

**K₃ VİTAMİNİNİN DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİSİ İLE
TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULANMASI**

Mehmet DOĞAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FENBİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Eylül 2005

ANKARA

Mehmet DOĞAN tarafından hazırlanan K₃ VİTAMİNİNİN DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİSİ İLE TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULANMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Güler SOMER
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Güler SOMER

Üye : Prof.Dr. Semiha ÇAKIR

Üye : Prof.Dr. Nuran ÖZÇİÇEK PEKMEZ

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

K₃ VİTAMİNİNİN DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİSİ İLE TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULANMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Mehmet DOĞAN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Eylül 2005

ÖZET

Bu çalışmada, diferansiyel puls polarografisi ile K₃ vitaminin tayini için dolaylı bir yöntem geliştirilmiştir. K₃ vitamininin Ti(III) iyonunu yükseltgemesiyle oluşan Ti(IV) iyonunun diferansiyel puls polarografisindeki (DPP) pik akımı yüksekliği ölçülerek, K₃ vitamini tayini yapılabilmektedir. K₃ vitamini olarak piyasada satılan suda çözünür menadion sodyum bisülfid, ayrıca Ti tuzları olarak TiCl₃ ve TiCl₄ kullanılmıştır. K₃ vitamini bir kinondur, suda çözünür olması için preparatta potasyum metabisülfid tuzu da eklidir. Elektrokimyasal tayinde sülfidın girişim etkisi dolayısı ile giderilmesi gerekmektedir. Ortamda bulunan kinon şeklindeki K vitamini eklenen Ti(III) ile reaksiyona girerek Ti(IV) oluşturduğundan bu iyonun DPP' deki pikinin yüksekliğinden yararlanılarak K₃ vitamini tayini başarıyla yapılmıştır. Çalışmada ayrıca polarografik ortam şartları ve reaksiyon için optimum şartlar belirlenmiş, sonuçta 10⁻⁵M K vitamininin tayin edilebileceği görülmüştür. Yöntemin uygulaması olarak piyasada satılan K vitamininin miktar tayini yapılabilmektedir.

Bilim Kodu : 404.03.01
Anahtar Kelimeler : K vitamini, Tayin, Menadion, Titan, Diferansiyel Puls Polarografisi.
Sayfa Adedi : 79
Tez Yöneticisi : Prof.Dr. Güler SOMER

**A NEW DIFFERENTIAL PULSE POLAROGRAPHIC DETERMINATION
OF VITAMINE K₃ AND ITS APLICATION**

(M.Sc. Thesis)

Mehmet DOĞAN

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

September 2005

ABSTRACT

In this work an indirect method for the determination of vitamin K using differential pulse polarography has been developed. The differential pulse polarographic peak height of Ti(IV) formed from the oxidation of Ti(III) by vitamin K was used for the determination of the vitamin. Vitamin K was obtained from the market as water soluble menadion sodium sulfite, and TiCl₃ and TiCl₄ were used as Ti salts. Vitamin K is insoluble in its quinone form; to make it water soluble potassium meta bisulfite is present in its manufactured solution. Since sulfite interferes with the electrochemical determination it had to be eliminated first. The quinone reacts with Ti(III) added and the Ti(IV) peak formed was measured. Thus vitamin K could be determined indirectly, with high precision and accuracy. The polarographic medium and the optimum conditions for reaction medium have been studied. It was possible to determine 10⁻⁵M of vitamin K using this method and vitamin K content of a prepartate sold in the market could be determined.

Science Code : 404.03.01
Key Words : Vitamin K, Determination. Menadione, Titan, Differential Puls Polarography,
Page Number : 79
Adviser : Prof.Dr. Güler SOMER.

TEŞEKKÜR

Bu alıőmamda değerli yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Güler SOMER'e, bana her konuda hayatım boyunca maddi-manevi destek olan anne ve babama, ayrıca çalıőmalarım süresince desteğini her zaman hissettiğim Serpil SEZER'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER**Sayfa**

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. VOLTAMETRİK METOTLAR.....	11
2.1. Voltametriye Kullanılan Uyarma Sinyalleri.....	12
2.1.1 Doğrusal taramalı uyarma sinyali.....	12
2.1.2 Normal puls taramalı uyarma sinyali.....	12
2.1.3 Diferansiyel puls taramalı uyarma sinyali.....	13
2.2. Voltametriye Kullanılan Hücre Sistemi ve Elektrot Çeşitleri.....	14
2.2.1 Çalışma elektrotları.....	15
2.2.2 Referans elektrotlar.....	20
2.3. Voltametriye Kütle Aktarım Mekanizmaları.....	23
2.4. Polarizasyon.....	24
2.5. Voltametriye Kullanılan Destek Elektrolitler ve Uygulanacak Potansiyel Aralığının Sınırları.....	26
2.6. Voltamogramlar.....	30
2.7. Polarografi.....	33
2.8. Polarografide pH'nın Önemi.....	38

	Sayfa
3. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	40
3.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	40
3.1.1. Diferansiyel puls polarografisi sistemi.....	40
3.1.2. Kalousek hücresi.....	42
3.1.3. Elektrot sistemleri.....	43
3.2. Cıvanın Temizlenmesi.....	44
3.3. Ortamdan Oksijenin Giderilme.....	45
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Analit.....	45
3.5. Reaktiflerin Hazırlanması.....	46
3.5.1. 1×10^{-3} M K_3 vitamininin hazırlanması.....	46
3.5.2. 0,2 M asetik asit çözeltisinin hazırlanması.....	47
3.5.3. Çinko-cıva amalgamının hazırlanması.....	47
3.5.4. 0,1 M demir(III) çözeltisinin hazırlanması.....	48
3.5.5. 0,1 M Ti(IV) çözeltisinin hazırlanması.....	48
3.5.6. 0,1 M Ti(III) çözeltisinin hazırlanması.....	49
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE YORUMLAR.....	51
4.1. K_3 Vitamininin DPP’de Davranışının İncelenmesi.....	52
4.1.1 K_3 vitamininin çözeltisinden hava geçirilmesinin etkilerinin incelenmesi.....	53
4.1.2 K_3 vitamininin çözeltisine H_2O_2 ilavesinin etkilerinin incelenmesi.....	53
4.1.3 K_3 vitamininin polarogramına azot gazının etkilerinin incelenmesi.....	54
4.1.4 K_3 vitamininin standart ekleme yöntemiyle DPP’de incelenmesi.....	56
4.2. Ti(IV) ve Ti(III) İyonlarının DPP’de Davranışının İncelenmesi.....	57

	Sayfa
4.2.1 Ti(IV) İyonunun DPP’de Davranışının İncelenmesi.....	58
4.2.2 Ti(III) İyonunun DPP’de Davranışının İncelenmesi.....	59
4.3. K ₃ Vitamini ve Ti(IV) Karışımının DPP’de Davranışının İncelenmesi...59	
4.3.1 K ₃ vitamini ve Ti(IV) karışımının asetik asit ortamında DPP’de davranışının incelenmesi.....	59
4.3.2 K ₃ vitamini ve Ti(IV) iyonunun asetik asit-HCl ortamında DPP’de davranışının incelenmesi.....	61
4.4. K ₃ Vitamini ile Ti(III)’ün Reaksiyonunun DPP’de İncelenmesi.....	62
4.5. Reaksiyon Kabında Karıştırılan K ₃ Vitamini ve Ti(III)’ün Reaksiyonun Başlatılması ve DPP’de İncelenmesi.....	64
4.5.1 Reaksiyon kabında karıştırılan K ₃ vitamini ve Ti(III)’ün reaksiyonuna asit ve baz derişimi etkisinin incelenmesi.....	65
4.5.2 Reaksiyon kabında karıştırılan K ₃ vitamini ve Ti(III)’ün reaksiyonuna zaman etkisinin incelenmesi.....	66
4.6. K ₃ Vitamini Tayinine Amalgam Etkisinin İncelenmesi.....	66
4.7. Metodun Uygulaması ve Hesaplamalar.....	70
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	72
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Referans elektrotların sulu çözeltilerdeki potansiyelleri.....	23
Çizelge 2.2. Bazı çözücü-destek elektrolit sistemleri için sınır gerilimleri.....	29
Çizelge 3.1. $X=0,05$ V/cm , Y, ve CR karşı okunan akım değerleri.....	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. K vitamininin temel yapısı, (K ₃ vitamini).....	2
Şekil 1.2. K ₁ vitamininin açık yapısı.....	3
Şekil 1.3. K ₂ vitamininin açık yapısı.....	3
Şekil 1.4. K ₃ vitamininin suda çözünür şekli olan fosfat tuzunun açık şekli.....	4
Şekil 1.5. K ₃ vitamininin suda çözünür şekli olan sülfid tuzunun açık şekli.....	4
Şekil 2.1. Doğrusal taramalı potansiyel-zaman grafiği.....	12
Şekil 2.2. Normal puls taramalı potansiyel-zaman grafiği.....	13
Şekil 2.3. Diferansiyel puls taramalı potansiyel-zaman grafiği.....	14
Şekil 2.4. Üç elektrotlu doğrusal taramalı (DC) voltametri sistemi.....	15
Şekil 2.5. Damlayan cıva elektrot sistemi.....	18
Şekil 2.6. Asılı cıva damlası elektrot.....	19
Şekil.2.7. Cıva film elektrot.....	19
Şekil 2.8. Laboratuarda hazırlanmış doygun kalomel elektrot.....	22
Şekil 2.9. Bir elektrot yüzeyinin etrafında oluşan difüzyon tabakası.....	24
Şekil 2.10. Elektrolit hücrede akımın potansiyelle değişimi.....	25
Şekil 2.11. Üç farklı elektrot için çeşitli destek elektrolitlerin potansiyel aralıkları.....	27
Şekil 2.12. Havayla doyurulmuş 0,1 M KCl çözeltisine ait voltamogram.....	28
Şekil 2.13. Bir A türünün B türüne indirgenmesi sırasındaki voltamogramı.....	31
Şekil 2.14. Damlayan cıva elektrotta oluşan akım-zaman grafiği.....	34
Şekil 2.15. Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan uyarma sinyali.....	37
Şekil 2.16. Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen potansiyel-akım eğrisi.....	38

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Polarografide kullanılan analiz sistemi.....	41
Şekil 3.2. Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan kalousek tipi hücre sistemi.....	42
Şekil 4.1. 1×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramı.....	52
Şekil 4.2. 1×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramına azot gazı etkisinin incelenmesi.....	55
Şekil 4.3. 20 Dakika azot gazı geçirilmiş 1×10^{-5} m k_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramı.....	56
Şekil 4.4. 2×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramı.....	57
Şekil 4.5. 2×10^{-5} M Ti(IV)'ün diferansiyel puls polarogramı.....	58
Şekil 4.6. 1×10^{-5} M K_3 vitamininin ve 1×10^{-5} M Ti(IV)'ün karışımının diferansiyel puls polarogramı.....	60
Şekil 4.7. 1×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramı.....	61
Şekil 4.8. K_3 vitamininin ve Ti(III) iyonlarının bulunduğu reaksiyon kabından alınan karışımın diferansiyel puls polarogramı.....	65
Şekil 4.9. K_3 vitamininin ve Ti(III) iyonlarının bulunduğu reaksiyon kabından alınan karışımın diferansiyel puls polarogramına amalgamın etkisi.....	68
Şekil 4.10. K_3 vitamininin ve Ti(III) iyonlarının bulunduğu reaksiyon kabından alınan karışımın diferansiyel puls polarogramına amalgamın etkisi.....	69

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu tezde kullanılan simgeler, kısaltmalar ve bunların açıklamaları aşağıda verilmiştir.

Simgeler	Açıklama
mL	Mililitre
cm	Santimetre
mV	Milivolt
s	Saniye
M	Molarite
V	Volt
μ	Mikro
μg	Mikrogram
E	Potansiyel
E°	Standart indirgenme potansiyeli
D	Difüzyon katsayısı
i_d	Difüzyon akımı
t	Damla kopma zamanı
m	Damla kütlesi
Kısaltmalar	Açıklama
DPP	Diferansiyel puls polarografisi
DC	Normal polarografi
DCE	Damlayan civa elektrodu
DKE	Doymuş kalomel elektrot
HAc.	Asetik asit
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
MSB	Menadion sodyum bisülfid
R	Referans

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda üretilemeyen ancak mutlaka bulunması gereken maddelerden birisi de vitaminlerdir. 1912 yılında Casimir Funk, Latince yaşamsal anlamındaki vital kelimesi ile organik bir terim olan amin kelimesinin birleşimiyle, yaşamsal amin anlamına gelen vitamin kelimesini türetmiştir. Ancak günümüzde birçok vitamin amin yapısında olmamasına rağmen bu isimle anılmaktadır. Bunlar canlı hücrelerinin ana kütlelerini oluşturan proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve lipitlerin yanında eser miktarda bulunan maddelerdir. Vitaminlerin diğer organik besin maddelerinden farkı, doku yapısına girmeleri ve organizmaya enerji sağlamamalarıdır (1).

Vitaminler özellikleri göz önüne alındığında, genel olarak iki ana gruba ayrılırlar. Bunlar suda çözünen vitaminler ve yağda çözünen vitaminlerdir.

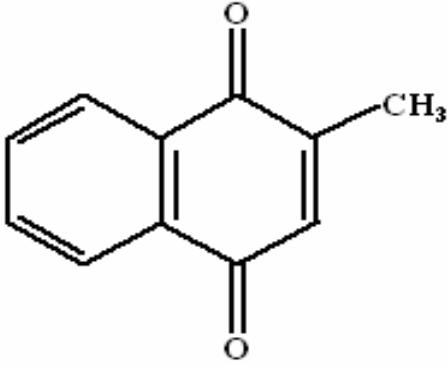
Suda çözünebilen vitaminler C vitamini olarak adlandırılan askorbik asit ve B grubu vitaminleri olan Tiamin (B₁ vitamini), Riboflavin (B₂ vitamini), Nikotinamid (B₃ vitamini), Pantotenik asit (B₅ vitamini), Pridoksin (B₆ vitamini), Biotin, Lipoik asit, Folik asit (B₁₀ ve B₁₁ vitamini), Vitamin B₁₂ dir (2).

Yağda çözünebilen vitaminler ise K, D, E ve A vitaminleridir. Hidrofilik olmadıklarından dolayı ve serbest grupları lipofilik olduğu için yağ içeren ortamlarda çözünen, apolar izopren türevleridir. Yağda çözünebilen vitaminlerin hepsi izopren birimlerinden meydana gelmişlerdir. Son yıllarda üzerlerinde yoğun çalışmalar yapılmasına ve insan besininde çok yaygın bulunmasına rağmen , spesifik biyolojik fonksiyonları üzerinde suda çözünen vitaminlere göre daha az bilgiye ulaşılmıştır. Şimdiye kadar haklarında spesifik bir koenzim fonksiyonu bulunamamıştır (3).

K vitaminleri ve özellikleri

K vitamini ismini kanı pıhtılaştırıcı anlamına gelen Koagulan kelimesinin baş harfinden almaktadır. Naftokinon halkası ihtiva eden K vitaminlerinin etkisini

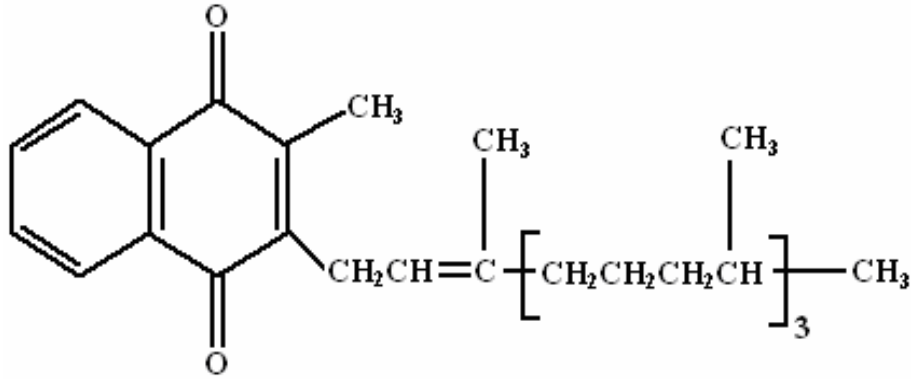
gösteren doğal ve sentetik birçok bileşenleri vardır. Temel yapısı 2-metil-1,4 naftokinon dur. Bu temel yapı üzerine gelen değişik yan zincirlerle farklı türevleri oluşmuştur.



Şekil 1.1. K vitamininin temel yapısı, (K₃ vitamini).

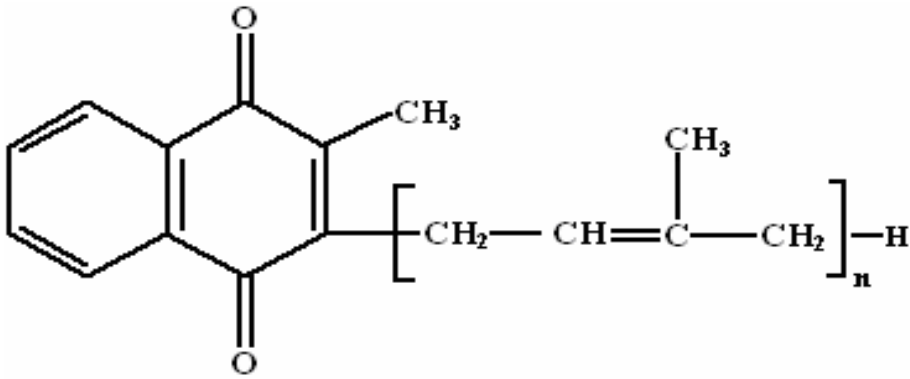
K₁ ve K₂ şeklinde gösterilen iki doğal K vitamini bulunmakla birlikte K₃ adında bir de sentetik türevi mevcuttur. Sentetik olması nedeniyle K₃ vitamini , diğer adıyla menadion, uzun yan zincir ihtiva etmez. K vitamininin temel yapısı aynı zamanda K₃ vitamininin de yapısıdır.

2-metil-1,4 naftokinonun 3 numaralı karbon atomuna bağlanan bir fitil grubu ile K₁ vitamini (Bkz. Şekil 1.2) oluşur ve yapının kimyasal adı 2-metil-3-fetil-1,4-naftokinon dur. Kapalı formülü C₃₁H₄₆O₂ dir. Molekül ağırlığı 450.68 g/mol dür (4).



Şekil 1.2. K₁ vitamininin açık yapısı.

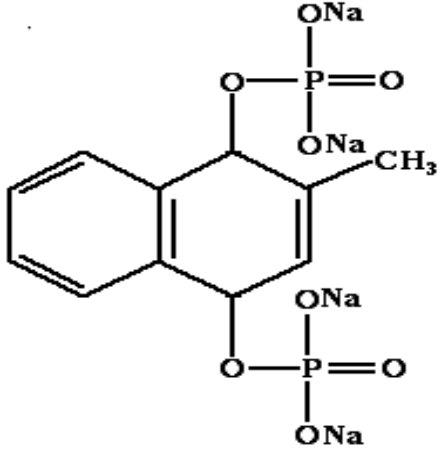
K₂ vitamininde 3 numaralı karbon atomuna bağlı olarak bir difarnesil grubu bulunur. K₂ vitamininin kimyasal adı 2-metil-3-difarnesil-1,4-naftokinon dur. Yan zincirdeki uzunluk n değerinin 1 ile 13 arasında değişen rakamlar alması nedeniyle değişebilmektedir.



Şekil 1.3. K₂ vitamininin açık yapısı.

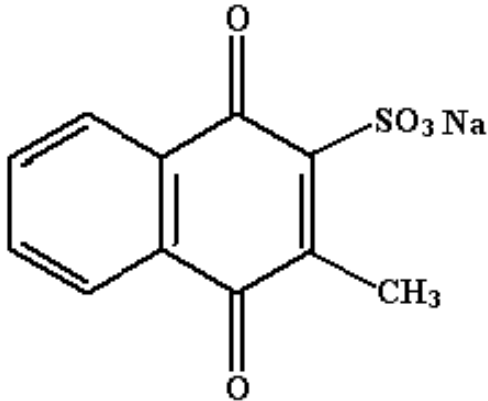
K vitamininin suda çözünen iki şekli vardır. Bunlar sodyum menadiol difosfat ve menadion sodyum bisülfittir.

i) Fosfat tuzu ; Sodyum Menadiol Difosfattır.



Şekil 1.4. K₃ vitamininin suda çözünen şekli olan fosfat tuzunun açık şekli.

ii) Sülfitt tuzu ; Menadion Sodyum Bisülfittir.



Şekil 1.5. K₃ vitamininin suda çözünen şekli olan sülfitt tuzunun açık şekli.

K vitaminleri, ısıya dayanıklıdır. Bazılar, kuvvetli asitler, radyasyon ve yükseltgenler tarafından etkisizleştirilebilirler. Fazla E Vitamini alınması, K Vitaminin emilimini bozar. Yoğurt, kefir, asitlenmiş süt barsaklardaki bakterilerin K

vitamini üretimini artırır. Bazı antibiyotikler barsak bakterilerini yok ettiğinden uzun süreli antibiyotik tedavilerinde K vitamini eksikliği görülebilir. Aspirin gibi salisilatlar K vitamini gereksinmesini arttırlar.

Emilimi

Yağda çözünen bir vitamin olması sebebi ile barsaklardan yağlarla emilerek karaciğere gelir. Ancak K vitaminleri doğada insan metabolizmasına uyumlu halde bulunmazlar. Bu nedenle K vitaminin metabolizmada kullanılabilir hale getirilmesi gerekir. Sindirim sisteminde bulunan özel bakteriler K vitaminini bir dizi işlemde geçirerek metabolizmaya uygun hale getirirler. Daha sonra K vitamini, kalın barsaktan emilerek kana karışır (5).

Görevleri

Karaciğerde pıhtılaşma faktörü sentezinde koenzimdir (6,7). Faktör II, VII, IX ve X 'un sentezlenmesinde ve aktifleşmesinde K vitamini gereklidir. Bu moleküllerin aktif forma dönebilmeleri için bir γ karboksilasyon olayı gerekmektedir. Vitamin K glutamik asit molekülünden γ karboksilasyonun meydana gelmesinde koenzimdir. Böylece kanın pıhtılaşmasını sağlayarak kanamaların önlenmesini sağlar.

Bunun yanında kemiklerde osteokalsin molekülünün de aktifleşebilmesi için γ karboksilasyon gerekir. Bunu için de K vitaminine ihtiyaç duyulur. Kemiklerin mineralce zenginleşmesini sağlayarak kırıkların kaynamasına yardımcı olur. Kemik yapımında kalsiyuma yardımcıdır (8). Bazı çalışmalar özellikle yaşlılarda kemikleri güçlendirdiğini göstermektedir.

K vitamini birçok mikroorganizmalar ve çoğu bitkiler tarafından sentezlenebildiği ve bütün organizmaların dokularında bulunduğu için, kan pıhtılaşmasının yanında başka genel bir görevi olup olmadığı sorusu ortaya çıkmaktadır. Bazı sonuçlar hayvansal dokularda elektron taşınması yolunda belirgin bir şekilde koenzim fonksiyonu yaptığını göstermektedir. K vitamini hidrokinona dönüşümlü

indirgenebilen bir kinon olduğu için elektron taşıyıcısı görevini üstlenmesi mümkün görünmektedir (9-12).

Ayrıca son yıllarda yapılan araştırmalar akciğer, yumurtalık ve göğüs kanserlerinin oluşma olasılığını azaltabileceğini ortaya koymuştur.

Eksikliği

K vitamini eksikliği genellikle pek fazla görülen bir rahatsızlık değildir. Ancak yetişkinlerde görülen, uzun süreli ve barsaklardaki bakterileri yok eden bir antibiyotik ilaç kullanımı veya barsakları ilgilendiren kolit, ileit, spru, çöliak, gibi hastalıklar ve bazı ameliyatlar, genetik ve bulaşıcı karaciğer hastalıkları buna yol açabilir (13-19).

K vitamini eksikliği daha çok yeni doğan bebeklerde görülmektedir.Çünkü henüz barsak florası ve emilimi tam olarak gelişmediğinden sentez ve emiliminde sorunlar yaşanabilir. Aynı şekilde yeni doğan bebeklerde karaciğer fonksiyonlarının henüz tam gelişmemesi nedeniyle K vitamininin karaciğerdeki etkileri tam olarak görülemediğinden sekonder fonksiyonel K vitamini yetmezliği görülebilir. Bunun sonucu olarak da bebeklerde kanama diyatezleri gözlenebilir. Yeni doğan bebeklerde göbük kanaması olayı bu nedenle oluşmaktadır. Bunu önlemek için de doğumdan sonra bebeklere K vitamini aşısı yapılmaktadır.

