

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İSONİAZİD' İN POLİ (p-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-  
MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ DOZAJ  
FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ**

**Esra DEMİRBILEK**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 27/01/2014**

**Tez Danışmanı:**

**Prof. Dr. Selhattin YILMAZ**

**ÇANAKKALE**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

**ESRA DEMİRBİLEK** tarafından **PROF. DR. SELEHATTİN YILMAZ** yönetiminde hazırlanan “**İSONİAZİD’ İN POLİ (p-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ DOZAJ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

Danışman

Doç. Dr. Hüseyin ERDUGAN

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Jüri Üyesi

Sıra No:

Tez Savunma Tarihi: 27/01/2014

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Esra DEMİRBEK

## TEŞEKKÜR

Bu konuyu yüksek lisans tezi olarak planlayan ve çalıőmalarım sırasında benden yardımlarını ve yoğun ilgisini esirgemeyen danışman hocam, Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Selehattin YILMAZ' a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını gördüğüm, Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalıőmalarım her aşamasında bana vakit ayıran, yardım ve destekleriyle beni yalnız bırakmayan, tecrübelerinden yararlandığım Araő. Gör. Dr. Gülően SAĐLIKOĐLU ve Araő. Gör. Dr. Sultan YAĞMUR' a sonsuz teşekkür ederim.

Çalıőmalarım süresince benden yardım ve desteklerini esirgemeyen grup arkadaşlarım Esra APAYDIN, iğdem DEMİRTAŞ, Saide CAN ve Zeynep BAŐ' a sonsuz sevgi ve őükranlarımı sunarım.

Beni yetiőtiren, her konuda destekleyen çok değerli aileme tüm yaptıkları için teşekkürü borç bilirim.

Esra DEMİRBILEK

## SİMGELER VE KISALTMALAR

$E_{1/2}$	Yarı Dalga Potansiyeli
$E_p$	Pik Potansiyeli
$i_p$	Pik Akımı
$i_t$	Sınır (Limit) Akım
GCE	Camsı Karbon Elektrot
LOD	Belirme Sınırı (Limit of Detection)
LOQ	Kantitatif Tayin Sınırı (Limit of Quantitation)
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
R	Korelasyon Katsayısı
RSD	Bağıl Standart Sapma
$v^{1/2}$	Tarama Hızının Karekökü
n	Voltametik Hücrede Tekrarlanan Ölçüm Sayısı
NPV	Normal Puls Voltametrisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
CV	Dönüşümlü Voltametri
SV	Sıyırma Voltametrisi
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
CSV	Katodik Sıyırma Voltametrisi
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
PSV	Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi
DCE	Damlayan Cıva Elektrot

## ÖZET

# İSONIAZİD' İN POLİ (p-AMİNOBENZEN SÜLFONİK ASİT)-MODİFİYE CAMSI KARBON ELEKTROTTA İLAÇ DOZAJ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ

Esra DEMİRBİLEK

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Prof. Dr. Selhattin YILMAZ

27/01/2014, 47

Bu çalışmada, isoniazid adlı etken maddenin, elektrokimyasal yükseltgenme özelliğinden faydalanarak modifiye camsı karbon elektrotta, ticari formundan miktarı belirlendi. Optimum şartları belirlemek için, farklı destek elektrolitlerde diferansiyel puls voltametri ve dönüşümlü voltametri ile yükseltgenme özelliği incelendi. Camsı karbon elektrot, elektropolimerizasyon tekniği kullanılarak p-aminobenzensülfonik asit ile modifiye edildi. İsoniazid için modifiye camsı karbon elektrotta keskin pikin ve maksimum akımın gözlemlendiği pH=9,00 BRT çözeltisi, destek elektrolit olarak seçildi. İsoniazid'in pik akımına ve pik potansiyeline pH' ın etkisi diferansiyel puls voltametri tekniği (DPV) ve tarama hızının pik akımına etkisi ise dönüşümlü voltametri tekniği (CV) ile incelendi.

Kantitatif tayin sınırı (LOQ), belirme sınırı (LOD) ve konsantrasyon aralığı gibi analitik parametreler belirlendikten sonra ilaç tabletlerindeki isoniazid miktarı belirlendi. Uygulanan voltametrik yöntemin, doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile ilaç tabletinden isoniazid'in geri kazanım çalışmaları yapıldı. Ayrıca isoniazid'in yükseltgenme mekanizması önerildi.

**Anahtar Kelimeler:** İsoniazid, Voltametrik Yöntem, Diferansiyel Puls Voltametri (DPV), Dönüşümlü Voltametri (CV), Modifiye Camsı Karbon Elektrot, Ticari İlaç Tabletleri.

## ABSTRACT

### QUANTITATIVE DETERMINATION OF ISONIAZID IN DRUG FORMS AT POLY (p-AMINOBENZENE SULFONIC ACID)-MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE

Esra DEMİRBILEK

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Chemistry Thesis of Master of Science

Advisor: Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

27/01/2014, 47

In this study, active compounds named isoniazid was determined from commercial drug form based on electrochemical oxidation properties at modified glassy carbon electrode. In different supporting electrolyte, oxidation was examined by differential pulse voltammetry (DPV) and cyclic voltammetry (CV) to determine the optimum conditions. Glassy carbon electrode, using the electropolymerization technique, was modified with p-aminobenzenesulfonic acid. pH=9,00 BRT solution in which sharp peak and maximum current was observed, at glassy carbon electrode for isoniazid, was selected as supporting electrolyte. The effects of pH on the peak current and peak potential for material was investigated by differential pulse voltammetry (DPV) and the effect of scan rate on the peak current was investigated by cyclic voltammetry (CV) techniques.

After analytical parameters, such as; limit of quantitation (LOQ), limit of detection (LOD) and range of concentration, had been determined, quantitative of isoniazid was determined from drug tablets. In order to check accuracy and precision of applied voltammetric method, recovery experiment of isoniazid was carried out from the drug tablet. Further more, oxidation mechanism of isoniazid was proposed.

**Keywords :** Isoniazid , Voltammetric Method, Differential Pulse Voltammetry (DPV), Cyclic Voltammetry (CV) , Modified Glassy Carbon Electrode, Commercial Drug tablets

<b>İÇERİK</b>	<b>Sayfa</b>
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
<b>BÖLÜM 1- GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.Elektroanalitik Yöntemlere Genel Bakış.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2.Voltametri.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Voltametrinin Çalışma Prensibi.....</b>	<b>5</b>
<b>2.4. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri.....</b>	<b>6</b>
<b>2.4.1. Voltametrik Kap.....</b>	<b>6</b>
<b>2.4.2. Destek Elektrolit.....</b>	<b>6</b>
<b>2.4.3. Çalışma (İndikatör) Elektrodu.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4.3.1. Cıva Kökenli Elektrotlar.....</b>	<b>8</b>
<b>2.4.3.1.1. Damlayan Cıva Elektrot (DCE).....</b>	<b>9</b>
<b>2.4.3.1.2. Asılı Duran Cıva Damla Elektrot.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4.3.1.3. Cıva Film (Zar) Elektrotlar.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4.3.2. Katı Elektrotlar.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3.2.1. Altın Elektrot.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3.2.2. Platin Elektrot.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3.2.3. Bizmut Elektrot.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3.2.4. Karbon Elektrotlar.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3.2.4.1.Elmas Elektrot.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3.2.4.2. Karbon Pasta Elektrot.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3.2.4.3. Grafit Elektrot.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3.2.4.4.Camsı Karbon Elektrot.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.2.4.5. Pirolitik Grafit Elektrotlar.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.2.4.6.Empreyene Karbon Elektrot.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.2.4.7. Mikro Karbon (Lif) Elektrotlar.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.3. Dönen Elektrotlar.....</b>	<b>13</b>



2.4.3.4. Modifiye Elektrotlar.....	13
2.4.3.4.1. Kompozit Elektrotlar.....	13
2.4.3.4.2. Kimyasal Yöntemlerle Modifiye Edilen Elektrotlar.....	13
2.4.3.4.3. Elektrot Yüzeylerinin Modifikasyonunda Uygulanan Metotlar.....	14
2.4.4. Referans (Karşılaştırma) Elektrodu.....	16
2.4.5. Yardımcı (Karşıt) Elektrot .....	17
2.5. Voltametrik Yöntemler.....	18
2.5.1. Polarografi.....	19
2.5.2. Puls Voltametri Teknikleri.....	20
2.5.2.1. Normal Puls Voltametrisi (NPV).....	20
2.5.2.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV).....	20
2.5.2.3. Kare Dalga Voltametrisi (SWV).....	20
2.5.3. Dönüşümlü Voltametri (CV).....	20
2.5.4. Sıyırma Voltametrisi (SV).....	21
2.5.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi (ASV).....	21
2.5.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi (CSV).....	21
2.5.4.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (AdSV).....	21
2.5.4.4. Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi (PSV).....	22
2.6. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler.....	22
2.7. İsoniazid'in Voltametrik Teknikler İle İlaçlardan Tayini.....	24
2.8. Camsı Karbon Elektrotunun Poli (4-ABSA) ile Modifiye Edilmesiyle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	25
<b>BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>27</b>
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	27
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	27
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Deneyde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	28
3.2.2. Camsı Karbon Elektrodun Modifiye Edilmesi.....	28
<b>BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>30</b>
4.1. İsoniazid' in Modifiye Elektrotta Çalışma Ortamının Belirlenmesi.....	30
4.2. Akım Türünün Belirlenmesi.....	31
4.3. Analitik Çalışma (Konsantrasyon) Aralığının Belirlenmesi.....	33
4.4. İsoniazid'in Poli (4-ABSA) Modifiye elektrotta Yükseltgenmesi.....	35

<b>4.5. İsoniazid'in Modifiye Elektrotta İlaçtan Miktarının Belirlenmesi ve Geri Kazanımı.....</b>	<b>36</b>
<b>4.6. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonik Asitin Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması.....</b>	<b>37</b>
<b>4.7. İsoniazid'in Poli (4-ABSA) Modifiye Camsı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması.....</b>	<b>40</b>
<b>BÖLÜM 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>42</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>43</b>
<b>Çizelgeler.....</b>	<b>I</b>
<b>Şekiller.....</b>	<b>II</b>
<b>Özgeçmiş.....</b>	<b>IV</b>

## **BÖLÜM 1**

### **GİRİŞ**

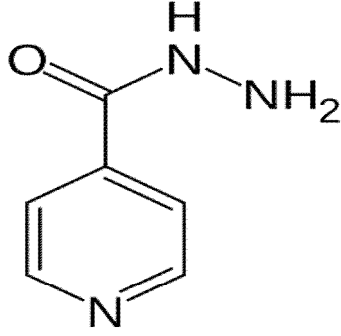
İzonikotinic asidin hidrazidi olan isoniazid (INZ), (piridin-4-karboksilik asit hidrazid), (Şekil 1.1) mycobacterium türlerine etkili tüberkülozstatik ajandır ve geniş ölçüde klinik amaçlar için kullanılır (Bergamini ve ark. 2009).

Tüberküloz, % 97-99 oranında *Mycobacterium tuberculosis* türünün neden olduğu, değişik klinik görünümlere sahip, kronik, nekrotizan bir enfeksiyon hastalığıdır. Bununla birlikte en sık görülen klinik tablo basilin akciğerlere yerleşmesine bağlı gelişen akciğer tüberkülozudur (Mandell ve ark. 1995).

Tüberküloz tarihinin en önemli dönüm noktası, Robert Koch'un 1882'de tüberkülozun, *M. tuberculosis* tarafından oluşturulan bir enfeksiyon hastalığı olduğunu kanıtlaması ile gerçekleşmiştir (Bilgehan, 2000).

Mycobacterium türleri Mycobacteriaceae ailesindeki tek cinistir. Mycobacterium cinsi bakterilerin temel özellikleri, yavaş üremeleri, aside dirençli olmaları, hücre duvarlarında bol miktarda lipid içermeleri ve genomlarında % 59 - 65 GC içermeleridir. *M. tuberculosis* dışında 70' in üzerinde tür tanımlanmıştır. Bunların içinde major iki patojen: *M. tuberculosis* (Koch, 1882), *M. leprae* türleridir (Hansen, 1874) (Metchock ve ark. 1999).

İsoniazid hala mevcut olan antitüberküloz ilaçların en güçlüsüdür. Klinik dozlarla oluşan konsantrasyonlarda dormant basiller üzerinde bakteriyostatik, hızlı çoğalanlar üzerinde bakterisid (tüberkülisid) etki yapar. İsoniazid, mikobakterilerde ileri derecede morfolojik değişiklikler meydana getirir. Bakterinin aside dayanıklı olma özelliği kaybolur. Ziehl boyası ile boyanma özellikleri değişir. Ayrıca isoniazid, *mycobacterium tuberculosis* türünden başka bakteriler üzerinde antibakteriyel etki yapmaz. Bu nedenle dar spektrumlu bir ilaçtır (Çilli, 2003).



Şekil 1.1. İsoniazid' in kimyasal yapısı (Wikipedia, 2014).

İsoniazid' in analizinde birçok analitik yöntem geliştirilmiştir. Bunlar; yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), titrimetri, fluorimetri, spektrofotometri, kimyasal ışıltama ve kapiler elektroforez gibi yöntemlerdir. Tüm bunların arasında elektroanalitik teknikler uygulanabilirlik, basitlik, düşük maliyetlilik, iyi hassasiyet, doğruluk ve hızlilik nedeniyle daha avantajlıdır.

Kapiler elektroforeze önceki çalışmalardan örnek olarak, You ve ark. (1998) verilebilir. Bu çalışmada, Hidrazin, Metilhidrazin ve İsoniazid'in kapiler elektroforez tarafından 4- piridil hidrokinon mikrodisk platin elektrot ile tayini yapılmıştır. Hidrazin, metilhidrazin, isoniazid'in korelasyon katsayıları sırasıyla; 0,9998, 0,9991, 0,9982 olarak bulunmuştur.

Voltametriye kullanılan, modifiye edilmemiş elektrotlar analizleri sınırladığı için, bu elektrotlar modifiye edilerek geliştirilmekte ve böylece istenilen analizler başarılı olarak gerçekleştirilmektedir. Bu tez kapsamında yapılacak çalışmanın ilk bölümünde, antitüberküloz etkili isoniazid'in, voltametrik yöntemle elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir. İkinci bölümde ise, ilk bölümdeki bulgular esas alınarak geliştirilecek voltametrik yöntemin, bu grup bileşiklerin ilaç dozaj şekillerine uygulanarak miktar tayinlerinin yapılması hedeflenmiştir.

## **BÖLÜM 2**

### **ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**

#### **2.1. Elektroanalitik Yöntemlere Genel Bakış**

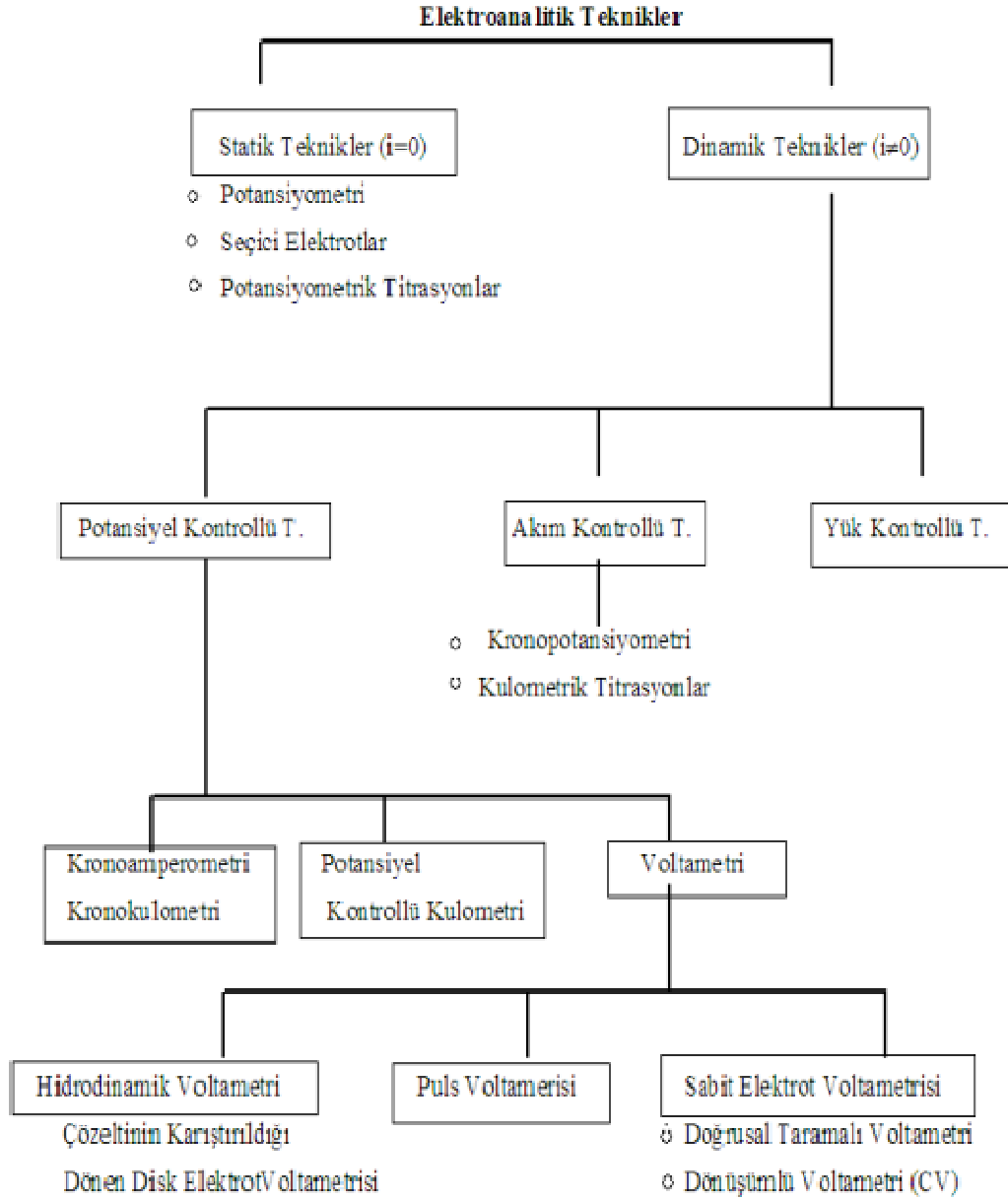
Elektroanalitik Kimya, çözeltilerin elektrokimyasal bir hücrede elektriksel özelliklerinin ölçülmesi ve ölçülen bu özelliklerinden yararlanılarak maddelerin kalitatif ve kantitatif analizine dayanan teknikleri içeren Analitik Kimya biliminin önemli bir dalıdır (Yılmaz, 2012).

