

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

METRONİDAZOL' ÜN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNDEN YARARLANILARAK İLAÇ
DOZAJ FORMLARINDAN MİKTARININ
BELİRLENMESİ

Esra BALTAOĞLU

Danışman:
Doç. Dr. Selhattin YILMAZ

Şubat, 2009
ÇANAKKALE

**METRONİDAZOL' ÜN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNDEN YARARLANILARAK İLAÇ
DOZAJ FORMLARINDAN MİKTARININ
BELİRLENMESİ**

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı**

Esra BALTAOĞLU

**Danışman:
Doç. Dr. Selhattin YILMAZ**

**Şubat, 2009
ÇANAKKALE**

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

Esra BALTAOĞLU tarafından **Doç. Dr. Selehattin YILMAZ** yönetiminde hazırlanan “**Metronidazol’ ün Elektrokimyasal Özelliklerinden Yararlanılarak İlaç Dozaj Formlarından Miktarının Belirlenmesi**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Başaran DÜLGER

Yönetici

Doç. Dr. Selehattin YILMAZ

Yrd. Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Jüri Üyesi

Jüri Üyesi

Sıra No: 2

Tez Savunma Tarihi: 02/ 02 / 2009

Prof. Dr. Neşet AYDIN

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Bu konuyu yüksek lisans tezi olarak öneren çalıőmalarım sırasında çok yakın ilgi ve desteğini gördüğüm hocam, Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Selehattin YILMAZ' a teőekkürlerimi sunarım. Araőtırmalarımın yürütölmesi sırasında her türlü olanağı sağlayan Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Yakup BARAN' a ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa YILDIZ' a Őükranlarımı sunarım.

Deneylerim sırasında yardım ve desteğini gördüğüm ÇOMÜ Fen-Edebiyat Faköltesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda görevli Araő. Gör. Sultan YAĞMUR ve Araő. Gör. Gülően SAĞLIKOĞLU ile yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarım Sevcan BİNEL ve Melike TÜRE' ye teşekkür ederim.

Bugüne kadar maddi manevi her türlü desteğini gördüğüm sevgili aileme ve Ercan ÇUBUKÇU'ya teőekkürü bir borç bilirim.

Esra BALTAOĞLU

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 : Belirleme Sınırı

LOQ : Kantitatif Tayin Sınırı

HPLC : High Performance Liquid Chromotography (Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi)

r : Korelasyon Katsayısı

RSD : Bağlı 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

ACP : Alternatif Akım Voltametrisi

CV : Dönüşümlü Voltametri

SV : Sıyırma Voltametrisi

ASV : Anodik Sıyırma Voltametrisi

CSV : Katodik Sıyırma Voltametrisi

AdSV : Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

PSV : Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi

BR : Britton - Robinson

BRT : Britton - Robinson Tamponu

METRONİDAZOL' ÜN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNDEN YARARLANILARAK İLAÇ DOZAJ FORMLARINDAN MİKTARININ BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, voltametrik yöntemler ile grafit elektrot kullanılarak Metronidazol adlı ilaç etken maddenin elektrokimyasal indirgenme özelliği incelendi. Uygulanan voltametrik yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile ilaç tabletlerinden Metronidazol'ün geri kazanım çalışmaları yapıldı ve ilaç tabletindeki Metronidazol miktarı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Metronidazol, Voltametrik Yöntem, Diferansiyel Puls Voltametri (DPV), Grafit Elektrot, İlaç Tabletleri.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF METRONIDAZOL IN DRUG DOSAGE FORMS BASED ON ITS ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR

ABSTRACT

In this study, electrochemical properties of active compounds named Metronidazole was investigated by voltammetric methods using graphite electrode.

In order to check accucarcy and precision of applied voltammetric method, recovery experiment of Metronidazole was carried out from the drug tablet. Furthermore, the amount of Metronidazole was determined in drug tablets.

Keywords: Metronidazole, Voltammetric Method, Differantial Pulse Voltammetry (DPV), Graphite Electrode, Drug Tablets.

İÇERİK	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
BÖLÜM 1. - GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. - KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Voltametri.....	3
2.2. Voltametrik Teknikler.....	5
2.2.1. Polarografi.....	6
2.2.2. Puls Voltametrisi.....	7
2.2.2.1. Normal Puls Voltametrisi.....	7
2.2.2.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi.....	7
2.2.2.3. Kare Dalga Voltametrisi.....	8
2.2.3. Dönüşümlü Voltametri.....	8
2.2.4. Sıyırma Voltametrisi.....	8
2.2.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi.....	8
2.2.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi.....	9
2.2.4.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi.....	9
2.2.4.4. Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi.....	9
2.3. Voltametrik Hücre.....	9
2.3.1. Voltametrik Kap.....	9
2.3.2. Destek Elektrolit.....	9
2.3.3. Çalışma Elektrotu.....	10
2.3.3.1. Civa Kökenli Elektrotlar.....	12

2.3.3.1.1. Damlayan Civa Elektrot.....	12
2.3.3.1.2. Asılı Civa Elektrot.....	12
2.3.3.1.3. Civa Film Elektrot.....	12
2.3.3.2. Katı Elektrotlar.....	13
2.3.3.2.1. Platin Elektrotlar.....	14
2.3.3.2.2. Altın Elektrotlar.....	14
2.3.3.2.3. Bizmut, Gümüş, Tungsten, Niyobyum, Titanyum Elektrotlar.	14
2.3.3.2.4. Dönen Disk ve Halka Disk Elektrotlar.....	14
2.3.3.2.5. Karbon Elektrotlar.....	14
2.3.3.3. Modifiye Elektrotlar.....	16
2.3.3.3.1. Kompozit Elektrotlar.....	16
2.3.3.3.2. Kimyasal Modifiye Elektrotlar.....	16
2.3.4. Karşılaştırma(Referans) Elektrotu.....	16
2.3.5. Yardımcı Elektrot.....	17
2.4. Voltametrik Analizde Temel İşlemler.....	17
2.4.1. Destek Elektrolitin Seçilmesi.....	17
2.4.2. pH Ayarı.....	18
2.4.3. Sıcaklık Kontrolü.....	18
2.4.4. Oksijenin Uzaklaştırılması.....	18
2.4.5. Polarografik Maksimumların Giderilmesi.....	19
2.5. Voltametrik Tekniklerle Yapılmış Bazı İlaç Analizleri	19
2.5.1. Metronidazol' ün Aktifleştirilmiş Camsı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal İndirgenmesi ve İlaçlarda Tayini.....	19
2.5.2. Metronidazol'ün Karbon Fiber Mikrodisk Elektrotta Elektrokimyasal İndirgenmesi.....	19
BÖLÜM 3. - MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar.....	26
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	26
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	26
3.2. Yöntem.....	26

BÖLÜM 4. – DENEYSEL BÖLÜM.....	28
4.1. Metronidazol’ ün Çözünürlüğünün Belirlenmesi.....	28
4.2. pH Taraması ve Çalışma Ortamının Belirlenmesi.....	28
4.2.1. Britton-Robinson (BR) Tamponunun Hazırlanması ve pH	
Ayarlamaları.....	28
4.2.2. Asetat Tamponunun Hazırlanması ve pH Ayarlamaları.....	29
4.2.3. Fosfat Tamponunun Hazırlanması ve pH Ayarlamaları.....	29
4.3. Metronidazol’ ün Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	30
4.3.1. Çalışma Ortamının Belirlenmesi.....	30
4.3.2. Akım Türünün Belirlenmesi.....	30
4.3.3. Analitik Konsantrasyon Aralığının Belirlenmesi.....	31
4.3.4. Belirme Sınırı (LOD) ve Kantitatif Tayin Sınırının (LOQ)	
Hesaplanması.....	32
4.3.5. Nidazol Tabletlerinden Metronidazol’ün Geri Kazanımı.....	32
BÖLÜM 5. - TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
KAYNAKLAR.....	42
TABLolar.....	I
ŞEKİLLER.....	II
YAŞAM ÖYKÜSÜ.....	III

BÖLÜM 1

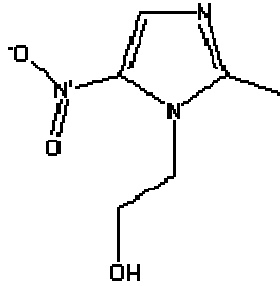
GİRİŞ

Metronidazol bir nitroimidazol türevidir. Nitroimidazoller (metronidazol, ornidazol, tinidazol) özellikle anaeroblar, protozonlar ve bazı helmintlere etkili antibiyotiklerdir.

Nitroimidazoller anaerobik enfeksiyonlar ve protozoa enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Anaerobik enfeksiyonlarda sıklıkla gram negatif aerobik bakterilerde birlikte gelişen mikst enfeksiyonlardır, bu nedenle tedavide metronidazol veya ornidazol betalaktamlarla birlikte kombine olarak kullanılır. Anaerobik bakteriyemi, abse, yumuşak doku enfeksiyonları, oral ve dental enfeksiyonlarda metronidazol kullanılabilir. Metronidazol *Clostridium Difficile*' nin neden olduğu psödomembranöz enterokolitte ilk seçenek antibiyotiktir.

Antibiyotik, herhangi bir mikroorganizma tarafından, başka bir mikroorganizmayı öldürmek veya çoğalmasını durdurmak için üretilen her türlü maddedir. Antibiyotik üretimi, onu üreten mikroorganizma için selektif bir avantaj sağlar. Örnek olarak, Penicillium tarafından üretilen antibiyotikler, doğada rekabet halinde olduğu diğer mikroorganizmaların büyümesini önleyerek Penicillium'a doğal ayıklanma sürecinde bir avantaj sağlar.

Metronidazol ve ornidazol tek başına veya betalaktam antibiyotiklerle kombine edilerek elektif kolon cerrahisi jinekolojik operasyonlar ve acil apendektomi profilaksisinde de kullanılabilir (Leblebicioğlu, 2001).



Şekil 1. Metronidazol' ün kimyasal yapısı (www.chemfinder.com).

Literatür araştırmalarımıza göre, Metronidazol'un çeşitli katı elektrotlarda elektrokimyasal indirgeme özelliğinden yararlanılarak ilaçlarda analizi yapılmasına rağmen grafit elektrot kullanılarak yapılan analiz çalışmalarına rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada bu etken maddenin grafit elektrotta indirgenme özelliğinden yararlanılarak, ilaçlardaki analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışma bu açıdan da oldukça önemlidir.

BÖLÜM 2

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Voltametri

Akım gerilim ve derişim ilişkilerinin çalışma elektrotu denilen küçük alanlı (genellikle yüzey alanı birkaç milimetre kareden daha küçük) polarize bir elektrotla incelendiği elektroanalitik yöntemlere voltametri denir. Farmasotik analizlerde çok kullanılan voltametri, yükseltgenebilen, indirgenebilen (elektroaktif) maddelerin uygun koşullardaki akım potansiyel eğrilerini inceleyen bir tekniktir.

Voltametrinde, çalışma elektrotunun potansiyeli bir potansiyometre yardımıyla referans elektrotu karşı değiştirilir ve hücreden (üç elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot arasından, iki elektrotlu sistemlerde çalışma elektrotu ile referans elektrot arasından) geçen akım galvanometreyle ölçülür. Ölçülen akımın uygulanan potansiyele karşı grafiği çizilir. Bu akım potansiyel eğrilerine voltamogram adı verilir (Bond, 1980).

Voltametrinin temelleri, Çek kimyager Jaroslav Heyrovsky tarafından 1922 yılında polarografi denen bir teknikle atılmış ve ilerleyen yıllarda bu teknik geliştirilip yaygınlaştırılmıştır. Polarografide çalışma elektrotu olarak damlayan civa elektrot kullanılmaktadır.

Voltametri, inorganik, fiziko ve biyokimyacılarca çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi, yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerinde cereyan eden elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması gibi analitik olmayan amaçlar için de oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Günümüzde voltametrinin tercih edilmesinin nedenleri arasında az miktarda numuneyle çalışılabilmesi (ekonomikliği), analiz süresinin kısa olması, numune ile hiçbir ön işleme tabi tutulmaksızın düşük konsantrasyonlarda çalışılabilmesi sayılabilir. Bu nedenle özellikle farmasotik preparatlarda, idrar ve serum gibi sıvılarda ilaç etken maddelerini belirlemede çok sık kullanılır.

Modern voltametri yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin yanı sıra, adsorpsiyon işlemleri ile de ilgilenen çeşitli kimyacılar için son derece kullanışlı bir metot olarak kullanılmaya devam etmektedir (Skoog, 1996; 2000).

