



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**GUAİFENESİNİN POLİ(AKRİDİN
TURUNCUSU) MODİFİYE CAMSI KARBON
ELEKTROT İLE ELEKTROKİMYASAL
ANALİZİ VE FARMASÖTİK DOZAJ
FORMUNDAN TAYİNİ**

Hasan IŞIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN

Trabzon – 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**GUAİFENESİNİN POLİ(AKRİDİN
TURUNCUSU) MODİFİYE CAMSI KARBON
ELEKTROT İLE ELEKTROKİMYASAL
ANALİZİ VE FARMASÖTİK DOZAJ
FORMUNDAN TAYİNİ**

Hasan IŞIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN

Trabzon – 2019

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.

11/02/2019

Hasan IŞIK

TEŞEKKÜR

Tüm bu araştırma süreci boyunca deneysel çalışmaların yürütüldüğü KTÜ Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarını kullanma imkanı sağlayan Eczacılık Fakültesi Dekanlığına,

Hayatımın en zor ikilemi arasında beni anlayışla karşılayan bilgisi ve tecrübesi ile bana yol gösteren ve bu tezin ortaya çıkmasını sağlayan çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Fatma AĞIN'a,

Yüksek lisans öğrenimimin her aşamasında bilgisi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Dilek KUL'a,

Deneyimleri ve tecrübeleri ile bize yol gösteren bugünlere gelmemdeki en büyük pay sahibi değerli hocalarıma,

Tanıştığımız andan itibaren bilgisi ve tecrübesi ile bana yol gösteren zaman ayırt etmeksizin her daim yardımına koşan Arş. Gör. Gökçe ÖZTÜRK ile bu süreçte bizleri yalnız bırakmayan Arş. Gör. Nazende Seyhan HADİMLİ'ye ve Arş. Gör. Sercan YILDIRIM'a,

Trabzona adım attığım ilk günden itibaren sevgisi, bilgisi ve anlayışıyla beni kucaklayan mesleki anlamda ve akademik anlamda her daim örnek aldığım, bilgisini ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, beraber çalışmaktan her daim büyük mutluluk duyduğum değerli arkadaşım Ecz. Şeyma EMİROĞLU'na,

Mesafe tanımaksızın vermiş oldukları destek ile uzakları yakın eden hayattaki en değerli hazinem canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ecz. Hasan IŞIK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç Kapak Sayfası	
ONAY	
BEYAN	
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	4
4.1. Guaifenesin	4
4.2. Akridin Turuncusu	5
4.3. Elektrokimya	6
4.4. Elektrokimyasal Hücreler	7
4.4.1. Galvanik Hücre	7
4.4.2. Elektrolitik Hücre	8
4.5. Voltametrizde Akım Çeşitleri	8
4.5.1. Kapasitif akım	8
4.5.2. Faradik akım	8
4.6. Kütle Transferi	9
4.6.1. Difüzyon	10
4.6.2. Konveksiyon	10
4.6.3. Elektriksel Göç	10
4.7. Elektroanalitik Yöntemler	10
4.7.1. Potansiyometri	10
4.7.2. Potansiyometrik Titrasyon	10

4.7.3. Kulometri	11
4.7.4. Kondüktometri	11
4.7.5. Voltametri	11
4.8. Voltametrik Analizi Etkileyen Faktörler	12
4.9. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri	13
4.9.1. Voltametrik Kap	13
4.9.2. Destek Elektrolit	14
4.9.3. Referans (Karşılaştırma) Elektrotu	14
4.9.4. Yardımcı Elektrot	16
4.9.5. Çalışma (İndikatör) Elektrotu	16
4.10. Voltametricde Kullanılan Çalışma Elektrotları	17
4.10.1. Cıva Kökenli Elektrotlar	18
4.10.2. Katı Elektrotlar	18
4.10.3. Modifiye Elektrotlar	19
4.10.4. Dönen Elektrotlar	20
4.11. Voltametrik Yöntemlerin Sınıflandırılması	20
4.11.1. Dönüşümlü Voltametri	20
4.11.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi	23
4.11.3. Kare Dalga Voltametrisi	24
4.11.4. Doğrusal Taramalı Voltametri	24
4.11.5. Sıyırma Yöntemleri	25
5. GEREÇ ve YÖNTEM	26
5.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	26
5.2. Kullanılan Cihazlar ve Programlar	27
5.3. Guaifenesin	27
5.3.1. Guaifenesin'in (GUF) Ana Stok Çözeltisinin Hazırlanması	28
5.4. Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisinin Hazırlanması	28
5.5. Britton-Robinson Tampon (BRT) Çözeltisinin Hazırlanması	28
5.6. Fosfat Tampon (FT) Çözeltisinin Hazırlanması	28
5.7. Voltametri Cihazı ve Elektrot Sistemi	29
5.7.1. Akridin Turuncusu (AT) Çözeltisinin Hazırlanması	29

5.7.2. Akridin Turuncusu'nun (AT) Elektropolimerizyonu ile Camsı Karbon Elektrotun (CKE) Kaplanması	30
5.7.3. Poli(AT) Modifiye CKE'nin Aktivasyonu	30
5.8. Voltametrik Çalışmalar	30
5.8.1. pH Taraması	30
5.8.2. Hız Taraması	31
5.8.3. Sıyırma Voltametrisi Parametreleri	32
5.8.4. Kalibrasyon Çalışması	32
5.8.5. Tekrar Edilebilirlik Çalışması	33
5.8.6. Guaifenesin'in (GUF) Farmasötiklerden Tayini	34
5.8.7. Geri Kazanım Çalışması	34
6. BULGULAR	35
6.1. Akridin Turuncusu'nun (AT) Elektropolimerizyonu ile Camsı Karbon Elektrotun (CKE) Kaplanması	35
6.2. pH Etkisi ve Destek Elektrolit Seçimi	35
6.3. Hız Taraması	38
6.4. Sıyırma Parametrelerinden Biriktirme Süresi ve Biriktirme Potansiyelinin Optimizasyonu	40
6.5. Kalibrasyon Çalışması	41
6.6. Tekrar Edilebilirlik	43
6.7. Farmasötik Bileşiklerden Tayin ve Geri Kazanım Çalışması	44
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	46
8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	49
9. KAYNAKLAR	50
10. ÖZGEÇMİŞ	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. GUF'un molekül şekli	4
Şekil 2. Galvanik hücrenin şematik gösterimi	7
Şekil 3. Elektrolitik hücrenin şematik gösterimi	8
Şekil 4. Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası dönüşümler	9
Şekil 5. Kütle transferi çeşitleri (A) Difüzyon, (B) Elektriksel göç, (C) Konveksiyon	9
Şekil 6. Voltametrik hücrenin şematik gösterimi	13
Şekil 7. SHE'nin şematik gösterimi	15
Şekil 8. DKE'nin şematik gösterimi	15
Şekil 9. Ag/AgCl elektrotun şematik gösterimi	16
Şekil 10. Voltametrizde kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması	17
Şekil 11. DV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel ve (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi	21
Şekil 12. Dönüşümlü, dönüşümsüz ve yarı dönüşümlü voltamogramların temsili görünümü	21
Şekil 13. DPV yönteminde (a) uyarma sinyalinin şekli ve (b) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram	23
Şekil 14. KDV yönteminde (a) uyarma sinyalinin şekli ve (b) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram	24
Şekil 15. Doğrusal taramalı voltametrizde uyarma sinyalinin şekli	25
Şekil 16. AT'nin elektropolimerizasyonu ile CKE'nin modifiye edilmesine ait dönüşümlü voltamogramlar	35
Şekil 17. (a) pH 7.0 FT, (b) pH 8.0 BRT, (c) pH 5.5 FT, (d) pH 7.0 BRT, (e) pH 6.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}	36

Şekil 18.	(a) pH 7.0 FT, (b) pH 8.0 BRT, (c) pH 5.5 FT, (d) pH 7.0 BRT, (e) pH 6.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un (A) DPV (B) KDV voltamogramları	36
Şekil 19.	(A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile BRT ve FT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un pH'ye karşı pik potansiyeli grafikleri. x: BRT, Δ : FT	37
Şekil 20.	(A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile BRT, FT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un pH'ye karşı pik akımı grafikleri. x: BRT, Δ : FT	38
Şekil 21.	pH 7.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un hız taramasına ait dönüşümlü voltamogramları	39
Şekil 22.	pH 7.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un DV ile elde edilen (A) tarama hızına ve (B) tarama hızının kareköküne karşı pik akım grafikleri	39
Şekil 23.	(A) DPSV ve (B) KDSV biriktirme potansiyeline karşı pik akım grafiği	40
Şekil 24.	(A) DPSV ve (B) KDSV biriktirme süresine karşı pik akım grafiği	41
Şekil 25.	Farklı konsantrasyonlardaki GUF'un (A) DPSV ve (B) KDSV yöntemleri ile elde edilen voltamogramları	41
Şekil 26.	(A) DPSV ve (B) KDSV yöntemleri ile elde edilen konsantrasyona karşı pik akım grafikleri	42

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. GUF'un literatürdeki analiz örnekleri	5
Tablo 2. FT çözeltisi için her bir pH değeri için kullanılan Na_2HPO_4 ve $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ miktarları	28
Tablo 3. Poli(AT) modifiye CKE kullanılarak GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri	42
Tablo 4. 6×10^{-5} M GUF çözeltisi için DPSV ve KDSV yöntemlerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri	43
Tablo 5. Poli(AT) modifiye CKE kullanılarak 6×10^{-5} M GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleriyle elde edilen farmasötik dozaj formundan tayin verileri	44
Tablo 6. Poli(AT) modifiye CKE kullanılarak 8×10^{-5} M GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleri için geri kazanım çalışması verileri	45
Tablo 7. Poli(AT) modifiye CKE ile GUF'un voltametrik analizinde elde edilen kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması	48

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1. (A) Potansiyostat/galvanostat cihazı ve (B) üç elektrotlu hücre sistemi	29



KISALTMA, SİMGE VE FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AT	Akridin turuncusu
BRT	Britton-Robinson tamponu
BSS	Bağıl standart sapma
CKE	Camsı karbon elektrot
ÇDKNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
DKE	Doygun kalomel elektrot
DPSV	Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
DV	Dönüştümlü voltametri
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
FT	Fosfat tamponu
GK	Gaz kromatografisi
GUF	Guaifenesin
İTK	İnce tabaka kromatografisi
KDSV	Kare dalga sıyırma voltametrisi
KDV	Kare dalga voltametrisi
pH	Hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
Poli(AT) modifiye CKE	Akridin turuncusu ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot
r	Korelasyon katsayısı
S	Standart sapma
SHE	Standart hidrojen elektrot
TAS	Tayin alt sınırı

TS	Teşhis sınırı
YBSK	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

Simgeler

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

Formüller

Ag/AgCl	Gümüş/Gümüş klorür
Al(OH)₃	Alüminyum hidroksit
CH₃COOH	Glasiyal asetik asit
H₃BO₃	Borik asit
H₃PO₄	Fosforik asit
NaOH	Sodyum hidroksit
Na₂HPO₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaH₂PO₄.2H₂O	Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat

ÖZET

Guaifenesinin Poli(Akridin Turuncusu) Modifiye Camsı Karbon Elektrot ile

Elektrokimyasal Analizi ve Farmasötik Dozaj Formundan Tayini

Oral bir ekspektoran olan guaifenesinin elektrokimyasal analizi, dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve kare dalga sıyırma voltametrisi yöntemleri ile oksidasyon yönünde aromatik yapılı iletken bir boya olan akridin turuncusu ile modifiye edilen camsı karbon elektrot kullanılarak incelendi. pH taraması çalışması sonucunda guaifenesinin oksidasyonunun tersinmez olduğu görüldü ve 0.04 M Britton Robinson tamponu için pH 7.0 en iyi cevap alınan tampon ve pH olarak seçildi. Hız taraması çalışmalarında guaifenesinin oksidasyon reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlendi. Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi için 1 V ve 60 s, kare dalga sıyırma voltametrisi için 0.2 V ve 60 s optimum sıyırma parametreleri olarak belirlendi. Kalibrasyon grafiklerinden elde edilen sonuçlara göre diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve kare dalga sıyırma voltametrisi için sırasıyla korelasyon katsayısı 0.999 ve 0.998 olarak belirlendi ve doğrusallık 2.0×10^{-7} M ile 1.0×10^{-4} M aralığında gözlemlendi. Guaifenesinin teşhis sınırı diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ile 5.779×10^{-8} M ve kare dalga sıyırma voltametrisi ile 6.172×10^{-8} M olarak hesaplandı. Yöntemlerin kesinliği gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik çalışmaları ile belirlendi. Guaifenesinin farmasötik dozaj formundan kantitatif tayini herhangi bir ön ayırma işlemine gerek duyulmadan yapıldı. Çalışma sonunda, poli(akridin turuncusu) modifiye camsı karbon elektrotun guaifenesinin analizinde yardımcı maddelerden etkilenmediği görüldü.

Anahtar Sözcükler: Akridin turuncusu, Camsı karbon elektrot, Guaifenesin, Validasyon, Voltametri

SUMMARY

Electrochemical Analysis of Guaifenesin on Poly(Acridine Orange)

Modified Glassy Carbon Electrode and Its Determination

From Pharmaceutical Dosage Form

Electrochemical analysis of guaifenesin which is an oral expectorant was investigated in the direction of oxidation with cyclic voltammetry, differential pulse stripping voltammetry and square wave stripping voltammetry using glassy carbon electrode modified acridine orange that is a aromatic conducting dye. The result of pH scan study was shown that the oxidation of guaifenesin was irreversible and 0.04 M Britton Robinson buffer solution at pH 7.0 was chosen as buffer solution and pH for best response. The oxidation reaction of guaifenesin was determined as adsorption controlled with scan rate study. The optimum stripping parameters were determined as 1 V, 60 s for differential pulse stripping voltammetry and 0.2 V, 60 s for square wave stripping voltammetry. According to the results obtained from the calibration graphs, the correlation coefficients for the differential pulse stripping voltammetry and square wave stripping voltammetry were determined as 0.999 and 0.998, respectively and the linearity was observed between 2.0×10^{-7} M and 1.0×10^{-4} M. The limit of detection values were calculated as 5.779×10^{-8} M with differential pulse stripping voltammetry and 6.172×10^{-8} M with square wave stripping voltammetry. The precision of methods was determined with within day and inter day repeatability studies. The quantitative determination of guaifenesin from the pharmaceutical dosage form was performed without any pre-separation procedure. As a result of the study, it was seen that poly (acridine orange) modified glassy carbon electrode was not affected by the excipients in the analysis of guaifenesin.

Keywords: Acridine orange, Glassy carbon electrode, Guaifenesin, Voltammetry, Validation

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Elektrokimyasal yöntemler, vücut sıvılarında ve farmasötik dozaj formlarındaki ilaç analizlerinde kullanılabilen ve diğer yöntemlere kıyasla basitlik, duyarlık, yüksek hassasiyet, düşük maliyet, nispeten kısa analiz süresi, numune ve çözücü analiz miktarlarının düşük olması gibi çeşitli avantajlara sahip tayin yöntemleridir. Planladığımız çalışmamızda kullanacağımız elektrokimyasal yöntemlerden voltametri, belirli bir zaman içerisinde elektroaktif bir çözelti içinde bulunan elektrota uygulanan potansiyele karşı oluşan akımın cevap olarak ölçüldüğü elektroanalitik bir yöntemdir. Elektroanaliz prosedürü, güçlü bir şekilde elektrot yüzeyinin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır. Modifiye elektrot araştırmaları son yılların oldukça popüler konularındandır. Eser miktardaki, elektrokimyasal özellik gösteren, maddelerin seçimli ve duyarlı olarak belirlenmesini amaçlayan analitik yöntemlerin gelişmesinde kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar büyük önem taşımaktadır.

İletken polimerler zengin elektrokimyasal davranışları ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle elektrotların modifiye edilmesinde kullanılırlar. Akridin turuncusu (AT) elektrokimyasal olarak polimerize olan aromatik yapılu iletken bir boyadır.

