

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEFUROKSİM AKSETİL' İN VOLTAMETRİK  
DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ VE ELEKTROANALİTİK  
YÖNTEMLERLE FARMASÖTİK PREPARATLARDAN  
ANALİZİ**

**Kim. Sevilay ERDOĞAN KABLAN**

**Analitik Kimya Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA**

**2015**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEFUROKSİM AKSETİL' İN VOLTAMETRİK DAVRANIŞLARININ  
İNCELENMESİ VE ELEKTROANALİTİK YÖNTEMLERLE  
FARMASÖTİK PREPARATLARDAN ANALİZİ**

**Kim. Sevilay ERDOĞAN KABLAN**

**Analitik Kimya Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Nuran ÖZALTIN**

**ANKARA  
2015**

Anabilim Dalı :Analitik Kimya  
 Program :Analitik Kimya  
 Tez Başlığı :Sefuroksim Aksetil'in Voltametrik Davranışlarının  
 İncelenmesi ve Elektroanalitik Yöntemlerle Farmasötik  
 Preparatlardan Analizi  
 Öğrenci Adı-Soyadı :Sevilay Erdoğan Kablan  
 Savunma Sınavı Tarihi :25.08.2015

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/~~doktora~~ tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: **Prof. Dr. Nilgün Günden Göger**

(Gazi Üniversitesi)



Tez danışmanı: **Prof. Dr. Nuran Özeltin**

(Hacettepe Üniversitesi)



Üye: **Prof. Dr. Olcay Şendil**

(Gazi Üniversitesi)



Üye: **Prof. Dr. Erdal Dinç**

(Ankara Üniversitesi)



Üye: **Doç. Dr. Ceren Yardımcı**

(Hacettepe Üniversitesi)



ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

  
 Prof. Dr. Ersin FADILIOĞLU

Müdür

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi, deneyim ve önerileriyle bana yol gösteren, her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Nuran ÖZALTIN'a ve yardımları için Doç. Dr. Ceren YARDIMCI'ya,

Ders dönemim ve tez çalışmalarım sırasında katkılarından dolayı Analitik Kimya Anabilim Dalımızın saygıdeğer hocalarına ve çalışma arkadaşlarıma,

Sefuroksim aksetil ve sefuroksim sodyum temininde yardımları için Fargem Sanayii ve Ticaret A.Ş. ARGE Grup müdürü Prof. Dr. Serdar ÜNLÜ'ye,

Grafen oksit eldesindeki yardımları için Pamukkale Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Necip ATAR'a,

Benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, her daim umut kaynağım olan sevgili anne ve babam Neşe-Talih ERDOĞAN ile eşim Ayhan KABLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

*Sevilay ERDOĞAN KABLAN*

## ÖZET

**ERDOĞAN KABLAN, S. Sefuroksim aksetilin voltametik davranışlarının incelenmesi ve elektroanalitik yöntemlerle farmasötik preparatlardan analizi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2015.** Bu tez çalışmasında sefuroksim aksetil (CEFA)'nın farmasötik preparatlardan miktar tayini için kare dalga voltametri (SWV) yöntemleri geliştirilmiştir. SWV yöntemleri ile maddenin asılı duran cıva elektrot (ADCE) üzerinde indirgenmesi ve modifiye edilmiş camı karbon elektrot (M-CKE) üzerinde yükseltgenmesi incelenmiştir. CEFA tayini için ilk olarak; kullanılan destek elektrolit pH'sı, cinsi ve derişimi belirlenmiş, daha sonra indirgenme ve yükseltgenme için şartlar optimize edilmiştir. ADCE için 40 Hz'lik frekans, 5 mV'luk adım yüksekliği 35 mV'luk puls genliğinde en iyi pikler elde edilmiş ve gözlenebilme sınırı (LOD)  $0.086 \mu\text{g mL}^{-1}$ , alt tayin sınırı (LOQ)  $0.263 \mu\text{g mL}^{-1}$ , ve doğrusallık aralığı  $0.263- 14.773 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. M-CKE'de 45 Hz'lik frekans, 5 mV'luk, adım yüksekliği 60 mV'luk puls genliğinde en iyi pikler elde edilmiş ve gözlenebilme sınırı (LOD)  $2.705 \mu\text{g mL}^{-1}$ , alt tayin sınırı (LOQ)  $8.197 \mu\text{g mL}^{-1}$ , doğrusallık aralığı  $8.197 - 45.454 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen SWV yöntemleri validasyon çalışması sonuçlarına göre; doğru, kesin, özgün, duyarlı, tekrarlanabilir ve sağlam bulunmuştur. CEFA içeren farmasötik preparatlar geliştirilen ve valide edilen SWV yöntemleri ile analiz edilmiştir. Sonuçlar, kaynaklarda verilen UV-spektrofotometrik yöntemden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca CEFA'nın hem ADCE hem de M-CKE üzerindeki elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Bu amaçla; dönüşümlü voltametri (CV), kronoamperometri (CA), kronokulometri (CC) yöntemleri kullanılarak akımın karakteri, elektrot tepkimesinin tersinirliği incelenmiştir. Difüzyon katsayısı (D), kimyasal tepkimenin hız sabiti (k) ve elektron aktarım hız sabiti ( $k_f$ ) hesaplanarak indirgenme ve yükseltme tepkimeleri için mekanizma önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Sefuroksim aksetil, farmasötik preparat, voltametri, modifiye elektrot, validasyon, dönüşümlü voltametri, kronoamperometri, kronokulometri

Destekleyen kurumlar: H.Ü.B.A.B Tez Destek Projesi (TYL-2015-6419)

## ABSTRACT

**ERDOĞAN KABLAN, S. Evaluation of voltammetric behavior of cefuroxime axetil and analysis in pharmaceutical preparations by electroanalytical methods, Hacettepe University Health Sciences Institute, Analytical Chemistry Program, Master of Sciences Thesis, Ankara, 2015.** In this thesis, square wave voltammetric (SWV) methods have been developed for the quantitative determination of cefuroxime axetil (CEFA) from pharmaceutical preparations. Electrochemical reduction and oxidation of the substance on hanging mercury drop electrode (HMDE) and modified glassy carbon electrode (M-GCE) were investigated by SWV methods. For the determination of CEFA, firstly, supporting electrolyte pH, type and concentration were determined, then reduction and oxidation conditions were optimized. For HMDE, well-defined peaks were obtained with a frequency of 40 Hz, potential increment of 5 mV, pulse amplitude of 35 mV and limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) and linearity range were found  $0.086 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $0.263 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $0.263\text{-}14.773 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively. For M-GCE, well-defined peaks were obtained with a frequency of 45 Hz, potential increment of 5 mV, pulse amplitude of 60 mV and LOD, LOQ and linearity range were found  $2.705 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $8.197 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $8.197\text{-}45.454 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively. According to validation studies, the developed SWV methods were found as accurate, precise, specific, sensitive, repeatable and robust. The developed and validated SWV methods were applied to the determination of CEFA in pharmaceutical formulations. The results were compared with those obtained by a published ultraviolet spectroscopic method and no difference was found statistically. In addition, electrochemical behaviours of CEFA were investigated on both HMDE and M-GCE. For this purpose, current type and reversibility of electrode reaction were investigated by using cyclic voltammetry (CV), chronoamperometry (CA), chronocoulometry (CC). Besides the calculating diffusion coefficient (D), rate constant of chemical reaction (k) and rate constant of electron transfer ( $k_f$ ), the reduction and oxidation mechanisms were also proposed.

**Keywords:** Cefuroxime axetil, pharmaceutical preparation, voltammetry, modified electrode, validation, cyclic voltammetry, chronoamperometry, chronocoulometry

Supported by: H.Ü.B.A.B Thesis Support Project (TYL-2015-6419)

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Antibakteriyel İlaçlar	3
2.1.1. Antibakteriyel İlaçların Etki Mekanizmaları	3
2.2. Sefalosporin Grubu Antibiyotikler	4
2.3. Sefuroksim aksetil	7
2.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	8
2.3.2. Farmakodinamik Özellikleri	8
2.3.3. Farmakokinetik Özellikleri	9
2.4. Sefuroksim aksetilin Analiz Yöntemleri	10
2.4.1. Spektrofotometrik Analiz Yöntemleri	10
2.4.2. Kromatografik Analiz Yöntemleri	12
2.4.3. Kapiler elektroforez analiz yöntemi	14
2.4.4. Voltametik Analiz Yöntemleri	15
2.5. Elektroanalitik Yöntemler	15
2.5.1. Voltametri	16
2.6. Kullanılan Çalışma Elektrotları	43
3. GEREÇ ve YÖNTEM	47
3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Gereçler	47
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	47
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	47
3.1.3. Kullanılan Malzemeler	48
3.1.4. Analizi Yapılan Farmasötik Preparatlar	48

3.2. Kullanılan Standart Maddenin Saflığının Araştırılması	48
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması	48
3.4. Kullanılan Madde ve Malzemelerin Temizliği	49
3.4.1. Cıvanın Temizlenmesi	49
3.4.2. Camsı Karbon Elektrodun Temizlenmesi	50
3.4.3. Cam Malzemelerin Temizlenmesi	50
3.4.4. Elektrokimyasal Hücrenin Temizlenmesi	50
3.5. Grafen oksit sentezi	50
3.5.1. CKE'nin Modifikasyonu	51
3.6. Analiz Yöntemlerinin Geliştirilmesi	52
3.6.1. CEFA'nın Asılı Duran Cıva Elektrodu (ADCE) Üzerinde İndirgenmesine Dayanan Yöntem Geliştirilmesi	52
3.6.2. CEFA'nın Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot (M-CKE) Üzerinde Yükseltgenmesine Dayanan Yöntem Geliştirilmesi	53
3.6.3. Geliştirilen Yöntemler İçin Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması	53
3.6.4. Geliştirilen Yöntemlerin Validasyonu	54
3.6.5. Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanması	56
3.7. CEFA'nın Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi	57
3.7.1. Kare Dalga Voltametri Deneyleleri	57
3.7.2. Dönüşümlü Voltametri Deneyleleri	58
3.7.3. Kronoamperometri Deneyleleri	58
3.7.4. Kronokulometri Deneyleleri	59
4. BULGULAR	60
4.1. Saflık Kontrolü Bulguları	60
4.1.1. Erime Noktası	60
4.1.2. CEFA'nın UV Spektrumu	60
4.1.3. CEFA İçin Uygun Çözücünün Belirlenmesi	60
4.2. Geliştirilen Elektroanalitik Yöntemlere Ait Analiz Bulguları	61
4.2.1. CEFA'nın Asılı Duran Cıva Elektrodu Üzerinde İndirgenmesine Dayanan Yöntemin Analiz Bulguları	61
4.2.2. CEFA'nın Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot Üzerinde Yükseltgenmesine Dayanan Yöntemin Analiz Bulguları	68



4.3. Yöntemlerin Validasyonu	73
4.4. Farmasötik Preparatların Analizi	87
4.5. CEFA'nın Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi	90
4.5.1. CEFA'nın Asılı Duran Cıva Elektrodundaki Elektrokimyasal Özellikleri	90
4.5.2. CEFA'nın Modifiye Camı Karbon Elektrodundaki Elektrokimyasal Özellikleri	96
5. TARTIŞMA	101
5.1. ADCE ile Yapılan Çalışmalar	101
5.1.1. ADCE İçin Destek Elektrolitin Belirlenmesi	101
5.1.2. Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu	102
5.2. M-CKE ile Yapılan Çalışmalar	102
5.2.1. M-CKE İçin Destek Elektrolitin Belirlenmesi	102
5.2.2. Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu	102
5.3. Yöntemlerin Validasyonu	103
5.4. Farmasötik Preparatlara Uygulanması	106
5.5. CEFA'nın Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi	107
5.5.1. ADCE ile Yapılan Çalışmalar	107
5.5.2. M-CKE ile Yapılan Çalışmalar	116
5.6. CEFA'nın İndirgenmesine Ait Elektrot Mekanizması	121
5.6.1. ADCE ile CEFA'nın Elektrot Mekanizması	121
5.6.2. M-CKE ile CEFA'nın Elektrot Mekanizması	128
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	131
KAYNAKLAR	133
EKLER	
Ek 1. Korelasyon Katsayısı ve Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü	
Ek 2. İstatistiksel Katsayıların Hesaplanması	
Ek 3. Mann-Whitney U testi	
Ek 4. Kruskal Wallis Varyans Analizi	
ÖZGEÇMİŞ	

## SİMGELER ve KISALTMALAR

$\mu\text{L}$	Mikrolitre
$\bar{x}$	Aritmetik ortalama
$\mu\text{A}$	Mikro amper
$\mu\text{C}$	Mikro coulomb
ADCE	Asılı Duran Cıva Elektrot
BH	% Bağıl Hata
BR	Britton Robinson tampon çözeltisi
BSS	Bağıl Standart Sapma
C	Coulomb
CA	Kronoamperometri
CC	Kronokulometri
CE	Elektron Aktarım Basamağından Önce Kimyasal Tepkime Olması
CEF Na	Sefuroksim sodyum
CEF	Sefuroksim
CEFA	Sefuroksim aksetil
CV	Dönüşümlü Voltametri
DCE	Damlayan Cıva Elektrot
dk	Dakika
DPP	Diferansiyel Puls Polarografisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
EC	Elektron Aktarım Basamağını Kimyasal Tepkime Takip Etmesi
Epik	Pik potansiyeli
FB	$\text{K}_2\text{HPO}_4$ - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ tampon çözeltisi
HCl	Hidroklorik asit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPTLC	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
İpik	Pik akımı
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Alt tayin sınırı
LSV	Doğrusal Taramalı Voltametri
M- CKE	Modifiye Camsı Karbon Elektrot

M	Molar
MeOH	Metanol
mg	Miligram
mL	Mililitre
ms	Milisaniye
N	Normalite
NaOH	Sodyum hidroksit
nC	Nano coulomb
NPP	Normal Puls Polarografisi
r	Korelasyon katsayısı
R <sup>2</sup> , r <sup>2</sup>	Tanımlayıcılık katsayısı
RP-HPLC	Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SH	Standart Hata
SS	Standart Sapma
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
UV	Ultraviyole
UV/GB	Ultraviyole/Görünür Bölge

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Sefalosporinlerin Sınıflandırılması.....	6
2.2. CEFA Molekülünün Kimyasal Yapısı.....	8
2.3. Elektroanalitik Yöntemlerin Sınıflandırılması .....	16
2.4. Voltametik Ölçümlerde Kullanılan Hücrenin Sistemik Diyagramı .....	18
2.5. Doğru Akım Polarogramları	
2.6. Normal Puls Polarografisi İçin a) Uyarma Sinyalleri b) Elde Edilen Polarogram.....	26
2.7. Diferansiyel Puls Polarografisi için a) Uyarma Sinyalleri b) Elde Edilen Polarogram.....	27
2.8. Dönüşümlü Voltametricde a) Uyarma Sinyali b) Voltamogramı.....	29
2.9. Tersinir Bir Sisteme Ait CV Voltamogramı.....	30
2.10. CV Yönteminde Pik Akımının Tarama Hızının Karekökü ile Değişimi.....	34
2.11. a) Reaktantın Kuvvetli Adsorpsiyonunda Gözlenen Voltamogram b) Ürünün Kuvvetli Adsorpsiyonunda Gözlenen Voltamogram .....	35
2.12. Kare Dalga Voltametricinde Uyarma Sinyalinin Oluşumu.....	38
2.13. SWV'de Tersinir Bir Tepkime için Net Akım.....	39
2.14. CA'da a) Çalışma Elektroduna Uygulanan Potansiyel Programı b) Elde Edilen Akım-Zaman Eğrisi .....	40
2.15. CA'da E <sub>1</sub> ve E <sub>2</sub> Potansiyellerinin Seçimi a) DC Yönteminden b) CV Yönteminden.....	41
2.16. CC ile Elektrot Yüzeyine Adsorbe Olan Maddenin Derişiminin Bulunması...	43
2.17. DCE ile Elektrot Hücre Standı .....	44
2.18. Grafen Oksit Yapısı .....	46
2.19. Grafen Yapısı.....	46
3.1. Grafen Oksit Sentezinin Şematik Gösterimi.....	51
4.1. 6.4 µg mL <sup>-1</sup> CEFA'nın MeOH İçindeki UV Spektrumu .....	60
4.2. 8.37 µg mL <sup>-1</sup> CEFA'nın Farklı pH'da 0.1 M FB Ortamında Kare Dalga Voltamogramları .....	61
4.3. 8.37 µg mL <sup>-1</sup> CEFA'nın pH 2, 0.1 M FB Ortamında Kare Dalga Voltamogramları .....	62

4.4.	8.37 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 7, 0.1 M FB Ortamında Kare Dalga Voltamogramları .....	62
4.5.	5.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın 0.1 M FB Tampon Sisteminde SWV Yöntemine Ait I ve II Numaralı Pikler İçin pH – İpik Grafiği .....	63
4.6.	CEFA'nın 0.1 M FB Tampon Sistemindeki SWV Yöntemine Ait .....	63
	(a) I Numaralı Pik İçin pH 2'de, (b) II Numaralı Pik İçin pH 7'de Kalibrasyon Doğruları .....	63
4.7.	3.226 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Farklı Tampon Çözeltilerdeki (pH=7) Kare Dalga Voltamogramları .....	64
4.8.	ADCE'de SWV Yöntemi İçin CEFA'nın Pik Akımına Frekans Değişiminin Etkisi.....	65
4.9.	ADCE'de SWV Yöntemi İçin CEFA'nın Pik Akımına Puls Genliği Değişiminin Etkisi .....	66
4.10.	ADCE'de SWV Yöntemi İçin CEFA'nın Pik Akımına Adım Yüksekliği Değişiminin Etkisi .....	66
4.11.	CEFA'nın ADCE'de Kare Dalga Voltamogramları .....	67
4.12.	a) Normal Elektrot b) 1.0 $\text{mg mL}^{-1}$ c) 1.5 $\text{mg mL}^{-1}$ d) 2.0 $\text{mg mL}^{-1}$ e) 2.5 $\text{mg mL}^{-1}$ Grafen Çözeltisi İle Modifiye Edilmiş CKE'de 38.462 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 2, BR'de Kare Dalga Voltamogramları.....	68
4.13.	38.462 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın M-CKE'de Pik Akımına Modifikasyon İşleminde Kullanılan Grafen Oksit Miktarının Etkisi.....	69
4.14.	BR Tamponunun Farklı pH'larında 16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Yükseltgenmesine Ait Pik Akımı Değerleri .....	70
4.15.	M-CKE'de SWV Yöntemi için CEFA'nın Pik Akımına Frekans Değişiminin Etkisi.....	71
4.16.	M-CKE'de SWV Yöntemi İçin CEFA'nın Pik Akımına Puls Genliği Değişiminin Etkisi .....	71
4.17.	M-CKE'de SWV Yöntemi İçin CEFA'nın Pik Akımına Adım Yüksekliği Değişiminin Etkisi .....	72
4.18.	CEFA'nın M-CKE'de Kare Dalga Voltamogramları.....	73
4.19.	CEFA'nın ADCE'de SWV Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi.....	75
4.20.	CEFA'nın M-CKE'de SWV Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi.....	75

4.21. CEFA'nın ADCE'de Yöntem Doğrusallığı Kontrol Grafiği.....	78
4.22. CEFA'nın M-CKE'de Yöntem Doğrusallığı Kontrol Grafiği.....	78
4.23. ADCE ile 3.126 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA İçeren Standart, Tablet ve Sentetik Numune Çözeltilerine Ait SWV Voltamogramları .....	86
4.24. M-CKE ile 16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA İçeren Standart, Tablet ve Sentetik Numune Çözeltilerine Ait SWV Voltamogramları .....	86
4.25. CEFA'nın ADCE'de Standart Ekleme Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi .....	89
4.26. CEFA'nın M-CKE'de Standart Ekleme Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi .....	89
4.27. 8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 7.0, 0.1 M FB Tampon Çözeltisinde Farklı Tarama Hızlarında Dönüşümlü Voltamogramları .....	90
4.28. 8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 7. 0'de $v^{1/2}$ -İpik Grafiği .....	91
4.29. 8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 7.0'de $\log v - \log$ İpik Grafiği .....	91
4.30. 8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 7.00'de Dönüşümlü Voltamogramlarından Elde Edilen $\log v$ - Epik Grafiği .....	92
4.31. 15.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı (t- İ).....	93
4.32. 15.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı ( $t^{1/2}$ -İ).....	94
4.33. 15.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı (t- İ) .....	95
4.34. 15.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı ( $t^{1/2}$ -İ).....	95
4.35. 16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 2.0 BR Tampon Çözeltisinde Farklı Tarama Hızlarında Dönüşümlü Voltamogramları .....	96
4.36. 16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 2.0'de $v^{1/2}$ - İpik Grafiği .....	97
4.37. 16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 2.0'de $\log v$ - $\log$ İpik Grafiği .....	97
4.38. 16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 2.0'de Dönüşümlü Voltamogramlarından Elde Edilen $\log v$ - Epik Grafiği .....	98
4.39. 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı (t- İ).....	98
4.40. 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı ( $t^{-1/2}$ -İ).....	99
4.41. 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı (t- Q) .....	100
4.42. 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı ( $t^{1/2}$ -Q).....	100
5.1. CA'da Uygulanan Potansiyele Göre Akım – Zaman İlişkisi.....	109

5.2. CA Yönteminde CEFA'nın Küçük Zaman Değerlerindeki $t^{-1/2} - I$ Grafiği.....	113
5.3. a) pH 7.0, 0.1 M FB'nin b) $1.962 \times 10^{-8} \text{ mol (cm}^3\text{)}^{-1}$ CEFA'nın CC Yöntemi ile $t^{1/2} - Q$ Grafiği .....	115
5.4. $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 2, 3, 4 ve 5'deki Voltamogramları .....	121
5.5. $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın pH 4, 5, 6, 7 ve 8 Voltamogramları .....	122
5.6. a) CEFA b) CEF Molekülünün Kimyasal Yapısı .....	122
5.7. Aynı derişimde ( $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) CEFA ve CEF in a) pH 2-3 b) pH 4-5 .....	123
c) pH 6 d) pH 7-8 e) pH 9-10 Voltamogramları .....	123
5.8. $15.00 \mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın ADCE ile Çift Potansiyelli Kronoamperometrik Voltamogramı ( $t - I$ ).....	125
5.9. Çift Potansiyelli Kronoamperometride ( $I_b / I_f$ ) Oranının $kt$ ile Değiştiği Çalışma Grafiği.....	126
5.10. $31.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın M-CKE ile Çift Potansiyelli Kronoamperometrik Voltamogramı ( $t - I$ ).....	129

## TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Sınır Akımı Çeşitleri ve Farklı Parametreler ile Değişimi .....	22
2.2. Elektrot Mekanizmalarının Belirlenmesinde Kullanılan Kriterler .....	36
4.1. CEFA'nın Farklı Derişimlerdeki pH 7.0 FB Tampon Çözeltileri Ortamında Elde Edilen Pik Akımları.....	65
4.2. ADCE ile CEFA için Kısa ve Uzun Dönem Kararlılık Bulguları .....	74
4.3. CEFA'nın ADCE'de SWV Yöntemi ile Analizinden Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisinin Korelasyon Katsayısı ile Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü için Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar .....	76
4.4. CEFA'nın M-CKE'de SWV Yöntemi ile Analizinden Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisinin Korelasyon Katsayısı ile Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü için Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar .....	76
4.5. SWV Yöntemlerine Ait Kalibrasyon Eğrilerinin Özellikleri .....	77
4.6. CEFA'nın ADCE'de SWV Yöntemi ile Analizinde Gün İçi ve Günler Arası	
4.7. CEFA'nın M-CKE'de SWV Yöntemi ile Analizinde Gün İçi ve Günler Arası Kesinlik ve Doğruluk Bulguları.....	80
4.8. CEFA'nın ADCE ve M-CKE Kullanılarak SWV Yöntemi ile Analizinde Cihaz Tekrarlanabilirliği Bulguları.....	81
4.9. CEFA'nın ADCE'de SWV Yönteminin Sağlamlığına Ait Analiz Bulguları...	82
4.10. CEFA'nın M-CKE'de SWV Yönteminin Sağlamlığına Ait Analiz Bulguları .	83
4.11. CEFA'nın ADCE'de SWV Yönteminin Tutarlılığına Ait Analiz Bulguları ....	84
4.12. CEFA'nın M-CKE'de SWV Yönteminin Tutarlılığına Ait Analiz Bulguları ..	85
4.13. CEFA'nın SWV Yöntemleri ile Sentetik Preparatlardan Analiz Bulguları.....	87
4.14. Geliştirilen Yöntemlerle Cefaks Tablete Ait Kalibrasyon Grafiği Yöntemi ile Elde Edilen Analiz Bulguları.....	88
4.15. 8.00 µg mL <sup>-1</sup> CEFA'nın Farklı pH'larda log İpik Değerlerinin log v ile Değişimlerinin Doğru Denklemleri .....	92
4.16. 8.00 µg mL <sup>-1</sup> CEFA'nın Farklı pH'larda Epik Değerlerinin logv ile Değişimlerinin Doğru Denklemleri .....	93



5.1.	8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın SWV Yönteminde Yarı Pik Genişliği Teorisi ile Farklı pH Değerlerinde Hesaplanan $\alpha_c n_\alpha$ Değerleri.....	110
5.2.	8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CV Yöntemi ile Farklı pH Değerlerinde log v Epik Grafiklerinden Hesaplanan $\alpha_c n_\alpha$ Değerleri.....	110
5.3.	8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CV Yöntemi ile Farklı pH Değerlerinde $E_p-E_{p/2}$ Kaymalarından Hesaplanan $\alpha_c n_\alpha$ Değerleri .....	111
5.4.	8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA için CV Yönteminde Değişik Tarama Hızlarında Hesaplanan Difüzyon Katsayıları .....	112
5.5.	15.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CC Yöntemiyle Hesaplanan Difüzyon.....	112
	Katsayıları.....	112
5.6.	15.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA İçin CC Yöntemi ile Hesaplanan Elektron Aktarım....	114
	Sabiti Değerleri.....	114
5.7.	8.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CV Yönteminde Farklı Tarama Hızlarında Akım Fonksiyonları .....	115
5.8.	$1.962 \times 10^{-8}$ mol ( $\text{cm}^3$ ) <sup>-1</sup> CEFA için CC Yöntemi ile Uygulanan Puls Genişliğine Göre Adsorplananan Madde Miktarı.....	116
5.9.	31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CV Yöntemi ile pH 2'de log v-Epik Grafiklerinden Hesaplanan $\alpha_c n_\alpha$ değerleri .....	117
5.10.	31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA için CV Yönteminde Değişik Tarama Hızlarında Hesaplanan Difüzyon Katsayıları .....	118
5.11.	31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CC Yöntemiyle Hesaplanan Difüzyon Katsayıları.....	119
5.12.	31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA için CA Yöntemi ile Hesaplanan Elektron Aktarım Sabiti Değerleri.....	119
5.13.	31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA için CC Yöntemi ile Hesaplanan Elektron Aktarım....	120
	Sabiti Değerleri.....	120
5.14.	16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CV Yönteminde Farklı Tarama Hızlarında Akım Fonksiyonları .....	120
5.15.	16.129 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CEFA'nın CV Yöntemi ile pH 2 ve 3'de $E_p-E_{p/2}$ Kaymalarından Hesaplanan $\alpha_c n_\alpha$ Değerleri.....	128

## 1. GİRİŞ ve AMAC

Bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik ilaçlar kullanılmaktadır. Sefuroksim aksetil (CEFA), sefalosporin türevi olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. II. Kuşak sefalosporinlerden olan sefuroksim (CEF) ağız yolu ile ancak % 1 oranında emilebildiğinden oral preparatını hazırlama çalışmaları sonucunda CEF'in asetoksi etil ester türevi olan CEFA bulunmuştur. CEFA, CEF'in oral kullanımına elverişli formudur. Alt ve üst solunum yolu enfeksiyonları, üriner ve genital sistem enfeksiyonları, piyelonefrit, sistit, üretrit gibi deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında etkilidir.

Kaynaklarda CEFA analizi için spektrofotometrik (1-8), kromatografik (9-16), ve kapiler elektroforez yöntemler (17,18) ile tek başına ve/veya karışım halinde analizleri bildirilmiştir. Ancak elektrokimyasal yöntemlerle analizi ile ilgili tek bir makale bulunmaktadır ve o çalışmada diferansiyel puls voltametri yöntemi ile asidik ortamda CEFA'nın analizi yapılmıştır (19). CEFA'nın farmasötik preparatlardan kare dalga voltametri yöntemi ile analizine rastlanmaması üzerine literatüre bu konuda katkı sağlamak amacıyla çalışma yapılmasına karar verilmiştir.

CEFA'nın yapısında hem indirgenecek hem yükseltgenecek elektroaktif grup bulunmaktadır. Kaynaklarda yükseltgenmesine dayalı çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu durum bizi CEFA'nın elektrokimyasal davranışlarını hem indirgenme hem yükseltgenme açısından incelenmesi konusuna yönlendirmiştir.

Bu tez çalışmasında CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için kare dalga voltametri (SWV) ile indirgenme ve yükseltgenmesine dayalı olmak üzere, asılı duran cıva elektrot (ADCE) ve modifiye camısı karbon elektrot (M-CKE) kullanılarak iki yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen yöntemlerin kararlılık, doğruluk, kesinlik, duyarlılık, sağlamlık, tutarlılık, özgünlük ve geri kazanım gibi validasyon parametrelerinin değerlendirilmesinden sonra, piyasada satılan farklı miktarlarda etkin madde içeren preparatlardaki CEFA analizine uygulanması ve geliştirilen yöntemlerden elde edilen sonuçların kaynaklarda verilen analiz yöntem sonuçları ile istatistiksel açıdan karşılaştırılması planlanmıştır. Ayrıca CEFA'nın indirgenme ve yükseltgenme yönünden elektrokimyasal davranışlarının ADCE ve M-CKE kullanılarak ayrı ayrı incelenmesi için dönüşümlü voltametri (CV), kronoamperometri (CA) ve kronokulometri (CC) yöntemleri uygulanmıştır. Elektrot

reaksiyonunun tersinirliği, pik akımlarının karakteri, transfer edilen elektron sayısı ( $n$ ), elektron aktarım hız sabiti ( $k_f$ ), difüzyon katsayısı ( $D$ ) ve elektrot mekanizması gibi parametrelerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Antibakteriyel İlaçlar (20,21)

Antibakteriyel ilaçların önemli bir bölümünü antibiyotikler oluşturur. Antibakteriyel ilaçlar tüm mikroorganizma grup ve türlerine etki göstermez. Az sayıda mikroorganizma türüne etkili olan ilaçlara *dar spektrumlu antibakteriyel ilaçlar*, çok sayıda mikroorganizma türüne etkili olan ilaçlara *geniş spektrumlu antibakteriyel ilaçlar* denir.

Antibakteriyel ilaçlar mikroorganizma üzerine gösterdikleri etkilere göre bakterisid ve bakteriostatik (bakteriyostatik) etkili olarak gruplandırılır.

#### ***Bakterisid Etkili Antibakteriyel İlaçlar***

Bakteriyi öldüren ve yok eden ilaçlardır. Penisilinler, Sefalosporinler, Karbapenemler, Monobaktamlar, Aminoglikozidler, Florokinolanlar, Nitroimidazoller, Rifampin ve Vankomisin bakterisid etkili ilaçlardır.

#### ***Bakteriostatik Etkili Antibakteriyel İlaçlar***

Bakterilerin üremesini ve gelişmesini engelleyen ilaçlardır. Gelişmesi ve üremesi durdurulan mikroorganizmalar vücuttaki savunma hücreleri tarafından da kolaylıkla yok edilir. Tetrasiklinler, Sülfonamidler, Amfenikoller, Linkozamidler, Makrolidler ve Azolidler

#### **2.1.1. Antibakteriyel İlaçların Etki Mekanizmaları**

**Bakteri hücre duvarı sentezlenmesini engelleyenler:** Bu gruptaki ilaçlar hücre duvarı sentezlenmesi tamamlanmamış bakterileri etkileyerek bakteriyi yok eder. Hücre duvarı sentezini tamamlamış olan bakterilere etkileri yoktur. Penisilinler, Sefalosporinler, Novobiosin, Basitrasin, Aztreonam, Vankomisin ve İmipenem bakteri hücre duvarı sentezini bozan ilaçlardır.

**Bakteri hücresinin membran geçirgenliğini bozanlar:** Bakteri sitoplazma membran geçirgenliğini artırarak, hücre içinde bulunan maddelerin hücre dışına çıkmasını sağlayarak bakterisid etki oluşturur. Gelişmesini tamamlamış bakterileri de etkiler. Polimiksinler, Gramisidin, Amfoterisin B ve Nistatin bu etkiye sahip ilaçlardır.

**Bakteri hücresinin protein sentezini engelleyenler:** Bakteri hücresinde protein sentezini inhibe eder. Bazıları bakterisid, bazıları bakteriyostatik etki oluşturur. Geniş spektrumlu ilaçlardır. Bu gruptaki ilaçlar; Tetrasiklinler, Aminoglikozidler, Kloromfenikol, Eritromisin, Linkomisin ve Oleandomisin' dir.

**Bakteri hücresinin genetik yapısını bozanlar:** Bunların büyük kısmı bakteri genetik yapısını etkilerken konakçı hücre çekirdeğini de etkilediklerinden sitotoksik ilaçlardır. Diğerleri ise antineoplastik ilaç olarak malign (kötü huylu) tümörlerin tedavisinde kullanılır. Diğerleri ise konakçı hücresinde fazla toksik etki göstermez. Bu gruptaki ilaçlar; Mitomisinler, Aktinomisinler, Rifamisinler, Fluorokinolanlar ve Nitroimidazoller'dir.

**İntermediyer metabolizmayı bozanlar:** Bu gruptaki ilaçlar bakteri metabolizması için gerekli olan bir maddenin sentezini önler. Bu gruptaki ilaçlar; Sülfonamidler, Sulfonlar, Etambutol, Trimetoprim ve İzoniazid'dir.

## 2.2. Sefalosporin Grubu Antibiyotikler (20,22,23)

Sefalosporinler ilk kez Cephalosporium türü mantardan elde edilmişlerdir. Penisilinler gibi bakteri hücre duvarının sentezini bozarak ve bakterideki otolitik enzimleri aktive ederek bakterisid etki oluşturan ve tedavide penisilinlerinkine benzer endikasyonlarda kullanılan  $\beta$ -laktam türü antibiyotiklerdir. Molekülünün antibakteriyel etkisinden çekirdek kısmındaki  $\beta$ -laktam halkası sorumlu olduğundan  $\beta$ -laktam ya da  $\beta$ -laktamlar adı verilir.  $\beta$ -laktam halkası; bir azot ve üç karbon atomundan oluşan 4 üyeli doymuş bir halkadır. 1940'lı yıllardan günümüze kadar moleküler özellikleri sürekli geliştirilerek antibakteriyel tedavide yaygın kullanılan antibiyotik türlerinden biri durumuna gelmiştir. Birbirinden farklı özellikleri ve moleküler yapıları ile günümüzde dördüncü kuşak sefalosporinlere kadar farklı grupları kullanımdadır. Birinci kuşaktakiler gram pozitif koklara daha fazla etkili iken, üçüncü kuşaktakiler gram-negatif çomaklar üzerine daha fazla etkilidir. İkinci kuşak sefalosporinler bu özellikleri ile diğer iki grup arasında yer alırlar. Dördüncü kuşak sefalosporinlerin gram pozitif bakterilere etkisi birinci kuşak sefalosporinlere, gram negatiflere etkisi de üçüncü kuşak sefalosporinlere benzerlik göstermekte ve indüklenebilir  $\beta$ -laktamazlara karşı da dayanıklı olmaları nedeniyle diğerlerinden ayrılmaktadır. Sefalosporinlerin artan gram negatif bakteri etkinlikleri,  $\beta$ -laktam

halkasının 7. pozisyonunda bulunan "metoksi" grubu yerine bir hidrojen atomunun yerleşmesi ile gerçekleşmektedir. Sefalosporinlerin ortak kimyasal özelliği, altı üyeli dihidrotyazin halkası ve buna bağlı dört üyeli  $\beta$ -laktam halkasıdır.  $\beta$ -laktam halkasının 7. konumundaki farklılıklar antibakteriyel etkinin, 3. konumdaki farklılıklar ise farmakokinetik ve toksik özelliklerin belirlenmesinde rol oynar. Sefalosporinlerde de yeni moleküller geliştikçe bakterilerin oluşturduğu direnç oranı ve direnç türü de artış göstermiştir.

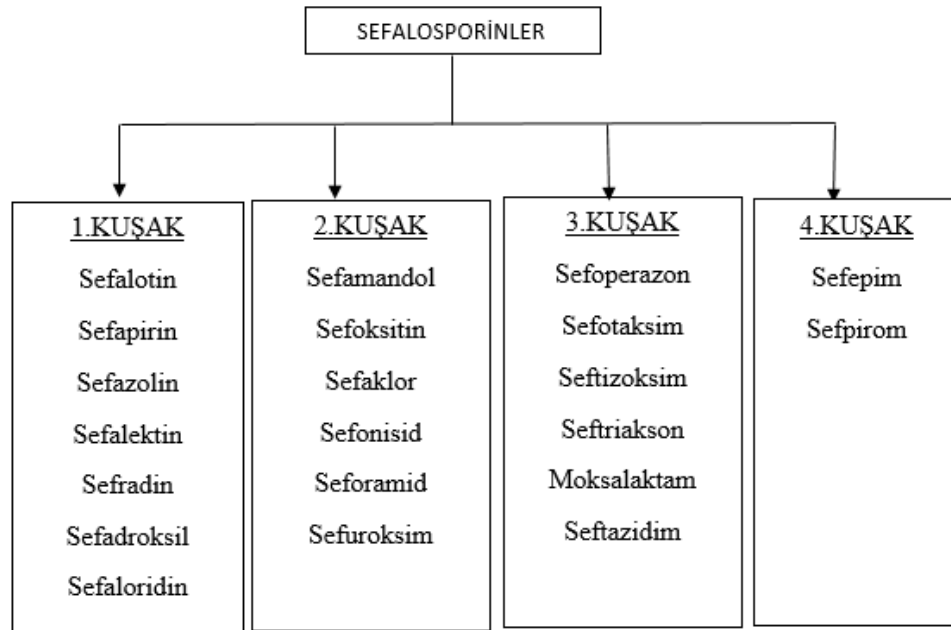
**I. Kuşak sefalosporinler:** Bu grupta sefalotin, sefazolin gibi parenteral, sefaleksil, sefadroksil gibi oral ve sefradin gibi hem parenteral, hem de oral kullanılabilen bileşikler bulunmaktadır. Gram-pozitif bakterilere en etkili sefalosporin grubudur. Gram-negatif etkinlikleri E.coli, Proteus mirabilis ve K. pneumoniae gibi bakterilerle kısıtlıdır. Bu özellikler göz önüne alındığında, yumuşak doku infeksiyonları gibi stafilokoksik infeksiyonlarda ilk seçilecek ilaçlar arasındadır. Ayrıca, idrar yolu infeksiyonları ve safra yolu infeksiyonlarında da kullanılabilirler.

**II. Kuşak sefalosporinler:** Sefaklor, sefuroksim, sefuroksim aksetil, sefprozil bu gruptandır. İkinci kuşak sefalosporinler birinci kuşaklara yakın veya eşit bir gram-pozitif etkinliğe sahiptir. Bunun yanında gram-negatif etkinlikleri biraz daha fazladır. Sefuroksim ve sefoksitin parenteral, diğerleri oral yoldan kullanılır. CEF'in tek başına oral emilimi yeterli değildir. Bu nedenle parenteral yoldan kullanılır. CEF'e aksetil yapısı eklendiğinde yağda çözünürlüğü ve gastrointestinal sistemden emilimi artar. CEFA, sefuroksimin oral kullanıma elverişli olan formudur. Etki alanları göz önüne alındığında başlıca kullanım alanları solunum sistemi enfeksiyonlarıdır. Akut tonsillofarenjitler, akut otitis media ve akut sinüzit gibi üst solunum yolu infeksiyonları, pnömoni ve KOAH alevlenmeleri gibi alt solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek ilaçlar arasında yer alırlar. Ayrıca, komplike olmayan üriner sistem infeksiyonları, deri ve yumuşak doku infeksiyonlarında da oldukça iyi etkinlik gösterirler.

**III. Kuşak sefalosporinler:** Sefoperazon, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim ve sefodizim sadece parenteral kullanılan üçüncü kuşak sefalosporindir. Bu gruba ait olan sefiksim; oral kullanılabilen tek antibiyotiktir. Bu grup sefalosporinlerin en etkili olduğu bakteriler gram-negatif çomaklardır. Gram-pozitif bakterilere karşı

etkinlikleri birinci kuşaklara oranla oldukça azdır. Sefotaksim gram-pozitif etkinliği en iyi olan üçüncü kuşak sefalosporindir. En az etkili olan ise seftazidimdir. Hiçbirinin iyi bir anti-anaerop etkinliği yoktur. Üçüncü kuşak sefalosporinler gram-negatif sepsis gibi ciddi enfeksiyonlarda, gram-negatif bakterilerle oluşan hastane kökenli enfeksiyonlarda genellikle aminoglikozitlerle kombine olarak, beyin-omurilik sıvısına iyi geçtiklerinden ve başlıca menenjit etkenlerinin tümüne etkili olduklarından akut bakteriyel menenjitlerde (gram-negatif basil menenjitleri dahil) kullanılırlar.

**IV. Kuşak sefalosporinler:** Bu grupta sefepim bulunmaktadır. Sefepimin gram-negatif bakterilere etkinliği mükemmeldir. Üçüncü kuşaklardan farklı olarak Enterobacter türlerine etkinliği de çok iyidir. Üçüncü kuşaklardan bir diğer farklı yönleri gram-pozitif bakterilere onlardan daha etkili olmalarıdır. Yani daha geniş ve dengeli bir etki alanına sahiptir. Ancak, antianaerop etkinliği iyi değildir. Sadece parenteral kullanılır. Kullanım alanları üçüncü kuşak sefalosporinler gibidir. Şekil 2.1.'de sefalosporinlerin sınıflandırılması görülmektedir.



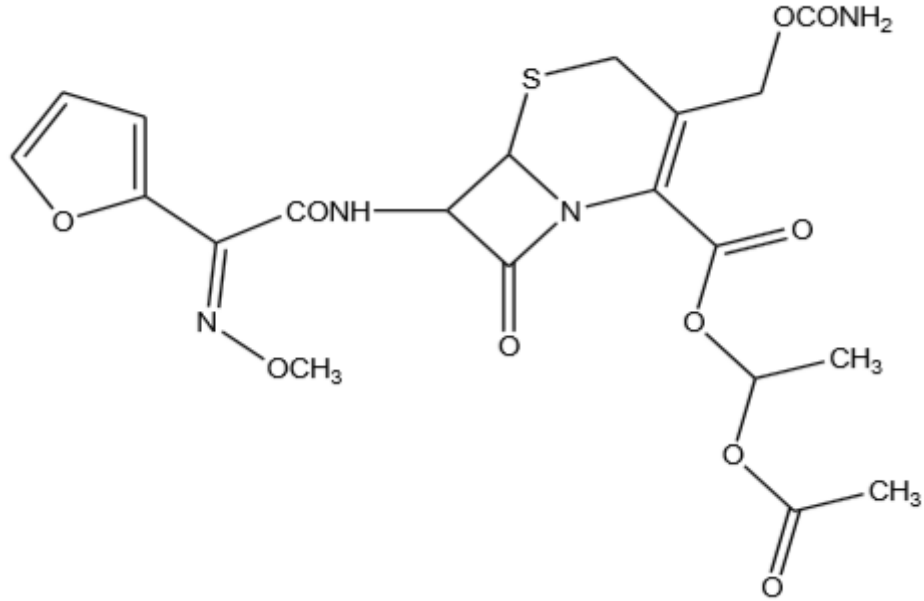
**Şekil 2.1.** Sefalosporinlerin Sınıflandırılması

### 2.3. Sefuroksim aksetil (CEFA) (24)

Sefalosporinlerin esterli türevlerinden tedavide en yaygın kullanılan sefuroksim aksetildir. İkinci kuşak sefalosporinlerden olan sefuroksim sodyum (CEF Na) ağız yolu ile ancak % 1 oranında emilebildiğinden oral preparatını hazırlama araştırmaları sonucunda CEFA bulunmuştur. CEFA; CEF'in C<sub>4</sub> pozisyonuna asetoksietilester bağlanması ile oluşur. Klinik olarak etkin olabilmesi için bu asetil grubunun hidrolize uğraması gerekmektedir. Bu hidroliz; kanda, karaciğerde ve intestinal mukozada yaygın olarak bulunan nonspesifik esterazlar tarafından gerėekleřtirilir. CEF'in lezzeti kötü olduğundan film kaplı tabletler tercih edilir. Ancak film kaplı tabletlerin mide ortamında çözünmeyen jel oluşturma olasılıkları bulunmaktadır. CEFA emildikten sonra 3-4 dakika gibi kısa bir sürede barsakta luminal esterazlar tarafından hızla CEF'e hidrolize olur. CEF fizyolojik pH'larda anyon durumunda olduğundan lipid çözünlüğü ve dolayısı ile emilimi yok denecek kadar düşüktür. Ancak yiyeceklerden hemen sonra alınırsa biyoyararlanım % 25- 87 oranında artabilir. Besinlerin esterazları baskıladıkları düşünölmektedir. Biyoyararlanımın yiyeceklerle bağlı olması CEFA'nın düzenli serum düzeyi sağlama olasılığına kuşku düşörmektedir.



