

1.GİRİŞ

Tıptaki gelişmelere paralel olarak, ilaç sanayi de gelişme göstermiştir. Son yıllarda tıbbi, kimyasal, biyolojik ve farmakolojik araştırmalara özellikle önem verilmiş ve bunun sonucunda yeni ve etkili ilaç aktif maddeleri dolayısıyla da etkili ilaçlar bulunmuş ve geliştirilmiştir. Moksifloksasin de kinolonlar grubuna giren bir ilaç aktif maddesidir.

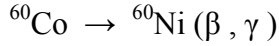
Moksifloksasin sentetik anti- bakteriyel bir maddedir ve Aveloks ® adlı ilacın etken maddesini oluşturur. Bu ilaç sinüzit, kronik bronşit ve akciğer hastalıkları gibi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yüzden moksifloksasinin kanda ve idrar gibi biyolojik sıvılardaki miktarlarının tayin edilmesi klinik açıdan oldukça önemlidir.

Moksifloksasinin ilaç tabletlerinde kan serumu ve idrar gibi biyolojik sıvılardaki tayini için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bu yöntemler arasında kromatografi ve elektroforez yöntemleri sayılabilir. Voltametrik açıdan ise moksifloksasinin yükseltgenme çalışmaları yapılmıştır.

Moksifloksasin yapısındaki karbonil grubundan dolayı elektroaktiftir. Yapılan bu çalışmanın birinci kısmında; moksifloksasinin elektrokimyasal özelliğinden yararlanılarak, ilaç formülasyonlarında, serumda ve idrardaki bulunan moksifloksasinin tayini için diferansiyel puls polarografisi ile basit, hızlı ve hassas bir yöntem geliştirilmiştir. Moksifloksasinin tayini için önerilen yöntem Aveloks ® tabletlerine, serum ve idrar numunelerine uygulanmış ve elde edilen sonuçlar, spektrofotometrik yöntem ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızın ikinci kısmında moksifloksasin kullanılarak Co(II) tayini için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Kobalt bir geçiş elementidir ve periyodik tablonun VIIB grubunda yer alır. Atom kütlesi 58,9332, atom numarası 27'dir. Kobaltın atom çekirdeği normalde bir kararlı izotop (⁵⁹Co) içerir. Ancak ⁶⁰Co , ⁵⁷Co , ⁵⁸Co gibi radyoaktif izotoplarına da rastlanmaktadır. ⁶⁰Co bazen hurda metallere çelik

üretimi sırasında da oluşur. ^{60}Co sanayi ve tıp alanında gama ışını kaynağı olarak yaygın bir şekilde kullanılır (1,17MEV). ^{60}Co termal nötronlar ile reaksiyon üzerinden ^{59}Co 'dan da elde edilebilir. Yarılanma ömrü $t_{1/2}$ 5,7 yıldır ve aşağıdaki reaksiyona göre bozunur.



Bilinen tüm diğer yapay kobalt izotoplarının yarı ömrü dakikalar ve günler arasındadır. Kısa yarı ömürlerinden dolayı (270 gün) biyolojik uygulamalarda izleyici olarak ^{60}Co yerine ^{57}Co tercih edilir.

İlk çağlarda kobalt bileşikleri bilinmesine ve renkli cam, seramik sırrı yapımında kullanılmasına rağmen ilk defa 1742 yılında H.Brandt tarafından izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Kobalt ismi Almanca “kobold”dan türemiştir ve kötü ruh anlamına gelmektedir.

Kobalt insanlarda ve hayvanlarda vitamin B₁₂ veya kobalaminle ilişkili olarak bulunur. Vitamin B₁₂ metabolizmasında önemlidir. İnsanlarda günlük vitamin B₁₂ ihtiyacı yaklaşık 3 mg'dır. Hayvanlarda ise bu miktar 5-30 mg arasında değişir. Vitamin B₁₂ noksanlığında insanlarda görülen en önemli bozukluk pernisiyöz anemidir. Bu anemide mide bağırsak kanalı mukozasında atrofi ve omurilikte dejeneratif bozukluklar görülür.

Eser miktardaki kobalt (II) tayini çevre , tıp , besin , toksikoloji ve metalurji gibi alanlarda önem kazanmıştır. Bu kadar çok kullanım alanı olan ve biyolojik öneme sahip olan kobaltın doğru tayini çok önemlidir. Kobalt tayininde birçok analitik yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları; atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) , elektrotermal atomik absorpsiyon spektroskopisi (ETAAS) , indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES), iyon kromatografisi , spektrofotometrik yöntemler , kolorimetrik yöntemler , polarografi , katodik adsorptif sıyırma voltametri ve diferansiyel puls anodik sıyırma voltametrisidir. Ancak AAS'de numunenin çözünürleştirme işlemleri sırasında yüksek sıcaklık ve

buharlaşma analit kaybına yol açar. Genellikle spektroskopik yöntemlerle kobalt (II) tayini yapılabilmesi için ön zenginleştirme ve özütleme işlemleri gerekmektedir. Voltametrik yöntemlerle yapılan analizlerde ise tayin sınırı oldukça düşük seçicilik ve duyarlılık yüksek olup, çoğu kez herhangi bir nzenginleştirilmeye gerek duyulmamaktadır.

Polarografik yöntemlerle yapılan kobalt tayininde en önemli sorun kobalt (II)'nin oldukça düşük pik akımına ve yayvan pik karakterine sahip olmasıdır. Kobalt (II) pikinin bu özelliklerinden dolayı özellikle de düşük derişimlerde kobalt (II)'nin doğru tayini mümkün olmamaktadır. Bu yüzden kobalt (II)'nin doğru tayini için yeni bir yöntem geliştirilmesi düşünülmüştür.

Yapılan bu çalışmanın ikinci kısmında kobalt(II)/moksifloksasin [Co(II)/MOKS] kompleksi oluşturularak kobalt(II)'nin diferansiyel puls polarografisi tekniği ile tayini için seçiciliği ve duyarlılığı yüksek olan yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Çalışmada Co(II)/moksifloksasin etkileşimi DPP ile incelenmiş, civa elektrot üzerinde -1,38 V'daki kobalt(II) ve -1,48 V'daki moksifloksasin piklerine ilaveten her iki türden daha pozitif potansiyel olan -1,17 V'da Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait çok keskin bir pik elde edilmiştir. Bu yöntem Co(II) ile moksifloksasin arasında oluşan kompleksin -1,17 V (DKE'e karşı)'taki Co(II)/moksifloksasin kompleks piki üzerine dayanmaktadır. Elde edilen bu Co(II)/moksifloksasin piki, düşük pik akımına ve yayvan pik karakterine sahip olan Co(II) pikine göre, daha düşük mitarlardaki Co(II) tayini için avantaj oluşturmaktadır. Yaptığımız alışmada Co(II) zerine moksifloksasin ilavesi ile -1,17 V'da yeni bir pik gözlenmiş ve bu yeni pikin yalnızca Co(II) ile moksifloksasin varlığında ortaya çıktığı bulunmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Moksifloksasin İle İlgili Bilgiler

Bu kısımda moksifloksasin ile ilgili genel bilgiler yer alacak olup, özellikleri ve yapısı ile tayin yöntemleri hakkında bilgi verilecektir.

2.1.1. Moksifloksasin özellikleri ve yapısı

Moksifloksasin kinolonlar grubunda yer alır. Kinolonların tarihçesine bakıldığında ; bu grup antibakteriyel maddelerin ilk üyesi olan nalidiksik asit 1960'lı yıllarda antimalaryal bir ilaç olan klorokinin saflaştırılması sırasında elde edilen bir ara üründen üretilmiştir. Daha sonra 1980'li yıllarda florlanmış kinolonlar, 4-kinolonlar, kinolon karboksilik asitler de denilen yeni kinolon türevleri klinik kullanıma girmiş ve çeşitli enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Nalidiksik asitle yapısal ilişkisi bulunan yeni kinolon türevleri nalidiksik aside benzer şekilde oral olarak alındığında iyi emilen ve kullanımı kolay bir ilaçtır. Moksifloksasin nalidiksik asitten farklı olarak daha geniş antibakteriyel etki spektrumuna, daha üstün farmakokinetik özelliklere sahiptir ve dirençli bakteri gelişimine de daha az neden olmaktadır.

Yeni kinolonların binlerce türevi elde edilmiş ve halen üretilmekte iken bunlardan ancak bazıları insan enfeksiyonlarında kullanılır durumdadır. En çok uygulananların başında norfloksasin, enoksasin, ofloksasin, siprofloksasin, pefloksasin gelmekte; bunları fleroksasin, lomefloksasin, temafloksasin, amifloksasin, difloksasin, tosufloksasin, sparfloksasin izlemektedir.

Kinolonlar tümüyle sentetik olarak elde edilen antibiyotiklerdir. Ana yapıyı 1.konumda azot, 4.konumda çift bağla bağlı olan oksijen bulunduran kinolon halkası oluşturur. Kinolonlar arasındaki antibakteriyel etkinlik ve farmakokinetik farklılıklar, kimyasal yapılarındaki farklılıklardan kaynaklanır.

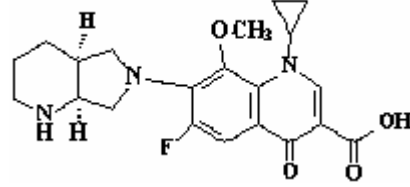
Kinolonlar antibiyotik özellikte olmalarından dolayı bakterilerin metabolizmasını bozarak ya da hastalık yapma etkilerini yok ederek bakterileri etkisiz hale getirirler.

Genel olarak yeni kinolonlar Enterobacteriaceae ailesinin üyelerine, H.influenzae, gonokoklar, menengokoklar gibi gram negatif bakterilerine karşı son derece düşük derişimlerde etkilidirler. Kinolonlar arasında bu bakterilere karşı etkinlik açısından farklılıklar az da olsa olabilir.

Kinolonların kullanıldığı başlıca enfeksiyonlar; genitoüriner enfeksiyonlar, gastrointestinal enfeksiyonlar (tifo ve paratifolar dahil), akciğer enfeksiyonları menenjit, endokardit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, oftalmik enfeksiyonlar sayılabilir.

Yeni kinolonlar; oral alım kolaylığı, idrar, böbrek ve prostat dokularında yüksek düzeye ulaşmaları, bu düzeyde üriner enfeksiyonlara neden olabilecek tüm bakterilere etkili olmaları nedeni ile idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde çok iyi seçeneklerdir. Kulak burun boğaz hastalıklarındaki en önemli kullanım yeri dış kulak iltihaplarıdır. Yan etkileri çok fazla olmayan kinolonların en fazla görülen yan etkileri mide barsak sistemi üzerindedir.

Moksifloksasin bir florokinolon türevidir ve antibakteriyel bir maddedir. Gram-pozitif ve gram-negatif organizmalar, anaeroblar, aside dirençli bakteri ve atipik bakterilerin geniş bir bölümüne karşı in-vitro aktiviteye sahiptir. Bakteri hücreindeki DNA zincirini bozarak etki gösterir. Moksifloksasin; 1-siklopropil-7-{{(S,S)-2,8-diazobisiklo[4.3.0]non-8-il}}-6-9-floro-8-metoksi-1,4-dihidro-4-okso-3-kinolon karboksilik asidin hidro klorür tuzudur (1). Kimyasal yapısı şekil 2.1.'de görülmektedir. Moksifloksasinin mol kütlesi 437,9 gramdır. Basit formülü ise $C_{21}H_{24}FN_3O_4$ 'tür. Moksifloksasin, diğer kinolonlardan farklı olarak 8 konumunda metoksi grubu ve 7 konumunda diazobisiklononil grubu içerir ve sinüzit, kronik bronşit gibi bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkilidir (2). Diğer kinolonlardan eliminasyon (yarı ömür) ve bakterilere karşı etkinlik açısından farklılaşır .



Şekil 2.1 Moksifloksasinin yapısı

Moksifloksasin hızlı bir şekilde mide ve bağırsaklardan emilir. İlaç derişimine bağılı olarak moksifloksasinin %50'si serum albuminine bağlanmaktadır. Bu bileşimin biyolojik etki mekanizması tam olarak açıklanabilmiş değildir. Ancak moksifloksasininde yer aldığı florokinolonların ; bakteri hücreindeki DNA sentezini önleyerek öldürücü etki yaptıkları bilinmektedir (3).

2.1.2. Moksifloksasinin tayin yöntemleri

Kromatografik yöntemler

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC); moksifloksasinin ayrılması ve tayini için oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir . Boubakar ve arkadaşları(4), özel bir madde olan Mueller-Hinton suyundaki moksifloksasinin HPLC ile tayini için yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada grup floresans dedektör kullanmıştır. 0,5-3,2 µg/mL derişim aralığında moksifloksasin derişimi ile pik alanı arasında doğrusal bir artış bulmuşlardır.

Nguyen ve arkadaşları (5), moksifloksasinin, gatifloksasinin ve levofloksasinin serum numunesinde eş zamanlı tayinlerini gerçekleştirmek amacıyla HPLC ile bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada hareketli faz olarak asetonitril, tetrabutil amonyum bromür ve fosfat tamponu içeren bir karışım kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem ile gözlenebilme sınırı levofloksasin için 60 ng/mL, gatifloksasin için 120 ng/mL ve moksifloksasin içinde 35 ng/mL olarak bulunmuştur.

Vishwanathan ve çalışma grubu (6), serum numunelerindeki moksifloksasinin; sıvı kromatografisi elektrosprey iyonlaştırıcı tandem kütle spektroskopisi (LC/ESI-MS/MS) ile tayini için bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemde Oasis® HLB katı faz özütlemesi kullanılarak moksifloksasin özütü elde edilmiştir. Bu yöntem ile 1-1000 ng/mL arasında doğrusal bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiş, moksifloksasin için tayin sınırı 50 pg/mL olarak bulunmuştur.

Kapiler elektroforez yöntemi

Moksifloksasin iki kiral merkeze sahiptir. İki kiral merkez atomundan dolayı dört farklı izomeri vardır. Bunlar S,S izomeri, R,R enantiomeri, R,S diastereoizomeri ve S,R diastereoizomeridir.

Cruz ve Hall (7), moksifloksasinin dört farklı stereoizomeri arasından S,S izomerini ayırt etmek için kapiler elektroforez yöntemini kullanmışlardır. Çalışma; %6 asetonitril, %5 sülfolanmış- γ -siklodekstrin içeren fosfat tamponunda , 20° C'da 50 μ m \times 40 cm silika kapiler ile yapılmıştır.

Möller ve arkadaşları (8), kan serumundaki moksifloksasinin tayinini laser floresans kapiler elektroforez ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, HPLC yöntemi ile elde edilen verilerle karşılaştırılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda kan serumundaki moksifloksasinin tayini için LOD değeri 2,5 μ g/L ve LOQ değeri de 0,5 μ g/L olarak bulunmuştur.

Elektrokimyasal yöntemler

Moksifloksasin yapısındaki karbonil grubundan dolayı elektroaktif bir maddedir. Ancak moksifloksasinin elektrokimyasal yöntemlerle yapılan çalışmaları sınırlıdır. Elektrokimyasal yöntemlerle moksifloksasinin yükseltgenme davranışları ve adsorptif voltametri ile tabletlerde ve idrarda çalışılmıştır. Moksifloksasin hakkında elektrokimyasal tekniklerle yapılan çalışmalar sınırlı olmasına rağmen , üyesi olduğu florokinolonlar grubundaki ilaç aktif maddeler için çok sayıda çalışma mevcuttur.

Trindade ve çalışma grubu (9), tablet ve idrar numunelerindeki moksifloksasinin tayini için asılı civa damla elektrodunda, kare dalga voltametri ile bir yöntem geliştirmişlerdir. Destek elektrolit olarak pH 8 fosfat tamponu kullanılmıştır. Yapılan çalışmada Ag/AgCl'e karşı -1,38 V'da tek bir indirgenme piki gözlenmiştir. Moksifloksasin için tayin sınırı değeri saf ilaç şeklinde 0,44 ng/mL ve idrarda ise 3,20 ng/mL olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı ise saf ilaç formunda 1,46 ng/mL ve 10,60 ng/mL olarak bulunmuştur.

Rizk ve arkadaşları (10), florokinolonlar grubuna giren ofloksasinin, ilaç yapılarındaki ve biyolojik akışkanlardaki tayini için diferansiyel puls polarografisini kullanarak bir yöntem geliştirmişlerdir. Ofloksasinin elektrokimyasal davranışını B-R tamponu kullanılarak pH 4,1 ile 10,3 arasında incelenmiştir. İndirgenme reaksiyonu tersinmez ve difüzyon kontrollü olarak bulunmuştur. DC polarografisi ile çalışma aralığı 5×10^{-5} - 5×10^{-4} M ve DP polarografisi ile 1×10^{-5} - 5×10^{-4} M ve minimum gözlenebilme sınırı 3×10^{-7} M olarak hesaplanmıştır.

Song ve çalışma grubu (11), ilaç formülasyonlarındaki lomefloksasinin, 2-iyodoasetamit varlığında polarografik katalitik dalgasını çalışmışlardır. Çalışma fosfat ortamında gerçekleştirilmiş ve 2-iyodoasetamit varlığında lomefloksasin katalitik bir dalga oluşturmuş olup çalışmada ikinci türev polarografisi kullanılmıştır. Bu yöntem ile lomefloksasin için çalışma aralığı 1×10^{-8} M ile 1×10^{-6} M olarak bulunmuştur.

Jain ve çalışma grubu (12), florokinolonlar grubuna giren sparfloksasinin Co(II) komplekslerini çalışmışlar ve sparfloksasinin kalitatif ve kantitatif tayinini gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen kompleksin elementel analizi IR spektrumlarından metal ligand oranını bulmuşlar, polarografi ve amperometri tayinini gerçekleştirmişlerdir. Yapılan analizler sonucu metal ligand oranı 1:1 olarak bulunmuştur.

2.2. Kobalt İle İlgili Bilgiler

Bu kısımda kobaltın özellikleri, tabiatta bulunuşu, elde edilmesi, kobalt bileşikleri ve kobaltın tayin yöntemleri yer almaktadır.

2.2.1. Kobaltın özellikleri, bulunuşu ve elde edilmesi

Kobalt yer kabuğunda bulunma bolluğu bakımından 32. sırada yer alır. Afrika Zaire'de bakır cevherlerinde ve Kanada Ontario'da piritlerde bulunur. Ayrıca Morocco ve Kuzey Zimbabwe'de kobalt içeren cevherler bulunmuştur. Amerika Birleşik Devletleri'nde kobalt içeren cevherler bulunmasına rağmen bunlar henüz kullanılmamaktadır.

Kobalt kayalarda, minerallerde ve toprakta eser miktarda bulunur. Yer kabuğundaki ortalama kobalt içeriği 18 mg/kg'dır. Genellikle nikel ve demir iyonu ile birlikte bulunur. Topraktaki ortalama kobalt içeriği 8 mg/kg'dır. Kobalt minerallerinin çözünebilirliği pH'ya bağlıdır. Asidik topraklardaki kobalt, bazik topraklardakine nazaran daha hareketlidir. Yaklaşık olarak yılda 21000 ton kobalt nehirlerle ve okyanuslara taşınır. Bir miktar kobaltta deniz dibindeki tortularda birikir (13). Kirlenmemiş temiz sularındaki kobaltın içeriği 0.1-10 µg/L arasındadır, ancak kirlili sularındaki kobalt içeriği oldukça yüksektir. Okyanus sularındaki kobalt konsantrasyonu ise oldukça düşüktür (14). Örneğin Atlantik okyanusundaki kobalt miktarı 17 ile 73 pM arasında değişmektedir (15).

Avustralya, Yeni Zelanda, Kenya, Rusya ve Florida'nın bazı bölgelerindeki topraklarda kobalt içeriği oldukça düşüktür. Bu bölgelerde kobalt eksikliğine bağlı sendromlar görülür.

Kobalt, erime noktasını düşüren maddelerin (eritiş maddeleri) varlığında kısmi kavurma (roasting) ile sülfid filizlerinden hazırlanır. Bu işlem Co, Ni ve Cu'ın arsenitleri ve sülfidlerini içeren ürünler oluşturur. Ürünlerin NaCl varlığında

ısıtılması ile metaller suda çözünebilen klorürlerine dönüşürler. Bu yolla yılda 15000 ton kobalt üretilir.

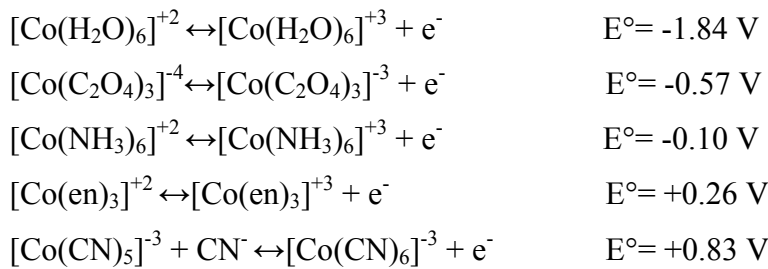
Metalik kobalt parlak, gri renktedir ve güçlü ferromanyetik özelliğe sahiptir. Yoğunluğu $8,9 \text{ g/cm}^3$ ($20 \text{ }^\circ\text{C}$), erime noktası $1495 \text{ }^\circ\text{C}$ ve kaynama noktası $3100 \text{ }^\circ\text{C}$ 'dir. Yoğun metalik kobalt oda sıcaklığında hava ve su ile reaksiyona girmez, ancak seyreltik oksijen içermeyen asitte yavaş, derişik nitrik asitte hızlı bir şekilde çözünür. Nitrik asit çözeltisinin buharlaştırılması ile kobalt nitrat kristalleri $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ elde edilir. Isıtma ile nitrat bozunarak zeytin yeşili kobalt(II)oksit, CoO oluşur. CoO hava ile temas ettiğinde $\text{Co}(\text{II})$, $\text{Co}(\text{III})$ 'e yükseltgenir ve siyah Co_3O_4 oluşur. Bu oluşum oda sıcaklığında yavaş, $700 \text{ }^\circ\text{C}$ 'deki oksijen akışında oldukça hızlı gerçekleşir. Düşük sıcaklıklarda ise CoO bir miktar oksijen absorblayarak Co_2O_3 bileşimine yükseltgenir. Ancak kobalt(III)oksit bu zamana kadar elde edilememiştir. CoO oksijen varlığında BaO ile ısıtıldığında kobalt(IV)oksit türevi olan CoO_2 katısı oluşur.

Kobaltın yaygın yükseltgeme basamakları $+II$ ve $+III$ 'tür. Ancak $\text{Co}(0)$, $\text{Co}(+I)$, $\text{Co}(-I)$ bileşikleri de bilinmektedir. Kobalt(II) tuzlarının sulu çözeltileri $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ içerir. Burada Co^{2+} iyonu altı su molekülü ile oktahedral olarak çevrilmiştir. Kobalt(II) ve kobalt(III)'ün hidratlarla çok sayıda koordinasyon kompleksleri bilinmektedir. Hekzaamin kobalt (III) klorür $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$, havasız ortamda $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6\text{Cl}_2$ çözeltisine derişik sulu amonyağın eklenmesi ile elde edilir. Kobalt(II) tuzları ısıtma veya asitlendirme ile karakteristik renk değişikliği gösterirler, bu olaya koordinasyon geometrisindeki değişmeler veya ligandların yer değiştirmesi neden olur. $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6\text{Cl}_2$ pembe çözeltisi hidroklorik asitle reaksiyona girerek kobalt(II) iyonunun tetrahedral olarak koordine olduğu mavi $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ kompleks anyonunu oluşturur.

Kobalt(III) kompleksleri, kobalt(II) komplekslerinin son yükseltgenme ürünleridir. Ve kobalt (II) komplekslerinden termodinamik olarak daha kararlıdır. Hekzaamin kobalt(III) klorür $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ bu komplekslerden biridir. Diğer bilinen kobalt(III)

kompleksleri; potasyumheksasiyanokobalt(III) $K_3[Co(CN)_6]$ ve tris (etilendiamin)kobalt (III)klorür $Co(en)_3Cl_3$ 'dür.

Kobalt bileşiklerinin indirgenme potansiyellerine bakıldığında sulu çözeltilerinde Co^{2+} iyonu, Co^{3+} iyonundan daha karardır. Buna karşılık , oktahedral yarılma enerjisinin artmasına neden olan ligandların bulunması halinde Co^{3+} iyonu daha kararlı olmaktadır.



Yukarıdaki ilk üç dengede Co^{2+} kararlı olduğu halde, son iki dengede Co^{3+} karardır (16).

2.2.2. Kobaltın kullanım alanları ve biyolojik önemi

Kobalt süperalaşım adı verilen maddelerin bileşenidir ve jet motorlarının, gaz türbinlerinin ve yüksek sıcaklıkta çalışan diğer makina parçalarının yapımında kullanılır. Ayrıca çeşitli alaşımların bileşiminde de bulunur. Bu alaşımlar % 50-60 oranında kobalt, %30-40 oranında krom ve % 8-20 oranında tungstenden oluşur. Kobalt ferromagnetik özellikli magnetik çelik ve alüminyum alaşımlarda da yer alır. Amorf kobalt veya demir filmlerine terbiyum ve gadolinyum ilavesi ilginç magnetik ve magneto-optik özelliklerin ortaya çıkmasına neden olmuştur (17). Alüminyum ve silisyum oksitlerin bileşimleri ; pigmentleri ve mavi-yeşil seramik sırlarını oluşturur. Ayrıca kobalt cam endüstrisinde mavi renk vermek ve demir safsızlıklarının neden olduğu hafif yeşil rengi maskeleyen için kullanılır. Kobalt tuzları ve sabunları yağ, lateks ve bütadien reçine bazlı boyalara kurutma işlemini hızlandırmak amacıyla %0,25 oranında katılır. Kobalt tuzları poliester ve silikon reçinelere sertlik vermek amacıyla da kullanılır.

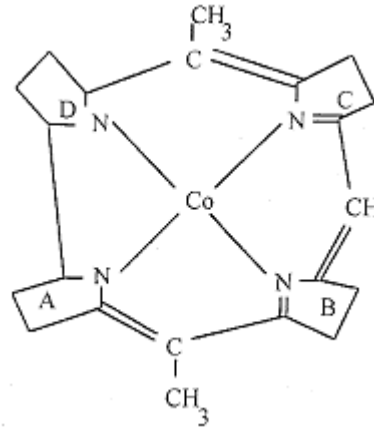
Yakıt sentezinde (Fischer-Tropsch prosesi), yüksek sıcaklık ve basınçta olefinlerden alkol ve aldehit sentezinde (“okso prosesi” ve “hidroformilasyon”) kobalt bileşikleri katalizör olarak görev yapar. Ayrıca bu bileşikler organik bileşiklerin yükseltgenmesinde ve petrol rafine işleminde de kullanılmaktadır. Okso prosesinde kobalt karbonil $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ bileşiği oluşur . Bu bileşik propilen, hidrojen ve karbonilden n-bütanol oluşumunda katalizör olarak davranır. Kobalt tuzları; toluenin yükseltgenmesi ile fenol oluşumu ve p-k sileninin yükseltgenmesi ile tereftalik asit oluşumu gibi reaksiyonlarda yükseltgenme katalizörü olarak görev yapar.

Kobalt karboniller, düşük yükseltgenme basamaklarında kobaltın kompleksleridir. Basınç altında karbonmonoksit gazı ile ince disperse olmuş CoO türevi olan portakal rengi ve süblimleşebilen dikobalt oktakarbonil $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ oluşur. Bu karbonil bileşiği organik çözücülerde çözünür. $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ ve H_2 basınç altında reaksiyona girdiğinde oldukça zehirli, erime noktası -26°C olan hidridokobalttetrakarbonil $\text{HCo}(\text{CO})_4$ oluşur. Hidridokobalttetrakarbonildeki hidrojen atomu asidiktir ve metaller ile yer değiştirebilir. Böylece $\text{HCo}(\text{CO})_4$ 'daki Co(-I) bileşiği gibi kobalt karboniller ve hidro karboniler okso prosesinde katalitik ara ürünlerdir.