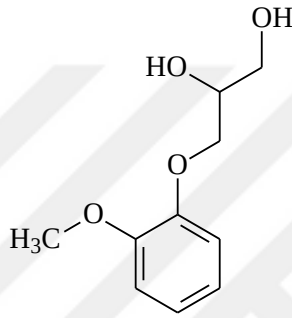
Guaifenesin (GUF) öksürük ve soğuk algınlığı için kullanılan ve pek çok ilaç kombinasyonu içerisinde yer alan oral bir ekspektorandır (1). İlaç analizleri, formülasyon, stabilite ve kalite kontrol gibi çalışmalar ile formülasyon ve biyolojik numuneler gibi karmaşık ortamlardaki ilaç miktarlarını ölçmek güvenilir ve doğrulanmış analitik yöntemler gerektirir.

Bu amaçla bu tez çalışmasında, camı karbon elektrotun (CKE) AT ile modifiye edilmesi planlanmıştır. Hazırlanan bu modifiye elektrot kullanılarak GUF'un basit, duyarlı ve hızlı bir şekilde miktar tayininin yapılabilmesini sağlayacak voltametrik yöntemler geliştirilecektir. Bu yöntemlerin validasyonu yapılacak olup GUF'un farmasötik dozaj formundan kantitatif analizi araştırılacaktır. Böylelikle hazırlanan modifiye elektrot ve geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanabilirliği tespit edilecek, elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ve literatürdeki diğer yöntemler ile karşılaştırılması yapılacaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Guaifenesin

Guaifenesin ((RS)-3-(2-Metoksifenoksi)propan-1,2-diol) (GUF) (Şekil 1), öksürük ve soğuk algınlığı gibi solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılan etkili bir oral ekspektorandır. Öksürük ve soğuk algınlığı için kullanılan pek çok ilaç kombinasyonunda yer almaktadır. GUF solunum yolundaki salgının yapışkanlığını azaltmasının yanında ekspektoran etkisi ile de öksürük sıklığını azaltmaktadır.



Şekil 1. GUF'un molekül şekli

Guaifenesin, ABD gıda ve ilaç idaresi (FDA) tarafından kabul görmüş tek etkili balgam söktürücüdür. Bunun yanında GUF'un veterinerlik alanında anestezik olarak kullanımı da mevcuttur (1).

Literatürde, GUF'un kromatografik (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK), Gaz kromatografisi (GK)) spektroskopik ve voltametrik yöntemlerle miktar tayini çalışmaları bulunmaktadır (Tablo 1) (2, 3).

Tablo 1. GUF'un literatürdeki analiz örnekleri

Tayin Yöntemi	Birlikte Analiz Edilen Maddeler	Kaynak
Kapiller gaz kromatografisi	-	(4)
Sıvı kromatografisi	Terbutalin ve Ambroksol	(5)
Sıvı kromatografisi- Kütle spektrofotometresi	Parasetamol	(6)
YBSK	Oksomemazin, Sodyum benzoat ve Parasetamol	(7)
İTK*-Spektrodensitometrisi		
Spektrofotometri	Dropropizin	(8)
ÇDKNT** ile modifiye edilmiş platin elektrot	-	(9)

*: İnce Tabaka Kromatografisi, **: Çok Duvarlı Karbon Nanotüp

Spektroskopi yönteminde, incelenen maddelerin sinyallerinin çakışması durumunun gözlemlendiği ve bu sebeple maddelerin ayrıştırılması için ön işleme tabi tutulması gerekebileceği belirtilmiştir. Kromatografi yönteminde ise yüksek çözücü miktarına ihtiyaç duyulduğu, zaman alıcı bir yöntem olduğu ve ekonomik açıdan pahalı cihazlara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (10).

4.2. Akridin Turuncusu

Fenazin monomerlerinden birisi olan AT, indirgenme özelliği ile elektroaktif bileşiklerin tayininde kullanılan ve katı elektrot yüzeylerinde kolay bir şekilde polimer oluşturma özelliğine sahip azot içerikli aromatik yapılu bir boyadır. 3,6-bis(dimetilamino)-akridin mono-hidroklörür kimyasal yapısına sahip olan akridin turuncusu, CKE'nin modifiye edilmesinde kullanılacaktır (11).

Voltametrde polimer yapılı bir bileşik ile modifiye edilmiş elektrotlar, elektrokimyasal biriktirme aşamasındaki homojenitesi ve elektrot yüzeyine kuvvetli bir şekilde tutunabilmesi gibi özellikleri sebebiyle elektrokimyasal sensör çalışmalarında detaylı bir şekilde araştırılmıştır.

Akridin turuncusu pH 10'un altında katyonik yapıda bulunması sebebiyle daha çok hücre biyolojisi çalışmalarında iyon konsantrasyonlarındaki değişimlerin incelenmesi için kullanılmaktadır (12).

Akridin turuncusunun elektrokimya alanındaki kullanımına baktığımızda aromatik yapısı sayesinde elektrot yüzeyinde polimer bir film tabaka oluşumunu sağlamaktadır. Elde edilen modifiye elektrotun elektrokimyasal ve katalitik özellikleri modifiye edilmemiş elektrota kıyasla oldukça yüksektir (13).

Literatürdeki çalışmalarda CKE'nin AT ile hızlı ve kararlı bir şekilde polimer oluşturduğu ayrıca oluşan polimerin yüksek iletkenlik özelliğine sahip olduğu ve bu sayede hassas miktar tayini çalışmalarına imkan sağladığı görülmüştür (14).

4.3. Elektrokimya

Elektrokimya, maddeler üzerine uygulanan elektrik akımı doğrultusunda ortaya çıkan kimyasal tepkimelerin ve açığa çıkan elektrik enerjisinin ölçülmesi ile kalitatif ve kantitatif tayin imkanı sağlayan analiz yöntemidir (15).

Gelişen teknolojik gelişmeler sayesinde elektrokimyasal analiz yöntemlerine olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Yüksek hassasiyet, yüksek doğruluk, yüksek seçicilik ile geniş tarama aralığında çalışılabilmesi, düşük maliyet, analiz yönteminin kullanım kolaylığı, diğer yöntemlere kıyasla düşük analiz süresi gibi çeşitli avantajlar ile farmasötik dozaj formlarında ve biyolojik sıvılardaki ilaç analizlerinde her geçen gün daha çok kullanılmaktadır (16, 17).

Elektrokimyanın temelinde indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları (redoks) bulunmaktadır. Redoks tepkimeleri sayesinde potansiyometri, voltametri, kulometri, elektrogravimetri ve redoks titrasyonları gibi farklı teknikler ile analiz yapılabilmekte, bunun yanında bu yöntemler reaksiyon hızının, dengesinin ve mekanizmasının belirlenmesinde de kullanılabilmektedir (18).

Elektrokimyasal analiz yöntemlerinin biyolojik redoks reaksiyonlarına olan benzerliği ve formülasyon içindeki yardımcı maddelerin neden olduğu girişimden etkilenmemesi sayesinde aktif ilaç etken maddesinin vücuttaki etkinliğinin ve muhtemel mekanizmasının belirlenmesine de yardımcı olmaktadır (17, 19).

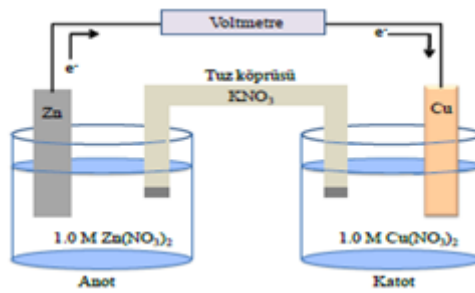
4.4. Elektrokimyasal Hücreler

Elektrokimyasal hücreler elektron alışverişinin gerçekleştiği yerlerdir. Yükseltgenmenin olduğu anot ile indirgenmenin olduğu katot olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Bu iki bölüm birbirine elektron transferine olanak sağlayacak olan tuz köprüsü aracılığıyla bağlıdır (20-22).

Elektrokimyasal hücreler *Galvanik hücre* ve *Elektrolitik hücre* olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (21, 22).

4.4.1. Galvanik Hücre

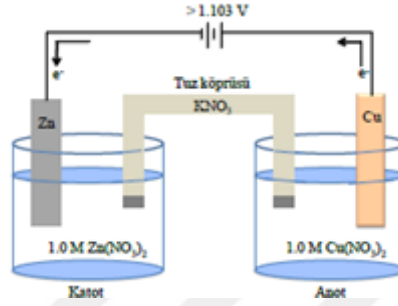
Kimyasal reaksiyon sonucunda elektrik enerjisinin kendiliğinden oluştuğu hücre sistemidir. Bu hücreler doğru akım ile çalışmaktadır ve elektron transferi yükseltgenmenin olduğu anottan indirgenmenin olduğu katoda doğrudur. Anot ile katot birbirine temas etmeyecek şekilde ve aralarında elektron akışına imkan sağlayacak tuz köprüsü olacak şekilde yer almaktadır. Bu sistem mevcut batarya ve pillerin elektrik üretme prensibinin temelini oluşturmaktadır (Şekil 2) (21, 22).



Şekil 2. Galvanik hücrenin şematik gösterimi (Kaya'dan, 21)

4.4.2. Elektrolitik Hücre

Elektrolitik hücre sistemi galvanik hücrelerin tersine reaksiyonun gerçekleşmesi için dışarıdan bir elektrik enerjisine ihtiyaç duymaktadır. Bu sistemde anotta indirgenme ve katotta yükseltgenme meydana gelir (Şekil 3) (21, 22).



Şekil 3. Elektrolitik hücrenin şematik gösterimi (Kaya'dan, 21)

4.5. Voltametri de Akım Çeşitleri

Voltametri de akımlar *Kapasitif akım* ve *Faradik akım* olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (23).

4.5.1. Kapasitif akım

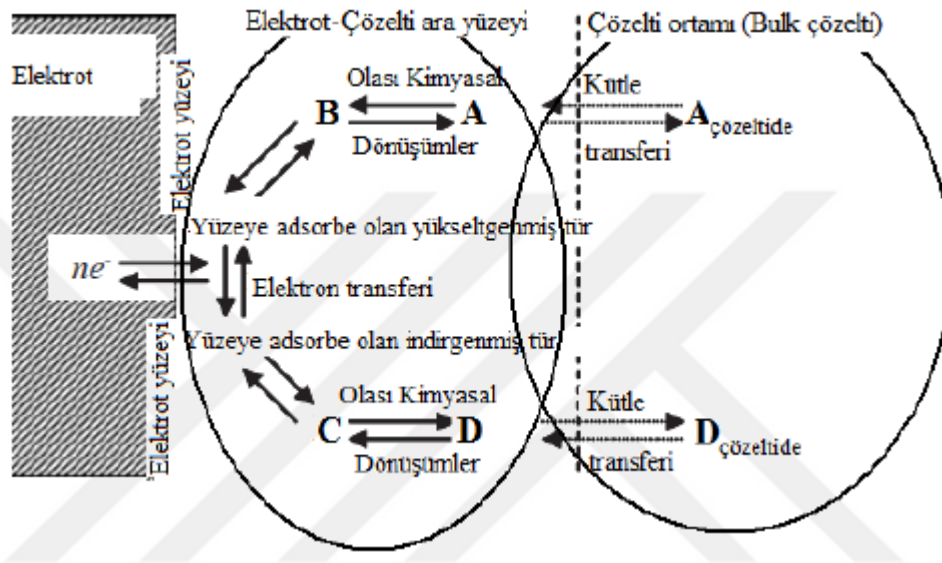
Çözücü-destek elektrolit moleküllerinin çalışma elektrotu etrafındaki bölümleri uygulanan potansiyelin etkisi ile bir kapasitör gibi davranır ve elektriksel olarak yüklenme gerçekleşir. Bunun sonucunda oluşan akıma *kapasitif (artık) akım* denir. Kapasitif akım kullanılan çözücünden, destek elektrolitten, konsantrasyondan, sıcaklıktan, çalışma elektrotunun türü ve yüzey alanından, pH ve tarama hızı gibi faktörlerden etkilenmektedir. Elektrokimyasal analizlerde kapasitif akımın minimum düzeyde olması istenmektedir (23).

4.5.2. Faradik akım

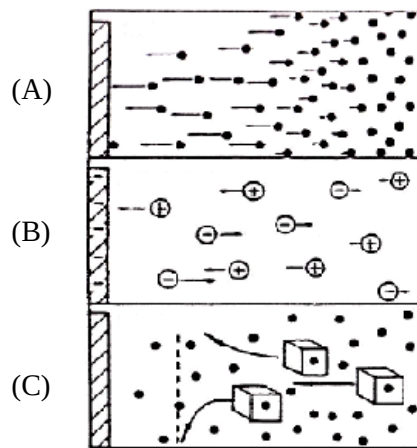
Elektron aktarımı sonucunda oluşan akımdır. Faradik akım sayesinde elektrokimyasal bir çalışmanın termodinamik ve/veya kinetik bilgilerine ulaşmak mümkündür (23).

4.6. Kütle Transferi

Şekil 4'ten görülebildiği gibi elektrot yüzeyi ile elektrot-çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen elektron aktarımı kütle transferine oldukça bağlıdır. Elektrokimyasal bir hücre sisteminde maddenin indirgenmenin gerçekleştiği elektrot yüzeyine taşınması üç farklı yol ile gerçekleşmektedir (Şekil 5) (21).



Şekil 4. Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası dönüşümler (Öztürk'den, 23)



Şekil 5. Kütle transferi çeşitleri: (A) Difüzyon, (B) Elektriksel göç, (C) Konveksiyon (Çakmak'dan, 20)

4.6.1. Difüzyon

Maddelerin yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru kendiliğinden hareket etmesi ile gerçekleşir. Difüzyon hızı (D) Cottrell eşitliği ile ifade edilmektedir ve konsantrasyon farkı, yükseltgen/indirgen maddenin türü ve çözücü gibi faktörlere bağlıdır (Eşitlik 1) (21).

$$I = n F A C \sqrt{D} / \sqrt{\pi t} \quad (1)$$

Cottrell eşitliğinde; I difüzyon akımını (μA), n elektron sayısını, F faraday sabitini (96 500 C), A elektrot alanını (cm^2), C çözelti derişimini ($mol L^{-1}$), D difüzyon sabitini ($cm^2 s^{-1}$) ve t zamanı (s) ifade etmektedir.

4.6.2. Konveksiyon

Karıştırma veya titreşim hareketi gibi mekanik yollarla maddelerin elektrot yüzeyine taşınması durumu söz konusudur. Kütle aktarım olayı difüzyonun aksine kendiliğinden gerçekleşmemektedir (21).

4.6.3. Elektriksel Göç

Hücre sistemi içinde anot ile katot arasındaki elektriksel alan boyunca yüklü iyonların zıt yüklü elektrotların bulunduğu tarafa doğru hareket etmesi sonucunda oluşmaktadır. Elektriksel göç olayı iyonların yüküne ve büyüklüğüne bağlıdır (21).

4.7. Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemlerin aşağıda verildiği şekilde sınıflandırılabilir.

4.7.1. Potansiyometri

Akımın sabit tutulması ile açığa çıkan potansiyel değişimlerinin ölçülmesinden hareketle maddelerin kalitatif ve kantitatif analizine imkan tanıyan bir yöntemdir (21).

4.7.2. Potansiyometrik Titrasyon

Temelinde titrasyon ve dönüm noktası tayini bulunan analiz yöntemidir. Dönüm noktasından yola çıkılarak kantitatif analizlere imkan tanınması sebebiyle yüksek doğruluk ve yüksek kesinlik ile analiz yapılabilmektedir (21).

4.7.3. Kulometri

Bir tepkimeye giren elektronların sayımından hareketle analit miktarının bulunması ilkesine dayanan analiz yöntemidir. Hızlı ve doğru analiz yapılmasına imkan tanımaktadır.

4.7.4. Kondüktometri

Elektrolitlerde iletkenlik değişimlerinin ölçülmesi prensibine dayanan analiz yöntemidir.

4.7.5. Voltametri

Voltametri, çek bilim insanı Jaroslav HEYROVSKY tarafından 1920 yılında keşfedilmiştir. Temelinde elektrokimyasal olarak aktif maddeler içeren bir çözelti içerisinde belirli bir zaman içerisindeki potansiyel değişimlerine karşı oluşan akımın cevap olarak ölçüldüğü elektroanalitik bir hücreden oluşmaktadır. Voltametri tekniğinde oluşan gerilim-akım eğrisine *voltamogram* denilmektedir. Voltametri tekniği biyolojik ve çevresel faktörler açısından araştırılan maddenin belirlenmesinde basit, hızlı ve düşük maliyetli olması sebebiyle tercih edilmektedir.