Ayrıca K vitamini yağlarla beraber emilen bir vitamin olduğundan metabolizmada yağ absorpsiyonunun yetersiz olduğu durumlarda eksikliği görülebilir.

Eksikliği göbük kanaması dışında, dişeti ve burun kanaması, idrar ve dışkıda kan bulunması, küçük darbelerde bile morarma ve kanamaların olması, kanayan bir dokuda kanamanın durmaması ve yara üzerinde kabuk oluşmaması gibi belirtilerle anlaşılır.

Ayrıca beyin ve diğer iç organlarda oluşan kanamalar sonucu ölümler ile hamile bayanlarda rahim içi kanamaları sonucunda düşükler de meydana gelebilir.

Eksikliği görüldüğünde, dışardan K vitamininin suda çözünebilen şekli olan menadion sodyum bisülfid veya sodyum menadiol difosfat tuzları verilebilir.

Fazlalığı

- ✓ Oral antikoagülanların etkilerini azaltıp, özellikle de gebe kadınlara verildiğinde yeni doğan bebeklerde kolestatik sarılık yapması mümkündür.
- ✓ Aşırı pıhtılaşma ve bunun da sonucunda damarlarda tıkanmalar meydana getirebilir,
- ✓ Karaciğer fonksiyonlarında bozulmalar oluşturabilir,
- ✓ Kandaki alyuvarların parçalanmalarına yol açabilir,
- ✓ Kızarma, terleme ve göğüs sıkışması meydana getirebilir,
- ✓ Yeni doğan bebeklerde safra boyalarının (Pigmentlerin) beyin ve omurilikte birikmesine neden olabilir.

Bir çok vitamin reçetesiz satılmasına karşın yurt dışında K Vitamini reçetesiz satılmamaktadır.

Günlük ihtiyaç miktarı

Genellikle sebzelerle alınan günlük 60-85 mg. herhangi bir eklemeye gerek kalmadan yeterli olmaktadır.

Doğadaki K vitamini kaynakları

K vitamini marul, kaba yonca, lahana, karnabahar, domates, soya fasulyesi, mısır, patates, pirinç kepeği, meyveler, kahvaltılık besinler, yumurta sarısı, ciğer, yulaf filizleri ve koyu yapraklı yeşilliklerde bulunur (20,21). K₂ vitamini aynı zamanda barsak bakterilerinin bir metabolizma ürünüdür.

K₃ vitamininin analizi özellikle bu vitamini kendi metabolizmalarında sentezleyemeyen kümes hayvanları, domuz, balık ve karides yemlerinin, K vitamini

bakımından takviyesi için önemlidir. Günümüzde kümes hayvancılığı ve deniz ürünleri sektörlerinin yaygın ve hızlı gelişimine paralel olarak dünyadaki K vitamini talebi de giderek artmaktadır.

Bu düşünceden yola çıkılarak yapılan çalışmalarda K vitamini değişik yöntemlerle tayin edilebilmiştir. K₃ vitaminin yükseltgenmiş hali yani kinon şekli floresans özellik göstermez, ama indirgendiğinde yani hidrokinon haline dönüştüğünde floresans özellik kazanır. Bu özelliğinden yararlanılarak yapılan bir spektrofotometrik çalışmada, K₃ vitamini önce hidrokinona indirgenmiş ve daha sonra tayini yapılmıştır. Spektrofotometrik metotla yapılan bu çalışmada tayin sınırı : 0,0073 mg/L olarak belirlenmiştir (22).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise K₃ vitamininin suda çözünebilir şekli olan menadion sodyum bisülfid (MSB, K₃ Vitamininin suda çözünen şekli) kullanılmıştır. Çalışma yapılmadan önce K₃ vitamini çözeltisindeki oksijen -0,3 V'ta indirgenmiştir. Bunun nedeni oksijenin ortamdan uzaklaştırılarak bozucu etkisinin giderilmek istenmesidir. K₃ vitamini çözeltisi içinde bulunan oksijen de bu potansiyelde indirgenerek suya dönüştürülmüştür. Sonra +0,2 V'ta K₃ vitamini yükseltgenir. Böylece oksijenin etkisi giderilmiş olur. Çünkü oksijen -0,3 V'ta suya indirgenir, su ise +0,2 V'ta tekrar oksijene yükseltgenemez. Deneyler sonucunda lineer bölge olarak 35 ng ile 15 µg aralığı tespit edilmiştir. Tayin sınırı ise 15 ng olarak belirlenmiştir. Çalışmalar sırasında K₃ vitamininin tabletleri kullanılmıştır. Bu tabletlerin her birinde 1mg K₃ vitamini bulunmaktadır. Çözeltisi hazırlanırken beş adet tablet kullanılmıştır ve bu tabletler ezilerek parçalandıktan sonra saf suda çözülmüştür. Daha sonra süzülerek stok çözeltileri, 1 g/L'lik olacak şekilde 100 mL'lik şişelerde hazırlanarak +4 °C'de ve karanlık ortamda koyu renkli şişelerde saklanmıştır. Kullanmadan önce seyreltilmiştir.

Aynı çalışma içerisinde K₃ vitamininin camı karbon elektrot (glassy karbon) ile dönüşümlü voltamogramı (CV) alınmış ve -0,11 V'ta bir indirgenme ve -0,085 V'da bir yükseltgenme dalgası ($E_{1/2} = -0,1$ V) gözlenmiştir. K₃ vitamininin iki elektronlu

çok kolay bir indirgenme reaksiyonunun olduğu bilinmektedir ve pH artışıyla birlikte bu indirgenme potansiyelinin negatife kaydığı görülmüştür. Yani indirgenmesi zorlaşmıştır. Voltametrik olarak yapılan çalışmada miktar tayini yapılmamıştır (23).

Spektrofotometrik olarak K₃ vitamini ve 1,4 naftokinon tayini yapılmıştır. Ön deriştirme işlemi uygulanarak, K₃ vitamininden 0,05 µg /mL ve 1,4-naftokinondan 0,08 µg /mL çözeltileri hazırlanarak çalışılmış ve 1x10⁻⁶ M tayin edilebilmiştir (24).

K vitaminlerinin sekiz tane tiol ile olan reaksiyonları, %80'lik etil alkol çözeltisi içinde ve pH=3 ile pH=10 arasında polarografik yöntem ile incelenmiştir. Oksijenin bulunmadığı ortamlarda yapılan çalışmalarda, tioller K₃ vitamini ile reaksiyona girmişlerdir. Ve 3 pozisyonunda naftohidrokinonlar, tiyoeter köprüleri oluşturmuşlardır. K₁ vitamini ve K₂ vitamini tiollerle reaksiyona girmemişlerdir. Çalışmalar sırasında K₃ vitamini ile K₁ vitamininin veya K₃ vitamini ile K₂ vitamininin aynı ortamda ardı ardına alınan polarografik indirgenme dalgalarının, her iki durumda da üst üste çakıştığı gözlenmiştir. Bu durumda ortama pH= 6,2'de aşırı miktarda tiogliserik asit eklenerek, K₃ vitamininin diferansiyel akımı tamamen yok edilmiştir. Böylece K₁ vitamininin veya K₂ vitamininin diferansiyel akımı, en başta elde edilen toplam pik yüksekliğinden, K₃ vitamininin diferansiyel akımı tamamen kaybolmasından sonra, geriye kalan pik yüksekliğinin ölçülmesiyle bulunmuştur. Buradan yola çıkılarak, en başta elde edilen toplam pik yüksekliğinden K₁ vitamininin veya K₂ vitamininin diferansiyel akımını gösteren pik yüksekliğinin çıkarılmasıyla, K₃ vitamininin diferansiyel akımı bulunmuştur. Tüm bu olayların genel reaksiyon mekanizmaları, hem elektrokimyasal hem de spektrokimyasal yöntemlerle onaylanmıştır (25).

Bir başka çalışmada yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemiyle K vitamini türevleri olan K₁ vitamini ve K₂ vitamini analizi yapılmıştır (26).

İnsan plazmasındaki K vitamini analizi için sıvı kromatografisi-atmosferik basınç-kimyasal iyonizasyon-kütle spektroskopisi sistemi kullanılmıştır. Bu yöntem doğruluk ve duyarlılık bakımından iyi sonuçlar vermiştir. Ancak pahalıdır (27).

K vitamini analizi için bu yöntemlerden başka ince tabaka kromatografisi tekniği (28), gaz-sıvı kromatografisi tekniği (29,30), ultra viyole (UV) tekniği (31), floresans tekniği (32), kütle spektroskopisi tekniği (33) ve elektrokimyasal teknikler (34,35) kullanılmıştır.

2. VOLTAMETRİK METODLAR

Voltametri, elektrokimyanın bir alt birimidir. Elektrokimyasal bir hücreye daldırılan, alanı çok küçük olan bir mikro çalışma elektrodu ile bir karşılaştırma (referans) elektrodu arasına uygulanan ve değeri zamanla değişen gerilime karşı, çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülerek yapılan analiz metodudur. Genel olarak bir çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesine dayanan elektroanalitik analiz metodudur. Yani voltametride, hücreye uygulanan potansiyele karşılık oluşan akımın ölçülmesi esası ile analiz yapılmaktadır. 1920'li yıllarda Çek bilim adamı Jaroslav H. Heyrovsky, analizi yapılacak olan iyon, referans elektrot ve çok küçük yüzeyli bir çalışma elektrodu bulunan hücreye düzgün olarak değişen potansiyel uygulayarak bir potansiyel-akım eğrisi elde etmiştir. Bu eğrilere voltamogram adı verilmiştir.

Voltametik metotlar, kantitatif analiz için oldukça uygundur. Bununla birlikte kalitatif analiz ve yapı tayininde de oldukça iyi sonuçlar vermektedir. Fizikokimya, biyokimya, inorganik kimya çalışmalarında ve çeşitli ortamlarda meydana gelen indirgenme ve yükseltgenme olaylarının incelenmesi, yüzeylerdeki adsorpsiyon olaylarının incelenmesi ve kimyasal olarak değiştirilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmalarının temel çalışmalarını kapsayan, analitik olmayan çalışmalarda da oldukça iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. 1960'larda çeşitli spektroskopik yöntemlerin gelişmesi voltametrimin kullanımını azaltsa da, hem ekonomik hem de pratik olması nedeniyle hala birçok alanda tercih edilmektedir.

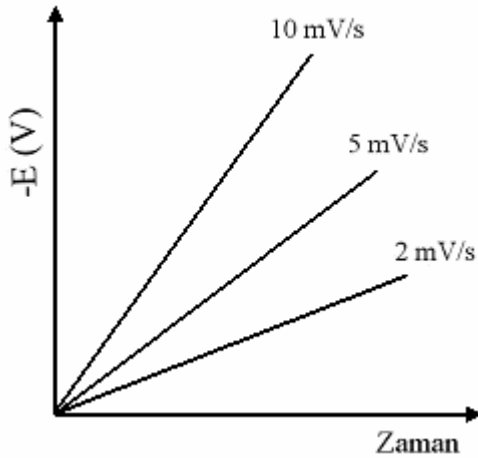
İster organik ister inorganik olsun üzerinde çalışma yapılacak numunenin voltametride analizinin yapılabilmesi için öncelikle uygun konsantrasyonda çözeltilsinin hazırlanması gerekmektedir. Bunun için uygun konsantrasyonlar 1×10^{-2} M ile 1×10^{-6} M hatta 1×10^{-7} M'lara kadar olan aralıktadır. Bu metotla yapılan kantitatif analizlerdeki hatalar alışla gelmiş yöntemlerinkine yakındır.

2.1. Voltametrizde Kullanılan Uyarma Sinyalleri

Voltametrizde kullanılan elektrokimyasal hücreye değeri zamanla değıştirilebilen bir potansiyel uygulanır. Bu potansiyele Uyarma Sinyali denir. Bu sinyaller voltametrik yöntemin dayandığı karakteristik bir akım cevabı oluşturur. Voltametrizde en çok kullanılan uyarma sinyalleri aşağıda açıklanmıştır.

2.1.1 Doğrusal taramalı uyarma sinyali

Klasik voltametrizde uyarma sinyalleri şekil 2.1’de gösterilmiştir. Bu uyarma sinyalinde, hücreye uygulanan potansiyel, zamanın bir fonksiyonu olarak, çoğu zaman 2 mV/s, 5 mV/s veya 10 mV/s’lik bir hızla doğrusal bir şekilde artırılır. Bu sırada, hücrede oluşan akım zamanın ve buna bağlı olarak uygulanan potansiyelin fonksiyonu şeklinde kaydedilir.

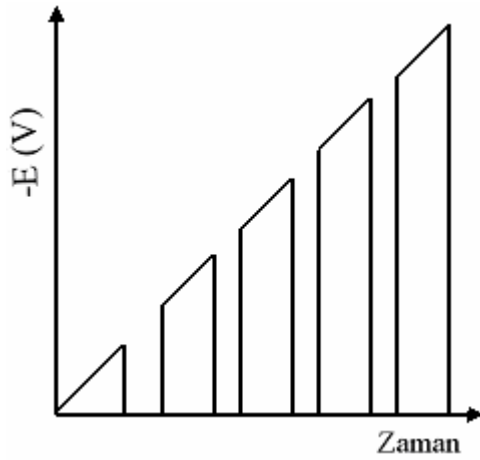


Şekil 2.1. Doğrusal taramalı potansiyel-zaman grafiği.

2.1.2 Normal puls taramalı uyarma sinyali

Bu uyarma sinyalinde potansiyel doğrusal akımda olduğu gibi pulstan bağımsız olarak artmaz. Doğrusal bir potansiyel artışı uygulanan pulsla sağlanır. Yani uygulanan puls miktarı her vuruşta bir miktar artırılarak potansiyel taraması yapılır. Akım ise dalga şeklinde gözlenir.

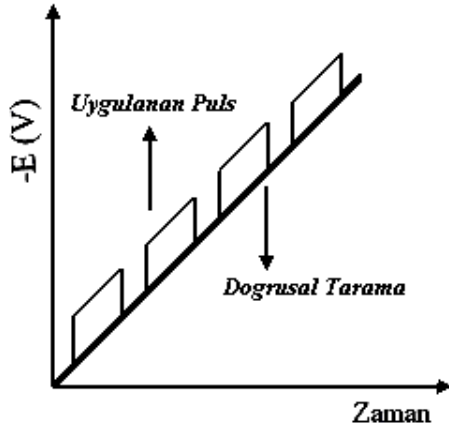
Normal pulslu uyarma sinyalinde potansiyel bir miktar uygulandıktan sonra sıfırlanır. Sonra sıfırlandığı potansiyel değeri üzerinden tekrar puls uygulanır. Böylece artan bir potansiyelle tarama yapılmış olur. Şekil 2.2’de normal puls yöntemindeki potansiyel-zaman grafiği görülmektedir. Akımlar uygulanan pulsların ömrü süresince çeşitli zamanlarda ölçülürler. Uygulanan pulsün her seferde sıfırlanması pik oluşumunu engeller.



Şekil 2.2. Normal puls taramalı potansiyel-zaman grafiği.

2.1.3 Diferansiyel puls taramalı uyarma sinyali

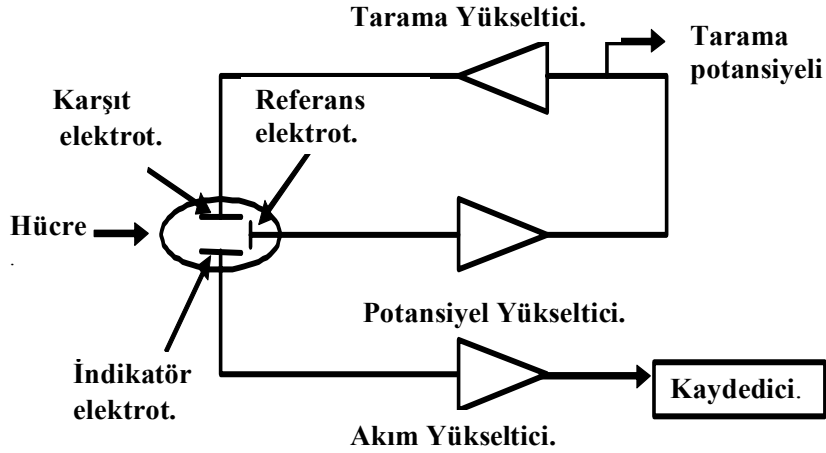
Doğrusal taramalı uyarma sinyali üzerine bir puls bindirilerek uygulanır. Bu pulsler belirli aralıklarla uygulanan 50-100 mV gibi küçük genliklerdeki potansiyel değerleridir. Bu uyarma sinyaline ait potansiyel-zaman grafiği şekil 2.3’de görülmektedir.



Şekil 2.3. Diferansiyel puls taramalı potansiyel-zaman grafiği.

2.2. Voltametriye Kullanılan Hücre Sistemi ve Elektrot Çeşitleri

Voltametriye kullanılan bir sistemin şematik gösterimi Şekil 2.4’de verilmiştir. Bu sistemde kullanılan elektroanalitik hücreler, referans elektrot, karşıt elektrot ve çalışma elektrodu (indikatör elektrot) olmak üzere üç elektrotlu hücrelerdir. Sistemdeki çalışma elektrodunun bir mikroelektrot olması istenir. Bu elektrodun potansiyeli zamana bağlı olarak doğrusal bir şekilde değiştirilir. Diğer elektrot ise doymuş kalomel elektrot (DKE) veya gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot gibi bir referans elektrottur. Bu elektrodun potansiyeli çalışmalar süresince değişmez, sabittir. Üçüncü elektrot ise karşıt elektrot olan platin elektrottur. Platin, birçok kimyasala karşı inert olması ve iyi bir iletken olması nedeniyle tercih edilir.



Şekil 2.4. Üç elektrotlu doğrusal taramalı (DC) voltametri sistemi.

Voltametrik bir hücrede çalışma elektrodu (mikroelektrot) ile karşıt elektrot (platin elektrot) arasındaki akım ölçülür. Bu akım referans elektrot (DKE veya Ag/AgCl) ile çalışma elektrodu arasına uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülür.

Voltametride kullanılan elektrot çeşitleri aşağıda açıklanmıştır.

2.2.1 Çalışma elektrotları

Elektrokimyasal hücrede bulunan analitin, üzerinde indirgendiği veya yükseltgendiği elektrotlardır. Zamanla potansiyeli doğrusal olarak değişir. Çalışma elektrotlarını boyutları polarizasyonu artırmak için mümkün olduğunca küçük seçilir. İyi bir çalışma elektrodu, analitiyon aktivitesindeki değişimlere hızlı ve tekrarlanabilir cevaplar vermelidir.

Cıva Elektrot

Elektrokimyasal hücrede çalışma elektrodu olarak kullanılan cıva elektrot, farklı şekillerde bulunabilir. Bunlardan bir tanesi damlayan cıva elektrodu (DCE veya DME), diğeri asılı cıva damla elektrodu (HMDE) ve bir başkası da cıva film elektrodudur.

Çalışma elektrodu sistemlerinde cıvanın kullanılmasının nedenleri:

1- Cıva hidrojen iyonundan hidrojen gazı oluşmasına karşı büyük bir aşırı gerilim gösterir. Bu nedenle asitli ortamlarda bile bir çok madde hidrojen iyonundan önce indirgenir. Örneğin çinko ve kadmiyum gibi iyonlar termodinamik verilere göre hidrojen iyonundan sonra indirgenmeliyken hidrojen iyonundan önce indirgenmiştir. Yani daha büyük negatif potansiyel aralıklarında çalışabilme imkanı sağlar.

2- Kolayca oluşan yeni bir damla ile taze ve temiz bir yüzey oluşturulabilir. Böylece elektrodun pasifleşmesi veya zehirlenmesi gibi olaylar meydana gelmez. Bu önemlidir, çünkü voltametrde ölçülen akımlar elektrot yüzeyinin temizliğine ve düzensizliklerin olmamasına oldukça çok bağlıdır.

3- Bir çok metal iyonu cıva yüzeyinde tersinir olarak indirgenebilir. Bakır ve çinko iyonları cıva yüzeyinde indirgenerek cıvayla amalgam oluştururlar.

4- Kullanılan cıva temizlenerek yeniden güvenle kullanılabilir. Böylece cıva israfı engellenir.

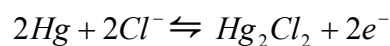
5- Cıva elektrotlar kolayca ve ekonomik olarak hazırlanabilir.

Cıva elektrotların üstün tarafları olduğu kadar üstün olmayan tarafları da vardır.

Üstün olmayan tarafları şunlardır:

1- Cıva çok nadir de olsa anot olarak kullanıldığında + 0,4 Voltluk bir potansiyelde iken bile yükseltgenmeye başlar. Ortamda cıva(I) iyonuyla reaksiyon verebilecek bir iyon veya tür varsa yükseltgenme olayı daha düşük potansiyellerde bile görülebilir.

Örneğin ortamda klorür (Cl^-) iyonları varsa cıva sıfır volt civarında yükseltgenerek,

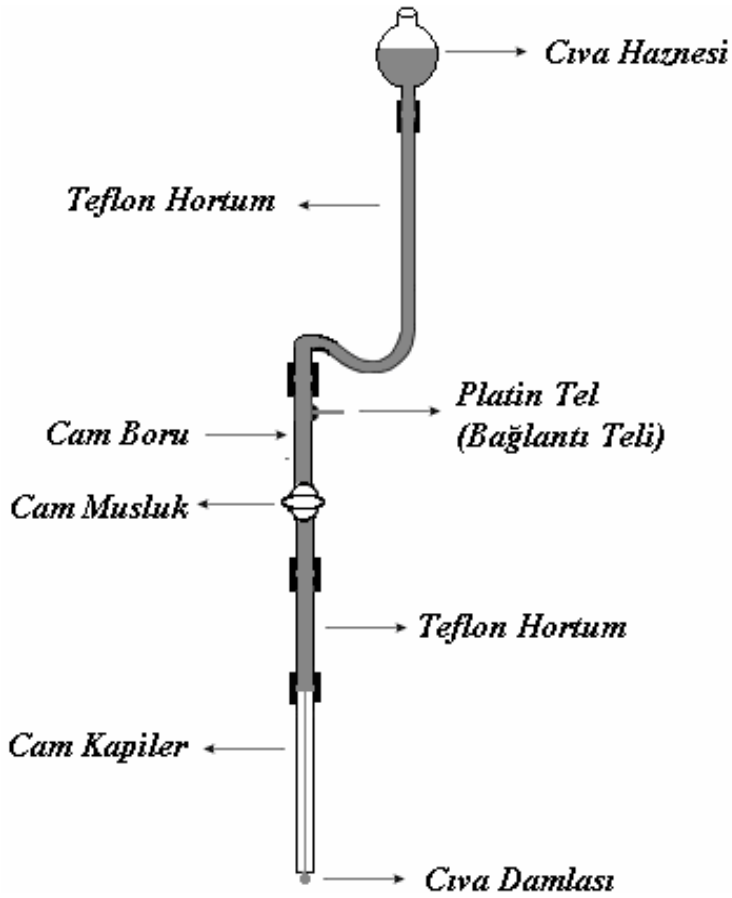


reaksiyonunu verir. Bu olay klorür tayini içinde kullanılabilir.

2- Cıva elektrodunun başka bir önemli kusuru ise, klasik metodun duyarlılığını yaklaşık 1×10^{-5} M'a sınırlayan faradayik olmayan artık akım veya yükleme akımı vermesidir. Daha düşük konsantrasyonlarda artık akım difüzyon akımını aşabilir ki bu da difüzyon akımının doğru ölçülmesini engeller.

3- Bir başka kusuru ise cıva kullanımının zahmetli olmasıdır. Kirli bir cıva kapiler borunun tıkanmasına neden olabilir. Bu da çalışmayı durdurur.

