



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**ANTIENFLAMATUVAR VE
ANTIROMATİZMAL İLAÇ
TENOKSİKAMIN ELEKTROANALİTİK
İNCELENMESİ VE FARMASÖTİK
DOZAJ FORMUNDAN ANALİZİ**

Sena ATAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN

Trabzon – 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**ANTIENFLAMATUVAR VE
ANTIROMATİZMAL İLAÇ
TENOKSİKAMIN ELEKTROANALİTİK
İNCELENMESİ VE FARMASÖTİK
DOZAJ FORMUNDAN ANALİZİ**

Sena ATAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN

Trabzon – 2019

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Doç. Dr. Dilek KUL

Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Sena ATAL'ın hazırladığı “Antienflamatuvar ve Antiromatizmal İlaç Tenoksikamın Elektroanalitik İncelenmesi ve Farmasötik Dozaj Formundan Analizi” başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN

Prof. Dr. Bengi USLU

Doç. Dr. Dilek KUL

Tarih: 12/03/2019

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../.... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

12/03/2019

Sena ATAL

İTHAF

Bu yüksek lisans tezimi, varlığıyla desteğini her zaman hissettiren ve değerli düşünceleri ile beni aydınlatan anne yarısı teyzeme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Bu tez kapsamında yapılan analizlerin tümü, KTÜ Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans eğitimimde tez çalışmam boyunca gelişimime derin bilgi birikimi ile katkıda bulunan, hoşgörülü yaklaşımı ile her türlü konuda destek olan ve deneyimleriyle yol gösteren değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN'a; engin bilgisi ve tecrübesinden yararlanmama olanak sağlayan, özellikle tez çalışmamın deneysel aşamasında yorumlarıyla beni aydınlatan değerli hocam Doç. Dr. Dilek KUL'a teşekkür ederim.

Lisans eğitimimde hayatıma giren, bilimsel çalışmaları, örnek duruşu, anaç tavrı ile her konuda bana rehber olan çok değerli hocam Prof. Dr. Münevver SÖKMEN'e gönülden teşekkürlerimi saygılarımla sunarım.

Tezimi yazma sürecinde yanında kaldığım, bana bu hayattaki hedeflerimin ne olduğunu sorgulatan ve candan destek olan KTÜ Tıp Fakültesi öğretim üyesi bilim kadını canım teyzem Doç. Dr. Zerrin PULATHAN'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitim hayatıma birlikte başladığım ve beraber çalışmaktan, paylaşarak öğrenmekten büyük haz aldığım çok kıymetli dostlarımdan öncelikle Arş. Gör. Gökçe ÖZTÜRK'e tezimin yazım aşamasındaki özverili çabası, sabırlı tutumu, yapıcı desteği ve gönülden yardımı için; Arş. Gör. Nevin ULAŞ ÇOLAK'a yine tez çalışmamın yazım bölümüne gösterdiği olumlu yaklaşımları, pratik çözümleri için; Büşra KAYNAR'a laboratuvar çalışmalarını birlikte deneyimlediğimiz için ve her koşulda beni yüreklendiren, destekleriyle kardeşten öte olan can dostlarım İrem KURT SAVRAN'a, Melek KOÇ KEŞİR'e ve Vildan SERDAROĞLU'na yürekten teşekkürlerimi sevgilerimle sunarım.

Son olarak doğduğum günden bu ana gelinceye dek varlığıyla güç veren ve sevgisiyle her zaman yanımda olan canım aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Sena ATAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç Kapak Sayfası	
ONAY	
BEYAN	
İTHAF	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	xiii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Elektroanalitik Kimya	5
4.2. Elektrokimyasal Tepkimeler ve Hücre Sistemleri	5
4.2.1. Galvanik (Voltaik) Hücreler	6
4.2.2. Elektrolitik Hücreler	7
4.3. Elektriksel İletkenlik	9
4.4. Kütle Aktarımı	9
4.5. Elektroanalitik Teknikler	10
4.5.1. Potansiyometri	11
4.5.2. Polarografi	12
4.5.3. Voltametri	13
4.5.4. Voltametrik Yöntemlerin Sınıflandırılması	14
4.5.4.1. Doğrusal Taramalı Voltametri	14
4.5.4.2. Dönüşümlü Voltametri	14
4.5.4.3. Diferansiyel Puls Voltametri	16
4.5.4.4. Kare Dalga Voltametri	17

4.5.4.5. Sıyırma Yöntemleri	17
4.5.5. Kulometri	18
4.5.6. Kondüktometri	19
4.6. Voltametri Yönteminde Hücre Sistemi	19
4.6.1. Voltametrik Kap	20
4.6.2. Destek Elektrolit	20
4.6.3. Elektrotlar	21
4.6.4. Çalışma Elektrotları	21
4.6.4.1. Cıva Kökenli Elektrotlar	22
4.6.4.2. Katı Elektrotlar	22
4.6.4.3. Modifiye Elektrotlar	23
4.6.4.4. Dönen Elektrotlar	23
4.6.5. Referans Elektrot	23
4.6.5.1. Standart Hidrojen Elektrot (SHE)	24
4.6.5.2. Doygun Kalomel Elektrot (DKE)	24
4.6.5.3. Gümüş/Gümüş Klorür (Ag/AgCl) Elektrot	25
4.6.6. Yardımcı Elektrot	26
4.7. Karbon Nanotüpler	27
4.8. Tenoksikam	28
5. GEREÇ ve YÖNTEM	29
5.1. Kullanılan Cihazlar	29
5.1.1. Elektrokimyasal Ölçüm Cihazı: Potansiyostat/Galvanostat	29
5.1.2. Elektrot Sistemi	29
5.1.3. pH Metre	30
5.1.4. Analitik Hassas Terazî	31
5.1.5. Saf Su ve Ultra Saf Su Cihazları	31
5.1.6. Ultrasonik Banyo	31
5.1.7. Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı ve Vorteks	31
5.1.8. Mikropipetler	31
5.1.9. Buzdolabı	31
5.2. Kullanılan Maddeler	32
5.2.1. Tenoksikam Stok Çözeltisi	32

5.2.2. Asetat Tampon (AT) Çözeltisi	32
5.2.3. Britton-Robinson Tampon (BRT) Çözeltisi	32
5.2.4. Fosfat Tampon (FT) Çözeltileri	33
5.2.5. Sodyum Hidroksit Çözeltisi	33
5.2.6. Alüminyum Hidroksit	34
5.2.7. Dimetil Formamid Çözeltisi	34
5.3. Çalışma Elektrodunun Hazırlanışı	34
5.4. Voltametrik Çalışmalar	35
5.4.1. pH Tarama Çalışması	35
5.4.2. Hız Tarama Çalışması	35
5.4.3. Kalibrasyon Çalışması	36
5.4.4. Tekrar Edilebilirlik Çalışması	37
5.4.5. Tenoksikamın Farmasötik Dozaj Formundan Tayini	38
5.4.6. Geri Kazanım Çalışması	38
6. BULGULAR	40
6.1. Elektrot Modifikasyonunun Belirlenmesi	40
6.2. pH Etkisi ve Destek Elektrolit Seçimi	41
6.3. Hız Taraması	44
6.4. Kalibrasyon Çalışması	45
6.5. Tekrar Edilebilirlik Çalışması	47
6.6. Farmasötik Dozaj Formundan Tayin ve Geri Kazanım Çalışması	48
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	53
9. KAYNAKLAR	55
10. ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Galvanik bir hücrenin şematik gösterimi	7
Şekil 2. Elektrolitik bir hücrenin şematik gösterimi	8
Şekil 3. Elektroanalitik tekniklerin kapsamlı olarak sınıflandırılması	11
Şekil 4. Doğrusal taramalı voltametriye uyarma sinyalinin şekli	14
Şekil 5. DV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel ve (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi	15
Şekil 6. Tersinir, tersinmez ve yarı tersinir voltamogramların temsili görünümü	15
Şekil 7. DPV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi	17
Şekil 8. KDV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi	17
Şekil 9. Voltametriye elektrokimyasal hücre bileşenlerinin sistematik gösterimi	20
Şekil 10. Voltametrik hücre sistemi bileşenlerinin şematik gösterimi	21
Şekil 11. Farklı ticari kalomel elektrotlar	25
Şekil 12. Ag/AgCl referans elektrot	26
Şekil 13. Pt tel yardımcı elektrot	26
Şekil 14. TDKNT ile ÇDKNT'lerin fiziksel yapılarının üç boyutlu görünümü	27
Şekil 15. Tenoksikamın kimyasal gösterimi	28
Şekil 16. pH 5.0 BRT içinde 4.0×10^{-5} M TEN'in a. 2.5 µL %0.2 ÇDKNT, b. 5.0 µL %0.2 ÇDKNT, c. 1.0 µL %0.5 ÇDKNT, d. 2.5 µL %0.5 ÇDKNT modifiye CKE, e. yalın CKE ile ve Kesikli çizgi; pH 5.0 BRT içinde 2.5 µL %0.2 ÇDKNT modifiye CKE ile elde edilen voltamogramlar	40

- Şekil 17.** 1.0×10^{-5} M TEN'in AT pH 3.5 (---), AT pH 5.5 (—), BRT pH 3.0 (—), BRT pH 4.0 (---), FT pH 7.0 (---) ortamlarında (A) Dönüşümlü, (B) Diferansiyel puls ve (C) Kare dalga voltamogramları. DV için; tarama hızı 100 mV s^{-1} , AT pH 5.5 (---) 41
- Şekil 18.** (A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile AT, BRT ve FT içerisindeki 1.0×10^{-5} M TEN'in pH'ye karşı pik potansiyeli grafikleri. ●: AT, ▲: BRT, ■: FT 42
- Şekil 19.** (A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile BRT, FT içerisindeki 1.0×10^{-4} M TEN'in pH'ye karşı pik akımı grafikleri. ●: AT, ▲: BRT, ■: FT 43
- Şekil 20.** pH 5.5 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M TEN'in hız taramasına ait dönüşümlü voltamogramları 44
- Şekil 21.** pH 5.5 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M TEN'in DV ile elde edilen (A) tarama hızına ve (B) tarama hızının kareköküne karşı pik akım grafikleri 45
- Şekil 22.** Farklı konsantrasyonlardaki TEN'in (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile elde edilen voltamogramları 45
- Şekil 23.** (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile elde edilen konsantrasyona karşı pik akım grafikleri 46

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. ÇDKNT modifiye CKE kullanılarak TEN'in DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	46
Tablo 2. DPV ve KDV yöntemlerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	47
Tablo 3. ÇDKNT modifiye CKE kullanılarak DPV için 2.0×10^{-6} M ve KDV için 4.0×10^{-6} M TEN çözeltilerinden elde edilen farmasötik dozaj formundan tayin verileri	48
Tablo 4. ÇDKNT modifiye CKE kullanılarak DPV için 4.0×10^{-6} M ve KDV için 6.0×10^{-6} M TEN'in geri kazanım çalışması verileri	49
Tablo 5. ÇDKNT modifiye CKE ile TEN'in elektrokimyasal analizinde elde edilen kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması	53

RESİMLER DİZİNİ

Resim		Sayfa
Resim 1.	Potansiyostat/galvanostat cihazı	29
Resim 2.	Üç elektrotlu hücre (A), Camsı karbon elektrot (B), Ag/AgCl elektrot (C) ve Pt elektrot (D)	30
Resim 3.	Masaüstü pH metre	30



KISALTMA, SİMGE VE FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AT	Asetat tamponu
BRT	Britton-Robinson tamponu
BSS	Bağıl standart sapma
CKE	Camsı karbon elektrot
ÇDKNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
DKE	Doygun kalomel elektrot
DPSP	Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
DV	Dönüşümlü voltametri
FT	Fosfat tamponu
KDSV	Kare dalga sıyırma voltametrisi
KDV	Kare dalga voltametrisi
pH	Hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
r	Korelasyon katsayısı
S	Standart sapma
SHE	Standart hidrojen elektrot
TAS	Tayin alt sınırı
TDKNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
TEN	Tenoksikam
TS	Teşhis sınırı

Simgeler

A	Amper
E_p	Pik potansiyeli
I_p	Pik akımı
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
s	Saniye
V	Volt
μ	Mikro

Formüller

Ag/AgCl	Gümüş/Gümüş klorür
Al(OH)₃	Alüminyum hidroksit
CH₃COOH	Glasial asetik asit
DMF	N,N-Dimetil formamid
H₃BO₃	Borik asit
H₃PO₄	Fosforik asit
Na₂HPO₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaH₂PO₄.2H₂O	Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat
NaOH	Sodyum hidroksit



ÖZET

Antienflamatuar ve Antiromatizmal İlaç Tenoksikamın Elektroanalitik

İncelemesi ve Farmasötik Dozaj Formundan Analizi

Nonsteroidal antienflamatuar ilaç etken maddesi tenoksikamın elektro-yükseltgenme davranışı çok duvarlı karbon nanotüple modifiye edilmiş camısı karbon elektrot ile dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri ile çalışıldı. Camısı karbon elektrot, tenoksikamın voltametrik metodlarla duyarlı tayini için çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edildi. Potansiyel pozitif yönde tarandığında tenoksikam piki diferansiyel puls voltametri ile 0.520 V, kare dalga voltametri ile 0.570 V civarında oluştu. Tenoksikamın yükseltgenme prosesi tersinmez ve difüzyon kontrollü davranış gösterdi. Diferansiyel puls voltametri için doğrusal cevap 2.0×10^{-7} - 1.0×10^{-5} M ($r = 0.996$) aralığında ve 1.43×10^{-9} M teşhis sınırı ile elde edildi. Kare dalga voltametri için doğrusallık ise 8.0×10^{-9} - 8.0×10^{-6} M ($r = 0.997$) aralığında ve 9.97×10^{-10} M teşhis sınırı ile 1.0 M asetat tamponu pH 5.5 içinde belirlendi. Kullanılan yöntemlerin kesinliği tekrar edilebilirlik çalışması ile belirlendi. Tamamen valide edilmiş diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri kullanılarak tenoksikamın farmasötik dozaj formundan miktar tayini yapıldı ve başarılı sonuçlar elde edildi.

Anahtar Sözcükler: Camısı karbon elektrot, Çok duvarlı karbon nanotüp, Tayin, Tenoksikam, Voltametri

SUMMARY

Electroanalytical Investigation of Anti-Inflammatory and Anti-Rheumatic

Drug Tenoxicam and Analysis from Its Pharmaceutical Dosage Form

The electro-oxidation behavior of nonsteroidal anti-inflammatory drug tenoxicam was studied on multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode by cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and square wave voltammetry. Glassy carbon electrode was modified with multiwalled carbon nanotubes for sensitive determination of tenoxicam with voltammetric methods. The current peaks for tenoxicam occurred at around 0.520 V for differential pulse voltammetry and 0.570 V for square wave voltammetry when the potential was scanned in the positive direction. The oxidation process of tenoxicam has shown irreversible and diffusion controlled behavior. The linear response for differential pulse voltammetry have been obtained in the range from 2.0×10^{-7} to 1.0×10^{-5} M ($r = 0.996$) with the limit of detection as 1.43×10^{-9} M. The linearity have been obtained 8.0×10^{-9} to 8.0×10^{-6} M ($r = 0.997$) with the limit of detection as 9.97×10^{-10} M in 1.0 M acetate buffer solution at pH 5.5 for square wave voltammetry. The precision of the methods was examined with repeatability studies. Fully validated differential pulse voltammetry and square wave voltammetry were successfully applied for the determination of tenoxicam from pharmaceutical dosage form and obtained satisfying results.

Keywords: Determination, Glassy carbon electrode, Multiwalled carbon nanotubes, Tenoxicam, Voltammetry

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Elektroanalitik kimya, maddelerin elektriksel özelliklerinin ölçülerek kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapılmasına imkan sağlayan teknikleri içeren bilim dalı olup analitik kimyanın bir alt dalıdır. Metal, grafit ya da yarı iletken özellikteki bir madde ile iyonik bir iletken ara yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonları inceleyen elektrokimya, bilimde birçok alandaki çalışmalara hizmet etmektedir. Elektroanalitik kimyada uygulanan teknikler (voltametri, potansiyometri, vb.) sahip olduğu duyarlılık, hızlılık, seçicilik, düşük tayin sınırı ve ekonomiklik gibi önemli özelliklerinden dolayı spektroskopi ve kromatografi gibi tekniklere göre daha fazla uygulama alanı bulmaktadır (1, 2).

Voltametri, elektrokimyanın bir alt dalı olup, elektroaktif numunelere uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçüldüğü bir analiz tekniğidir. Voltametrinin en önemli özelliği, çok küçük miktarlardaki numunelere (kan, serum, idrar vb.) bile uygun elektroanaliz teknikleri kullanıldığında ve kullanılan çalışma elektrodunun özelliğine göre duyarlı, hızlı ve düşük tayin sınırına sahip analiz yapılabilmesine imkan sağlamasıdır. Voltametrinin bir diğer avantajı, elektrokimyasal ve biyolojik reaksiyonların benzerliği nedeniyle, ilaç etken maddelerinin elektrot yüzeyinde meydana gelen yükseltgenme/indirgenme mekanizmasının vücuttaki mekanizması ile benzer davranışlar gösterdikleri düşünülmektedir (3).

Voltametrik tekniklerin performansını çalışma elektrodunun yüzeyinin kimyasal yapısı ve özellikleri etkilemektedir. Bu nedenle çalışma elektrotları geliştirilmeye devam etmektedir. Dolayısıyla modifiye katı elektrotların kullanımı oldukça popüler olmuştur (4).

Güçlü bir elektroaktiviteye sahip olan çok duvarlı karbon nanotüplerin kullanımı elektrodun elektrokatalitik etkisini artırarak çok daha verimli, hızlı ve duyarlı analizlerin yapılmasını sağlamaktadır. İlaç etken maddelerinin elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal davranışları, ilaçların vücuda alındığı zaman vücutta oluşan redoks tepkimelerinin yardımıyla metabolizmaları hakkında bilgi verebilmektedir (1). Bu sayede, ilaçların etken maddelerinin farmasötik dozaj formlarındaki miktar tayinleriyle insan metabolizmasında meydana gelen bu redoks tepkimelerinin mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, analjezik ve antiromatizmal özellik gösteren bir etken madde olan tenoksikamın voltametrik analizinin çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) modifiye camı karbon elektrot (CKE) ile yapılması amaçlanmıştır. Hazırlanan bu modifiye elektrot kullanılarak TEN'in duyarlı, basit ve hızlı bir şekilde miktar tayininin yapılabilmesini sağlayacak voltametrik yöntemler geliştirilecektir. Yöntemlerin validasyonu yapıldıktan sonra TEN'in farmasötik dozaj formundan kantitatif analizi için bu yöntemler kullanılacaktır. Böylelikle hazırlanan modifiye elektrot ve geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanabilirliği kanıtlanacak, elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ve literatürdeki diğer yöntemler ile karşılaştırması yapılacaktır.



4. GENEL BİLGİLER

4.1. Elektroanalitik Kimya

Elektriğin yavaş yavaş anlaşılmaya başlandığı 16. yüzyıldan bugüne kadar elektrokimyada birçok önemli gelişme olmuştur. Luigi GALVANI, 1791’de yazdığı eserinde kimyasal reaksiyonlar ve elektrik arasında bir köprü kurarak elektrokimyanın doğuşunu belirlemiştir (5).