Kobalt insanlarda ve hayvanlarda vitamin B_{12} veya kobalaminle ilişkili olarak bulunur. Vitamin B_{12} metabolizmasında önemlidir. Vitamin B_{12} 'nin yapısında bulunan kobalt dokularında düşük derişimlerde ($<0,2 \mu\text{g/g}$) bulunur , en çok bulunduğu dokular karaciğer , kalp ve kemik dokusudur. Kobalt geniş getirenlerde iyi emilmez. Fazla demir kobalt emilimini azaltırken , demir noksanlığı kobalt emilimini arttırır. Kobalt atılımı memelilerde safra ile gerçekleşir.

Vitamin B_{12} türevleri kobalaminler olarak adlandırılır ve vitaminlerden en kompleks yapıya sahip olanlarıdır. İlk olarak 1926 yılında diyetten kısmen pişirilmiş karaciğer yedirilen şahıslarda pernisiyöz anemi oluşmasıyla keşfedilmiştir. Daha sonraki yıllarda (1948) İngiltere’de vitamin B_{12} tanımlanmış ve 1956 yılında üç boyutlu yapısı açıklanmıştır. Kırmızı renkli kristal şekli olan kobalamin yüksek sıcaklıkta su ve alkolde erir fakat aseton, eter ve kloroformda erimez. Vitamin B_{12} porfirin halka

sistemi gibi korrin halkasına sahiptir. Korrin halkası porfirin gibi dört tane pirol ünitesine sahiptir. Şekil 2.2’de de görüldüğü gibi bunlardan iki tanesi (A ve D) birbirlerine doğrudan diğerleri ise porfirinde olduğu gibi metil köprüsü ile bağlanmışlardır. Korrin halkasının en önemli özelliği merkezinde üç değerli bir kobalt atomuna sahip olmasıdır.



Şekil 2.2 Kobalamin korrin çekirdeği

Vitamin B₁₂ bitkilerde bulunmaz. Ancak bakteriyel orjinli olarak hayvanlarda bulunur. Vitamin B₁₂ tek midelilerde mutlaka besinlerle dışarıdan alınması gerekir. Çünkü sindirim sisteminde sentez çok az düzeyde olup bu miktar intrinsik faktörle birleşip emilecek kadar değildir. Geviş getirenlerde vitamin B₁₂ yeteri miktarda sentezlenebilmektedir. Bu vitamin yalnızca birkaç mikroorganizma tarafından sentezlenir. Bu mikroorganizmalar sentez için dakikaya ihtiyaç duyarlar. Bazı mikroorganizmaların çoğalmaları için kobalamine ihtiyaç vardır. Bu yüzden kobalaminin mikrobiyolojik miktar tayininde bu özelliğinden faydalanılır.

Hayvansal dokularda ve bakterilerde vitamin B₁₂ koenzim şeklinde bulunur. Merkezdeki kobalt atomuna siyan bağlanırsa siyanokobalamin meydana gelir. Siyan yerine bir mol su bağlanırsa akuakobalamin, bir hidroksi grubu bağlanırsa da hidroksikobalamin oluşur. Akuakobalamin karaciğerde depo edilmesinden dolayı vitamin olarak kabul edilir.

Vitamin B₁₂ 'nin bağırsaklardan emilimi intrinsik faktörün varlığında gerçekleşir. İntrinsik faktör; sialinik asit ihtiva eden ve 50000 dalton ağırlığında olan bir glikoprotein olup mide salgısında bulunur. İntrinsik faktörün yokluğunda vitamin B₁₂ çok az düzeyde emildiğinden böyle durumlarda Vitamin B₁₂ enjekte edilmelidir. Emildikten sonra, plazmanın spesifik taşıyıcı proteinine transfer edilir. Daha sonra taşınacağı hücre içine girerek kobalamin lizozomlara geçer. Bunun ardından da tetrahidro folat metil transferaz ve metil malonil CoA mutaz enzimlerinin kofaktörü olmak için serbest hale gelir. Enzimlerin kofaktör şekilleri metil kobalamin ve adenzil kobalamindir. Vitamin B₁₂ günde yaklaşık olarak 2-5 mg olarak safra, idrar ve dışkı ile atılır. Kobalamin enzimleri iki tür reaksiyon katalizler; birincisi L-metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşmesinin düzenlenmesidir. İkincisi ise 2-metiyonin sentezinde metilasyon işleminin yapılmasıdır. Bu düzenlemelerde bir alkil, karboksil, hidroksil yada amino gruplarının değişmelerinde bir karbondan diğerine hidrojen atomu değişikliği yaparlar. Metil kobalamin ise, Vitamin B₁₂'nin diğer bir koenzimi olup metil gruplarının transferinde görev alır (18).

İnsanlarda günlük vitamin B₁₂ ihtiyacı yaklaşık 3 mg'dır. Hayvanlarda ise bu miktar 5-30 mg arasında değişir. Vitamin B₁₂ noksanlığında insanlarda görülen en önemli bozukluk pernisiyöz anemidir. Bu anemide mide bağırsak kanalı mukozasında atrofi ve omurilikte dejeneratif bozukluklar görülür.

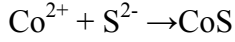
Vitamin B₁₂ 'nin kobalt (II) içeren türevinin çözeltileri kahverengi sarı renktedir ve oksijene duyarlıdır. En bilinen türü bis(dimetilgliksomato) kobalt türevidir ve kobaloksimler olarak adlandırılırlar (19,20).

2.2.3. Kobaltın tayin yöntemleri

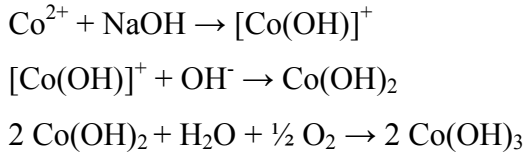
Kobaltın nitel tayini

Kobaltın nitel analizlerinde genellikle S²⁻, OH⁻, NH₃, CN⁻, SCN⁻ gibi reaktifler kullanılır.

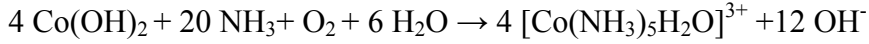
Co(II) iyonu S^{2-} ile bazik ortamda reaksiyona girdiğinde siyah renkli CoS çökeleği oluşur. Oluşan CoS zamanla hava oksijeni ile Co(OH)S haline yükseltgenir.



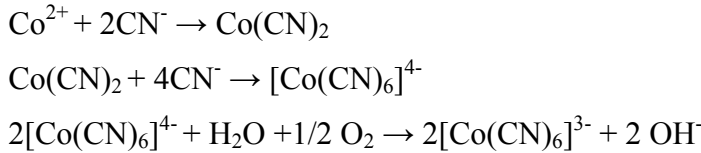
Co(II) iyonuna OH^- iyonu ilave edildiğinde ilk olarak açık mavi renkli $[Co(OH)]^+$ bileşiği oluşur. Eğer ısıtma ile birlikte bir miktar daha OH^- ilave edilirse pembe renkli $Co(OH)_2$ oluşur. Bu bileşik uzun süre havada bırakıldığında ise koyu kahverengi $Co(OH)_3$ bileşiği oluşur.



Co(II) iyonuna NH_3 ilave edildiğinde ise ilk olarak mavi bir çökelek oluşur, eğer oluşan mavi çökeleğe NH_3 eklenmeye devam edilirse kırmızı bir çökelek oluşur.



CN^- iyonu Co(II) çözeltilisine ilave edildiğinde önce kırmızı renkli $Co(CN)_2$ çökelek oluşur, bu kırmızı renkli çökeleğe CN^- iyonu eklenmeye devam edildiğinde önce kahverengi $[Co(CN)_6]^{4-}$ kompleksi şeklinde çözünür, daha sonrada açık havada yükseltgenerek sarı renkli kobalt (III) hekzasiyanüre dönüşür.

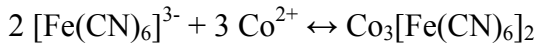


Kobaltın potansiyometrik titrasyon ile tayini

Kobaltın titrimetrik tayini için ilk olarak 0,05 M potasyum ferrisiyanür, % 5'lik amonyum sitrat ve 5 M amonyak çözeltisinden oluşan bir karışım hazırlanır. Bu

karışım soğutulur. Çözeltiye bir platin levha ve kalomel elektrot yerleştirilir. Karıştırılan çözeltiye damla damla 0,1 M Co(II) çözeltisi azar azar ilave edilir. Ölçülen hücrenin potansiyeli dönüm noktasında ani bir düşüş gösterir.

Ferrisiyanür ile kobalt arasında kırmızı renkli bir çökelek meydana gelir. Çözeltide kalan potasyum ferrisiyanürün fazlası ayarlı Co(II) çözeltisi ile yukarıdaki gibi titre edilir. Kullanılan ferrisiyanürün ne kadar Co(II) çöktüreceği bilindiğinden ve geriye kalan ferrisiyanür de titrasyonla bulunduğundan , çözeltideki Co(II) hesaplanmış olur.



Kobaltın spektroskopik tayin yöntemleri

Kobaltın spektroskopik tayini genellikle atomik absorpsiyon spektrometrisi (elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometri veya grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi) ile gerçekleştirilmiştir. Genellikle spektroskopik yöntemlerle kobalt (II) tayini yapılabilmesi için ön zenginleştirme ve özütleme işlemleri gerekmektedir.

Husokova ve arkadaşları (21), ürede kobalt ve krom tayinini, katodik adsorptif sıyırma voltametri ve elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi ile çalışmışlardır. Bu yöntemde kobalt, kobalt(II)-nioksim halinde kompleksleştirildikten sonra asılı civa damla elektrot yüzeyinde adsorptif biriktirme yapılmış ve sodyum nitrit varlığında sıyırma işlemi yapılmıştır. Katodik adsorptif sıyırma voltametri ile tayinde tayin sınırı 0,007µg/L, elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi ile yapılan kobalt tayininde ise 0,13 µg/L olarak bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda katodik adsorptif sıyırma voltametrisinin düşük miktarlardaki kobalt tayini için daha duyarlı bir teknik olduğuna karar verilmiştir.

Kobaltın elektrokimyasal tayin yöntemleri

Kobaltın elektrokimyasal yöntemlerle tayini için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu araştırmaların önemli bir kısmını voltametrik tekniklerle özellikle de sıyırma voltametri ile yapılanlar oluşturur. Sıyırma voltametri yöntemi; çok düşük miktarlardaki madde tayinine imkan veren ve durgun elektrot üzerinde maddenin elektrolizlenerek biriktirilip, daha sonrada potansiyel taraması ile çözeltiye sıyırılması sırasında oluşan indirgenme ve yükseltgenme akımlarına dayanan bir tekniktir. Sıyırma voltametri tekniklerinden biri olan adsorptif sıyırma voltametri seçiciliğinin ve duyarlılığının, diğer sıyırma yöntemlerinden yüksek olması nedeni ile son yıllarda Co(II)'nin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır.

Safavi ve Shams (22), katalitik adsorptif katodik sıyırma voltametri tekniği ile kobalt(II) tayini için yöntem geliştirmiştir. Bu yöntem asılı civa damla elektrodu yüzeyinde kobalt(II)/metil timol mavisi kompleksinin adsorptif biriktirilmesine ve daha sonrada voltametrik tarama ile indirgenmesine dayanmaktadır. Bu çalışma amonyak tamponunda (pH 9), 2,00 M metil timol mavisi ve 0,80 M sodyum nitrit içeren ortamda gerçekleştirilmiştir. -0,50 V'da 60 saniye süre ile biriktirme potansiyeli uygulanmış ve -0,70 V'dan -1,30 V'a kadar negatif yönde diferansiyel puls taraması yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda Safavi ve Shams nitrit iyonunun kobalt indirgenmesini katalitik olarak etkilediğini ve nitrit varlığında kobalt(II)/metil timol mavisi kompleksindeki kobaltın indirgenme pikinin duyarlılığının 20 kat arttığını bulmuşlardır.

Korolczuk ve arkadaşları (23), adsorptif sıyırma voltametri ile nioksim ve setiltrimetil amonyum bromür varlığında eser miktardaki kobaltın tayini için yöntem geliştirmişlerdir. Kobalt(II)-nioksim- setiltrimetil amonyum bromür sistemindeki kobaltın pik akımının oldukça arttığı bulunmuştur. 60 saniyelik bir biriktirme zamanı için 5×10^{-11} - 3×10^{-9} M arasında doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Ve 1×10^{-9} M'lık Co(II) konsantrasyonu için bağıl standart sapma %3,80 olarak bulunmuştur. Tayin sınırı $1,7 \times 10^{-11}$ M'dir. Yöntem sertifikalı referans maddelere ve

deniz suyu numunesine uygulanmış, metodun doğruluğu ETAAS ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

Zhang ve grubu (24), adsorptif sıyırma voltametri ile bakır, nikel, kurşun, kobalt ve kadmiyumun tayinini eş zamanı olarak gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada 1-(2-pridilazo)-2-7-dihidroksinaftalin (2,7- PADN) ile belirtilen metallerin kompleksleri pH 9,80 'de incelenmiştir. Bu metaller için adsorpsiyon polarografik dalgaları sırası ile -0,35 V, -0,45 V, -0,49 V, -0,60 V ve -0,67 V'da gözlenmiştir. Bu yöntemle gerçekleştirilen metallerin tayin sınırları ise sırası ile; 8,00nM 5,00 nM 2,50 nM 0,50 nM ve 5,00 nM olarak bulunmuştur.

Melian ve Brito (25), yüksek hızlı adsorptif katodik sıyırma voltametri (high speed adsorptif cathodik stripping voltammetry, HSACSV) ile deniz suyunda doğrudan kobalt tayini gerçekleştirmişlerdir. Bu metot Co(II)/dimetilglioksimin indirgenme akımının nitrit katalitik etkisiyle ve yüksek tarama hızlı voltametrinin birleştirilmesiyle güçlendirilmesine dayanmaktadır. Ayrıca çalışmada tampon etkisi, nitrit derişimi etkisi ve tarama hızının etkisi incelenmiştir. -0,9 V'luk adsorptif biriktirme potansiyeli 30s'lik süreyle uygulanmakta ve - 1,25V'da gözlenen pikten kobalt tayini yapılmaktadır. Bu çalışma ile deniz suyundaki kobalt tayininde tayin sınırı 5,9 pM Co olarak bulunmuştur.

Nimmo ve Fones (26), adsorptif katodik sıyırma voltametri tekniği ile atmosferik numunelerde Cu, Cd, Ni ve Co tayinleri için yöntem geliştirmişlerdir. Asit karışımlarında parçalanmış standart referans numunelerde AdsCSV ile Cu, Cd, Ni ve Co tayinleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi(GFAAS) ve indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektroskopisi(ICP/MS) ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak metodun doğruluğu gösterilmiştir. Referans standart numunelerde AdsCSV ile Ni ve Co tayinleri numunenin UV ile ışınlanmasıyla ve ışınlanmaksızın yapıldığında farklılık göstermez iken, Cu ve Cd tayinlerinde farklılık göstermektedir. Bu da çözünürleştirilen hava numunesinde çözünmüş bulunan organik bileşenin Cu ve Cd ile kompleks oluturmasından kaynaklanmaktadır.

Han ve arkadaşları (27), kobalt(II)/1-nitroso-2-naftol şelatını sitrat (pH=8,60) tamponu çözeltisinde, asılı civa damla elektrodu üzerindeki adsorptif sıyırma voltametrinden tayin etmişlerdir. -0,20 V'daki biriktirme potansiyeli 10 dakika süre ile uygulanmış ve adsorbe şelat -0,51 V'da eser kobalt tayininde kullanılabilecek keskin bir pik vermiştir. Pik akımının 1×10^{-8} ile 1×10^{-9} M Co(II) derişim aralığında orantılı olarak arttığı, $2,2 \times 10^{-8}$ M Co(II) tayini için bağıl standart sapmanın %2,60 (n=7) ve tayin sınırının 2 dakikalık biriktirme süresi için 0,05 ppb olduğu gözlenmiştir.

Kajic ve arkadaşları (28), kan serumundaki eser miktarda kobaltın tayinini adsorptif sıyırma voltametrisi ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışma pH 9 amonyak tamponunda yapılmıştır ve çalışmanın temeli kobaltın, dimetilglioksim ile oluşturduğu komplekse dayanmaktadır. Kobalt tayini için geliştirilen bu yöntemin doğruluğu elektrotermal atomik absorpsiyon tekniği ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. ETAAS ile kobalt değeri 0,21 $\mu\text{g/L}$, adsorptif sıyırma voltametrisi ile de 0,27 $\mu\text{g/L}$ bulunmuştur.

Co(II)'nin elektrokimyasal olarak tayini polarografi ve dönüşümlü voltametri ile de çalışılmıştır. Ancak bu çalışmalarda Co(II) genellikle komplekse alınarak veya şelatlaştırılarak incelenmiştir.

Kucharska (29) diferansiyel polarografisi ve dönüşümlü voltametri tekniklerini kullanarak; pterin ve türevlerinin elektrokimyasal indirgenmesinde, kobalt ve nikel komplekslerinin etkisini incelemişlerdir. Çalışmalar için ortam pH'sı 7,50 olarak seçilmiştir. Çalışma sonucunda 8×10^{-4} - $3,5 \times 10^{-3}$ M konsantrasyon aralığındaki Co^{2+} ve Ni^{2+} iyonlarının pterinin indirgenme pik akımını pozitif potansiyelerde arttırdığını, negatif potansiyelerde de azalttığını bulmuştur.

Yamada ve arkadaşları (30), civa elektrotlarda kobalt(III)amin komplekslerinin elektrot reaksiyonlarını ve kinetik parametrelerini incelemişlerdir. Bu çalışmada kobalt(III)'ün H_2O , NO_3^- , CO_3^{2-} gibi ligandlarla oluşturduğu çeşitli kompleksleri incelenmiştir. Çalışmalar 25°C 'de ve %0,005 jelatin içeren 0,1 M asetat tamponunda

gerçekleştirilmiştir. Kobalt(III) aminin çok sayıda kompleksi oluşturulabilmesine rağmen, komplekslerin kararsız olmasından dolayı az sayıdaki kompleksin kinetik çalışması yapılabilmektedir. Komplekslerdeki kobalt(III) iyonu iki basamakta indirgenmiştir; $\text{Co(III)} \rightarrow \text{Co(II)}$ ve $\text{Co(II)} \rightarrow \text{Co(0)}$. Yapılan kinetik çalışmaları sonucunda her iki basamağında tersinmez olduğunu bulunmuştur.

Urbanska (31), damlayan civa elektrot ile kobalt(II)/malonat ve kobalt(II)/suksinat komplekslerinin indirgenme mekanizmasını çalışmıştır. Bu çalışmada iyonik şiddet 0,50 M NaClO_4 ile 25°C 'de sabit tutulmuştur. Kobalt(II)/malonat sistemi için yapılan çalışma sonucunda tersinmez bir polarografik dalga elde edilmiştir. Ayrıca malonat iyonlarının düşük konsantrasyonlarında malonat iyonları için elde edilen $2,3RT/\alpha nF$ değeri, Co(aq)^{2+} iyonu için elde edilen değere eşittir. Yüksek malonat konsantrasyonlarında elde edilen değer ise Co(II)/oksalat sistemi için elde edilen değerlerle aynı olduğu bulunmuştur. Bu yüzden düşük malonat konsantrasyonlarında indirgenme işleminde Co^{2+} iyonunun etkili olduğunu, yüksek malonat konsantrasyonlarında ise Co(II)/malonat ın etkili olduğu bulunmuştur.

Safavi ve Shams (32), civa elektrot ile kobalt-metil timol mavisi-nitrit sisteminin indirgenme mekanizmasını incelemişlerdir. Bu çalışmada civa elektrot amonyak tamponunda (pH 9,0) nitrit varlığında kobalt-metil timol mavisi kompleksinin elektrokimyasal davranışı çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda; elektrokimyasal sistemin, tersinmez yük transfer prosesine ve homojen katalitik reaksiyon ile eşleşmiş adsorptif karakterli olduğu sonucuna varılmıştır.

Ubranska ve arkadaşları (33), Cu(II) , Ni(II) ve Co(II) 'nin D-glukozamin ve D-galaktozamin ile olan komplekslerini doğru akım polarografisi ile incelemişlerdir. Bulunan sonuçlar daha önce yapılmış olan potansiyometrik ve spektroskopik verilerle karşılaştırılmış ve kompleksleri için kararlılık sabitleri hesaplanmıştır. Ayrıca çalışma sonucunda Cu(II) , Ni(II) ve Co(II) için kompleks oluşumunda metal ligand oranının 1:1 olduğu bulunmuştur.

3.ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİN TEORİSİ

Elektroanalitik kimya, analit çözeltisi bir elektrokimyasal hücrenin parçası olduğunda, çözeltinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan bir grup nicel analitik yöntemi kapsar. Elektroanalitik teknikler çok düşük tayin sınırlarına ulaşabilirler ve elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemler hakkında, ara yüzeylerdeki yük aktarımının stokiometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon ve kemisorpsiyon derecesi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri gibi bilgileri de içeren çok sayıda bilgiler verirler.

Elektrokimyasal yöntemler, diğer analitik yöntemlere göre bazı üstünlüklere sahiptirler. Birincisi, elektrokimyasal ölçümler çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağına özgüdür. Örneğin; elektrokimyasal yöntemler bir seryum (III) ve seryum (IV) karışımında her bir türün derişiminin tayinini mümkün kılar, buna karşılık diğer analitik yöntemlerin çoğu sadece toplam seryum derişimini saptayabilirler. Elektrokimyasal yöntemlerin ikinci bir üstünlüğü ise kullanılan cihazların nispeten ucuz olmasıdır.

Bu bölümde elektrokimyasal analizlerin ve kinetik çalışmalarının yapıldığı polarografi ve dönüşümlü voltametri metotlarının teorisi yer almaktadır.

3.1.Polarografi

Bu kısımda polarografi tekniğinin teorisi, polarografik yöntemler ve uygulama alanlarından bahsedilecektir.

3.1.1.Normal polarografi (DC polarografisi)

Polarografi, voltametrimin ilk bulunan ve kullanılan tipidir. 1920`lerin başında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilmiştir ve bu buluşu nedeniyle 1959 yılında kimyada Nobel ödülü kazanmıştır. Geçmişte normal polarografi; biyolojik ve biyokimyasal önemi olan birçok madde de dahil olmak

üzere çok sayıda inorganik ve organik türün kantitatif tayininde kullanılıyordu. Ancak 1960`larda spektroskopik yöntemlerin ortaya çıkması bu tekniğin geliştirilmesi zorunluluğunu getirmiştir. Yapılan birkaç temel gelişme sayesinde bu yöntemin duyarlılığı ve seçiciliği büyük oranda arttırılmıştır. Polarografi tekniği ile nitel ve nicel analizlerin yanı sıra, kinetik çalışmalar da yapılabilmektedir.

Polarografi tekniği voltametik metotların özel bir tipidir. Voltametri bir indikatör ya da çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesine dayanan elektroanalitik yöntemlere verilen isimdir. Genellikle polarizasyonu sağlamak için voltametride çalışma elektrotları yüzey alanı pek çok uygulamada birkaç milimetre kare ve bazılarında ise birkaç mikrometre olan mikroelektrotlardır. Polarografinin diğer voltametik tekniklerden en büyük farkı çalışma mikro elektrodu olarak damlayan civa elektrodunun kullanılmasıdır.

Polarografide üçlü elektrot sistemi kullanılır:

- Çalışma elektrodu olarak; damlayan civa elektrot (DCE)
- Referans elektrot olarak; doymuş kalomel elektrot (DKE) veya Ag /AgCl elektrot
- Karşıt elektrot olarak; platin elektrot

Üçlü elektrot sisteminde; potansiyel çalışma elektrodu ile referans elektrot arasında uygulanır, akım ise çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında ölçülür. Böylece çalışma ile referans elektrot arasında akım ölçülmez. Çünkü referans elektrodun potansiyeli küçük akımlarda sabittir ancak akım arttığında potansiyel sabit kalmaz. Üçlü elektrot sisteminin kullanılması ile aynı sistemde hem gerilim uygulanabilir hem de oluşan akım ölçülebilir.

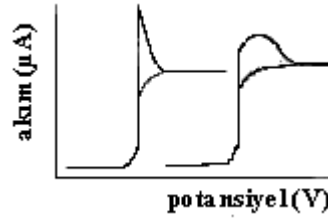
Civa mikroelektrotları polarografi ve voltametride birkaç sebepten dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu özelliklerinden birincisi; civanın hidrojen iyonunun indirgenmesine gösterdiği olağanüstü yüksek aşırı gerilimdir. Bunun sonucunda, termodinamik potansiyeller hidrojen gazı oluşmadan çinko ve kadmiyum gibi metallerin elektrot üzerinde indirgenmesinin mümkün olmadığını göstermesine

rağmen, bu metal iyonlarının asidik çözeltiden bile kolaylıkla civanın üzerine birikmesi mümkün olur. İkinci üstünlüğü ise, her damla ile yeni bir elektrot yüzeyi oluşturulmasıdır. Dolayısıyla elektrodun davranışı daha önceki durumdan bağımsız olur. Bunun aksine, katı metal elektrotları, adsorplanmış veya birikmiş safsızlıklardan dolayı son derece düzensiz davranış gösterirler. Damlayan civa elektrodun üçüncü üstünlüğü ise, herhangi bir potansiyelde, bu potansiyele ister yüksek, isterse düşük potansiyellerden gelmiş olsun, anında tekrarlanabilir ortalama akımlar oluşturabilmesidir.

Damlayan civa elektrodun en büyük eksikliği, civanın kolayca yükseltgenmesidir; bu özelliğinden dolayı bu metalin anot olarak kullanılması son derece sınırlıdır. Yaklaşık + 0,4 V'tan daha yüksek potansiyellerde, civa (I) oluşumu, diğer yükseltgenebilir türlerin dalgalarını kapatan büyük bir dalga verir. Civa (I) ile kompleks veya çökelek oluşturan iyonlar varsa, bu davranış daha düşük potansiyellerde görülür.

Damlayan civa elektrodun başka bir önemli mahsursu ise, klasik DC polarografisi yönteminin duyarlılığını yaklaşık 10^{-5} M'a sınırlayan faradayik olmayan artık akım veya yükleme akımı oluşmasıdır. Daha düşük derişimlerde artık akım, difüzyon akımını aşabilir ki bu da difüzyon akımının doğru ölçümünü engeller.

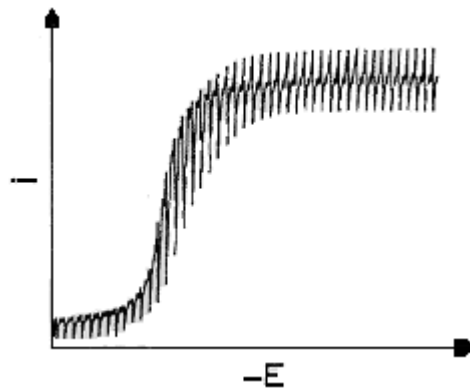
Damlayan civa elektrot ile çalışılırken karşılaşılan önemli bir diğer sorunda ; Şekil 3.1.'de görüldüğü gibi akım maksimumları vermesidir. Maksimumların sebepleri tam olarak anlaşılmasına rağmen, bu maksimumları gidermek için kullanılan yöntemler mevcuttur. Genel olarak jelatin, triton X-100 (ticari bir yüzey aktif madde), metil kırmızısı ve diğer boyalar gibi yüksek molekül ağırlıklı maddelerin eser miktarda ilavesi maksimumun kaybolmasını sağlar. Bunun yanı sıra bu tür maddeler aşırı miktarda kullanılmamalıdır. Çünkü bu maddelerin aşırısı difüzyon akımının büyüklüğünü azaltabilir.



