

49718

T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELEKTROKİMYASAL
SENSÖRLERİN TASARIMI
VE UYGULAMALARI**

Analitik Kimya Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T 49718

Eczacı Kadriye Arzum Erdem

Danışman Öğretim Üyesi: *Doç. Dr. M. E. Şengün Özsöz*

İZMİR/1996

ÖNSÖZ

Çalışmalarındaki katkılarından dolayı başta, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, danışmanım, Sayın Doç.Dr.M.E.Şengün Özsöz'e ve Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Öğretim Üyesi, Sayın Prof. Dr.Aycıl Kayalı'ya ve Anabilim Dalımızdaki diğer tüm Öğretim Üyelerine, çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı Başkanı Öğretim Üyesi, Sayın Doç.Dr.Levent Kırılmaz'a ve gerekli donanımı sağlayan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Sayın Yard.Doç.Dr.Tayfun Dalbastı'ya teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışmamda kullandığım ilaç etken maddesini sağlayan Toprak İlaç Firmasına, çalışmalarım sırasında desteklerini gördüğüm arkadaşlarıma, her zaman olduğu gibi tüm çalışmalarım sırasında da yanımda olup beni destekleyen aileme ve benim için çok özel olan arkadaşlarıma,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| I.BÖLÜM | 1 |
| GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| GENEL BİLGİLER | 4 |
| 1.ELEKTROKİMYA | 4 |
| 1.1.POTANSİYOMETRİ | 4 |
| 1.2.ELEKTROKİMYASAL HÜCRELER | 5 |
| 1.3.SIVI BAĞLANTI GERİLİMİ | 6 |
| 1.4.NORMAL (STANDART) HİDROJEN ELEKTRODU | 7 |
| 1.5.ELEKTROT POTANSİYELİ | 8 |
| 1.5.1.ELEKTROT POTANSİYELİ ÜZERİNDE KONSANTRASYONUN ETKİSİ | 9 |
| 1.5.2.REFERANS ELEKTRODLAR (Karşılaştırma Elektrotları) | 10 |
| 1.5.2.1.Kalomel Referans Elektrot..... | 10 |
| 1.5.2.2.Gümüş-Gümüş Klorür Referans Elektrot..... | 11 |
| 1.5.2.3.Civa-Civa(1)Sülfat Referans Elektrot..... | 11 |
| 1.6. ELEKTROKİMYASAL BİR OLAYDA KÜTLE AKTARIM YOLLARI | 12 |
| 1.7.İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLAR (İSE) | 12 |
| 1.7.1.İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLARIN UYGULAMALARI | 13 |
| 1.7.2.İYON SEÇİMLİ MEMBRANLARIN ÖZELLİKLERİ | 15 |
| 1.7.3.İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLARIN SEÇİMLİLİĞİ | 15 |
| 1.7.4.İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLARIN DEĞİŞİK KRİTERLERE GÖRE SINIFLANDIRILMASI | 17 |
| 1.7.4.1.Elektroaktif maddelerin fiziksel durumuna göre sınıflandırılması:..... | 17 |
| 1.7.4.1.1.Katı Membranlı İSE..... | 17 |
| 1.7.4.1.2.Sıvı Membranlı İSE..... | 17 |
| 1.7.4.2.Membran tiplerine göre sınıflandırılması:..... | 17 |
| 1.7.4.2.1.Katı -hal membran elektrotlar..... | 18 |
| 1.7.4.2.2.Cam membranlı elektrotlar..... | 18 |
| 1.7.4.2.3.Sıvı membranlı elektrotlar..... | 18 |
| 1.7.4.2.5.Nötral taşıyıcılı sıvı membranlı elektrotlar..... | 19 |
| 1.7.4.2.6.Gaza duyarlı ve enzime duyarlı membran elektrotlar..... | 19 |
| 1.7.4.3.Membranın sahip olduğu hareketli yüke göre sınıflandırılması..... | 20 |
| 1.7.4.3.1.Pozitif yüklü gruba sahip membran elektrotlar..... | 20 |
| 1.7.4.3.2.Negatif yüklü gruba sahip membran elektrotlar..... | 20 |
| 1.7.4.3.3.Yüksüz gruba sahip membran elektrotlar..... | 20 |
| 1.7.4.3.4.Hidrofobik iyon çifti grubuna sahip elektrotlar..... | 21 |
| 1.8.POTANSİYOMETRİK TİTRASYONLAR | 22 |
| 1.9.STANDART KATMA YÖNTEMİ | 22 |
| II. BÖLÜM | 23 |
| GEREÇ VE YÖNTEM | 23 |
| 2.1.Kullanılan cihazlar | 23 |
| 2.2.Kullanılan kimyasal maddeler | 23 |
| 2.3.Kullanılan yöntem | 27 |
| 2.3.1.Elektrotun hazırlanması | 27 |
| 2.3.1.1. İyon çifti kompleksi verebilme yeteneğinin incelenmesi: | 27 |
| 2.3.1.2.Membranın hazırlanması ve elektroda monte edilmesi: | 28 |
| 2.3.1.3.Difenhidramin hidroklorür (Dfh.HCl)'e ilişkin standart çözeltilerinin hazırlanması: | 28 |
| 2.3.1.4.Elektrotlara çalışma öncesi yapılan işlemler: | 28 |

| | |
|---|----|
| 2.3.2.Elektrot davranışının incelenmesi | 29 |
| 2.3.2.1.Elektrodun kalibrasyonu ve kalibrasyon eğrilerinin çizilmesi: | 29 |
| 2.3.2.2.Farklı membranların yanıtlara göre kıyaslanması: | 29 |
| 2.3.2.3.Elektrot yanıtının iç çözeltilere göre değişiminin incelenmesi: | 29 |
| 2.3.2.4.Elektrodu saklama koşullarının incelenmesi: | 30 |
| 2.3.2.5.İyon çifti bileşiminin incelenmesi: | 30 |
| 2.3.2.6.Elektrodun yanıt zamanının belirlenmesi: | 30 |
| 2.3.2.9.pH'nın elektrot yanıtına etkisi: | 31 |
| 2.3.2.10.Sıcaklık değişiminin elektrot yanıtına etkisi : | 31 |
| 2.3.2.11.Elektrodun seçimliliğinin incelenmesi: | 32 |
| 2.3.2.11.1.Ayrı çözeltiler yöntemi: | 32 |
| 2.3.2.11.2.Karışık çözeltiler yöntemi: | 32 |
| 2.3.3.Elektrot uygulamaları | 32 |
| 2.3.3.1.Potansiyometrik miktar tayini ile ilgili yapılan çalışmalar: | 32 |
| 2.3.3.1.1.Standart katma yöntemi:..... | 32 |
| 2.3.3.1.2.Potansiyometrik titrasyon: | 33 |
| 2.3.3.2.Dissolüsyon çalışması : | 33 |
| 2.3.3.2.1.Dfh kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması ve kalibrasyon eğrilerinin çizilmesi: | 33 |
| 2.3.3.2.2.Dissolüsyon çalışmasında kullanılan tabletin hazırlanması:..... | 34 |
| 2.3.3.2.3.Potansiyometrik ve spektrofotometrik ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması: | 34 |
| III.BÖLÜM | 35 |
| BULGULAR | 35 |
| 3.1.Elektrot davranışının incelenmesine ilişkin bulgular: | 35 |
| 3.1.1.Farklı membran elektrotların yanıtlara göre kıyaslanmasına ilişkin bulgular: .. | 35 |
| 3.1.2.Elektrot yanıtının iç çözeltilere göre değişiminin incelenmesine ilişkin bulgular:..... | 37 |
| 3.1.3.Elektrodun saklama koşullarının incelenmesine ilişkin bulgular: | 37 |
| 3.1.4.İyon çifti bileşiminin incelenmesine ilişkin bulgular:..... | 37 |
| 3.1.5.Yanıt zamanının belirlenmesine ilişkin bulgular: | 38 |
| 3.1.6.Elektrodun tekrarlanabilirliğinin incelenmesine ilişkin bulgular: | 39 |
| 3.1.7.Elektrodun stabilitesinin incelenmesine ilişkin bulgular: | 40 |
| 3.1.8.pH'nın elektrot yanıtına olan etkisine ilişkin bulgular: | 41 |
| 3.1.9.Sıcaklık değişiminin elektrot yanıtına olan etkisine ilişkin bulgular: | 41 |
| 3.1.10.Elektrodun seçimliliğinin incelenmesine ilişkin bulgular: | 43 |
| 3.2.Elektrot uygulamalarına ilişkin bulgular: | 44 |
| 3.2.1.Potansiyometrik miktar tayini ile ilgili bulgular:..... | 44 |
| 3.2.1.1.Standart katma yöntemi kullanılarak saptanmış bulgular:..... | 44 |
| 3.2.1.2.Potansiyometrik titrasyon yöntemi kullanılarak saptanmış bulgular: ... | 44 |
| 3.2.2.Dissolüsyon çalışmasına ilişkin bulgular: | 46 |
| 3.2.2.1.Dfh.HCl çözeltilerine ait kalibrasyon eğrilerine ilişkin bulgular:..... | 46 |
| 3.2.2.2.Dissolüsyon çalışmasına ait bulgular:..... | 48 |
| IV.BÖLÜM | 50 |
| TARTIŞMA VE SONUÇ | 50 |
| ÖZET | 56 |
| SUMMARY | 57 |
| KAYNAKLAR | 58 |

I.BÖLÜM

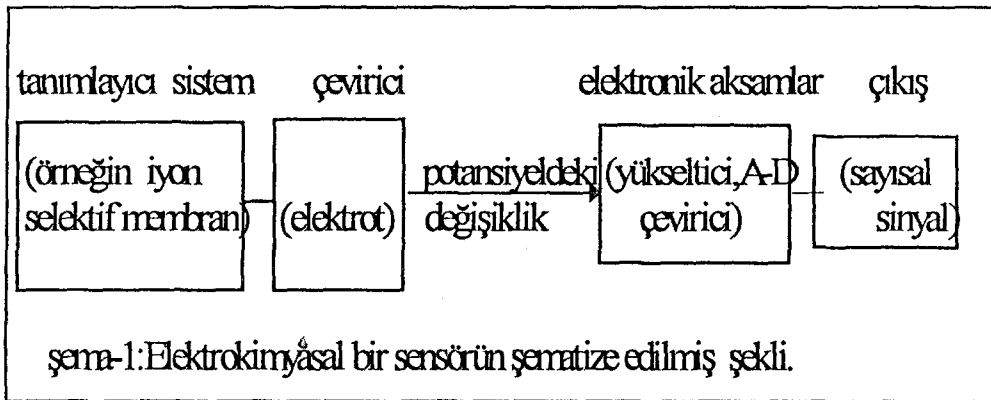
GİRİŞ VE AMAÇ

Analitik Kimya'da oldukça yaygın kullanım alanı bulan elektrokimyasal sensörlere(elektrokimyasal algılayıcı sistemler) IUPAC tarafından literatürde getirilen tanım şu şekildedir :

“Elektrokimyasal sensörler, kimyasal bileşiklere ya da iyonlara seçici ve tersinir bir şekilde cevap veren ve konsantrasyona bağımlı elektriksel sinyaller oluşturan küçültülmüş cihazlardır.”(1).

Bu tanımın yanısıra gene IUPAC tarafından değinilen bir başka önemli hususda kimyasal sensörün doğru ölçüm yapan bir sensör olabilmesi için konsantrasyona bağımlı olarak oluşan elektriksel cevabın hem pozitif(+) hemde negatif(-) yöndeki değişimlere duyarlı olması gerektiği de vurgulanmıştır.Bu özelliğin basit kimyasal sensörler olarak bilinen test çubukları gibi kimyasal sensörlerle genellikle sağlanamadığı da bildirilmiştir.Bunun yanısıra konsantrasyona bağımlı sürekli bir sinyal üretiminin gene mümkün olamayacağı için IUPAC, kimyasal sensörleri “Dozimetre” olarak tanımlamıştır(1).Elektrokimyasal sensörlerin yapısına biyolojik maddeler (örneğin enzimler) eklendiği zaman, elektrokimyasal sensörlerin uygulama alanlarından biri olan *biyosensörler* ortaya çıkmıştır(2).

Elektrokimyasal bir sensörü şu şekilde şematize edebiliriz.



İlaç kontrolü , Analitik Kimyanın bir dalı olup, halk sağlığı üzerinde geniş bir etkiye sahiptir ve bu nedenle güvenilir , hızlı ve doğru yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir(3).

Potansiyometrik yöntemler, farmasötik analizler için genellikle basit ve hızlıdır(4). İyon seçimli elektrotlar(İSE), elektrokimyasal sensörler olup potansiyometrinin uygulama alanını genişletmişlerdir(1). "İSE ,kimyasal ve klinik analizler için önemli ve güvenilir araçlar olmaya başlamışlardır ve genellikle bunlar inorganik ve organik iyonların nicel tayini için kullanılırlar."(5,6). Ucuz olmaları, kullanım ve saklanım kolaylıkları , uygulanan yöntemin basitliği ve hızlı olması ve uygulama alanlarının geniş olması, İyon seçimli elektrotların farmasötik analizlerde yoğun bir şekilde uygulamalarının başlamasına neden olmuştur(7).

Bu çalışmada , farmasötik analizde kullanılacak elektrokimyasal sensörün tasarımını yapmak için , farklı iyon çifti kompleksleri (ion-pair complex=IPC) oluşturuldu. Bu sensörün geliştirilmesi amacıyla ,en uygun iyon çifti kompleksini içeren elektrodla çalışıldı ve çalışma koşullarındaki pH, sıcaklık gibi deneysel parametreler değiştirilip değişimlerin etkisi incelendi. Uygulanabilirliğinin incelenmesi için örnek analizlerine ve dissolüsyon çalışmasına yer verildi. Çalışmamızda kullanılan sensörde iyon çifti kompleksinde kullanılan ilaç hammaddemiz Difenhidramin hidroklorürdür. H₁-reseptör antagonisti olan bu madde, antiallerjik, lokal anestezi, sedatif etkilere sahip olduğundan farklı amaçlarla değişik ilaç formülasyonlarının terkibine girmekte ve tedavide artan bir önemi bulunmaktadır.

Difenhidramin hidroklorür'ün nicel tayininde, Titrimetrik (8-10), Spektrofotometrik (11-16) yöntemler, Ayırma yöntemlerinden HPLC (17,18) ve Gaz Kromatografisi (19-21) ve dolaylı yoldan tayini için Atomik absorpsiyon spektrometresi (22) kullanılmıştır.

Son yıllarda İyon seçimli membran elektrodlar(İSME), ilaç kontrolünde çok fazla kullanılmasına ve henüz hiçbir farmakopenin bu kullanıma yer vermemesine rağmen bu kullanım çok yakın bir gelecekte görülebilir(3,23).

Difenhidramin ile ilgili daha önce yapılmış olan potansiyometrik çalışmalarda; V.A. Repin ve arkadaşları(24), farmasötik preparatlardaki Papaverin, Difenhidramin, Kodein ve Prokain gibi psiko aktif maddelerin doğrudan potansiyometrik tayinini, V.I. Kabachnyi ve arkadaşları(25), difenhidramin'e duyarlı potansiyometrik elektrot hazırlanarak preparatlardaki difenhidramin miktarı tayinini, A.F. Shoukry ve arkadaşları (26), hazırladıkları difenhidramin seçimli elektrotla deneysel parametrelerin etkilerini incelemişler ve örnek analizleri yapmışlardır.

Çalışmamızda; diğer çalışmalardan farklı olarak difenhidramin tayini için hazırlanacak elektroda uygulanacak farklı iyon çifti komplekslerini kullanarak yanıt ve kararlılıklarını incelemeyi ve uygun bileşimi saptamayı, ayrıca dissolüsyon çalışmasını başka bir yöntemle çalışarak korelasyonu incelemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

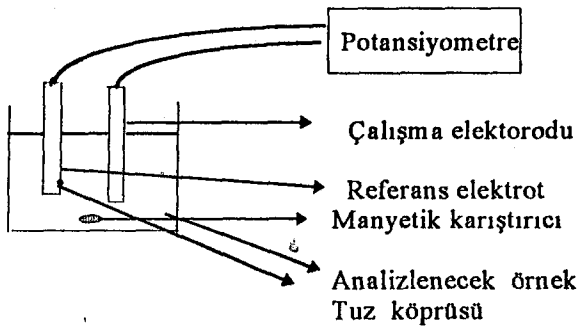
1.ELEKTROKİMYA

Elektrokimya, maddenin elektrik enerjisi ile etkileşmesini ve bunun sonucunda oluşan kimyasal dönüşümler ile fiziksel değişiklikleri ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine çevrilmesini inceleyen bilim dalıdır. Elektrokimyasal tepkimeler, yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir ; elektron transferi veya geçişi söz konusudur ve elektrokimyasal hücre adı verilen bir hücrede yürütülür.

1.1.POTANSİYOMETRİ

Potansiyometri, bir referans elektrot ve uygun bir çalışma elektrodu ile oluşturulan elektrokimyasal hücrede ölçülen gerilim değerleri kullanılarak analizlenecek çözeltide bulunan iyonların nicel analizine dayalı olan elektrokimyasal bir yöntemdir.Kullanılan bu düzenekte;(şekil-1)

- 1-Analizlenecek maddeyi içeren bir çözelti,
- 2-Maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrotlar,
- 3-Bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devre ,
- 4-Karıştırıcı bulunmaktadır.



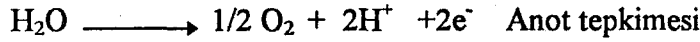
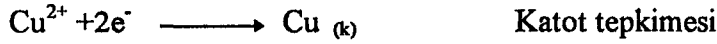
Şekil-1:Potansiyometride kullanılan çalışma hücresi.