İçinde elektron alış veriş ile gerçekleşen reaksiyonların elektrik ve enerji kavramlarıyla olan ilişkisini irdeleyen bilim dalına elektrokimya denir. Daha geniş bir tanımla elektrokimya, kimyasal enerji ile elektrik enerjisi arasındaki bağıntıları, bu iki enerjinin karşılıklı dönüşümlerini ve bunlarla ilgili olayları inceleyen bilim dalı olarak da ifade edilir. Bu dönüşümler, teorik açıdan önemli olmasına karşın pratikte elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüşmesi bakımından daha önemlidir (6).

Elektroanalitik kimya; çözeltilerin akım, gerilim veya yük gibi elektriksel nicelikleri ile kimyasal değişimler arasındaki ilişkiyi inceleyen bir bilim dalıdır. Maddelerin bu elektriksel özelliklerini kalitatif ve kantitatif olarak analiz eden elektroanalitik kimya, başka bir deyişle; kimyasal enerji ile elektrik enerjisinin birbirlerine karşılıklı dönüşümlerini irdelemektedir (2).

Elektroanalitik yöntemler, cihaz kurulum kolaylığı, uygun maliyetli oluşu, bu yöntemlerde kullanılan kimyasalların az miktarda sarf edilmesi ve çevre dostu oluşu, yine az miktarda ilaç etken madde, çözücü ve tampon çözelti sistemine ihtiyaç duyulması, ilaç etken maddelerin bozucu bir etkiye uğramadan analiz ölçümlerinin yüksek duyarlılıkla yapılması gibi önemli avantajlar sunmaktadır.

4.2. Elektrokimyasal Tepkimeler ve Hücre Sistemleri

Elektrokimyasal tepkimeler, yükseltgenme-indirgenme türü elektronik bir iletken (metal, grafit, veya yarı iletken) ile iyonik bir iletken (elektrolit) ara yüzeyinde meydana gelen reaksiyonları temel alır. Eğer dışarıdan oluşturulan bir etki ile voltaj uygulanarak bir kimyasal reaksiyon oluşturuluyor veya bir kimyasal reaksiyon kendiliğinden bir voltaja neden oluyorsa bu bir elektrokimyasal reaksiyondur (7).

Elektrokimyasal reaksiyonların temeli, yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelere dayanır. Bu işlemler, bir hücre sisteminde gerçekleştirilir. Elektrokimyasal olayların meydana geldiği bu hücrelerde sırasıyla:

- 1) Analiz edilecek olan maddeyi yani analiti bulunduran bir çözelti,
- 2) Bu analitin kimyasal değişime uğrayacağı elektrotlar,
- 3) Son olarak, elektrotları birbirine bağlayacak olan bir dış devre

bulunur (8).

Tanım gereği, elektrokimyasal bir hücrenin katot elektrodunda indirgenme, anot elektrodunda yükseltgenme gerçekleşir. Kısaca bu olaylar, redoks tepkimeleri olarak adlandırılır. Atomlar arasında pozitif (katyon) ve negatif (anyon) uçlar bulunmaktadır. Bu uçlar, elektrokimyasal hücreleri oluşturur.

Elektrokimyasal bir hücrede, uygun bir elektrolit çözeltisine daldırılmış, iki metalik iletken (elektrot) vardır. Öncelikle, elektrik akımının elde edilmesi amacıyla elektrotların dıştan iletken bir tel ile bağlanması gerekir. Sonrasında, hücre sistemine iki elektrolit çözeltisinin, iyonların birinden diğerine hareketini temin edecek biçimde birbiriyle bağlantılı bir gereç dahil edilir. Bu gereç, iyonların denkliliğini sağlayan tuz köprüsüdür. Aynı zamanda tuz köprüsü, anot ile katot bölmelerindeki elektrolitleri birbirinden ayırmak için elektrokimyasal hücrelerde bulundurulur (9).

Genel olarak iki tip elektrokimyasal hücre vardır.

1. Galvanik Hücreler
2. Elektrolitik Hücreler

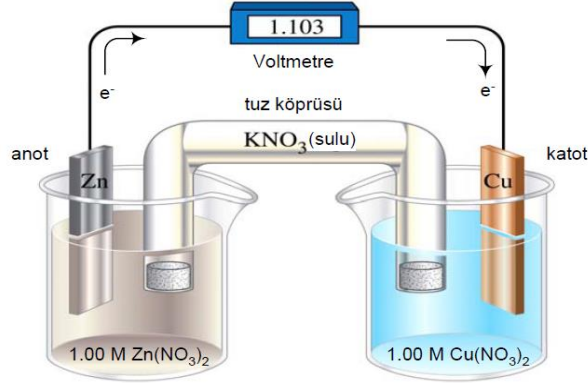
Elektrokimyasal hücreler, elektrik enerjisi üretiminde kullanılıyorsa galvanik, bir dış kaynaktan elektrik alıp harcıyorsa elektrolitik olarak sınıflandırılır. Bu çeşitlendirmenin temel ayrımı, elektronların hücrelerdeki akış yönünden kaynaklanır. Analitik kimyada bu iki tip hücre yaygın kullanılabilen, deney koşulları değiştirilerek galvanik ya da elektrolitik amaçla çalıştırılabilmektedir.

4.2.1. Galvanik (Voltaik) Hücreler

Galvanik veya voltaik hücreler elektrik enerjisini içerisinde barındırması sebebiyle kendiliğinden çalışan pillerdir. Bu hücrelerde, anottan katoda bir dış iletken

yardımıyla elektron akışı olur. Geçiş sonunda indirgenme ve yükseltgenme tepkimeleri gerçekleşir ve her iki elektrottaki reaksiyonlar istemli olarak gerçekleşmeye yatkındır. Devrede meydana gelen akım yardımıyla sistemdeki işleyiş sona erer (10).

Şekil 1’de galvanik bir hücrenin şematik görünümü yer almaktadır.

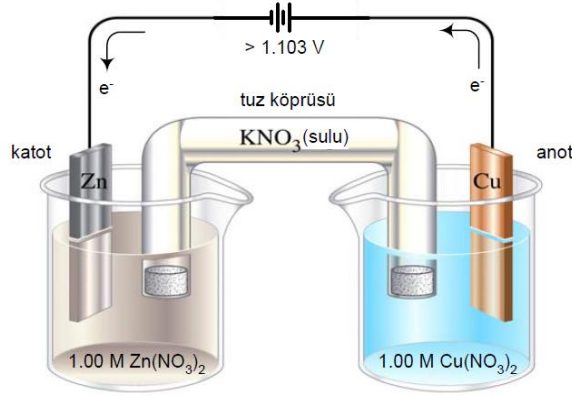


Şekil 1. Galvanik bir hücrenin şematik gösterimi (Skoog’dan, 11)

4.2.2. Elektrolitik Hücreler

Elektrolitik bir hücre çalışmak için bir elektrik enerjisi kaynağına ihtiyaç duymaktadır. Bu hücre tipinde reaksiyon istemli değildir yani kendiliğinden meydana gelmez. Sistem, galvanik hücrelere yapısal olarak benzerken işleyiş açısından farklılık gösterir. Bu tip hücrelerde katot çözeltisi anot, anot çözeltisi katot olarak davranır ve sistem bu açıdan galvanik hücrelerin tam tersi olarak çalışır (12).

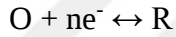
Şekil 2’de elektrolitik bir hücrenin şematik görünümü bulunmaktadır.



Şekil 2. Elektrolitik bir hücrenin şematik gösterimi (Skoog'dan, 12)

Söz konusu her iki hücre çeşidinde elektrokimyasal deneylerin gerçekleştirilmesi için sadece hücrelerin potansiyelleri istenen bir değerde tutulur ve oluşan akım değerleri ölçülür. Bu işlemin tersi de olasıdır (12).

Elektrot ve çözelti arasındaki yüzeyden akımın iletimi esnasında, polarize olmuş koşullardaki elektrotlarda oluşan redoks reaksiyonlarında;



O = Yükseltgenmiş türü

R = n sayıda elektron alarak indirgenmiş türü ifade etmektedir.

Bu sistemlerde uygulanan elektrot potansiyeli (E), elektroaktif türün elektrot yüzeyindeki derişiminin Nernst denklemine (Eşitlik 1) göre hesaplanması ile saptanır.

$$E = E^0 + \frac{2.3RT}{nF} \times \log C_O/C_R \quad (\text{Eşitlik 1})$$

E^0 = Tepkimedeki ilgili redoks çiftinin standart elektrot potansiyeli

R = Gaz sabiti ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)

T = Sıcaklık (K)

n = Reaksiyonda transfer edilen elektron sayısı

F = Faraday sabiti (96487 kulon)

Yukarıda bahsedilen redoks tepkimesi sonucu oluşan akım, elektronların doğrudan iletimi sayesinde aktarılan faradayik işlemlerle gerçekleşir. Yani bu işlemler, bize bir elektrottaki kimyasal madde miktarının geçen akımla doğru orantılı olduğunu ifade etmektedir. Sonuçta oluşan akımlara da faradayik akım denir (13).

4.3. Elektriksel İletkenlik

Akımın madde üzerinden rahat bir şekilde akması iletkenlik olarak tanımlanır. Diğer bir deyişle, bir maddenin üzerinden geçen elektrik akımına karşı o maddenin elektrik akımını iletmede gösterdiği kolaylıktır. Yani maddeden elektriksel akımın kolay geçmesi (direncin az olması) o maddenin iyi bir iletken olduğunu gösterir.

Elektriksel iletkenlik ise, ortamdaki elektrik yüklerinin bir yerden diğer bir yere taşınmasıdır. Taşınan elektrik yükleri serbest elektronlar ya da bir çözeltide bulunan iyonlardır ve elektrik her ikisi vasıtasıyla iletilebilir. Elektrik akımı yüklü iyonlar tarafından taşınır ve bu durum elektrolitik iletkenliği ifade eder. Elektrolitik iletkenliğin gözlenebilmesi için elektrolit içindeki iyonlar hareket etmelidir (14).

Elektrolitik çözeltilerdeki iletkenlik, çözeltideki maddenin konsantrasyonuna, anyon ile katyonların çözelti içerisindeki yoğunluklarına, sıcaklığa ve yine çözeltide bulunan bütün türlerin iyonlaşmasına göre değişiklik göstermektedir.

4.4. Kütle Aktarımı

Kütle aktarımı, bir maddenin hareketidir. Elektrokimyasal açıdan tanımlanacak olursa, çözelti içinde bulunan bir maddenin bir yerden başka bir yere olan eylemidir. Bir çözelti (örneğin, elektrokimyasal tepkimelerdeki bir elektrolit) elektriği ancak iyonların elektrota ulaşması sayesinde iletir. Elektrot ise, sadece elektrot yüzeyindeki çok ince bir çözelti tabakasında etkili olabildiğinden, faradayik bir akım bu sistemden geçerek ana çözeltiden elektrot yüzeyine reaksiyona giren türlerin kütle aktarımını gerçekleştirecektir.

Kütle aktarımı üç işleyişle vuku bulur. Bunlar konveksiyon, göç ve difüzyon mekanizmalarıdır.

➤ Konveksiyon, türlerin çözeltiyi karıştırma ya da elektrodun yüzeyinden geçen çözeltinin akışı sonucunda ortaya çıkan mekanik durumu içermektedir. Esasen,

konsantrasyon farkı ile sıcaklığa bağı olan bu durumun akım yoğunluğu üzerindeki rolü büyüktür.

➤ Göç, iyonlarla, yüklü elektrot arasındaki elektrostatik çekimin neden olduğu iyonların hareketidir. Yani burada iyonlar, elektrostatik alan etkisi altında hareket ederler. Yüklü tanecikler bu elektriksel alan etkisiyle zıt yüklü elektrota doğru çekilirler. İyonik göç, bilhassa voltametrinde istenmeyen bir durumdur. Bu yüzden eğer elektrokimyasal bir analiz voltametrik yöntemlerden biri ile yapılıyorsa; ortama destek elektrolit denilen tuz, asit, baz ve çeşitli tampon çözeltileri ilave edilir.

➤ Difüzyon, türlerin derişim farkı nedeniyle yaptıkları harekettir. Ana çözeltideki madde elektrot yüzeyine taşınır. Bu taşınma, yüksek derişimde tür içeren bölgeden düşük derişimde tür içeren bölgeye madde transferi ile meydana gelir. Böylece çözeltiden elektrota doğru kütle aktarımı olur (15).

4.5. Elektroanalitik Teknikler

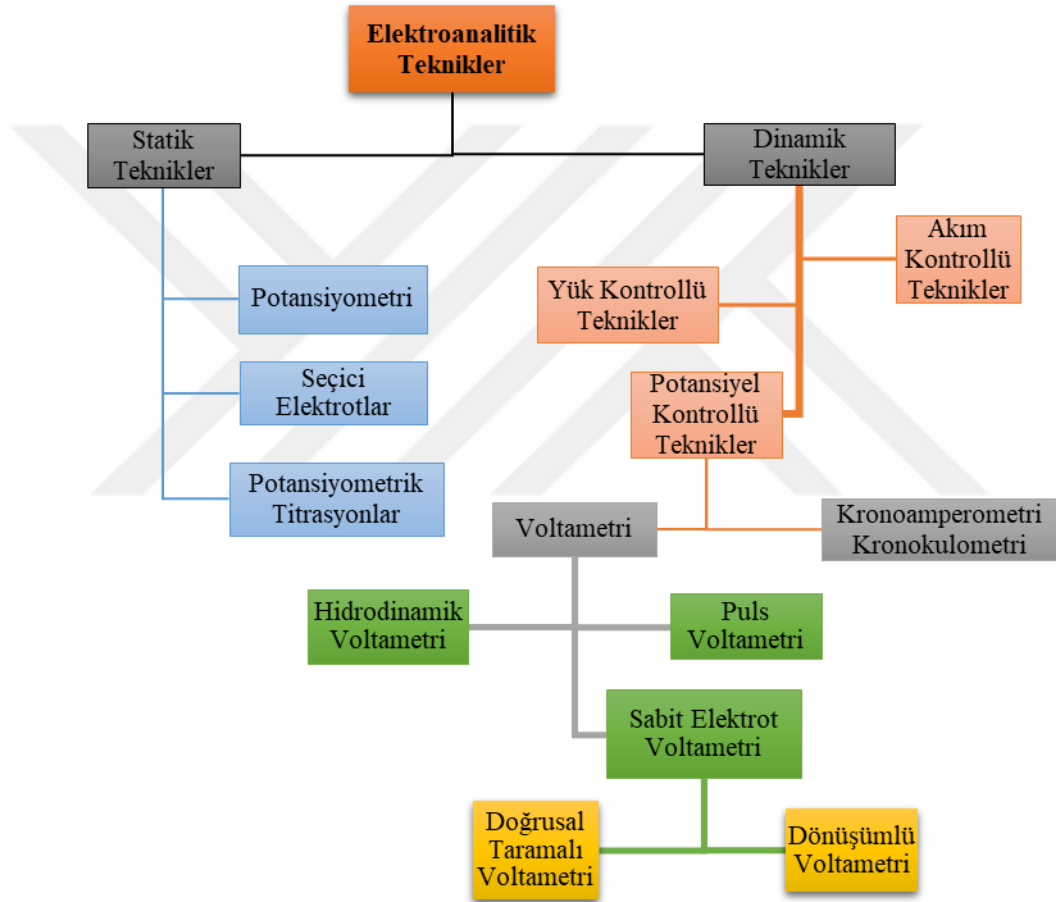
Maddelerin tür ve miktar tayinlerini onların elektrokimyasal özelliklerinden faydalanarak ölçmeye yarayan yöntemlere elektroanalitik teknikler denir. Elektroanalitik teknikler, genel olarak potansiyometri, voltametri, kulometri ve kondüktometri şeklinde dört kısma ayrılır (2).

Elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemlerle ilgili ara yüzeylerdeki yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon derecesi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri hakkında kayda değer bilgiler verir. Örneğin voltametri, kronoamperometri ve kronokulometri gibi tekniklerde sırası ile potansiyel-akım, zaman-akım, zaman-yük parametreleri arasındaki ilişkiler incelenmektedir (10).

Analitik kimyada aktif olarak kullanılmaya başlanan elektroanalitik yöntemler; duyarlık, hızlılık, numune hazırlama, seçicilik, kesinlik, geniş doğrusal aralık, düşük tayin sınırı ve ekonomiklik gibi önemli avantajları sebebiyle spektroskopik ve kromatografik analiz yöntemlerine kıyasla son yıllarda daha hızlı yol kat etmiştir. Hatta diğer analiz yöntemlerinden daha fazla tercih edilebildiğini söylemek mümkündür (16). Ayrıca, elektroanalitik teknikler birçok anyon, katyon, organik ve inorganik bileşiklerin analitik açıdan incelenmesine katkı sağlamaktadır (17).

Elektroanalitik yöntemlerle yapılan nicel ve nitel analizlerde çoğunlukla akım, potansiyel, direnç, iletkenlik ve yük miktarının konsantrasyonla olan bağlantısı irdelenir.

Şekil 3’te bu tez çalışmasının her bir deneysel basamağı için dinamik tekniklerden yola çıkılarak kullanılan voltametrik yöntemler gösterilmiştir. İlerleyen sayfalarda bu yöntemlerle ilgili genel bilgiler verilmektedir (18, 19).



Şekil 3. Elektroanalitik tekniklerin kapsamlı olarak sınıflandırılması

4.5.1. Potansiyometri

Potansiyometri, potansiyel ile analit konsantrasyonu arasındaki ilişkiyle ilgilenen elektroanalitik yöntemlerden biridir. Potansiyel ölçümüne dayanan bu metot elektrot potansiyellerinin analitlerin konsantrasyon analizlerinde nasıl kullanılacağına dair yol gösteren bir tekniktir. Bu yöntemde elektrokimyasal hücrelerdeki potansiyel, devreden

farkedilebilir bir akım geçmezken ölçülür. Potansiyometri, uygun bir renkli indikatörün imkansız olduğu durumlarda dahi uygulanabilen elektrokimyasal bir analiz yöntemidir. Bu yöntem aynı zamanda iki ya da daha fazla sayıdaki bileşenlerin analizinde de kullanılabilir (20).

Potansiyometride potansiyel ölçümleri temel olduğu için elektrotlar çok önemlidir. Bir potansiyel ölçümünde iki elektrot gereklidir, bunlardan biri potansiyeli analiz sırasındaki bileşim değişimlerinden bağımsız olan referans elektrot iken diğeri ise potansiyeli çözelti bileşim oranlarına göre değişiklik gösteren indikatör elektrottur (19).

Potansiyometrik yöntemler, gerek yöntemin basit ve ucuz bir donanıma sahip oluşundan (bir referans elektrot, bir indikatör elektrot ve bir potansiyel ölçüm cihazı), gerekse çok sayıda anyon ile katyon içeren analit türlerinin nicel analizlerinin olabildiğince uygun ve hızlı olarak yapılışından ötürü yirminci yüzyılın başlarından itibaren kullanılmaktadır (22, 23).