Elektrokimyasal tepkimeler, yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir. Elektrokimyasal işlemler, elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilir. Elektrokimyasal hücre, analiz edilecek maddeyi (analit) içeren bir çözelti, bu maddenin kimyasal bir dönüşüme uğradığı elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devreden oluşur (Yılmaz, 2012).

Elektrokimyasal tekniklerin diğer yöntemlere üstünlüğü;

1. Diğer tekniklerle analiz edilecek maddenin sadece toplam miktarı bulunabilirken; elektroanalitik tekniklerle bir maddenin veya iyonun toplam miktarının yanında istenilen yükseltgenme basamağı da tayin edilir. Örneğin, analiz edilecek madde, krom 3, krom 6 da olduğu gibi farklı yükseltgenme basamağında ise toplam krom yanında bunların herbiri ayrı ayrı da analiz edilebilir. Bu analiz tekniğine türlendirme (spesiasyon) denir.
2. Elektroanalitik kimya alanında kullanılan cihazlar özellikle kromatografik ve spektroskopik cihazlara göre basit ve ekonomiktir.
3. Elektroanalitik tekniklerle genellikle bir iyonun konsantrasyonu değil, aktivitesi ölçülür. Örneğin fizyolojik amaçlarla kalsiyum, sodyum ve potasyum analiz edilirken, bunların vücuttaki aktiflikleri ölçülür. Bu durum konsantrasyonun ölçülmesinden daha anlamlıdır.
4. Elektroanalitik tekniklerde numune hazırlama işlemi çok kolaydır. Ekstraksiyon gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan analiz yapılabilir.
5. Az miktarda numune ile çalışılabilir.
6. Yüksek doğruluk, kesinlik, hızlılık, duyarlılık, hassaslık ve seçiciliğe (spesifikliğe) sahiptirler.
7. Alt tayin sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) daha düşüktür (Yılmaz,2012).

Elektroanalitik tekniklerin çok farklı sınıflandırmaları vardır. En yaygın sınıflandırma biçimi Şekil 2.1’ de şema halinde verilmiştir.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması (Özdemir, 2006).

## **2.2. Voltametri**

Yükseltgenebilen veya indirgenebilen, elektroaktif (elektrot tepkimesine giren) inorganik ve organik maddelerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden, uygun deney şartlarında elde edilen akım şiddeti–potansiyel eğrilerinin (voltamogramların) özelliklerini inceleyen ve değerlendiren analiz tekniğidir. Çalışma elektrodu olarak cıva elektrot kullanılırsa voltametri, polarografi adını alır (Yılmaz, 2012).

Tarihsel olarak voltametri, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1920'lerin başında ve voltametrimin özel bir türü olan polarografi tekniğine dayanarak geliştirilmiştir. Bu buluş Jaroslav Heyrovsky'e, 1959 yılında Kimya Nobel Ödülünü kazandırmıştır. Voltametrimin önemli bir dalı olan polarografinin, diğer voltametrik tekniklerden en büyük farkı çalışma elektrodu olarak bir damlayan cıva elektrodun (DCE) kullanılmasıdır (Skoog ve ark., 2000).

Voltametrde akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir (Çekirdek, 2005).

Günümüzde voltametrik ve polarografik yöntemler, farmasötik, biyolojik (idrar, serum, vb) ve çevre örneklerinin analizlerinde eczacılık alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun nedeni; düşük derişimlerde farmasötik analizlerin yapılabilmesi, numunelerin kolayca ve çok kısa bir sürede hazırlanabilmesi, analiz süresinin kısa olması, ortamda bulunan katkı maddelerinin veya safsızlıkların analiz sonucunu etkilememesi, bu tekniklerin ürün kalite kontrolünde kullanılabilmesidir. Tablet, kapsül, süspansiyon, şurup v.b. ilaç formülasyonlarının çözünmeyen kısımlarının veya katkı maddelerinin genelde elektroaktiviteleri bulunmadığı için herhangi bir ayırma işlemine gerek olmadan analizleri yapılabilmektedir. Ayrıca bu yöntemlerin diğer bir avantajı da, daha ekonomik olması ve ilaçların analizinde çok az miktarda numuneye ihtiyaç duyulmasıdır (Yılmaz, 2012).

## **2.3. Voltametrimin Çalışma Prensibi**

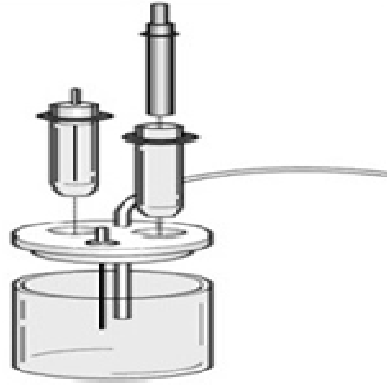
Voltametrimin çalışma prensibi; elektrokimyasal hücrede, polarize olabilen bir çalışma (indikatör) elektrodu ile karşılaştırma (referans) elektrodu arasına, değeri zamanla değiştirilen potansiyel uygulanması sonucu ortaya çıkan akımın, üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı (karşıt) elektrot, iki elektrotlu hücrelerde de çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasından ölçülmesi ilkesine dayanır (Yıldız ve Genç, 1993; Bond, 1980).

### 2.4. Voltametrik Hücrenin Temel Bileşenleri

Voltametrik hücre; voltametrik kap, destek elektrolit, çalışma (indikatör) elektrodu, karşılaştırma (referans) elektrodu ve yardımcı (karşıt) elektrottan meydana gelir.

#### 2.4.1. Voltametrik kap

Voltametrik analizler; kuartz, cam veya teflon kaplarda yapılır. Kabın yapıldığı malzeme, kirlenme ve adsorpsiyon yanılığının en az olduğu maddelerden seçilir (Henden ve ark.,2001).



Şekil 2.2. Deney hücresi (Yılmaz, 2012).

#### 2.4.2. Destek elektrolit

Hücre içindeki çözeltilerde, tayini yapılacak maddeden (analitten) başka bir madde daha bulunur. Buna destek maddesi veya destek elektroliti denir. Destek elektrolit, deney şartlarında elektroaktif olmayan (elektrolizlenmeyen) maddedir. Hidrodinamik voltametrde iyonların elektrik çekim etkisiyle elektrotlara göç etmelerini en aza indirmek için destek elektrolit ilave edilir. Destek elektrolitin konsantrasyonu, tayini yapılan maddenin konsantrasyonunun en az 100 katı olması gerekir. Bu şartlarda tayini yapılanın elektrik etkisiyle elektroda doğru göçü ve dolayısıyla taşıdıkları elektrik miktarı ihmal edilecek seviyeye gelir. Bu da tayini yapılacak iyonun, zıt yüklü elektroda doğru çekiminin veya göçünün elektroda uygulanan potansiyelden artık bağımsız hale geldiğini gösterir (Yılmaz, 2012).

Destek elektrolit seçerken dikkat edilmesi gerekenler; voltametrik tekniklerde kullanılan destek elektrolit saf olmalıdır. Eğer safsızlık varsa, bunların derisimi analit derisiminin %1' ini geçmemelidir. Aksi durumda saflaştırma işlemlerinden biri uygulanmalıdır. Örneğin civa katotta önelektroliz yapılabilir ya da  $MnO_2$  gibi metal

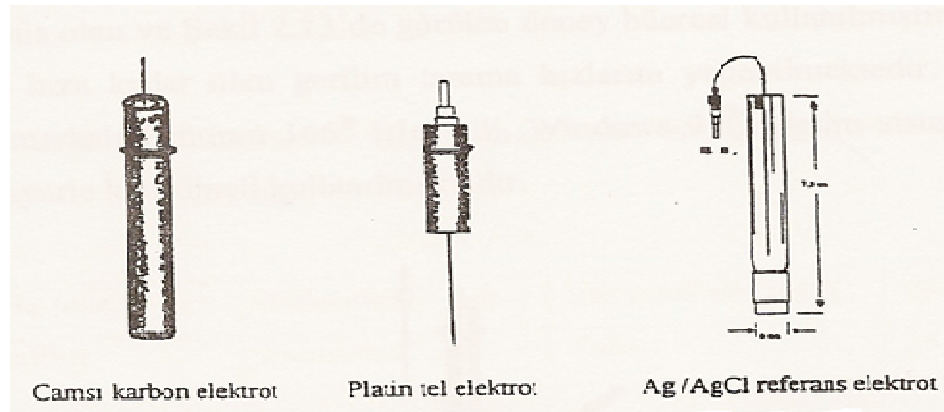


iyonlarını adsorplayıcı katılar kullanılabilir. Ayrıca destek elektrolit çalışma elektrodunun çalışma potansiyel aralığını daraltır nitelikte olmamalıdır. Baska bir deyişle, destek elektrolit anyonu elektrodun metal iyonu ile kompleks oluşturmamalı, kasyonu veya çözücü indirgenerek katodik bölgeyi daraltmamalıdır. Bunların dışında eğer örnekte birden fazla analit varsa ve bunlardan bazılarının voltametrik dalgaları çakışiyorsa, destek elektrolit bu çakışmayı giderici biçimde olmalıdır (Sarıkoc, 2009).

### 2.4.3. Çalışma (indikatör) elektrodu

Voltamtride kullanılan elektrotların, hem kimyasal hemde elektrokimyasal özellikleri önemlidir. Bu nedenle voltamtride sınırlı sayıda polarlanabilen elektrot kullanılır. Bunlar Şekil 2.5' te sınıflandırılmış olan civa, platin altın, bizmut ve karbon içerikli katı elektrotlar ile modifiye elektrotlardır. Durağan yada döndürülerek kullanılabilen bu elektrotların her birinin potansiyel çalışma aralığı farklıdır. Bu aralık elektrot türüne bağlı olduğu gibi, çözücüye, kullanılan elektrolit türüne ve pH' a da bağlıdır. Katodik sınırı; hidrojenin oluşumu ya da destek elektrolitinin indirgenmesi, anodik sınırı ise elektrot materyalinin ya da çözücünün yükseltgenmesini belirler (Yılmaz,2012).

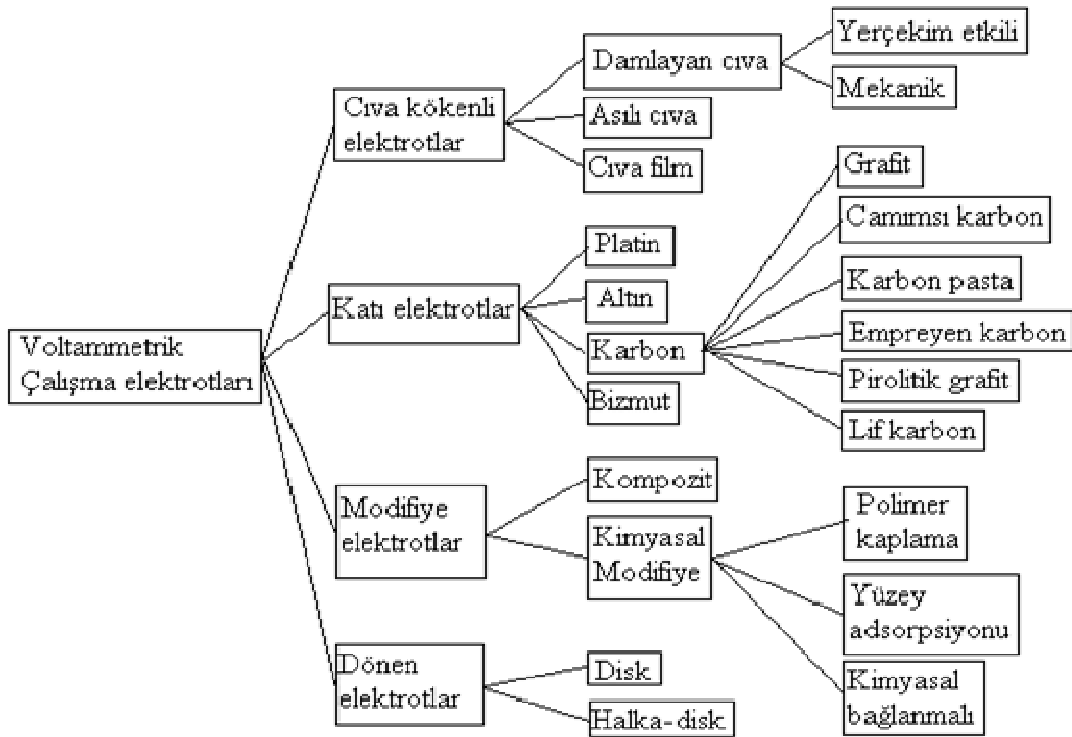
Çalışma elektrotu ile referans elektrot arasında potansiyel uygulanırken, çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasında akım kaydedilir (Türe, 2009). Kullanılan bu deney elektrotları Şekil 2.3., tipik bir çalışma elektrodu da Şekil 2.4' de verilmiştir.



Şekil 2.3. Kullanılan deney elektrotları (Can, 2013).



Şekil 2.4. Camı karbon çalışma elektrodu (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.5. Voltammetrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması (Yılmaz, 2012).

### 2.4.3.1. Cıva kökenli elektrotlar

Cıva kökenli elektrotlar, cıva elektrodunun negatif potansiyellerde kullanılabilmesi, sürekli yeni bir yüzey oluşturabilmesiyle önceki işlemlerden kalan safsızlıkların cıva yüzeyinden uzaklaştırılabilmesi, tekrarlanabilir cıva damlalarının oluşması sonucu tekrarlanabilir akımların elde edilmesi, geniş bir potansiyel aralığında uygulanabilmesi ve bir çok metalin cıva yüzeyinde indirgenerek cıva ile amalgam oluşturabilmesi gibi avantajlarından dolayı genellikle çalışma elektrodu olarak kullanılır. Cıva kökenli elektrotların mahsurları ise, cıvanın kolayca yükseltgenmesinden dolayı anodik sınırın

küçük ve cıva film elektrodu hariç, cıvanın sağlık üzerine olan etkisidir. Cıva kökenli elektrotlar; damlayan cıva elektrodu, asılı cıva damla elektrodu, durgun cıva damla elektrodu ve cıva film elektrodudur (Şahin, 2007).

#### **2.4.3.1.1. Damlayan cıva elektrot (DCE)**

Damlayan cıva elektrodu (DCE), cıva haznesinden sürekli olarak cıvanın akması ile oluşan bir elektrottur. Cıva akış hızı, cıva haznesinin yüksekliğini değiştirerek yer çekimi etkisiyle veya manyetik etkiyle kontrol edilen bir iğne aracılığıyla mekanik olarak ayarlanır. Akış hızı mekanik olarak kontrol edildiğinde cıva damlasının düşürülmesi mekanik bir çekiç aracılığıyla yapılır. Damlayan cıva elektrodunda akım cıva damlasının büyümesinden düşmesine kadar sürekli olarak ölçülür (Tural ve ark. 2003).

#### **2.4.3.1.2. Asılı duran cıva damla elektrot**

Asılı duran cıva damla elektrot, bir cıva deposuna bağlı kılcal borudan oluşur. Damla, bir vida düzeneği yardımıyla kılcal borunun ucunda oluşturulur. İstenilen büyüklükteki cıva damlası, vidanın belirli bir oranda döndürülmesi ile elde edilir. Cıva damlasının büyüklüğü, kılcal boru ucunda oluşan damlanın düşürülüp, tartılması ile belirlenir (Yılmaz, 2012).

#### **2.4.3.1.3. Cıva film (zar) elektrotlar**

Cıva film elektrotlar, inert bir destek üzerine, 1-100 µm düzeyinde ince bir cıva film kaplanarak oluşturulurlar. İnert destek olarak genellikle; altın, platin, gümüş, grafit ve camsı karbon kullanılır. Bu destekler, bir tel ya da disk şeklinde olabilirler. Sabit bir elektrot veya dönen elektrot olarak kullanılabilirler (Yılmaz, 2012).

Cıva film elektrotlar; elektrokaplama ile cıva filminin oluşturulması ve amalgam yoluyla cıva filminin oluşturulması olmak üzere iki şekilde oluşturulur.

Fakat tüm bu üstün özelliklerine karşın cıva elektrotların bazı sınırlamaları vardır. Metalik cıvanın, düşük pozitif potansiyelde kolayca yükseltgenebilmesi (+0,40 V), cıva elektrotun kullanılmasını sınırlayan en önemli özelliklerden birisidir. Ayrıca kullanılan cıvanın temizlenmesi, damlama süresinin ayarlanmasının zorluğu, cıvanın damlatılmasında kullanılan kılcalların tıkanması, cıva buharlarının toksik olması, tekniğin doğrudan doğruya uygulanamaması bu elektrotun kullanımındaki temel sorunlardır (Can, 2013).