1.2.ELEKTROKİMYASAL HÜCRELER

Elektrokimyasal hücreler, ikiye ayrılır(27):

1.2.1.Elektroliz hücresi:

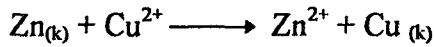
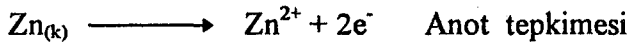
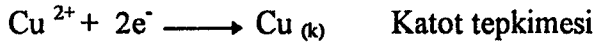
Elektrik enerjisi ile kimyasal dönüşümlerin gerçekleştirildiği hücreler elektroliz hücresi adını alır.Örneğin , CuSO_4 ve H_2SO_4 içeren bir çözeltiye bir Cu elektrot ve bir Pt elektrot daldırıldıktan sonra ,elektrodlar dışardan birleştirilip iki elektrot arasına bir gerilim farkı uygulandığında Cu elektrotta çözeltideki Cu^{2+} 'nin Cu^0 'a indirgenip biriktiği , Pt elektrotta ise suyun yükseltgenerek $\text{O}_2(\text{g})$ açığa çıktığı gözlenir.



1.2.2.Galvani hücresi:

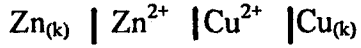
Elektrodlarda kendiliğinden yürüyen tepkimeleri kullanarak kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine çeviren hücrelere Galvani hücresi adı verilir.

CuSO_4 çözeltisine daldırılmış bir Cu elektrot bu kez bir başka bölmede bulunan ZnSO_4 çözeltisine daldırılmış bir Zn elektrotla doğrudan birleştirilirse, elektrot tepkimelerinin iki elektrot arasına dıştan bir gerilim uygulamaksızın kendiliğinden yürüdüğü gözlenir.

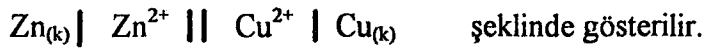


Böyle bir hücrede kendiliğinden oluşan elektrokimyasal tepkimeler devreden elektrik akımının geçmesine neden olur. Galvani hücresindeki iki bölmeyi ayıran yarı geçirgen membran, elektrik yükünü taşıyan iyonları geçirmekle birlikte , iki çözeltinin birbirine karışmasını önlemektedir.

Daniell pili adı verilen bu galvani hücresi aşağıdaki gibi gösterilir:



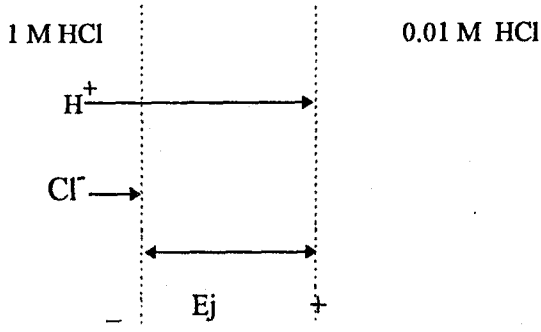
Bu pilin gösteriliminde önce anotta oluşan tepkimeden başlanır. Çözelti türü ve derişimi belirtilir. Daha sonraki katottaki tepkime ifade edilir. Eğer membran yoksa,



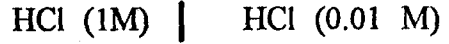
“ || ” işareti , her iki bölmenin bir membranla ayrılmadığını , ayrı ayrı kaplardaki anot ve katot bölmelerinin dışardan bir tuz çözeltisini içeren bir cam veya plastik bir köprü ile birleştirildiğini gösterir. Bu köprü, elektrik devresinin tamamlanmasını sağlar. Bu tuz köprüsünün bir başka görevi ise, sıvı bağlantı gerilimini azaltmaktır.

1.3. SIVI BAĞLANTI GERİLİMİ(28)

Farklı bileşimde iki elektrolit çözeltisi birbiri ile temas haline getirilirse, bu iki çözelti ara yüzeyinde bir gerilim oluşur. Bu bağlantı gerilimi , katyon ve anyonların sınır bölgesinde göç hızlarının farklı olmasından kaynaklanır.



şekil -2: Bağlantı gerilimi (E_j) nin kaynağı olan sıvı bağlantının şematik olarak gösterimi.



dikkate alındığında hem H^+ , hem Cl^- iyonları sınırdaki daha derişikten daha seyreltiğe doğru difüze olurlar, bu göç için itici kuvvet derişim farkıyla orantılıdır. H^+ iyonları Cl^- iyonlarına göre daha hareketlidir. Difüzyon sonunda H^+ iyonları Cl^- iyonlarını geçer ve yük ayrımı oluşur (şekil-2). Bu yük ayrımından oluşan bağlantı gerilimi 30 mV veya daha fazladır. Sıvı

bağlantı gerilimi ,iki çözelti arasına tuz köprüsü kurularak önlenir. Bu köprüde kullanılacak çözeltiler KCl , NH_4NO_3 veya KNO_3 çözeltileridir. Bu tuzların anyon ve kationlarının hareket hızları yaklaşık eşittir. Bu istenen bir özelliktir. Doymuş KCl çözeltisi her iki özelliğinden dolayı uygundur. Oda sıcaklığında doymuş KCl çözeltisi 4M'dan fazladır. İyonların hareketliliği birbirinden ancak %4 oranında ayrılır.

Cl^- iyonlarının girişimi söz konusu olduğu zaman, KNO_3 çözeltisi kullanılır. Böyle tuz köprülerinin bağlantı potansiyeli birkaç mV düzeyindedir.

1.4. NORMAL (STANDART) HİDROJEN ELEKTRODU (27,28)

Galvani hücrelerinde bir yarı hücre geriliminin mutlak değeri ölçülmez, çünkü bir elektrot geriliminin ölçülmesi her zaman ikinci bir elektrodun kullanılmasını gerektirir. Standart yarı hücre gerilimleri belli bir karşılaştırma elektroduna göre ölçülür. Buna Normal Hidrojen Elektrodu (NHE) veya Standart Hidrojen Elektrodu (SHE) adı verilir. Bu elektrot , elektron aktarımını sağlayan ve üzerinde ince platin

siyahı kaplanmış bir platin levhadan oluşmuştur. Bu levha üzerinden geçirilen H_2 gazının basıncı 1 atm. ve levhanın daldırıldığı çözeltinin hidrojen iyonu derişimi 1M dır. Sıcaklık $25\text{ }^\circ\text{C}$ dir.

Bir çalışma hücresinde gerçekleşen tepkime için serbest enerjideki değişim (ΔG), elektrot potansiyeli ile orantılıdır. Sabit sıcaklık ve sabit basınç altında sistemin serbest enerjisinde azalma vardır. Serbest enerji değişimi, şu şekilde ifade edilmektedir:

$$\Delta G = -n F E$$

E = Elektrot potansiyeli .

n = Transfer edilen elektron sayısı.

F = Faraday sabiti (96487 Coulomb / mol elektron)

ΔG 'nin işareti (-) ise , tepkime kendiliğinden yazıldığı yönde yürüyecektir. (+) olması durumunda , tepkime ters yönde yürüyecektir.

1.5.ELEKTROT POTANSİYELİ (29)

$$E = E_{\text{ind.}} + E_{\text{ref.}} + E_j$$

$E_{\text{ind.}}$ = İndikatör elektrot potansiyeli.

$E_{\text{ref.}}$ = Referans elektrot potansiyeli.

E_j = Sıvı bağlantı potansiyeli.

İndikatör elektrot, iyon analizine dayalı ölçme elektrodudur. Referans elektrot, örnek çözelti bileşiminden bağımsızdır. Sıvı bağlantı gerilimi farklı çözeltiler arasındaki arayüzeyde oluşur. Uygun şekilde tasarlanmış bir sistemde, $E_{\text{ref.}}$ ve E_j değeri sabit veya ihmal edilebilir düzeydedir. Bu koşullar sağlandığı zaman , indikatör elektrot, iyon aktivitelerinin fonksiyonudur.

1.5.1.ELEKTROT POTANSİYELİ ÜZERİNDE KONSANTRASYONUN

ETK/Sl (29,30)

Bir pil tepkimesine giren bileşenler standart koşullardaki derişim değerlerinden farklı derişimlerde ise, pilin potansiyeli Nersnt denklemi ile bulunur.

$pP + qQ + \dots + ne^- \rightleftharpoons rR + sS + \dots$ şeklinde yazılabilecek genel bir yarı pil tepkimesi için ,

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_R^r a_S^s \dots}{a_P^p a_Q^q \dots} \text{ şeklinde Nersnt denklemi yazılabilir.}$$

E = Elektrot potansiyeli.

E^0 = Normal Hidrojen elektroduna karşı okunan standart potansiyel.

a_R ve a_S = İndirgenen türlerin aktivitesi.

a_P ve a_Q = Yükseltgen türlerin aktivitesi.

r,s,p,q = katsayılar.

R = Gaz sabiti.(8.316 Joule /mol)

T= Oda temperaturü (298⁰ K)

n =Yarı pil reaksiyonunda transfer edilen elektron sayısı.

F =Faraday sabiti (96487 Coulomb / mol elektron)

In =Doğal logaritma (2.303 log₁₀)

Sayısal değerler yazılıp denklemin son hali yazılacak olursa,

$$E^- = E^0 - \frac{0.0591}{n} \log \frac{[R]^r [S]^s \dots}{[P]^p [Q]^q \dots} \text{ şeklinde ifade edilir.}$$

1.5.2.REFERANS ELEKTRODLAR (Karşılaştırma Elektrodları)(27,30,31)

Elektrokimyasal uygulamalar sırasında potansiyeli dış ortamdan etkilenmeyen,sabit kalan ve tamamıyla çalışılan çözeltinin bileşimine duyarlı olan elektrodlardır.

Bir referans elektrodun sahip olması gereken özellikler:

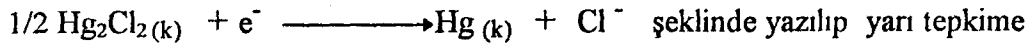
- 1-Kolay hazırlanabilmeli,
- 2-Potansiyelin sıcaklıkla değişim katsayısı küçük olmalı,
- 3-Belli bir akım aralığında tersinir davranmalı, yani içinden küçük akımlar geçtiğinde bile gerilimi sabit kalmalıdır.Polarize edilemeyen bir elektrot olmalı,
- 4-Potansiyeli zamanla değişmemeli,
- 5-Doğru ve tekrarlanabilen bir potansiyel değeri hızlı bir şekilde okunmalıdır.

Bu niteliklerin çoğuna sahip olmayan Standart Hidrojen elektrodunun referans elektrot olarak kullanılması uygulamada güçlük çıkarır.Bu yüzden civa ve gümüş gibi bir metal ile o metalin az çözünen bir tuzundan yapılmış elektrodların referans elektrot olarak kullanılması daha uygundur.

Referans elektrodlar üç çeşittir.

1.5.2.1.Kalomel Referans Elektrot

Kalomel (Hg_2Cl_2) ve Hg oluşmuş bir karışım ,metalik civa ve KCl çözeltisinden oluşur.Bu elektrodun yarı tepkimesi,



potansiyeli,

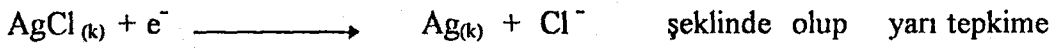
$$E = E_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}}^0 - \frac{RT}{F} \log a_{\text{Cl}^-} \text{ şeklinde yazılır.}$$

Bu elektrodun potansiyeli, klorür iyonlarının aktifliğine bağlıdır. Hazırlanışı çok kolaydır .

En yaygın olan ve içerisinde doymuş KCl çözeltisi bulunan *Doymuş Kalomel Elektrot* (DKE)'dir. Potansiyeli, Standart Hidrojen elektroduna (SHE) göre 25°C de + 0.244 V olarak bulunmuştur. Diğer kalomel elektrodulara oranla sıcaklık katsayısı daha büyüktür.

1.5.2.2. Gümüş-Gümüş Klorür Referans Elektrot

Ag bir tel, elektrolitik yoldan AgCl ile kaplanarak Cl⁻ iyonu içeren bir çözeltiye daldırılmasıyla elde edilen bir elektrottur. Bu elektrodun yarı tepkimesi,



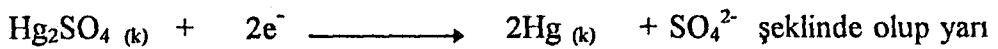
potansiyeli,

$$E = E_{\text{AgCl/Ag}}^0 - \frac{RT}{F} \log a_{\text{Cl}^-} \quad \text{şeklinde yazılır.}$$

Doymuş KCl çözeltisi kullanıldığı zaman standart hidrojen elektroduna göre potansiyeli, +0.222 V dur.

1.5.2.3. Civa-Civa(1) Sülfat Referans Elektrot

Bu elektrot, doymuş kalomel elektroda benzemektedir. Potansiyeli, sülfat iyonlarının aktifliği ile tayin edilir. Elektrodun yarı tepkimesi,



tepkime potansiyeli,

$$E = E_{\text{Hg}_2\text{SO}_4/\text{Hg}}^0 - \frac{RT}{F} \log a_{\text{SO}_4^{2-}} \quad \text{şeklinde yazılır.}$$

1.6. ELEKTROKİMYASAL BİR OLAYDA KÜTLE AKTARIM YOLLARI

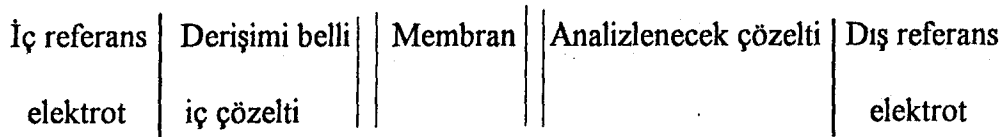
Bir elektrokimyasal hücrenin çalışması sırasında maddenin elektrot yüzeyine aktarımı yolları, üç şekilde gerçekleşmektedir(27). Bu kütle aktarım yolları:

- 1- Elektriksel göç(Migrasyon)
- 2- Difüzyon
- 3- Karıştırma (Konveksiyon)

DeneySEL koşullara bağlı olarak bunlardan bir tanesi veya birkaçı kütle aktarımına katkıda bulunabilir.

1.7. İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLAR (ISE)

İyon seçimli elektrot, iç kısmında bir karşılaştırma elektrodu ile nicel analizi yapılacak iyonun belli derişimindeki çözeltisi bulunan, bir membran ile dıştaki çözeltiden ayrılmış bir elektrottur. Bu iki elektrot arasında oluşacak gerilim değeri ile ölçümü yapılacak iyonun derişimi arasında logaritmik bir ilişki vardır. Bu elektrot sistemini şematize edersek,



Burada oluşan gerilim farkı;

- 1- Analizlenecek iyonun türü ve derişimine,
- 2- Membranın cinsine,
- 3- Çözeltide bulunan diğer iyonların türleri ve miktarlarına bağlıdır.

Bu elektrotlar, iki elektrolit faz arasındaki arayüzeyde, konsantrasyon farkına bağlı olarak iyonik türlerin geçişleriyle oluşan membran potansiyelini ölçerler.

Membran potansiyelini veren denklem şu şekilde yazılabilir:

$$E_m = -\frac{RT}{nF} \ln \frac{a_i^b}{a_i^a}$$

E_m = Membran potansiyeli.

a_i^a = a fazındaki "i" türlerinin aktivitesi.

a_i^b = b fazındaki "i" türlerinin aktivitesi.

İyon seçimli elektrodlarla yapılan ölçümlerde bilinmesi gerekli terimler :

Eğim(mV /decade):Kalibrasyon eğrisinde konsantrasyon 10 kez değiştiğinde okunan mV değişimidir.İdeal eğim değeri +1 yük değeri için *0.059 mV /decade* dir.

Kesişim(mV):Kalibrasyon eğrisinin lineer bölgesinin y eksenini kestiği noktada okunan gerilim değeridir.

Tayin sınırı(M):Kalibrasyon eğrisinde lineer bölgenin uzantısının, eğrinin sabit kaldığı bölgenin uzantısı ile kesiştiği konsantrasyon değeridir.

Yanıt zamanı:Çalışma hücresinin potansiyelinin, son denge potansiyelinden 1 mV öncesi bir değere ulaşmasına kadar geçen süredir.

Kayma(Drift):Zaman içerisinde yavaşça değişen ve kararlı hale gelemeyen potansiyel değeridir.Kullanılan elektrot membranının kirlenmesi , elektrot iç çözeltisinin uygun olmaması ve sıcaklık değişimleri kaymaya neden olmaktadır.Elektrodun sık kalibrasyonunu gerektiren çözülmesi gerekli olan önemli bir sorundur.

1.7.1.İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLARIN UYGULAMALARI

İyon seçimli elektrodların geliştirilmesi ve uygulamaları, ilaç araştırmaları ve analizlerinde önemli bir şekilde artmaktadır, basit tasarımı, kabul edilebilir seçicilikleri, yanıtlama zamanlarının hızlı olması, renkli ve bulanık çözeltilerle çalışma olanaklarının olması, otomatik ve bilgisayarlı sistemlerle kombine çalışılmasının

mümkün olması gibi özelliklerinden dolayı, iyon seçimli elektrodların (sensörler) önemi giderek artmaktadır. Biyolojik olarak ilgili çeşitli iyonların tayininde (örneğin, ilaç analizinde), akan enjeksiyon analiz sistemi (Flow injection analysis=FIA) ile membran sistemlerinin kombinasyonu gibi uygulamaları ümit verici bir alandır. Yapıca karmaşık olan örneklerdeki çeşitli ilaç ve farmasötik maddelerin tespiti için yeni talepler ve uygun analitik yöntemlerinin gelişimi, İyon seçimli elektrodları içeren yeni potansiyometrik yöntemleri tanımlama ve uygulamada birçok araştırmacıya yol göstermektedir.