Şekil 3.1. Damlayan civa elektrodunda akım maksimumları

Son olarak, damlayan civa elektrodun kullanımında kapiler tıkanmasından dolayı sorunlar yaşanabilmektedir. Ayrıca civa toksik bir element olduğu için kullanımı sırasında dikkatli olunmalıdır.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan damlayan civa elektrotta yaklaşık 10 cm boyunda iç çapında $\sim 0,05$ mm olan ince bir kapiler borudan ibarettir ve kapiler boruya civa 50 cm yüksekliğindeki civa haznesinden gelir. Damla büyüklüğü kılcal borunun iç yarıçapına ve hidrostatik basınca (civa kolon yüksekliğine) bağlı olarak değişir. Oluşan damlanın çapı 0,5-1 mm arasındadır ve oldukça tekrarlanabilir. Bazı uygulamalarda damla ömrü mekanik bir çekiç sistemi kontrol edilir. Bu sistem, damla oluştuktan belli bir süre sonra damlayı düşürür. Damlayan civaya uygulanan potansiyel bir referans elektroduna karşı değiştirilir. Referans elektrot olarak genelde Ag /AgCl veya doymuş kalomel elektrot (DKE) kullanılır. Uygulanan potansiyele karşı ölçülen akımın grafiğe geçirilmesi ile elde edilen akım-potansiyel eğrisine polarogram denir.

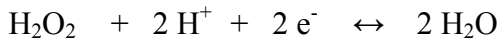


Şekil 3.2. Normal polarografi için akım-potansiyel eğrisi

Polarografik çalışmalarda çözülmüş oksijen molekülünün ortamdan azot veya argon gazı geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. Çünkü çözülmüş oksijen molekülü elektroaktiftir ve bir mikroelektrotta kolaylıkla indirgenir. Bu olay iki adımlı bir indirgenmedir. Bunlardan birincisi oksijenin hidrojen peroksite indirgenmesinden oluşur.



İkinci indirgenme ise hidrojen peroksitin suya indirgenmesidir.



Oksijenin hidrojen peroksite indirgenmesi - 0,1 V`ta ve peroksitin suya indirgenmesi - 0,9 V`ta (DKE`ye karşı) gerçekleşir. Eğer çözülmüş oksijen sulu çözeltiden uzaklaştırılmaz ise oluşan indirgenme dalgaları analiz edilecek olan maddenin dalgalarını örter. Ayrıca hem O₂ hem de bunun birinci indirgenme ürünü olan H₂O₂ incelenen madde veya bunun elektroliz ürünü ile tepkimeye girebilir.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan damlayan civa elektrot polarize olabilen bir elektrottur. Polarize olması; uygulanan potansiyelin yükseltilmesine karşılık akım şiddetinde bir değişiklik olmaması demektir.

Polarografide çalışma elektroduna uygulanan potansiyel negatif yönde arttırılırsa, bu elektrottaki indirgenme tepkimesini hızlandırır, çalışma elektrodu katot olarak davranır ve katodik akım i_k oluşur. Eğer çalışma elektrodunun potansiyeli pozitif yönde arttırılırsa, bu kez elektrot anot olarak davranır ve anodik akım i_a oluşur. Çalışma elektrodunun hangi potansiyel değerlerinde katot, hangi potansiyel değerlerinde anot olarak davranacağını, elektroaktif maddenin, ortamın ve elektrodun türleri belirler. Çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrot kullanıldığında çalışma aralığında anodik sınır yaklaşık + 0,25 V`tur. Çünkü bu potansiyelde civa yükseltgenmeye başlar. Katodik sınırı ise suyun indirgenmesinden oluşan hidrojen belirler. Eğer ortam asidik ise yaklaşık -1,80 V`ta, bazik ise -2,30 V`ta suyun indirgenerek H₂ gazı oluşturması sonucu şiddetli bir akım oluşur.

Polarogramlar çizilirken, potansiyelin negatif yönde değişmesi x ekseninin pozitif tarafına doğru, potansiyelin pozitif yönde değişmesi ise x ekseninin negatif tarafına doğru olması ilkesi benimsenmiştir.

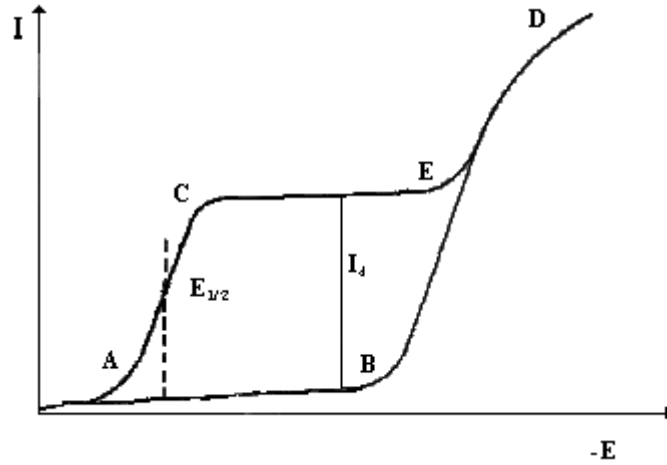
Polarografi çalışmalarında ortamın iletkenliği ve elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine sadece difüzyonla aktarımını sağlamak için destek elektrolit kullanılır. Destek elektrolit bu göreve ek olarak bazı uygulamalarda ortamın pH'sını ayarlayan bir tampon ya da ortamda bazı iyonları kompleksleştiren bir ligand görevi de görebilir. Polarografide destek elektrolit, analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilen bir tuzdur. En yaygın tuzlar, analit tayininde kullanılan potansiyelde mikroelektrotla reaksiyona girmeyen alkali metal tuzlarıdır.

Normal polarografi çalışmalarında uygulanan potansiyel ve ölçülen akım grafiğe geçirildiğinde bir S-eğrisi gözlenir. Elektroaktif bir madde içermeyen ve sadece çözücü ile iletkenliği sağlamak üzere eklenmiş bir elektrolit içeren bir çözeltiye potansiyel uygulandığında çok az da olsa bir akım gözlenir ve bu akım artık akım adını alır. Artık akım, elektroda uygulanan gerilimde elektriksel çift tabakanın yükleme akımı ile çözeltideki bazı elektroaktif safsızlıkların indirgenmesi ya da yükseltgenmesi sonucu akan faradayik akımdan oluşur. Polarografide akımın büyüklüğü analitin elektrot yüzeyine taşınma hızı ile sınırlı olduğu zaman sınır akımları gözlenir. Sınır akımı artık akım ile elektroaktif türün akımının sabit kaldığı bölgedir. Polarografide tek kütle aktarım şekli difüzyon olduğu için polarografik sınır akımlarına genellikle difüzyon akımları denir.

Polarografide, polarogramı alınan madde genellikle indirgenir. Bu olay bir elektroliz olayıdır. Ancak, bu elektroliz öteki yöntemlerde olduğu gibi ortamdaki maddeyi tüketen bir elektroliz değildir. Öyleki; polarografide yapılan elektrolizle söz konusu maddenin derişiminde pratikçe hiçbir değişme olmaz. Çünkü; elektroliz mikro bir katot üzerinde ve mikroamper büyüklüğünde bir akım şiddetinde yapılır. Elektroliz başladığında, mikro elektrodun etrafındaki mikro hacimde bulunan taneciklerden (iyon veya molekül) bir kısmı indirgenir. Bunun sonucu indirgenen maddenin bu mikro hacimdeki derişimi düşer. Derişimin dengelenmesi için çözeltinin kalan

kısımından da mikro hacme tanecikler difüzenir. Uygulanan potansiyel arttırılınca, mikro elektrot çevresindeki taneciklerin daha büyük bir kısmı indirgenir ve dolayısıyla çözeltinin diğer kısımlarından daha çok tanecik difüzenir.

Potansiyel daha da arttırılınca, mikro elektrot bölgesinde mikro hacimdeki taneciklerin pratikçe hepsi elektrolizlenir ve geçen akım şiddeti maksimum olur(C kısmı). Bundan sonra potansiyel ne kadar arttırılırsa arttırılsın, akım şiddeti değişmez(CE kısmı). Böyle bir akıma sınır akımı, sınır akımıyla artık akım (AB) arasındaki I_d ile gösterilen farka da difüzyon akımı denir. Difüzyon akımı öteki şartlar sabit kalmak üzere difüzyonla orantılıdır(İlkoviç denklemi). Artık akım ve sınır akımları arasında kalan S şeklindeki eğriye bir dalga denir.



Şekil 3.3. Normal polarografide elde edilen S dalgası

Sınır akımı sadece difüzyon akımına değil başka akım türlerine de bağlıdır. Bu akımlar başlıca şunlardır;

- 1-Göç akımı
- 2-Artık akım
- 3-Kinetik akım
- 4-Adsorpsiyon akımı

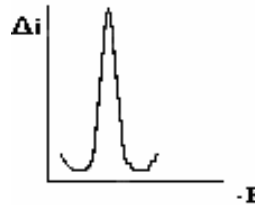
Göç akımı: Göç akımı polarogramı alınacak elektroaktif madde ortamına destek elektrolitin konmaması veya yeterince konmaması sonucu meydana gelir ve sınır akımını büyük ölçüde etkiler. Destek elektrolitin konmadığı veya yeterince konmadığı durumlarda bir maddenin sınır akımı, bulunması gereken sınır akımından birkaç kat daha büyük olabilir. Bunun için polarogramı alınacak elektroaktif madde çözeltisine ortamdaki konsantrasyonu uygun bir değere ulaşana kadar destek maddesi konulmalıdır. Ancak böyle bir ortamda sınır akımı konsantrasyonla orantılıdır. Polarografide, ortama aşırı miktarda bir destek elektroliti ilave edilerek göç etkisini en aza indirmek için gayret sarfedilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu, analit konsantrasyonunun 50-100 katı olduğunda, toplam akımın analit tarafından taşınan kısmı sıfıra yaklaşır. Elektrostatik göç, elektroaktif olan destek elektrolit tarafından sağlanır. Bunun sonucunda analitin zıt yüklü elektroda göç etme hızı, uygulanan potansiyelden önemli ölçüde bağımsız hale gelir.

Artık akım:

Her polarogramda bir artık akım vardır. Artık akımın nedenleri; destek elektrolit çözeltisinde bulunan safsızlıklar ve yükleme akımıdır. Destek elektrolit çözeltisinde bulunabilecek safsızlıklar arasında; az miktarda çözünmüş oksijen, damıtık sudan gelen ağır metal iyonları ve destek elektrolit olarak kullanılan tuzdaki safsızlıklar sayılabilir. Bu kaynaklardan gelen yabancı maddelerin konsantrasyonları çok düşük olduğundan belirgin dalga vermezler.

Artık akımın ikinci bileşeni yükleme akımıdır. Yükleme akımı civa damlasının çözeltiye göre yüklü olmasından kaynaklanır. Bu akım pozitif veya negatif olabilir. Yaklaşık -0,4 V'dan daha negatif olan potansiyelerde, dc kaynağından gelen aşırı miktardaki elektronlar, her bir damlacığın yüzeyini negatif yükle yükler. Bu aşırı elektronlar damla ile birlikte düşer. Her bir damla oluşurken yeniden yüklenir ve bunun sonucunda sürekli bir akım oluşur. Uygulanan potansiyel yaklaşık - 0,4 V'dan daha pozitif ise, civa çözeltiye göre pozitif olarak yüklenir. Böylece her damla oluşurken elektronlar yüzeyden civa yığına doğru itilir ve negatif bir akım oluşur. Yaklaşık -0,4 civarında ise civa yüzeyi yüksüz olup yükleme akımı sıfır olur. Bu

Şekil 3.4.'de görüldüğü gibi iki tane akım ölçümü yapılmaktadır. Bunlardan birincisi, doğru akım pulsundan 16,7 ms önce (S_1), diğeri ise pulsun sonundan 16,7 ms sonra (S_3) yapılır. Puls başına akımdaki fark (Δi) doğrusal olarak artan potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup yüksekliği derişimle orantılıdır. Şekil 3.5.'de bir diferansiyel puls polarogramı görülmektedir. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli, yarı reaksiyonun standart potansiyeline yaklaşık olarak eşittir.



Şekil 3.5. Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen polarogram örneği

Diferansiyel tip polarogramın bir üstünlüğü, yarı dalga potansiyelleri 0,04 ile 0,05 kadar farklı olan maddeler için bile pik maksimumları elde edilmesidir. Oysa ki; klasik ve normal puls polarografisi için dalga potansiyel farkı en az yaklaşık 0,2 V olmalıdır, aksi takdirde dalgalarda iyi bir çözüm elde edilemez. Ancak daha da önemlisi, diferansiyel puls polarografisi yöntemin duyarlılığını artırır. Diferansiyel puls polarografisinin yüksek duyarlılığı iki sebebe atfedilebilir. Bunlardan birincisi, faradayik akımın artması, ikincisi ise kapasitif akımın azalmasıdır. Birincisini açıklamak için, potansiyel aniden 50 mV arttırıldığında (puls uygulaması) elektrodu çevreleyen yüzey tabakasında meydana gelen olayları inceleyelim. Bu tabakada elektroaktif bir tür var ise, analit derişimini yeni potansiyel tarafından istenen seviyeye düşürecek bir akım artışı gözlenir. Fakat bu potansiyel için gerekli olan denge derişimine erişilince, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye düşer ki, buna difüzyon kontrollü akım denir. Klasik polarografide başlangıçtaki bu akım artışı gözlenmez, çünkü ölçümün yapıldığı süre, bu anlık akımın süresinden büyüktür. Diğer taraftan puls polarografisinde akım ölçümü, bu akım artışı tamamen sona ermeden önce yapılır. Böylece ölçülen akım hem difüzyon kontrollü bir bileşeni hem de yüzey tabakasındaki derişimi Nerst Eşitliği'nin gerektirdiği bir değere indirecek

bir bileşeni içerir .Yani toplam akım difüzyon akımından birkaç kat daha büyüktür. Damla düşünce, çözeltinin yeniden analit yönünden homojen hale geldiğine dikkat edilmelidir. Dolayısı ile, verilen herhangi bir potansiyel değerinde, her bir potansiyel pulsuna eşlik eden benzer bir akım artışı olur.

Elektroda potansiyel pulsı ilk uygulandığında, damla üzerindeki yük arttığı için faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur. Bu akım zamanla üstel olarak azalır ve yüzey alanının çok az değiştiği damla ömrünün sonuna doğru sıfıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçmek sureti ile faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal/gürültü oranı artar. Bunun sonucunda duyarlık da artar. Diferansiyel puls polarografisinde tersinir elektrot reaksiyonlarında 1×10^{-8} M, tersinmez elektrot reaksiyonlarında ise 5×10^{-8} M madde tayini yapılabilmektedir. Destek elektrolit konsantrasyonu normal puls polarografisine göre daha az olup, 1×10^{-2} M yeterlidir.

Diferansiyel puls polarografisi tekniğinin normal puls polarografisinden farkı DPP'de puls genliğinin sabit olmasıdır. Belli bir sürede doğrusal olarak artan bir potansiyel üzerine bindirilmiştir. Puls genliği 50-100 mV olabilir. Diferansiyel puls polarografisinde puls ilavesinin damla sonuna doğru yapılmasının nedeni burada faradayik akımın maksimum kapasitif akımın minimum olmasıdır. Ayrıca pulslar damlayan civa elektroduna damlama süresinin sonuna doğru uygulandığı için puls süresi içinde elektrodun alanı çok az değişir.

Bu nedenlerden dolayı son zamanlarda bu yöntem en yaygın kullanılan analitik polarografik yöntem haline gelmiştir ve ağır metal iyonlarının eser derişimlerinin tayini için özellikle kullanılmaktadır.

3.1.3. Polarografide nitel analiz

Polarografi çalışmalarında uygulanan potansiyele karşı ölçülen akım grafiğe geçirildiğinde elde edilen S-dalgasından nitel analiz yapılır. Dalga yüksekliğinin yarısına karşılık gelen potansiyele ($I_d/2$ 'de oluşan potansiyel) yarı dalga potansiyeli

denir ve $E_{1/2}$ ile gösterilir. Polarogramlarda ölçülen $E_{1/2}$ değerleri belli bir ortamda her elektroaktif madde için belirgin bir özellik olup, her madde için karakteristiktir. Eğer iki ayrı türün $E_{1/2}$ 'leri belli, bir ortamda aynı ise destek elektrolit, pH'nın değiştirilmesiyle veya kompleksleştirici ilavesiyle bu pikler karakterize edilebilir. Akım potansiyel ilişkisi ilk kez Heyrovsky ve Ilkovic tarafından türetilmiştir ve "Heyrovsky-İlkoviç Eşitliği" olarak bilinir. Bu eşitliğe göre;

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_d - i}{i} \quad \text{dir.}$$

Burada ; E : Uygulanan potansiyel (mV)

$E_{1/2}$: Yarı dalga potansiyeli (mV)

i : Akım şiddeti (μA)

i_d : Difüzyon akımı (μA)

n : Aktarılan elektron sayısı

F : Faraday sabiti (96500 C/mol)

Ölçülen akım şiddeti i, difüzyon akımının yarısına eşit olduğunda yani $i = i_d / 2$ olduğunda; $\log[(i_d - i) / i] = 0$ olur. Bunun sonucunda da $E = E_{1/2}$ olur. Bu eşitlikten de görüldüğü gibi yarı dalga potansiyeli $E_{1/2}$; sadece ortamın pH'sına ve destek elektrolitin cinsine bağlıdır. Elektroaktif maddenin derişimine bağlı değildir. İki elektroaktif maddenin birbirinden ayrık polarografik dalga verebilmeleri için bunların $E_{1/2}$ değerleri arasında 100 mV'tan fazla bir farkın olması gerekir. Bu farkın 100 mV'tan daha az olduğu durumlarda iki dalga birbiri ile örtüşür. Örtüşen dalgalar ortamın pH'sını veya destek elektrolit türünü değiştirerek ya da ortama analizi yapılacak maddelerden biri ile kompleks oluşturabilen bir ligand ekleyerek birbirinden ayrılabilir.

3.1.4. Polarografide nicel analiz

Polarografik çalışmalarda difüzyon akımı, sınır akımı ile artık akım arasındaki farktır ve elektroaktif türün konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ayrıca polarografik ve

voltametik analizlerde analitin ihmal edilecek kadar az kısmı elektrolizlendiğinden, madde tüketimi söz konusu değildir. Bu yüzden difüzyon akımı kantitatif analizde kullanılır.

İlkovic difüzyon akımının nelere bağlı olduğunu incelemiş ve

$$I_d = 607 n F D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C$$

denklemini vermiştir. Burada

I_d : Difüzyon akımı (μA)

F : Faraday sabiti (96500 C/mol)

D : Difüzyon katsayısı (cm^2 / s)

m : Civa akış hızı (g/s)

t : Bir damlanın kopma süresi (s)

C : İndirgenen maddenin derişimi (mol/cm^3)

n : aktarılan elektron sayısı

Deneyle aynı cihaz ve sabit şartlarda yapılırsa, derişimden başka bütün değişkenler sabit hale gelir ve denklem aşağıdaki şekli alır.

$$I_d = k . C$$

Polarografide nicel analiz için aşağıdaki yöntemler kullanılır ;

1. Doğrudan karşılaştırma
2. Kalibrasyon grafiği yöntemi
3. Standart ilave yöntemi
4. İç standart ilave yöntemi

Doğrudan karşılaştırma yöntemi: Tayini yapılmak istenen analitin bilinen derişimde bir çözeltisi hazırlanır (standart çözeltisi) ve polarogramı alınır. Daha sonra içindeki analit konsantrasyonu hesaplanmak istenen çözeltinin polarogramı alınır. Her iki polarogramdan çözeltilerin difüzyon akımları ölçülür ve orantı ile bilinmeyen derişim hesaplanır.

Kalibrasyon grafiği yöntemi: Tayini yapılmak istenen analitin saf hali alınıp bundan bilinen derişimlerde çözeltiler hazırlanır. Daha sonra her birinin polarogramı alınır ve difüzyon akımları ölçülür. Bu derişimlere karşılık gelen difüzyon akımları grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu elde edilir. Bilinmeyen derişimdeki çözeltilerin de polarogramı alınarak difüzyon akımı ölçülür, bu akım değerine karşılık gelen derişim kalibrasyon doğrusundan bulunur.

Standart ilave yöntemi: Tayini yapılmak istenen analit çözeltilerinin polarogramı alınır ve difüzyon akımı ölçülür. Daha sonra bu analit çözeltilerine, aynı maddenin bilinen derişimdeki çözeltilerinden bilinen hacimlerde ilaveler yapılarak her ilaveden sonra polarogramlar alınır. Difüzyon akımları ölçülür ve derişime karşı grafiğe geçirilir. Elde edilen doğrunun derişim eksenini kestiği noktanın akım eksenine olan uzaklığı bilinmeyen derişimine karşılık gelir.

İç standart ilave yöntemi: İç standart, bir analizde belirli miktarda numuneye ve kalibrasyon standartlarına ilave edilen maddedir. Bu yöntemle hem sistematik hem de rastgele hataların giderilmesi mümkündür.

Gerek kalibrasyon doğrusu yöntemi ile çalışırken, gerek standart ekleme yöntemi kullanılırken civa kolonunun yüksekliği, yani civanın kapilerden akış hızı değiştirilmemelidir. Kalibrasyon doğrusu oluşturulurken ortamın aynı iyonları içermesine dikkat edilmelidir. Standart ekleme yöntemi kullanılırken bazen ortama derişimi bilinen başka bir iyon eklenir ve bu iç standardın difüzyon akımı ile bilinmeyen derişimdeki maddenin difüzyon akımları birbiriyle karşılaştırılır. İç standart ekleme yöntemi ile iki kez polarogram elde etmek yeterlidir. Özellikle karışımların analizinde, iç standart ekleme yöntemi kullanmak daha uygundur. Sabit miktarda iç standart ve değişen miktarda analizi yapılacak madde içeren bir dizi çözeltiler ile kalibrasyon doğrusu da oluşturulabilir. Bu doğrunun analizde kullanılabilmesi için iç standardın kantitatif analizin yapılacağı çözeltilere de aynı miktarda eklenmesi gerekir. Bu tür bir yöntemin kullanılması ile, yapılan ölçümlerin ortamın sıcaklığında ve viskozitesinde olabilecek değişmelerden etkilenmesi önlenmiş olur.

3.1.5. Polarografinin uygulamaları

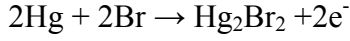
Geçmişte normal polarografi, biyolojik ve biyokimyasal önemi olan birçok maddede dahil olmak üzere çok sayıda organik ve inorganik türün kantitatif tayinin de kullanılıyordu. Günümüzde yüksek duyarlılığı, kolaylığı ve seçiciliğinden dolayı, puls yöntemleri, klasik yöntemin hemen hemen tamamen yerini almıştır. Kantitatif uygulamalarda, genellikle pik yüksekliklerinin analit derişimine karşı grafiğe geçirildiğinde kalibrasyon eğrileri kullanılır. Bazı durumlarda kalibrasyon eğrileri yerine standart ilave yöntemleride kullanılmaktadır. Her iki durumda da kullanılan standart maddelerin bileşiminin, hem elektrolit derişimi, hem de pH yönünden numunenin bileşimine mümkün olduğu kadar benzemesi gerekmektedir. Bu sağlandığı takdirde, %1-%3 arasında bağıl kesinlik ve doğruluk elde edilebilir.

İnorganik uygulamalar

Polarografik yöntem, inorganik maddelerin analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin bir çok metal katyonu, damlayan civa elektrotta indirgenir. Hatta destek elektrolitin yüksek potansiyellerde reaksiyona girmesi kaydıyla alkali ve toprak alkali metaller bile indirgenebilir; burada yüksek indirgenme potansiyellerinden dolayı destek elektrolit olarak genelde tetra alkil amonyum halojenürler kullanılır.

Katyonların başarılı bir şekilde polarografik tayini, çoğunlukla kullanılan destek elektrolitine bağlıdır. Destek elektrolitin akıllıca seçimi, yöntemin seçiciliğini büyük oranda arttırır. Örneğin destek elektrolit olarak KCl kullanılması durumunda demir(III) ve bakır(II) iyonları için elde edilen dalgalar birbiri üzerine bozucu etki yapar; ancak florür ortamında, demir(III)'ün yarı dalga potansiyeli -0,5 V değişirken, bakır(II)'in yarı dalga potansiyeli bir voltun yüzde birkaçı gibi değişir. Dolayısı ile ortamda florür iyonu olduğunda, bu metal iyonları için birbirinden iyi bir şekilde ayrılmış iki dalgalı bir polarogram elde edilir.

Cıva ile suda çözünmeyen bileşikler veya kompleksler veren anyonlarda (halojenürler, siyanür, sülfasiyanür, tiyosülfat gibi) anodik polarogram verirler.



Böyle polarogramlarda difüzyon akımı anyona aittir. Ayrıca oksijen, hidrojen peroksit, kükürt dioksit gibi molekülleri yapılarında bulunduran inorganik maddelerin de polarogramları alınabilir.

Polarografik yöntem bromat, iyodat, dikromat, vanadat, selenit ve nitrit gibi inorganik anyonların analizinde de kullanılabilir. Genellikle, bu maddelerin polarogramları çözeltinin pH'ından etkilenir, çünkü bunların indirgenmelerinde hidrojen iyonu rol alır. Tekrarlanabilir veriler elde etmek için ortamın sabit bir pH'ya tamponlanması gereklidir.

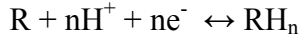
Organik uygulamalar

Bulduğundan beri polarografik yöntem, organik bileşiklerin incelenmesinde ve analizinde uygun olarak kullanılmaktadır. Birçok fonksiyonel grup damlayan cıva elektrotta indirgenir. Böylece çok sayıda organik bileşiğin tayini mümkün olur. Bunun yanı sıra bir damlayan cıva elektrotta yükseltgenebilen fonksiyonel grupların sayısı, bağıl olarak sınırlıdır. Çünkü cıvanın yükseltgenmesinden dolayı, +0,4 V'dan (DKE'a karşı) daha büyük anodik potansiyeller uygulanamaz. Ayrıca yükseltgenebilir fonksiyonel gruplar platin, altın veya karbon mikro elektrotla voltametrik olarak çalışılabilir.

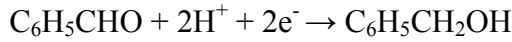
Organik maddeler genellikle suda çözünmediklerinden, bunların polarogramları sulu organik çözücülerde gerçekleştirilirler. Destek maddesi olarak da genellikle lityum ve tetraalkil amonyum tuzları kullanılır.

pH'nun polarogramlara etkisi

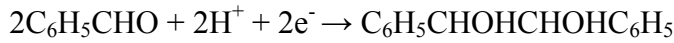
Organik bileşiklerin elektrot tepkimeleri normal olarak hidrojen iyonları gerektirir. Buna örnek olarak tipik bir reaksiyon şöyle gösterilebilir;



Burada, R ve RH_n , organik molekülün yükseltgenmiş ve indirgenmiş halidir. Bu yüzden, organik bileşiklerin yarı dalga potansiyelleri pH'ya önemli ölçüde bağlıdır. Ayrıca, pH'nın değiştirilmesi reaksiyon ürünüde bir değişmeye sebep olabilir. Örneğin, benzaldehit bir bazik çözeltide indirgendiğinde, benzil alkole ait olan yaklaşık -1,4 V'da bir dalga elde edilir:



Bununla beraber pH, 2'den daha düşükse, yaklaşık -1,00 V'da öncekinin tam yarısı büyüklüğünde bir dalga oluşur; reaksiyon hidrobenzoin oluşumunu içerir.



Orta pH değerlerinde, her iki reaksiyonun da oluşmasını gösteren iki dalga gözlenir. Hidrojen iyonları harcayan veya oluşturan bir elektrot olayının, çözelti iyi bir şekilde tamponlanmadıkça elektrot yüzeyindeki çözeltinin pH'sını önemli ölçüde değiştireceği vurgulanmalıdır. Bu değişmeler reaksiyonun indirgenme potansiyeline etki eder ve yayvan, zayıf olarak tanımlanmış dalgalara sebep olur. Ayrıca, pH ile elektrot olayı değiştirildiğinde difüzyon akımı/derişimi ilişkisinde doğrusal olmama durumu ile karşılaşılır. Böylece tekrarlanabilir yarı dalga potansiyelleri ve difüzyon akımları elde etmek için organik polarografide iyi bir tamponlama genellikle çok önemlidir.