### 2.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri



Şekil 2.2. CEFA Molekülünün Kimyasal Yapısı

CEFA; sefuroksimin 1-(asetiloksi) etil esteridir (Şekil 2.2). Molekül formülü  $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$  ve molekül ağırlığı 510.48 g/mol' dür. (6R, 7R) -7 - [2 - furil (metoksi-imino)-asitamido] -3 - karbamoiloksimetil-8 - okso - tiya-1 - azabisiklo [4.2.0] okt-2 - en-2 - karboksilik asit, 1 - asetoksi-etil ester olarak okunur.

### 2.3.2. Farmakodinamik Özellikleri (21)

CEFA, bakterisit bir antibiyotik olan sefuroksimin oral ön ilacıdır. CEF, bakteriyel  $\beta$ -laktamazlara karşı iyi bir stabilite gösterir ve sonuç olarak ampisilin veya amoksisiline dirençli suşların pek çoğuna etkilidir. CEF önemli hedef proteinlere bağlanarak bakterilerde hücre duvarı sentezini önleyerek bakterisit etki gösterir.

**Aerob Gram-negatif mikroorganizmalar:** Haemophilus influenzae (ampisiline dirençli türler dahil), Haemophilus parainfluenzae, Moraxella catarrhalis, Neisseriagonorrhoeae (penisilnaz üreten ve üretmeyen türler dahil), Escherichia coli, Klebsiella türleri, Proteus mirabilis, Providencia türleri, Prividencia rettgeri.

**Aerob Gram-pozitif mikroorganizmalar:** Staphylococcus aureus (Penisilnaz üreten türler dahil, metisiline dirençli suşlar hariç), Staphylococcus

epidermidis (Penisilinaz üreten türler dahil, metisiline dirençli suşlar hariç), Streptococcus pyogenes (ve diğer beta hemolitik streptokoklar), Streptococcus pneumoniae, (Streptococcus agalactiae)

**Anaerob mikroorganizmalar:** (PeptococcusPeptostreptococcus türleri dahil), Gram negatif koklar (PeptococcusPeptostreptococcus), Gram-pozitif basiller (Clostridium türleri dahil) Gram-negatif basiller (BacteroidesFusobacterium türleri dahil), Propionibacterium.

**Diğer organizmalar:** Borrelia burgdorferi

### 2.3.3. Farmakokinetik Özellikleri (21)

#### Absorpsiyon

CEFA oral yoldan alındığında gastrointestinal sistemden absorbe edilir. CEFA aç veya tok karnına alınabilir. Ancak tok olarak alındığında absorpsiyon ve biyoyararlanımının daha yüksek olduğu (mutlak biyoyararlanımı %37'den % 52'ye yükselmiş) görülmüştür. CEFA tabletleri yemeklerden sonra alındığında, yaklaşık 2.4 saat sonra ulaşılan doruk plazma düzeyleri 125 mg'lık doz için  $2.9 \text{ mg L}^{-1}$ , 250 mg'lık doz için  $4.4 \text{ mg L}^{-1}$ , 500 mg'lık doz için  $7.7 \text{ mg L}^{-1}$  ve 1 g'lık doz için  $13.6 \text{ mg L}^{-1}$  olarak saptanmıştır. CEFA süspansiyonun absorpsiyon hızı tabletlere nazaran daha az olup, doruk serum seviyeleri daha düşüktür ve sistemik biyoyararlanımı azalmıştır.

#### Dağılım

CEFA serum proteinlerine yaklaşık % 50 oranında bağlanır ve metabolize olup CEF'e dönüştükten sonra tüm ekstrasellüler sıvılara dağılır.

#### Metabolizma

CEFA nonspesifik esterazlarla barsak mukozasında ve kanda süratle CEF'e hidrolize olur. Kalan aksetil ise asetaldehit ve asetik aside metabolize olur.

#### Renal atılım

CEF, büyük ölçüde idrarla değişmemiş olarak atılır. Uygulanan dozun yaklaşık % 50'si 12 saat içinde idrardan uzaklaştırılır. Yarılanma ömrü 1-1.5 saattir. Renal fonksiyonlarında bozukluk olan hastalarda ilacın yarılanma ömrü uzar. Ortalama kreatinin klerensi  $34.9 \text{ mL dk}^{-1}$  olan yaşlı bireylerde eliminasyon yarılanma ömrünün 3.5 saate kadar uzadığı görülmüştür. Probenesid ile verilmesi atılımını geciktirir.

### **Yan etkiler**

CEFA'nın yan etkileri genellikle hafif ve geçici özelliktedir. Yan etkiler için belirlenen sıklık kategorileri tahminidir, plasebo kontrollü çalışmalarda da olduğu gibi birçok reaksiyonda insidansı hesaplamak için elverişli veri (örneğin plasebo kontrollü çalışmalardan sağlanan veriler) bulunmamaktadır. Ayrıca CEFA'ya bağlı yan etkilerin insidansları endikasyona göre değişebilmektedir.

### **İlaç etkileşimleri**

Mide asiditesini azaltan ilaçlar açlık durumuyla karşılaştırıldığında CEFA'nın biyoyararlanımını azaltabilir ve yemek sonrası absorpsiyonundaki artışı ortadan kaldıracaktır. Probenesid ile beraber kullanıldığında sefuroksimin plazma doruk konsantrasyonu tek başına kullanıldığında konsantrasyona oranla daha yüksek bulunmuştur.

## **2.4. Sefuroksim aksetilin Analiz Yöntemleri**

### **2.4.1. Spektrofotometrik Analiz Yöntemleri**

Amir ve diğ. (1), CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için basit, hassas, doğru ve tekrarlanabilir UV spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. CEFA; metanol (MeOH) içerisinde 278 nm'de maksimum absorpsiyon vermiştir ve 0.80-3.60  $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Regresyon denklemi;  $y = 0.05x + 0.048$ , korelasyon katsayısı ise; 0.995'dir. Geliştirilen yöntem valide edilmiştir. Gün içi ve günler arası kesinliği yüksek bulunmuştur.

Pritam ve diğ. (2), CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için basit, hızlı, doğru ve ekonomik UV spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. CEFA'nın maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu 0.1 N HCl içerisinde 281 nm'dir. Doğrusallık aralığı 0.4-2.0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , korelasyon katsayısı 0.998 ve geri kazanım değerleri % 98.54-99.98 arasında bulunmuştur. Bağlı standart sapma (BSS) % 2'den düşük olduğundan yöntemin kesin olduğu söylenmiştir. Geliştirilen yöntemin CEFA'nın tabletlerden rutin analizinde hızlı ve düşük maliyetli olduğu belirtilmiştir.

Chaudhari ve diğ. (3), katı dozaj formlarında kombine halde bulunan CEFA ve probenesidin eş zamanlı tayini için basit, hızlı ve kesin UV spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. CEFA ve probenesid sırasıyla 280 ve 249 nm'de absorpsiyon

göstermişlerdir. Yöntemin doğruluk ve kesinliği istatistiksel olarak valide edilmiştir. Yöntem iyi bir tekrar üretilebilirlik ve %2'den düşük BSS ile iyi bir geri kazanım göstermiştir. Yöntem pazarlanan formülasyonların in vitro dissolüsyonu ve tayini için başarılı bulunmuştur.

Game ve diğ. (4), CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için basit iki spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Birinci yöntem; basit UV spektrofotometrik yöntemdir. CEFA 0.1 N HCl içerisinde 281 nm'de maksimum absorbans vermiştir. Yöntemin doğrusallık aralığı 2-30  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. İkinci yöntem ise; birinci türev spektrofotometrik yöntemdir. CEFA 0.1 N NaOH içerisinde 266 nm'de maksimum absorbans, 300 nm'de minimum absorbans vermiştir. Yöntemin doğrusallık aralığı; 4-30  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Her iki yöntem valide edilmiştir. Seçilen dalga boylarında ve deney koşullarında tabletteki yardımcı maddelerin girişiminin olmadığı bulunmuştur.

Ingale ve diğ. (5), CEFA ve potasyum klavulanatın kombine halde olduğu farmasötik preparatlardan aynı anda analizi için basit, hızlı ve hassas spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. MeOH içerisinde maksimum absorbansları CEFA için 284 nm, potasyum klavulanat için 271 nm'de ölçülmüştür. CEFA için doğrusallık aralığı 5-50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , korelasyon katsayısı 0.999, potasyum klavulanat için doğrusallık aralığı 1-30  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , korelasyon katsayısı 0.998'dir. Geliştirilen yöntem ICH'e göre valide edilmiştir.

Pavankumar ve diğ. (6), CEFA'nın katı dozaj formlarından tayini için üç basit ve doğru spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. A yönteminde; UV spektrofotometrik ölçümler maksimum absorpsiyon 277 nm'de yapılmıştır. B yöntemi; demir klorür varlığında CEFA ve 3-metil-2-benzotiyazolinon hidrazon hidroklorür monohidrat (MBTH) arasındaki oksidasyon reaksiyonu yoluyla yeşil renkli kromojen oluşumuyla ilgilidir, ölçümler 624 nm'de yapılmıştır. C yöntemi ise; Poli-dialildimetilamonyum klorür (PDAC) ile pembe renkli kromojen oluşumuna dayanır ve ölçümler 537 nm'de yapılmıştır. Reaksiyonu etkileyen çeşitli parametre koşulları optimize edilmiştir. Optimize şartlar altında; doğrusallık aralığı A yöntemi için; 5-25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , B yöntemi için; 1-5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , C yöntemi için; 2-10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'dir. Korelasyon katsayıları A yöntemi için; 0.999, B yöntemi için; 0.9992, C yöntemi için; 0.998'dir. Doğrusallık, kesinlik, doğruluk, sağlamlık ve tutarlılık gibi validasyon

parametreleri valide edilmiş bir yöntemle karşılaştırılmıştır. Geliştirilen yöntemler için seçilen dalga boylarında tabletteki yardımcı maddelerin girişiminin olmadığı bulunmuştur. Geliştirilen yöntemlerin farmasötik preparatlardan CEFA tayini için başarılı olduğu düşünülmüştür.

Sengar ve diğ. (7) CEFA ve potasyum klavulanatın farmasötik preparatlardan aynı anda analizi için doğru, kesin, hassas ve ekonomik iki spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Bunlar; absorbans ve birinci türev spektrofotometrik yöntemlerdir. I. Yöntemde 277 nm'de potasyum klavulanatın absorbansı sıfırdır, CEFA tayin edilmiştir. 218 nm'de CEFA'nın absorbansı düzeltildikten sonra potasyum klavulanat tayin edilmiştir. II. yöntemde potasyum klavulanat için 230 nm, CEFA için 300 nm seçilmiştir. Analiz sonuçları istatistiksel olarak valide edilmiş ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Shelke ve diğ. (8), CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için basit, doğru, ucuz ve tekrarlanabilir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Maksimum absorpsiyon MeOH içinde 281 nm'de ölçülmüştür. Farmasötik preparatlardan geri kazanım değeri;  $99.97 \pm 0.3969$  bulunmuştur. Geliştirilen yöntem doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve hassaslık açısından valide edilmiştir. Doğrusallık aralığı; 4-28  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , regresyon denklemi;  $y = 0.0346x + 0.0566$ , korelasyon katsayısı ise; 0.9999'dır.

#### **2.4.2. Kromatografik Analiz Yöntemleri**

Can ve diğ. (9), tabletlerden, serumdan ve idrardan CEFA tayini için basit ve kesin sıvı kromatografik ve akış enjeksiyon analiz yöntemi geliştirmişler ve valide etmişlerdir. İç standart olarak İndapamid, hareketli faz olarak 0.1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 4) ve asetonitril (70:30, h/h) kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 1 mL  $\text{dk}^{-1}$  ile 281 nm de 11. dk'da CEFA tayin edilmiştir. Akış enjeksiyon analizi; MeOH:  $\text{H}_2\text{O}$  (10:90, h/h) ve 1 mL  $\text{dk}^{-1}$  akış hızı ile gerçekleştirilmiştir. LOD ve LOQ değerleri HPLC analizi için  $1.35 \times 10^{-7}$  and  $4.08 \times 10^{-7}$  M, akış enjeksiyon analizi için  $1.31 \times 10^{-7}$  and  $4.00 \times 10^{-7}$  M'dir. Tablet formülasyonunun analizi ile elde edilen sonuçlar, bir spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında yöntemler arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

Kumar ve diğ. (10), CEFA tayini için; hızlı ve tekrarlanabilir yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi geliştirmişlerdir. Hareketli faz olarak MeOH ve 0.01 M pH 2- 5 potasyum dihidrojen o- fosfat tamponu (60: 40 h/h), akış hızı 0.8 mL dk<sup>-1</sup> ve 248 nm seçilmiştir. Alıkonma zamanı 3.693 dk'dır. Yöntem CEFA konsantrasyonu 0.45 ve 80 µg mL<sup>-1</sup> arasında doğrusal cevap vermiştir. Geliştirilen HPLC yöntemi ile LOD değeri 0.26, LOQ değeri 0.58 µg mL<sup>-1</sup> bulunmuştur. Yöntem ICH rehberine uygun olarak başarı ile valide edilmiştir.

Sengar ve diğ. (11), CEFA ve potasyum klavulanat tayini için basit, spesifik, doğru ve kesin HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. İlaçların ayrılması Hypersil Gold C-18 kolon (250 mm × 4.6 mm i.d.) ile Jasco HPLC sistemde, hareketli faz olarak 0.01 M Potasyum dihidrojen fosfat: MeOH (60: 40 h/h) kullanılarak sağlanmış ve madde UV dedektörde 225 nm'de tespit edilmiştir. Doğrusallık aralığı CEFA için 5-50 µg mL<sup>-1</sup>, potasyum klavulanat için 5-30 µg mL<sup>-1</sup> bulunmuştur. Ortalama alıkonma zamanı potasyum klavulanat ve CEFA'nın 2 izomeri için sırasıyla 2.573, 8.293 and 9.987 dk'dır. Günler arası bağıl standart sapma CEFA için %0.328, potasyum klavulanat için %0.382 dir. Gün içi bağıl standart sapma CEFA için %0.545, potasyum klavulanat için %0.552'dir. Geri kazanım CEFA için 100.976 ± 0.439, potasyum klavulanat için 101.053 ± 0.423 (ortalama ± SS) bulunmuştur.

Ingale ve diğ. (12), tablet dozaj formundan CEFA ve potasyum klavulanatın eş zamanlı tayini için basit, kesin, özgün ve doğru ters faz HPLC yöntem geliştirmeyi amaçlamışlardır. Hareketli faz olarak metil alkol ve su (90:10, h/h) 1.0 mL dk<sup>-1</sup> akış hızı ile kullanılmıştır. Alıkonma zamanları; CEFA için 2.46, potasyum klavulanat için 3.33 dk'dır. Yöntem özgünlük, doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve sağlamlık açısından ICH ' e göre valide edilmiştir. Korelasyon katsayısı; CEFA için 0.996 ve potasyum klavulanat için 0.992'dir. Standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri kabul edilebilirdir. Yöntem CEFA ve potasyum klavulanatın eş zamanlı tayini için özgün, doğru ve kesin olduğundan; bu iki ilacı beraber ya da ayrı ayrı içeren farmasötik preparatların rutin ya da kalite kontrol analizleri için uygun bulunmuştur.

Krzek ve diğ. (13), ince tabaka kromatografi ve dansitometre ile CEFA ve CEF'in tanınması ve miktar tayini için gereken şartları denemişlerdir. İki etkin maddenin iyi bir şekilde ayrılması silikajel üzerinde hareketli faz olarak kloroform: etil asetat: glasiyel asetik asit: su (4:4:4:1, h/h/h/h) ile gerçekleştirilmiştir.

Kromatogram üzerinde noktaların belirlenmesinde UV dansitometre kullanılmıştır. CEFA ve CEF için gözlenebilir sınırları sırasıyla 40 ng ve 30 ng, geri kazanım değerleri % 99.93 ve % 97.94 olarak bulunmuştur.

Pramar ve diğ. (14), CEFA'nın miktar tayini için kararlılığını gösteren HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntem; doğru, kesin ve tekrarlanabilir. Geliştirilen yöntem kullanılarak CEFA süspansiyonlarının stabilitesi incelenmiştir. Süspansiyonların içerisindeki CEFA; 5°C'de depolandığında 28 gün kararlıdır. Ek olarak; numunelerin pH değeri ve fiziksel görünüşü değişmemiştir.

Ranjane ve diğ. (15), CEFA ve ornidazolün kombine halde olduğu tabletlerden iki etkin maddenin tayini için yeni ve basit yüksek performanslı ince tabaka kromatografik yöntem geliştirmişler ve valide etmişlerdir. Ayırım silikajel ile kaplanmış alüminyum plaklarda gerçekleşmiş, hareketli faz olarak toluen-n-bütanol-trietilamin (8.5:2:0.5, h/h/h/h) kullanılmıştır. İlaçların miktar tayini plakların 285 nm'de densitometrik taranması ile gerçekleştirilmiştir. Ornidazol ve CEFA için alıkonma faktörü; sırasıyla  $0.51 \pm 0.007$  ve  $0.67 \pm 0.009$ 'dır. Yöntem doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve sağlamlık açısından valide edilmiştir. Ornidazol ve CEFA için doğrusallık aralığı 100- 500 ng/band olarak bulunmuştur. Yöntem farmasötik formülasyonlarda ilaçların analizi için başarıyla uygulanmıştır ve % geri kazanım; CEFA için  $102.36 \pm 0.775$ , ornidazol için  $101.00 \pm 1.192$  olarak bulunmuştur.

Ranjane ve diğ. (16), CEFA ve ornidazolün kombine halde olduğu tabletlerden iki etkin maddenin eş zamanlı tayini için basit, doğru ve hassas ters faz HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. C18 kolonda hareketli faz olarak 0.01 M potasyum dihidrojen orto fosfat- metil alkol (56:44, h/h) ve iç standart olarak tinidazole kullanılmıştır. Doğrusallık aralığı; CEFA için 5-25, ornidazol için 10-50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  bulunmuştur. Yöntem başarılı bir şekilde valide edilmiş ve farmasötik formülasyonlarda ilaçların analizi için uygulanmıştır.

### **2.4.3. Kapiler elektroforez analiz yöntemi**

Altria ve Rogan (17), CEFA için yüksek performanslı kapiler elektrokinetik kromatografi (HPCE) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu amaçla kapiler elektroforez (CZE) ve misel elektrokinetik kapiler kromatografi (MECC) teknikleri araştırılmıştır.

Raj (18), sefiksim trihidrat ve CEFA tayini için basit, güvenilir ve tekrarlanabilir elektroforetik yöntem geliştirmişlerdir. Proteinlerin ayrılması amacıyla indirgeme ajanı olarak merkaptotanol içinde anyonik yüzey aktif madde olarak sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanılmıştır. Proteinlerinin tespiti ve karakterizasyonu için hızlı ve hassas bir deney yöntemidir.

#### **2.4.4. Voltametrik Analiz Yöntemleri**

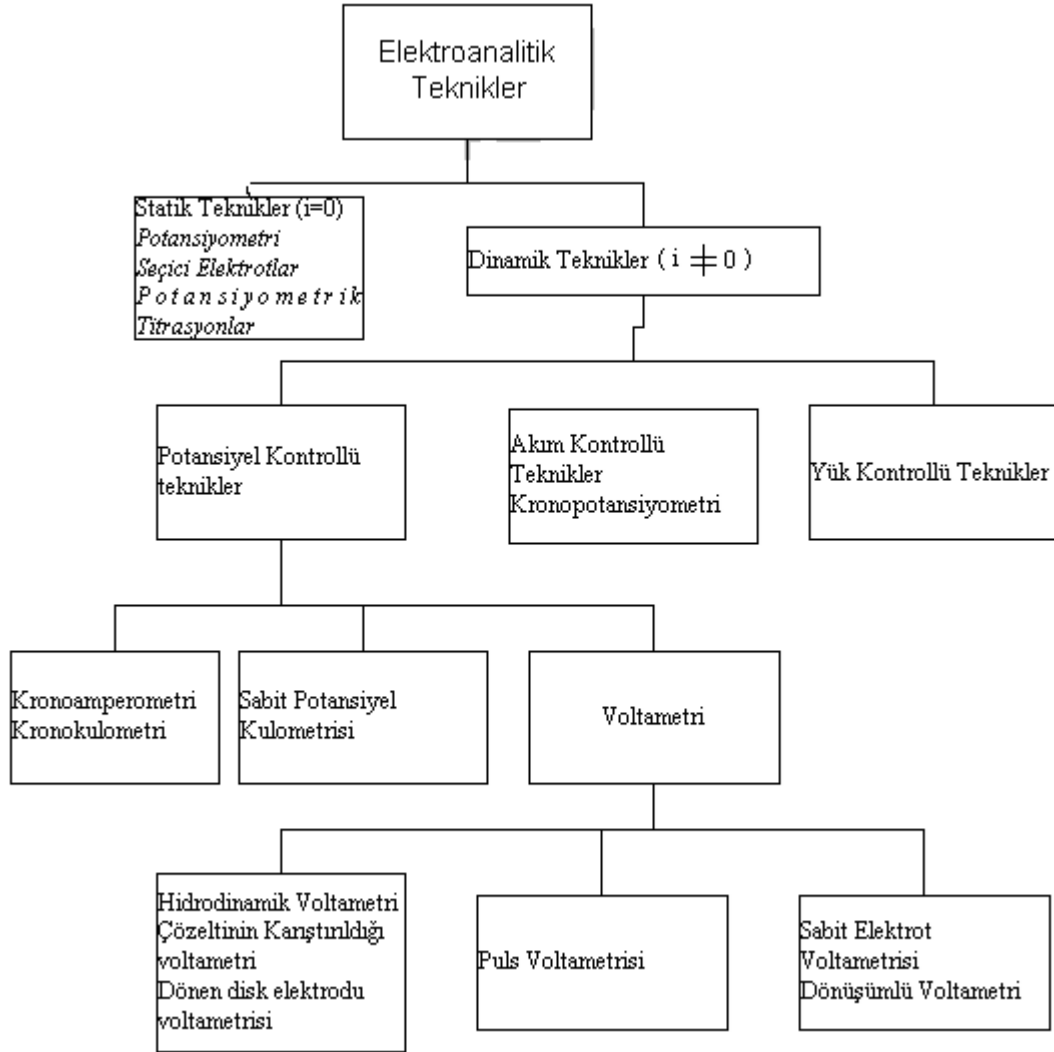
Aleksić ve diğ. (19), CEFA, seftazidim ve seftriaksonun pH 2 ve 8 aralığında asılı duran cıva elektrot kullanarak dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) ile voltametrik davranışlarını incelemişlerdir. Pik akımları ve pik potansiyelleri üzerine pH'nın, destek elektrolitin ve tarama hızının etkisi incelenmiştir. CEFA ve seftazidimin asidik çözeltide indirgenmesinin difüzyon kontrollü, seftriaksonun ise adsorpsiyon ile gerçekleştiği belirlenmiştir. Seftazidim için pH 2.0, CEFA için pH 3.5, seftriakson için ise pH 8.0'de DPV yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Her üç madde için doğrusal aralık, LOD ve LOQ değerleri incelenmiş ve yöntemler farmasötik preparatlarda adı geçen maddelerin analizinde uygulanmıştır.

#### **2.5. Elektroanalitik Yöntemler**

Elektroanalitik yöntemler; akım, potansiyel ve yük ile ilgili parametrelerin ölçüldüğü seçici, az miktarda numune ile çalışılabilen, düşük maliyetli ve pratik yöntemlerdir. Elektrotlar ve çözeltiden oluşan sisteme elektriksel etki yapılarak, sistemin verdiği cevap ölçülür. Analit destek elektrolit adı verilen elektroaktif olmayan iyon içeren tuz çözeltisi veya tampon çözeltisine eklenerek nitel ve nicel analizler gerçekleştirilir. Yük aktarımının stokiyometrisi, hızı, kütle aktarım hızı, kimyasal reaksiyonların hızı, denge sabitleri ve adsorpsiyon derecesi gibi bilgiler edinilebilir.

Elektroanalitik yöntemler kullanılan çalışma elektrot türüne göre, uygulanan akım veya potansiyelin sabit ya da değişken olmasına bağlı olarak birçok şekilde sınıflandırılabilir. Yaygın olan sınıflandırma yöntemi Şekil 2.3'de gösterilmiştir (25).





**Şekil 2.3.** Elektroanalitik Yöntemlerin Sınıflandırılması

### 2.5.1. Voltametri

Voltametri, en yaygın kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. İndikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlarda, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden yararlanarak analit hakkında bilgi edinilen bir grup analitik yöntemi içerir.

Voltametricde kullanılan elektrotlar;

1. Polarize edilemeyen (referans) elektrotlar; potansiyeli dış etkilerle değişmeyen elektrotlardır (doymuş kalomel elektrot ve gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot gibi).

2. Polarize edilebilen (çalışma) elektrotlar; potansiyeli dış etkilerle değiştirilebilen elektrotlardır (cıva, platin, altın, grafit elektrotlar gibi).

3. Karşıt elektrotlar; elektriğin güç kaynağından çözeltinin içinden geçerek çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlayan elektrotlardır (26,27).

Voltametrde üçlü elektrot sistemi kullanılır. Çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına potansiyel uygulanır ve çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülür. Çalışma ile referans elektrot arasında akım ölçülmez, çünkü referans elektrodun potansiyeli küçük akımlarda sabittir ancak akım arttığında potansiyel sabit kalmaz. Üçlü elektrot sistemi kullanıldığında aynı sisteme hem potansiyel uygulanabilir hem de oluşan akım ölçülebilir.

Kullanılan çalışma elektrotları, polarizasyonu artırmak amacıyla, yüzey alanları birkaç milimetre kare ve bazı uygulamalarda ise birkaç mikrometre kare ya da daha küçük olan mikroelektrotlardır.

Voltametik yöntemde çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrot kullanılırsa polarografi, asılı duran cıva damlası veya katı elektrot kullanılırsa sabit elektrot voltametrise denir.

Elektrot tepkimelerinin mekanizmalarının belirlenmesi, kinetiklerinin incelenmesi ve nitel ve nicel analizlerinin yapılmasında yaygın olarak kullanılan voltametik yöntemler aşağıda verilmiştir.

-Polarografi, doğru akım polarografisi, diferansiyel puls polarografisi ve puls polarografisi

-Dönüşümlü voltametri

-Kare dalga voltametrise ve polarografisi

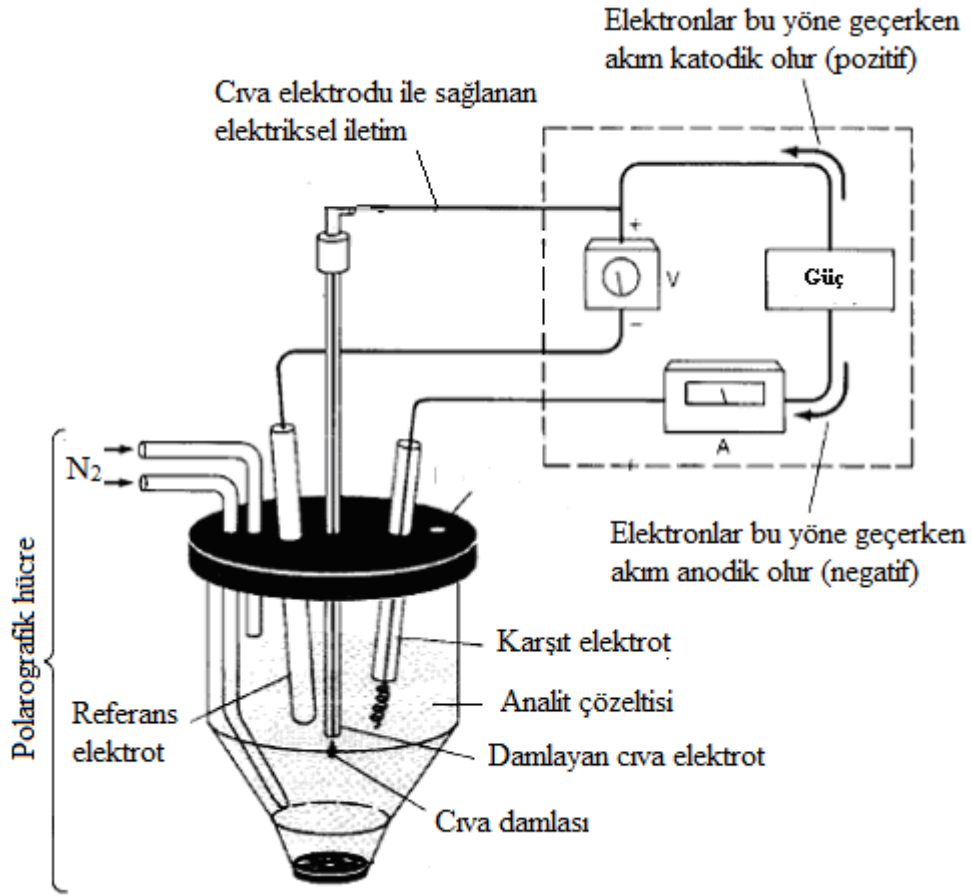
-Sıyırma voltametrise

-Kronoamperometri

-Kronokulometri

-Sabit potansiyel kulometrise

Çeşitli voltametik yöntemlerde kullanılan cihaz düzeneği Şekil 2.4'de görülmektedir.

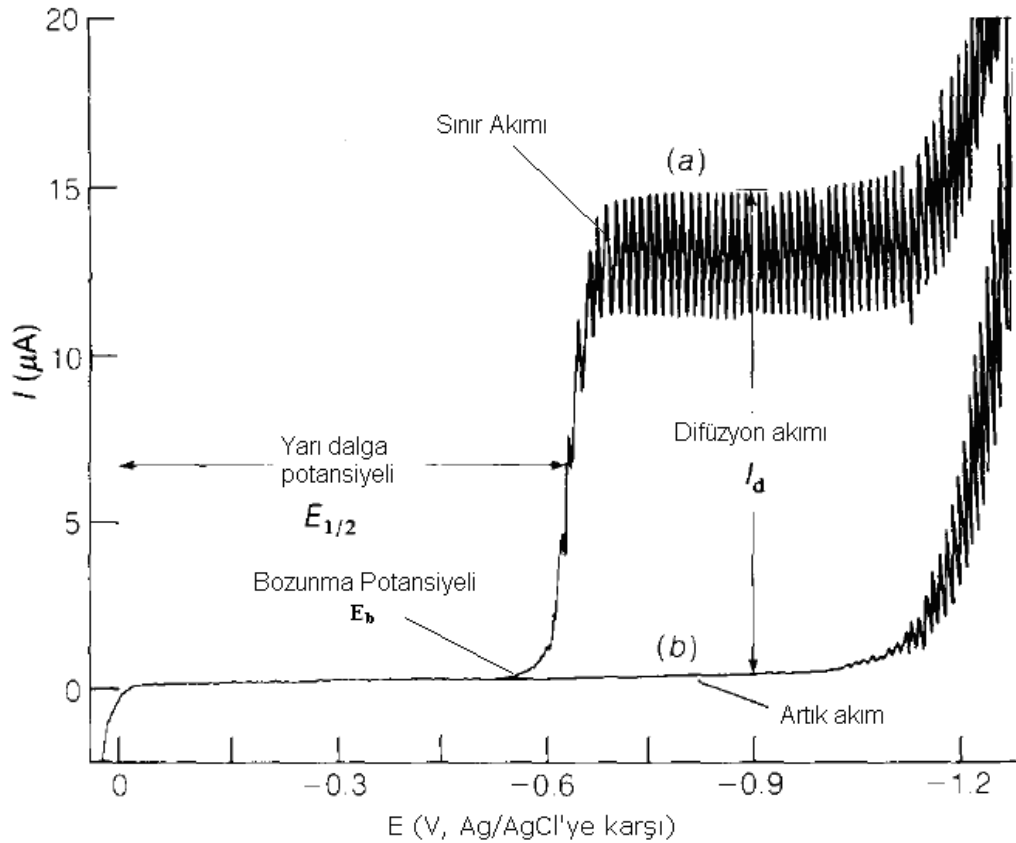


Şekil 2.4. Voltametik Ölçümlerde Kullanılan Hücrenin Sistematik Diyagramı

### 2.5.1.1. Polarografi

Polarografi, 1927'de J. Heyrovsky tarafından geliştirilmiş ilk voltametik yöntemdir. Bundan 40 yıl öncesine kadar doğru akım polarografisi (DC, normal polarografi) ile sınırlı olan polarografi, son yıllarda çok kullanılan duyarlı ve güvenilir yöntemdir. Polarografi ile periyodik tablodaki elementlerin büyük bir kısmı ile indirgenebilen veya yükseltgenebilen fonksiyonel gruba sahip elektroaktif organik moleküllerin doğrudan analizi yapılabilmektedir. Elektroaktif olmayan organik moleküller kompleks oluşturma, nitrolama, nitrozolama, N veya S oksitleme, kondenzasyon ve katılma tepkimeleri ile dolaylı yolla polarografi ile analiz edilebilirler (28). Polarografide kullanılan çalışma elektrodu; damlayan cıva elektrodu (DCE)'dir. Bu elektrot 0.05 - 0.08 mm iç çaplı kılcal cam borudur. Bu kılcalın ucu 1-50 mL kadar çözelti bulundurulmuş bir hücreye daldırılır. DCE'nin potansiyeli, bir referans elektrota karşı değiştirilir. Referans elektrot genellikle Ag/AgCl veya doymuş

kalomel elektrottur (DKE). DCE ile referans elektrot arasına potansiyometre yardımıyla bir potansiyel uygulanır. Akım, çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasında akar. Karşıt elektrot olarak platin kullanılır. Hücreden geçen akım bir galvanometre ile ölçülür. Ölçülen akımın uygulanan potansiyele karşı grafiği polarogram adını alır. Doğru akım polarografisinde gözlenen akım-potansiyel eğrisi Şekil 2.5’de görüldüğü gibidir.



**Şekil 2.5.** Doğru Akım Polarogramları (a) Elektroaktif Maddenin Polarogramı  
(b) Destek Elektrolit Polarogramı

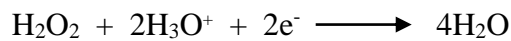
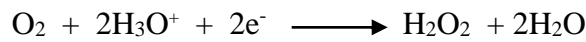
Polarografide akım, çalışma elektrodunda maddelerin indirgenmesi ya da yükseltgenmesi ile oluşur. İndirgenme sonucu oluşan akıma katodik akım, yükseltgeme sonucu oluşan akıma ise anodik akım denir. Katodik akımın işareti pozitif, anodik akımın işareti ise negatif olarak kabul edilmiştir. Şekil 2.5’de verilen polarogramdan görüldüğü gibi yükseltgenmenin veya indirgenmenin başladığı potansiyele *bozunma potansiyeli* ( $E_b$ ) denir. Bozunma potansiyelinden sonra çok az

bir potansiyel değişmesine karşılık oluşan akımda hızlı bir artış gözlenir. Belli bir potansiyel sonrasında akımın sabit kaldığı bir plato bölgesine ulaşılır ve bu akıma *sınır akım* denir. Destek elektrolitte elektrot üzerinde henüz tepkime olmadığı zaman küçük de olsa bir akım gözlenir. Bu akıma *artık akım* denir. Bu akımın iki nedeni vardır:

1. Çözelti içinde analiz edilecek maddeden daha elektroaktif safsızlıkların indirgenmesi veya yükseltgenmesi ile oluşan faradaik akım,
2. Elektrot yüzeyine adsorbe olan maddenin elektrot-elektrolit ara yüzeyindeki (cıva damlasının yüklenmesi) elektriksel çift tabakanın kapasitansına etki etmesi sonucu oluşan kapasitif akımdır.

Sınır akım ve artık akım arasındaki akım farkı dalga yüksekliğidir. Dalga yüksekliği, elektroaktif maddenin konsantrasyonu ile doğrusal olarak artar. Polarografide akımın artmaya başladığı ilk potansiyel bozunma potansiyelidir. İndirgenme bozunma potansiyelinden sonra başlar. İlk önce elektrot yüzeyindeki maddeler indirgenir ve akım artmaya başlar. Çözeltideki maddeler derişimin “0” olduğu elektrot yüzeyine difüzyonla gelmeye başlar, indirgenir ve akım artar. Elektrot tepkimesinin hızı çözeltideki maddenin difüzyon hızına eşit oluncaya kadar akım artar. Elektrot tepkimesinin hızını maddenin difüzyon hızı sınırlar. Buna difüzyon sınır akımı denir. Bu özelliğinden dolayı polarografi nicel analizlerde kullanılabilir (29). Akımın sınır akımı değerinin yarısına eşit olduğu potansiyel *yarı dalga potansiyelidir*. Yarı dalga potansiyeli  $E_{1/2}$  ile gösterilmektedir.  $E_{1/2}$  değeri genellikle elektroaktif maddenin derişimine bağlı değildir ve standart yarı hücre potansiyeli ile yakından ilişkilidir. Yarı dalga potansiyelinin her madde için karakteristik olması özelliğinden dolayı polarografi nitel analizlerde kullanılabilir (28) .

Oksijen bütün çözücülerde az veya çok çözüldüğünden polarografik deneyler oksijensiz ortamlarda gerçekleştirilmelidir. Çünkü 25°C’de suda çözülmüş oksijenin derişimi  $10^{-3}$  M’dir. Çözülmüş oksijen DCE üzerinde indirgenir. Bu indirgenme iki basamaklıdır. Birincisi -0.05 V’da peroksida indirgenmesi, ikincisi ise -0.9 V’da gözlenen peroksidin suya indirgenme tepkimesidir. Bu potansiyeller ortamın pH’sı ile değişir. Asidik ortam için bu tepkimeler aşağıdaki gibidir.



Bu tepkimeler ile polarografide 0.0 ve -1.0 V arası gibi bir çok indirgenme tepkimesinin gözlemlendiği bölge kapatılmış olur. Buna engel olmak için deney öncesinde çözeltilerden azot (N<sub>2</sub>) veya argon (Ar) gibi bir inert gaz geçirilir, böylece çözünmüş oksijen ortamdan uzaklaştırılır.

Elektrot tepkimelerinin hızı tersinirliği belirler. Elektron aktarım hızı yüksek ise tepkime tersinir, düşük ise tersinmezdir.

Tersinir elektrot tepkimelerinde polarogramın yükselen kısmında akım-potansiyel ilişkisi için kullanılan eşitlik Nernst eşitliğidir.

$$E = E_{1/2} - (RT / nF) \ln [ (i - i_{da}) / (i_{dk} - i) ] \quad (2.1)$$

$E$  = Uygulanan potansiyel (volt)

$E_{1/2}$  = Yarı dalga potansiyeli (volt)

$R$  = Gaz sabiti (8.315 joule mol<sup>-1</sup>. K<sup>-1</sup>)

$T$  = Mutlak sıcaklık (°K)

$n$  = Aktarılan elektron sayısı

$F$  = Faraday sabiti (96485 coulomb)

$i$  = Uygulanan potansiyeldeki akım (μA)

$i_{da}$  = Anodik sınır akımı (μA)

$i_{dk}$  = Katodik sınır akımı (μA)

Bir maddenin elektroda göçü üç şekilde olabilir (30,31).

1. *Konveksiyon (mekanik karıştırma) ve ısıl karıştırma*: Karıştırma veya elektrodun yüzeyinden geçen çözeltilerin akışı sonucunda mekanik hareketi kapsamaktadır. Çözeltilerin sabit hız ve sıcaklıkta homojen olarak karıştırılması ile konveksiyon sağlanır.

2. *Elektrostatik çekim (iyonik göç)*: Uygulanan potansiyel ile elektrotlar yüklenir. Elektrotların çözeltilerdeki iyonları elektrostatik kuvvet uygulayarak itmesi ya da çekmesidir.

3. *Difüzyon*: Maddenin derişik olduğu ana çözeltilerden, seyreltik olduğu elektrot yüzeyine göç etmesi şeklindedir. Ana çözeltiler ile elektrot yüzeyi arasındaki derişim farkı ne kadar fazla olursa difüzyon o kadar fazla olur.

Analiz durgun bir ortamda yapılırsa konveksiyon, sabit sıcaklıkta yapılırsa ısıl karışım önlenemez. İyonik göçü önlemek için ise elektroaktif maddenin aktarım

sayısını azaltmak gerekir. Çözeltiye incelenecek madde derişiminin en az yüz katı fazla ve eşdeğer iletkenliği yüksek olan bir tuz çözeltisi eklenirse, elektroaktif maddenin aktarım sayısı sifira yaklaşır. Eklenen bu tuz çözeltisine *destek elektrolit* adı verilir. Bunlar tuz, asit veya bazların uygun çözeltileri olabilir. Destek elektrolit eklenmesinin bir diğere yararı da çözeltinin direncini düşürerek IR potansiyelini azaltmaktır.

Polarografide konveksiyon ve iyonik göç yok edilerek veya etkileri en aza indirilerek maddenin elektrotta difüzyonla ulaşması sağlanır.

### Polarografik Akımlar

Sınır akımının oluşmasına neden olan olaylara göre polarografik akımlar difüzyon, adsorpsiyon, kinetik ve katalitik kontrollü sınır akımı olmak üzere çeşitlere ayrılır (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1.** Sınır Akımı Çeşitleri ve Farklı Parametreler ile Değişimi

Akım (i)	Cıva sütun yüksekliği (h)	Derişim (C)	Tampon bileşimi	pH	Sıcaklık katsayısı (1/i)(di/dt)
Difüzyon ( $i_d$ )	$K \cdot h^{1/2}$	$k \cdot C$	Bağımsız	Bağımsız	% 1.6
Kinetik ( $i_k$ )	$K \cdot h^0$	$k \cdot C$	Bağımlı	Bağımlı	% 5-20
Adsorpsiyon ( $i_a$ )	$K \cdot h^1$	Sınırlı	Bağımsız	Bağımsız	Değişken
Katalitik ( $i_{kata}$ )	Değişken	Sınırlı	Bağımlı	Bağımlı	-

k = sabit bir terim, h = cıva sütununun yüksekliği, i = akım,  $d_i/d_t$  = akımın sıcaklıkla değişimi

### *Difüzyon Kontrollü Sınır Akımı (31)*

Elektroliz, karıştırılmayan durgun ortamda ve destek elektrolit eklenerek yapılırsa, konveksiyon ve iyonik göç önleneneğinden akım yalnız difüzyonla gelen madde miktarına bağlı olur. DCE'ye uygulanan potansiyel, polarogramın sınır akımı bölgesinde olduğunda ve elektron aktarım hızı elektrot yüzeyindeki elektroaktif maddeyi hemen indirgeyecek ya da yükseltgeyecek kadar büyük olduğunda, akım elektrot yüzeyine difüzyonla gelen madde miktarı ile belirlenir. Bu durumda akım difüzyon kontrollüdür denir. Sınır akımı bölgesinde potansiyel uygulanır uygulanmaz elektrot yüzeyindeki iyon veya moleküller hemen elektrolizleneceğinden elektrot

yüzeyine çok yakın bir bölgede elektroaktif madde derişimi sıfır olacaktır. Ana çözelti elektrot yüzeyindeki bu derişim farkı ile madde elektrot yüzeyine doğru difüzlenecektir.

Maddeler daha derişik oldukları bölgeden daha seyreltik oldukları bölgeye Fick kanunları ile difüzlendirler.

Fick kanunları olarak bilinen diferansiyel denklemlerin küresel elektrot için çözülmesi ile aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$i = 0.732 n F (C - C_{(x=0)}) D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte;

$i$  = Damla ömrü sonundaki akım (A)

$n$  = Aktarılan elektron sayısı

$F$  = Faraday sabiti

$C$  = Ana çözeltideki elektroaktif madde derişimi ( $\text{mol (cm}^3\text{)}^{-1}$ )

$C_{(x=0)}$  = Elektrot yüzeyindeki elektroaktif madde derişimi ( $\text{mol (cm}^3\text{)}^{-1}$ )

$D$  = Difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ )

$m$  = Cıvanın akış hızı ( $\text{g s}^{-1}$ )

$t$  = damla ömrü (s)

Eşitlik 2.2, polarogramın her bölgesinde geçerlidir. Sınır akımı bölgesinde elektron transfer tepkimesi çok hızlı olacağından  $C_{(x=0)} = 0$ 'dır. Bu değer Eşitlik 2.2'de yerine konursa Eşitlik 2.3 elde edilir.

$$i_d = 0.732 n F C D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} \quad (2.3)$$

Eşitlik 2.3, İlkoviç eşitliği olarak bilinir. Bu eşitlikteki akım ( $i_d$ ) damla ömrünün sonundaki difüzyon kontrollü sınır akımdır. Damla ömrü ( $t$ ) sabit bir değere sahiptir. Damlanın oluşmaya başlama ve kopma zamanı arasında akım artar. Bu artış  $t^{1/6}$  ile orantılıdır.