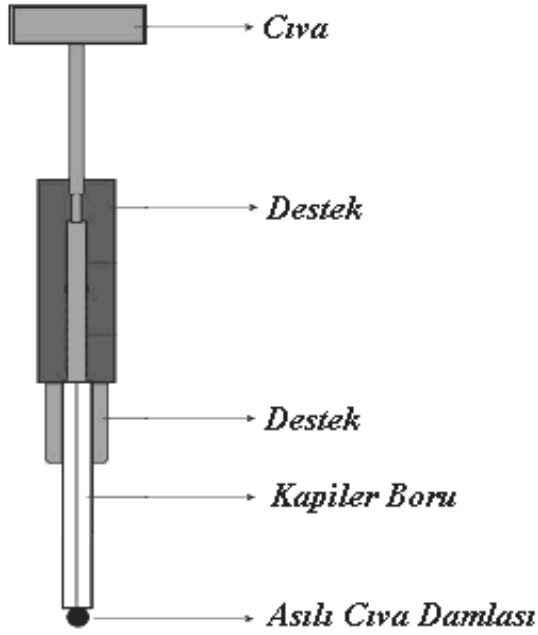
Şekil 2.5'de bir damlayan cıva elektrot sistemi görülmektedir. Damlayan cıva elektrotları, boyu 10 cm iç çapı yaklaşık 0,07 ile 0,05 mm arasında olan ince bir kapiler cam borudan yapılmaktadır. Cıva kapiler boruya bağlanan bir teflon hortum yardımıyla yaklaşık 50 cm yükseklikteki cıva haznesinden gelmektedir. Kapiler borunun çapı oluşan damlanın 2 ile 6 saniye arasında kopmasını sağlayacak büyüklükte olmalıdır. Bazı uygulamalarda damla ömrü mekanik bir vurucu ile ayarlanmaktadır. Oluşan cıva damlasının çapı 0,5-1 mm arasındadır ve oldukça tekrarlanabilir.



Şekil 2.5. Damlayan cıva elektrot sistemi.

Asılı cıva damla elektrodu

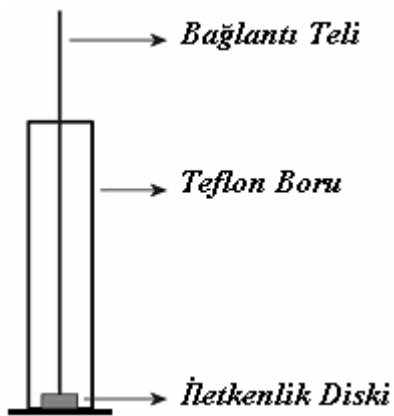
Asılı cıva damlası elektrotlar (ACDE veya HMDE) tıpkı damlayan cıva elektrotlarda olduğu gibi cıva içeren bir hazneye bağlı çok ince bir kapiler cam borudan yapılırlar. Cıva bir mikrometre vidası ile çalıştırılan bir pistonla kapilerin dışına doğru itilir. Böyle bir mikrometre ile tekrarlanabilirliği yüzde beş veya daha iyi olan yüzey alanlarına sahip cıva damlaları oluşturulabilir (Bkz. Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Asılı cıva damlası elektrot.

Cıva film elektrot

Cıva film elektrotları, bir disk elektrot üzerinde cıvanın elektrokimyasal olarak biriktirilmesiyle basit bir şekilde yapılabilir. Şekil 2.7’de cıva film elektrodunun genel görünüşü verilmiştir.



Şekil.2.7. Cıva film elektrot.

Bunların dışında hem asılı cıva damlası elektrot olarak kullanılan hem de damlayan cıva elektrot olarak kullanılan ticari cıva elektrotları da bulunmaktadır.

2.2.2 Referans elektrotlar

Potansiyel ölçüm aletleri, sadece potansiyeldeki farkı ölçtüğünden tek bir elektrotla mutlak potansiyel ölçülemez. Bu nedenle potansiyel, sisteme bağlı ikinci bir elektrot olan referans (karşılaştırma) elektroda karşı ölçülür. Bu elektrotlar standart elektrotlar olarak adlandırılırlar. Bunların potansiyeli çalışılan çözeltiliye bağlı değildir. Ancak sıcaklıkla çok az bir değişim gösterebilirler.

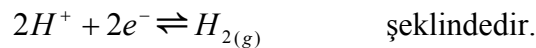
İdeal bir referans elektrot:

- 1) Tersinir olmalıdır ve Nernst eşitliğine uymalıdır.
- 2) Zamanla değişmeyen bir potansiyele sahip olmalıdır.
- 3) Küçük akımlar uygulandıktan kısa bir süre sonra ilk potansiyeline dönebilmelidir.
- 4) Sıcaklık değişimine çok küçük tepkiler vermelidir.

Tüm bu özellikleri taşıyan referans elektrot olmasa da bu değerlere en yakın olanı tercih edilmelidir.

Standart hidrojen elektrodu

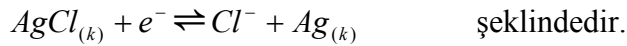
Standart hidrojen elektrodunun (SHE veya normal hidrojen elektrodu, NHE) potansiyeli her sıcaklıkta sıfır kabul edilmiştir. Diğer elektrotların potansiyelleri standart referans elektrota karşı ayarlanırlar. Elektrotta gerçekleşen reaksiyon;



Hidrojen elektrot birleştirildiği yarı-hücreye bağlı olarak anot veya katot olarak davranabilir. Anot olduğunda hidrojen gazı, hidrojen iyonlarına yükseltgenir. Katot olduğunda bu reaksiyonun tersi oluşur. Uygun şartlarda elektrokimyasal olarak tersinirdir. Potansiyeli, sıcaklığa, çözeltildeki hidrojen iyonu aktivitesine ve elektrot yüzeyindeki hidrojen basıncına bağlıdır. Bu değerler deney sırasında değişebileceğinden standart hidrojen elektrodu voltametrde pek tercih edilmez.

Gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrodu

Ag/AgCl elektrodu seyreltik hidroklorik asit çözeltisine batırılmış gümüş tele yükseltgeyici bir potansiyel uygulanarak hazırlanır. Böylece tele sıkıca bağlanmış ince bir tabaka halinde gümüş klorür oluşur. Bu tel doymuş potasyum klorür çözeltisine batırılır. Ancak gümüş klorür aşırı klorürlü ortamda kompleks oluşturacağından, potasyum klorür çözeltisi kompleks gümüş klorürle doyurulmalıdır. Bu elektrodun potansiyeli standart hidrojen elektroduna karşı ölçüldüğünde yaklaşık +0,2 V'dur. Elektrodun yarı-reaksiyonu;

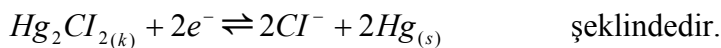


Bu elektrotlar 60 °C'ın üzerindeki sıcaklıklarda kullanılabilirler (275 °C'ta bile çalışabilir). Ancak gümüş iyonları proteinler gibi bazı maddelerle reaksiyon verebildiğinden elektrotla analit çözeltisinin bağlantısının kesilmesi daha kolay olur.

Doymuş kalomel elektrot

Doymuş kalomel elektrotlar, (DKE), hazırlanışları bakımından kolay ve ekonomik olmaları nedeniyle kimyacılar tarafından tercih edilen bir karşılaştırma elektrodudurlar. Ancak diğer kalomel elektrotlarla karşılaştırıldığında sıcaklık sabiti önemli ölçüde büyüktür. Bu da sıcaklık arttıkça standart hidrojen elektrota karşı ölçülen elektrot potansiyelinin düşmesi demektir. Ayrıca sıcaklık değiştiğinde potansiyelinin yeni bir değerde sabitlenmesine kadar geçen süre uzundur. Doymuş ifadesi Hg₂Cl₂ için kullanılmaz. Çünkü bütün kalomel elektrotlarda zaten doymuş halde Hg₂Cl₂ bulunmaktadır. Doymuşluk potasyum klorür için ifade edilmiştir.

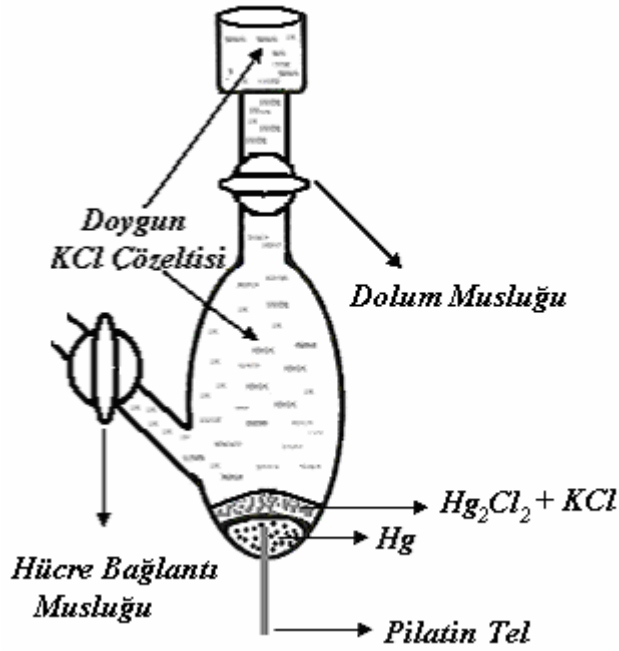
Doymuş kalomel elektrotların potansiyeli standart hidrojen elektroda (SHE) karşı, 25 °C da +0,2444 V dur ve elektrot reaksiyonu:



Bu reaksiyon için Nernst eşitliği yazılırsa:

$$E = E^{\circ} - \frac{0,059}{2} \log[Cl^{-}]^2 \quad [2.1]$$

şeklinde olacaktır. Eğer ortamın klorür iyonu konsantrasyonu sabit tutulursa E değeri sabit kalır. Böylece hazırlanan elektrodun potansiyeli sabit kalır. Bu nedenle doymuş kalomel elektrotlar hazırlanırken elektrottaki klorür iyonu derişiminin sabit kalması için doymuş KCl çözeltisi kullanılır. Hazırlanışı bölüm 3.1.3'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Şekil 2.8'de laboratuarda hazırlanan bir doymuş kalomel elektrot görülmektedir.



Şekil 2.8. Laboratuarda hazırlanmış doymuş kalomel elektrot.

Çizelge 2.1 Referans elektrotların sulu çözeltideki potansiyelleri.

Sıcaklık (°C)	SHE'a Karşı Ölçülen Elektrot Potansiyeli,(V)				
	0,1 M*	3,5 M*	Doygun*	3,5 M*	Doygun*
	Kalomel	Kalomel	Kalomel	Ag/AgCl	Ag/AgCl
10	-	0,256	-	0,215	0,214
12	0,3362	-	0,2528	-	-
15	0,3362	0,254	0,2511	0,212	0,209
20	0,3359	0,252	0,2479	0,208	0,204
25	0,3356	0,250	0,2444	0,205	0,199
30	0,3351	0,248	0,2411	0,201	0,194
35	0,3344	0,246	0,2376	0,197	0,189
38	0,3338	-	0,2355	-	-
40	-	0,244	-	0,193	0,184

* M ve Doygun ifadeleri KCl içindir. Hg₂Cl₂ için değildir.

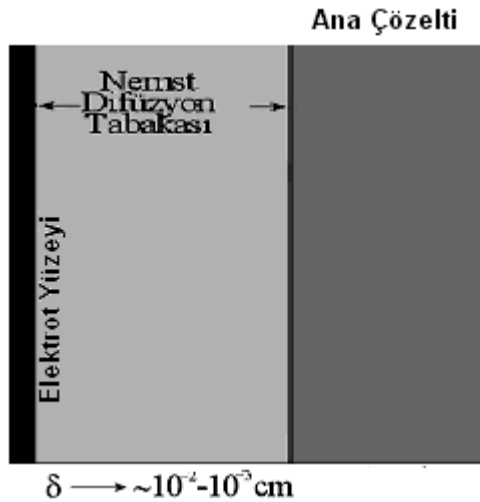
2.3. Voltametric Kütle Aktarım Mekanizmaları

İndirgenecek veya yükseltgenecek türlerin yüzey tabakasına gelmeleri veya yüzey tabakasından, oluşan yeni türlerin ana çözeltiliye gelmeleri kütle aktarım mekanizmaları ile olmaktadır. Bunlar, göç (migrasyon), karıştırılma (konveksiyon) ve difüzyondur. Göç, yüklü elektrot ile ters yüklü türler arasındaki elektrostatik çekim kuvvetinden kaynaklanır. Bu türlerin hareket hızları, türün yüküne, büyüklüğüne ve çalışılan ortama bağlıdır. Konveksiyon, hücredeki türlerin elektrottan çözeltiliye veya çözeltiliden elektroda, karıştırma, çalkalama veya aktarma gibi mekanik yollarla getirilmeleriyle olmaktadır. Sıcaklık ve yoğunluk farkından kaynaklanan kütle aktarımları da konveksiyon ile aktarım yollarındandır.

Difüzyon, türlerin reaksiyon sonucunda konsantrasyonlarında oluşan farklılık nedeniyle, yoğun oldukları bölgelerden daha az yoğun oldukları bölgelere hareketleri sonucu oluşur. Elektrot yüzeyinde madde reaksiyona girdikçe çözeltiliden elektrot yüzeyine bir akım oluşacaktır. Difüzyonla kütle aktarımının hızı, elektrot ile çözeltili arasındaki ara yüzeyle çözeltilinin iç kısımlarındaki derişim farkına, elektro aktif

madde ile çözücünün veya destek elektrolitin türüne bağlıdır. Her madde için ayırt edici bir özellik olan ve difüzyon hızını belirten bir difüzyon katsayısı vardır. Birimi cm^2/s dir ve D ile gösterilir.

Şekil 2.9'daki sistemde bir çözelti içerisinde daldırılan elektrot çevresinde oluşan Nernst Difüzyon tabakası görülmektedir. Bu tabakada kütle aktarımı sadece difüzyonla gerçekleşir. Ana çözeltideki elektro aktif iyonlar Nernst difüzyon tabakasını geçerek elektrot yüzeyine gelirler. Tabakanın kalınlığı 1×10^{-2} ile 1×10^{-3} cm arasında değişebilir.



Şekil 2.9. Bir elektrot yüzeyinin etrafında oluşan difüzyon tabakası.

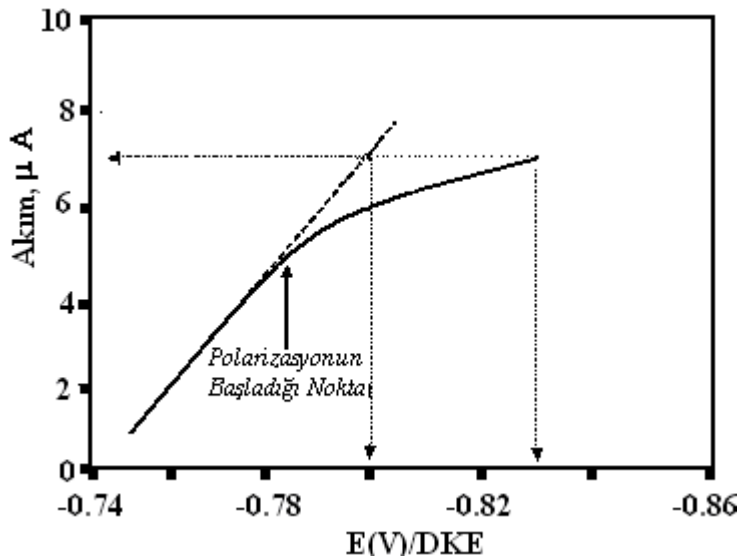
2.4. Polarizasyon

Elektroanalitik yöntemlerin çoğunda, hücredeki potansiyel değişiminin bir fonksiyonu olarak akım değişimini gösteren grafikler kullanılır. Sabit elektrot potansiyellerinde hücre potansiyeli ile akım arasında doğrusal bir ilişki olmalıdır. Yani potansiyel artırıldıkça akımın da artması gerekmektedir. Ancak bu doğrusallık her zaman sağlanamaz. Potansiyelle akımın doğrusallığı bozulduğunda hücre polarize olmuştur. Bu durumda ideal bir polarize elektrot, potansiyelle akımın neredeyse birbirlerinden bağımsız oldukları, yani potansiyelin artışıyla akımın aynı oranda değişmediği ve akımın bir değerden sonra sabit olduğu elektrottur.

Elektrolitik bir hücrede polarizasyon oluştuğunda teoride hesaplanan akımı oluşturmak için uygulanması gereken potansiyel artar.

Bir elektrottaki polarizasyonun derecesi aşırı gerilim olarak adlandırılan ve termodinamik veya denge potansiyeli ile gerçek elektrot potansiyeli arasındaki farkla bulunur. Aşırı gerilim, elektrotlardaki tepkimelerin yavaş olması, elektroda gelmesi gereken türlerin yeterince hızlı gelememesi ve elektrotta tepkimeye girecek türlerin yavaş bir çözelti tepkimesiyle oluşması sonucu gerçekleşir. Polarizasyonun bir sistemin elektrot potansiyelini daima azalttığı bilindiğine göre aşırı gerilim daima negatif işaretlidir ve Π ile gösterilir.

Eğer bir tür, göç, konveksiyon veya difüzyonla elektrot yüzeyine veya elektrot yüzeyinden çözeltiliye teorik akımın gerektirdiği hızda taşınmıyorsa derişim polarizasyonu oluşur. Düşük derişimli türlerin olduğu çözeltilerle, yüksek elektrolit derişimleriyle, karıştırılmayan çözeltilerle ve çok küçük yüzeyli elektrotla (mikroelektrotlar) derişim polarizasyonu sağlanmış olur. Derişim polarizasyonu olduğunda difüzyon aşırı gerilimi de olur.



Şekil 2.10. Elektrolit hücrede akımın potansiyelle değişimi.

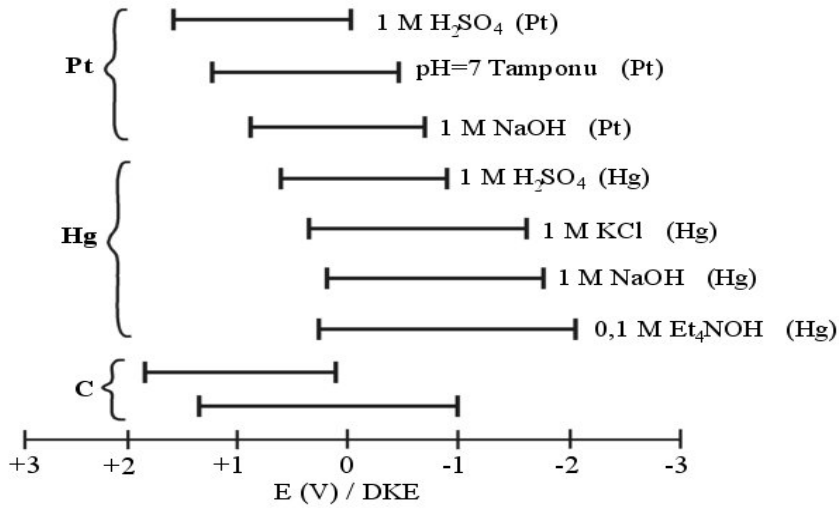
Şekil 2.10'da uygulanan küçük potansiyelerde akımın doğrusal olarak arttığı, yüksek potansiyel değerlerinde doğrusallığın bozulduğu görülmektedir. $-0,80$ V'ta akımın $7 \mu\text{A}$ olması gerekirken, polarizasyon etkisi nedeniyle $7 \mu\text{A}$ 'lık akıma $-0,83$ V'ta ulaşılmıştır.

Genel olarak voltametrik çalışmalar tam derişim polarizasyonu şartları altında bir elektrokimyasal hücrede oluşan akımın ölçülmesine dayanır. Voltametrimin en belirgin özelliklerinden biri, kullanılan numune miktarının diğer yöntemlere kıyasla çok daha küçük miktarlarda olmasıdır.

2.5. Voltametride Kullanılan Destek Elektrolitler ve Uygulanacak Potansiyel Aralığının Sınırları

Destek elektrolit olarak adlandırılan çözeltilerin iyonları elektro aktif değildir. Voltametrik gerilimin uygulanacağı çözeltilere aşırı miktarda destek elektrolit eklendiğinde elektrik yükünün hemen hemen tamamının taşınmasını üstlenirler. Bu sayede analizi yapılacak elektro aktif türün göç akımına katkısı çok küçülür ve önemsiz hale gelir. Bunun dışında bir başka özelliği de çözeltilerin elektriksel direncini azaltarak karıştırılmayan çözeltilerde elektro aktif türün elektrot yüzeyine taşınmasının sadece difüzyonla gerçekleşmesini sağlar.

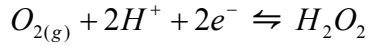
Voltametride herhangi bir maddenin elektrokimyasal davranışını incelemek için elektrotlara uygulanacak potansiyel aralığının sınırları, elektrotların yapıldığı malzemelerin cinsi yanında bu elektrotların kullanılacağı sulu çözeltilerin bileşimine de bağlı olarak değişmektedir. Üç farklı elektrodun daldırıldığı, pH değerleri farklı, çeşitli destek elektrolitlerin potansiyel aralığı şekil 2.11'de belirtilmiştir.



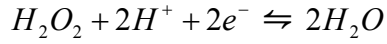
Şekil 2.11. Üç farklı elektrot için çeşitli destek elektrolitlerin potansiyel aralıkları.

Voltametrde, pozitif potansiyel sınırlamaları genellikle serbest oksijen vermek üzere suyun yükseltgenmesi sonucu oluşan büyük akımlardan kaynaklanır. Hücrede kullanılan karşılaştırma elektrodu doymuş kalomel elektrotla ve çalışma elektrodu platin ise, sulu ortamda +0,65 V'tan daha pozitif gerilim değerine gidilemez. Çünkü su yükseltgenerek O₂ açığa çıkar ve devreden çok şiddetli bir akım geçer. Bu akım, çok düşük derişimdeki ve daha pozitif bir potansiyelde gözlenebilecek olan maddenin akımını örteceğinden, maddenin elektrokimyasal davranışı hakkında bir yorum yapılamaz. Çalışma elektrodu olarak platin yerine cıva elektrot kullanılırsa bu sınır daha da daralır ve +0,25 V'a düşer. Çünkü bu potansiyelde cıva yükseltgenmeye başlar. Bazı ortamlarda ise bu sınırı, ortama iletkenliği artırmak için eklenen destek elektrolit tuzunun anyonunun yükseltgenme gerilimi belirler.

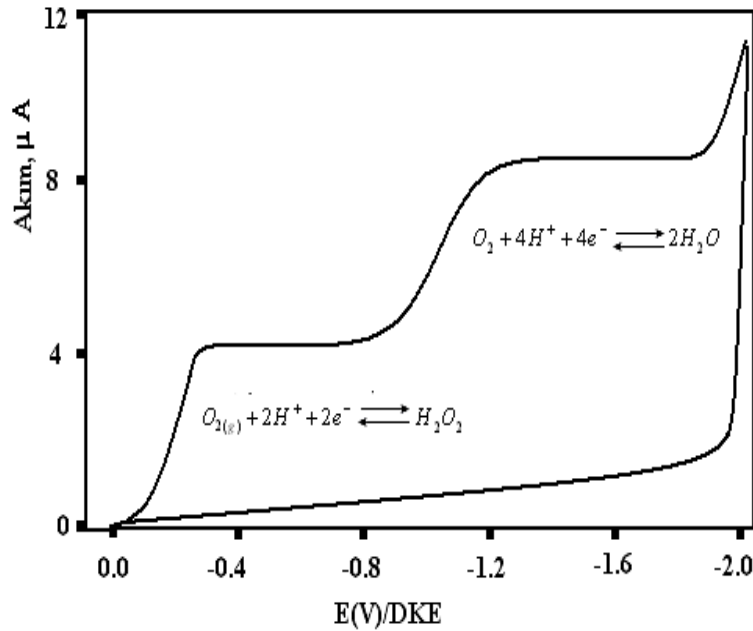
Negatif gerilim sınırını ise çözücünün yada destek elektrolitin katyonunun indirgenme akımı belirler. Platin elektrotta -0,45 V'ta, asidik ortamdaki cıva elektrotta -1,80 V ve bazik ortamdaki cıva elektrotta -2,30 V'ta suyun indirgenerek hidrojen gazı oluşturması sonucu bir akım oluşur. Voltametrde çözülmüş olarak bulunan oksijen bir mikroelektrotta kolayca indirgenir. Bu nedenle havayla doyurulmuş bir sulu çözeltinin voltamogramlarında (Bkz. Şekil 2.12) oksijene ait iki farklı potansiyelde dalgalar gözlenir. Bu dalgaların biri çözülmüş oksijenin indirgenerek hidrojen peroksitine dönüşmesiyle oluşur.