Aktif fonksiyonel gruplar

Aşağıdaki fonksiyonel gruplardan herhangi birini içeren organik bileşiklerin bir veya daha fazla polarografik dalga vermesi beklenebilir.

1.Karbonil grubu; Karbonil grubu içeren aldehitler, ketonlar ve kinonlar polarografik dalgalar oluşturur. Genellikle aldehitler ketonlara göre daha düşük potansiyellerde indirgenir; karbonil çift bağının konfigürasyonunda daha düşük yarı dalga potansiyellerine neden olur.

2.Bazı karboksilik asitler; Basit alifatik ve aromatik monokarboksilik asitler polarografik olarak indirgenirler. Karboksil gruplarının bir diğeri ile konjuge olduğu fumarik, maleik ve ya ftalik asit gibi dikarboksilik asitler karakteristik polarogramlar verir.

3.Peroksit ve epoksitler; Perosit ve epoksitlerin bir kısmı polarogram verir.

4.Nitro, nitroso,amin oksit ve azo grupları; Bu gruplar genellikle damlayan civa elektrot yüzeyinde indirgenirler.

5.Birçok organik halojen grubu; Halojen grubunun bir hidrojen atomu ile yer değiştirmesinden kaynaklanan bir polarografik dalga oluşturur.

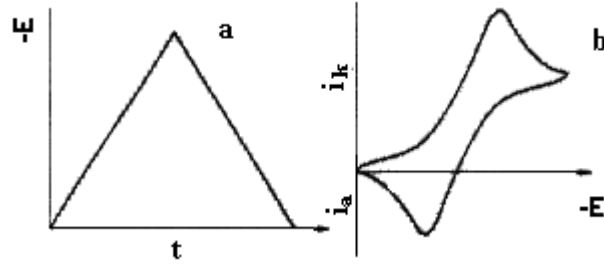
6.Karbon/karbon çift bağı; Bu grup ancak, başka bir çift bağa, bir aromatik halkaya veya doymamış bir gruba konjuge olduğunda indirgenir.

7.Hidrokinonlar ve merkaptanlar; Bu gruplar yükseltgenerek anodik dalgalar oluştururlar.

Ayrıca, çok sayıdaki diğeri organik gruplar, analiz için kullanılacak katalitik hidrojen dalgalarına sebep olur. Bunlar; aminleri, merkaptanları, asitleri ve heterosiklik azot bileşiklerini içerir

3.2. Dönüşümlü Voltametri (CV)

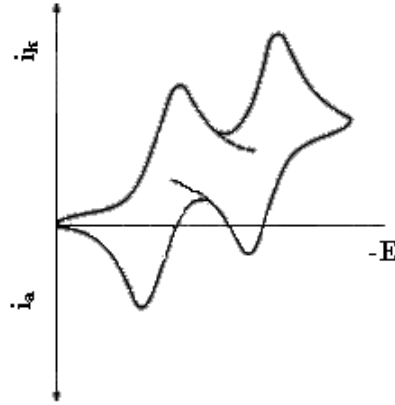
Dönüşümlü voltametri de gerilim taraması ileri yönde belli bir potansiyel değerine ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilir. Ters yöndeki potansiyellere çevirici potansiyeller denir. Negatif potansiyeller yönündeki tarama ileri tarama, zıt yöndeki tarama ise ters tarama olarak adlandırılır. Dönüşümlü voltametri de ileri ve geri yöndeki gerilim tarama hızları aynı tutulabildiği gibi istendiğinde farklı tarama hızları da kullanılabilir. Ayrıca ileri ve geri yöndeki tarama bir kez yapılabildiği gibi, bir çok kezde yapılabilir. Şekil 3.6.'da dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan gerilim programı ile elde edilen tipik bir dönüşümlü voltamogram görülmektedir.



Şekil 3.6. (a) Dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan gerilim polarogramı
(b) elde edilen akım-gerilim eğrisi

Bir dönüşümlü voltamogramın önemli parametreleri, katodik pik potansiyeli E_{pk} , anodik pik potansiyeli E_{pa} , katodik pik akımı i_{pk} ve anodik pik akımı i_{pa} 'dır. Tersinir bir elektrot tepkimesi için anodik pik potansiyeli E_{pa} , ile katodik pik gerilimi E_{pk} arasında $(0,0592/n)$ V'luk bir potansiyel farkı olmalıdır. Buradaki n ; yarı reaksiyonda yer alan elektron sayısıdır. Bu iki pik potansiyelinin orta noktası, incelenen redoks çiftinin formal potansiyeline (E^0) eşittir. İleri yöndeki tarama sırasında oluşan ürün kararlı ise anodik pik akımı, i_{pa} , katodik pik akımına, i_{pk} eşittir. Ürünün kararlı olmadığı durumlarda anodik pik akımının değeri katodik pik akımının değerine göre daha küçük olur ve ürünün çok hızlı bir biçimde tüketildiği durumlarda geri pik tamamen kaybolur.

Ortamda iki aşamada indirgenebilen bir elektroaktif madde ya da iki ayrı potansiyelde indirgenen iki farklı elektroaktif madde bulunuyorsa elde edilecek dönüşümlü voltamogram şekil 3.7.'da görüldüğü gibidir.



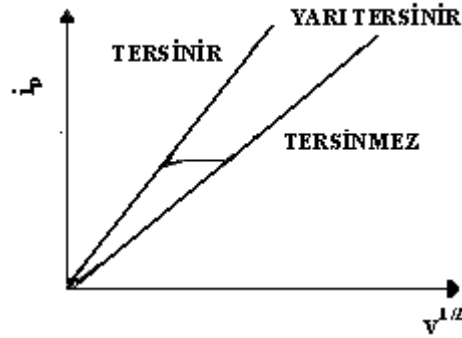
Şekil 3.7. İki basamakta indirgenebilen bir maddenin dönüşümlü voltamogramı

Bu voltamogramda ikinci pike ait pik akımını ölçebilmek için, birinci pike ait akımın zamanın karekökü ile azaldığını düşünerek bir ekstrapolasyon yapmak gerekir. Bu amaçla uygulanacak bir başka yol ise, birinci pik elde edildikten sonra gerilim taramasını bir süre için durdurmak ve akımın bir süre sonunda sabit bir değere ulaştığını gözledikten sonra gerilim taramasını yeniden sürdürmektir.

Dönüşümlü voltamogramların ayrıntılı incelenmesi ile, bir sistemin hangi potansiyellerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, indirgenme yada yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığını, elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin yüzeye tutunup tutulmadıklarını kolayca anlamak mümkündür.

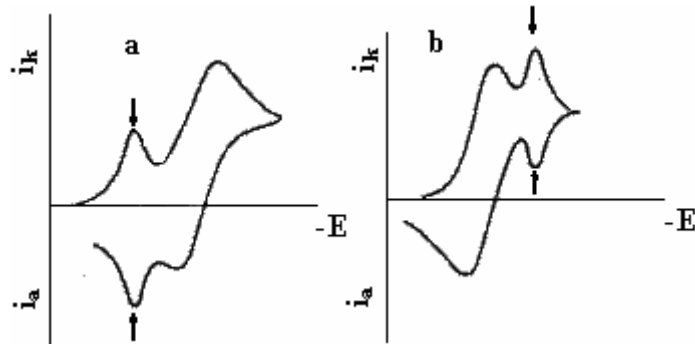
Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça katodik ve anodik pikler birbirinden daha ayrı potansiyellerde ve daha yayvan olarak gözlenir. Bir başka deyişle ΔE_p değerleri elektrot tepkimesinin hız sabitinin bir ölçüsüdür. Tam tersinmez bir elektrot tepkimesinde ise geri pik gözlenmez. Tam tersinmez elektrot tepkimelerinde de ileri yöndeki pik akımı tarama hızının karekökü ile orantılıdır ve pik gerilim tarama hızı artınca negatif gerilimlere kayar. Yarı tersinir elektrot tepkimelerine ise pik akımı

belli bir tarama hızına kadar tersinir sistemlerdeki gibi tarama hızının kareköküne göre artar, ancak belli bir tarama hızından sonra tarama hızının karekökü ile orantılı olan artış, şekil 3.8.'de görülen tersinmez sistemlerdeki artış gibi olur.



Şekil 3.8. Polarografide pik akımının tarama hızı ile değişimi

Bazı durumlarda bir elektrot tepkimesini izleyen çözelti tepkimesinin ürünleri elektroaktif ise dönüşümlü voltamogramlarda bunlara ait pikler de gözlenir ve böylece elektron aktarımı olayına ait mekanizmanın ayrıntısı ortaya çıkarılır. Yüzeye tutunmuş bir maddenin elektrot tepkimesinde, ölçülen pik akımının değeri uygulanan gerilim tarama hızının karekökü ile değil, tarama hızı ile doğru orantılıdır. Elektrot tepkimesine giren maddenin ve ürünün kuvvetli bir biçimde elektrot yüzeyine tutunduğu durumlarda elde edilen dönüşümlü voltamogramlar şekil 3.9.'da görülmektedir.



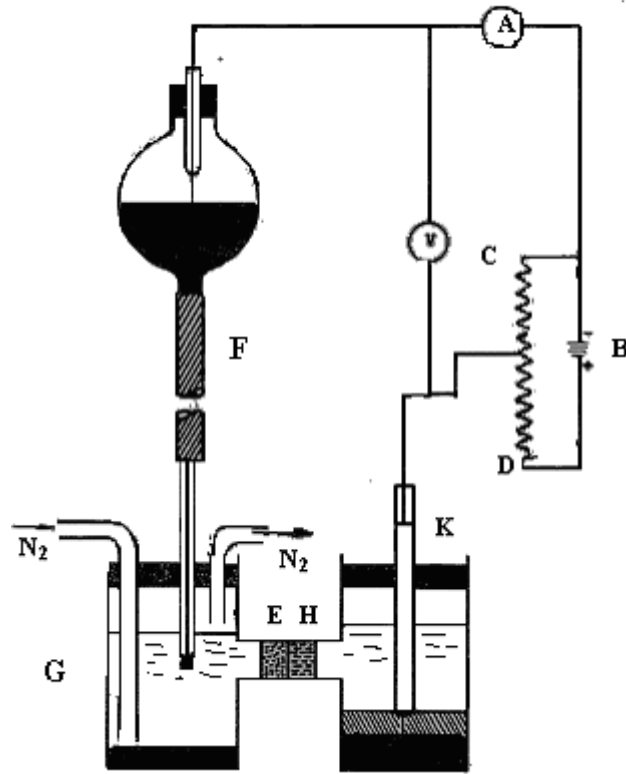
Şekil 3.9. (a) elektrot tepkimesinde ürünün adsorpsiyonu
(b) elektrot tepkimesinde giren maddenin yüzeye adsorpsiyonu

Dönüşümlü voltametri, rutin kantitatif analizlerde kullanılmadığı halde, özellikle organik ve metal organik sistemlerde yükseltgenme/indirgenme işlemlerinin mekanizma ve hız çalışmaları için önemli bir araçtır. Bu yöntem, elektrokimyasal olarak belirtilebilen bir sistemin araştırılması için seçilen ilk tekniktir. Genellikle, dönüşümlü voltamogramlar yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarında ara ürünlerin varlığı ile ilgilidir. Çoğunlukla , bu teknikte kullanılan mikroelektrotların üretimi için platin kullanılır.

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Polarografi Sistemi

Diferansiyel puls polarografi sistemi (DPP) ; yazıcı, kaluasek hücresi, damlayan cıva elektrodu ve zaman ayarlı damla düşürücüden oluşmaktadır. Kullanılan DPP sisteminde PAR model 174A polarografik analizör şeması esas alınıp, bazı parçaları değiştirilerek Türkiye’de imal edilmiştir. Polarografi cihazının ana kısımları şekil 4.1.’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Polarografi cihazı; F:Mikro cıva damlalı katot, K: Kalomel elektrot, H:Agar köprüsü, G: Analiti ve destek elektroliti içeren çözelti, CD :Potansiyometre , B: Güç kaynağı, A: Ampermetre , V: Voltmetre'dir.

Pik akımlarının uygulanan potansiyele karşı kaydedildiği X-Y yazıcı Linseis LY 1600'dür. Pik yüksekliklerinin dolayısıyla hassasiyetin değiştirilebildiği Y (akım, μA) CR (akım aralığı) değerleri Çizelge 4.1. verilmiştir.

Çizelge 4.1. X, Y ve CR değerlerine karşı elde edilen akım değerleri
(X : 0,05 V/cm ; CR : 0,2)

Y : 5 mV/cm	0,1 $\mu\text{A/cm}$
Y : 10 mV/cm	0,2 $\mu\text{A/cm}$
Y : 20 mV/cm	0,4 $\mu\text{A/cm}$
Y : 50 mV/cm	1,0 $\mu\text{A/cm}$

4.2. Elektrotlar

4.2.1. Damlayan civa elektrot

Diferansiyel puls polarografisi çalışmalarında, çalışma elektrodu olarak kullanılan damlayan civa elektrotu ile dönüşümlü voltametri çalışmalarında yer alan asılı civa damla elektrodunda kullanılan civa Merck'ten sağlanmıştır.

Damlayan civa elektrot klausek hücre sine yerleştirilir. Damlayan civa elektrot da damla büyüklüğü civa hazne yüksekliği ve kapiler çapına bağlıdır. Damla hızı zaman ayarlı mekanik bir vurucu ile ayarlanır ve 0,5; 1 ve 2 saniyede damla oluşturabilir. Tüm çalışmalarda (kolon yüksekliği çalışmaları hariç) civa haznesi sabit bir yükseklikte tutulmuştur. DC çalışmalarında kapiler karakteristiği olarak kabul edilen $m^{2/3} t^{1/6}$ değeri $1,95 \text{ mg}^{2/3} \text{ s}^{1/6}$ olarak hesaplanmıştır. Burada m civa akış hızı (mg/s), t ise damla ömrüdür(s).

Civa

Diferansiyel puls polarografisi ile eser düzeyde madde tayini yapıldığı için kullanılan civanın oldukça temiz olması gerekmektedir. Bu yüzden kirlenen civa aşağıda önerilen yöntemle temizlenmiştir.

Civanın temizlenmesi;

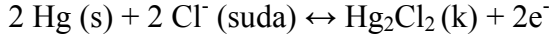
Kirlenen civa behere alındıktan sonra yaklaşık on dakika boyunca bagetle karıştırılarak, üzerinden çeşme suyu geçirilmiştir. Civanın üzerindeki çeşme suyu uzaklaştırıldıktan sonra bir litrelik cam mezüre doldurulmuş ve birkaç defa saf su ile çalkalanmıştır. Platin elek mezürün üst kısmında tutularak, civa platin elekten geçirilerek ince zerrecikler halinde mezürde bulunan saf sudan geçirilmiştir. Bu işlem beş defa tekrarlanmıştır. Daha sonra 15 M'lık HNO_3 çözeltisinden 1:4 oranında ($\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}$) 3 M'lık HNO_3 çözeltisi (civa yıkama suyu) hazırlanmıştır. Civa yıkama suyu bir litrelik mezüre alınmış ve daha sonra yine platin elek mezürün üst kısmında tutularak, civa platin elekten yıkama suyu içerisine zerrecikler halinde süzümüştür. Bu işlemde beş kez tekrarlandıktan sonra mezüre saf su konularak aynı işlem tekrarlanmıştır. Saf sudan geçirme işlemi civanın asitliği giderilinceye kadar tekrarlanmıştır. Civanın asitliğinin giderip giderilmediği turnusol kağıdı ile kontrol edilmiştir. Asitliği giderilen civa süzgeç kağıdı ile iyice kurutulduktan sonra civanın temizlenip temizlenmediği polarogramlar alınarak kontrol edilmiştir.

4.2.2 Doygun kalomel elektrot (DKE)

Doygun kalomel elektrot polarografi çalışmalarında referans elektrot olarak kullanılır.

Doygun kalomel elektrodun hazırlanması için; önce temizlenmiş civa, klausek hücresinin referans elektrot kısmına konulmuştur. Daha sonra yaklaşık 20 mL damıtık suya karıştırma ve ısıtma ile çözünmeyen KCl kalana kadar KCl katısı ilave

edilmiş, bu şekilde hazırlanan doygun KCl çözeltisi civa üzerine eklenmiştir. Burada doygun kalomel olan Hg_2Cl_2 aşağıdaki reaksiyon sonucu oluşmuştur ;



4.2.3. Karşıt elektrot

Platin tel karşıt elektrot olarak kullanılmış ve klausek hücreesinde bulunan çözeltiye temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

4.3. pH Metre

HANNA marka HI 8521 model dijital pH metre ve kombine cam elektrot kullanıldı.

4.4. UV-GB Spektrofotometresi

ATI UNICAM marka UV2 model UV-GB spektrofotometre cihazı kullanıldı.

4.5. Reaktifler, Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Çalışmalarda kullanılan bütün kimyasal maddeler, analitik saflıktadır (Merck) ve tüm çözeltilerin hazırlanmasında damıtık su kullanılmıştır.

4.5.1. Britton-Robinson tampon çözeltisi(B-R tamponu)

Britton-Robinson tampon çözeltisinin hazırlanması için 2,3 ml saf asetik asit, 2,7 mL %85'lik fosforik asit ve 2,5 g borik asit karıştırılıp damıtık su ile 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan B-R tamponundan 100'ml lik kısımlar alınıp üzerine 2 M NaOH veya 2 M HCl çözeltisinden damla damla ilave edilerek pH'sı istenilen değerlere ayarlanmıştır. Bu yöntemle pH 2 ile pH 11 arasında B-R tampon çözeltileri hazırlandı.

4.5.2. Moksifloksasin stok çözeltisi 0,001 M;

Moksifloksasin çözeltisi 0,0044 g'ının 10 mL damıtık suda çözülmesi ile elde edildi. Moksifloksasin çözeltileri günlük olarak hazırlandı. 1×10^{-4} M'lık Moksifloksasin çözeltileri ise her çalışmadan önce taze olarak hazırlandı.

4.5.3. 0,001 M moksifloksasin içeren Aveloks® çözeltisi;

2 tane Aveloks® tableti havanda homojen hale getirildikten sonra 0,001 M moksifloksasine eşdeğer (0,0068 g) Aveloks® 10 mL'lik ölçülü balona alınarak yeteri miktarda damıtık su ile çözülerek toplam hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

4.5.4. Co(II) çözeltisi 0,1 M;

2,91 g kobalt nitrat $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ 100 mL'lik ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.5.5. Ni(II) çözeltisi 0,1 M;

2,91 g nikel nitrat $[\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ 100 mL'lik bir ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.5.6. Cd(II) çözeltisi 0,1 M ;

3,08 g kadmiyum nitrat $[\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 100 mL'lik bir ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.5.7. Cr(III) çözeltisi 0,1 M;

4,00 g krom nitrat $[\text{Cr}(\text{NO}_2)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$ 100 mL'lik ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.5.8. Mo(VI) çözültisi 0,1 M;

2,42 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100 mL'lik ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözümlenerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.5.9. Pb(II) çözültisi 0,1 M;

3,31 g kurşun nitrat $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 mL'lik ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözümlenerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.5.10. Zn(II) çözültisi 0,1 M;

2,61 g çinko nitrat $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 100 mL'lik ölçülü balonda yeteri kadar damıtık su ile çözümlenerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Moksifloksasinin Polarografik Tayini

Bu çalışmada moksifloksasin hidroklorürün diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmiştir. Ayrıca daha önce moksifloksasin hidroklorürün özellikleri spektrofotometrik olarak çalışılmadığından moksifloksasin hidroklorürün spektrofotometrik çalışmaları da yapılmıştır.

Moksifloksasinin tayini için geliştirilen diferansiyel puls polarografisi yöntemi ticari ilaç tabletlerindeki, serum ve idrardaki moksifloksasinin tayini için de uygulanmıştır. Bulunan sonuçlar spektrofotometrik metotla elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Bu bölümde moksifloksasinin elektrokimyasal davranışı diferansiyel puls polarografisi, doğru akım polarografisi ve dönüşümlü voltametri çalışmaları ile incelenmiş ve daha sonrada ilaç formülasyonları ile biyolojik akışkanlardaki tayinleri yapılmıştır.

5.1.1. Moksifloksasinin polarografik davranışının incelenmesi

Diferansiyel puls polarografisi (DPP) ve normal polarografi (DC) ile yapılan çalışmalar

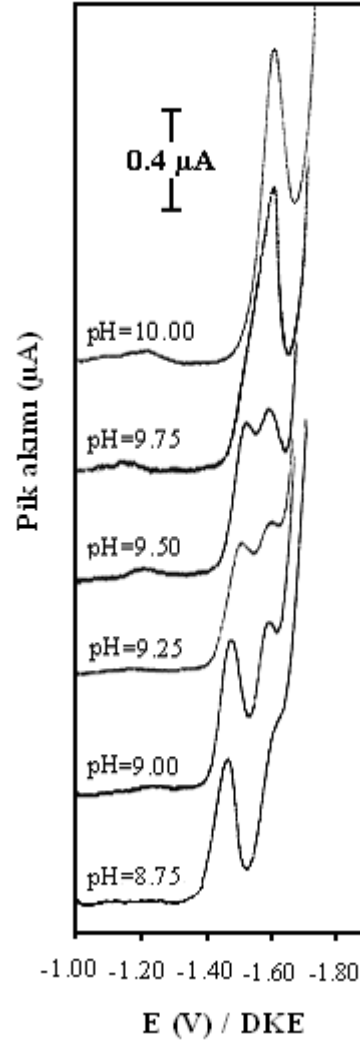
Moksifloksasin hidroklorürün diferansiyel puls polarogramları geniş bir pH aralığında incelenmiştir. Bunun için ilk olarak B-R stok tampon çözeltisinden 100'er ml'lik kısımlar alınarak 2 M NaOH ve 2 M HCl ile pH 2 ile pH 11 arasında tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu tampon çözeltiler aynı zamanda destek elektrolit görevi görmektedir. pH 2'den başlayarak pH 11'e kadar her pH'da moksifloksasin hidroklorürün polarografik davranışı incelenmiştir.

Polarografi hücreğine 10 ml hacmindeki destek elektrolit çözeltisi konulduktan sonra çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması amacıyla 5 dakika süreyle %99,99 saflıkta azot gazı geçirildi. Destek elektrolitin polarogramı kaydedildikten sonra içerisine 300 µL $1,00 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin hidroklorür çözeltisi ilave edilmiştir. Tekrar azot gazı geçirildikten sonra polarogramlar kaydedilmiştir. Polarogramlar 10 mV/s potansiyel tarama hızı ve 50 mV puls genliği uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

pH etkisi

Moksifloksasin hidroklorür ile yapılan pH taraması çalışması sonucunda moksifloksasin hidroklorürün indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu anlaşılmıştır. Yapılan çalışmalarda pH 5'e kadar herhangi bir indirgenme piki gözlenmemiştir. pH 5,00-8,75 arasında moksifloksasin hidroklorüre ait tek bir indirgenme piki (I_1) görülmüştür. Bu indirgenme, potansiyeli pH arttıkça daha negatif potansiyellere kaymış ve pik yüksekliği de pH arttıkça artmıştır.

pH 8,75'de ise I_1 indirgenme pikinin yanı sıra, I_1 pikinden daha negatif bir potansiyelde daha duyarlı olan, yeni bir indirgenme piki I_2 elde edilmiştir. pH arttıkça I_1 indirgenme pikinin pik yüksekliği azalmış, I_2 indirgenme pikinin pik yüksekliği ise artmıştır. pH'nın artması ile pik yüksekliği azalmaya başlayan I_1 indirgenme piki pH 9,75'de tamamen ortadan kaybolmuştur. Sadece pH 8,75-9,50 arasında moksifloksasin hidroklorür'ün her iki indirgenme piki bir arada görülebilmektedir. Şekil 5.1.de moksifloksasin hidroklorürün pH 8,75-9,75 arasındaki polarogramları görülmektedir.



Şekil 5.1. Moksifloksasinin pH 8,75-9,75 arasındaki polarogramları

Yapılan pH taraması sonucunda pH 9,75-11,00 arasında moksifloksasin hidroklorüre ait tek bir indirgenme piki I_2 görülmüştür. pH arttıkça I_2 indirgenme piki daha negatif potansiyellere kaymıştır. pH 10'da ise I_2 indirgenme piki en yüksek pik akımına ulaşmıştır.

Moksifloksasin hidroklorürün indirgenme piki için yapılan pH taramasından elde edilen sonuçlar, indirgenme potansiyellerinin pH arttıkça daha negatif potansiyellere kaydığını göstermiştir. Bu da göstermektedir ki moksifloksasinin indirgenmesi asidik pH'larda kolaylaşmakta, bazik pH'lara gidildikçe de zorlaşmaktadır.

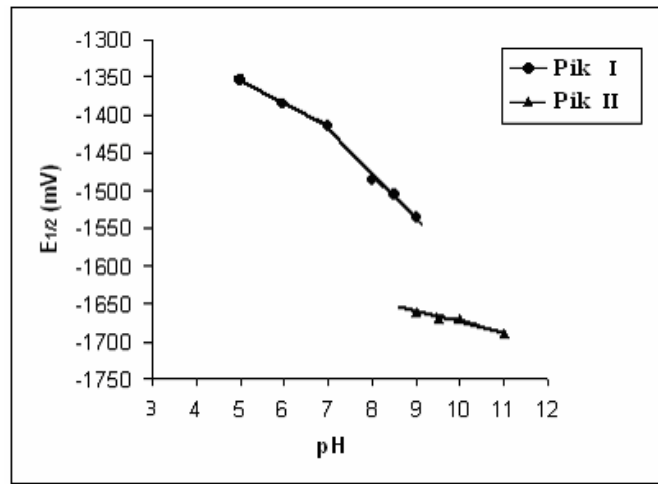
Moksifloksasin hidroklorür'ün elektrokimyasal davranışını incelemek için diferansiyel puls polarografisinin yanı sıra normal polarografi tekniği de kullanılmıştır. Bu kısımda yapılan çalışmada da pH 5-11 arasında B-R tampon çözeltileri kullanılmıştır. Normal polarografi çalışmalarında, polarografi hücresine 10 ml destek elektrolit konulduktan sonra 5 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir. Destek elektrolitin polarogramı alındıktan sonra 300 μ L $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin hidroklorür çözeltisi ilave edilmiştir. Tekrar gaz geçirildikten sonra DC polarogramları kaydedilmiştir. Çizelge 5.1.'de moksifloksasin hidroklorür'ün pH 5-11 arasında DPP çalışmaları sonucu elde edilen indirgenme pik potansiyelleri (E_{pik}), ve pik akımları (i_{pik}) verilmektedir.