Polarografik deneyde cıva sütun yüksekliği ( $h$ ) sabit tutulduğunda cıvanın akış hızı ( $m$ ) ve damla ömrü ( $t$ ) de sabit kalır. Deney sabit sıcaklıkta yapıldığında difüzyon katsayısı da sabit olacağından İlkoviç eşitliği aşağıdaki gibidir.



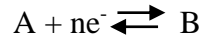
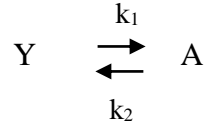
$$i_d = k C \quad (2.4)$$

Bu eşitlikte C ana çözelti derişimi olduğundan polarografi nicel analizlerde kullanılabilir. Eşitlik 2.4, koordinat sisteminin sıfır noktasından geçen doğru denklemdir.

Polarografide kullanılan DCE çok küçük yüzeyli bir elektrottur. Bu tür elektrotlara mikroelektrot adı verilir. Mikroelektrot üzerinde çok az miktarda madde elektrokimyasal değişikliğe uğradığı için aynı çözelti ile deney istenildiği kadar tekrarlanabilir.

### ***Kinetik Kontrollü Sınır Akımı***

Elektron aktarım basamağından önce kimyasal tepkime söz konusu ise ve elektroaktif A maddesi, elektroinaktif Y maddesinden oluşuyorsa aşağıdaki dengeler söz konusudur.

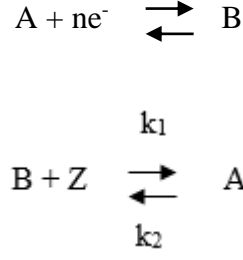


Eğer indirgenen madde (A) derişimi Y ile sınırlı ise, oluşan akım da Y derişimi ile sınırlıdır ve akım kinetik kontrollüdür. Bu durumda difüzyon ne kadar hızlı olursa olsun elektrot yüzeyindeki A derişimi, Y'nin derişimi ve  $k_1$  (veya K denge sabiti) ile kontrol edilir.

Bu akım Y derişimi ile doğrusal olarak değişir ve  $k_1$  ile  $k_2$ 'ye bağlı olduğu için sıcaklık, pH ve iyonik şiddet gibi faktörlerden çok etkilenir.

### ***Katalitik Kontrollü Akım***

Bazı durumlarda elektrokimyasal değişikliğe uğrayan B maddesi ortamdaki elektroinaktif Z ile tepkimeye girerek yeniden A maddesini oluşturabilir. Katalitik mekanizma adı verilen bu mekanizma aşağıdaki gibi yazılabilir.



B ürünü Z ile tepkimeye girip A'yı yeniden oluşturur. Elektroaktif A maddesi tekrar indirgeneceği için difüzyon kontrollü akımdan çok daha büyük akım gözlenecektir.

Katalitik akım ortam şartlarından çok etkilenir. Çünkü Z'nin katalitik etkisi ile k hız sabitleri ortam şartlarından çok etkilenen iki parametredir.

### ***Adsorpsiyon Akımı***

Çözeltide bulunan maddeler elektrot yüzeyine adsorbe olunca hem kapasitif akım, hem de faradaik akım etkilenir. Faradaik akımının etkilenmesi iki farklı şekilde olabilir (32).

a) Elektroaktif madde veya ürün adsorbe olabilir. Böyle bir durumda normal dalganın yanında ikinci bir dalga gözlenir. Adsorpsiyon dalgası adı verilen bu dalga reaktif ve ürünün adsorplanmasına bağlı olarak normal dalgadan sırasıyla daha negatif veya daha pozitif potansiyelde gözlenebilir. Ayrıca sınır akımı bölgesinde maksimum, minimum ve başka düzensizliklere yol açabilir.

b) Çözeltilerde reaktif ve ürünün dışında bir maddenin adsorplanması halinde dalgada kayma, bölünme ve deformasyon gibi düzensizlikler meydana gelebilir.

Adsorpsiyon akımı madde derişiminden bağımsızdır. Düşük derişimlerde elektrot yüzeyini kaplayacak kadar madde olmadığından akım difüzyon kontrollüdür. Belli bir derişimden sonra iki dalga gözlenir.

### **Puls Polarografisi (32)**

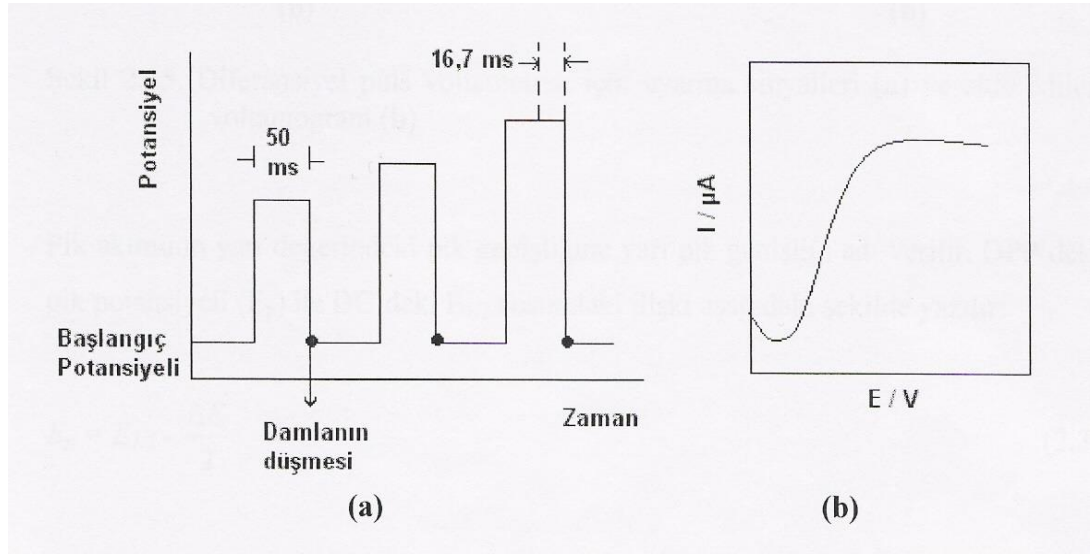
Normal polarografide, düşük derişimlerde elektrottaki elektriksel çift tabakanın yüklenmesinden oluşan kapasitif akım, faradaik akıma göre oldukça büyük olduğundan, yapılan analizlerde tayin sınırı düşüktür. Kapasitif akımın katkısı azaltılıp, daha küçük değerdeki faradaik akımlar ölçülebilirse yöntemin duyarlılığı artar. Bu yüzden puls teknikleri geliştirilmiştir.

Puls polarografisi yöntemleri Barker tarafından geliştirilmiştir. Doğru akım (DC) polarografisinde hücreye sabit bir potansiyel uygulayıp oluşan akım ölçülürken puls polarografisinde potansiyel periyodik olarak kısa zaman aralıklarında uygulanmaktadır.

#### *Normal Puls Polarografisi (NPP)*

Normal puls tekniğinde zamanla genliği artan pulslar uygulanır. Uygulanan potansiyel pulsları yaklaşık 40 – 60 ms süreyle sınırlıdır, fakat pulslar arasındaki potansiyel daima başlangıç değerine döner (Şekil 2.6.a). DCE’de yüzey damlama süresinde değişmesine rağmen, pulslar daima damla sonunda uygulandığında sabit elektrot yüzeyi korunmuş olur. Akım ölçümü her puls süresinin sonuna doğru yapıldığından kapasitif akımın etkisi minimumdur.

Burada elde edilen polarogram normal polarografi tekniğinde elde edilenler gibi dalga şeklindedir (Şekil 2.6.b).



**Şekil 2.6.** Normal Puls Polarografisi için a) Uyarma Sinyalleri b) Elde Edilen Polarogram

NPP’de sınır akımı Cottrell eşitliği ile verilir.

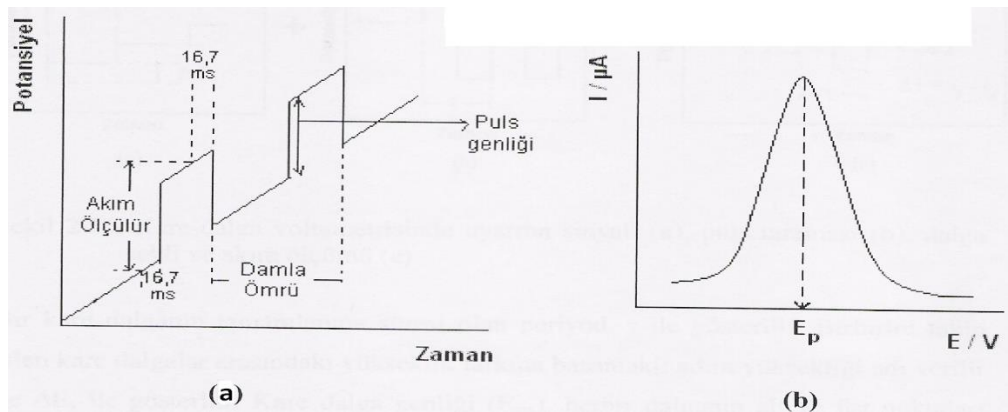
$$i_l = n F C A \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \quad (2.5)$$

Cottrell eşitliği DC polarografisindeki İlkoviç eşitliğinin karşılığıdır. Hem tersinir, hem de tersinmez sistemler için geçerlidir. Tersinmez bir sistem için normal puls polarografisinde akım – potansiyel eğrisi Heyrovski – İlkoviç eşitliği gibidir.

$$E = E_{1/2} + 2.303 \frac{RT}{nF} \log \left\{ \frac{(i_l - i)}{i} \right\} \quad (2.6)$$

#### Diferansiyel Puls Polarografisi (DPP)

DPP’de normal polarografideki artan DC voltajına, damla ömrü sonlarına doğru sabit genlikli pulsalar bindirilir. Akım, puls uygulamasından önce ve puls uygulamasının sonuna doğru ölçülür. Akımlar arasındaki fark potansiyele karşı grafiğe geçirilir ve pik şeklinde bir polarogram elde edilir. Pik potansiyeli elde edilen pikin tepe noktasındaki potansiyeldir ve  $E_p$  ile gösterilir. Diferansiyel puls polarografisinde uygulanan potansiyel ve elde edilen pik Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



**Şekil 2.7.** Diferansiyel Puls Polarografisi için a) Uyarma Sinyalleri b) Elde Edilen Polarogram

DPP' de akım – potansiyel ilişkisi için,

$$(\Delta I)_{\max} = \frac{n^2 F^2}{RT} A C (\Delta E) \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} p / (1+p)^2 \quad (2.7)$$

eşitliği türetilmiştir. Bu eşitlikte  $\Delta I$ , diferansiyel puls akımı;  $\Delta E$  ise puls genliğidir.

Pik akımının yarısındaki pik genişliğine yarı pik genişliği denir. DPP'de yarı pik genişliği ( $W_{1/2}$ ),  $3.52 R T / n F$ 'dir ve  $25 ^\circ C$ 'de  $90.4 / n mV$ 'a eşittir. DPP'deki  $E_p$  ile  $E_{1/2}$  arasındaki ilişki,

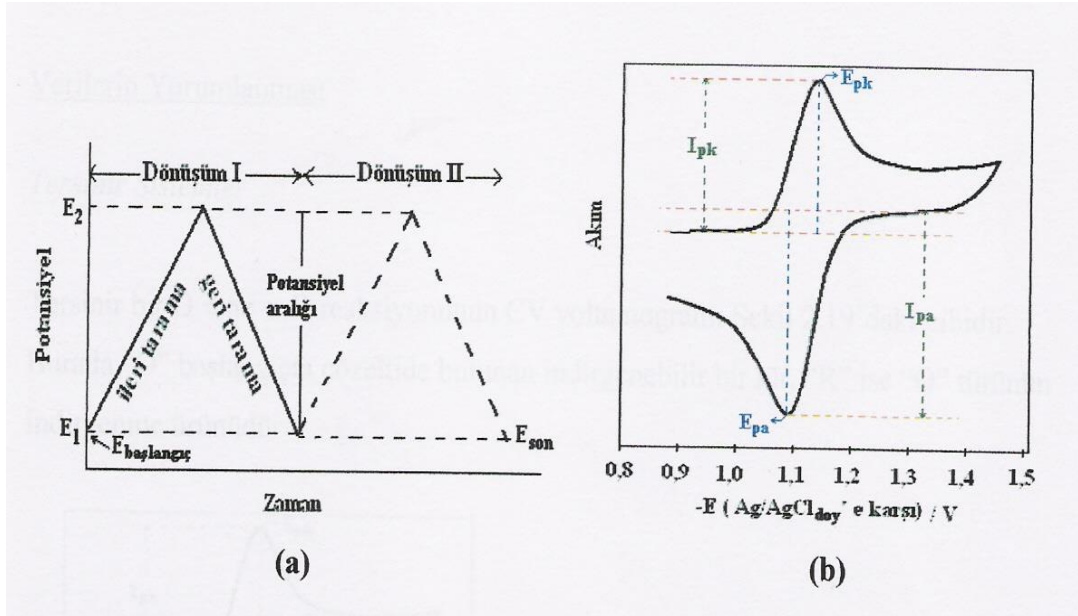
$$E_p = E_{1/2} - (\Delta E / 2) \quad (2.8)$$

ile ifade edilir. Bir indirgenme için puls genliği arttıkça pik potansiyeli pozitif değerlere kayar. Çünkü indirgenme için  $\Delta E$  negatiftir.

DPP'de pik akımının derişimle doğrusal olarak değiştiği bilinmektedir. DC polarografideki elektrot olayını etkileyen katalitik ve diğer etkiler difüzyon sınır akımını ne şekilde etkilerse normal ve diferansiyel puls polarografisindeki sınır ve pik akımlarını da aynı şekilde etkiler.

### 2.5.1.2. Dönüşümlü Voltametri ve Doğrusal Taramalı Voltametri (33)

Bu teknikte durgun bir çözelti ortamında çalışma elektroduna hızlı potansiyel taraması uygulanır. Hücrede oluşan akım, potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir ve elde edilen akım potansiyel eğrilerine dönüşümlü voltamogram denir. CV'de uygulanan potansiyelin zamanla değişimi Şekil 2.8'de gösterilmiştir. Potansiyel taraması  $E_1$  ve  $E_2$  arasında yapıldığında yöntem doğrusal taramalı voltametri (LSV) denir. Şayet  $E_2$  potansiyeline ulaşıldıktan sonra tarama yönüne göre ters yönden tarama yapıldığında yöntem dönüşümlü voltametri (CV) denir.



**Şekil 2.8.** Dönüşümlü Voltametri a) Uyarma Sinyali b) Voltamogramı

$E_1$  = indirgenmenin olmadığı potansiyel,  $E_2$  = akımın difüzyon kontrollü olduğu potansiyel,  $E_{pk}$  = katodik akım potansiyeli,  $E_{pa}$  = anodik akım potansiyeli,  $I_{pk}$  = katodik akım,  $I_{pa}$  = anodik akım

Tarama hızı pratikte  $10 \text{ mV s}^{-1}$ 'den  $1000 \text{ mV s}^{-1}$ 'e kadar değiştirilebilir. Çok yüksek tarama hızlarında IR düşmesi ve çift tabaka yüklenmesi gibi problemler ortaya çıkar. Mikroelektrotların kullanılmasıyla bu problemler giderilebilir.

CV yöntemi ile; tarama hızları değiştirildiğinde pik akımlarının değişmesi sonucu akımın karakteri (adsorpsiyon, difüzyon) ve elektron aktarım tepkimesinden önce veya sonra kimyasal tepkimelerin olup olmadığı belirlenebilir.

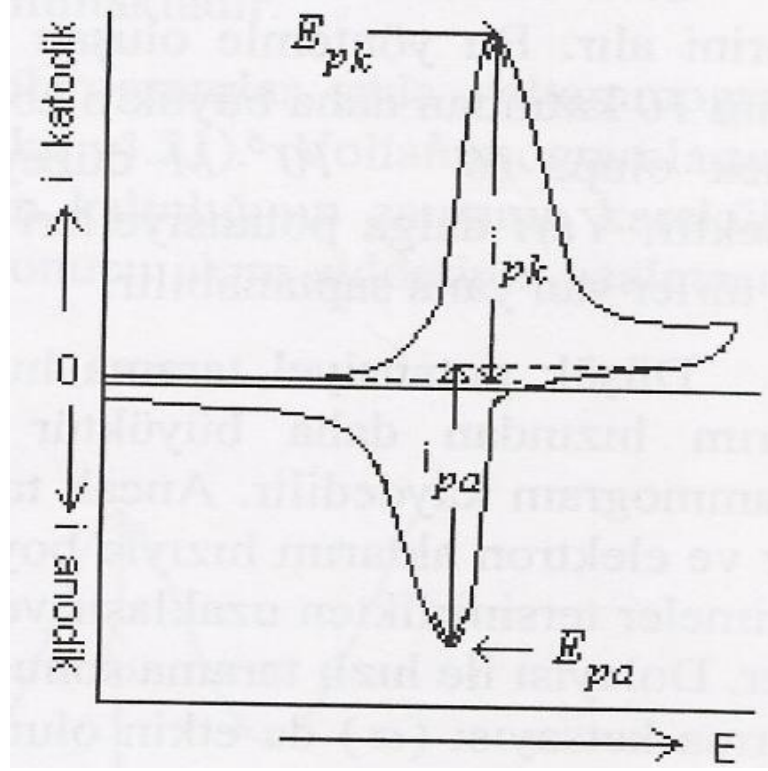
İleri ve geri tarama piklerinden tepkime mekanizması hakkında bilgi sahibi olunabilir.

Redoks reaksiyonlarının termodinamiği ve elektron aktarımının kinetiği belirlenebilir.

Elektrot tepkimesinin tersinirlik testi yapılabilir. Elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonlar; tersinir, tersinmez ya da yarı tersinir olabilir.

Tersinir Tepkimeler: (33)

$O + ne^- \leftrightarrow R$  şeklinde gerçekleşen tersinir bir tepkimenin dönüşümlü voltamogramı Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



**Şekil 2.9.** Tersinir Bir Sisteme Ait CV Voltamogramı

$E_{pk}$  = katodik akım potansiyeli,  $E_{pa}$  = anodik akım potansiyeli,  $i_{pk}$  = katodik akım,  $i_{pa}$  = anodik akım

CV'de  $i_{pk}$  değeri için sınır durumları ile tarama hızı göz önüne alınarak ve  $D_0 = D_R = D$  kabul edilerek Fick'in ikinci kanunundan aşağıdaki Randles – Sevcik eşitliği elde edilir.

$$I_p = 0.4463 nF \left( \frac{nF}{RT} \right)^{1/2} C_o^\infty D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.9)$$

Bu eşitlik 25 °C' de aşağıdaki şekle dönüşür.

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C_0 D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.10)$$

- $I_p$  : Akım yoğunluğu, A (cm<sup>2</sup>)<sup>-1</sup>  
 $A$  : Elektrot alanı, cm<sup>2</sup>  
 $D$  : Difüzyon katsayısı, cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>  
 $v$  : Tarama hızı, V s<sup>-1</sup>  
 $C_0$  : O'nun ana çözelti derişimi, mol (cm<sup>3</sup>)<sup>-1</sup>

Eğer  $v^{1/2}$  - İpik grafiği doğrusal olup orjinden geçerse, sistem tersinirdir. Aynı zamanda bir sistemin tersinir olması için diğer bazı kriterlerin de sağlanmış olması gerekir. Bu kriterler;

1.  $\Delta E_p = E_p^a - E_p^k = 59/n$  mV
2.  $|E_p - E_{p/2}| = 59/n$  mV
3.  $|I_p^a/I_p^k| = 1$
4.  $I_p \propto v^{1/2}$
5.  $E_p$ ,  $v$  den bağımsızdır.
6.  $E_p$ 'den daha negatif (veya daha pozitif) potansiyellerde  $I^2 \propto t$ 'dir.

Bir sistemin tersinir olması için sayılan kriterlerin hepsinin geçerli olması gereklidir. Bir veya birkaçı geçerli değil ise elektrot tepkimesi ya tersinmezdir ya da kabul edilenden daha kompleks bir mekanizmaya sahiptir.

#### Tersinmez Tepkimeler : (33)

Tersinir sistemlerde bütün potansiyellerde elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından büyüktür ve Nernst eşitliği elektrot yüzeyinde geçerlidir.

Tersinmez sistemlerde ise elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından Nernst eşitliği geçerli değildir ve dönüşümlü voltamogramının şekli tersinir durumdan farklıdır.



Tersinmez durumlarda tarama hızı çok düşük ise elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından daha yüksektir, sistem tersinir gibi gözlenir. Tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı artması ile kütle aktarım hızı ve elektron aktarım hızı ile aynı olur.

Fick'in ikinci kanunu sınır değerlerinde çözümlerse tersinmez sistemin pik akımı için (25 °C'de) aşağıdaki eşitlik bulunur.

$$\dot{I}_p = (2.99 \times 10^5) n (\alpha_C n_a)^{1/2} A C_0 D_0^{1/2} v^{1/2} \quad (2.11)$$

Burada  $n_a$  aktarılan toplam elektron sayısıdır. Buna hız tayin basamağında aktarılan elektron sayısı da dahildir. Tersinir durumda olduğu gibi pik akımı derişim ve tarama hızının kare kökü ile doğru orantılıdır. İlaveten transfer katsayısının kare kökü ile doğru orantılıdır. Aktarılan elektron sayısının 1 olduğu durumda eğer  $\alpha_C = 0.5$  ise tersinmez pik akımı aynı şartlardaki tersinir pik akımının % 75.8'i kadardır.

Tamamen tersinmez bir sistemin en önemli belirtisi ters tarama pikinin (anodik pikin) gözlenmemesidir. Ancak unutmamak gerekir ki bunun tersi her zaman doğru değildir. Yani anodik pikin gözlenmeyişi mutlaka elektron aktarım basamağının tersinmez olduğunu göstermez. Örneğin elektron basamağını takip eden çok hızlı bir kimyasal tepkimede oluşan ürün hemen başka maddeye dönüşeceği için ters taramada yükseltgenme piki gözlenmeyebilir.

$E_p^k$  tersinir durumda tarama hızı ile değişmediği halde, tersinmez durumda aşağıdaki eşitliğe göre değişir.

$$E_p^k = K - \frac{2,3RT}{2\alpha_C n_\alpha F} \log v \quad (2.12)$$

$$K = E_e^0 - \frac{RT}{\alpha_C n_\alpha F} \left( 0,78 - \frac{2,3}{2} \log \frac{\alpha_C n_\alpha F D}{k_s^2 RT} \right) \quad (2.13)$$

Yani tersinmez bir elektron transfer reaksiyonunun katodik pik potansiyeli, tarama hızı arttıkça negatif bölgeye kayar ve bu kaymanın miktarı her 10 birimlik  $v$  artışında  $25^\circ\text{C}$ 'de  $30 / \alpha_C n_\alpha \text{ mV}$ ' dur. Dalganın şeklindeki değişme kriteri olan

$E_p - E_{p/2}$  kayması da farklıdır.

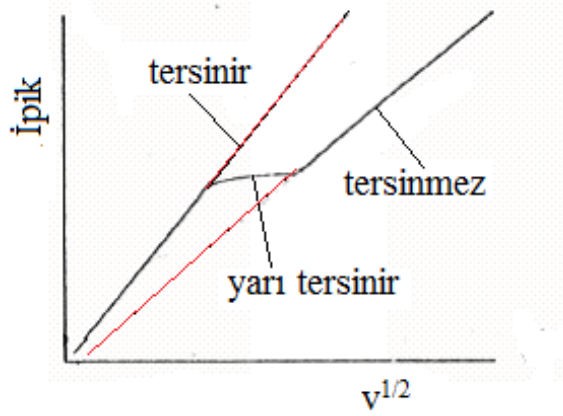
$$|E_p - E_{p/2}| = \frac{48}{\alpha_C n_\alpha} \text{ mV. } (25^\circ\text{C}' \text{ de}) \quad (2.14)$$

Dolayısıyla  $E_p^k$  ve  $E_p - E_{p/2}$  kaymalarından;  $D$ ,  $k_s$  ve  $\alpha_C n_\alpha$  değerleri hesaplanabilir.

Tersinmez bir dalganın aşağıdaki kriterlerin tümünü sağlaması gerekir.

1. Ters taramada anodik pik gözlenmez.
2.  $I_p^k$ , tarama hızının karekökü ile orantılıdır.
3.  $E_p^k$  kayması,  $25^\circ\text{C}$ 'de tarama hızındaki 10 birimlik artmada  $30 / \alpha_C n_\alpha$  değerine eşittir.
4. Tarama hızı 10 kat artarsa,  $E_p - E_{p/2} = 48 / \alpha_C n_\alpha \text{ mV}$  değerine eşit olur.

Akım hem elektron hem de kütle transferi ile oluşuyor ise sistem yarı tersinirdir ve  $k_s$  değeri;  $0.3 \text{ v}^{1/2} \geq k_s \geq 2.0 \times 10^{-5} \text{ v}^{1/2} \text{ cm s}^{-1}$  aralığındadır.



**Şekil 2.10.** CV Yönteminde Pik Akımının Tarama Hızının Karekökü ile Değişimi

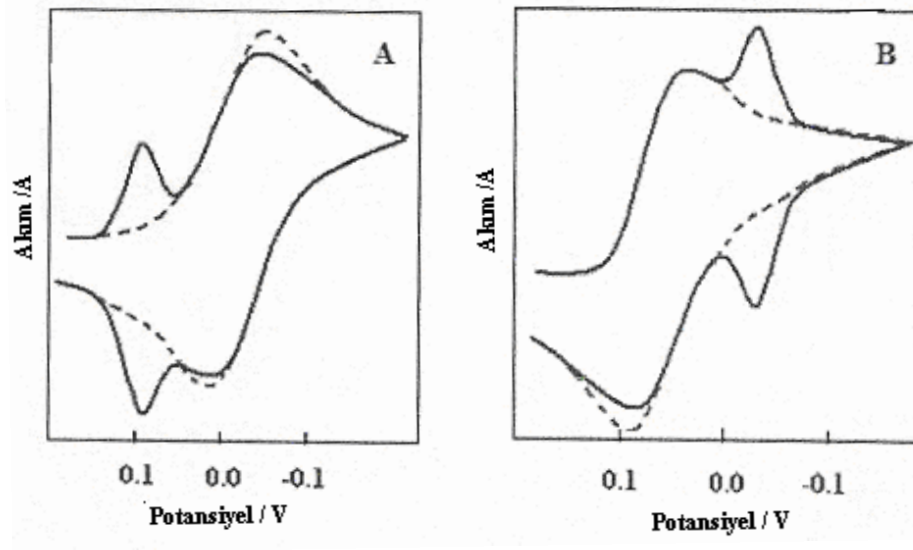
Elektrokimyasal reaksiyonlarda dönüşümlü voltamogram aşağıdaki parametreleri sağlıyorsa yarı tersinirdir.

1. Tarama hızı attıkça pik genişlemesi olur.
2. Tarama hızının artması ile pik potansiyeli daha negatif değerlere kayar.
3. Pik akımları oranı eşit değildir.
4. Anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark düşük tarama hızlarında 59 mV/n'e yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında ise 59 mV/n'den daha büyüktür ve tarama hızındaki artış ile artar.

### CV ile Adsorpsiyon İncelenmesi

Çözeltideki iyon veya moleküller elektrot yüzeyine adsorbe olabilirler ve adsorbe olan iyon ya da molekül ile elektrot yüzeyi arasında bir çeşit bağ meydana gelebilir. Elektroaktif maddelerin, ara ürünlerin veya son ürünlerin elektrot yüzeyine adsorplanması elektrot tepkimesini kuvvetli bir şekilde etkiler. Elektrot tepkimesinde doğrudan yer almayan iyon ya da moleküllerin adsorplanması ise hem elektron aktarım hızını etkiler hem de elektrot tepkimesinin mekanizmasını değiştirerek farklı ürün oluşmasına yol açabilir (34).

Elektroaktif maddenin kendisi kuvvetli bir şekilde adsorbe oluyorsa, elektroaktif maddenin pikinden sonra küçük bir adsorpsiyon piki gözlenirken (Şekil 2.11.a), elektroaktif maddenin ürünü yüzeyde kuvvetli bir şekilde adsorbe oluyorsa normal pikten önce ayrı bir adsorpsiyon piki gözlenir (Şekil 2.11.b).



**Şekil 2.11.** a) Reaktantın Kuvvetli Adsorpsiyonunda Gözlenen Voltamogram  
b) Ürünün Kuvvetli Adsorpsiyonunda Gözlenen Voltamogram

Reaktant zayıf bir şekilde adsorbe olduğunda katodik pik akımında genel olarak bir artış gözlenirken, anodik pik akımında daha az bir artış olur. Ürün zayıf adsorbe olduğunda ise katodik pik akımında hemen hemen hiç değişiklik olmazken anodik pikin akımında bir artış gözlenir (35,36).

CV yöntemi ile zayıf ya da kuvvetli adsorpsiyonun varlığı aşağıdaki kriterlerle belirlenir .

1. CV voltamogramlarında ön pik ya da arka pik gözlenmelidir.
2.  $\log(\dot{I}_p) - \log(v)$  grafiğinde eğim  $0.5^{\circ}$  ten büyük olmalıdır.
3. Akım fonksiyonu olan ( $\dot{I}_p (Cv^{1/2})^{-1}$ ) değeri tarama hızı ile artmalıdır.
4. Derişim artışı ile  $\dot{I}_p / C$  oranı azalmalıdır.
5.  $\dot{I}_p / Cv - v$  değişimi sabit olmalıdır.

### CV ile Elektrot mekanizmasının incelenmesi

Bir elektrot mekanizması EC (elektron aktarım basamağını kimyasal tepkime takip etmesi), CE (elektron aktarım basamağından önce kimyasal tepkime olması), ECE,  $EC_{\text{katalitik}}$  şeklinde olabilir. Elektron transferinin yanı sıra kimyasal tepkimelerin varlığının incelenmesinde CV önemli bir yöntemdir. CV ile mekanizmanın

incelenmesinde mümkün olduğunca geniş tarama hızı değerlerinde çalışılır. CV tekniği kullanılarak elektrot mekanizmalarının belirlenmesinde yararlanılan kriterler Tablo 2.2' de verilmiştir (32).

**Tablo 2.2.** Elektrot Mekanizmalarının Belirlenmesinde Kullanılan Kriterler

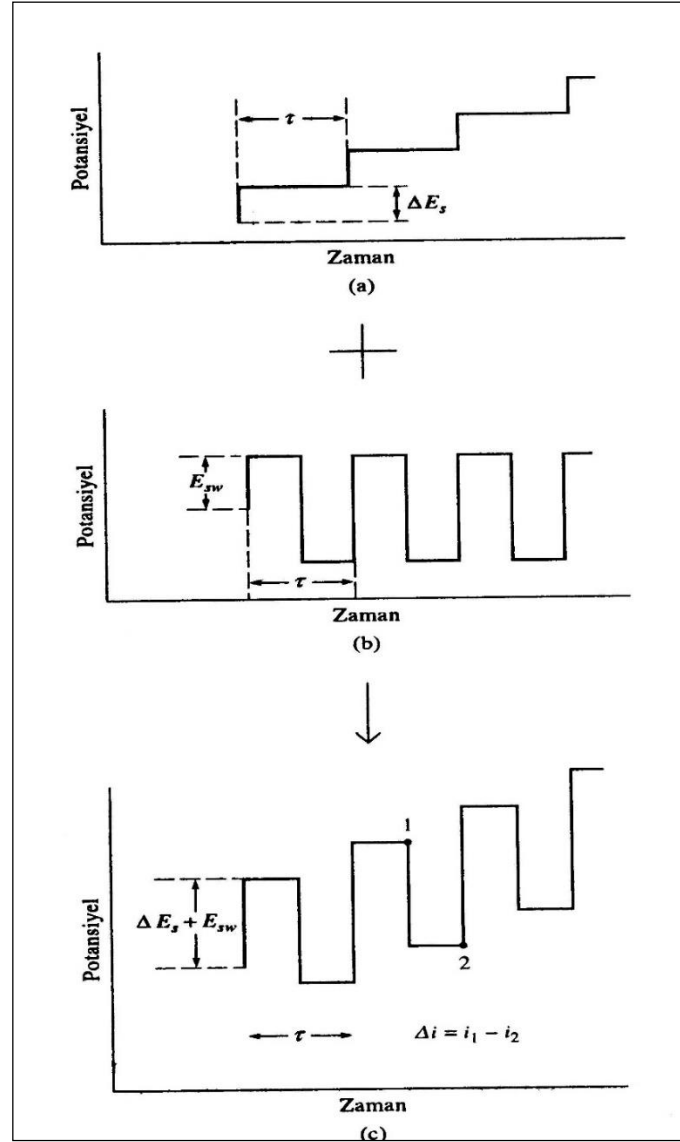
Mekanizma	$\dot{I}_{pk} - v$ ilişkisi	$E_p - v$ ilişkisi	$(\dot{I}_{pa} / \dot{I}_{pk}) - v$ ilişkisi
(CE) $Y \rightarrow O$ $O + ne \leftrightarrow R$	Tarama hızı arttıkça $\dot{I}_{pk} / v^{1/2}$ azalır	Tarama hızı arttıkça $E_p$ pozitive kayar	$\dot{I}_{pa} / \dot{I}_{pk}$ v ile artar ve bu değer $\geq 1$ 'dir
(EC) $O + ne \leftrightarrow R$ $R \leftrightarrow Y$	Tarama hızı arttıkça $\dot{I}_{pk} / v^{1/2}$ azalır	Tarama hızı arttıkça $E_p$ negatife kayar	$\dot{I}_{pa} / \dot{I}_{pk} < 1$ 'dir. Ancak v arttıkça 1'e yaklaşır
(ECE) $O + n_1e \leftrightarrow R$ $R \leftrightarrow O'$ $O' + n_2e \leftrightarrow R'$	$\dot{I}_{pk} / v^{1/2}$ değeri tarama hızı ile değişir. $\dot{I}_{pk} / v^{1/2}$ (düşük v) $> \dot{I}_{pk} / v^{1/2}$ (yüksek v)	-	$\dot{I}_{pa} / \dot{I}_{pk}$ oranı v ile artar ve yüksek tarama hızlarında 1'e yaklaşır
(EC <sub>katalitik</sub> ) $O + ne \leftrightarrow R$ $R + X \leftrightarrow O + Y$	$\dot{I}_{pk} / v^{1/2}$ değeri v artıkça azalır, $\dot{I}_{pk}$ düşük tarama hızlarında sınır değere ulaşabilir	-	$\dot{I}_{pa} / \dot{I}_{pk} < 1$ 'dir

### 2.5.1.3. Kare Dalga Voltametrisi (SWV) (37,38)

Bu tekniğin teorik ve uygulama açısından gelişimi 1985’de Osteryoung tarafından gerçekleştirilmiştir. SWV’nin potansiyel-zaman dalga şekli Şekil 2.12’de gösterilmiştir.

Kare dalga voltametrisinde, Şekil 2.12.b’deki pulsun Şekil 2.12.a’daki basamak sinyali üzerine bindirilmesiyle elde edilen uyarma sinyali Şekil 2.12.c’de görülmektedir. Dalga şekli, simetrik kare dalgalardan oluşan merdiven görünümündedir.

Bir kare dalganın tamamlanma süresi (her basamağın boyu)’na *periyod* denir ve  $\tau$  ile gösterilir. Yaklaşık olarak 5 ms civarındadır. Çoğu zaman  $\tau$  yerine  $1/\tau$ ’a eşit olan *frekans* kullanılır ve  $f$  ile gösterilir. Birbirini takip eden kare dalgalar arasındaki yükseklik farkına *adım yüksekliği* (sinyalin potansiyel basamağı) denir ve  $\Delta E_s$  ile gösterilir.  $\Delta E_s$  genellikle 10 mV’dur. Her bir dalganın alt ve üst noktaları arasındaki farkın yarısı *kare dalga yüksekliği (puls genliği)* olarak bilinir ve  $E_{sw}$  ile gösterilir. Pulsun büyüklüğü  $2 E_{sw}$  ise, genellikle 50 mV’dur. Sistemin bu şartlarda çalıştırılması 200 Hz’lik puls frekansına karşılık gelir. Bu durumda 1 V’luk bir tarama 0.5 s’de yapılır.



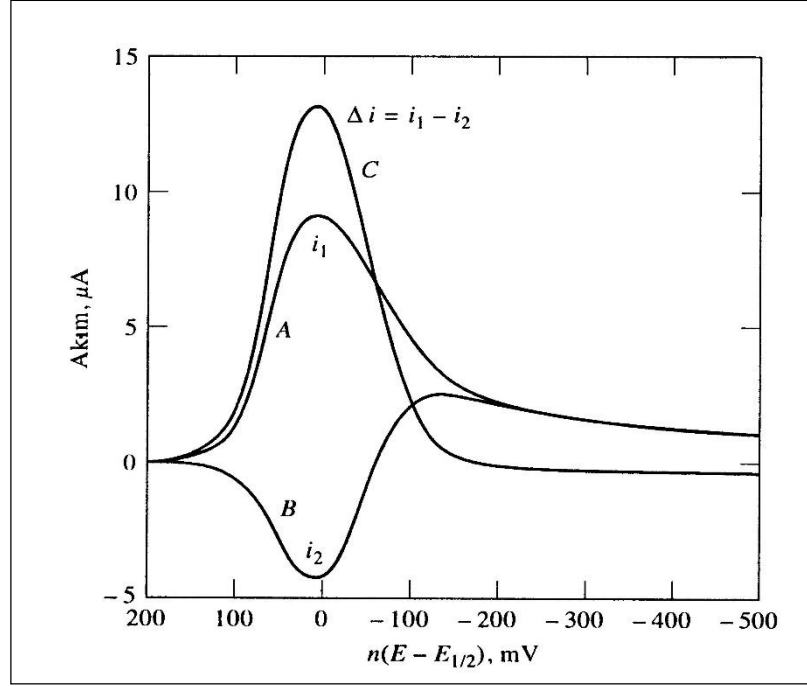
**Şekil 2.12.** Kare Dalga Voltametrisinde Uyarma Sinyalinin Oluşumu

(a)'daki uyarma sinyali (b)'deki puls taraması ile (c)'deki kare dalga uyarma sinyalini verecek şekilde toplanmaktadır. Akım cevabı  $\Delta i$ , 1 potansiyelindeki akımdan 2 potansiyelindeki akım çıkarılarak bulunur.  $\Delta E_s$ : adım yüksekliği,  $E_{sw}$ : puls genliği

Tersinir bir indirgenme tepkimesinde pulsun boyutu, ileri taramada oluşan ürünün, geri taramada yükseltgenmesini sağlayacak kadar büyüktür. SWV'de akım ölçümleri ileri ve geri pulsların sonuna doğru  $t_s$  kadar bir zaman aralığında yapılır. İleri puls için ölçülen akım  $i_1$ , geri puls için ölçülen akım  $i_2$  olmak üzere her bir kare dalganın *net akımı*  $\Delta i = i_1 - i_2$ 'ye eşittir ve *ileri fark akımı* olarak adlandırılır (Şekil

2.13). Geri puls için ölçülen akım değeri (-) olduğundan  $\Delta i$  mutlak değer açısından iki akımın toplamı şeklindedir ve akım değeri yüksek elde edilir.

SWV yönteminde voltamogramları elde etmek için bu akımların farkı ( $\Delta i$ ) grafiğe geçirilir.  $\Delta i$  derişimle doğru orantılıdır, pik potansiyeli de polarografik yarı dalga potansiyeline karşılık gelir.



**Şekil 2.13.** SWV’de Tersinir Bir Tepkime İçin Net Akım

SWV’de deneysel parametreler belirli aralıklarda seçilir. Frekansın artması ile periyot azalacaktır. Sonuç olarak kare dalga pik akımı ve duyarlılığı artar. 1000 Hz’den daha yüksek frekansla yapılan çalışmalar çok büyük dikkat ve hassasiyet gerektirir. Analitik amaçlı çalışmalar için duyarlılık ve kararlılık açısından 200 Hz ideal bir frekans değeri olarak gözlenmiştir.

Frekans  $10 \leq f \leq 1000$  Hz, periyod  $1 \leq \tau \leq 100$  ms aralığında seçilir. Adım yüksekliği ise aktarılan elektron sayısı  $n$  değerine bağlı olarak  $\Delta E_s = 10/n$  mV eşitliğinden seçilir. SWV’de tarama hızı; frekans, periyod ve adım yüksekliğine bağlı olarak belirlenir ve buna *etkin tarama hızı (ETH)* denir. ETH aşağıdaki eşitlikle ifade edilir.

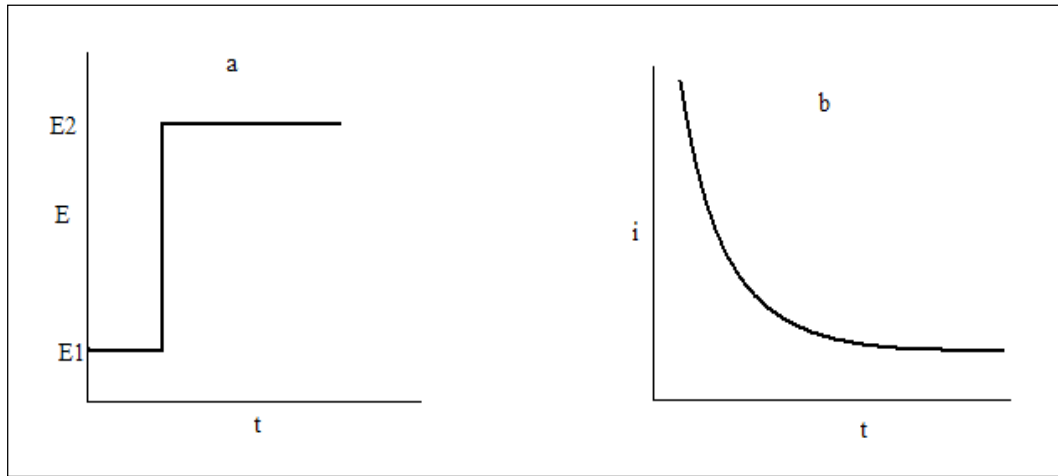


$$ETH = f \times \Delta E_s = 1/\tau \times \Delta E_s \quad (2.15)$$

Tayin sınırları  $10^{-7}$ -  $10^{-8}$  M arasında olan SWV'nin en büyük üstünlüğü çok hızlı bir teknik olmasıdır. Ölçümler çok hızlı yapıldığından birkaç voltametrik taramanın ortalaması alınarak analizin kesinliği artırılabilir.

#### 2.5.1.4. Kronoamperometri (CA) (33)

Potansiyel kontrollü bir yöntemdir. Öncelikle çalışma elektroduna herhangi bir indirgenmenin olmadığı  $E_1$  potansiyeli uygulanır. Sonra potansiyel aniden indirgenmenin olduğu  $E_2$ 'ye değiştirilir. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel - zaman grafiği Şekil 2.14.a'daki gibidir. Uygulanan potansiyel sonucu akım - zaman ilişkisi incelenir ve zamanın karekökü ile azalan bir akım oluşur. Şekil 2.14.b'de gösterildiği gibi akım-zaman eğrisi elde edilir.

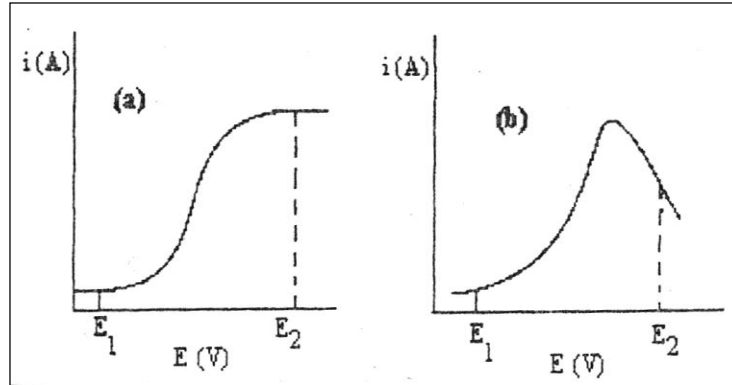


**Şekil 2.14.** CA'da a) Çalışma Elektroduna Uygulanan Potansiyel Programı  
b) Elde Edilen Akım-Zaman Eğrisi

$E_1$  potansiyelinde tepkime olmaz,  $E_2$  potansiyelinde ise akım difüzyon kontrollüdür.

$E_1$  ve  $E_2$  potansiyeli seçilirken öncelikle maddenin DC polarogramı veya CV'si alınır.  $E_1$  ve  $E_2$  potansiyellerinin seçimi Şekil 2.15'de gösterilmiştir. Elektroaktif maddenin indirgenmediği ve artık akımın olduğu herhangi bir potansiyel  $E_1$ ,

indirgenmenin difüzyon kontrollü olduğu difüzyon sınır akımının plato bölgesinden seçilen potansiyel ise  $E_2$  olarak seçilir.