Potansiyometrik membran sensörlerinin farmasötik analizlerdeki kullanımına ilişkin bir derlemede(32); İngiliz Farmakopesi ve Amerikan Farmakopesindeki deneme yöntemlerinin, tekrarlanan ekstraksiyon işlemlerini içeren ön işlem basamaklarını içerdiği ve bu yöntemlerin yorucu olmanın yanında, interferanslar tarafından engellenebildiğinden bahsedilmiştir. Analizler için kullanılan karmaşık yöntemlerin çoğu(Nükleer Manyetik Rezonans spektroskopisi, Gaz - Sıvı Kromatografisi, Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi, Radioimmünoassay vb.) zaman alıcı birçok uygulama basamaklarını, pahalı donanımı ve özel eğitim gerektirmektedir(32).

İyon seçimli elektrodlar, kimyasal, farmasötik ve biyomedikal analizler için önemli ve güvenilir cihazlar olmaya başlamışlardır. Bunlar ucuz, kullanımı ve saklanması kolay ve deneylerde hızlı sonuç alınabilen aletlerdir. Bunlar, mekanik olarak stabil tarzda FIA sistemi ile birleştirildikleri zaman potansiyometrik analizler, daha çok ilgi çekici olmaya başlamışlardır(32).

Farmasötik analizlerde iyon seçimli elektrodlar ile çeşitli organik katyon ve anyonların aktivitesini, doğrudan ve seçimli olarak ve aktif bileşeni formülasyondan ayırmaksızın ölçmeye olanak sağlamaktadır(32). Önceden saflaştırma işlemine gerek

duyan farmasötik preparatlardaki (örneğin, enjektabl preparatlar) ilaç maddelerinin yada ölçüm çözeltilerindeki tabletlerin dissolüsyonun tayini için yöntemler geliştirmek genellikle bu yöntemle mümkündür. Tablet matriksinin neden olduğu bulanıklık, genellikle bir sorun oluşturmaz. Gerektiğinde süzme aşaması bile uygulanmayabilir(7).

1.7.2. İYON SEÇİMLİ MEMBRANLARIN ÖZELLİKLERİ(28)

Membranın sahip olmaları gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir:

Minimum çözünürlük: Analizlenecek maddenin sulu çözeltisindeki çözünürlüğünün sıfıra yaklaşması, bir iyon seçimli ortam için gerekli bir özelliktir. Bunun için birçok membran büyük moleküllerden veya moleküler agregatlardan (örneğin, polimer reçineler) oluşmuştur.

Elektriksel iletkenlik: Membran küçük olmasına rağmen biraz elektriksel iletkenliğe sahip olmalıdır. Genellikle bu iletim, iyon göçünün oluşmasına bağlıdır.

Analizlenecek maddeyle seçimli tepkime verebilme: Membran veya membran matriksi içerisindeki bazı türler, analizlenecek iyonu seçimli olarak bağlamaya yetenekli olmalıdır. Bağlama olayı üç şekilde gerçekleşir.

a- İyon değişimi.

b- Kristalizasyon.

c- Kompleks oluşumu.

Bunlardan ilk ikisi, genellikle en çok kullanılanlardandır.

1.7.3. İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLARIN SEÇİMLİLİĞİ

İyon seçimli elektrotların en önemli sınırlaması, özellikle benzer kimyasal yapıdaki bileşikler için geçerli olan zayıf seçimlilikleridir(7).

Seçimlilikleri *Nikolskii-Einsenmann denklemi* (33) ile belirlenir.

$$EMF = E_0 + E_D + s \log \left[a_i + \sum_{j \neq i} K_{ij}^{Pot} \cdot a_j^{z_i/z_j} \right]$$

$$s = \frac{2.303RT}{z_i F} = 59.1 \text{ mV}/z_i \quad (25^\circ\text{C})$$

E_0 = Sıcaklık ve referans elektroda bağlı olan potansiyel fark sabiti.

E_D = Referans çözeltisi ile örnek çözeltisi arasında oluşan sıvı-bağlantı potansiyel farkı.

z_i, z_j = Primer iyon(i) ve interferans(girişim)yapan iyon(j) ait yükler.

a_i, a_j = Primer iyon ve girişim yapan iyonun örnek çözeltideki (mol/L)cinsinden aktivitesi

K_{ij}^{Pot} = i iyonuna bağlı olarak interferans yapan j iyonu için , sensör tarafından tercihe bağlı olarak seçimliliği gösteren seçimlilik faktörüdür. İdeal bir sensör için K_{ij}^{Pot} değeri sıfırdır.

Seçimliliğin incelenmesinde iki yöntem kullanılmaktadır:

1.7.3.1. Ayrı çözeltiler yöntemi (4):

Bu yöntemde seçimlilik katsayısını hesaplamak için kullanılan denklem şu şekildedir:

$$\text{Log} K_{ij}^{Pot} = \frac{E_2 - E_1}{S} + \log [i^+] - \log [j^{z}]^{1/z}$$

E_1 = Primer iyon çözeltisindeki elektrot potansiyeli

E_2 = Primer iyon içermeyen ve girişimi incelenen iyon(j⁺) ait çözeltideki aynı elektrodun okuduğu potansiyel.

S = Primer iyon(j⁺) ait kalibrasyon eğrisinin eğimi (mV/decade).

1.7.3.2.Karışık çözeltiler yöntemi(23):

Bu yöntemde seçimlilik katsayısını hesaplamak için kullanılan denklem şu şekildedir:

$$K_{ij}^{Pot} = (10^{\frac{\Delta E}{S}} - 1) \frac{[i^+]}{[j^{+z}]^{\frac{1}{z}}}$$

ΔE =Girişim yapan J^{+z} iyonunun varlığındaki potansiyel değişimi.

S = Primer iyon (i^+) ait kalibrasyon eğrisinin eğimi (mV/decade).

1.7.4.İYON SEÇİMLİ ELEKTRODLARIN DEĞİŞİK KRİTERLERE GÖRE

SINIFLANDIRILMASI

1.7.4.1.Elektroaktif maddelerin fiziksel durumuna göre sınıflandırılması:

İyon seçimli elektrodlar, elektroaktif maddelerin fiziksel durumuna göre ikiye ayrılır(32):

1.7.4.1.1.Katı Membranlı İSE

Membran ,iyonik komponentlerin immobilitesinden dolayı katı olarak kabul edilen bir mono kristal,büyük oranda çözünebilen iyonik yapılı kristal bir bileşik veya cam gibi homojen yapıda olabilir ya da bu membran inert bir matriks içersinde elektroaktif bileşenin birleştirilmesiyle heterojen bir yapıyada sahip olabilir.

1.7.4.1.2.Sıvı Membranlı İSE

Elektrot membranı, su ile karışmayan organik bir sıvı içerir.Bu organik çözelti, membran ile çözelti arasındaki iyonların değişimini sağlayan yüklü elektroaktif bir bileşen içerir. Uyumludur .

1.7.4.2. Membran tiplerine göre sınıflandırılması:

Membran materyalinin yapısına göre İSE'lar beş gruba ayrılırlar (27,30,31,33):

1.7.4.2.1. Katı-hal membran elektrodlar

Bunlar çözünmeyen tuzların çökeleklerini içerirler(AgCl,AgBr,CuS,CdS,LaF₃ vb.gibi). Bunlar , ikiye ayrılır:

****Az çözünen tuzun tek kristalinden hazırlanmış membranlı elektrodlar:**Bu gruba verilebilecek en uygun örnek, LaF₃ kristalini membran olarak kullanan F⁻ iyonu elektrottur.

****Polikristalinden hazırlanmış membranlı elektrodlar:**Bu gruba örnek olarak Ag₂S içeren elektrodlardır.Bu elektrotla Ag⁺ ve S²⁻ ölçülebilir.Bu membrana ,ölçülen iyonu seçen az çözünen tuza ek olarak iyi membran özelliğine sahip olan Ag₂S de eklenir.Örneğin,Ag₂S-AgBr pellet bileşimine sahip bir elektrot Br⁻ iyonunu ölçer.

1.7.4.2.2. Cam membranlı elektrodlar

En çok bilinen cam elektrotta membran olarak ince bir cam membran kullanılır.Bu cam membran yapısındaki maddelerin türü ve bağıl miktarına göre çeşitli iyonlara karşı seçicilik gösterir.Li⁺,Na⁺,K⁺,Ag⁺ ve H⁺ iyonları ölçülebilir.

1.7.4.2.3. Sıvı membranlı elektrodlar

Sıvı iyon değiştirici, iki sulu çözelti arasında yerleştirilen değişimi sağlayan ve suyla karışmayan sıvıdır.Bu tür elektrodlarla,sıvı iyon değiştirici ile iyon değişme dengesine girebilen iyonlar ölçülebilir.Örneğin , Fosfat dietil esterleri(RO₂PO₂),bazı katyonların(Ca²⁺,Mg²⁺ gibi) iyon değiştiricisi olarak kullanılır.Dimetil distearil amonyum iyonu(R₄N⁺), bazı anyonların (Cl⁻gibi) iyon değiştiricisi olarak kullanılır.

1.7.4.2.5.Nötral taşıyıcılı sıvı membranlı elektrodlar

Membran ,elektriksel olarak nötral olan bir organik çözültiden oluşmuştur.İyon seçimli kompleks oluşturucu ajan (nötral iyon taşıyıcılar,nötral iyonoforlar)stabil bir polimer matrikste tutulmuştur.

1.7.4.2.6.Gaza duyarlı ve enzime duyarlı membran elektrodlar

Gaza duyarlı olan membran elektrodlarında membran ,ince, mikroporus yüzeyli ve gaz geçirgen yapıdadır.Bir çözültide çözülmüş çeşitli gazların miktarları bu elektrodlarla saptanır.NH₃,SO₂,CO₂ gibi gazların miktar tayini bu tür elektrodlarla yapılabilir.

Enzime duyarlı membran elektrodlarında enzim, membran üzerine immobilize edilir veya bu enzimi tutan ikinci bir membran ile diğerinin üstüne kaplanır.Bu tür membranlarla L-aminoasitler, Kolesterol, Glutamin, Kreatinin, Penisilin miktarını ölçen elektrotlar geliştirilmiştir.

İyon ölçümünde kullanılan membran elektrodlar ve örnekleri aşağıdaki tablo-1'de verilmiştir(34).

Tablo-1:Membran tiplerine göre elektrodların sınıflandırılması ve tayin ettikleri

türlere ilişkin örnekler

| <i>Membran tiplerine göre elektrodlar</i> | <i>Tayin edilebilen türler</i> |
|---|---|
| Cam membran | H ⁺ , Na ⁺ ,Ag ⁺ ,Li ⁺ ,Cs ⁺ ,Rb ⁺ , NH ₄ ⁺ ,K ⁺ ,Tl ⁺ ,Cu ²⁺ ,Cl ⁻ , Mg ²⁺ ,Ca ²⁺ ,NO ₃ ⁻ ,BF ₄ ⁻ ,ClO ₄ ⁻ |
| Polimer membran | |
| a- İyon değişimli | Organik katyon-anyonlar |
| b- İyonofor | K ⁺ ,Li ⁺ ,Ca ²⁺ ,Mg ²⁺ ,Na ⁺ ,Cd ²⁺ ,Ba ²⁺ |
| Katı membran | |
| a- Tek kristalli | F ⁻ |
| b- Çok kristalli | S ²⁻ ,Ag ⁺ ,Hg ²⁺ ,Cl ⁻ ,Br ⁻ ,I ⁻ ,CN ⁻ ,SCN ⁻ , Cd ²⁺ ,Pb ²⁺ ,Cu ²⁺ |
| Gaz difüze eden membran | CO ₂ , NH ₃ , H ₂ S, SO ₂ ,HCN |

1.7.4.3.Membranın sahip olduğu hareketli yüke göre sınıflandırılması:

Organik ve farmasötik araştırma ve analizler için deneysel tayinden dolayı, hareketli yüke sahip elektrodlar çok önemlidir.Sahip oldukları hareketli yüke göre iyon seçimli elektrodlar dört gruba ayrılır (32):

1.7.4.3.1.Pozitif yüklü gruba sahip membran elektrodlar

Örneğin, kuaterner amonyum tuzlarının çoğu veya inert olarak metal komplekslerine bağlı olanların tuzları gibi hidrofobik katyonlar,uygun bir organik çözeltide çözüldüğü ve stabil bir destekleyici(örneğin,Milipor filitre veya PVC) üzerinde tutulduğu zaman anyonların aktivitesindeki değişimlere duyarlı olan membranlar hazırlanmış olur.Hidrofobik katyonlar, membran fazına hapsedilen yakalayıcı hareketli bölümde yer alır.

1.7.4.3.2.Negatif yüklü gruba sahip membran elektrodlar

$[RO]_2PO_2^-$ tipi ,tetra-p-klorofenil borat,dinonil naftalen sülfonat gibi hidrofobik anyonlar,uygun bir organik solventte çözüldüğü ve Milipor filitre veya PVC gibi uygun stabil bir destek içersinde tutulduğu zaman katyonların aktivitesindeki değişikliklere duyarlı olan membranları oluştururlar.

1.7.4.3.3.Yüksüz gruba sahip membran elektrodlar

İyon dipol oluşturucular,antibiyotikler,makrosiklik bileşikler veya diğer ayırıcı ajanlar gibi katyonların ve organotin bileşikler,aktive edilmiş karbonil bileşikler ve bazı porfirinler gibi anyonların, moleküler kompleks oluşturan ajanlarının çözeltilerine dayalı olan elektrodlarıdır.

1.7.4.3.4.Hidrofobik iyon çifti grubuna sahip elektrotlar

Çözünmüş hidrofobik iyon çifti ve “iyon birleştirme kompleksi”ni (örneğin, katyonik ilaç ile tetrafenilborat veya tetraalkilamonyum sürfaktant anyonundan oluşan bir kompleks) içeren plastize edilmiş PVC gibi polimerlerin hidrofobik iyon çifti elektrotları, analizlenecek çözeltilerdeki kısmi iyon aktivitelerine cevap verirler.Bu tür iyon çifti komplekslerini içeren elektrotların analiz çözeltilerine ait cevapları Nernst denkleminde uygundur.

****İyon çifti oluşturma mekanizması:**

İyon seçimli membranların oluşturulmasında mevcut olan birçok prensiplerden bir tanesi,yüksek oranda plastize edilmiş polimer membrana lipofilik karakterli bir iyon çifti kompleksinin ilavesiyle oluşturulmasıdır(5). Lipofilik tuz, elektrot yüzeyinde mümkün olan iyonik değişimi sağlamaya yeterli olmak zorundadır;çünkü membrandaki tuzun aşırı doygunluğu , PVC matriksinin bloke edilmesine ve dolayısıyla iyon değişim mekanizmasının engellenmesine neden olur(35).

Hidrofobik iyon çifti içeren membranlarda sadece tek bir M^+ iyon aktivitesine bağlı bir potansiyel farklılığı geliştirmek amacıyla ,üç iyon tanımlanır (32) :

a- M^+ *iyonu*:Her iki fazda çözünen iyon(örneğin,ilaç).

b- X^- *iyonu*:Suda oldukça çözünen iyon.

c- Y^- *iyonu*:Yağda oldukça çözünen iyon (örneğin,fosfotungustat,tetrafenilborat vb.).

Hidrofobik iyon çifti kompleksinin oluşmasını bir tepkime ile gösterirsek;



Bu tepkimede yer alan MX bir bileşimin tuzu, Y^- yardımcı iyon ve MY ise iyon çifti kompleksi olup izole edilebilen ve organik bir çözügede çözülebilen organik yapıya sahip bir maddedir.

1.8.POTANSİYOMETRİK TİTRASYONLAR(28)

Nicel analiz yöntemi olan potansiyometrik titrasyonlar, potansiyometrinin bir uygulamasıdır. Titre edici ajanın eklenmesinden sonra ölçülen potansiyel değeri, eklenen titre edici ajanın hacmine karşı grafiğe geçirilerek potansiyometrik titrasyon eğrisi oluşturulur. S şeklinde olan potansiyometrik titrasyon eğrisinde dönüm noktası eğrinin eğiminin en büyük olduğu noktadır. Dönüm noktasının hatasız bir biçimde elde edilmesi için, eşdeğerlik noktası civarında titre edici ajanın ilavesi çok özenle yapılmalıdır. İndikatör kullanılan yöntemlere kıyasla daha doğru sonuçlar elde edilir. Geniş kullanım alanına sahip olan bu yöntem, renkli ve bulanık çözeltilerin titrasyonu için çok kullanışlıdır. Otomatik büretlerin kullanılmadığı durumlarda, indikatör kullanılarak yapılan titrasyonlara kıyasla daha fazla zaman alıcıdır.

1.9.STANDART KATMA YÖNTEMİ(28)

Analizlenecek maddenin hacmi bilinen miktarına az miktarda veya miktarlarda standart maddeden ilave edilir. İlave edilmeden önce ve sonra sistemin potansiyeli ölçülür. İlave etme işlemi, analizlenecek maddenin iyonik gücünü ve aktivite katsayısını değiştirmez. Ayrıca bu işlemin sıvı bağlantı potansiyelini büyük ölçüde etkilemediği de düşünülmektedir.

II. BÖLÜM

GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Kullanılan cihazlar

Terazi (Sartorius-Analytic A-200 ve Sartorius 2442)

Ses titreşimli temizleyici (Hapa 150)

İyonmetre(Orion 160-A ion analyzer digital)

pH-metre(Schott-Mainz CG 710)

Manyetik karıştırıcı(MK 20 ve elektro-mag)

Cam desikatör

Su banyosu (Kottermann marka elektrikli su banyosu)

Spektrofotometre(UV 160 A-Shimadzu)

Dissolüsyon çalışması için kullanılan karıştırıcı (IKA-WERK)

2.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Difenhidramin hidroklorür (Toprak İlaç ve Kimyevi Maddeler Sanayii ve Ticaret

A.Ş. tarafından sağlanmıştır.)