Voltamogramlar

Voltametrde, hücreye uygulanan potansiyel muntazam olarak arttırılarak bir potansiyel-akım eğrisi elde edilir. Bu eğriye voltamogram denir. İlk voltamogram 1922 yılında Heyrowsky tarafından elde edilmiştir. Heyrowsky çalışmasında indikatör elektrot olarak damlayan cıva kullanmış ve bu şekilde elde ettiği grafiğe polarogram demiştir.

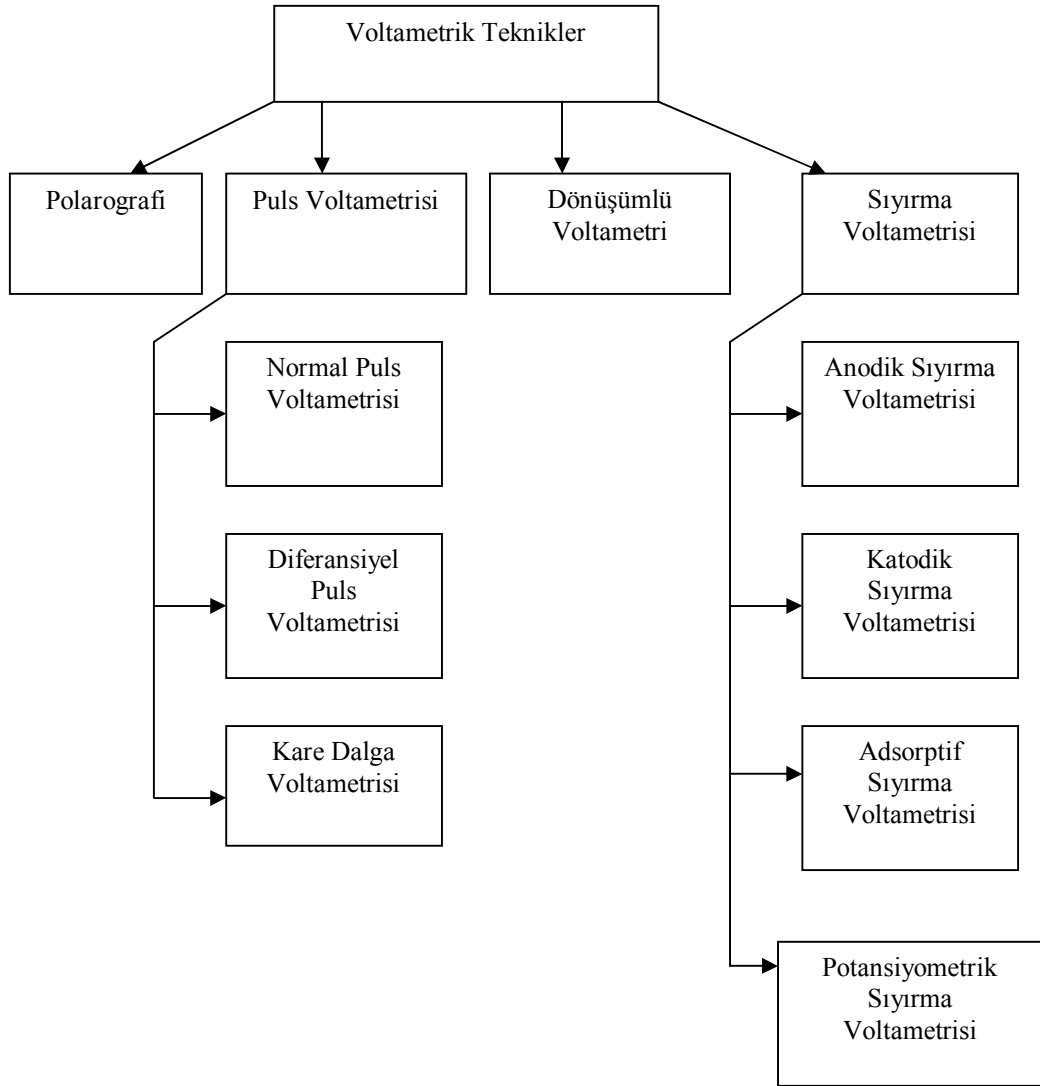
Voltamogramlar şeklen volümetrik titrasyon eğrilerine benzerler. Voltamogramlarda, katodik akım pozitif, anodik akım ise negatif kabul edilir. Bir voltamogramda mikroeletrot lineer tarama jenaratörünün negatif ucuna bağlanır. Bundan dolayı da uygulanan potansiyeller negatiftir.

Lineer tarama voltamogramları genel olarak bir sigmoittir. Bu sigmoite voltametrik dalga adı denir. Voltametrik dalgada, dik yükselişten sonra gelen akıma sınır akımı adı verilir ve i_d ile gösterilir. Sınır akımının (sabit) meydana gelmesinin nedeni analizi yapılan madde (analitin) taneciklerinin elektrot yüzeyine geldiği anda (difüzlenen) olduğu gibi indirgenmesidir. Bu akım genel olarak maddenin konsantrasyonu ile orantılıdır.

Sınır akımının yarısına karşılık olan potansiyele yarı dalga potansiyeli denir ve $E^{1/2}$ sembolü ile gösterilir. Analizi yapılanın yarı dalga potansiyeli genel olarak standart elektrot potansiyeline (E°) yakındır, ama ona eşit değildir. Yarı dalga potansiyeli bir madde için fiziksel bir sabittir ve maddenin tanınmasına yardımcı olur (Gündüz, 2005).

2.2. Voltametrik Teknikler

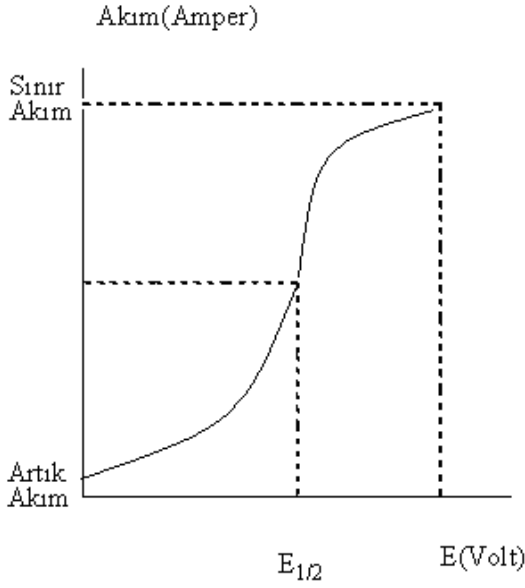
Voltametrik tekniklerin şematik sınıflandırılması Şekil 2.2.' de verilmiştir.



Şekil 2.2. Voltametrik tekniklerin sınıflandırılması.

2.2.1. Polarografi

Çalışma elektrotu olarak damlayan civa elektrotun kullanıldığı voltametrik teknik polarografi olarak adlandırılır. Damlayan civa elektrotun potansiyelinin referans elektrota karşı değiştirilip hücredeki akımın ölçülmesi polarografinin çalışma prensibini oluşturur. Akım elektroaktif maddenin damlayan civa elektrot üzerinde indirgenmesi (katodik akım, +) ya da yükseltgenmesi (anodik akım, -) sonucu meydana gelir. Oluşan akıma karşılık potansiyel grafiği (polarogram) çizilir.



Şekil 2.2.1. Polarografide akım- potansiyel grafiği.

Polarogramın ilk kısmında artık akım ikinci kısmında sınır (limit) akım yer alır (Şekil 2.2.1.). Artık akım, kapasitif (sığasal) akım ve faradaik akım bileşenlerinin toplamıdır. Duyarlık artık akıma bağlı olduğundan akım giderildiği oranda duyarlık artar. Sınır akım(i_l), elektrot yüzeyindeki elektroaktif maddenin derişiminin sıfıra gittiği andaki akım olup sınır akımın büyüklüğü elektroaktif maddenin derişimine ve kütlenin elektrot yüzeyine taşınma hızına bağlıdır. Sınır akımın yarısına ($i_l/2$) karşılık gelen potansiyel yarı dalga potansiyeli olarak adlandırılır ve $E^{1/2}$ ile gösterilir. Yarı dalga potansiyeli, elektroaktif maddenin türüne ve ortama (örneğin pH) bağlı sabit bir değer olduğundan her madde için karakteristiktir. Polarografide kalitatif analiz bu şekilde yapılır.

2.2.2. Puls Voltametrisi

2.2.2.1. Normal Puls Voltametrisi (NPV)

Voltametrinin duyarlılığı artık akıma bağlı olduğundan duyarlılığı arttırmak için artık akımın giderilmesi gerekir. Gerilimlerin puls şeklinde uygulanması artık akımın giderilmesine dolayısıyla duyarlılığın artmasına neden olur.

Çalışma elektrotuna puls şeklinde gerilim uygulandığında artık akımın kapasitif bileşeni neredeyse sıfır gibidir. Böylece pulsun sonundaki artık akım, faradaik akımdan kaynaklanmakta ve duyarlık $10^{-6} - 10^{-7}$ M düzeyine çıkmaktadır.

2.2.2.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

Normal puls voltametrisinde puls sonundaki artık akım az da olsa kapasitif akım içerir. Kapasitif akımın artık akım içindeki payını azaltmak, duyarlılığı arttırmak amacıyla pulsun başlangıcında ve sonunda ölçülen akımların farkları alınmış ve diferansiyel puls voltametrisi adında yeni bir teknik elde edilmiştir. Bu teknik normal puls voltametrisinden daha duyar olup duyarlılığı $10^{-7} - 10^{-8}$ M düzeyindedir.

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

Bu teknik normal puls tekniğinden daha duyarlı olup, duyarlılığı $10^{-7} - 10^{-8}$ M düzeyindedir. Ayrıca seçimliliği de yüksektir. Doğru akım ve normal puls polarografilerinde yan yana analizler için, genelde yarı dalga potansiyelleri arasındaki farkın 120–240 mV olması gerekirken, diferansiyel puls polarografisinde bu farkın, alternatif akım polarografisinde olduğu gibi, 30–60 mV kadar olması yeterlidir (Tural ve diğ., 2003).

Not: Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) katı elektrotların kullanıldığı tekniktir.

2.2.2.3. Kare Dalga Voltametrisi (SWV)

Damlayan civa elektrot kullanıldığında civanın bir damlasının düşme süresinde tarama yapma olanağı sağladığından hızlı bir yöntem olarak nitelendirilir. Ayrıca $10^{-7} - 10^{-8}$ M gibi yüksek duyarlılığa sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı HPLC'de (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) dedektör olarak kullanılmaktadır.

2.2.3. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametrinin çalışma prensibi çalışma elektrotuna belli bir tarama hızında belli bir yön ve tersi yönde potansiyel uygulanması ilkesine dayanır. Potansiyel tarama işlemi döngüsel olduğundan teknik dönüşümlü voltametri adını almıştır. Tarama, analize bağlı olarak tek bir döngü ile yapılabildiği gibi arka arkaya birden çok döngüyle de yapılabilir.

Elektrot olaylarının aydınlatılmasında ve indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarının mekanizmalarının aydınlatılmasında dönüşümlü voltametriden yararlanır. Bu yöntemin duyarlılığı $10^{-3} - 10^{-4}$ M'dir.

2.2.4. Sıyırma Voltametrisi (SV)

Çok yüksek duyarlılığa sahip iki aşamalı bir yöntemdir. İlk aşamada analit uygun bir potansiyel altında elektrot yüzeyinde önderiştirilir. İkinci aşamada potansiyel anodik veya katodik yönde taranarak madde yüzeyde biriktirilir. Önderiştirmenin niteliği ve potansiyelin tarama yönüne göre farklı isimler alır.

2.2.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi (ASV)

Metal iyonları negatif potansiyel altında önderiştirilir ve sonra potansiyel anodik (+) yönde taranarak yüzeyde toplanan metallerin yükseltgenmesine ait akım değişimi incelenir. Biriktirme katotta, sıyırma anotta olur. Analizin duyarlılığı hem biriktirme hem de sıyırma aşamalarına bağlıdır. Potansiyel taramada en çok diferansiyel puls yöntemi kullanılır.

2.2.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi (CSV)

Potansiyel tarama yönü katodik (-) olduğundan katodik sıyırma adını alır. Organik moleküllerin ve anyonik türlerin analizinde bu yöntem kullanılır. Biriktirme anotta, sıyırma katotta olur.

2.2.4.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (AdSV)

Ortama bir ligand eklenir. Analiz edilecek metal iyonuyla ligandın kompleks oluşturarak elektrot yüzeyinde adsorplandığı bu yöntem adsorptif sıyırma yöntemi adını alır.

2.2.4.4. Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi (PSV)

Bu yöntem özellikle önderiştirme aşaması anodik sıyırma voltametrisine benzer. Sıyırma aşamasında farklı olarak elektrot yüzeyinde önderiştirilen metallerin çözündürülmesi kimyasal yolla sağlanır.