Şekil 2.12'deki voltamogramda görülen ikinci dalga ise oksijenin indirgenmesiyle oluşan hidrojen peroksidin indirgenerek suya dönüşmesine aittir.



Bu iki reaksiyonun stokiyometrisi aynı olduğundan her iki dalganın da yükseklikleri eşit olacaktır. Çözünmüş oksijenin verdiği bu dalgalar diğer türlerin analizi sırasında bozucu etki yaptığından voltametrik tayinlerde oksijenin uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla analizi yapılacak çözeltinin içerisinde argon gazı veya azot gazı gibi bir inert gaz geçirilmelidir. Analiz sırasında beklenmeyen bir pik görüldüğünde veya oluşan pikin oksijene ait olup olmadığını anlamak için, çözülden bir süre inert gaz geçirilir. Eğer oluşan pik yüksekliğinde azalma oluyorsa gözlenen pik oksijene aittir.



Şekil 2.12. Havayla doyurulmuş 0,1 M KCl çözeltisine ait voltamogram.

- 10 mL 0,1 M oksijeni giderilmiş KCl çözeltisi.
- 10 mL 0,1 M havayla doyurulmuş KCl çözeltisi.

Bazı organik çözücüler suya göre daha zor yükseltgenir veya indirgenirler. Bazılarının ise hem indirgenme hem de yükseltgenme sınırları suya göre daha büyüktür. Böylece su yerine kullanılan organik çözücülerle voltametrik gerilim sınırları hem anodik hem de katodik yönde daha büyük gerilim değerlerine kaydırılabilir. Çizelge 2.2’de bazı çözücü-destek elektrolit-elektrot sistemleri için katodik ve anodik sınır gerilimi değerleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı çözücü-destek elektrolit sistemleri için sınır gerilimleri.

Elektrot	Çözücü-destek elektrolit	DKE’ a	karşı	DKE’ a	karşı
		anodik	gerilim	katodik	gerilim
		sınırı (V)		sınırı (V)	
Platin (Pt)	H ₂ O, 1 M H ₂ SO ₄	+1,25 V		-0,25 V	
Platin (Pt)	H ₂ O, 1M NaOH	-0,20 V		-1,80 V	
Platin (Pt)	CH ₃ CN, 0,1M TBABF ₄	+2,40 V		-2,60 V	
Platin (Pt)	DMF, 0,1M TBAClO ₄	+1,40 V		-2,70 V	
Platin (Pt)	BN, 0,1M TBABF ₄	+2,40 V		-1,80 V	
Platin (Pt)	PC, 0,1M TEAClO ₄	+2,20 V		-2,50 V	
Platin (Pt)	SO ₂ (sıvı), 0,1M TBAClO ₄	+3,50 V		0,00V	
Platin (Pt)	NH ₃ (sıvı), 0,1M KI	+0,10 V		-3,00 V	
Cıva (Hg)	H ₂ O, 1 M H ₂ SO ₄	+0,25 V		-1,10 V	
Cıva (Hg)	H ₂ O, 1M KCl	+0,10 V		-1,80 V	
Cıva (Hg)	H ₂ O, 1M NaOH	-0,10 V		-2,00 V	
Karbon (C)	H ₂ O, 1M HClO ₄	+1,40 V		-0,20V	
Karbon (C)	H ₂ O, 0,1M KCl	+1,00 V		-1,25 V	

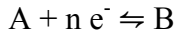
(TBA= Tetrabutylamonyum, TEA= Tetraetilamonyum.)

Çalışma elektroduna uygulanan gerilim negatif yönde artırılırsa çalışma elektrodunda meydana gelen indirgenme tepkimesinin hızı artırılmış olur. Bu durumda çalışma elektrodu katot olarak davranır ve katodik akım (i_k) denilen akım meydana gelir. Bunun dışında uygulanan gerilim belirli bir pozitif değere geldiğinde elektrot bu kez anot olarak davranır ve anodik akım (i_a) dediğimiz akım oluşur. Voltametrde,

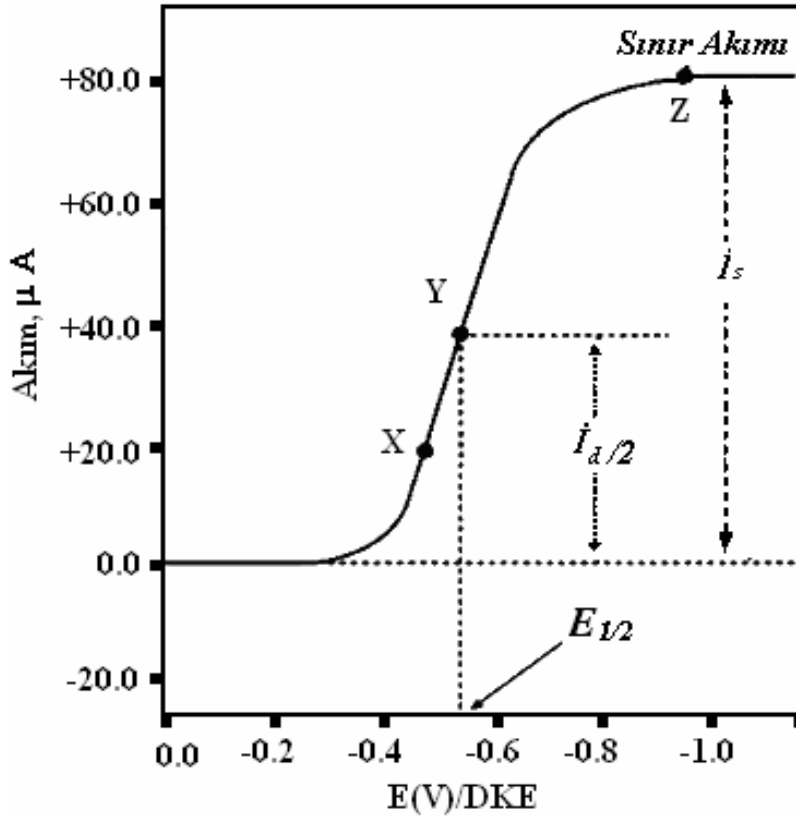
kullanılan elektro aktif maddenin, ortamın ve elektrodun cinsi çalışma elektrodunun hangi gerilim değerinde katot hangisinde anot olarak davranacağını belirler.

2.6. Voltamogramlar

Voltametri de uyarma sinyaline karşı alınan akım değeri grafiğe geğirildiğinde elde edilen eğrilere Voltamogram adı verilir. Bir A türünün bir B türüne indirgen-diği bir elektroliz için, mikroelektrotta geręekleřen yarı reaksiyonun,



gibi bir tersinir yarı reaksiyon olduğu kabul edilirse, tipik bir doğrusal taramalı voltamogram Şekil 2.13'de görölmektedir. Başlangığta ortamda sadece A türü vardır ve konsantrasyonu C_A kadardır. Potansiyel uygulanmaya başlandığı andan itibaren A indirgenmeye başlar. Bu durumda ortamda B türü görölr. Bu reaksiyon sunucunda hücrede bir akım okunur. Bu akım uygulanan potansiyelle birlikte artar. Şekilde görölen dik bir artıştan sonra sabit bir akım oluşur. Bu noktadaki akıma 'Difüzyon Kontrollü Akım' veya 'Sınır Akımı' denir (Z noktası). Sınır akımının oluştuğu dalga potansiyelinin yarısına 'Yarı Dalga Potansiyeli' denir ve $E_{1/2}$ ile gösterilir (Y noktası).



Şekil 2.13. Bir A türünün B türüne indirgenmesi sırasındaki voltamogramı.

Doğrusal taramalı voltamogramlar genellikle voltametrik dalga adı verilen ve sigmaoidal şekilli yani S şeklinde olan eğrilerdir.

Sınır akımı A türünün tamamının elektrot yüzeyinde indirgenmesi sonucu oluşur. Yarı sınır akımı ise A türünün derişiminin elektrot yüzeyindeki ana çözeltinin derişiminin yarıya indiği andaki akımdır. Uygulanması gereken potansiyel Nernst eşitliğinden bulunur.

E^0 ; A' nın tamamının B' ye dönüşmesi için gerekli potansiyel,

C_A ; A türünün başlangıç potansiyeli,

C_A^0 ; A' nın elektrot yüzeyinde kalan konsantrasyonu,

C_B^0 ; A' dan oluşan B' nin elektrot yüzeyindeki konsantrasyonu,

E_{Ref} ; Referans elektrotun potansiyeli,

E ; Herhangi bir andaki gerekli potansiyel ise,

$$E = E^0 - \frac{0,0592}{n} \cdot \log \frac{C_B^0}{C_A^0} - E_{Ref.}$$

[2.2]

eşitliği ile bulunur. Nernst eşitliğine göre uygulanan potansiyel kadar, elektrot yüzeyinde madde indirgenir.

A' nın B' ye indirgenmesi olayındaki akım, A' nın çözülden difüzyon tabakasını geçerek elektrot yüzeyine gelme hızına bağlıdır. Oluşan B, yüzeyden difüzyonla uzaklaştırıldığından ve sonunda konveksiyonla sürüklenip götürüldüğünden, Nernst eşitliğinin gerektirdiği yüzey derişimini sağlamak için sürekli bir akım gereklidir. Bu akım A' nın elektrot yüzeyine taşınma hızının nicel bir ölçüsüdür ve ;

$$i = n.F.A.D_A \left(\frac{\partial C_A}{\partial X} \right)$$

[2.3]

eşitliği ile bulunur.

Bu eşitlikte;

i ; Akım (Amper),

n ; Alınan verilen elektron sayısı,

F ; Faraday sabiti,

X ; Uzaklık (cm),

C_A ; Konsantrasyon (mol/cm³),

A ; Elektrot yüzey alanı, (cm²)

D_A ; Difüzyon katsayısı (cm²/s) ifade etmektedir.

Sınır akımının (i_s) değeri ise;

$$i_s = k \cdot x \cdot C_A \quad \text{eşitliği ile bulunur.}$$

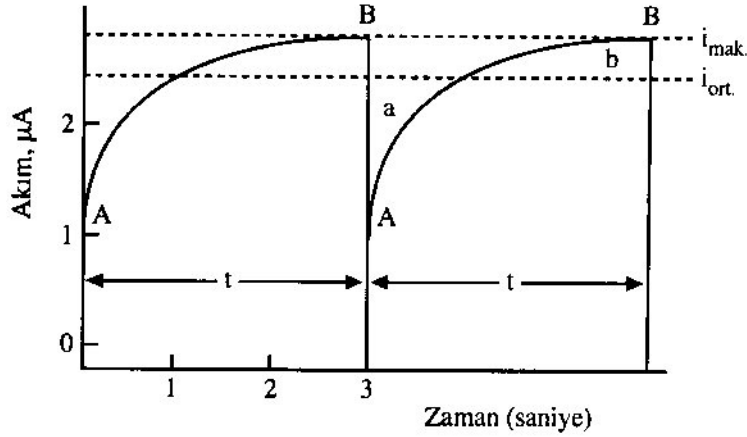
[2.4]

A' nin yarısının tükenip tükenen A derişimi kadar B oluşması için gerekli potansiyel $E_{1/2}$ dir. Bu anda $C_B^0 = \frac{C_A}{2}$ ve $C_A^0 = \frac{C_A}{2}$ olacağından $C_A^0 = C_B^0$ olur. Yarı dalga potansiyelleri çözeltideki bileşenlerin belirlenmesinde kullanılabilir.

2.7. Polarografi

J.H.Heyrovsky voltametriyle ilgili yaptığı çalışmalar sırasında çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodu (DCE) kullanmıştır. Bu yüzden daha sonra bu elektrotla elde edilen voltamogramlara 'Polarogram' adı verilmiştir. Bu elektrodun olduğu sistemlerle yapılan çalışmalara da 'Polarografi' adı verilmiştir. Bu çalışmalar Heyrovsky' ye, polarografiyi icat etmesinden ve geliştirmesinden dolayı, 1959 yılında Nobel ödülünü kazandırmıştır.

Polarografi, voltametrinin ilk bulunan ve kullanılan bir analiz tekniğidir. Polarografide konveksiyon önlenmiştir. Ayrıca çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodu kullanılmıştır. Bu nedenle uygun potansiyele gelindiğinde damla ile birlikte akım da oluşmaya başlar ve damla ile akım da giderek artar bu damla kopana kadar devam eder. Koptuğu anda oluşan akım kesilir ve sıfır değerine ulaşır. Bu tarama süresince devam eder. Damla oluşurken yüzey alanı küçüktür ve indirgenme olayı azdır. Bu nedenle taramanın başlarında oluşan akım küçüktür. Damla büyüdükçe elektrot yüzey alanı arttığından indirgenme olayı da artacaktır. Damlanın tam kopmasına yakın anda yüzey alanı en büyük değerde olduğundan akım da en büyük değerindedir. Koptuğu anda iletim kesildiğinden akım sıfır olur. Bu durumda oluşan akım-zaman grafiği şekil 2.14'de verilmiştir.



Şekil 2.14. Damlayan cıva elektrotta oluşan akım-zaman grafiği.

Burada oluşan akım Faraday yasalarına uyan ‘Faradayik Akım’dır. Bu akımın dışında ortamda başka akımlar da vardır. Bunlara ‘Artık Akımlar’ denir. Genelde mikroelektrotlar üreticinin negatif ucuna (-) bağlı olduğundan, $-0,4$ V dan daha negatif potansiyellerde kaynaktan gelen aşırı miktardaki elektronlar damlayan her bir cıva damlasının negatif yükle yüklenmesine neden olurlar. Bu elektronlar oluşan her bir damla ile beraber düşerler. Bu olay sürekli olarak tekrarlandığından bir akım oluşur. Daha pozitif (+) değerlerde ise damlalar çözeltiye göre daha pozitif yüklenirler. Böylece her damla oluşurken elektronlar yüzeyden cıva yığına doğru itilir ve negatif bir akım oluşur. Bu akıma ‘Yükleme Akımı’ denir. $-0,4$ V civarında ise, yüklem akımı sıfırdır. Burada yük çözelti ile elektrot ara yüzeyi boyunca taşınırken bir yükseltgenme-indirgenme tepkimesi gerçekleşemez.

Ortamda oluşan diğer bir akım ise, çözeltide bulunabilecek safsızlıklardan kaynaklanan akım çeşitleridir. Bunlardan ilki sudan kaynaklanan safsızlıklardan, ikincisi kullanılan destek elektrolitten gelen safsızlıklardan, üçüncüsü kullanılan cıvadan gelen safsızlıklardan ve son olarak ortamda bulunan çözünmüş oksijenden gelen akımlardır.

Polarografik yöntemin doğruluğu bu Faradayik olmayan artık akımların büyüklüğüne bağlıdır.

Polarografide oluşan akımın büyüklüğü İlkoviç Denklemi ile bulunur.

$$I_{Dif} = 706.n.D^{1/2}.m^{2/3}.t^{1/6}.C.$$

[2.5]

Denklemi ile maksimum I_{Dif} Akımı bulunur. Denklemden 706 yerine 607 alınırsa maksimum akım yerine ortalama bir akım değeri elde edilir. Yani denklem ortalama akım için;

$$I_{Dif} = 607.n.D^{1/2}.m^{2/3}.t^{1/6}.C.$$

[2.6]

şeklinde ifade edilebilir. Denklemden;

D ; Analitin difüzyon katsayısı (cm^2/s),

m ; Cıvanın kütle olarak kapilerden akış hızı (mg/s),

t ; Cıva damlasının kapiler ucunda kalış süresi (s),

C ; Konsantrasyon, olarak alınır.

Burada n, m, t ve D sabit olduğundan akım değeri C ye bağlıdır. D değeri her madde için karakteristik olduğundan destek elektrolit değiştirilerek akımın büyütülebilmesi polarografi için bir üstünlüktür. Ayrıca İlkoviç eşitliğinde ($m^{2/3}.t^{1/6}$) çarpımı kapiler sabiti olarak bilinir ve hem m hem de t deneysel olarak bulunabilir. Böylece farklı kapilerlerden elde edilen difüzyon akımlarının karşılaştırılması mümkün olmaktadır.

Polarografide kantitatif analiz standart ekleme yöntemi ile veya kalibrasyon eğrileri kullanılarak yapılabilir. Ancak kullanılan standart maddelerin bileşiminin, hem elektrolit derişimi hem de pH yönünden numunenin bileşimine benzemesi gerekmektedir. Böylece %1 ile %3 arasında bağıl kesinlik ve doğruluk elde edilebilir. Analize destek elektrolitin polarogramı alınarak başlanır. Kantitatif analizi yapılacak numune çözeltisinden destek elektrolit içerisine eklenerek polarogramı alınır. Analitin bilinen konsantrasyondaki çözeltisinden de eklenerek polarogramı

alınır ve numunenin piki ile eklenen standardın piki arasındaki yükseklik farkından tayin yapılır.

Kalitatif analiz için de polarografi rahatlıkla kullanılmaktadır. Uygun destek elektrolitin polarogramı alınır. Analizi yapılacak numune çözeltisinin polarogramı alınır. Görülen piklerin $E_{1/2}$ değerlerine yakın bilinen maddelerin standart çözeltileri eklenerek piklerin aynı değerlerde görülüp görülmediğine bakılır. Eğer aynı değerde iseler aynı işlemler destek elektrolit değiştirilerek tekrarlanır ve eğer gene aynı $E_{1/2}$ de pikler görülürse maddeler aynı olabilir.

Bir türün tek başına indirgenmesi veya yükseltgenmesi için gerekli potansiyel değeri, bu türün kompleks halde iken indirgenmesi veya yükseltgenmesi için gerekli potansiyel değerinden farklıdır. Polarografide indirgenmenin zorlaşması demek potansiyelin daha negatife kayması demektir.

Puls polarografisi

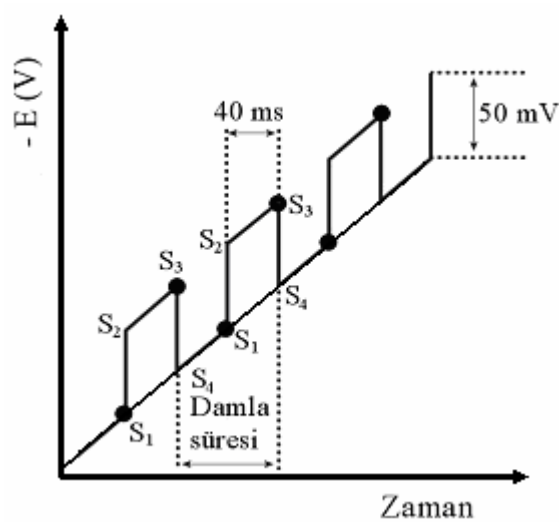
Puls polarografisinde, istenen faradayik eğri ile girişim yapan yükleyici akım arasındaki farkın büyük olduğu andaki akım ölçülür.

Polarografi ile kantitatif analizlerde 1×10^{-5} M'dan daha küçük derişimler tayin edilememektedir. Bunun nedeni yükleme akımının değerinin belli bir derişimden sonra faradayik akımın değerine yaklaşmasıdır. Eğer yükleme akımının ölçülen toplam akım içindeki katkısı azaltılırsa daha küçük değerdeki faradayik akımlar ölçülebilir hale getirilebilir. Böylece yöntemin duyarlılığı artırılmış olur. Damlayan cıva elektroda damla süresinin sonlarına doğru bir puls uygulandığında ve akım değeri bu pulsun sonunda ölçüldüğünde yöntemin duyarlılığı artar ve gözlenebilme sınırı 1×10^{-7} M'a kadar düşer. Normal puls polarografisinde uygulanan puls değeri her cıva damlasında giderek artan bir genlikte uygulanır ve böylece uygulanan gerilim taranmış olur. Akım ölçümü puls süresinin sonlarına doğru yapıldığından yükleme akımı bu ana kadar azalmış olur. Dolayısıyla akım ölçüldüğü anda yükleme akımının toplam akıma katkısı en aza indirilmiş olur.

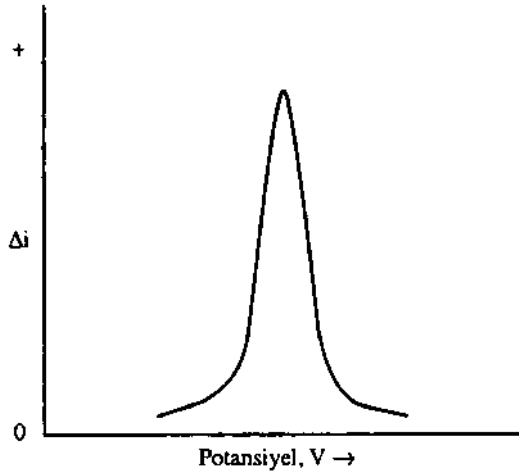
Diferansiyel puls polarografisi

Puls teknikleri arasında en çok kullanılan ve en önemlisi olanıdır. Damlayan cıva elektroduna uygulanan pulsların genlikleri sabit tutulur ve bu pulslar her damlada daha da negatifleştirilerek artırılan bir gerilim üzerine uygulanılarak bir gerilim programı oluşturulur (Şekil 2.15). Bu programda pulslar damlanın alanının yaklaşık olarak sabit kaldığı damlama süresinin sonuna doğru uygulanır. Akım ölçümü ise bir kere pulsun uygulandığı andan hemen önce ve bir kere de pulsun uygulanmasının sonuna doğru yapılır ve bu iki ölçüm arasındaki fark alınır. Bu yüzden bu teknikle elde edilen polarogramlar sigmaoidal yani S şekilli değil pik şeklindedir (Şekil 2.16). Yüksekliği konsantrasyonla doğru orantılıdır. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli yarı dalga potansiyeline yaklaşık olarak eşittir.

Damlayan cıva elektrota uygulanan pulslar, genlikleri 5-100 mV arasında bir değerde sabit tutularak ve her damlada daha büyük bir gerilim değerinin üstüne bindirilerek uygulanır. Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan uyarma sinyalleri ve elde edilen polarogram şekil 2.15. ve şekil 2.16'da görülmektedir.



Şekil 2.15. Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan uyarma sinyali.



Şekil 2.16. Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen potansiyel akım eğrisi.

Diferansiyel puls polarografisinde yarı dalga potansiyelleri 0,04 ile 0,05 V kadar farklı olan maddelerin pikleri birbirlerinden ayrılır ve rahatlıkla gözlenebilir. Oysa klasik polarografi ve normal polarografide dalga potansiyelleri arasındaki farkın en az 0,2 V olması gerekmektedir. Çünkü dalgaların ayrılması ve gözlenmesi oldukça zorlaşmaktadır. Ayrıca diferansiyel puls polarografisinde tayin sınırı çoğu zaman 1×10^{-8} M'a kadar inebilmektedir.

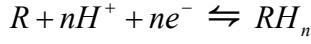
Kare dalga polarografisi

Bu polarografi tekniği son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls polarografisi tekniğidir. Damlayan cıva elektrodu ile tarama, bir damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı hemen hemen sabitken yapılır. Kare dalga polarografisi asılı cıva damla elektrodu ve kromatografik dedektörlerle kullanılmaktadır.

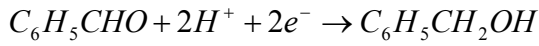
2.8. Polarografide pH'nın Önemi

Polarografide pH oldukça önemlidir. Bir çok organik maddenin ve bileşiklerinin tayininde incelenmesinde polarografiden faydalanılır. Organik maddelerin

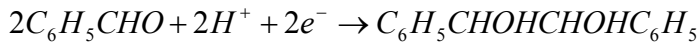
elektrotlarda indirgenmesi hidrojen iyonu ile olur. Örneğin bir organik tür olan R nin indirgenmesine ait reaksiyon incelendiğinde



R ve RH_n organik maddenin sırasıyla yükseltgenmiş ve indirgenmiş halidir. Görüldüğü gibi organik bileşiklerin yarı dalga potansiyelleri pH' ya oldukça bağlıdır. Bunun dışında ortamın hidrojen iyonu derişimine bağlı olarak farklı ürünlerin oluşması da mümkündür. Örneğin benzaldehit bazik bir çözeltide;



reaksiyonu ile indirgendiğinde benzil alkol oluşturur ve yaklaşık $-1,4$ V'da bir pik verir. Oysa pH nın 2 den küçük olduğu durumlarda;



reaksiyonu ile indirgenerek hidrobenzoin oluşturur ve yaklaşık $-1,0$ V'da benzil alkolün yarısı kadar büyüklükte bir pik verir. pH nın bu iki değer arasında olduğu durumlarda ise her iki reaksiyon da oluşur ve her iki ürünün de piki gözlenir.