Voltametri tekniğinin son yıllardaki gelişimine bakıldığında ilaç analizlerinde büyük öneme sahip olduğu görülmektedir. Bunun yanında elektrokimyasal reaksiyonların belirlenmesinde, enzimatik kataliz ve serbest radikal reaksiyonlarının modellenmesinde, maddelerin çevresel etkilerinin izlenmesinde ve endüstriyel kalite ve kontrol analizlerinde umut verici bir analiz yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Voltametri tekniğinde analizi yapılan maddelerin voltamogramda oluşturdukları eğrilerin tepe potansiyellerinin kolay bir şekilde okunabilmesi, 10^{-12} ile 10^{-1} M arasındaki geniş bir konsantrasyon aralığında yüksek duyarlık ve yüksek hassasiyet ile analiz yapılmasına imkan tanımaktadır.

Voltametri tekniğinde karşılaşılabilecek hatalar incelendiğinde temel problemin, analizi yapılacak maddelerin eğrilerinin girişim oluşturabilme durumu olduğu görülmektedir. Bu durumu önlemek için elektrot üzerinde yapılacak modifikasyonlar ile elektrotun araştırılan madde için spesifik hale getirilmesi sağlanabilmektedir (24, 25).

4.8. Voltametrik Analizi Etkileyen Faktörler

1. *Destek elektrolit ve çözücü:* Araştırılan madde ve kullanılan elektrota karşı inert olmalıdır. Analiz sırasında elektriksel iletkenlik, dielektrik sabiti, çözünürlük, akışkanlık, kullanım ve temin kolaylığı ile düşük maliyetli olması gibi parametreler de göz önünde bulundurulmalıdır (23).
2. *pH:* Seçilen pH'a bağlı olarak akım-potansiyel değerleri farklılık göstermektedir. Bu nedenle analiz sırasında geniş bir potansiyel aralığında analiz yapılmasına imkan tanıyacak yüksek kapasiteli tampon sistemlerin kullanılması gerekmektedir (23).
3. *Sıcaklık:* Sıcaklığın analitin çözünürlüğü, difüzyon katsayısı ve limit akım değerini etkilemesi sebebiyle analiz sırasında sıcaklık farklarının $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ civarında olmasına dikkat edilmelidir (23).
4. *Oksijen:* Oksijenin iyi bir yükseltgen olması ve indirgenme bölgelerinde geniş pikler vererek analit pikleri ile girişim gösterme ihtimalinin olması, analitin oksijenden etkilenme ihtimali ve reksiyona girme ihtimalinin bulunması, oksijenin indirgenmesinin faradik akıma neden olması gibi nedenlerden dolayı analiz sırasında oksijenin etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durumun engellenebilmesi için kapalı tipte bir hücre kullanımı, çözültiden inert bir gaz (N_2 , He, CO_2) geçirilmesi gibi önlemler alınabilir (23).
5. *Polarografik maksimumların giderilmesi:* Difüzyon akımının doğru bir şekilde ölçülebilmesi için polarografik dalgaların neden olduğu ve maksima denilen piklerin giderilmesi gerekmektedir. Bu nedenle ortama jelatin ve metil kırmızısı gibi yüzey aktif maddelerinin eklenmesi gerekebilir. Ancak ilave edilen bu maddelerin her analizde eşit miktarda eklendiğine dikkat edilmeli ayrıca fazla miktarda eklenmesinin limit akım değerinde azalmaya neden olabileceği unutulmamalıdır (23).
6. *Elektrotların hazırlanması:* Elektrotların yapılan her çalışmada aynı fiziksel ve kimyasal yeterlikte olduğundan emin olunmalıdır. Örneğin damlayan cıva elektrot her bir damlanın düşmesi ile kendini yenileyebilirken, katı elektrotlarda elektrot yüzeyi adsorpsiyon etkisi sonucu kapanabileceğinden tekrar edilebilirliğin sağlanamaması durumu söz konusudur. Yapılacak ön işlemin analit çözeltisinin bileşimine ve elektrotun cinsine bağlı olduğu unutulmamalıdır (23).

Nernst eşitliği: Voltametrde elektrot potansiyeli ile konsantrasyon arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır (Eşitlik 2) (26).

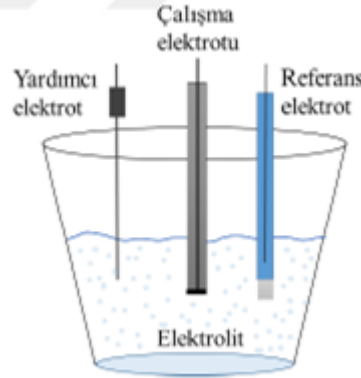
$$E_{\text{hücre}} = E^0 - 2.303 RT / nF \log Q \quad (2)$$

E^0 Standart hücre potansiyelini, R gaz sabitini, T mutlak sıcaklığı, F faraday sabitini, n aktarılan elektron sayısını, Q kütleyi ifade etmektedir.

25°C’de $2.303 RT / nF$ faktörünün 0.0592 kabul edilmesi durumunda Nernst eşitliği $E_{\text{hücre}} = E^0 - 0.0592 / n \log Q$ şeklinde yazılabilmektedir.

4.9. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri

Voltametrik bir hücre, çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu arasındaki akımın ölçüldüğü ikili veya çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot arasındaki akımın ölçüldüğü üçlü elektrot sistemi, destek elektrolit ve uygun çözücü içinde çözünmüş halde bulunan numuneden oluşmaktadır (Şekil 6).



Şekil 6. Voltametrik hücrenin şematik gösterimi (Öztürk’den, 22)

4.9.1. Voltametrik Kap

Numunenin özelliğine göre çeşitli özelliklerde ve büyüklüklerde voltametrik bir kap kullanılabilir. Seçilen malzemenin inert olmasına dikkat edilmelidir. En çok tercih edilenler cam, kuvars ve teflondur (23).

4.9.2. Destek Elektrolit

Destek elektrolit, elektrot ile herhangi bir reaksiyon vermeyen alkali metal tuzları olup analit çözeltisi içerisine yüksek miktarda ilave edilmektedir. Analitin destek elektrolit içerisindeki çözünürlüğünün iyi olmasına dikkat edilmelidir. Destek elektrolit, difüzyon kontrollü bir akım elde edilebilmesi için gerekli olan iyon göçünün sağlanması amacıyla ortama ilave edilmektedir (23).

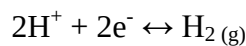
4.9.3. Referans (Karşılaştırma) Elektrotu

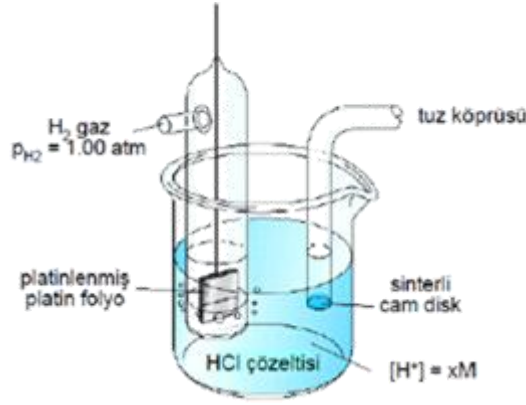
Yarı hücre potansiyeli sabit, analit çözeltisinin içeriğinden bağımsız ve bilinen bir potansiyel değerine sahip olan elektrottur. Referans elektrotların reaksiyona herhangi bir etkisi olmamakla birlikte asıl kullanım amaçları; çalışma elektrotunun potansiyelinin ölçülmesi, indirgenme ve yükseltgenme potansiyellerinin tespit edilmesi ve çözelti içerisindeki potansiyel kayıp ile çözelti direncinin önlenmesidir (23).

Bir referans elektrotun sahip olması gereken özellikler; basit ve kolay hazırlanabilmeli, Nernst eşitliğini sağlayabilmeli, tersinir olmalı, zamanla değişmeyen sabit bir potansiyeli olmalı ve gerilimin sıcaklık değişimlerinden etkilenme oranı düşük olmalı şeklinde özetlenebilir. En sık kullanılan referans elektrotlar; standart hidrojen elektrot (SHE), doygun kalomel elektrot (DKE) ve gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrottur (22, 27).

1. *SHE*: 1 atm basınç altında platin bir metal plakanın hidrojen gazı ile doyurulmuş sulu çözelti içine konulması ile hazırlanmaktadır (Şekil 7). Tüm sıcaklıklarda potansiyeli sıfır volt olarak kabul edilen bu elektrot bağıl yarı-hücre potansiyelleri hakkında bilgi vermektedir. Sıcaklık, çözeltideki hidrojen iyonu konsantrasyonu ve elektrot yüzeyindeki hidrojen gazı basıncı elektrotun potansiyeline etki eden faktörlerdir. Elektrotun hazırlanmasının DKE ve Ag/AgCl elektrota göre daha zor olması, reaktiflerin aktivitelerinin kontrolünün zor olması ve uygulama zorluğu sebebiyle çok fazla tercih edilmemektedir (22, 27).

Elektrotun reaksiyon mekanizması şöyledir:

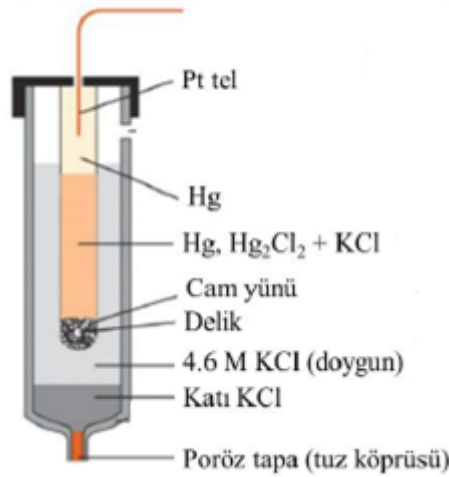




Şekil 7. SHE'nin şematik gösterimi (27)

2. *DKE*: Kalomel (Hg_2Cl_2) ve cıva (Hg) içeren bir karışımın, metalik cıva ve potasyum klorür (KCl) içeren bir çözelti içine konulması ile hazırlanmaktadır (Şekil 8). SHE'ye karşı, DKE'nin potansiyeli 25°C 'de 0.244 V 'tur (22, 27).

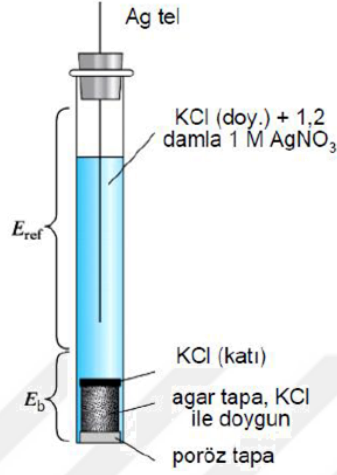
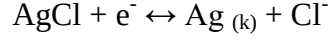
Elektrotun reaksiyon mekanizması şöyledir:



Şekil 8. DKE'nin şematik gösterimi (Öztürk'den, 22)

3. *Ag/AgCl*: Ucu AgCl ile kaplanmış gümüş telin KCl ile doyurulmuş 1 M AgCl çözeltisi içine konulması ile hazırlanmaktadır (Şekil 9). SHE'ye karşı Ag/AgCl elektrotun potansiyeli 25°C 'de 0.199 V 'tur (22, 27).

Elektrotun reaksiyon mekanizması şöyledir:



Şekil 1.6 : Ag / AgCl elektrot

Şekil 9. Ag/AgCl elektrotun şematik gösterimi (27)

4.9.4. Yardımcı Elektrot

Reaksiyon ile herhangi bir ilişkisi olmayıp hücre içindeki akımın taşınmasını sağlayan elektrottur. Voltametrik hücre içinde çalışma elektrotu ile beraber yardımcı elektrotun üzerinden akım geçer. Çalışma elektrotunun potansiyeli sıfır akım altında referans elektrota karşı okunur. Üzerinden akım geçtiği için inert olan soy metalden yapılmış olmaları gerekmektedir. Platin, grafit, tantal ve tungsten tel en çok kullanılan metallerdir (23).

4.9.5. Çalışma (İndikatör) Elektrotu

Voltametrik hücre içerisinde elektrokimyasal reaksiyonların gerçekleştiği yer çalışma elektrotudur. Elektroaktif maddeler bu elektrot yüzeyinde yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonuna girebilmektedir. Maddelerin indirgenmesinden dolayı oluşan akıma katodik akım yükseltgenmesinden dolayı oluşan akıma anodik akım denilmektedir (22).

Çalışma elektrotunun taşınması gereken özellikler şunlardır (22, 23):

- İletken olmalı
- Geniş bir potansiyel aralığında tarama yapabilmeli
- Artık akımı düşük olmalı
- Çözelti ve analite karşı inert olmalı
- Kolay bir şekilde hazırlanabilmeli
- Negatif potansiyeli düşük olmalı

4.10. Voltametrde Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları Şekil 10’da verildiği gibi sınıflandırılabilir.



Şekil 10. Voltametrde kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması (Baycan’dan, 28)

4.10.1. Cıva Kökenli Elektrotlar

Cıva kökenli elektrotlar hidrojen gazının çıkış potansiyelinin yüksek olması sayesinde geniş katodik potansiyel aralığında analiz yapılmasına imkan tanırken her bir yeni damlada da elektrot yüzeyi yenilenmektedir. Metalik maddeler ile amalgam oluşturabilme özelliği ile metal iyonlarının önderiştirilmesinde de kullanılabilir. Cıva kökenli elektrotlardan voltametriye pek çok alanda yararlanabilirken cıvanın çok saf olmasına dikkat edilmelidir. Damlayan, asılı ve cıva film (zar) elektrot olmak üzere farklı çeşitleri mevcuttur (28).

4.10.2. Katı Elektrotlar

Cıva elektrotlar geniş katodik potansiyel aralığına sahipken anodik potansiyelde dar bir alanda kullanılabilirler. Altın, platin, karbon ve soy metaller gibi inert malzemeler kullanılarak geliştirilen katı elektrotlar sayesinde daha pozitif (yükseltgenme) bölgelerinde analiz yapılmasına olanak sağlanmıştır. Katı elektrotların yüzeylerine madde birikimi olabilme ihtimali sebebiyle her ölçüm öncesinde ön işlem adı verilen temizleme işlemine tabi tutulmaları gerekmektedir. Yapılacak temizleme işlemi kullanılan metalin özelliğine göre farklılık göstermektedir. Katı elektrotların en önemli kullanım alanlarından birisi biyosensör olarak biyolojik öneme sahip maddelerin analizinde kullanılabilir olmalarıdır. Bunlara örnek olarak glikoz elektrot, üre elektrot verilebilir (28).

Katı elektrot çeşitleri (28):

- A. *Platin elektrot*: Voltametriye en çok kullanılan katı elektrottur. İnert bir malzemedir, iletkenliği oldukça iyidir ve kolay bir şekilde üretilmektedir.
- B. *Altın elektrot*: İyi bir iletken, ayrıca platin elektrotta oksijen maruziyeti nedeniyle görülen oksitlenmenin oluşma riski daha azdır.
- C. *Bizmut elektrot*: Toksikite riskinin az olması, hazırlanmasının oldukça kolay olması ve hassasiyetinin yüksek olması sebebiyle tercih edilmektedir.
- D. *Karbon elektrot*: Karbon elektrotlar, geniş anodik ve katodik potansiyel aralığında çalışılabilmesi, elektriksel direncin ve artı akımın düşük olması, yüzey yapısının tekrar kullanıma uygun olması sebebiyle tercih edilmektedir.

Karbon elektrot çeşitleri şunlardır:

1. Elmas elektrot
2. Bor katkılı elmas elektrot
3. Grafit elektrot
4. Karbon pasta elektrot
5. Empreyene karbon elektrot
6. Pirolitik grafit elektrot
7. Mikro karbon elektrot
8. Camsı karbon elektrot (CKE)

CKE: Diğer karbon türlerinden farklı olarak daha küçük gözenek yapısına sahip bu malzeme fenol form aldehit reçinesinin inert bir gaz içinde dikkatli bir şekilde ısıtılması ile elde edilmektedir. Katı elektrotlar ile benzer olarak deneyler öncesinde çeşitli ön işleme tabi tutulmaları gerekebilir. Çalışmamız içinde de kullanmış olduğumuz aktivasyon işleminin yapılma amacına baktığımızda yüzey safsızlıklarının uzaklaştırılması, fonksiyonel grupların ve serbest keskin uçların oluşumunun sağlanması, yüzey alanının büyütülmesi ve mikro partikül oluşumunun sağlanması gibi faydalarının olduğunu görmekteyiz.