**2.4.3.2. Katı elektrotlar**

Cıva kökenli elektrotların anodik çalışma bölgesi dardır. Daha pozitif potansiyelerde gerçekleşen yükseltgenme olaylarının incelenmesi gerektiğinde, elektrot çalışma penceresinin buna izin vermesi, başka bir deyişle elektrot malzemesinin anodik çözünmesinin daha pozitif potansiyelerde olması gerekir. Bu özelliğe sahip altın, platin gibi soy metaller ve karbon gibi materyaller elektrot yapımında kullanılır. Bu yolla elde edilen katı elektrotlar, daha geniş anodik çalışma bölgesi sağlamakla birlikte; bazı sorunlara da neden olurlar. Deney süresince elektrot yüzeyine adsorblanmış veya birikmiş safsızlıklardan dolayı katı elektrotlar düzensiz davranış gösterirler. Katı elektrotlarda, cıva elektrotta olduğu gibi elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığı için tekrar edilebilir sonuçların alınabilmesi için katı elektrotların yüzeyinin her ölçümden önce temizlenmesi gereklidir. Ön işlem denilen bu işlemler, her metal için ayrı olmaktadır (Wang ve ark.,1985; Fagan ve ark., 1985; Özkan ve ark., 1994).

Voltametriye kullanılan katı elektrotlar; altın elektrot, platin elektrot, bizmut elektrot ve karbon grubu (grafit, camsı karbon, karbon pasta, empreyen karbon, pirolitik grafit ve lif karbon) elektrotlardır.

**2.4.3.2.1. Altın elektrot**

Altın belli bir derişime kadar oksijeni soğurmadığı için, kimi çalışmalarda platine göre daha iyi bir elektrot malzemesidir. Ayrıca yüzeyi kimyasal işlemlerden geçirilerek de kullanılmaktadır (Yağmur,2005).

Altın elektrotlar özellikle cıva analizlerinde döner disk veya altın film elektrot biçiminde kullanılır. 1 M HClO<sub>4</sub> çözeltisi altına ilişkin anodik sınır +1,50 V'tur. Ancak pratikte bu sınır elektrot yüzeyinde oksit oluşumu nedeniyle +0,80 V olarak bulunmuştur. Klorür varlığında ise bu sınır daha negatif değerlere kayar (Henden ve ark., 2001).

**2.4.3.2.2. Platin elektrot**

Platin telden yapılan bu elektrot, en çok kullanılan elektrotlardan biridir. Tel bir cam tübe monte edilmiştir. Eskiden inert olarak dikkate alınmasına karşın; günümüzde, yüzeyinde gaz adsorplaması ve oksit oluşumu nedeniyle voltametrik davranışları engelleyebileceği belirtilmektedir. Platin üzerindeki hidrojen aşırı gerilimi pratikçe ihmal edilebilir. Platin elektrotlar, biyolojik örneklerin incelenmesi için de uygundur. Yüksek duyarlılığı ve iyi tekrarlanabilirliği nedeniyle dönen platin elektrot amperometrik titrasyonlarda kullanılabilir (Aycan, 1994). Voltametrik tekniklerde mikro elektrot olarak ya da modifiye edilerek kullanılabilir (Henden ve ark., 2001).

**2.4.3.2.3. Bizmut elektrot**

Hidrojenin bizmut üzerinden çıkış potansiyelinin aşırı yüksek olması bizmutun, katodik bölgede kullanılma olasılığını ortaya koymuştur. Asetik asit – asetat tamponunda, -0,2 ve – 1,20 V potansiyel aralığına sahiptir (pH= 4,7). Uçucu ve zehirli olmaması, cıvaya göre üstünlüğüdür (Tural ve ark., 2003).

**2.4.3.2.4. Karbon elektrotlar**

Karbon; geniş bir anodik potansiyel aralığına, düşük elektriksel dirence, düşük artık akıma ve tekrarlanabilir yüzey yapısına sahip olması gibi özellikleri nedeniyle ideal bir elektrot malzemesidir (Tural ve ark., 2003). Karbon elektrotlarla yapılan voltametri, hem yükseltgenme, hem de indirgenme bölgesinde geniş bir çalışma aralığına olanak tanımaktadır. Sulu ortmada -1,8 V ile 1,8 V potansiyel aralığında çalışılır (Tunçel ve ark.1996). Karbon elektrotların elektrokimyasal çalışmalarda en çok; karbon lif (fiber), camımsı karbon, karbon pasta ve karbon film gibi şekilleri kullanılır.

**2.4.3.2.4.1. Elmas**

Elmas elektrokimya alanında özellikle metal yüzeylerin temizlenmesinde toz olarak kullanılır.

**2.4.3.2.4.2. Karbon pasta elektrot**

Karbon pasta elektrotlar, toz grafitin, nujol gibi organik bir sıvı ile karıştırılması yöntemiyle hazırlanır. Hazırlanan pasta bir tüp (örneğin teflon tüp) içine sıkıştırılarak doldurulur. Elektriksel bağlantı için platin veya bakır bir tel kullanılır. Karbon pasta elektrotlar oldukça geniş bir potansiyel aralığına sahiptirler. Yapımları ve yenilenmeleri zaman alıcı olmayıp, zemin akımları oldukça düşüktür. Eğer karbon pasta üzerinde soğurulmuş oksijen kalmışsa, bunun indirgenmesi nedeniyle önemli miktarda bir artık akım oluşur. Bunu bir ön elektrolizle gidermede yarar vardır (Tural ve ark., 2003).

**2.4.3.2.4.3. Grafit elektrot**

Grafit elektrokimyasal çalışmalarda, geniş bir kullanım alanına sahiptir. Grafit, doğal olarak oluşur. Doğal kökenli grafit elektrotların kül içeriği (%5-%20), kullanımını sınırlar. Bu sebeple elektrokimyasal çalışmalarda bu grafiti saflaştırıp kullanmak yerine yapay grafitin kullanımı tercih edilir. Grafit, yumuşak ve gözenekli bir materyal olduğu için yüksek adsorbsiyon kapasitesi vardır (Yılmaz, 2012).

**2.4.3.2.4.4. Camsı karbon elektrot (GCE)**

İlk defa Yamada ve Sato tarafından 1962 yılında geliştirilmiştir. Bu materyali, inert bir gaz içerisinde fenol formaldehit reçinesini çok dikkatli bir şekilde ısıtma sonucunda elde etmişlerdir (Yılmaz, 2012).

Camsı karbon yapısının, rastgele yerleşmiş ve karışık aromatik şerit moleküllerinden oluştuğu saptanmıştır. Diğer katı elektrotlarda olduğu gibi camsı karbon elektrotla da aktivasyonu sağlamak ve tekrar edilebilir sonuçları elde edebilmek için çeşitli ön işlemler geliştirilmiştir. Bu işlemler; parlatma (Rusling, 1984; Thornton ve ark., 1985; Hu ve ark., 1985), kimyasal ve elektrokimyasal işlemler (Taylor ve Humpffay, 1973; Wang ve Hutchins, 1985), radyofrekans (Evans ve Kuwana, 1977), düşük basınç altında sıcaklık uygulaması (Stutts ve ark.,1983; Wightman ve ark., 1984), vakum–sıcaklık uygulaması (Fagan ve ark., 1985), laser ışını ile uyarılma (Hershenhart ve ark.,1984) ve metal oksit filmlerinin elektrot yüzeyinde kaplanması (Cox ve ark., 1988) olarak sınıflandırılabilir. Standart bir aktivasyon işlemi henüz saptanamamıştır. Çünkü aktivasyon işlemi kullanılan çözeltiye ve incelenecek maddeye bağlı olarak değişmektedir (Shearer ve ark., 1972; Tjaden ve ark., 1976; Özkan ve ark.,1998; Şentürk ve ark., 1998; Yılmaz ve Biryol, 1998; Özkan ve ark., 2000).

**2.4.3.2.4.5. Pirolitik grafit elektrot**

Pirolitik grafit, karbonun başka bir yapay şeklidir. 1200 °C’ den yüksek sıcaklıklarda, metan gibi bir hidrokarbon ihtiva eden maddelerin, ısı bozundurulması sonucu elde edilir. Pirolitik grafit elektrodun, asitli ortamda doygun kalomel elektroduna karşı çalışma potansiyel aralığı +1,00 V ile -0,80 V’ dir (Can,2013).

**2.4.3.2.4.6. Empreyene karbon elektrotlar**

Empreyene karbon elektrotlar, grafitin, uygun reçineler ve parafinle karıştırılması, eritilip homojenleştirildikten sonra da, metalik iletken içeren bir tübe doldurulmasıyla hazırlanır (Can, 2013).

**2.4.3.2.4.7. Mikro karbon (lif) elektrotlar**

Son yıllarda kullanılmaya başlanan elektrotlardır. Genelde mikroelektrot olarak kullanılırlar. Çapları 5-10 µm düzeyinde olan lif şeklindeki karbon telciklerdir. Genelde kare dalga voltametrisinde kullanılırlar (Can, 2013).

**2.4.3.3. Dönen elektrotlar**

Dönen elektrotlar; dönen disk ve halka-disk elektrotlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Bu elektrotlar, platin ve camsi karbondan yapılarak, bir motor sistemi ile dönme hızları kontrol edilir. Kimi zaman diğer katı elektrotlar doğrudan veya cıva ile kaplanarak da kullanılabilir. Dönen disk elektrotlarla, elektroda madde taşınması konvektif difüzyonla sağlandığında, durgun elektrotlardan daha büyük bir akım yoğunluğu sağlarlar. Bu sebeple, bu tür elektrotlarla yapılan ölçümlerde duyarlılık daha yüksektir (Yılmaz, 2012).

**2.4.3.4. Modifiye elektrotlar**

Voltametik tekniklerde kullanılan elektrotların sınırlı olması sebebiyle, elektrotların kimyasal veya elektrokimyasal özellikleri değiştirilerek çalışma şartları geliştirilmiştir. Genel olarak ya elektrot yüzeyinde önderiştirme sağlayan kimyasal maddelerle işlem ya da elektrot yüzeyinin elektron aktarma niteliğini değiştiren işlem (elektrokataliz) yapılarak hazırlanır.

Modifiye elektrotların önderiştirme işlemleri iki şekilde yapılır:

-Numune (analit) ve destek elektrolitin bulunduğu ortamda, biriktirme yapıldıktan sonra yine aynı ortamda voltametik analiz yapılabilir.

-Numune (analit) ortamında, önderiştirme yapıldıktan sonra, elektrot saf su ile yıkanır, ayrı bir destek elektrolit ortamına aktarılarak da voltametik analiz yapılabilir (Tural ve ark., 2003).

Modifiye elektrotlar genel olarak iki ana gruba ayrılabilirler.

**2.4.3.4.1. Kompozit elektrotlar**

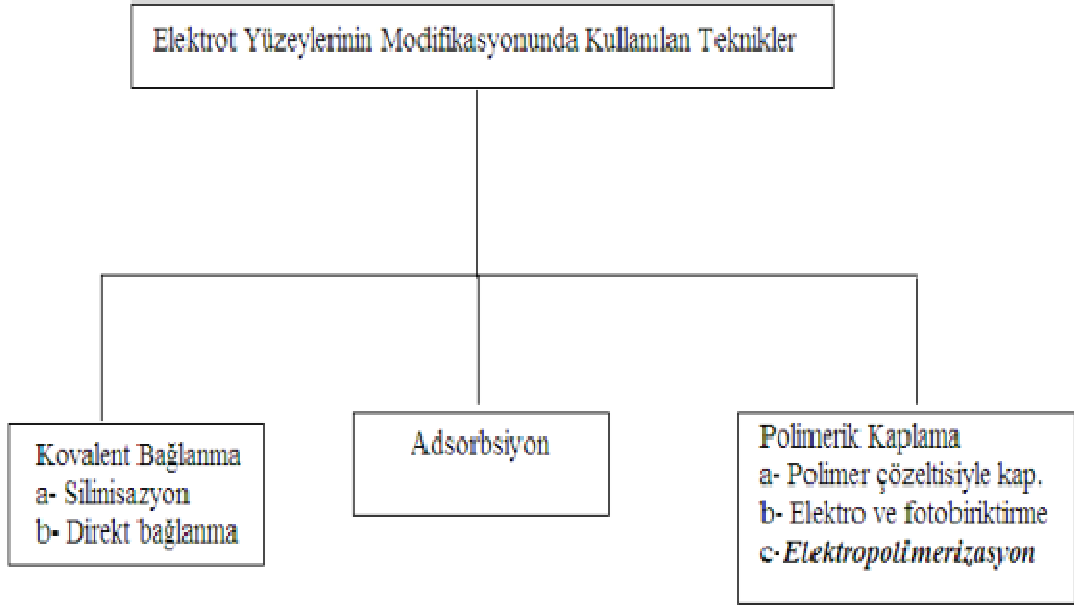
Modifiye edici kimyasal doğrudan iletken elektrot malzemesine katılıp, karıştırılarak elektrot hazırlanabilir. Bu şekilde hazırlanan elektrotlara kompozit elektrot denir. Örneğin modifiye edici madde (adsorplayıcı, kompleks oluşturucu, katalizleyici) karbon tozu ve nujol ile birlikte pasta haline getirilerek kullanılır. Ayrıca karbonla birlikte sıkıştırılıp pellete dönüştürülerek de elektrot yapılabilir (Sarıkoc, 2009).

**2.4.3.4.2 Kimyasal yöntemlerle modifiye edilen elektrotlar**

Modifiye edici kimyasal madde, elektrot yüzeyine kimyasal bağla veya kimyasal adsorpsiyonla bağlanarak hazırlanabilir. Ayrıca modifiye edici uygun bir monomer elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyona uğratarak ya da elektrot yüzeyinde doğrudan polimer film oluşturularak bu tür elektrotlar hazırlanabilir (Sarıkoc, 2009).

### 2.4.3.4.3. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan metotlar

Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan teknikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 2.6. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda kullanılan teknikler (Yılmaz, 2012).

**Kovalent bağlanma** iki şekilde olur: Bunlar silinizasyon ve direkt bağlanmadır.

**Silinizasyon** yaygın kullanılan ilk yüzey modifikasyon tekniğidir. Bu teknik, trialkoksi veya triklorosilanlar ile reaksiyona girecek olan yüzey hidroksil veya oksit gruplarının oluşumunu içerir. Silinizasyon reaksiyonları için kullanılan elektrot materyallerinin aralığı çok geniştir. Camsı karbon, pirolitik karbon, platin, altın, metal oksitler ve yarı iletkenler kullanılabilir (Yılmaz, 2012).

**Direk bağlanma** ise çeşitli karbon elektrotlar ve platin elektrot bu yöntem ile kaplanabilir. Örneğin, karbon elektrotların modifikasyonunda en çok başvurulan metot, bir diazonyum tuzunun aprotik bir çözücü ortamında indirgenmesiyle çözeltide bir aril radikali oluşturulması ve bu radikallerin karbon elektrot yüzeyine kovalent bağlarla bağlanmasıdır (Yılmaz, 2012).

#### **Adsorpsiyon**

Adsorpsiyon işlemi, birkaç bağlanma formu ile gerçekleşir. Substratın yapısı türler için hareket etme açısından çözeltiye göre daha uygun olduğu için pek çok bileşen genellikle çözeltiden substratın yüzeyine absorbe olur. Örneğin, sülfür içeren türler; altın, cıva ve diğer metal yüzeylerine kuvvetlice tutunur. Bunun nedeni kuvvetli metal-sülfür etkileşimi olmasıdır. Yüzeye tutunan türlerin elektrokimyasal olarak yükseltgenme ve indirgenmesi gözlenebilir (Yılmaz, 2012).



**Polimerik kaplama**

Polimer film ile kaplanmış elektrot yapımında, ya önceden kimyasal yolla sentezlenen polimer ile kaplama yapılır ya da doğrudan monomer elektrot yüzeyinde polimerleştirilir. Kimyasal yolla sentezlenen polimerler iki şekilde elektrot yüzeyine kaplanabilir (Yılmaz, 2012). Bunlar aşağıdaki gibi verilebilir:

1. Elektrot yüzeyinde, elektrokimyasal çöktürme; bu yöntemde polimer çözeltisine daldırılan elektroda uygun bir gerilim uygulanarak yapılan elektroliz ile polimer, elektrot yüzeyinde biriktirilir.
2. Daldırıp kurutma ya da damlatma-döndürerek buharlaştırma (spin kaplama); daldırıp kurutma yönteminde polimerik materyal bir uçucu çözücüde çözülür. Polimer çözeltisi bir mikro pipet yardımıyla, bilinen hacimde elektrot yüzeyine aktarılır. Çözücü ondan sonra uzaklaştırılır. Bu, havada kurutma ve vakum yöntemleriyle yapılabilir. Düz filmler isteniyorsa, çözücü uzaklaştırılması çok önemlidir (Yılmaz, 2012).