2.3. Voltametrik Hücre

Voltametrik ölçümler voltametrik hücrede yapılır. Voltametrik hücre; voltametrik kap, çalışma elektrotu, karşılaştırma (referans) elektrotu, yardımcı elektrot ve destek elektrolitten oluşur.

2.3.1. Voltametrik Kap

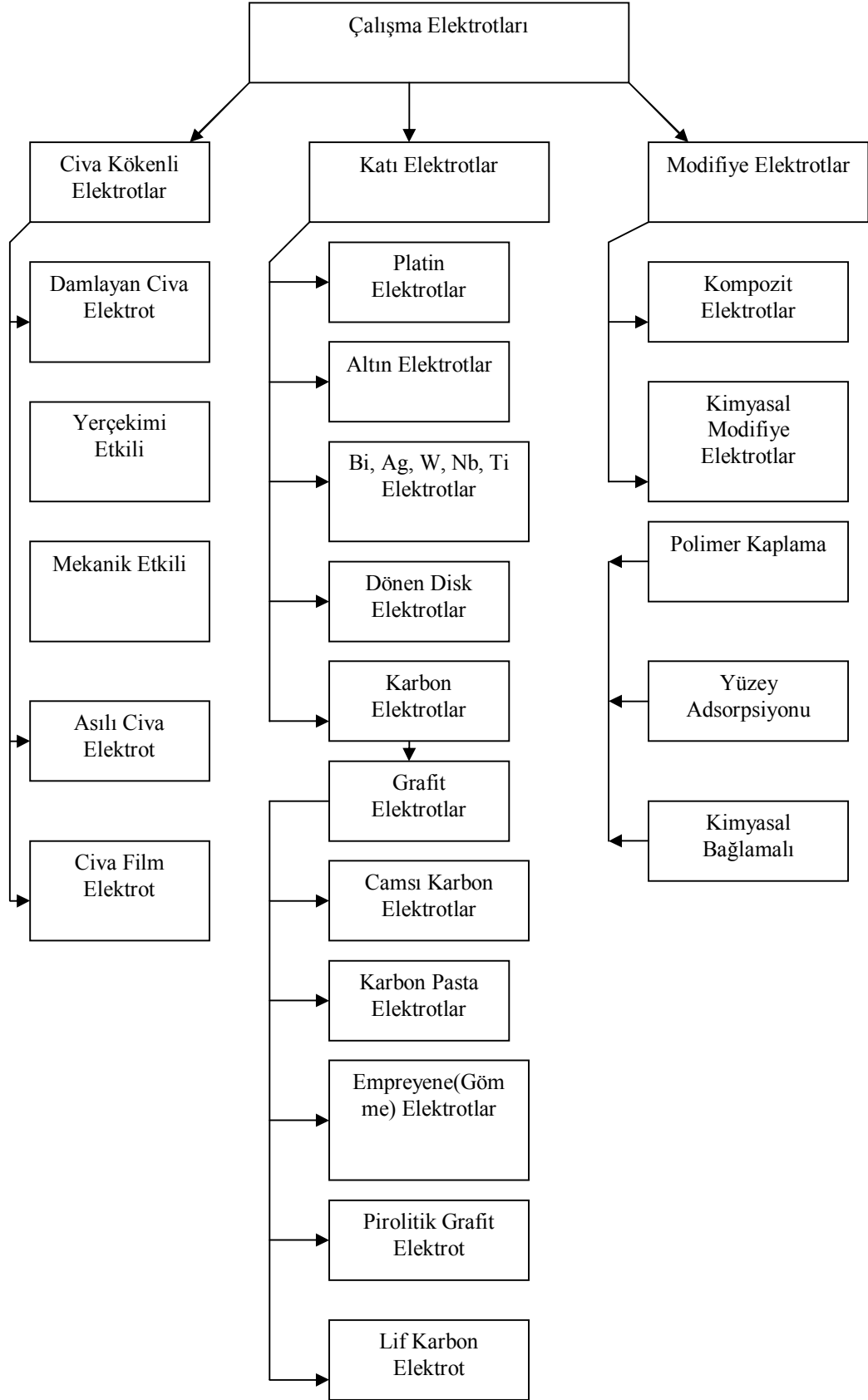
Voltametrik kap, analiz edilecek örneğe ve seçilen voltametrik tekniğe bağlı olarak çeşitli maddelerden (cam, teflon, polietilen) yapılabilir. Önemli olan örnekle en az reaksiyona giren maddenin seçilmesidir. Kabın yapıldığı maddenin kirlenme ve adsorpsiyon yanlıgılarının en az olacak şekilde seçilmesi gerekir (Henden, 2001).

2.3.2. Destek Elektrolit

Voltametrde elde edilen akımın difüzyon kontrollü olabilmesi için ortama destek elektrolit eklenir. Destek elektrolit iyonik göçü engelleyeceğinden akım sadece difüzyonla gelen madde miktarına bağlı olur. Destek elektrolit olarak KCl, KNO₃ gibi maddeler kullanılabilir.

2.3.3. Çalışma Elektrotu

Voltametrde kullanılan elektrotların hem kimyasal hem de elektrokimyasal özellikleri önemlidir. Durağan ya da döndürölerek kullanılan elektrotların her birinin potansiyel çalışma aralığı farklı olup bu aralık elektrot türüne, çözücüye, elektrolit türüne ve pH'a bağlıdır. Katodik sınırı hidrojenin oluşumu ya da destek elektrolitin indirgenmesi, anodik sınırı elektrot materyalinin ya da çözücünün yükseltgenmesi belirler. Çalışma elektrotlarının şematik sınıflandırılması Şekil 2.3.3.' de verilmiştir.



Şekil 2.3.3. Voltametri de kullanılan çalışma elektrotları (Aşkın, 2008).

2.3.3.1. Civa Kökenli Elektrotlar

Üzerinde hidrojenin çıkış potansiyelinin aşırı büyük olmasından dolayı oldukça geniş katodik çalışma potansiyel aralığına sahiptir. Ayrıca metallerle amalgam oluşturma özelliğinden dolayı metal iyonlarının metalik halde ön deriştirilmelerini sağlarlar. Bu nedenle civa kökenli elektrotlar voltametrde çok kullanılırlar.

Voltametrde kullanılacak civa çok saf olmalıdır.(Safsızlıklar ppm düzeyinden de düşük olmalı.) Yeterli saflıkta olmayan civa %10'luk nitrik asitle iyice çalkalanmalı, saf suyla yıkanıp kurutulmalı ve daha sonra düşük basınç altında damıtılmalıdır (Bu işlem civa buharlarının zehirli olması nedeniyle çeker ocak içinde yapılmalıdır).

2.3.3.1.1. Damlayan Civa Elektrot (DCE)

İç çapı 0,03–0,08 mm olan ince cam kılcal borunun civa deposuna bağlanmasıyla oluşturulur. Kılcal borudan civa damlatılması yerçekimi etkisiyle veya mekanik yolla sağlanabilir. Her damlada yenilenen elektrot yüzeyine sahiptir. Özellikle ametallerin tayininde civanın çeşitli metallerle (bakır, kadmiyum, platin) amalgam yapmasından dolayı büyük kolaylık sağlanır. Küçük anodik çalışma aralığına sahip olması damlayan civa elektrot için bir dezavantaj sayılabilir.

2.3.3.1.2. Asılı Civa Elektrot

Damla bir vida düzeneğiyle kılcal borunun ucunda oluşturulur. İstenen büyüklükteki civa damlası vidanın döndürülmesiyle elde edilir. Civa damlasının büyüklüğü, kılcal boru ucundaki damlanın düşüp tartılmasıyla saptanır.

2.3.3.1.3. Civa Film Elektrot

İnert bir destek (platin, altın, gümüş, grafit, camsı karbon) üzerine 1–100µm düzeyine ince bir civa film kaplanarak oluşturulur. Bu destekler bir tel ya da disk şeklinde durağan ya da dönen elektrot olarak kullanılabilirler.

2.3.3.2. Katı Elektrotlar

Damlayan cıva elektrotun yukarıda belirtilen sorunlarını ortadan kaldırmak için 1940'lı yılların sonunda Skobets ve arkadaşları tarafından başlatılan ve günümüze kadar süren katı metal elektrot çalışmaları voltametriye geniş bir uygulama alanı sağlamıştır (Adams ve diğ., 1958 ; Skoog ve diğ., 1996).

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

Voltametrizde değişik tipte katı elektrotlar kullanılmaktadır. Örneğin soy metal elektrotlar, çeşitli karbon elektrotlar, modifiye elektrotlar gibi.

Katı elektrotların kullanıldığı voltametri, özellikle indirgenme olaylarına oranla az incelenmiş olan yükseltgenme tepkimelerindeki rolü ile biyoloji alanında ve dolayısıyla fizyolojik önem taşıyan pek çok bileşiğin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında da başarıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla geliştirilen ultramikroelektrotlar canlı organizmada *in-vivo* çalışmaların yapılmasına olanak sağlamaktadır (Lane ve diğ., 1976).

Bu yöntemdeki en önemli gelişmelerden biri de biyosensör denilen ve enzim, doku, bakteri elektrotları kapsayan modifiye elektrotlarla, biyolojik ortam tepkimelerinin reaktant ve ürünleri ölçülerek biyolojik önemi olan bileşiklerin tayinlerinin yapılabilmesidir. Bunlara örnek olarak; glikoz elektrotu, üre elektrotu v.b. verilebilir.

2.3.3.2.1. Platin Elektrotlar

En çok kullanılan katı elektrottur. Oksit oluşumundan dolayı kirlenebilir yüzeye sahiptir. Bu nedenle düşük tekrarlanabilirlik gösterir.

2.3.3.2.2. Altın Elektrotlar

Oksit oluşumundan az etkilendiği gibi adsorbsiyonu da platin elektrota göre daha azdır.

2.3.3.2.3. Bizmut, Gümüş, Tungsten, Niyobyum, Titanyum Elektrotlar

Toksitelerinden dolayı civa kökenli elektrotlara alternatif olarak gösterilebilirler. Hidrojenin bizmut üzerinden çıkış potansiyelinin aşırı yüksek olması bizmutun katodik bölgede kullanılma olasılığını arttırmıştır.

2.3.3.2.4. Dönen Disk ve Halka Disk Elektrotlar

Dönen disk ve halka disk elektrotlar genelde platin ve camsı karbondan yapılırlar. Diğer katı elektrotlar da doğrudan veya civa ile kaplanarak kullanılabilirler. Dönen elektrotlarla elektrota madde taşınması difüzyonla sağlandığından durgun elektrotlardan daha büyük akım yoğunluğu sağlarlar. Bu nedenle bu tür elektrotlarla yapılan ölçümlerde duyarlık daha yüksektir.

2.3.3.2.5. Karbon Elektrotlar

Anodik ve katodik potansiyel aralığı geniş, düşük elektriksel direnç ve düşük artık akıma sahip olmasından dolayı çok kullanılan bir elektrot çeşididir. Sürekli adsorblanan bir yüzeye sahiptir (kirlenip temizlenebilen yüzey özelliği).

Karbon elektrotlarla yapılan voltametri hem yükseltgenme, hem de indirgenme bölgesinde geniş bir çalışma aralığına imkân tanımaktadır ($\sim -1,8 \text{ V} - +1,8 \text{ V}$ (sulu ortamda)) (Tunçel ve diğ., 1984).

Katı elektrotlar grubunda yer alan karbon elektrodun birkaç değişik şekli bulunmaktadır: Elmas, grafit, camsı karbon, karbon pasta vb. (Panzer ve diğ., 1972).

Grafit Elektrot: Elektrokimyasal çalışmalarda geniş bir kullanım alanına sahiptir. Grafit doğal olarak oluşur. Ancak kül içeriği (% 5 - % 20), elektrokimyasal uygulanabilirliğini sınırlar. Bu nedenle elektrokimyasal çalışmalarda bu grafiti saflaştırıp kullanmak yerine yapay grafitin kullanımı yeğlenir. Kimyasal olarak temizlenmiş grafit genellikle 1896'da Achenson tarafından geliştirilen bir yöntemle hazırlanır. Grafit, yumuşak ve gözenekli bir materyal olduğu için yüksek adsorbsiyon kapasitesi vardır.

Camsı Karbon Elektrot: Bu tür elektrotlar özel bir yöntemle gözenek büyüklüğü azaltılarak elde edilir. Bazı polimerlerin yaklaşık 1800 °C' de ısıl bozundurulmalarıyla oluşturulur. Bu malzeme sert olduğu için her deneme öncesinde parlatılabilirler. Camsı karbon elektrotun çalışma potansiyeli sınırları +1,00V ve -0,75V'dur.