Sodyum Tetrafenilborat (Sigma)

Sodyum Fosfotungustat (Sigma)

Amonyum Reineckate (Sigma)

PVC(Yüksek molekül ağırlıklı) (Fluka)

Bis(2-etilhekzil)sebasat(DOS) (Fluka)

Tetrahidrofuran(THF) (Fluka)

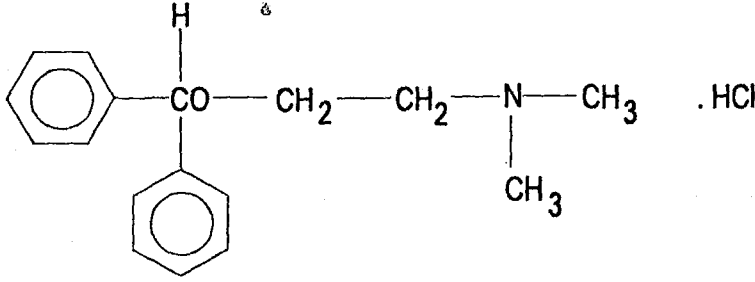
| | |
|--------------------------------|-------------------------|
| Asetik asit (%99-100) | (Merck) |
| Hidroklorik asit (%37) | (Merck) |
| Sodyum Hidroksit | (Merck) |
| Laktoz monohidrat | (Merck) |
| D-Glukoz | (Merck) |
| Sükroz | (Merck) |
| Glisin | (Merck) |
| Vitamin C | (Merck) |
| Amonyum klorür | (Horasan Kimya) |
| Kalsiyum klorür | (Merck) |
| Potasyum klorür | (Merck) |
| Sodyum klorür | (Merck) |
| Tri sodyum sitrat-5,5 dihidrat | (Merck) |
| Papaverin Hidroklorür | (Merck) |
| Efedrin Hidroklorür | (Merck) |
| Kodein Fosfat | (TMO'den sağlanmıştır.) |
| Etil selüloz(EC) | (Hercules) |
| Etil alkol (96 ⁰) | (Tekel) |

İyon çifti kompleksini içeren iyon seçimli membranın yapısındaki bileşenler

hakkında genel bilgi :

*****Difenhidramin Hidroklorür (36,37)***

Açık kimyasal formül:



Kapalı kimyasal formül: C₁₇H₂₁NO . HCl

Kimyasal adlandırma: 2-(difenilmetoksi)-N,N-dimetil etilamin hidroklorür tuzu.

Kimyasal özellikleri: Beyaz kristalize tozdur. Işığa maruz bırakıldığında yavaş bir şekilde kararma gözlenir. İyi kapalı kaplarda ve ışıktan korunarak saklanmalıdır. Sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir. Alkol ve kloroformda kolay çözünür. Asetonda az çözünür. Benzen ve eterde çok az çözünür. Molekül ağırlığı, 291.8 g/mol dür.

Farmakolojik Özellikleri: H₁- reseptör antagonistlerinden bir grup ilaç olan etanolaminlerin bölümünde yer alan antihistaminik bir ilaçtır. Dokulardan Histamin salındığında allerjik reaksiyonlara neden olmaktadır. Antihistaminikler, allerjik reaksiyonlarda hafifletici tedaviyi sağlamak amacıyla kullanılırlar.

Difenhidramin hidroklorür, sedatif özelliğe sahiptir. Ayrıca antiemetik, antikolinergik ve lokal anestezik etkilere sahiptir. Allerjik reaksiyonlara bağlı olan öksürüğü tedavi etmek için, bu amaçla kullanılan öksürük şuruplarının terkbine girer. Parkinson hastalığı semptomlarının kontrolünde kullanılır. Allerjik dermatozlar ve

yanıklarda kullanılır.Ancak deride duyarlılığa neden olabilir.Ayrıca göz damlalarında oküler allerjileri engellemek için kullanılır.

****Çöktürme ajanı olan yardımcı iyonu vermesi amacıyla kullanılan maddeler:**

-Sodyum Tetrafenilborat

Kapalı formül: $C_{24}H_{20}BNa$

Tetrafenil borat , tek değerlikli kationlar,alkaloidler, diğer organik bazlar ve ayrıca kuaterner amonyum tuzları için *çöktürme ajanı* olarak kullanılmaktadır(38).

-Sodyum Fosfotungustat (39)

Kapalı formül: $24WO_3.2H_3PO_4.48H_2O$

Alkaloidler ve diğer birçok azotlu bileşikler için *çöktürme ajanı* olarak kullanılır.

-Amonyum Reineckate(Amonyum tetratiosiyaniyodiaminokromat) (39)

Kapalı formül: $C_4H_{10}CrN_7S_4$

Primer ve sekonder aminler için *çöktürme ajanı* olarak kullanılır.

Membranın yapısında kullanılan diğer maddeler:

Bis(2-etilhekzil)sebasat:(< Dioktil> sebasat ;DOS)

Kapalı formül: $C_{26}H_{50}O_4$

Plastifiyan madde olarak kullanılmıştır. "Plastifiyan maddeler,membranın fiziksel özelliklerinde önemli rol oynarlar ve iyon çifti kompleksi için *çözgen* olarak görev alırlar."(35).

Polivinil klorür (Yüksek molekül ağırlıklı PVC)(40)

PVC, plastifiyan maddelerle birlikte plastikleştirme işlemi için kullanılır.Fiziksel özelliklerinin sert katıdan, yumşak jel veya yoğun sıvı formuna olan aşamalı değişiminden dolayı, plastifiyanlarla birlikte çok amaçlı kullanılmaktadır.PVC, siklohekzan, tetrahidrofuran çözeltilerinde veya keton ve hidrokarbon çözümlerinin

karışımında çözünür. Plastifiyan maddelerle istenen özellikler için uyumlu hale getirilebilir ve organik yapılu plastifiyanların kullanımına çok fazla olanak sağlar.

PVC çalışmamızda, membran matriksindeki temel bileşen olan stabil destekleyici olarak kullanılmıştır.

Tetrahidrofur(THF)(39)

Kapalı formül: C_4H_8O

Özellikle PVC gibi büyük moleküllü polimerler için kullanılan bir *çözgendir*.

2.3.Kullanılan yöntem

2.3.1.Elektrodun hazırlanması

2.3.1.1. İyon çifti kompleksi verebilme yeteneğinin incelenmesi:

İyon çifti kompleksini oluştururken yardımcı iyon olarak kullanılacak maddelerin 10^{-2} M lık çözeltileri sırayla, difenhidramin hidroklorür(Dfh.HCl) maddesinin 10^{-2} M lık çözeltisiyle, 1:1 oranında karıştırıldı ve oluşan çökelek santrifüjlenip distile suyla yıkandıktan sonra, huni ve filitre kağıdıyla oluşturulan düzenden süzüldü. Oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra paket içerisinde desikatörde muhafaza edildi.

Bu çalışmada yardımcı iyonu veren maddeler ve difenhidramin hidroklorür ile oluşturdukları kompleks isimleri ve kısaltmaları aşağıdaki tablo-2'de belirtilmiştir:

Tablo-2: Yardımcı iyonu vermek amacıyla kullanılan maddeler ve difenhidramin hidroklorür (Dfh.HCl) ile oluşturdukları kompleks isimleri ve kısaltmaları

| <i>Yardımcı iyon vermek amacıyla kullanılan madde ismi</i> | <i>Dfh.HCl ile oluşturdukları iyon çifti kompleks ismi ve kısaltılmış şekli</i> |
|--|---|
| Sodyum tetrafenilborat | Difenhidramin-tetrafenilborat kompleksi(Dfh-TFB) |
| Sodyum fosfotungustat | Difenhidramin-fosfotungustat kompleksi(Dfh-FT) |
| Amonyum Reineckate | Difenhidramin-reineckate kompleksi(Dfh-Reinec.) |

2.3.1.2.Membranın hazırlanması ve elektroda monte edilmesi:

Membranın bileşiminde yer alan bileşenlerin miktarları; İyon çifti kompleksi:PVC:DOS , %10.5 : %35: %54.5 şeklindedir. Beherdeki bu karışıma THF ilave edildikten sonra ses titreşimli temizleme cihazında 5-10 dakika tutuldu. Böylece homojen karışması sağlanmış oldu. Daha sonra petri kabında hazırlanan düzenekteki silindir içersine döküldü ve üzeri örtüldü. THF uçtuktan sonra membran, elektrot olarak kullanılacak PVC Tygon tübe monte edilecek büyüklükte kesildi. Kesilen membran, THF içersinde çözündürülmüş PVC karışımıyla tübe tutturuldu.

2.3.1.3.Difenhidramin hidroklorür (Dfh.HCl)'e ilişkin standart çözeltilerinin hazırlanması:

Çalışma sırasında kullanılan 0.05 M Sodyum asetat / Asetik asit tampon çözeltilisinin hazırlanması:

1 M 250 mL Asetik asit çözeltisi hazırlamak için 14.428 mL %99-100 lük asetik asitten alınıp balon jodede 250 mL ye distile suyla tamamlandı.1M NaOH çözeltisi hazırlandı.Hazırlanan asetik asit çözeltisi bir beher içersine konarak pH sı 4.75'e hazırlanan NaOH çözeltisi ile pH-metrede ayarlanır. 500 mL ye distile suyla tamamlandı.

Dfh.HCl standart çözeltilerinin hazırlanması:

10^{-2} M Dfh standart çözeltisi, tampon çözeltisi (pH=4.75) ile hazırlandı. Hazırlanan 10^{-2} M Dfh standart çözeltisinden seyreltmeyle tampon çözeltisi kullanılarak diğer standart çözeltiler 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M Dfh çözeltileri hazırlandı.

2.3.1.4.Elektrodlara çalışma öncesi yapılan işlemler:

Hazırlanan elektrodların içersine, iç çözelti olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi dolduruldu ve ucunda Ag / AgCl tel bulunan düzeneğin ucuna takıldı.

Yapılacak çalışmanın hemen öncesinde elektrot, 10^{-3} M Dfh.HCl çözeltisinde şartlandırma işlemi için yarım saat süreyle bekletildi.

2.3.2.Elektrot davranışının incelenmesi

2.3.2.1.Elektrodun kalibrasyonu ve kalibrasyon eğrilerinin çizilmesi:

Elektrodun standart çözeltilerle kalibrasyonunu yapmak amacıyla, şartlandırılan Dfh seçimli membran elektrot ve çalışmada referans elektrot olarak kullanılan doygun kalomel elektrot, elektrokimyasal hücre içerisindeki Dfh.HCl standart çözeltilerine daldırıldı.Bu sistemin bağlı olduğu İyonmetre'de(Potansiyometre), 10^{-6} - 10^{-2} M arası değişen Dfh.HCl konsantrasyonlarına bağlı olarak potansiyel değerleri mV cinsinden okundu.pDfh-potansiyel(mV) grafiği çizildi.

2.3.2.2.Farklı membranların yanıtlara göre kıyaslanması:

Aynı bileşimde iyon çifti kompleksi içeren, fakat yardımcı iyonları farklı olan membran elektrodlar,şartlandırma işlemi yapıldıktan sonra 10^{-6} - 10^{-2} M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerine daldırılarak potansiyel değerleri okundu. pDfh-potansiyel(mV)grafikleri çizilerek kıyaslandı ve çalışmamız için uygun olan elektrodlara çalışmalara devam edildi.

2.3.2.3.Elektrot yanıtının iç çözeltilere göre değişiminin incelenmesi:

Elektrodun iç çözeltisinin farklı iki konsantrasyonda hazırlayıp kullanarak yanıtlarına göre kıyaslanmasında, iç çözelti olarak 10^{-3} M ve 10^{-2} M Dfh.HCl standart çözeltileri kullanıldı. Bu iç çözeltiyi içeren elektrodlar, şartlandırıldıktan sonra 10^{-6} - 10^{-2} M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerine daldırılarak potansiyel değerleri okundu. Ölçümler 4 gün süresince tekrarlanıp, eğim ve yanıt zamanındaki değişim incelendi.

2.3.2.4.Elektrodu saklama koşullarının incelenmesi:

Buzdolabı(4-6⁰C)-kuru bir ortam, buzdolabı(4-6⁰C)-iç çözeltide ve oda sıcaklığı-kuru bir ortamda saklanan aynı kompozisyonu içeren elektrotlar şartlandırıldıktan sonra 10⁻⁶-10⁻² M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerindeki potansiyel değerleri ölçüldü.Farklı saklama koşullarındaki pDfh-potansiyel (mV) grafikleri çizildi.

2.3.2.5.İyon çifti bileşiminin incelenmesi:

İyon çifti kompleksi yüzdesindeki değişimin elektrodun yanıtı üzerindeki etkisi incelenirken, %6.2 , %10.5 ve %20.7 iyon çifti kompleksi içeren seçimli membran elektrotlar hazırlandı.Şartlandırıldıktan sonra 10⁻⁶-10⁻² M arasında değişen Dfh standart çözeltilerindeki potansiyel değerleri ölçüldü.

2.3.2.6.Elektrodun yanıt zamanının belirlenmesi:(41)

Şartlandırılan Dfh seçimli elektrot, 10⁻³ M ve 10⁻² M Dfh.HCl standart çözeltilerine sırayla daldırıldı. Elektrot, çözeltiliye ilk daldırıldığından itibaren 5 saniye ara ile potansiyel değerleri ölçüldü. Her iki çözeltiliye ait zaman-potansiyel(mV) grafiği çizildi.

2.3.2.7.Elektrodun tekrarlanabilirliğinin incelenmesi:(42)

Şartlandırılan Dfh seçimli elektrotla 10⁻⁶-10⁻² M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerinde potansiyometrik ölçümler alındı.Bu işlem, ard arda 5 kez tekrarlandı. pDfh-potansiyel(mV) grafikleri çizildi.Kesişim ve eğim değerleri saptandı.

2.3.2.8.Elektrodun stabilitesinin incelenmesi:

Şartlandırılan elektrot, 10⁻⁶-10⁻² M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerine daldırılarak potansiyometrik ölçümler alındı.Bu işlem bir aylık bir süre

içersinde tekrarlandı.pDfh-potansiyel(mV)grafikleri çizildi.Bulunan eğimlerin zamana göre değişimi incelendi.

2.3.2.9.pH'nın elektrot yanıtına etkisi:(43,44)

Şartlandırılıp 10^{-6} - 10^{-2} M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerinde kalibre edilen elektrot, pH çalışması için hazırlanan 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisine daldırıldı.Potansiyometrik ölçüm için kullanılan düzenek kuruldu ve pH metreye bağlı pH elektrodu da çözeltiliye daldırıldı.Çözeltiye önce 1M HCl ve sonra 1M NaOH çözeltisinden az miktarda ilave edilerek elde edilen değişik pH lardaki potansiyel değeri okundu.pH-potansiyel(mV) grafiği çizildi.

2.3.2.10.Sıcaklık değişimin elektrot yanıtına etkisi :

Şartlandırılıp Dfh.HCl standart çözeltilerinde kalibre edilen elektrot, su banyosunda sıcaklığı sırayla 25°C , 40°C , 60°C , 70°C ye getirilen 10^{-6} - 10^{-2} M arasında değişen Dfh.HCl standart çözeltilerine daldırıldı.Potansiyel değerleri okundu.Her sıcaklığa ilişkin pDfh-potansiyel (mV) grafiği çizildi.Eğim ve kesişim değerleri belirlendi. Çalışma çözeltisinin sıcaklığının membran elektrodun termal stabilitesini etkileyip etkilemediğini anlamak amacıyla, *izotermal sıcaklık katsayısı* aşağıdaki formülden hesaplandı (35,43,44):

$$E^0 = E_{25}^0 + \left(\frac{dE^0}{dt} \right) (t - 25)$$

E^0 = Farklı sıcaklıklarda çizilen kalibrasyon eğrilerinde, Dfh ilaç konsantrasyonu sıfır iken , saptanan kesişim değerleri.

t = Çalışılan sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$) .

dE^0 / dt = Kullanılan elektroda ait izotermal sıcaklık katsayısı.(V / $^{\circ}\text{C}$)

2.3.2.11.Elektrodun seçimliliğinin incelenmesi:

Şartlandırılan elektrodun seçimliliği, iki ayrı yöntemle incelendi ve değişik maddelere karşı seçimlilik katsayısı belirlendi.

2.3.2.11.1.Ayrı çözeltiler yöntemi(4):

Dfh seçimli membran elektrodunun kalibrasyon eğrisi çizilip eğimi saptandıktan sonra, önce 10^{-3} M Dfh.HCl çözeltisine daldırıldı.Potansiyel değeri okundu.Aynı elektrot, girişimi incelenecek olan maddenin 10^{-3} M çözeltisine daldırılıp potansiyel değeri okundu.Seçimlilik katsayısı formülden hesaplandı.

2.3.2.11.2.Karışık çözeltiler yöntemi(23):

Dfh seçimli membran elektrodunun kalibrasyon eğrisi çizilip eğimi saptandıktan sonra 10^{-4} M Dfh.HCl çözeltisindeki potansiyel değeri okundu. Sonra bu çözeltiliye, konsantrasyonu 5×10^{-4} M olacak şekilde girişimi incelenecek maddeden ilave edilip çözüldü.Potansiyel değeri okundu.Seçimlilik katsayısı formülden hesaplandı.