4.5.2. Polarografi

Polarografi, akım-voltaj eğrilerindeki akımın uygulandığı potansiyeli bir fonksiyon olarak irdeleyen ve çalışma (indikatör) elektrodunun polarize olduğu koşullarda gerçekleşen voltametrik bir yöntemdir. Bu yolla elde edilen akım – gerilim eğrisine de polarogram denir.

Elektroanalitik kimyanın babası olarak kabul edilen Çekyalı kimyager Jaroslav Heyrovsky'nin 1920'li yılların başında polarografiyi buluşu ile başlayan süreçte elektrolitik bir hücredeki akım-potansiyel ilişkileri, ilk kez bu yöntemle ortaya koyulmuştur. Daha sonra bu teknik geliştirilerek voltametri yönteminin doğması sağlanmıştır.

Polarografi, özellikle doğrusal taramalı voltametrik yöntemin temelini oluşturan bir tekniktir. Zaman içerisinde geliştirilince artık voltametrimin bir alt dalı olarak karşımıza çıkmaktadır; ancak bu yöntemin diğer voltametrik tekniklerden ayrıldığı nokta çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodun kullanılmasıdır (3). Temelde her element, ne tür bir durumda olursa olsun, polarografik yöntemle analiz edilebilir. Herhangi bir maddenin polarografik davranış kentine özgü olduğundan yöntem, seçiciliğın gerektiğ i analizlere gayet uygunluk gösterir (25).

4.5.3. Voltametri

Voltametrinin temeli akım, potansiyel, elektriksel yük miktarı ile madde miktarı arasındaki ilişkiye dayanır (26). Voltametri, elektroaktif tüm kimyasal maddelerin akım şiddeti-gerilim eğrilerinin karakteristiklerini inceleyip değerlendiren bir analiz tekniğidir. Voltametrinin en önemli özelliği, uygun elektroanaliz teknikleri ile kullanılan elektrodun özelliğine göre çok düşük derişimlerde dahi yüksek duyarlık ve hızlı bir analizle yapılabilmesine olanak sağlamasıdır (27).

Bu yöntemde bir çalışma elektrodunun polarize olması esnasında potansiyele karşı akım ölçülür ve böylece analit hakkında bilgi edinilir. Bu yöntemde elektroaktif özelliğe sahip bir maddenin çözeltisinin bulunduğu bir hücrede çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrot olmak üzere üçlü elektrot sistemi kullanılır ve değişken potansiyelden oluşan bir uyarma sinyali uygulanır. Bu uyarma sinyali sisteme özgü bir akım cevabı oluşturur ve yöntemde ölçülen bu akımdır. Gerilim – akım grafiği voltamogram olarak adlandırılır. Eğer çalışma elektroduna uygulanan gerilim negatif yönde değiştirilirse burada gerçekleşen indirgenme tepkimesi hızlanır ve elektrot katot gibi davranır. Böylece katodik akım meydana gelir (7).

Voltametrinde en çok kullanılan uyarma sinyalleri dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametridir. Bu voltametrik yöntemler arasından özellikle diferansiyel puls ve kare dalga voltametri yöntemleri kolay uygulanabilme, düşük maliyet ve kısa analiz süresine sahip olma avantajlarıyla farmasötiklerden analizde yaygın olarak kullanılmaktadır (28). Bu metotlar, redoks reaksiyonu üzerinden yürüdüğünden diğer analitik metotlara göre oldukça seçicidir. Bu durumda, analizi yapılacak olan ilaç etken maddesinin deneysel ölçümleri daha güvenli olarak belirlenir (29).

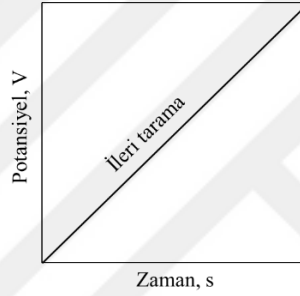
Biyolojik olarak önemli moleküller voltametri yöntemi ile elektroanalitik olarak incelenebilir. Elektrokimyasal olarak elektrot yüzeyinde gerçekleşen redoks reaksiyonlarının insan vücudunda meydana gelen biyolojik reaksiyonlara benzerliğinden de söz etmek mümkündür. Bu nedenle, ilaçların redoks özellikleri, in vivo metabolik yolaktaki redoks prosesleri ve farmakolojik aktiviteleri ile ilgili bir öngörüş verebilir (4).

4.5.4. Voltametrik Yöntemlerin Sınıflandırılması

Voltametri doğrusal taramalı voltametri, dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır.

4.5.4.1. Doğrusal Taramalı Voltametri

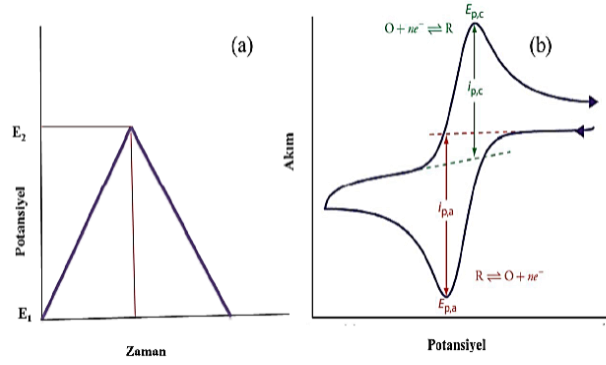
Doğrusal taramalı voltametrizde uygulanan potansiyel zaman ile doğrusal olarak artmaktadır (Şekil 4). Zamana karşı potansiyel değişim hızı, tarama hızı olarak tanımlanır. Doğrusal taramalı voltametrizde yalnızca tek yönde tarama yapılır (30). Doğrusal taramalı voltametri yöntemin duyarlılığı yaklaşık 10^{-6} M'dır (31).



Şekil 4. Doğrusal taramalı voltametrizde uyarma sinyalinin şekli

4.5.4.2. Dönüşümlü Voltametri

Elektrokimyasal hücrede çalışma elektrodunun potansiyeli belirli bir değere çıkarılır ve ardından ilk değere ya da belirlenen başka bir değere döndürülür. Bu döngü istenilen sayı kadar tekrarlanıp ileri ve geri yönde tarama yapılabilir. Dönüşümlü voltametrizde kullanılan uyarma sinyali ve oluşan akım potansiyel eğrisi Şekil 5'te gösterilmiştir (32).



Şekil 5. DV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel ve (b) oluşan akım potansiyel eğrisi (Urhan'dan, 32; Yılmaz'dan, 33)

Voltamogramlar, tersinir, tersinmez ya da yarı tersinir olmak üzere 3 farklı reaksiyon mekanizması üzerinden yürümektedir (Şekil 6). Ayrıca çalışma elektrodunda gerçekleşen reaksiyonlar, kütle transfer hızı, elektron transfer hızı, ve reaksiyon mekanizması gibi faktörler voltamogramın şekline etki etmektedir (32).

Tersinir	Tersinmez	Yarı-tersinir
$Ox + ne^- \rightleftharpoons Red$	$Ox + ne^- \rightarrow Red$	$Ox + ne^- \rightleftharpoons Red \xrightarrow{k_1} Z$

Şekil 6. Tersinir, tersinmez ve yarı tersinir voltamogramların temsili görünümü (Urhan'dan, 32; Yılmaz'dan, 33)

Geri dönüşümlü voltamogram olduğunda voltamogramdaki anodik pik potansiyeli (E_{pa}) ile katodik pik potansiyeli (E_{pc}) arasındaki potansiyel farkı $\approx (0.059/n)$ V'dır. Bu iki pik potansiyelinin orta noktası bize redoks çiftinin formal potansiyelini vermektedir. Tersinir sistemlerde anodik pik akımı (I_{pa}) / katodik pik akımı (I_{pc}) yaklaşık olarak bire eşittir ve bu oran tarama hızından bağımsızdır. Pik akımı Randles-Sevcik eşitliği ile ifade edilmektedir (Eşitlik 2) (32).

$$I_p = 2.687 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} C V^{1/2} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Randles-Sevcik eşitliğinde I_p pik akımını (amper), C konsantrasyonu (mol L^{-1}), A elektrodun yüzey alanını (cm^2), D difüzyon katsayısını ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), n aktarılan elektron sayısını, V tarama hızını (V s^{-1}) ifade etmektedir.

Kalitatif analizlerde DV en çok tercih edilen elektrokimyasal tekniktir. Ayrıca kantitatif tayine de akım ile konsantrasyonun doğru orantılı olması sebebiyle uygundur (33).

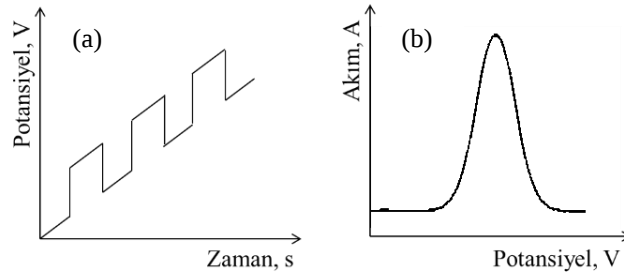
Elektron aktarımı difüzyon kontrollü olabileceği gibi adsorpsiyon kontrollü de olabilir. Tarama hızı çalışmaları, elektron aktarımının hangi sistem üzerinden gerçekleştiğinin tespit edilebilmesi amacıyla konsantrasyon sabit tutularak yapılmaktadır. Elde edilen akım değerleri ile tarama hızları grafiğe geçirilerek hangi sistem üzerinden elektron aktarımının gerçekleştiğine karar verilir. Bu grafikler şunlardır:

1. Pik akımı – Tarama hızı grafiği ($I_p - V$)
2. Pik akımı – Tarama hızının karekökü grafiği ($I_p - \sqrt{V}$)
3. Pik akımının logaritması – Tarama hızının logaritması grafiği ($\log I_p - \log V$)

Pik akımı–tarama hızı grafiğinin ($I_p - V$) doğrusal ve pik akımının logaritması–tarama hızının logaritması grafiğinin ($\log I_p - \log V$) eğim değerinin 1.0'a yakın olması elektron aktarımının adsorpsiyon kontrollü bir sistem üzerinden yürüdüğünü göstermektedir. Pik akımı–tarama hızının karekökü grafiğinin ($I_p - \sqrt{V}$) doğrusal ve pik akımın logaritması–tarama hızının logaritması grafiğinin ($\log I_p - \log V$) eğim değerinin 0.5'e yakın olması elektron aktarımının elektrot – çözelti ara yüzeyinde gerçekleştiğini ve difüzyon kontrollü bir sistem olduğunu göstermektedir (34).

4.5.4.3. Diferansiyel Puls Voltametri

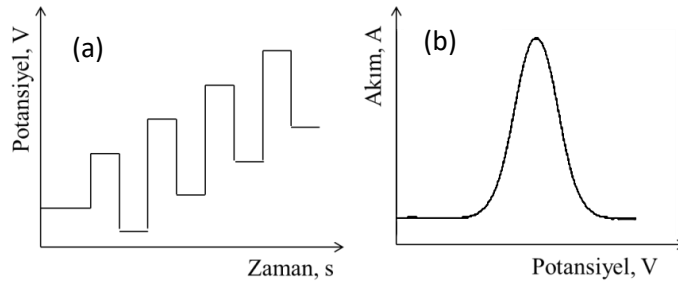
Diferansiyel puls voltametri inorganik ve organik maddelerin kantitatif analizlerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde sabit büyüklükte pulslar uygulanırken potansiyel doğrusal olarak artırılmaktadır. Akım puls uygulanmaya başlamadan önce ve pulsun sonunda ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark ölçülerek potansiyele karşı akım farkları grafiğe geçirilir (Şekil 7) (30).



Şekil 7. DPV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi

4.5.4.4. Kare Dalga Voltametri

Diferansiyel puls voltametrisine benzemesinin yanında bu yöntemde hem ileri yönde hem de geri yönde puls uygulanmaktadır. Akım ölçümleri ileri ve geri yöndeki pulsların bitişinde ölçülerek aralarındaki fark hesaplanır ve uygulanan potansiyele karşı grafiğe geçirilir (Şekil 8). KDV, DPV'ye göre çok daha hızlı ve daha duyarlı bir yöntemdir. 10^{-7} ile 10^{-8} M gibi düşük tayin sınırları içinde yüksek doğruluk ve yüksek duyarlılık ile analiz yapılmasına olanak sağlamaktadır (30).



Şekil 8. KDV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi

4.5.4.5. Sıyırma Yöntemleri

Bu yöntemde, elektrokataliz ve mekanik bir karıştırıcı yardımıyla belirli bir süre analitin elektrot yüzeyinde birikmesi sağlanır. Süre sonunda elektrokataliz ve karıştırma işlemi durdurularak tercih edilen voltametrik yöntem ile analitin elektrot yüzeyinden sıyırılması ile analiz gerçekleştirilir. Anodik sıyırma voltametrisinde elektrot biriktirme

işlemi sırasında katot, sıyırma işlemi sırasında anot olarak davranış gösterir. Katodik sıyırma voltametrisinde ise elektrot biriktirme işlemi sırasında anot, sıyırma işlemi sırasında katot olarak davranış gösterir.

Sıyırma yöntemleri konsantrasyon değişimlerine karşı daha duyarlı olmaları sebebiyle diğer voltametrik yöntemlerle karşılaştırıldığında en düşük gözlenebilme sınırlarına dahi inilebilen yöntemdir. Sıyırma yöntemleri ile 10^{-6} ile 10^{-9} M aralığındaki maddelerin kantitatif analizleri mümkündür (31).

Adsorptif sıyırma voltametrisinde, belli bir zaman aralığında karışım halindeki bir analit çözeltisine daldırılan elektrot yüzeyinde adsorpsiyon kuvvetinin etkisiyle madde birikimi olmaktadır. Karışım hareketinin durdurulması sonucunda elektrot yüzeyinde biriken analitin voltametrik tekniklerden biri ile analizi yapılmaktadır. Gözlenebilme sınırı yaklaşık 10^{-10} ile 10^{-11} M civarındadır (31).

4.5.5. Kulometri

Kulometri, bir elektrot üzerinde yürüyen kimyasal reaksiyonun yeterli sürede yürüme miktarıyla aktarılan yük miktarı arasındaki ilişkiye dayanan tekniktir. Bu ilişkinin esası, kimyasal indirgenme veya yükseltgenme olaylarının kantitatif tayini üzerinedir. Kulometrik metotlarda hücreden geçen akım ölçülür ve akımdaki değişimin zamana karşı integrali alınarak yük miktarı bulunur. Kulometrik metotlar doğrudan elektronla ilgilidir ve elektron sayısı da kulonla verilir (2).

Kulometrik yöntemler, bir analitin uygun bir sürede başka bir yükseltgenme basamağına nicel olarak dönüşümünü sağlarlar. Bu yöntemlerin seçiciliği, duyarlılığı ve hızı orta derecelerde olup genelde çok düşük oranda belirsizliğe sahip olduklarından elektrokimyacıların başvurabileceği en doğru ve net analiz yöntemlerindendir (23).

Voltametrik yöntemlerde olduğu gibi kulometrik yöntemler ile de duyarlı analizler kolayca yapılabilir. Bunun bir avantajı olarak, çok sayıda ilaç ve kimyasal madde analizleri ile metallerin miktar tayinlerinde kulometrik yöntemler tercih edilmektedir (35, 36).

4.5.6. Kondüktometri

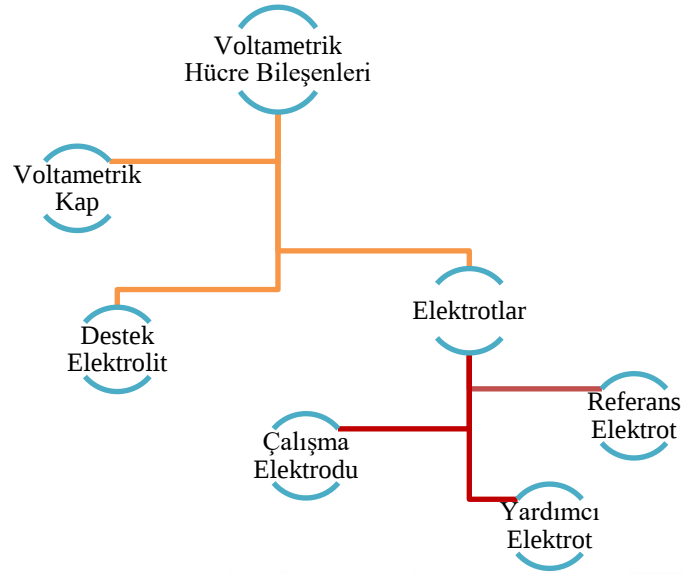
Elektrolitik çözeltilerin elektrik akımını iletmelerine kondüktometri denir. Bu çözeltilerin elektrik akımını iletmesi farklı yüklerdeki anyon ile katyonların, yine ayrı yüklerdeki anot ve katot elektrotlara göç etmesiyle meydana gelir (2).

İletkenlik akım ölçüsüdür ve çözeltideki yüklü taneciklerin sayısı ile doğru orantılıdır. Elektrolitik çözeltilerin elektrik akımını iletmeleri bazı faktörlere bağlı olarak değişir. Bunlar, iyonların konsantrasyonu, çapı, hareketliliği ile çözücünün cinsi, sıcaklık ve elektrotlar arasına uygulanan potansiyeldir (5).

İyon karışımlarından oluşan çözeltilerde doğrudan iletkenlik ölçümü seçici özellik göstermez, çünkü toplam iletkenliğe her tür iyon katkı halindedir. Ancak yöntem duyarlılığı yeterince fazladır ve bazı önemli alanlarda kullanımı etkindir. En fazla kullanıldığı alan distile veya deiyonize suyun saflık kontrolüdür (37). Bununla birlikte, deniz suyunun tuzluluk derecesinin iletkenlik ölçümünde, çok seyreltik çözeltiler ile reaksiyonun tam biçimde meydana gelmediği sistemlere de kondüktometri yöntemi uygulanabilir. Bu da yöntemin en önemli avantajıdır (38).

4.6. Voltametri Yönteminde Hücre Sistemi

Voltametri, potansiyeli değişen bir elektrot ile elektrolitik hücreden geçen akımın ölçüldüğü elektroanalitik bir yöntemdir. Bu yöntem, kendi içerisinde elektrokimyasal hücreye ait bileşenlerle bir çalışma modelini oluşturur. Elektrokimyasal hücre bileşenleri; üçlü elektrot sisteminin bulunduğu voltametrik bir kap, destek elektrolit çözeltisi ve elektrotlardan meydana gelir. Elektrotlar ise kendi aralarında çalışma elektodu, karşılaştırma (referans) elektrot ve yardımcı (karşıt) elektrot şeklinde üçlü elektrot sistemini oluşturur (Şekil 9).



Şekil 9. Voltametride elektrokimyasal hücre bileşenlerinin sistematik gösterimi

4.6.1. Voltametrik Kap

Elektrokimyasal hücrelerde kullanılan voltametrik analiz kapları olarak ana maddesi cam, kuvars ya da teflon olan ve tayini yapılacak olan numune ile reaksiyona aktif olarak katılmayan malzemeler sıklıkla tercih edilir. Seçilen kabın özellikle kirlenme özelliğinin az ve adsorpsiyon olayının da çok düşük oranda gözlenmesi istenir.