Çizelge 5.1. Moksifloksasin hidroklorürün pik potansiyelinin, difüzyon akımının ve yarı dalga potansiyellerinin pH ile değişim ($2,91 \times 10^{-5}$ M);

pH	$-E_{pik}(mV)$	$i_{pik}(\mu A)$
5,0	1380	0,14
6,0	1400	0,48
7,0	1440	0,48
8,0	1510	0,60
8,5	1530	0,60
9,0	1555	1,08
9,5	1560	1,48
*9,0	1660	1,22
*9,5	1670	1,40
*10,0	1675	2,20
*11,0	1690	0,44

* Moksifloksasinin ikinci piki

Normal polarografi çalışmalarından elde edilen verilere göre pH'ya karşı $E_{1/2}$ değerleri grafiğe geçirildiğinde pH 5,00-9.50 arasında ortaya çıkan ilk indirgenme piki (I_1) için pH 7 civarında bir kırılma ve iki doğrusal kısım elde edilmiştir. pH 7 civarındaki bu kırılma moksifloksasinin pK_a değerine karşılık gelmektedir. pH 8,75-11,00 arasında ortaya çıkan ikinci indirgenme piki (I_2) için, pH'ya karşı $E_{1/2}$ değerleri grafiğe geçirildiğinde de doğrusal bir grafik elde edilmiştir (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. Moksifloksasinin yarı dalga potansiyellerinin pH ile değişimi ($2,91 \times 10^{-5}$ M)

pH'ya karşı $E_{1/2}$ değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile elde edilen doğruların denklemleri ise aşağıda verildiği gibidir;

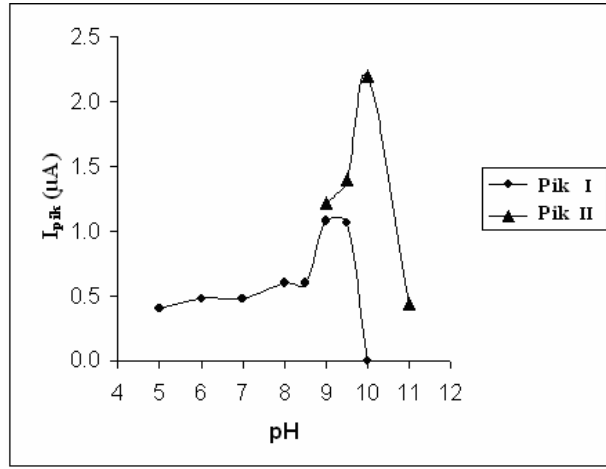
$$E_{1/2}(\text{mV}) = -30,0 \text{ pH} - 1205,0 \quad (\text{pH } 5,00-7,00) \quad (r = 0,999)$$

$$E_{1/2}(\text{mV}) = -59,4 \text{ pH} - 1002,1 \quad (\text{pH } 7,00-8,75) \quad (r = 0,995)$$

$$E_{1/2}(\text{mV}) = -14,3 \text{ pH} - 1531,4 \quad (\text{pH } 8,75-11,00) \quad (r = 0,969)$$

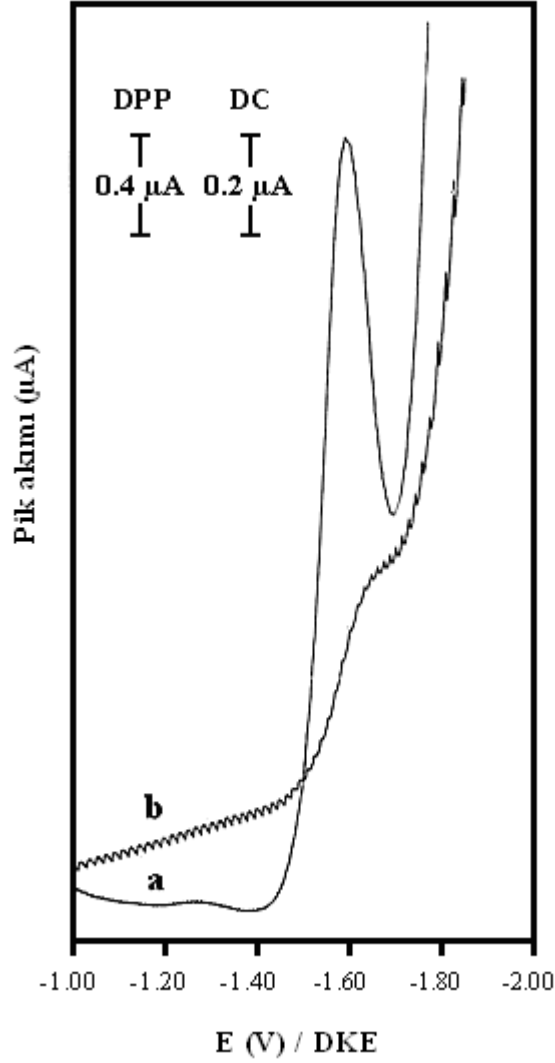
Buna göre pH 5,00-7,00 arasında bir birimlik pH artışı ile pik potansiyelleri -30 mV, pH 7,00-8,75 arasında -59,4 mV, pH 8,75-11,00 arasında ise 14,3 mV negatif değerlere kaydığı anlaşılmaktadır.

Diferansiyel puls polarografisi ve normal polarografi çalışmaları sonucunda moksifloksasinin ilk indirgenme piki olan I_1 'in pik akımının pH 9'da maksimuma ulaştığı daha sonrada azalarak tamamen ortadan kaybolduğu görülmüştür. Moksifloksasinin ikinci indirgenme piki I_2 'nin pik akımı pH arttıkça artmış ve pH 10'da maksimuma ulaşmıştır. pH'ya karşı pik akımları grafiğe geçirildiğinde pH 10'da en yüksek duyarlılık elde edilmiştir.(Şekil 5.3.)



Şekil 5.3. Moksifloksasinin pik akımının pH ile değişimi ($2,91 \times 10^{-5}$ M)

Çizelge 5.1. deki pik akımları incelendiğinde en yüksek pik akımının pH 10'da olduğu görülmektedir. Bu yüzden moksifloksasinin ilaç tabletlerindeki ve biyolojik sıvılardaki tayinleri için en uygun pH'nın 10 olduğuna karar verilmiştir. Şekil 5.4'de moksifloksasinin pH 10'daki DP polarogramı ve DC polarogramı görülmektedir.



Şekil 5.4. Moksifloksasin pH 10'daki DP ve DC polarogramı ($2,91 \times 10^{-5}$ M)

Moksifloksasinin tayini için en uygun pH'nın 10 olduğuna karar verilmesinden sonra kalibrasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada moksifloksasinin $1,0 \times 10^{-3}$ M ve $1,0 \times 10^{-4}$ M'lık çözeltileri hazırlanmış ve pH 10'daki 10 mL B-R tamponuna μ L düzeyindeki hacimlerde eklenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyona karşı difüzyon akımı grafiğe geçirilmiştir.

pH 10 tamponunda moksifloksasinin derişimine bağlı olarak difüzyon akımının doğrusal olarak artması bu molekülün tayininin diferansiyel puls polarografisi ile yapılabileceğini göstermektedir.

Moksifloksasinin polarografik dalgalarının pH 5,0 ile 9,0 arasındaki logaritmik analizleri yapılmıştır. $E = E_{1/2} - (0,059/\alpha n_a) \log[(i/i_d - i)]$ eşitliğine göre $\log[i/(i_d - i)]$ değerlerine karşı $E_{1/2}$ değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu eşitlikte doğrunun eğimi $0,059/\alpha n_a$ değerine eşittir ve buradaki n_a transfer edilen elektron sayısını α 'da transfer katsayısını göstermektedir.

$\log[i/(i_d - i)]$ 'ye karşı $E_{1/2}$ değerleri grafiğe geçirildiğinde eğim 65-78 mV arasında bulunmuştur. Buradan αn_a değerleri 0,76-0,91 arasında hesaplanmıştır. Aktarılan elektron sayısı Meites ve Israel'e (34) göre 2 olarak alındığında (tek bir elektron transferi serbest radikallerde söz konusudur), transfer katsayısı α değeri 0,38 ve 0,46 olarak hesaplanmıştır. α değerinin 1'den küçük olması reaksiyonun tersinmez olduğunun göstergesidir(35).

Transfer edilen elektron sayısının bulunması için ayrı bir çalışma daha yapılmıştır. Bunun için daha önce çalışılmış olan (indirgenmesinde $n=2$ olduğu gösterilen) ve yapısı moksifloksasinin yapısına benzeyen, moksifloksasin ile aynı gruba; florokinolonlar grubuna ait siprofloksasin kullanılmıştır. Hem siprofloksasinin hem de moksifloksasinin $2,91 \times 10^{-5}$ M çözeltilerinin pH 8 B-R tamponunda ayrı ayrı polarogramları kaydedilmiştir. Her iki polarogram karşılaştırıldığında piklerin aynı yükseklikte olduğu görülmüştür. Bu da moksifloksasinin indirgenmesindeki elektron transferinin iki elektronlu olması gerektiğini gösterir.

Moksifloksasin için transfer edilen elektron sayısı n_a ve transfer katsayısı α hesaplandıktan sonra $\Delta E_{1/2} / \Delta pH = 0,059 Z_{H^+} / \alpha n_a$ eşitliğinden elektrokimyasal basamağa eşlik eden proton sayısı bulunmuştur (36). Yapılan hesaplamalar sonucunda indirgenmeye katılan proton sayısı Z_{H^+} 1'e yakın bir değer olarak bulunmuştur.

Polarografik dalga özellikleri

Moksifloksasinin polarografik dalgalarının özelliklerini incelemek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İlk olarak kolon yüksekliğinin DC polarogramları üzerine

etkisi incelenmiştir. Bunun için polarografi hücresine 10 ml pH 10 B-R tamponu konulduktan sonra $1,0 \times 10^{-3}$ M'lık moksifloksasin çözeltisinden 300 μ L eklenmiştir. Civa haznesinin yüksekliği 55-75 cm arasında değiştirilerek 5'er cm aralıklarla DC polarogramları kaydedilmiştir. Civa haznesinin yüksekliğinin kareköküne karşı ($h^{1/2}$) dalga yüksekliği (w) grafiğe geçirilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiğinin eğimi 0,72 bulunmuştur. Doğrunun eğiminin 1'den küçük olması indirgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu ve sınırlı olarak da adsorpsiyonun etkisini gösterir.

Dalga karakteristiklerini incelemek için yapılan diğer bir çalışma da destek elektrolitin konsantrasyonu ile ilgilidir. Bu amaçla hazırlanan B-R tamponu stok çözeltisi (0,12 M) on kata kadar seyreltilmiştir ve pH 10' ayarlanmıştır (0,012 M) tir. $2,91 \times 10^{-5}$ M'lık moksifloksasinin DP polarogramları 0,12 M, 0,09 M, 0,06 M, 0,03M ve 0,12 M destek elektrolit konsantrasyonlarında kaydedilmiştir. Tüm konsantrasyolardaki pik yükseklikleri karşılaştırıldığında aralarında önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Hem kolon yüksekliği hem de destek elektrolit ile yapılan çalışma sonucunda elde edilen veriler; elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunun göstergesidir (37).

Difüzyon katsayısının hesaplanması

Moksifloksasin için difüzyon akım sabiti [$I = I_d / C m^{2/3} t^{1/6}$] ve difüzyon kaysayısı D ; Ilkoviç eşitliğine göre hesaplanmıştır.

$$I_d = 0,732 n F C D^{1/2} t^{1/6} m^{2/3}$$

Bu eşitlikte;

i_d : Difüzyon akımı (μ A)

n : aktarılan elektron sayısı (mol,e)

F : Faraday sabiti(C/eq)

C : konsantrasyon (mol/cm³)

D : difüzyon katsayısı (cm²/s)

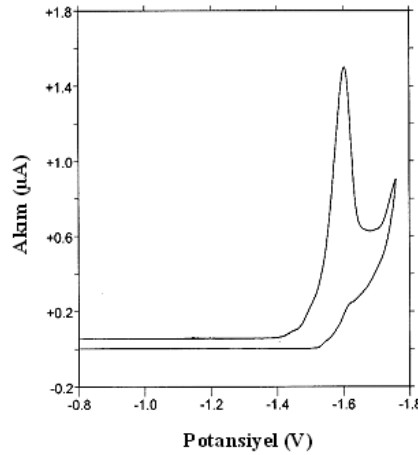
m : civanın akış hızı (g/s)

t : damla ömrü(s)

Difüzyon sabitinin bulunması için ilk olarak m ve t değerleri bulundu. Bunun için 50 civa damlası sayılarak süre kaydedildi ve buradan tek bir civa damlasının ömrü belirlendi. Kapiler özellik olarak kabul edilen $m^{2/3} t^{1/6}$ değeri $1,95 \text{ mg}^{2/3} \text{ s}^{-1/2}$ olarak hesaplandı. Difüzyon akımı değeri pH 10'da elde edilen DC polarogramından hesaplanmıştır. Tüm bu değerler Ilkoviç eşitliğinde yerine konulduğunda D difüzyon katsayısı $7,13 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ olarak hesaplanmıştır. Yine aynı değerlerle difüzyon akım sabiti I değeri 1,48 bulunmuştur (38).

Dönüşümlü voltametri (CV) ile yapılan çalışmalar

Moksifloksasinin asılı civa damla elektrodu üzerindeki dönüşümlü voltamogramları pH 10'da değişik tarama hızlarına karşı incelenmiştir. Bunun için 10 ml $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ moksifloksasin içeren hücreden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir. Moksifloksasinin asılı civa damla elektrodu üzerindeki dönüşümlü voltamogramlarının alınması için -0,8 V'dan başlanarak -1,80 V'a kadar önce negatif yönde daha sonrada pozitif yönde potansiyel taraması yapılmıştır. Potansiyel taramaları 500, 250, 100, 75, 50, 25, 10, 5 mV/s'lik tarama hızlarında yapılmıştır. Şekil 5.5'de görüldüğü gibi, negatif yöndeki potansiyel taramasında -1,61 V'da tek bir katodik pik elde edilmiştir.



Şekil 5.5. $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ moksifloksasinin dönüşümlü voltamogramı (tarama hızı; 100mVs)

Moksifloksasin ile yapılan hız taraması sonucunda farklı tarama hızlarında elde edilen pik akımları çizelge 5.2.'de verilmiştir.

Çizelge 5.2. CV çalışmasında tarama hızına karşı elde edilen akım değerleri

Tarama hızı mV/s	$\dot{I}_{\text{pik}}(\mu\text{A})$
500	1,882
250	1,265
100	0,833
75	0,771
50	0,5868
25	0,6954
10	0,6099
5	0,3493

Dönüşümlü voltametri potansiyel tarama hızı çalışmaları ile elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olup olmadığı incelenebilir. Bunun için tarama hızının kareköküne karşı $v^{1/2}$, pik akımı değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu verilerden elde edilen doğru denklemi aşağıda verilmiştir;

$$I_p(\mu\text{A}) = 0,08 v^{1/2}(\text{mV/s}) + 0,095 \quad (r = 0,998)$$

Doğrunun eğiminin 1'den küçük olması (0,08) olayın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir (39). Ayrıca $\log v$ 'ye karşı $\log i_p$ değerleri grafiğe geçirilerek doğru deklemini aşağıda verildiği gibidir.

$$\log I_p(\mu\text{A}) = 0,40 \log v(\text{mV/s}) - 0,83 \quad (r = 0,990)$$

Bu eşitlikte doğrunun eğiminin 0,5'den küçük olması (0,40) reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğunu gösterir (40). Pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında herhangi bir anodik pikin gözlenmemesi ve tarama hızı arttıkça pik potansiyelinin

daha negatif değerlere kayması moksifloksasinin indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunun göstergesidir (41).

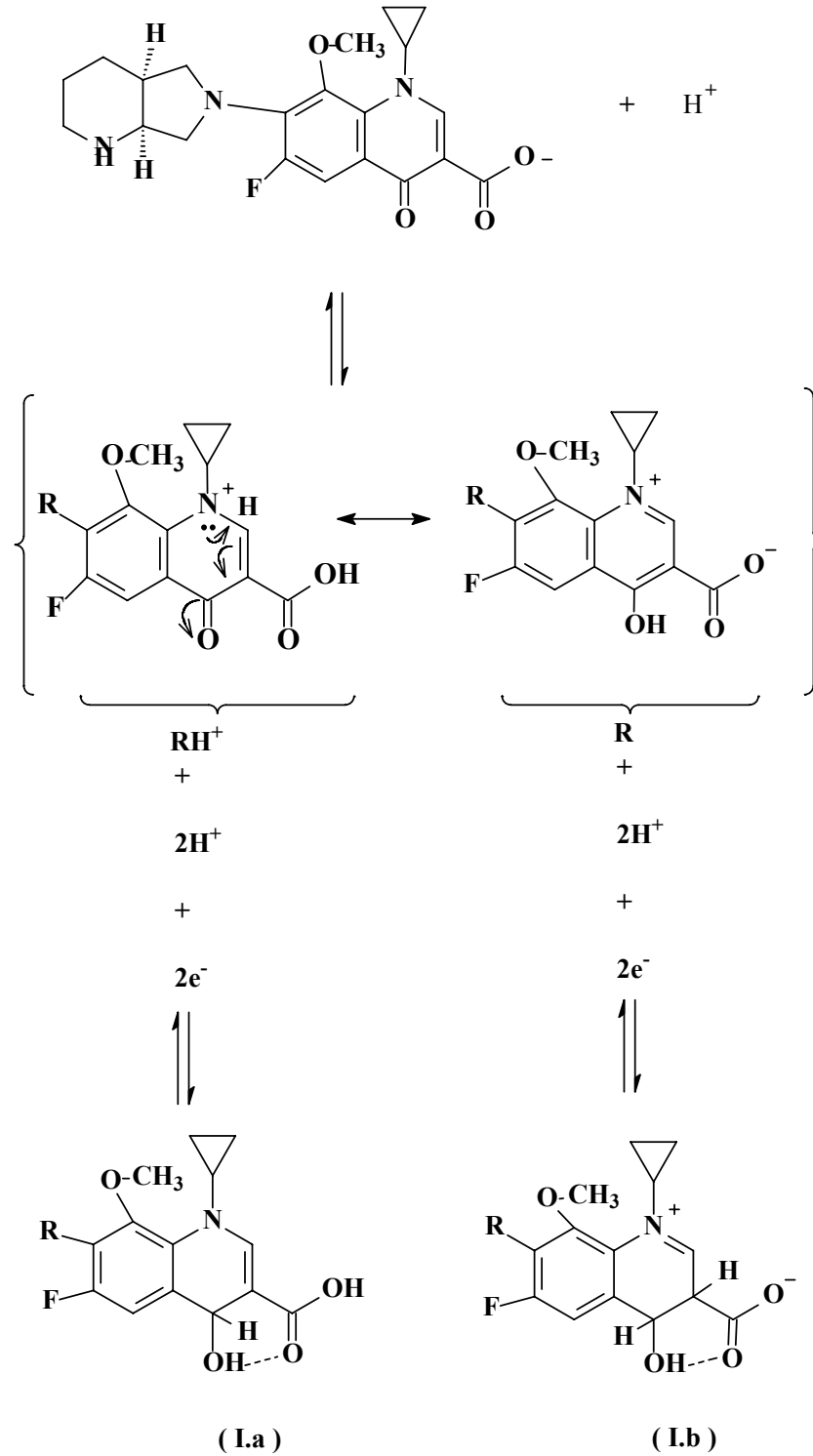
Dönüşümlü voltametri çalışmalarının sonuçları; reaksiyonun tersinmez ve difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

Elektrot reaksiyonunun mekanizması

Moksifloksasin pH'ya bağlı olarak bir veya iki tane normal DC dalgası ve DP pikleri sergilemektedir. pH 5 ile pH 8,75 arasında moksifloksasinin sadece birinci indirgenme piki, pH 9,75 ile pH 11,00 arasında sadece ikinci indirgenme piki görülmektedir. Buna karşın, pH 8,75 ile pH 9,50 arasında her iki indirgenme piki beraber görülmektedir. pH 8,75 ile pH 9,50 arasında her iki indirgenme pikinin bir arada olması bu pH'lar arasında elektrot yüzeyinde iki farklı indirgenebilen türün bulunduğunu gösterir. Ancak moksifloksasin moleküler yapısına bakıldığında sadece pridon konumundan dolayı indirgenebileceği görülmektedir. İkinci pikin moksifloksasinin farklı bir fonksiyonel grubunun indirgenmesinden dolayı ortaya çıkması olası değildir. İkinci piki oluşturan indirgenme mekanizmasında bu fonksiyonel grup üzerinden yürümelidir.

Ayrıca pH 8,75 ile 9,50 arasında pH değiştikçe birinci ve ikinci pikin yükseklikleri değişmiştir ve pH arttıkça birinci pikin yüksekliği azalmış ikinci pikin yüksekliği ise artmıştır. Bu pH'lar arasında birinci ve ikinci pik yükseklikleri toplamı daima sabit kalmış ve pH 9,50'de her iki pikin yüksekliği eşitlenmiştir.

Bu bulgulara göre, normal polarografi, diferansiyel puls polarografisi ve dönüşümlü voltametri çalışmaları sonucunda civa elektrotta moksifloksasinin indirgenmesi için aşağıdaki elektrot tepkimeleri mekanizması tanımlanabilir;



Şekil 5.6 Moksifloksasinin elektrot reaksiyonu basamakları

I.a : pH 5,00-8,75 arasında I_1 piki

I.a-I.b : pH 8,75-9,75 arasında I_1 ve I_2 piki

I.b : pH 9,75-11,00 arasında I_2 piki

Şekil 5.6'deki mekanizma şöyle açıklanabilir; moksifloksasin yapısında bulunan heterosiklik azot grubundan protonlanır. Burada R grubu moksifloksasin molekülünün protonlanmamış, RH^+ ise moksifloksasin molekülünün protonlanmış halidir. pH değerlerinin pK_a değerlerinden küçük olduğu durumlarda indirgenen tür RH^+ 'dir. pH değerlerinin, pK_a değerlerinden büyük olduğu durumlarda ise indirgenen tür R'dir. Ancak pH değerlerinin yaklaşık olarak pK_a değerlerine eşit olduğu durumlarda ise her iki tür aynı anda indirgenmektedir. Protonlanmış heterosiklik azot grubu şekil 5.6.'de gösterilen keto- enolik oluşumdan dolayı karbonil grubunun indirgenmesini kolaylaştırır; bu yüzden asidik pH'lardaki moksifloksasin, bazik pH'lardakine oranla daha pozitif potansiyellerde indirgenmektedir.

Moksifloksasin pH 5,00-8,75 arasında katyonik keto formuna , pH 8,75-9,50 arasında hem keto hem enol formuna pH 9,75'ten sonra ise sadece enol formuna sahiptir. Moksifloksasinin enol formunun keto formundan daha zor indirgenmesinin nedeni hidrojen bağının oluşması ve bunun da indirgenme işlemini zorlaştırmasından kaynaklanmaktadır.

5.1.2. Moksifloksasinin tayini ve analitik uygulamaları

İlaç tabletlerindeki moksifloksasinin tayini

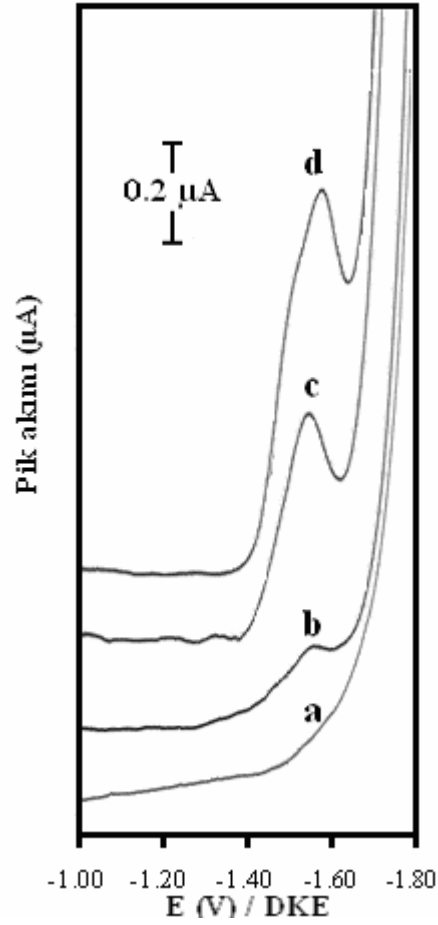
Moksifloksasinin tayini için geliştirilen metot, ticari ilaç tabletlerindeki moksifloksasinin tayini için de uygulanmıştır. Bu çalışmada etken maddesi moksifloksasin olan Avelox[®] tabletleri kullanılmıştır. Çalışmalar pH 10 B-R tamponu ortamında gerçekleştirilmiştir. Bir adet Avelox[®] tableti 400 mg moksifloksasin etken maddesi içermektedir. Çalışmalarda iki adet Avelox[®] tablet alınarak toz haline getirilmiş ve tartılmıştır. Tabletlerin toplam kütlesi 1,2453 g gelmiştir. Tabletlerden moksifloksasin çözeltileri hazırlanırken 1,2453 g tablet tozunun 800 mg moksifloksasinin içerdiğine dikkat edilmiş ve hesaplamalar buna göre yapılmıştır. Yapılan çalışmada 10 ml B-R tamponundaki (pH 10) $1,0 \times 10^{-4}$ M moksifloksasin içeren Avelox[®] tablet çözeltisinin polarogramı kaydedildikten sonra, aynı çözeltiliye derişimi $1,0 \times 10^{-4}$ M olacak şekilde moksifloksasin etken maddesi

çözeltisi ilave edilmiş ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 5.6.'da verilmiştir.

Serum ve idrar numunelerinde moksifloksasinin tayini

Moksifloksasin için önerilen tayin metodu, serum ve idrar numunelerine eklenen moksifloksasinin tayininde de kullanılmıştır. Tayin çalışmalarından önce serum ve idrar numuneleri hazırlanmıştır. Serum numunelerinin hazırlanması için 3,60 mL kan serumu alınarak önce 1 mL $1,0 \times 10^{-2}$ M moksifloksasin çözeltisi daha sonrada 5,40 ml asetonitril ilave edilmiştir. İlavelerin bu sıra ile yapılması gerekmektedir. Çünkü serumdaki maddelerle moksifloksasinin belli bir süre etkileşmesi sağlanmalı daha sonrada asetonitril ilave edilerek proteinler çöktürülmelidir. Asetonitril ilavesinden sonra karışım beş dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüj edilmiş ve santrifüjden sonra üstteki berrak kısım dekantasyonla alınmıştır. Bu şekilde $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin içeren serum numunesi hazırlanmıştır. Bu çalışmada tanık stok çözeltisi de hazırlanmıştır. Bunun için 3,60 mL kan serumuna 1 mL saf su ve 5,40 ml asetonitril ilave edilmiş hazırlanan bu çözeltiden 100 µL alınarak 9,9 ml pH 10 B-R tamponuna ilave edilmiş ve polarogramı kaydedilmiştir.

Önce tanık çözeltisinin polarogramı alınarak kaydedilmiş daha sonrada $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin içeren serum numunesinden çeşitli hacimlerde ilaveler yapılarak serum numunesi için kalibrasyon çalışması yapılmıştır. Şekil 5.7.'de serumdaki moksifloksasin tayini için elde edilen yapılan çalışmadan bazı derişimlerin polarogramları göstermektedir.



Şekil 5.7. Kan serumda moksifloksasinin tayini

- (a) Tanık serum numunesi
- (b) $4,76 \times 10^{-7}$ M moksifloksasin içeren serum numunesi
- (c) $5,42 \times 10^{-6}$ M moksifloksasin içeren serum numunesi
- (d) $1,24 \times 10^{-5}$ M moksifloksasin içeren serum numunesi

Kan serumunda moksifloksasinin tayini için elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi,

$$I_p(\mu A) = 7,53 \times 10^4 C(M) + 0,0604 \quad (r = 0,996) \text{ dır.}$$

Elde edilen bu kalibrasyon grafiğinden çalışma aralığı $4,76 \times 10^{-7}$ - $1,24 \times 10^{-5}$ M olarak bulunmuştur. Kalibrasyon çalışması sonucunda elde edilen verilerden gözlenebilme sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) değerleri hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerleri $k \times S_b / m$ 'ye göre sırası ile $1,39 \times 10^{-7}$ M ve $4,64 \times 10^{-7}$ M (LOD için $k=3$ ve LOQ için $k=10$) olarak hesaplanmıştır.

Ayrıca hazırlanan serum numunesine eklenen moksifloksasinin geri kazanım çalışmaları da yapılmıştır. Bunun için ilk olarak hazırlanan tanık çözeltisinin polarogramı alınmış ardından bu çözeltiye çözeltideki derişimi $5,0 \times 10^{-6}$ M olacak şekilde moksifloksasin içeren serum çözeltisinden ilave edilmiş ve polarogramı kaydedilmiştir. Daha sonra aynı hücreye derişimi $5,0 \times 10^{-6}$ M olacak şekilde moksifloksasin etken maddesinin çözeltisinden eklenmiş ve polarogramı alınmıştır. Bu işlem dört kez tekrarlanmış ve geri kazanım çalışması sonuçları Çizelge 5.3'de verilmiştir.