Monomerlerin elektrot yüzeyinde, doğrudan polimerleştirilmesinde kullanılan üç yöntem vardır. Bunlar;

1. Elektrokimyasal polimerizasyon,
2. Organosilan kondenzasyonu,
3. Plazma polimerizasyonudur (Yılmaz, 2012).

**Elektrokimyasal polimerizasyon**

Elektropolimerizasyon çözücü, monomer konsantrasyonu, çözeltinin pH'sı, elektrolit çeşidi, sıcaklık, elektrot malzemesi ve uygulanan elektriksel şartlar gibi deneysel değişkenler içerir. Polimer, potansiyostatik, galvonostatik ya da döngülü potansiyel taraması ile biriktirilebilir. Uygulanan elektriksel şartlar ve deneysel değişkenler, filmin yapısını, özelliklerini ve polimer üretme hızını etkilemektedir. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler Çizelge 2.1' de verilmiştir (Yılmaz, 2012).

Çizelge 2.1. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler (Yılmaz, 2012)

Teknik	Kontrollü değişken	Ölçülen değerler	Diğer parametreler	Sağlanan bilgiler
Voltametri	Potansiyel, E	Akım, i	Çözelti bileşimi	Redoks potansiyeli, yük transfer kinetiği
Potansiyometri	-	Potansiyel, E	Çözelti bileşimi	Redoks potansiyeli, iyon değişim kapasitesi
Kulometri	Potansiyel, E	Yük, Q	Çözelti bileşimi	Elektron stokiyometrisi
AC empedans spektroskopisi	Potansiyel, E	Akım, i veya Empedans, Z	Çözelti Bileşimi, frekans	Yük transferi ve iyon taşıma kinetiği

Elektrokimyasal biriktirme potansiyeli her bir elektropolimerizasyon için özgüdür. Polimerler direkt olarak yükseltgenmiş iletken şekilde, elektrodun yüzeyinde birikir. Bu tür modifikasyona örnek ise camsı karbon elektrodun p-aminobenzen sülfonik asitle (p-ABSA) modifikasyonu verilebilir (Yılmaz, 2012).

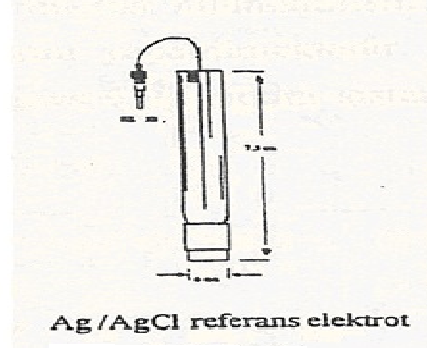
#### 2.4.4. Referans (karşılaştırma) elektrodu

Bu tür elektrotlar, sabit ve bilinen bir potansiyel değeri sağlayan ve deney çözeltisinin bileşiminden etkilenmeyen elektrotlardır. Karşılaştırma elektrotunun bileşimi değişmez ve analiz boyunca polarlanmadan kalır. Bu amaçla, Ag/AgCl veya doygun kalomel elektrot (DKE) kullanılır (Henden ve ark., 2001).

Bu elektrotlardan anodik akım geçtiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşırı klorürle çökeldiklerinden, elektrot yüzeyindeki derişimleri değişmez ve böylelikle potansiyelleri, akımdan bağımsız olur. Katodik akım geçtiğinde ise, çözünlükten gelen metal iyonları indirgenir, elektrot yüzeyinde çökelek ayrışarak metal iyonu oluşturur, böylece potansiyel yine değişmeden kalır (Yılmaz, 2012).

İyi bir referans elektrot;

- Tersinir (reversibl) olmalı ve Nerst eşitliğine uymalıdır.
- Zamanla bağımlı olmayan sabit bir potansiyel vermelidir.
- Az miktarlarda akım elde edildikten sonra yine eski haline kısa sürede dönmelidir.
- Sıcaklık değişmelerinde önemli bir değişiklik göstermemelidir (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.7. Karşılaştırma elektrotu (Yılmaz, 2012).

#### 2.4.5. Yardımcı (karşıt) elektrot

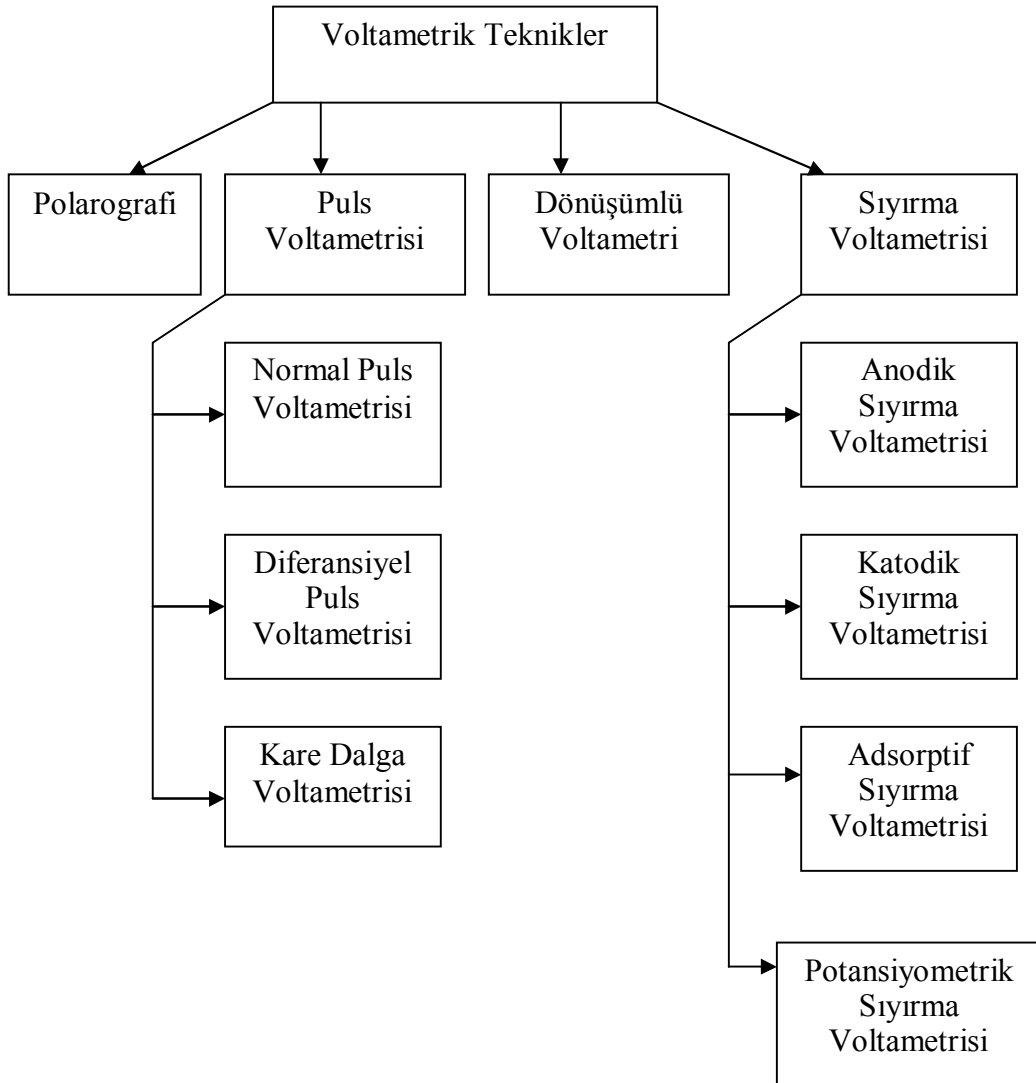
İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca eğer çözeltili direnci yüksek ise, bu direnci yenmek için gerekli olan (IR) önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenle çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli yanılgılı algılanır. Bunun sonucu olarak  $i=f(E)$  eğrileri yatıklaşır ve belirli bir noktadan sonra basamaklaşır ya da pikler kaybolur. Bu sorun sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözümlenir. Akım, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrodunun potansiyeli, karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında ölçülür. Akım, yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir. Bu sebeple daha çok platin, grafit, tantal yada tungsten tel çubuklar kullanılır. Bu elektrotların alanı çalışma elektrodu alanının en az 50 katı olmalıdır. Ayrıca çok küçük hacimlerle çalışıldığında, yardımcı elektrotta oluşan ürünlerin, çalışma elektrodunda girişim yapmayacağı elektrot türü seçilmelidir (Tural ve ark.,2003; Yağmur, 2005). Tipik bir yardımcı elektrot Şekil 2.8' de verilmiştir.



Şekil.2.8. Yardımcı elektrot (Yılmaz, 2012).

## 2.5. Voltametrik Yöntemler

Voltametrik yöntemlerin genel sınıflandırılması Şekil 2.9' da verilmiştir.



Şekil 2.9. Voltametrik tekniklerin sınıflandırılması (Yılmaz, 2012).

### 2.5.1. Polarografi

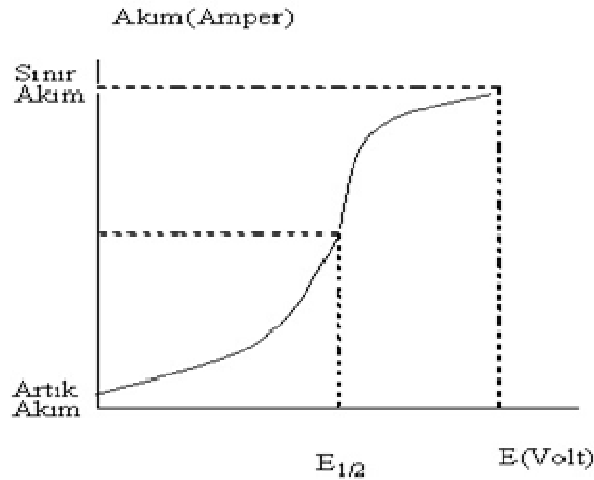
Polarografi, çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodun (DCE) kullanıldığı voltametrik yöntemdir. DCE; 0,05 - 0,08 mm iç çaplı bir kılcal cam borudan damlayan cıvadan oluşur.

Damlayan cıva elektrot ile referans elektrot arasına bir potansiyometri yardımıyla potansiyel uygulanır. Hücreden geçen akım, galvanometre ile ölçülür. Ölçülen akımın, uygulanan potansiyele karşı grafiği polarogram adını alır (Yılmaz, 2012).

Polarografide akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi (katodik akım, +) veya yükseltgenmesi (anodik akım, -) sonucunda oluşur (Yılmaz, 2012).

Şekil 2.10' daki polarogramdan görüldüğü gibi belli bir potansiyelden sonra akımın sabit kaldığı bir plato bölgesine ulaşılmaktadır. Bu akıma sınır akımı ( $i_s$ ) denir. Elektrot üzerinde henüz reaksiyon olmadığı zaman küçükte olsa bir akım gözlenir. Bu akıma ise artık akım denir. Sınır akımı ile artık akım arasındaki yükseklik, dalga yüksekliğidir. Dalga yüksekliği, elektroaktif maddenin konsantrasyonu ile doğrusal olarak artar. Bu özellik sebebiyle polarografi, kantitatif analizlerde kullanılabilir (Yılmaz, 2012).

Akımın, sınır akımı değerinin yarısına eşit olduğu potansiyele yarı dalga potansiyeli denir. Yarı dalga potansiyeli  $E_{1/2}$  ile gösterilmektedir.  $E_{1/2}$  değeri, genellikle elektroaktif maddenin konsantrasyonuna bağlı değildir ve standart yarı hücre potansiyeli ile yakından ilişkilidir. Yarı dalga potansiyelinin her madde için karakteristik olması özelliğinden dolayı polarografi kalitatif analizlerde de kullanılabilir (Yılmaz, 2012).



Şekil 2.10. Polarografide akım potansiyel grafiği (Yılmaz, 2012).

**2.5.2. Puls voltametrisi teknikleri****2.5.2.1. Normal puls voltametrisi (NPV)**

Normal polarografide, puls polarografisinden farklı olarak bir civa damlasının oluşma ve kopma süresi içerisinde uygulanan potansiyel değişimi çok düşük olduğundan (2–3mV), potansiyel sabit kabul edilir. Puls polarografisinde ise damla ömrü sonuna doğru potansiyel pulsları uygulanır ve böylece oluşan akım ölçülür. Puls uygulaması iki farklı şekilde olabilir (Yılmaz, 2012).

Normal puls voltametrisinde ise başlangıç potansiyeli temel alınarak her damla ömrü sonunda artan genlikli pulslar uygulanır. Her puls uygulanmasından sonra başlangıç potansiyeline geri dönlür. Bu, normal puls voltametrisi (NPV) adını alır (Yılmaz, 2012).

**2.5.2.2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)**

Normal puls voltametrisi tekniğinde, puls sonunda belirlenen akım çok az da olsa kapasitif akım içerir. Kapasitif akımın, artık akım içindeki payını daha da azaltmak ve seçiciliği arttırmak için pulsun başlangıcında ve sonunda ölçülen akımların farkları alınmıştır. Bu tekniğe diferansiyel puls voltametrisi denir.

Bu teknikte, giderek artan bir doğru akım potansiyeline, sabit genlikli pulslar bindirilerek veya sabit doğru bir potansiyele, giderek artan genlikli pulslar bindirilerek uygulanabilir. Puls uygulanmasından önce ve sonra akım ölçülüp iki akım arasındaki fark alınıp bulunan akım değeri potansiyele karşı grafiğe geçirilir.

Diferansiyel puls voltametrisi, normal puls voltametrısından daha duyarlı olup duyarlılığı  $10^{-7} - 10^{-8}$  M seviyesindedir (Tural ve ark., 2003).

**2.5.2.3. Kare dalga voltametrisi (SWV)**

Kare dalga voltametrisi tekniğinde, son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir tekniktir. Voltamogramın tamamı, 10 ms'den daha kısa bir zamanda elde edilir. Damlayan civa elektrodu ile tarama, bir damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı nerdeyse sabitken gerçekleştirilir. Kare dalga voltametrisi, asılı civa damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile kullanılmaktadır (Yılmaz, 2012). Bu yöntem,  $10^{-7} - 10^{-8}$  M gibi yüksek duyarlılığa sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle, HPLC'de (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) dedektör olarak kullanılmaktadır (Can, 2013).

**2.5.3. Dönüşümlü voltametri (CV)**

Dönüşümlü voltametri tekniğinde çalışma elektroduna uygulanan gerilim taraması belirli yönde (pozitif veya negatif) belirli bir potansiyel değerine kadar uygulanır ve aynı

tarama hızında potansiyel tarama yönü tersine çevrilir. İleri ve geri yöndeki tarama hızları genellikle aynı tutulur, fakat istenildiğinde farklı tarama hızlarında da ölçümler alınabilir. Dönüşümlü voltametrizde önemli parametreler, katodik pik potansiyeli ( $E_{pc}$ ), anodik pik potansiyeli ( $E_{pa}$ ), katodik pik akımı ( $I_{pc}$ ) ve anodik pik akımı ( $I_{pa}$ )'dır (Erik, 2007).

#### **2.5.4. Sıyırma voltametrisi (SV)**

Sıyırma teknikleri çok seyreltik çözeltilerin ( $10^{-10}$  M'a kadar) analizlerinde başvurulan; başlangıç basamağı ortak ve karakteristik olan çok sayıdaki elektroanalitik tekniğini kapsar. Bütün bu işlemlerde analit genellikle karıştırılan bir çözeltide önce bir mikroelettrot üzerine biriktirilir. Yeterli biriktirme süresi sonunda karıştırma durdurulur ve birikmiş analit daha önceden anlatılan voltmetrik tekniklerden (DPV, SW, CV) biri ile analiz edilir. Analizin bu ilk basamağında analit mikroelettrot yüzeyinden çözülür ve sıyırılır; bu yüzden bunlara sıyırma teknikleri denir (Yılmaz, 2012).

##### **2.5.4.1. Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)**

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV) tekniğinde, mikroelettrot biriktirme basamağı sırasında bir katot olarak; analitin ilk haline tekrar yükselttiği sıyırma basamağında ise anot olarak davranır. Sıyırmanın yapıldığı voltametri tekniğe göre adını alır. Örneğin diferansiyel puls tekniğiyle sıyırma yapılırsa uygulanan bu tekniğe diferansiyel puls anodik sıyırma voltametrisi (DPASV) denir (Yılmaz, 2012).

##### **2.5.4.2. Katodik sıyırma voltametrisi (CSV)**

Katodik sıyırma voltametrisi (CSV) tekniğinde; mikroelettrot biriktirme sırasında bir anot gibi; sıyırma sırasında da bir katot gibi davranır. Biriktirme basamağında analit, elektrokimyasal olarak bir önderiştirilme (zenginleştirme) işlemine uğrar, yani mikroelettrot yüzeyindeki analit konsantrasyonu, çözeltideki konsantrasyonundan daha büyüktür (Yılmaz, 2012).

##### **2.5.4.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)**

Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV); maddenin çalışma elektrodu üzerine kısa sürede adsorbe edilmesi esasına dayanır. Voltametrik veri, adsorbe edilen maddenin yüzeydeki konsantrasyonuna doğrudan bağlıdır. AdSV tekniğinde biriktirme işleminde madde herhangi bir kimyasal reaksiyona tabi tutulmaz. AdSV ile tıbbi ve biyolojik önemi olan birçok organik molekülün sulu çözeltilerde cıva yüzeyinde adsorbe olma özelliğinden faydalanılarak analizleri yapılabilmektedir (Yılmaz, 2012).

**2.5.4.4. Potansiyometrik sıyırma voltametri (PSV)**

Bu teknik özellikle önderiştirme aşaması açısından, anodik sıyırma voltametrisine benzer. Sıyırma aşamasında farklı olarak, elektrot yüzeyinde önderiştirilen metallerin çözündürülmesi kimyasal yolla sağlanır (Can, 2013).