4.6.2. Destek Elektrolit

Analizi yapılacak olan numunenin dışında çözelti ortamında bulunan ve elektriksel iletkenliği sağlayan yardımcı maddedir. Bu maddenin analit ile etkileşim içinde olmaması ve elektrotta herhangi bir tepkime vermemesi beklenir. Elektrokimyasal hücrelerde analit çözeltisine bol miktarda eklenen destek elektrolit, elektroaktif olmayan türleri içermektedir. Bu sebeple ortama yaygın olarak kullanılan KNO_3 , KCl gibi alkali metal tuzları eklenebilir. pH kontrolü gereken uygun çözücü ortamındaki analizlerde ise bazı tampon sistemlerinden destek elektrolit maddesi olarak yararlanılabilir.

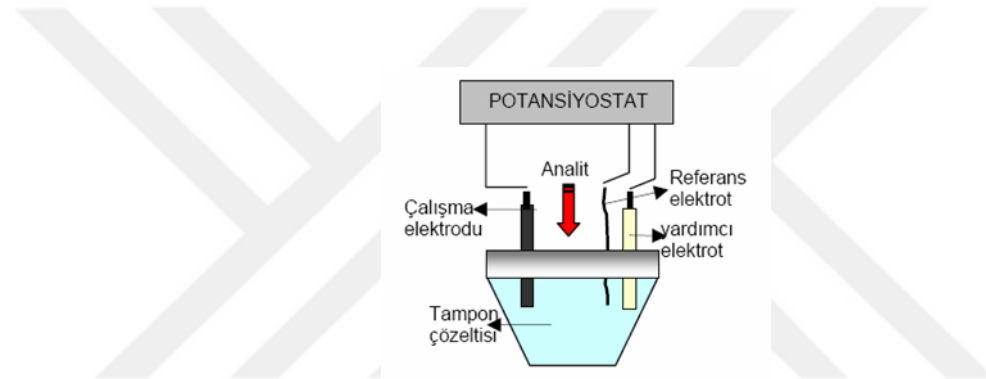
Elektroanalitik çalışmalarda destek elektrolitin konsantrasyon aralığı 0.01-1.0 M arasında değişkenlik gösterir. Bu çalışmalarda genellikle tercih edilen 1.0 M konsantrasyon değeri, tayini gerçekleştirilecek olan numune konsantrasyonunun

100 katı olmak durumundadır. Bu sayede, analitin elektrota doğru olan göçü ve taşıdığı yük miktarı gözden çıkarılır.

4.6.3. Elektrotlar

Birden fazla devrenin yan yana getirilmesiyle oluşan ve bu devreler arasındaki potansiyel farkı ölçmeye yarayan düzeneğe elektrot denir. Gittikçe geliştirilen elektrot çeşitleri ile kısa süreli analizler yapmak ve güvenilirliği yüksek sonuçlara ulaşmak mümkündür.

Voltametrde kullanılan üçlü elektrot sistemi; referans elektrot, çalışma elektrodu ve yardımcı elektrodu kapsar (Şekil 10).



Şekil 10. Voltametrik hücre sistemi bileşenlerinin şematik gösterimi

4.6.4. Çalışma Elektrotları

Çalışma elektrodu yükseltgenme/indirgenme olayının meydana geldiği elektrottur. Bu redoks olayları ile katodik ve anodik akımlar oluşur. İdeal bir çalışma elektrodu, inert ve iletken olmalı, istenildiğinde kolayca modifiye edilebilmelidir. Elektrotlar, yüzey aktifliğini artırmak için polimer, nanopartikül gibi çeşitli malzemelerle modifiye edilebilmektedir.

Voltametrde farklı özellikte çalışma elektrotları kullanılır. Bunlar; cıva kökenli elektrotlar, katı elektrotlar, modifiye elektrotlar ve dönen elektrotlardır.

4.6.4.1. Cıva Kökenli Elektrotlar

Cıva kökenli elektrotlar, her bir yeni damlada elektrot yüzeyi yenilenmesi yanında hidrojen gazının çıkış potansiyelinin yüksek olması sayesinde geniş katodik potansiyel aralığında analiz yapılmasına imkan tanır. Metal iyonlarının ön deriştirilmesinde de metalik maddeler ile amalgam oluşturabilme özelliği ile kullanılabilir. Voltametrde cıva kökenli elektrotlardan pek çok alanda yararlanırken cıvanın çok saf olmasına dikkat edilmelidir. Asılı, damlayan ve cıva film elektrot olmak üzere farklı çeşitlerde elektrotlar mevcuttur (39).

4.6.4.2. Katı Elektrotlar

Karbon, altın, platin, ve soy metaller gibi inert malzemeler kullanılarak geliştirilen katı elektrotlar sayesinde daha pozitif bölgelerde analiz yapılmasına olanak sağlanmıştır. Her ölçüm öncesinde katı elektrotların yüzeylerine madde birikimi olabilme ihtimali nedeniyle ön işlem adı verilen temizleme işlemi yapılması gerekmektedir. Yapılacak temizleme işlemi kullanılan elektrot özelliğine göre farklılık göstermektedir. Katı elektrotların en önemli kullanım alanlarından birisi biyolojik öneme sahip maddelerin analizinde kullanılabilen biyosensörlerdir. Bunlara örnek olarak glikoz elektrot, üre elektrot verilebilir (39).

Katı elektrot çeşitleri:

A. Platin elektrot: İnert bir malzemedir, iletkenliği oldukça iyidir ve kolay bir şekilde üretilmektedir. Voltametrde en çok kullanılan katı elektrottur.

B. Altın elektrot: Platin elektrotta oksijen maruziyeti nedeniyle görülen oksitlenmenin oluşma riskinin daha az olmasının yanında iyi bir iletkenidir.

C. Karbon elektrot: Yüzey yapısının tekrar kullanıma uygun olması, elektriksel direncin ve artık akımın düşük olması, geniş anodik ve katodik potansiyel aralığında çalışabilmesi sebebiyle tercih edilmektedir. Karbon elektrot çeşitleri bor katkılı elmas elektrot, grafit elektrot, karbon pasta elektrot, mikro karbon elektrot, camsı karbon elektrot (CKE) olarak sıralanabilir (39).

Camsı karbon elektrot, diğer karbon türlerine göre daha küçük gözenek yapısına sahiptir ve fenol formaldehit reçinesinin inert bir gaz içinde dikkatli bir şekilde

ısıtılması ile elde edilmektedir. Katı elektrotlar ile benzer olarak deneyler öncesinde çeşitli ön işleme tabi tutulmaları söz konusu olabilir.

4.6.4.3. Modifiye Elektrotlar

Analitiksel amaçlarla kullanılacak olan modifiye elektrotlar inorganik veya organik maddelerin elektrot yüzeyine biriktirilmesi veya adsorpsiyonu ile hazırlanmaktadır. Modifikasyon işlemi sayesinde elektroaktif türlerin tayin edilebilme özellikleri artırılırken elektroaktif olmayan türlerin araştırılmasına da önemli bir katkı sağlanmış olmaktadır.

Modifiye elektrotlar; kolay hazırlanabilme, uzun süre aktif olarak kullanılabilme, hızlı sonuç verme ve yeniden kullanılabilir olma, çalışma potansiyel aralığı içinde düşük zemin akımına sahip olma ve yüksek elektrot stabilitesi gösterme gibi özelliklere sahip olmalıdır. Modifiye edilecek madde ile elektrot arasında elektron alışverişi ile hazırlanan elektrokatalitik modifiye elektrotlar yüksek potansiyeli düşürerek yüksek duyarlı ve yüksek seçicilik ile analiz yapılmasına olanak sağlamaktadır (33).

4.6.4.4. Dönen Elektrotlar

Dönen elektrotlar, halka disk elektrot ve dönen disk olmak üzere iki çeşittir. Camsı karbon veya platinden üretilmekte olup motor sistemi ile dönüş hızları kontrol edilir. Bu sisteminde elektrot yüzeyine madde taşınması konveksiyon ile gerçekleşmektedir. Elde edilen akım yoğunluğunun artması yüksek duyarlılık ile analiz yapılabilmesini sağlamaktadır (39).

Halka disk elektrot sistemi dış kısmında bir halka elektrot ve onun iç kısmında bir disk elektrottan oluşmaktadır. Reaksiyon disk elektrotta gerçekleşmekte, oluşan ürünler halka elektrotta doğru hareket etmektedir. Çoğunlukla kalitatif analizlerde olmak üzere kantitatif analizlerde de kullanılabilmektedir (32).

4.6.5. Referans Elektrot

Elektroanalitik uygulamaların çoğunda elektrotlardan birinin yarı hücre potansiyelinin bilinmesi, o potansiyelin deney süresince sabit olması ve ortamdaki çözeltinin bileşiminden etkilenmemesi istenir. Buna uygun elektroda referans elektrot denir. Bu elektrot kolay hazırlanır, potansiyeli küçük akımların bulunması durumunda

sabittir ve tekrarlanabilir. Burada sabit sözcüğüyle kastedilen, potansiyel ölçümündeki değişimin; akımdan, zamandan ve diğer değişkenlerden en az düzeyde etkilenmesidir.

Polarize olmadığı için potansiyeli değişmeyen referans elektrot, voltametrik hücre içerisindeki çözelti direncinin kırılmasından ve böylelikle de yükseltgenme ile indirgenme potansiyellerinin net bir biçimde tayin edilmesinden sorumludur.

İstenilen koşullara uygun iyi bir referans elektrot; tersinir olup Nernst eşitliğine uymalı, zamandan bağımsız durağan bir potansiyele sahip olmalı ve az miktarda akım geçmesi ile oluşan potansiyel değişimine ve sıcaklık farkına duyarsız kalmalıdır (2).

Referans elektrotlar standart hidrojen elektrot (SHE), doygun kalomel elektrot (DKE) veya gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot olarak sınıflandırılırlar.

4.6.5.1. Standart Hidrojen Elektrot (SHE)

Genel referans elektrotların ilki olan standart hidrojen elektrot (SHE), bir redoks elektrodu olup yükseltgenme/indirgenme potansiyellerinin termodinamik ölçümlerinin merkezini oluşturur. Bu elektrot, bir platin metal parçasının, 1 atm basınçta hidrojen gazı ile doyurulmuş sulu çözeltinin içine daldırılmasıyla meydana gelir. Bütün diğer elektrot reaksiyonlarıyla karşılaştırılabilmesi için standart hidrojenin elektrot potansiyel değeri (E_0) tüm sıcaklıklarda sıfır olarak kabul edilmiştir (43).

Standart hidrojen elektrodun yüzeyinin zor hazırlanması, tepkimeye giren reaktiflerin aktifliklerinin kontrol edilememesi ile ilgili durumlardan ötürü elektrokimyacılar başka elektrotlar üretmek istemişlerdir. Bunun sonucu olarak kalomel ile gümüş-gümüş klorür referans elektrotlar doğmuştur.

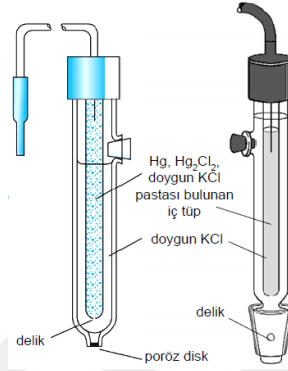
4.6.5.2. Doymun Kalomel Elektrot (DKE)

Kalomel referans elektrot, cıva (I) klorür (kalomel) içeren bir çözelti ile temas halindeki cıvadan meydana gelir ve bununla birlikte belirli bir konsantrasyonda (yaklaşık 4.6 M) potasyum klorür (KCl) ihtiva eder. Doymun kalomel elektrotların yapısında bulunan kalomel, sudaki çözünürlüğü az olan Hg_2Cl_2 bileşiğidir. Bu elektrotların doymunluğu KCl konsantrasyonu ile sağlanır (44).

DKE'lerin (Şekil 11) kolayca hazırlanabilmesi analitik kimyacılar tarafından yaygın olarak kullanımını mümkün kılar. Yalnız, diğer kalomel elektrotlarla karşılaştırıldığında sıcaklık katsayısı anlamlı derecede daha büyüktür ve sıcaklık

değiştii an potansiyelin yeni değerine ulaşması oldukça zaman alır. Bu durum, kalomel ile potasyum klorür arasında tekrardan kurulan çözünürlük dengesinden kaynaklanır.

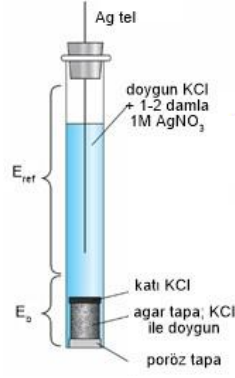
DKE'nin 25°C'taki potansiyel değeri 0.244 V olarak ölçülmüştür (23).



Şekil 11. Farklı ticari kalomel elektrotlar

4.6.5.3. Gümüş/Gümüş Klorür (Ag/AgCl) Elektrot

Ag/AgCl elektrot voltametrik hücrenin bir bileşeni olup gümüş bir telin 1.0 M gümüş klorürle doyurulmuş ve yine 3.5 M potasyum klorürle doygun hale getirilmiş çözeltiye daldırılmasıyla elde edilir (Şekil 12). Burada Ag/AgCl elektrodun potansiyeli ortamdaki Cl⁻ iyonu derişimine bağlı olarak değişir. Ag/AgCl elektrotlarındaki metaller anodik akım varlığında yükseltgenir ve ortamda bulunan aşırı miktardaki klor iyonu ile çökelti haline geçerler. Geniş sıcaklık aralığında çalışabildiği gibi hiçbir biçimde toksik özellik göstermemektedir. Bu elektrodun 25°C'de SHE'ye karşı potansiyel değeri 0.199 V'dir (2).



Şekil 12. Ag/AgCl referans elektrot

4.6.6. Yardımcı Elektrot

Sinyal kaynağından çıkan elektriğin çözelti içinden geçip çalışma elektroduna aktarılmasını sağlayan elektrottur. Çalışma elektrodu ile bir çift oluşturan yardımcı elektrot, ölçülen potansiyelin büyüklüğünde rol almaz. Yardımcı elektrodun yapımında cıva, platin, tungsten gibi soy metaller kullanılır. Çünkü bu elementlerin üzerinden akım geçtiği için söz konusu elektrodun da iletken olması gerekir; yani elektriği ileten soy metaller ihtiyacı duyulur. En fazla tercih edilen elektrot çeşidi ise helezon biçiminde platinden yapılmış tel ya da levha elektrottur (Şekil 13) (7).

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanma durumu, elektrot üzerinden yüksek akım geçtiğinde ve bazı zamanlarda çözelti direncinin yüksek oluşundan kaynaklı potansiyel seviyesi arttığında meydana gelir. Buna bağlı olarak okunan potansiyel değeri hatalı bulunabilir. Sisteme yardımcı elektrodun eklenmesi ile sorun çözülür. Devredeki akım, çalışma ile yardımcı elektrotlar arasında belli bir değerde geçirilir ve çalışma elektrodunun potansiyeli referans elektroduna karşı sıfır akım altında hesaplanır (30).



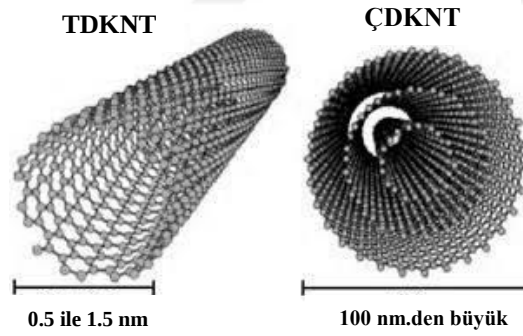
Şekil 13. Pt tel yardımcı elektrot

4.7. Karbon Nanotüpler

Günümüzdeki teknoloji, insanların ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla gelişim halindedir. Bunlardan biri, çok küçük boyutlu, mikro seviyenin de altında olan nanoteknolojidir. Bu teknolojiyle ilk kez 1991 yılında keşfedilen nanotüpler önemli nano teknolojik malzemelerden biridir.

Nanotüpler, karbon atomlarının altmışlı gruplar halinde birbirlerine bağlanmasıyla oluşan kimyasal açıdan kararlı yapıya ve belli duvar kalınlığına sahip çok küçük yapıli partiküllerdir (20).

Karbon nanotüplerin en önemli özellikleri arasında yüksek dayanıklı fiber yapıları, iyi elektriksel iletkenlikleri, ileri gelişmiş teknikteki mekanik uzunlukları ve güçlü kimyasal kararlılıkları yer almaktadır. Bu nedenle, elektrokimyasal uygulamalarda elektrot materyali olarak kullanılmaktadırlar (40). Elektrokimyasal olarak çok sayıda aktif birim içerirler ve düşük potansiyellerde çalışabilmeye olanak sağlarlar. Karbon nanotüpler genel olarak tek duvarlı karbon nanotüp (TDKNT) ve çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 14) (41).



Şekil 14. TDKNT ile ÇDKNT'lerin fiziksel yapılarının üç boyutlu görünümü

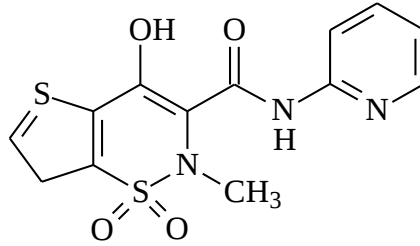
Karbon nanotüpler hidrofobik sp^2 karbon atomları içeren yan duvarlara ve oksijen içeren aktif uçlara sahip olmalarından dolayı elektrot ve elektroaktif türler arasındaki elektron transferini kolaylaştırarak sinyal kalitesini artırır ve böylece düşük tayin sınırlarıyla hızlı bir analiz yapılmasına olanak sağlarlar (42).

4.8. Tenoksikam

$C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ kapalı formülüne sahip tenoksikam (TEN) (Şekil 15), 4-hidroksi-2-metil-N-(2piridil)-2H-tieno(2,3-e)-(1,2)tiyazin-3-karboksamid-1,1-dioksit, hormonal olmayan ağrı kesici antiromatizmal ilaçlardan oksikam grubundan tienotiazin türevi bir ilaç etken maddesidir. Hormonal olmayan ağrı kesici bu ilaç, genellikle eklem hastalıklarında ve kaslarda belli bölgedeki ağrıyı tedavi etme amacıyla kullanılır. Bu ilaç etken maddesi aynı zamanda ateş düşürücü özelliğe de sahiptir (45, 46).

Tenoksikamın molekül ağırlığı 337.4 g mol^{-1} olup sarı renkli toz halinde, kendine has özel kokuludur ve acımsı bir tadı vardır. Erime noktası 209 ile 213 °C arasında değişim göstermektedir ve bu civardaki sıcaklıklarda bozunmaktadır (47).

Tenoksikam analjezik ve antiromatizmal aktivite özelliğini bünyesinde barındıran bir ilaç etken maddesidir. Bursit, tendinit, omuz veya kalça periartriti (omuz-el sendromu), burkulma ve incinmeler, postoperatif ağrı, akut gut gibi eklem dışı hastalıkların olgularında endikedir. Aynı zamanda tenoksikam, kıkırdak yıkımını uyaran insan metaloproteinaz (stromelisin ve kollajenaz) enzimleri üzerinde in vitro olarak güçlü inhibitör etki gösterir. Bu farmokolojik etkiler, tenoksikamın kas-iskelet sisteminin ağırlı enflamatuvar ve dejeneratif hastalıklardaki etkinliğini tanımlar (48).



