aynı gün, aynı çözeltide ard arda üç defa alınan sıyırma voltamogramlarından elde edilen pik akımlarının ve pik potansiyellerinin bağıl standart sapma (BSS) değerleri hesaplandı. Aynı gün aynı çözeltide ard arda üç defa alınan sıyırma voltamogramlarından elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımları için BSS değerleri sırasıyla %0,00 ve % 0,028 olarak hesaplandı. Sonuç olarak, KDAAdSV yöntemi ile elde edilen piklerinin akım ve potansiyel değerlerindeki tekrarlanabilirliğin oldukça iyi olduğu belirlendi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Al₂O₃-NP-KPE’te KDAAdSV yöntemi ile aynı gün, aynı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (E_{bir} : 0,6 V, t_{bir} : 90 s, $C_{NFZ-HCl}$: $1,0 \times 10^{-6}$ molL⁻¹, pH: 7,0).

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

1×10^{-6} molL⁻¹ NFZ-HCl farklı günlerde hazırlanan çözeltilerde optimum koşullarda KDAAdSV yöntemi ile sıyırma voltamogramları alındı. Her bir ölçün 3 defa tekrarlandı. Elde edilen pik potansiyeli ve pik akımı değerleri kaydedildi. Farklı günlerdeki aynı derişimdeki farklı çözeltiler kullanılarak elde edilen pik akımlarının BSS değeri %0,072 iken pik potansiyelleri için BSS değeri ise %0,015 olarak hesaplandı. Sonuç olarak, NFZ-HCl’e ait pikin günler arası tekrarlanabilirliğinin oldukça iyi olduğu belirlendi (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Al₂O₃-NP-KPE’ta KDAAdSV yöntemi ile farklı gün, farklı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (E_{bir} : 0,6 V, t_{bir} : 90 s, $C_{NFZ-HCl}$: $1,0 \times 10^{-6}$ molL⁻¹, pH: 7,0).

4.4.4 Yöntemin seçiciliği

Serum örneklerinde yapılan çalışmalarda çalışma hücresine NFZ-HCl ilavesi yapılmadan önce aynı potansiyel aralığında voltametrik ölçümler yapıldı ve NFZ-HCl moleküllerine ait yükseltgenme pikinin akım ve potansiyel değerini etkileyecek herhangi bir voltametrik sinyale rastlanmadı. Bununla birlikte pik potansiyellerinde geliştirilen yöntem için 0-10 mV aralığında bir kayma gözlemlendi. Buna göre çalışmaların dayandırıldığı yükseltgenme potansiyeli değerinin, serum ortamında bile NFZ-HCl molekülüne özgü bir değer olduğu söylenebilir.

4.4.5 Gözlenebilme sınırı

Geliştirilen KDAAdSV yöntemi için gözlenebilme sınırı $3s/m$ bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Bu eşitlikte s başlangıç ordinatının standart sapması, m ise ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğimidir. Bu eşitliğe göre KDAAdSV yönteminin gözlenebilme sınırı $2,60 \times 10^{-9}$ ($6,41 \times 10^{-4}$ mgL⁻¹) olarak hesaplandı.

4.4.6 Alt tayin Sınırı

Benzer şekilde geliştirilen yöntem için alt tayin sınırı 10s/m bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Bu eşitliğe göre KDAAdSV için alt tayin sınırı $8,63 \times 10^{-9}$ ($2,13 \times 10^{-3} \text{ mgL}^{-1}$) olarak hesaplandı.

4.4.7 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 4.4. Nafazolin hidroklorür tayini için geliştirilen yöntemin bazı validasyon parametreleri

Validasyon parametreleri	Değer
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	1,0×10 ⁻⁸ -3,0×10 ⁻⁵
Pik potansiyeli, V	0,9
Kalibrasyon grafiğinin eğimi ALmol ⁻¹	6,69×10 ⁻²
Başlangıç ordinatı, A	2,61×10 ⁻⁸
Regresyon standart sapması, sr	4,58×10 ⁻⁸
Eğimin standart sapması, sm	1,6×10 ⁻³
Başlangıç ordinatının standart sapması	1,60×10 ⁻⁸
Gözlenebilme sınırı, LOD	2,60×10 ⁻⁹
Alt tayin sınırı, LOQ	8,63×10 ⁻⁹
Regresyon katsayısı, R ²	0,995
Gün içi akım tekrarlanabilirliği, %BSS	0,028
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği, %BSS	0,000
Günler arası akım tekrarlanabilirliği, %BSS	0,074
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği, %BSS	0,014