**2.6. Voltametrik Validasyonda Kullanılan İstatistiksel Terimler**

Elektroanalitik analizlerde ve uygulanan tekniğin validasyonunda yaygın olarak kullanılan istatistiksel terimler şunlardır (Yılmaz, 2012):

**Ortalama Değer:** Bir analizde, elde edilen sonuçların toplamının, analiz sayısına (N) bölünmesiyle bulunan sayıya ortalama değer denir ve  $\bar{X}$  ile gösterilir. Ortalama değer kendisinin hesaplanmasında kullanılan herhangi bir değer ya da sonuçtan daha güven vericidir. Analiz sayısına göre değişen ortalama değer, analiz sayısı arttıkça doğru değere yaklaşır.

**Kesinlik:** Bir analizde, bulunan sonuçların birbirine yakınlığına ya da ortalama değerle herhangi bir değer arasındaki farka kesinlik denir. Kesinliği yüksek olan sonuçların doğruluk dereceleri de genelde yüksektir. Kesinlik, farklı şekillerde verilebilir.

Bunlar:

- Standart sapma (s)
- Bağıl standart sapma (s/x)
- Variyans (s kare)
- Variyasyon katsayısı (s/x) . 100
- Yayıma (w)

- Standart Sapma (s): Numune standart sapması, herhangi bir tekniğin kesinliğini belirtmeye yarayan en önemli kriterdir ve aşağıdaki eşitlik ile verilir.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \quad (2.11)$$

s= numune standart sapması

$x_i$ = analiz sonuçları

$\bar{X}$ = analiz sonuçlarının ortalaması

N= analiz sayısı



b. Bağıl standart sapma ( $s/X$ ): Standart sapma ( $s$ ), ortalama değere ( $X$ ) bölündüğünde bulunan değere bağıl standart sapma denir ve RSD ile gösterilir. Bağıl standart sapmaya, varyasyon katsayısı (VK) da denir ve % RSD olarak aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$\% \text{ RSD} = (s/x) \times 100 \quad (2.12)$$

c. Varyans: Numune standart sapmasının karesidir ( $s^2$ ).

$$s^2 = \frac{(\sum(x_i - \bar{x})^2)}{N-1} \quad (2.13)$$

d. Yayılma ( $W$ ): Bir tayinde, en büyük değerle en küçük değer arasındaki farka yayılma denir ve  $W$  ile gösterilir. Bu değer ne kadar küçük olursa kesinlik o kadar yüksek olur.

e. Doğruluk: Bir analizde, bulunan en güvenilir sonuçlarla doğru değer ya da doğru olarak kabul edilen değer arasındaki farka doğruluk denir. Başka bir deyişle, deneyde bulunan analiz sonucunun, doğru (gerçek) değere yakınlık derecesidir. Kesinlikle doğruluk arasındaki en önemli fark, kesinlik az sayıda analiz sonuçlarının birbirine yakınlığı iken, doğruluk analiz sonuçlarının gerçek değere yakınlığıdır. 2 şekilde ifade edilir.

Ortalamanın mutlak hatası (ortalamanın doğru değerden farkı),  $E_a$  ile gösterilir.

$$E_a = \bar{X} - \mu \quad (2.14)$$

Ortalamanın bağıl hatası ise aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\% \text{ Bağıl hata} = \frac{(\bar{X} - \mu)}{\mu} \times 100 \quad (2.15)$$

f. Bias: Analitik bir metodun, sistematik hatasının bir ölçüsüdür ve metodun doğruluk derecesiyle ilgilidir.

$$\text{bias} = (\mu - X_t) \quad (2.16)$$

$\mu$  = Analizi yapılan maddenin popülasyon ortalaması (doğru veya gerçek değer)

$X_t$  = Analizi yapılan maddenin bulunan konsantrasyonudur.

g. Hassaslık (Duyarlılık): Herhangi bir analizde uygulanan tekniğin veya cihazın hassaslığı (duyarlılığı), analizi yapılan maddenin (analitin) çok küçük konsantrasyonunu bile ayırt edebilme özelliğidir. 2 türlü ifade edilir.

Kalibrasyon hassaslığı, kalibrasyon doğrusuna dayanır ve kalibrasyon doğrusunun eğimine eşittir. Aynı maddenin analizinde kullanılan iki metottan, kalibrasyon eğimi daha büyük olan metot, daha hassastır denir.

Analitik hassaslık ise kalibrasyon doğrusunun eğiminin, maddenin ölçüm sinyallerinden elde edilen standart sapmaya bölümüdür ve  $\gamma$  ile gösterilir.

h. Seçicilik (Spesifiklik): Analitik bir tekniğin, analiz ortamında bulunan türlerden (yükü ve yüksüz taneciklerden) sadece birinin kantitatif analizi için kullanılabilme özelliğidir.

1. Çalışılabilir Konsantrasyon Aralığı: Analitik bir tekniğin, kantitatif sonuçlar verdiği aralığa, çalışılabilir konsantrasyon aralığı denir.

i. Tayin alt sınırı (LOD): Bir analizde, en küçük sinyalin gözlemlendiği konsantrasyona tayin alt sınırı denir ve LOD ile gösterilir.

$$\text{LOD} = 3 s/m \quad (2.17)$$

Burada; m: kalibrasyon doğrusunun eğimi, s ise numune standart sapmasıdır.

j. Kantitatif tayin sınırı (LOQ): Bir analizde, kantitatif analizin yapıldığı en küçük konsantrasyona denir ve LOQ ile gösterilir.

$$\text{LOQ} = 10 s/m \quad (2.18)$$

### **2.7. İsoniazid' in Voltametik Teknikler İle İlaçlardan Tayini**

Literatür araştırmalarımızda, izonikotinic asidin hidrazidi olan isoniazid'in (INZ) (piridin-4-karboksilik asit hidrazid), voltametik tekniklerle kantitatif analizi ile ilgili camı karbon elektrotta ve modifiye elektrotlarda birkaç çalışmaya rastlanmıştır.

Quintino ve Angnes (2006) bu çalışmada, analitin 0,1 M NaOH içinde, camı karbon elektrotta elektrokimyasal oksidasyonu esas alınarak isoniazid'in analizi için yeni, hızlı, kesin bir metot önermişlerdir. Amperometri ile ilgili olan BIA ( Batch Injection Analysis) tekniğinden yararlanılarak miktar ölçümü yapmışlardır. LOD  $4.1 \times 10^{-9}$  M ve LOQ  $1.4 \times 10^{-8}$  M, konsantrasyon aralığı ise  $2.5 \times 10^{-8}$  -  $1.0 \times 10^{-3}$  M olarak bulmuşlardır.

Yang ve ark. (2008) isoniazid'in, poly (amido sülfonik asit) modifiye camı karbon elektrot ile ilaçlardan analizini çalışmışlardır. Modifiye elektrot isoniazid' in oksidasyonunda iyi bir elektrokatalitik etki göstermiştir. Konsantrasyon aralığını  $5.0 \times 10^{-8}$  -  $1.0 \times 10^{-5}$  M, LOD  $1.0 \times 10^{-8}$  M olarak saptamışlardır.

Hammam ve ark. (2003) bu çalışmada, insan serumundan karbon pasta elektrot ile Rifampisin (RIF) ve isoniazid (INZ) ilaçlarının voltametik analizi yapmışlardır. Bu ilaçların elektrokimyasal oksidasyonunu dönüşümlü ve kare dalga voltametri yöntemleri ile Britton-Robinson tamponlarıyla (pH 2-11) araştırmışlardır. Geri kazanımlarını,

Rimactane kapsülünde RIF (300 mg RIF) ve İsocid kapsülünde INH ( 200 mg INH) için sırasıyla % 98.57-0.81 ve % 100.57-0.74 olarak saptamışlardır. Bu metot aynı zamanda INZ ve RIF ‘ın karma olduğu Rimactazid tabletinde de uygulanmıştır (150 mg INHq300 mg RIF). Burada da geri kazanımları, % 98.79-0.97 ve % 99.54-0.74 olarak bulmuşlardır. RIF için LOD  $5 \times 10^{-8}$ , LOQ  $1.7 \times 10^{-7}$  iken INZ için LOD  $6.1 \times 10^{-8}$ , LOQ  $2 \times 10^{-7}$  olarak bulmuşlardır.

Majidi ve ark. (2006) isoniazid’ in, ilaçlarda polipirol camısı karbon modifiye elektrot kullanarak tayini yapmışlardır. İsoniazid’ in voltametik davranışını oksitlenmiş polipirol (OPPy) modifiye camısı karbon elektrotta araştırmışlardır. Bu yöntemle, LOD  $3.15 \times 10^{-6}$  olarak saptamışlardır.

Ghoneim ve ark. (2003) isoniazid’ in, kare dalga adsorbif sıyırma voltametri tekniği ile tablet ve biyolojik sıvılardan, cıva elektrot ile elektrokimyasal davranışı incelemişlerdir. pH 5.5 asetat tampon kullanılmış ve 2 tek yönlü (irreversible) katodik pik gözlemişlerdir.

Bergamini ve ark. (2009) isoniazid’ in, poly- L- histidin ile modifiye edilmiş screen-printed karbon elektrot ile insan idrarından tayini gerçekleştirmişlerdir. Modifiye taramalı karbon elektrotun (SPCE) elektrokimyasal davranışı dönüşümlü (CV), Doğrusal taramalı voltametri (LSV), Diferansiyel puls (DPV), kare dalga voltametrisi (SWV) ve elektrokimyasal empedans tekniği ile araştırmışlardır. LOD değerlerini; LSV, DPV ve SWV için sırasıyla  $5.0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>,  $1.7 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> ve  $2.5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> olarak bulmuşlardır.

Yan ve ark. (2011) bu çalışmada isoniazid’ in karbon modifiye elektrotta elektrokimyasal davranışdan yararlanarak, dönüşümlü voltametri ve amperometri teknikleri ile analizini yapmışlardır. İsoniazid’ in elektrokimyasal yükselgenmesinin, modifiye elektrotta, pH 7 fosfat tamponunda kolaylaştığı sonucuna varmışlardır.

Szlosarczyk ve ark. (2012); isoniazid’ in, yenilenebilir cıva film gümüş esaslı elektrot ile voltametik tayinini yapmışlardır. İsoniazid için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 4.1 nM ve 10.5 nM olarak belirlemişlerdir.

### **2.8. Camısı Karbonun Poli (4-ABSA) İle Modifiye Edilmesiyle İlgili Çalışmalar**

Huang ve ark. (2008), poli (4-aminobenzensülfonik asit)-modifiye camısı karbon elektrot kullanarak, fenileprin ve klorprothisen’in analizini yapmışlardır. Fenileprin’in +0,89 V’da 0,05 M asetat tamponunda (pH=5,00), klorprothisen’in ise 1,04 V’da NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH-HCl (pH=2,40) tamponunda, tersinmez anodik pik verdiğini gözlemlemişlerdir. Belirleme sınırını sırasıyla  $1 \times 10^{-8}$  M ve  $1 \times 10^{-7}$  M olarak bulmuşlardır.

Sadıkoğlu ve ark. (2012), poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye cam-sı karbon elektrotta fosfat pH 7,00 tamponunda dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametri ile ürik asit analizini yapmışlardır. Konsantrasyon aralığını,  $1 \times 10^{-5}$ - $1 \times 10^{-4}$  M olarak belirlemişlerdir. Belirleme sınırını,  $1,125 \times 10^{-6}$  M bulmuşlardır.

Jin ve ark. (2005), poli (p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye cam-sı karbon elektrot ile dopamin ve askorbik asidin eş zamanlı tayinini yapmışlardır. Modifiye elektrodun, dopamin ve askorbik asidin yükseltgenmesi için elektrokatalitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Fizyolojik pH' da (7,00) askorbik asit anyon formunda iken, dopamin katyon olarak bulunmaktadır. Jin ve ark. (2005)' na göre p-(ABSA) yapısında elektronca zengin N atomları ve yüksek elektron yoğunluğuna sahip sülfü grupları bulunmaktadır. Bundan dolayı p-(ABSA) filmleri negatif yüklüdür. Modifiye elektrotta negatif yüklü sülfü grupları ve askorbik asit anyonları arasındaki elektrostatik itmeden dolayı, askorbik asidin potansiyeli daha negatif değere kayar ve dopamin piki askorbik asitten kolayca ayrılabilir. p-(ABSA) modifiye elektrot yüksek seçicilikte amperometrik dopamin sensörü olarak kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.

Yang ve ark. (2006), katesol ve resorsinol varlığında, bu maddelerin girişim etkisi olmadan, poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)-modifiye cam-sı karbon elektrot ile seçici hidrokinon analizi yapmışlardır. Katesol ve resorsinol, hidrokinonun izomerleridir ve numunelerde bir arada bulunabilirler. Bu nedenle girişim etkisi olmadan hidrokinonun seçici tayininin, çok önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Yang ve ark. (2006)' na göre resorsinolun yükseltgenmesi, hidrokinon ve katesolden daha pozitif değerde gerçekleşir. Katesol ve resorsinolun elektron yoğunluğu, hidrokinondan daha düşük olduğundan yükseltgenmeleri daha zordur.

## **BÖLÜM 3**

### **MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler**

Bu çalışmada; 4-aminobenzensülfonik asit (Sigma Aldrich, %99), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (Merck, %99), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (Merck, %99,5), nitrik asit (Merck, %65), aseton (Merck, %99,8), 3 µm elmas pasta, 1 µm elmas pasta ve 0,05 µm boyutlu alümina (CH Instruments) kimyasalları kullanıldı. İlaç etken madde isoniazid ve ilaç dozaj formu İsovit, Deva firmasından temin edildi.

##### **3.1.2. Kullanılan cihazlar**

Voltametik ölçümler, Metrohm 757 VA Trace Analyzer ve Metrohm Autolab PGSTAT 101 cihazları ile yapıldı. Voltametik ölçümler; 4- aminobenzensülfonik asit ile modifiye edilmiş camsı karbon [(elektrodun yüzey boyutu (φ) 7 mm; disk çapı (R) 2 mm] çalışma elektrodu, Ag/AgCl referans elektrodu ve platin tel yardımcı elektrottan oluşan üçlü elektrot sisteminde yapıldı. Elektrokimyasal hücrede oluşabilecek oksijenin uzaklaştırılması amacıyla % 99,00 saflıkta argon gazı kullanıldı.

Sulu çözeltilerin hazırlanması ile voltametik hücre ve diğer cam malzemelerin ön yıkaması amacıyla kullanılan saf su, TKA Smart2 pure marka ultrasaf su (0,055µS/cm iletkenliği ile) cihazından elde edildi.

Çözeltilerin pH'ları EZDO 5011 A marka pH metre ile ölçüldü. Camsı karbon elektrotların yüzeyinin temizlenmesi için Wise Clean marka sonikatör (ultrasonik banyo) kullanıldı.

#### **3.2. Yöntem**

Bu çalışmada öncelikle antitüberküloz etkili ilaç etken madde (İsoniazid), ilgili ilaç firmasından temin edildi. Ardından bu etken maddenin poli (4-ABSA) - modifiye elektrotta voltametik tekniklerle uygun deney şartları belirlendi. İsoniazid'in stok çözeltisi (1x10<sup>-2</sup> M), metanolde günlük olarak hazırlandı. Voltametik araştırmalar için çalışılan tüm çözeltiler, stok çözeltilerinin metanol ile seyreltilmesiyle hazırlandı.

Modifiye edilmiş elektrot ile elektrokimyasal polimerleşmenin yapıldığı ortam olan 0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH=7) tampon çözeltisinde voltamogramlar alındı. Daha sonra seçilen çözücü-destek elektrolit sisteminde değişik konsantrasyonlarda etken maddelerin voltamogramları alınarak, akım-konsantrasyon değerlerinden kalibrasyon grafiği

oluşturuldu. Bu grafikten yararlanılarak doğrusallığın gözlemlendiği konsantrasyon aralığı belirlendi. Kalibrasyon grafiğinin eğim ve standart sapma değerlerinden alt tayin sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) hesaplandı. Akım ve potansiyel değerlerine ve ölçümlerin doğruluğuna ve kesinliklerine bakılarak validasyon parametreleri belirlendi. Daha sonra bu etken maddenin ticari formlarından analizi gerçekleştirildi. Seçilen ortamda, bu bileşiğin dozaj formlarından modifiye edilmiş elektrotta voltametri teknikleri ile kantitatif analizi yapıldı ve validasyon parametreleri (ilaç içindeki miktarı, % RSD ve % geri kazanım v.b.) değerlendirilerek, önerilen tekniklerin söz konusu analizler için geçerlilikleri kanıtlandı.

### **3.2.1. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanması**

Elektrokimyasal özellikleri belirlemek amacıyla isoniazid' in  $1 \times 10^{-2}$  M stok çözeltisi metanolde hazırlandı. Bu çözelti, metanol ile seyreltilerek farklı derişimdeki çözeltiler elde edildi.

Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesinde kullanılan 4-aminobenzenülfonik asit, 0,1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  (pH=7) tampon çözeltisinde çözülerek  $1 \times 10^{-1}$  M stok çözeltisi hazırlandı.