Karbon Pasta Elektrot: Toz grafitin nujol gibi organik sıvı ile karıştırılması yoluyla hazırlanır. Pasta hazırlandıktan sonra bir tüp içine sıkıştırılarak doldurulur. Elektriksel bağlantı için platin veya bakır bir tel kullanılır. Karbon pasta elektrotlar oldukça geniş bir potansiyel aralığına sahiptirler. Eğer karbon pasta üzerinde absorplanmış oksijen kalmışsa, bunun indirgenmesi nedeniyle önemli miktarda bir artık akım oluşur ve bu artık akım elektrolizle giderilmelidir.

Empreyene (Gömme) Karbon Elektrotlar: Bu elektrotlar, grafitin parafin ve uygun reçinelerle karıştırılması ve eritilip homojenleştirildikten sonra metalik iletken içeren bir tüpe doldurulmasıyla hazırlanırlar.

Pirolitik Grafit Elektrotlar: Pirolitik karbon, karbonun bir başka yapay şeklidir. 1200°C'den yüksek sıcaklıklarda metan gibi hidrokarbon içeren maddelerin ısıl bozundurulması ile elde edilir. Bu elektrotun asitli ortamda doygun kalomel elektrotuna karşı çalışma potansiyeli +1,00V ile -0,80V arasındadır.

Lif Karbon Elektrotlar: Yakın zamanda kullanılmaya başlanan elektrotlardır. Çapları 5–10 µm, uzunlukları 500–1000 µm düzeyinde olan lif şeklindeki karbon telcikler daha çok kare dalga voltametrisinde kullanılırlar.

2.3.3.3. Modifiye Elektrotlar

Voltametrde kullanılan elektrotların sınırlı olması nedeniyle elektrotların kimyasal ya da elektrokimyasal nitelikleri değiştirilerek çalışma koşulları geliştirilmiştir. Genel olarak elektrot yüzeyinde n deriştirme sağlayan kimyasal maddelerle işlem ya da elektrot yüzeyinin elektron aktarma niteliğini değiştiren işlem yapılarak hazırlanır.

2.3.3.3.1. Kompozit Elektrotlar

Modifiye edici kimyasal doğrudan iletken elektrot malzemesine katılıp, karıştırılarak elektrot hazırlanabilir. Bu tür elektrotlara kompozit elektrotlar adı verilir.

2.3.3.3.2. Kimyasal Modifiye Elektrotlar

Modifiye edici kimyasal elektrot yüzeyine kimyasal bağla veya kimyasal adsorpsiyonla bağlanarak hazırlanabilir. Ayrıca modifiye edici uygun bir monomer elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyona uğratılarak ya da elektrot yüzeyinde doğrudan polimer film oluşturularak bu tür elektrotlar hazırlanabilir.

2.3.4. Karşılaştırma(Referans) Elektrotu

Polarize olmayan metal –metal iyonu elektrotları kullanılır. Referans elektrotunun potansiyeli sabit kalırken çalışma elektrotunun potansiyeli değişir. Çünkü referans elektrotu polarize olmayan, çalışma elektrotu ise polarize elektrottur. En çok kullanılanları kalomel ve Ag/AgCl referans elektrotlarıdır. Bu elektrotlardan anodik akım geçirildiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşır klorürle okelek verdiklerinden elektrot yüzeyindeki derişimleri değişmez ve böylece potansiyelleri akımdan bağımsız olur. Bu elektrotlardan katodik akım geçirildiğinde ise çözünürlükten gelen metal iyonları indirgenir, elektrot yüzeyinde okelek ayrışarak tekrar aynı denge düzeyinde metal iyonu oluşturur, böylece potansiyeli değişmeden

kalır. Sudan başka çözücülerle çalışıldığında başka uygun karşılaştırma elektrotları kullanılır.

2.3.5. Yardımcı Elektrot

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiğinden yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca eğer çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli potansiyel önemli düzeye çıkacağından çalışma elektrotunun polarizasyon potansiyeli yanlış algılanabilir. Bu karışıklığın önlenmesi için üçüncü bir elektrotun yani yardımcı bir elektrotun kullanılması gerekir. Çalışma elektrotu ve yardımcı elektrottan akım geçirilip çalışma elektrotunun potansiyeli karşılaştırma elektrotuna karşı sıfır akım altında saptanır. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların platin, grafit, tantal ve tungsten gibi soy metal olmaları gerekmektedir. Ayrıca çok küçük hacimlerle çalışıldığında yardımcı elektrottaki ürünlerin çalışma elektrotunda girişim yapmayacağı elektrotlar ve çalışma elektrotunun alanının en az 50 katı olan elektrotlar seçilmelidir.

2.4. Voltametik Analizde Temel İşlemler

Voltametik analizde temel işlemler, destek elektrolit seçimi, pH ayarı, sıcaklık kontrolü ve oksijenin uzaklaştırılmasıdır.

2.4.1. Destek Elektrolitin Seçilmesi

Voltametricde akımın difüzyon kontrollü olabilmesi için ortama destek elektrolit eklenir. Böylece polarizasyonu engellediğinden dolayı istenmeyen iyonik göç önlenmiş olur. Bu amaçla ortama destek elektrolit olarak KCl, KNO₃ gibi maddeler eklenebilir. Destek elektrolit yeterince saf olmalı, eğer safsızlık varsa bunların derişimi analit derişiminin %1'ini geçmemelidir. Ayrıca destek elektroliti çalışma elektrotunun çalışma potansiyel aralığını daraltmayacak şekilde olmalıdır. Eğer örnekte birden fazla analit varsa ve bunların bazılarının voltametik dalgaları çakışıyorsa destek elektrolit çakışmayı giderecek bileşimde olmalıdır.

2.4.2. pH Ayarı

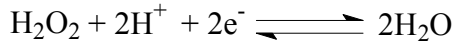
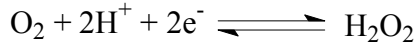
Organik moleküllerin elektrot tepkimelerinin çoğunda proton yer alır. Bu nedenle akım-potansiyel ilişkileri pH'a bağımlı olur. Voltametrik çalışmalarda bu bağımlılığın oluşturacağı yanlıgilardan kurtulmak için çözeltilerin tamponlanması gerekir. Seçilen tampon çalışma penceresini daraltmayacak nitelikte olmalıdır. Çalışma potansiyel aralığı katodik yönde genişletilmek istendiğinde bazik tamponlar kullanılmalıdır.

2.4.3. Sıcaklık Kontrolü

Sıcaklıktaki 1°C' lik değişim, elektroaktif maddelerin çoğunun difüzyon katsayısını %1–2 oranında değiştirir. Tüm voltametrik sınır akım eşitliklerinde de difüzyon katsayısı yer aldığından sıcaklık akım şiddetini değiştirir. Bu nedenle çalışmalar mümkün oldukça termostatik koşullarda yapılmalı ve sıcaklık $\pm 0,5$ °C aralığında sabit tutulmalıdır.

2.4.4. Oksijenin Uzaklaştırılması

Çalışma çözeltilerinde çözünmüş olan oksijen gazı çalışma elektrotlarında iki adımda indirgenir. Bu adımlar,



tepkimeleriyle gösterilebilir. Oksijen indirgenmesi ek bir faradaik artık akım yaratabilir. Oksijenin indirgenmesine ilişkin dalgalar geniş bir potansiyel aralığını kapsadığından analit dalgalarıyla girişim yapabilir ve bazı analitler oksijenle tepkime verebilirler.

Bu sakıncalar nedeniyle çalışmaya başlamadan önce, çözünmüş oksijenin çözeltilerden N₂, He, CO₂ gibi elektroinert bir gaz geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. İnert gaz geçirme süresi; 2–30 dakika kadardır. Pratikte, oksijene ait bu dalgalar tamamen kaybolana dek gaz geçirme işlemi sürdürülür. Ayrıca çalışma süresince sisteme atmosferik oksijenin difüzlenmesini önlemek amacıyla, çözelti inert gaz

atmosferinde tutulur. Bazik çözeltilerle çalışıldığında, oksijen sodyum sülfid ile de giderilebilir (Tural ve diğ., 2003; Yağmur, 2005).

2.4.5. Polarografik Maksimumların Giderilmesi

Damlayan civa elektrotla çalışıldığında polarografik dalgaların sınır akım bölgelerinde ani ve derişimle çizgisel değışmeyen akım değışimlerinden ibaret olan ve polarografik maksimum denilen tepecikler oluşur. Ya hemen sınır akımla birlikte ya da eğrinin düzlük kesiminde kambur biçiminde oluşurlar. Maksimumların yükseklikleri derişimle doğru orantılı olmadığı gibi bu oluşumlar difüzyon akımının sağlıklı ölçülmesini de engeller. Ortama jelâtin, tritonX-100, metil kırmızısı gibi yüzey etkin maddeler katılarak giderilmeleri sağlanır (Yağmur, 2005).

2.5. Voltametrik Tekniklerle Yapılmış Bazı İlaç Analizleri

2.5.1. Metronidazol' ün Aktifleştirilmiş Camsı Karbon Elektrotta Elektrokimyasal İndirgenmesi ve İlaçlarda Tayini

Özkan ve diğ. (1997), metronidazolun ilaçlarda tayini için bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntem yeni bir ön işleme, aktifleştirilmiş camsı karbon elektrotta ilacın elektrokimyasal indirgenmesine dayanmaktadır. Bu çalışmada elektrokimyasal indirgenmeye pH, konsantrasyon, tarama hızı, organik çözücü ve yüzey etken maddenin etkisini incelemişlerdir. Akımın konsantrasyonla orantılı olduğunu ve ilacın BR tamponunda (pH:10), 2×10^{-6} - 6×10^{-4} konsantrasyon aralığında tayin edilebileceğini bulmuşlardır. Ayrıca sonuçları HPLC metodu içeren USP XXIII prosedürü ile karşılaştırarak önerdikleri metodun doğruluğunu kontrol etmişlerdir.

Birçok heterosiklik bileşik, nitro grubunun biyolojik indirgenme olayından dolayı antibakteriyel ve antiprotozoan aktiviteye sahiptir. Bu bileşikler zaten, hem bir radyo-hassaslaştırıcı hem de bir sitotoksik ajan olarak kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Bu önemli ilaç sınıfının en önemli temsilcisi 5-nitroimidazol derivesi (türevi) olan Metronidazoldür. Bu madde trichomoniasis, giardiasis, amoebiasis ve balantidiasis bakterilerini içeren protozoal hastalıkların bir çeşidi için etkin bir ajandır.

Metronidazol daha önce spektrometri, titrimetri, ince tabaka kolon kromatografisi, gaz kromatografisi (GC) ve yüksek performanslı likit kromatografisi (HPLC) ile belirlenmiştir. Bu etken maddenin elektrokimyasal indirgenmesinde çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır. Bir damlayan cıva elektrot kullanıldığında, metronidazol ve onun ilgili bileşikleri yüksek bir katodik pik verir. Bu piklerden birincisi hidroksil aminin 4 elektron ile indirgenmesine aitken, ikinci pik ise aminin 2 elektron ile indirgenmesine aittir. Ve bu reaksiyonlar pH ve destek elektrolite bağlıdır.

Metronidazol' ün katı elektrotlardaki ilk elektrokimyasal çalışması ilk olarak Bishop ve Hussein tarafından yayınlanmıştır. Bu bilim adamları, metronidazoldeki amin grubunun alkali ortamdaki dönen platin ve altın elektrot kullanılarak iki adımda indirgenmesine ait bir rapor kaydetmişlerdir.

Voltametrik ölçümler bir EPL-2 kaydedici (Tacussel) ile birleştirilmiş bir PRG-3 polarografi cihazı (Tacussel) ile yapılmıştır. Bütün potansiyeller doymuş kalomel elektrot (SCE) ve platin tel yardımcı elektrot ile kaydedilmiştir. Çalışma elektrodu olarak ise camsı karbon elektrodu (Tacussel XM 540; alan:1,013 cm²) kullanılmıştır.

Elektroda yapılacak ön işlem için bir Venking modeli HP 70 potansiyel düzenleyici ve aynı tip 250 fonksiyonlu bir jeneratör kullanılmıştır.

HPLC deneyleri UV dedektörü (Model 481) ile birleştirilmiş Waters Likit Kromatografi (Model 510) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Metronidazol etken maddesi Eczacıbaşı İlaç Fabrikasından temin edilmiştir. Diğer bütün reaktifler Sigma ya da Merck firmalarınca üretilmiş ve desteklenmiştir. Voltametrik olarak gözden geçirilen stok çözeltiler günlük olarak yenilenmiş ve Britton-Robinson tamponu (1,6 –10,6) hazırlanmıştır.

Çift distile edilmiş saf su kullanılmıştır ve hücreden saf azot gazı geçirilerek deoksijenasyon engellenmiştir.

Camsı karbon elektrodun aktivasyonu için 0,3 µm alümina kullanılmıştır. Elektrot, 0,1 M KNO₃ çözeltisinde 5 s +1,5V ve 2 s -1V potansiyel uygulanarak elektrokimyasal bir işleme tabi tutulmuştur.