**Şekil 2.15.** CA'da  $E_1$  ve  $E_2$  Potansiyellerinin Seçimi a) DC Yönteminden b) CV Yönteminden

Potansiyel  $E_2$  değerinde bir süre sabit tutulur ve bu potansiyelde oluşan akımın zamanla değişimi aşağıdaki *Cottrell* eşitliğindeki gibidir.

$$I = \frac{nFD^{1/2}C_0}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad (2.16)$$

$I$  = Akım, A

$n$  = Aktarılan elektron sayısı

$F$  = Faraday sabiti,  $C \text{ eq}^{-1}$

$A$  = Elektrot alanı,  $\text{cm}^2$

$D^{1/2}$  = (Difüzyon katsayısı)<sup>1/2</sup>,  $(\text{cm}^2 \text{ s}^{-1})^{1/2}$

$C_0$  = Maddenin derişimi,  $\text{mol} (\text{cm}^3)^{-1}$

$t$  = zaman, s

Eşitlik 2.16'ya göre akımın,  $t^{-1/2}$ 'ye göre grafiğe geçirilmesi ile aktarılan elektron sayısı ve elektroaktif maddenin difüzyon katsayısı hesaplanabilir. Fakat güvenilir sonuçların elde edilmesi için zaman aralığının geniş tutulması gereklidir. 100-300 ms'lik zaman aralığı uygundur. Ayrıca CA'da elde edilen voltamogramdan elektrot tepkimesinin difüzyon kontrollü olup olmadığı tespit edilir.

### 2.5.1.5. Kronokulometri (CC) (33)

Kronoamperometri gibi potansiyel kontrollü bir yöntemdir. Oluşan akımın, zamana karşı grafiğe geçirilmesi ve bu grafiğin elektronik olarak integralinin alınması sonucu toplam yük bulunur. Toplam yük zamana karşı grafiğe geçirilir. Eğer akım difüzyon kontrollü ise, Cottrell eşitliği ile ifade edilen akım – zaman ilişkisinin integrali alındığında toplam yük ile zaman arasındaki ilişki için Eşitlik 2.17 elde edilir.

$$|Q| = \frac{2nFD_o^{1/2}C_o t^{1/2}}{\pi^{1/2}} \quad (2.17)$$

Q – t<sup>1/2</sup> grafiğinin eğiminden difüzyon katsayısı ve elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı hesaplanabilir.

Akım, difüzyon ve kinetik akımların karışımı halinde ise katodik hız sabitinin büyük olduğu durumlarda, k<sub>f</sub> >> k<sub>b</sub> olduğunda Q – t<sup>1/2</sup> grafiği yüksek t değerlerinde doğrusaldır ve Eşitlik 2.17'nin integralinden ;

$$|Q| = \frac{4nFk_f}{\pi} C_o (t_L^{1/2} t^{1/2} - t_L) \quad (2.18)$$

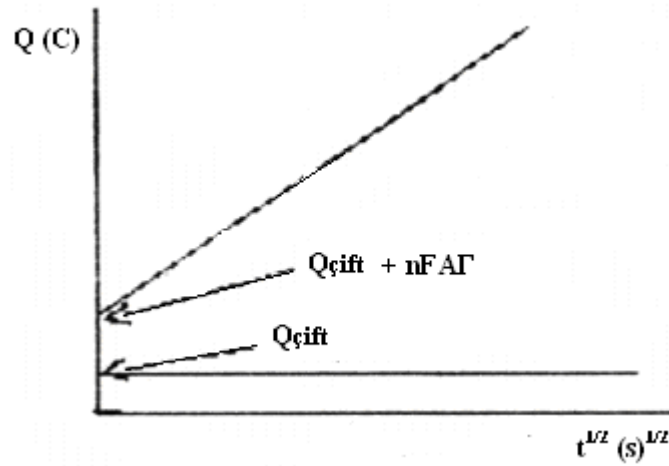
eşitliği elde edilir. Bu eşitlikte Q – t<sup>1/2</sup> grafiği doğrusaldır ve doğrunun t<sup>1/2</sup> eksenini kestiği nokta t<sub>L</sub><sup>1/2</sup> ye eşittir. Elde edilen t<sub>L</sub> değerinin doğrunun eğiminde yerine konulması ile k<sub>f</sub> hesaplanabilir.

$$\text{Eğim} = \frac{4nAFk_f}{\pi} C_o t_L^{1/2} \quad (2.19)$$

Eğer elektrot yüzeyine elektroaktif madde adsorplanmış ise bu durumda toplam yük eşitliği aşağıdaki gibi olur.

$$|Q| = \frac{2nFD^{1/2}C_o t^{1/2}}{\pi^{1/2}} + Q_{\text{çift}} + nFA\Gamma f \quad (2.20)$$

Bu eşitlikten  $Q_{\text{çift}}$  çift tabakada biriken yük miktarı,  $\Gamma$  ise elektrot yüzeyine adsorbe olmuş maddenin mol  $(\text{cm}^3)^{-1}$  türünden derişimidir. Öncelikle ortamda elektroaktif madde yokken destek elektrolitin kronokulometrik  $Q - t^{1/2}$  eğrisi çizilerek çift tabakanın yük miktarı bulunur. Sonrasında elektroaktif madde ilave edilerek  $Q-t^{1/2}$  eğrisi çizilir. Şekil 2.16'daki gibi iki eğrinin  $Q$  eksenini  $t = 0$  anında kestiği noktadaki farktan elektrot yüzeyine adsorbe olan elektroaktif maddenin derişimi hesaplanır.



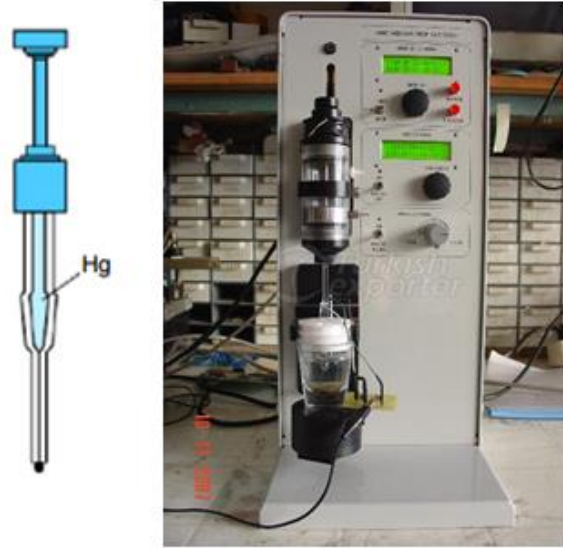
**Şekil 2.16.** CC ile Elektrot Yüzeyine Adsorbe Olan Maddenin Derişiminin Bulunması

## 2.6. Kullanılan Çalışma Elektrotları

Tez çalışmasında kullanılan ADCE ve M-CKE çalışma elektrotlarının özellikleri aşağıda anlatılmıştır.

### ADCE

ADCE'de cıva haznesinin altına yerleştirilmiş olan kapilerden cıva damlaları oluşturulur (Şekil 2.17). Cıvanın ve kapilerin temiz olması, kapilerin özenle ve bilinçle kullanılması önemlidir. Kapiler iç yüzeyine çözelti temas ederse elektrot çalışamaz hale gelir. Bu nedenle; kapiler ucu çözeltiye daldırılmadan önce düzenli bir akış sağlanacak şekilde ayarlanmalıdır.



**Şekil 2.17.** DCE ile Elektrot Hücre Standı

ADCE ile çalışırken ortamdaki çözülmüş oksijen uzaklaştırılmalıdır. Çözülmüş oksijen cıva üzerinde indirgenerek ek bir faradayik akım oluşturacağından diğer maddelerin tayinini engeller. Bu nedenle çalışmaya başlamadan önce çözeltiden  $N_2$ , He,  $CO_2$  gibi elektro inert gazlar geçirilerek çözülmüş oksijenin uzaklaştırılması gerekir. İntert gaz geçirme süresi 2- 30 dk aralığındadır. Oksijene ait dalgalar kaybolana kadar gaz geçirme işlemi sürdürülür. Ayrıca çalışma boyunca sisteme atmosferik oksijenin difüzmesini önlemek için çözelti inert gaz atmosferinde tutulur.

ADCE ile sürekli olarak yeni bir metal yüzeyi oluşur. Önceki analizler sonraki ölçümleri etkilemez. Böylece tekrarlanabilir sonuçlar elde edilir. Bu ADCE'nin bir avantajıdır. Diğer bir avantajı ise yüksek hidrojen aşırı gerilimdir. Bu sayede asidik çözeltilerde herhangi bir engelleme olmadan birçok maddenin indirgenebilmesini sağlar.

Cıvanın yükseltgenmesi ADCE'nin en büyük dezavantajıdır. Bu durum cıvanın anot olarak kullanılmasını sınırlar. +0.4 V'tan büyük potansiyellerde cıva (I) iyonu oluşur. Yükseltgenmesinin + 0.4 V'tan daha büyük potansiyellerde olması halinde cıva ile çalışılmasına engel olur. Ayrıca kuvvetli oksitleyici maddelerin indirgenmesi, cıvanın yükseltgenmesinden dolayı mümkün olmaz. Bu nedenle ADCE sadece indirgenebilen yada kolaylıkla yükseltgenebilen maddelerin analizi için kullanılabilir.

### **M-CKE**

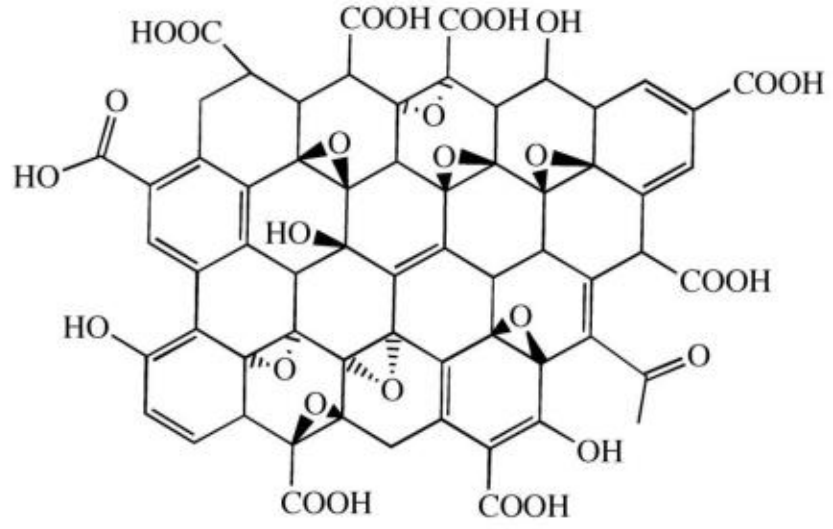
Katı elektrotlar ile sürekli yeni bir yüzey oluşturan cıva damlası kadar tekrarlanabilir sonuçlar alınmaz. Aksine katı elektrottan alınan sonuçlar kalıntı toplanması, adsorpsiyon ya da oksit oluşumundan dolayı zamanla değişir. Yine de analiz edilecek elektroaktif maddenin cinsine ve özelliğine bağlı olarak cıvanın kullanılmadığı durumlarda platin, grafit veya altından yapılan katı elektrotlar kullanılmaktadır.

Karbon geniş anodik potansiyel aralığına, düşük artık akıma ve tekrarlanabilir yüzey yapısına sahip olduğundan ideal bir elektrot malzemesidir. Karbonla yapılan elektrotlar ile -1.8 V ve + 1.8 V (sulu ortamda) arasında hem indirgenme hem yükseltgenme bölgesinde geniş bir potansiyel aralığında çalışılabilir.

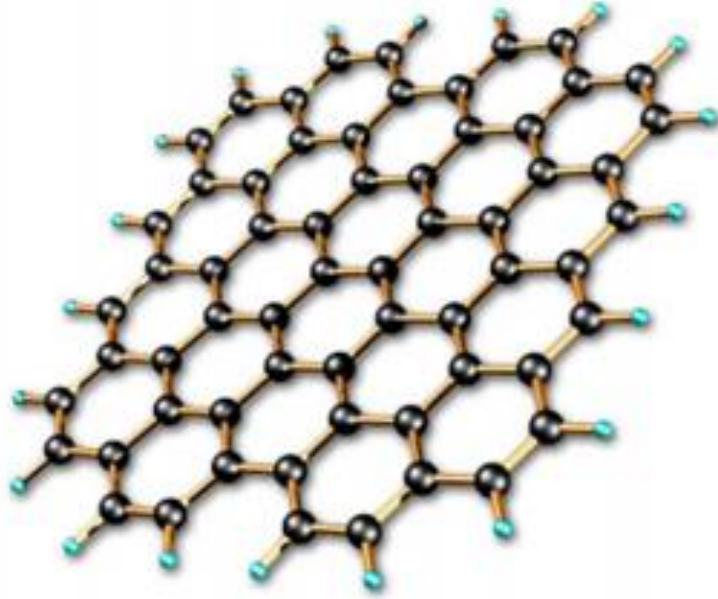
Camsı karbonun diğer karbon yapılarından farklı fiziksel özellikleri vardır. Daha küçük gözeneklere sahiptir ve bu nedenle diğer karbon türlerinden daha çok kullanılır. Camsı karbon elektrot ve diğer katı elektrotlarda aktivasyonu sağlamak ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için temizleme (parlatma), kimyasal ve elektrokimyasal işlemler, düşük basınç altında sıcaklık uygulaması, radyofrekans, lazer ışını ile uyarılma ve metal oksit filmleri ile elektrot yüzeyinin kaplanması gibi ön işlemler vardır. Bu tez çalışmasında çalışma elektrodu olarak grafen oksit ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot (M-CKE) kullanılmıştır.

Grafen oksit çok yönlü bir karbon bileşimidir (39). (Şekil 2.18, 2.19) Grafen elmadan sert ancak esnek yapıda, hafif ve kuvvetlidir. Ayrıca transparan, inert, yoğun, yüksek iletkenlik ve termal iletkenlik gibi özelliklerinden dolayı önemli bir molekül olarak görülmektedir.

Grafen oksit elektronik ve optik alanda, kompozit malzemelerde, temiz ve yenilenebilir enerji depolanmasında, sensörler ve analitik uygulamalarda, elektriksel uygulamalarda ve katalizör destek maddesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Çeşitli sensör yapımlarında da grafen oksit kullanılmaktadır. Grafen oksit tabakalı yapısından dolayı çok büyük bir yüzey alanına sahiptir. Bu özelliği ve yüksek iletkenliği, grafen oksit ile modifiye edilen elektrotlarda gözlenen sinyalin çok yükselmesini sağlar. Bu da yöntemin duyarlılığının artması demektir. Tezde CEFA'nın yükseltgenmesi için elde edilen sinyalin artması amacıyla CKE grafen oksit ile modifiye edilmiştir.



Şekil 2.18. Grafen Oksit Yapısı



Şekil 2.19. Grafen Yapısı

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Gereçler

##### 3.1.1. Kullanılan Cihazlar

- Voltametrik analiz cihazı ( BAS 100B / W)
- UV Spektrofotometre ( Agilent 8453)
- Erime noktası cihazı (Thomas Hoover)
- pH metre ( Mettler Toledo MA 235)
- Ultrasonik banyo ( Bandelin, Sonorex, RK 514 BH)
- Vorteks karıştırıcı ( Nüve, NM 110)
- Santrifüj ( Nüve, NF 1215)
- Hassas terazi (Mettler Toledo AG 285)
- Otomatik mikropipet ( Biohit 10-100 µL ve 100-1000 µL)

##### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- CEFA
- Hidroklorik asit (HCl, Merck)
- Sodyum hidroksit (NaOH, Merck)
- Nitrik asit (HNO<sub>3</sub>, Merck)
- Fosforik asit ( H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Merck)
- Borik asit (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, Merck)
- Dipotasyum hidrojen fosfat (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, Merck)
- Disodyum tetra borat ( Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O, Merck)
- Metil alkol (CH<sub>3</sub>OH, Merck)
- Cıva ( Hg, BDH, Analar)
- Azot gazı ( N<sub>2</sub>, Habaş)
- Mili- Q su



### 3.1.3. Kullanılan Malzemeler

- Balon joje
- Beher
- Cam pipet
- Santrifüj tüpü
- Havan
- Eppendorf tüp

### 3.1.4. Analizi Yapılan Farmasötik Preparatlar

Bu tez kapsamında piyasada satılmakta olan Cefaks isimli farmasötik preparatın analizi yapılmıştır.

### 3.2. Kullanılan Standart Maddenin Saflığının Araştırılması

CEFA'nın saflığı; UV spektrumunun alınması ve erime noktasının tayin edilmesi ile kontrol edilmiştir.

### 3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

*Stok CEFA Çözeltisi ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ):* 25 mg standart CEFA tartılıp bir miktar metanol içerisinde çözüldükten sonra MeOH ile 25 mL'ye tamamlanmış ve +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. İstenen derişimde standart CEFA çözeltisi hazırlamak için bu stok çözelti su ile seyreltilmiştir.

*0.1 M Michaelis Borat Tamponu:* 12.4 g borik asit, 100 mL 1 M NaOH çözeltisinde çözüldükten sonra su ile bir litreye tamamlanmış ve 0.1 M HCl veya 0.1 M NaOH çözeltisi ile istenilen pH'ya ayarlanmıştır (40).

*0.1 M Michaelis Fosfat Tamponu:* 9.08 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 11.87 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ayrı ayrı tartılıp su ile çözüldükten sonra bir litreye tamamlanmış ve uygun miktarlarda karıştırılarak istenilen pH'ya ayarlanmıştır (40) .

*0.1 M  $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (FB) Tamponu:* 4.35 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ve 9.53 g  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ayrı ayrı tartılıp suda çözüldükten sonra 250 mL'ye tamamlanmış ve

1:1 oranında karıştırıldıktan sonra 0.1 M NaOH veya 0.1 M HCl çözeltisi ile istenilen pH'ya ayarlanmıştır.

*Britton Robinson (BR) Tamponu:* 2.47 g borik asit, 2.7 mL fosforik asit ve 2.3 mL glasiyel asetik asit suda çözüldükten sonra bir litreye tamamlanmış ve 0.1 M NaOH çözeltisi ile istenilen pH'ya ayarlanmıştır.

*0.1 M NaOH Çözeltisi:* 4.0 g NaOH tartılarak su ile çözüldükten sonra 1 L'ye tamamlanmıştır.

*0.1 M HCl Çözeltisi:* Yoğunluğu  $1.19 \text{ g mL}^{-1}$  olan ve kütlece % 37'lik HCl çözeltisinden 8.29 mL alınarak balon jodedeki bir miktar su üzerine ilave edilmiş ve su ile 1 L'ye tamamlanmıştır.

### **3.4. Kullanılan Madde ve Malzemelerin Temizliği**

#### **3.4.1. Cıvanın Temizlenmesi**

İçerisindeki kirliliklerin elektrot üzerindeki reaksiyonları engellememesi ve hidrojen aşırı gerilimini azaltmaması için cıvanın temizlenmesi gereklidir. Bu amaçla; huniye yerleştirilen ve alt tarafında iğne deliği bulunan Whatman 41 nicel süzgeç kağıdı içerisinden cıva temiz bir erlene geçirilerek kaba kirler uzaklaştırılmıştır. Daha sonra cıva yıkama şişesine aktarılarak üzerine önce su, daha sonra 2 M HNO<sub>3</sub> çözeltisi ilave edilerek, ikişer gün boyunca sürekli emdirilen hava akımı ile çalkalanmıştır. Yıkama şişesinden alınan cıva içerisine önce 2 M HNO<sub>3</sub>, daha sonra su konulan bir cam borunun üstüne yerleştirilen platin elekten çok küçük parçalara ayrılarak geçirilmiştir. Böylece; cıva parçalarının yüzeyi cam boruda ilerlerken önce asit, sonra su ile temizlenmiştir. Temizlenme aşamasında cıvanın, hava ile temas ederek buharlaşmasını ve oksit tabakası oluşumunu önlemek için yüzeyin su ile kaplı olmasına dikkat edilmiştir. Temizlenen cıva, içerisindeki asit kalmaması için su ile iyice yıkandıktan sonra, huni içerisine yerleştirilmiş ve dibinde iğne delikleri bulunan süzgeç kağıdından beş kez geçirilerek kurutulmuş, en son N<sub>2</sub> geçirilerek oksijeni uzaklaştırılmış ve teflon kaplarda ağzı kapalı olarak saklanmıştır (41).

### 3.4.2. Camsı Karbon Elektrodun Temizlenmesi

Modifikasyon işlemine başlamadan önce çalışma elektrodunun temizlenmesi ve elektrot yüzeyinin parlatılıp, düzgünleştirilmesi gerekir. Bunun için 3 farklı (sırasıyla 1.0  $\mu\text{m}$ , 0.3  $\mu\text{m}$  ve 0.05  $\mu\text{m}$  tanecik boyutlarına sahip) alümina tozu kullanılarak temizleme ve parlatma işlemi yapılmıştır. Her bir temizlemeden sonra farklı boyuttaki toz taneciklerin birbiriyle karışmaması için elektrot yüzeyi saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra elektrot önce saf suda sonra da asetonitril ve izopropil alkolün 1:1 oranındaki karışımında sonikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu parlatma ve temizleme işlemleri ile daha önce modifiye edilmiş elektrot yüzeyindeki moleküller yüzeyden uzaklaştırılmış olur. Ayrıca yüzeye adsorbe olmuş organik ve inorganik kirlilikler giderilerek modifikasyon için temiz ve parlak yüzeyler elde edilir. Bunun yanı sıra tek tabaka oluşumuna uygun düzgün yüzeyler elde edilmiş olur (42).

### 3.4.3. Cam Malzemelerin Temizlenmesi

Kullanılan cam malzemeler deterjanlı su ile yıkanıp, çeşme suyu ile durulandıktan sonra distile su ile birkaç kez yıkanarak oda sıcaklığında kurutulmuştur.

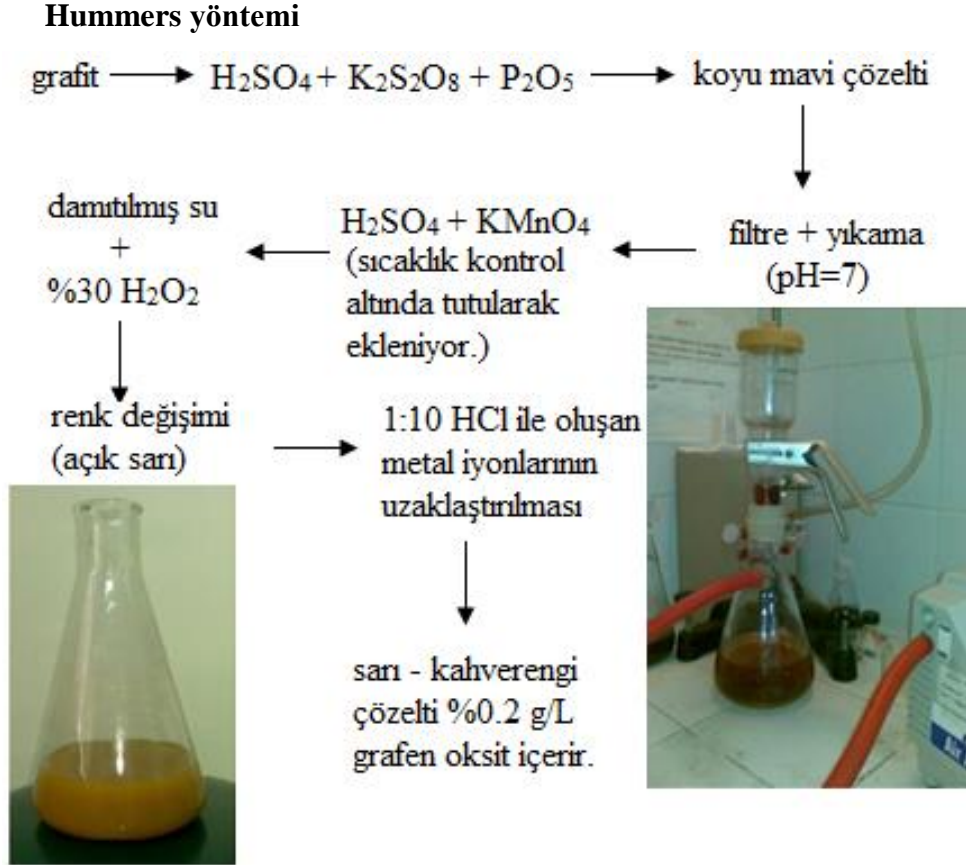
### 3.4.4. Elektrokimyasal Hücrenin Temizlenmesi

Kullanılan elektrokimyasal hücre cam malzemeler gibi temizlenmiştir. Analizler sırasında önce MeOH, daha sonra distile su ile yıkanmıştır.

## 3.5. Grafen oksit sentezi

Grafen oksit, Hummers yönteminin (43) modifiye edilmesi ile sentezlenmiştir (44). 25 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (%98), 5 g  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , 5 g  $\text{P}_2\text{O}_5$  ve 5 g grafit karışımı 80  $^\circ\text{C}$ 'de 6 saat bekletildikten sonra 20  $^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuş, ultra saf su ile 1 L'ye tamamlanarak 12 saat bekletilmiştir. Ön oksitlenen karbon süzülüp ve ultra saf su ile yıkandıktan sonra 0 $^\circ\text{C}$ 'de 250 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (%98) eklenmiş, sıcaklık kontrol edilerek 30 g  $\text{KMnO}_4$  eklenerek 20 $^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuştur. 35 $^\circ\text{C}$ 'de 30 dk bekletildikten sonra bu sıcaklıkta 4 saat karıştırılmıştır. Buz banyosunda distile su ile 500mL'ye seyreltilip 2 saat karıştırıldıktan sonra su ile 2 L'ye seyreltilmiştir. Oluşan kahverengi süspansiyon 40

mL %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile muamele edilmiş ve rengi açık sarıya dönmüştür. Hava kabarcığı çıkışı durana kadar karıştırılmıştır. Sentezlenen grafen oksit süzöldükten sonra 0.1 N HCl ve 3 kez de distile su ile yıkanmıştır. Grafen oksit santrifüj ile çöktürülerek atmosferik şartlarda kurutulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Grafen Oksit Sentezinin Şematik Gösterimi

### 3.5.1. CKE'nin Modifikasyonu

Sentezlenen grafen oksitin uygun miktarı distile su içinde çözülüp, sonike edildikten sonra santrifüjlenmiştir. Berrak çözülden, temizlenmiş ve parlatılmış camsı karbon elektrot yüzeyine mikrolitre düzeyinde tatbik edilmiştir. Daha sonra infrared ışını karşısında 1.5 saat bekletilmiştir. Yüzey kuruduktan sonra elde edilen modifiye camsı karbon elektrot kullanıma hazır hale gelmiştir.

### 3.6. Analiz Yöntemlerinin Geliştirilmesi

#### 3.6.1. CEFA' nın Asılı Duran Cıva Elektrodu (ADCE) Üzerinde İndirgenmesine Dayanan Yöntem Geliştirilmesi

##### Elektrokimyasal Hücre Düzenegi

Voltametik çalışmalar BAS 100B/W Model cihaz ile yapılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot, çalışma elektrodu olarak ADCE, karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Hücre içindeki çözülmüş oksijen ADCE üzerinde indirgeneceğinden ortamdaki oksijenin uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla hücreye ince bir teflon boru daldırılıp hücreden N<sub>2</sub> geçirilmiştir. Nicel analizlerde hücre içerisindeki çözeltinin buharlaşmasını önlemek için N<sub>2</sub> hücreye gelmeden önce içerisinde destek elektrolit çözeltisi bulunan yıkama şişesinden geçirilerek oksijenin analit çözeltisi içerisinde yeniden çözünmesi engellenmiştir.

##### Deneyin Yapılışı

Destek elektrolit olarak seçilen pH 7.0 FB tampon çözeltisinden 3.0 mL alınmış, elektrokimyasal hücreye konulmuş ve 15 dakika N<sub>2</sub> geçirilmiştir. SWV yöntemi için -600 ve -1700 mV aralığında potansiyel uygulanarak destek elektrolit voltamogramı alınmıştır. Hücreye mikropipet ile µL düzeyinde artan derişimlerde standart CEFA çözeltisinden eklenmiş ve voltamogramlar kaydedilmiştir.

##### Yöntem Optimizasyonu

Geliştirilen SWV yöntemi için deneysel ve cihaza ait parametreler değıştirilerek uygun şartlar araştırılmıştır. İlk olarak uygun tampon çözelti ve pH'sı, sonrasında ise cihaza ait parametrelerden frekans, adım yüksekliğı ve puls genliğı değıştirilerek optimum değerler belirlenmiştir. Cihaza ait parametrelerin belirlenmesinde CEFA derişimi 3.23 µg mL<sup>-1</sup> olarak alınmıştır.

### **3.6.2. CEFA'nın Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot (M-CKE) Üzerinde Yükseltgenmesine Dayanan Yöntem Geliştirilmesi**

#### **Elektrokimyasal Hücre Düzenegi**

Voltametrik çalışmalar BAS 100B/W Model cihaz ile yapılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot, çalışma elektrodu olarak grafen oksit ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır.

#### **Deneyin Yapılışı**

Destek elektrolit olarak seçilen pH 2.0 BR tampon çözeltisinden 3.0 mL alınarak elektrokimyasal hücreye konulmuş ve SWV yöntemi için 800 ve 1600 mV aralığında potansiyel uygulanarak destek elektrolit voltamogramı alınmıştır. Hücreye mikropipet ile  $\mu\text{L}$  düzeyinde artan derişimlerde standart CEFA çözeltisinden eklenmiş ve voltamogramlar kaydedilmiştir.

#### **3.6.2.3. Yöntem Optimizasyonu**

Geliştirilen SWV yöntemi için deneysel ve cihaza ait parametreler değiştirilerek uygun şartlar araştırılmıştır. İlk olarak uygun tampon çözelti ve pH' sı sonrasında ise cihaza ait parametrelerden frekans, adım yüksekliği ve puls genliği değiştirilerek optimum değerler belirlenmiştir. Cihaza ait parametrelerin belirlenmesinde CEFA derişimi  $16.13 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak alınmıştır.

#### **3.6.3. Geliştirilen Yöntemler İçin Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması**

CEFA stok çözeltisi  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  olacak şekilde MeOH içerisinde hazırlanmıştır. Doğrusallık aralığını belirlemek için elektrokimyasal hücreye artan derişimlerde  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'ye seyreltilmiş standart CEFA çözeltisinden eklenerek voltamogramlar kaydedilmiştir. Elde edilen pik akımı değerlerinin derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Kalibrasyon çözeltileri günlük hazırlanmış ve analiz sırasında 6 ayrı kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Kalibrasyon

eğrisine ait regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı belirlenmiştir. Korelasyon katsayısı önem kontrolü ve elde edilen doğruların doğrusallıktan ayrılışının önem kontrolü testleri yapılmıştır (Bkz. Ek 1).

### **3.6.4. Geliştirilen Yöntemlerin Validasyonu**

Geliştirilen SWV yöntemlerinin validasyonu için kararlılık, doğrusallık, duyarlılık, kesinlik, doğruluk, cihaz tekrarlanabilirliği, sağlamlık, tutarlılık, özgünlük ve geri kazanım parametreleri değerlendirilmiştir.

#### ***Kararlılık***

CEFA'nın metanoldeki  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  çözeltisinin kararlılık çalışması yapılmıştır. Bu amaçla oda sıcaklığında ve buzdolabında saklanan CEFA çözeltilerinden  $3.226 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik standart CEFA çözeltileri hazırlanmıştır. Kısa dönem kararlılık çalışması için oda sıcaklığında saklanan CEFA çözeltisinin 24 saat boyunca ADCE ile kare dalga voltamogramları alınmıştır. Uzun dönem kararlılık çalışması için  $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanan standart CEFA çözeltisinin 2 ay boyunca ADCE ile kare dalga voltamogramları alınmıştır.

#### ***Doğrusallık***

Doğrusallık aralığını saptamak için destek elektrolit içeren elektrokimyasal hücreye artan derişimlerde standart CEFA çözeltisinden eklenmiş ve sırası ile voltamogramlar kaydedilmiştir. Derişime karşı pik akımının grafiğe geçirilmesiyle kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Geliştirilen SWV yönteminin doğrusallığı; olması gereken derişimlere karşı, kalibrasyon grafiğinden elde edilen veriler kullanılarak bulunan derişimlerin grafiğe geçirilmesiyle kontrol edilmiştir.

#### ***Duyarlılık***

LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanması için aşağıda verilen formüller kullanılmıştır (45).

$$\text{LOD}=3.3\left(\frac{\text{SS}}{\text{S}}\right) \quad (3.1)$$

$$\text{LOQ}=10\left(\frac{\text{SS}}{\text{S}}\right) \quad (3.2)$$

SS; Oluşturulan kalibrasyon eğrilerinin y eksenini kestiği noktanın standart sapması.

S; Oluşturulan kalibrasyon eğrilerinin eğimlerinin ortalamasıdır.

### ***Kesinlik ve Doğruluk***

Kesinlik ve doğruluk çalışmaları gün içi ve günler arası olmak üzere ayrı ayrı yapılmıştır. Bunun için; indirgenme yöntemi için 2.00, 6.00 ve 11.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA derişimlerinde, yükseltgenme yöntemi için 8.20, 16.13, 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA derişimlerinde tekrarlı analizler yapılmıştır. Derişimler alt tayin sınırına yakın, orta ve üst tayin sınırına yakın olacak şekilde seçilmiştir. Gün içi çalışmalarda; üç derişim seviyesinde ve her derişim için altı ayrı çözelti hazırlanmış, bu çözeltiler aynı gün içinde analiz edilmiştir. Günler arası çalışmalarda; üç derişim seviyesinde yeni hazırlanan çözeltilerin analizleri altı ayrı günde yapılmıştır. Kesinlik; bulunan değerlerin ortalaması, standart hatası (SH), standart sapması (SS) ve bağıl standart sapması (BSS) ile verilmiştir. Doğruluk ise; eklenen CEFA derişimi ile bulunan CEFA derişiminin karşılaştırılması ve bulunan % bağıl hata ile verilmiştir (Bkz. Ek 2).

### ***Cihaz Tekrarlanabilirliği***

Geliştirilen SWV yöntemleri için cihaz tekrarlanabilirliği; ADCE ile; 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE ile; 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA içeren çözeltinin on kez voltamogramlarının kaydedilmesiyle elde edilen pik akımlarının BSS değerleri hesaplanarak gösterilmiştir.

### ***Sağlamlık ve Tutarlılık***

SWV yönteminin sağlamlık çalışması için belirlenen deney koşullarında küçük değişiklikler yapılarak analizler tekrarlanmıştır. Bu amaçla; destek elektrolit pH'sı ve başlangıç potansiyelinde küçük değişiklikler yapılmıştır. Bulunan sonuçlar optimize şartlarda elde edilen sonuçlarla istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Tutarlılık



çalışmalarında ise; çözeltilerin analizleri iki farklı analizci tarafından yapılmıştır. Bu amaçla; doğrusallık aralığına giren bir derişim seviyesinde yedi ayrı çözeltiler hazırlanmış ve bu çözeltilerin aynı gün içinde farklı iki analizci tarafından analizleri yapılmıştır. İki analizcinin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### ***Özgünlük (Seçicilik)***

Yöntemlerin özgünlüğünü belirlemek amacıyla aynı derişimde CEFA içeren standart, sentetik preparat ve tablet çözeltilerinin voltamogramları karşılaştırılmıştır.

### ***Geri Kazanım***

Geri kazanım çalışmalarında sentetik preparat çözeltileri hazırlanmıştır. Bunun için; 10 adet tablete karşılık gelen miktar kadar Na benzoat, propilen glikol, metil paraben, aerosil, TiO<sub>2</sub>, kroskarmeloz sodyum, mikrokristalin selüloz tartılmıştır. Bu karışıma 6014 mg CEFA (bir tablet 601.4 mg CEFA içermektedir) eklenerek oluşturulan sentetik tablet homojen olacak şekilde karıştırıldıktan sonra bir tablete eşdeğer miktar tartılmış ve 100 mL'lik balon jøjeye alınarak MeOH ilave edilmiştir. Ultrasonik banyoda 15 dk bekletildikten sonra MeOH ile son hacime tamamlanmıştır ve santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak çözeltiden doğrusallık sınırları içerisinde olacak şekilde bir derişim seçilerek seyreltmeler yapılmış, bu çözeltiden elektrokimyasal hücredeki destek elektrolit üzerine µL düzeyinde eklemeler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir.

## **3.6.5. Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanması**

### **Kalibrasyon Grafiği Yöntemi İle Analiz**

10 adet tablet toz haline getirilerek homojen olacak şekilde karıştırıldıktan sonra bir tablete eşdeğer miktarda tartılan toz 100 mL'lik balon jøjeye alınarak MeOH eklenmiş ve ultrasonik banyoda 15 dk bekletilip MeOH ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiden belli bir miktar tüpe alınarak santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak çözeltiden doğrusallık sınırları içinde olacak şekilde uygun seyreltmeler yapılmıştır. Elektrokimyasal hücredeki destek elektrolit üzerine bu çözeltiden eklemeler yapılarak

ve voltamogramlar kaydedilmiştir. Hazırlanmış olan kalibrasyon grafiklerinden preparatlardaki CEFA miktarı hesaplanmıştır.

### **Standart Ekleme Yöntemi İle Analiz**

Destek elektrolit çözeltisine Bölüm 3.6.5.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanan tablet çözeltisinden belli bir miktar ekleme yapıp voltamogram kaydedildikten sonra  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  lik standart CEFA çözeltisinden doğrusallık sınırları içerisinde olacak şekilde artan derişimlerde üç ekleme yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir. Eklenen CEFA derişimlerine karşı ölçülen pik akımı değerleri grafiğe geçirilmiş ve doğrunun x eksenini kestiği noktada maddenin derişimi bulunmuştur. Yapılan seyreltmeler göz önünde alınarak preparatlardaki CEFA miktarı hesaplanmıştır.

### **Karşılaştırma Yöntemi İle Analiz**

MeOH içerisinde  $0.8, 1.6, 3.2$  ve  $6.4 \mu\text{g mL}^{-1}$  standart CEFA çözeltileri hazırlanmıştır. Kör çözelti olarak etkin maddenin çözücüsü olan MeOH kullanılmıştır. Çözeltilerin  $200-400 \text{ nm}$  aralığında spektrumları kaydedilmiş ve  $278 \text{ nm}$ ’de absorbanslar okunarak kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bölüm 3.6.5.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanan tablet çözeltileri uygun derişimlere seyreltikten sonra absorbanslar okunmuş ve elde edilen kalibrasyon grafiklerinden preparatlardaki CEFA miktarı hesaplanmıştır.

## **3.7. CEFA’nın Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi**

### **3.7.1. Kare Dalga Voltametri Deneyleri**

Referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, karşıt elektrot olarak platin tel, çalışma elektrodu olarak CEFA’nın indirgenmesi için ADCE, yükseltgenmesi için M-CKE kullanılmıştır. Her iki yöntem için seçilen destek elektrolit çözeltilerinden elektrokimyasal hücreye  $3.0 \text{ mL}$  alınmıştır. ADCE ile çalışırken elektrokimyasal hücreden  $15 \text{ dk}$   $\text{N}_2$  geçirilmiştir. ADCE için  $-600 \text{ mV}$ , M-CKE için  $800 \text{ mV}$  başlangıç potansiyeli uygulanarak önce destek elektrolit çözeltilerinin daha sonra destek

elektrolit üzerine artan derişimlerde eklenen standart CEFA çözeltilisinin kare dalga voltamogramları kaydedilmiştir.

### 3.7.2. Dönüşümlü Voltametri Deneyleri

CEFA'nın indirgenmesi için referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, çalışma elektrodu olarak ADCE ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücreye pH 2.0 ve 10.0 aralığında 3.0 mL, 0.1 M FB tampon çözeltisi ilave edilerek, çözeltilerden 15 dk N<sub>2</sub> geçirilmiştir. 10 ile 1000 mV s<sup>-1</sup> aralığında farklı tarama hızlarında 8.00 µg mL<sup>-1</sup> CEFA çözeltisinin dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir.

CEFA'nın yükseltgenmesi için referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, çalışma elektrodu olarak M-CKE ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücreye 3.0 mL, pH 2.0 BR tampon çözeltisi ilave edilerek, 10 ile 1000 mV s<sup>-1</sup> aralığında farklı tarama hızlarında 31.25 µg mL<sup>-1</sup> CEFA çözeltisinin dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir.

### 3.7.3. Kronoamperometri Deneyleri

CEFA'nın indirgenmesi için referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, çalışma elektrodu olarak ADCE, karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücreye 3.0 mL pH 7.0, 0.1 M FB tampon çözeltisinden ilave edilerek, 15 dk N<sub>2</sub> geçirilmiştir. [(-800) – (-1100)] mV' luk potansiyel aralığında 15.00 µg mL<sup>-1</sup> CEFA çözeltisinin kronoamperometrik voltamogramları tek yönlü ve çift yönlü olarak kaydedilmiştir.

CEFA'nın yükseltgenmesi için referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, çalışma elektrodu olarak M-CKE ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücreye 3.00 mL, pH 2.0 BR tampon çözeltisi ilave edilerek [(800) – (1600)] mV' luk potansiyel aralığında 31.25 µg mL<sup>-1</sup> CEFA çözeltisinin kronoamperometrik voltamogramları tek yönlü ve çift yönlü olarak kaydedilmiştir.

#### 3.7.4. Kronokulometri Deneyleri

CEFA'nın indirgenmesi için referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, çalışma elektrodu olarak ADCE, karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücreye 3.0 mL pH 7.0, 0.1 M FB tampon çözeltisinden ilave edilerek 15 dk N<sub>2</sub> geçirilmiştir. [(-800) – (-1100)] mV'luk potansiyel aralığında 15.00 µg mL<sup>-1</sup> CEFA çözeltisinin kronokulometrik voltamogramları kaydedilmiştir.

CEFA'nın yükseltgenmesi için referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu, çalışma elektrodu olarak M-CKE ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücreye 3.00 mL pH 2.0 BR tampon çözeltisi ilave edilerek [(800) – (1600)] mV'luk potansiyel aralığında 31.25 µg mL<sup>-1</sup> CEFA çözeltisinin kronokulometrik voltamogramları kaydedilmiştir.

## 4. BULGULAR

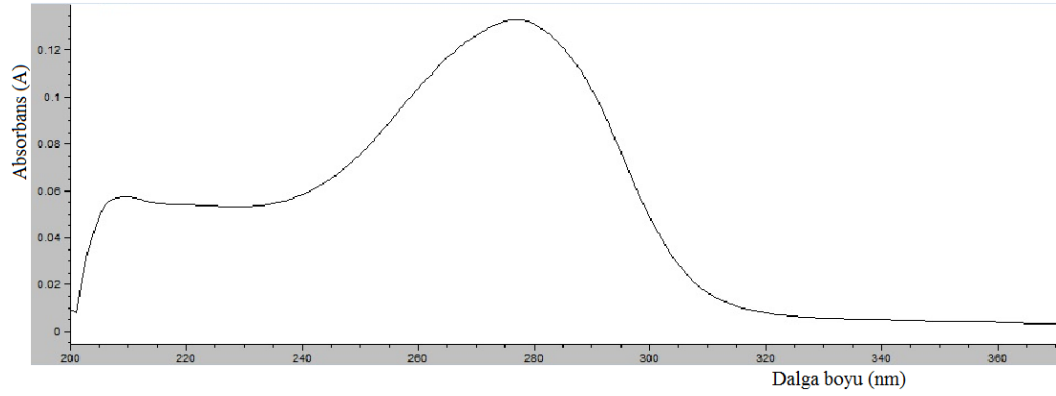
### 4.1. Saflık Kontrolü Bulguları

#### 4.1.1. Erime Noktası

CEFA'nın erime noktası yapılan tayin sonucu 171-173<sup>0</sup>C olarak belirlenmiştir.