4.5 Farklı Yöntem Sonuçlarının ve Parametrelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

NFZ-HCl tayini için geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliği %95 güven seviyesinde, bu yöntemle elde edilen geri kazanım değerleri ile literatürde NFZ-HCl tayininde kullanılan yöntemlerle (Saito ve ark. 2008) elde edilen geri kazanım değerlerinin t testi kullanılarak karşılaştırılmasıyla araştırıldı. *T* testini uygulamak için Eşitlik 4.2'den yararlanıldı. Yapılan hesaplamaların sonuçları değerlendirildi ve %95 güven seviyesinde iki yöntem arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Hesaplanan değerler Çizelge 4.5'te verildi. Çizelge 4.6'da nafazolin hidroklorür'e ait literatür çalışmaları özet halinde verilmiştir.

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

Çizelge 4.5. Doğrudan kalibrasyon ve standart katma yöntemleri ile KDAAdSV yöntemi için hesaplanan bazı değerler

Yöntem	KDAAdSV
Eğim (doğrudan kalibrasyon yöntemi)	0,0669
Eğimin standart sapması s_m (doğrudan kalibrasyon)	0,001604279
$t_{deneysel}$	0,70
t_{kritik}	4,30

Çizelge 4.6. NFZ-HCl'e ait literatür özeti

Kullanılan Yöntem	Doğrusal çalışma aralığı (molL ⁻¹)	pH	Gözlenebilme sınırı (molL ⁻¹)	Geri kazanım Tablet, %	Geri kazanım serum, %	Literatür
Spektrofotometri	2,00×10 ⁻⁵ -1,00×10 ⁻²	-	5,90×10 ⁻⁶	103,74		
TLC- densitometri	2,00×10 ⁻⁵ -1,80×10 ⁻⁴	-	6,10×10 ⁻⁷	102,06	-	(Sayed ve ark. 2013)
HPLC	2,00×10 ⁻⁵ -1,50×10 ⁻⁴	7,00	5,60×10 ⁻⁷	104,60		
Potansiyometri Screen printed elektrot	7,00×10 ⁻⁷ -1,00×10 ⁻²	7,90	5,60 ×10 ⁻⁷	100,20	-	(Mohamed ve ark. 2013)
Karbon pasta iyon seçimli elektrot	7,00×10 ⁻⁷ -1,00×10 ⁻²		5,90 ×10 ⁻⁷	102,60		
Spektrofotometri	1,00×10 ⁻⁵ -4,00×10 ⁻⁵	7,40	1,00×10 ⁻⁵	-	-	(Zhu, Liu 2012)
Ekstraksion ve sıvı kromatografi –kütle spektrometrisi	4,00×10 ⁻⁸ -1,00×10 ⁻⁷	7,00	4,00×10 ⁻⁸	-	98,30-101,25	(Saito ve ark. 2008)
İyon seçimli membran sensör	1,00×10 ⁻⁵ -5,00×10 ⁻²	6,00	4,00×10 ⁻⁶	103,20	-	(Ghoreishi 2005)
Spektrofotometri	8,10×10 ⁻⁸ -8,10×10 ⁻⁷	5,20	8,00×10 ⁻⁸	100,06-102,55	-	(Chocholouş ve ark. 2006)

Kapiler elektroforez	$1,60 \times 10^{-4}$ - $2,40 \times 10^{-4}$	3,72	$2,00 \times 10^{-2}$	101,00	-	(Marchesini ve ark. 2002)
Fluerans Optosensör	$1,00 \times 10^{-8}$ - $9,10 \times 10^{-7}$	8,00	$1,00 \times 10^{-8}$	106,90	-	(Casado-Terrones ve ark. 2005)
Kare Dalga Anodik Adsorbif Sıyırma Voltametri	$1,0 \times 10^{-8}$ - $3,0 \times 10^{-5}$	7,00	$2,60 \times 10^{-9}$	-	97,00-102,50	(Bu çalışmada)