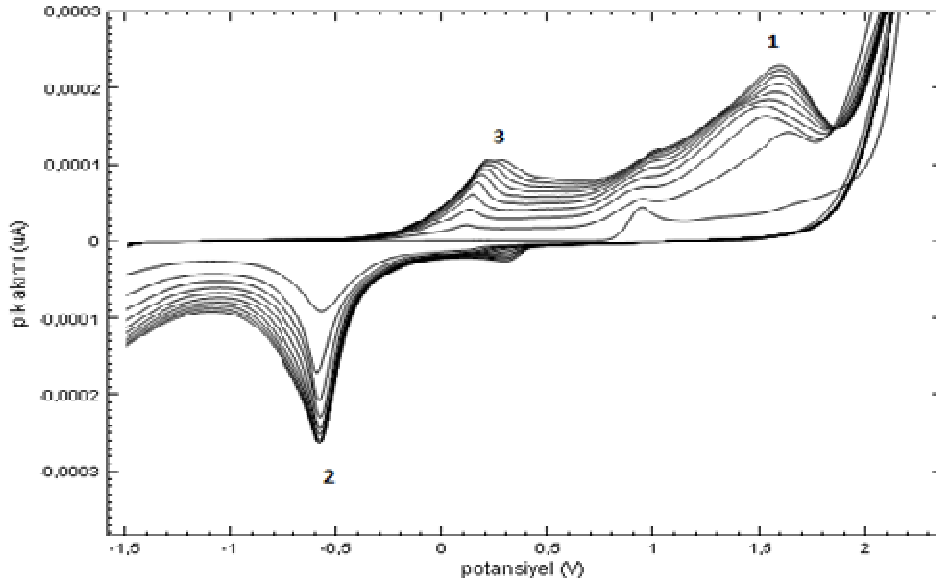
Destek elektrolit olarak belirlenen 0,04 M Britton-Robinson (BR) tampon çözeltisi, litrelik balon jöjeye 2,47 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$  konularak bir miktar deiyonize suda çözüldü. Üzerine 2,3 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ve 2,71 mL  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ilave edilerek hacim deiyonize su ile litreye tamamlandı.

Her iki elektrot (modifiye edilmemiş ve modifiye elektrotlar) ile çalışırken kullanılan destek elektrolitler ve pH taramasında kullanılan tampon çözeltiler ultrasaf su ile hazırlandı. Ölçümlerde günlük olarak hazırlanan çözeltiler kullanıldı.

### **3.2.2. Camsı karbon elektrodun modifiye edilmesi**

Modifikasyona başlamadan önce, elektrot yüzeyinin temizlenmesi gerekir. Bu amaçla öncelikle elektrot; 3  $\mu\text{m}$  elmas pasta, 1  $\mu\text{m}$  elmas pasta ve 0,05  $\mu\text{m}$  alümina olan özel temizleme pedleri ile temizlendikten sonra sırasıyla; (1:1)  $\text{HNO}_3$ , aseton ve destile su ile 10'ar dakika ultrasonik banyoda yıkandı.

Bu işlemten sonra temizlenen elektrotun yüzeyi (Jin ve ark., 2005) literatürde verilen yöntem kullanılarak kaplandı. Camsı karbon elektrot,  $2 \times 10^{-3}$  M 4-aminobenzenülfonikasit içeren 0,1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  (pH=7) tamponunda elektropolimerisasyon tekniği ile -1,5 V ve + 2,4 V potansiyel aralığında,  $200 \text{ mVs}^{-1}$  tarama hızında, 10 döngü alınarak kaplandı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. GCE yüzeyinde  $2 \times 10^{-3}$  M 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı=  $200 \text{ mVs}^{-1}$ ).

Şekil 3.1’ de görüldüğü gibi 3 adet pik gözlemlendi. İlk döngüde -1,5 V ve +2,4 V potansiyel aralığında bir anodik yükseltgenme piki (pik 1) ve bir katodik pik (pik 2) gözlemlendi. Devam eden döngülerde gittikçe büyüyen 3 nolu pik ortaya çıkmıştır. Döngü sayısı arttıkça pik akımları artmış ve belli bir döngüden sonra ise akım sabitleşmiştir. Bu durum camı karbon elektrodun yüzeyinde 4-aminobenzen sülfonik asit’in elektropolimerizasyonunu göstermektedir.

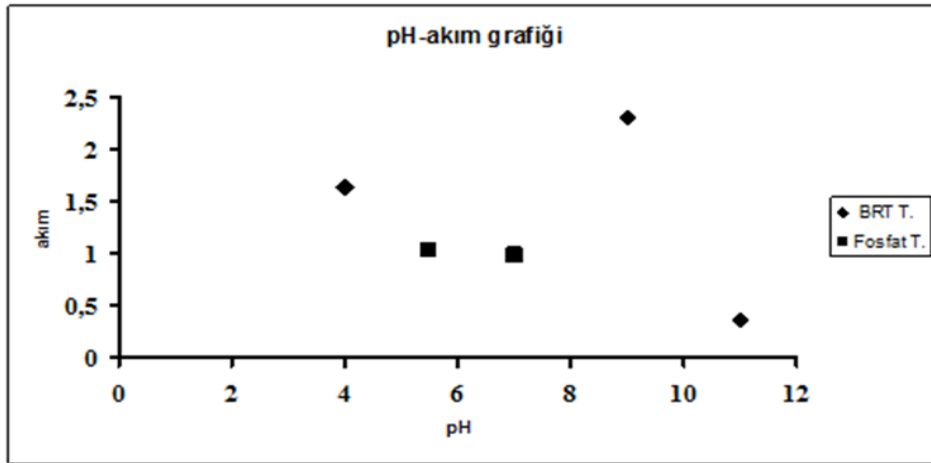
**BÖLÜM 4****ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. İsoniazid' in Modifiye Elektrotta Çalışma Ortamının Belirlenmesi**

İsoniazid'in yükseltgendiği optimum şartları belirlemek için tüm destek elektrolitlerde DPV tekniği kullanarak pik akımının ve pik potansiyelinin pH ile değişimi incelendi. Burada elde edilen voltamogramlardan Çizelge 4.1' deki veriler bulundu.

Çizelge 4.1.  $5 \times 10^{-5}$  M İsoniazid'in 0,04 M BR tamponunda pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi

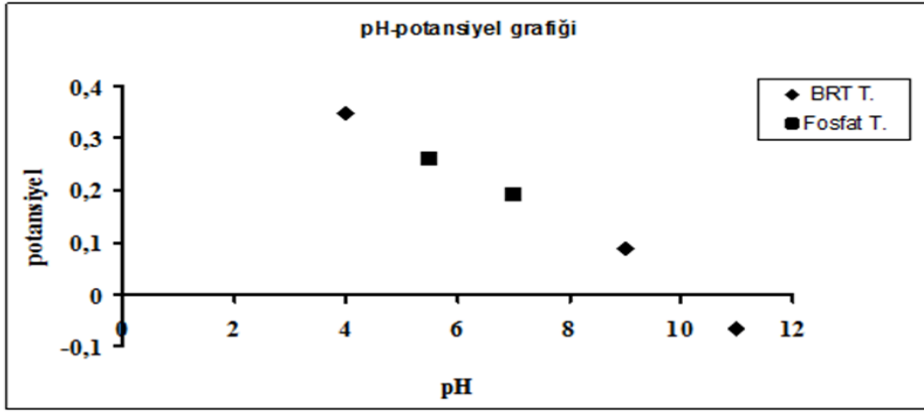
pH	Pik Akımı ( $\mu$ A)	Pik Potansiyeli (V)
4,00	1,64	0,350
5,00	1,03	0,300
6,00	0,83	0,250
7,00	0,56	0,210
8,00	0,73	0,150
9,00	2,31	0,087
10,00	1,61	0,033

Çizelge 4.1' deki bulgular kullanılarak Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 oluşturuldu.



Şekil 4.1.  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in pik akımına pH etkisi.



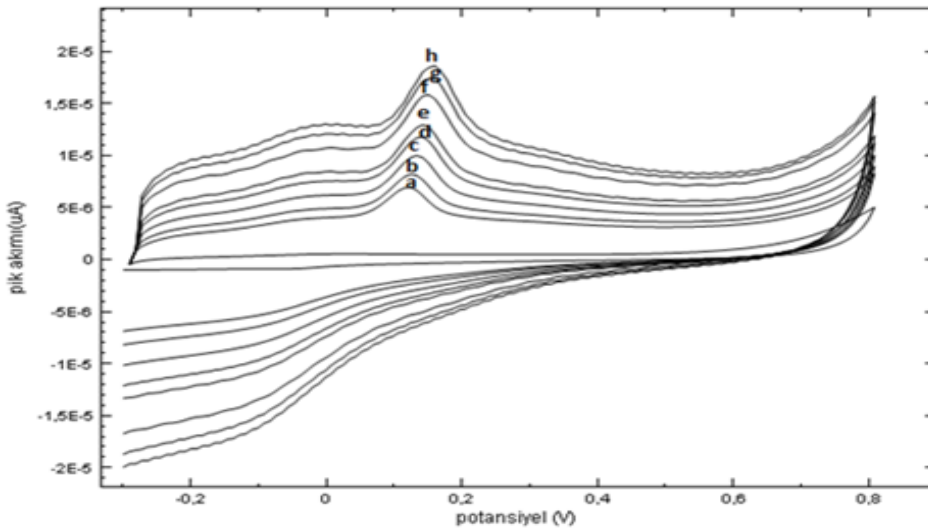


Şekil 4.2.  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in pik potansiyeline pH etkisi.

Yukarıdaki Çizelge 4.1' den elde edilen Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 incelendiğinde, BR tamponu pH=9' da en yüksek pik akımının olduğu ( $2,31 \mu\text{A}$ ) görülmektedir. BR (pH=9,00) tamponundaki pik akımının yüksek olması nedeniyle çalışma ortamı olarak bu pH ve destek elektrolit seçildi.

#### 4.2. Akım Türünün Belirlenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in BR tamponunda (pH=9,00), CV tekniği ile  $100\text{-}300 \text{ mVs}^{-1}$  tarama hızlarındaki voltamogramları alındı (Şekil 4.3).



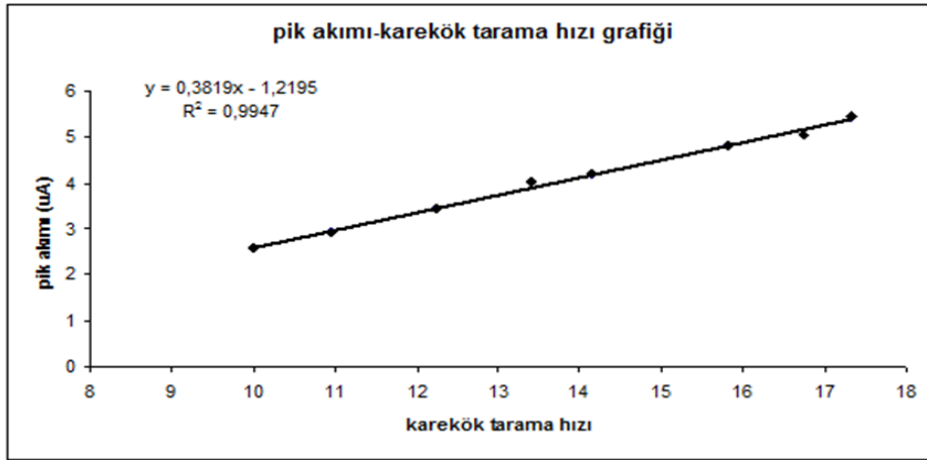
Şekil 4.3.  $5 \times 10^{-5}$  isoniazid' in  $100\text{-}300 \text{ mV/s}$  tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı; a) 100, b) 120, c) 150, d) 180, e) 200, f) 250, g) 280, h) 300 mV/s.

Şekil 4.3' deki verilerden Çizelge 4.2 oluşturuldu.

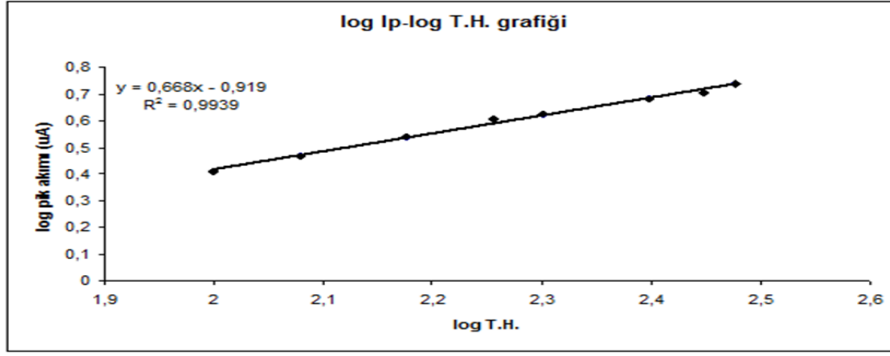
Çizelge 4.2.  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in BR tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi

Tarama Hızı, $v$ ( $\text{mVs}^{-1}$ )	Tarama Hızının Karekökü, $v^{1/2}$	Tarama Hızının Logaritması, $\text{Log } v$	Pik Akımı, $I_p(\mu\text{A})$	Pik Akımının Logaritması, $\text{Log } I_p$
100	10,00	2,00	2,58	0,411
120	10,95	2,07	2,92	0,465
150	12,24	2,17	3,44	0,536
180	13,41	2,25	4,03	0,605
200	14,14	2,30	4,21	0,624
250	15,81	2,39	4,79	0,680
280	16,73	2,44	5,05	0,703
300	17,32	2,47	5,46	0,737

Çizelge 4.2 deki değerler kullanılarak Şekil 4.4. ve Şekil 4.5 oluşturuldu.



Şekil 4.4.  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in pH=9,00 BR tamponunda pik akımı- karekök tarama hızı ( $v^{1/2}$ - $i_p$ ) grafiği.

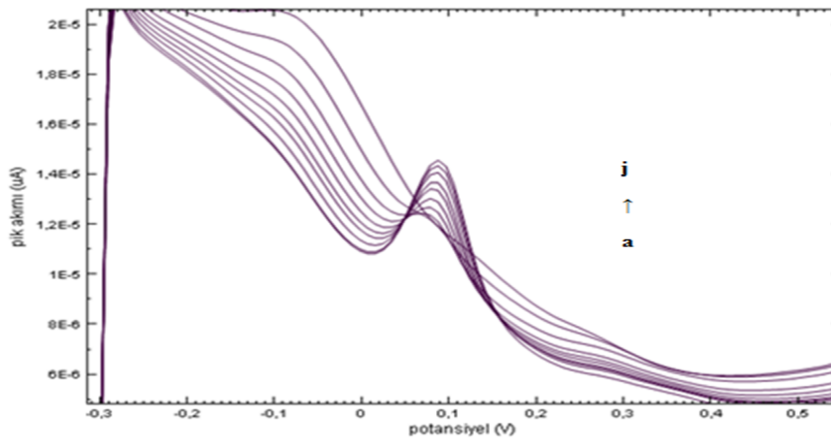


Şekil 4.5.  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in pH=9,00 BR tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması - tarama hızının logaritması ( $\log v - \log i_p$ ) değişimi.

Tarama hızının logaritması - akımın logaritması grafiğinin (Şekil 4.5) eğiminin 0,668 (0,5 civarında) olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Ayrıca yükseltgenme pik akımının, hızın karekökü ile doğrusal olarak artmasından elde edilen  $v^{1/2} - i_p$  grafiğinin (Şekil 4.4) korelasyon katsayısının (R) 0,9947 olması (1'e yakın), akımın difüzyon kontrollü olduğunun önemli bir göstergesidir (Skrzpek, 2005).

### 4.3. Analitik Çalışma (Konsantrasyon) Aralığının Belirlenmesi

Analitik çalışma aralığını belirlemek için isoniazid' in,  $2 \times 10^{-5}$  ile  $1 \times 10^{-4}$  konsantrasyon aralığında, BR (pH=9,00) tamponunda DPV tekniği ile voltamogramları alındı (Şekil 4.6).



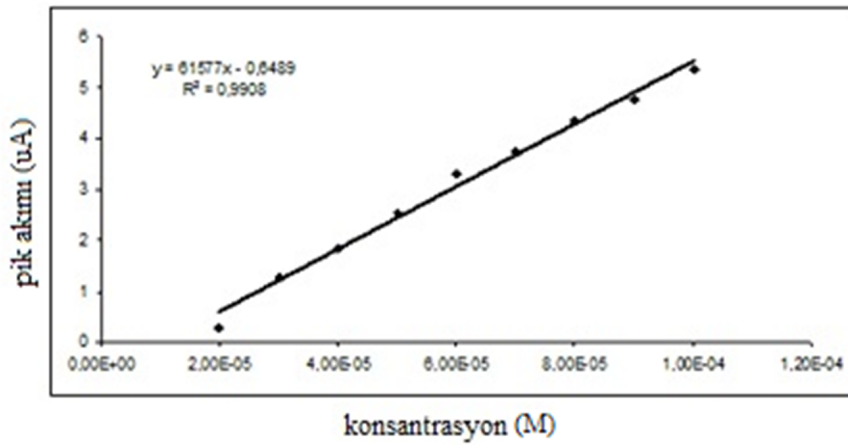
Şekil 4.6. DPV tekniği ile isoniazid' in konsantrasyon-pik akımı değişimi a) Destek elektrolit (BR tamponu, pH=9,00); b)  $2,0 \times 10^{-5}$ ; c)  $3,0 \times 10^{-5}$ ; d)  $4,0 \times 10^{-5}$ ; e)  $5,0 \times 10^{-5}$ ; f)  $6,0 \times 10^{-5}$ ; g)  $7,0 \times 10^{-5}$ ; h)  $8,0 \times 10^{-5}$ ; i)  $9,0 \times 10^{-5}$ ; j)  $1 \times 10^{-4}$  M isoniazid.

Şekil 4.6' dan isoniazid' in analitik konsantrasyon aralığının belirlenmesi ve LOD, LOQ parametrelerinin hesaplanması için Çizelge 4.3 hazırlandı.