EDTA, (H_4Y) kullanılarak yapılan çalışmalarda da pH önemlidir. H_4Y nin iyonlaşması sırasında hidrojen iyonundaki değişim analizi yapılacak maddenin EDTA ile kompleks oluşturmasına neden olabilir.

Sonuç olarak hidrojen iyonları harcayan veya oluşturan bir olayda elektrot yüzeyindeki çözeltinin pH'sı önemli ölçüde değişir ve bu değişimler reaksiyonun indirgenme potansiyeli etki ederek yayvan ve zayıf piklerin görülmesine neden olur. Bunun dışında difüzyon akımı ile derişimi arasındaki doğrusallık bozulur. Bu nedenlerden dolayı analizler sırasında tekrarlanabilir yarı dalga potansiyelleri ve difüzyon akımları için pH kontrol edilir ve bunun için tamponlar kullanılır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

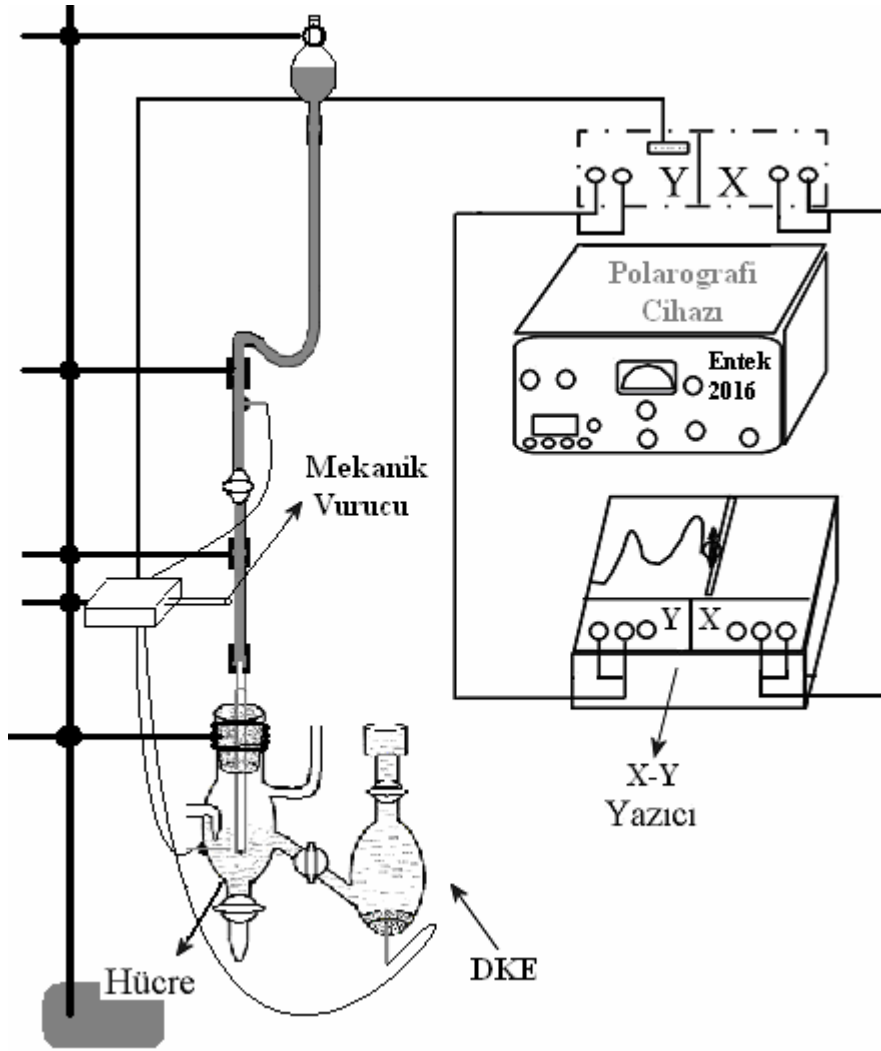
Bu çalışmada K_3 vitamininin analizi için yeni bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. K_3 vitamininin $Ti(III)$ ile reaksiyona girerek oluşturduğu $Ti(IV)$ 'ün polarografik olarak tayiniyle, dolaylı olarak K_3 vitamini tayini yapılmıştır. Öncelikle K_3 vitamini, $Ti(III)$ iyonu ve $Ti(IV)$ iyonu diferansiyel puls polarografisinde incelenmiştir. Sonra K_3 vitamini ve $Ti(III)$ iyonu arasında oluşan reaksiyon (Bkz. Bölüm 4.) incelenmiş, elde edilen polarogramlardaki pik yüksekliklerinden standart ekleme yöntemiyle miktar tayini yapılmıştır.

Çalışmalar sırasında üç elektrotlu (karşıt, referans ve çalışma elektrotları) diferansiyel puls polarografisi kullanılmıştır. Bu yöntemde referans elektrot olarak kullanılan doymuş kalomel elektrot (DKE) ile çalışma elektrotu olarak kullanılan damlayan cıva elektrot (DCE) arasına, her pus uygulamasıyla birlikte artan bir potansiyel uygulanır. Ortamda oluşan akım ise damlayan cıva elektrot ile karşıt elektrot olarak kullanılan platin (Pt) arasında okunur.

3.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

3.1.1 Diferansiyel puls polarografisi sistemi

Deneysel çalışmalar sırasında kullanılan diferansiyel puls polarografisi cihazı, PAR 174-A model polarografik analizör sistemi esas alınarak üretilen Türk malı Entek 2016 model polarografi cihazıdır. Analizör dışında bu diferansiyel puls polarografisi sisteminde bir Linseis LY 1600 model X-Y tipi mekanik yazıcı, Kalousek tipi cam çalışma hücresi (Bkz. Şekil 3.2.), kapiler cam boru yardımıyla yapılan bir damlayan cıva elektrodu ve zaman ayarlı mekanik vuruculu damla düşürücünden oluşmaktadır. Damlanın düşme zamanı vurucu ile her 0.5-1 saniye için ayarlanabilir. Sistemin genel görünümü şekil 3.1'de şematize edilmiştir.



Şekil 3.1. Polarografide kullanılan analiz sistemi.

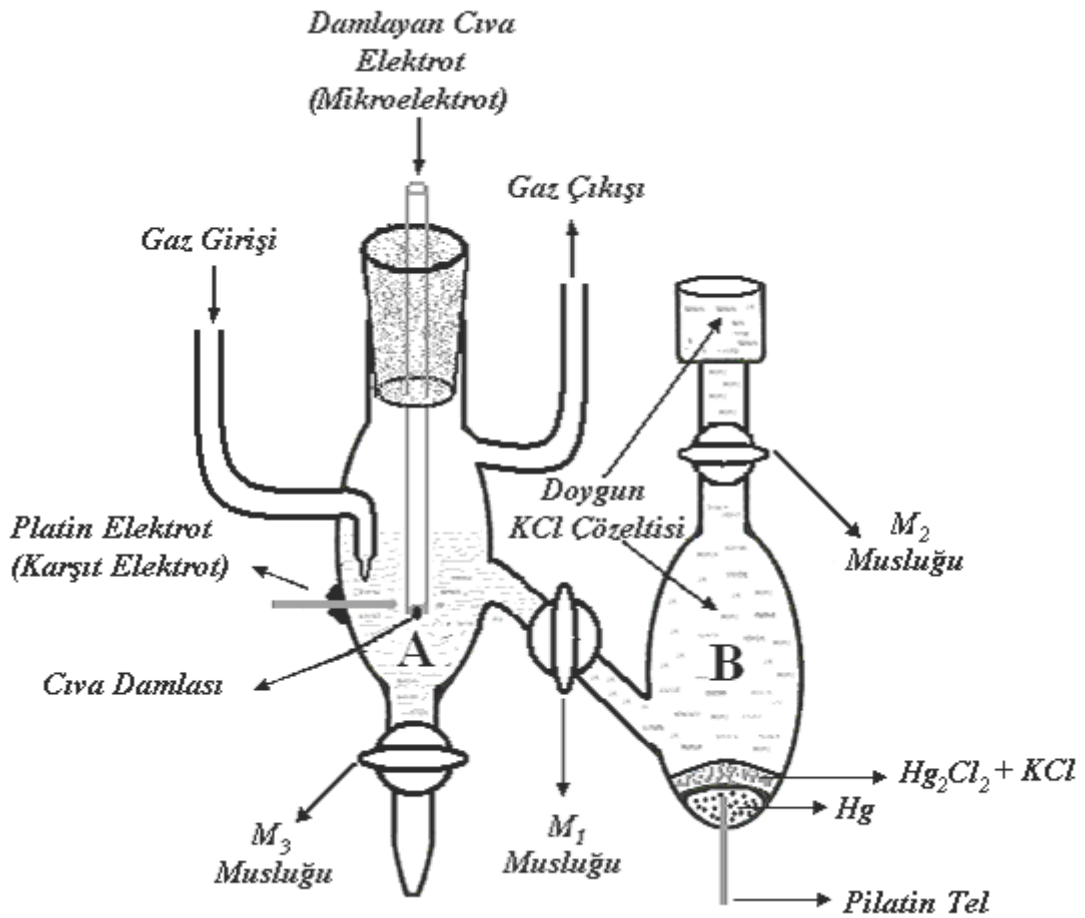
Bu sistemde X,Y, ve CR (Current Range, Akım Aralığı) değerlerine karşılık elde edilen akım değerleri çizelge 3.1.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. X=0,05 V/cm , Y, ve CR karşı okunan akım değerleri.

Y (mV)	CR: 0,1 mA	CR: 0,2 mA	CR: 0,5 mA	CR: 1,0 mA
5	0,05 $\mu\text{A}/\text{cm}$	0,1 $\mu\text{A}/\text{cm}$	0,25 $\mu\text{A}/\text{cm}$	0,5 $\mu\text{A}/\text{cm}$
10	0,1 $\mu\text{A}/\text{cm}$	0,2 $\mu\text{A}/\text{cm}$	0,5 $\mu\text{A}/\text{cm}$	1,0 $\mu\text{A}/\text{cm}$
20	0,2 $\mu\text{A}/\text{cm}$	0,4 $\mu\text{A}/\text{cm}$	1,0 $\mu\text{A}/\text{cm}$	2,0 $\mu\text{A}/\text{cm}$
50	0,5 $\mu\text{A}/\text{cm}$	1,0 $\mu\text{A}/\text{cm}$		

3.1.2 Kalousek hücresi

Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan kalousek tipi cam hücre sisteminin genel görünüşü ve önemli parçaları şekil 3.2’de gösterilmiştir. Hücre temel olarak iki ana bölüme ayrılmıştır. A bölümü, analizi yapılacak numunenin, destek elektrolitin, karşıt elektrotun ve çalışma elektrodunun bulunduğu hücre kısmıdır. B bölümü, bir platin tel, telin üzerinde cıva ve doymuş KCl çözeltisinden oluşan referans elektrodunun bulunduğu kısımdır. Bu hücrede M_1 ve M_2 musluklarının çapları önemlidir. Doymuş kalomel elektrot ile numunenin bulunduğu örnek kabının arasında bulunan M_1 musluğunun çapı yaklaşık 16 mm, doymuş kalomel elektrodun üst kısmında bulunan M_2 musluğunun çapı yaklaşık 17 mm ve örnek kabını boşaltmada kullanılan M_3 musluğunun çapı yaklaşık 14 mm olmalıdır.



Şekil 3.2. DPP’de kullanılan kalousek tipi hücre sistemi.

3.1.3 Elektrot sistemleri

Çalışmalarda kullanılan diferansiyel puls polarografisi sisteminde karşılaştırma elektrodu, karşıt elektrot ve çalışma elektrodu olmak üzere üç tip elektrot sistemi bulunmaktadır.

Karşılaştırma (Referans) elektrot

Laboratuarda hazırlanan doymuş kalomel elektrot (DKE) karşılaştırma elektrodu olarak kullanıldı. Şekil 3.2.'de görülen Kalousek hücresinin B bölümü doymuş kalomel elektrot yapımında kullanılmıştır.

Kalousek hücresinin M_1 ve M_2 muslukları açılır. Hücredeki B bölümüne M_2 musluğundan, tabanındaki platin teli örtecek kadar temiz cıva konur. Platin tel sistemdeki diğer elektrotlarla temasın sağlanması için cıvaya batırılmıştır. KCl'ün sıcak saf suyla hazırlanmış ve oda sıcaklığına kadar kendiliğinden soğutulmuş doygun çözeltisi hazırlanır ve B bölümü içindeki cıva üzerine, bölmeyi tam olarak dolduracak şekilde doldurulur. Dolum sırasında M_1 bağlantı musluğu açık tutulmalıdır. Bu işlem yapılırken bölme içerisinde, özellikle çalışma hücresiyle bağlantıyı sağlayan musluk civarında herhangi bir şekilde hava kabarcığının oluşmamasına dikkat edilmelidir. Bölme doldurulduktan sonra her iki musluk kapatılır. Oluşan bu bölmede, cıva (I) klorür (Hg_2Cl_2 , kalomel) ile doyurulmuş bir doymuş KCl çözeltisine degen bir miktar cıva vardır. Bu şekilde oluşturulan elektroda Doymuş Kalomel Elektrot denir.

Doymuş kalomel elektrodun hacmi yaklaşık 20-30 mL arasındadır. Bu miktarın analit çözeltisinin seviyesinin altına inmemesine dikkat edilmelidir. Böylece hem cıva(I) iyonları ile analit arasında oluşabilecek reaksiyonlar sonucunda M_1 musluğunun tıkanması önlenmiş olur, hem de bağlantıyı kesecek hava kabarcıklarının önüne geçilir. Bu durumda da analit çözeltisinden kalomele türlerin geçmesi muhtemeldir. Bu yüzden kalomelin kirlenmemesine dikkat edilmelidir. Eğer kalomel kirlenirse temiz olarak yeniden hazırlanmalıdır.

Karşıt elektrot

Karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Bu elektrot elektriğin, sinyal kaynağından gelip çözeltinin içinden geçerek mikroelektroda (deneyler süresince kullanılan mikroelektrot, DCE veya DME) gelmesini sağlar. Bu nedenle çalışmalar sırasında kullanılan çözeltinin, hücredeki platin tele temas etmesine dikkat etmelidir.

Çalışma elektrodu (Mikroelektrot)

Çalışma elektrodu olarak Damlayan Cıva Elektrot (DCE veya DME) kullanılmıştır (Bkz. Bölüm 2.2.1). Bu elektrotlarda damlanın büyüklüğü kullanılan kapiler cam borunun çapına ve cıva haznesinin hücreden yüksekliğine bağlıdır. Damlama hızı zaman ayarlı, damla düşürücü adı verilen bir mekanik vurucu ile 0,5, 1,0 veya 2,0 saniyede bir oluşacak şekilde ayarlanabilir. Çalışmalar sırasında cıva haznesindeki cıva seviyesi deney süresince mümkün olduğunca aynı olmalıdır.

3.2. Cıvanın Temizlenmesi

Damlayan cıva elektrotta kullanılan cıva Merck marka olup proanaliz tipi cıvadır. Diferansiyel puls polarografisi tekniği ile 1×10^{-6} – 1×10^{-7} M madde tayininin yapılabilmesi için kullanılan cıvanın yüksek saflıkta olması gerekmektedir. Bu sebepten dolayı proanaliz tipi cıva kullanılmış ve kirlenen cıva aşağıda açıklandığı gibi temizlenmiştir.

Kirli cıva bir behere alınır. Üzerinden bir süre çeşme suyu geçirilerek bagetle karıştırılır. Sudan ayrılarak alınan cıva, bir litrelik uzun cam mezürdeki çeşme suyu içerisine, mezürün üst kısmında tutulan ince platin tel süzgeçten geçirilerek yıkanır. Mezürdeki çeşme suyu uzaklaştırılıp, süzülen cıva bir behere aktarılır. Bu işlem aynı şekilde en az beş defa tekrarlanır. Daha sonra aynı mezür, 15 M'lık derişik HNO_3 çözeltisinden ve saf sudan, 1:5 (HNO_3 : H_2O) oranında hazırlanan HNO_3 çözeltisi ile doldurulur ve cıva platin tel süzgeçten mezür boyunca zerrecikler halinde süzülür. Bu yıkama işlemi en az beş defa tekrarlanır. Temizlenen cıva, platin tel

süzgeçten geçerek içine saf su konmuş olan mezür boyunca zerrecikler halinde süzülür. Bu işlem cıvanın asitliği giderilinceye kadar tekrarlanmalıdır. Asitliği giderilen temiz cıva bir behere alınır ve süzgeç kağıdıyla iyice kurutulur. Kurutulan cıva, cıva haznesine alındıktan sonra herhangi bir safsızlık içerip içermediği alınan polarogramlar incelenerek kontrol edilir.

3.3. Ortamdan Oksijenin Giderilmesi

Analit çözeltisinin hazırlandığı saf suda veya standart çözeltilerde bulunabilecek serbest oksijenin giderilmesi için ve bu çözeltilerin polarografi hücresine konması sırasında, hücreye giren havanın uzaklaştırılması için ortamdan bir süre azot veya argon gibi analitle veya elektrolit çözeltiyle reaksiyon vermeyen inert bir gaz geçirilmelidir. Aksi takdirde oksijenin bozucu etkisi oluşur (Bkz. Bölüm 2.5). Kullanılacak gaz, tüpteki regülatörden uygun basınçta çıktıktan sonra bir su tuzağına gelmeli ve daha sonra hücreye gitmelidir. Hücreden çıkan gaz başka bir su tuzağına gönderilmelidir. Aksi halde hücreye gaz geçişi sırasında yeniden havanın oksijeni karışabilir.

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Analit

Çalışmalar sırasında kullanılan bütün reaktifler analitik saflıktadır. Çözeltilerin hazırlanmasında ve deney aşamasında saf su kullanılmıştır. Diğer kimyasalların özellikleri aşağıda verilmiştir.

Kullanılan kimyasalların özellikleri:

Asetik asit (CH_3COOH):

$M_A = 60,05$ g/mol, $d = 1,05$ g/mL, % 100'lük Riedel-de Haen marka.

Titan (III)klorür ($TiCl_3$):

$M_A = 154,26$ g/mol, $d = 1,20$ g/mL, %15 (v/v)'lik . Merck marka.

Titan (IV) klorür ($TiCl_4$):

$M_A = 189,76$ g/mol, $d = 1,12$ g/mL, %15 (v/v)'lik. BDH' Limited Poole England marka.

 K_3 vitamini (Menadion Sodyum Bisülfid, $C_{11}H_9NaO_5S$):

$M_A = 276,24$ g/mol, 2 mL'lik tek bir ampulde 0,020g menadion sodyum bisülfid bulunur. 2 ml'lik 5'er adet ampuller şeklinde satılan Libavit K adında ticari ilaç.

Demir(III) klorür hegzahidrat, ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$):

$M_A = 270,32$ g/mol. %99'luk. Merck marka.

Hidroklorik asit, (HCl):

$M_A = 36,46$ g/mol. %37'lik. $d = 1,19$ g/cm³. Riedel-de Haen marka.

Cıva(II) klorür, ($HgCl_2$):

$M_A = 271,50$ g/mol. %99,5'lik. Merck marka.

3.5. Reaktiflerin Hazırlanması

Ticari ampuldeki K_3 vitamini analizi için yöntem belirlenmesi amacıyla diferansiyel puls polarografisinde yapılacak çalışmalar için, K_3 vitaminin 1×10^{-3} M'lık, Ti(IV)'ün 0,1 M'lık ve Ti(III)'ün 0,1 M'lık çözeltileri hazırlanmıştır. Ti(IV)'ve Ti(III) çözeltilerinin ayarlanmaları için 0,1 M'lık demir(III) çözeltisi ve çinko-cıva amalgamı için 0,2 M'lık cıva(I) klorür çözeltileri hazırlanmıştır. Analizde destek elektrolit olarak kullanılacak asetik asitin de 0,2 M'lık çözeltisi hazırlanmıştır.

3.5.1 1×10^{-3} M K_3 vitamininin hazırlanması

Çalışmalarda kullanılan K_3 vitamini çözeltisi, piyasadan temin edilen Libavit K adındaki ticari ampullerden oluşan ilaçtan alınan örneklerle hazırlanmıştır.

2 mL'lik 5 adet ampuller şeklinde satılan K₃ vitamininin her birinin içerisinde;

0,020 g Menadion sodyum bisülfid (MSB),

0,006 g Potasyum metabisülfid (K₂O₅S₂),

0,0126 g Sodyum klorür (NaCl),

2 mL Enjeksiyonluk su bulunmaktadır.

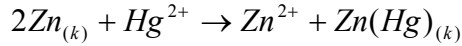
Çözelti 10 mL Hazırlanmıştır. 1000 mL çözeltide 1×10^{-3} mol olacak ise 10 mL çözelti için, 1 mol K₃ vitamini 276.24 g olduğundan 2.76×10^{-3} g alınmalıdır. 2 mL'lik ampulde 0.020 g K₃ vitamini olduğuna göre mikropipet (Volac, Great Britain) ile 0,28 mL (280µL) K₃ Vitamini, 10 mL'lik bir deney tüpüne alınır, saf suyla 10 mL'ye seyreltilir. Ortamdaki sülfidi uzaklaştırmak için 30 dakika hava geçirilir veya H₂O₂ kullanılabilir. K₃ vitamininin kullanıldığı bu çalışmalarda çözeltiden hava geçirilmiştir. Buna bağlı olarak oksijence doyunlaşan K₃ vitamininin çözeltisinden belirli bir süre azot gazı geçirilerek oksijenin bölüm 2.5'te anlatılan bozucu etkisi giderilmiştir. Bu çözelti günlük olarak hazırlanmıştır.

3.5.2 0,2 M Asetik asit çözeltisinin hazırlanması

Çözelti 250 mL hazırlanmıştır. 1000 mL çözeltide 0,2 mol asetik asit olacaksa 250 mL çözelti için 2,86 mL \approx 3 mL asetik asit alınıp saf suyla 250 mL'ye ölçülü balonda seyreltilmiştir. Her çekim için polarografi hücresine bu çözeltiden 10 mL alınarak 10 dakika azot gazı geçirildikten sonra polarogramı alınmıştır.

3.5.3 Çinko-cıva amalgamının (jones indirgeyicisi) hazırlanması

50 mL HgCl₂ çözeltisi hazırlanmıştır. 1000 mL çözeltide 0,2 mol HgCl₂ olacak ise 50 mL çözelti için yaklaşık 2,7 g HgCl₂ katısı alınarak sıcakta saf suyla çözülerek 50 mL ye seyreltilmiştir. Çinko granülleri saf suyla yıkandıktan sonra üzerine tamamını örtecek kadar 0,2 M'lık HgCl₂ çözeltisi ilave edilmiş ve çinko parçalarının üzeri cıva ile kaplanarak parlayıncaya kadar beklenmiştir



Tepkimesiyle oluşan $Zn(Hg)_{(k)}$, çinko-cıva amalgamıdır. Amalgam oluşurken çinko granülleri ortama Zn^{2+} iyonları verirler. Bu çinko iyonları alınan polarogramlarda (Bkz. Şekil 4.8, Şekil 4.9, ve Şekil 4.10) $-0,94$ V civarında keskin bir pik vermişlerdir.

3.5.4 0,1 M Demir(III) çözeltisinin hazırlanması

Çözelti 10 mL hazırlanmıştır. 1000 mL çözeltide 0.1 mol Demir(III) olacak ise 10 mL çözelti için yaklaşık 0,27 g Merck marka $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ katısı alınır, inert gaz geçirilerek içerisindeki çözünmüş oksijeni uzaklaştırılan saf suyla asidik ortamda 10 mL'ye seyreltilerek çözülmüştür.

3.5.5 0,1 M Ti(IV) çözeltisinin hazırlanması

Çözelti 50 mL hazırlanmıştır. 1000 mL çözeltide 0,1 mol olacak ise 50 mL çözelti için $TiCl_4$ çözeltisinden 6,3 mL alınarak, 50 mL'lik ölçülü balonda saf suyla seyreltilir. 0,1 M'lık çözeltiden 0,1 mL alınıp 10 mL'ye saf suyla seyreltilerek 1×10^{-3} M'lık çözelti hazırlanır. Bu çözeltiler her çalışmadan önce günlük olarak hazırlanmıştır.