4.10.3. Modifiye Elektrotlar

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

Modifiye elektrotların sahip olması gereken özellikler:

Kolay hazırlanabilmeli ve güvenli olmalı, hızlı sonuç verebilmeli ve yeniden kullanılabilir olmalı, uzun süre aktif olarak kullanılabilmesi, çalışma potansiyel aralığı içinde zemin akımlarının düşük ve elektrotun stabilitesinin yüksek olması gerekmektedir. Elektrot ile modifiye edilecek madde arasında elektron alışverişi ile hazırlanan elektrokatalitik modifiye elektrotlar yüksek gerilimi düşürerek yüksek hassasiyet ve yüksek seçicilik ile analiz yapılmasına olanak sağlamaktadır. Modifiye

elektrotlar sahip oldukları bu avantajlar sayesinde elektrokimyada yüksek seçicilik ve yüksek hassasiyet ile analiz yapılmasına olanak sağlamış durumdadır (29).

4.10.4. Dönen Elektrotlar

Dönen disk ve halka disk elektrot olmak üzere iki çeşittir. Platin veya camı karbondan üretilmekte olup motor sistemi ile dönüş hızları kontrol edilir. Dönen disk elektrot sisteminde elektrot yüzeyine madde taşınması konveksiyon ile gerçekleşmektedir. Elde edilen akım yoğunluğunun artması yüksek duyarlık ile analiz yapılabilmesini sağlamaktadır (28).

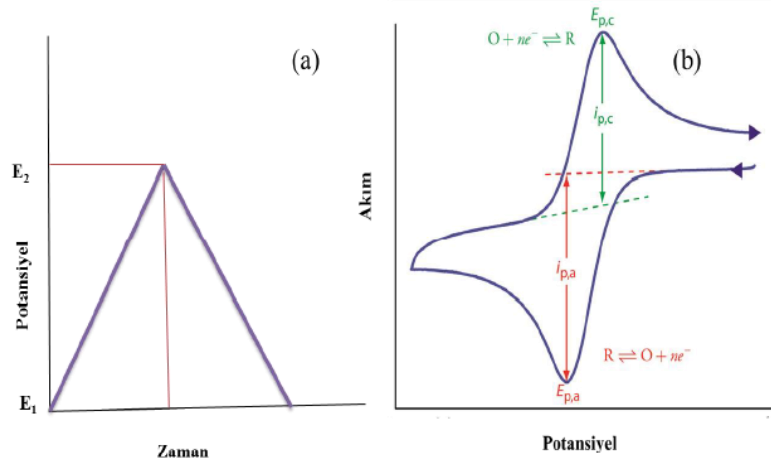
Halka disk elektrot sistemi iç kısımda bir disk elektrot ve onun dış kısmında bir halka elektrottan oluşmaktadır. Reaksiyon disk elektrotta gerçekleşmekte, oluşan ürünler halka elektrota doğru hareket etmektedir. Çoğunlukla nitel analizlerde olmak üzere nicel analizlerde de kullanılabilmektedirler (22).

4.11. Voltametrik Yöntemlerin Sınıflandırılması

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

4.11.1. Dönüşümlü Voltametri

Çalışma elektrotunun potansiyeli belirli bir süre pozitif veya negatif yönde tarama yaparken belirli bir noktadan sonra tarama yönü ters çevrilmekte ve başlangıç potansiyeline doğru tarama yapmaktadır (Şekil 11). Bu döngü istenilen sayı kadar tekrarlanabilmektedir. Bu yöntemde 0.01-100000 mV/s aralığındaki tarama hızları ile çalışma imkanı bulunmaktadır (30).



Şekil 11. DV yöntemi için (a) zamana karşı uygulanan potansiyel ve (b) oluşan akım-potansiyel eğrisi (Yılmaz'dan, 30)

Voltamogramlar, dönüşümlü, dönüşümsüz ya da yarı dönüşümlü olmak üzere üç farklı reaksiyon mekanizması üzerinden yürümektedir (Şekil 12). Ayrıca elektron transfer hızı, kütle transfer hızı, çalışma elektrotunda gerçekleşen reaksiyonlar ve reaksiyon mekanizması gibi faktörler voltamogramın şekline etki etmektedir (30).

Dönüşümlü	Dönüşümsüz	Yarı -dönüşümlü
$Ox + ne^- \leftrightarrow Red$	$Ox + ne^- \rightarrow Red$	$Ox + ne^- \leftrightarrow Red \xrightarrow{k_1} Z$

Şekil 12. Dönüşümlü, dönüşümsüz ve yarı dönüşümlü voltamogramların temsili görünümü (Yılmaz'dan, 30)

Voltamogramdaki anodik pik potansiyeli (E_{pa}) ile katodik pik potansiyeli (E_{pc}) arasındaki gerilim farkının $\approx (0.059/n)$ V olması reaksiyonun geri dönüşümlü olduğunu göstermektedir. Bu iki pik potansiyelinin orta noktası bize redoks çiftinin formal potansiyelini vermektedir. DV’de 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 3) (30).

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

Randles-Sevcik (Pik akımı) eşitliğinde I_p pik akımını (amper), C konsantrasyonu (mol/cm^3), A yüzey alanını (cm^2), D difüzyon katsayısını (cm^2/s), n aktarılan elektron sayısını (mol), V tarama hızını (V/s) ifade etmektedir.

Dönüşümlü voltametri kalitatif analizlerde en çok tercih edilen elektrokimyasal tekniktir. Ayrıca akım ile konsantrasyonun doğru orantılı olması sebebiyle kantitatif tayin de yapılabilmektedir (31).

Dönüşümlü voltamogramların detaylı bir şekilde incelenmesi ile indirgenme ve yükseltgenmenin kaç adımda ve hangi potansiyelerde gerçekleştiği, dönüşümlü olup olmadığı, elektrot reaksiyonuna ek olarak çözelti içinde başka bir reaksiyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği, reaksiyon sırasında elektrot yüzeyinde madde birikimi olup olmadığının tespiti ve ara ürünlerin stabilitesinin incelenmesi mümkün olmaktadır (26).

Elektron Aktarım Yöntemleri:

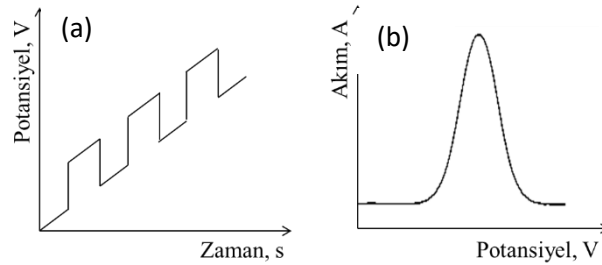
Elektron aktarımı difüzyon kontrollü ve adsorpsiyon kontrollü olmak üzere iki farklı sistem üzerinden gerçekleşmektedir. Hangi sistem üzerinden elektron aktarımının gerçekleştiğinin tespit edilebilmesi için konsantrasyonun sabit tutulduğu tarama hızı çalışmaları yapılmaktadır. Elde edilen akım değerleri ile tarama hızları üç farklı grafiğe geçirilerek hangi sistem üzerinden elektron aktarımının gerçekleştiğine karar verilir.

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

Tarama hızına karşı pik akımı grafiğinin ($V - I_p$) doğrusal ve tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiğinin ($\log V - \log I_p$) eğim değerinin 1.0'a yakın olması elektron aktarımının elektrotun yüzeyinde gerçekleştiğini ve adsorpsiyon kontrollü bir sistem olduğunu göstermektedir. Tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafiğinin ($\sqrt{V} - I_p$) doğrusal ve tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiğinin ($\log V - \log I_p$) eğim değerinin 0.5'e yakın olması elektron aktarımının elektrot - çözelti ara yüzeyinde gerçekleştiğini ve difüzyon kontrollü bir sistem olduğunu göstermektedir (23).

4.11.2. Diferansiyel Puls Voltametri

Diferansiyel puls voltametri organik ve inorganik maddelerin nicel analizlerinde sıklıkla kullanılan elektrokimyasal bir yöntemdir. Bu teknikte potansiyel doğrusal olarak artarken sabit büyüklükte pulsar (darbeler) uygulanmaktadır. Akım puls uygulanmaya başlamadan önce ve pulsun sonlanmasına yakın bir alanda ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark ölçülerek potansiyele karşı akım farkları grafiğe (diferansiyel puls voltamogramı) geçirilir (Şekil 13) (22).



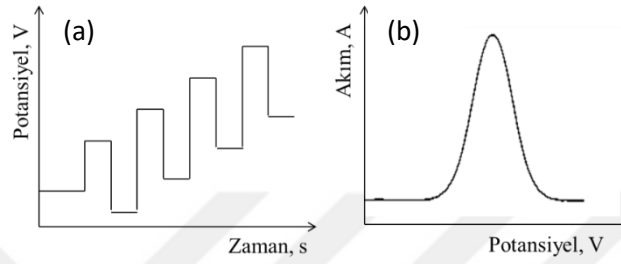
Şekil 13. DPV yönteminde (A) uyarma sinyalinin şekli ve (B) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram (Öztürk'den, 22)

Normal puls voltametrisine göre avantajlarına baktığımızda;

- Aynı anda birçok farklı madde analiz edilebilmekte ve voltamogram üzerindeki piklerin ayrımı kolay bir şekilde yapılabilmektedir.
- Uygulanan akımın diferansiyel akım olması yöntemin duyarlılığının 10^{-8} M'a kadar artmasını sağlamıştır (23).

4.11.3. Kare Dalga Voltametrisi

Temelde DPV'ye benzemekle beraber bu yöntemde hem ileri yönde hem de geri yönde puls uygulanmaktadır. Akım ölçümleri ileri ve geri yöndeki pulsların bitişinde ölçülerek aralarındaki fark hesaplanmakta ve uygulanan potansiyele karşı grafiğe (kare dalga voltamogramı) geçirilmektedir (Şekil 14) (22).



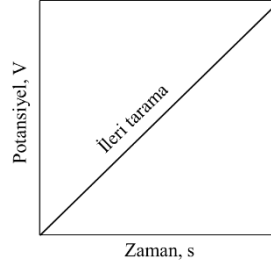
Şekil 14. KDV yönteminde (a) uyarma sinyalinin şekli ve (b) tersinmez bir reaksiyon için elde edilen voltamogram (Öztürk'den, 22)

Diferansiyel puls voltametrisine göre çok daha hızlı ve daha hassas bir yöntemdir. Hem ileri yönde hem de geri yönde akım uygulandığı ve elde edilen net akımın her iki akımdan daha büyük bir değere sahip olması sebebiyle analit pikleri daha kolay bir şekilde okunabilmekte, 10^{-7} ile 10^{-8} M gibi düşük tayin sınırları içinde yüksek doğruluk ve yüksek hassasiyet ile analiz yapılmasına olanak sağlamaktadır (22, 29).

4.11.4. Doğrusal Taramalı Voltametri

Bu yöntemde uygulanan potansiyel zaman ile doğrusal olarak artmaktadır. Zamana karşı potansiyel değişim hızı, tarama hızı olarak tanımlanmaktadır. Dönüşümlü voltametriye her iki yönde de tarama yapılabilirken doğrusal taramalı voltametriye yalnızca tek yönde tarama yapılabilir (Şekil 15) (22).

Doğrusal taramalı voltametri yönteminin hassasiyeti yaklaşık 10^{-6} M'dır (29).



Şekil 15. Doğrusal taramalı voltametri de uyarma sinyalinin şekli (Öztürk'den, 22)

4.11.5. Sıyırma Yöntemleri

Bu yöntemde mekanik bir karıştırıcı ve elektrokataliz yardımıyla belirli bir süre analitin elektrot üzerinde birikmesi sağlanır. Süre sonunda karıştırma ve elektrokataliz işlemi durdurularak tercih edilen voltametrik yöntem ile analitin elektrot yüzeyinden sıyırılması suretiyle analiz gerçekleştirilir.

- *Anodik sıyırma voltametrisi*; elektrot biriktirme işlemi sırasında katot, sıyırma işlemi sırasında anot olarak davranış gösterir.
- *Katodik sıyırma voltametrisi*; elektrot biriktirme işlemi sırasında anot, sıyırma işlemi sırasında katot olarak davranış gösterir.

Sıyırma yöntemleri konsantrasyon değişimlerine karşı daha hassas olmaları sebebiyle diğer voltametrik yöntemlerle karşılaştırıldığında en düşük gözlemlenebilme sınırlarını veren yöntemdir. Sıyırma yöntemleri ile 10^{-6} ile 10^{-9} M aralığındaki maddelerin nicel analizleri yapılabilmektedir (29).

Adsorptif sıyırma voltametrisi; belirli bir süre karışım halindeki bir analit çözeltisi içerisine daldırılan elektrot yüzeyinde adsorpsiyon kuvvetinin etkisiyle madde birikimi olmaktadır. Karışım hareketinin durdurulması sonucunda elektrot yüzeyinde biriken analitin voltametrik tekniklerden biri ile analizi yapılmaktadır. Gözlemlenebilme sınırı yaklaşık 10^{-10} ile 10^{-11} M civarındadır (29).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Akridin turuncusu (AT)	: Fluka, İsviçre
Alüminyum hidroksit $\text{Al}(\text{OH})_3$	: Merck, Almanya
Borik asit (H_3BO_3)	: %99.5, Aldrich, ABD
Fosforik asit (H_3PO_4)	: %85, d: 1.685 g mL^{-1} , Merck, Almanya
Glasiyal asetik asit (CH_3COOH)	: %100, d: 1.049 g mL^{-1} , Aldrich, Almanya
Guaifenesin (GUF)	: Sigma-Aldrich, ABD
Na_2HPO_4	: Aldrich, Almanya
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	: Merck, Almanya
Sodyum hidroksit (NaOH)	: $\geq\%98$ saflıkta, Aldrich, Çekya

5.2. Kullanılan Cihazlar ve Programlar

Buzdolabı	: Profilo BD2046W2NN model (Türkiye)
Çalışma elektrotu (CKE)	: BASİ marka
Karşıt elektrot (Platin tel)	: BASİ marka
Manyetik karıştırıcı	: Heidolph MR Hei Standart model (Almanya)
Mikropipet	: Isolab (Almanya) ve Socorex (İsviçre)
NOVA	: Versiyon 1.11 ile analiz sonuçlarının değerlendirilmesi yapıldı.
pH kalibrasyon çözeltileri (pH 4 ve pH 7)	: Merck, Almanya
pH metre	: HANNA HI2211 model (Romanya)
Referans elektrot(Ag/AgCl)	: BASİ marka
Saf Su/Ultra saf su cihazı	: Santorius arium proUV model ultra saf su cihazı ve Arium 61316 model saf su cihazı (Almanya)
Terazi	: Ohaus PA214C model (ABD)
Ultrasonik banyo	: Sonica 3300MH
Voltametri	: PGSTAT128N - Metrohm-Autolab (Hollanda)
Vortex	: Heidolph Reax Top model (Almanya)

5.3. Guaifenesin

Deneyisel çalışmamızda GUF'un Sigma-Aldrich firmasına ait saf etken madde formu (M_{GUF} :198.22 g/mol) ile Procter & Gamble firmasına ait ticari müstahzar Vicks Vaposyrup® Ekspektoran Şurup 200 mg/15mL 120 mL şişe olan formu kullanıldı.

Guaifenesin'in suda çözünürlüğünün iyi olması sebebiyle ana stok çözeltimiz ultra saf su ile hazırlandı.

5.3.1. Guaifenesin'in (GUF) Ana Stok Çözeltisinin Hazırlanması

1.0×10^{-3} M'lık ana stok çözeltinin hazırlanması için 10 mL'lik balon joje içinde hassas terazide 0.0020 g tartılan GUF'un hacmi ultra saf su ile 10 mL'ye tamamlandı. Vorteks ile karıştırılan çözelti ultrasonik banyoya alınarak 15 dk çözünmeye bırakıldı. Hazırlanan ana stok çözelti ışıktan korunacak şekilde buzdolabında +2 ile +4 °C'de saklandı. GUF çalışma çözeltileri, 1.0×10^{-3} M'lık ana stok çözeltiden belirlenen hacimde alınıp uygun tampon çözelti ile istenen hacme tamamlanarak hazırlandı.