2.3.3.Elektrot uygulamaları

2.3.3.1.Potansiyometrik miktar tayini ile ilgili yapılan çalışmalar:

Bu çalışmalar potansiyometrik olarak iki şekilde yapılmıştır(4,44).Analizde kullanılan örnekler Dfh.HCl maddesini içeren Bebeko Şurup (Toprak İlaç A.Ş) ve Benadryl Eliksir (Eczacıbaşı İlaç A.Ş) preparatlarıdır.

2.3.3.1.1.Standart katma yöntemi:

Analizlenecek örnekten alınan 5 mL numune, balon jode 25 mL' ye kullanılan tampon çözeltisiyle seyreltildi. Elektrot, şartlandırılıp 10^{-6} - 10^{-2} M arası değişen Dfh.HCl standart çözeltilerinde kalibre edildikten sonra, analizlenecek örnek çözeltisine daldırıldı.Potansiyel değeri kaydedildi.Üzerine standart Dfh.HCl çözeltisi ilave

edildi. Birinci ilavedeki potansiyel değeri kaydedildi. Aynı miktardaki ikinci ilaveden sonra okunan potansiyel değeri de kaydedildi. Konsantrasyon-potansiyel grafiğinde değerler yerine konup konsantrasyon hesaplandı. Her iki preparat için bu işlemler üç defa yapıldı.

2.3.3.1.2. Potansiyometrik titrasyon:

Analizlenecek örnekten alınan 5 mL numune içersine, şartlandırılıp 10^{-6} - 10^{-2} M arası değişen Dfh.HCl standart çözeltilerinde kalibre edilen elektrot daldırıldı. Potansiyel değeri kaydedildi. Titrasyon için hazırlanan 0.01 M standart sodyum tetrafenilborat çözeltisinden eşit ve az miktarlarda ilave edilerek, her ilaveden sonraki potansiyel değerleri kaydedildi. Her iki preparat için bu işlemler üç defa yapıldı.

2.3.3.2. Dissolüsyon çalışması :

2.3.3.2.1. Dfh kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması ve kalibrasyon eğrilerinin

çizilmesi:

1×10^{-3} M Dfh.HCl standart stok çözeltisi sodyum asetat /asetik asit tampon çözeltisi (pH:4.75) ile hazırlandı. Seyreltmelerle 1×10^{-3} - 1×10^{-4} M arası Dfh.HCl standart çözeltileri ($1,2,3,4,5,6,7,8,9 \times 10^{-4}$ M) hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler su banyosunda tutularak sıcaklıkları dissolüsyon testlerinin çalışma sıcaklığı olan 37°C ye getirildi. Elektrot bu çözeltilerde kalibre edildi. Spektrofotometrik çalışma için 1×10^{-4} - 5×10^{-4} M aralığındaki aynı Dfh.HCl çözeltileri kullanılarak 232.4 nm de absorbans değerleri okundu. Kalibrasyon eğrisi çizildi. Çalışmada kör çözeltisi olarak sodyum asetat /asetik asit tampon çözeltisi (pH:4.75) kullanıldı.

2.3.3.2.2.Dissolüsyon çalışmasında kullanılan tabletin hazırlanması:

Dfh.HCl-Etil selüloz matriks tabletleri 3:1(ilâç-polimer)oranında ve yaş granülasyon yöntemi kullanılarak hazırlandı. Çözücü olarak etil alkol kullanıldı. Elde edilen granüleler, 75 mg Dfh.HCl içerecek şekilde tel zımbalı eksentrik makinede elle basılarak tablet haline getirildi.

2.3.3.2.3.Potansiyometrik ve spektrofotometrik ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması:

Dissolüsyon çalışmasında Amerikan farmakopesi (USP XXII)nin (45) önerdiği, döner sepet modeli kullanıldı.Sepetin dönme hızı 100 rpm dir.Dissolüsyon ortamını sağlamak için 500 mL sodyum asetat / asetik asit tamponu (pH :4.75) kullanıldı. Sıcaklık 37 ± 1 °C dir.

Basılan tablet sepet içersine yerleştirildi.Dfh seçimli elektrot , referans elektrot ve sepet dissolüsyon ortamına daldırıldı. Potansiyometrik ölçümlerde, 2 dakika arayla potansiyel değerleri kaydedildi ve dissolüsyon çalışmasından sonra elektrot, sıcaklıkları 37 °C'ye getirilmiş 1×10^{-4} M, 5×10^{-4} M, 8×10^{-4} M, 1×10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltilerine daldırıldı. Okunan potansiyel değerlerine göre, kalibrasyon eğrisi çizildi.Dissolüsyon çalışması sırasında okunan potansiyel değerlerine göre kalibrasyon eğrisinden Dfh.HCl miktarları hesaplandı.Spektrofotometrik ölçümler için potansiyometrik ölçümlerin yapıldığı zamanlarda olmak üzere dissolüsyon ortamından alınan örneğin absorbansı, 232.4 nm de ölçüldü. Alınan örnek ölçüldükten sonra ortama geri boşaltıldı.Okunan absorbans değerlerine göre, kalibrasyon eğrisinden Dfh.HCl miktarları hesaplandı. Zamana karşı % salım miktarlarına ilişkin grafik çizildi.

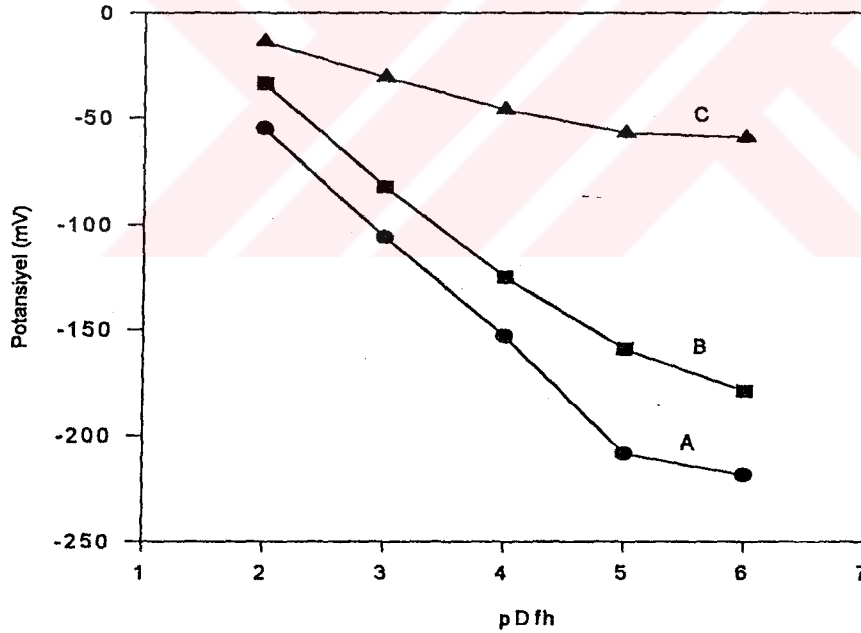
III.BÖLÜM

BULGULAR

3.1.Elektrot davranışının incelenmesine ilişkin bulgular:

3.1.1.Farklı membran elektrotların yanıtlara göre kıyaslanmasına ilişkin bulgular:

Farklı yardımcı iyonla oluşturulmuş % 10.5 iyon çifti kompleksi içeren membran elektrotlarla ölçüm yöntem-2.3.2.2'de anlatıldığı gibi yapıldı. Değişik iyon çifti kompleksi içeren membran elektrotların hazırlanmasında, bir membran serisinden hazırlanmış dört membran elektrodla yapılan ölçümlerde, okunan potansiyel değerlerinin ortalaması alındı. Bu değerlere göre çizilen, herbir iyon çifti kompleksine ait membran elektrodun pDfh-potansiyel grafiği, şekil-3'de görülmektedir.



Şekil-3: Farklı iyon çifti kompleksi içeren Dfh seçimli membran elektrodun pDfh-potansiyel grafiği; Difenhidramin-Tetrafenilborat kompleksi (A), Difenhidramin-Fosfotungustat kompleksi (B), Difenhidramin-Reineckate kompleksi (C).

Bulgular, tablo-3'de yer almaktadır.

Tablo-3:Farklı yardımcı iyonla oluşturulmuş %10.5 iyon çifti kompleksi içeren

Dfh seçimli membran elektrodlarının eğim, tayin sınırı, yanıt zamanı değerleri

| <i>Dfh-yardımcı iyon kompleksi</i> | <i>Eğim (mV/decade)</i> | <i>Tayin sınırı</i> | <i>10⁻⁵ - 10⁻² M arasındaki Yanıt zamanı aralığı</i> |
|------------------------------------|-------------------------|--------------------------|--|
| Dfh-TFB | 51 | 3.5 x 10 ⁻⁵ M | 3 dak-20 sn. |
| Dfh-FT | 48 | 4 x 10 ⁻⁵ M | 3 dak-20 sn. |
| Dfh-Reinec. | 17 | 2 x 10 ⁻⁵ M | 4 dak-30 sn. |

* İç çözeltisi olarak 10⁻² M Dfh.HCl standart çözeltisi kullanılmış ve elektrodlar kullanılmadığı zaman , oda °C ve 10⁻² M Dfh.HCl çözeltisinde muhafaza edilmiştir.

İncelenen parametrelere (eğim,tayin sınırı,yanıt zamanı) göre uygun olduğu belirlenen %10.5 Dfh-FT ve Dfh-TFB iyon çifti kompleksi bileşimine sahip membran elektrodlarla ölçüm sırasında elde edilen eğimlerdeki değişimin zaman içersindeki kıyaslaması tablo-4'de gösterilmiştir.

Tablo-4: %10.5 Dfh-FT ve Dfh-TFB iyon çifti kompleksi bileşimine sahip membran elektrodlarla yapılan ölçümlerde, zaman içersinde eğimlerdeki değişim değerleri

| <i>İyon çifti kompleksinin ismi</i> | <i>1.gün Eğim</i> | <i>2.gün Eğim</i> | <i>3.gün Eğim</i> | <i>4.gün Eğim</i> |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dfh-FT | 48 | 23 | 15 | 11 |
| Dfh-TFB | 51 | 30 | 25 | 7 |

* İç çözeltisi olarak 10⁻² M Dfh.HCl standart çözeltisi kullanılmış ve elektrodlar kullanılmadığı zaman,oda °C ve 10⁻² M Dfh.HCl çözeltisinde muhafaza edilmiştir.

Dfh-TFB iyon çifti kompleksini içeren membran elektrodu diğeriyle kıyasladığımızda; dört günlük süre içerisinde, yanıt zamanının daha kısa ve daha az değişken olduğu saptanmıştır.

3.1.2.Elektrot yanıtının iç çözeltilere göre değişiminin incelenmesine ilişkin

bulgular:

Yöntem-2.3.2.3'de anlatıldığı gibi yapılmıştır.Farklı iç çözelti içeren %10.5 Dfh-TFB iyon çifti kompleksini içeren membran elektrodlarla yapılan ölçümler sonucu eğimlerde değişim gözlenmedi. 10^{-2} M Dfh.HCl standart çözeltisi içeren elektrodun yanıt zamanının, 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi içeren elektrodun yanıt zamanına göre daha uzun olduğu bulundu.

3.1.3.Elektrodun saklama koşullarının incelenmesine ilişkin bulgular:

Yöntem-2.3.2.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrotlar kullanılmıştır.Sonuçların kıyaslanmasına ilişkin bulgular,tablo-5'de yer almaktadır.

Tablo-5: %10.5 Dfh-TFB içeren membran elektrodların farklı koşullarda saklanarak alınan yanıtlara göre elde edilen eğim ve yanıt zamanı değerleri

| <i>Saklama koşulları</i> | <i>Eğim (mV/decade)</i> | <i>10^{-6} - 10^{-2} M arası Yanıt zamanı aralığı</i> |
|-----------------------------------|-------------------------|---|
| Buzdolabında ve kuru bir ortamda | 51 | 2 dakika-20 saniye |
| Buzdolabında ve iç çözeltilerde | 47 | 3 dakika -30 saniye |
| Oda sıcaklığı ve kuru bir ortamda | 39 | 2 dakika-30 saniye |

* İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi kullanıldı.

3.1.4.İyon çifti bileşiminin incelenmesine ilişkin bulgular:

Yöntem -2.3.2.5'de anlatıldığı gibi yapılmıştır.Sonuçların kıyaslanmasına ilişkin bulgular, tablo-6'da yer almaktadır.

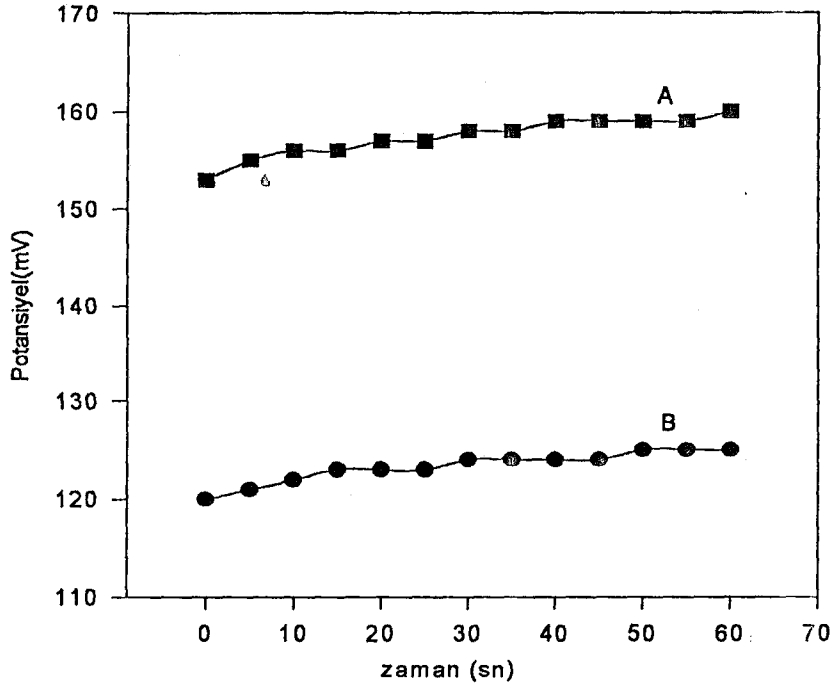
Tablo-6: Farklı miktarlarda Dfh-TFB içeren elektrodların yanıtlarına göre kıyaslanmasına ilişkin bulgular.

| <i>% Dfh-TFB miktarı</i> | <i>BULGULAR</i> |
|--|---|
| % 6.2 Dfh-TFB içeren membran elektrot | Aynı seriden hazırlanan iki elektrodla yapılan potansiyometrik ölçümlerde herhangi bir yanıt gözlenmedi. Diğer iki elektrotta %10.5 kompozisyona sahip elektroda göre düşük eğim değerleri bulundu. |
| % 10.5 Dfh-TFB içeren membran elektrot | Aynı seriden hazırlanan dört elektrodla yapılan potansiyometrik ölçümlerde birbirine yakın yanıtlar gözlemlendi. Diğer iki farklı kompozisyona sahip elektrodun eğim değerlerinden daha yüksek eğim değerleri bulundu. |
| % 20.7 Dfh-TFB içeren membran elektrot | Hazırlanan membranın kıvamının sert olduğu ve üzerinde yer yer deliklerin olduğu gözlemlendi. Kullanılabilecek tek bir elektrot hazırlanabildi. Bu elektrodla yapılan potansiyometrik ölçümlerde %10.5 kompozisyona sahip elektroda göre düşük bir eğim değeri bulundu. |

* İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi kullanıldı.

3.1.5. Yanıt zamanının belirlenmesine ilişkin bulgular:

Yöntem-2.3.2.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. Yanıt zamanının belirlenmesine ilişkin zaman-potansiyel grafiği, şekil-4'de görülmektedir.



Şekil -4: Dfh seçimli membran elektrodun yanıtı zamanının belirlenmesine ilişkin zaman-potansiyel grafiği; 10^{-2} M Dfh.HCl standart çözeltisi (A), 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi (B).

Yanıt zamanının tanımına göre (Genel bilgiler, s.13); Dfh seçimli membran elektrodun, 10^{-3} M Dfh.HCl çözeltisindeki yanıt zamanı 15 saniye, 10^{-2} M Dfh.HCl çözeltisindeki yanıt zamanı 20 saniye olarak bulunmuştur. 10^{-6} M Dfh.HCl standart çözeltisindeki yanıt zamanının, 10^{-5} ve 10^{-4} M Dfh.HCl standart çözeltilerindeki yanıt zamanlarına kıyasla daha uzun olduğu görülmüştür.

3.1.6. Elektrodun tekrarlanabilirliğinin incelenmesine ilişkin bulgular:

Yöntem-2.3.2.7'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. Bulgular, tablo-7'de yer almaktadır.