Ti(IV) iyonu zamanla hava oksijeniyle daha kararlı yapı olan oksitine dönüşebileceğinden çözeltinin ayarlanması gerekmektedir.

0,1 M Ti(IV) çözeltisinin ayarlanması

Ti(IV)'ün ayarlanması işlemi, $FeCl_3$ çözeltisinin, Ti(IV) çözeltisinin amalgamla tamamen indirgenerek oluşturulan, Ti(III) çözeltisi ile titrasyonu yöntemiyle yapılmıştır. Ti(IV)'ün ayarlanması için doğrudan bir yöntem olmadığından Ti(IV) iyonları amalgamla indirgenerek Ti(III)'e dönüştürülmekte ve Ti(III)'de demir(III) ile kolaylıkla ayarlanabilmektedir.

İndirgenme işlemi çözeltinin azot gazı veya argon gazı gibi bir inert gaz ortamında amalgam içerisinde bekletilmesiyle yapılmalıdır.

Ayarlama işlemi Ti(IV) iyonları tamamen Ti(III) iyonlarına indirgenene kadar aşağıdaki tarife göre yapılmıştır.

Hazırlanan 0,1 M'lık Ti(IV) çözeltisinden bir erlene 30 mL alınır. İçerisine, yüzeyi bir miktar örtülecek kadar çinko granülleri konulur. Ortamdan sürekli olarak azot gazı geçirilir. Bu işlem sonunda Ti(IV) çözeltisine ait berrak rengin, Ti(III) çözeltisine ait menekşe rengine dönüştüğü görülmüştür. Ortamda Ti(IV) kalmadığı alınan polarogramlarda Ti(IV)'ün pikinin oluşmamasıyla anlaşılmıştır.

Oluşan Ti(III) çözeltisinin ayarlanması için hazırlanan 0,1 M'lık Fe(III) çözeltisinden 100 mL'lik erlen içine 5 mL alınır. Üzerine 2 mL derişik HCl ilave edilir. Asit ilavesinin amacı Fe(III) iyonlarının hidratlanmış oksitinin çökmesini engellemektir. Demirin bu oksitinin çözünürlüğü çok düşüktür ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da $K_{çç} = 2 \times 10^{-39}$) Demir(III) Hidroksitlerinin çökmesi titrasyonda hata getireceğinden oluşması istenmez. Ortamda asit derişimi yaklaşık 2 M olmalıdır. Erlenekteki çözelti bir ısıtıcı yardımıyla azot gazı atmosferinde $50\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'a ısıtılır. Sıcak çözelti, büretteki Ti(III) çözeltisi ile dikkatlice titre edilir. Titrasyon devam ettikçe çözeltinin sarı rengi yavaş yavaş açılır. Rengin tamamen açılmasına yaklaşıldığında titrasyon kesilir ve erlene %10'luk potasyum tiyosiyanat (KSCN) çözeltisinden 2-3 damla ilave edilir. Erlenekte kırmızı renkli demir(III) tiyosiyanat ($[\text{Fe}(\text{SCN})]^{+2}$) kompleksi oluşur. Bu çözeltinin rengi kaybolana kadar tekrar Ti(III) ile titrasyona devam edilir. Harcanan Ti(III) miktarı kaydedilir.

3.5.6 0,1 M Ti(III) çözeltisinin hazırlanması

Çözelti 10 mL olarak hazırlanmıştır. 1000 mL çözeltide 0,1 mol olacak ise 10 mL çözelti için TiCl_3 ana çözeltisinden mikropipetle 0,86mL (860 μL) alınarak 10 mL'lik ölçülü balonda, saf suyla seyreltilir. Çözeltinin hazırlanması sırasında kullanılan saf sudan yeteri kadar azot gazı geçirilerek serbest oksijen uzaklaştırılmalıdır.

Hazırlanan çözelti, daha önce oluşmuş olan Ti(IV)'ü tekrar Ti(III)'e indirgemek ve hava oksijeni ile yükseltgenmesinden korumak için, azot gazı ortamında çinko-cıva amalgamı içerisinde bekletilmelidir.

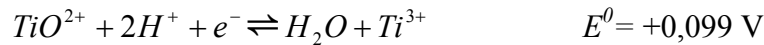
0,1 M'lık çözülden mikropipetle alınan 0,1 mL'lik örnek, içerisinde azot gazı geçirilerek serbest oksijeni giderilmiş saf suyla 10 ml'ye seyreltilerek 1×10^{-3} M'lık çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiler her çalışmadan önce günlük olarak hazırlanmıştır.

0,1 M Ti(III) çözeltisinin ayarlanması

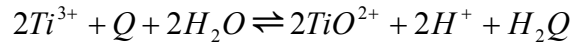
Ti(III) çözeltisinin ayarlanması, bölüm 3.5.5'de ayrıntılı olarak anlatılan demir(III)'ün titrasyonu yöntemiyle yapılmıştır.

4. DENEYSEL SONUÇLAR VE YORUMLAR

Ti(IV)'ün ve kinon yapısında olan K₃ vitamininin indirgenme tepkimeleri ve potansiyelleri:



şeklindedir. Potansiyellerden görüldüğü gibi aynı ortamda bulunan kinon ve Ti(III)'ün arasında olması gereken reaksiyon, kinonun indirgenmesi Ti(III)'ün yükseltgenmesi şeklindedir.

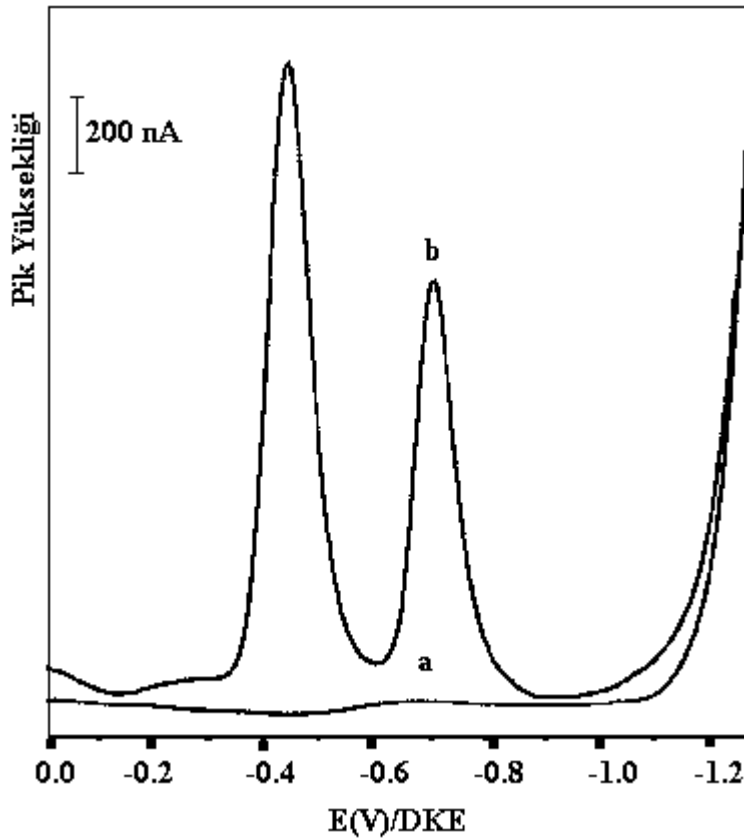


Bu düşünceyle çalışmalarda Ti(III)'ün yükseltgenmesi sonucu oluşan Ti(IV)'ün miktarının diferansiyel puls polarografisinde standart ekleme metodu ile bulunması ve ortamda bulunan kinonun miktarının tespiti amaçlanmıştır. Diferansiyel puls polarografisinde K₃ Vitamini analizi yapılmadan önce, K₃ Vitamininin, Ti(III)'ün ve Ti(IV)'ün 0.2 M asetik asit ortamındaki polarografik davranışları incelenmiştir.

Polarografide her çalışmadan önce, ortama konulan destek elektrolitin davranışı incelenmiştir. Destek elektrolitin polarogramında herhangi bir pike rastlanmaması destek elektrolitin, kullanılan cıvanın ve doymuş kalomel elektrodun temiz olduğunu gösterir. Bu nedenle her çalışmadan önce polarografi hücresine 0,2 M CH₃COOH destek elektrolit çözeltisinden 10 mL alınmış ve hücreden yaklaşık 10 dakika boyunca azot veya argon gibi bir inert gaz geçirilmiştir. Gaz geçişiyle ortamda bulunan serbest oksijen giderilmiş olur (Bkz. Bölüm 2.5). Gaz geçişi kesildikten sonra polarogram alınmıştır. Daha sonraki çalışmalarda da aynı işlemler tekrarlanmıştır.

4.1. K₃ Vitamininin Diferansiyel Puls Polarografisinde Davranışının İncelenmesi

10 mL destek elektrolitin polarogramı alındıktan sonra, hücreye 0,1 mL 1×10^{-3} M K₃ vitamininin çözeltisi ilave edilerek 1 dakika gaz geçirilmiştir. Gaz geçişi bittikten sonra polarogram alınmıştır. K₃ Vitamininin diferansiyel puls polarografisinde ki davranışını gösteren polarogram şekil 4.1’de görülmektedir.



Şekil 4.1. 1×10^{-5} M K₃ vitamininin diferansiyel puls polarogramı.

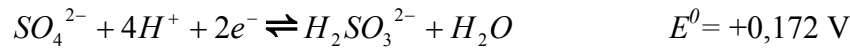
Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.

- a) 10 mL 0,2 M CH₃COOH çözeltisi,
b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M K₃ vitamini.

Polarogramda K₃ vitaminine ait olduğu düşünülen, -0,45 V civarında ve -0,71 V civarında iki pik görülmektedir. Tekrarlanabilir sonuçların elde edilip edilmediğinin denemesi amacıyla bu çalışma üç defa benzer şekilde tekrarlanmıştır.

4.1.1 K₃ vitamininin çözeltisinden hava geçirilmesinin etkilerinin incelenmesi

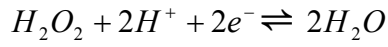
K₃ Vitamininin bulunduğu çözelti içerisindeki potasyum metabisülfitten (K₂S₅O₂) dolayı ortamda bol miktarda sülfid iyonu bulunmaktadır. Bunun amacı, yağda çözünen bir vitamin olan K₃ Vitamininin sudaki çözünürlüğünü artırmak için kinon yapısındaki vitamini hidrokinon şeklinde tutmaktır. Yani vitamin indirgenmiş haldedir. Bu nedenle hem K₃ Vitamininin bulunduğu ortamdaki potasyum metabisülfidi sülfata yükseltmek, hem ileride olabilecek bir problemi önlemek, hem de hidrokinonu kinona yükseltmek için çözeltiden oksijen gazı geçirilmesi düşünülmüştür.



İndirgenme potansiyellerinden de anlaşılacağı gibi ortamdan oksijen gazı geçirilmesi hidrokinonu kinona, sülfidi sülfata yükseltmeyecektir. Bunun için çözeltiden 30 dakika boyunca hava geçirilmiştir. Ancak bu durumda çözelti oksijene doymuş hale gelmiştir. Bölüm 2.5’de anlatılan oksijenin bozucu etkisinden etkilenmemek için çözeltiden azot geçirilerek oksijenin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Böylece elde edilen çözeltiden alınan örneğin polarogramında görülen piklerin potansiyelinin, hava geçirilmemiş K₃ Vitamininin çözeltisinin polarogramındaki piklerin potansiyellerinin aynı olduğu görülmüştür.

4.1.2 K₃ vitamininin çözeltisine H₂O₂ ilavesinin etkilerinin incelenmesi

K₃ Vitamininin çözeltisinden hava geçirmedeki amaca uygun olarak, aynı çalışma bir de hidrojen peroksit (H₂O₂) ile yapılmıştır. Çözeltiye sülfid derişiminden biraz fazla olacak şekilde H₂O₂ ilave edilerek, hidrokinonun ve sülfidin yükseltgenmesi için bir süre beklenilmiştir. Çözelti H₂O₂ nin fazlasının uzaklaştırılması için çözeltinin kaynamamasına dikkat edilerek bir süre ısıtılmıştır. Artan H₂O₂ kabarcıklar halinde çözeltiyi terk etmiştir.

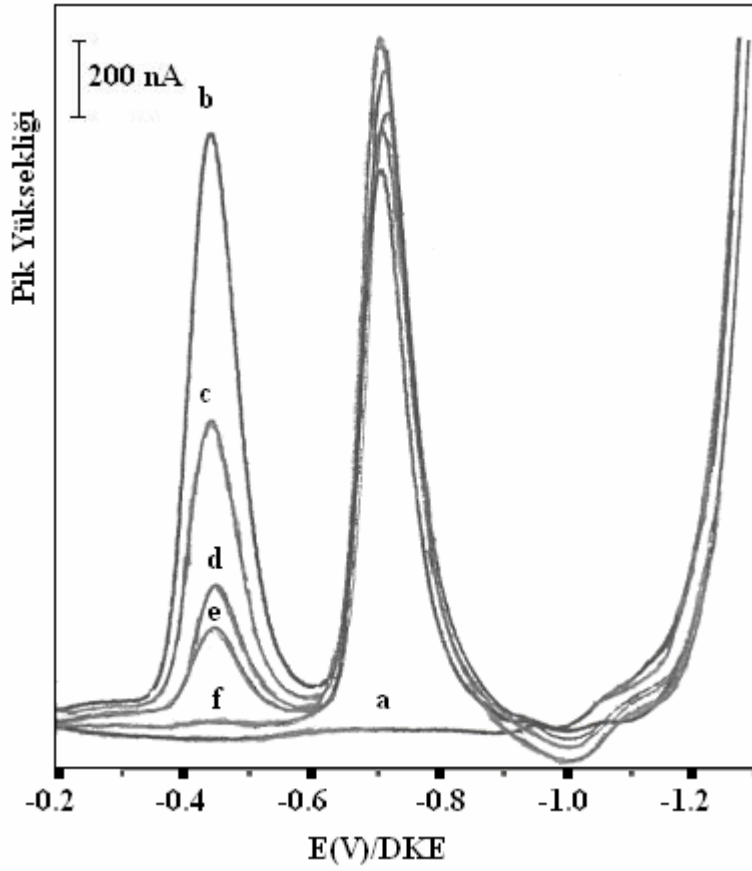


$$E^0 = +1,776 \text{ V}$$

H₂O₂ ile yükseltgenen çözeltiliye ait polarogram ile hava geçirilerek yükseltgenmiş çözeltiliye ait polarogram arasında hiçbir fark görülmemiştir. Hava geçirmenin hem ucuz olması ve hem de kolay uygulanabilir olması nedeniyle diğer çalışmalar, K₃ vitamininin çözeltilisinden hava geçirilerek yapılmıştır.

4.1.3 K₃ vitamininin polarogramına azot gazının etkilerinin incelenmesi

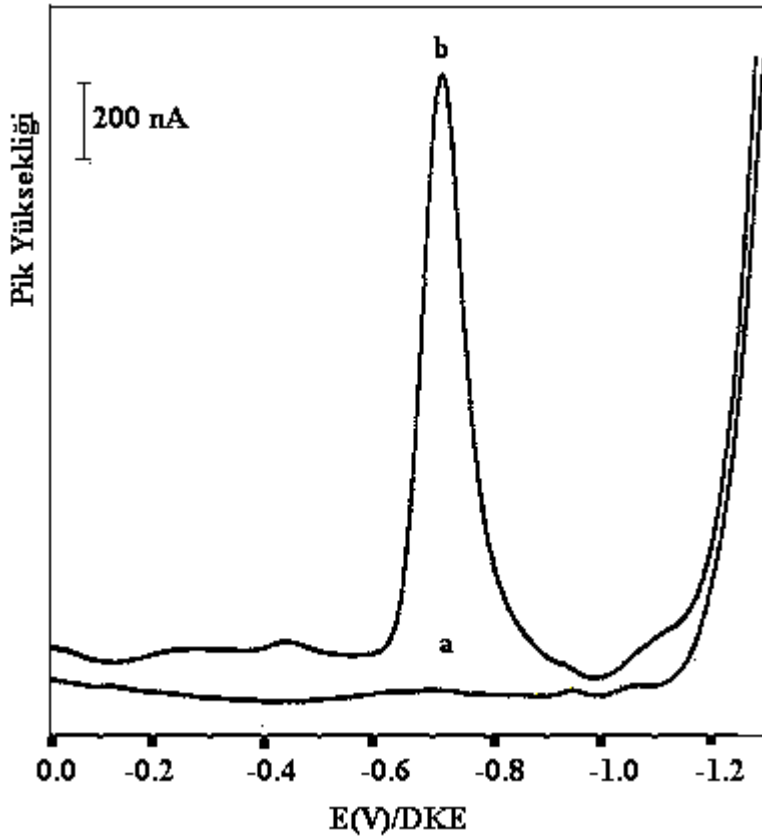
K₃ Vitamininin diferansiyel puls polarografisindeki davranışına bakıldığında, ister hava geçirilmiş çözeltilisinin olsun, ister hidrojen peroksitle muamele edilmiş çözeltilisi olsun, her iki durumda da iki pikinin olduğu düşünülmüştür. Ancak tekrar tekrar yapılan çalışmalarda pik boylarının tekrarlanabilir sonuçlar vermediği görülmüştür. Yani çıkan piklerin yüksekliklerinin her çalışmada farklı olduğu görülmüştür. Bu nedenle piklerden birinin K₃ Vitaminiine ait değil de bir adsorpsiyon piki olacağı düşünülmüş ve bu pikin giderilmesi amacıyla polarografi hücresinden belirli sürelerde azot gazı geçirilmiştir. Her sürenin sonunda alınan polarogramlarda ilk pikin küçüldüğü, ikinci pikin de bir miktar büyüdüğü görülmüştür. Ancak ikinci pikin yüksekliğindeki büyüme ilk pikin yüksekliğindeki azalmayla bire bir orantılı olmamıştır (Bkz. Şekil 4.2). Azot gazının geçirilmesi, ilk pik kayboluncaya kadar devam etmiştir. Bunun için 20 dakika azot gazı geçirilmesi yeterli olmuştur. Daha uzun süreli gaz geçirilmesi yapılmış ancak herhangi bir değişiklik olmamıştır. Sonuç olarak K₃ Vitaminiine ait olduğu düşünülen ve -0,71 V civarında tek bir pik kalmıştır (Bkz. Şekil 4.3).



Şekil 4.2. 1×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramına azot gazı etkisinin incelenmesi.

Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.

- a) 10 mL 0,2 M CH_3COOH ,
- b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini.
- c) b + 5 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi,
- d) c + 5 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi,
- e) d + 5 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi,
- f) e + 5 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi.



Şekil 4.3. 20 Dakika azot gazı geçirilmiş 1×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramı.

Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.

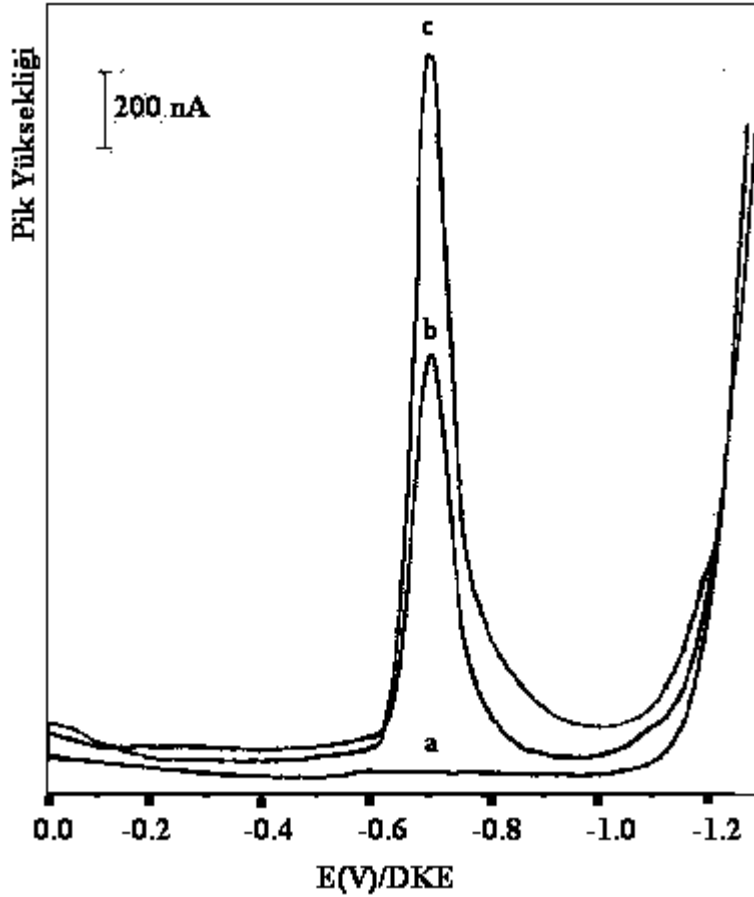
a) 10 mL 0,2 M CH_3COOH çözeltisi,

b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + 20 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi.

4.1.4 K_3 vitamininin standart ekleme yöntemiyle diferansiyel puls polarografisinde incelenmesi

Polarogramı alınan 10 mL asetik asit çözeltisi üzerine her seferinde 0,1 mL olmak üzere iki defa, içerisinde 20 dakika azot gazı geçirilmiş 1×10^{-3} M K_3 Vitamininin çözeltisi eklenerek üst üste iki polarogram alınmıştır. Polarogramlarda pik boylarında orantılı artış görülmüştür. Bu sonuçtan yola çıkılarak daha önce anlatılan ön işlemlerden sonra K_3 Vitamini tayinin diferansiyel puls polarografisinde standart K_3 Vitamini ekleme yöntemiyle pik boyundaki artış hesaplanarak yapılabileceği düşünülmüştür. Ancak K_3 Vitamini için kataloglardan bulunan standart maddelerin saflıkları %94 ile %97 arasındadır. %100'lük standart madde bulunamadığından

standart ekleme yöntemiyle yapılacak analiz doğru sonuç vermeyeceği için standart K_3 Vitamini ekleme metodu kullanılmamıştır.



Şekil 4.4. 2×10^{-5} M K_3 vitamininin diferansiyel puls polarogramı.

Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.

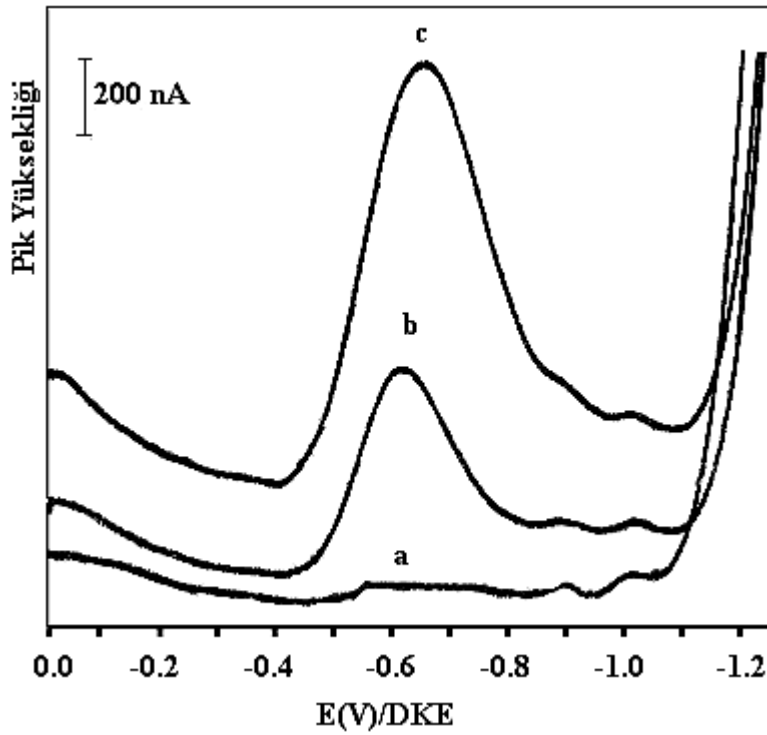
- 10 mL 0,2 M CH_3COOH çözeltisi,
- a + 0,1 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + 20 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi.
- b + 0,1 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + 20 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi

4.2. Ti(IV) ve Ti(III) İyonlarının Diferansiyel Puls Polarografisindeki Davranışının İncelenmesi

Ti(III)'ün ve Ti(IV)'ün diferansiyel puls polarografisinde 0.2 M asetik asit ortamında ki davranışları incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

4.2.1 Ti(IV) iyonunun diferansiyel puls polarografisindeki davranışının incelenmesi

Polarogramı alınmış 10 mL 0,2 M CH₃COOH destek elektrolit çözeltisi üzerine 0,1 mL 10⁻³ M TiCl₄ çözeltisinden ilave edilerek, çözeltilerin homojen olarak karışması ve hücreye girmesi muhtemel havanın atılması için bir dakika kadar azot gazı geçirilmiştir. Gaz geçişi kesildikten sonra alınan polarogram şekil 4.5'te görülmektedir. Ti(IV)'ün bu ortamda -0,67 V'ta bir piki görülmektedir.