5.4. Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisinin Hazırlanması

Deneysel çalışmamızda kullandığımız tampon çözeltilerin pH'sının ayarlanmasında kullanılan 5 M NaOH çözeltisinin hazırlanması için 10 g NaOH hassas terazide tartıldıktan sonra balon jojeye alınarak hacmi 50 mL'ye ultra saf su ile tamamlandı. Çözelti ultrasonik banyoda NaOH çözünene kadar bekletildi.

5.5. Britton-Robinson Tampon (BRT) Çözeltisinin Hazırlanması

500 ml 0.04 M BRT çözeltisi hazırlamak için 1.35 mL H_3PO_4 , 1.14 mL CH_3COOH ve 1.24 g H_3BO_3 alınarak balon joje içerisine konuldu. Ultra saf su ile hacmi tamamlandı. 5 M NaOH kullanılarak pH 5.0, 6.0, 7.0 ve 8.0 olacak şekilde ayarlandı.

5.6. Fosfat Tampon (FT) Çözeltisinin Hazırlanması

Her bir pH değeri için Tablo 2'de belirtilen miktarlar kadar Na_2HPO_4 ve $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ tartılıp 100 mL'lik balon jojeye alındı. Ultra saf su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 5 M NaOH kullanılarak pH ayarlaması yapıldı.

Tablo 2. 0.1 M, 100 mL FT çözeltisi hazırlanmasında her bir pH değeri için kullanılan Na_2HPO_4 ve $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ miktarları

pH	Na_2HPO_4 (Ma:141.96 g)	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (Ma:156.02 g)
5.5	0.0274 g	1.531 g
6.0	0.0823 g	1.47 g
7.0	0.541 g	0.965 g
8.0	1.220 g	0.218 g

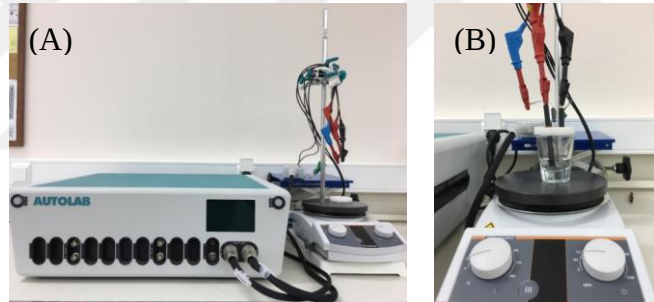
Polimerizasyon için kullanılan pH 5.5, 0.025 M FT hazırlamak için 0.0070 g Na_2HPO_4 ve 0.3820 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100 mL'lik balon jojeye alındı ve hacmi ultra saf su ile tamamlandı. 5 M NaOH kullanılarak pH ayarlaması yapıldı.

Hazırladığımız tampon çözeltiler oda sıcaklığında hazırlandı ve buzdolabında +2 ile +4 °C'de saklandı. Kullanılmadan önce buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi bekledi.

5.7. Voltametri Cihazı ve Elektrot Sistemi

Deneysel çalışmamızda potansiyostat/galvanostat cihazı ile birlikte üç elektrotlu hücre sistemi kullanıldı. Bu elektrotlar;

1. Referans elektrot: Ag/AgCl
2. Karşıt elektrot: Platin tel
3. Çalışma elektrotu: AT ile modifiye edilmiş CKE



Resim 1. (A) Potansiyostat/galvanostat cihazı ve (B) üç elektrotlu hücre sistemi

5.7.1. Akridin Turuncusu (AT) Çözeltisinin Hazırlanması

Camsı karbon elektrodun yüzeyinin kaplanmasında kullanılacak olan 0.5 mM AT'nin 0.025 M FT pH 5.5 içerisinde 10 mL'lik çözeltisi hazırlandı. Bunun için önce AT'den (M_a :369.96 g/mol) hassas terazi ile 0.0019 g tartılarak 0.025 M FT pH 5.5 ile hacmi balon jojede 10 mL'ye tamamlandı. Tamamlama işleminden sonra AT ile FT'nin tam ve eşit bir şekilde karışmasını sağlamak amacıyla magnet yardımıyla yarım saat karıştırılmaya bırakıldı.

5.7.2. Akridin Turuncusu'nun (AT) Elektropolimerizyonu ile Camsı Karbon Elektrot'un (CKE) Kaplanması

Camsı karbon elektrodun yüzeyi, saf su ile ıslatıldıktan sonra $\text{Al}(\text{OH})_3$ konulmuş bir parlatma bezi üzerinde 8 hareketinin tekrarlanması (30 kez) ve ardından CKE'nin saf su ile yıkanması ile temizlendi. Temizleme işleminden sonra elektrota -0.6 V ile +1.2 V aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızı ile pH 5.5 0.025 M FT içerisinde 10 döngü ile polimerizasyon öncesi elektrokimyasal işlem uygulandı. CKE'nin modifiye edilmesi amacıyla, DV kullanılarak -0.3 V ile +1.2 V aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında AT içeren çözelti içinde 20 döngü olacak şekilde polimerizasyon işlemi yapıldı. Modifikasyon işlemi bittikten sonra AT ile kaplanmış CKE 0.025 M FT içerisinde 15 dk bekletildi. 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı (14). Modifiye elektrota poli(AT) modifiye CKE ismi verildi.

5.7.3. Poli(AT) Modifiye CKE'nin Aktivasyonu

Modifiye elektrotun deneysel çalışmaya başlamadan önce aktive edilmesi gerekmektedir. Bunun için;

- Aynı tampon çözelti içerisinde (0.025 M FT pH 5.5),
- Aynı potansiyel aralığında (-0.3 V ile +1.2 V),
- Aynı tarama hızında (100 mV s^{-1}),
- 30 döngü olacak şekilde DV ile aktivasyon işlemi yapıldı.

Modifiye elektrotun kaplama işlemi ile yüzey modifikasyonu yapıldığı için bundan sonra yapılacak olan deneysel çalışmalarda $\text{Al}(\text{OH})_3$ ile temizleme işlemi yapılmadı. Temizlik işlemi, DV ile aynı çalışma potansiyel aralığında üç döngü olacak şekilde yapıldı.

5.8. Voltametrik Çalışmalar

5.8.1. pH Taraması

pH taraması BRT ve FT çözeltileri ile pH 5.0 ve 8.0 aralığında yapıldı. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ile elektrokimyasal analiz çalışmaları için en uygun tampon ve pH'ye karar verildi.

Çalışmada kullanılan $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ çalışma çözeltisinin hazırlanması için $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ GUF ana stok çözeltisinden 0.5 mL (500 μL) alınarak hacmi tampon çözelti

ile 5 mL'ye tamamlandı ve vorteks yardımıyla eşit bir şekilde karışması sağlandı. BRT için pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 ve FT için pH 5.5, 6.0, 7.0, 8.0 çözeltileri kullanıldı. Poli(AT) modifiye CKE'nin yüzey kararlılığının korunması için pH 5.0-8.0 aralığında çalışıldı (32).

pH taraması, +0.2 V ile +1.45 V potansiyel aralığında DV, DPV ve KDV olmak üzere 3 farklı yöntem kullanılarak yapıldı. Daha öncede belirtildiği gibi, polimer kaplı elektrot kullanıldığı için mekanik temizlik yapılmayıp her ölçüm öncesinde elektrot sadece kimyasal olarak temizlendi. Temizlik işleminden sonra DV, DPV ve KDV ile etken madde içeren çözeltiden ölçüm alındı.

pH taraması çalışması ile elde edilen pikler okunarak sonuçlar değerlendirildi ve en uygun tampon belirlendi. Bu değerlendirmeler yapılırken piklerin şekli, piklerin yüksekliği ve girişim olup olmadığı göz önünde bulunduruldu.

5.8.2. Hız Taraması

Guaifenesin'in elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü mü yoksa adsorpsiyon kontrollü mü olduğunu belirlemek için hız taraması çalışması yapıldı.

Hız taraması çalışması, DV ile +0.5 V ile +1.45 V potansiyel aralığında 1.0×10^{-4} M GUF çalışma çözeltisi ile yapıldı. Her ölçüm öncesinde elektrotun temizliği pH taraması bölümünde anlatıldığı gibi yapıldı. pH taraması sonuçları göz önüne alınarak seçilen 0.04 M BRT pH 5.0 ve 0.04 M BRT pH 7.0 tamponu ile hız taraması çalışması yapıldı. Bu çalışmada 200, 150, 100, 75, 50, 25, 10 ve 5 mV s^{-1} olmak üzere sekiz farklı tarama hızı kullanıldı.

Hız taraması çalışması sonucunda;

1. Tarama hızına karşı pik akımı grafiği,
2. Tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafiği,
3. Tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiği çizildi.

Elde edilen grafiklerin değerlendirilmesi sonucunda reaksiyonunun difüzyon kontrollü mü yoksa adsorpsiyon kontrollü mü olduğuna karar verildi.

5.8.3. Sıyırma Voltametrisi Parametreleri

Guaifenesin'in poli(AT) modifiye CKE ile kantitatif analiz çalışmaları diferansiyel puls sıyırma voltametrisi (DPSV) ve kare dalga sıyırma voltametrisi (KDSV) yöntemleri ile araştırıldı.

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV için sıyırma süresi ve sıyırma potansiyelinin optimizasyonu çalışmaları yapıldı. Bu amaçla, BRT pH 7.0 ortamında 6.0×10^{-5} M GUF çalışma çözeltisi kullanıldı.

Her iki yöntem için, optimum biriktirme potansiyelini belirlemek amacıyla çalışma çözeltisine 60 s süresince 100 rpm'lik karıştırma ile sırasıyla 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 0.9, 1.0 ve 1.2 V biriktirme potansiyelleri uygulandı. Süre sonunda karıştırma işlemi durdurularak +0.7 ile +1.4 V potansiyel aralığında sıyırma yapıldı. Elde edilen piklerin akım değerleri ve şekilleri göz önünde bulundurularak her iki yöntem için optimum biriktirme potansiyeli seçildi.

Seçilen biriktirme potansiyeli sabit tutularak 6.0×10^{-5} M GUF'un 0.04 M BRT pH 7.0 içerisindeki çözeltisi kullanılarak biriktirme süresi 15, 30, 60, 90, 120, 180 ve 200 s olarak değiştirildi. Elde edilen GUF cevapları incelendiğinde her iki yöntem için piklerin akım değerleri ve şekilleri değerlendirilerek optimum biriktirme süresi seçildi.

5.8.4. Kalibrasyon Çalışması

Guaifenesin etken maddesi için kalibrasyon çalışması DPSV ve KDSV olmak üzere iki yöntem ile yapıldı. GUF konsantrasyonlarındaki artışa karşı elde edilen pik akımındaki değişimler incelenerek korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Bunun için önce 1.0×10^{-3} M'lık GUF ana stok çözeltisinden hareketle 1.0×10^{-4} , 1.0×10^{-5} ve 1.0×10^{-6} M'lık ara stok çözeltileri hazırlandı. Çalışma çözeltileri 0.04 M BRT pH 7.0 tamponu kullanılarak hazırlandı. Çalışma çözeltilerinin konsantrasyonu 1.0×10^{-8} , 2.0×10^{-8} , 4.0×10^{-8} , 6.0×10^{-8} , 8.0×10^{-8} , 1.0×10^{-7} , 2.0×10^{-7} , 4.0×10^{-7} , 6.0×10^{-7} , 8.0×10^{-7} , 1.0×10^{-6} , 2.0×10^{-6} , 4.0×10^{-6} , 6.0×10^{-6} , 8.0×10^{-6} , 1.0×10^{-5} , 2.0×10^{-5} , 4.0×10^{-5} , 6.0×10^{-5} , 8.0×10^{-5} ve 1.0×10^{-4} M olarak belirlendi. Ölçümlere, en düşük konsantrasyon olan 1.0×10^{-8} M'lık GUF çalışma çözeltisinden başlandı ve sırasıyla en yüksek konsantrasyona doğru her bir çalışma çözeltisinin ölçümü alındı. Optimum biriktirme süresi ve biriktirme potansiyelinde DPSV ve KDSV ile +0.7 ile +1.4 V aralığında voltamogramlar alındı. Temizlik işlemi DV ile -0.4 V ile +1.45 V aralığında 3 döngü

olacak şekilde yapıldı. Her iki yöntem için ayrı ayrı olmak üzere ölçümler sonucunda elde edilen pik akım değerleri GUF konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilerek r değeri ve kalibrasyon denklemi belirlendi.

Kalibrasyon çalışmalarından sonra teşhis sınırı (TS) ve tayin alt sınırı (TAS) çalışması yapıldı. Bu amaçla her iki yöntem için 4×10^{-7} M çalışma çözeltisi kullanıldı. TS için $3(S/m)$ eşitliği ve TAS için $10(S/m)$ eşitliği kullanılarak sonuçlar hesaplandı. Eşitliklerde, s; üç değer üzerinden elde edilen 4×10^{-7} M GUF çalışma çözeltisi pik akım değerlerinin standart sapması ve m; ilgili yöntemin kalibrasyon denkleminin eğim değeridir (33).

5.8.5. Tekrar Edilebilirlik Çalışması

Guaifenesin için önerilen DPSV ve KDSV yöntemlerinin kesinliğini belirlemek için gün içi ve günler arası olmak üzere tekrar edilebilirlik deneyleri yapıldı. poli(AT) modifiye CKE ile yapılan tekrar edilebilirlik çalışmaları hem GUF pik akım değerleri hem de GUF pik potansiyel değerleri için gün içi ve günler arası olmak üzere her iki yöntem için ayrı ayrı yapıldı. Tekrar edilebilirlik deneyleri için 0.04 M BRT pH 7.0 ortamında 6.0×10^{-5} M GUF çalışma çözeltisi kullanıldı. Her ölçüm öncesinde elektrot yüzeyi pH taraması bölümünde bahsedildiği şekilde temizlendi.

Tekrar edilebilirlik çalışması için öncelikle 6.0×10^{-5} M GUF çalışma çözeltilerinden DPSV ve KDSV yöntemleri ile gün içinde ölçümler alındı. Her bir yöntem için ayrı ayrı olmak üzere voltamogramların pik akımı ve pik potansiyeli verilerinden beş değer seçilerek bu beş değerlerin ortalaması, standart sapması ve yüzde bağıl standart sapması hesaplandı. Günler arası tekrar edilebilirlik çalışmasında ise, çalışma çözeltisinden farklı günlerde alınan pik akımı ve pik potansiyeli verilerinden beş değer seçildi (Eşitlik 4).

$$\%BSS = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 / (n-1)}}{\bar{x}} \times 100 \quad (4)$$

%BSS: %bağıl standart sapmayı, S: Standart sapmayı, x_i : i'nci ölçümün sayısal değerini ve $\bar{x}$: n sayıdaki ölçümün aritmetik ortalamasını ifade etmektedir.

5.8.6. Guaifenesin'in (GUF) Farmasötiklerden Tayini

Guaifenesin etken maddesinin ticari farmasötik formu olan Vicks VapoSyrup® Ekspektoran Şurup 200 mg/15mL 120 mL formu kullanıldı. 1.0×10^{-3} M'lık ana stok çözelti hazırlamak için şurup formülasyonundan 149 µL alınarak ultra saf su ile balonjojede 10 mL'ye tamamlandı ve ultrasonik banyoda 10 dk bekletildi.

Farmasötiklerden tayin çalışması için her iki yöntemin kalibrasyon çalışması ile elde edilen doğrusallık aralığı içinde bulunan 6.0×10^{-5} M GUF çalışma çözeltisi kullanıldı. Üç adet 6.0×10^{-5} M GUF çalışma çözeltisi, 1.0×10^{-3} M farmasötik ana stok çözeltisinden 300 µL alınıp 0.04 M BRT pH 7.0 ile 5 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Her bir ölçüm öncesinde elektrot yüzeyi pH taraması bölümünde bahsedildiği şekilde temizlendi. Çalışma çözeltilerinden her iki yöntem için elde edilen voltamogramların akım değerlerinin ortalama, standart sapma ve yüzde bağıl standart sapma değerleri beşer değer üzerinden hesaplandı.