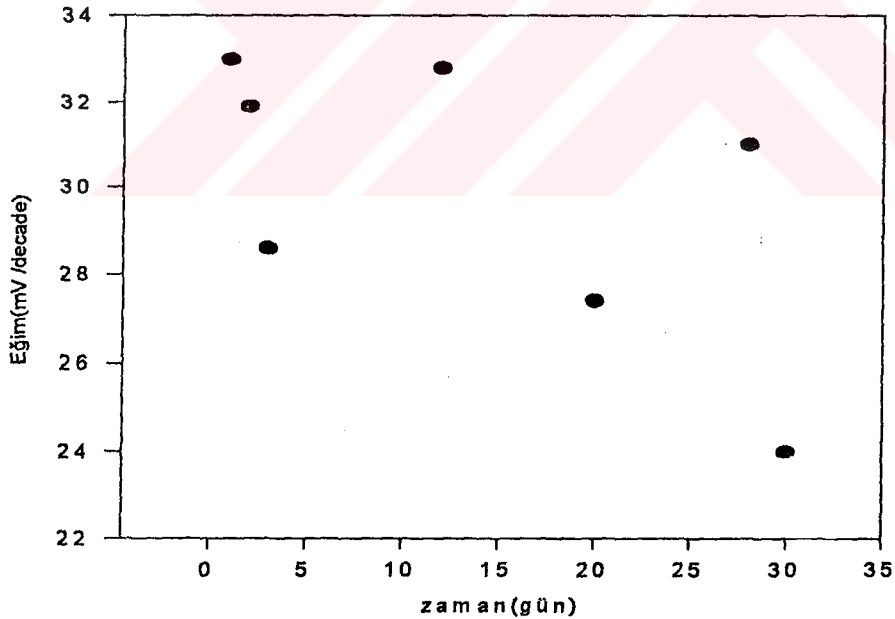
Tablo-7:Dfh seçimli membran elektrodla yapılan deneyde(n = 5) saptanan eğim ve kesişim değerleri

| Ölçüm no: | Eğim | Kesişim |
|-----------|------|---------|
| 1 | 32 | 239 |
| 2 | 32 | 239 |
| 3 | 31.6 | 236.2 |
| 4 | 31.7 | 235 |
| 5 | 31.5 | 233.4 |

**Eğimlerin aritmetik ortalaması, 31.8 mV/decade ve standart sapması 0.230 mV/decade; kesişimlerin aritmetik ortalaması, 236 mV ve standart sapması 2.608 mV olarak bulunmuştur.

3.1.7.Elektrodun stabilitesinin incelenmesine ilişkin bulgular:

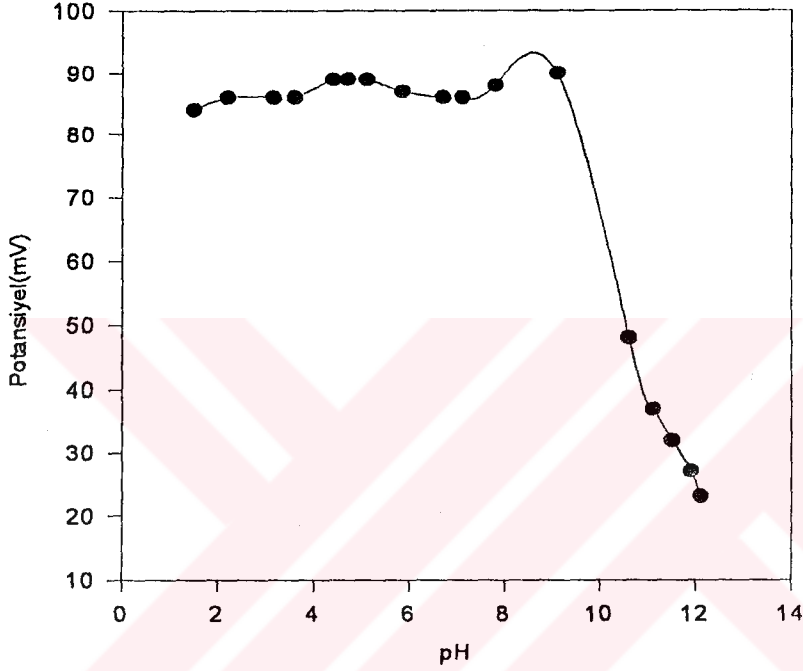
Yöntem-2.3.2.8'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır.Zamana bağlı eğim değişimini inceleyen grafik, şekil-5'de görülmektedir.



Şekil-5:Dfh seçimli membran elektrodun eğimin zamana göre değişimini gösteren grafik.

3.1.8.pH'nin elektrot yanıtına olan etkisine ilişkin bulgular:

Yöntem-2.3.2.9'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. pH-potansiyel grafiği, şekil-6'da görülmektedir.



Şekil-6: pH'nın Dfh seçimli membran elektrodun yanıtı üzerindeki etkisini gösteren grafik

3.1.9.Sıcaklık değişiminin elektrot yanıtına olan etkisine ilişkin bulgular:

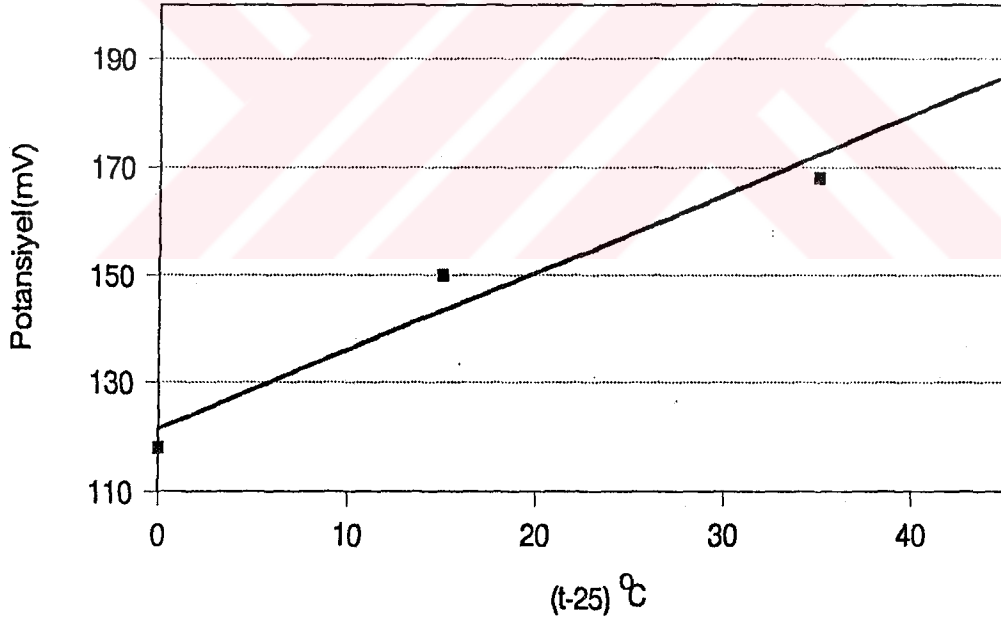
Yöntem-2.3.2.10'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. Bulgular, tablo-8'de yer almaktadır.

Tablo-8:Çalışılan sıcaklıklarda elde edilen potansiyel değerlerine göre çizilen eğrilerden elde edilen kesişim ve eğim değerleri

| Çalışılan sıcaklık (t, °C) | t-25, °C | Kesişim (E ⁰) | Eğim(mV/decade) |
|----------------------------|----------|---------------------------|-----------------|
| 25 | 0 | 118 | 36 |
| 40 | 15 | 150 | 45 |
| 60 | 35 | 168 | 45 |
| 70 | 45 | 188 | 47 |

$E^0 = E_{25}^0 + \left(\frac{dE^0}{dt}\right)(t - 25)$ formülünden izotermal sıcaklık katsayısı hesaplandı.

0.00156 V / °C bulundu. Sıcaklıkla Dfh seçimli membran elektrodun kesişim değerlerinde gözlenen değişimi gösteren grafik, şekil-7'de görülmektedir.



Şekil-7: Sıcaklıkla Dfh seçimli membran elektrodun kesişim değerlerinde gözlenen değişimi gösteren grafik

3.1.10. Elektrodun seçimliliğinin incelenmesine ilişkin bulgular:

Yöntem-2.3.2.11'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. İncelenen her maddeye ait seçimlilik katsayısı, tablo-9'da verilmiştir.

Tablo-9: Dfh seçimli membran elektrodun seçimliliğinin incelenmesinde bulunan seçimlilik katsayısı (K_{ij}^{Pot}) değerleri

| <i>Girişimi incelenen maddeler</i> | <i>Ayrı çözeltiler metodu ile bulunan K_{ij}^{Pot} değerleri</i> | <i>Karışık çözeltiler metodu ile bulunan K_{ij}^{Pot} değerleri</i> |
|------------------------------------|---|--|
| Laktoz | 0.0064 | 0.011 |
| Sükroz | 0.012 | 0.026 |
| D-Glukoz | 0.0297 | 0.0244 |
| Glisin | 0.0245 | 0.0399 |
| Vitamin C | 0.0202 | 0.0332 |
| NH ₄ Cl | 0.036 | 0.049 |
| CaCl ₂ | 2.1×10^{-4} | 5.2×10^{-6} |
| KCl | 0.0167 | 0.024 |
| NaCl | 0.0129 | 0.0388 |
| Tri sodyum sitrat -5,5 dihidrat | 0.020 | 0.024 |
| Papaverin hidroklorür | 1.066 | 0.656 |
| Efedrin hidroklorür | 0.1 | 0.080 |
| Kodein fosfat | 0.049 | 0.033 |

3.2. Elektrot uygulamalarına ilişkin bulgular:

3.2.1. Potansiyometrik miktar tayini ile ilgili bulgular:

3.2.1.1. Standart katma yöntemi kullanılarak saptanmış bulgular:

Yöntem 2.3.3.1.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. Tablo-10 ve tablo-11'de bu çalışmanın bulguları yer almaktadır.

3.2.1.2. Potansiyometrik titrasyon yöntemi kullanılarak saptanmış bulgular:

Yöntem 2.3.3.1.2'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır. Tablo-10 ve tablo-12'de bu çalışmanın bulguları yer almaktadır. Her iki preparata ait potansiyometrik titrasyon grafiği, şekil-8'de gösterilmiştir.

Tablo-10: Standart katma ve potansiyometrik titrasyon yöntemlerini kullanılarak yapılan miktar tayinlerinde iki ayrı preparatın içerdiği Dfh.HCl miktarları

| <i>Preparat ismi ve içerdiği Dfh.HCl miktarı</i> | <i>Standart katma yöntemi analiz sonucu</i> | <i>Potansiyometrik titrasyon yöntemi analiz sonucu</i> |
|--|---|--|
| Bebeko (7 mg / 5 mL) | 7.420 mg | 7.294 mg |
| Benadryl(12.5 mg / 5mL) | 11.793 mg | 13.231 mg |

***Bulunan analiz sonuçları her preparattan alınan üç örnekte yapılan analiz sonuçlarının aritmetik ortalamasıdır.

Tablo-11:Standart katma yöntemi göre yapılan analiz sonuçlarına ilişkin standart sapma ve varyasyon yüzdesi

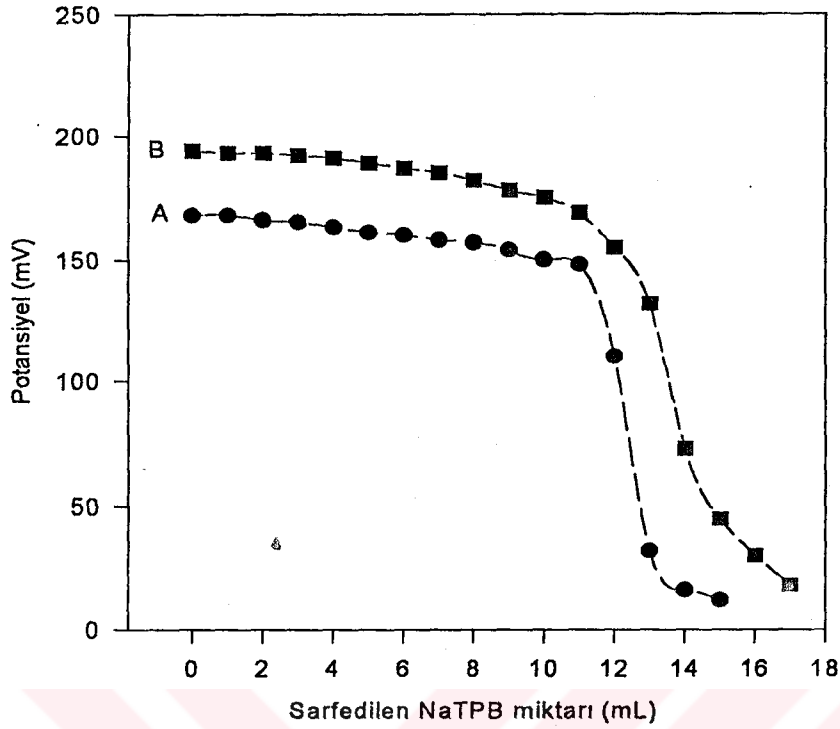
| <i>Preparat ismi</i> | <i>Standart sapma</i> | <i>Varyasyon yüzdesi</i> |
|----------------------|-----------------------|--------------------------|
| Bebeko | 0.2078 | 2.800 |
| Benadryl | 0.2136 | 1.811 |

Tablo-12:Potansiyometrik titrasyon yöntemi göre yapılan analiz sonuçlarına ilişkin standart sapma ve varyasyon yüzdesi

| <i>Preparat ismi</i> | <i>Standart sapma</i> | <i>Varyasyon yüzdesi</i> |
|----------------------|-----------------------|--------------------------|
| Bebeko | 0.061 | 0.836 |
| Benadryl | 0.084 | 0.634 |

Bebeko şurubuna ait ,her iki analiz sonuçlarında elde edilen standart sapma değerleri arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını, Fisher-Snedecor testini uygulayarak (42) saptadık.Sonuçlara göre hesaplanan F değeri , 11.613 bulundu.F tablo değeri ($p = 0.95, \alpha = 0.05$), 19 bulundu.Hesaplanan F değeri ,tablodan bulunan F değerinden küçük olduğu için, analizde kullanılan iki yöntemle bulunan sonuçlar arasındaki fark, anlamsızdır.

Benadryl eliksirine ait ,her iki analiz sonuçlarında elde edilen standart sapma değerleri arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını, Fisher-Snedecor testini uygulayarak (42) saptadık.Sonuçlara göre hesaplanan F değeri , 6.422 bulundu.F tablo değeri ($p = 0.95, \alpha = 0.05$), 19 bulundu.Hesaplanan F değeri ,tablodan bulunan F değerinden küçük olduğu için, analizde kullanılan iki yöntemle bulunan sonuçlar arasındaki fark, anlamsızdır.

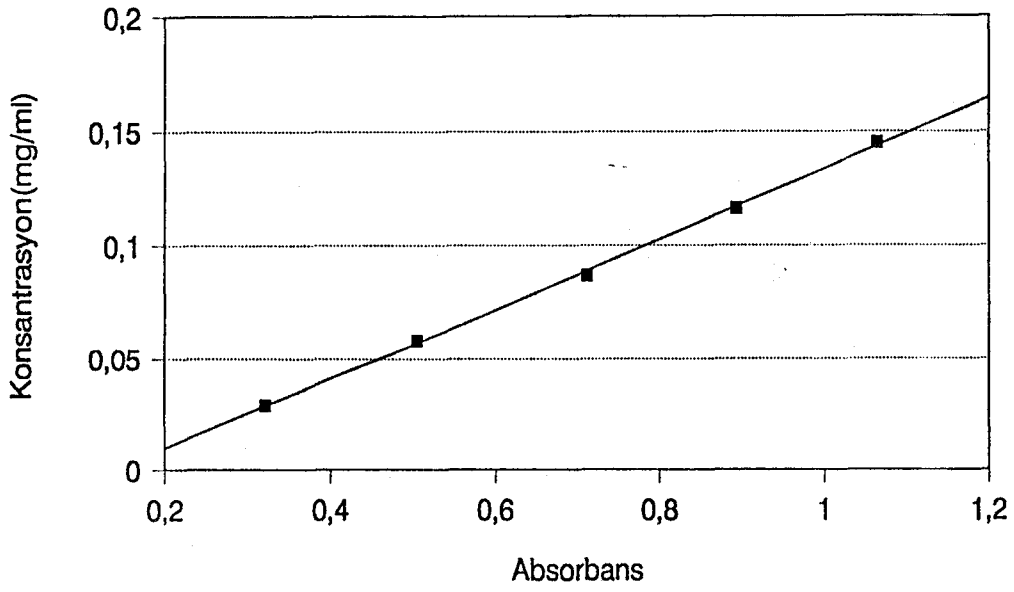


Şekil-8:Her iki preparata ait potansiyometrik titrasyon grafiği;Bebeko şurup(A),Benadryl eliksir(B)

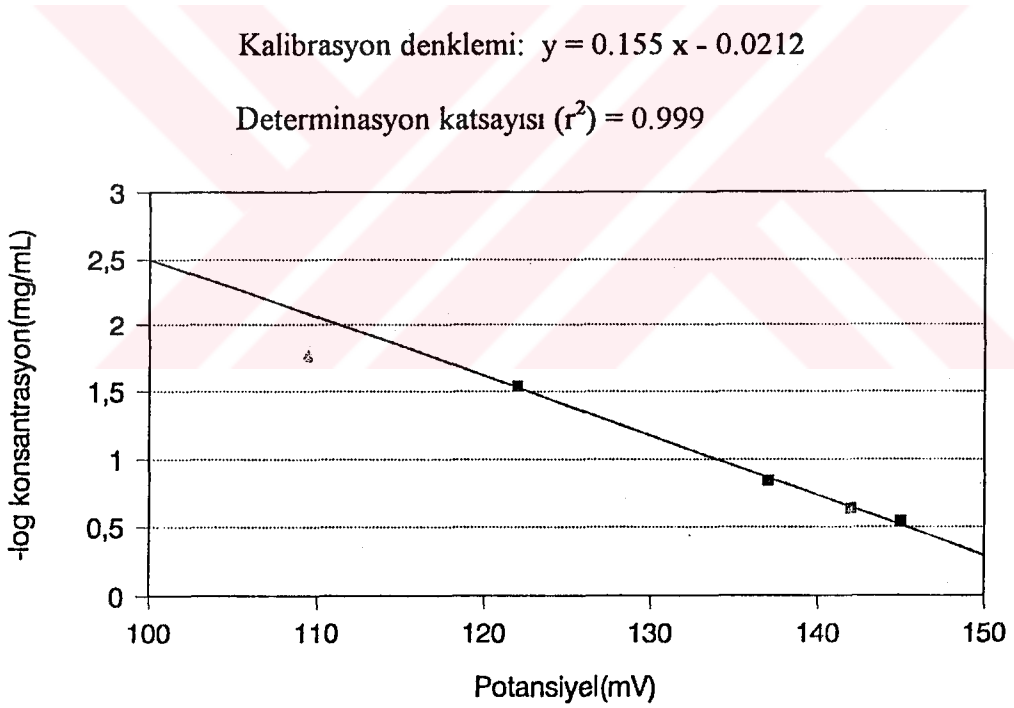
3.2.2.Dissolüsyon çalışmasına ilişkin bulgular:

3.2.2.1.Dfh.HCl çözeltilerine ait kalibrasyon eğrilerine ilişkin bulgular:

Spektrofotometrik yöntem için kalibrasyon grafiği, yöntem-2.3.3.2.1'de anlatıldığı gibi çizilmiştir ve şekil-9'da görülmektedir.Potansiyometrik yöntem için, iç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran seçimli elektrot kullanılmıştır.Potansiyometrik yöntem için kalibrasyon grafiği, yöntem-2.3.3.2.3'de anlatıldığı gibi çizilmiştir ve şekil-10'da görülmektedir.