Şekil 15. Tenoksikamın kimyasal gösterimi

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Cihazlar

5.1.1. Elektrokimyasal Ölçüm Cihazı: Potansiyostat/Galvanostat

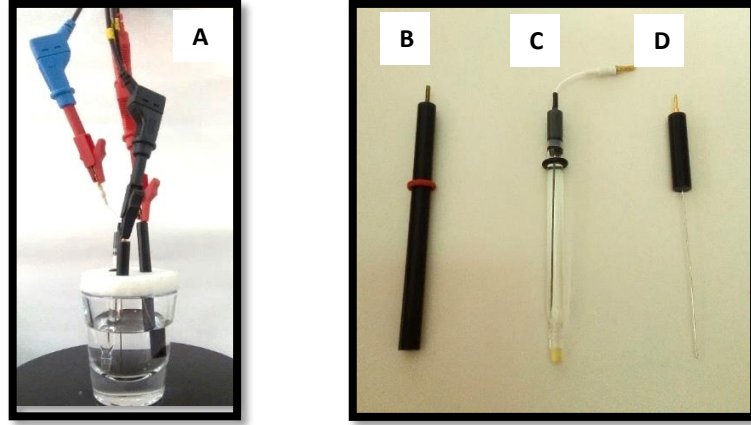
Tez çalışmasında uygulanan voltametrik yöntemlerin tamamında Autolab marka ve PGSTAT128N model (Metrohm-Autolab, Hollanda) potansiyostat/galvanostat cihazı kullanıldı (Resim 1). Cihaz Nova 1.10 programı ile kontrol edildi.



Resim 1. Potansiyostat/galvanostat cihazı

5.1.2. Elektrot Sistemi

Elektrokimyasal deneyler, üç elektrotlu hücrede gerçekleştirildi. Deneylerde çalışma elektrodu olarak BASİ marka (ABD) camı karbon elektrot (CKE), BASİ marka (ABD) Ag/AgCl elektrot referans elektrot olarak ve BASİ marka (ABD) platin tel ise yardımcı elektrot olarak kullanıldı (Resim 2). Yalın CKE'un yüzeyi, her ölçüm öncesinde $Al(OH)_3$ ile ıslatılmış parlatma pedi üzerinde sekiz çizerek temizlendi. Modifiye edilmiş CKE yüzey temizliği ise her kullanım öncesinde tampon çözeltisi içinde, dönüşümlü voltametri ile -0.4 V ile +1.0 V aralığında beş döngü halinde yapıldı.



Resim 2. Üç elektrotlu hücre (A), camısı karbon elektrot (B), Ag/AgCl elektrot (C) ve Pt elektrot (D)

5.1.3. pH Metre

Tez çalışmasındaki deneylerde kullanılmak için hazırlanan tampon çözeltilerin pH ayarlamaları Hanna H12211 model (Romanya) masaüstü pH metre ile gerçekleştirildi. Bu cihazın kalibrasyonu pH 4.0 ve 7.0 değerlerine sahip standart tampon çözeltiler (Merck, Almanya) ile yapıldı. pH ayarlamalarındaki ölçümler, laboratuvar ortamında ve oda sıcaklığında pH metre cihazı ile yapıldı (Resim 3).



Resim 3. Masaüstü pH metre

5.1.4. Analitik Hassas Terazi

Deneysel aşamalarda kullanılmak maksadıyla çözeltileri hazırlanan katı haldeki kimyasal maddelerin tartımları Ohaus marka PA214C model (ABD) analitik terazi ile gerçekleştirildi.

5.1.5. Saf Su ve Ultra Saf Su Cihazları

Deney çalışma basamaklarında hazırlanan çözeltilerin tamamında kullanılan ultra saf su ve saf su, Sartorius marka Arium proUV model ultra saf su cihazından (direnc değeri $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ özelliğine sahip) elde edildi. Ayrıca deneylerde kullanılan malzemelerin yıkama-durulama-temizlik işlemleri için sarf edilen saf su ise Sartorius marka Arium 61316 model saf su cihazından temin edildi.

5.1.6. Ultrasonik Banyo

Çözeltilerin karıştırılmasında, kendi sulu çözeltileri için katı maddelerin çözündürülmesinde Sonica marka 3300MH model (İtalya) ultrasonik banyo kullanıldı.

5.1.7. Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı ve Vorteks

Yapılan deneylerde, çözeltilerin homojen bir şekilde karıştırılması için iki ayrı karıştırıcı kullanıldı. Bunlardan biri Heidolph MR Hei Standart model (Almanya) ısıtıcılı manyetik karıştırıcı, diğeri ise özellikle cam tüplerde hazırlanan ilaç etken madde çözeltilerini karıştırmaya yarayan Heidolph Reax Top model (Almanya) vorteks karıştırıcısı idi.

5.1.8. Mikropipetler

Deney çalışmaları esnasında istenilen konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanırken 0.5-10, 10-100 ve 100-1000 μL hacim aralıklarındaki Isolab (Almanya) ve Socorex (İsviçre) markalı mikropipetler kullanıldı.

5.1.9. Buzdolabı

Hazırlanmış olan tampon ve ilaç etken madde çözeltileri $+4^{\circ}\text{C}$ 'de Profilo marka BD2046W2NN model buzdolabında saklandı.

5.2. Kullanılan Maddeler

5.2.1. Tenoksikam Stok Çözeltisi

Saf ilaç etken madde TEN Deva Holding A.Ş.'den temin edilirken (≥ 99.6 saflıkta) TEN'in farmasötik dozaj formu olan Tilcotil® (20 mg/tablet, 10 adet tablet) eczaneden tedarik edildi ve ön ayırma işlemine ihtiyaç duyulmadan kullanıldı.

Saf TEN'in 1.0×10^{-3} M konsantrasyondaki stok çözeltisi, TEN'den 0.0034 g tartılıp balon jojeye 10 mL'lik hacme metanol (MeOH) ile tamamlanarak hazırlandı. TEN'in saf sudaki çözünürlüğü çok düşük olduğundan ($K_{çç} = 2.0 \times 10^{-4}$ M TEN'in sudaki çözünürlüğü) TEN stok çözeltisi MeOH içerisinde hazırlandı. Çözeltinin tamamen çözünebilmesi, ultrasonik banyoda 10-15 dakika süre aralığında bekletilme işlemiyle sağlandı. TEN çalışma çözeltileri, elde edilen stoktan istenen hacimde alınıp uygun tampon çözeltisi ile belirlenen hacme tamamlanarak hazır hale getirildi. Ayrıca TEN'in tampon ortamındaki bütün çalışma çözeltileri oda sıcaklığında hazırlandı, deney sonrasında bu çözeltiler buzdolabında saklandı ve tüm çalışma çözeltileri için %20 MeOH oranı daima korundu.

5.2.2. Asetat Tampon (AT) Çözeltisi

1.0 litrelik balon jojeye 57.4 mL asetik asit (CH_3COOH , %99.8 saflıkta, yoğunluğu 1.049 g mL^{-1} , Merck, Almanya) alınarak hacmi 1.0 L'ye ultra saf su ile tamamlandı ve böylece 1.0 M asetat tamponu çözeltisi hazırlandı. Daha sonra, deneyler için istenen pH değerlerine (3.5, 4.5 ve 5.5) 5.0 M NaOH çözeltisi ile ayarlandı. Tampon çözeltiler oda sıcaklığında hazırlanıp $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında muhafaza edildi.

5.2.3. Britton-Robinson Tampon (BRT) Çözeltisi

0.04 M Britton-Robinson tampon çözeltisi hazırlamak amacıyla öncelikle 1.0 L hacimdeki balon jojeye koyulan 2.47 g borik asitin (H_3BO_3 , %99.5 saflıkta, Sigma-Aldrich, ABD) bir miktar ultra saf suda çözülmesi sağlandı. Sonra üzerine 2.29 mL glasiyal asetik asit (CH_3COOH , %99.8 saflıkta, yoğunluğu 1.049 g mL^{-1} , Merck, Almanya) ile 2.74 mL fosforik asit (H_3PO_4 , %85, yoğunluğu 1.685 g mL^{-1} , Merck, Almanya) ilave edilerek toplam hacim ultra saf su ile 1.0 L'ye tamamlandı. Stok şeklinde hazırlanan BRT çözeltisi 100'er mL'lik kısımlara bölündü ve 5.0 M NaOH çözeltisi ile belirlenen pH değerlerine (2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 ve 8.0) ayarlandı.

Tampon çözeltiler oda sıcaklığında hazırlanarak bozulmaması ve yeniden kullanılabilmesi için +4°C’de buzdolabında saklandı.

5.2.4. Fosfat Tampon (FT) Çözeltileri

0.1 M konsantrasyondaki fosfat tamponu çözeltisi (H_3PO_4 , %85 saflıkta, yoğunluğu 1.685 g mL^{-1} , Merck, Almanya) 6.85 mL H_3PO_4 ’ın balon jojeye alınarak ultra saf suda çözülüp 1.0 L’ye tamamlanması ile hazırlandı. Bu çözeltiden alınan 100’er mL’lik kısımlar hacmi yine 100 mL olan balon jojelere aktarıldı. Her bir fosfat tamponu çözeltisinin (100 mL’lik balon jodedeki çözeltiler) 5.0 M NaOH çözeltisi ile pH değerleri sırasıyla 2.0, 3.0 ve 4.0 olarak ayarlandı.

Farklı pH değerlerindeki (5.0, 6.0, 7.0 ve 8.0) 0.1 M’lık fosfat tampon çözeltileri tuz bileşiği halinde bulunan sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\geq 99\%$, Merck, Almanya) ve sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4 , $\geq 99\%$, Aldrich, Almanya) kullanılarak hazırlandı. Öncelikle pH değeri 5.0 için, 1.55 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 0.0087 g Na_2HPO_4 tartılıp sırasıyla balon jojeye aktarıldı ve burada az miktarda ultra saf su ile çözülerek son hacmi 100 mL’ye seyreltildi. Devamında, 1.48 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 0.082 g Na_2HPO_4 tartılıp balon jojeye koyuldu ve balon joje içerisindeki hacmin ultra saf su ile 100 mL’ye tamamlanması ile pH 6.0 değeri için fosfat tampon çözeltisi hazırlandı. pH 7.0 değeri için de gerekli olan 0.96 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 0.54 g Na_2HPO_4 tartılıp balon jodede bir miktar ultra saf su ile çözüldükten sonra hacmi yine ultra saf su ile 100 mL’ye tamamlandı. Son olarak pH 8.0 değeri içinse, 0.22 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1.22 g Na_2HPO_4 tartılarak balon jojeye alındı ve son hacim ultra saf su ile 100 mL olacak şekilde fosfat tampon çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin pH değerleri 5.0 M NaOH çözeltisi kullanılarak pH metre ile ayarlandı. Fosfat tampon çözeltileri oda sıcaklığında hazırlandı ve buzdolabında +4°C sıcaklıkta saklandı.

5.2.5. Sodyum Hidroksit Çözeltisi

Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi, yapılan deney çalışmalarında tampon çözeltilerinin pH değerlerini ayarlamak amacıyla kullanıldı. NaOH (Sigma-Aldrich, Çek Cumhuriyeti) marka ürün olup $\geq 98-100\%$ saf idi. 5.0 M konsantrasyona sahip NaOH çözeltisi için 20.0 g katı NaOH tartıldı, ardından balon joje içerisinde ultra saf su ile 100 mL’ye tamamlandı.

5.2.6. Alüminyum Hidroksit

Saflık derecesi %100 ve Merck marka (Almanya) ürün olan katı haldeki (pudra formunda) alüminyum hidroksit ($\text{Al}(\text{OH})_3$), camsı karbon elektrodun yüzeyinin cilalanmasında kullanıldı.

5.2.7. Dimetil Formamid Çözeltisi

Camsı karbon elektrot yüzeyinin çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) ile modifikasyonu için, ÇDKNT'nin N,N-Dimetil formamid (DMF, %99, Sigma-Aldrich, Almanya) içinde süspansiyonu hazırlandı.

5.3. Çalışma Elektrodunun Hazırlanışı

N,N-Dimetil formamid içerisinde ÇDKNT'nin ağırlıkça %0.2 ve %0.5'lik süspansiyonları hazırlandı. %0.2'lik ÇDKNT'nin hazırlanmasında, tartılan 1.0 mg ÇDKNT bir eppendorf tüpüne alınarak üzerine 0.5 mL DMF ilavesiyle süspansiyon haline getirilirken, %0.5'lik ÇDKNT süspansiyonu, 2.0 mg ÇDKNT'nin tartılıp başka bir eppendorf tüpüne aktarıldıktan sonra ve üzerine 0.4 mL DMF ilavesiyle elde edilmiştir. Hazırlanan süspansiyon karışımlar (ÇDKNT/DMF), ultrasonik banyoda dört saat süresince bekletildi. Bozulmaması için buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

Camsı karbon elektrot yüzeyine ağırlıkça %0.2 olarak hazırlanan ÇDKNT/DMF süspansiyonundan ayrı ayrı 2.5 ve 5.0 μL hacimlerde damlatma ve %0.5'lik olarak hazırlanan ÇDKNT/DMF süspansiyondan 1.0 ve 2.5 μL hacimlerde ayrı ayrı damlatma işlemi uygulandı. Damlatma yapılmış CKE'nin oda sıcaklığında 24 saat kurutulması sağlandıktan sonra ÇDKNT modifiye CKE elde edildi.

Tenoksikamın elektrokimyasal analizindeki en yüksek pik akımı ve en düzgün pikin elde edildiği modifikasyonu saptamak için, 4.0×10^{-5} M TEN çözeltilerinin pH 5.0 olan 0.04 M BRT içerisinde %0.5'ten 1.0 ve 2.5 μL , %0.2'den 2.5 ve 5.0 μL damlatılarak hazırlanan modifiye CKE ile DV, DPV ve KDV yöntemleri için voltamogramları alınıp kıyaslamalar yapıldı.

5.4. Voltametrik Çalışmalar

5.4.1. pH Tarama Çalışması

pH taraması, TEN'in voltametrik analizi için en uygun tampon ortamını tespit etmek amacıyla yapıldı. Uygun tampon ortamı ve pH değerinin seçilmesi için pH'ları 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 ve 8.0 olan 0.04 M BRT, pH'ları 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 ve 8.0 olan 0.1 M FT ile pH'ları 3.5, 4.5 ve 5.5 olan 1.0 M AT çözeltileri kullanıldı. Bu çalışma kapsamında 1.0×10^{-5} M'lık TEN çalışma çözeltileri için 1.0×10^{-3} M TEN ana stok çözeltisinden 0.05 mL alınıp üzerine 0.95 mL MeOH (%20 MeOH oranı korunacak şekilde) ilave edilerek tampon çözeltilerle hacim 5 mL'ye tamamlandı ve bu çözeltilerin pH taraması için voltamogramları alındı.

Çok duvarlı karbon nanotüp modifiye CKE yardımıyla gerçekleştirilen çalışmalarda DV, DPV ve KDV yöntemleri ile potansiyel çalışma aralıkları belirlendi. Bu aralıklar, DV yöntemi için potansiyel tarama aralığı -0.4 ve +1.0 V, DPV yöntemi için 0.0 ve +1.0 V ve KDV yöntemi için 0.0 ve +1.0 V olarak saptandı. Ölçümlere başlamadan önce ve her ölçüm sonrasında elektrot yüzeyi DV ile -0.4 ile +1.0 V aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında beş döngülü tarama işlemi uygulanarak elektrokimyasal olarak temizlendi.

pH taraması soncunda elde edilen voltamogramların incelenmesiyle TEN'in analizi için en yüksek pik akımı ve en simetrik pikin elde edildiği tampon ortamı seçildi ve bundan sonraki deneysel çalışmalar bu tampon ortamında yapıldı.

5.4.2. Hız Tarama Çalışması

Hız tarama çalışması ile TEN'in elektroyükseltgenme reaksiyonunun difüzyon ya da adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlendi. Bu amaçla, 8.0×10^{-5} M TEN çözeltisinin pH 5.5, 1.0 M AT ortamındaki dönüşümlü voltamogramları -0.4 ile +1.0 V potansiyel tarama aralığında sırasıyla 200, 150, 100, 75, 50, 25, 10 ve 5 mV s^{-1} tarama hızlarında tek döngü ile taranarak elde edildi. Tarama hızlarına karşılık elde edilen TEN yükseltgenme piklerinin akım değerleri okunarak tarama hızının kareköküne karşı pik akımı ve tarama hızına karşı pik akımı grafikleri çizildi.

5.4.3. Kalibrasyon Çalışması

Tenoksikamın kantitatif tayini için iki farklı voltametrik yöntem kullanıldı. TEN konsantrasyonlarındaki artışa karşı elde edilen pik akımındaki değişimler incelenerek korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Kalibrasyon çalışmasında belirlenen konsantrasyon değerleri için ana ve ara stok çözeltileri hazırlandı. Öncelikle TEN'in, pH'sı 5.5 olan 1.0 M AT ortamında 8.0×10^{-9} ile 1.0×10^{-5} M konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlandı. 1.0×10^{-3} M ana stok çözeltisinden TEN konsantrasyonları 1.0×10^{-4} , 1.0×10^{-5} , 1.0×10^{-6} ve 1.0×10^{-7} M olan dört ara stok çözeltisi hazırlandı. 1.0×10^{-4} M olan birinci ara stok çözeltisi için 1.0×10^{-3} M ana stoktan 1.0 mL alınarak MeOH ile 10 mL'ye tamamlandı. Konsantrasyonu 1.0×10^{-5} M olan ikinci ara stok çözelti için 1.0×10^{-4} M birinci ara stoktan 1.0 mL alınarak MeOH ile 10 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. 1.0×10^{-5} M olan ikinci ara stok çözeltisinden 1.0 mL alınarak MeOH ile 10 mL'ye tamamlandığında 1.0×10^{-6} M olan üçüncü ara stok çözeltisi hazırlandı. Son olarak konsantrasyonu 1.0×10^{-7} M olan dördüncü ara stok çözeltisi, 1.0×10^{-6} M üçüncü ara stoktan yine 1.0 mL alınıp MeOH ile 10 mL'ye seyreltilerek hazırlandı.

Tenoksikam çalışma çözeltileri, pH değeri 5.5 olan 1.0 M AT ortamında ara stok çözeltileri yardımıyla hazırlandı. Buna göre, 8.0×10^{-9} M TEN çözeltisi konsantrasyonu 1.0×10^{-7} M olan ara stoktan oluşturuldu. Konsantrasyonu 1.0×10^{-6} M olan ara stoktan 1.0×10^{-8} , 2.0×10^{-8} , 4.0×10^{-8} , 6.0×10^{-8} ve 8.0×10^{-8} M TEN çözeltileri; konsantrasyonu 1.0×10^{-5} M olan ara stoktan 1.0×10^{-7} , 2.0×10^{-7} , 4.0×10^{-7} , 6.0×10^{-7} ve 8.0×10^{-7} M TEN çözeltileri; konsantrasyonu 1.0×10^{-4} M olan ara stoktan 1.0×10^{-6} , 2.0×10^{-6} , 4.0×10^{-6} , 6.0×10^{-6} ve 8.0×10^{-6} M TEN çözeltileri; konsantrasyonu 1.0×10^{-3} M olan TEN ana stoktan ise 1.0×10^{-5} M TEN çözeltisi hazırlandı. Çalışma çözeltilerinin tamamı hazırlanırken %20 MeOH oranı korundu.