5.8.7. Geri Kazanım Çalışması

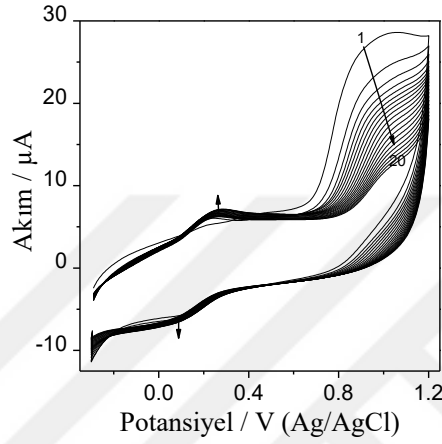
Geliştirilen DPSV ve KDSV yöntemlerinin doğruluğunu test etmek amacıyla geri kazanım çalışması yapıldı. GUF'un farmasötik dozaj formu olan Vicks VapoSyrup® Ekspektoran Şurup 200 mg/15mL 120 mL formundan hazırlanan ilaç çözeltisine, saf etken madde stok çözeltisinden bilinen miktarda ilave edilerek toplam çözelti konsantrasyonu tayin edildi.

Yukarıda bahsedilen çalışma için GUF'un 1×10^{-3} M farmasötik stok çözeltisinden 0.6 mL alındı ve üzerine 1×10^{-3} M saf stok çözeltisinden 0.2 mL ilave edildi. Toplam hacim 10 mL'ye 0.04 M BRT pH 7.0 ile tamamlandı. DPSV ve KDSV için üçer adet çalışma çözeltisi hazırlanıp her iki yöntem için ayrı ayrı olmak üzere pik akım değerleri okundu. Bu yöntemler ile elde edilen voltamogramlardan beşer değer seçilerek yüzde geri kazanım değerleri hesaplandı.

6. BULGULAR

6.1. Akridin Turuncusu'nun (AT) Elektropolimerizasyonu ile Camsı Karbon Elektrot (CKE) yüzeyinin kaplanması

Camsı karbon elektrodun GUF'un voltametrik tayininde etkin bir şekilde kullanımını sağlamak amacıyla öncelikle AT'nin elektropolimerizasyonu ile CKE modifiye edildi (Şekil 16).



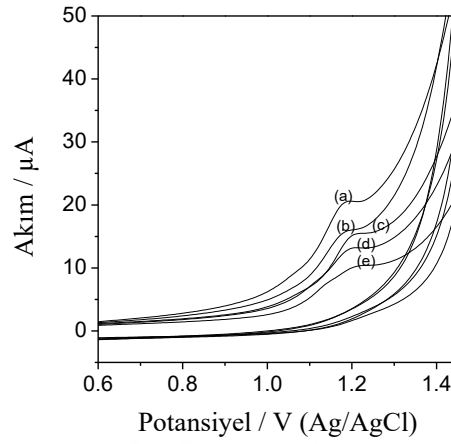
Şekil 16. AT'nin elektropolimerizasyonu ile CKE'nin modifiye edilmesine ait dönüşümlü voltamogramlar

Polimerizasyon sırasında dönüşümlü voltamogramlarda sırasıyla +0.95 ve +0.28 V civarında AT monomer radikali ve poli(AT) polimere ait iki yükseltgenme ve +0.18 V civarında ise bir indirgenme piki görüldü (Şekil 16). Polimerin oksidasyon ve redüksiyon piki +0.2 V civarındadır. Döngüler arttıkça AT polimerine ait yükseltgenme ve indirgenme piklerinin akım değerleri arttı ve sırasıyla +0.28 ve +0.18 V potansiyele doğru kayma gösterdi. Bu sonuç, polimerizasyon işleminin başarılı bir şekilde yapıldığını gösterdi.

6.2. pH Etkisi ve Destek Elektrolit Seçimi

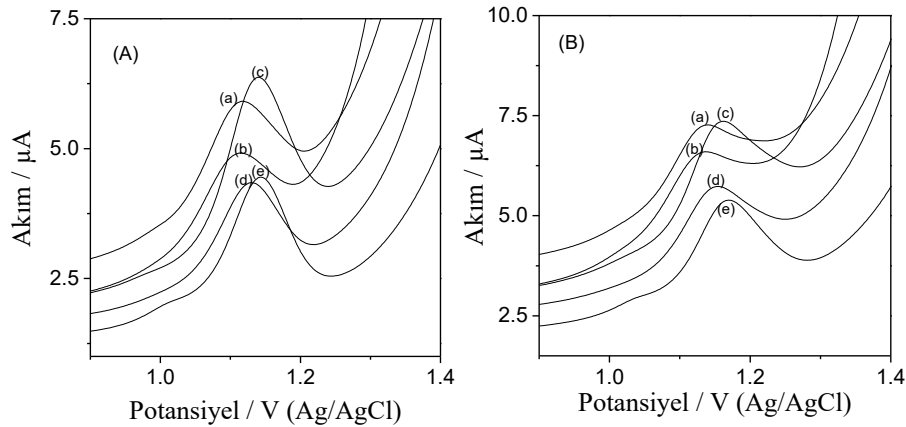
En uygun destek elektrolit çözeltisi ve pH'nin belirlenebilmesi için 0.04 M BRT ve 0.1 M FT olmak üzere 2 farklı tampon çözeltisi denendi. DV, DPV ve KDV yöntemleri ile 1×10^{-4} M GUF'un 0.04 M BRT için pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 ve 0.1 M FT için pH 5.5, 6.0, 7.0, 8.0 ortamındaki çalışma çözeltilerinin her biri için voltamogramları

alındı. Şekil 17 bazı tampon çözelti ortamındaki GUF'un dönüşümlü voltamogramlarını göstermektedir.



Şekil 17. (a) pH 7.0 FT, (b) pH 8.0 BRT, (c) pH 5.5 FT, (d) pH 7.0 BRT, (e) pH 6.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}

Şekil 17'deki voltamogramdan da görüldüğü gibi GUF'un poli(AT) modifiye CKE ile sadece yükseltgenme yönünde bir pik elde edilirken indirgenme yönünde herhangi bir pik görülmedi. DPV ve KDV yöntemlerinin pH taramasına ait voltamogramları Şekil 18'de gösterildi.



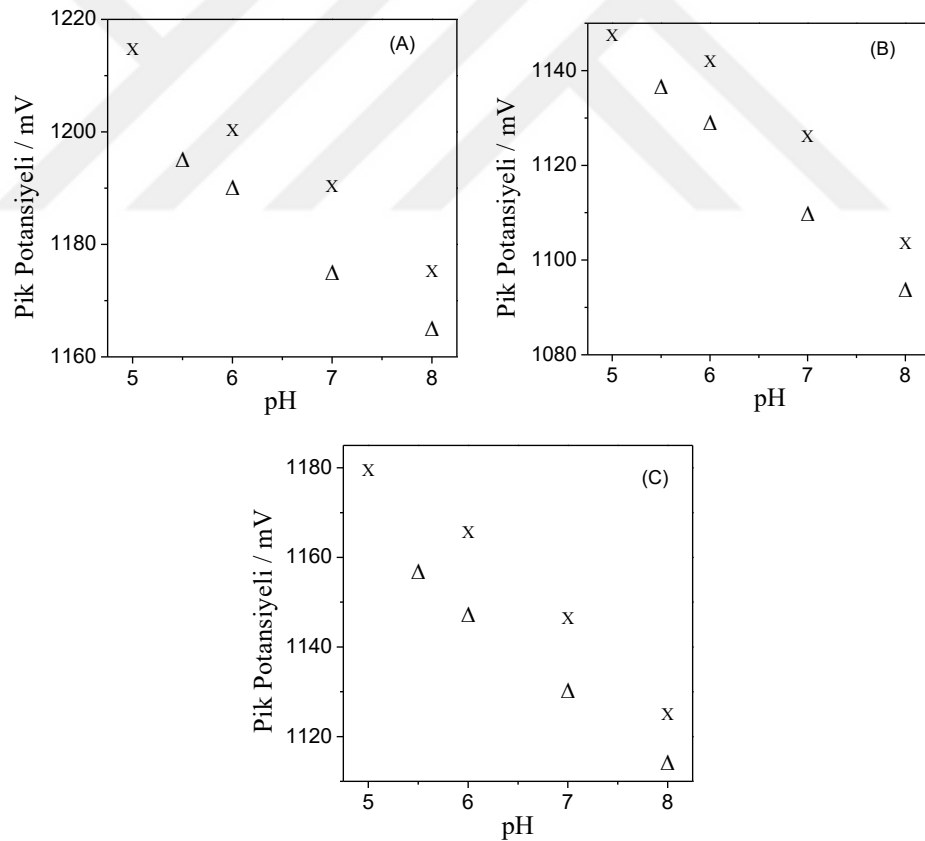
Şekil 18. (a) pH 7.0 FT, (b) pH 8.0 BRT, (c) pH 5.5 FT, (d) pH 7.0 BRT, (e) pH 6.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un (A) DPV (B) KDV voltamogramları

Dönüşümlü voltametri, DPV ve KDV yöntemleri için tampon pH'sine karşı pik potansiyeli değişimi Şekil 19'da gösterildi. GUF'un pik potansiyelinin pH arttıkça daha negatif değerlere kaydığı ve pH 5.0-8.0 arasında doğrusallığın olduğu görüldü. Eşitlik 5, 6 ve 7'de, pH 5.0-8.0 arasında GUF pik potansiyeline karşı pH grafiklerinin doğrusallık denklemleri gösterilmiştir.

$$\text{DV için: } E_p (\text{mV}) = 1279.2 - 12.9 \text{ pH} \quad (r=0.995) \quad (5)$$

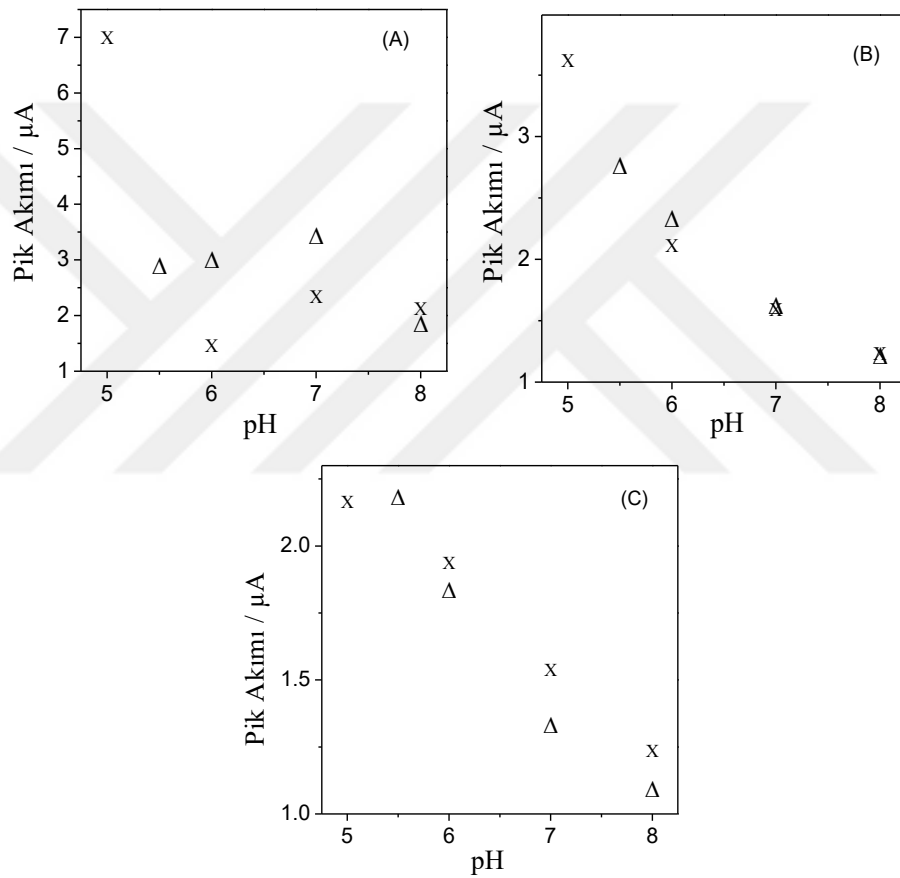
$$\text{DPV için: } E_p (\text{mV}) = 1235.5 - 17.8 \text{ pH} \quad (r=0.998) \quad (6)$$

$$\text{KDV için: } E_p (\text{mV}) = 1272.9 - 18.2 \text{ pH} \quad (r=0.992) \quad (7)$$



Şekil 19. (A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile BRT ve FT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un pH'ye karşı pik potansiyeli grafikleri. x: BRT, Δ: FT

Guaifensin'in farklı tampon ve pH'lerdeki DV, DPV ve KDV yöntemleri ile elde edilen pik akım değerleri pH'ye karşı grafiğe geçirildi (Şekil 20). Her bir yöntem için çizilen grafikler ve pik simetrisi dikkate alınarak değerlendirme yapıldı. Şekil 20'de görüldüğü gibi pH 7'nin altındaki bölgede daha yüksek pik akımları elde edilmesine rağmen DV piklerinde omuzlanmalar söz konusu olduğu için en yüksek pik akımının ve en simetrik pikin elde edildiği 0.04 M BRT pH 7.0 ortamı optimum destek elektrolit olarak seçildi ve sonraki çalışmalarda bu tamponun kullanılmasına karar verildi.

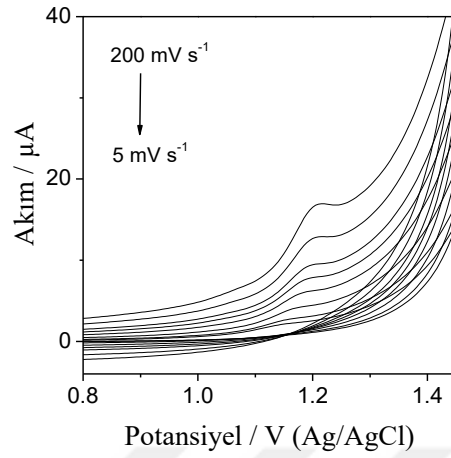


Şekil 20. (A) DV, (B) DPV, (C) KDV yöntemleri ile BRT, FT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF'un pH'ye karşı pik akımı grafikleri. x: BRT, Δ : FT

6.3. Hız Taraması

Hız taraması çalışmasında 1×10^{-4} M GUF'un 0.04 M BRT pH 7.0 içerisinde hazırlanan 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

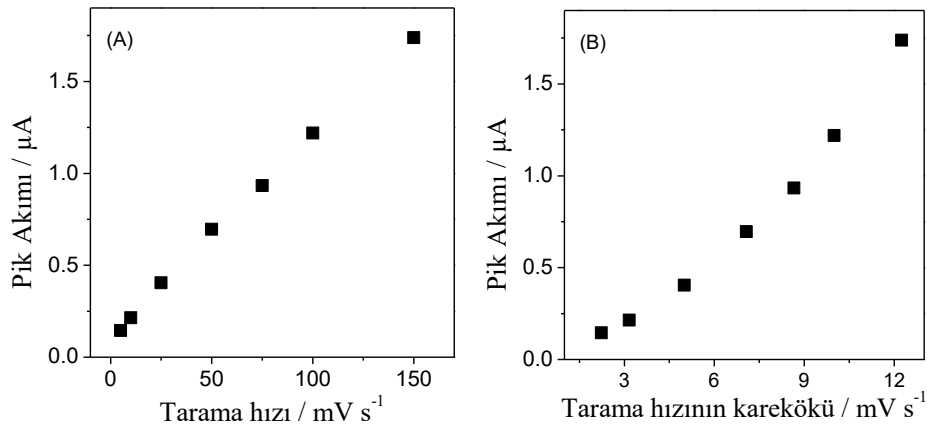
GUF voltamogramları Şekil 21’de gösterildi. Her bir dönüşümlü voltamogramın pik akımı ve pik potansiyeli değerleri okundu.



Şekil 21. pH 7.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF’un hız taramasına ait dönüşümlü voltamogramları

Guaifensin’in pik akım değerleri (I_p), tarama hızına karşı (v) (Şekil 22 (A)) ve tarama hızının kareköküne karşı ($v^{1/2}$) (Şekil 22 (B)) grafiğe geçirildi. Şekil 22’de I_p - v grafiği doğrusal bir değişim gösterirken I_p - $v^{1/2}$ grafiği doğrusal bir değişim göstermedi. Bu sonuçlar göz önünde bulundurularak GUF’un yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlendi.