Çizelge 4.3. Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri

Konsantrasyon (M)	Pik akımı (µA)
$2 \times 10^{-5}$	0,102
$3 \times 10^{-5}$	1,270
$4 \times 10^{-5}$	1,770
$5 \times 10^{-5}$	2,540
$6 \times 10^{-5}$	3,470
$7 \times 10^{-5}$	3,800
$8 \times 10^{-5}$	4,330
$9 \times 10^{-5}$	4,750
$1 \times 10^{-4}$	5,340

Çizelge 4.3' deki verilerden konsantrasyon ve akım değerlerinin verildiği kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. İsoniazid' in BR(pH=9,00) tamponundaki pik akımı - konsantrasyon ( $C-i_p$ ) grafiği.

Şekil 4.7 incelendiğinde doğrusallığın gözlemlendiği  $2 \times 10^{-5}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M analitik konsantrasyon aralığı olarak belirlendi. Kalibrasyon grafiğinden eğim 61577, korelasyon katsayısı ise 0,9908 hesaplandı. Buna göre kalibrasyon grafiğindeki en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyon olan  $3 \times 10^{-5}$  M' da ölçüm yapılarak akım değerlerinin standart sapması s,  $6,44 \times 10^{-2}$  olarak bulundu. Bu değer 3s/m ve 10s/m

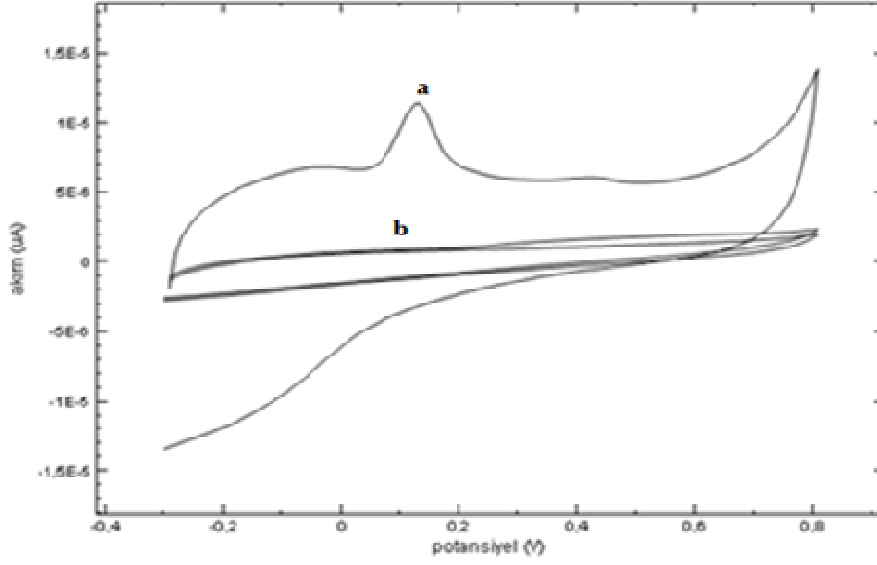
eşitliklerinde yerine konularak belirme sınırı LOD,  $3,05 \times 10^{-6}$  ve kantitatif tayin sınırı LOQ,  $1,01 \times 10^{-5}$  M olarak hesaplandı. Bulunan değerler Çizelge 4.4' de verildi.

Çizelge 4.4. İsoniazid' in pH=9,00 BR tamponunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen analitik tayin parametreleri

<b>Parametreler</b>	<b>Sonuçlar</b>
Ölçülen Potansiyel (mV)	0.087
Konsantrasyon Aralığı(M)	$2 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4}$
Eğim ( $\text{mA M}^{-1}$ )	62780
Eğimin Standart Sapması	1053,8
Kayma (nA)	0,6277
Kaymanın Standart Sapması	0,059
Korelasyon Katsayısı, r	0,9908
Ölçüm Sayısı, n	5
Belirme Sınırı, LOD (M)	$3,05 \times 10^{-6}$
Kantitatif Tayin Sınırı, LOQ (M)	$1,01 \times 10^{-5}$

#### 4.4. İsoniazid' in Poli (4-ABSA) Modifiye Elektrotta Yükseltgenmesi

İsoniazid' in  $5 \times 10^{-5}$  M çözeltisinin 4-(ABSA) - modifiye elektrotta diferansiyel puls voltametri (DPV) ve dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile voltamogramı alındı. Dönüşümlü voltametri (CV) ile alınan ölçümde 0,123 V' da  $1,94 \mu\text{A}$  akımda anodik pik gözlemlendi. Camısı karbon elektrotta CV tekniği ile alınan ölçümde ise 0,38 V' da  $0,14 \mu\text{A}$  akım ölçüldü (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. (a)  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in BR tamponunda (pH=9,00) poli(4-ABSA) - modifiye elektrotta (a) ve camsı karbon elektrotta (b) elde edilen dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızı= $100 \text{ mVs}^{-1}$ ).

Şekil 4.8' den de görüldüğü gibi, isoniazid' in camsı karbon elektrot ve modifiye elektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 13,8 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Buda modifiye elektrotun daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

#### **4.5. İsoniazid' in Modifiye Elektrotta İlaçtan Miktarının Belirlenmesi ve Geri Kazanımı**

Geliştirilen yöntem ile İsovit tabletlerinde isoniazid miktarını belirlemek için, İsovit tabletlerinden 5 tablet tartılıp, toz haline getirilip,  $5 \times 10^{-5}$  M isoniazid içeren çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin voltamogramı alınarak, ölçülen akım değeri, konsantrasyon grafiği eşitliğinde yerine konularak 1 tabletteki okskarbazepin miktarı 99,28 mg olarak hesaplandı. Bu değer, tablet üzerinde belirtilen değer (100 mg) ile karşılaştırıldı (Çizelge 4.5.). Elde edilen sonuçlar çizelge 4.5' de verildi.

Çizelge 4.5. İsovit tabletlerinde belirlenen İsoniazid miktarı ve İsoniazid'in geri kazanımı

Tablette belirtilen İsoniazid Miktarı (mg)	100,00
Bulunan İsoniazid Miktarı (mg)	99,28
Bağıl Standart Sapma, % R.S.D.	1,08
Doğruluktan Sapma, % Bias	0,72
Eklenen İsoniazid (mg)	40,00
Bulunan İsoniazid (mg)	39,36
Geri Kazanım (%)	98,40
Geri Kazanımın Bağıl Standart Sapması, % R.S.D.	1,20
Doğruluktan Sapma, % Bias	1,60

Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla,  $7 \times 10^{-5}$  M isoniazid' in pik akımı ölçüldü. Elde edilen akım değeri kalibrasyon grafiğinin eşitliğinde yerine konularak tabletteki isoniazid miktarı hesaplandı. Eklenen isoniazid miktarı ile bulunan isoniazid miktarı kıyaslanarak, isoniazid' in geri kazanımı % 98,40 olarak hesaplandı (Çizelge 4.5).

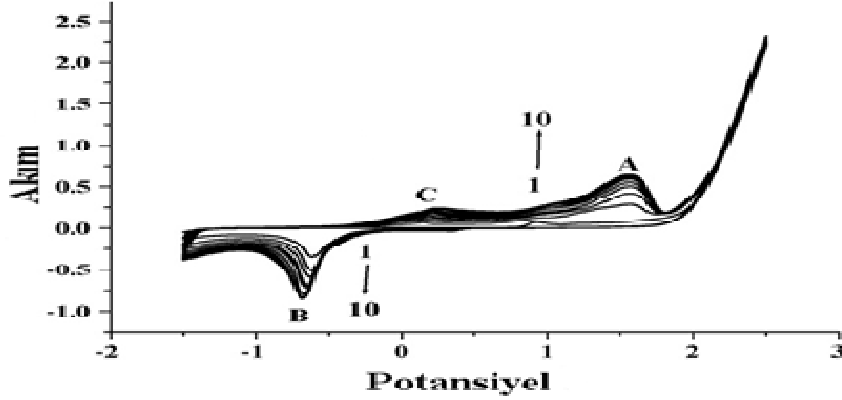
Çizelge 4.5' ten de görüldüğü gibi geri kazanımın % 98,40 olarak bulunmasından, ilaç katkı maddelerinin yöntemlerimizi etkilemediği sonucuna varıldı.

#### **4.6. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Aminobenzensülfonik Asit' in Elektropolimerleşmesine Ait Önerilen Mekanizması**

Huang ve ark. (2008),  $2 \times 10^{-3}$  M 4-aminobenzensülfonik asidi, 0,1 M fosfat tamponunda (pH=7,00), 10 döngü olarak CV tekniği ile kaplamıştır. Modifikasyon, -1,5 V ve +2,5 V potansiyel aralığında ve 100 mV/s tarama hızında yapılmıştır. Birinci döngüde 1,5 V'da bir anodik yükseltgenme piki (A ) ve -0,7 V'da bir katodik pik (B), ikinci döngüde ise +0,2 V'da anodik bir pik (C) gözlenmiştir. Elektropolimerizasyondan sonra camsı karbon elektrodun yüzeyinde, mavi renkli polimerin oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

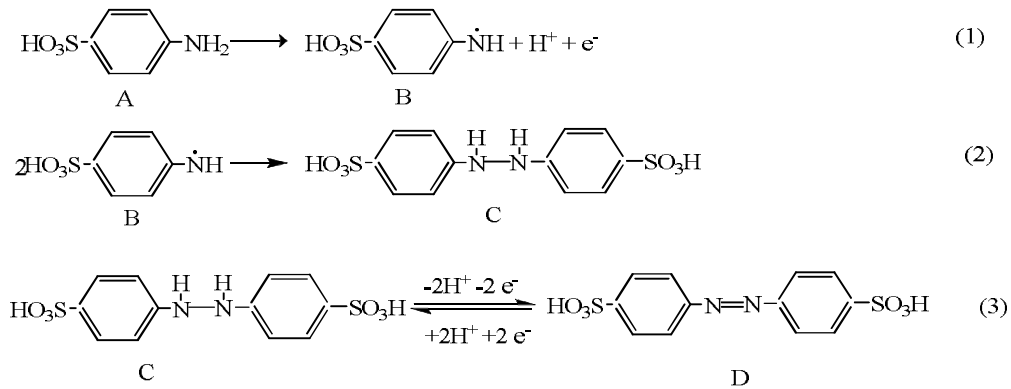
Huang ve ark. (2008)'na göre döngü sayısının artması ile pik akımındaki artış, elektrot yüzeyinde filmin büyümesini göstermektedir. Çalışmalarında, ilk 5 döngüde pik akımlarında hızlı bir artış olurken, sonraki döngülerde bu artışın oldukça azaldığını bildirmişlerdir. Huang ve ark. tarafından yapılan elektropolimerizasyonda elde edilen

pikler Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9. Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

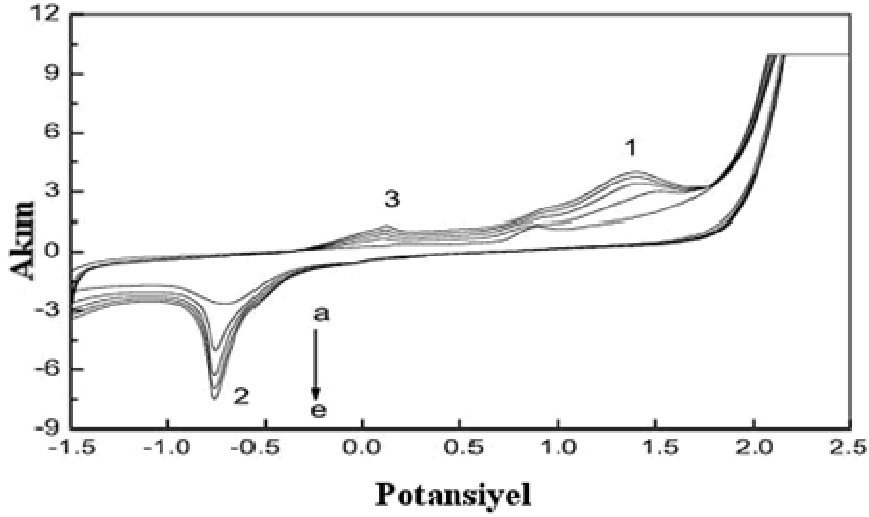
Jin ve ark. (2005) ise 4-aminobenzenesülfonik asidin camı karbon elektrotta elektropolimerleşmesini gerçekleştirerek, ilk defa buna ait dimerleşme basamağına kadar olan mekanizma da önermişlerdir (Şekil 4.11). Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizmaya göre p-(ABSA), ilk olarak serbest radikale yükseltgenmekte (1 nolu pik) ve 2. aşamada radikallerin dimerleşmesi ile hidrazobenzen sülfonik asit oluşmaktadır. Daha sonra ise tersinir olarak hidrazobenzen sülfonik asit, azobenzen sülfonik aside yükseltgenir (3 nolu pik) ve azobenzen sülfonik asit, hidrazobenzen sülfonik aside indirgenir (2 nolu pik).



Şekil 4.10. GCE yüzeyinde 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.

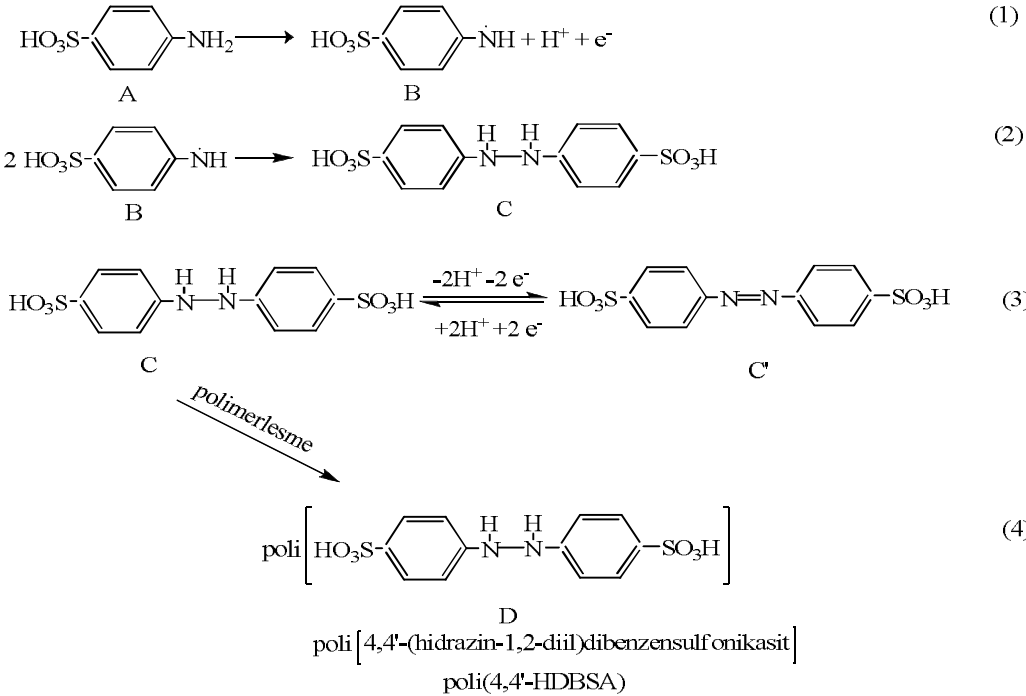
4-aminobenzenesülfonik asidin camı karbon elektrotta elektropolimerleşmesinden elde edilen voltamogramlar ise Şekil 4.11’de verilmiştir.





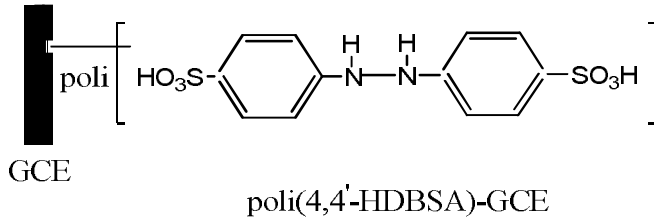
Şekil 4.11. Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzenesülfonik asidin elektropolimerizasyonundan elde edilen voltamogram.

Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizma dimerleşme basamağına kadar verilmiştir. Bileşiğin elektropolimerleşmesi ile ilgili bir mekanizma Jin ve arkadaşları da dâhil olmak üzere verilmemiştir. Çalışmamızda ise elektrokimyasal polimerleşme basamağı da önerilmiştir (Şekil 4.12), (Can, 2013).



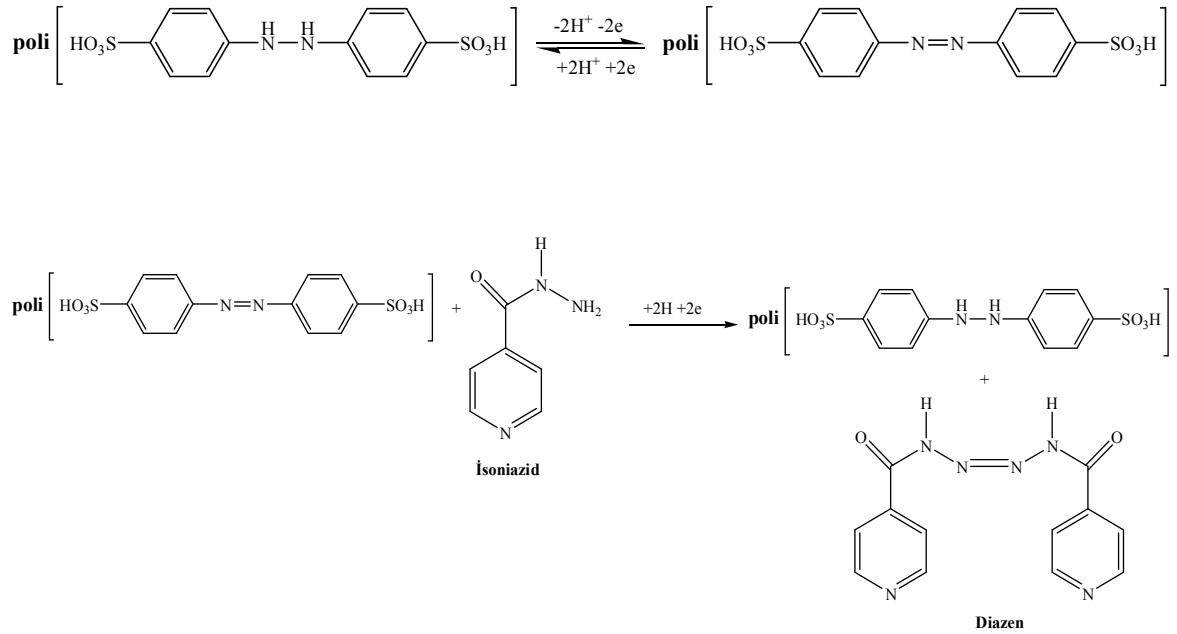
Şekil 4.12. GCE yüzeyinde, 4-aminobenzenesülfonik asitin elektropolimerizasyonu (Can, 2013).