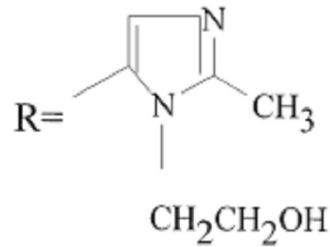
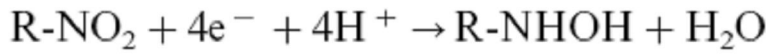
Bu çalışmalar, elektrodun tekrarlanabilir voltametrik cevaplar vermesi gerçekleşene kadar tekrarlanmıştır.

Bu prosedürlerin sonunda yüzey yüksek aktiviteye sahip olur. Her taramadan önce bu işlemler yapılmıştır.

10 tane tabletin ortalama kütlesi alınmış ve bu tabletler çok iyi bir şekilde pudra haline getirilmiştir. Ve bu numuneden 10^{-3} M stok çözelti hazırlanmıştır. Bu çözelti pH 10 olan 100 mL'lik balon jodedeki 80 mL tampon içeren çözelti içine transfer edilmiştir. Balon jodedeki içerik 15 dk manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Ve aynı destek elektrolit ile istenilen hacme seyreltilmiştir. Çözelti süzümüştür ve saf metronidazol' ün voltamogramları kaydedilmiştir. Metronidazol' ün içeriği ilgili eşitlikten hesaplanmıştır.

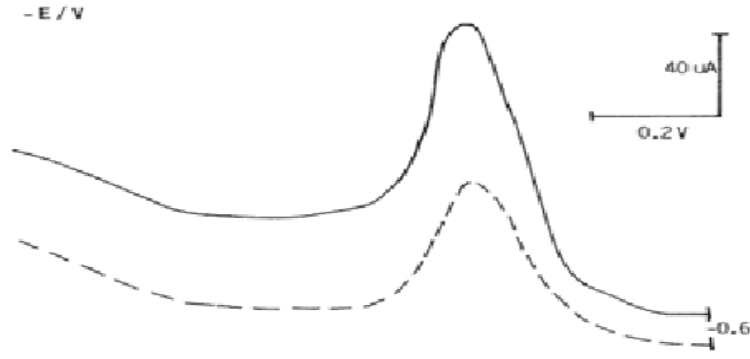
Doğrusal taramalı voltametri ile aktifleştirilmiş camısı karbon elektrot kullanarak metronidazol' ün tek bir indirgenme piki gözlenmiştir. (1,6 ile 10,6 pH değerleri arasındaki destek elektrolitlerde) (Şekil 2.5.1.b.).

Bu pik, hidroksil amine ait nitro grubunun indirgenmesi ile ilgilidir. Ve buna göre aromatik ve heteroaromatik nitro bileşiklerinin elektrokimyasal indirgenmesinin mekanizması önerilmiştir.



Şekil 2.5.1.a. Metronidazol' ün indirgenme mekanizması.

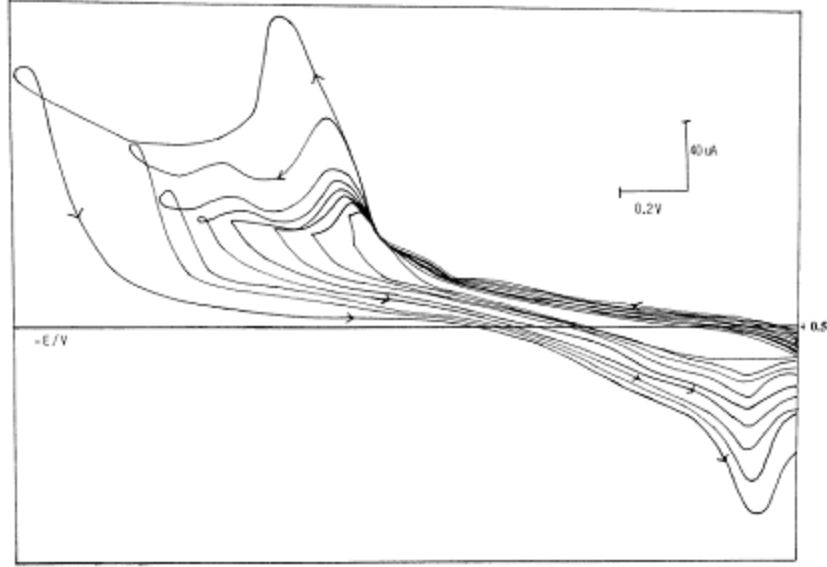
Aktive edilmemiş camısı karbon elektrot ile alınan voltamogram ile aktive edilmiş camısı karbon elektrot ile alınan voltamogram karşılaştırıldığında, aktive edilmiş elektrot ile alınan voltamogramdaki indirgenme pikinin daha yüksek akım değerine sahip olduğu gözlenmiştir.



Şekil 2.5.1.b. Doğrusal taramalı voltametri ile elde edilmiş voltamogramlar: (–) aktifleştirilmiş ve (---) aktifleştirilmemiş camsı karbon elektrot ile. 4×10^{-4} M BR tamponu (pH 10), tarama hızı 100 mV/S.

Dönüşümlü voltametri (CV) taramasında, hidroksil amine ait tek bir anodik piki (+0,4 civarında, BR pH 6.5) gözlenmiştir. Katodik ve anodik pik potansiyel değerlerinin ayrılması 10 dan 100 mVs^{-1} e kadar hızlarda taranması sonucunda tersinir olmayan çift redoks ile açıklanmıştır.

Şekil.2.5.1.c.'de tekrarlanan dönüşümlü voltamogramları göstermektedir. Bu voltamogramlara bakıldığında anodik veya katodik yönde tek bir pik gözlenmiştir. Bu reaksiyonun tersinmez olduğunu göstermektedir.



Şekil 2.5.1.c. 4×10^{-4} M metronidazol' ün BR tamponu (pH 10) ortamında CV voltamogramı.

Bu sonuçların temeli aktifleştirilmiş camsı karbon elektrot kullanarak sulu ortamda Metronidazol' ün belirlenmesine dayanır.

En iyi voltamogramlar Britton-Robinson tamponu pH 10' da ve 100 mVs^{-1} tarama hızında elde edilmiştir.

Voltamogramlar, $+0,1 - (-1,5 \text{ V})$ potansiyel aralığında kaydedilmiştir.

Pik potansiyelinin ve pik akımının tekrarlanabilirliği 2×10^{-4} M Metronidazol çözeltisi ile 5 deneyin tekrarlanması ile elde edilmiştir. Pik potansiyeli ve akımı için bağıl standart sapma 0,9 ve %1,7 olarak hesaplanmıştır.

Metronidazol konsantrasyonuna karşı pik akımının grafiğinde konsantrasyon aralığı $2 \times 10^{-6} - 6 \times 10^{-4} \text{ M}$ ($r = 0.997$) olan bir doğru görülmüştür. Bu doğrunun eğimi $24,5 \times 10^4 \text{ } \mu\text{A}$ dir. Kayma değeri (n) ise $8,9 \text{ } \mu\text{A}$ dir. Eğimin standart sapması $56,1 \times 10^2 \text{ } \mu\text{A}$ ve kaymanın standart sapması ise $1,2 \text{ } \mu\text{A}$ olarak belirlenmiştir. Belirleme sınırı $1,1 \times 10^{-6} \text{ M}$ olarak bulunmuştur ($3s/m$ denklemine göre).

Tablo 2.5.1.a Metronidazol' ün miktarını belirlemek için belirlenen analitik tayin parametreleri

Parametreler	Sonuçlar
Potansiyel (mV)	- 40
Kalibrasyon Aralığı (mol L ⁻¹)	2x10 ⁻⁶ - 6x10 ⁻⁴
Eğim (µA mol ⁻¹ L))	24,5x10 ⁴
Eğimin Bağıl Standart Sapması	56,1x10 ²
Kayma (nA)	8,9
Kaymanın Bağıl Standart Sapması	1,2
Korelasyon Katsayısı (r)	0,997
Ölçüm Sayısı	5
LOD (Belirme Sınırı) (mol L ⁻¹)	1,1x10 ⁻⁶
Pik Akımının Tekrarlanabilirliği (% Bağıl Standart Hata)	0,9

Yukarıdaki sonuçlar Metronidazol' ün ticari formülasyonlarının aktiveleştirilmiş camsı karbon elektrot ile belirlenmesine izin verir.

Sonuçlar UV dedektör sistemi ile birleştirilmiş HPLC sistemi ile belirlenmiş sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar Tablo 2.5.1.b' de gösterilmektedir.

Tablo 2.5.1.c' de ise aktiveleştirilmiş camsı karbon elektrot ile geliştirilen bu voltametrik teknikle yapılan geri kazanım çalışmalarının sonuçları gösterilmektedir.

Tablo 2.5.1.b HPLC sistemi ile desteklenmiş voltametrik sonuçlar

	Voltametrik metod			
	Tablet (500 mg)	Oral suspansiyon (125 mg 5 mL ⁻¹)	i.v. infüzyon solusyonu (0,5%)	Vajinal tablet ^a (500mg)
Ortalama ^b	503,3	126,0	501,2	502,4
RSD. (%)	1,74	2,58	1,27	1,89
<i>t</i> -testi	0,702	0,460	0,534	0,466

RSD: Bağıl Standart Sapma

^a Her bir vajinal tabletteki 100 mg mikonazol nitrat varlığı

^b 10 deneyin ortalaması

HPLC metodu			
Tablet (500 mg)	Oral suspansiyon (125 mg 5 mL ⁻¹)	i.v. infüzyon solusyonu (0,5%)	Vajinal tablet ^a (500 mg)
506,0	125,4	503,2	504,5
1,72	2,19	1,86	2,06
P=0,05, t=2,101			

Tablo 2.5.1.c Geri kazanım çalışmaları

Formülasyon	Geri Kazanım ^a (%)	R.S.D. (%)
Tablet	98,4	0,56
Oral suspansiyon	99,4	1,92
i.v. infüzyon solusyonu	99,5	0,66
Vajinal tablet	98,9	0,92

Sonuç olarak, Metronidazol adlı etken maddenin elektrokimyasal indirgenme özelliklerinden yararlanılarak ve aktifleştirilmiş camsı karbon elektrot kullanarak kantitatif tayini için hassas bir doğrusal taramalı voltametri tekniği geliştirilmiştir (Özkan ve diğ., 1997).

2.5.2. Metronidazol'ün Karbon Fiber Mikrodisk Elektrotta Elektrokimyasal İndirgenmesi

Bartlett ve diğ. (2005), yaptıkları çalışmada karbon fiber mikrodisk elektrotta Kare Dalga Adsorptif Sıyırma Voltametrisini kullanarak Metronidazol'ün elektrokimyasal davranışını incelemiştir. pH 9,0 olan BR tamponunu destek elektrolit olarak kullanarak doğrusallığın gözlemlendiği analitik konsantrasyon tayin aralığını $5 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-6}$ M olarak saptamışlardır (Bartlett ve diğ., 2005).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Metronidazol'ün tablet formu (Nidazol) ve Metronidazol ilaç etken maddesi Eczacıbaşı İlaç Firmasından (İstanbul, Türkiye) temin edildi. Metronidazol'ün stok çözeltisi (1×10^{-2} M) deiyonize su ile çözülerek taze olarak hazırlandı ve kullanıldı. Voltametik araştırmalar için çalışılan tüm çözeltiler stok çözeltilerinin deiyonize su ile seyreltilmesiyle hazırlandı. Tüm çözeltiler güneş ışığından korunarak ve bozunmayı önlemek amacıyla 24 saat içinde kullanıldı. 0,5 M sülfürik asit çözeltisi, 0,067 M fosfat (pH 4,5-7,5), 0,2 M asetat (pH 3,51-5,51) ve 0,04 M Britton-Robinson tampon çözeltileri (pH 2,16-11,15) destek elektrolit olarak kullanıldı. Diğer kimyasal maddeler; H_2SO_4 (Reidel de Haen, % 96), CH_3COOH (Reidel de Haen, % 100), H_3PO_4 (Carlo Erba, % 35), H_3BO_3 (Merck), NaOH (Reidel de Haen), $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (Reidel de Haen), $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (Reidel de Haen), alümina, argon gazı (% 99,99 saflıkta) ve deiyonize su kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Voltamogramlar (akım-potansiyel eğrileri), Metrohm 757 VA Trace Analyzer cihazı ile alındı. Voltametik ölçümler; grafit elektrot ($\phi = 3$ mm) çalışma elektrotu, platin tel yardımcı elektrot ve Ag/AgCl (KCl 3 M) referans elektrotlarından oluşan üçlü elektrot sisteminde yapıldı. pH ölçümleri, Metrohm 744 model pH-metresi ile yapıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan deiyonize su, Sartorius Arium model ultra pure water systems' den elde edildi.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada çözücü olarak etanol kullanıldı. Çalışmada metronidazol' ün etanoldeki stok çözeltileri (derişik ve seyreltik) hazırlandı. H_2SO_4 (0,5 M ; pH 0,51) çözeltisi, fosfat (0,067 M ; pH 4,73-7,50), asetat (0,2 M ; pH 3,50-5,50) ve Britton-Robinson (0,04 M ; pH 2,16-10,15) tampon çözeltileri hazırlandı. Tampon