Kalibrasyon çalışmasında, en düşük konsantrasyondaki (8.0×10^{-9} M) çalışma çözeltisinden başlayarak en yüksek (1.0×10^{-5} M) konsantrasyona doğru gidilecek şekilde voltamogramlar alındı. DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen voltamogramların pik akım değerleri okunarak bu iki yöntemin ayrı ayrı kalibrasyon grafikleri çizildi. Uygulanan DPV ve KDV yöntemlerinin kalibrasyon eğrilerinden faydalanılarak TEN'in teşhis sınırı (TS) ve tayin alt sınırı (TAS) değerleri her iki yöntem için aşağıda verilen (Eşitlik 3 ve 4) ile hesaplandı.

$$TS = 3 \text{ (S/m)} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

$$TAS = 10 \text{ (S/m)} \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Yukarıda verilen eşitliklerde, S üç değer üzerinden ölçülen TEN'in pik akım değerlerinin standart sapması ve m ilgili yöntemin kalibrasyon eğrisinin eğimini göstermektedir (20).

5.4.4. Tekrar Edilebilirlik Çalışması

Tenoksikam için önerilen DPV ve KDV yöntemlerinin kesinliğini belirlemek için gün içi ve günler arası olmak üzere tekrar edilebilirlik çalışmaları yapıldı. ÇDKNT modifiye CKE ile yapılan tekrar edilebilirlik çalışmaları hem TEN pik akım değerleri hem de TEN pik potansiyel değerleri için gün içi ve günler arası olmak üzere her iki yöntem için ayrı ayrı yapıldı. Tekrar edilebilirlik deneylerinde pH 5.5, 1.0 M AT ortamında DPV için 6.0×10^{-6} M ve KDV için 2.0×10^{-6} M TEN çalışma çözeltileri kullanıldı.

Tekrar edilebilirlik çalışması için öncelikle üçer adet TEN çalışma çözeltisinden DPV ve KDV yöntemleri ile gün içinde ölçümler alındı. Her bir yöntem için ayrı ayrı olmak üzere voltamogramların pik akımı ve pik potansiyeli değerleri okundu. Bu değerlerden beş değer seçilerek bu beş değerlerin ortalaması, standart sapması ve yüzde bağıl standart sapması hesaplandı. Günler arası tekrar edilebilirlik çalışmasında ise, üçer adet çalışma çözeltisinden farklı günlerde alınan pik akımı ve pik potansiyeli verilerinden beş değer seçildi ve yine bu değerlerin ortalaması, standart sapması ve yüzde bağıl standart sapması hesaplandı (Eşitlik 5).

$$\%BSS = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}}{\bar{X}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

Yukarıdaki eşitlikte belirtilen, %BSS yüzde bağıl standart sapma, S standart sapma, $\bar{x}$ verilerin aritmetik ortalaması, n veri sayısı ve x_i ölçülen değer şeklinde ifade edilir (19).

5.4.5. Tenoksikamın Farmasötik Dozaj Formundan Tayini

Tenoksikamın farmasötik dozaj formundan analizinde DPV ve KDV yöntemleri kullanıldı.

Tenoksikamın ticari farmasötik dozaj formu Tilcotil® (20 mg/tablet) kullanılarak çözeltiler hazırlandı. 1.0×10^{-3} M'lık ana stok çözelti hazırlamak için 10 tablet alınarak tartıldı ve ağırlığı kaydedildi. Bu 10 tablet havanda iyice ezildi ve karıştırılarak toz haline getirildi. 1.0×10^{-3} M'lık TEN ana stok çözeltisi, bu toz karışımdan 87.65 mg alınıp balon jodge MeOH ile 25 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. TEN'in tamamen çözünebilmesi için ultrasonik banyoda 15 dakika bekletildi. Daha sonra dozaj formunun içerdiği suda çözünmeyen maddelerin balon jodenin dibine çökmesi için 30 dakika bekletildi.

Farmasötiklerden tayin çalışması için her iki yöntemin kalibrasyon çalışması ile elde edilen doğrusallık aralığı içinde bulunan 2.0×10^{-6} M (DPV için) ve 4.0×10^{-6} M (KDV için) TEN çalışma çözeltisi kullanıldı. Üçer adet 2.0×10^{-6} M ve 4.0×10^{-6} M TEN çalışma çözeltisi, 1.0×10^{-4} M'lık ara stok çözeltisi kullanılarak pH 5.5, 1.0 M AT ortamında hazırlandı ve %20 MeOH oranı korundu.

Çalışma çözeltilerinden her iki yöntem için elde edilen voltamogramların akım değerlerinin ortalamaları, standart sapma ve yüzde bağıl standart sapma değerleri beşer değer üzerinden hesaplandı.

5.4.6. Geri Kazanım Çalışması

Tenoksikam için geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin doğruluğunu kanıtlamak amacıyla gerikazanım çalışması yapıldı. TEN'in ticari farmasötik dozaj formu olan Tilcotil® (20 mg/tablet)'den hazırlanan çözeltiye, bilinen miktarda saf etken madde stok çözeltisinden ilave edilerek okunan akım değerinden toplam çözelti konsantrasyonu tayin edildi.

Yukarıda bahsedilen çalışma için seçilen çalışma çözeltilerinin konsantrasyonları 4.0×10^{-6} M (DPV için) ve 6.0×10^{-6} M (KDV için) olarak belirlendi. 4.0×10^{-6} M TEN çalışma çözeltisi için TEN'in 1.0×10^{-4} M farmasötik ara stok çözeltisinden 0.2 mL alındı ve üzerine 1.0×10^{-4} M saf ara stok çözeltisinden 0.2 mL ilave edildi. %20 MeOH oranının korunabilmesi için yeterli miktarda MeOH ilave edildi. Toplam hacim

10 mL'ye 1.0 M AT pH 5.5 ile tamamlandı. 6.0×10^{-6} M TEN çalışma çözeltisi için TEN'in 1.0×10^{-4} M farmasötik ara stok çözeltisinden 0.4 mL alındı ve üzerine 1.0×10^{-4} M saf ara stok çözeltisinden 0.2 mL ilave edildi. %20 MeOH oranının korunabilmesi için yeterli miktarda MeOH ilave edildi. Toplam hacim 10 mL'ye 1.0 M AT pH 5.5 ile tamamlandı.

Diferansiyel puls voltametri ve KDV için üçer adet çalışma çözeltisi hazırlanıp her iki yöntem için ayrı ayrı olmak üzere pik akım değerleri okundu. Bu yöntemler ile elde edilen pik akım değerlerinden beşer adet seçilerek yüzde geri kazanım değerleri hesaplandı.

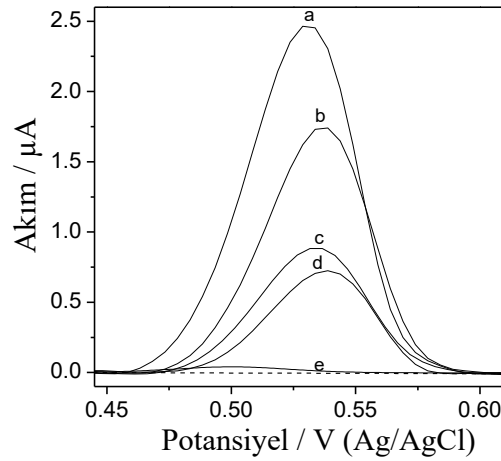


6. BULGULAR

6.1. Elektrot Modifikasyonunun Belirlenmesi

Tenoksikamın voltametrik analizi için ÇDKNT modifiye CKE'un hazırlanmasında en uygun ÇDKNT miktarı belirlendi. Bunun için ağırlıkça %0.2 ve %0.5'lik ÇDKNT'nin DMF içinde süspansiyonları hazırlandı. Cilalanmış ve kuru CKE yüzeyine ayrı ayrı olarak %0.2'lik ÇDKNT süspansiyonundan 2.5 ve 5.0 µL; %0.5'lik ÇDKNT'ten 1.0 ve 5.0 µL mikropipet ile damlatıldı. 24 saat oda sıcaklığında kurutuldu ve bu sürenin sonunda voltametrik ölçümler için kullanıldı.

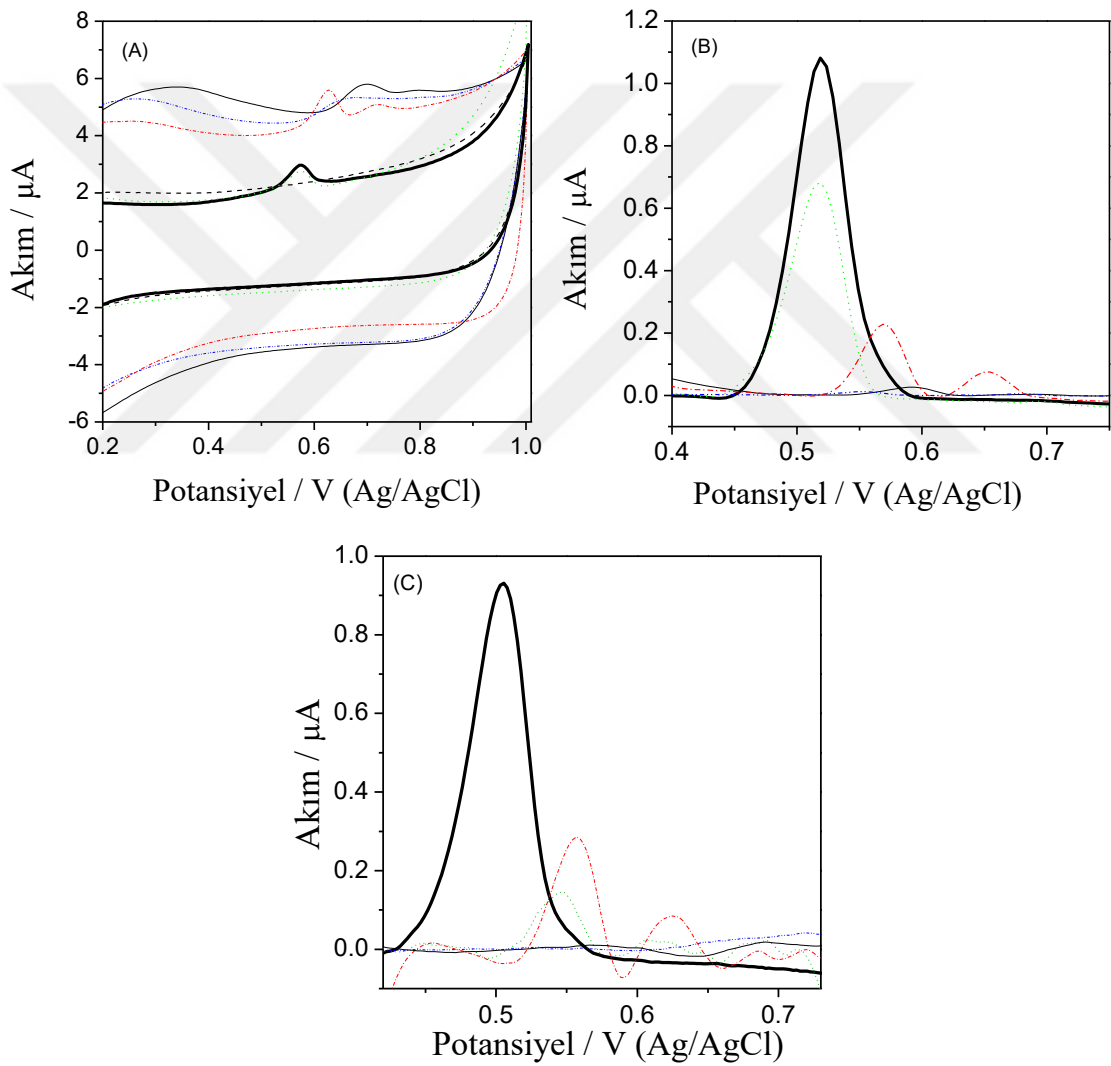
En uygun modifikasyonun belirlenmesi için 4.0×10^{-5} M TEN'in pH 5.0, 0.04 M BRT ortamında çalışma çözeltisi kullanıldı. 4.0×10^{-5} M TEN çalışma çözeltisinin DV, DPV ve KDV yöntemleri ile voltamogramları alındı. Şekil 16'da diferansiyel puls voltamogramlarından görüldüğü gibi TEN için %0.2 ÇDKNT süspansiyonundan 2.5 µL damlatılarak hazırlanan ÇDKNT modifiye CKE ile en yüksek pik akım değeri elde edildi. Ayrıca TEN'in pik akım değeri yalın CKE'a (0.040 µA) göre ÇDKNT modifiye CKE (2.47 µA) ile 60 kat daha yüksek elde edildi.



Şekil 16. pH 5.0 BRT içinde 4.0×10^{-5} M TEN'in **a.** 2.5 µL %0.2 ÇDKNT, **b.** 5.0 µL %0.2 ÇDKNT, **c.** 1.0 µL %0.5 ÇDKNT, **d.** 2.5 µL %0.5 ÇDKNT modifiye CKE, **e.** yalın CKE ile ve Kesikli çizgi; pH 5.0 BRT içinde 2.5 µL %0.2 ÇDKNT modifiye CKE ile elde edilen voltamogramlar

6.2. pH Etkisi ve Destek Elektrolit Seçimi

En uygun tampon ortamı ve pH'nin belirlenebilmesi için 1.0 M AT, 0.04 M BRT ve 0.1 M FT çözeltileri kullanıldı. DV, DPV ve KDV yöntemleri ile 1.0×10^{-5} M TEN'in 1.0 M AT için pH 3.5, 4.5 ve 5.5; 0.04 M BRT için pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 ve 0.1 M FT için pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 ortamındaki çalışma çözeltilerinin her biri için voltamogramları alındı. Şekil 17 bazı tampon ortamlarında 1.0×10^{-5} M TEN'in dönüşümlü, diferansiyel puls ve kare dalga voltamogramlarını göstermektedir.



Şekil 17. 1.0×10^{-5} M TEN'in AT pH 3.5 (---), AT pH 5.5 (—), BRT pH 3.0 (—), BRT pH 4.0 (---), FT pH 7.0 (---) ortamlarında (A) Dönüşümlü, (B) Diferansiyel puls ve (C) Kare dalga voltamogramları. DV için; tarama hızı 100 mV s^{-1} , AT pH 5.5 (---)

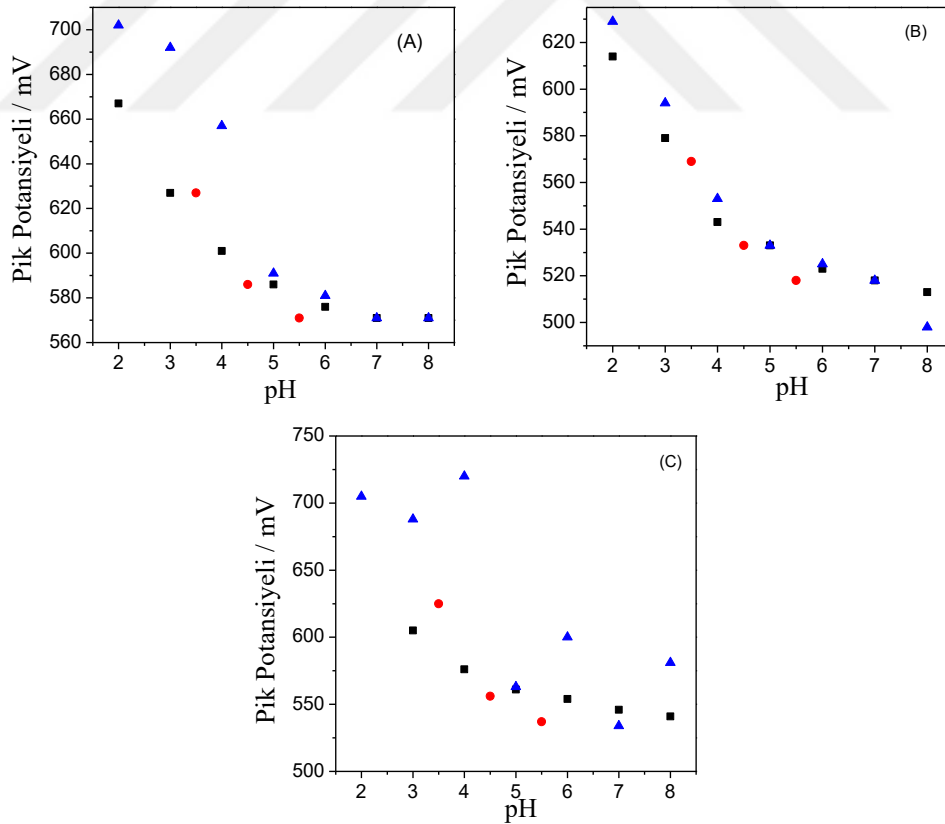
Tenoksikamın ÇDKNT modifiye CKE ile elde edilen dönüşümlü voltamogramlarından görüldüğü gibi sadece yükseltgenme yönünde bir pik elde edilirken indirgenme yönünde herhangi bir pik görülmedi (Şekil 17).