#### 4.1.2. CEFA'nın UV Spektrumu

CEFA'nın MeOH içindeki çözeltisinin UV spektrumu Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. 6.4 µg mL<sup>-1</sup> CEFA'nın MeOH İçindeki UV Spektrumu

#### 4.1.3. CEFA İçin Uygun Çözücünün Belirlenmesi

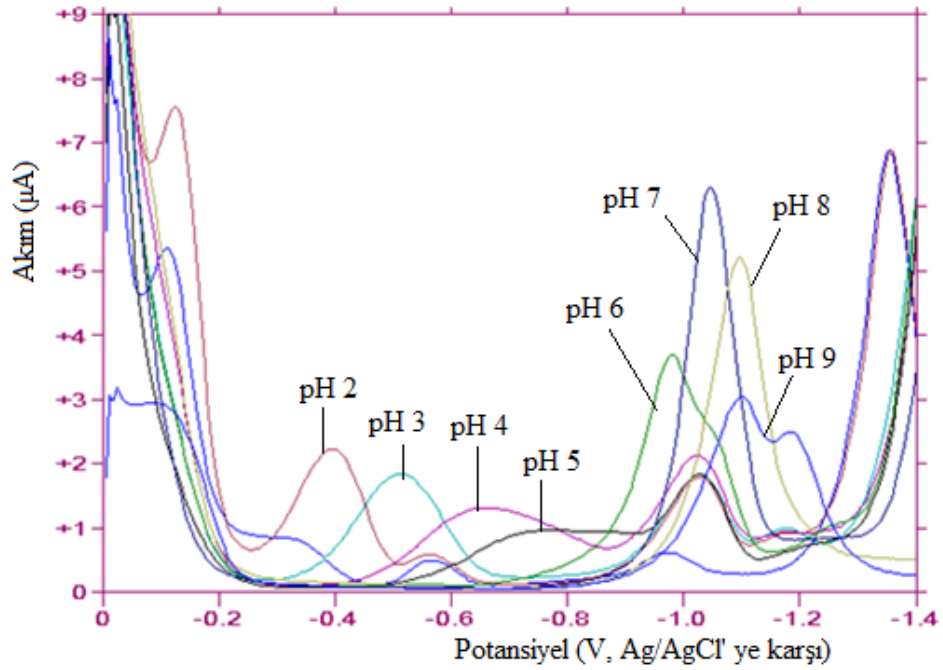
CEFA suda kısmen, MeOH'da tamamen çözüldüğü için en uygun çözücü MeOH olarak seçilmiştir. Stok CEFA çözeltisi MeOH içerisinde hazırlanmış, gerekli seyreltmeler ise su ile yapılmıştır.

## 4.2. Geliştirilen Elektroanalitik Yöntemlere Ait Analiz Bulguları

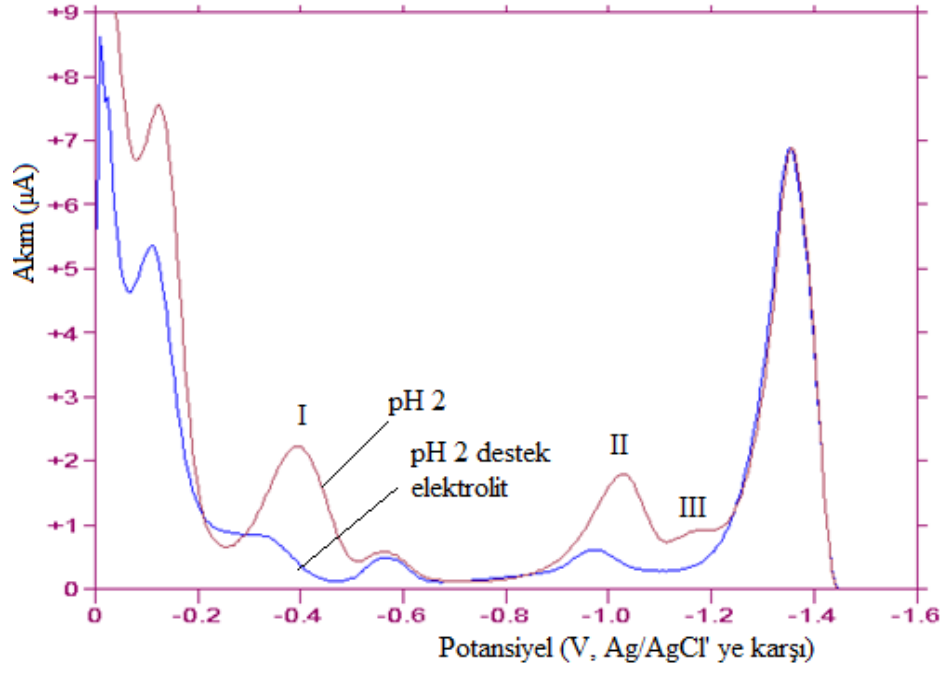
### 4.2.1. CEFA'nın Asılı Duran Cıva Elektrodu Üzerinde İndirgenmesine Dayanan Yöntemin Analiz Bulguları

#### Destek Elektrolitin Belirlenmesi

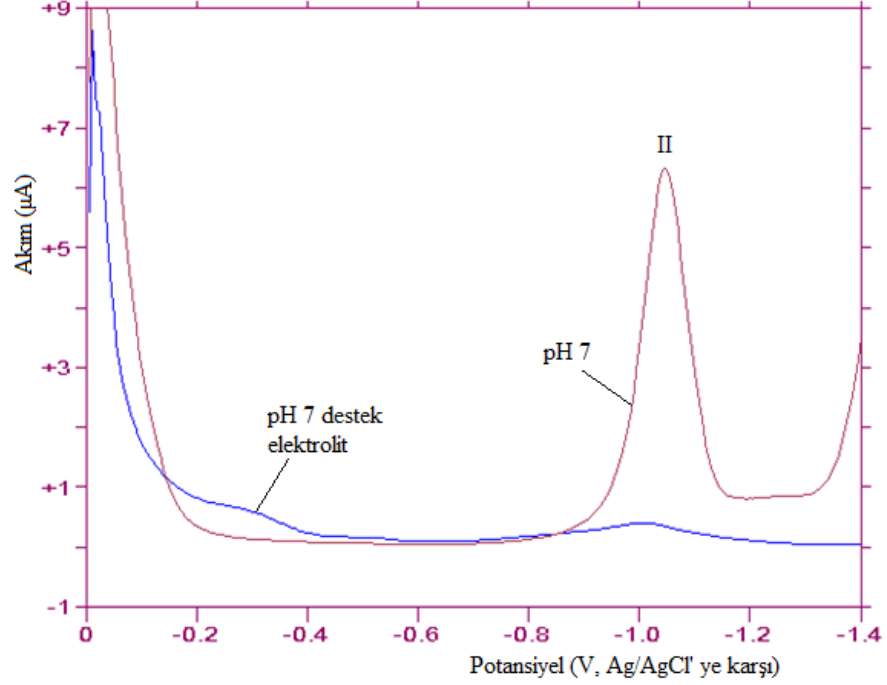
ADCE ile SWV yönteminde CEFA tayini için yapılan çalışmalarda öncelikle farklı pH değerleri ve farklı tamponlar araştırılmıştır. Bu amaçla 0.1 M fosfat, 0.1 M borat, 0.1 M FB ve BR tamponları denenmiştir. Bu tampon çözeltilerin her birinde CEFA'nın indirgenme piki gözlenmiştir. Asidik ortamda (pH 2-5) 3 pik gözlenirken, pH 7 ve 8 de ise daha yüksek pik akımına sahip tek pik gözlenmiştir (Şekil 4.2- Şekil 4.4).



Şekil 4.2.  $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Farklı pH'da 0.1 M FB Ortamında Kare Dalga Voltamogramları

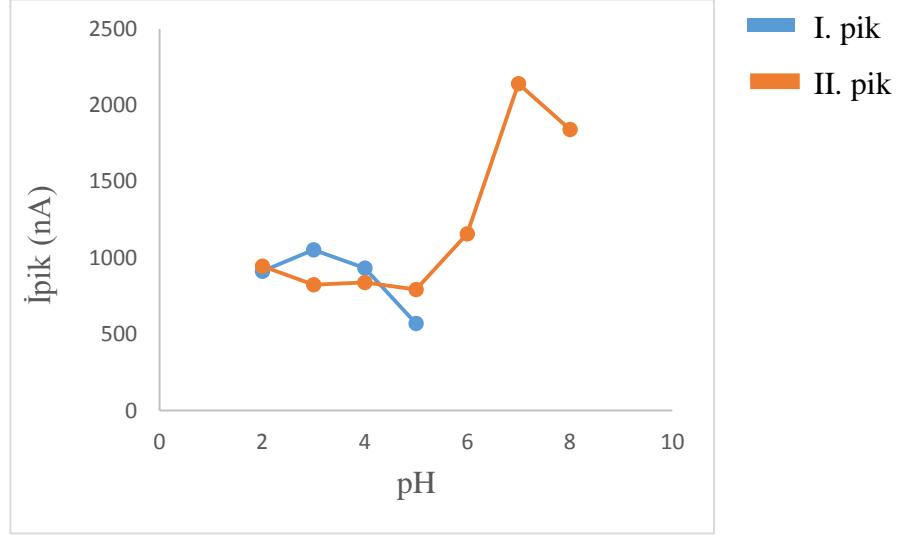


Şekil 4.3.  $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 2, 0.1 M FB Ortamında Kare Dalga Voltamogramları

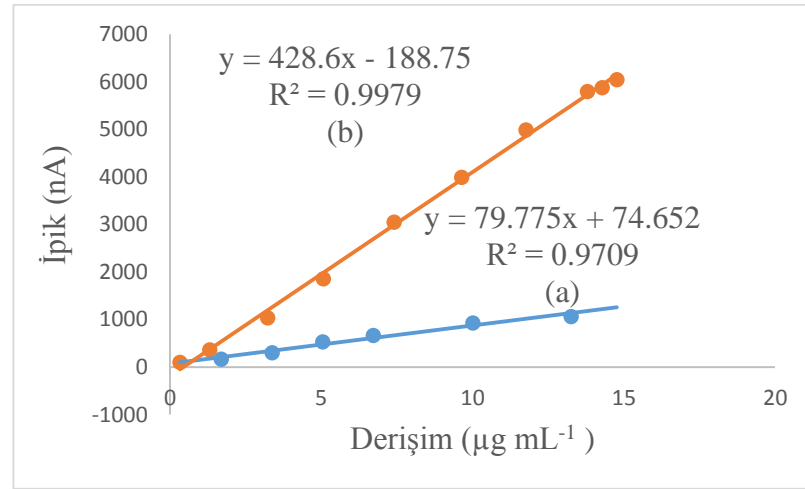


Şekil 4.4.  $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 7, 0.1 M FB Ortamında Kare Dalga Voltamogramları

CEFA'nın 0.1 M FB tampon sisteminde farklı pH değerlerinde I ve II numaralı pikler için İpik değerleri Şekil 4.5'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.5.** 5.00 µg mL<sup>-1</sup> CEFA'nın 0.1 M FB Tampon Sisteminde SWV Yöntemine Ait I ve II Numaralı Pikler İçin pH – İpik Grafiği

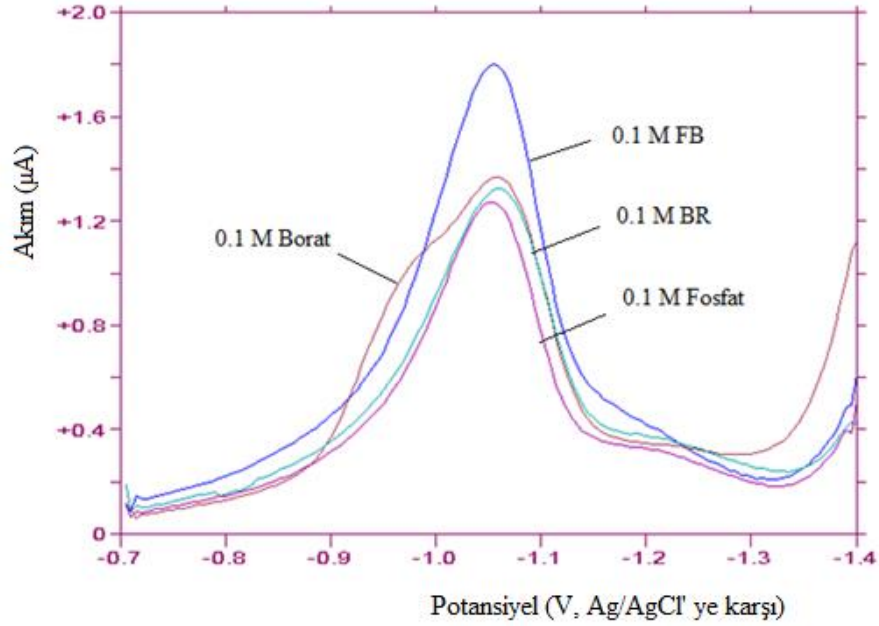


**Şekil 4.6.** CEFA'nın 0.1 M FB Tampon Sistemindeki SWV Yöntemine Ait

(a) I Numaralı Pik İçin pH 2'de, (b) II Numaralı Pik İçin pH 7'de Kalibrasyon Doğruları



CEFA'ya ait her iki pikten II numaralı pikin pH 7, 0.1 M FB tampon sisteminde gözlenen pik akımının çok daha yüksek (Şekil 4.5) ve elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğiminin daha büyük olması nedeniyle (Şekil 4.6) ADCE ile yapılacak tüm çalışmalarda II. pikin değerlendirilmesine karar verilmiştir.



**Şekil 4.7.**  $3.23 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Farklı Tampon Çözeltilerdeki (pH=7)Kare Dalga Voltamogramları ( frekans 35 Hz, adım yüksekliği 5, puls genliği 40 mV)

Farklı destek elektrolitler araştırılıyorken; CEFA'nın II numaralı indirgenme pikinin şekli ve pik akımı dikkate alındığında pH 7, 0.1 M FB tamponu tüm çalışma boyunca destek elektrolit olarak seçilmiştir (Şekil 4.7).

FB tampon çözeltisinin farklı derişimlerinde CEFA'nın pik akımı değerleri ölçülmüştür (Tablo 4.1)

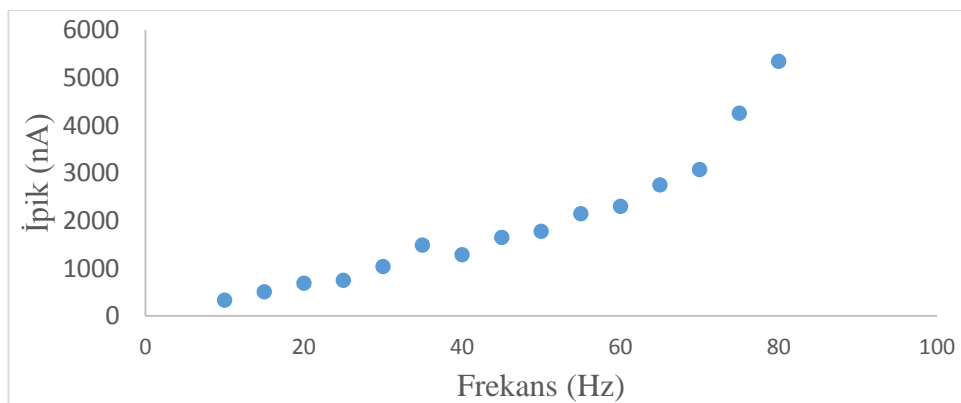
**Tablo 4.1.** CEFA'nın Farklı Derişimlerdeki pH 7.0 FB Tampon Çözeltileri Oratamında Elde Edilen Pik Akımları

CEFA Derişimi ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	pH 7.0 FB Tampon Çözelti Derişimi (M)			
	0.025	0.05	0.1	0.2
	Pik Akımı (nA)			
0.66	-	112.00	179.81	141.91
1.64	-	404.30	488.00	479.72
3.23	897.72	989.81	1168.90	1116.23
6.25	2026.71	2241.81	2563.93	2419.20
9.09	3444.70	3484.82	3974.92	3890.22
11.76	4728.71	4826.82	5418.90	5260.21
14.29	5558.74	5972.88	6697.91	6520.23

Şekil 4.7 ve Tablo 4.1'den görüldüğü üzere CEFA'ya ait II. pik için en uygun destek elektrolit olarak pH 7.0, 0.1 M FB tamponu seçilmiştir.

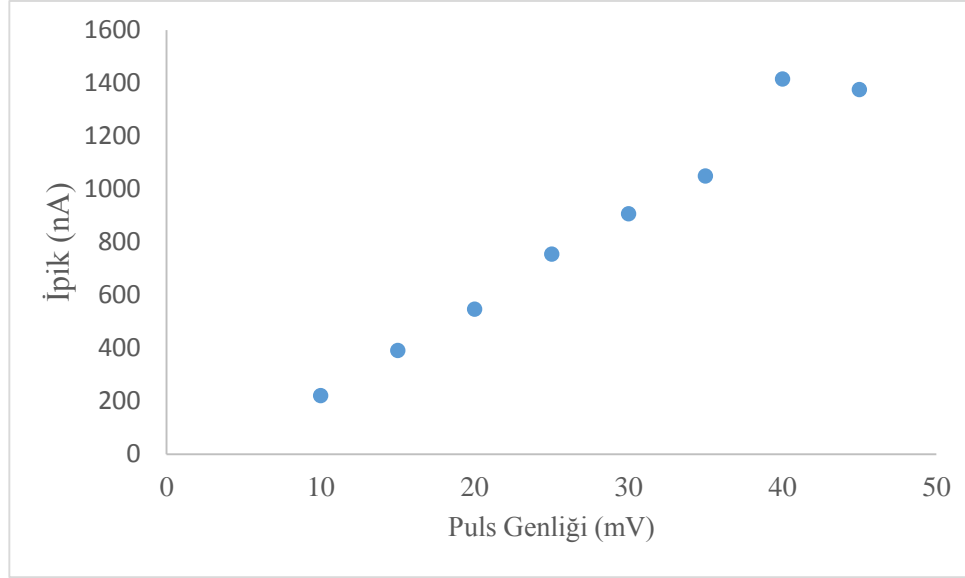
### Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu

ADCE ile SWV yönteminde optimum cihaz parametrelerinin belirlenmesi için seçilen destek elektrolite belirli miktarda CEFA eklenerek pik akımı üzerine; frekans, puls genliği ve adım yüksekliği değişimin etkisi incelenmiştir. (Şekil 4.8-Şekil 4.10)



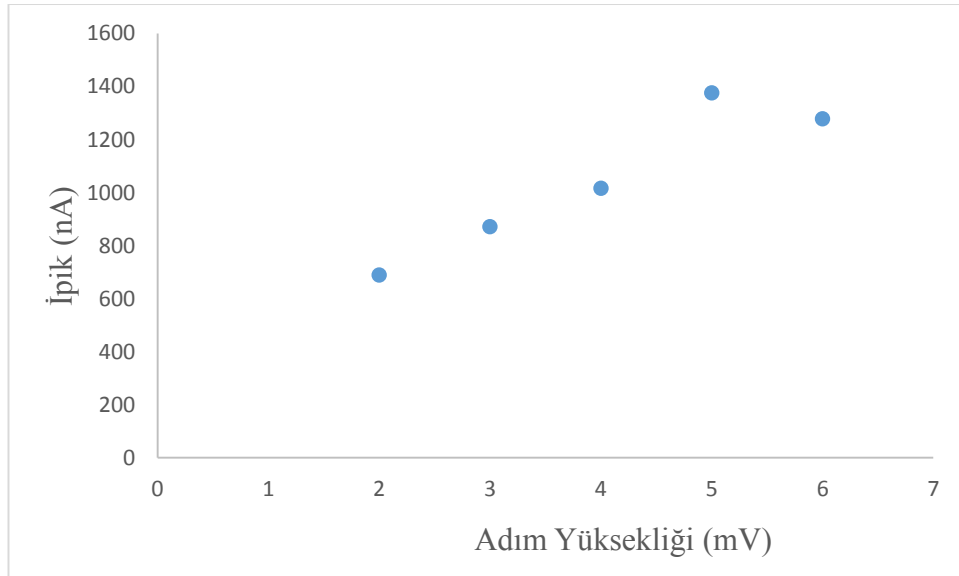
**Şekil 4.8.** ADCE'de SWV Yöntemi İçin CEFA'nın Pik Akımına Frekans Değişiminin Etkisi

(adım yüksekliği=5 mV, puls genliği= 40 mV, CEFA derişimi: 3.23  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )



**Şekil 4.9.** ADCE’de SWV Yöntemi İçin CEFA’nın Pik Akımına Puls Genliği Değişiminin Etkisi

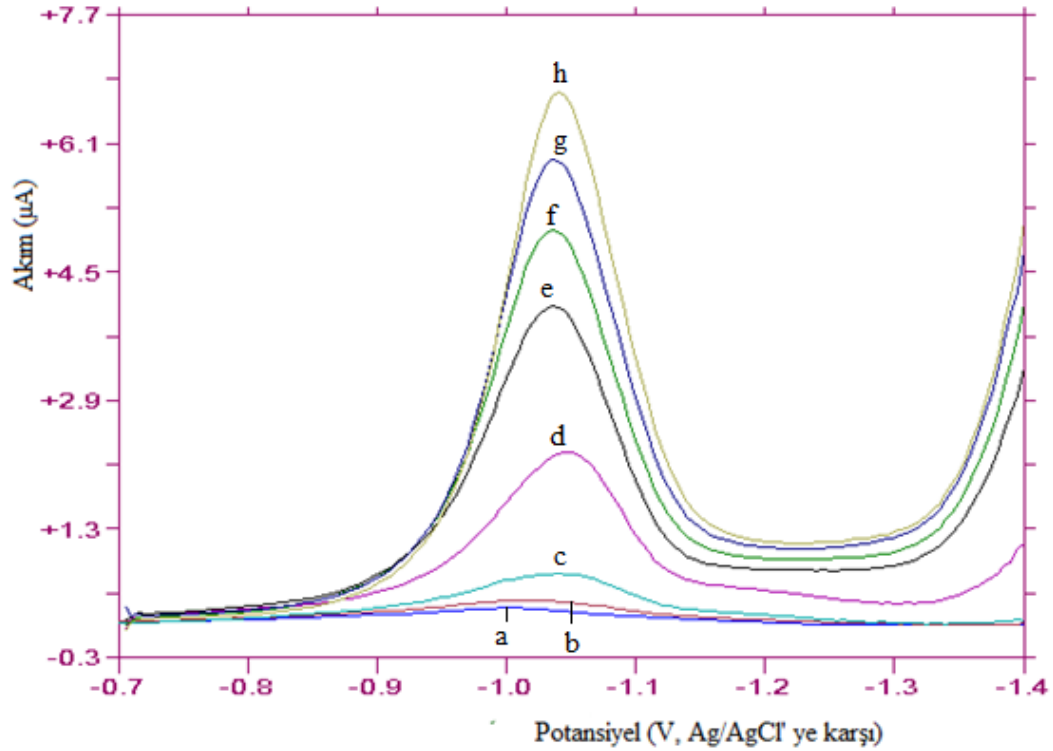
(adım yüksekliği=5 mV, frekans=35 Hz, CEFA derişimi: 3.23  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )



**Şekil 4.10.** ADCE’de SWV Yöntemi İçin CEFA’nın Pik Akımına Adım Yüksekliği Değişiminin Etkisi

(frekans=35 Hz, puls genliği=40 mV, CEFA derişimi: 3.23  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )

Pik şekli ve pik akımı değerleri dikkate alındığında en uygun parametreler; frekans için 35 Hz, puls genliği 40 mV ve adım yüksekliği 5 mV olarak seçilmiştir. Bu parametreler ile pH 7.0, 0.1 M FB tampon çözeltisinde artan derişimlerde CEFA'ya ait kare dalga voltamogramları Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.11.** CEFA'nın ADCE'de Kare Dalga Voltamogramları

a) Destek elektrolit, b) 0.33 c) 1.32 d) 5.06 e) 7.41

f) 9.64 g) 11.76 h) 13.93  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA

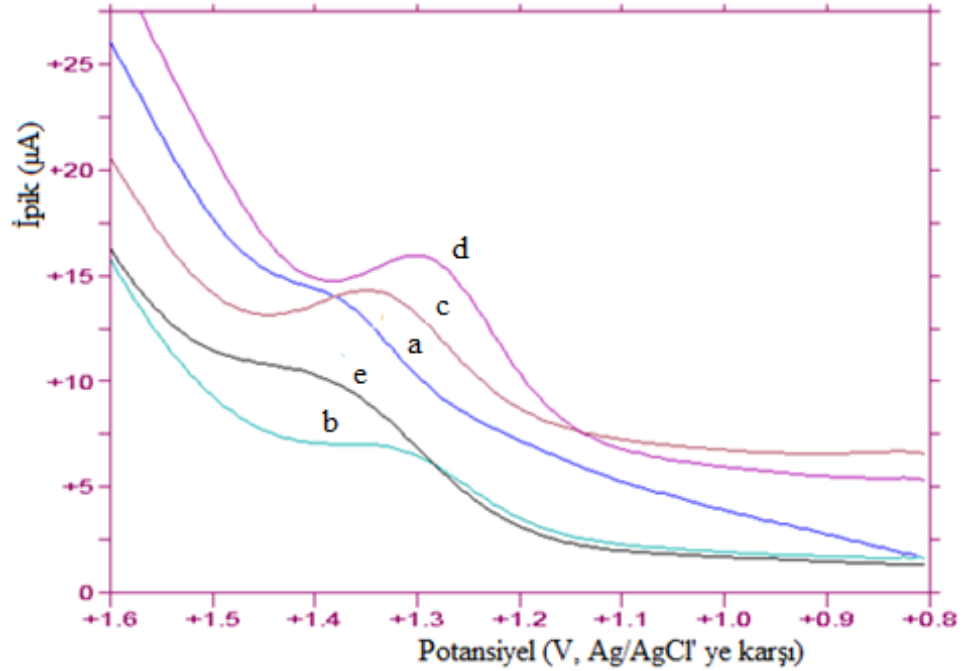
(frekans 35 Hz, adım yüksekliği 5 mV, puls genliği 40 mV)

#### 4.2.2. CEFA'nın Modifiye Edilmiş Camı Karbon Elektrot Üzerinde Yükseltgenmesine Dayanan Yöntemin Analiz Bulguları

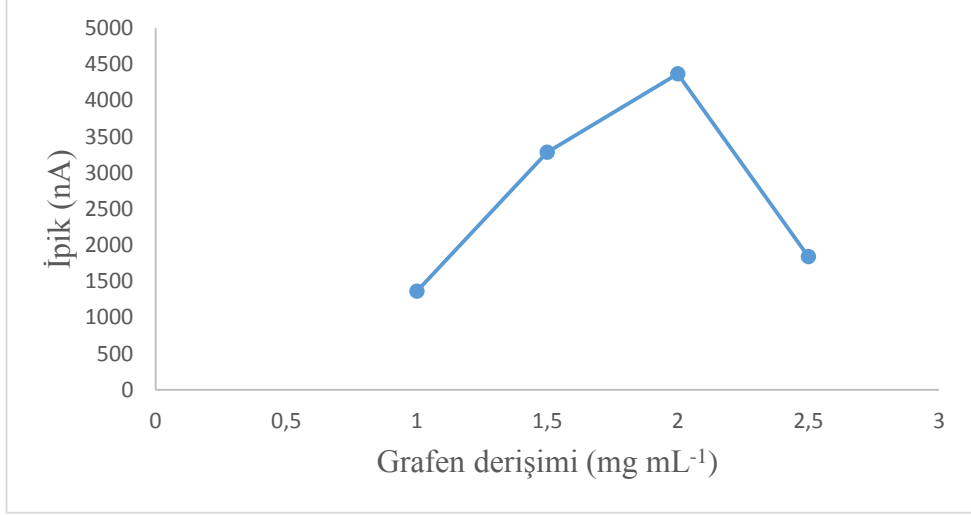
##### Destek Elektrolitin Belirlenmesi

M-CKE ile SWV yönteminde CEFA tayini için destek elektrolit olarak BR tampon çözeltisi denenmiştir ve 1.3 V civarında CEFA'nın yükseltgenme piki gözlenmiştir. Sonraki tüm çalışmalarda destek elektrolit olarak BR tamponu kullanılmıştır.

Normal CKE ve farklı miktarlarda grafen oksitle kaplanmış M-CKE ile CEFA'nın SWV voltamogramları Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



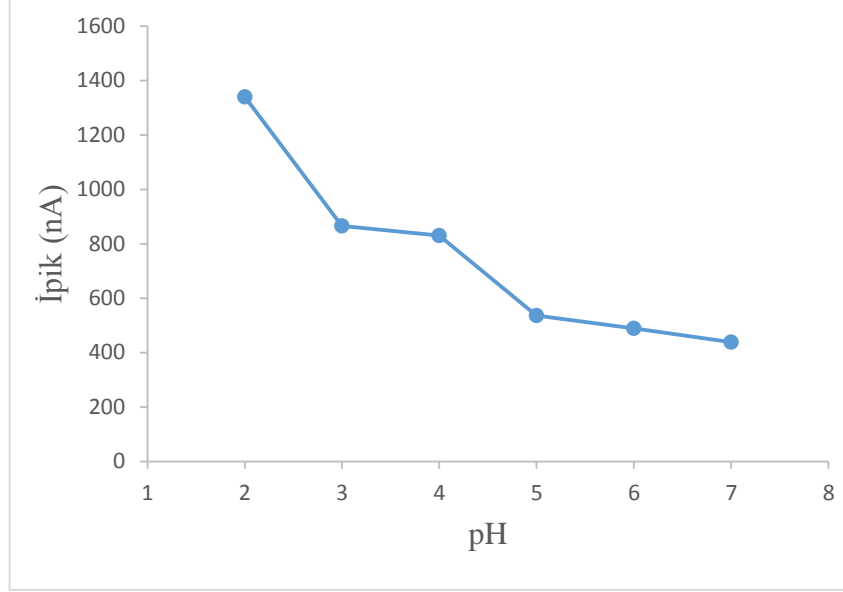
**Şekil 4.12.** a) Normal Elektrot b) 1.00 mg mL<sup>-1</sup> c) 1.50 mg mL<sup>-1</sup> d) 2.00 mg mL<sup>-1</sup> e) 2.50 mg mL<sup>-1</sup> Grafen Çözeltilisi İle Modifiye Edilmiş CKE'de 38.46 µg mL<sup>-1</sup> CEFA'nın pH 2, BR'de Kare Dalga Voltamogramları



**Şekil 4.13.** 38.46  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın M-CKE'de Pik Akımına Modifikasyon İşleminde Kullanılan Grafen Oksit Miktarının Etkisi

En yüksek pik akımı CKE 2.00  $\text{mg mL}^{-1}$  grafen oksit çözeltisi ile kaplandığında elde edilmiştir(Şekil 4.13). Tüm çalışma boyunca CKE 2.00  $\text{mg mL}^{-1}$  grafen oksit çözeltisi ile kaplanarak elektrokimyasal ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Modifikasyon için uygun grafen miktarı belirlendikten sonra M-CKE ile BR çözeltisinin farklı pH değerlerinde CEFA'nın yükseltgenmesine ait pik akımı değerleri Şekil 4.14'de gösterilmiştir.

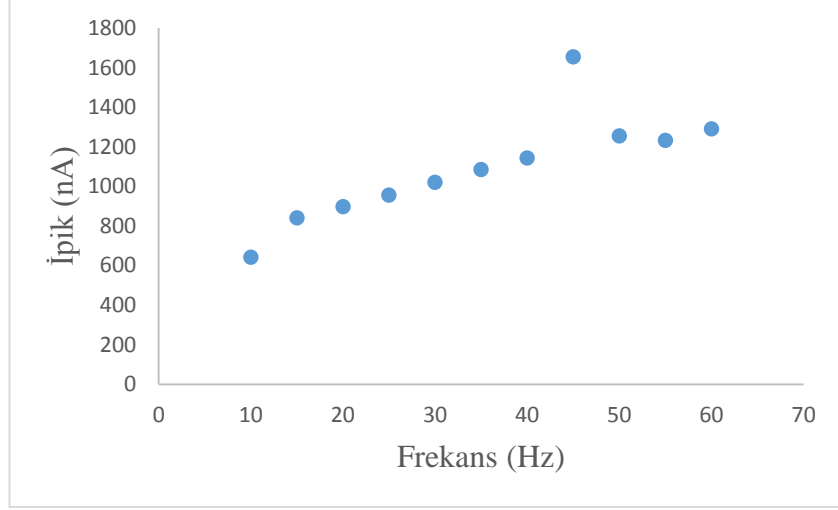


**Şekil 4.14.** BR Tamponunun Farklı pH'larında  $16.129 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Yükseltgenmesine Ait Pik Akımı Değerleri

Şekil 4.14'e göre CEFA'nın BR çözeltisinde yükseltgenmesi için en yüksek pik akımı pH 2'de elde edildiğinden M-CKE ile yapılan tüm çalışmalarda en uygun destek elektrolit olarak pH 2, BR tamponu seçilmiştir.

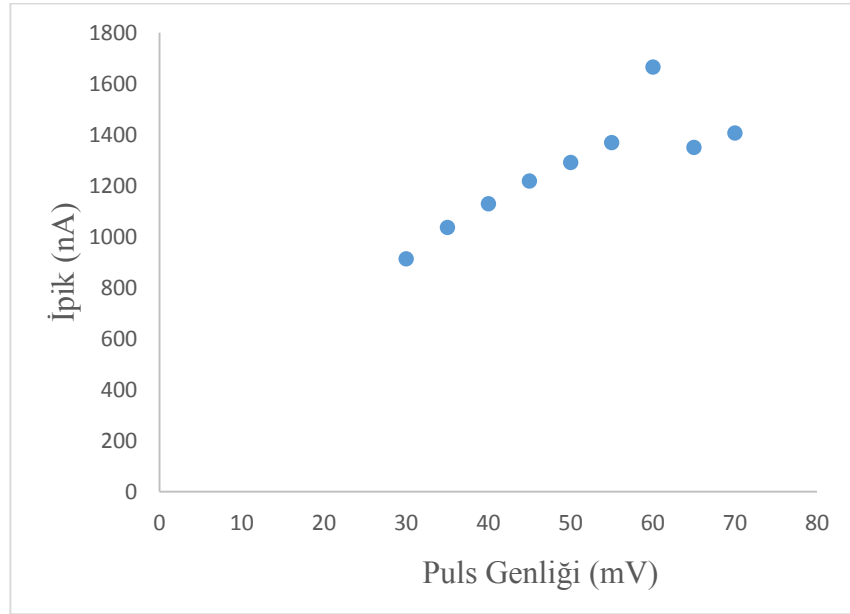
### **Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu**

M-CKE ile SWV yönteminde optimum cihaz parametrelerinin belirlenmesi için seçilen destek elektrolite belirli miktarda CEFA eklenerek pik akımı üzerine; frekans, puls genliği ve adım yüksekliği değişiminin etkisi incelenmiştir (Şekil 4.15-4.17).



**Şekil 4.15.** M-CKE’de SWV Yöntemi için CEFA’nın Pik Akımına Frekans Değişiminin Etkisi

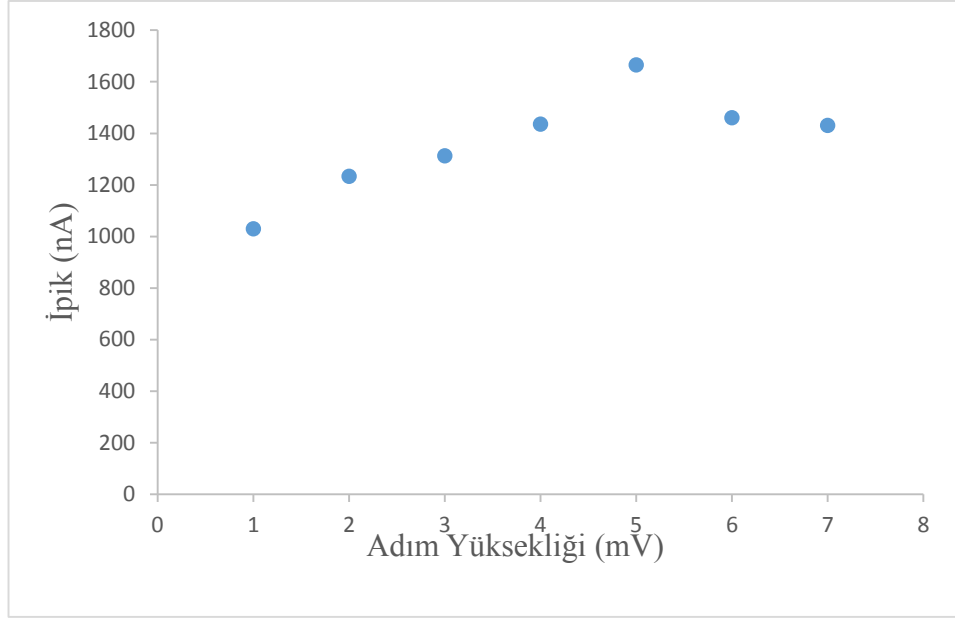
(adım yüksekliği=5 mV, puls genliği= 60 mV, CEFA derişimi: 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )



**Şekil 4.16.** M-CKE’de SWV Yöntemi İçin CEFA’nın Pik Akımına Puls Genliği Değişiminin Etkisi

(adım yüksekliği=5 mV, Frekans=45 Hz, CEFA derişimi: 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )

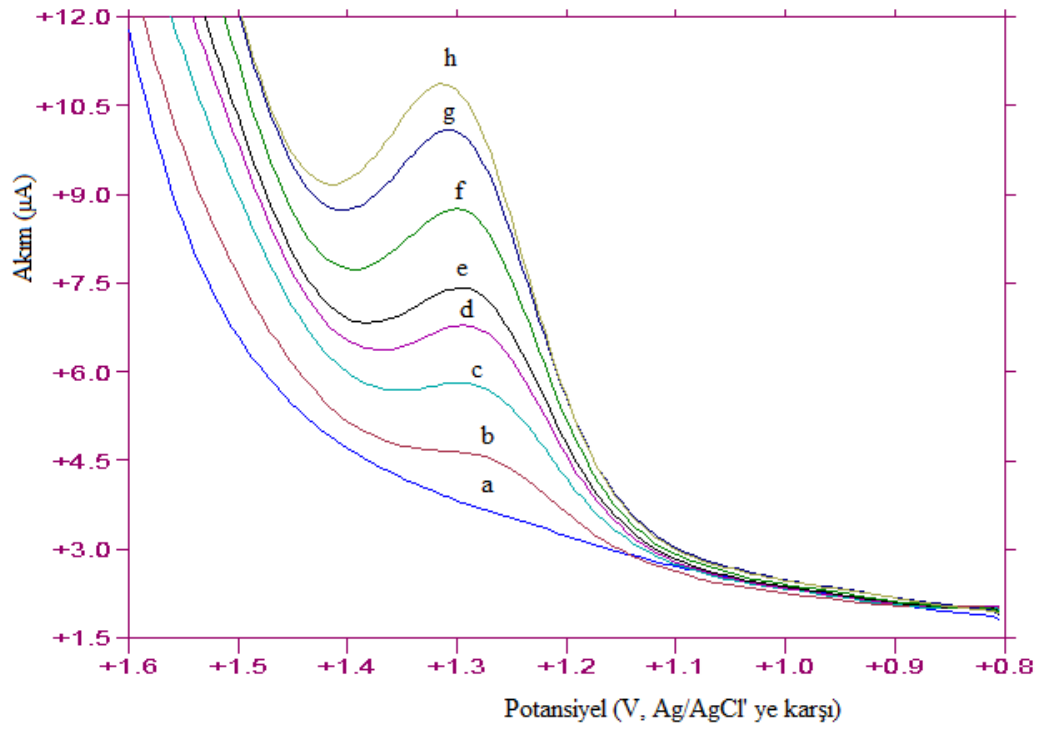




**Şekil 4.17.** M-CKE’de SWV Yöntemi İçin CEFA’nın Pik Akımına Adım Yüksekliği Değişiminin Etkisi

(Frekans=45 Hz, puls genliği=60 mV, CEFA derişimi: 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )

Pik şekli ve pik akımı değerleri dikkate alındığında en uygun parametreler; frekans için 45 Hz, puls genliği 60 mV ve adım yüksekliği 5 mV olarak seçilmiştir. Bu parametreler ile pH 2.0 BR çözeltisinde CEFA’ya ait kare dalga voltamogramları Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.18.** CEFA'nın M-CKE'de Kare Dalga Voltamogramları

- a) pH 2.0 BR çözeltisi, b) 3.31 c) 8.20 d) 12.99 e) 16.13 f) 23.81 g) 31.25  
h) 38.46  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA  
(frekans 45 Hz, adım yüksekliği 5 mV, puls genliği 60 mV)

### 4.3. Yöntemlerin Validasyonu

#### Kararlılık

CEFA'nın kısa ve uzun dönem kararlılık bulguları Tablo 4.2'de verilmiştir.

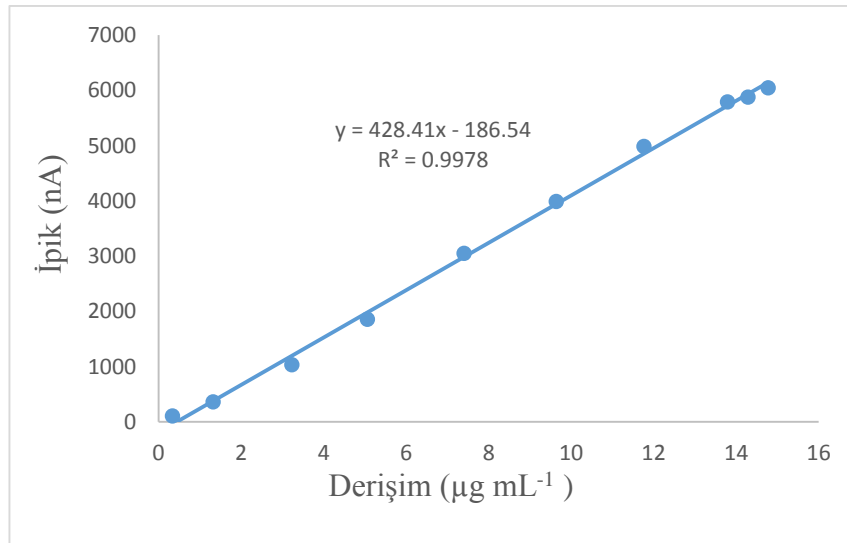
**Tablo 4.2.** ADCE ile CEFA İçin Kısa ve Uzun Dönem Kararlılık Bulguları

	Kısa Dönem Kararlılık (saat)			Uzun Dönem Kararlılık (gün)			
	0	8	24	15	30	45	60
<b>Pik Potansiyeli (mV)</b>	-1065	- 1065	- 1060	-1060	-1055	-1055	-1055
<b>Pik Akımı (nA)</b>	1167.12	1169.33	1179.64	1190.51	1184.07	1172.97	1151.47
<b>Bulunan Miktar (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	3.23	3.23	3.25	3.28	3.26	3.24	3.19
<b>Geri Kazanım (%)</b>	100.00	100.18	100.84	101.55	101.12	100.40	99.01

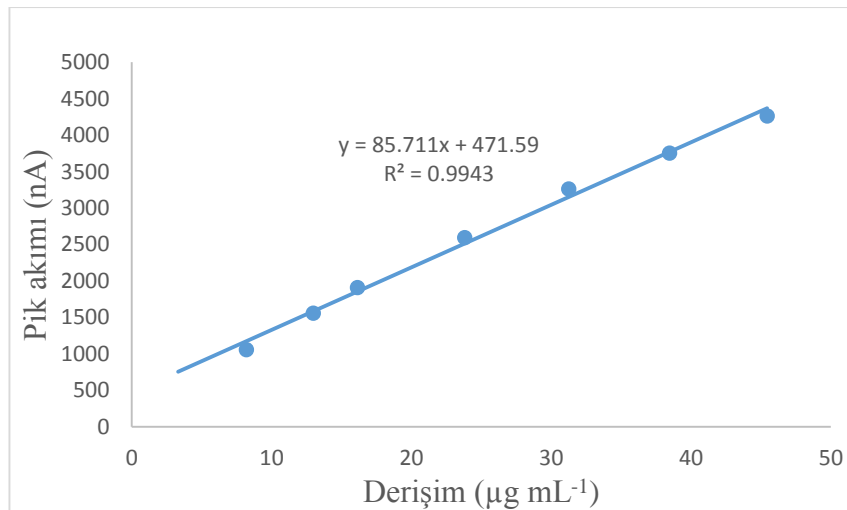
(Eklenen CEFA derişimi  $3.23 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (n=3)

### **Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık Aralığı**

ADCE ve M-CKE’de SWV yöntemi ile CEFA derişimine karşı elde edilen pik akımı değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir (Şekil 4.19- Şekil 4.20).



**Şekil 4.19.** CEFA'nın ADCE'de SWV Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi  
(n=6)



**Şekil 4.20.** CEFA'nın M-CKE'de SWV Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi  
(n=6)

Kalibrasyon eğrilerinin doğrusallıktan ayrılış ve korelasyon katsayılarının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** CEFA’nın ADCE’de SWV Yöntemi ile Analizinden Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisinin Korelasyon Katsayısı ile Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü İçin Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar

<b>Korelasyon Katsayısı’nın Önem Kontrolü</b>						
n	r	Sr	T <sub>H</sub>	T <sub>T</sub>		
6	0.9987	0.0253	39.47	2.78		
<b>Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü</b>						
RKT	YOAKT	RAKT	RAKO	RKO	F <sub>H</sub>	F <sub>T</sub>
-22482049.2	-22026005.1	-471075.5	-117768.9	-23199207.6	196.99	7.71

\*Terimler Ek 1’de açıklanmıştır.