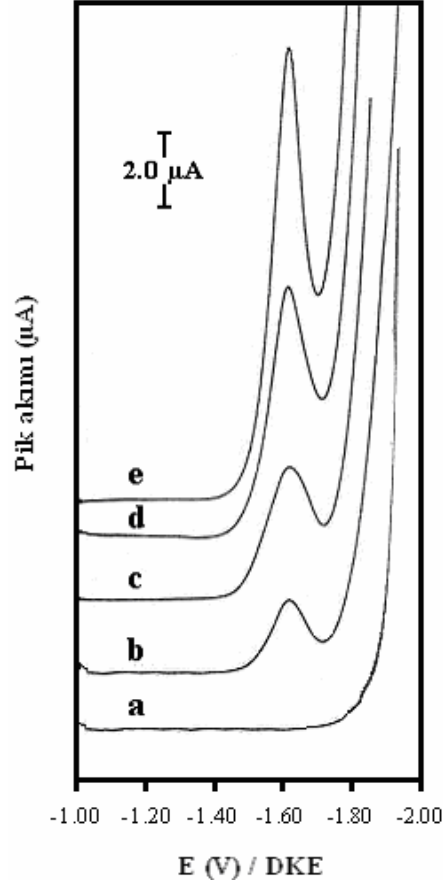
İdrar numunelerindeki moksifloksasinin tayininde önce idrar numuneleri hazırlandı. Bunun için 3,60 mL idrar alınarak önce 1 mL $1,0 \times 10^{-2}$ M moksifloksasin çözeltisi daha sonrada 5,40 ml asetonitril ilave edilmiştir. 5 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüj edilip üstteki berrak tabaka dekantasyonla alınmıştır. Böylece içerisinde $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin bulunduran idrar çözeltisi elde edilmiştir. Bu çalışmada da, serum çalışmasında olduğu gibi tanık çözelti hazırlanmıştır. Bunun için 3,60 ml idrar numunesine 1 mL saf su ve 5,60 mL'de asetonitril ilave edilmiş ve santrifüj işleminden sonra üstteki berrak kısım dekantasyonla alınmıştır. Bu çözeltiden 100µL alınarak 9,9 mL pH 10 tampona eklenerek $1,0 \times 10^{-5}$ M'lık kör çözeltisi elde edilmiştir.

Hazırlanan kör çözeltisinin polarogramı alındıktan sonra üzerine $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin içeren idrar çözeltisinden çeşitli hacimler eklenerek kalibrasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışmadan seçilen bazı derişimlere ait polarogramlar şekil 5.8. gösterilmektedir. Kalibrasyon çalışması sonucu elde edilen doğrunun denklemi ise şöyledir.

$$I_p(\mu A) = 4,16 \times 10^4 C (M) + 0,1297 \quad (r = 0,999)$$

Elde edilen bu kalibrasyon grafiğinden çalışma aralığı $5,00 \times 10^{-7}$ - $1,00 \times 10^{-4}$ M olarak bulunmuştur. Kalibrasyon çalışması sonucunda elde edilen verilerden gözlenebilme sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) değerleri hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerleri

kxS_b/m 'ye göre sırası ile $1,46 \times 10^{-7}$ M ve $5,00 \times 10^{-7}$ M (LOD için $k=3$ ve LOQ için $k=10$) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.8. İdrarda moksifloksasinin tayini

- (a) Tanık idrar numunesi
- (b) $5,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasin içeren idrar çözeltisi
- (c) $1,0 \times 10^{-4}$ M moksifloksasin içeren idrar çözeltisi
- (d) $1,5 \times 10^{-4}$ M moksifloksasin içeren idrar çözeltisi
- (e) $2,0 \times 10^{-4}$ M moksifloksasin içeren idrar çözeltisi

Serum numunesinde olduğu gibi idrar numunesinde de eklenen moksifloksasinin tayini için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bunun için ilk olarak kör çözeltinin polarogramı alındıktan sonra aynı hücreye moksifloksasin derişimi $5,0 \times 10^{-5}$ M olacak şekilde $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin içeren idrar numunesinden eklenmiş ve polarogramı alınmıştır. Aynı çözeltiye derişimi $5,0 \times 10^{-5}$ M olacak şekilde moksifloksasin etken maddesinin çözeltisinden ilave edilerek polarogramlar

alınmıştır. Bu işlemler dört kez tekrarlanarak geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. sonuçlar Çizelge 5.3’de verilmiştir.

Çizelge 5.3. Serum ve idrar çalışmalarının geri kazanım sonuçları

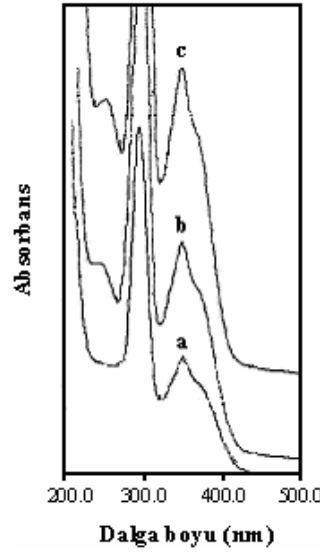
Ortam	Eklenen moksifloksasin (M)	Bulunan moksifloksasin (M)	n	Ortalama geri kazanım(%)	B.S.S (%)	B.H. (%)
Serum	$5,0 \times 10^{-6}$	$4,90 \times 10^{-6}$	4	98,00	0,71	-2,00
İdrar	$5,0 \times 10^{-5}$	$4,99 \times 10^{-5}$	4	99,80	0,45	-0,20

*B.S.S. : Bağlı standart sapma, B.H. : Bağlı hata

Serum ve idrarda yapılan çalışmalar sonucunda serumdaki geri kazanım %98,00 idrardaki geri kazanım ise % 99,80 olarak bulunmuştur. Bağlı hatalar ise sırası ile % 2,00 ve % 0,20’dir. Elde edilen bu sonuçlar serum ve idrarda moksifloksasin tayininin doğru bir şekilde yapılabileceğini göstermektedir.

5.1.3. Moksifloksasinin spektrofotometrik tayini

UV spektrofotometrik metodu hem moksifloksasinin tayini hem de serum ve idrar ile yapılan geri kazanım çalışmalarının doğruluğunun anlaşılması için kullanılmıştır. İlk olarak pH 10 çözeltisinde hazırlanan moksifloksasin çözeltisinin dalga boyu tarama çalışması yapılmış ve bunun sonucunda elde edilen absorpsiyon spektrumu şekil 5.9.’de gösterilmiştir.



Şekil 5.9. Moksifloksasinin UV spektrumu ve standart ilaveler

- (a) $3,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin
- (b) $6,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin
- (c) $9,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin

Moksifloksasin 235, 292 ve 339 nm'de absorpsiyon bantları göstermektedir. Moksifloksasin derişimi ile doğrusal bir absorbans gösterdiği için 339 nm'deki bant analitik çalışmalar için seçilmiştir. $5,0 \times 10^{-6}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ M moksifloksasin derişimi ile yapılan çalışma sonucunda bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. UV verilerinden elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi ise;

$$A = 1,67 \times 10^{-4} C(M) - 0,0163 \quad (r = 0,999) \text{ 'dir.}$$

Avelox[®] tabletlerindeki moksifloksasinin spektrofotometrik tayini için, içerisindeki moksifloksasin derişimi $5,0 \times 10^{-5}$ M olacak şekilde üç ayrı tablet çözeltisi hazırlanmış ve absorbansları okunmuştur. Bu derişimler için okunan absorbans değerleri, saf moksifloksasin için elde edilen kalibrasyon denkleminde yerine konularak tabletlerdeki moksifloksasin derişimi hesaplanmıştır ve sonuçlar çizelge 5.4.'de verilmiştir.

Tablet çözeltilerine eklenen moksifloksasinin geri kazanım çalışmalarının spektrofotometrik tayinleri için, içerisindeki moksifloksasin derişimi $5,0 \times 10^{-5}$ M olan tablet çözeltisinin absorbansı okunmuştur. Ayrıca içerisinde hem $5,0 \times 10^{-5}$ M tablet

çözeltisi hem de $5,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasin etken maddesinin çözeltisini içeren karışımın absorbanı okunmuş ve absorbanlar arasındaki farktan yararlanılarak geri kazanım sonuçları hesaplanmıştır. Çizelge 5.4.'de Avelox[®] tabletleri için DPP ve UV ile yapılan geri kazanım sonuçları istatistiksel sonuçları ile verilmiştir.

Çizelge 5.4. İlaç tabletlerindeki moksifloksasinin tayini için DPP ve UV ile bulunan sonuçlar

	DPP	UV
Etiketli miktar(mg)	400,0	400,0
Bulunan miktar(mg)	394,9	393,6
B.S.S(%)	1,17	1,21
Bağlı hata (%)	1,35	1,60
t-testi ^b	0,12[2,36] ^a	
F-testi ^b	1,49[6,59] ^a	
Eklenen(mg)	22,00	22,00
Bulunan(mg)	21,72	21,95
Geri kazanım (%)	98,73	99,77
Geri kazanımın B.S.S'sı(%)	1,55	1,89
Geri kazanımın bağlı hatası(%)	1,27	0,23

^a %95 güven aralığı ve için t ve F testlerinin tablo değerleri

^b t testi için DPP N=5, UV N=4 ve F testi için DPP N= 4, UV N=3

*B.S.S. : Bağlı standart sapma

İlaç tabletlerindeki moksifloksasinin tayini için DPP ve UV ile yapılan çalışma sonucunda DPP için geri kazanım % 1,55 bağlı standart sapma ile % 98,73 ve UV için ise % 1,89 bağlı standart sapma ile % 99,77 olarak bulunmuştur. Ayrıca geri kazanımdaki bağlı hatalar her iki metotla % 2,00'nin altında kalmıştır.

DPP ile moksifloksasin için geliştirilen metodun doğruluğu UV ile yapılan karşılaştırmalı sonuçlardan anlaşılmaktadır. İki metot arasındaki t testi sonucunda t

değeri % 95 güvenle tablo değerinden (2,36) daha düşük (0,12) olarak bulunmuştur. t testi değerinin tablo değerinden düşük olması iki metodun arasındaki değerlerin farklı olmadığını göstermektedir. İki metod arasındaki F testi değeri de tablo değerinden (6,59) daha düşük (1,49) olarak bulunmuş ve bu değerinde tablo değerinden düşük olması iki metodun kesinlikleri arasında bir fark olmadığını göstermektedir.

Spektrofotometrik metod serum ve idrar numuneleri için hazırlanan çözeltilerde de uygulanmıştır. Öncelikle serum ve idrar için hazırlanan kör çözeltileri için dalga boyu taraması çalışması yapılmış ve tayin için kullanılan 339 nm'de herhangi bir absorpsiyon bandı vermedikleri görülmüştür. Daha sonra $1,0 \times 10^{-3}$ M'lık idrar stok çözeltisinden çeşitli derişimlerde çözeltiler hazırlanmış ve absorbansları ölçülmüştür ve veriler çizelge 5.5.'de verilmiştir.

Çizelge 5.5. İdrar numunelerinde derişime karşı okunan absorbans değerleri

Derişim (M)	Absorbans
$5,0 \times 10^{-6}$	0,082
$1,0 \times 10^{-5}$	0,207
$3,0 \times 10^{-5}$	0,484
$5,0 \times 10^{-5}$	0,707
$7,0 \times 10^{-5}$	1,125
$1,0 \times 10^{-4}$	1,438

Bu verilerden elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi ise

$$A = 1,43 \times 10^{-4} C(M) + 0,0408$$

olarak bulunmuştur. İdrardaki moksifloksasinin spektrofotometrik tayini için $1,0 \times 10^{-3}$ m'lık idrar stok çözeltisinden $5,0 \times 10^{-5}$ M'lık üç çözelti hazırlanarak absorbansı ölçülmüştür.

Ölçülen absorbans değerleri idrar çözeltisi için elde edilen kalibrasyon denkleminde yerine konularak idrardaki moksifloksasin miktarı tayin edilmiştir. Aynı çalışmalar serum çözeltisi içinde yapılmış ve sonuçlar çizelge 5.6.'da verilmiştir.

Çizelge 5.6. Serum ve idrar numuneleri için UV ile elde edilen sonuçlar

Ortam	Eklenen moksifloksasin (M)	Bulunan moksifloksasin (M)	n	Ortalama geri kazanım(%)	B.S.S (%)	Bağlı Hata (%)
Serum	$5,0 \times 10^{-5}$	$4,88 \times 10^{-5}$	4	97,67	0,63	2,4
İdrar	$5,0 \times 10^{-5}$	$4,80 \times 10^{-5}$	4	96,8	0,62	4,0

Serum ve idrar numunelerindeki moksifloksasinin UV ile tayini çalışmasında serum için geri kazanım değeri % 0,63 bağıl standart sapma ile % 97,67 ve idrar için % 0,62 bağıl standart sapma ile % 96,8 olarak hesaplanmıştır. Yüzde bağıl hatalar ise sırası ile % 2,4 ve % 4 olarak bulunmuştur. Geri kazanım değerlerinin yüksek, bağıl hata değerlerinin düşük olması serum ve idrardaki moksifloksasin tayininin UV ile yapılabileceğini göstermektedir.

5.1.4. Sonuçların özeti

Bu çalışmada moksifloksasin hidroklorürün diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmiştir. Ayrıca daha önce moksifloksasin hidroklorürün özellikleri spektrofotometrik olarak çalışılmadığından moksifloksasin hidroklorürün spektrofotometrik çalışmaları da yapılmıştır. Moksifloksasinin tayini için geliştirilen diferansiyel puls polarografisi yöntemi ticari ilaç tabletlerindeki, serum ve üredeki moksifloksasinin tayini içinde uygulanmıştır. Bulunan sonuçlar spektrofotometrik metotla elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır

1. Moksifloksasin hidroklorür ile yapılan pH taraması çalışması sonucunda moksifloksasin hidroklorürün indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu bulundu. Moksifloksasin hidroklorür ile yapılan pH taraması, moksifloksasinin indirgenme piklerinin pH arttıkça daha negatif potansiyellere kaydığını

göstermiştir. Bu da göstermektedir ki moksifloksasinin indirgenmesi asidik pH'larda kolaylaşmakta, bazik pH'lara gidildikçe zorlaşmaktadır.

2. Normal polarografi çalışmalarından elde edilen verilere göre pH'ya karşı $E_{1/2}$ değerleri grafiğe geçirildiğinde pH 5,00-9.50 arasında ortaya çıkan ilk indirgenme piki (I_1) için pH 7,00 civarında bir kırılma ve doğrusal kısım elde edilmiştir. pH 7,00 civarındaki bu kırılma moksifloksasinin pK_a değerine karşılık gelmektedir.
3. Pik akımları incelendiğinde en yüksek pik akımının pH 10'da olduğu görülmektedir. Bu yüzden moksifloksasinin tayini ve biyolojik çalışmalar için en uygun pH'nın 10 olduğuna karar verilmiştir.
4. Moksifloksasin tayini için en uygun pH'nın 10 olduğuna karar verilmesinden sonra kalibrasyon çalışması yapılmış, ve moksifloksasin derişimine bağlı olarak akımın doğrusal olarak artması bu molekülün tayininin diferansiyel puls polarografisi ile yapılabiceğini göstermiştir.
5. Moksifloksasinin polarografik dalgalarının pH 5-9 arasında logaritmik analizleri yapılmıştır. $\log[i/(i_d - i)]$ 'ye karşı $E_{1/2}$ değerleri grafiğe geçirildiğinde eğim 65-78 mV arasında bulunmuştur. Buradan αn_a değerleri 0,76-0,91 arasında hesaplanmıştır. Transfer edilen elektron sayısı Meites ve Israel'e (34) göre 2 olarak alındığında , transfer katsayısı α değeri 0,38 ve 0,46 olarak hesaplanmıştır. α değerinin 1'den küçük olmasa reaksiyonun tersinmez olduğunun göstergesidir.
6. Moksifloksasin için transfer edilen elektron sayısı n_a ve transfer katsayısı α hesaplandıktan sonra $\Delta E_{1/2}/\Delta pH = 0,059 Z_{H^+}/\alpha n_a$ eşitliğinden proton sayısı Z_{H^+} 1'e yakın bir değer olarak bulunmuştur.

7. Hem kolon yüksekliği hem de destek elektrolit ile yapılan çalışma sonucunda elde edilen veriler; elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunun göstergesidir.
8. Moksifloksasin için Ilkoviç eşitliğine göre difüzyon katsayısı ve difüzyon akım katsayısı hesaplanmış ve sırası ile $7,13 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$;1,48 bulunmuştur.
9. Dönüşümlü voltametri çalışmalarının sonucunda tarama hızının kareköküne karşı $v^{1/2}$, pik akımı değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu doğrunun eğiminin 1'den küçük olması (0,08) olayın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Ayrıca $\log v'$ 'ye karşı $\log i_p$ değerleri grafiğe geçirilerek doğru dekleminin eğiminin 0,5'den küçük olmasıda olayın difüzyon kontrollü olduğunu desteklemiştir.
10. Dönüşümlü voltametri çalışmalarında pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında herhangi bir anodik pikin gözlenmemesi ve tarama hızı arttıķça pik potansiyelinin daha negatif değerlere kayması moksifloksasinin indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunun göstergesidir.
11. Moksifloksasinin tayini için önerilen metot, ticari ilaç tabletlerindeki moksifloksasinin tayininde DPP ve UV ile uygulanmıştır. DPP ve UV ile yapılan geri kazanım çalışmalarının sonucu DPP için % 98,73 UV için ise % 99,77 olarak bulunmuştur. Bağıl hatalar ise sırası ile %1,55 ve%1,89'dur. Geri kazanım değerlerinin yüksek , bağıl hata değerlerinde düşük olması bu metodun ticari tabletlerdeki moksifloksasin tayininde kullanılabileceğini göstermektedir.

5.2. Moksifloksasin Kullanılarak Co(II) Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi

5.2.1. Co(II)/ moksifloksasin kompleksinin elektrokimyasal davranışı

Yapılan DPP çalışmalarında Co(II)'nin moksifloksasin varlığında yeni bir indirgenme pikine rastlanmıştır. Bu pik hem Co(II) hem de moksifloksasinin indirgenme pikinden çok daha pozitif potansiyellerde Co(II) tayini için oldukça yüksek hassasiyetinden dolayı avantaj oluşturmaktadır. Rastlanan bu yeni pikin özellikleri incelenmiş ve matriks ortamlarında Co(II) tayinine imkan verip vermediği araştırılmıştır.

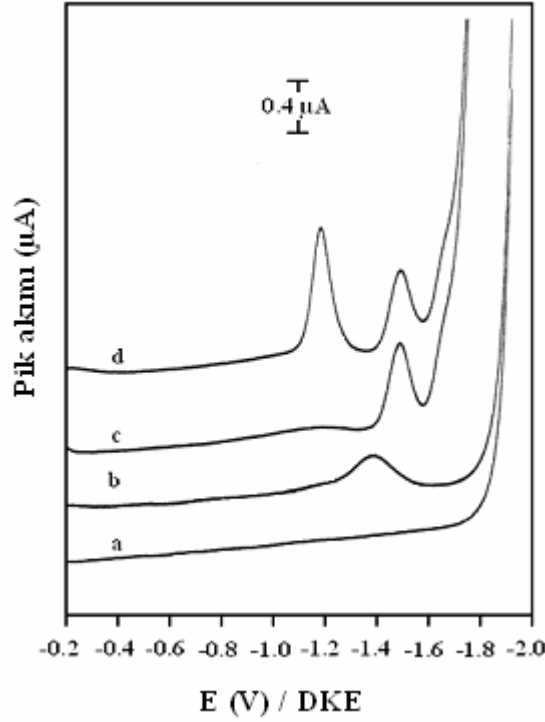
Diferansiyel puls polarografisi ve Normal polarografi ile yapılan çalışmalar

Oluşan yeni pikin elektrokimyasal davranışı DPP ve DC yöntemi ile incelenmiş ve yeni pik için pH etkisi ve polarografik özellikleri çalışılmıştır.

pH etkisi

Yapılan bu çalışmada Co/moksifloksasin etkileşimi DPP ve DC polarografisi ile incelenmiştir. İlk olarak Co(II)/moksifloksasin için pH taraması çalışması yapılmıştır. B-R stok tampon çözeltisinden pH 5 ile 11 arasında tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Polarografi hücresine 10 mL B-R tamponu konulmuş ve çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak amacı ile hücreden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilerek destek elektrolitin polarogramı kaydedilmiştir. Ardından 10,0 mL'lik B-R tamponu bulunan polarografi hücresine 300µL $1,0 \times 10^{-3}$ M Co(II) çözeltisinden ve $1,0 \times 10^{-3}$ M moksifloksasin çözeltisinden eklenerek azot gazı geçirildikten sonra polarogramlar kaydedilmiştir. pH 5 ile 11 arasında seçilen pH'larda bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda civa elektrot üzerinde -1,38 V'daki Co(II) ve -1,48 V'da ki moksifloksasin piklerine ilaveten her iki türden daha pozitif potansiyel olan -1,17 V'daki Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait çok keskin bir pik gözlenmiştir. Şekil 5.10.'da $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II), $3,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasin ve $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/moksifloksasin çözeltilerinin ayrı ayrı hücrelerde kaydedilen polarogramları

görülmektedir. Buna göre $-1,17$ V'daki Co(II)/moksifloksasin piki en yüksek duyarlılığa sahip olup eser miktardaki Co(II)'nin DPP ile tayininde yeni bir metot olarak kullanılabilir.



Şekil 5.10. Moksifloksasin, Co(II) ve Co(II)/moksifloksasin polarogramları

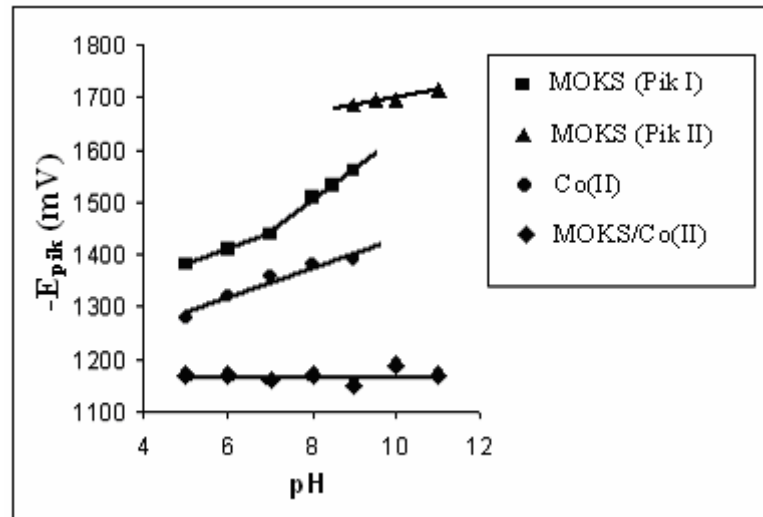
- a) 10 mL pH 8 B-R tamponu
- b) Sadece $3,0 \times 10^{-5}$ M Co^{2+}
- c) Sadece $3,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin
- d) $3,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin + $3,0 \times 10^{-5}$ M Co^{2+}

$3,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasin, $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II) ve $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/moksifloksasin kompleksinin pH taramasından elde edilen pik potansiyelleri, Çizelge 5.7.'de verilmiştir.

Çizelge 5.7. Moksifloksasin, Co(II) ve Co(II)/moksifloksasin pik potansiyellerinin pH ile değişimi

pH	5	6	7	8	9	10	11
E_{pik} (V) (MOX)	-1.36	-1.38	-1.41	-1.48	-1.55	-1.66	-1.54
E_{pik} (V) (Kompleks)	-1.17	-1.17	-1.16	-1.17	-1.15	-1.19	-1.17
E_{pik} (V) Co(II)	-1,28	-1,32	-1,36	-1,38	-1,39	–	–

Şekil 5.11.'de ise $3,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasinin, $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)'nin ve $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/moksifloksasinin pik potansiyellerinin pH ile değişimi görülmektedir.

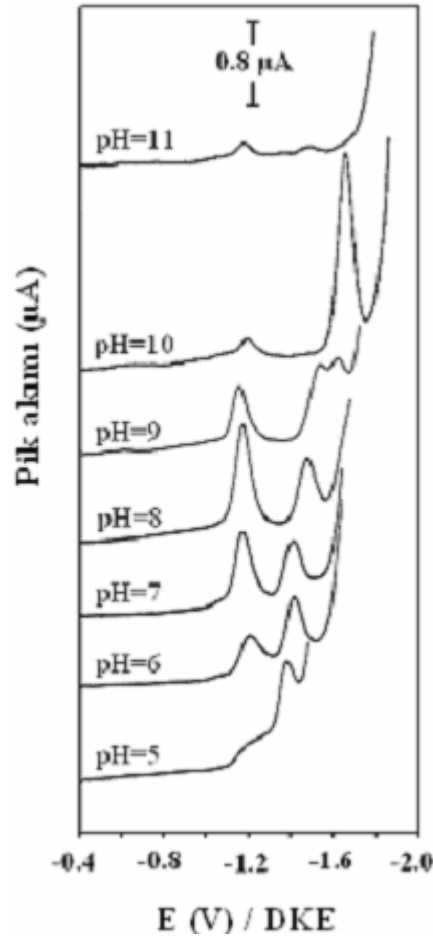


Şekil 5.11. Moksifloksasin, Co(II) ve Co(II)/moksifloksasin pik potansiyellerinin pH ile değişimi

Yapılan pH taraması çalışması sonucunda moksifloksasinin indirgenme pik potansiyelinin pH arttıkça daha negatif potansiyellere kaydığı ancak Co(II)/moksifloksasine ait indirgenme pikinin pH ile değişmediği görülmüştür. Komplekse ait indirgenme pikinin pH ile değişmemesi, Co(II)/moksifloksasin kompleksinin indirgenmesinde protonun yer almadığını gösterir. Genellikle metallerin kompleks oluşturması sonucunda metalin indirgenmesi zorlaşır ve metal daha negatif potansiyelerde indirgenmeye başlar. Ancak Co(II)/moksifloksasin kompleksindeki Co(II)'nin indirgenmesi daha pozitif potansiyelerde gerçekleşmiştir.

Bu da elektrot reaksiyonunda herhangi bir protonun yer almadığını gösterir. Ayrıca indirgenmenin kolaylaşması yani hem Co(II) hem de moksifloksasinden daha pozitif potansiyelde olmasında indirgenme ürününün adsorpsiyonundan olabilir. Çünkü ürünün adsorpsiyonu daha düşük enerjide gerçekleşir ve bu da daha pozitif potansiyelerde indirgenmeyi gerektirir.

Co(II)/moksifloksasin kompleksi için pH 5 ile 11 arasında moksifloksasine ve Co(II)/moksifloksasine ait iki indirgenme piki gözlenmiştir. pH 9'da gözlenen üçüncü pik ise moksifloksasinin keto enol oluşumundan kaynaklanan ikinci indirgenme pikidir, pH taramasıyla elde edilen polarogramlar şekil 5.12. görülmektedir.