Dönüşümlü voltametri, DPV ve KDV yöntemleri için tampon pH'sına karşı pik potansiyeli değişimi Şekil 18'de gösterildi. TEN'in pik potansiyelinin pH arttıkça daha negatif değerlere kaydığı ve DV için pH 2.0-5.0, DPV için pH 2.0-5.5 ve KDV için pH 3.0-5.5 arasında doğrusallığın olduğu ve pH 5.0-5.5'ta bir kırılma noktası olduğu görüldü. Eşitlik 6, 7 ve 8'de, TEN pik potansiyeline karşı pH grafiklerinin doğrusallık denklemleri verilmiştir.

$$\text{DV için: } E_p (\text{mV}) = 727.68 - 31.831 \text{ pH} \quad (r = 0.989, n = 5) \quad (\text{Eşitlik 6})$$

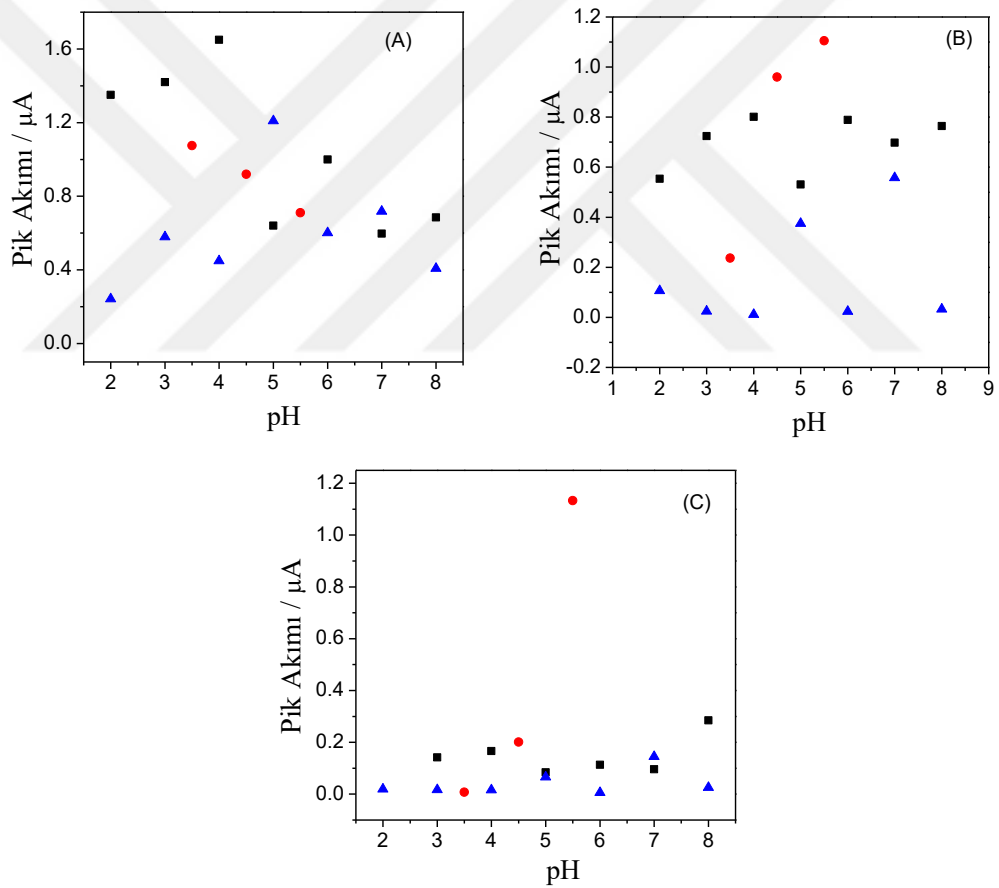
$$\text{DPV için: } E_p (\text{mV}) = 662.43 - 26.46 \text{ pH} \quad (r = 0.989, n = 6) \quad (\text{Eşitlik 7})$$

$$\text{KDV için: } E_p (\text{mV}) = 685.61 - 27.11 \text{ pH} \quad (r = 0.999, n = 5) \quad (\text{Eşitlik 8})$$



Şekil 18. (A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile AT, BRT ve FT içerisindeki 1.0×10^{-5} M TEN'in pH'ye karşı pik potansiyeli grafikleri. ●: AT, ▲: BRT, ■: FT

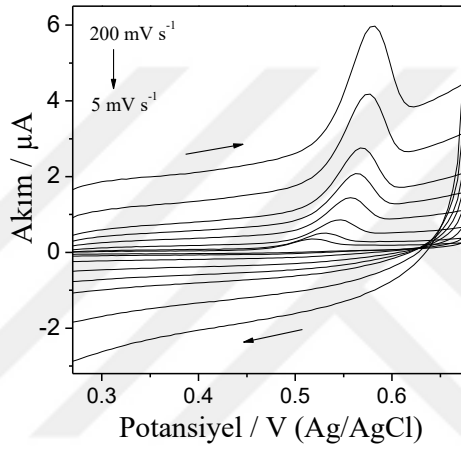
Tenoksikamın farklı tampon ve pH'lerdeki DV, DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen pik akım değerleri pH'ye karşı grafiğe geçirildi (Şekil 19). Her bir yöntem için çizilen grafikler ve pik simetrisi dikkate alınarak değerlendirme yapıldı. TEN için en yüksek pik akımının ve en simetrik pikin elde edildiği AT pH 5.5 ortamı en uygun destek elektrolit olarak seçildi ve sonraki çalışmalarda bu tamponun kullanılmasına karar verildi. Dönüşümlü voltamogramlarda pH'ye karşı pik akımı grafiğinde en yüksek pik akımının elde edildiği ortamlarda pik simetrisi düzgün olmadığı ve bazı tampon ortamlarında pik yarılmaları söz konusu olduğu için destek elektrolit olarak en simetrik pikin elde edildiği pH 5.5 AT ortamı seçildi.



Şekil 19. (A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile BRT, FT içerisindeki 1.0×10^{-4} M TEN'in pH'ye karşı pik akımı grafikleri. ●:AT, ▲: BRT, ■: FT

6.3. Hız Taraması

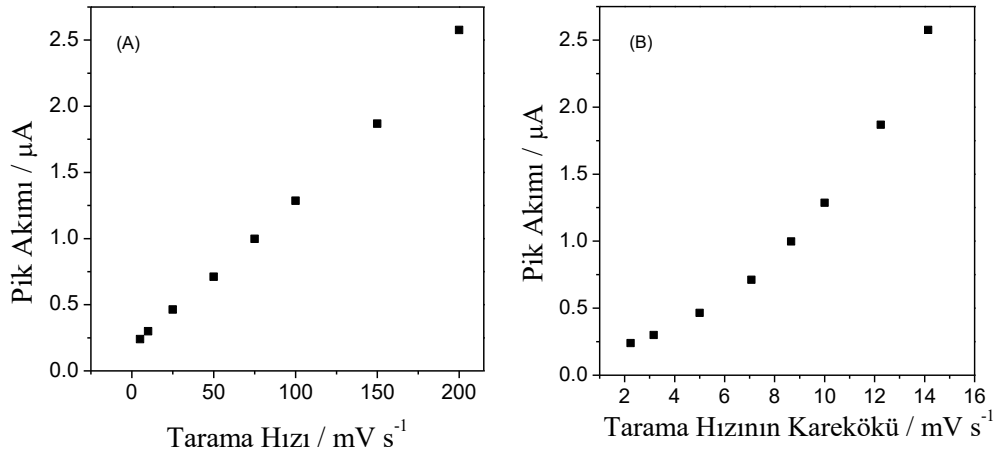
Hız taraması çalışması ile TEN'in yükseltgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü veya adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlendi. 8.0×10^{-5} M TEN'in AT pH 5.5 ortamındaki çalışma çözeltisinin 200 mV s^{-1} 'den 5 mV s^{-1} 'e değişen sekiz ayrı tarama hızında tek döngü olmak üzere dönüşümlü voltamogramları alındı. Hız taramasına ait TEN voltamogramları Şekil 20'de gösterildi. Her bir dönüşümlü voltamogramın pik akımı ve pik potansiyeli değerleri okundu.



Şekil 20. pH 5.5 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M TEN'in hız taramasına ait dönüşümlü voltamogramları

Tenoksikam pik akım değerleri (I_p), tarama hızına karşı (v) (Şekil 21 (A)) ve tarama hızının kareköküne karşı ($v^{1/2}$) (Şekil 21 (B)) grafiğe geçirildi. Şekil 21'de I_p - v grafiği doğrusal bir değişim gösterirken I_p - $v^{1/2}$ grafiği doğrusal bir değişim göstermedi. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde TEN'in yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu düşünüldü. Ancak adsorpsiyon kontrollü mekanizmaya göre kalibrasyon çalışması yapıldığında doğrusallık elde edilemedi. Dolayısıyla TEN'in yükseltgenmesinin adsorpsiyon etkisinde difüzyon kontrollü olduğuna karar verildi.

$$I_p (\mu A) = 0.0118 v (\text{mV s}^{-1}) + 0.15 (r = 0.997) \quad (\text{Eşitlik 9})$$

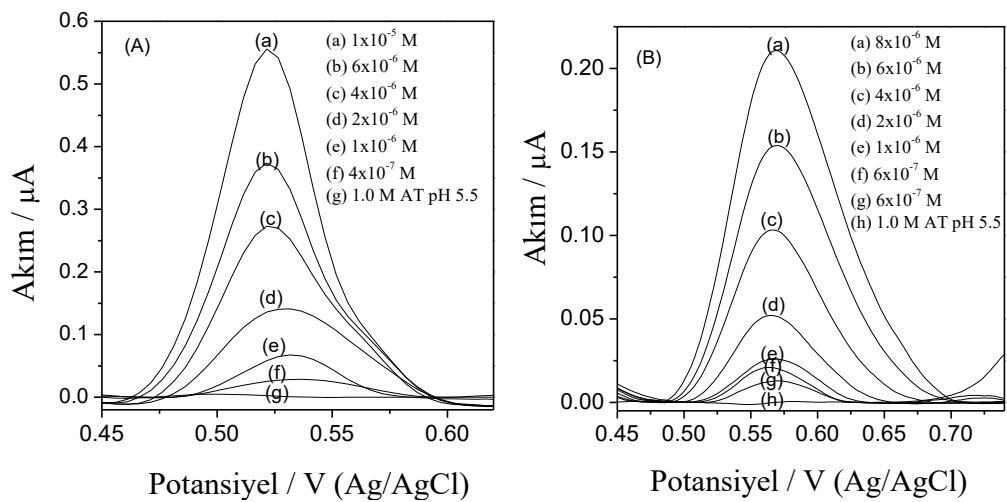


Şekil 21. pH 5.5 AT içerisindeki 8.0×10^{-5} M TEN'in DV ile elde edilen (A) tarama hızına ve (B) tarama hızının kareköküne karşı pik akım grafikleri

6.4. Kalibrasyon Çalışması

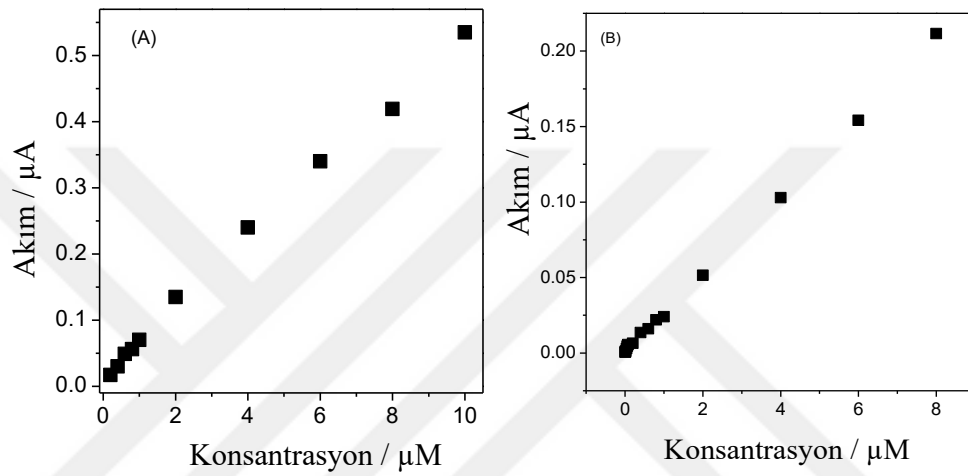
Diferansiyel puls voltametri ve KDV yöntemleri için TEN'in kalibrasyon çalışması yapıldı. Her iki yöntem için ayrı ayrı her bir konsantrasyona ait pik akım değerleri okundu ve grafiğe geçirildi.

Şekil 22'de kalibrasyon çalışmasında elde edilen farklı konsantrasyonlardaki TEN'in DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen voltamogramları gösterildi.



Şekil 22. Farklı konsantrasyonlardaki TEN'in (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile elde edilen voltamogramları

Kalibrasyon çalışmasında DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen voltamogramların pik akım değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Şekil 23'te DPV ve KDV yöntemleri için konsantrasyona karşı pik akımındaki değişim grafikleri verildi. Her iki yöntem için de doğrusallığın gözlemlendiği konsantrasyon aralığı belirlendi. DPV ve KDV yöntemlerine ait kalibrasyon grafiklerinden elde edilen sonuçlar Tablo 1'de verildi.



Şekil 23. (A) DPV ve (B) KDV yöntemleri ile elde edilen konsantrasyona karşı pik akım grafikleri

Tablo 1. ÇDKNT modifiye CKE kullanılarak TEN'in DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPV	KDV
Pik potansiyeli (mV)	520	570
Doğrusallık aralığı (μM)	0.2 – 10	0.008 – 8
Eğim ($\mu A \mu M^{-1}$)	$5.24 \times 10^{-2} \pm 1.07 \times 10^{-3}$	$2.55 \times 10^{-2} \pm 3.78 \times 10^{-4}$
Kesim noktası (μA)	$-2.09 \times 10^{-2} \pm 5.04 \times 10^{-3}$	$3.90 \times 10^{-3} \pm 1.11 \times 10^{-3}$
Korelasyon katsayısı, (r)	0.996	0.997
Teşhis sınırı (TS) (μM)	1.43×10^{-3}	9.97×10^{-4}
Tayin alt sınırı (TAS) (μM)	4.33×10^{-3}	3.02×10^{-3}

6.5. Tekrar Edilebilirlik Çalışması

Diferansiyel puls voltametri ve KDV yöntemlerinin kesinliğini belirlemek için pH 5.5 AT ortamında hazırlanan 6.0×10^{-6} M (DPV için), 2.0×10^{-6} M (KDV için) TEN çalışma çözeltileri gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik çalışmalarında kullanıldı. Gün içi ve günler arası çalışma için üçer adet TEN çalışma çözeltisinin her iki yöntemle ayrı ayrı voltamogramları alındı. Bu voltamogramların pik akımı ve pik potansiyeli değerleri okunarak beş değer üzerinden %BSS değerleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 2’de gösterildi.

Tablo 2. DPV ve KDV yöntemlerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

	DPV		KDV	
	Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
Pik potansiyeli	Veriler (V)	0.506	0.506	0.514
		0.506	0.506	0.517
		0.506	0.506	0.514
		0.506	0.506	0.517
		0.506	0.516	0.514
		0.507	0.516	0.519
		0.517	0.512	
	Ortalama (V)	0.506	0.510	0.515
	Standart sapma	2.23×10^{-3}	4.89×10^{-3}	1.64×10^{-3}
	%BSS	0.04	0.96	0.32
Pik akımı	Veriler (A)	2.16×10^{-8}	2.16×10^{-7}	3.69×10^{-6}
		2.15×10^{-7}	2.15×10^{-7}	3.69×10^{-6}
		2.16×10^{-7}	2.19×10^{-7}	3.70×10^{-6}
		2.16×10^{-7}	2.16×10^{-7}	3.73×10^{-6}
		2.16×10^{-7}	2.16×10^{-7}	3.70×10^{-6}
		2.16×10^{-7}	2.19×10^{-7}	3.74×10^{-6}
		2.16×10^{-7}	2.17×10^{-7}	3.71×10^{-6}
	Ortalama (A)	2.16×10^{-7}	2.17×10^{-7}	3.71×10^{-6}
	Standart sapma	1.15×10^{-9}	1.53×10^{-9}	2.49×10^{-8}
	%BSS	0.68	0.70	1.18

6.6. Farmasötik Dozaj Formundan Tayin ve Geri Kazanım Çalışması

Tenoksikamın tayini için geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin doğruluğunu kanıtlamak için TEN'in farmasötiklerden tayini ve geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla TEN'in farmasötik dozaj formu olan Tilcotil® (20 mg/tablet) kullanıldı. DPV için 2.0×10^{-6} M, KDV için 4.0×10^{-6} M TEN'in pH 5.5 AT ortamındaki çalışma çözeltileri farmasötik dozaj formundan hazırlandı. Bu çözeltilerin voltamogramları alındı. Her bir voltamogramın pik akım değerleri okundu ve ilgili kalibrasyon denkleminde yerine konularak çözelti içerisindeki TEN miktarı hesaplandı ve farmasötik formdaki miktar ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 3'te gösterildi.

Tablo 3. ÇDKNT modifiye CKE kullanılarak DPV için 2.0×10^{-6} M ve KDV için 4.0×10^{-6} M TEN çözeltilerinden elde edilen farmasötik dozaj formundan tayin verileri

	DPV	KDV
Beyan edilen TEN miktarı (mg)	20.00	20.00
	20.033	20.260
	20.015	20.179
Bulunan TEN miktarı (mg)	19.797	19.981
	19.785	20.300
	19.728	20.267
Bulunan ortalama TEN miktarı (mg)	19.871	20.198
Standart sapma	0.142	0.128
%BSS	0.714	0.637
%Bağıl hata	-0.645	0.990

Tenoksikamın farmasötik dozaj formundan tayininden sonra geri kazanım çalışmasında, DPV için tablet formundan hazırlanan 2.0×10^{-6} M TEN çözeltisine toplam konsantrasyon 4.0×10^{-6} M olacak şekilde saf TEN çözeltisi; KDV yöntemi için ise tablet formundan hazırlanan 4.0×10^{-6} M TEN çözeltisine toplam konsantrasyon 6.0×10^{-6} M olacak şekilde saf TEN çözeltisi ilave edilerek üçer adet çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerin voltamogramları alındı ve pik akım değerleri okundu. Elde edilen beş

adet pik akım değerinden hesaplanan %geri kazanım ve %BSS verileri Tablo 4'te gösterildi.

Tablo 4. ÇDKNT modifiye CKE kullanılarak DPV için 4.0×10^{-6} M ve KDV için 6.0×10^{-6} M TEN'in geri kazanım çalışması verileri

	DPV	KDV
Eklenen TEN miktarı (mg)	6.74×10^{-4}	6.74×10^{-4}
Bulunan TEN miktarı (mg)	6.942×10^{-4}	6.875×10^{-4}
	6.909×10^{-4}	6.807×10^{-4}
	6.807×10^{-4}	6.571×10^{-4}
	6.706×10^{-4}	6.976×10^{-4}
	6.942×10^{-4}	6.773×10^{-4}
Bulunan ortalama TEN miktarı (mg)	6.858×10^{-4}	6.807×10^{-4}
%Ortalama geri kazanım	100.865	100.307
Standart sapma	0.805	0.706
%BSS	0.798	0.704
%Bağıl hata	1.75	0.99

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tenoksikamın elektrokimyasal analizinde, en uygun elektrot modifikasyonu için ÇDKNT miktarının belirlenmesi aşamasında ağırlıkça %0.2 ve %0.5'lik ÇDKNT'nin DMF içinde süspansiyonları kullanıldı. %0.2'lik ÇDKNT süspansiyonundan 2.5 ve 5.0 µL; %0.5'lik ÇDKNT'den 1.0 ve 5.0 µL enjekte edilerek hazırlanan modifiye CKE'ler kullanıldı.

Şekil 16'daki DP voltamogramlarından görüldüğü gibi 4.0×10^{-5} M TEN'in en yüksek ve en simetrik pikinin 2.5 µL %0.2'lik ÇDKNT/DMF süspansiyonu ile hazırlanan modifiye elektrot ile elde edildi. DV, DPV ve KDV sonuçları birbiri ile uyumlu olduğu görüldü. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalara 2.5 µL %0.2'lik ÇDKNT/DMF modifiye CKE ile devam edildi. Ayrıca ÇDKNT modifiye CKE ile yalnız CKE'a göre yaklaşık olarak 60 kat yüksek pik akım değeri elde edildi. Bu da çalışma elektrodu yüzeyinin ÇDKNT ile oldukça genişlediğini göstermektedir.

Çok duvarlı karbon nanotüp modifiye CKE ile TEN'in voltametrik analizi için öncelikle uygun destek elektrolit ve pH belirlendi. Bu amaçla DV, DPV ve KDV yöntemleri ile TEN'in farklı pH ve tampon ortamlarındaki voltamogramları alındı. Dönüşümlü voltamogramlar (Şekil 17) incelendiğinde, TEN'in sadece yükseltgenme yönünde pik verdiği, indirgenme yönünde pikinin olmadığı görüldü. Bu veriler ışığında TEN'in yükseltgenme reaksiyonunun tersinmez olduğuna karar verildi.

pH'ye karşı pik potansiyeli grafiğine bakıldığında (Şekil 18) pH arttıkça pik potansiyelinin daha negatif değerlere kaydığı ve bazik bölgede TEN'in yükseltgenmesinin daha kolay gerçekleştiği sonucuna varıldı.