**Tablo 4.4.** CEFA’nın M-CKE’de SWV Yöntemi ile Analizinden Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisinin Korelasyon Katsayısı ile Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü İçin Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar

<b>Korelasyon Katsayısı’nın Önem Kontrolü</b>						
n	r	Sr	T <sub>H</sub>	T <sub>T</sub>		
6	0,9986	0,0379	4.31	2.78		
<b>Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü</b>						
RKT	YOAKT	RAKT	RAKO	RKO	F <sub>H</sub>	F <sub>T</sub>
10737.5	10783.3	45.8	11.4	10737.5	937.9	7.7

\*Terimler Ek 1’de açıklanmıştır.

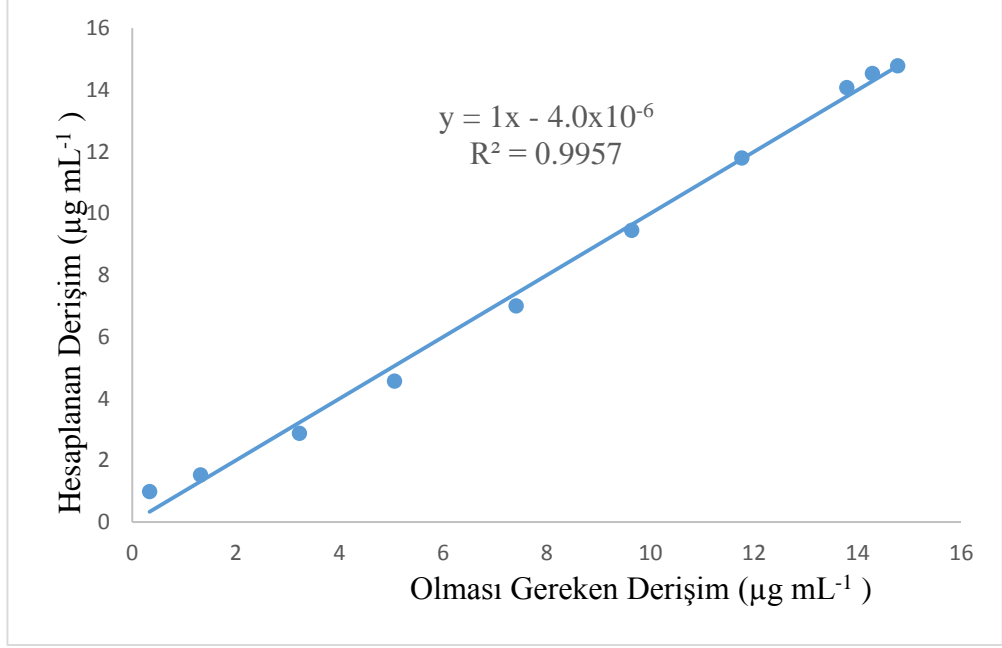
Geliştirilen SWV yöntemleri için elde edilen kalibrasyon eğrilerinin özellikleri Tablo 4.5’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.5.** SWV Yöntemlerine Ait Kalibrasyon Eğrilerinin Özellikleri (n=6)

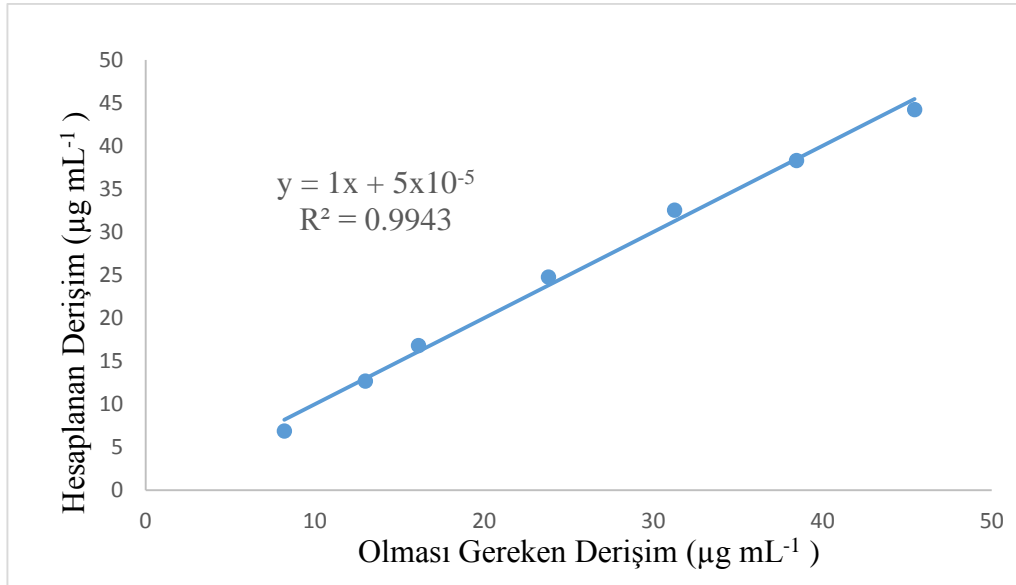
	<b>İndirgenme (ADCE ile)</b>	<b>Yükseltgenme (Modifiye CKE ile)</b>
<b>Regresyon Denklemi</b>	$y = 428.86x - 191.69$	$y = 85.711x + 471.59$
<b>Eğimin Standart Hatası</b>	0.1749	0.303637
<b>Kesişimin Standart Hatası</b>	-0.0762	0.7705
<b>Korelasyon Katsayısı (r)</b>	0.9987	0.9986
<b>Tanımlayıcılık Katsayısı (R<sup>2</sup>)</b>	0.9974	0.9972
<b>Doğrusallık aralığı (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	0.263- 14.773	8.197- 45.454
<b>LOD (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	0.089	2.705
<b>LOQ (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	0.263	8.197

$y^* = ax + b$ ; x: Derişim ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). y: Pik akımı (nA). a: Eğim. b: Kesişim

SWV yöntemlerinin doğrusallığının kontrolü için; kalibrasyon eğrilerinin elde edildiği derişimlerde hazırlanan standart çözeltilerin analizi yapılarak kalibrasyon denklemlerinden sonuçlar hesaplanmış ve olması gereken derişimlere karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.21- Şekil 4.22).



**Şekil 4.21.** CEFA'nın ADCE'de Yöntem Doğrusallığı Kontrol Grafiği



**Şekil 4.22.** CEFA'nın M-CKE'de Yöntem Doğrusallığı Kontrol Grafiği

### Duyarlılık

CEFA için SWV yöntemi ile LOD ve LOQ değerleri Tablo 4.5’de verilmiştir.

### Doğruluk ve Kesinlik

SWV yöntemi ile CEFA’nın analizinde doğruluk ve kesinlik çalışmaları için gün içi ve günler arasında elde edilen sonuçlar Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’de verilmiştir.

**Tablo 4.6.** CEFA’nın ADCE’de SWV Yöntemi ile Analizinde Gün İçi ve Günler Arası Kesinlik ve Doğruluk Bulguları (n=6)

CEFA miktarı ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Gün İçi <sup>1</sup>		Günler Arası <sup>2</sup>	
	Bulunan Miktar	% Bağıl Hata	Bulunan Miktar	% Bağıl Hata
2.00	1.99	0.44	1.98	0.96
	2.02	-1.14	1.98	0.73
	2.00	-0.22	1.97	1.53
	2.04	-1.80	2.04	-1.84
	2.00	-0.16	2.03	-1.30
	2.00	-0.20	1.99	0.44
	$\bar{X}$	2.01 $\pm$ 0.01		2.00 $\pm$ 0.01
SS	0.02		0.03	
BSS (%)	0.81		1.44	
6.00	5.95	0.43	5.92	1.33
	5.88	1.16	5.88	1.91
	5.94	1.01	5.91	1.47
	5.98	0.33	6.01	-0.14
	5.96	0.58	6,11	-1,86
	5.92	1.39	5.97	0.43
	$\bar{X}$	5.94 $\pm$ 0.02		5.97 $\pm$ 0.04
SS	0.04		0.09	
BSS (%)	0.67		1.44	
11.00	11.14	-1.28	11.12	-1.12
	11.13	-1.19	11.20	-1.81
	11.19	-1.70	11.20	-1.86
	11.10	-0.88	11.09	-0.83
	11.15	-1.33	11.10	-0.92
	11.18	-1.67	11.14	-1.28
	$\bar{X}$	11.15 $\pm$ 0.01		11.14 $\pm$ 0.02
SS	0.03		0.05	
BSS (%)	0.30		0.44	

<sup>1</sup>Gün içi çalışmalar; üç derişim seviyesinde altı ayrı çözelti kullanılarak aynı günde yapılmıştır.

<sup>2</sup>Günler arası çalışmalar; üç derişim seviyesinde altı ayrı çözelti kullanılarak 6 farklı günde yapılmıştır.

$\bar{X}$  : Ortalama  $\pm$  Standart hata, SS: Standart sapma, BSS: Bağıl standart sapma  
(İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2 )



**Tablo 4.7.** CEFA'nın M-CKE'de SWV Yöntemi ile Analizinde Gün İçi ve Günler Arası Kesinlik ve Doğruluk Bulguları (n=6)

CEFA miktarı ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Gün İçi <sup>1</sup>		Günler Arası <sup>2</sup>	
	Bulunan Miktar	% Bağlı Hata	Bulunan Miktar	% Bağlı Hata
8.20	8.11	1.06	8.09	1.35
	8.12	0.94	8.21	0.16
	8.23	0.36	8.18	0.25
	8.10	1.14	8.15	0.60
	8.21	0.15	8.09	1.35
	8.13	0.84	8.28	0.97
	$\bar{X}$	8.15 $\pm$ 0.02		8.16 $\pm$ 0.03
SS	0.05		0.07	
BSS (%)	0.66		0.90	
16.13	16.18	0.31	16.25	0.75
	16.41	1.76	15.99	0.84
	15.94	1.18	15.84	1.76
	16.12	0.05	16.01	0.75
	15.94	1.16	15.86	1.65
	16.16	0.19	16.14	0.08
$\bar{X}$	16.13 $\pm$ 0.07		16.02 $\pm$ 0.06	
SS	0.18		0.16	
BSS (%)	1.09		0.98	
31.25	31.13	0.38	31.24	0.05
	31.14	0.36	31.05	0.63
	31.44	0.61	31.19	0.20
	30.89	1.16	30.80	1.42
	31.10	0.49	31.02	0.74
	31.50	1.42	31.48	0.73
$\bar{X}$	31.200 $\pm$ 0.094		31.13 $\pm$ 0.09	
SS	0.23		0.23	
BSS (%)	0.74		0.73	

<sup>1</sup>Gün içi çalışmalar; üç derişim seviyesinde altı ayrı çözelti kullanılarak aynı günde yapılmıştır.

<sup>2</sup>Günler arası çalışmalar; üç derişim seviyesinde altı ayrı çözelti kullanılarak 6 farklı günde yapılmıştır.

$\bar{X}$  : Ortalama  $\pm$  Standart hata, SS: Standart sapma, BSS: Bağlı standart sapma (İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2)

### Tekrarlanabilirlik

SWV yöntemi için cihaz tekrarlanabilirliği sonuçları Tablo 4.8’de verilmiştir.

**Tablo 4.8.** CEFA’nın ADCE ve M-CKE Kullanılarak SWV Yöntemi ile Analizinde Cihaz Tekrarlanabilirliği Bulguları

	İndirgenme (ADCE ile)		Yükseltgenme (M-CKE ile)	
	Epik (mV)	İpik ( $\mu$ A)	Epik (mV)	İpik ( $\mu$ A)
	1060	3.29	1295	1.68
	1055	3.27	1300	1.65
	1060	3.27	1300	1.66
	1060	3.30	1300	1.66
	1060	3.27	1305	1.64
	1060	3.28	1310	1.66
	1060	3.29	1305	1.61
	1060	3.26	1310	1.64
	1060	3.29	1310	1.62
	1060	3.27	1310	1.62
$\bar{X}$	3.28 $\pm$ 0.01		1.64 $\pm$ 0.01	
S.S	0.01		0.02	
BSS	0.38		1.32	
GA	3.27 -3.29		1.63-1.66	

(Eklenen CEFA derişimi: ADCE için; 3.226  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, M-CKE için; 16.129  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, n=10)

$\bar{X}$  : Ortalama  $\pm$  Standart hata, SS: Standart sapma, BSS: Bağıl standart sapma, GA: Güven aralığı ( $\alpha=0.05$ ) (İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2)

### Sağlamlık

CEFA'nın SWV yöntemi ile analizinde sağlamlık çalışmalarına ait sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırma sonuçları Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'da verilmiştir.

**Tablo 4.9.** CEFA'nın ADCE'de SWV Yönteminin Sağlamlığına Ait Analiz

Bulguları (n= 7)

(CEFA derişimi 8.00 µg mL <sup>-1</sup> )	Bulunan (µg mL <sup>-1</sup> )	BSS (%)	Mann Whitney U testi*
Başlangıç potansiyeli= -0.7 V pH=7	8.04 ± 0.01	0.19	-
Başlangıç potansiyeli= -0.69 V pH=7	7.99 ± 0.02	0.68	U <sub>H</sub> = 37
Başlangıç potansiyeli= -0.71 V pH=7	8.00 ± 0.02	0.83	U <sub>H</sub> = 27
Başlangıç potansiyeli= -0.7 V pH=6.9	8.08 ± 0.01	0.40	U <sub>H</sub> = 27
Başlangıç potansiyeli= -0.7 V pH=7.1	7.98 ± 0.02	0.69	U <sub>H</sub> = 32

X : Ortalama ± Standart hata, BSS: Bağıl standart sapma.

(İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2 ve Ek 3)

\*Sonuçlar tek tek normal şartlarda bulunan sonuçlarla karşılaştırılmıştır. (Mann Whitney U testi)

U tablo= 38 (p>0.05) Sonuçlar arasında fark yoktur.

**Tablo 4.10.** CEFA'nın M-CKE'de SWV Yönteminin Sağlamlığına Ait Analiz Bulguları (n= 7)

(CEFA derişimi 16.13 $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Bulunan ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	BSS (%)	Mann Whitney U testi*
Başlangıç potansiyeli= 0.80 V pH=2.0	16.08±0.07	1.18	-
Başlangıç potansiyeli= 0.79V pH=2.0	16.30±0.04	0.70	$U_H=35$
Başlangıç potansiyeli= 0.81 V pH=2	16.20±0.06	1.05	$U_H=31$
Başlangıç potansiyeli= 0.80 V pH=1.9	16.12±0.03	0.46	$U_H=28$
Başlangıç potansiyeli= 0.80 V pH=2.1	16.12±0.05	0.86	$U_H=29$

X : Ortalama  $\pm$  Standart hata, BSS: Bağıl standart sapma .

(İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2 ve Ek 3)

Sonuçlar tek tek normal şartlarda bulunan sonuçlarla karşılaştırılmıştır. (Mann Whitney U testi)

U tablo= 38 ( $p>0.05$ ) Sonuçlar arasında fark yoktur.

### Tutarlılık

CEFA'nın SWV yöntemi ile analizinde tutarlılık çalışmalarına ait sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırma sonuçları Tablo 4.11 ve Tablo 4.12'de verilmiştir.

**Tablo 4.11.** CEFA'nın ADCE'de SWV Yönteminin Tutarlılığına Ait Analiz Bulguları (n= 7)

	<b>1. Analizci</b>	<b>2. Analizci</b>
<b>Eklenen CEFA miktarı (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Bulunan miktar (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Bulunan miktar (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
8.00	7.91	7.91
	7.96	7.97
	7.93	7.93
	7.98	7.98
	8.01	8.01
	8.07	8.06
	8.03	8.03
$\bar{X}$	$7.98 \pm 0.02$	$7.98 \pm 0.02$
SS	0.06	0.05
% BSS	0.70	0.66
GA	7.93- 8.03	7.93- 8.03

X : Ortalama  $\pm$  Standart hata. SS: Standart sapma. BSS: Bağıl standart sapma. GA: Güven aralığı ( $\alpha=0.05$ )(İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2 ve Ek 3)

İki analizciden elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. (Mann Whitney U testi)

U tablo= 38 ( $p>0.05$ ) Sonuçlar arasında fark yoktur.

**Tablo 4.12.** CEFA'nın M-CKE'de SWV Yönteminin Tutarlılığına Ait Analiz Bulguları (n= 7)

	<b>1. Analizci</b>	<b>2. Analizci</b>
<b>Eklenen CEFA miktarı (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Bulunan miktar (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Bulunan miktar (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
16.13	16.14	16.04
	15.93	16.08
	16.15	16.12
	15.92	15.98
	16.14	16.14
	16.13	16.11
	16.36	16.35
$\bar{X}$	16.11 $\pm$ 0.06	16.12 $\pm$ 0.04
SS	0.15	0.11
% BSS	0.93	0.71
GA	15.97- 16.25	16.01- 16.22

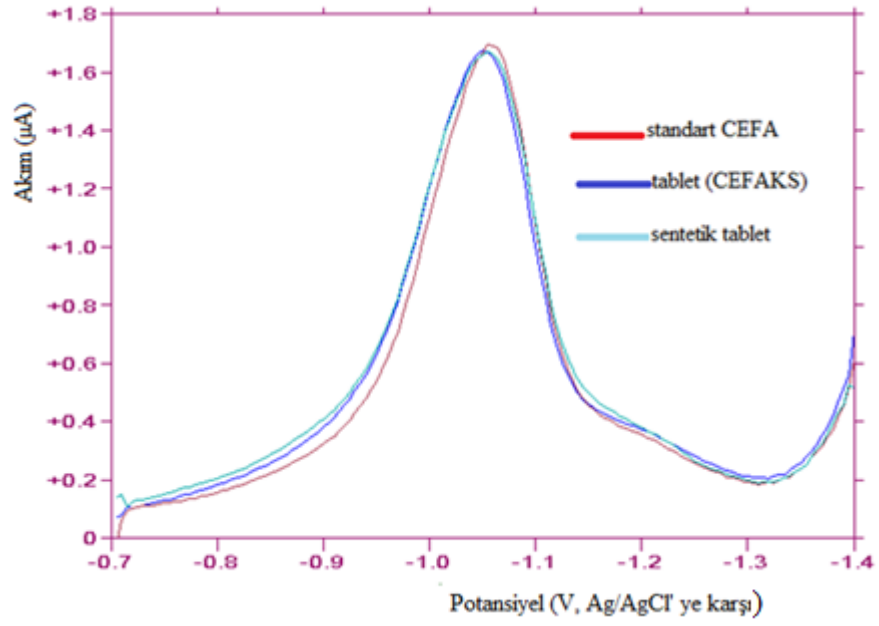
X : Ortalama  $\pm$  Standart hata. SS: Standart sapma. BSS: Bağıl standart sapma. GA: Güven aralığı ( $\alpha=0.05$ )(İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2 ve Ek 3)

İki analizciden elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. (Mann Whitney U testi)

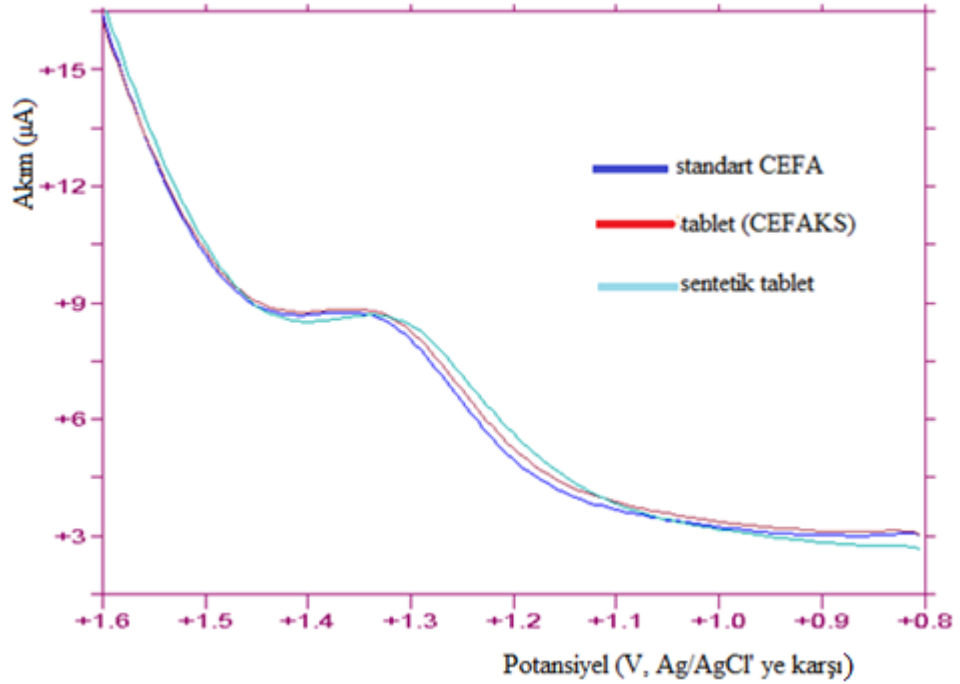
U tablo= 38 ( $p>0.05$ ) Sonuçlar arasında fark yoktur.

### **Özgünlük (Seçicilik)**

SWV yönteminin özgünlük çalışmaları için ADCE ile  $3.226 \mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE ile  $16.129 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA içeren standart, sentetik preparat ve tablet çözeltileri için kaydedilen voltamogramlar Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.23.** ADCE ile  $3.126 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA İçeren Standart, Tablet ve Sentetik Numune Çözeltilerine Ait SWV Voltamogramları



**Şekil 4.24.** M-CKE ile  $16.129 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA İçeren Standart, Tablet ve Sentetik Numune Çözeltilerine Ait SWV Voltamogramları

### Geri Kazanım

601.4 mg CEFA içeren sentetik preparata ait her iki yöntem için geri kazanım değerleri Tablo 4.13’de verilmiştir.

**Tablo 4.13.** CEFA’nın SWV Yöntemleri ile Sentetik Preparatlardan Analiz Bulguları

	İndirgenme (ADCE ile)		Yükseltgenme (M-CKE ile)	
	Bulunan (mg)	% Geri Kazanım	Bulunan (mg)	% Geri Kazanım
	603.23	100.30	601.64	100.04
	603.49	100.35	601.37	100.00
	603.02	100.27	601.03	99.94
	602.14	100.12	600.87	99.91
	600.40	99.83	600.87	99.91
	601.77	100.06	602.08	100.11
	602.40	100.17	602.48	100.18
$\bar{X}$	602.35	100.16	601.48	100.01
SS	1.06	0.18	0.63	0.10
BSS	0.18	0.18	0.10	0.10
GA	601.95- 602.75		600.90 -602.06	

(Eklenen CEFA miktarı: 601.4 mg/tablet n=7)

X : Ortalama  $\pm$  Standart hata, SS: Standart sapma, BSS: Bağıl standart sapma, GA: Güven aralığı ( $\alpha=0.05$ )(İstatistiksel hesaplamalar için Bkz. Ek 2)

### 4.4. Farmasötik Preparatların Analizi

601.4 mg ve 300.7 mg CEFA içeren Cefaks tabletlerin analizleri geliştirilen iki voltametrik yöntemle ve karşılaştırma yöntemi (1) ile yapılmış olup veriler Tablo 4.14’de gösterilmiştir.

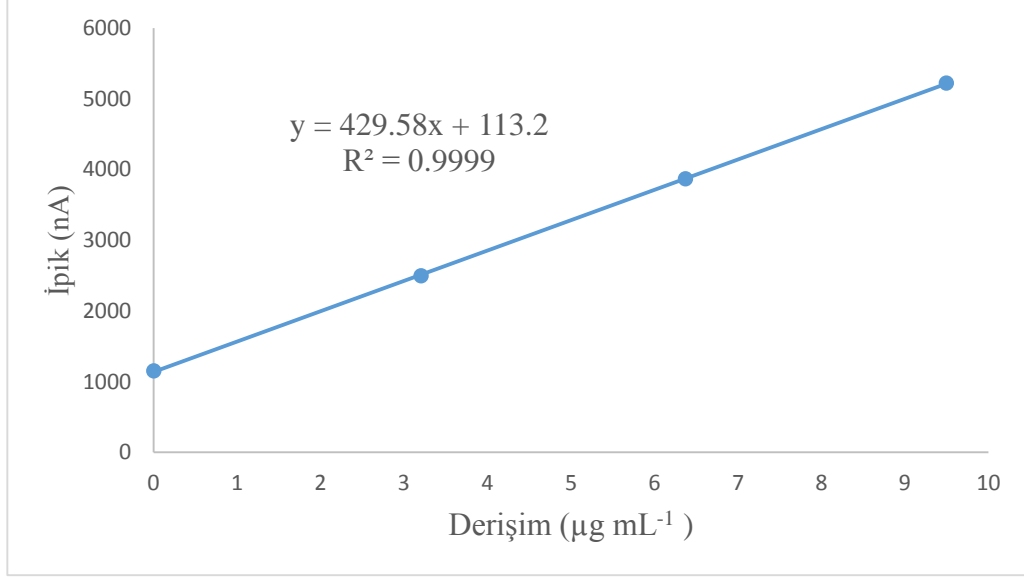


**Tablo 4.14.** Geliştirilen Yöntemlerle Cefaks Tablete Ait Kalibrasyon Grafiği  
Yöntemi ile Elde Edilen Analiz Bulguları ( n = 10)

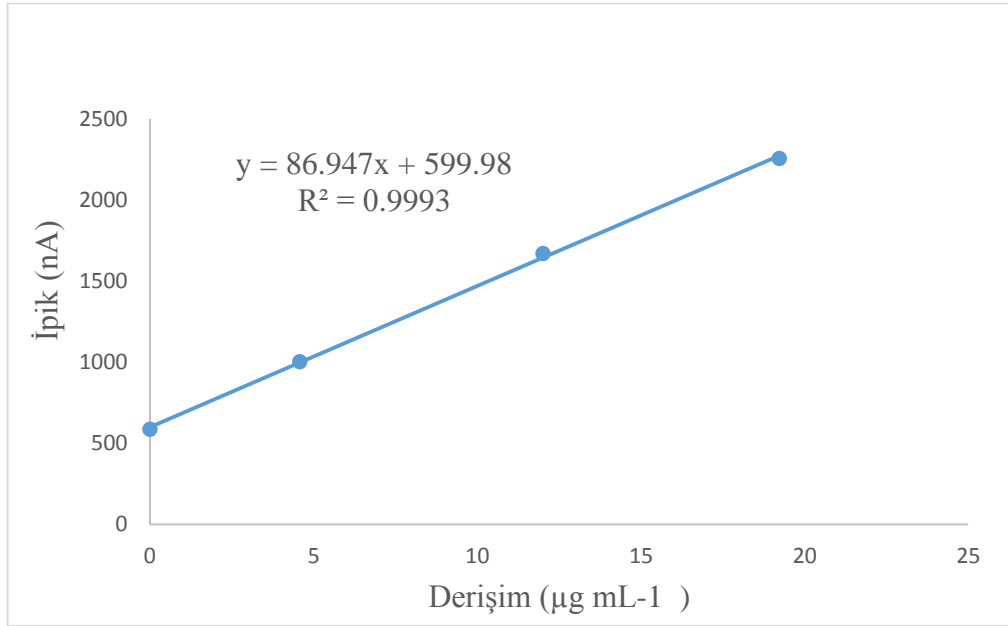
	601.4 mg CEFA/tablet			300.7 mg CEFA/tablet		
	ADCE ile	M-CKE ile	Karşılaştırma Yöntemi ile (1)	ADCE ile	M-CKE ile	Karşılaştırma Yöntemi ile (1)
	Bulunan (mg)	Bulunan (mg)	Bulunan (mg)	Bulunan (mg)	Bulunan (mg)	Bulunan (mg)
	599.9	602.2	599.1	300.3	299.4	301.3
	601.6	600.7	598.5	300.7	299.1	298.7
	600.8	602.2	601.6	300.4	298.2	298.2
	599.0	600.0	602.2	301.4	302.9	302.4
	601.6	600.1	599.7	300.1	302.2	298.6
	599.9	602.5	599.0	301.5	299.3	302.0
	601.3	599.3	599.7	300.9	298.4	299.1
	601.3	602.2	602.7	300.6	299.5	298.4
	601.8	599.8	596.5	299.8	299.6	302.1
	602.6	601.4	599.1	301.0	298.0	299.1
$\bar{x}$	601.0±0.34	601.0±0.38	599.8±0.59	300.7±0.18	299.7±0.52	300.0±0.54
SS	1.08	1.19	1.88	0.56	1.64	1.71
% BSS	0.18	0.20	0.31	0.19	0.55	0.57
% BH	0.07	0.07	0.27	0	0.33	0.23
GA	600.2-601.8	600.2-601.8	598.5-601.1	300.3-301.1	298.5-300.9	298.8-301.2
Kruskal Wallis varyans analizi $KW_T = 5.99 > KW_H = 3.82, p > 0.05$						

$\bar{x}$  : Ortalama±standart hata, SS: Standart Sapma, BSS: % Bağıl Standart Sapma, BH:% Bağıl Hata  
GA: Güven Aralığı ( $\alpha$  :0.05) (Bkz. Ek 2 ve Ek 4)

ADCE ve M-CKE kullanılarak standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğruları Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da gösterilmiştir. Standart ekleme ile elde edilen doğruların eğimleri normal kalibrasyon doğrularının eğimine (ADCE için 428.86, M-CKE için 85.711) yakın olduğundan farmasötik preparatların analizinde normal kalibrasyon doğruları kullanılmıştır.



**Şekil 4.25.** CEFA'nın ADCE'de Standart Ekleme Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi (n=6)



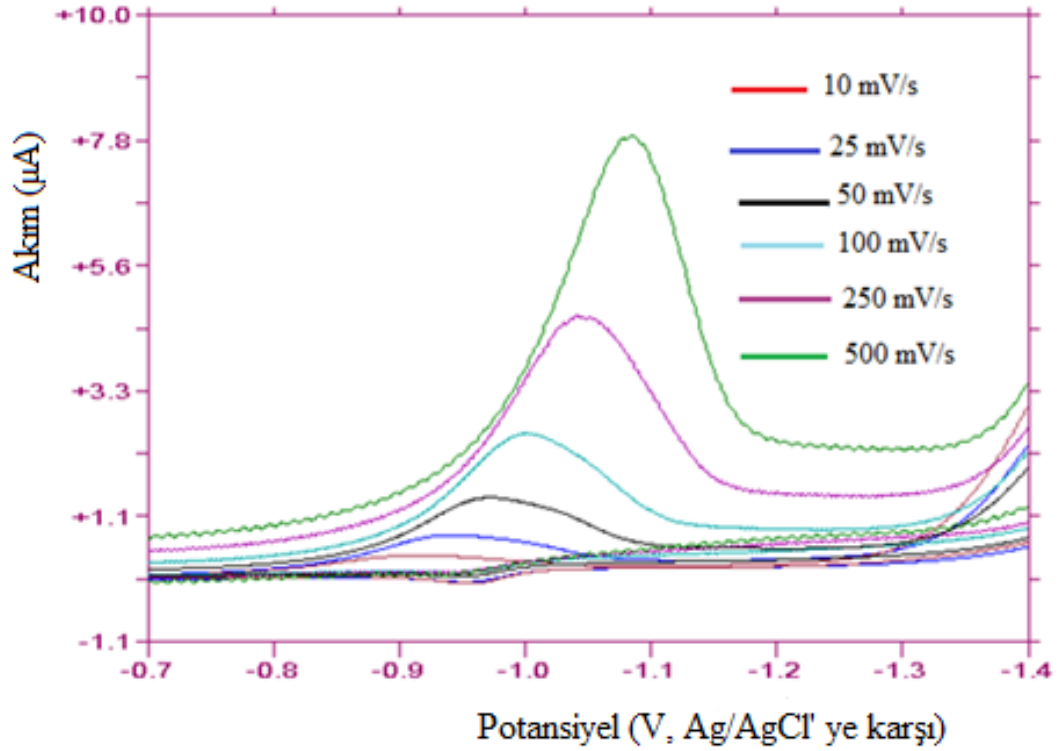
**Şekil 4.26.** CEFA'nın M-CKE'de Standart Ekleme Yöntemi ile Elde Edilen Kalibrasyon Eğrisi (n=6)

## 4.5. CEFA'nın Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

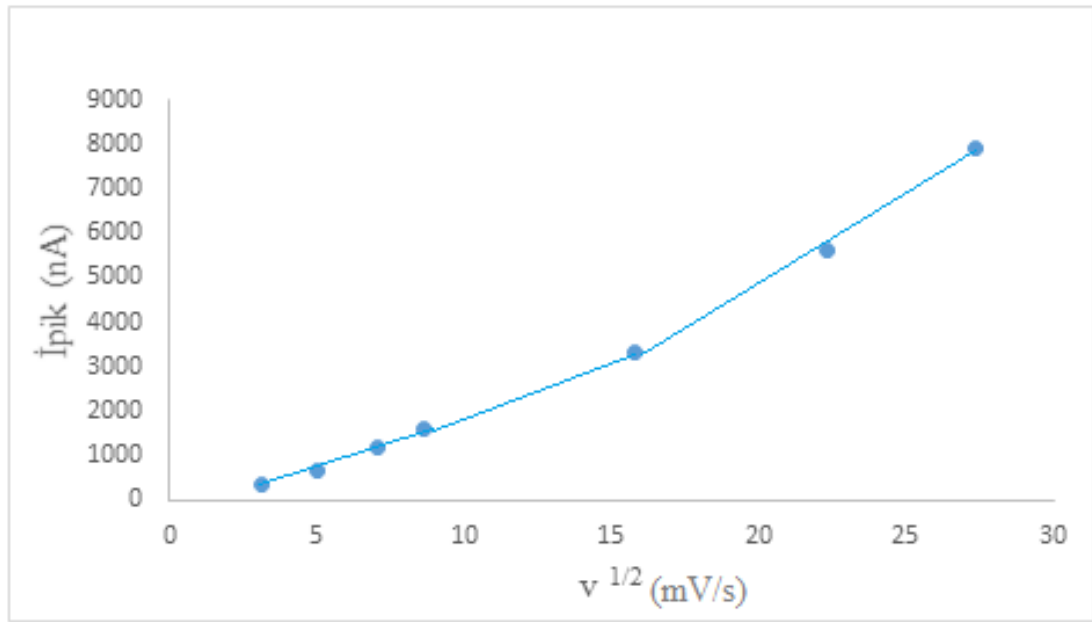
### 4.5.1. CEFA'nın Asılı Duran Cıva Elektrodundaki Elektrokimyasal Özellikleri

#### CV Yöntemi İle Pik Akımlarına Tarama Hızının Etkisi

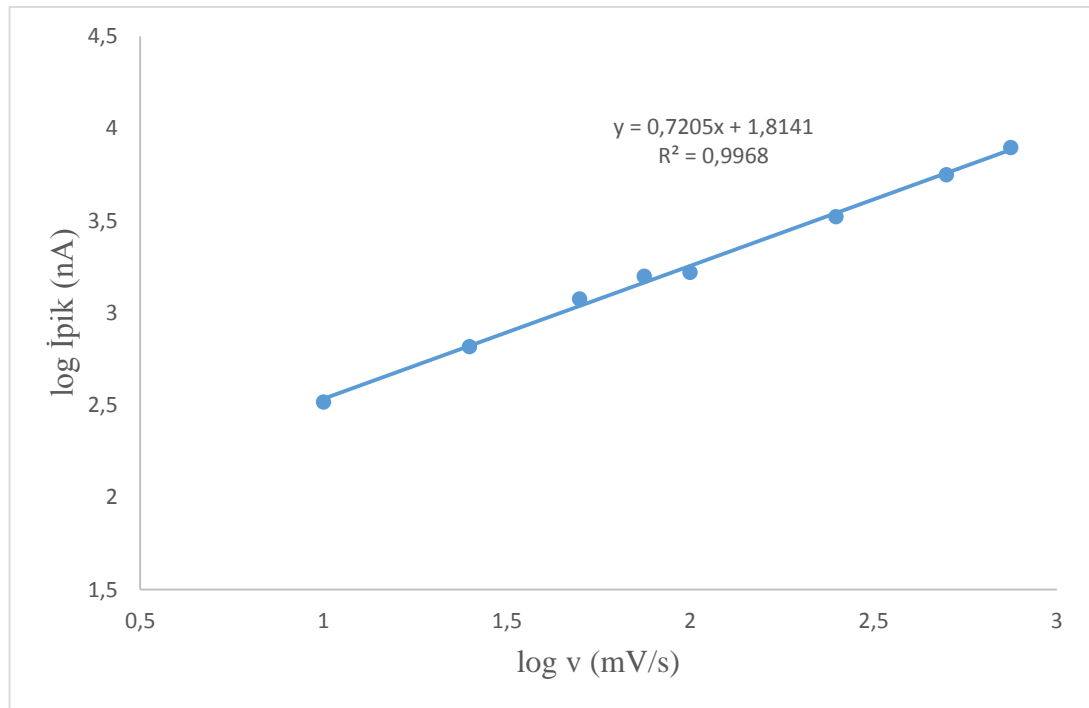
CEFA'nın pik akımı (İpik)'lerinin, tarama hızı (v) ile ilişkisi CV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Farklı tarama hızlarında CEFA'nın dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir Şekil 4.27'de, İpik-  $v^{1/2}$  grafiği Şekil 4.28'de ve log İpik- log v grafiği Şekil 4.29'da gösterilmiştir.



Şekil 4.27. 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 7.0, 0.1 M FB Tampon Çözeltisinde Farklı Tarama Hızlarında Dönüşümlü Voltamogramları



Şekil 4.28. 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 7.0'de  $v^{1/2}$ -İpik Grafiği



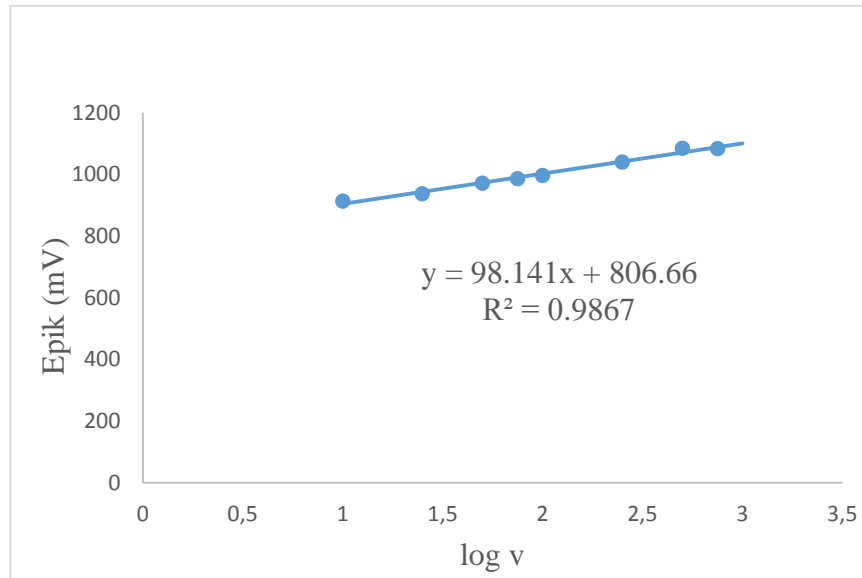
Şekil 4.29. 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 7.0'de log v – log İpik Grafiği

**Tablo 4.15.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Farklı pH'larda log İpik Değerlerinin log v ile Değişimlerinin Doğru Denklemleri

pH	Eşitlik	R <sup>2</sup>
2	$y = 0.771x + 1.3221$	0.9930
3	$y = 0.706x + 1.4511$	0.9929
4	$y = 0.7917x + 1.2029$	0.9898
5	$y = 0.7413x + 1.0826$	0.9626
7	$y = 0.7205x + 1.8141$	0.9968
8	$y = 0.6624x + 1.9022$	0.9969

### CV Yöntemi İle Pik Potansiyellerine Tarama Hızının Etkisi

CEFA'nın indirgenme potansiyeli (Epik)'e farklı pH değerlerinde tarama hızının etkisi CV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Tarama hızının logaritmasına karşı Epik değerleri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.30). Elde edilen doğru denklemleri Tablo 4.16'da verilmiştir.



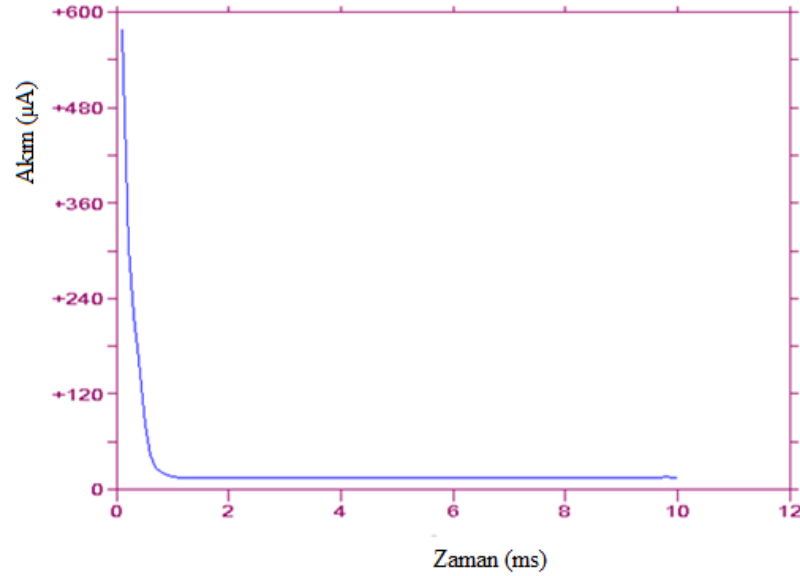
**Şekil 4.30.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 7.00'de Dönüşümlü Voltamogramlarından Elde Edilen logv- Epik Grafiği

**Tablo 4.16.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Farklı pH'larda Epik Değerlerinin logv ile Değişimlerinin Doğru Denklemleri

pH	Eşitlik	R <sup>2</sup>
2	$y = 81.306x + 875.67$	0.9963
3	$y = 94.238x + 824.25$	0.9912
4	$y = 92.462x + 857.46$	0.9876
5	$y = 107.19x + 814.88$	0.9896
7	$y = 98.141x + 806.66$	0.9866
8	$y = 97.833x + 907.19$	0.9928

### Kronoamperometri Bulguları

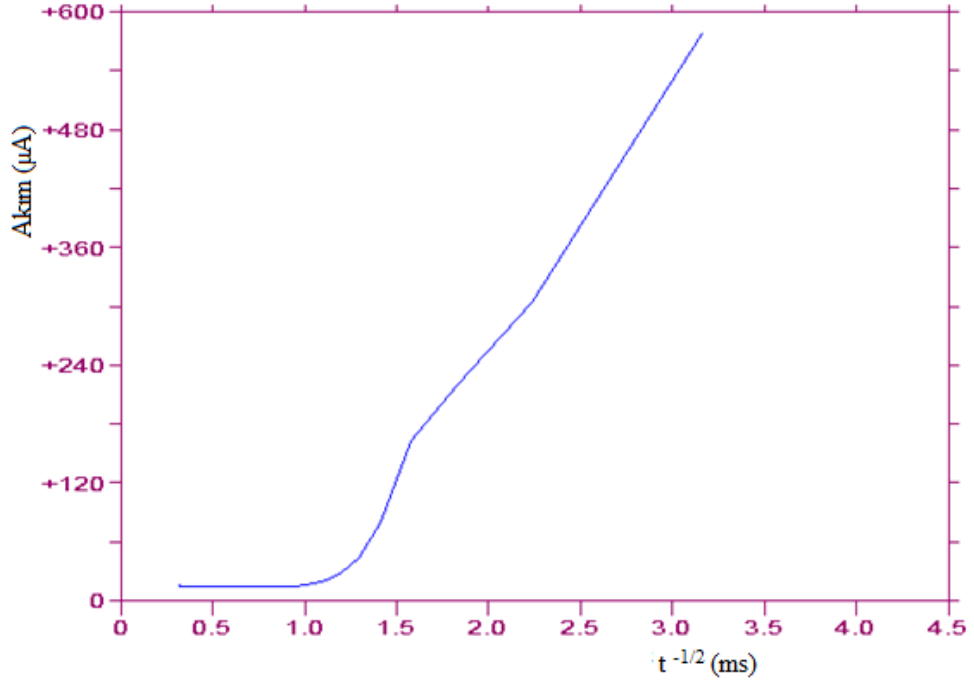
CEFA çözeltisinin [(-800)-(-1100)] mV'luk potansiyel aralığında CA çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Akımın; zamanla değişim grafiği Şekil 4.31'de, zamanın kareköküyle değişim grafiği ise Şekil 4.32'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.31.** 15.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı (t- İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = -800$  mV

İndirgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = -1100$  mV



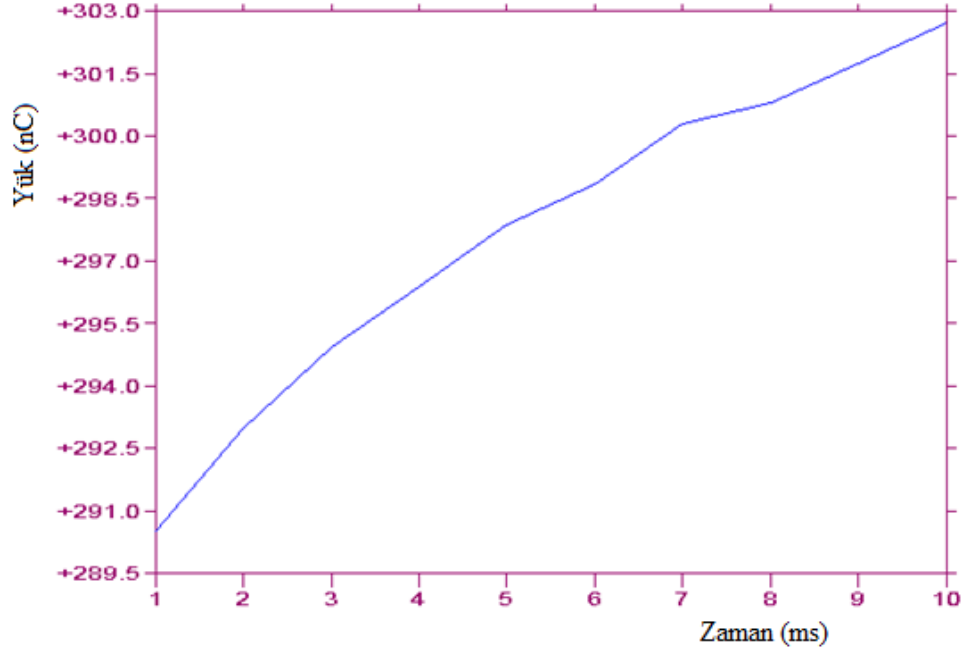
**Şekil 4.32.** 15.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı ( $t^{-1/2}$  - İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = -800$  mV

İndirgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = -1100$  mV

### **Kronokulometri Bulguları**

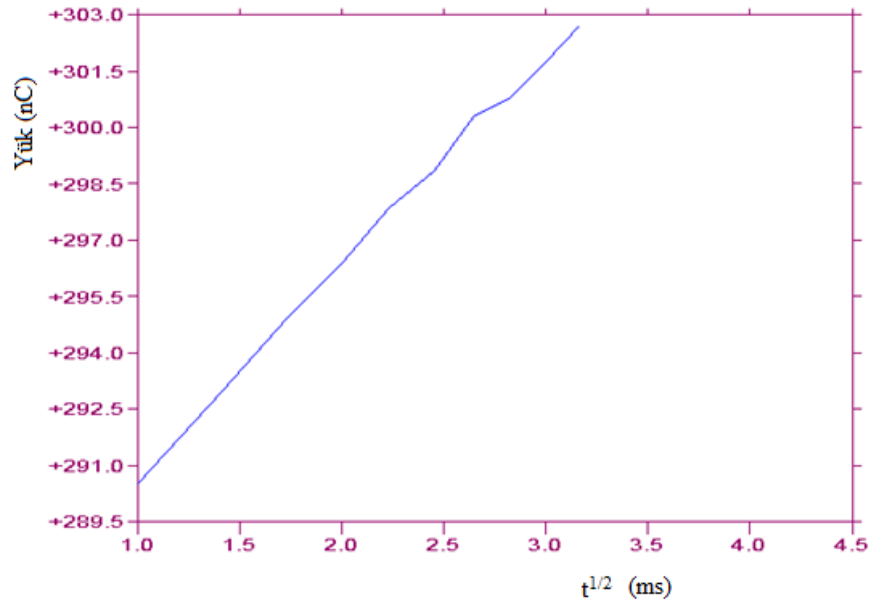
CEFA çözeltisinin  $[(-800)-(-1100)]$  mV'luk potansiyel aralığında CC çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elektrot tepkimesi sonucu oluşan yükün; zamanla değişim grafiği Şekil 4.33'de, zamanın kareköküyle değişim grafiği Şekil 4.34'de verilmiştir.