Şekil-9:Dfh.HCl standart çözeltilerinin spektrofotometrik yöntem kullanılarak çizilmiş kalibrasyon grafiği



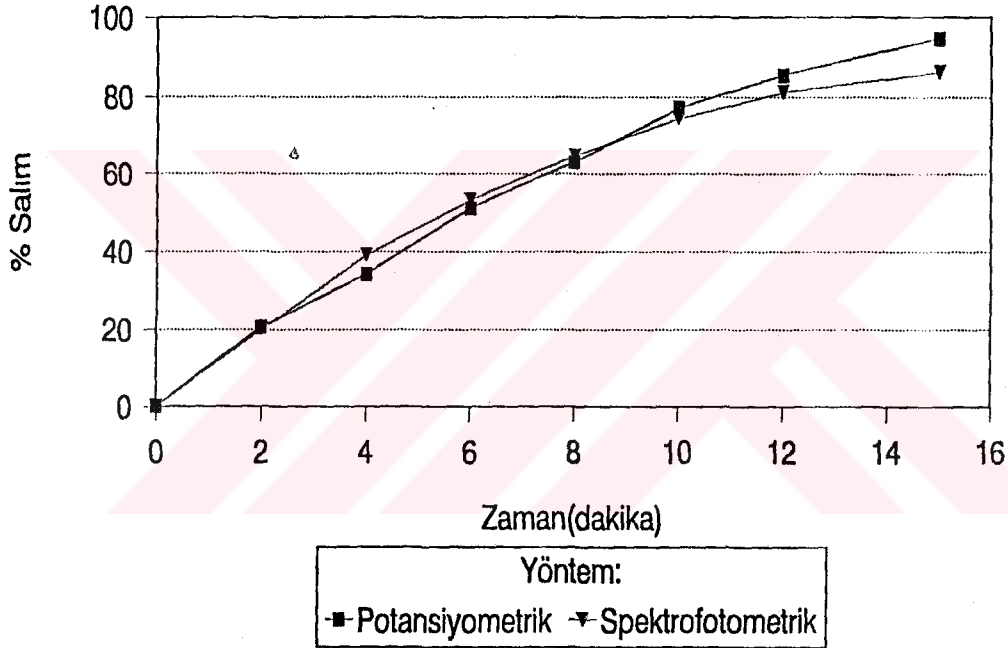
Şekil-10:Dfh.HCl standart çözeltilerinin potansiyometrik yöntem kullanılarak çizilmiş kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon denklemi: $y = -0.0441 x + 6.906$

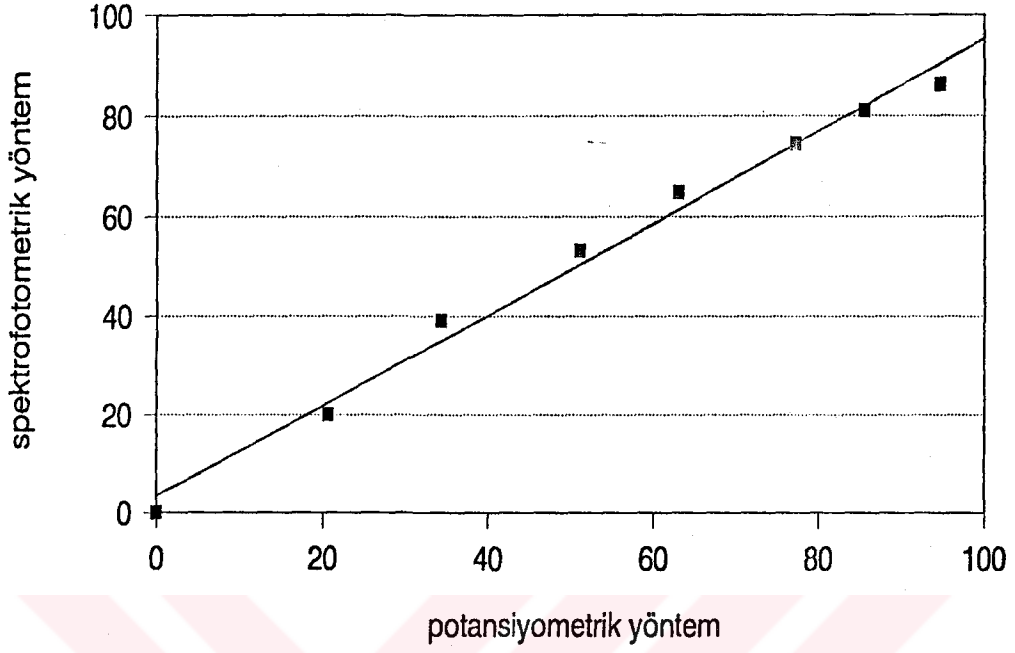
Determinasyon katsayısı (r^2) = 0.998

3.2.2.2.Dissolüsyon çalışmasına ait bulgular:

Yöntem-2.3.3.2.3'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İç çözeltisi olarak 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisi ve bileşiminde %10.5 Dfh-TFB içeren membran elektrot kullanılmıştır.Dissolüsyon testi sonucunda her iki yöntemle elde edilen sonuçlara göre, %salım- zaman grafiği, şekil-11'de ve bunlar arasındaki korelasyonu inceleyen grafik, şekil-12'de gösterilmiştir.



Şekil-11:Potansiyometrik ve spektrofotometrik yöntemle elde edilen %salım- zaman grafiği



Şekil-12:Potansiyometrik ve spektrofotometrik yöntemle bulunan % salım miktarlarının karşılaştırılmasına ilişkin grafik

Korelasyon denklemi: $y = 0.920 x + 3.3$

Korelasyon katsayısı, 0.999 ve determinasyon katsayısı,0.989 bulunmuştur.

IV.BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

Potansiyometri, uygulama alanı geniş olan elektroanalitik bir yöntem olup, uygulama alanlarından biri olan iyon seçimli elektrotlarla, hangi maddenin analizinin yapılacağı membranın yapısına bağlıdır. Farmasötik analizler için tasarımı yapılan ve geliştirilen değişik ilaçlara karşı seçimli olan membran elektrotlara ilişkin çalışmaların sayısı son yıllarda artmıştır(7).

Difenhidramin seçimli membran elektrodun tasarımında, farklı yardımcı iyonla oluşturulmuş iyon çifti komplekslerini içeren üç farklı Dfh seçimli membran elektrot hazırlandı. Eğim,yanıt zamanı ve tayin sınırı açısından uygun olanını seçmek amacıyla yapılan deneyde, en uygun olanlar Dfh-TFB ve Dfh-FT iyon çifti komplekslerini içeren membran elektrotlar olarak bulunmuştur(tablo-3).Aynı zamanda yanıt zamanındaki kararlılığı ve membran döküldüğünde yapıcı en iyi homojeniteyi gösteren bu iki iyon çifti kompleksi, membranların zaman içersindeki ömürlerine göre kıyaslandığı zaman (tablo-4), Dfh-TFB membran elektrodun diğerine göre daha stabil kaldığı ve yanıt zamanının daha az değiştiği görülmüştür. Bu yüzden çalışmaya Dfh-TFB iyon çifti kompleksini içeren membran elektrodla devam edilmesi uygun görülmüştür.

İç çözeltideki farklılığın yanıtlara etkisi incelenmiş ve kalibrasyon eğrilerinin eğiminde bir değişim olmadığı, ancak yanıt zamanının değiştiği gözlenmiştir.Çalışma çözeltisinin konsantrasyonuna yakın bir iç çözelti kullanıldığı zaman geçişlerin daha kolay olduğu ve dolayısıyla yanıt zamanının kısaldığı sonucu çıkarılmıştır. Çalışmada 10^{-3} M Dfh.HCl standart çözeltisinin iç çözelti olarak kullanılması uygun görülmüştür.

Kullanılan Dfh seçimli membran elektrodların saklama ortamlarını farklılaştırarak, alınan yanıtlara göre kıyaslama yapılmıştır (tablo-5). Elektrodu buzdolabında ve kuru bir ortamda saklamanın uygun olduğu görülmüştür. M. Zareh ve arkadaşları (35), elektrodun devamlı çözelti içerisinde saklanması, membran yüzeyindeki elektroaktif türlerin aşamalı şekilde ayrılıp çözeltiye karıştığını belirtmişlerdir. Dfh seçimli membran elektrodla yapılmış diğer bir çalışmada (26), Dfh seçimli membran elektrodun sürekli su veya Dfh.HCl çözeltisinde tutulmasının, elektrot yanıtının üzerinde negatif bir etkiye sebep olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak çalışmada kullanılan elektrodların, kullanılmadıkları zaman buzdolabında (4-6°C) ve kuru bir ortamda muhafaza edilmesi uygun görülmüştür.

Membran bileşimindeki iyon çifti kompleks oranını değiştirerek, Dfh seçimli membran elektrodlar hazırlandı. Alınan yanıtlara göre kıyaslama yapıldığı zaman (tablo-6), en iyi oranın %10.5 olduğu saptanmıştır. % 6.2 oranında Dfh-TFB içeren membran elektrodların yanıtlarından saptanan eğimin, %10.5 oranında Dfh-TFB içeren membran elektrodlarının göre, düşük olduğu saptanmış ve sonuç olarak yeterli oranda iyon çifti kompleksi içermediği düşünülmüştür. %20.7 Dfh-TFB içeren membran elektrottan alınan yanıtlarda, %10.5 oranında Dfh-TFB içeren membran elektrodlarıyla kıyaslandığında, membrandaki plastikleşme olayının tam anlamıyla gerçekleşmediği ve iyon çifti kompleksine ait homojenitenin bu oranda sağlanamadığı düşünülmüştür.

Yanıt zamanının belirlenmesine ilişkin deneyde (şekil-4), saptanan yanıt zamanları; 10^{-3} M Dfh.HCl çözeltisinde 15 saniye ve 10^{-2} M Dfh.HCl çözeltisinde 20 saniye gibi kısa bir zaman aralığıdır. Sonuç olarak lineer konsantrasyon aralığında yapılan çalışmalarda, yanıtların kısa bir sürede alınmasının çalışmaya avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

Kullanılan Dfh seçimli membran elektrodun tekrarlanabilirliğini ilişkin deneyde (tablo-7), bir gün içerisinde alınan ölçümlere ait eğimlerin aritmetik ortalaması 31.8mV/decade, standart sapması 0.230 mV /decade(n=5); kesişimlerin aritmetik ortalaması 236 mV, standart sapması 2.608 mV (n=5) bulunmuştur.

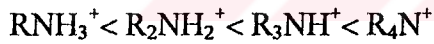
Stabilitesine ilişkin deneyde(şekil-5), bir aylık süre içerisinde elektrodun eğiminde, %27.3 azalma saptanmıştır. Yapılan tüm çalışmalar sırasında kullanılan elektrodulara ilişkin hesaplanan eğim değerleri 51-33 mV/decade değerleri arasında değişmektedir. Her çalışmadan önce, elektrodun kalibrasyonu yapıp, bunlara ilişkin kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Ölçümlere ait eğim değeri saptanıp, hesaplamalar bunlara göre yapılmıştır. Sık kalibrasyondan dolayı, zaman içerisinde gelişen eğimdeki bu azalma çalışmayı etkilememiştir.

pH'nın Dfh seçimli membran elektrodun yanıtı üzerindeki etkisini incelenmiştir(şekil-6). Membranın asidik yapıya duyarlı olduğu ve yüksek pH'larda protonlanmamış difenhidramin türü çökelti verdiği için dolayı, bazik bölgede yanıtın düştüğü gözlenmiştir. Sonuçta, Dfh seçimli membran elektrodla yapılmış olan önceki bir çalışmaya(26) paralel olarak; Dfh seçimli membran elektrodun, protonlanmamış şekline duyarlı olmadığı ve 2 ile 7.5 arasındaki pH aralığında güvenle kullanabileceği görülmüştür.

Sıcaklığın Dfh seçimli membran elektrodun yanıtı üzerindeki etkisi incelenmiştir (tablo-8;şekil-7). Eğimdeki artışın nedeni, sıcaklığın yükselmesiyle, membranın çözeltiliyle temas ettiği arayüzeyde gerçekleşen iyon değişme mekanizmasının uyarılması sonucu ortaya çıkan potansiyel değerinin yükselmesi olarak düşünülmektedir(44). İzotermal sıcaklık katsayısı, 0.00156 V / ° C bulunmuştur. Sonuç olarak, sıcaklığın elektrot yanıtına olan etkisini inceleyen benzer çalışmalarda (35,43,44) bulunan

izotermal sıcaklık katsayıları ile kıyaslandığında, elektrodun iyi bir termal stabiliteye sahip olduğu görülmüştür.

Dfh seçimli membran elektrodun seçimliliği incelenmiştir. İki yöntem arasında hesaplanan seçimlilik katsayılarına bakıldığı zaman, genelde karışık çözeltiler yöntemiyle bulunan değerlerin ayrı çözeltiler yöntemiyle bulunanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. D-Glukoz, CaCl₂, Papaverin hidroklorür, Efedrin hidroklorür ve Kodein fosfat maddelerinin seçimlilik katsayıları, ayrı çözeltiler yöntemine göre daha yüksek bulunmuştur. Girişimi incelenen maddelere ait seçimlilik katsayılarını incelediğimizde (tablo-9), şu sonuçlar çıkarılmıştır: Laktoz, sükroz, D-Glukoz, CaCl₂, KCl, NaCl, tri sodyum sitrat-5,5 dihidrat maddelerine ait hesaplanan seçimlilik katsayılarının sıfıra yakın çok küçük bir değer taşımasından dolayı, bu maddelerin girişiminin hemen hemen olmadığına karar verilmiştir. Azot içeren ilaçların yapılarında bulunan amin grubuna bağlı alkil grubu sayısı arttıkça, kullanılan elektrodun analizlenecek maddeye olan seçimliliğinin arttığı bulunmuştur(32). Seçimlilik sırası, aşağıdaki şekilde verilmiştir.



Girişimi incelenen maddelerden NH₄Cl'ün azotlu bir bileşik olması ve Glisin'in yapısındaki amin grubundan dolayı, seçimlilik katsayılarının yukarıda ismi geçen girişimi incelenen diğer maddelere oranla daha büyük olduğu görülmüştür. Girişimi incelenen maddeler içersinde, diğerlerine kıyasla en fazla girişim yaptığı düşünülen Papaverin hidroklorür, Efedrin hidroklorür ve Kodein fosfat'ın seçimlilik katsayıları incelendiğinde, içlerinde en fazla Papaverin hidroklorür'ün girişim yaptığı görülmüştür. Papaverin hidroklorür ve Kodein fosfat yapısında tersiyer amin içermekte, Efedrin hidroklorür ise sekonder amin içermektedir. Membran yapısındaki iyon çifti kompleksinde yer alan tetrafenilborat anyonunun, bu maddelerle iyon çifti kompleksi

oluşturma yeteneğine bağlı olarak bir ayırımda sözkonusu olduğunda, tetrafenilborat anyonunun, Papaverin hidroklorür ile kompleks oluşturma yeteneği Efedrin hidroklorür ve Kodein fosfat'a göre daha fazla olduğunu yapılan çalışmalardan sonuç olarak çıkarılmıştır(32). Sonuç olarak, Papaverin hidroklorür, Efedrin hidroklorür ve Kodein fosfat için yapılan her iki yorum birbiriyle uyum içindedir.