A bileşigi p-aminobenzen-sulfonik asit, birinci aşamada bir elektron alarak amin radikali B' yi oluşturur. İkinci aşamada da iki tane amin radikali B'nin dimerleşmesi ile C bileşigi 4,4'-(hidrazin-1,2-diil)dibenzensulfonik asit oluşur. Bu bileşik, C-C' şeklinde tautomerik formlarda bulunur. Son aşamada ise C bileşiginin polimerleşmesi ile D bileşigi poli[4,4'-(hidrazin-1,2-diil)dibenzensulfonik asit] oluşur. Bu bileşik D ile gösterilmektedir ve poli(4,4'-HDBSA) olarak kısaltılmıştır. Oluşan polimer cam-sı karbon elektrot (GCE) üzerine kaplanır (Can, 2013). Bu şekilde hazırlanan modifiye cam-sı karbonun yapısı Şekil 4.14' de verilmiştir.



Şekil 4.13. Oluşturulan poli(4,4'-HDBSA)-modifiye cam-sı karbon elektrotun yapısı (Can, 2013).

#### 4.7. İsoniazid'in Poli (4-ABSA)-Modifiye Cam-sı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması



Şekil 4.14. İsoniazid' in poli(4-ABSA) - modifiye cam-sı karbon elektrotta yükseltgenme mekanizması.

Yukarıda görüldüğü gibi yükseltgenme reaksiyonu, modifiye poli (4-ABSA) elektrot' da hidrazin-diazen dönüşümleri üzerinden yürümektedir. İsoniazid bileşiğindeki amin grubu  $2H^+$  ve  $2e$  vererek diazen bileşiğine yükseltgenmektedir. İsoniazid bileşiği tarafından verilen hidrojenler ve elektronlar diazen poli (4-ABSA) tarafından alınarak, hidrazin poli (4-ABSA)' ya dönüşmektedir.

## **BÖLÜM 5**

### **SONUÇ VE ÖNERİLER**

Bu çalışmada, antitüberküloz etkisi gösteren isoniazid'in elektrokimyasal yükseltgenme özelliği, 4-(ABSA)-modifiye camısı karbon elektrot kullanılarak, diferansiyel puls ve dönüşümlü voltametri teknikleri ile incelendi. Farklı pH' lardaki elektrolitlerle (BR tampon pH =4,00-10,00) alınan voltamogramlarda -0,3 V ile 0,8 V arasında yükseltgenme piki belirlendi.

4-ABSA modifiye GC elektrot, camısı karbon elektrot yüzeyinin elektropolimerizasyon tekniği ile kaplanması sonucu hazırlandı. Hazırlanan modifiye elektrot' un, iletken özellikte olduğu ve çalışılan ilaç etken maddenin yükseltgenmesini sağladığı gözlemlendi. İsoniazid'in hazırlanan bu modifiye elektrottaki yükseltgenme pik akımının camısı karbon elektrottan daha yüksek olduğu belirlendi.

İsoniazid'in, modifiye elektrotta ölçülen yükseltgenme pik akımı 1,94  $\mu$ A, camısı karbon elektrotta ise 0,14  $\mu$ A olarak belirlenmiştir. İsoniazid'in, camısı karbon elektrot ve modifiye eldektrotta pik akımları karşılaştırıldığında, modifiye elektrotta pik akımının 13,8 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Polimerik filmle kaplı GCE yüzeyinin elektrokatalitik etki göstermesi sonucu elektron transferi kolaylaşmıştır. Buda modifiye elektrotun daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Ayrıca isoniazid'in ticari ilaçlarında miktarı belirlenerek, analitik tayin parametreleri (LOD, LOQ gibi) belirlendi. Uygulanan tekniğin doğruluğunu belirlemek için geri kazanım çalışmaları yapıldı ve çalışmalardan ilaç katkı maddelerinin uygulanan yöntemleri etkilemediği sonucuna varıldı.

Uygulanan voltametrik yöntemler; hızlı, ekonomik ve duyarlı olması, az miktarda numune ile çalışılması ve ayırma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan analiz yapılabilmesi gibi avantajlarından dolayı HPLC, UV gibi spektroskopik yöntemlere göre tercih edilebilir olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca uygulanan voltametrik yöntemler, ilaçların ve biyolojik sıvıların rutin analizlerinde de rahatlıkla uygulanabilir.

## KAYNAKLAR

- Aycan S., 1994. *Polarografik ve Voltametrik Teknikler*. Yıldız Teknik Üniversitesi Yayını, İstanbul. s. 307.
- Bergamini M.F., Santos D.P., Zanoni M.V.B, 2009. Determination of isoniazid in human urine using screen-printed carbon electrode modified with poly-L- histidine. *Bioelectrochemistry*, 70: 133- 138.
- Bilgehan H., Mycobacteriaceae. Klinik Mikrobiyoloji, *Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, 10. Baskı, Sayfa 439-489, İzmir: Fakülteler Kitapevi, 2000.
- Bond A.M., 1980. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc. N.Y.
- Can S., 2013. Asiklovirin Poli (p-Aminobenzen-sülfonik Asit)-Modifiye Camsı Karbon Elektrotta İlaç Formlarından Miktarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Cox J.A., Gadd S.E. ve Das B.K., 1988. Modification of Glassy Carbon with a Stable Film Containing Iridium Oxide and Palladium. *J. Electroanal. Chem.*, 256, 199-205.
- Çekirdek P., 2005. Voltametrik Metotlarla Ditiyofosfonat Anyonlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Çilli A., 2003. ‘Antitüberküloz İlaçlar Ve Etki Mekanizmaları’, *21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu* kitabı, 163-172.
- Erik, E.Z., 2007. ‘Tifensülfüron-Metil Herbisitinin Diferansiyel Puls Polarografisiyle Tayini’ (Yüksek Lisans Tezi). Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 48-52.
- Evans J.F., Kuwana T., 1977. Radiofrequency Oxygen Plasma Treatment of Pyrolytic Graphite Electro Surface. *Anal. Chem.*, 49, 1632 – 1635.
- Fagan D.T., Hu I.F., Kuwana T., 1985. Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrode. *Anal. Chem.*, 57, 2759 – 2763.



- Özdemir N., 2006. Karbon ve Metal Elektrotların Bazı Aromatik Aminlerle Elektrokimyasal Modifikasyonu ve Karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Özkan S.A., Biryol İ. ve Şentürk Z., 1994. An Activation Method for Glassy Carbon Electrode. *Tr. J. Chem.*, 18: 34–38.
- Özkan S.A., Erk N., Uslu B., Yılmaz N., Biryol İ., 2000. Study on Electrooxidation of Cefadroxil Monohydrate and Its Determination by Differential Pulse Voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 3299 – 3305.
- Özkan S.A., Özkan Y., Şentürk Z., 1998. Electrochemical Reduction of Metronidazole at Activated Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 3299 – 3305.
- Quintino M.S.M., Angnes L., 2006. Fast BIA-amperometric determination of isoniazid in tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42: 400- 404.
- Rusling J.F., 1984. Variations in Electron-Transfer Rate at Polished Glassy Carbon Electrodes Exposed to Air. *Anal. Chem.*, 56, 575 – 578.
- Sadikoğlu M., Taskin G., Demirtaş F.G., Selvi B., Barut M., 2012. Voltammetric Determination of Uric Acid on Poly(*p*-Aminobenzene Sulfonic Acid)-Modified Glassy Carbon Electrode. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7: 11550- 11557.
- Sarıkoç S., 2009. Kil İle Modifiye Edilmiş Elektrot Kullanarak Bazı Ağır Metallerin Voltametrik Yöntemle Tayin Edilmesi (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Shearer C.M., Christenson K., Mujherji A., Papariello C.J., 1972. Peak Voltammetry at Glassy Carbon Electrode of Acetaminophen Dosage Forms. *J. Pharm. Sci.*, 61, 1627.
- Skrzpek S., Ciesielski W., Sokołowski A., Yılmaz S., Kazmierczak D., 2005. Electrochemical study of famotidine-analytical application to urine, *Talanta*, 66, 1146-1151.

- Skoog D.A., Holler F.J., West D.M., 2000. *Enstrümental Analiz İlkeleri 7. Baskı. Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve Ark., Bilim Yayıncılık – Ankara, 489 –492.*
- Stutts K.J., Kovach P.M., Kuhr W.G., Whitman R.M., 1983. Enhanced Electrochemical Reversibility at Heat Treated Glassy Carbon Electrodes. *Anal. Chem.*, 55, 1632 – 1634.
- Szlósarczyk M., Piech R., Bator B.P., Maślanka A., Opoka W. and Krzek J., 2012. Voltammetric Determination of Isoniazid using Cyclic Renewable Mercury Film Silver Based Electrode. *Pharmaceut. Anal. Acta*, 3: 9.
- Şahin İ., 2007. Voltametik Yöntemlerle Bor Tayini Ve Uygulamaları (Doktora Tezi). Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Şentürk Z., Özkan S.A., Özkan N., 1998. Electroanalytical Study of Nifedipine Using Activated Glassy Carbon Electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 16: 801– 807.
- Taylor R.J., Humpffay A.A., 1973. Electrochemical Studies on Glassy Carbon Electrodes. *Electroanal. Chem. and Interfacial Electrochem.*, 42, 347 – 354.
- Thornton D.C., Corby K.T., Spendel V.A., Jordan J., Robbat A., Rutstorm D.J., Eros M., Ritzler G., 1985. Pretreatment and Validation Procedure for Glassy Carbon Voltammetric Indicator Electrodes. *Anal. Chem.*, 57, 150 – 155.
- Tjaden U.R., Lankelma J., Poppe H., Muusze R.G., 1976. Anodic Coulometric Detection with a Glassy Carbon Electrode in Combination with Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *J.Chromatogr.*, 125, 275 – 286.
- Tunçel T., Bergisadi M., Akın L., Otuk G., Kuşcu İ., 1996. In-Vitro and In-Vivo Studies on Micro Capsules and Tabletted Micro Capsules Cephadrine, *Pharmazie*, 51, 168-171.
- Tural H., Gökçel H.İ., Ertuş F.N., 2003. *Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, 132 –144.
- Türe M., 2009. Fenilefrin Hidroklorür'ün Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Ticari İlaç Formlarından Miktarının Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.



- Wang J., Hutchins L.D., 1985. Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical Treatment. *Anal. Chim. Acta.*, 167, 325 – 334.
- Wightman R.M., Deakin M.R., Kovach P.M., Kuhr W.G., Stutts K.J., 1984. Methods to Improve Electrochemical Reversibility at Carbon Electrodes, *J. Electrochem. Soc.*, 131, 1578 – 1583.
- Wikipedia, 2014. <http://en.wikipedia.org/wiki/Isoniazid>.
- Yan X., Bo X., Guo L., 2011. Electrochemical behaviors and determination of isoniazid at ordered mesoporous carbon modified electrode. *Sensors and Actuators B.*, 155: 837- 842.
- Yang G., Wang C., Zhang R., Wang C., Qu Q., Hu X., 2008. Poly(amidosulfonic acid) modified glassy carbon electrode for determination of isoniazid in pharmaceuticals. *Bioelectrochemistry*, 73: 37- 42.
- Yang Z., Hu G., Liu Y., Zhao J. ve Zhao G., 2006. Poly(p-aminobenzene sulfonic acid)-Modified Glassy Carbon Electrode for Selective Determination of Hydroquinone in the Presence of Catechol and Resorcinol, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 52 (1): 11-17.
- Yağmur S., 2005. Famotidin ve Natamisin'in Voltametik Teknikler ile Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi ve İlaçlarda Kantitatif Tayinleri (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Yıldız A., Genç Ö., 1993. *Enstrümental Analiz*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, 352.
- Yılmaz N., Biryol İ., 1998. Anodic Voltammetry of Cefotaxime. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 349 – 355.
- Yılmaz S., 2012. *Elektroanalitik Kimya*, Kriter Yayınları, İSTANBUL.
- You T., Niu L., Gui J.Y., Dong S., Wang E., 1998. Detection of hydrazine, methylhydrazine and isoniazid by capillary electrophoresis with a 4-pyridyl hydroquinone self-assembled microdisk platinum electrode. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 19: 231- 237.

## ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 2.1. İletken polimer elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal teknikler...	16
Çizelge 4.1. $5 \times 10^{-5}$ M isoniazid' in 0,04 M BR tamponunda pik potansiyeline ve pik akımına pH etkisi.....	30
Çizelge 4.2. $5 \times 10^{-5}$ M isoniazid' in BR tamponunda tarama hızı ile akım ve potansiyel değişimi.....	32
Çizelge 4.3. Modifiye elektrotta elde edilen pik akımı değerleri.....	34
Çizelge 4.4. İsoniazid' in pH=9,00 BR tamponunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen analitik tayin parametreleri.....	35
Çizelge 4.5. İsovite tabletlerinde belirlenen isoniazid miktarı ve isoniazid' in geri kazanımı.....	37

## ŞEKİLLER

## Sayfa No

Şekil 1.1. İsoniazid' in kimyasal yapısı.....	2
Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.....	4
Şekil 2.2. Deney hücresi.....	6
Şekil 2.3. Kullanılan deney elektrotları.....	7
Şekil 2.4. Camsı karbon çalışma elektrodu .....	8
Şekil 2.5. Voltametik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması .....	8
Şekil 2.6. Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda uygulanan teknikler .....	14
Şekil 2.7. Karşılaştırma elektrodu .....	17
Şekil 2.8. Yardımcı elektrot .....	18
Şekil 2.9. Voltometrik tekniklerin sınıflandırılması .....	18
Şekil 2.10. Polarografide akım-potansiyel grafiği .....	19
Şekil 3.1. Camsı karbon elektrot yüzeyinde $2 \times 10^{-3}$ M 4-aminobenzen sülfonik asidin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı.....	29
Şekil 4.1. $5 \times 10^{-5}$ M isoniazid' in pik akımına pH etkisi .....	30
Şekil 4.2. $5 \times 10^{-5}$ M isoniazid' in pik potansiyeline pH etkisi .....	31
Şekil 4.3. $5 \times 10^{-5}$ isoniazid' in 100-300 mV/s tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı .....	31
Şekil 4.4. $5 \times 10^{-5}$ M isoniazid' in pH=9,00 BR tamponunda pik akımı- karekök tarama hızı ( $v^{1/2}$ - $i_p$ ) grafiği .....	32
Şekil 4.5. $5 \times 10^{-5}$ M İsoniazid'in pH=9,00 BR tamponunda yükseltgenme pik akımının logaritması- tarama hızının logaritması ( $\log v$ - $\log i_p$ ) değişimi.....	33
Şekil 4.6. DPV tekniği ile isoniazid' in konsantrasyon-pik akımı değişimi .....	33
Şekil 4.7. İsoniazid'in BR (pH=9,00) tamponundaki pik akımı- konsantrasyon ( $C$ - $i_p$ ) grafiği .....	34
Şekil 4.8. $5 \times 10^{-5}$ M isoniazid' in BR tamponunda (pH=9,00) poli(4-ABSA) - modifiye elektrotta ve camsı karbon elektrotta elde edilen dönüşümlü voltamogramları .....	36
Şekil 4.9. Huang ve ark. (2008) tarafından elde edilen 4-aminobenzen sülfonik asidin elektropolimerizasyonu .....	38

Şekil 4.10. Camı karbon elektrot yüzeyinde 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerleşmesinin Jin ve ark. (2005) tarafından önerilen mekanizması.....	38
Şekil 4.11. Jin ve ark. (2005) tarafından elde edilen 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerizasyonu .....	39
Şekil 4.12. GCE yüzeyinde 4-aminobenzenşülfonik asidin elektropolimerizasyonu..	39
Şekil 4.13. Oluşturulan poli (4,4'-HDBSA)-modifiye camı karbon elektrodun yapısı.....	40
Şekil 4.14. İsoniazid' in poli(4-ABSA)-modifiye GCE yüzeyinde yükseltgenme mekanizması.....	40

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Esra DEMİRBİLEK  
Doğum Yeri : Kırklareli  
Doğum Tarih : 11.01.1988

### EĞİTİM DURUMU:

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü (2011)  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi  
Kimya Anabilim Dalı (2014)

### İŞ DENEYİMİ:

Zentiva Sağlık Ürünleri / Bakteriyojoloji Bölümü- Su Kontrol Lab. 01.10.2012- 28.03.2013

### İLETİŞİM

E-posta Adresi : esrademirbilek11@hotmail.com