**Şekil 4.33.** 15.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı ( $t$ -İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = -800$  mV

İndirgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = -1100$  mV



**Şekil 4.34.** 15.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı ( $t^{1/2}$ -İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = -800$  mV

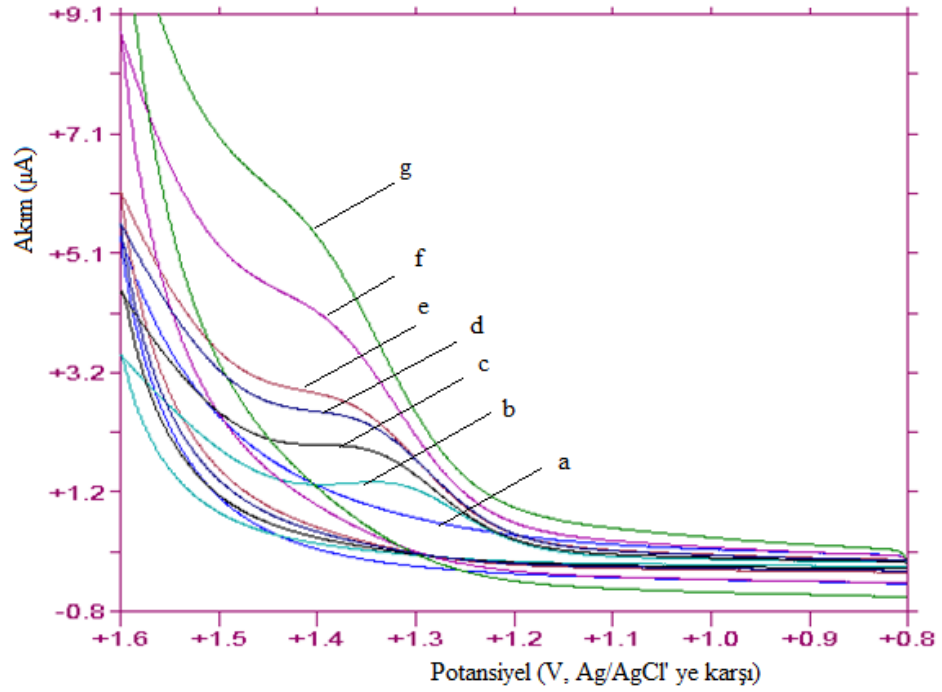
İndirgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = -1100$  mV



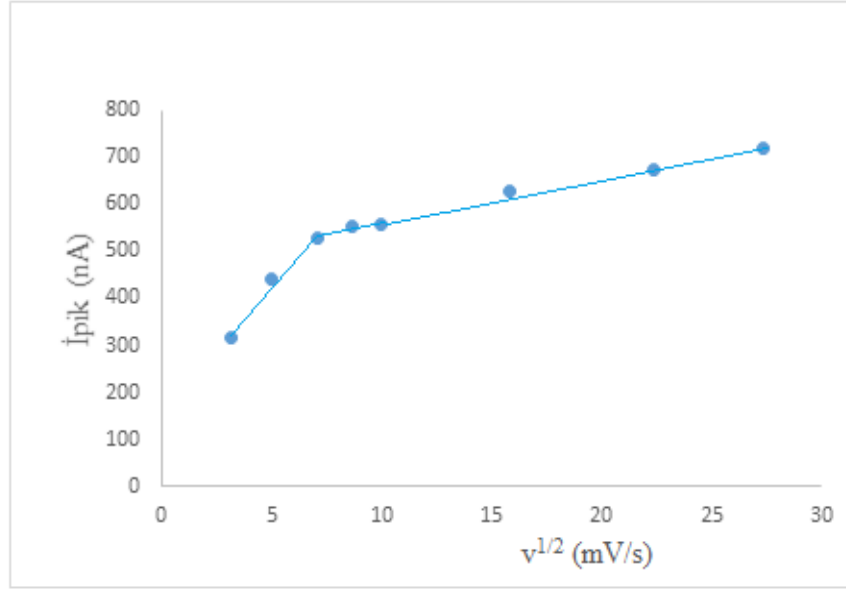
## 4.5.2. CEFA'nın Modifiye Camı Karbon Elektrodundaki Elektrokimyasal Özellikleri

### CV Yöntemi İle Pik Akımlarına Tarama Hızının Etkisi

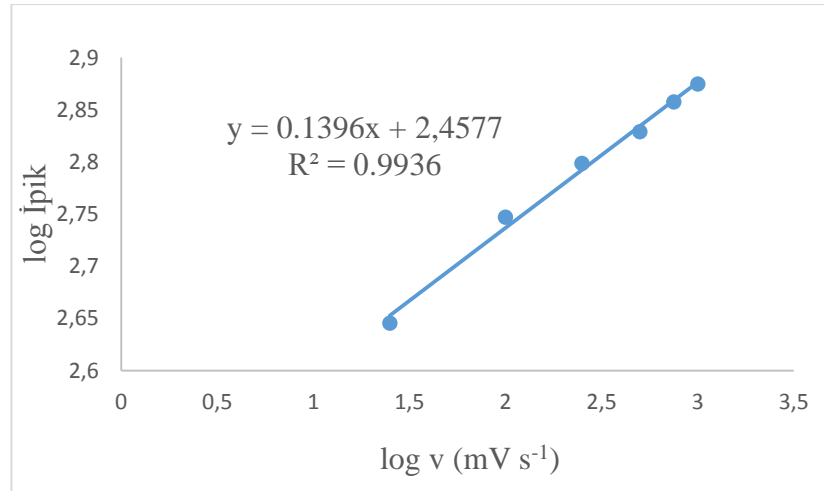
CEFA'nın pik akımı (İpik)'lerinin, tarama hızı (v) ile ilişkisi CV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Farklı tarama hızlarında CEFA'nın dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.35'de, İpik-  $v^{1/2}$  grafiği Şekil 4.36'da ve log İpik-log v grafiği Şekil 4.37'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.35.** 16.129  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 2.0 BR Tampon Çözeltisinde Farklı Tarama Hızlarında Dönüşümlü Voltamogramları  
a) Destek elektrolit b) 25  $\text{mV s}^{-1}$  c) 50  $\text{mV s}^{-1}$  d) 75  $\text{mV s}^{-1}$  e) 100  $\text{mV s}^{-1}$   
f) 250  $\text{mV s}^{-1}$  g) 500  $\text{mV s}^{-1}$



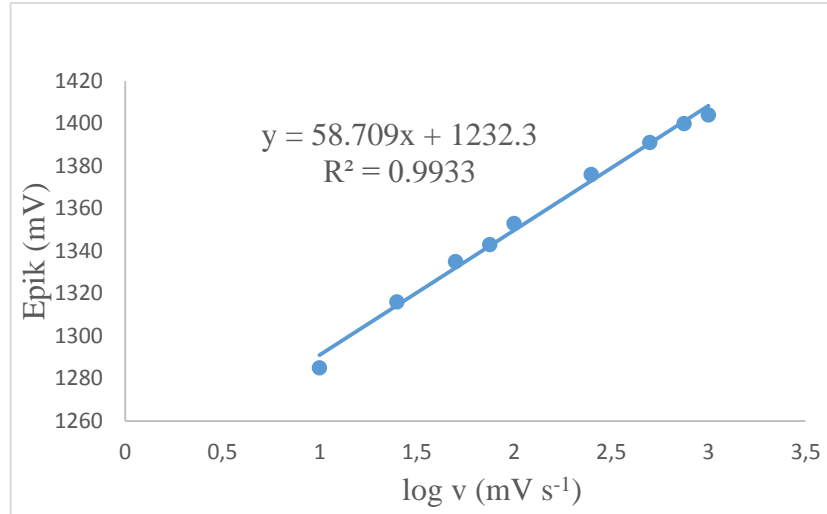
Şekil 4.36. 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 2.0'de  $v^{1/2}$ - İpik Grafiği



Şekil 4.37. 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 2.0'de log v- log İpik Grafiği

### CV Yöntemi İle Pik Potansiyellerine Tarama Hızının Etkisi

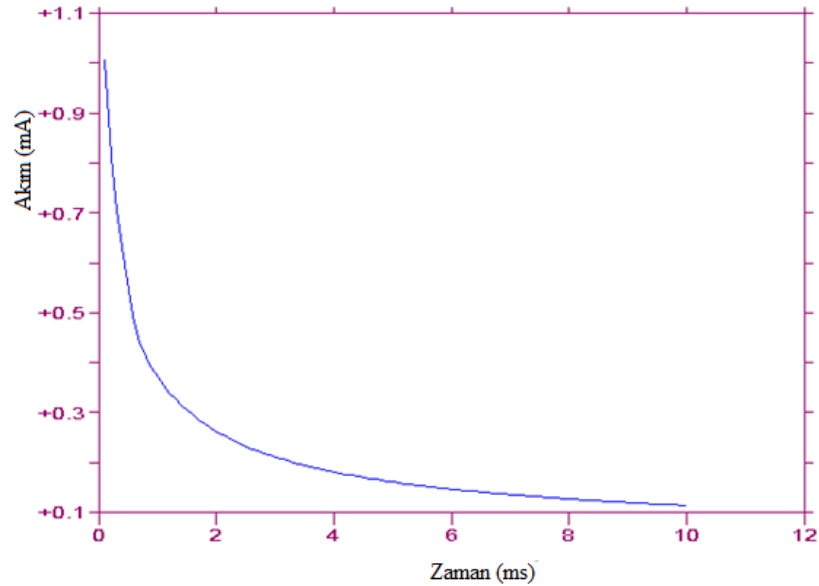
CEFA'nın yükseltgenme potansiyeline (Epik) pH 2.0'de tarama hızının etkisi CV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Tarama hızının logaritmasına karşı pik potansiyelleri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.38).



**Şekil 4.38.** 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 2.0'de Dönüşümlü Voltamogramlarından Elde Edilen logv- Epik Grafiği

### CA Bulguları

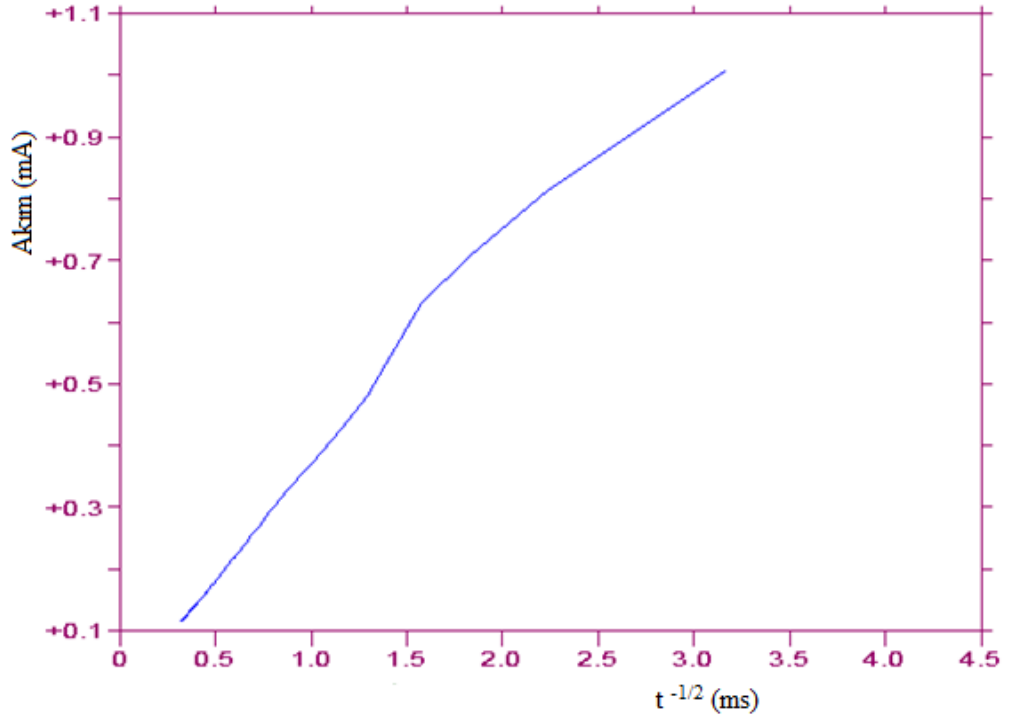
CEFA çözeltisinin [800- 1600] mV'luk potansiyel aralığında CA çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Akımın; zamanla değişim grafiği Şekil 4.39'da, zamanın kareköküyle değişim grafiği Şekil 4.40'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.39.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı (t- İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = 800$  mV

Yükseltgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = 1600$  mV



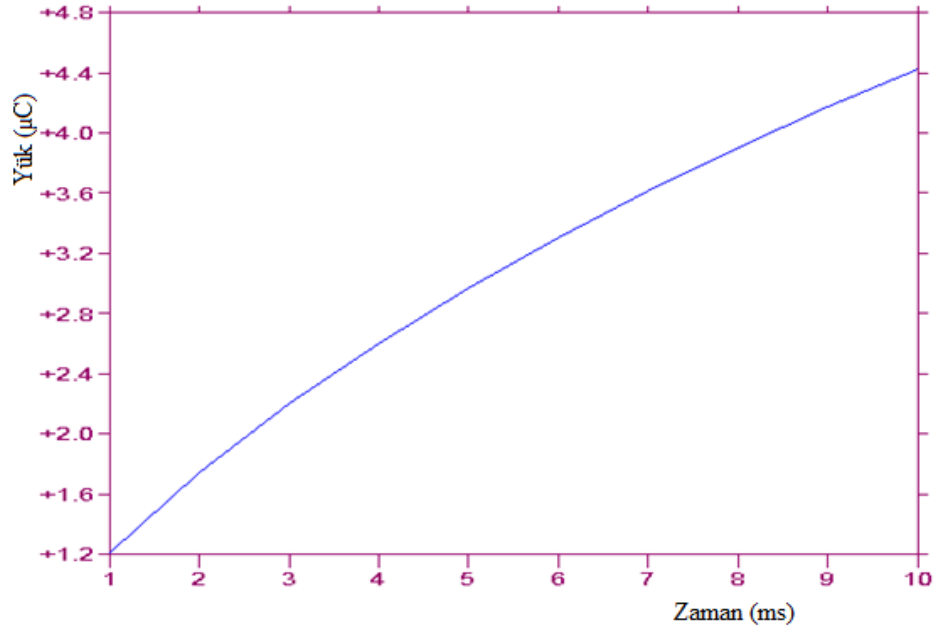
**Şekil 4.40.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronoamperometrik Voltamogramı ( $t^{-1/2}$ -İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = 800$  mV

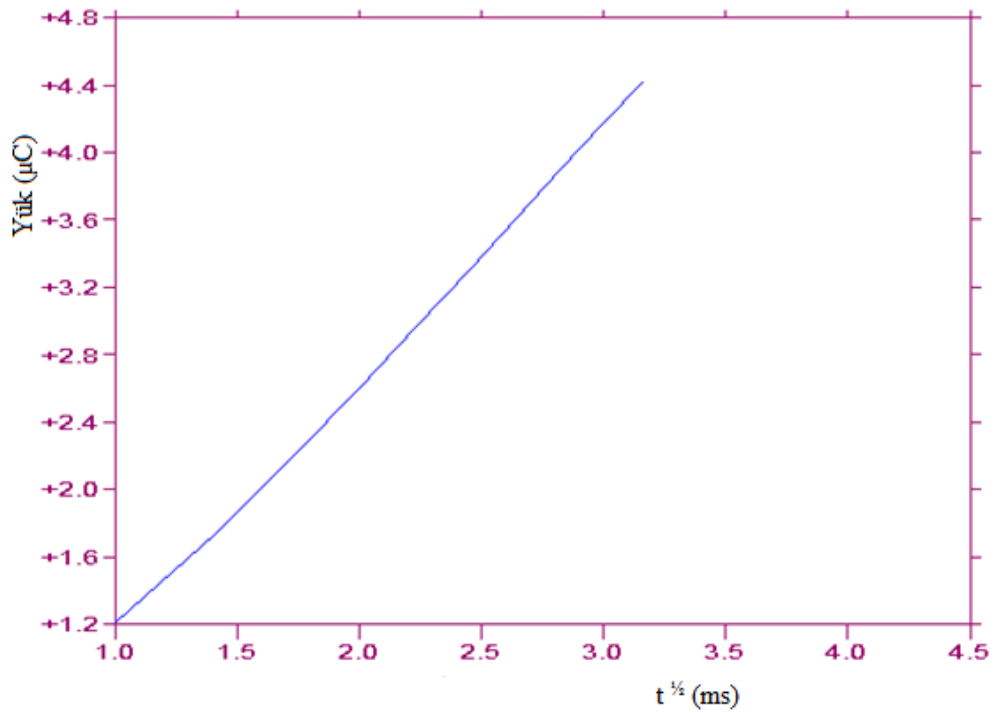
Yükseltgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = 1600$  mV

### CC Bulguları

CEFA çözeltisinin [800-1600] mV'luk potansiyel aralığında CC çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elektrot tepkimesi sonucu oluşan yükün; zamanla değişim grafiği Şekil 4.41'de, zamanın kareköküyle değişim grafiği Şekil 4.42'de verilmiştir.



**Şekil 4.41.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı (t-Q)  
Başlangıç potansiyeli  $E_1 = 800$  mV  
Yükseltgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = 1600$  mV



**Şekil 4.42.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın Kronokulometrik Voltamogramı ( $t^{1/2}$ -Q)  
Başlangıç potansiyeli  $E_1 = 800$  mV  
Yükseltgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = 1600$  mV

## 5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında II. kuşak sefalosporin antibiyotiklerinden olan CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için ADCE'de indirgenmesine ve M-CKE'de yükseltgenmesine dayalı SWV yöntemleri geliştirilmiştir. Aynı zamanda CV, CA ve CC yöntemleri ile CEFA'nın elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Geliştirilen yöntemlerin validasyon parametreleri değerlendirildikten sonra farmasötik preparatlara uygulanabilirliği gösterilmiştir. Sonuçlar, literatürdeki UV spektrofotometrik analiz yöntemiyle elde edilen sonuçlarla istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunmamıştır.

CEFA'nın su içerisinde kısmen, MeOH'da ise tamamen çözüldüğü görülmüştür ve çözücü olarak MeOH seçilmiştir. Stok CEFA çözeltileri MeOH'da hazırlanmış, gerekli seyreltmeler ise su ile yapılmıştır.

CEFA'nın saflığının araştırılması için erime noktası tayini yapılmış (171 - 173°C) ve UV spektrumları alınmıştır (Bkz. Şekil 4.1). Bu veriler ile standart CEFA'nın yeterli saflıkta olduğu gösterilmiştir.

### 5.1. ADCE ile Yapılan Çalışmalar

#### 5.1.1. ADCE İçin Destek Elektrolitin Belirlenmesi

ADCE ile çalışmalarda ilk olarak uygun destek elektrolitin belirlenebilmesi amacıyla belirli derişimde CEFA için 0.1 M fosfat, 0.1 M borat, 0.1 M FB, ve BR tampon çözeltilerinin asidik, bazik ve nötral pH'ları denenmiştir. Asidik çözeltilerde CEFA'ya ait 3 indirgenme piki gözlenirken, pH 7 ve 8'de tek pik gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.2- Şekil 4.4). Asidik ortamda gözlenen I. ve III. pikler artan pH ile negatif potansiyele kaymış ve pik akımları azalmıştır (Bkz. Şekil 4.2). pH 7'de I. ve III. pik kaybolmuştur. pH'ya karşı grafiğe geçirilen pik akımları (Bkz. Şekil 4.5) ve pH 2 ile 7'de elde edilen kalibrasyon doğrularının eğimleri (Bkz. Şekil 4.6) dikkate alındığında pH 7'de gözlenen II numaralı pik seçilerek CEFA tayini için yöntem geliştirilmesi düşünülmüştür. pH 7'deki II numaralı pik için en yüksek pik akımı ise 0.1 M FB içerisinde elde edilmiştir (Bkz. Şekil 4.7). Tampon çözelti türü belirlendikten sonra

tampon çözelti derişiminin pik akımına etkisi incelenmiştir. Pik yüksekliği ve şekli dikkate alındığında tampon derişimi olarak 0.1 M seçilmiştir (Bkz. Tablo 4.1).

pH 2.0 ve pH 10.0 aralığında denenen tampon sisteminde CEFA'ya ait II. pikin pik akımı değerleri ölçölmüş ve pik şekli incelenmiştir. pH 2, 3, 4, 5, 7 ve 8'de düzgün bir pik gözlenmiş, ancak pH 6, 9 ve 10 olduğunda pik şekli bozulmuştur (Bkz. Şekil 4.2).

### **5.1.2. Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu**

ADCE ile SWV yönteminde  $3.23 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA için; frekans (10 – 80 Hz), adım yüksekliği (2 – 6 mV) ve puls genliği (10– 45 mV) değişiminin CEFA'nın pik akımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Bkz. Şekil 4.8 – Şekil 4.10). Pik akımı ve pik şekli dikkate alınarak optimum cihaz parametreleri; frekans 35 Hz, adım yüksekliği 5 mV ve puls genliği 40 mV olarak seçilmiştir.

## **5.2. M-CKE ile Yapılan Çalışmalar**

### **5.2.1. M-CKE İçin Destek Elektrolitin Belirlenmesi**

M-CKE ile yapılan çalışmalar için destek elektrolit olarak BR tampon sistemi denenmiştir. CKE üzerine modifiye edilen grafen oksit miktarı  $2 \text{ mg mL}^{-1}$  olarak optimize edilmiştir (Bkz. Şekil 4.12 ve Şekil 4.13). CEFA'ya ait yükseltgenme pikine pH değişiminin etkisini incelemek için pH 2.0 ve pH 7.0 aralığında BR çözeltisinde pik akımları ölçölmüş ve pik şekli incelenmiştir. En yüksek pik akımı pH 2.0 de elde edilmiştir (Bkz Şekil 4.14). M-CKE ile yapılan çalışmalarda destek elektrolit olarak pH 2.0 BR tampon sistemi seçilmiştir.

### **5.2.2. Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu**

M-CKE ile SWV yönteminde  $16.13 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA için; frekans (10 – 60 Hz), adım yüksekliği (1 –7 mV) ve puls genliği (30– 70 mV) değişiminin CEFA'nın pik akımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Bkz. Şekil 4.15– Şekil 4.17). Pik akımı ve pik

şekli dikkate alınarak optimum cihaz parametreleri; frekans 45 Hz, adım yüksekliği 5 mV ve puls genliği 60 mV olarak seçilmiştir.

### 5.3. Yöntemlerin Validasyonu

Geliştirilen yöntemlerin validasyonu kararlılık, doğrusallık, duyarlılık, doğruluk, kesinlik, tekrarlanabilirlik, sağlamlık, tutarlılık ve özgünlük çalışmaları ile yapılmıştır.

#### **Kararlılık**

CEFA'nın  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişimdeki stok çözeltilerinin oda sıcaklığında ve buzdolabında bekletilerek kısa ve uzun dönem kararlılığı belirlenmiştir. Bu amaçla; bekletilen çözeltilerden  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  lik çözeltiler hazırlanmış, uygun seyreltmeler yapılarak elektrokimyasal hücreye ilave edilmiş ve ADCE ile SWV voltamogramları kaydedilmiştir. Voltamogramlardaki pik akımı ve pik potansiyeli değerleri taze hazırlanmış çözeltilerin pik akımı ve pik potansiyeli değerleri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen pik akımı değerlerinde azalma ve pik potansiyelinde değişim olmamıştır. CEFA'nın stok çözeltilerinin oda sıcaklığında minimum 24 saat, buzdolabında minimum 60 gün kararlı olduğu söylenebilir (Bkz. Tablo 4.2).

#### **Doğrusallık**

Elektrokimyasal hücreye ilave edilen CEFA derişimine karşı SWV yöntemlerinde elde edilen pik akımlarının grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrileri ( $n=6$ ) oluşturulmuş ve doğrusallık aralığı ADCE için  $0.263- 14.773 \mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE için  $8.197-45.454 \mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında belirlenmiştir (Bkz. Şekil 4.19 ve Şekil 4.20). SWV yöntemleri için doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü yapılmıştır (Bkz. Tablo 4.3 ve Tablo 4.4). ADCE ile SWV yöntemi için  $F_H = 196.99 > F_T = 7.71$ , M-CKE ile SWV yöntemi için  $F_H = 937.89 > F_T = 7.71$  ( $p > 0.05$ ) değerleri elde edilmiş ve bu sonuçlara göre doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğu bulunmuştur. Ayrıca korelasyon katsayılarının önem kontrolü yapılarak bu katsayıların istatistiksel olarak önemli değerler olduğu bulunmuştur (SWV yöntemi için ADCE ile  $t_H = 39.47 > t_T = 2.78$ , M-CKE ile  $t_H = 4.31 > t_T = 2.78$ ,  $p > 0.05$ ). Kalibrasyon model denklemlerindeki katsayılarının ANOVA ile önemlilik kontrolünde  $F_H > F_T$  olması model katsayılarının önemli olduğunu göstermektedir  $t_H > t_T$  olması 'r' katsayısının anlamlı olduğunu göstermektedir.



Her iki yönteme ait kalibrasyon eğrilerinin özellikleri Tablo 4.5’de verilmiştir.

Yöntemlerin doğrusallığının kontrolü için; standart çözeltilerin olması gereken derişimine karşı, kalibrasyon denkleminde hesaplanan derişimler grafiğe geçirilmiştir (Bkz. Şekil 4.21 ve Şekil 4.22). Bu grafiklerde ADCE ve M-CKE için sırası ile tanımlayıcılık katsayısı ( $R^2$ ) 0.9957, 0.9943 ve eğim her ikisi için de 1.0000 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar çizilen kalibrasyon eğrilerinin bir doğru olduğunu gösterir.

### **Duyarlılık**

CEFA’nın SWV yöntemi ile ADCE’de LOD;  $0.087 \mu\text{g mL}^{-1}$ , LOQ;  $0.263 \mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE’de LOD;  $2.705 \mu\text{g mL}^{-1}$ , LOQ;  $8.197 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır (n=6) (Bkz. Tablo 4.5). Bulunan LOD ve LOQ değerlerinin düşük olması CEFA’nın farmasötik preparatlardan analizi için geliştirilen SWV yöntemlerinin yeterince duyarlı olduğunu belirtir.

### **Doğruluk ve Kesinlik**

Doğruluk; ölçülen ve kabul edilen analitik sonuç arasındaki uyumun ölçüsüdür ve % bağıl hata (BH) ile ifade edilir. Yöntem doğruluğu doğrusal aralıkta alt derişim, orta derişim ve üst derişim seviyelerinden birer derişim seçilerek 6 analiz sonucu ile belirlenmiştir.

Kesinlik; elde edilen sonuçların birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Yapılan tekrarlı analizler sonucunda hesaplanan BSS ile ifade edilir.

CEFA’nın ADCE için 2.00, 6.00 ve 11.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  derişimlerde, M-CKE için 8.20, 16.13 ve 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  derişimlerde gün içi ve günler arası tekrarlı analizler yapılmıştır. Gün içi çalışmalarda; seçilen 3 derişim seviyesinde 6 ayrı standart CEFA çözeltisi hazırlanmış ve aynı gün analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçların BSS değerleri ADCE ve M-CKE için sırasıyla %0.30- 0.81 ve % 0.66-1.09, % BH değerleri mutlak değer olarak %0.16- 1.80 ve %0.05-1.76 arasında bulunmuştur. Günler arası çalışmalar ise; seçilen 3 derişim seviyesinde 6 farklı günde hazırlanan standart CEFA çözeltilerinin analizleri ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçların BSS değerleri ADCE ve M-CKE için sırasıyla %0.44-1.44 ve %0.73-0.98 arasında, % BH değerleri de mutlak değer olarak %0.14- 1.91 ve %0.20-1.76 arasında bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.6 ve Tablo 4.7).

Geliştirilen SWV yöntemlerinin gün içi ve günler arası analizler sonrası % BH değerlerinin % 2'den küçük olması yöntemlerin doğruluğunun, BSS değerlerinin de % 2'den küçük olması ise kesinliğinin yüksek olduğunu gösterir (46).

### **Tekrarlanabilirlik**

Cihaz tekrarlanabilirliği; ADCE için  $3.23 \mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE için  $16.13 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA içeren çözeltide tekrarlı akım ölçümü ile yapılmıştır. BSS değerleri ADCE ve M-CKE için sırası ile %0.38 ve %1.32 bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.8). BSS değerlerinin %2'den düşük olması yöntemlerin tekrarlanabilirliğinin iyi olduğunu gösterir (46).

### **Sağlamlık**

Sağlamlık çalışmaları için optimum şartlarda küçük değişiklikler yapılarak bunun sonuçlara etkisi incelenmiştir. Bu amaçla başlangıç potansiyeli ve destek elektrolit pH'sı değiştirilmiştir. Analizler ADCE için  $8.00 \mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE için  $16.13 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA içeren çözelti ile gerçekleştirilmiştir. Her bir değişiklik sonrası elde edilen sonuçlar optimum şartlarda elde edilen sonuçlar ile Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. U hesap < U tablo olduğundan analizler arasında fark olmadığı (Bkz. Tablo 4.9 ve Tablo 4.10) ve CEFA analizi için geliştirilen yöntemlerin sağlam olduğu belirlenmiştir.

### **Tutarlılık**

Tutarlılık çalışmaları için farklı analizci etkisi incelenmiştir. Analizler ADCE için  $8.00 \mu\text{g mL}^{-1}$ , M-CKE için  $16.13 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA içeren çözelti ile gerçekleştirilmiş ve bulunan değerler Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. U hesap < U tablo olduğundan iki analizci ile elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı (Bkz. Tablo 4.11 ve Tablo 4.12), geliştirilen yöntemlerin tutarlı olduğu kanısına varılmıştır.

### **Özgünlük**

Sentetik preparat, tablet ve standart CEFA çözeltilerinin voltamogramları karşılaştırılarak yöntemlerin özgünlüğü incelenmiştir. Hem ADCE hem de M-CKE için sentetik preparat, tablet ve standart CEFA çözeltilerinin voltamogramlarının birbirinin aynısı olması (Bkz. Şekil 4.23 ve Şekil 4.24) ve başka pik gözlenmemesi geliştirilen yöntemlerin özgün olduğunu göstermiştir.

Yöntem özgünlüğünün diğer bir kanıtı standart ekleme yönteminin tablet çözeltilerine uygulanmasıdır. Standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrilerinin denklemi ADCE için;  $y = 429.58x + 1137.2$  ve M-CKE için  $y = 86.947x + 599.98$ 'dir. Doğru denklemlerinde eğimlerin doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen eğimlere çok yakın olması (Bkz. Şekil 4.25 ve Şekil 4.26) farmasötik preparat içinde bulunan diğer katkı maddelerinin girişim yapmadığını ve geliştirilen yöntemlerin özgün olduğunu göstermektedir.

#### **Geri Kazanım**

601.4 mg CEFA içeren sentetik preparat çözeltilisinin ADCE ve M-CKE ile analizi yapılarak geri kazanım sonuçları değerlendirilmiştir. Geri kazanım sonuçlarının  $100 \pm 2$  aralığında olması gerektiği kaynaklarda belirtilmiştir (46). Tablo 4.13'de yer alan verilere göre geri kazanım sonuçlarının bu aralığa girdiği (%99.83-%100.35) ve BSS değerlerinin düşük olduğu görülmektedir. Geri kazanım değerlerinin uygunluğu; aynı zamanda yöntemlerin doğruluğunu da destekler.

#### **5.4. Farmasötik Preparatlara Uygulanması**

Geliştirilen yöntemlerin validasyon parametreleri sonuçları kabul edilebilir aralıklarda bulunmuştur. Böylece iki farklı miktarda CEFA içeren Cefaks isimli farmasötik preparatların analizinde başarıyla uygulanabilir olduğu gösterilmiştir (Bkz. Tablo 4.14).

Geliştirilen yöntemlerin geçerli olduğunu kanıtlamak için diğer bir yol, yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması ile elde edilen sonuçların kaynaklarda geçerliliği kanıtlanmış başka bir yöntem ile elde edilen analiz sonuçları ile karşılaştırılması ve aralarında istatistiksel açıdan fark olmadığını gösterilmesidir. Bu amaçla aynı numunenin analizi kaynakta bildirilen bir spektrofotometrik yöntemle (1) yapılarak elde edilen sonuçlar geliştirilen yöntemlerin sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Kruskal Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede geliştirilen yöntemlerle karşılaştırma yöntemi arasında fark olmadığı bulunmuştur. Böylece geliştirilen yöntemlerin doğruluğu ve farmasötik preparatların analizinde uygulanabilir olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır.

## 5.5. CEFA'nın Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi

### 5.5.1. ADCE ile Yapılan Çalışmalar

#### Elektrot Tepkimesinin Tersinirliğinin İncelenmesi

ADCE ile CEFA'nın indirgenme tepkimesi için tersinirlik testlerinde CV yöntemi kullanılmıştır. CEFA için CV yöntemi ile elde edilen voltamogramda ters taramada anodik pikin gözlenmemesi (Bkz. Şekil 4.27) sistemin tersinmez olduğunun önemli bir göstergesi olduğundan CEFA'ya ait indirgenme tepkimesinin tersinmez olduğu düşünülmüştür. Tersinmez bir elektrot tepkimesinde tarama hızının artması ile katodik pik potansiyeli negatif bölgeye kayar (32). Şekil 4.27 incelendiğinde tarama hızının artması ile pik potansiyelinin negatif değerlere kaydığı görülmektedir. CEFA'nın pik akımının tarama hızının kare kökü ile değişim grafiği (Bkz. Şekil 4.28) Şekil 2.10'daki grafiğin tersinmez şekline benzemektedir (33).

Tersinir bir sistemde bütün potansiyellerde elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından büyüktür ve Nernst eşitliği elektrot yüzeyinde geçerlidir. Tersinmez sistemlerde ise elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından Nernst eşitliği geçerli değildir. Tersinmez elektron aktarım reaksiyonlarında standart hız sabiti küçüktür. Bu nedenle; indirgenme reaksiyonu, standart elektrot potansiyelinden daha katodik potansiyellerde gerçekleşir.

Tersinir durumda katodik pik potansiyeli  $E_p^c$ , tarama hızının bir fonksiyonu olmadığı halde, tersinmez durumda tarama hızı ile aşağıdaki eşitliğe göre değişir.

$$E_p^c = E^0 - \frac{RT}{\alpha_c n_{\alpha} F} \left[ 0.780 + \frac{1}{2} \ln \left( \frac{\alpha_c n_{\alpha} F D_0 v}{RT} \right) - \ln k_s \right] \quad (5.1)$$

Bu eşitliğe göre; elektron aktarım hızı azaldıkça  $E_p$  ile  $E^0$  arasındaki fark artar. Diğer bir ifade ile  $k_s$  küçüldükçe indirgenme  $E^0$ ' dan daha negatif potansiyellerde meydana gelir.

Standart hız sabiti ( $k_s$ ) ve elektron aktarım katsayısı  $\alpha_c$ 'nin bulunmasında pik akımı ve pik potansiyeli arasında aşağıda verilen eşitlikten yararlanılabilir.

$$i_p = 0.227nFAC_0k_s \exp \left[ -\frac{\alpha_c n \alpha F}{RT} (E_p - E^0) \right] \quad (5.2)$$

Eğer reaksiyonun  $E^0$  değeri biliniyorsa farklı tarama hızlarında yapılan İpik ve Epik ölçümlerinden log İpik- (Epik- $E^0$ ) grafiği çizilir. Doğrunun eğiminden ve ordinatı kesim noktasından  $k_s$  hesaplanabilir. Ancak  $E^0$  değeri her zaman bilinmediğinden voltamogramın 0.1İpik'den daha düşük akım değerlerinde  $k_s$  ve  $\alpha_c$ 'nin bulunmasında Eşitlik 5.2 yerine daha basit olan aşağıdaki eşitlik kullanılır.

$$i_p = nFAC_0k_s = nFAC_0k_s \exp \left[ \frac{\alpha_c n \alpha F}{RT} (E_p - E_i) \right] \quad (5.3)$$

Bu eşitlikte  $E_i$ ; herhangi bir akımın oluşmadığı başlangıç potansiyelidir.  $E_p - E_i$  değerlerine karşılık log İpik değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile  $y = -0.0237x + 8.5455$  denklemi elde edilmiştir. Yapılan işlemler sonucu doğrunun kesim noktasından  $k_s = 2.8176 \times 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$  bulunmuştur. Bu değer  $5 \times 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$  den küçük olması CEFA'nın ADCE üzerinde indirgenme reaksiyonunun tersinmez olduğunu kanıtlar.

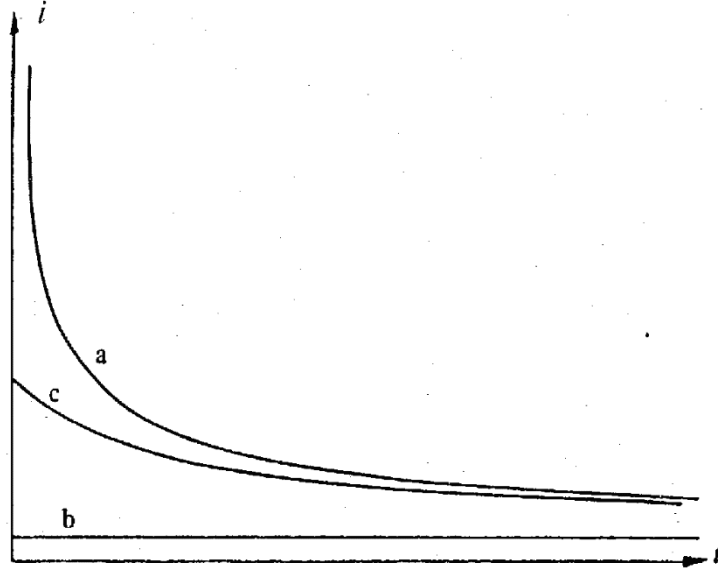
### Akım Karakterinin İncelenmesi

#### a) CV Yöntemi ile;

CV yöntemi ile pH 2 ve 8 arasında tarama hızının logaritmasına ( $\log v$ ) karşı pik akımının logaritmasının ( $\log \text{İpik}$ ) grafiğe geçirilmesi ile elde edilen doğruların eğimi (Bkz. Şekil 4.29'da pH 7 için gösterilmiştir) 0.5'den büyük bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.15). Bu da CEFA'nın indirgenmesi sonucu oluşan akımın adsorpsiyon etkisinde difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

#### b) CA Yöntemi ile;

CA yönteminde elde edilen akım – zaman ilişkileri Şekil 5.1'de (33) görülmektedir. CEFA'nın CA voltamogramında elde edilen akım – zaman eğrisi (Bkz. Şekil 4.31) Şekil 5.1.a'ya benzemektedir Bu durum CEFA'nın indirgenmesi sonucu oluşan akımın difüzyon kontrollü olduğunun diğer kanıtıdır.



**Şekil 5.1.** CA'da Uygulanan Potansiyele Göre Akım – Zaman İlişkisi

- a) Difüzyon Kontrollü akım b) Kinetik Kontrollü Akım  
c) Hem Difüzyon Hem de Kinetik Kontrollü Akım

### Aktarılan Elektron Sayısının Bulunması

SWV ve CV yöntemlerinden elde edilen veriler kullanılarak 3 farklı yol ile aktarılan elektron sayısı ( $n_a$ ) hesaplanmıştır.

#### I. yol;

SWV yöntemi ile elde edilen voltamogramda net akımın yarı yüksekliğindeki voltamogramın genişliğine yarı-pik genişliği ( $W_{1/2}$ ) denir.

Tersinir sistemler için;

$$W_{1/2} = 90.6 / n_a \quad (5.4)$$

Tersinmez sistemler için;

$$W_{1/2} = 62.4 / \alpha_c n_a \quad (5.5)$$

olarak verilmektedir (47).

$W_{1/2}$  değerleri kullanılarak  $n_a$  hesaplanmıştır.

Tersinmez bir sistem için  $\alpha_c$  değerleri 0.3, 0.5 ve 0.7 olabilir. CEFA'nın dönüşümlü voltamogram şeklinin  $\alpha = 0.3$  durumuna uygun olduğu görülmektedir (32).

**Tablo 5.1.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın SWV Yönteminde Yarı Pik Genişliği Teorisi ile Farklı pH Değerlerinde Hesaplanan  $\alpha_c n_\alpha$  Değerleri

pH	$W_{1/2}$	$\alpha_c n_\alpha$	n=1	n=2	n=3
2	102.85	0.61	0.61	0.30	0.20
3	113.33	0.55	0.55	0.28	0.18
4	106.67	0.58	0.58	0.29	0.20
5	106.67	0.58	0.58	0.29	0.20
7	109.68	0.57	0.57	0.28	0.19
8	108.86	0.57	0.57	0.29	0.19

Tablo 5.1'e göre net akımın yarı yüksekliğinde elde edilen  $w_{1/2}$  değerlerinden  $\alpha_c n_\alpha$  hesaplanarak,  $\alpha_c$ 'nin 0.3'e yakın olduğu durumda  $n_\alpha$  2 olarak bulunmuştur.

### II. yol;

CV yöntemi ile farklı pH değerlerinde CEFA'nın indirgenme pik potansiyeline tarama hızının etkisi incelenmiştir. Tersinir durumda Epik, tarama hızının bir fonksiyonu olmadığı halde tersinmez durumda  $v$  ile Eşitlik 2.12'ye göre değişir. Farklı pH'larda CEFA'nın  $\log v$  değerlerine karşı pik potansiyeli grafikleri çizilmiştir (Bkz. Şekil 4.30). Elde edilen doğruların eğimlerinden ve Eşitlik 2.12'den yararlanılarak  $\alpha_c n_\alpha$  değerleri bulunmuştur.