Yine pH'ye karşı pik potansiyeli grafiklerinde DV için pH 2.0 ile 5.0 arasında; DPV için pH 2.0 ve 5.5 arasında; KDV için pH 3.0 ile 5.5 arasında doğrusallık olduğu görüldü ve bu doğruların eğim değeri (Eşitlik 6, 7, 8) DV, DPV ve KDV için sırasıyla -31.83, -26.46, -27.11 mV pH⁻¹ olarak bulundu. Bu değerler Nernst eşitliğindeki teorik -59.0 mV pH⁻¹ değerinin yaklaşık yarısı olduğu ve dolayısıyla TEN yükseltgenme reaksiyonunda ilgili olan elektron sayısının, proton sayısının iki katı olduğu çıkarımında bulunuldu.

pH'ye karşı pik akımı grafiklerine bakıldığında TEN'in en simetrik ve en yüksek pik akımının elde edildiği pH 5.5, 1.0 M AT ortamı seçildi. DPV ve KDV için en

yüksek pik akımı bu ortamda elde edildi. Ancak DV ile pH 5.5, 1.0 M AT ortamından daha yüksek pik akımının elde edildiği tampon ortamları olduğu görüldü. Ancak bu tampon ortamları pik simetrisi bakımından değerlendirildiğinde simetrisinin bozuk olduğu ve pik yarılmalarının söz konusu olduğu görüldü. En uygun tampon çalışma ortamının pH 5.5, 1.0 M AT ortamı olduğuna karar verildi ve bundan sonraki tüm çalışmalarda bu tampon ve pH kullanıldı.

Tenoksikamın yükseltgenmesine ait reaksiyon karakterizasyonunu belirlemek için hız taraması çalışması yapıldı. ÇDKNT modifiye CKE yüzeyinde gerçekleşen TEN yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü mü yoksa adsorpsiyon kontrollü mü olduğu belirlendi. 8.0×10^{-5} M TEN'in 200 mV s^{-1} 'den 5 mV s^{-1} ' e kadar farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları alındı. Tarama hızı azaldıkça TEN yükseltgenme pikinin 5 mV daha negatif potansiyele kaydığı görüldü. Bu da tarama hızının değişmesi ile TEN'in yükseltgenme reaksiyonunun gerçekleşme hızının değişmesinden kaynaklanmaktadır.

Tarama hızına karşı pik akım değerlerinden çizilen grafiğin doğrusal olduğu, tarama hızının kareköküne karşı pik akım grafiğinin ise parabolik bir değişim gösterdiği görüldü. Bu durum, TEN'in yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrol etkisi altında olduğu sonucuna varılmasına neden oldu. Ancak kalibrasyon çalışması aşamasında sıyırma yöntemleri kullanıldığında doğrusallığın elde edilemediği görüldü. Bu nedenle TEN'in yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon etkisi altında difüzyon kontrollü olduğu sonucuna varıldı.

Çok duvarlı karbon nanotüp modifiye CKE kullanılarak TEN'in kantitatif analizi için kalibrasyon çalışması yapıldı. pH 5.5, 1.0 M AT ortamında artan konsantrasyonda TEN çözeltilerinin DPV ve KDV yöntemleri ile voltamogramları alındı. Her iki yöntem için ayrı ayrı konsantrasyona karşı TEN pik akım değerleri grafiğe geçirildi. Çizilen kalibrasyon grafiklerinde DPV yöntemi için doğrusal aralık 2.0×10^{-7} M ile 1.0×10^{-5} M arasında ($r = 0.996$) ve KDV için doğrusal aralık 8.0×10^{-9} M ile 8.0×10^{-6} M arasında ($r = 0.997$) gözlemlendi. TEN için teşhis sınırı ve tayin alt sınırı DPV ile sırasıyla 1.43×10^{-9} M ve 4.30×10^{-9} M; KDV için sırasıyla 9.97×10^{-10} M ve 3.02×10^{-9} M olarak hesaplandı (Tablo 1).

Tekrar edilebilirlik çalışması DPV ve KDV yöntemlerinin kesinliğini belirlemek için yapıldı. DPV için 6.0×10^{-6} M ve KDV için 2.0×10^{-6} M üçer adet TEN çözeltilerinin

voltamogramları alındı. Her iki yöntem için ayrı ayrı voltamogramların pik akım ve pik potansiyel değerleri okundu. Beş değer üzerinden DPV ve KDV yöntemleri için pik akımının %BSS değerleri sırasıyla gün içi tekrar edilebilirlikte %0.68 ve %0.67; günler arası tekrar edilebilirlikte %0.70 ve %1.18'dir. Pik potansiyeli için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik %BSS değerleri ise DPV ve KDV yöntemleriyle %0.04 ile %0.96 arasında değişmektedir (Tablo 2). Bu sonuçlar bize DPV ve KDV yöntemlerinin kesinliğinin iyi olduğunu gösterdi.

Tenoksikamın kantitatif analizi için geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin doğruluğunu kanıtlamak için farmasötik dozaj formlarından tayin ve geri kazanım çalışması yapıldı. TEN'in farmasötik dozaj formu olan Tilcotil® (20 mg/tablet) için beyan edilen 20 mg miktar DPV ile 19.871 mg, KDV ile 20.198 mg olarak sırasıyla %0.714 ve %0.637'lik %BSS ile tayin edildi (Tablo 3). Geri kazanım çalışması için Tilcotil® 20 mg tabletten hazırlanan çözelti üzerine bilinen miktarda saf TEN çözeltisi ilave edilerek tayin yapıldı. Bu çalışma sonucunda %geri kazanım değerleri DPV ile %100.865 ve KDV ile %100.307 olarak elde edildi (Tablo 4). Yapılan çalışmalar sonucunda TEN'in farmasötik dozaj formunda bulunan etken madde dışındaki yardımcı maddelerden etkilenmeden herhangi bir girişim olmadan tayin edilebildiği kanıtlandı.

8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez kapsamında TEN'in elektrokimyasal analizi için duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği yüksek ÇDKNT modifiye CKE hazırlandı. DV, DPV ve KDV yöntemleri ile TEN'in yükseltgenme yönündeki davranışı incelendi. Farklı tampon çözeltileri hazırlanan tenoksikam çalışma çözeltileri ile yapılan pH tarama çalışmasında tenoksikamın ÇDKNT modifiye CKE ile analizinde en uygun tampon ortamının pH 5.5, 1.0 M AT ortamı olduğu belirlendi. Ardından gerçekleştirilen hız taraması çalışması ile yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon etkisi altında difüzyon kontrollü olduğu belirlendi.

Tenoksikamın kantitatif tayini için DPV ve KDV yöntemleri ile kalibrasyon çalışması gerçekleştirildi ve validasyon parametreleri belirlendi. Daha sonra, tamamen geçerli DPV ve KDV yöntemleri ile farmasötik dozaj formundan tayin çalışması sonucunda elde edilen %BSS sonuçlarının değerlendirilmesi ile geliştirdiğimiz yöntemin duyarlılığının iyi olduğu ve farmasötik dozaj formunda bulunan yardımcı maddelerin TEN'in analizini etkilemediği sonucuna varıldı.

Tablo 5. ÇDKNT modifiye CKE ile TEN'in elektrokimyasal analizinde elde edilen kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması

Elektrot	Yöntem	Doğrusallık aralığı (M)	TS (M)	Kaynak
Statik cıva damla elektrot	Diferansiyel puls polarografi	$7.41 \times 10^{-8} - 5.90 \times 10^{-5}$	7.41×10^{-8}	49
Statik cıva damla elektrot	Kare dalga sıyırma voltametri	$8.0 \times 10^{-10} - 1.0 \times 10^{-8}$	1.0×10^{-10}	50
Asılı cıva damla elektrot	Diferansiyel puls polarografi	$1.24 \times 10^{-6} - 9.79 \times 10^{-6}$	-	51
ÇDKNT modifiye CKE	Diferansiyel puls voltametri	$2.0 \times 10^{-7} - 1.0 \times 10^{-5}$	1.43×10^{-9}	Tez
	Kare dalga voltametri	$8.0 \times 10^{-9} - 8.0 \times 10^{-6}$	9.97×10^{-10}	

Tenoksikamın bu tez kapsamında elde edilen kalibrasyon verileri, literatürdeki elektrokimyasal çalışmaların kalibrasyon verileri ile karşılaştırıldı (Tablo 5). Bu çalışmaların verileri karşılaştırıldığında, doğrusal çalışma aralığı ve teşhis sınırına bakıldığında en geniş çalışma aralığının ve en düşük teşhis sınırı El-Maali ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada statik cıva elektrodu ile kare dalga sıyırma voltametrisi yöntemiyle elde edilmiştir (50). Ancak cıva elektrot son derece toksik olduğu için kullanımı sınırlıdır. İkinci geniş çalışma aralığının ve en düşük teşhis sınırının bu tez kapsamında elde edildiği görüldü.

Bu tez çalışması sayesinde tenoksikamın basit, hızlı ve duyarlı bir şekilde analizi gerçekleştirildi ve literatürdeki diğer yöntemlere alternatif olabilecek yeni bir analiz tekniği geliştirildi.

9. KAYNAKLAR

1. Özaltın N (2000). Differential pulse polarographic determination of tenoxicam in pharmaceuticals and added to blood. Anal Chim Acta 406: 183-189.
2. Yılmaz S (2012). Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya. İkinci baskı. Kriter Yayınları, No.88, İstanbul; 1-19.
3. Wang J (2006). Analytical Electrochemistry. Üçüncü baskı. John Wiley and Sons Inc., USA; 5-190.
4. Gupta VK, Jain R, Radhapyari K, Jadon N, Agarwal S (2011). Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals - A review. Anal Biochem 408: 179-196.
5. Sawyer DT, Sobkowiak A, Roberts JL (1995). Electrochemistry for Chemists. İkinci baskı. ISBN: 978-0-471-59468- 528
6. Gündüz T (2003). Kantitatif Analiz Ders Kitabı. Yedinci baskı. Gazi Kitabevi, No.39/C, Ankara; 811-903.
7. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR (2004) Fundamentals of Analytical Chemistry. Analitik Kimya Temel İlkeler. 8th ed. Çeviren: Kılıç E, Yılmaz H, Bilim Kitap Kırtasiye Ltd. Şti., Ankara, 487-706.
8. Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S (1997). Enstrümental Analiz Yöntemleri: Elektrokimyasal Hücre Sistemleri. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 95-113.
9. Skoog DA, West DM. Principles of Instrumental Analysis. 1981; Tokyo, T: Saunders College.(2018). Erişim için (online) http://www.ibb.ntou.edu.tw/wwwroot/teacher_system/file/information/29eec5_chapter%2020-2.ppt#1 [Erişim tarihi 5 Şubat 2018]
10. Serdaroğlu V (2016). Antiinflamatuvar ilaç nimesulidin çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot kullanılarak elektroanalitik analizi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
11. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR (2004). Fundamentals of Analytical Chemistry. Analitik Kimya Temel İlkeler. 8th ed. Çeviren Kılıç E, Yılmaz H, Bilim Kitap Kırtasiye Ltd. Şti., Ankara, 633-664.

12. Skoog DA, West DM (1981). Principles of instrumental analysis. 2nd ed. Philadelphia. 769-785.
13. Topal B D (2011). Antipsikotik ilaç ketiapin fumaratın karbon nanotüp modifiyeli camısı elektrot ile elektrokimyasal analizi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
14. Güncel Fizik Bilimi Sitesi (2003) Erişim için (online): <http://www.onlinefizik.com/>. [Erişim tarihi 12 Şubat 2018]
15. Kaya B (2014). Antipsikotik ilaç ketiapin fumaratın karbon nanotüp modifiyeli camısı elektrot ile elektrokimyasal analizi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
16. Uslu B, Ozkan SA (2011). Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: A Review of Recent Trends and Developments. Anal Lett 44: 2644–2702.
17. Farghaly OA, Abdel Hameed, RS, Abu-Nawwas AH (2014). Electrochemical Analysis Techniques: A Review on Recent Pharmaceutical Applications. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 8: 37-45.
18. Sağlıkoğlu G (2011). Nitroimizadol türevi antibakteriyel etkili ilaç aktif maddelerinin dozaj formlarından modifiye ve modifiye edilmemiş elektrotlarda voltametrik teknikler ile kantitatif analizi. Doktora tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
19. Özdemir N (2006). Karbon ve metal elekterotların bazı aromatik aminlerle elektrokimyasal modifikasyonu ve karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
20. Ozkan SA (2012), Electroanalytical methods in pharmaceutical analysis and their validation. HNB Publishing, New York.
21. Monk P (2011). Fundamentals of Electroanalytical Chemistry, İkinci baskı. John Waley-Sons Ltd., UK; 131-192.
22. Politou JA, Skopelitis I, Apatsidis I, Koupparis M (2001). In vitro study on fluoxetine adsorption onto charcoal using potentiometry. Eur J Farm Sci 12: 311-319.

23. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR (2013). Principles of Instrumental Analysis. Enstrümental Analiz İlkeleri. 6th ed. Çeviren: Kılıç E, Yılmaz H, Bilim Kitap Kırtasiye Ltd.Şti., Ankara, 627-756.
24. Zuman P (2006). Principles of applications of polarography and voltammetry in the analysis of drugs. FABAD J Pharm Sci 31: 97-115.
25. West DM (1980). Principles of Instrumental Analysis. İkinci baskı. Saunders College Publishing, Philadelphia; 886.
26. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR (2004). Fundamentaly of Analtical Chemistry. Analitik Kimya Temel İlkeler. 8th ed. Çeviren Kılıç E, Yılmaz H, Bilim Kitap Kırtasiye Ltd. Şti., Ankara, 633-664.
27. Brett CMA, Brett AMO (1993). Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications. Oxford University Press.
28. Uslu B, Özkan SA, Sentürk Z (2006). Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square-wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids. Anal Chim Acta 555: 341-347.
29. Özkan SA, Uslu B, Aboul-Enein HY (2003). Voltammetric investigation of tamsulosin. Talanta 61: 147-156.
30. Öztürk G (2016). Antibakteriyel ilaç sefepimin karbon esaslı elektrotlar ile elektrokimyasal oksidasyonu ve farmasötiklerden ve serumdan kantitatif tayini. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
31. Güney S (2010). Modifiye elektrotların geliştirilmesi ve voltametrik tayinlerde kullanılmalarının incelenmesi. Doktora tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
32. Urhan BK (2015). PbO-indirgenmiş grafen oksit nanokompozitlerinin elektrokimyasal sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
33. Yılmaz N (2018). Amlodipin ve rosuvastatin etken maddelerinin farmasötik preparatlarda kare dalga voltametri yöntemi ile tayini ve aynı anda miktar tayini. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

34. Çorbacıoğlu F (2013). Kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin antioksidan kapasitelerinin elektrokimyasal yöntemle incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
35. Ziyatdinova G, Ziganshina E, Budnikov H (2012). Surfactant media for constant-current coulometry. Application for the determination of antioxidants in pharmaceuticals. *Anal Chim Acta* 744: 23-28.
36. Marei MM, Roussel TJ, Keynton RS, Baldwin RP (2013). Electrochemical and microfabrication strategies for remotely operated smart chemical sensors: Application of anodic stripping coulometry to calibration-free measurements of copper and mercury. *Anal Chim Acta* 803: 47-55.
37. Williard HH, Merit LL, Dean JA, Settle FA (1981). Instrumental methods of analysis, 6th ed. New York, Lifton Educational Publishing Inc., 691-734.
38. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA (1998). Principal of instrumental analysis, 5th ed. Harcourt Brace and Company.
39. Baycan F (2006). Zopiklon'un voltametrik metotlar ile elektrokimyasal davranışının incelenmesi ve ilaçlarda kantitatif tayini. Yüksek lisans tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
40. Küçükıldırım BO, Akdoğan Eker A (2012). Karbon Nanotüpler, Sentezleme Yöntemleri ve Kullanım Alanları. *TMMOB MMO Mühendis ve Makine Dergisi* 53:630 34-44.
41. Difference between single walled and multi walled carbon nanotubes(2018) Erişim için(online):<https://www.quora.com/What-is-the-difference-between-single-walled-and-multi-walled-carbon-nanotubes>. [Erişim tarihi 5 Şubat 2018]
42. Rivas GA, Rubianes MD, Rodr'íguez MC, Ferreyra NF, Luque GL, Pedano ML, Miscoria AS, Parrado C (2007). Carbon nanotubes for electrochemical biosensing. *Talanta* 74: 291–307.
43. Kimyasal Terminoloji (2018) Erişim için(online): <http://goldbook.iupac.org> [Erişim Tarihi 12 Şubat 2018]
44. Skoog DA, West DM, Holler FJ (1996). Fundamentals of Analytical Chemistry. Analitik Kimya Temelleri. 7th ed. Çevirenler: Kılıç E, Köseoğlu F, Bilim Kitap Kirtasiye Ltd. Şti., Ankara, 386-410.

45. Carvalho RC, Gouveia-Caridade C, Brett CMA (2010). Glassy carbon electrodes modified by multiwalled carbon nanotubes and poly(neutral red): A comparative study of different brands and application to electrocatalytic ascorbate determination. *Anal Bioanal Chem* 398: 1675-1685.
46. Reguera C, Ortiz MC, Arcos MJ (2002). Differential pulse voltammetric simultaneous determination of four anti-inflammatory drugs by using soft modelling. *Electroanalysis* 14:24 1699-1706.
47. Binder D, Hromatka O, Geissler F, Schmied K, Noe CR, Burri K, Pfister R, Strub K, Zeller P (1987). Analogues and derivatives of tenoxicam: I. Synthesis and anti-inflammatory activity of analogues with different residues on the ring nitrogen and the amide nitrogen. *J. Med. Chem.* 30: 678-682.
48. Rx MediaPharma® Interaktif İlaç Bilgi Kaynağı (2014). Erişim için (online) <http://www.rxmediapharma.com/>. [Erişim tarihi 14 Aralık 2014]
49. Özaltın N (2000). Differential pulse polarographic determination of tenoxicam in pharmaceuticals and added to blood. *Anal Chim Acta.* 406:183–189.
50. El-Maali NA, Vibe JC, Patriarche GJ, Ghandour MA, G. D. Christian (1990). Square wave and square wave adsorptive stripping voltammetric comparison of the anti-Inflammatory drugs piroxicam and tenoxicam. *Anal Sci.* 6:245–250.
51. Reguera C, Ortiz MC, Arcos MJ (2002). Differential pulse voltammetric simultaneous determination of four anti-inflammatory drugs by using soft modelling. *Electroanalysis.* 14:1699-1706.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : ATAL, Sena
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 15.08.1986 / Trabzon
Medeni hali : Bekar
E-Posta : atal.sena90@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı	2019
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü	2012
Lise	Trabzon Lisesi	2004

YABANCI DİL

İngilizce