Şekil 4.5. 2×10^{-5} M Ti(IV)'ün Diferansiyel puls polarogramı.
Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV
a) 10 mL 0,2 M CH₃COOH çözeltisi,
b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M Ti(IV) çözeltisi.
c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M Ti(IV) çözeltisi.

4.2.2 Ti(III) iyonunun diferansiyel puls polarografisindeki davranışının incelenmesi

Polarogramı alınmış 10 mL 0,2 M CH₃COOH destek elektrolit çözeltisi üzerine 0,1 mL 1x10⁻³ M TiCl₃ çözeltisinden ilave edilerek, çözeltilerin homojen olarak karışması ve hücreye girmesi muhtemel havanın atılması için bir dakika kadar azot gazı geçirilmiştir. Gaz geçişi kesildikten sonra alınan polarogramda -0,67 V civarında bir pik görülmüştür. Asetik asit ortamında Ti(IV)'ün pikinin de bu potansiyelde çıktığı bilinmektedir. Ayrıca Ti(III)'ün havanın oksijeniyle bile çok çabuk Ti(IV)'e yükseltgenebileceği bilinmektedir. Ve bu pikin Ti(IV)'e ait bir pik olduğu, ortama standart Ti(IV) çözeltisi eklenerek alınan polarogramda, gözlenen pikin boyundaki artış ile anlaşılmıştır. Ti(III) için alınan polarogramda Ti(IV)'ün pikinin görülmesiyle, Ti(III) çözeltisinde yükseltgenme sonucu oluşan bir miktar Ti(IV) bulunduğu anlaşılmıştır. Bu durumda her Ti(III) çözeltisi polarogramı alınmadan önce cıva-çinko amalgamında (Jones indirgeyicisi) azot gazı atmosferinde yeteri kadar bekletilerek çalışılmıştır. Böylece yükseltgenme sonucu oluşan Ti(IV) tekrar Ti(III)'e indirgenmiştir. Amalgamda bekletilmiş Ti(III) çözeltisinin alınan polarogramlarında bu potansiyelde pik gözlenmemiştir. Yani Ti(III) iyonları asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramında pik vermemektedir.

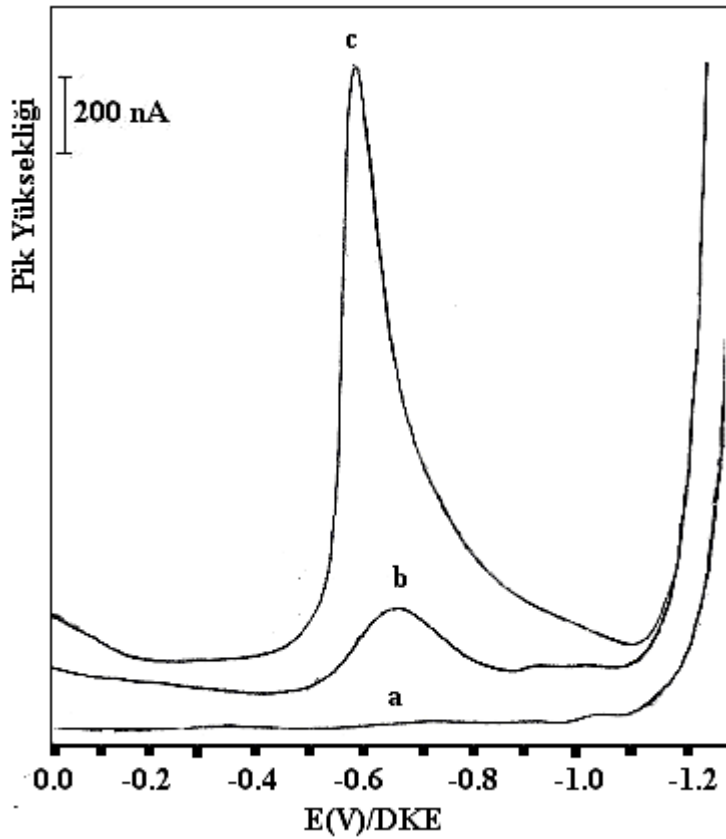
4.3. K₃ Vitamini ve Ti(IV) Karışımının Diferansiyel Puls Polarografisindeki Davranışının İncelenmesi

K₃ Vitamini ile Ti(IV) iyonlarının beraber buldukları ortamlardaki diferansiyel puls polarogramları incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

4.3.1 K₃ vitamini ve Ti(IV) karışımının asetik asit ortamında diferansiyel puls polarografisindeki davranışının incelenmesi

Asetik asit ortamında yapılan çalışmalarda K₃ Vitamini ile Ti(IV)'ün pikleri yaklaşık aynı potansiyelde çıkmıştır. Dolayısıyla bu iki türün asetik asit ortamında aynı anda bulunduğu çalışmalarda her ikisinin pikleri üst üste örtüşecektir (Bkz. Şekil 4.6.). Bu

yüzden analiz için gerekli pik yükseklikleri ölçülemeyecektir. Şekil 4.6'da ilk çekim destek elektrolite aittir. Polarografi hücresindeki destek elektrolit üzerine 0,1 mL 1×10^{-3} M Ti(IV) çözeltisi ilave edilerek alınan ikinci polarogramda Ti(IV)'e ait pik görülmektedir. Polarografi hücresine 0,1 mL 1×10^{-3} M K_3 Vitamini ilave edilerek alınan üçüncü polarogramda Ti(IV)'e ait pik ile K_3 Vitamininin pikinin üst üste örtüştüğü görülmektedir.



Şekil 4.6. 1×10^{-5} M K_3 vitamininin ve 1×10^{-5} M Ti(IV)'ün karışımının diferansiyel puls polarogramı.

Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV

a) 10 mL 0,2 M CH_3COOH çözeltisi,

b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M Ti(IV) çözeltisi.

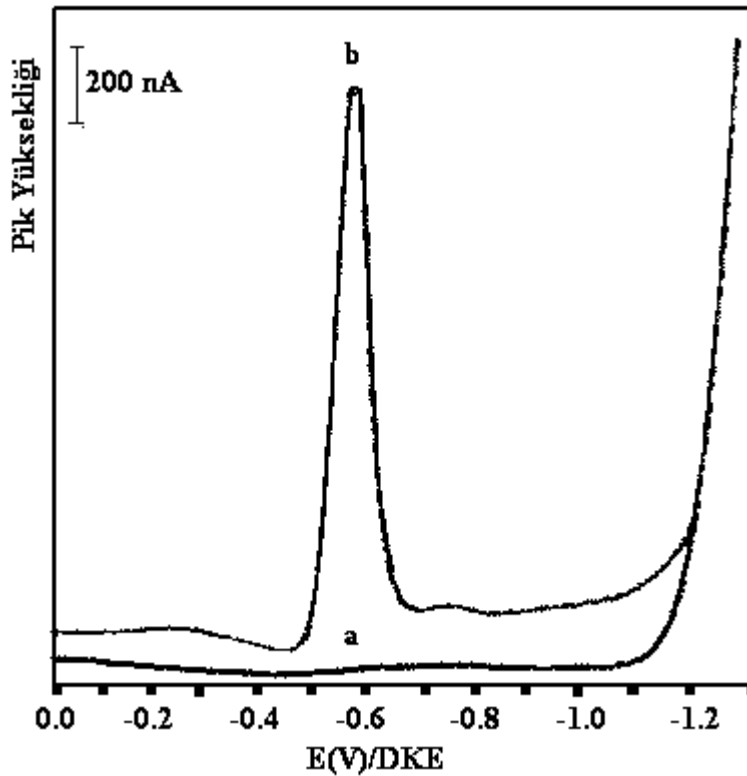
c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + 20 dakika $N_2(g)$ geçirilmesi.

4.3.2 K₃ vitamini ve Ti(IV) iyonunun asetik asit-HCl ortamında diferansiyel puls polarografisindeki davranışının incelenmesi

Çakışan piklerin ayrılması için ortama HCl eklenmesi düşünülmüştür. Bunun için 10 mL 0,2 M asetik asit üzerine 0,05 mL 12 M'lık HCl eklenerek hazırlanan destek elektrolitle yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar aşağıda irdelenmiştir.

K₃ vitamininin asetik asit-HCl ortamında diferansiyel puls polarografisindeki davranışının incelenmesi

Hazırlanan asetik asit-HCl destek elektrolitiyle yapılan çalışmalarda kinonun indirgenmesinin kolaylaştığı yani potansiyelin daha pozitif kaydığı görülmüştür.



Şekil 4.7. 1×10^{-5} M K₃ vitamininin diferansiyel puls polarogramı.

Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.

a) 10 mL 0,2 M CH₃COOH, 0,06M HCl + 0,05 mL 12 M HCl,(0,06M)

b) a + 0,1 mL 1×10^{-3} M K₃ vitamini.

Şekildeki polarograma bakıldığında K₃ vitamininin pikinin yaklaşık -0,58 V'ta çıktığı, pikin sola kaydığı yani daha pozitif bir potansiyelde çıktığı görülmektedir.

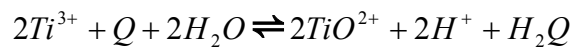
Ti(IV) iyonunun asetik asit-HCl ortamında diferansiyel puls polarografisindeki davranışının incelenmesi

Bu ortamda alınan Ti(IV)'ün polarogramında Ti(IV)'ün pik potansiyelinin -0,67 V'tan yaklaşık -0,82 V'a kaydığı görülmüştür. Yani daha negatif bir potansiyele kaymıştır. Böylece asetik asit-HCl ortamında kinonun pikinin 0,2 M asetik asit ortamına göre daha küçük bir negatif potansiyele kaydığı, Ti(IV)'ün pikinin daha büyük bir negatif potansiyele kaydığı görülmüştür. Yani piklerin aynı ortamda çakışması engellenmiştir.

4.4. K₃ vitamini ile Ti(III)'ün Reaksiyonunun Diferansiyel Puls Polarografisinde İncelenmesi

Ti(IV)'ün ve K₃ vitamininin piklerinin kolaylıkla incelenebileceği ortamı belirledikten sonra, K₃ vitamini ile Ti(III)'ün reaksiyonunun incelenmesi için daha önceden belirlenen destek elektrolitin (0,2 M CH₃COOH+0,05 mL Derişik HCl) polarogramı alınmıştır.

Polarografi hücresindeki destek elektrolit üzerine 0,1 mL 1x10⁻³ M K₃ vitamininin çözeltisi ilave edilerek 20 dakika süresince azot gazı geçirildikten sonra polarogramı alınmıştır. Polarografi hücresinde K₃ vitamininin derişimi 1x10⁻⁵ M olmuştur. Daha sonra hücredeki destek elektrolit ve K₃ vitamininin bulunduğu çözelti üzerine 0,2 mL 1x10⁻³ M Ti(III) çözeltisinden ilave edilerek;



reaksiyonunun gerçekleşmesi için beklenmiştir. Böylece ortamda Ti(III) derişimi 2x10⁻⁵ M olmuştur. Bekleme sırasında hücreden azot gazı sürekli geçirilmiştir. Gaz geçişi kesildikten sonra alınan polarogramda, K₃ vitamininin ve reaksiyon gereği oluşması beklenen Ti(IV)'ün piki görülmüştür. Ortama eklenen Ti(III)'ün mol sayısı

2×10^{-7} mol olduğuna göre teorik olarak oluşması gereken Ti(IV)'ün mol sayısı da 2×10^{-7} mol olmalıdır. Yani oluşan Ti(IV)'ün ortamdaki derişimi 2×10^{-5} M olmalıdır. Reaksiyon sonucu oluşan Ti(IV)'ün pik yüksekliğini, standart Ti(IV)'ün oluşturduğu pik yüksekliği ile karşılaştırmak amacıyla ortama iki defa 0,1 mL 1×10^{-3} M standart Ti(IV) ilavesi yapılarak polarogram alınmıştır. Ancak oluşan Ti(IV)'ün pik yüksekliği ile standart Ti(IV)'ün pik yükseklikleri orantılı çıkmamıştır. K₃ vitamini ile Ti(III) arasında tam bir reaksiyon olmamaktadır.

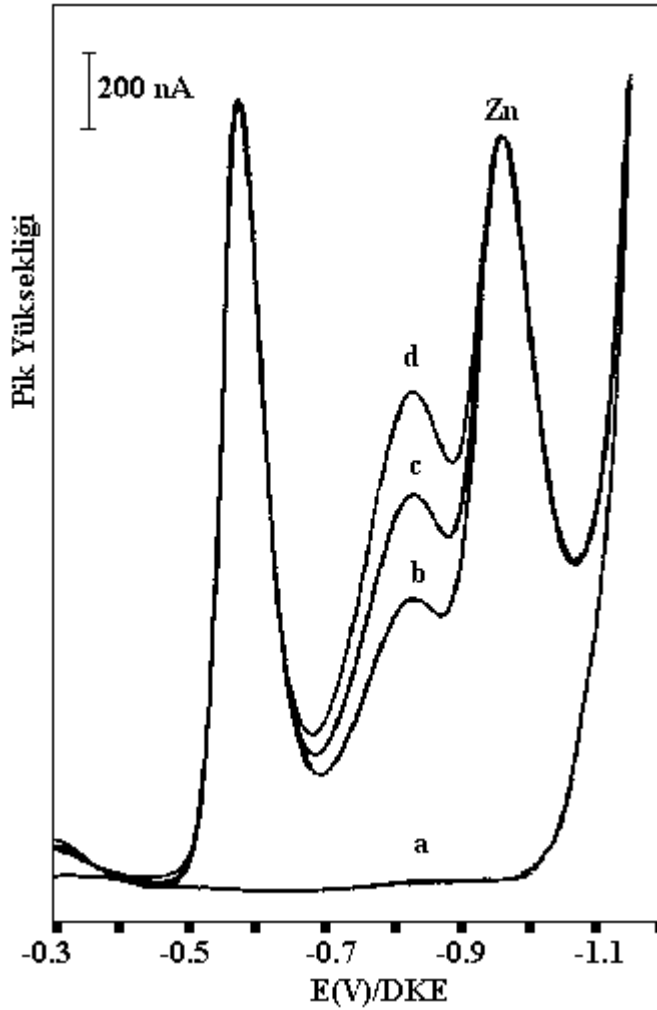
Sonuçların orantısız çıkmasının nedeni asit derişimi olabilir. Polarografi hücresinde HCl derişimi yaklaşık 0,06 M olmaktadır. Pik yüksekliklerine veya reaksiyonun olabilirliğine HCl etkisinin olup olmadığının incelenmesi amacıyla bir reaksiyon kabında, K₃ vitamini ve Ti(III) çözeltileri karıştırılarak çalışma yapıldı.

4.5. Reaksiyon Kabında Karıştırılan K₃ Vitamini ve Ti(III)'ün Reaksiyonun Başlatılması ve Diferansiyel Puls Polarografisinde İncelenmesi

Bölüm 4.4.'de anlatılan etkiler göz önüne alındığında K₃ vitamini ve Ti(III)'ün bir reaksiyon kabında karıştırılarak, oluşan karışımın polarogramının alınması düşünülmüştür. Bu amaçla hazırlanan 6 mL'lik 1×10^{-3} M K₃ vitamini çözeltilisinden 30 dakika hava geçirildikten sonra, 2 mL'si bir deney tüpüne alınmış ve bu çözeltiliden 20 dakika azot gazı geçirilerek çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Çözelti üzerine, amalgamda bekletilerek Ti(IV)'ü indirgenmiş 0,05 mL 0,1 M Ti(III) çözeltilisinden ilave edilerek reaksiyonun olması için beklenmiştir. Ortamda TiCl₃'den gelen HCl derişimi 2×10^{-3} M olmuştur. Çünkü 0,1 M TiCl₃'ün hazırlandığı ana TiCl₃ çözeltilisi %10 (v/v) oranında HCl içermektedir. Polarografi hücresinde yapılan çalışmada HCl derişimi 0,06 M olmuştu ve iyi sonuçlar elde edilememişti (Bkz. Bölüm 4.4). Değişik asit derişimlerindeki incelemeler bölüm 4.5.1'de açıklanmıştır.

Böylece deney tüpünde 2×10^{-6} mol K₃ vitamini (Reaksiyon kabında derişimi; 1×10^{-3} M) ve 5×10^{-6} mol Ti(III) (Reaksiyon kabında derişimi; $2,5 \times 10^{-3}$ M) olması sağlanmıştır. Bunun amacı 2 mL'lik çözeltiliden 0,1 mL alınıp 10 mL'lik destek

elektrolit üzerine eklendiğinde polarografi hücresinde K_3 vitamininin derişiminin 1×10^{-5} M ve oluşan $Ti(IV)$ 'ün derişiminin 2×10^{-5} M olmasıdır. Diferansiyel puls polarografisinde 10^{-5} M'lık derişimler piklerin elde edilmesinde ve hesaplamalarda en uygun sonuçları vermektedir. Bekleme sırasında deney tüpünden sürekli azot gazı geçirilmiştir. 10 dakikalık beklemenin ardından karışımdan alınan 0,1 mL'lik örnek, polarografi hücresinde içerisinden azot gazı geçen destek elektrolit üzerine eklenerek polarogramı alınmıştır. Beklendiği gibi K_3 vitamininin ve reaksiyon sonucu oluşan $Ti(IV)$ 'ün pikleri görülmüştür. Oluşan $Ti(IV)$ 'ün pik yüksekliğinin teorik hesaba uyup uymadığını kontrol etmek için ortama iki defa standart $Ti(IV)$ ilavesi yapılarak polarogramı alındı. Şekil 4.8 bu polarogramı göstermektedir. Oluşan $Ti(IV)$ 'ün pik yüksekliğinin standart $Ti(IV)$ 'ün pik yüksekliği ile uyum içinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.8. K_3 vitamininin ve $Ti(III)$ iyonlarının bulunduğu reaksiyon kabından alınan karışımın diferansiyel puls polarogramı.

Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.

a) 10 mL 0,2 M CH_3COOH çözeltisi + 0,05 mL 12 M HCl,

b) a + 0,1 mL Reaksiyon kabındaki karışım.

(2 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + 0,2 M Cıva(I) klorür çözeltisiyle hazırlanan amalgamda bekletilmiş 0,05 mL 0,1 M $Ti(III)$ çözeltisi).

c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M Standart $Ti(IV)$ çözeltisi.

d) c + 0,1 mL 1×10^{-3} M Standart $Ti(IV)$ çözeltisi.

4.5.1 Reaksiyon kabında karıştırılan K_3 vitamini ve $Ti(III)$ 'ün reaksiyonuna asit ve baz derişimi etkisinin incelenmesi

Bu çalışmadan sonra, reaksiyon kabındaki derişimleri 1×10^{-3} M olan K_3 vitamini ve $2,5 \times 10^{-3}$ M olan $Ti(III)$ çözeltisi karışımlarına, reaksiyon kabındaki derişimi 2×10^{-3} M'dan daha fazla olacak miktarlarda HCl eklenerek asitli karışımlar elde edilmiştir.

Bu değişik asit derişimlerdeki karışımların diferansiyel puls polarogramı alındığında reaksiyonun oluşmadığı görülmüştür. Çünkü HCl derişiminin 2×10^{-3} M'dan fazla olması reaksiyonun olmasını engellemiştir. Bu, asitli karışımlardan alınan 0,1 mL'lik örneklerin polarogramlarında Ti(IV) pikinin oluşmamasından anlaşılmıştır.

Asit derişimi etkisinin incelenmesinin ardından, reaksiyon kabındaki derişimleri 1×10^{-3} M olan K₃ vitamini ve $2,5 \times 10^{-3}$ M olan Ti(III) iyonu çözeltisi karışımına NaOH eklenerek ortam bazikleştirilmiştir. Ancak bazik ortamda yapılan çalışmalarda reaksiyon kabında çökme ve polarografi hücresinde aşırı çökmeler olmuştur. Bu da polarogram alınmasını büyük ölçüde etkilemiştir ve sağlıklı sonuçlar elde edilememiştir. Bu çalışmalarla reaksiyon için en uygun asit derişiminin 2×10^{-3} M olduğu belirlenmiştir.

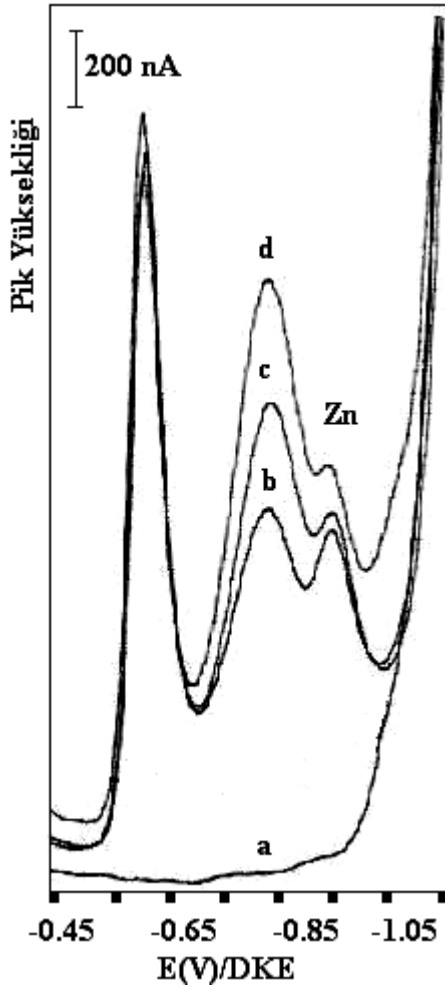
4.5.2 Reaksiyon kabında karıştırılan K₃ vitamini ve Ti(III)'ün reaksiyonuna zaman etkisinin incelenmesi

Reaksiyon kabında bulunan 2 mL 1×10^{-5} M K₃ vitamini ve 0,05 mL $2,5 \times 10^{-5}$ M Ti(III) iyonu karışımı değişik zamanlarda azot gazı atmosferinde reaksiyonun tamamlanması için bekletilmiştir. Bekleme zamanları 45, 35, 25, 15, 10 ve 5 dakika olacak şekilde çalışılmıştır. Her zaman için üç defa polarogram alınmıştır. Elde edilen sonuçlardan tekrarlanabilir veriler için en uygun bekleme zamanının 10 dakika olduğu belirlenmiştir. Ticari ampuldeki K₃ vitamini miktarının belirlenmesi için yapılan hesaplamalarda, bekleme süresi 10 dakika olan karışımlardan alınan beş örneğin polarogramları kullanılmıştır (Bkz. Bölüm 4.7).

4.6. K₃ Vitamini Tayinine Amalgam Etkisinin İncelenmesi

Çalışmalar boyunca, K₃ vitamini ve Ti(III) iyonu karışımı için alınan polarogramlarda çinko pikine rastlanmıştır. Bunun nedeni bölüm 3.5.5 ve bölüm 4.2.2'de anlatılan etkilerden dolayı Ti(III) çözeltisinin çinko-cıva amalgamında bekletilmesi sonucu ortama çinko iyonlarının karışmasıdır.