çözeltilerin pH ayarları yapıldıktan sonra Metronidazol'un bu tamponlar (destek elektrolitler) içerisinde diferansiyel puls (DPV) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri voltamogramları alındı. Voltamogramlar alınmadan önce çözeltiden 3 dakika argon gazı geçirilerek oksijen uzaklaştırıldı. Bu şekilde çalışma ortamı belirlendikten sonra 1×10^{-4} M konsantrasyonda dönüşümlü voltametri (CV) ile 10-1000 mV/s tarama hızlarında voltamogramlar alınarak tarama hızıyla akım ve potansiyel değişimi incelendi. Elde edilen hız-akım değerlerine göre pik akımının logaritmasına karşılık tarama hızının logaritması ve pik akımına karşılık tarama hızının kare kökü grafikleri çizildi. Grafiklerden çalışmanın akım türü (difüzyon kontrollü mü yoksa adsorpsiyon kontrollü mü) belirlendi. Pik akımına karşılık konsantrasyon grafiğinde (kalibrasyon grafiği) doğrusallığın gözlemlendiği çalışma aralığı belirlendi. Kalibrasyon grafiğinde en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyonda beşer kez tekrarlanan voltamogramlar alındı. Bu voltamogramların akım değerlerinin standart sapması (s) bulunup belirme sınırı (LOD) ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) hesaplandı. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu kontrol etmek amacıyla Metronidazol içeren ticari tablettten Metronidazol'un geri kazanım çalışması yapıldı.

BÖLÜM 4

DENEYSEL BÖLÜM

4.1. Metronidazol' ün Çözünürlüğünün Belirlenmesi

Metronidazol' ün farklı çözücülerde çözünürlüğü araştırıldı ve etanol ile tamamen çözündüğü belirlendi. Tüm metronidazol çözeltileri etanol ile hazırlandı.

4.2. Destek Elektrolitlerin Hazırlanması ve pH Ayarlamaları

4.2.1. Britton-Robinson (BR) Tamponunun Hazırlanması ve pH Ayarlamaları

Litrelik balonjojeye, 2,47 g H_3BO_3 konularak bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Üzerine 2,3 mL CH_3COOH ve 2,71 mL H_3PO_4 ilave edildi ve hacim deiyonize su ile litreye tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan 0.04 M BR tamponundan 100 mL' lik örnekler alındı ve Tablo 4.2.1'deki hacimlerde 0,2 M NaOH ilave edilerek istenilen pH' lardaki BR tamponları hazırlandı.

Tablo 4.2.1 0.04 M BR Tamponunda pH Ayarlamaları

BR Tamponu (mL)	NaOH (mL)	pH	BR Tamponu (mL)	NaOH (mL)	pH
100	8.0	2,09	100	61	8,04
100	19	3,06	100	69	9,05
100	24	4,01	100	79	10,05
100	35	5,07	100	83	11,02
100	42	6,06	100	100	12,00
100	53	7,02	100	-	-

4.2.2. Asetat Tamponunun Hazırlanması ve pH Ayarlamaları

100 mL' lik balonjojeye, bir miktar deiyonize su konularak üzerine 1,14 mL CH_3COOH ilave edildi ve hacim deiyonize su ile 100 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan 0,2 M CH_3COOH çözeltisinden 20 mL' lik kısımlar alındı ve Tablo 4.2.2' deki hacimlerde 0,2 M NaOH ilave edilerek istenilen pH' lardaki asetat tamponları hazırlandı.

Tablo 4.2.2 0,2 M Asetat Tamponunda pH Ayarlamaları

CH_3COOH (mL)	NaOH (mL)	pH
20	1,5	3,60
20	9,5	4,52
20	8,0	5,60

4.2.3. Fosfat Tamponunun Hazırlanması ve pH Ayarlamaları

100 mL' lik balonjojeye 0,092 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Sodyum Di-hidrojen Fosfat) konularak bir miktar deiyonize suda çözüldü ve hacim deiyonize su ile 100 mL' ye tamamlandı. Başka bir 100 mL' lik balonjojeye 1,19 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Di-sodyum Hidrojen Fosfat) konularak bir miktar deiyonize suda çözüldü ve hacim yine deiyonize su ile 100 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan 0,067 M' lik çözeltilerden Tablo 4.2.3' deki hacimlerde $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ karıştırılarak istenilen pH' lardaki fosfat tamponları elde edildi.

Tablo 4.2.3 0.067 M Fosfat Tamponunda pH Ayarlamaları

NaH_2PO_4 (mL)	Na_2HPO_4 (mL)	pH
10,0	0,00	4,41
9,50	0,50	5,57
7,00	3,00	6,42
2,00	8,00	7,28
0,25	9,75	8,19

4.3. Metronidazol' ün Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Metronidazol' ün günlük 1×10^{-2} M' lik stok çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiden uygun hacimler alınarak metronidazol' ün istenilen konsantrasyonlarda seyreltik çözeltileri hazırlandı. Metronidazol' ün indirgenip indirgenmediğini araştırmak amacı ile; 5×10^{-5} M' lik metronidazol' ün asidik, nötr ve bazik bölgede seçilen farklı destek elektrolitlerde, 0 ile -1V arasındaki katodik bölgede grafit (ultra trace) elektrot kullanarak DPV ve CV voltamogramları çözeltiden 3 dakika argon gazı geçirildikten sonra alındı.

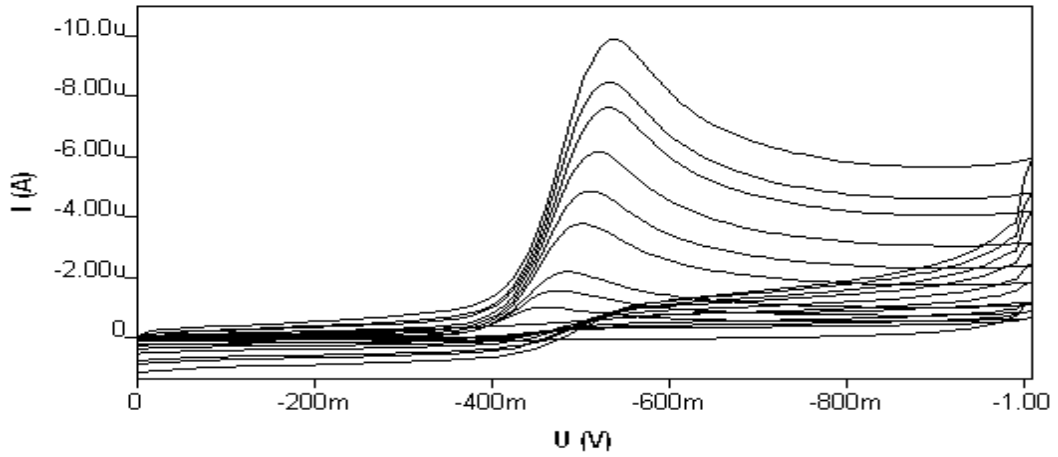
4.3.1. Çalışma Ortamının Belirlenmesi

Metronidazol' ün indirgendiği tespit edildikten sonra, optimum şartları belirlemek amacı ile tüm destek elektrolitlerde DPV tekniği kullanarak pik akımının ve pik potansiyelinin pH (1 birimlik aralıklarla) ile değişimi incelendi (Şekil 5.a. ve Şekil 5.b.).

Tablo 5.a' dan elde edilen verilere göre; çalışma ortamı olarak pH 4,01 olan BR çözeltisi seçildi.

4.3.2. Akım Türünün Belirlenmesi

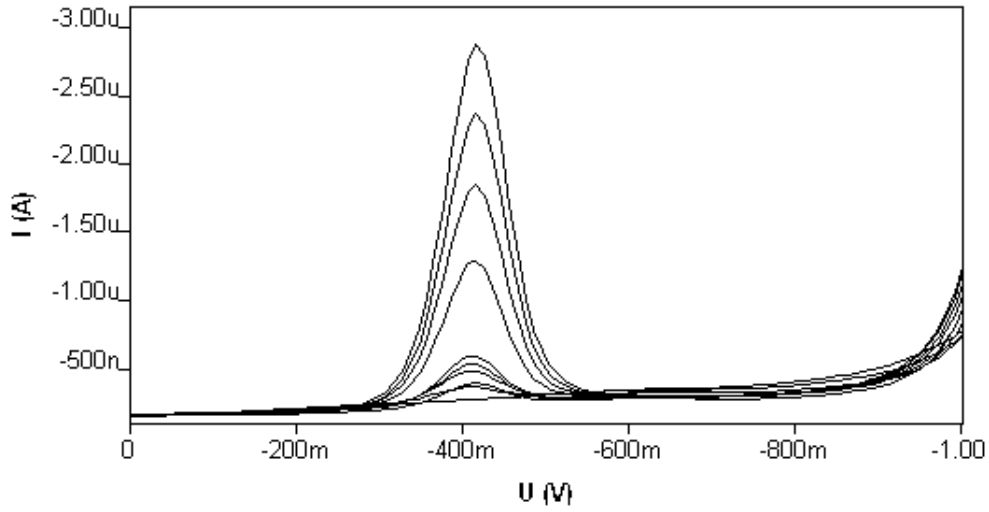
1×10^{-4} M metronidazol' ün pH 4.01 olan BR çözeltisinde, CV tekniği ile 10–1000 mVs^{-1} tarama hızlarındaki voltamogramları alındı. Pik akımına ve pik potansiyeline tarama hızının etkisi incelendi. Akımın difüzyon ya da adsorpsiyon kontrollü olup olmadığını belirlemek için, $v^{1/2}$ - i_p ; $\log v$ - $\log i_p$ grafikleri çizildi (Şekil 5.c., Şekil 5.e.). Grafiklerin eğimlerinden akımın difüzyon kontrollü olduğu bulundu ve diğer çalışmalar buna göre yapıldı.



Şekil 4.3.2. 1×10^{-4} M Metronidazol'ün 0,04 M BR tamponunda (pH 4,01), grafit elektrot ile 10–1000 mV/s tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı, a) 0,04 M BR tamponu b) 10 c) 25 d) 50 e) 100 f) 150 g) 250 h) 500 i) 750 i) 1000 mVs^{-1}).

4.3.3. Analitik Konsantrasyon Aralığının Belirlenmesi

Metronidazol'ün pH 4.01 olan BR çözeltisinde, 3×10^{-6} - 9×10^{-5} M konsantrasyon aralığında, her bir konsantrasyon için aynı çözelti içinde DPV tekniği ile 3'er tekrar yapılarak voltamogramları alındı. Elde edilen C ve i değerlerine göre doğrusallığın gözlendiği kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 4.3.3.) ve analitik konsantrasyon aralığı 3×10^{-6} - 9×10^{-5} M olarak belirlendi. Kalibrasyon grafiğinden korelasyon katsayısı (r) ve eğim (m) bulundu (Tablo 5.a).



Şekil 4.3.3. 5×10^{-5} M Metronidazol'un 0,04 M BR Tamponunda (pH: 4,01) DPV tekniği ile konsantrasyon-pik akımı değişimi.

4.3.4. Belirme Sınırı (LOD) ve Kantitatif Tayin Sınırının (LOQ) Hesaplanması

Kalibrasyon grafiğinde en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyonda (1×10^{-5} M) üç ayrı hücrede beşer kez tekrarlanan voltamogramlar alındı. Buradan elde edilen birbirine yakın beş akım değeri seçildi. Bu değerlerin ortalaması alınıp standart sapma (s) bulundu. Bu değer kullanılarak $3s/m$ formülünden LOD (belirme sınırı), $10s/m$ formülünden ise LOQ (kantitatif tayin sınırı) hesaplandı (Tablo 5.c).

4.3.5. Nidazol Tabletlerinden Metronidazol'un Geri Kazanımı

250 mg Metronidazol içeren Nidazol tabletlerinden 10 tablet tartılıp, 1 tabletteki Metronidazol miktarı hesaplandı. Tabletler toz haline getirilip nidazolün saf suda 1×10^{-2} M Metronidazol içeren stok çözeltisi hazırlandı. Miktar tayini için kalibrasyon grafiğindeki en yüksek derişimden bir önceki derişimde (5×10^{-5} M) çalışıldı. Bunun için 5×10^{-5} M Metronidazol içeren ilaç çözeltisinden üç ayrı hücre hazırlanarak her bir hücrede beşer kez ölçüm alındı. Elde edilen akım değerleri kalibrasyon grafiğinde yerine konuldu ve bunlara karşılık gelen konsantrasyonlardan tabletlerdeki Metronidazol miktarları hesaplandı.