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, nafazolin hidroklorür'ün elektrokimyasal davranışı ilk kez incelenmiş ve yükseltgenme mekanizması önerilmiştir. Ayrıca nafazolin hidroklorür için voltametrik tayin yöntemi geliştirilmiş ve analitik uygulamaları yapılmıştır. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- NFZ-HCl'ün, camсы karbon elektrot yüzeyinde elektrokimyasal aktifliğe sahip olmadığı, Al₂O₃-NP-KPE'ta BR ortamında pH 7,00'de 2e⁻/2H⁺ aktarımı sonucunda tersinmez ve difüzyon kontrollü olarak yükselttiği belirlenmiştir.
- Nafazolin hidroklorür'ün serum örneklerinde tayini için KDAAdSV yöntemi geliştirildi. Geliştirilen yöntemin biriktirme potansiyeli 0,60 V, biriktirme süresi ise 90 s olarak belirlendi.
- Geliştirilen yöntemin doğruluğunu belirlemek için, serum örneklerinde geri kazanım çalışmaları yapıldı. Serum örneklerinde bulunabilecek diğer türlerin herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.
- Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğin BSS değerlerinin %5,0 değerinin altında olduğu bulundu. Geliştirilen yöntemin kesinliğinin oldukça iyi olduğu sonucuna varıldı.
- Geliştirilen yöntemle ile elde edilen sonuçların literatürde NFZ-HCl tayini için geliştirilen diğer yöntemlerle elde edilen sonuçlarla %95,0 güven seviyesinde uyumlu olduğu görüldü.
- Geliştirilen yöntemin, doğrusal çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı, geri kazanım değerleri gibi değerleri literatürlerde bulunan sonuçlarla karşılaştırıldığında daha üstün olduğu gözlemlendi.
- Geliştirilen yöntemin, 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

- Aşangil D, Taşdemir İH, Kılıç E (2012). Adsorptive Stripping Voltammetric Methods for Determination of Aripiprazole. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2 (3), 193-199.
- Asıldığ M (2006). Laktik Asidin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Baba B (2007). Biga Yarım Adası (Çanakkale) Sıcak Su Kaynaklarındaki Arsenik (As)'in Voltametri ve İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle spektrometresi (ICP-MS) Teknikleri ile Kantitatif Tayini. Yüksek lisans tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- 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.
- Bockris JOM, Reddy AKN (1970). *Modern Electrochemistry*, Volume 2, Mc Donald, Company Limited, London.
- Bond AM (1980). *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker Incorporated, New York
- Brett CMA, Brett, AMO (1994). *Electrochemistry, Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press, New York, USA.
- Casado-Terrones S, Fernandez, Canabate D, Segura Carretero A, Fernandez-Guti A (2005). A Fluorescence Optosensor for Analyzing Naphazoline in Pharmaceutical Preparations Comparison with Other Sensors. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38, 785–789.
- Ceylan M (2008). Kurşun (II) ve Kalay (II)'nin Birlikte Kare Dalga Sıyırma Voltametriyle Tayini için Yöntem Geliştirilmesi Yüksek Lisans tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Chocholouř P, řatinský, D, Solich P (2006). Fast Simultaneous Spectrophotometric Determination of Naphazoline Nitrate and Methylparaben by Sequential Injection Chromatography, *Talanta*, 70, 408–413.
- Çekirdek P (2005). Voltametik Metotlarla Ditiyofosfonat Anyonlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Doğan B, Özkan SA, Uslu, B (2005), Electrochemical Characterization of Flupenthixol and Rapid Determination of the Drug in Human Serum and Pharmaceuticals by Voltammetry. *Analytical Letters*, 38: 641-656.
- El-Hallag IS, El-Hefnawy GB, Moharram YI, Ghoneim EM (2000). Electrochemical Studies of Schiff Base Compounds Derived from Antipyrinenucleus in Ethanolic Buffer Solutions. *Can. J. Chemistry*, 78; 1170-1177.
- Ghoreishi SM (2006). A Novel Naphazoline Selective Membrane Sensor and Its Pharmaceutical Applications. *Sensor Actuators B Chemistry*, 113, 963-969.
- 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.
- Güngör M (2012) Bazı Sülfonil Hidrazonların Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Kare Dalga Anodik Sıyırma Voltametrisi ile Kalayla Kurşunun Birlikte Tayininde Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ismail MI (1991). Polarographic Reduction Mechanism and Quantum Chemical Calculations of Some –Arylhidrazononitriles. *Journal of Chemistry Techniques and Biotechnology*, 51;155-169.
- 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.
- Kameswara V, Venkatachalam CS, Kalidas C (1988). Electrochemical Reduction of Hydrazono Compounds Derived from Meldrum's acid in Methanolwater Mixtures. *Indian Journal of Chemistry*, 26A; 202–204.
- Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H (1997). *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, Bilim Yayıncılık, 25 s, Ankara.
- Malik WU, Jain R, Agarwal S (1982). Redox Behavior of Some 2 benzothiazolyhydrzones of Ethyl 2-cyanoethanoate. *Procedure Indian National Science Academy, Part A: Physical Sciences* 48(1); 85-91.