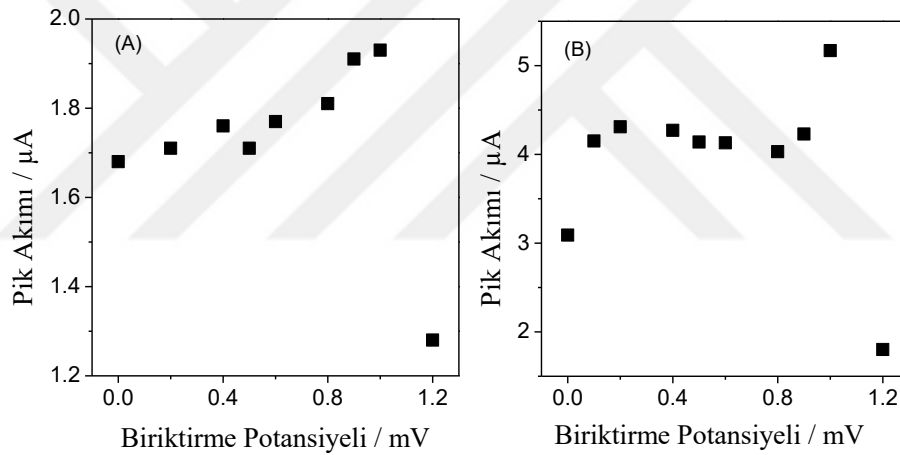
$$I_p (\mu A) = 0.0012 v (mV s^{-1}) + 0.08 (r=0.995) \quad (8)$$



Şekil 22. pH 7.0 BRT içerisindeki 1×10^{-4} M GUF’un DV ile elde edilen (A) tarama hızına ve (B) tarama hızının kareköküne karşı pik akım grafikleri

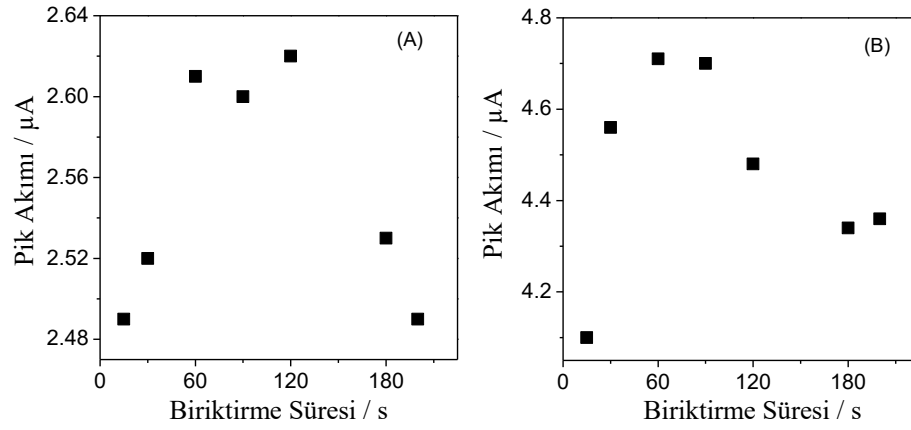
6.4. Sıyırma Parametrelerinden Biriktirme Süresi ve Biriktirme Potansiyelinin Optimizasyonu

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV ile GUF'un kantitatif analiz çalışması öncesinde biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi optimize edildi. Bu doğrultuda öncelikle 6×10^{-5} M GUF'un 0.04 M BRT pH 7.0 ortamında çalışma çözeltisi hazırlandı. Öncelikle biriktirme potansiyeli daha sonra biriktirme süresi optimize edildi. Biriktirme potansiyeli çalışması DPSV ve KDSV yöntemleri için ayrı ayrı yapıldı ve DPSV için +1.0 V optimum potansiyel olarak seçildi. KDSV için de en yüksek pik akım değeri +1.0 V'ta elde edilmiş olmasına rağmen piklerin girişim göstermesi sebebiyle en uygun ikinci sonuç olan +0.2 V optimum potansiyel olarak seçildi. Şekil 23'te DPSV ve KDSV için biriktirme potansiyeline karşı pik akımı grafikleri gösterildi.



Şekil 23. (A) DPSV ve (B) KDSV biriktirme potansiyeline karşı pik akım grafiği

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV yöntemleri için optimum biriktirme potansiyelinin belirlenmesinin ardından bu potansiyeller sabit tutularak 15 ile 200 sn aralığında değişen sürelerde biriktirme süresinin optimizasyonu çalışması yapıldı. Çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde en yüksek pik akım değerleri ve en düzgün pik göz önüne alındı. Her iki yöntem optimum biriktirme süresi 60 s olarak seçildi. Şekil 24'te DPSV ve KDSV için biriktirme süresine karşı pik akımı grafikleri gösterildi.

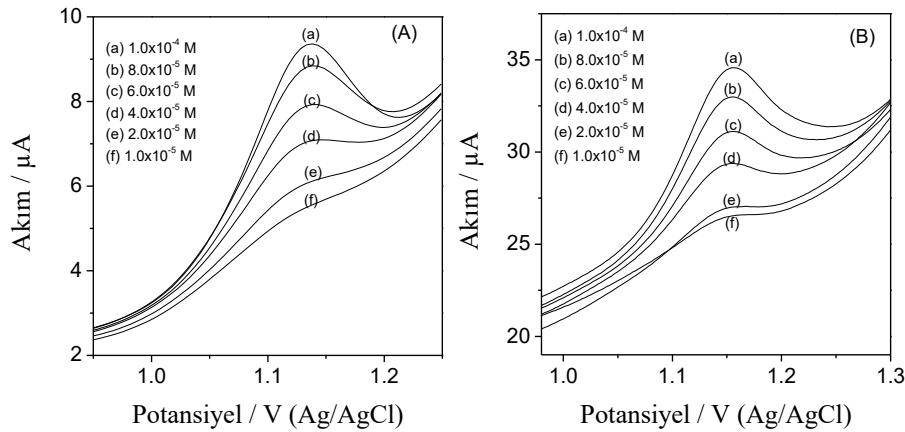


Şekil 24. (A) DPSV ve (B) KDSV biriktirme süresine karşı pik akım grafiği

6.5. Kalibrasyon Çalışması

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV yöntemleri için biriktirme süresi ve biriktirme potansiyelinin optimizasyonundan sonra GUF'un kalibrasyon çalışması yapıldı. Her bir yöntemde 21 çözelti ile çalışıldı. DPSV ve KDSV için ayrı ayrı her bir konsantrasyona ait pik akım değerleri okundu.

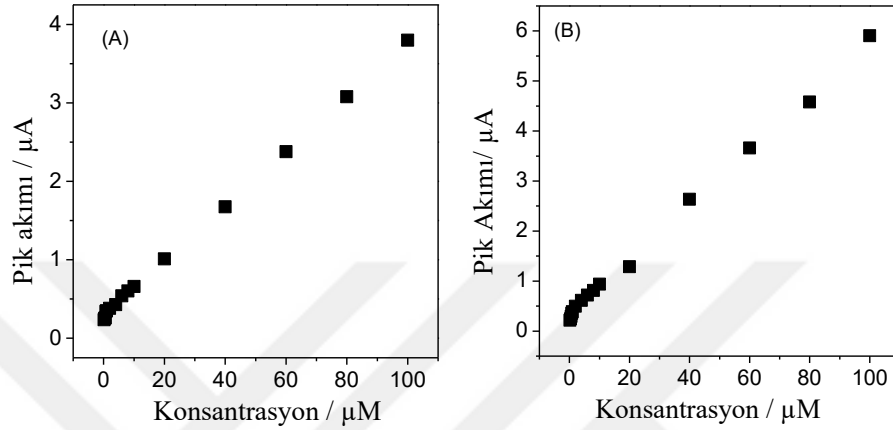
Şekil 25'te kalibrasyon çalışmasında elde edilen farklı konsantrasyonlardaki GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleri elde edilen voltamogramları gösterildi.



Şekil 25. Farklı konsantrasyonlardaki GUF'un DPSV (A) ve KDSV (B) yöntemleri ile elde edilen voltamogramları

Kalibrasyon çalışmasında DPSV ve KDSV yöntemleri ile elde edilen voltamogramların pik akım değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Şekil 26'da

DPSV ve KDSV yöntemleri için konsantrasyona karşı pik akımındaki değişim grafikleri verildi. Her iki yöntem içinde doğrusallığın gözlemlendiği konsantrasyon aralığı tespit edildi. DPSV ve KDSV yöntemlerine ait kalibrasyon grafiklerinden elde edilen sonuçlar Tablo 3'te verildi.



Şekil 26. (A) DPSV ve (B) KDSV yöntemleri ile elde edilen konsantrasyona karşı pik akım grafikleri

Tablo 3. Poli(AT) modifiye CKE kullanılarak GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleri ile elde edilen kalibrasyon verileri

	DPSV	KDSV
Pik potansiyeli (mV)	1125	1145
Doğrusallık aralığı (μM)	0.2 – 100	0.2 – 100
Eğim (μA μM ⁻¹)	$3.5 \times 10^{-2} \pm 1.11 \times 10^{-3}$	$5.52 \times 10^{-2} \pm 7.47 \times 10^{-4}$
Kesim noktası (μA)	$-2.86 \times 10^{-1} \pm 1.25 \times 10^{-2}$	$3.18 \times 10^{-1} \pm 2.87 \times 10^{-2}$
Korelasyon katsayısı, (r)	0.999	0.998
Teşhis sınırı (TS) (μM)	5.78×10^{-2}	6.17×10^{-2}
Tayin alt sınırı (TAS) (μM)	1.75×10^{-1}	1.87×10^{-1}

6.6. Tekrar Edilebilirlik

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV yöntemlerinin kesinliğini belirlemek için yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik çalışmalarında 0.04 M BRT pH 7.0 ortamında hazırlanan 6×10^{-5} M'lık GUF çalışma çözeltisi kullanıldı. Gün içi ve günler arası üçer adet 6×10^{-5} M'lık GUF çalışma çözeltisinin her iki yöntem için ayrı ayrı voltamogramları alındı. Bu voltamogramların pik akımı ve pik potansiyeli değerleri okunarak beş değer üzerinden %BSS değerleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4'te gösterildi.

Tablo 4. 6×10^{-5} M GUF çözeltisi için DPSV ve KDSV yöntemlerinden elde edilen tekrar edilebilirlik verileri

		DPSV		KDSV	
		Gün İçi	Günler Arası	Gün İçi	Günler Arası
Pik potansiyeli	Veriler	1.1281	1.1281	1.1492	1.1492
		1.1230	1.1230	1.1468	1.1492
		1.1230	1.1230	1.1468	1.1468
		1.1230	1.1230	1.1468	1.1468
		1.1230	1.1281	1.1468	1.1468
	Ortalama	1.1240	1.1250	1.1473	1.1478
	S	0.0023	0.0028	0.0011	0.0013
	%BSS	0.20	0.25	0.09	0.11
	Veriler	2.63×10^{-6}	2.63×10^{-6}	3.69×10^{-6}	3.69×10^{-6}
		2.60×10^{-6}	2.63×10^{-6}	3.69×10^{-6}	3.70×10^{-6}
Pik akımı		2.63×10^{-6}	2.62×10^{-6}	3.70×10^{-6}	3.73×10^{-6}
		2.62×10^{-6}	2.60×10^{-6}	3.73×10^{-6}	3.70×10^{-6}
		2.62×10^{-6}	2.65×10^{-6}	3.74×10^{-6}	3.79×10^{-6}
	Ortalama	2.62×10^{-6}	2.62×10^{-6}	3.71×10^{-6}	3.72×10^{-6}
	S	1.11×10^{-8}	1.73×10^{-8}	2.49×10^{-8}	4.40×10^{-8}
	%BSS	0.42	0.66	0.67	1.18

6.7. Farmasötik Bileşiklerden Tayin ve Geri Kazanım Çalışması

Guaifenesin'in farmasötik formu olan Vicks Vaposyrup® Ekspektoran Şurup 200 mg/15ml 120 ml şişe kullanılarak DPSV ve KDSV yöntemlerinin doğruluğunu kanıtlamak için GUF'un farmasötik bileşiklerden tayin çalışması yapıldı. Her iki yöntem için de üçer adet 6×10^{-5} M GUF'un, 0.04 M BRT pH 7.0 ortamında hazırlanan çözeltilerin voltamogramları alındı. Her bir voltamogramın pik akım değerleri ve ilgili kalibrasyon denklemi kullanılarak çözelti içerisindeki GUF miktarı hesaplandı ve farmasötik formdaki miktar ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 5'te gösterildi.

Tablo 5. Poli(AT) modifiye CKE kullanılarak 6×10^{-5} M GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleriyle elde edilen farmasötik dozaj formundan tayin verileri

	DPSV	KDSV
Şurup GUF miktarı (mg/15 mL)	200.00	200.00
	199.42	201.14
Bulunan GUF miktarı (mg/15 mL)	198.80	199.98
	198.95	200.53
	201.11	199.58
	200.25	200.10
Bulunan ortalama GUF miktarı (mg/15 mL)	199.71	200.27
S	0.97	0.59
%BSS	0.48	0.30

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV yöntemleri ile geri kazanım çalışması için GUF farmasötik dozaj formu olan Vicks Vaposyrup® Ekspektoran Şurup'tan hazırlanan 6×10^{-5} M'lık çözelti üzerine toplam GUF konsantrasyonu 8×10^{-5} M olacak şekilde saf GUF çözeltisi ilave edildi. DPSV ve KDSV yöntemleri ile voltamogramlar alındı ve her bir voltamogramın pik akım değerleri okundu. Elde edilen beş adet pik akım değerinden hesaplanan %geri kazanım ve %BSS verileri Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. Poli(AT) modifiye CKE kullanılarak 8×10^{-5} M GUF'un DPSV ve KDSV yöntemleri için geri kazanım çalışması verileri

	DPSV	KDSV
Eklenen GUF miktarı (mg)	7.93×10^{-2}	7.93×10^{-2}
Bulunan GUF miktarı (mg)	7.91×10^{-2}	7.94×10^{-2}
	7.88×10^{-2}	7.93×10^{-2}
	8.00×10^{-2}	7.94×10^{-2}
	7.95×10^{-2}	7.95×10^{-2}
	8.03×10^{-2}	7.98×10^{-2}
Bulunan ortalama GUF miktarı (mg)	7.95×10^{-2}	7.95×10^{-2}
%Ortalama geri kazanım	100.33	100.23
S	0.80	0.25
%BSS	0.80	0.25
%Bağıl hata	0.25	0.25

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Poli(AT) modifiye CKE ile GUF'un voltametrik analizi için öncelikle uygun destek elektrolit ve pH belirlendi. Bu amaçla DV, DPV ve KDV yöntemleri ile GUF'un farklı pH ve tampon ortamlarındaki voltamogramları alındı. Dönüşümlü voltamogramlar (Şekil 17) incelendiğinde, GUF'un sadece yükseltgenme yönünde pik verdiği, indirgenme yönünde pikinin olmadığı görüldü. Bu verilere dayanarak GUF'un redoks reaksiyonunun tersinmez olduğuna karar verildi.

pH'ye karşı pik potansiyeli grafiğine bakıldığında (Şekil 19) pH arttıkça pik potansiyelinin daha negatif değerlere kaydığı ve bazik bölgede GUF'un yükseltgenmesinin daha kolay gerçekleştiği sonucuna varıldı. Tampon ortamındaki hidronyum iyonu konsantrasyonu azaldıkça GUF daha kolay oksidasyona uğradığından pik potansiyelleri daha negatif değerlere doğru kaymaktadır.

Yine pH'ye karşı pik potansiyeli grafiklerinin pH 5.0 ile 8.0 arasında doğrusal olduğu görüldü ve bu doğruların eğim değeri (Eşitlik 5, 6, 7) DV, DPV ve KDV için sırasıyla -12.9, -17.8, -18.2 mV pH⁻¹ olarak bulundu. Bu değerler Nerst eşitliğindeki teorik -59.0 mV pH⁻¹ değerine eşit olmadığı için GUF oksidasyon reaksiyonunda eşit sayıda elektron ve protonun bulunmadığı sonucuna varıldı.

pH'ye karşı pik akımı grafiklerine bakıldığında GUF'un en simetrik ve en yüksek pik akımının elde edildiği 0.04 M BRT pH 7.0 ortamı seçildi. Bundan sonraki tüm çalışmalarda bu tampon ve pH kullanıldı.