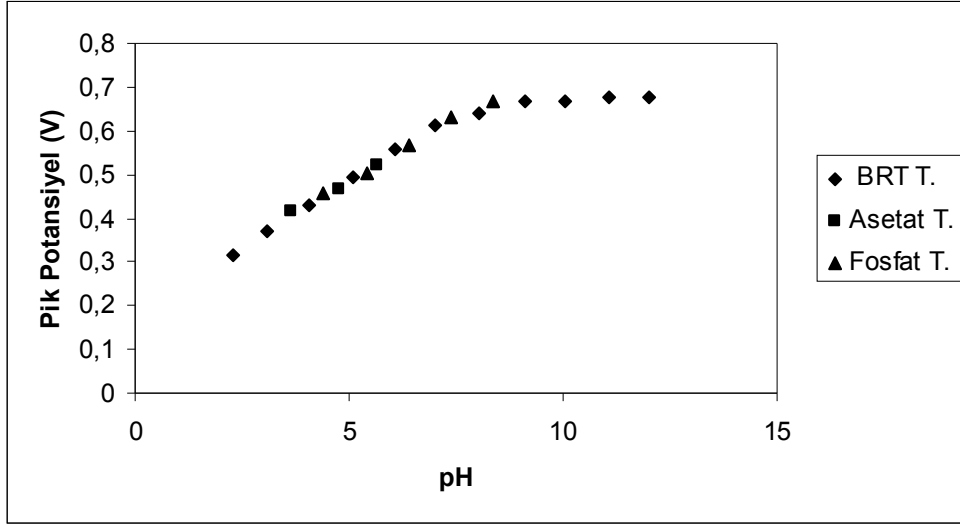
Geri kazanım için 5×10^{-5} M Metronidazol içeren ilaç çözeltilisi üzerine konsantrasyonu 7×10^{-5} M olacak şekilde etken madde ilave edildi. Bunun için üç ayrı hücre hazırlanarak her bir hücrede beşer kez ölçüm alındı. İlave edilen etken maddenin elde edilen akım değerlerine karşılık gelen mg miktarları hesaplandı. Eklenen Metronidazol miktarı ile bulunan Metronidazol miktarı karşılaştırılarak Nidazol tabletlerinden Metronidazol'un geri kazanımı hesaplandı (Tablo 5.d).

BÖLÜM 5

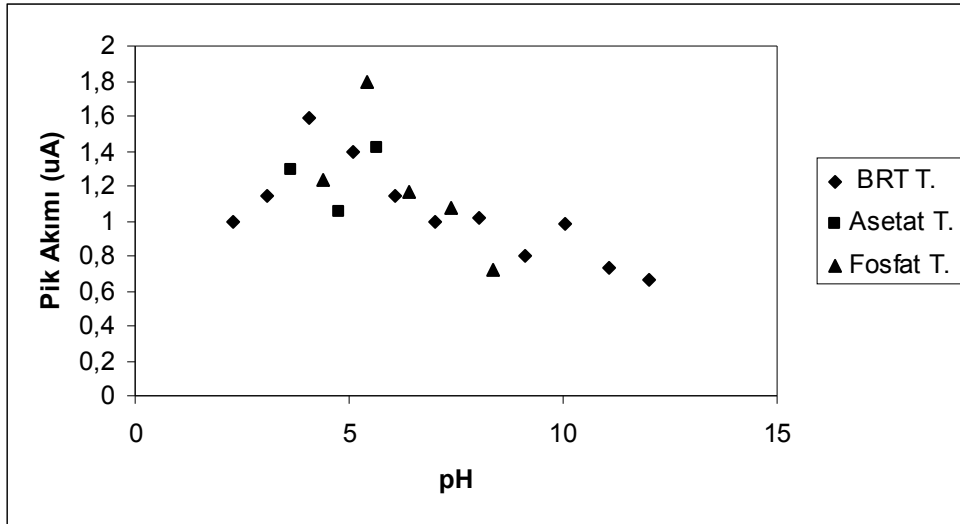
TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Metronidazol'un, farklı tampon ortamlarda grafit elektrot kullanarak çeşitli voltametrik tekniklerle (DPV, CV) elektrokimyasal özellikleri incelendi ve bu özelliklerden yararlanarak etken maddenin ticari ilaçlarda miktarı belirlendi.

Öncelikle Metronidazol'un elektrokimyasal özelliğini araştırmak amacıyla farklı destek elektrolitlerde DPV tekniğiyle voltamogramlar alındı. Metronidazol' ün indirgendiği koşulları gözlemek için pH' ın pik akımına ve pik potansiyeline karşı değişimleri incelendi ve ilgili grafikler çizildi (Şekil 5.a. ve Şekil 5.b.).



Şekil 5.a. 5×10^{-5} M Metronidazol'un pik potansiyeline pH etkisi.



Şekil 5.b. 5×10^{-5} M Metronidazol'un pik akımına pH etkisi.

Fosfat tamponundaki pik akımının diğerlerine göre yüksek olmasına karşın 0,4 V civarındaki pH' ı 4,01 olan BR tamponu çalışma ortamı olarak seçildi. Bunun nedeni BR tamponu ortamındaki pikin daha belirgin ve keskin olmasıdır. Şekil 5.b.'den de görüldüğü gibi pik akımı pH' a bağlı olarak değişmektedir. Bu da elektrot reaksiyonunda H^+ iyonlarının etkisi olduğunu göstermektedir.

DPV tekniği ile elde edilen pH- i_p değişiminden elde edilen verilere göre çalışma ortamı belirlendi. (Tablo 5.a).

Tablo 5.a 5×10^{-5} M Metronidazol' ün Farklı Destek Elektrolitlerdeki Voltametrik Verileri

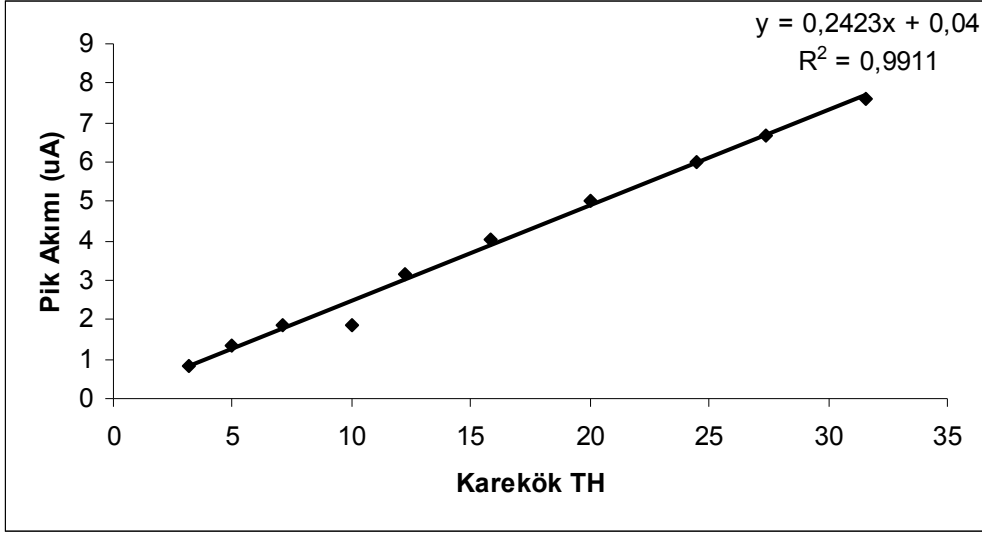
Destek elektrolit	Konsantrasyon (M)	Çalışılan pH aralığı	Seçilen pH	E_p (mV)	I_p (μA)
BR Tamponu	0,040	2,09- 12	4,01	-43,2	1,59
Fosfat Tamponu	0,067	4,41- 8,19	5,44	-50,4	1,79
Asetat Tamponu	0,200	3,6-5,6	5,65	-52,2	1,42

Akım türünü belirlemek için 1×10^{-4} M Metronidazol' ün CV tekniğiyle 10-1000 mVs^{-1} aralığındaki tarama hızlarında voltamogramlar alınıp tarama hızlarına bağlı olarak akım değişimi incelendi (Tablo 5.b).

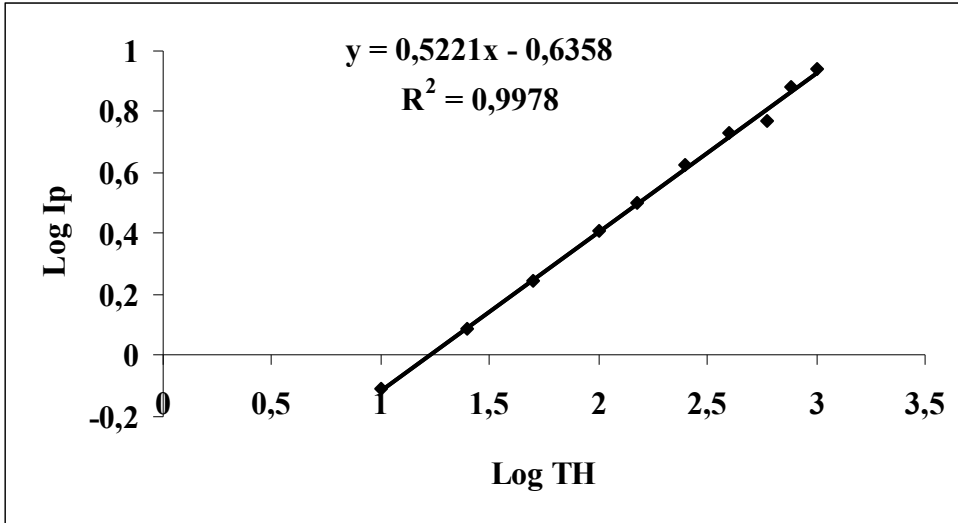
Tablo 5.b 1×10^{-4} M Metronidazol' ün tarama hızıyla akım ve potansiyel değişimi

Tarama Hızı, $v(mVs^{-1})$	Tarama Hızının Karekökü, $v^{1/2}$	Tarama Hızının Logaritması, $\log v$	Pik Akımı, $I_p(\mu A)$	Pik Akımının Logaritması, $\log I_p$	Pik Potansiyeli, $E_p(V)$
10	3,16	1	0,783	0,845	0,459
25	5	1,39	1,23	1,32	0,477
50	7,07	1,69	1,77	1,86	0,486
100	10	2	2,56	1,86	0,486
150	12,25	2,18	3,19	3,17	0,504
250	15,84	2,4	4,20	4,03	0,504
400	20	2,6	5,42	5,03	0,531
600	24,29	2,77	5,88	6,02	0,531
750	27,38	2,88	7,61	6,66	0,531
1000	31,6	3	8,8	7,6	0,531

Tablo 5.b'deki verilere göre, $v^{1/2}$ - i_p ; $\log v$ - $\log i_p$ grafikleri çizildi (Şekil 5.c. , Şekil 5.d.).



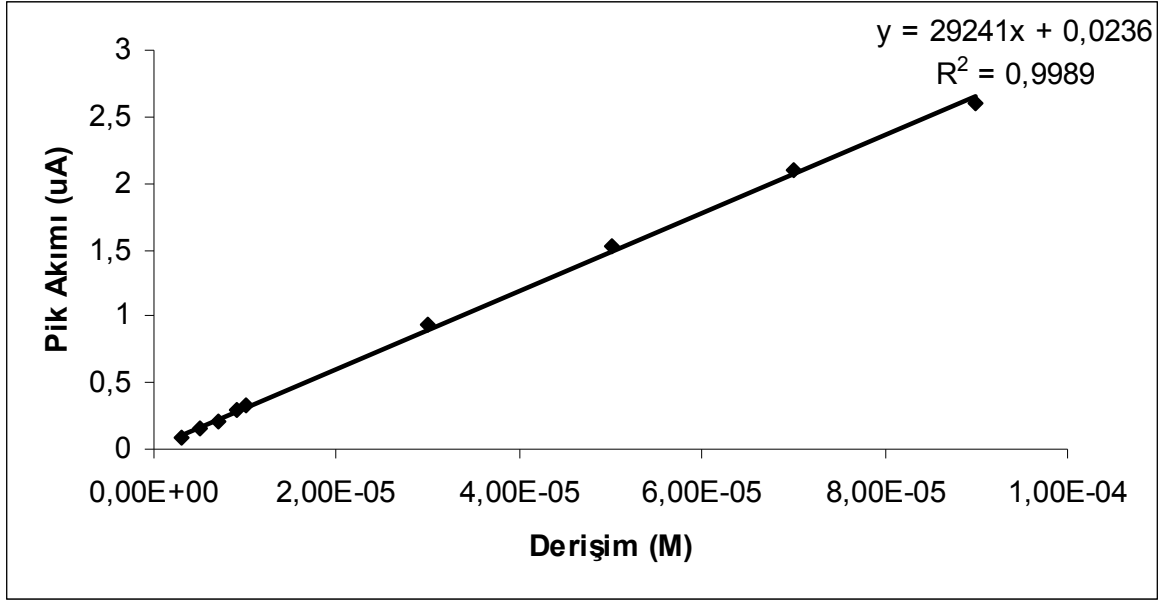
Şekil 5.c. 1×10^{-4} M Metronidazol'un 0,04 M BR tamponunda (pH 4,01) $v^{1/2}$ - i_p grafiği.