- Marchesini AF, Williner MR, Mantovani VE, Robles JC, Goicoechea HC (2003). Simultaneous Determination of Naphazoline, Diphenhydramine and Phenylephrine in Nasal Solutions by Capillary Electrophoresis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 31, 39-46.
- Meloun M, Srovný T, Vrána A (2004). The Thermodynamic Dissociation Constants of Ambroxol, Antazoline, Naphazoline, Oxymetazoline and Ranitidine by the Regression Analysis of Spectrophotometric Data. *Talanta* Volume 62, 511–522.
- Mohamed G, NourEl-Dien F A, Frag E, Mohamed M (2013). In Situ Modified Screen Printed and Carbon Paste Ion Selective Electrodes for Potentiometric Determination of Naphazoline Hydrochloride in Its Formulation *Journal of Pharmaceutical Analysis*, Volume 3(5), 367–375.
- Nicholson RS, Shain I (1964). Theory of Stationary Electrode Polarography: Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems. *Analytical 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.
- Radi A (2003). Square-wave Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry of Pantoprazole. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Volume 33, pages 687–692.
- Rage PV, Sahte PA, Salvi VS (2011). A Simple Electroanalytical Method for Estimation of Norflaxin and Tinidazole Individually from Pharmaceutical Formulation. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2, 495-505.
- Saito T, Morita S, Kishiyama I, Miyazaki S, Nakamoto A, Nishida M, Namera A, Nagao M, Inokuchi S (2008). Simultaneous Determination of Dibucaine and Naphazoline in Human Serum by Monolithic Silica Spin Column Extraction and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 872, 186–190.
- Sayed N, Hegazy M, Abdelkawy M, Abdelfatah R (2012). Spectrophotometric, Chemometric and Chromatographic Determination of Naphazoline Hydrochloride and Chlorpheniramine Maleate in the Presence of Naphazoline

Hydrochloride Alkaline Degradation Product Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University 51; 57–68.

Scholz F (2010). *Electroanalytical Methods*. Greifswald, Germany.

Skoog D, West D, Holler J. (1996). *Analitik Kimya*, Bilim Yayıncılık, Ankara, 497s.

Taşdemir İH (2011). *Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan Bazı İlaçlardaki Etken Maddelerin Tayini için Elektrokimyasal Yöntemlerin Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları*. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Wang J (2000). *Analytical Electrochemistry*. 2nd edition. John Wiley and Sons Incorporated New York.

Wenzel S, Sagowski C, Laux G, Kehrl W, Metternich FU (2004). *Course and Therapy of Intoxication with Imidazoline Derivate Naphazoline*. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 68, 979-983.

Wopschall R H, Shain I (1967). *Effect of Adsorption of Electroactive Species in Stationary Electrode Polarography*. *Analytical Chemistry*, 39; 1514.

Yıldız A, Genç Ö (1993). *Enstrumantal Analiz*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 1.Baskı, 52 s, Ankara.

Yılmazgüç B (2008). *Telmisartan'ın Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi ve Voltametrik Yöntemle Tayini*. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

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.

Zoski CG (2007). *Handbook of Electrochemistry*. Amsterdam, The Netherlands.

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

1989 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. Çorlu Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesinden 2007 yılında mezun oldu. 2008 yılında girdiği Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. Aynı sene içinde Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.