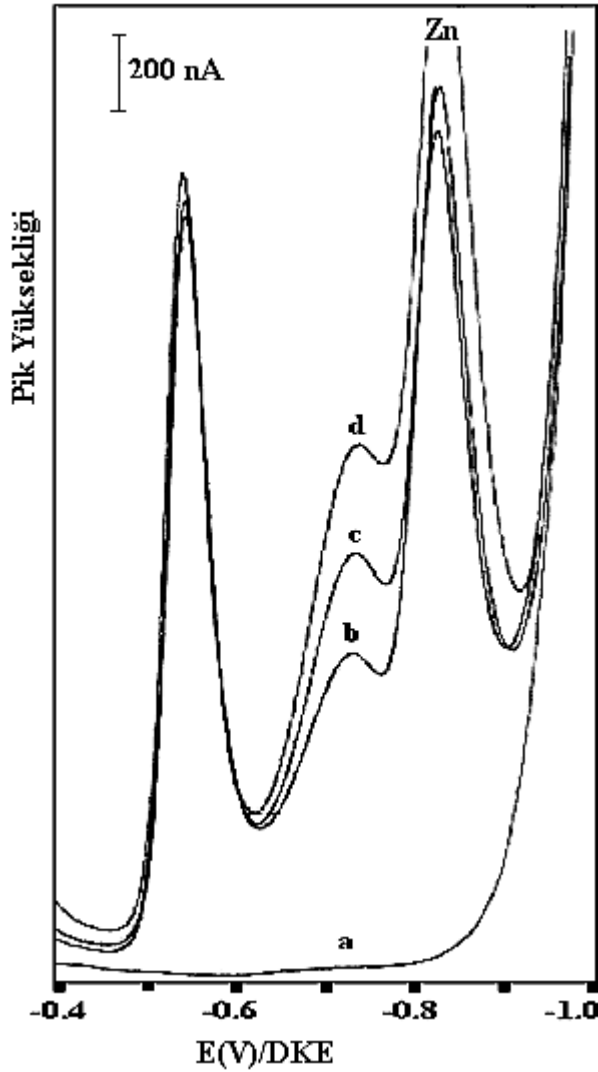
Yapılan ilk çalışmalarda amalgam doygun cıva(I) klorür çözeltisi ile hazırlanmıştır (Hesaplamlarda kullanılan Ti(III)'ün bekletildiği amalgamın hazırlanışı bölüm 3.5.3'de anlatılmıştır). Bu amalgamda bekletilen Ti(III) çözeltisiyle hazırlanan Ti(III)-K₃ vitamini karışımı için alınan polarogramlarda -0,94 V civarında küçük bir çinko piki çıkmıştır (Bkz. Şekil 4.9.). Çinko granüllerinin yüzeyi çok kalın bir tabaka halinde metalik cıva ile kaplanmıştır. Bu durum Ti(III) çözeltisindeki bozunma sonucu oluşan, Ti(IV)'ün tamamının tekrar Ti(III)'e indirgenme süresini 55-60 dakika civarında olmasına neden olmuştur. Bu süre uzun bir süredir.



Şekil 4.9. K_3 Vitamininin ve Ti(III) iyonlarının bulunduğu reaksiyon kabından alınan karışımın diferansiyel puls polarogramına amalgamın etkisi. Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.
 a) 10 mL 0,2 M CH_3COOH çözeltisi + 0,05 mL 12 M HCl,
 b) a + 0,1 mL Reaksiyon kabındaki karışım.
 (2 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + doymuş cıva(I) klorür çözeltisiyle hazırlanan amalgamda bekletilmiş 0,05mL 0,1 M Ti(III) çözeltisi).
 c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M Standart Ti(IV) çözeltisi.
 d) c + 0,1 mL 1×10^{-3} M Standart Ti(IV) çözeltisi.

Ti(IV)'ün Ti(III)'e indirgenme süresini azaltmak için, Ti(III) çözeltisi çinko-cıva amalgamı yerine, doğrudan çinko granülleri ile temas ederken de içerisinden azot gazı geçirilerek bekletilmiştir. Burada bekleme süresi 5-6 dakikaya inmiştir. Bu şekilde hazırlanan Ti(III) iyonu ile K_3 vitaminin karışımı için alınan polarogramlarda potansiyeli yine $-0,94$ V olan çok büyük bir çinko piki çıkmıştır (Bkz. Şekil 4.10). Çünkü ortamda çok fazla miktarda çinko(II) iyonu oluşmuştur. Bu

çinko(II) iyonları hem çinko granüllerinin Ti(IV) iyonlarınca yükseltgenmesi hem de Ti(III) çözeltisinin HCl içermesi nedeniyle, çinko granüllerinin asitte çözünmesi sonucu oluşmuştur.



Şekil 4.10. K_3 Vitamininin ve Ti(III) iyonlarının bulunduğu reaksiyon kabından alınan karışımın diferansiyel puls polarogramına amalgamın etkisi. Tarama hızı: 5 mV/s; Damla ömrü: 1 saniye; Puls genliği: 50 mV.
a) 10 mL 0,2 M CH_3COOH çözeltisi + 0,05 mL 12 M HCl,
b) a + 0,1 mL Reaksiyon kabındaki karışım.
(2 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini + çinko granüllerinde bekletilmiş 0,05 mL 0,1 M Ti(III) çözeltisi).
c) b + 0,1 mL 1×10^{-3} M Standart Ti(IV) çözeltisi.
d) c + 0,1 mL 1×10^{-3} M Standart Ti(IV) çözeltisi.

Çok fazla çıkan çinko piki, oluşan Ti(IV)'ün ve eklenen standart Ti(IV)'lerin pik yüksekliklerinin hesaplanmasını etkilemiştir. Bu nedenle çinko pikini azaltmak için yeniden amalgamla çalışılmıştır. Ancak bu sefer çinko-cıva amalgamı derişimi 0,2 M olan cıva(I) klorür kullanılarak hazırlanmıştır. Bu amalgamda çinko granülleri yüzeyine tutunan metalik cıvanın daha ince bir tabaka halinde olduğu görülmüştür. Bu amalgamda bekletilen Ti(III) çözeltisindeki, bozunma sonucu oluşan Ti(IV)'ün tamamının tekrar Ti(III)'e indirgenmesi için geçen zaman 8-10 dakika gibi makul bir süre olmuştur. Bu Ti(III) iyonu çözeltisi ile K₃ vitaminin karışımı için alınan polarogramlarda çinko pikinin kabul edilebilir büyüklükte olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.8). Çalışmalar boyunca yapılan deneylerde kullanılan Ti(III) çözeltileri bu şekilde hazırlanmıştır.

4.7. Metodun Uygulaması ve Hesaplamalar

K₃ vitamininin diferansiyel puls polarogramıyla dolaylı tayini için uygun çalışma ortamının ve reaktiflerin belirlenmesinden sonra, piyasadan temin edilen Libavit K marka ticari ilaçtaki K₃ vitamininin miktarı bu metotla tayin edilmiştir. İlaç kutusu üzerinde yazan K₃ vitamini miktarı 2 mL'lik ampul için 0,020 g dır (Bkz. Bölüm 3.5.1).

Ampulden alınan K₃ vitamininin 1×10^{-3} M'lık çözeltisi hazırlandıktan sonra, bu çözeltiden 30 dakika hava geçirilmiştir (Bkz. Bölüm 4.1.1). Bu durumda çözelti oksijence doygunlaşmıştır. Oksijenin bozucu etkisini gidermek için (Bkz. Bölüm 2.5) 2mL'lik hava geçirilmiş K₃ vitamini çözeltisinden 20 dakika azot gazı geçirilerek oksijen uzaklaştırılmıştır. Bu işlemlerin uygulandığı K₃ vitamini çözeltisi üzerine ayarlanmış ve amalgamda bekletilmiş 0,1 M Ti(III) çözeltisinden (Bkz. Bölüm 3.5.6) 0,05 mL ilave edilerek, bu iki türün reaksiyona girmesi için azot gazı atmosferinde 10 dakika beklenmiştir.

Elde edilen karışımdan alınan 0,1 mL'lik örnek, azot gazı geçirilerek oksijeni giderilmiş 10 mL 0,2 M asetik asit+0,05 mL 12 M HCl destek elektroliti üzerine eklenerek diferansiyel puls polarogramı alınmıştır Bu polarogramda K₃ vitaminin ve

Ti(III)'ün reaksiyona girmesi sonucu oluşan Ti(IV)'ün piki görülmüştür. Polarografi hücreğine standart Ti(IV) çözeltisi eklenerek reaksiyon sonucu oluşan Ti(IV) pikinin yüksekliğindeki artıştan yararlanarak (Bkz. Şekil 4.8) K₃ vitaminin miktarı hesaplanmıştır. Bu işlem beş örnek için yapılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlardan da ticari ampuldeki K₃ vitamini analizi yapılmıştır.

<u>Deney Numarası</u>	<u>Sonuçlardan Elde Edilen</u>	
	<u>K₃ Vitamini miktarı, (g/2 mL'lik Ampul İçin.)</u>	
1		0,020
2		0,018
3		0,018
4		0,020
5		0,020

Ortalama K₃ Vitamini Miktarı

:0,019 g/2 mL.

Standart Sapma

:0,001 g/2 mL

%95 Güven Seviyesinde Sonuç $[\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} (N=5)]$: (0,019 ±0,001)

g/2mL.

(Serbestlik derecesi 4 için %95 güven seviyesinde $t=2,78$ olarak alınmıştır)

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

K₃ vitamininin analizi için yeni bir yöntem geliştirmek amacıyla yapılan çalışmalarda, ilk olarak K₃ vitamininin asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramına bakıldığında (Bkz. Şekil 4.1) -0,45 V civarında ve -0,71 V civarında iki pikinin olduğu görülmüştür. Ancak -0,45 V civarında çıkan ilk pik çözeltiden 20 dakika azot gazı geçirilmesi sonucu kaybolması üzerine bir adsorpsiyon piki olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada, asetik asit ortamında K₃ vitaminine ait -0,71 V'luk potansiyel değerinde tek bir pik bulunmuştur.

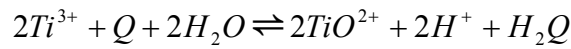
Ti(IV) iyonlarının asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramı alındığında -0,67 V'ta yayvan bir pikinin olduğu görülmüştür.

K₃ vitamini ve Ti(IV) iyonlarının 0,2 M asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramları incelendiğinde birbirlerine yakın potansiyelerde pik verdikleri bulunmuştur (Bkz. Bölüm 4.1.3 K₃ vitamini -0,71 V ve bölüm 4.2.1 Ti(IV) iyonları -0,67 V). Bu durum K₃ vitamini ve Ti(IV) iyonlarının aynı ortamdaki piklerinin örtüşeceğini gösterir. Piklerin çakışmasını önleyecek en uygun ortamın bulunması için çalışmalar yapılmıştır. K₃ vitamininin ve Ti(IV)'ün 0,2 M asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramlarında görülen pik potansiyelleri, ortama 0,05 mL 12 M'lık HCl eklenerek değiştirilebilir. K₃ vitamininin asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramındaki pik potansiyeli -0,71 V iken, 10 mL 0,2 M asetik asit üzerine 0,05 mL 12 M HCl (hücrede HCl derişimi 0,06 M olur) eklenerek alınan polarogramda bu potansiyel -0,58 V olarak ölçülmüştür. Aynı işlem Ti(IV) için yapıldığında, Ti(IV)'ün -0,67 V'ta görülen pikinin yaklaşık -0,82 V'a kaydığı görülmüştür. Böylece piklerin çakışması engellenmiştir.

K₃ vitamini analizi için en uygun destek elektrolit ortamının 0,2 M asetik asit-0,06 M HCl olduğu bulunmuştur (Bkz. Bölüm 4.3).

1×10^{-5} M K_3 vitamini ve 2×10^{-5} M Ti(III), polarografi hücresinde tam olarak reaksiyon verememiştir. Bir reaksiyon kabında 2mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini ve 0,05mL 0,1 M Ti(III) karıştırılarak 10 dakika beklendikten sonra reaksiyonun gerçekleştiği görülmüştür (Bkz. Bölüm 4.5.2).

2 mL 1×10^{-3} M K_3 vitamini ile 0,05 mL 0,1 M Ti(III) çözeltisi karışımının



reaksiyonunu tam olarak gerçekleştirebilmesine, ortamdaki HCl derişiminin etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda (Bkz. Bölüm 4.5.1) en uygun asit derişimi için, Ti(III) çözeltisinden gelen asit miktarının yeterli olduğu görülmüştür. Bu asitle reaksiyon kabının HCl derişimi 2×10^{-3} M olarak hesaplanmıştır.

Ti(III) iyonlarının asetik asit ortamında diferansiyel puls polarogramı alındığında Ti(III)'e ait bir pikin olmadığı görülmüştür. Ancak, Ti(III) saf sudaki çözünmüş oksijenin veya hava oksijeninin etkisiyle bile çok çabuk Ti(IV)'e yükseltgenebildiğinden, Ti(III) çözeltisi içerisinde Ti(IV)iyonları oluşabilir. Bu Ti(IV) iyonları, Ti(III) çözeltisinin polarogramında bir pik verebilir. Bu, değişik derişimlerde cıva(I) klorür çözeltileriyle ve çinko granülleriyle hazırlanabilen çinko-cıva kullanılarak Ti(III)'ün yükseltgenmesi önlenerek veya yükseltgenme sonucu oluşan Ti(IV)'ün indirgenmesi sağlanarak engellenebilir. Ti(III) çözeltileriyle yapılacak çalışmalarda bu etkinin olabileceği düşünülerek önlem alınmalıdır.

Çinko-cıva amalgamından kaynaklanan çinko pikinden etkilenmemek için amalgam hazırlanırken kullanılan cıva(I) klorür çözeltisinin derişimi değiştirilebilir. Eğer doygun cıva(I) klorür çözeltisi kullanılırsa çinko granüllerine tutunan cıva tabakası kalın olacağından çözeltiliye geçen çinko iyonu azalır. Derişim azaltılırsa amalgamda ki cıva tabakası incelediğinden ortama geçen çinko miktarı artacaktır.

Diferansiyel puls polarografisinde K_3 vitamini, standart K_3 vitamini ekleme metodu kullanılarak analiz edilebilir. Ancak standart K_3 vitamini çözeltisi için %100 saflıktaki K_3 vitamini kullanılmalıdır. %100 saflıktaki standart K_3 vitamini için bu tezde anlatılan yöntem kullanılarak K_3 vitamininin standardizasyonu yapılabilir. K_3 vitaminin sülfitsiz çözeltisi bulunabilirse tezde anlatılan ön işlemlere K_3 vitamini için gerek yoktur.

Piyasada satılan K_3 vitamininin içerisinde sülfid bulunduğundan tez çalışmasında yapılan işlemlerle ortam sülfid uzaklaştırılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Bingöl, G. “Biyokimya”, *Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti. Yayınevi*, Ankara, 271-285 (1983).
- 2- Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ.“Biyokimya”, *Şafak Yayınevi*, Erzurum, 222-261 (1997).
- 3- Türkiye Klinikleri Yayın Kurulu, “Biyokimya”, *Türkiye Klinikleri Yayınevi* Ankara, 160-164 (1994).
- 4- “The Merck Index 11th ed”., 9943 (1989).
- 5- Hodges, S. J., Pilkington, M. J., Shearer, M. J., Chayen, J., Stamp, T., Catterall, A. and Bitensky, A. L. “Depressed levels of circulating menaquinones in patients with osteoporotic fractures of the spine and femoral neck”, *Bone*, 12 (6): 387-389 (1991).
- 6- Karl, P. I and. Friedman, P. A., “Responses of renal and hepatic vitamin K dependent γ -glutamyl carboxylase substrates to warfarin and vitamin K treatments”, *International Journal of Biochemistry*, 17 (12): 1313-1316 (1985).
- 7- Gallop, P.M., Lian, J.B., Hauschka, P.V., Peter, V., “Vitamin K and mineralization”, *N. Engl. J. Med.*, 302 : 1460 (2004).
- 8- Sato,Y., Honda,Y., Kuno, H., Oizumi, K., “Menatetrenone ameliorates osteopenia in disuse-affected limbs of vitamin D- and K-deficient stroke patients”, *Bone*, 23 (3): 291-296 (1998).
- 9- Iwamoto, I., Kosha, S., Noguchi, S., Murakami, M., Fujino,T., Douchi, T., Nagata, Y., “A longitudinal study of the effect of vitamin K₂ on bone mineral density in postmenopausal women a comparative study with vitamin D₃ and estrogen–progestin therapy”, *Maturitas*, 31 (2): 161-164 (1999).
- 10- Knapen, H. J., Vermeer, C., Berry A., Soute, M., Aalten, M., and Thijssen, H. W., “Vitamin K reductases in normal and in warfarin-resistant rats”, *Biochemical Pharmacology*, 37 (14): 2876-2878 (1988).
- 11- Akiyama,Y., Hara, K., Matsumoto, A., Takahashi, S. and Tajima, T., “Comparison of intestinal absorption of vitamin K₂ (menaquinone) homologues and their effects on blood coagulation in rats with hypoprothrombinaemia”, *Bio. Chem. Phar.*, 49 (12): 1801-1807 (1995).
- 12- Hara, K., Kobayashi, M. and Akiyama, Y., “Vitamin K₂ (menatetrenone) inhibits bone loss induced by prednisolone partly through enhancement of bone formation in rats”, *Bone*, 315: 575-581 (2002).

- 13- Hara K., Akiyama Y., Ohkawa I., Tajima T., "Effects of menatetrenone on prednisolone-induced bone loss in rats", *Bone*, 14 (6): 813-818 (1993).
- 14- Akiyama, Y., Hara, K., Tajima, T., Murota, S. and Morita, I., "Effect of vitamin K₂ (menatetrenone) on osteoclast-like cell formation in mouse bone marrow cultures", *European Journal of Pharmacology*, 263 (1-2): 181-185 (1994)
- 15- Kobayashi, M., Hara, K. and Akiyama, Y., "Effects of vitamin K₂ (menatetrenone) and alendronate on bone mineral density and bone strength in rats fed a low-magnesium diet", *Bone*, 35 (5): 1136-1143 (2004).
- 16- Hara, K., Akiyama, Y., Nakamura, T., Murota, S. and Morita, I., "The inhibitory effect of vitamin K₂ (Menatetrenone) on bone resorption may be related to its side chain", *Bone*, 16 (2): 179-184 (1995).
- 17- Shah, D. V. Zhang, P., Engelke, J. A., Bach, A. U. and Suttie, J. W., "Vitamin K-dependent carboxylase activity, prothrombin mRNA, and prothrombin production in two cultured rat hepatoma cell lines", *Thrombosis Research*, 705: 365-373 (1993).
- 18- Marcus, M. S., Goying, N. L., Suttie, J. W. and Gren, C. G., "Vitamin K status in children and adolescents with cystic fibrosis compared to normal controls", *Journal of the American Dietetic Association*, 93 (9): A30 (1993).
- 19- Shearer M.J., "Vitamin K metabolism and nutriture", *Blood Reviews*, 6 (2): 92-104 (1992).
- 20- Hirauchi, K., Sakano, T., Nagaoka, T. and Morimoto, A., "Simultaneous determination of vitamin K₁, vitamin K₁ 2,3-epoxide and menaquinone-4 in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection", *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 430: 21-29 (1988).
- 21- Berzas J.J.N., Murillo J.A.P., Gomez M.A.L. "Spectrofluorimetric study of the β -cyclodextrin: vitamin K₃ complex and determination of vitamin K₃." *Talanta*, 53: 951-959 (2000).
- 22- Zhiming L., Tao L., Jie L. and Erkang W "Detection of menadione sodium bisulfite (vitamin K₃) by reversed-phase high performance liquid chromatography with series dual-electrode amperometric detector" *Analytica Chimica Acta*, 338: 57-62 (1997).
- 23- Kiyoko T., Mizuho S. and Yumiko H. "Polarographic study: the reaction of K vitamins with thiols and the consecutive determination of the K vitamins" *Analytica Chimica Acta*, 106: 261-269 (1979).

- 24- Hamid A., Leila B. "Simultaneous spectrophotometric determination of Vitamin K₃ and 1,4-naphthoquinone after cloud point extraction by using genetic algorithm based wavelength selection-partial least squares regression" *Analytica Chimica Acta*, 514: 211-218 (2004).
- 25- Kamao, M., Suhara, Y., Tsugawa, N. and Okano, T., "Determination of plasma Vitamin K by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using Vitamin K analogs as internal standards" *Journal of Chromatography B*, 816 (1-2): 41-48 (2005).
- 26- Hart, J. P., Catterall, A., Dodds, R. A., Klenerman, L., Shearer, M. J., Bitensky, L., and Chayen, J., "Circulating vitamin K₁ levels in fractured neck of femur", *The Lancet*, 324 (8397): 283 (1984).
- 27- Donnahey, P. L., Burt, V.T., Rees, H. H. and Pennock, J. F., "High-performance liquid chromatography of menaquinone-4, 2,3-epoxymenaquinone-4, demethylmenaquinone-4 and related compounds", *Journal of Chromatography A*, 170 (1): 272-277 (1979).
- 28- Wakabayashi, H., Onodera, K., Yamato, S. and Shimada, K., "Simultaneous determination of vitamin K analogs in human serum by sensitive and selective high-performance liquid chromatography with electrochemical detection", *Nutrition*, 19 (7-8): 661-665 (2003).
- 29- Haroon Y., Bacon D.S., Sadowski J.A., "Chemical reduction system for the detection of phylloquinone (vitamin K₁) and menaquinones (vitamin K₂)", *Journal of Chromatography A*, 384: 383-389 (1987).
- 30- Imasaka, T., Harada, T. and Ishibashi, N., "Fluorimetric determination of gallium with lumogallion by flow injection analysis based on solvent extraction", *Analytica Chimica Acta*, 129: 195-203 (1981).
- 31- Usui Y., Nishimura N., Kobayashi N., Okanoue T., Kimoto M., Ozawa K., "Measurement of vitamin K in human liver by gradient elution high-performance liquid chromatography using platinum-black catalyst reduction and fluorimetric detection", *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 489 (2): 291-301 (1989).
- 32- Hirauchi K., Sakano T., Notsumoto S., Nagaoka T., Morimoto A., Fujimoto K., Masuda S., Suzuki Y., "Measurement of K vitamins in animal tissues by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection", *Journal of Chromatography: Biomedical Applications*, 497: 131-137 (1989).
- 33- Rosen, H. N., Maitland, L. A., Suttie, J. W., Manning W. J., Glynn, R. J. and Greenspan, S. L., "Vitamin K and maintenance of skeletal integrity in adults", *The American Journal of Medicine*, 94 (1): 62-68 (1993).

- 34- Engelke, J. A., Hale, J. E., Suttie, J. W. and Price, P. A., "Vitamin K-dependent carboxylase: utilization of decarboxylated bone Gla protein and matrix Gla protein as substrates", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1078 (1): 31-34 (1991).
- 35- Meites L., "Polarographic Techniques", 2nd edition, *John Wiley & Sons*, New York, 182 (1965).
- 36- Hart, H., Hart, J. D., Craine, E. L., "Organic Chemistry 9nd ed.", Çeviri Editörü, *Tahsin Uyar, Palme Yayıncılık*, Ankara, 282-283 (1998).
- 37- Skoog, A. D., West, M. D., Holler, F. J., "Fundamentals of Analytical Chemistry 7nd ed." Çeviri Editörleri, *Esmâ Kılıç, Fitnat Köseoğlu, Bilim Yayıncılık*, Ankara, 360-490 (1996).
- 38- Haris, C. D., "Analytical Chemistry" Çeviri Editörü, *Güler Somer, Gazi Büro Kitabevi*, Ankara, 293-355 (1982).
- 39- Skoog, A. D., Holler, F. J., Nieman, A. T., "Principles of Instrumental Analysis 5nd ed." Çeviri Editörleri, *Esmâ Kılıç, Fitnat Köseoğlu, Hazma Yılmaz, Bilim Yayıncılık*, Ankara, 563-566 (1998).
- 40- Erdem, B., Baykut, F., "Analitik Kimya", *Fatih Yayınevi*, İstanbul, 296-297 (1978).
- 41- Gündüz, T., "İnstrümental Analiz", *Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, Ankara, 398-417 (1988).
- 42- Ergenç, N., Ateş, Ö., Gürsoy, A., "Eczacılar İçin Organik Kimya", *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, İstanbul, 655-656 (1985).
- 43- Tulus, R., "Kantitatif Kimyasal Analiz", *İstanbul Üniversitesi Yayınları* İstanbul, 353-534 (1971).

ÖZGEÇMİŞ

02/03/1980 tarihinde Kahramanmaraş'ın Elbistan ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini burada tamamladı. Lisans eğitimini Samsun 19 Mayıs Üniversitesi'nde 1998-2002 yılları arasında tamamladı. Şubat 2003'te Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisans eğitimine başladı.