Şekil 5.d. 1×10^{-4} M Metronidazol'un BR tamponunda (pH 4,01) $\log v$ - $\log i_p$ grafiği.

Log v - $\log i_p$ grafiğinin (Şekil 5.d.) eğiminin 0,52 (0,5 civarında) olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Ayrıca $v^{1/2}$ - i_p grafiğinin (Şekil 5.c.) korelasyon katsayısının (r) 0,9911 olması (1'e yakın) yine akımın difüzyon kontrollü olduğunun göstergesidir (Skrzpek, 2005).

Metronidazol'un analitik tayin aralığını belirlemek için 0,04 M BR ortamında farklı konsantrasyonlarda DPV tekniğiyle alınan voltamogramlardan elde edilen C ve i_p değerlerine göre doğrusallığın gözlemlendiği kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 5.e.).



Şekil 5.e. Metronidazol'un 0,04 M BR tamponunda pik akımı- konsantrasyon değişimi.

Kalibrasyon grafiğinin eğimi $2,92 \times 10^4$, korelasyon katsayısı ise 0,9989 olarak bulundu. Bunun sonucunda doğrusallığın gözlemlendiği konsantrasyon tayin aralığı 3×10^{-6} - 9×10^{-5} M olarak belirlendi.

Şekil 5.e.' de görülen kalibrasyon grafiğindeki en düşük konsantrasyonun bir üstündeki konsantrasyonda (7×10^{-5} M) üç ayrı hücrede toplam 15 ölçüm yapılarak akım değerlerinin standart sapması (s) $1,41 \times 10^{-3}$ olarak bulundu. Bu değer 3s/m ve 10s/m eşitliklerinde yerine konularak belirme sınırı (LOD) $1,42 \times 10^{-7}$ ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) $4,76 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplandı (Tablo 5.c).

Tablo 5.c Metronidazol'ün 0,04 M BR tamponunda miktarının belirlenmesi için analitik tayin parametreleri

Parametreler	Sonuçlar
Ölçülen Potansiyel (mV)	0,432
Konsantrasyon Aralığı(M)	$3 \times 10^{-6} - 9 \times 10^{-5}$
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	$2,96 \times 10^4$
Eğimin Standart Sapması	1,35
Kayma (nA)	0,0233
Kaymanın Standart Sapması	16,48
Korelasyon Katsayısı, r	0,9989
Ölçüm Sayısı, n	5
Belirme Sınırı, LOD (M)	$1,42 \times 10^{-7}$
Kantitatif Tayin Sınırı, LOQ (M)	$4,76 \times 10^{-7}$
Pik Akımının Tekrarlanabilirliği (% Bağıl Standart Hata) Pik	7×10^{-5} M için 0,47 ve 1×10^{-5} M için 0,20
Potansiyelinin Tekrarlanabilirliği (% Bağıl Standart Hata)	7×10^{-5} M için 0 ve 1×10^{-5} M için 1,41

Metronidazol'un tablet formlarından miktarını belirlemek ve geliştirdiğimiz yöntemin doğruluğunu kontrol etmek için Nidazol tabletlerinden Metronidazol'un analizi ve geri kazanım deneyleri yapıldı (Tablo 5.d).

Tablo 5.d Nidazol tabletlerinde belirlenen Metronidazol miktarı ve geri kazanımı

Parametreler	Sonuçlar
Tablette belirtilen Metronidazol Miktarı (mg)	250
Bulunan Metronidazol Miktarı (mg)	255,14
Bağıl Standart Sapma, % R.S.D.	1,24
Doğruluktan Sapma, % Bias	2,05
Eklenen (mg)	20
Bulunan(mg)	19,2
Geri Kazanım (%)	96
Geri Kazanımın Bağıl Standart Sapması, % R.S.D.	0,289
Doğruluktan Sapma, % Bias	4

Tablo 5.d' den de görüldüğü gibi Nidazol tabletlerinden Metronidazol % 96 geri kazanımla bulundu.

Metronidazol adlı ilaç etken maddenin analizi ile bu tezde özetlenen literatürdeki çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada grafit elektrot kullanarak etken maddenin elektrokimyasal özelliği voltametrik yöntemlerle incelendi. Aynı zamanda farklı pH seçilerek daha iyi voltamogram ve yüksek akım değerleri elde edildi.

Bu çalışmada; Metronidazol adlı ilaç etken maddenin elektrokimyasal indirgenme özelliklerinden yararlanılarak kantitatif tayini için Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) yöntemi geliştirildi.

Geliştirilen voltametrik yöntem ile Metronidazol'un ticari ilaçlardaki miktarı belirlendi. Ayrıca uygulanan tekniğin doğruluğunu belirlemek için Metronidazol'un ticari ilaç formundan geri kazanım çalışmaları yapıldı.

Geliştirilen voltametrik yöntemler; ekonomik, hızlı ve duyarlı olması, az miktarda numune ile çalışılması ve ayırma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan analiz yapılabilmesi gibi üstünlükleri nedeniyle HPLC, UV gibi spektroskopik yöntemlere göre tercih edilebilir. Ayrıca geliştirilen voltametrik yöntemler ilaçların rutin analizlerinde de rahatlıkla uygulanabilir.

KAYNAKLAR

- Adams R.N., Mc Clure J.H. ve Morris J.B., 1958. Chrono – Potentiometric Studies at Solid Electrodes. *Anal. Chem.*, 30: 471 p.
- Aşkın G., 2008. İlaç ve Bazı Meyvelerdeki Askorbik Asit Miktarının Voltametik Tekniklerle Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Bartlett P.N., Ghoneim E., El-Hefnawy G. ve El-Hallag I., 2005. Voltammetry and Determination of Metronidazole at a Carbon Fiber Microdisk Elektrode. *Talanta.*, 66: 869-874.
- Bond A.M., 1980. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc. N.Y. 195 p.
- Fagan D.T., Hu I.F. ve Kuwana T., 1985. Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrode. *Anal. Chem.*, 57: 2759-2763.
- Gündüz T., 2004. *İnstrümental Analiz 7*. Baskı; Gazi Kitabevi-Ankara, 1038-1040.
- Henden E., Gökçel H.İ. ve Ertaş F.N., 2001. *Eser Analiz Yaz Okulu*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilimdalı, İzmir, 151-160.
- Lane R.F. ve Hubbard A.T., 1976. Differential Double Pulse Voltammetry at Chemically Modified Platinum Electrodes for In-Vivo Determination Catecholamines. *Anal. Chem.*, 48:1287-1293.
- Leblebicioğlu H., (2001). Nitroimidazoller. *İnfeksiyon-2001*. 20 Aralık 2008, <http://www.omu.edu.tr/~hakan/ders/33nitr2001.pdf>
- Metronidazol' ün kimyasal yapısı*. (n.d.). Retrieved January 8, 2008, from http://chembiofinder.cambridgesoft.com/Gateway_NPDetails.aspx?un_id=2159
- 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., Özkan Y. ve Şentürk., Z., 1997. Electrochemical Reduction of Metronidazole at Activated Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17: 3299-3305.
- Panzer R.E., 1972. Behaviour of Carbon Electrodes in Aqueous and Non – Aqueous System. *J. Electrochem. Soc.*, 119: 864 p.
- Skoog D.A. ve Leary J.J., 1996. *Principles of Instrumental Analysis*. 4th Ed. Saunders College Publishing, New York, 538 p.
- Skoog D.A., Holler F.J. ve West D.M., 2000. *Enstrümental Analiz İlkeleri*. 7. Baskı. Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve Ark., Bilim Yayıncılık -Ankara, 489-492.
- Skrzypek S., Ciesielski W., Sokolowski A., Yılmaz S. ve Kazmierczak D., 2005. Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Famotidine in Urine. *Talanta.*, 66: 1146-1151.
- Tural H., Gökçel H.İ. ve Ertaş F.N., 2003. *Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, 132-144.
- Wang J. ve Hutchins L.D., 1985. Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical Treatment. *Anal. Chim. Acta.*, 167: 325-334.
- Yağmur S., 2005, Famotidin ve Natamisin' in Voltametrik Teknikler ile Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi Ve İlaçlarda Kantitatif Tayinleri. (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Yıldız A. ve Genç Ö., 1993. *Enstrümental Analiz*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 352 s.

TABLULAR

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 2.5.1.a	Metronidazol' ün miktarını belirlemek için belirlenen analitik tayin parametreleri.....	24
Tablo 2.5.1.b	HPLC sistemi ile desteklenmiş voltametrik sonuçlar.....	24
Tablo 2.5.1.c	Geri kazanım çalışmaları.....	25
Tablo 4.2.1	0.04 M BR Tamponunda pH Ayarlamaları.....	28
Tablo 4.2.2	0,2 M Asetat Tamponunda pH Ayarlamaları.....	29
Tablo 4.2.3	0.067 M Fosfat Tamponunda pH Ayarlamaları.....	29
Tablo 5.a	5x10 ⁻⁵ M Metronidazol' ün Farklı Destek Elektrolitlerdeki Voltametrik Verileri.....	36
Tablo 5.b	1x10 ⁻⁴ M Metronidazol' ün tarama hızıyla akım ve potansiyel değişimi.....	36
Tablo 5.c	Metronidazol' ün 0,04 M BR tamponunda miktarının belirlenmesi için analitik tayin parametreleri.....	39
Tablo 5.d	Nidazol tabletlerinde belirlenen Metronidazol miktarı ve geri kazanımı.....	40

ŞEKİLLER

Şekil No	Şekil Adı	SayfaNo
Şekil 1.	Metronidazol'ün Kimyasal Yapısı.....	1
Şekil 2.2.	Voltametik Tekniklerin Sınıflandırılması.....	5
Şekil 2.2.1.	Polarografide Akım-Potansiyel Grafiği.....	6
Şekil 2.3.3.	Voltametricde Kullanılan Çalışma Elektrotları.....	11
Şekil 2.5.1.a.	Metronidazol'ün indirgenme mekanizması.....	21
Şekil 2.5.1.b.	Doğrusal taramalı voltametri ile elde edilmiş voltamogramlar.....	22
Şekil 2.5.1.c.	1×10^{-4} M metronizol'ün BR tamponu (pH 4.01) ortamında CV voltamogramı.....	23
Şekil 4.3.2.	1×10^{-4} M Metronidazol'ün 0,04 M BR tamponunda (pH 4.01), grafit elektrot ile 10–1000 mV/s tarama hızı aralığındaki CV ile voltamogramı, a) 0,04 M BR tamponu b) 10 c) 25 d) 50 e) 100 f) 150 g) 250 h) 500 i) 750 i) 1000 mVs ⁻¹	31
Şekil 4.3.3.	5×10^{-5} M Metronidazol'ün 0.04 M BR Tamponunda (pH:4.01) DPV tekniği ile konsantrasyon-pik akımı değişimi	32
Şekil 5.a.	5×10^{-5} M Metronidazol'ün pik potansiyeline pH etkisi.....	35
Şekil 5.b.	5×10^{-5} M Metronidazol'ün pik akımına pH etkisi.....	35
Şekil 5.c.	1×10^{-4} M Metronidazol'ün 0,04 M BR tamponunda (pH 4.01) $v^{1/2}$ - i_p grafiği.....	37
Şekil 5.d.	1×10^{-4} M Metronidazol'ün BR tamponunda (pH 4.01) log v-log i_p grafiği.....	37
Şekil 5.e.	Metronidazol'ün 0,04 M BR tamponunda pik akımı-konsantrasyon değişimi.....	38

YAŞAM ÖYKÜSÜ

1985 yılında İstanbul’ da doğdum. Babam uçak teknisyeni, annem emekli hemşiredir. Bir kardeşim var.

İlköğretim eğitimimi Ahmet Rasim İlköğretim Okulunda (1991-1999), Ortaöğretim eğitimimi Çanakkale Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesinde (2000-2003), Lisans eğitimimi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Kimya Bölümünde (2003-2007) tamamladım.