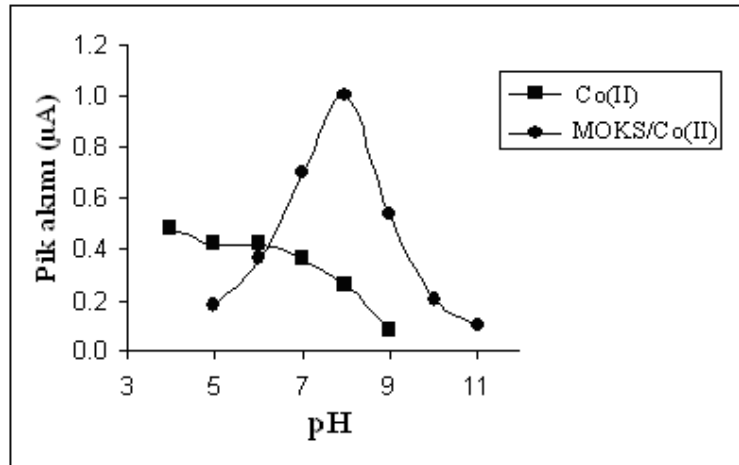


Şekil 5.12. pH 5-11 arasında Co(II)/moksifloksasin kompleksinin polarogramları

Yapılan çalışmalarda pH 5 ile 8 arasında Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait pik akımı artmış ve pH 8’de maksimuma ulaşmıştır. Bu pH’dan sonra pH arttıkça komplekse ait indirgenme piki keskin bir şekilde azalmaya başlamıştır. Bu yüzden moksifloksasin kullanılarak Co(II) tayini için yapılan analitik çalışmalar için pH 8 B-R tamponunun uygun olduğuna karar verilmiştir. $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II) ve $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/moksifloksasinin pH ile pik akımlarının değişimi çizelge 5.8. ve Şekil 5.13.’de görülmektedir.

Çizelge 5.8. Co(II) ve Co(II)/moksifloksasinin pH 5-11 arasındaki pik akım değerleri

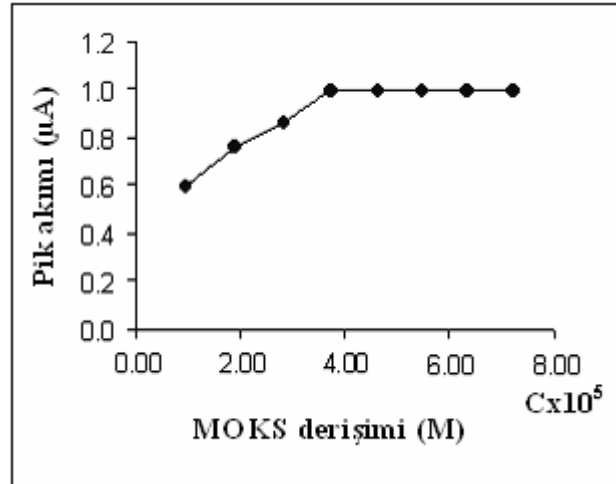
pH	5	6	7	8	9	10	11
$\dot{I}_{\text{pik}} (\mu\text{A})$ (Co(II))	0.42	0.42	0.36	0.26	0.08	-	-
$\dot{I}_{\text{pik}} (\mu\text{A})$ (Kompleks)	0.18	0.36	0.70	1.00	0.54	0.20	0.01



Şekil 5.13. Co(II) ve Co(II)/moksifloksasinin pik akımlarının pH ile değişimi

Elde edilen sonuçlardan da görüldüğü gibi Co(II)’nin pik akımı pH 6’dan başlayarak gittikçe azalmış ve ölçülemez hale gelmiştir, Co(II)/moksifloksasinin indirgenme akımı ise pH arttıkça artmış ve pH 8’de maksimuma ulaşmıştır. Özellikle pH 7’den sonra kompleks pikinin, Co(II) indirgenme pikinden daha avantajlı olduğu ve Co(II) tayininin bu pik üzerinden yapılabileceği görülmektedir.

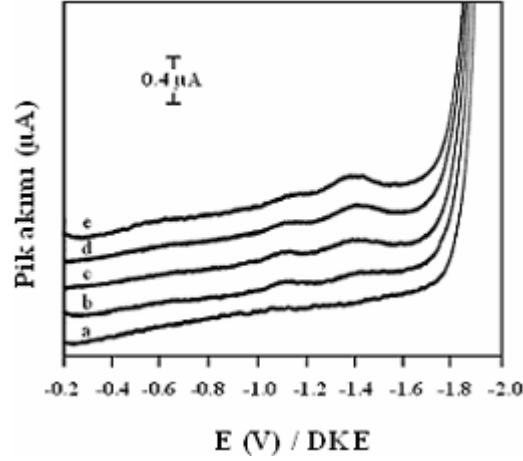
Co(II)/moksifloksasin için en uygun pH seçildikten sonra uygun moksifloksasin derişimi saptanmaya çalışılmıştır. Bunun için ilk olarak pH 8 tamponundaki $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II) içeren çözeltiye, $1,0 \times 10^{-3}$ M'lık moksifloksasin çözeltisinden giderek artan hacimlerde ilaveler yapılmıştır. $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II) içeren çözeltiye moksifloksasinin ilavesi ile Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait yeni pik ortaya çıkmış ve moksifloksasin ilaveleri ile bu pikin yüksekliği artmıştır. Hücredeki moksifloksasin derişimi $3,0 \times 10^{-5}$ M olduğunda ise pik yüksekliği maksimum değere ulaşmış ve bu derişimden sonra moksifloksasin ilaveleri ile pikin yüksekliği değişmemiştir. (Şekil 5.14.) Burada elde edilen verilerden Co(II)/moksifloksasin kompleksi için metal:ligand oranının 1:1 olabileceğine karar verilmiştir.



Şekil 5.14. Uygun moksifloksasin derişiminin tespiti

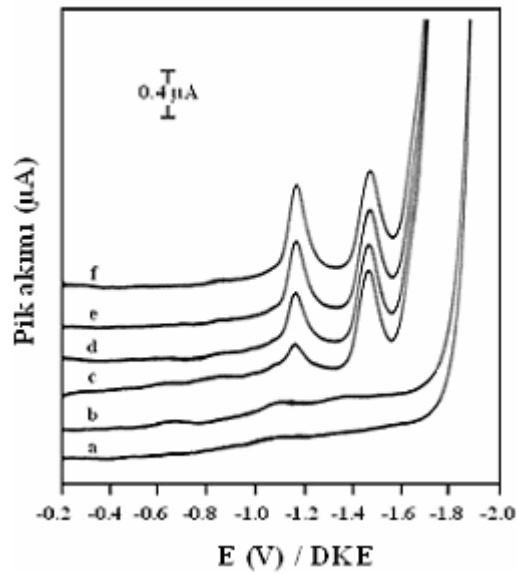
Şekil 5.15. ve 5.16.' da moksifloksasin kullanılarak ve moksifloksasin kullanılmadan yapılan Co(II) tayinleri görülmektedir. Her iki çalışmada aynı şartlarda ve aynı derişimlerde yapılmıştır. Şekil 5.15.'de görüldüğü gibi Co(II) oldukça düşük pik akımına ve yayvan pik karakterine sahiptir. Dolayısıyla eser miktarlardaki Co(II)'nin doğru tayinine imkan vermemektedir. Şekil 5.16.'da ise ortama moksifloksasinin eklendiğinde -1,38 V'daki Co(II) ve -1,48 V'daki moksifloksasin piklerinden daha pozitif potansiyel olan -1,17 V'da ortaya çıkan Co(II)/moksifloksasin kompleksine

ait olan yeni pik, çok düşük pik akımına ve yayvan pik karakterine sahip olan Co(II) pikine göre, daha düşük miktarlardaki Co(II) tayini için avantaj oluşturmaktadır.



Şekil 5.15. Moksifloksasin kullanılmadan Co(II) tayini

- a) 10 mL pH 8 B-R tampon
- b) a + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+} + 25 μL 1.0×10^{-3} M Ni^{2+}
- c) b + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+}
- d) c + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+}
- e) d + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+}



Şekil 5.16. Moksifloksasin kullanılarak Co(II) tayini

- a) 10 mL pH=8 B-R tamponu
- b) a +25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+} + 25 μL 1.0×10^{-3} M Ni^{2+}
- c) b +250 μL 1.0×10^{-3} M Mox
- d) c + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+}
- e) d + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+}
- f) e + 25 μL 1.0×10^{-3} M Co^{2+}

Ayrıca Co(II)/ moksifloksasin kompleksinin indirgenme reaksiyonunun tersinir yada tersinmez olduğunun tespiti için pH 8 B-R tamponunda $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/ moksifloksasin kompleksi hazırlanmış ve DC polarogramı alınmıştır. Polarogramlardan $E_{1/2}$, $E_{3/4}$ ve $E_{1/4}$ değerleri ve karşılık gelen akımlardan ,

$$E = E_{1/2} - (0,059/\alpha n)\log(i/i_d - i)$$

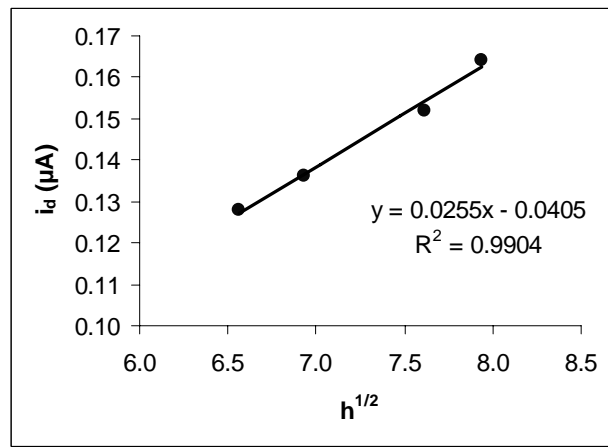
formülüne göre $\log(i/i_d - i)$ 'ye karşı E değerleri grafiğe geçirilmiştir. Grafiklerden elde edilen doğruların eğimleri αn 'e eşit olup n değeri 2 alınarak ortalama α değeri $0,63 \pm 0,07$ bulunmuştur. α değerinin 1'den küçük olması indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunu gösterir.

Polarografik dalga özellikleri

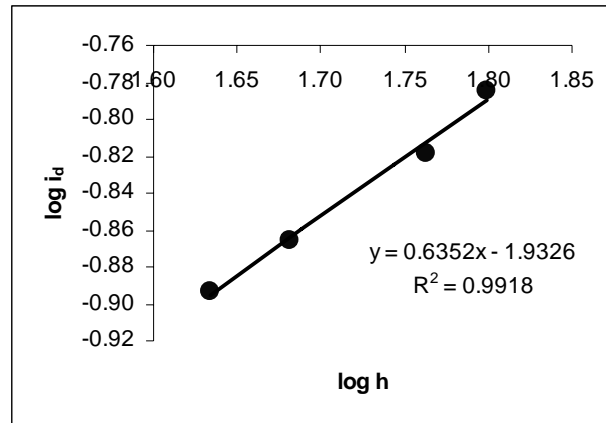
Oluşan Co(II)/moksifloksasin kompleks pikinin indirgenme reaksiyonunun difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığının belirlenmesi için dalga özellikleri incelenmiştir. Bu çalışma kapsamında kolon yüksekliğinin , sıcaklığın ve destek elektrolit derişiminin etkisi incelenmiş ve elektrokapiler etki çalışılmıştır.

Kolon yüksekliğinin pik akımına etkisini incelemek amacı ile, pH 8 B-R tamponunda $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/ Moksifloksasin çözeltileri hazırlanmış ve çeşitli civa haznesi yüksekliklerinde DP ve DC polarogramları kaydedilmiştir. Çalışılan civa kolon yükseklikleri 43 cm, 48 cm, 58cm ve 68 cm'dir. Yapılan bu çalışma sonucunda kolon yüksekliği arttıkça pik akımının arttığı gözlenmiştir. Pik akımı (i_d) ve kolon

yüksekliği (h) verilerinden yararlanarak ; kolon yüksekliğinin kareköküne ($h^{1/2}$) karşı pik akımı (i_p) grafiğe geçirilmiş ve grafiğin doğrusal çıkması indirgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Şekil 5.17.). Ancak kolon yüksekliğinin logaritmasına ($\log h$) karşı difüzyon akımının logaritması ($\log i_p$) grafiğe geçirildiğinde doğrunun eğiminin 0,5'ten büyük olması indirgenme reaksiyonunun hem difüzyon hemde absorpsiyon kontrollü olduğunu gösterir (Şekil 5.18.).



Şekil 5.17. Cıva kolon yüksekliğine ($h^{1/2}$) karşı dalga yüksekliği (w) grafiği

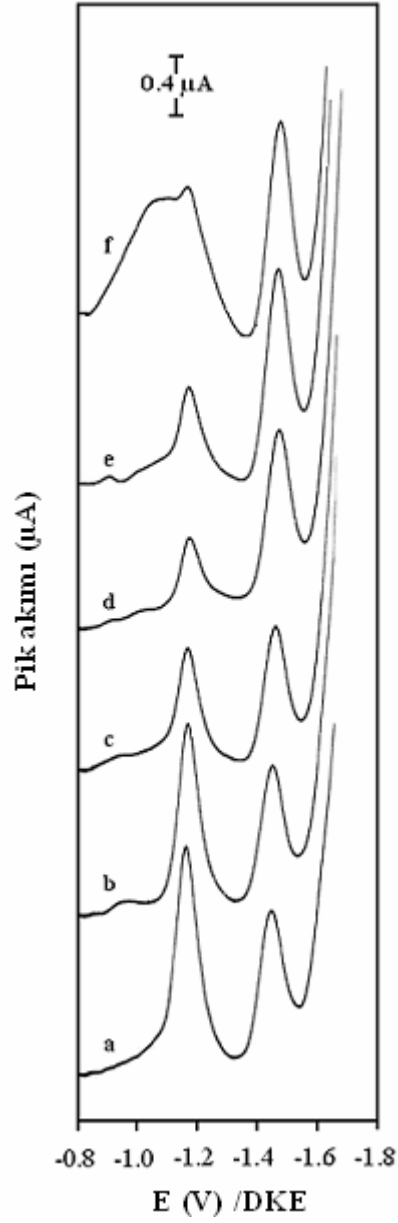


Şekil 5.18. Cıva kolon yüksekliğine karşı ($\log i_d$) difüzyon akımı (i_d) grafiği

Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin indirgenme reaksiyonunun difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığının kontrolü için destek elektrolitin derişiminin pik akımı üzerine etkisi incelenmiştir. pH 8 B-R tamponunun derişimi 0,03 M ile

0,12 M arasında değiştirilerek, bu derişimlerdeki tampon çözeltilerde $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/moksifloksasin kompleksinin polarogramları kaydedilmiştir. Destek elektrolitin derişimi ile pik yüksekliğinin hemen hemen değişmemesi indirgenme reaksiyonunda difüzyon kontrolünün de etkili olduğunu gösterir.

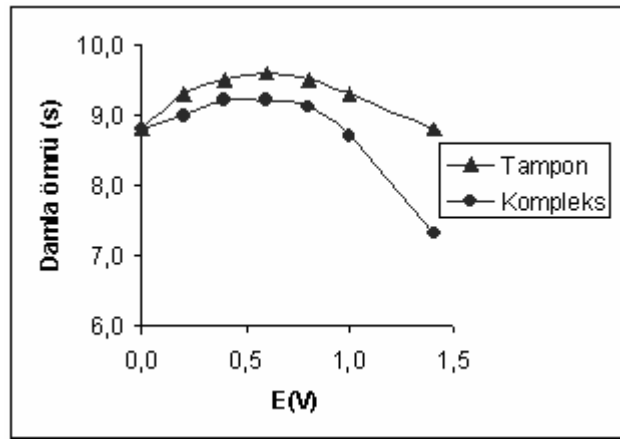
Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin indirgenme pikine sıcaklığın etkisi incelendiğinde sıcaklık arttıkça kompleks pikinin azaldığı, ayrıca 50 °C ve daha yüksek sıcaklıklarda kompleksin bozulduğu görülmektedir. Şekil 5.19.'da çeşitli sıcaklıklarda pH 8 B-R tamponundaki $3,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin polarogramları görülmektedir.



Şekil 5.19. Farklı sıcaklıklarda Co(II)/moksifloksasinin pik akımları
a)18 °C b)24 °C c)32 °C d)36 °C e)46 °C f)50 °C

Sıcaklık arttıkça Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin indirgenme pikinin azalması indirgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunun bir kanıtıdır. Çünkü olay difüzyon kontrollü olsa idi Ilkoviç eşitliğine göre sıcaklık arttıkça difüzyon akımında artması gerekirdi. Sıcaklık artışı ile pik akımının azalması indirgenme reaksiyonunda adsorpsiyonun etkili olduğunun göstergesidir.

pH 8 B-R tamponu ve $1,0 \times 10^{-4}$ M Co(II)/Moksifloksasin kompleksi için çeşitli potansiyelerde damla ömrü hesaplanmıştır. Potansiyele karşı damla ömrü grafiğe geçirilmiş ve elde edilen grafik şekil 5.20.'da gösterilmiştir. Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin indirgenliği $-1,17$ V civarında damla ömründe ani bir düşüş gözlenmektedir. Damla ömründeki bu ani düşüş yani damla ömrünün kısılması , damlanın daha hızlı kopması yüzey geriliminin düştüğünü gösterir. Bu da elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu destekler.



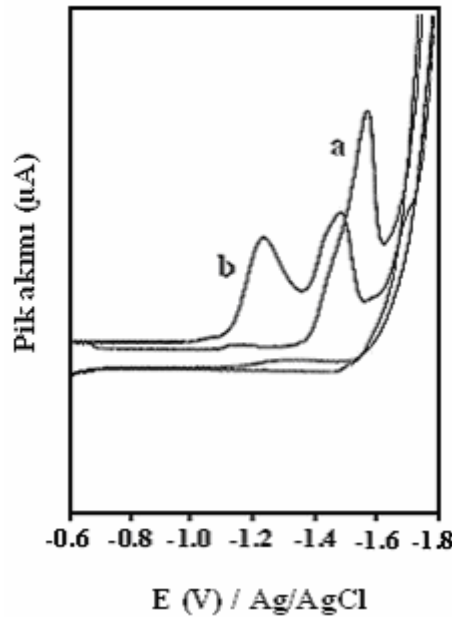
Şekil 5.20. Elektrokapiler etki

Tüm bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin indirgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu ancak olayda difüzyonunda sınırlı bir şekilde etkili olduğunu göstermektedir.

Dönüşümlü voltametri (CV) ile yapılan çalışmalar

Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin asılı civa damla eletrodu üzerindeki dönüşümlü voltamogramları pH 8 B-R tamponunda, değişik potansiyel tarama hızlarında incelendi (Ag/AgCl'ye karşı). Bunun için 10 mL $1,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/Moksifloksasin kompleksi içeren hücreden 5 dakika azot gazı geçirilmiştir. Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin asılı civa damla eletrodu üzerindeki dönüşümlü voltamogramlarının incelenmesi için $-1,80$ V'a kadar önce negatif potansiyelde daha sonrada $-1,80$ V'tan

-0,60 V'a kadar pozitif yönde potansiyel taraması yapılmıştır. Daha sonra aynı çalışmalar $1,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasin ile gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 5 mVs^{-1} , 10 mVs^{-1} , 25 mVs^{-1} , 50 mVs^{-1} , 75 mVs^{-1} , 100 mVs^{-1} , 250 mVs^{-1} , 750 mVs^{-1} ve 1000 mVs^{-1} 'de tarama hızlarında tekrarlanmıştır. Şekil 5.21'de $1,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin ve $1,0 \times 10^{-5}$ M moksifloksasinin pH 8 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramları verilmiştir.



Şekil 5.21. Moksifloksasin ve Co(II)/moksifloksasinin dönüşümlü voltamogramları
a) $1,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin
b) $1,0 \times 10^{-5}$ M Co(II)/ Moksifloksasin
* Tarama hızı 1000 mVs^{-1} , pH 8 B-R tampon çözeltisi içinde

Co(II)/Moksifloksasin kompleksi ve moksifloksasinin dönüşümlü voltamogramları incelendiğinde, b voltamogramında -1,58 V'dan daha pozitif potansiyel olan -1,22 V'da kompleks pikine ait yeni pik görülmektedir. Ayrıca hem Co(II)/Moksifloksasin kompleksi hem de Moksifloksasin için pozitif yöndeki potansiyel taramasında herhangi bir anodik pik görülmemektedir.

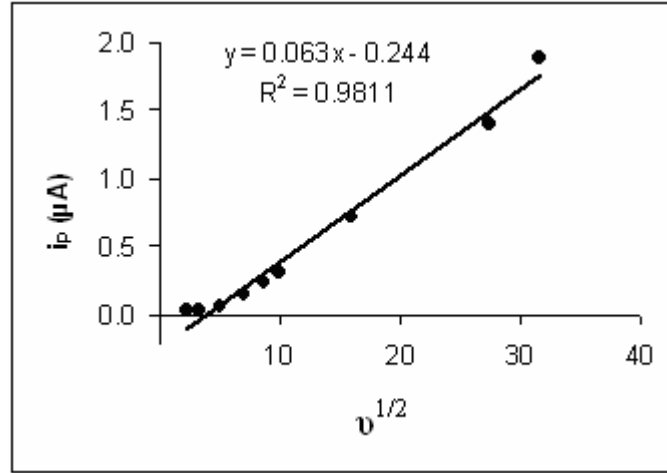
Değişik tarama hızlarında pH 8 B-R tamponunda elde edilen CV verileri çizelge 5.9.'de verilmiştir.

Çizelge 5.9. CV çalışmaları sonucu elde edilen veriler

v (mVs⁻¹)	i_p (μA)	-E_{pik} (mV)
5	0,0293	1293
10	0,0321	1309
25	0,0631	1378
50	0,1478	1397
75	0,2254	1401
100	0,3066	1409
250	0,7068	1423
750	1,392	1469
1000	1,890	1479

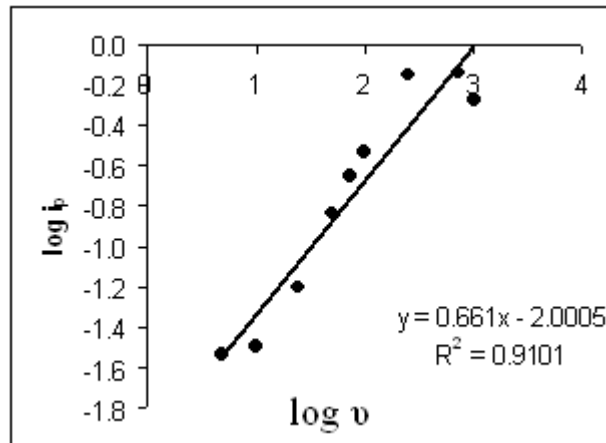
Çizelgedeki verilerden de görüldüğü gibi tarama hızı arttıkça Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait indirgenme pikinin potansiyeli daha negatif değerlere kaymıştır. Pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında herhangi bir anodik pikin gözlenmemesi ve tarama hızı arttıkça pik potansiyelinin daha negatif değerlere kayması Co(II)/Moksifloksasinin indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunun göstergesidir.

Co(II)/Moksifloksasin kompleksi için, potansiyel tarama hızı çalışmaları ile elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olup olmadığı incelenebilir. Bunun için tarama hızının kareköküne karşı $v^{1/2}$, pik akımı değerleri grafiğe geçirilmiş, elde edilen grafik Şekil 5.22.'de verilmektedir.



Şekil 5.22. Dönüşümlü voltametrde tarama hızına ($v^{1/2}$) karşı akım grafiği

Tarama hızının kareköküne karşı $v^{1/2}$, pik akımı değerleri grafiğe geçirildiğinde grafiğin doğrusal çıkması indirgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Ayrıca $\log v$ 'ye karşı $\log i_p$ değerleri grafiğe geçirildiğinde elde edilen grafik şekil 5.23.'de verilmiştir. Doğrunun eğiminin 0,66 çıkması indirgenme olayın adsorpsiyon kontrollü olduğunu ancak difüzyonunda indirgenme olayında sınırlı miktarda etkili olduğunu göstermektedir.

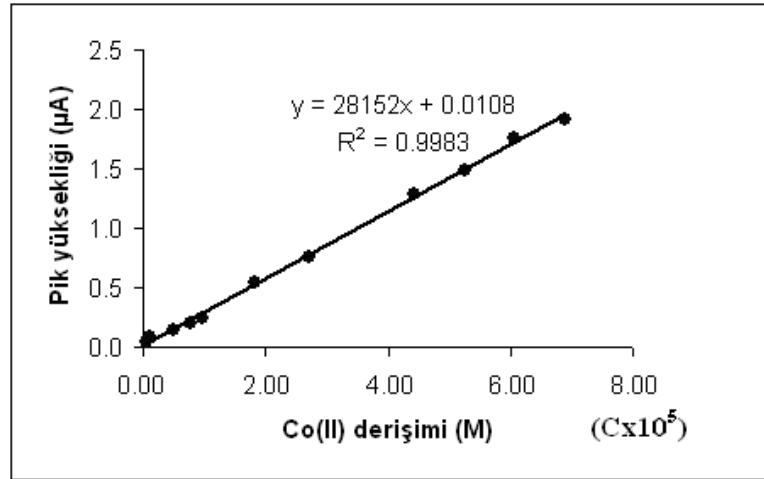


Şekil 5.23. Dönüşümlü voltametrde tarama hızına ($\log v$) karşı akım ($\log i_p$) grafiği

5.2.2. Analitik uygulamalar

Kalibrasyon çalışması

Co(II)/moksifloksasin kompleks piki için Co(II) ilaveleriyle bir kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır (Şekil 5.24.). Elde edilen bu kalibrasyon grafiğinden çalışma aralığı $4,93 \times 10^{-7}$ M - $6,90 \times 10^{-5}$ M Co(II) olarak bulunmuştur.

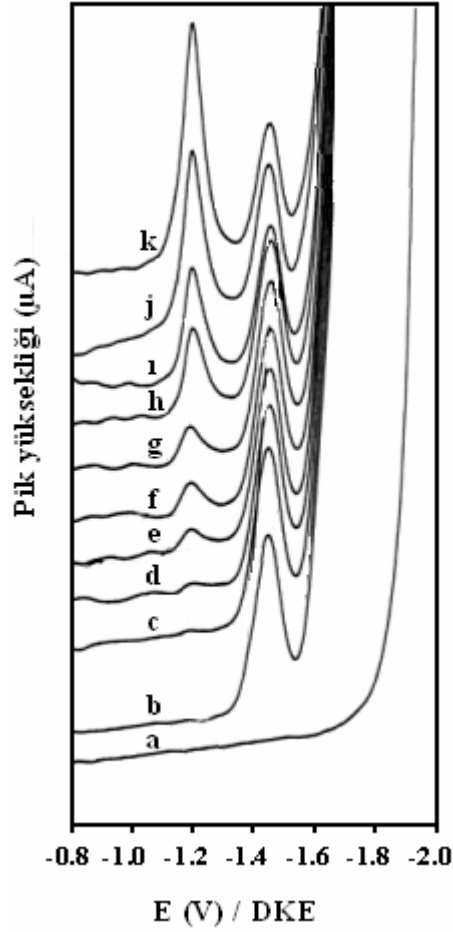


Şekil 5.24. Co(II) tayini için kalibrasyon grafiği

Co(II) 'nin polarografik tayini moksifloksasin kullanılarak -1,17 V'daki yeni pikten yapılabilmektedir ve Co(II) tayini için elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi aşağıda verildiği gibidir.

$$I(\mu A) = 2,8 \times 10^4 C(M) + 0,0108 \quad r = 0,9991 \quad (n=5)$$

Şekil 5.25.'de $1,0 \times 10^{-4}$ M moksifloksasin üzerine Co(II) ilaveleriyle elde edilen ve Co(II) tayinine imkan veren DPP polarogramları görülmektedir.



Şekil 5.25. Kalibrasyon çalışmasında elde edilen polarogramlar

- a) 9,2 mL pH 8 BR tamponu b) +800 µL $1,0 \times 10^{-5}$ M Moksifloksasin
 c) +50 µL $1,0 \times 10^{-4}$ M Co(II) d) +50 µL $1,0 \times 10^{-4}$ M Co(II) e) +40 µL
 $1,0 \times 10^{-3}$ M Co(II) f) +30 µL $1,0 \times 10^{-3}$ M Co(II) g) +20 µL $1,0 \times 10^{-3}$ M
 Co(II) h) +20 µL $1,0 \times 10^{-2}$ M Co(II) ı) +30 µL $1,0 \times 10^{-2}$ M Co(II) j)
 +20 µL $1,0 \times 10^{-2}$ M Co(II) k) +20 µL $1,0 \times 10^{-2}$ M Co(II)

Kalibrasyon çalışması sonucunda elde edilen verilerden gözlenebilme sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen kalibrasyon denkleminde ; doğrunun eğimi %1,38 bağıl standart sapma ile $m = (2.82 \pm 0.0390) \times 10^4$ ve kesim noktası % 8,50 bağıl standart sapma ile $a = (1.07 \pm 0.091) \times 10^{-2}$ olarak bulunmuştur. LOD ve LOQ değerleri $k \times S_b / m$ 'ye göre sırası ile 9.7×10^{-8} M ve 3.2×10^{-7} M (LOD için $k=3$ ve LOQ için $k=10$) olarak hesaplanmıştır. Buradaki S_b kesim noktasının standart sapması, m ise kalibrasyon grafiğinin eğimidir. Bu veriler Co(II) tayini için geliştirilen metodun yeterli duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir.