Hız taraması çalışması, GUF'un oksidasyon reaksiyon karakterizasyonunu belirlemek için yapıldı. Poli(AT) modifiye CKE'de gerçekleşen GUF oksidasyonunun difüzyon kontrollü mü yoksa adsorpsiyon kontrollü mü olduğu belirlendi. 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, GUF'un oksidasyon reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiğini gösterdi.

Guaifenesin'in kantitatif analiz çalışmaları için DPSV ve KDSV yöntemlerinin sıyırma parametreleri optimize edildi. Bu doğrultuda biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi optimizasyonu çalışması yapıldı. Öncelikle biriktirme süresi 60 s'de sabit tutulup biriktirme potansiyeli optimize edildi. DPSV ve KDSV için en yüksek

GUF pik akımının elde edildiği 1.0 V ve 0.2 V biriktirme potansiyelleri seçildi (Şekil 23). Daha sonra her iki yöntem için ayrı ayrı biriktirme süreleri optimize edildi. Biriktirme süresi 60 s'ye kadar arttıkça pik akım değeri aynı oranda arttı ancak bu süreden sonra azalan oranlarda dağılım gösterdi (Şekil 24). Bu nedenle hem DPSV ve hem de KDSV yöntemleri için biriktirme süresi 60 s olarak seçildi.

Poli(AT) modifiye elektrot kullanılarak GUF'un kantitatif analizi için kalibrasyon çalışması yapıldı. 0.04 M BRT pH 7.0 ortamında artan konsantrasyonda GUF çözeltilerinin DPSV ve KDSV yöntemleri ile voltamogramları alındı. Konsantrasyona karşı GUF pik akım değerleri ile çizilen kalibrasyon grafiklerinde DPSV ve KDSV yöntemlerinin her ikisi için doğrusallık 2.0×10^{-7} M ile 1.0×10^{-4} M aralığında gözlemlendi. GUF'un TS DPSV için 5.78×10^{-8} M ve KDSV için 6.17×10^{-8} M olarak hesaplandı (Tablo 3).

Diferansiyel puls sıyırma voltametrisi ve KDSV yöntemlerinin kesinliğini belirlemek için tekrar edilebilirlik çalışması yapıldı. Her iki yöntem için GUF'un üç adet 6×10^{-5} M'lık çalışma çözeltileri hazırlandı. Her iki yöntemle bu çözeltilerin voltamogramları alınıp pik akımı ve pik potansiyeli değerleri okundu. Tablo 4'te gösterilen %BSS değerleri DPSV ve KDSV yöntemleri için sırasıyla gün içi pik akımı için %0.42 ve %0.67; günler arası pik akımı için %0.66 ve %1.18'dir. Pik potansiyeli için %BSS değerleri ise %0.25 ile %0.09 arasında değişmektedir. Bu sonuçlar bize DPSV ve KDSV yöntemlerinin kesinliğinin iyi olduğunu gösterdi.

Guaifenesin'in kantitatif analizi için uygulanan DPSV ve KDSV yöntemlerinin doğruluğunu kanıtlamak için farmasötik dozaj formlarından tayin ve geri kazanım çalışması yapıldı. GUF'un farmasötik dozaj formu olan Vicks Vaposyrup® Ekspektoran şurupta beyan edilen 200 mg miktar DPSV ile 199.71 mg, KDSV ile 200.27 mg olarak sırasıyla %0.48 ve %0.30'luk %BSS ile tayin edildi (Tablo 5). Farmasötik dozaj formundan hazırlanan çözelti üzerine bilinen miktarda ilave edilen saf GUF çözeltisi kullanılarak yapılan tayinde %geri kazanım değerleri DPSV ile %100.33 ve KDSV ile %100.23 olarak elde edildi. GUF etken maddesi poli(AT) modifiye CKE kullanılarak oldukça memnun edici sonuçlarla farmasötiklerden tayin edildi. GUF'un, şurup formunda bulunan etken madde dışındaki yardımcı maddelerden etkilenmeden tayin edildiği görüldü.

Guaifenesin'in bu tez kapsamında elde edilen kalibrasyon verileri, literatürdeki voltametrik çalışmaların kalibrasyon verileri ile karşılaştırıldı (Tablo 7). Bu çalışmaların verileri karşılaştırıldığında, Gholivand ve arkadaşlarının karbon nanotüp bimetallik Au-Pt inorganik-organik nanofiber hibrit nanokompozit elektrot (2) ile yaptığı çalışmada daha geniş doğrusal çalışma aralığı ve daha düşük TS elde edilmiştir. Ancak bu çalışmadaki elektrot hazırlama aşamaları bu teze göre daha uzun ve zordur. Yine pirolitik karbon film elektrot (34) ile elde edilen TS'nin, bu tez çalışmasında elde edilen değere yakın olduğu görülmüştür. poli(AT) modifiye CKE ile elde edilen çalışma aralığı, karbon nanotüp bimetallik Au-Pt inorganik-organik nanofiber hibrit nanokompozit elektrot dışındaki diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında en geniş doğrusal çalışma aralığıdır. Ayrıca bu tez kapsamında elde edilen TS değeri, Au-Pt inorganik-organik nanofiber hibrit nanokompozit elektrot ve pirolitik karbon film elektrot dışındaki çalışmalara kıyasla en düşük TS değerine sahiptir. Elektrotun modifikasyon prosedürü bakımından değerlendirildiğinde son derece basit, ucuz ve tekrar edilebilir olması da diğer çalışmalara göre önemli bir avantajdır. Sonuç olarak, literatürde bulunan mevcut çalışmalara göre modifikasyon prosedürü son derece kolay olan poli(AT) modifiye CKE ile GUF için geniş çalışma aralığına ve düşük TS'ye sahip bir yöntem geliştirildi.

Tablo 7. Poli(AT) modifiye CKE ile GUF'un voltametrik analizinde elde edilen kalibrasyon verilerinin literatürdeki verilerle karşılaştırılması

Elektrot	Yöntem	Doğrusallık aralığı (μM)	TS (μM)	Kaynak
PCF*	CV	0.1 – 25	0.023	(34)
ÇDKNT/IL/CKE**	DPV	1.5 – 480	0.85	(10)
Au-PtNPs/NFs/KNT/CKE***	DPV	0.05 – 300	0.0175	(2)
Platin elektrot	DPV	100 – 303	-	(16)
Poli(AT) modifiye CKE	DPSV	0.2 – 100	0.0578	(Tez)
	KDSV	0.2 – 100	0.0617	

*Pirolitik karbon film elektrot

**Çok duvarlı karbon nanotüp iyonik likit modifiye camı karbon elektrot

***Karbon nanotüp bimetallik Au-Pt inorganik-organik nanofiber hibrit nanokompozit elektrot

8. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Literatürde oral bir ekspektoran olan GUF ve kombine preparatları ile yapılmış farklı yöntemlerin kullanıldığı analizler mevcuttur. GUF'un kromatografik (35-37), spektrofotometrik (38, 39) ve voltametrik (2, 10, 16, 34) olmak üzere farklı metotlarla miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler ekstraksiyon gibi ön numune hazırlıkları nedeniyle oldukça zaman alıcı ve pahalı metotlardır. Elektrokimyasal metotlardan voltametri düşük maliyetli cihaz kullanımı, minimum miktarda organik çözücü kullanılması ve analiz edilecek numuneler için bir ön ayırma işlemi gerektirmemesi nedeniyle diğer analitik metotlara göre oldukça kullanışlı olup, analizi yapılacak molekülün seçici ve hassas tayinine imkan sağlamaktadır.

Akridin turuncusunun aromatik yapısı nedeniyle, katı elektrotların yüzeyi üzerinde kolaylıkla elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi ile elektroaktif moleküllerin saptanmasında önemli katalitik aktivitelere sahip poli (AT) film elde edilir.

Bu tez kapsamında AT ile CKE'nin modifiye edilmesi ile elde ettiğimiz poli(AT) modifiye CKE kullanıldı. GUF'un oksidasyon yönündeki voltametrik analizi poli(AT) modifiye CKE ile ilk kez çalışıldı. GUF'un kantitatif analizi için DPSV ve KDSV yöntemleri kullanıldı.

Farmasötik dozaj formundan tayin çalışması sonucunda elde edilen %BSS sonuçlarının değerlendirilmesi ile geliştirdiğimiz yöntemin hassasiyetinin iyi olduğu ve farmasötik dozaj formunda bulunan yardımcı maddelerin GUF'un analizini etkilemediği sonucuna varıldı.

Sonuç olarak bu tez çalışması sayesinde GUF'un basit, hızlı ve hassas bir şekilde analizi gerçekleştirildi ve literatürdeki diğer yöntemlere alternatif olabilecek yeni bir analiz tekniği geliştirildi.

9. KAYNAKLAR

1. Dicipinigaitis PV, Gayle YE (2003). Effect of guaifenesin on cough reflex sensitivity. *CHEST* 124: 2178–2181.
2. Gholivand MB, Azadbakht A, Pashabadi A (2011). An electrochemical sensor based on carbon nanotube bimetallic au-pt inorganic-organic nanofiber hybrid nanocomposite electrode applied for detection of guaifenesin. *Electroanalysis* 23 (12): 2771–2779.
3. Mohammed MA, Attia AK, Elwy HM (2017). Electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube, alizarine red s and chitosan for simultaneous determination of oxomemazine hydrochloride, paracetamol and guaifenesin. *Electroanalysis* 29(2): 506–513.
4. Sharaf MHM, Stiff DD (2004). Determination of guaifenesin in human serum by capillary gas chromatography and electron capture detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35: 801–806.
5. Rao KLN, Krishnaiah Ch, Babu KS, Reddy KP (2014). Development and validation of a stability-indicating LC method for simultaneous determination of related compounds of guaifenesin, terbutaline sulfate and ambroxol HCl in cough syrup formulation. *Journal of Saudi Chemical Society* 18: 593–600.
6. Chen X, Kong JHZ, Zhong D (2005). Sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of paracetamol and guaifenesin in human plasma. *Journal of Chromatography B* 817: 263–269.
7. Farid NF, El Ragehy NA, Hegazy MA, Abdelkawy M, Metwally FH (2014). Simultaneous determination of a quaternary mixture of oxomemazine, sodium benzoate, guaifenesin and paracetamol by chromatographic methods. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 3: 260–268.
8. Abdallah OM (2010). Research article-sensitive spectrophotometric method for quantitation of guaifenesin and dropropizine in their dosage forms. *International Journal of Analytical Chemistry* Article ID 704564, 5 pages.
9. Jos T, Lonappan L, Rasheed Z, Vikraman AE, Kumar KG (2014). Voltammetric determination of guaifenesin on a MWCNT modified Pt electrode. *ECS Electrochemistry Letters* 3(12): 23–25.

10. Gholivand MB, Khodadadian M (2014). Simultaneous voltammetric determination of theophylline and guaifenesin using a multiwalled carbon nanotube-ionic liquid modified glassy carbon electrode. *Electroanalysis* 26: 1975–1983.
11. Zhang Y (2004). Voltammetric behavior of dobutamine at poly (acridine orange) film modified electrode and its determination by adsorptive stripping voltammetry. *Analytical Letters* 37: 2031–2042.
12. Bhattacharjee J, Hussain SA, Bhattacharjee D (2013). Control of H-dimer formation of acridine orange using nano clay platelets. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 116: 148–153.
13. Sun W, Wang Y, Gong S, Cheng Y, Shi F, Sun Z (2013). Application of poly (acridine orange) and graphene modified carbon/ionic liquid paste electrode for the sensitive electrochemical detection of rutin. *Electrochimica Acta* 109: 298–304.
14. Ağın F (2016). Electrochemical determination of amoxicillin on a poly (acridine orange) modified glassy carbon electrode. *Analytical Letters* 49(9): 1366–1378.
15. Bard AJ, Faulkner LA (2000). *Electrochemical methods: Fundamentals and Application*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons; p: 1.
16. Tapsobab I, Belgaieda JE, Boujlel K (2005). Voltammetric assay of guaifenesin in pharmaceutical formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical A* 38(1): 162–165.
17. Uslu B, Özkan SA (2011). Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: a review of recent trends and development. *Analytical Letters* 44: 2644–2702.
18. Demirci Ş, Özkan GA (1998). *Analitik kimya temel kavramlar*. A.Ü.E.F. döner sermaye yayınları no: 34, Ankara; s: 251.
19. Gupta VK, Jain R, Radhapyari K, Jadon N, Agarwal S (2011). Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals A review. *Analytical Biochemistry* 408: 179-196.
20. Çakmak Z (2013). Aklonifen pestisitinin elektrokimyasal tekniklerle incelenmesi ve tayini. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
21. Kaya B (2014). Antipsikotik ilaç ketiapin fumaratın karbon nanotüp modifiyeli camısı karbon elektrot ile elektrokimyasal analizi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

22. 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.
23. Çorbacıoğlu F (2013). Kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin antioksidan kapasitelerinin elektrokimyasal yöntemle incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
24. Kounaves SP (1997). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Voltammetric Techniques. Chapter 37: 711–712.
25. Chillawar RR, Tadi KK, Motghare RV (2015). Voltammetric techniques at chemically modified electrodes. Journal of Analytical Chemistry 70: 399–418.
26. Gürler B (2011). Bazı tetrasiklinlerin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik tayinleri için moleküler baskılanmış polimer modifiye elektrotların hazırlanması. Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
27. Milli Eğitim Bakanlığı (2012). Kimya Teknolojisi, Potansiyometre (524KI0327). Milli Eğitim Basımevi, Ankara; 9-11.
28. 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.
29. Güney S (2010). Modifiye elektrotların geliştirilmesi ve voltametrik tayinlerde kullanılmalarının incelenmesi. Doktora tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
30. Urhan BK (2015). PbO-indirgenmiş grafen oksit nanokompozitlerinin elektrokimyasal sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
31. 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.
32. Ghica ME and Brett CMA. (2009). Poly(brilliant cresyl blue) modified glassy carbon electrodes: electrosynthesis, characterisation and application in biosensors. Journal of Electroanalytical Chemistry 629(1–2): 35–42.

33. Kul D, Uslu B, Özkan SA (2011). Electrochemical determination of anti-hyperlipidemic drug ezetimibe based on its oxidation on solid electrodes. *Anal Lett* 44: 1341-1357.
34. Hadi M (2015). Electrochemical determination of guaifenesin in a pharmaceutical formulation and human urine based on an anodized nanocrystalline graphite-like pyrolytic carbon film electrode. *Analytical Methods* 7(20): 8778-8785.
35. Maher HM, Al-Taweel SM, Alshehri MM, Alzoman NZ (2014). Novel stereoselective high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of guaifenesin and ketorolac enantiomers in human plasm. *Chirality* 26: 629-639.
36. Patil H, Sonawane S, Gide P (2014). Determination of guaifenesin from spiked human plasma using RP-HPLC with UV detection. *Journal of Analytical Chemistry* 69: 390-394.
37. Saleh OA, Yehia AM, El-Azzouny AA-E S, Aboul-Enein HY (2015). A validated chromatographic method for simultaneous determination of guaifenesin enantiomers and ambroxol HCl in pharmaceutical formulation. *Royal Society Chemistry* 5: 93749-93756.
38. Bankar AA, Lokhande SR, Sawant R, Bhagat AR (2013). Spectrophotometric estimation of guaifenesin and salbutamol in pure and tablet dosage form by using different methods. *Der Pharma Chemica* 5: 92-97.
39. Patel NC, Patel DB, Chaudhari PK (2013). Spectrophotometric estimation of ambroxol hydrochloride, guaifenesin and levosalbutamol sulphate in syrup. *Asian Journal of Research in Chemistry* 6: 407-414.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : IŞIK, Hasan
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 15.07.1991 / Adana
Medeni hali : Bekar
E-Posta : eczhsnsk@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı	2019
Lisans	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014
Lise	Ç. E. A. Ş. Anadolu Lisesi	2009

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl–Yıl)
Eczacı	Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesi	2015–2018
Eczacı	Hatay Devlet Hastanesi	2018–

YABANCI DİL

İngilizce