Elektrodun farmasötik alana uygulanabilirliğini göstermek amacıyla yapılan uygulamalardan bir tanesinde, Dfh seçimli membran elektrot kullanarak mevcut preparatlarındaki Dfh.HCl miktarı, potansiyometrik olarak iki ayrı yöntemle saptandı(tablo10-12). Aynı preparattan alınan numuneler hem standart katma yöntemine göre, hem de potansiyometrik titrasyon yöntemine göre analiz edilerek, standart sapma sonuçları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını kıyaslamak için (42), Fisher-Snedecor testinden (F testi) yararlanıldı($p = 0.95$, $\alpha = 0.05$). Sonuç olarak, her iki preparata uygulanan analiz yöntemleriyle elde edilen sonuçlara ilişkin standart sapma değerleri arasındaki farkın anlamsız olduğu bulundu. Standart katma yöntemine göre bulunan varyasyon yüzdesi, Bebeko şurup için 2.800 , Benadryl eliksir için 1.811 bulunmuştur. Potansiyometrik titrasyon yöntemine göre bulunan varyasyon yüzdesi, Bebeko şurup için 0.836, Benadryl eliksir için 0.634 bulunmuştur. Varyasyon yüzdelерinin düşük değerlere sahip olması, kullanılan yöntemlerin tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Geliştirdiğimiz Dfh seçimli membran elektrodun farmasötik alana uygulanabilirliğini göstermek amacıyla yapılan diğer bir çalışma, invitro dissolüsyon çalışmasıydı. Hazırlanan tabletin zamana bağlı olarak çözünme hız profili, hem spektrofotometrik, hem de geliştirdiğimiz elektrodla potansiyometrik olarak çıkartıldı. A.A. Bunaciu ve arkadaşları (3,46), yaptıkları çalışmalarda flurbiprofen ve mianserin seçimli membran elektrodların dissolüsyon çalışmasına uygulanabilirliklerini

spektrofotometrik yöntemle karşılaştırmışlar ve geliştirdikleri bu elektrodların dissolüsyon çalışmalarında oldukça faydalı olacağını belirtmişlerdir. Her iki yöntemle bulunan dissolüsyon profilleri hemen hemen birbirleriyle çakışmıştır. Yaptığımız çalışmada 15 dakikaya kadar izlediğimiz dissolüsyon testi sonucunda, her iki yönteme ait % salım değerleri hesaplandı. Bu değerlerden hareketle çizdiğimiz profillerin araştırmacıların bulduklarına benzer oldukları görülmüştür (şekil-11). Örneğin, 10.dakikada tabletten açığa çıkan Dfh miktarı spektrofotometrik yöntemde 53.73 mg bulunurken, potansiyometrik yöntemle 55.78 mg bulunmuştur. Kullandığımız iyonmetre hassasiyetinin sınırlı olmasından dolayı, ölçülen potansiyel değerlerinin ondalık kısımlarına ait değerleri okuyamadık. Halbuki, spektrofotometrik tayinde bu ölçümler daha hassas bir şekilde yapıldı. Bu yüzden çok düşüğe olsa, iki yöntem sonuçları arasında bir farklılık gözlenmiştir. Bu sorunun daha hassas ölçüm yapan iyonmetre kullanılarak ortadan kaldırılabileceği düşünülmektedir. İki yöntemin korelasyonunu incelediğimizde (şekil-12), 0.989 gibi yüksek bir determinasyon katsayısı (r^2) elde edilmiştir. Bu da bize göstermektedir ki, geliştirdiğimiz Dfh seçimli membran elektrotla bulduğumuz dissolüsyon sonuçları güvenilirdir. Ortamdan numune çekip, spektrofotometre'de ölçüm yapılması ve ölçülen numunenin tekrar dissolüsyon ortamına boşaltılmasının gerektiği durumlarda ve özellikle çok hızlı çözünen katı dozaj şekli durumlarında, kullandığımız yöntemin önemli bir ölçüm avantajı sağlayacağı kesindir. Eğer kullanılan iyonmetre yeterli hassasiyete sahip olursa, ortama daldırılan elektrot ile çok kısa zaman aralıklarında ölçüm alıp, çalışması yapılan maddenin gerçek dissolüsyon profilini çıkarmak mümkün olacaktır.

ÖZET

Difenhidramin seçimli membran elektrodun tasarımında; tetrafenilborat, fosfotungstat, reineckate gibi üç farklı yardımcı iyonu içeren üç farklı Dfh seçimli membran elektrot hazırlandı. Difenhidramin-tetrafenilborat kompleksini içeren membran elektrodla alınan sonuçların eğim, yanıt zamanı ve tayin sınırı gibi parametreler açısından diğerlerine kıyasla, çalışmada kullanılmaya daha yatkın olduğu bulunmuştur. Çalışmaya bu iyon çifti kompleksini içeren elektrodla devam edilmiştir. Dfh seçimli membran elektrot, 10^{-2} M - 3.5×10^{-5} M konsantrasyon aralığında ideal eğim (59 mV /decade) değerine yakın bir eğim değerine (51mV/decade) sahiptir. Yanıt zamanı aralığı , 10^{-6} - 10^{-2} M arasında 2 dakika-20 saniye olarak bulunmuştur. 2 ile 7.5 arasındaki pH aralığında güvenle kullanılabilirdiği saptanmıştır. İzotermal sıcaklık katsayısı 0.00156 V / $^{\circ}$ C bulunmuştur. İncelenen inorganik ve organik maddelerin girişimleri incelenmiş ve herbiri için iki ayrı seçimlilik yöntemi ile seçimlilik katsayıları bulunmuştur. Dfh seçimli membran elektrodun farmasötik alanda uygulanabilirliğini incelediğimizde, mevcut preparatlarındaki Dfh miktarı, Dfh seçimli membran elektrot kullanılarak , hem standart katma yöntemi, hem de potansiyometrik titrasyon yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Dfh seçimli membran elektroda ait diğer bir uygulama, Dfh içeren tablete ait dissolüsyon çalışmasında Dfh seçimli membran elektrodu kullanarak potansiyometrik yöntemle elde edilen sonuçlar, spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçlarla kıyaslanmıştır. İki yöntem arasındaki korelasyonu incelediğimizde determinasyon katsayısı, 0.989 bulunmuştur.

SUMMARY

In the designing of diphenhydramine sensitive membrane electrode, three different types of diphenhydramine sensitive membrane electrodes; containing tetraphenylborate, phosphotungstate, reineckate as the three different kinds of counter ion; were prepared. Because the slope, response time and the detection limit of the results taken by the membrane electrode containing diphenhydramine-tetraphenylborate complex is better, the diphenhydramine- tetraphenylborate complex membrane electrode is more suitable for the study. Therefore the experiments are carried on with this electrode. The diphenhydramine sensitive membrane electrode has a slope value(51mV/decade) very near to the ideal slope value(59 mV/decade) in the concentration range; 10^{-2} - 3.5×10^{-5} M. The response time range is determined as 2 minutes-20 seconds within 10^{-6} - 10^{-2} M. The electrode is proven to be usable in the pH range of 2 - 7.5. The isothermal temperature coefficient is found to be: 0.00156 V/ °C. The interfering effects of some organic and inorganic substances are investigated and two different selectivity methods and the selectivity coefficients are determined for each of them. When the application of the electrode in pharmaceutical fields is searched; the diphenhydramine content in pharmaceutical preparations is determined with the diphenhydramine sensitive membrane electrode by the two methods ; standart addition method and potentiometric titration. Another application of the diphenhydramine sensitive membrane electrode is the dissolution study of a diphenhydramine tablet. The results obtained are then compared with the ones obtained by the spectrophotometric method. When the correlation between these two methods is investigated; the determination coefficient is found to be 0.989.

KAYNAKLAR

- 1) Cammann, K , Lemke, U., Rohen, A., Sander, J., Wilken, H., Winter, B.,
“Chemical Sensors and Biosensors-Principles and Applications.”, *Angew. Chem. Int. De. Engl.*, 30, (1991),516-539.
- 2) Ozsoz , M.,Erdem, A., Kilinc, E., Gokgunnec, L., “Mushroom-Based Cobalt Phthalocyanine Dispersed Amperometric Biosensor for the Determination of Phenolic Compounds.”, *Electroanalysis*, 8 ,(1996),147-150.
- 3) Bunaciu , A.A.,Grasu, A.,Aboul-Enein, H.Y., “Pharmaceutical applications of a flurbiprofen sensor.”, *Analytica Chimica Acta* , 311 ,(1995),193-197.
- 4) Cosofret, V.V., Buck, R.P. ,“Phenothiazine Drug Poly(vinyl chloride) Matrix Membrane Electrodes and Their use in Pharmaceutical Analysis.”,*Analyst*, 109, (1984),1321-1325.
- 5) Eppelsheim ,C.,Aubeck,R.,Hampp, N., Bräucle, C., “Determination of Ethaverine and Papaverine Using Ion-selective Electrodes.”,*Analyst*,116, (1991),1001-1003.
- 6) Eppelsheim ,C., Bräucle, C., Hampp, N., “Ion- selective Electrodes for the Determination of the Antiarrhythmic Drug Bretylium.”,*Analyst*,117,(1992),1609-1612.
- 7) Mitsana-Papazoglou, A., Christopoulos, T. K., Diamandis, E.P.,Hadjioannou, T.P., “Construction of Ion-selective Electrodes for Chlorpromazine , Amitriptyline , Propantheline and Meperidine :Analytical Study and Application to Pharmaceutical Analysis.”, *Analyst*, 110,(1985),1091-1094.
- 8) Medvedovskii,A.A.,Koval'chuk,T.V.,Gerasimchuk,T.V.,Arzyaeva,E.A.,
“Development of a method of alkalimetric two-phase titration for

- determination of organic base salts.II.”, *Farm.Zh.*,6,(1990),38-41, *Analytical Abstracts*,1992,54,3G63.
- 9) Gerasimchuk, T.V.,Medvedovskii, A.A, “Determination of salts of organic bases by alkalimetric two-phase (extraction)titration in the presence of acid dyes.V.Development of analytical procedures for children’s pharmaceuticals containig Diphenhydramine hydrochloride.”, *Farm.Zh.*,2,(1992),75-79, *Analytical Abstracts*,1993,55,9G9
- 10)Medvedovskii,A.A.,Gerasimchuk,T.V,Koval’chuk,T.V.,“Determination of salts of organic bases by alkalimetric two-phase (extractive)titration in the presence of acid dyes.(as indicators).”, *Farm. Zh.*,4,(1992),87-90, *Analytical Abstracts*,1993,55,10G96.
- 11)Shoukrallah, I, “Determination of phenylephrine hydrochloride and carbinoxamine maleate in capsules and diphenhydramine hydrochloride and naphazoline hydrochloride in nasal jelly by first-order derivative UV spectroscopy.”, *Acta Pharm.Jugosl.*,41,(1991),107-115, *Analytical Abstracts*,1993,55,4G2.
- 12)Shoukrallah, I, “The use of First-order UV Spectroscopy to determine binary mixtures of harmaceuticals (A) phenylephrine hydrochloride and carbinoxamine maleate an(B)diphenhydramine hydrochloride and naphazoline hydrochloride.”, *Anal.Lett.*, 24,(1991), 2043-2058.
- 13)Zhao,C.J.,Yu,Z.G.,Ye,X.D.,Yang,Z.B.,“Qantitative determination of dipenhidramine hydrochloride by pH indicator absarbance ratio method.”, *Shenyang Yaoxueyuan Xuebao*,53,(1992),15-17, *Analytical Abstracts*,1993,55,8G150.

- 14) Min, Q., Chen, P., Tan, S., Wang, J., Li, C., Liu, G., "Determination of the content of diphenhydramine tablets by oxidation-ultra-violet spectrophotometry.", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 11, (1991), 305-306, *Analytical Abstracts*, 1993, 55, 4G66.
- 15) Guan, J., Xu, M., Cao, S., "Determination of diphenhydramine hydrochloride in syrup by dual-wavelength second-derivative spectrophotometry.", *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi*, 13, (1993), 120-122, *Analytical Abstracts*, 1994, 56, 1G63.
- 16) Guha, B., "Diphenhydramine hydrochloride and chlorpheniramine maleate in cough syrup.", *J.Inst.Chem.*, 65, (1993), 99-100, *Analytical Abstracts*, 1994, 56, 10G76.
- 17) Yu, Y., "High-performance liquid chromatographic determination of ephedrine hydrochloride and diphenhydrochloride in baichuanpeng tablets.", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 10, (1990), 355-356, *Analytical Abstracts*, 1992, 54, 1G90.
- 18) Bunaciu, A.A., Ionescu, M.S., Stefan, R.I., Ioan, I., Aboul-Enein, H.Y., "Mianserin ion Zhang, Z.Y., Zhang, Z.L., Zhang, S.R., Li, H.M., "Determination of two components in compound diphenhydramine nose drops by HPLC.", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 13, (1993), 162-164, *Analytical Abstracts*, 1994, 56, 3G1.
- 19) Zhang, Y., Yang, C., "Determination of diphenhydramine hydrochloride in tablets by gas chromatography.", *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, 26, (1991), 163-164, *Analytical Abstracts*, 1992, 54, 4G48.
- 20) Xing, Y., "Determination of diphenhydramine hydrochloride in tablets by GC.", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 11, (1991), 186-., *Analytical Abstracts*, 1992, 54, 11G47.

- 21) Tonn, G.R., Mutlib, A., Abbott, F.S., Rurak, D.W., Axelson, J.E., "Simultaneous Analysis of diphenhydramine and a stable isotope analog ($^2\text{H}_{10}$) diphenhydramine using Capillary Gas Chromatography with Mass Selective Detection in biological fluids from chronically instrumented pregnant ewes.", *Biological Mass Spectrometry*, 22, (1993), 633-642.
- 22) Nerin, C., Cacho, J., Garnica, A., "Indirect determination of diphenhydramine hydrochloride by atomic absorption spectrometry.", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 11, 4/5, (1993), 411-414.
- 23) Zhang, Z., Mao, D.Y., Li, Y.X., Cosofret, V.V., "Plastic membrane electrodes responsive to Beta-Blocker Drugs.", *Talanta*, 37, 7, (1990), 673-676.
- 24) Repin, V.A., Egarov, V.V., Starobinets, G.L., "Direct potentiometric determination of some physiologically active amines in pharmaceuticals by ion-selective electrodes.", *Zh. Anal. Khim.*, 43 (1988) 1318-1322.
- 25) Kabachnyi, V.I., Kapustina, L.P., Repin, V.A., Egarov, V.V., Zinchenko, L.I., "Ion-selective electrode for nitrogen-containing organic bases.", *Farmatsiya*, 2, (1992) 66-68.
- 26) Shoukry, A.F., Badawy, S.S., Issa, Y.M., "Diphenhydramine-sensitive membrane electrodes based on poly(vinyl chloride) matrices and their use in drug analysis.", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 233 (1987) 29-36.
- 27) Yıldız, A., Genç, Ö., "Enstrümental Analiz", Hacettepe Yayınları A-64, 1993, s.289-324.
- 28) Skoog, D.A., "Principles of Instrumental Analysis.", Saunders College Publishing, 3. baskı, 1984, s.567-640.
- 29) Willard, H.H., Merritt, J.R.L.L., Dean, J.A., Settle, J.R.F.A., "Instrumental Methods of Analysis.", D. Van Nostrand Company, 6. baskı, 1981, s.628-688.

- 30) Pietrzyk, D.J., Frank, C.W., "Analytical Chemistry", 2. baskı, Academic Press, 1979, s. 226- 239.
- 31) Evans, A., "Potentiometry and ISE", ACOL, 1991, London, s. 106-198.
- 32) Cosofret, V.V., Buck, R.P., "Recent advances in Pharmaceutical analysis with Potentiometric Membrane Sensors.", *Anal. Chem.*, 24, (1993), 1-58.
- 33) Oesch, U., Ammann, D., Simon, W., "Ion-selective membrane electrodes for clinical se.", *Clinical Chemistry*, 32, (1986), 1448-1459.
- 34) Kauffmann, J.M., Guiberteau, A., "Trends in electroanalytical research and instrumentation.", *Quimica Analitica*, 13, (1994), 169-175.
- 35) Zareh, M., El-Sheikh, R., Issa, Y.M., Shoukry, A.F., "Plastic membrane and coated wire ion selective electrodes for Propylhexedrine.", *Anal. Lett.*, 25, (1992), 663-680.
- 36) Moffat, A.C., "Clarke's Isolation and Identification of drugs", 2. baskı, The Pharmaceuticall Press, London, 1986, s. 557.
- 37) Wade, A., "Martindale-The Extra Pharmacopoeia", 27. baskı, The Pharmaceutical Press, London, 1978, s. 1287-1302.
- 38) Alçada, M.N.M.P., Lima, J.L.F.C., Montenegro, C.B.S., "Construction and evaluation of tetraphenylborate anion -selective electrodes; its application in determination of alkaloids in pharmaceutical products.", *Il Farmaco*, 49, (1994), 721-726.
- 39) Budavari, S., "The Merck Index", 11. baskı, Merck and Co., Inc., 1989.
- 40) Mark, H.F., Gaylord, N.G., "Encyclopedia of Polymer Science and Technology.", John Wiley and Sons Inc., 10, (1969), 245-246.
- 41) Zareh, M.M., "Fabrication of an ion-selective electrode for determination of Propylhexedrine.", *Microchim. Acta*, 116, (1994), 239-246.

- 42) Bouklouze, A.A., Vire, J.C., Quarin, G.C., Kauffmann, J.M., "Quantitative analysis of Zopiclone in tablets using ion-selective electrode and polarographic methods.", *Electroanalysis*, 6, (1994), 1045-1050.
- 43) Rizk, M.S., "Metformin-selective PVC membrane electrode based on Metforminium Phosphomolybdate ion pair.", *J.Chem.Tech.Biotechnol.*, 61, (1994), 67-72.
- 44) Issa, Y.M., Rizk, M.S., Shoukry, A.F., Abdel-Aziz, R., Abdel-Fattah, H.M., Atia, E.M., "Construction and performance characteristics of new Tetramisole selective plastic membrane electrodes.", *Talanta*, 41, (1994), 135-141.
- 45) "Amerikan Farmakopesi (USP XXII)", 1990, United States Pharmacopeial Convention, Inc., s.458.
- 46) Bunaciu, A.A., Ionescu, M.S., Stefan, R.I., Ioan, I., Aboul-Encin, H.Y., "Mianserin ion selective membrane electrode and its pharmaceutical applications.", *Anal. Lett.*, 27, (1994), 1647-1658.

ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında İzmir'de doğdum. İlk öğrenimimi Duatepe İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi İzmir Karataş Lisesi'nde tamamladım. 1989 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde üniversite eğitimime başladım ve 1993 yılında mezun oldum. Aynı yıl Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açtığı Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans programını kazandım ve Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. 1994 yılında Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda açılan Araştırma Görevlisi Sınavı'nı kazanarak göreve başladım. Görevimi halen sürdürmekteyim.