Moksifloksasin kullanılarak diferansiyel puls polarografisi ile Co(II) tayini için geliştirilen yöntemin doğruluğunu göstermek amacıyla, hazırlanan sentetik numunelerde, standart deniz suyu numunesi SRM 1643e'de ve çeşme suyunda Co(II) tayinleri yapılmıştır.

Sentetik karışımlarda Co(II) tayini

Sentetik karışımların hazırlanması için Co(II) yanında Cd(II), Ni(II) ve Zn(II) iyonlarını içeren ikili, üçlü ve dörtlü karışımlar hazırlanmıştır (Çizelge 5.10.). Tüm sentetik karışımlardaki Co(II) miktarı $2,5 \times 10^{-6}$ M olup diğer iyonların derişimleri değiştirilmiştir. Tayinler pH 8 B-R tamponunda gerçekleştirilmiştir.

Moksifloksasin kullanılmadan $2,5 \times 10^{-5}$ M Co(II) 'nin DPP ile tayini Co(II) 'nin çok zayıf pik akımı ve diğer iyonların (zellikle Ni(II) ve Zn(II)) girişim etkisinden dolayı neredeyse imkansız olacaktı. Ancak Co(II), Cd(II), Ni(II) ve Zn(II) içeren çözeltiye Moksifloksasin ilavesinden sonra elde edilen -1,17 V'daki yeni pikten, Co(II) tayinleri %8,0'den daha düşük bağıl hatalarla ve bağıl standart sapmayla elde edilebilmektedir. Örneğin $2,50 \times 10^{-6}$ M Co(II) tayini 5×10^{-6} M Zn(II), Ni(II) ve Cd(II) yanında %+6,0 bağıl hata ve %3,01 bağıl standart sapma yapılabilir.

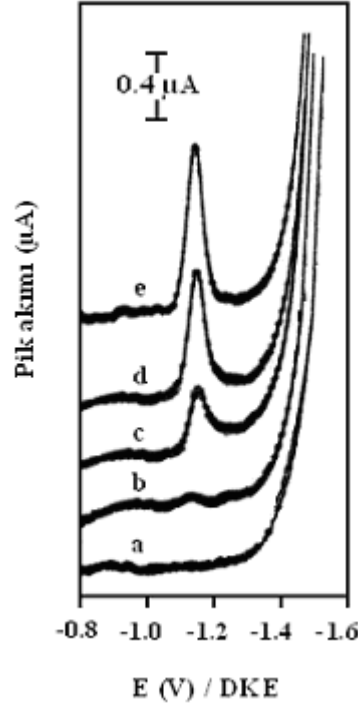
Çizelge 5.10. Sentetik karışımlarda Co(II) tayini (N=4)

Sentetik numuneler	Co(II), (M) ($\bar{x} \pm s$)	Bağlı Standart Sapma (%)	Bağlı Hata (%)
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Cd(II)	(2.48 ± 0.15)x10 ⁻⁶	6.05	-0.80
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Cd(II)	(2.62 ± 0.24)x10 ⁻⁶	9.16	+4.80
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 5.00x10 ⁻⁶ M Cd(II)	(2.50 ± 0.15)x10 ⁻⁶	6.00	0.00
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Ni(II)	(2.45 ± 0.10)x10 ⁻⁶	4.08	-2.00
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Ni(II)	(2.37 ± 0.15)x10 ⁻⁶	6.37	-5.20
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 5.00 x10 ⁻⁶ M Ni(II)	(2.53 ± 0.21)x10 ⁻⁶	8.30	+1.20
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Zn(II)	(2.30 ± 0.09)x10 ⁻⁶	3.91	-8.00
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Zn(II)	(2.55 ± 0.18) x10 ⁻⁶	7.06	+2.00
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 5.00 x10 ⁻⁶ M Zn(II)	(2.55 ± 0.13) x10 ⁻⁶	5.10	+2.00
2.5x10 ⁻⁶ M Co(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Cd(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Ni(II)	(2.42 ± 0.10)x10 ⁻⁶	4.13	-3.20
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Cd(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Ni(II)	(2.58 ± 0.15)x10 ⁻⁶	5.81	+3.20
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 5.00x10 ⁻⁶ M Cd(II); 5.00x10 ⁻⁶ M Ni(II)	(2.53 ± 0.14) x10 ⁻⁶	5.53	+1.20
2.5x10 ⁻⁶ M Co(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Cd(II); 1.25x10 ⁻⁶ M Ni(II);1.25x10 ⁻⁶ M Zn(II)	(2.43 ± 0.11) x10 ⁻⁶	4.53	-2.80
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Cd(II); 2.50x10 ⁻⁶ M Ni(II) ; 2.50x10 ⁻⁶ M Zn(II)	(2.45 ± 0.06) x10 ⁻⁶	2.45	-2.00
2.50x10 ⁻⁶ M Co(II); 5.00x10 ⁻⁶ M Cd(II); 5.00x10 ⁻⁶ M Ni(II) ; 5.00 x10 ⁻⁶ M Zn(II)	(2.66 ± 0.08) x10 ⁻⁶	3.01	+6.40

Geliştirilen yöntemle sentetik numunelerde Co(II) tayini kabul edilebilecek doğruluk ve kesinlikte gerçekleştirilmiştir.

Deniz suyuna ve çeşme suyunda Co(II) 'nin tayini

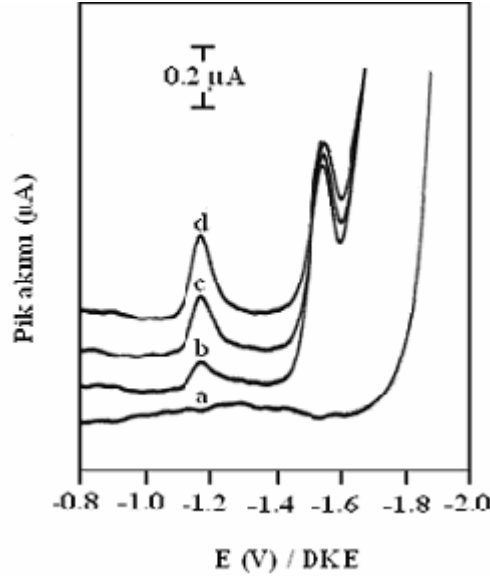
Co(II)'nin tayini için geliştirilen yöntemin doğruluğu ve Co(II)/Moksifloksasin kompleks pikine gerçek numune ortamındaki matriks etkisinin araştırılması için , geliştirilen yöntem sertifikalı deniz suyu numunesine (SRM 1643e) ve çeşme suyuna eklenen Co(II)'nin tayininde kullanılmıştır. Sertifikalı deniz suyu numunesi ve çeşme suyu numunesindeki Co(II) miktarı geliştirilen yöntemin tayin sınırının altında kaldığı için, eklenen Co(II)'nin tayini gerçekleştirilmiştir. Öncelikle deniz suyu ve çeşme suyu numunesinin pH'sı B-R tamponu ile 8,0'e ayarlanmıştır. Daha sonra bilinen miktarda Co(II) numunelere eklenerek Co(II) gerçek numune ortamına alınmıştır. Ardından ortama moksifloksasin eklenmiş ve Co(II)/moksifloksasin kompleksi sağlanmıştır. Ortamdaki Co(II) miktarı standart Co(II) ilaveleri yapılarak elde edilen kompleks piki üzerinden tayin edilmiştir. Şekil 5.26.'daki (b) polarogramına bakıldığında $5,25 \times 10^{-6}$ M Co(II)'ye ait pik akımının görülemediği ve Co(II) tayini için kullanılamayacağı görülmektedir. Ortama ilave edilen Moksifloksasin ile Co(II) tayinine imkan veren -1,17 V'daki kompleks piki (Şekil 5.26.) üzerine standart Co(II) ilavesiyle (Şekil 5.26.d-e) deniz suyu numunesine ilave edilen Co(II) tayini kolaylıkla yapılabilmektedir. Geliştirilen yöntemle deniz suyu ortamındaki $5,23 \times 10^{-6}$ M Co(II) -%3,25 bağıl hata ve %3,56 bağıl standart sapma ile %95 güven seviyesinde tayin edilmiştir (n=4). Metottaki geri kazanım %97 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.26. SRM1643e deniz suyuna eklenen Co(II)' in tayini

- a) 8.0 mL SRM1643e deniz suyu numunesi + 1.0 mL pH 8 B-R tamponu
- b) +50 µL $1,0 \times 10^{-3}$ M Co(II)
- c) +500 µL $1,0 \times 10^{-3}$ M MOX
- d) +50 µL $1,0 \times 10^{-3}$ M standart Co(II) ilavesi
- e) +50 µL $1,0 \times 10^{-3}$ M standart Co(II) ilavesi

Şekil 5.27.' deki (a) polarogramı çeşme suyu numunesine ilave edilen $4,74 \times 10^{-6}$ M Co(II)'ye ait olup herhangi bir pik akımı görülmektedir. Moksifloksasin ilavesinden sonra ortaya çıkan -1,17 V'daki Co(II)/Moksifloksasin adsorpsiyon piki Co(II)'nin indirgenmesini kolaylaştırmakta ve pik duyarlılığını artırmaktadır. Bu pik üzerine yapılan standart Co(II) ilaveleriyle (Şekil 5.27.c-d) çeşme suyundaki $4,74 \times 10^{-6}$ M Co(II) -%2,53 bağıl hata ve %5,19 bağıl standart sapma ile %95 güven seviyesinde (n=4) tayin edilmiştir. Metottaki geri kazanım %97,47'dir. Deniz suyu ve çeşme suyu için elde edilen analiz sonuçları Çizelge 5.11'de verilmektedir. Görüldüğü gibi Co(II) tayini için geliştirilen metodun doğruluğu ve kesinliği gerçek numune ortamında da kabul edilebilir sınırlardadır.



Şekil 5.27. Çeşme suyuna eklenen Co(II)'nin tayini

- a) 9.0 mL çeşme suyu + 1.0 mL pH 8 B-R + 50 µL 1.0×10^{-3} M Co(II)
 b) +500 µL 1.0×10^{-3} M MOX
 c) +50 µL 1.0×10^{-3} M standart Co(II) ilavesi
 d) +50 µL 1.0×10^{-3} M standart Co(II) ilavesi

Hem çeşme suyu hem de standart deniz suyu numunesi SRM 1643e'nde yapılan çalışmalarda keskin polarografik pikler elde edilmiştir ve bulunan sonuçlar Çizelge 5.11.'de verilmiştir.

Çizelge 5.11. Deniz ve çeşme suyu ile elde edilen sonuçlar

Numune	Eklenen Co(II) (M)	Bulunan Co(II) (M) ($\mu = \bar{X} \pm \frac{tS}{\sqrt{N}}$)	Geri kazanım (%)	B.S.S (%)	B.H. (%)
SRM 1643e deniz suyu	$5,23 \times 10^{-6}$	$(5.06 \pm 0.18) \times 10^{-6}$	96.75	3,56	-3,25
Çeşme suyu	$4,74 \times 10^{-6}$	$(4.62 \pm 0.24) \times 10^{-6}$	97.47	5,19	-2,53

* Sonuçlar % 95 güven seviyesi ile 4 sonucun ortalamasıdır ($\bar{x} \pm \frac{t.S}{\sqrt{N}}$)

*B.S.S : Bağıl standart sapma B.H. : Bağıl Hata

5.2.3. Sonuçların özeti

Bu çalışmada moksifloksasin kullanılarak Co(II) tayini için yeni bir polarografik yöntem geliştirilmiştir. Elde edilen Co/moksifloksasin kompleks pikinin özellikleri DPP ve DC polarografisi ile incelenmiştir. Geliştirilen yöntem Co(II) içeren sentetik karışımlara, deniz ve çeşme suyuna uygulanmıştır.

1. Yapılan çalışma sonucunda civa elektrot üzerinde -1,38 V'daki Co(II) ve -1,48 V'daki moksifloksasin piklerine ilaveten her iki türden daha pozitif potansiyel olan -1,17 V'daki Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait çok keskin bir adsorpsiyon piki gözlenmiştir.
2. Yapılan pH taraması çalışması sonucunda Co(II) ve moksifloksasinin indirgenme pik potansiyelinin pH arttıkça daha negatif potansiyellere kaydığı ancak Co(II)/moksifloksasine ait kompleksin indirgenme pikinin pH ile değişmediği görülmüştür. Komplekse ait indirgenme pikinin pH ile değişmemesi, Co(II)/moksifloksasin kompleksinin indirgenmesinde protonun yer almadığını gösterir. Genellikle metallerin kompleks oluşturması sonucunda (kompleksleşme sonucu) metalin indirgenmesi zorlaşır ve metal daha negatif potansiyelerde indirgenmeye başlar. Ancak Co(II)/moksifloksasin kompleksindeki Co(II)'nin indirgenmesi daha pozitif potansiyelerde gerçekleşmiştir. Bu da elektrot reaksiyonunda herhangi bir protonun yer almadığını ve bu pikin bir adsorpsiyon piki olduğunu gösterir. Bu pikin daha keskin ve duyarlı olması da bunu desteklemektedir.
3. pH 5 ile 11 arasında yapılan çalışmada pH 5 ile 8 arasında pH arttıkça Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait pik akımı artmış ve pH 8'de maksimuma ulaşmıştır. Bu pH'dan sonra pH arttıkça komplekse ait indirgenme piki keskin bir şekilde azalmaya başlamıştır. Bu yüzden analitik çalışmalar için pH 8 B-R tamponunun uygun olduğuna karar verilmiştir.

4. Co(II)'nin pik akımı pH 6'dan başlayarak gittikçe azalmış ve ölçülemez hale gelmiştir. Co(II)/moksifloksasinin indirgenme akımı ise pH arttıkça artmış ve pH 8'de maksimuma ulaşmıştır. Özellikle pH 7'den sonra kompleks pikinin, Co(II) indirgenme pikinden daha avantajlı olduğu görülmüştür.
5. Co(II)/moksifloksasin için en uygun pH seçildikten sonra uygun moksifloksasin derişimi saptanmaya çalışılmıştır. elde edilen verilerden Co(II)/moksifloksasin kompleksi için metal:ligand oranının 1:1 olduğuna karar verilmiştir. Çok düşük Co(II) tayinleri için Moksifloksasin derişiminin en az 10 kat daha büyük tutulması gerektiği deneysel sonuçlarla ortaya çıkmıştır.
6. Co(II)/ moksifloksasin kompleksinin indirgenme reaksiyonunun tersinir olup olmadığını tespiti için $\log(i/i_d-i)$ 'ye karşı E değerleri grafiğe geçirilmiştir. Grafiklerden elde edilen doğruların eğimleri an 'e eşit olup n değeri 2 alınarak ortalama α değeri $0,63 \pm 0,07$ bulunmuştur. α değerinin 1'den küçük olması indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunu gösterir.
7. Co(II)/moksifloksasin kompleks pikinin indirgenme reaksiyonunun difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığını belirlenmesi için dalga karakteristikleri çalışması yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında kolon yüksekliğinin , sıcaklığın ve destek elektrolit derişiminin etkisi incelenmiş ve elektrokapiler etki çalışılmıştır.
8. Kolon yüksekliğinin pik akımına etkisini incelemek amacı ile kolon yüksekliğinin kareköküne karşı pik akımı grafiğe geçirilmiş ve grafiğin doğrusal çıkması indirgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir. Ancak kolon yüksekliğinin logaritmasına karşı difüzyon akımının logaritması grafiğe geçirildiğinde doğrunun eğiminin 0,5'ten büyük olması indirgenme reaksiyonunun hem difüzyon hem de absorpsiyon kontrollü olduğunu gösterir.

9. Destek elektrolitin derişimi ile pik yüksekliğinin hemen hemen değişmemesi indirgenme reaksiyonunda difüzyon kontrolünün de etkili olduğunu gösterir.
10. Sıcaklık arttıkça Co(II)/Moksifloksasin kompleksinin indirgenme pikinin azalması indirgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu bir kanıttır. Çünkü olay difüzyon kontrollü olsaydı İlkoviç eşitliğine göre sıcaklık arttıkça difüzyon akımında artması gerekirdi. Sıcaklık artışı ile pik akımının azalması indirgenme reaksiyonunda adsorpsiyonun etkili olduğunu göstergesidir.
11. Elektrokapiler etki çalışmasında kompleksin indirgendiği -1,17 V'daki damla ömründeki ani düşüş yani damla ömrünün kısılması , damlanın daha hızlı kopması yüzey geriliminin düştüğünü gösterir. Bu da elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu destekler.
12. Tüm bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar Co(II)/moksifloksasin kompleksinin indirgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu ancak olayda difüzyonunda sınırlı bir şekilde etkili olduğunu göstermektedir.
13. Dönüşümlü voltametri çalışmasında tarama hızı arttıkça Co(II)/moksifloksasin kompleksine ait indirgenme pikinin potansiyeli daha negatif değerlere kaymıştır. Pozitif yönde yapılan potansiyel taramasında herhangi bir anodik pikin gözlenmemesi ve tarama hızı arttıkça pik potansiyelinin daha negatif değerlere kayması Co(II)/moksifloksasinin indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunu göstergesidir.
14. Co(II)/Moksifloksasin kompleksi için, elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olup olmadığının incelenmesi için tarama hızının kareköküne karşı ($v^{1/2}$), pik akımı değerleri (i_p) grafiğe geçirildiğinde grafiğin doğrusal çıkması indirgenme reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Ayrıca $\log v$ 'ye karşı $\log i_p$ değerleri grafiğe geçirildiğinde doğrunun eğiminin 0,86 yani 1'e yakın çıkması indirgenme olayın adsorpsiyon

kontrollü olduğunu ancak difüzyonunda indirgenme olayında sınırlı miktarda etkili olduğunu göstermektedir.

15. Co(II)/moksifloksasin kompleks piki için kalibrasyon çalışması yapılmış ve bir kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Elde edilen bu kalibrasyon grafiğinden çalışma aralığı $4,93 \times 10^{-7}$ M - $6,90 \times 10^{-5}$ M olarak bulunmuştur.
16. Moksifloksasin kullanılarak diferansiyel puls polarografisi ile Co(II) tayini için geliştirilen yöntemin doğruluk çalışmaları; hazırlanan sentetik numunelerde, sertifikalı deniz suyu numunesinde (SRM 1643e) ve çeşme suyunda yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar yöntemin gerçek numunelere uygulanabileceğini göstermiştir.
17. Sentetik numunelerde yapılan çalışmalarla hem Co(II) tayini için önerilen metodun doğruluğu kontrol edilmiş hem de diğer iyonların kompleks pikine etkisi araştırılmıştır. Çalışmalar önerilen metodun kesinliğinin ve doğruluğunun diğer iyonların varlığında Co(II) tayini için uygun olduğunu göstermektedir.
18. Standart deniz suyu numunesi ve çeşme suyu numunesinde gerçekleştirilen deneylerde geri kazanım değerlerinin yüksek, bağıl hata değerlerinin ise düşük bulunması yöntemin doğruluğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Lemoine T., Breilh D., Ducint D., Dubrez J., Jougon J., Velly J.F., Saux M.C., "Determination of moxifloxacin (BAY 12-8039) in plasma and lung tissue by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection using a fully automated extraction method with a new polymeric cartridge", *Journal of Chromatography B*, 742: 247-254 (2000).
2. Kumar Y.R., Raju P.V.V., Kumara R.R., S. Eswaraiah S.,Mukkanti K., Suryanarayana M.V., Reddy S.M., "Structural identification and characterization of impurities in moxifloxacin", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34:1125-1129 (2004).
3. Zhanel G.G., Noreddin A.M., "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the new fluoroquinolones: focus on respiratory infections", *Current Opinion in Pharmacology*, 1:459-463 (2001).
4. Boubakar B.B., Etienne R., Ducint D., Quentin C., Saux M.C., "Determination of Moxifloxacin in growth media by high performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 754: 107-112 (2001).
5. Nguyen H.A., Grellet J., Boubakar B.B., Saux M.C., "Simultaneous determination of Levofloxacin, Gatifloxacin and Moxifloxacin in serum by liquid chromatography with column switching", *Journal of Chromatography B*, 810 : 77-83 (2004).
6. Vishwanathan K., Bartlett M.G., Stewart J.T., "Determination of moxifloxacin in human plasma by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30:961-968 (2002).
7. Crua L.A., Hall R., "Enantiomeric purity assay of moxifloxacin hydrochloride by capillary electrophoresis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38: 8 -13 (2005).
8. Möller J.G., Staß H., Heinig R., Blasckhe G., "Capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence: a routine method to determine moxifloxacin in human body fluids in very small sample volumes", *Journal of Chromatography B*, 716 : 325-334 (1998).
9. Trindade M.A.G., Silva G.M., Ferreira V.S., "Determination of moxifloxacin in tablets and human urine by square-wave adsorptive voltammetry", *Microchemical Journal*, 81:209-216 (2005).

10. Rizk M., Belal F., Aly F.A., El-Enany N.M., "Differential pulse Polarographic determination of Ofloxacin in pharmaceuticals and biological fluids", *Talanta*, 46: 83 - 89 (1998).
11. Song J., Shao Y., Guo W., "Determination of Lomefloxacin, an antibacterial drug, in pharmaceutical preparations based on its polarographic catalytic wave in the presence of 2- iodoacetamide", *Analytical Sciences*, 17:1145-1148 (2001).
12. Jain S., Jain N.K., Pitre K.S., "Electrochemical analysis of sparfloxacin in pharmaceutical formulation and biochemical screening of its Co(II) complex", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29:795 - 801 (2002).
13. Susana S., Fabrizio Q., Carmen C., Peter O., Milan J.S., "Concentrations Ni and Co in crop plants cultivated in Northern Chile", *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 47:279-287(2002).
14. Martin JH., Gordon RM., Fitzwater S., "Phytoplankton / iron studies in the Gulf of Alaska", *Deep-Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 36: 649-680 (1989).
15. Mak A.S., James W.M., "Temporal and spatial variability of cobalt in the Atlantic Ocean", *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(11):1943-1953 (2002).
16. Tunalı N.K., Özkar S., "Geçiş metalleri ve koordinasyon bileşikleri", Anorganik Kimya, *Gazi Kitapevi*, Ankara, 264-268, (1999).
17. Trueb L., "Corrosion problems in microelectronics", *Forschung und Technik* 58:69, (1987).
18. Kalaycıoğlu L., Serpek B., Nizamlıoğlu M., Başpınar N., Tiftik A.M., "Vitaminler", Biyokimya, *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 282-302, (2000).
19. Schrauzer GN., "Neuere entwicklungen auf dem gebiete des vitamin B12", *Angewandte Chemie*, 89:239-251 (1977).
20. Schrauzer GN., "Mechanisms of corrin dependent enzymatic reactions", *Fortschritteder Chemie Organischer Naturstoffe*, 31(0):583-628(1974).
21. Husokova L., Bobrowski A., Sramkova J., Krolicka A., Vytras K., "Catalytic adsorptive stripping voltammetry versus electrothermal atomic absorption spectrometry in the determination of trace cobalt and chromium in human urine", *Talanta*, 66:999-1004 (2005).

22. Safavi A., Shams E., "Highly sensitive and selective measurements of cobalt by catalytic adsorptive cathodic stripping voltammetry", *Talanta*, 51:1117-1123 (2000).
23. Korolczuk M., Moroziewicz A., Grabarczyk M., Paluszek K., "Determination of traces of cobalt in the presence of nioxime and cetyltrimethylammonium bromide by adsorptive stripping voltammetry", *Talanta*, 65 :1003-1007 (2005).
24. Zhang Z., Chen SZ., Lin HM., Zhang H., "Simultaneous determination of copper, nickel, lead, cobalt and cadmium by adsorptive voltammetry", *Analytica Chimica Acta* , 272:227-232 (1993).
25. Melian J.A.H., Brito J.H., "Direct determination of cobalt in unpurged oceanic seawater by high speed adsorptive cathodic stripping voltammetry", *Analytica Chimica Acta*, 299:59-67 (1994).
26. Nimmo M., Fones G., "Application of adsorptive cathodic stripping voltammetry for the determination of Cu, Cd, Ni and cobalt in atmospheric samples", *Analytica Chimica Acta*, 291:321-328 (1994).
27. Han J., Chen H., Gao H., "The study of differential pulse adsorptive stripping voltammetry of Co(II)", *Electroanalysis* 5:619-622 (1993).
28. Kajic P., Milosev I., Pihlar B., Pisot V., "Determination of trace cobalt concentrations in human serum by adsorptive stripping voltammetry", *Journal of trace Elements in Medicine and Biology*, 17:153-158 (2003).
29. Kucharska U., "Complexing influence of cobalt and nickel ions on the electrochemical reduction of pterin and related compounds at a mercury drop", *Talanta*, 44:85-96(1997).
30. Yamada A., Yoshikuni T., Kato Y., Tanaka N., "Computer-aided measurements of kinetic parameters of Electrode of Cobalt(III)- Amine complexes at mercury electrodes", *Analytica Chimica Acta*, 133:421-431 (1981).
31. Urbanska J., "Reduction mechanism of cobalt(II)- malonate and -succinate complexes at a dropping mercury electrode", *Analytica Chimica Acta*, 248:409-413 (1991).
32. Safavi A., Shams E., "Electrochemical analysis of cobalt reduction in the presence of methyl thymol blue and nitrite", *Electroanalysis*, 14:708-710 (2002).
33. Urbanska J.,Kozlowski H., Delannoy A., Hennion J., "Polarographic studies on the complexation of cobalt (II), Nickel (II) ve copper (II) with D-

- glucosamine and D- galactosamine”, *Analytica Chimica Acta*, 207:85-89 (1998).
34. Al-Majed A.A., Belal F., Abadi A., Al-Obaid A.M., “The voltammetric study and determination of ramipril in dosage forms and biological fluids”, *II Farmaco*, 55:233-238 (2000).
 35. Belgaied J.E., Trabelsi H., “Differantiel pulse polarography determination of pipamperone in pharmaceutical formulations”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30:1417-1423 (2002) .
 36. Belal F., Majed A., Julkhuf S., “Voltammetric determination of isradipine in dosage forms and spiked human pasma and urine”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 31:989-998 (2003) .
 37. Belal F., Abdine H., Zoman N., “Voltammetric determination of nilvadipine in dosage forms and spiked human plasma and urine”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26:585-592 (2001) .
 38. Belal F., Majed A., Ibrahim K.E.E., Khalil N.Y., “Voltammetric determination of josamycin(a macrolide antibiotic) in dosage forms and spiked human pasma and urine”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30:705-713 (2002) .
 39. Sturm J.C., Canelo H., Vergara L.J., Sqella J.A., “ Voltammetric study of keterolac and its differantial pulse polarographic determination in pharmaceuticals”, *Talanta*, 44:931-937 (1997).
 40. Uslu B., Özkan S.A., “Anodic voltammetry of abacavir and its determination in pharmaceuticals and biological fluids”, *Electrochimica Acta*, 49:4321-4329 (2004).
 41. El-Reis M.A., Sekkina M.M., Wassel A.A., “Poloarographic determination of propranolol in pharmaceutical formulation”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30:837-842 (2002).

ÖZGEÇMİŞ

Hülya MERCAN, 1981 yılında İzmir’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini İzmir’de tamamladıktan sonra 1999 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümüne başladı ve 2003 yılında mezun oldu. Şubat 2004 ‘de Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde kimya anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.