**Tablo 5.2.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın CV Yöntemi ile Farklı pH Değerlerinde  $\log v$  Epik Grafiklerinden Hesaplanan  $\alpha_c n_\alpha$  Değerleri

pH	Eğim	$\alpha_c n_\alpha$	n=1	n=2	n=3
2	81.31	0.73	0.73	0.36	0.24
3	94.24	0.63	0.63	0.31	0.21
4	92.46	0.64	0.64	0.32	0.21
5	107.19	0.55	0.55	0.28	0.18
7	98.14	0.60	0.60	0.30	0.20
8	97.82	0.60	0.60	0.30	0.20

Tablo 5.2'de görüldüğü gibi  $\alpha_c$ 'nin 0.3'e yakın olduğu durumda  $n_\alpha$  2 olarak bulunmuştur.

### III. yol;

CV yönteminde tersinmez sistemler için geçerli olan Eşitlik 2.14 kullanılarak  $\alpha_c n_\alpha$  değerleri hesaplanabilir.

**Tablo 5.3.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın CV Yöntemi ile Farklı pH Değerlerinde  $E_p - E_{p/2}$  Kaymalarından Hesaplanan  $\alpha_c n_\alpha$  Değerleri

pH	$E_p - E_{p/2}$	$\alpha_c n_\alpha$	n=1	n=2	n=3
2	80.00	0.60	0.60	0.30	0.20
3	83.87	0.57	0.57	0.29	0.19
4	77.41	0.62	0.62	0.31	0.21
7	80.00	0.60	0.60	0.30	0.20
8	80.00	0.60	0.60	0.30	0.20

Eşitlik 2.14 kullanılarak  $E_p - E_{p/2}$  kaymalarından  $\alpha_c n_\alpha$  değerleri hesaplanarak Tablo 5.3'e göre  $\alpha_c$ 'nin 0.3'e yakın olduğu durumda  $n_\alpha$  2 olarak bulunmuştur.

Ayrıca Eşitlik 5.3'de verildiği gibi  $E_p - E_i$  değerlerine karşı, log İpik değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile elde edilen denklemde eğimden yola çıkarak  $\alpha_c = 0.3$  olduğunda;  $n_\alpha$  değeri 2.03 olarak hesaplanmıştır.

### Difüzyon Katsayısının Bulunması

İki farklı voltametrik yöntemle CEFA'nın indirgenmesine ait difüzyon katsayıları (D) hesaplanmıştır.

#### a) CV Yöntemi ile;

CEFA'nın dönüşümlü voltamogramlarından tersinmez indirgenme piki için Eşitlik 2.11'de verilen Randles-Sevcik eşitliğinden yararlanarak farklı tarama hızlarında hesaplanan difüzyon katsayıları Tablo 5.4'de verilmiştir.



**Tablo 5.4.** 8.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA için CV Yönteminde Değişik Tarama Hızlarında Hesaplanan Difüzyon Katsayıları

Tarama hızı ( $\text{mV s}^{-1}$ )	$D^{1/2}$ ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )	D ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )
10	$4.31 \times 10^{-4}$	$1.86 \times 10^{-7}$
50	$6.97 \times 10^{-4}$	$4.86 \times 10^{-7}$
100	$6.87 \times 10^{-4}$	$4.72 \times 10^{-7}$
250	$8.70 \times 10^{-4}$	$7.57 \times 10^{-7}$
500	$10.40 \times 10^{-4}$	$10.81 \times 10^{-7}$
750	$11.94 \times 10^{-4}$	$14.26 \times 10^{-7}$

**b) CC Yöntemi ile;**

CC yöntemi ile elde edilen yüke karşı zamanın karekökünün değişimi grafiğinin eğiminden Eşitlik 2.17 kullanılarak hesaplanan difüzyon katsayıları Tablo 5.5’de verilmiştir.

**Tablo 5.5.** 15.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA’nın CC Yöntemiyle Hesaplanan Difüzyon Katsayıları

$\tau$ (Puls Genişliği)	$D^{1/2}$ ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )	D ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )
10	$2.27 \times 10^{-4}$	$5.14 \times 10^{-8}$
100	$1.04 \times 10^{-3}$	$10.71 \times 10^{-7}$
250	$1.06 \times 10^{-3}$	$11.34 \times 10^{-7}$

Her iki yöntemle bulunan D değerleri birbiri ile uyumlu bulunmuştur.

### Elektron Aktarım Hız Sabitinin Bulunması

CA ve CC yöntemleri kullanılarak elektron aktarım hız sabiti ( $k_f$ ) hesaplanabilir.

#### a) CA Yöntemi ile;

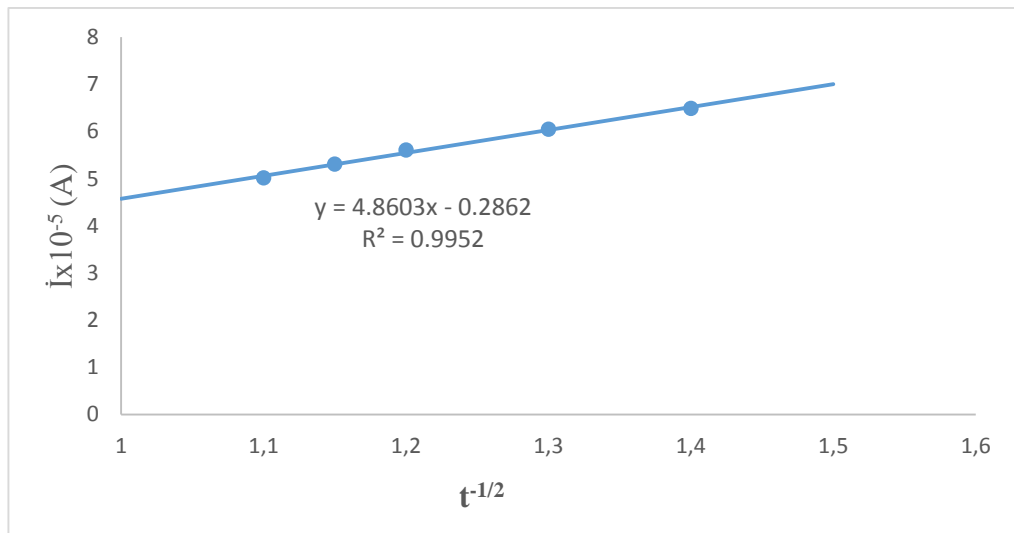
CA voltamogramında zaman küçük olduğu durumda akım Eşitlik 5.6 ile ifade edilir.

$$i = nFAk_f C_o \left( 1 - \frac{(k_f + k_b)t^{1/2}}{\pi^{1/2} D_o^{1/2}} \right) \quad (5.6)$$

Küçük t değerlerinde  $\dot{I} - t^{1/2}$  arasındaki ilişki doğrusaldır ve doğrunun ordinatı kestiği noktadaki akım Eşitlik 5.7 ile verilir.

$$i(t=0) = nFAk_f C_o \quad (5.7)$$

Eşitlik 5.7'den yararlanarak elektron aktarım sabiti  $k_f$  hesaplanabilir. Şekil 5.2'den küçük t değerlerinde eğrinin ordinatı kestiği noktadan elektron aktarım hız sabiti  $k_f = 4.8409 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 5.2.** CA Yönteminde CEFA'nın Küçük Zaman Değerlerindeki  $t^{-1/2} - \dot{I}$  Grafiği

### b) CC Yöntemi İle;

CC yöntemi ile bir elektron aktarım tepkimesinin hız sabiti hesaplanabilir. Eşitlik 2.17'den görüleceği gibi  $Q - t^{1/2}$  grafiği doğrusaldır ve doğrunun  $t^{1/2}$  eksenini kestiği nokta  $t_L^{1/2}$ 'ye eşittir. CC yöntemi ile CEFA için  $Q - t^{1/2}$  grafiklerinden (Bkz. Şekil 4.34) doğrunun absisi kestiği noktadan elde edilen  $t_L$  değerinin Eşitlik 2.19'da yerine konulmasıyla  $k_f$  değerleri hesaplanmıştır.

**Tablo 5.6.** 15.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA İçin CC Yöntemi ile Hesaplanan Elektron Aktarım Sabiti Değerleri

$\tau$ (Puls Genişliği)	$t_L^{1/2}$	$k_f$ ( $\text{cm s}^{-1}$ )
10	1.01	$6.364 \times 10^{-3}$
100	0.83	$6.306 \times 10^{-3}$
250	0.86	$5.374 \times 10^{-3}$

İki yöntem için bulunan  $k_f$  değerleri birbiri ile uyumlu bulunmuştur.

### CV Yöntemi İle Adsorpsiyon Varlığının İncelenmesi

CEFA'nın ADCE üzerinde adsorpsiyon varlığının belirlenmesinde CV yöntemi kullanılmıştır.

pH 7, FB tampon çözeltisi içinde CV verileri ile elde edilen  $\log v - \log \text{İpik}$  grafiğinin eğimi 0.5'den büyüktür (Bkz. Şekil 4.29).

Tarama hızının artışı ile akım fonksiyonu [ $\text{İpik} (\text{Cv}^{1/2})^{-1}$ ] artmıştır (Tablo 5.7).

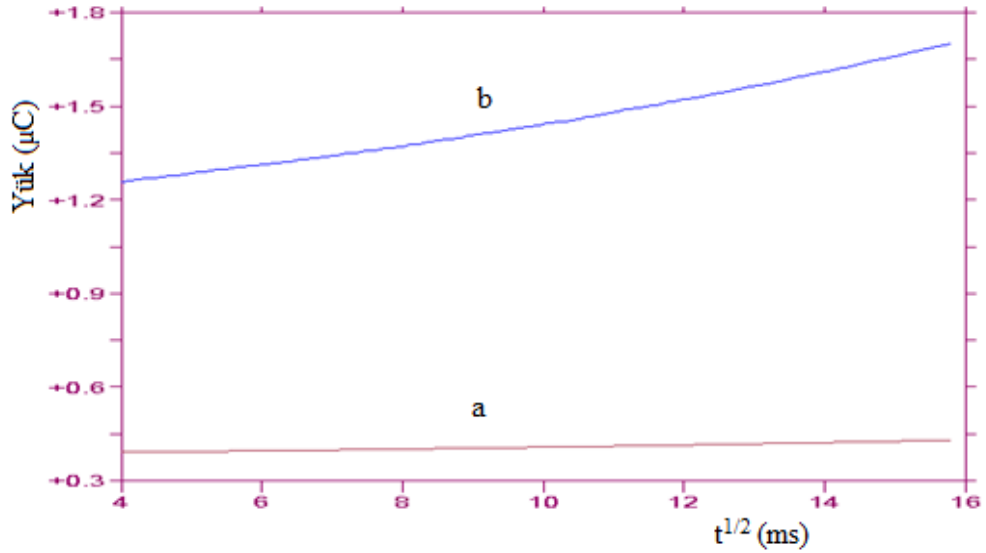
**Tablo 5.7.**  $8.00 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın CV Yönteminde Farklı Tarama Hızlarında Akım Fonksiyonları

$v \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$	$\dot{I}_p^k \text{ (C v}^{1/2}\text{)}^{-1}$
10	13.02
25	16.44
50	21.05
75	22.83
100	20.75
250	26.29
500	31.41
750	36.08

Bu veriler difüzyon akımına adsorpsiyon etkisi olduğunu göstermektedir.

### CC ile Adsorplanan Madde Miktarının Bulunması

Bölüm 2.5.1.5'de anlatıldığı gibi CC yöntemi ile adsorplanan madde miktarı Eşitlik 2.20'ye göre hesaplanabilir.



**Şekil 5.3.** a) pH 7.0, 0.1 M FB'nin b)  $1.962 \times 10^{-8} \text{ mol (cm}^3\text{)}^{-1}$  CEFA'nın CC Yöntemi ile  $t^{1/2}$ -Q Grafiği

**Tablo 5.8.**  $1.962 \times 10^{-8} \text{ mol (cm}^3\text{)}^{-1}$  CEFA için CC Yöntemi ile Uygulanan Puls Genişliğine Göre Adsorplananan Madde Miktarı

$\zeta$ (Puls genişliği)	Q çift+nFA $\Gamma$	Q çift	Fark	$\Gamma$ mol (cm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup>	%
10	$1.56 \times 10^{-6}$	$3.72 \times 10^{-7}$	$1.19 \times 10^{-6}$	$1.84 \times 10^{-10}$	0.94
100	$1.78 \times 10^{-6}$	$3.67 \times 10^{-7}$	$1.42 \times 10^{-6}$	$1.19 \times 10^{-10}$	1.12
250	$1.05 \times 10^{-6}$	$3.72 \times 10^{-7}$	$6.75 \times 10^{-7}$	$1.03 \times 10^{-10}$	0.53

Şekil 5.3’de verilen  $t^{1/2} - Q$  grafiğinden yararlanılarak adsorplanan madde miktarı hesaplanmıştır. Tablo 5.8’e göre CC yönteminde uygulanan puls genişliği ile adsorplanan madde miktarın azalmıştır.

### 5.5.2. M-CKE ile Yapılan Çalışmalar

#### Elektrot Tepkimesinin Tersinirliğinin İncelenmesi

M- CKE’de CEFA’nın yükseltgenme tepkimesi için tersinirlik testlerinde CV yöntemi kullanılmıştır. CV yöntemi ile elde edilen voltamogramda ters taramada anodik pikin gözlenmemesi (Bkz. Şekil 4.35) sistemin tersinmez olduğunu gösterir. Tersinmez bir elektrot tepkimesinde tarama hızının artması ile anodik pik potansiyeli pozitif bölgeye kayar (32). Şekil 4.35 incelendiğinde tarama hızının artması ile pik potansiyelinin pozitif değerlere kaydığı görülmektedir. CEFA’nın pik akımının tarama hızının kare kökü ile değişim grafiği (Bkz. Şekil 4.36) Şekil 2.10’daki grafiğin hem tersinir hem tersinmez şekline uymaktadır. Şekil 4.36’da görüldüğü gibi tarama hızındaki artış ile sistem tersinir durumdan tersinmez duruma geçmektedir. Difüzyon kontrollü akımın tarama hızının kare köküyle değişimi düşük tarama hızlarında tersinir tepkimelerdeki gibidir. Tarama hızı biraz arttırıldığında elektrot tepkimesi yarı tersinir olur. Çünkü tarama hızının artışı ile CEFA’nın elektrot yüzeyine difüzyon hızı artar. Bu bölgede difüzyon hızı ve elektron aktarım hızı aynı seviyededir. Şekil 4.36’daki grafiğin tersinmez bölgesinde akım, tarama hızının kare köküyle Eşitlik 2.11’e göre doğrusal olarak artar. Fakat tersinmez kısmın eğimi tersinir kısmının eğiminden küçüktür. Şekil 4.36 incelendiğinde farklı eğimde iki doğru elde edilmiştir ve ikinci

doğrunun eğimi birinci doğrudan daha küçüktür. Bu durumda elektrot tepkimesinin düşük tarama hızlarında tersinir, yüksek tarama hızlarında ise tersinmez olduğu söylenebilir.

### Akım Karakterinin İncelenmesi

#### a) CV Yöntemi ile;

CV yöntemi ile pH 2’de tarama hızının logaritmasına ( $\log v$ ) karşı pik akımının logaritmasının ( $\log I_{pik}$ ) grafiğe geçirilmesi ile elde edilen doğrunun eğimi 0.5’den küçük bulunmuştur (Bkz Şekil 4.37). Bu durum CEFA’nın yükseltgenmesi sonucu oluşan akımın difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

#### b) CA Yöntemi ile;

CA yönteminde elde edilen akım – zaman ilişkileri Şekil 5.1’de (33). görülmektedir. CEFA’nın CA voltamogramında elde edilen akım – zaman eğrisi Şekil 5.1.a’ya benzemektedir (Bkz. Şekil 4.39). Bu durum CEFA’nın yükseltgenmesi sonucu oluşan akımın difüzyon kontrollü olduğunu diğer kanıttır.

### Aktarılan Elektron Sayısının Bulunması

CV yöntemi ile pH 2’de CEFA’nın  $\log v$  değerlerine karşı pik potansiyeli grafiği çizilmiştir (Bkz. Şekil 4.38). Elde edilen doğru eğiminden ve Eşitlik 2.12’den yararlanılarak  $\alpha_c n_\alpha$  değerleri bulunmuştur.

**Tablo 5.9.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA’nın CV Yöntemi ile pH 2’de  $\log v$ -Epik

Grafiklerinden Hesaplanan  $\alpha_c n_\alpha$  değerleri

pH	Eğim	$\alpha_c n_\alpha$	n=1	n=2	n=3
2	58.71	1.00	1.00	0.50	0.33

Tablo 5.9’a göre  $\alpha_c=0.5$  olduğunda;  $n_\alpha$  değeri 2.0 olarak hesaplanmıştır.

### Difüzyon Katsayısının Bulunması

İki farklı voltametrik yöntemle CEFA'nın yükseltgenmesine ait difüzyon katsayıları (D) hesaplanmıştır.

#### a) CV Yöntemi İle;

CEFA'nın dönüşümlü voltamogramlarından tersinmez yükseltgenme piki için Eşitlik 2.11'den yararlanarak farklı tarama hızlarında hesaplanan difüzyon katsayıları Tablo 5.10'da verilmiştir.

**Tablo 5.10.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA için CV Yönteminde Değişik Tarama Hızlarında Hesaplanan Difüzyon Katsayıları

$v$ ( $\text{mV s}^{-1}$ )	$D^{1/2}$ ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )	$D$ ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )
10	$3.89 \times 10^{-5}$	$1.52 \times 10^{-9}$
25	$3.43 \times 10^{-5}$	$1.17 \times 10^{-9}$
50	$2.90 \times 10^{-5}$	$0.84 \times 10^{-9}$
75	$2.47 \times 10^{-5}$	$0.61 \times 10^{-9}$
100	$2.16 \times 10^{-5}$	$0.47 \times 10^{-9}$
250	$1.54 \times 10^{-5}$	$0.24 \times 10^{-9}$
500	$1.17 \times 10^{-5}$	$0.14 \times 10^{-9}$
750	$1.02 \times 10^{-5}$	$0.10 \times 10^{-9}$

#### b) CC Yöntemi İle;

CC yöntemi ile elde edilen yüke karşı zamanın karekökünün değişimi grafiğinin eğiminden Eşitlik 2.17 kullanılarak hesaplanan difüzyon katsayıları Tablo 5.11'de verilmiştir.

**Tablo 5.11.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın CC Yöntemiyle Hesaplanan Difüzyon Katsayıları

$\tau$ (Puls Genişliği)	$D^{1/2}$ ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )	$D$ ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ )
10	$1.66 \times 10^{-3}$	$2.75 \times 10^{-6}$
100	$6.89 \times 10^{-4}$	$4.74 \times 10^{-7}$
250	$7.60 \times 10^{-4}$	$5.78 \times 10^{-7}$

Her iki yöntemle bulunan D değerleri birbiri ile uyumlu bulunmuştur.

### Elektron Aktarım Hız Sabitinin Bulunması

CA ve CC yöntemleri kullanılarak elektron aktarım hız sabiti ( $k_f$ ) hesaplanabilir.

#### a) CA Yöntemi ile;

CA yöntemi ile Eşitlik 5.6 ve 5.7'den yararlanarak elektron aktarım sabiti  $k_f$  hesaplanabilir. Şekil 4.40'da küçük t değerlerinde eğrinin ordinatı kestiği noktadan  $k_f$  değerleri hesaplanmış ve Tablo 5.12'de verilmiştir.

**Tablo 5.12.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA için CA Yöntemi ile Hesaplanan Elektron Aktarım Sabiti Değerleri

$\tau$ (Puls Genişliği)	Kesim	$k_f$ ( $\text{cm s}^{-1}$ )
10	$5.58 \times 10^{-6}$	$6.68 \times 10^{-3}$
100	$3.63 \times 10^{-6}$	$4.34 \times 10^{-4}$
250	$3.00 \times 10^{-6}$	$3.59 \times 10^{-3}$

#### b) CC Yöntemi ile;

CC yöntemi ile bir elektron aktarım tepkimesinin hız sabiti hesaplanabilir. Eşitlik 2.17'den görüleceği gibi  $Q - t^{1/2}$  grafiği doğrusaldır ve doğrunun  $t^{1/2}$  eksenini kestiği nokta  $t_L^{1/2}$  ye eşittir. CC yöntemi ile CEFA için  $Q - t^{1/2}$  grafiklerinden doğrunun absisi kestiği noktadan elde edilen  $t_L$  değerinin eğimde yerine konulmasıyla (Bkz. Eşitlik 2.19) elektron aktarım sabiti  $k_f$  değerleri hesaplanmıştır.



**Tablo 5.13.** 31.25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA için CC Yöntemi ile Hesaplanan Elektron Aktarım Sabiti Değerleri

Puls Genişliği	$t_L^{1/2}$	$k_f$ ( $\text{cm s}^{-1}$ )
10	1.17	$1.26 \times 10^{-3}$
100	1.12	$5.45 \times 10^{-4}$
250	0.07	$9.62 \times 10^{-3}$

Her iki yöntemle bulunan  $k_f$  değerlerinin birbiri ile uyumlu olduğu düşünülmektedir.

### CV Yöntemi ile Adsorpsiyon Varlığının İncelenmesi

CEFA'nın M-CKE üzerinde adsorpsiyon varlığının belirlenmesinde CV yöntemi kullanılmıştır.

pH 2, BR tampon çözeltisi içinde CV verileri ile elde edilen log v-log  $\dot{I}_p$  grafiğinin eğimi 0.5'den küçüktür (Bkz. Şekil 4.37).

Tarama hızının artışı ile akım fonksiyonu  $\dot{I}_p^k$  ( $\text{C v}^{1/2}$ )<sup>-1</sup> azalmıştır (Tablo 5.14).

**Tablo 5.14.** 16.13  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın CV Yönteminde Farklı Tarama Hızlarında Akım Fonksiyonları

v ( $\text{mV s}^{-1}$ )	$\dot{I}_p^k$ ( $\text{C v}^{1/2}$ ) <sup>-1</sup>
10	6.231
25	5.481
50	4.628
75	3.968
100	3.462
250	2.466
500	1.870
750	1.631
1000	1.469

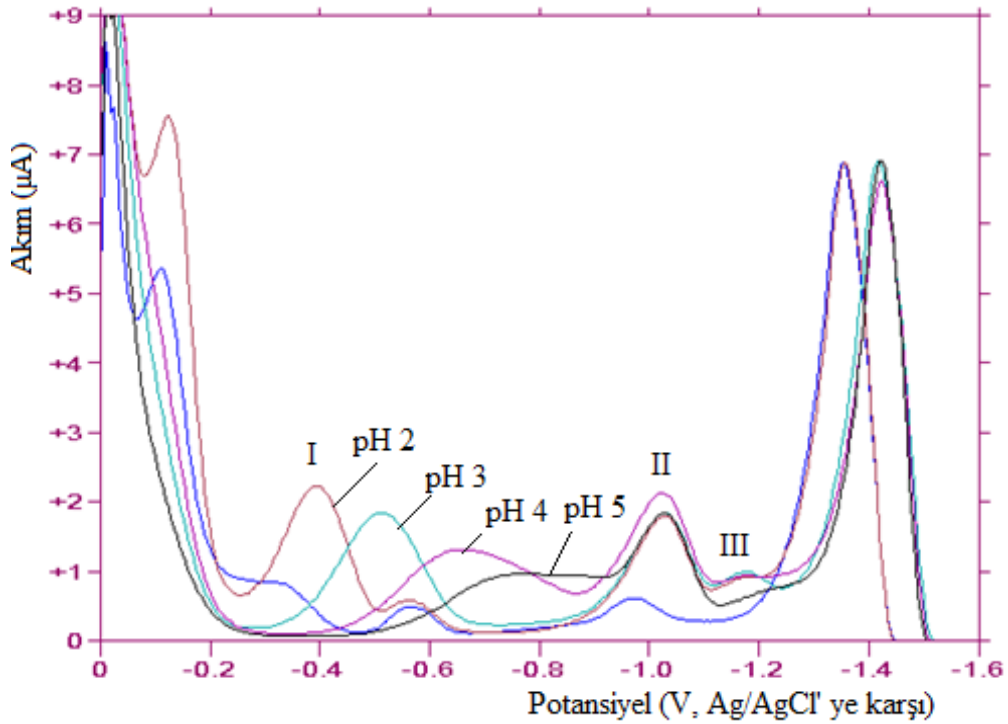
Bu veriler difüzyon akımına adsorpsiyon etkisinin olmadığını göstermiştir.

## 5.6. CEFA'nın İndirgenmesine Ait Elektrot Mekanizması

### 5.6.1. ADCE ile CEFA'nın Elektrot Mekanizması

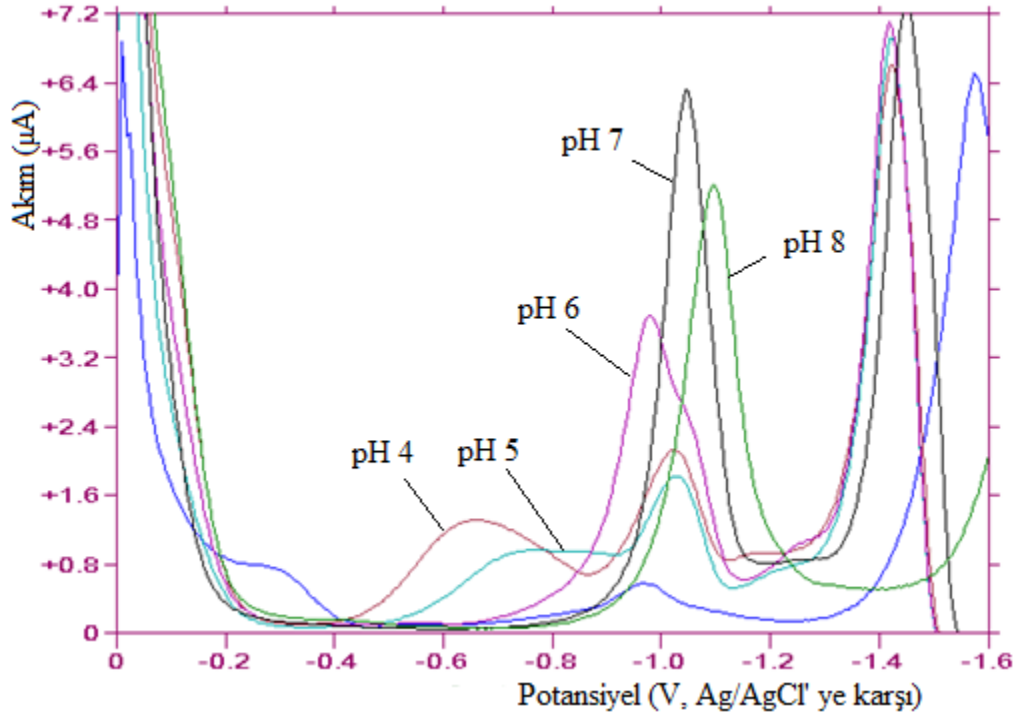
Kaynaklarda II. kuşak sefalosporinlerin yapısında bulunan metoksi imino grubundaki C=N ve dihidrotiyazin halka yapısındaki C=C bağlarının asidik ortamda indirgenme piki verdiği ve bu piklerin artan pH ile negatif potansiyellere kaydığı belirtilmektedir (19,48-52).

CEFA ile asidik ortamda yapılan çalışmalarda  $-0.4$  V (I),  $-1.05$  V (II) ve  $-1.2$  V (III) potansiyel değerlerinde üç tane pik gözlenmiştir (Şekil 5.3).



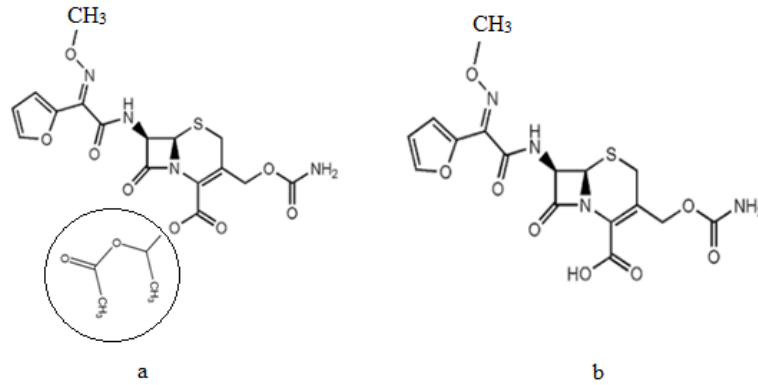
Şekil 5.4.  $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 2, 3, 4 ve 5'deki Voltamogramları

III numaralı pikin akımı oldukça küçüktür. Artan pH ile I ve III numaralı pikler negatif potansiyele kayarken II numaralı pikin pH'dan bağımsız olduğu görülmüştür (Şekil 5.4). Artan pH ile I. ve III. pik akımı giderek azalmış, pH 7'de I. ve III. pik kaybolurken, II. pik akımı maksimum değere ulaşmıştır (Şekil 5.5).



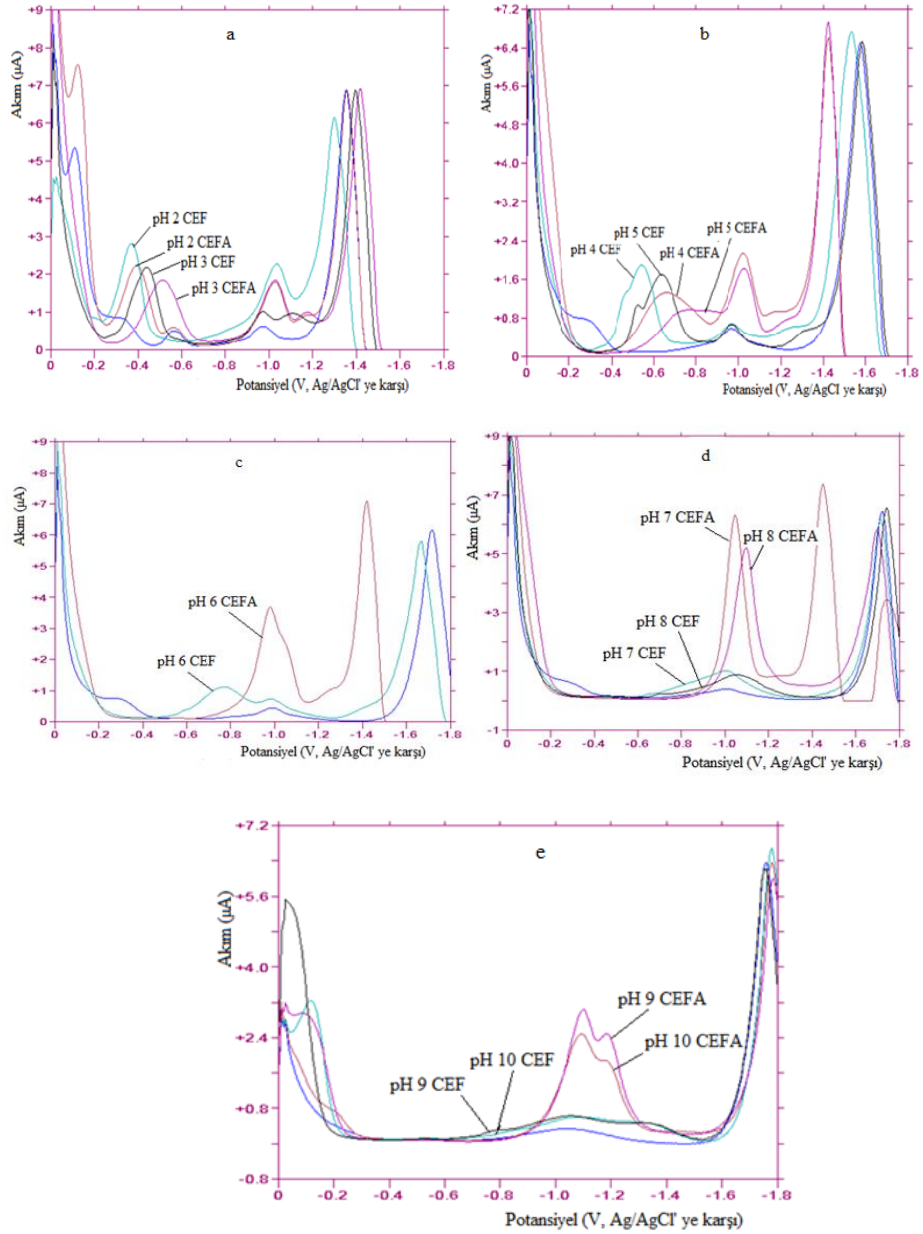
Şekil 5.5.  $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın pH 4, 5, 6, 7 ve 8 Voltamogramları

$\beta$ -laktam antibiyotiklerden sefuroksimin (CEF) polarografik indirgenmesinde I. pikin asidik ortamda görüldüğü, artan pH ile pik akımının azaldığı ve negatif potansiyele kaydığı bildirilmiştir (53). Bu literatürde CEFA'da gözlenen II. pikten bahsedilmemektedir. CEFA yapısında  $\beta$ -laktam antibiyotiklerden olan sefuroksiminden farklı olarak aksetil grubu bulunmaktadır (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. a) CEFA b) CEF Molekülünün Kimyasal Yapısı

II. pikin CEFA'ya ait voltamogramda gözlenmesi ve CEF voltamogramında gözlenmemesi bu pikin aksetil grubundaki C=O indirgenmesine ait olabileceğini düşündürmüştür. Bu düşüncüyü kanıtlamak amacıyla farklı pH'larda destek elektrolit içerisinde aynı derişimlerde CEF ve CEFA'nın voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 5.7).

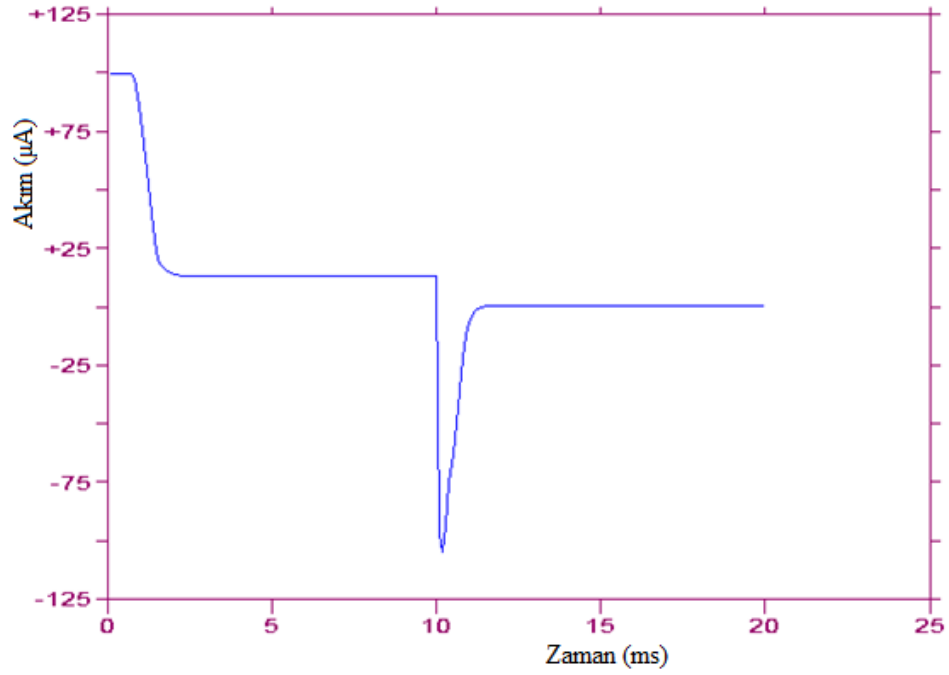


Şekil 5.7. Aynı derişimde ( $8.37 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) CEFA ve CEF in a) pH 2-3 b) pH 4-5 c) pH 6 d) pH 7-8 e) pH 9-10 Voltamogramları

Şekil 5.7.d’de CEF voltamogramlarında pH 7 ve 8’ de II. pikin olmadığı görülmektedir. Bu iki bileşik arasındaki fark aksetil grubundan kaynaklanmaktadır (Şekil 5.5.a). Bu durum II. pikin aksetil grubundaki C=O indirgenmesine ait olduğunu göstermektedir. Kaynaklarda ester yapısındaki C=O pikinin pH’dan bağımsız olduğu belirtilmiştir (54,55). CEFA voltamogramındaki II pikin pH’dan bağımsız olması bu pikin yapıdaki ester karbonilinin indirgenmesine ait olduğu düşüncesini desteklemektedir.

Pik potansiyelinin pH ile değişmemesi, elektrokimyasal tepkimede protonun doğrudan yer almaması anlamına gelmektedir (56). Bu anlamda CEFA’daki C=O grubunun indirgenme mekanizması için CV (Tarama hızı arttıkça  $E_p$  negatife kayar) (Bkz. Şekil 4.27 ve Tablo 2.2) ve Şekil 5.8’de çift potansiyelli CA verileri göz önüne alındığında indirgenmenin EC mekanizmasına göre olduğu düşünülebilir.

Şekil 5.8’de CEFA için çift potansiyel tekniği uygulanarak elde edilen akım zaman grafiği görülmektedir. 100 ms süresinde grafikten okunan  $I_b$  ve  $I_f$  değerlerinin oranı ( $I_b / I_f$ ) hesaplanmıştır. Bu değer 0.1012 bulunmuştur. ( $I_b / I_f$ ) değerinin 1’den küçük olması geri potansiyelde gözlenen akımın küçük olduğunu, dolayısıyla indirgenme ürününün kimyasal tepkimeye girdiğini göstermektedir. Bu durum indirgenmenin EC mekanizmasına göre olduğunu doğrulamaktadır.

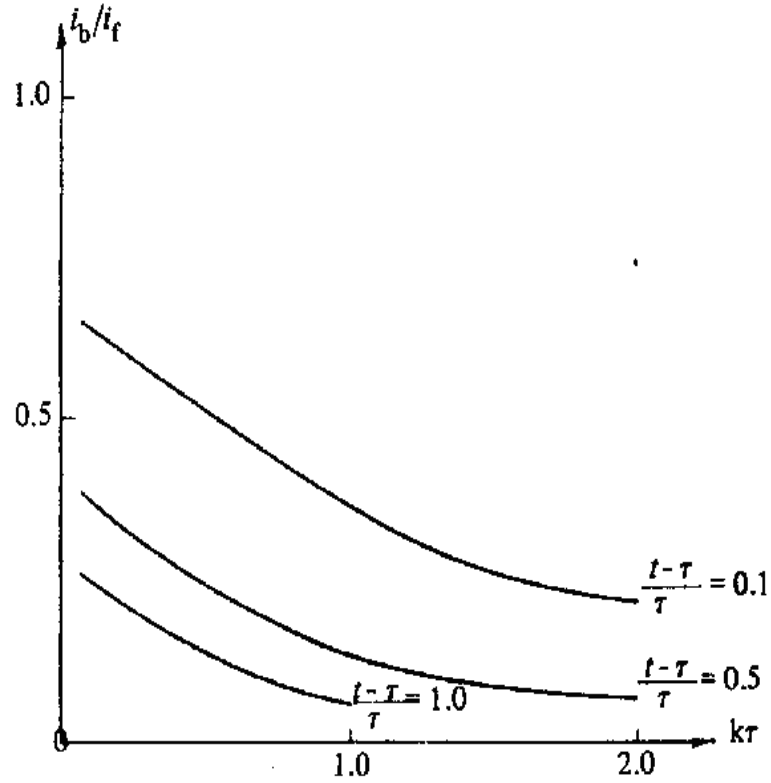


**Şekil 5.8.**  $15.00 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın ADCE ile Çift Potansiyelli Kronoamperometrik Voltamogramı (t- İ)

Başlangıç potansiyeli  $E_1 = -800 \text{ mV}$

İndirgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = -1100 \text{ mV}$

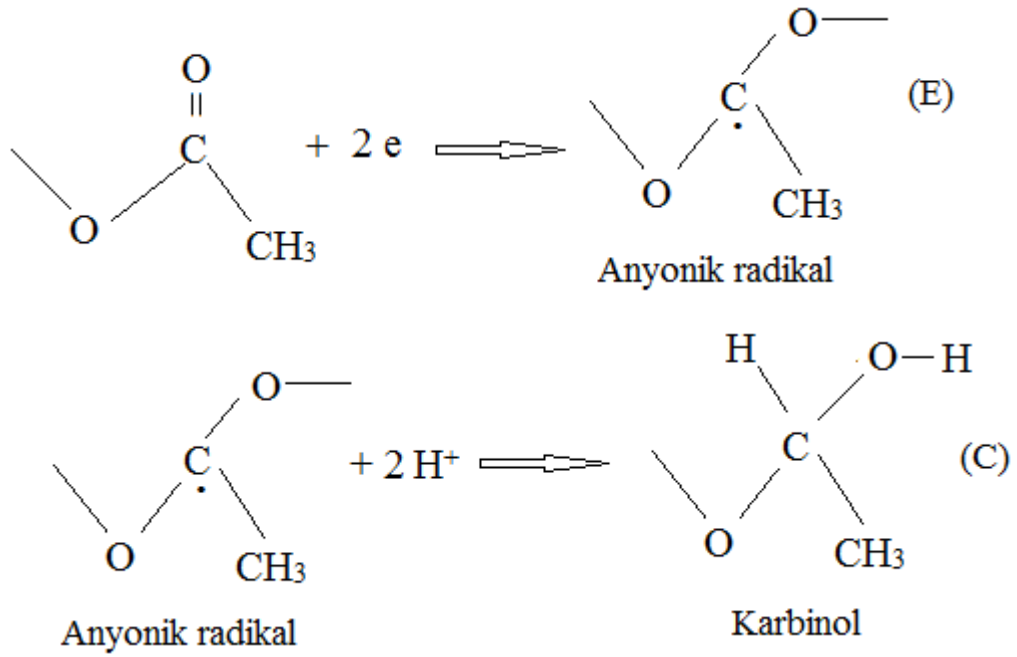
Seçilen 100 ms süresinde ( $\dot{I}_b / \dot{I}_f$ ) oranı için bulunan değer Şekil 5.9'da verilen çalışma grafiğinde (33) yerine konarak elektron aktarımını takip eden kimyasal tepkimenin hız sabiti  $6.757 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Takip eden kimyasal tepkimenin hız sabitinin çok küçük olmaması da elektron aktarımından sonra kimyasal tepkimenin oluştuğunun göstergesidir. CV ve çift potansiyelli CA yöntemlerinden elde edilen bulgular ile indirgenmenin EC mekanizmasına göre olduğu kanıtlanmıştır.



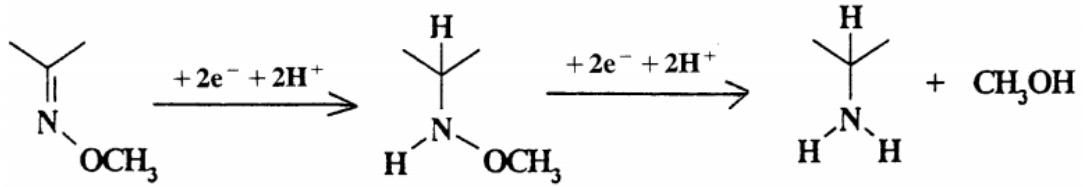
**Şekil 5.9.** Çift Potansiyelli Kronoamperometride ( $I_b / I_f$ ) Oranının  $k\tau$  ile Değiştiği Çalışma Grafiği

Bölüm 5.5.1.3'de indirgenme mekanizmasında 2 elektronun yer aldığı bulunmuştur. Karbonil bileşiklerinin nötral ve bazik sulu ortamda cıva elektrotta  $2 e^-$  olarak alkollere, asidik ortamda pinakollere indirgendiği bilinmektedir (57,58). CEFA'nın yapısında bulunan aksetil grubundaki ( $-C = O$ )'nun indirgenmesi sonucu  $-CH(OH)$  şekline dönüştüğü düşünülmektedir. Bu durumda mekanizma elektron aktarımında oluşan anyon radikalinden (ketil anyon) sonra kimyasal basamak olarak destek elektrolitten moleküle  $H^+$  eklenmesi sonucu karbinol oluşumu şeklinde olduğu düşünülmektedir (28,54,59).

Buna göre CEFA'nın pH 7.0, 0.1 M FB tampon çözeltisindeki voltamogramda gözlenen  $C=O$  pikinin indirgenmesi için aşağıdaki mekanizma önerilmektedir.



CEFA molekülünün asidik ortamdaki (pH 2) voltamogramında gözlenen I. pike ait mekanizma kaynaklarda belirtildiği şekilde metoksi imino grubundaki C=N'nin indirgenmesi sonucu iki basamaklı, 4 elektron transferi ile olduğu düşünülmektedir (19,49,50,55,60).



Asidik ortamda yapılan çalışmalarda I. pik için hız belirleyici basamağa kadar transfer edilen elektron sayısı Eşitlik 2.14'e göre 2 bulunmuştur.



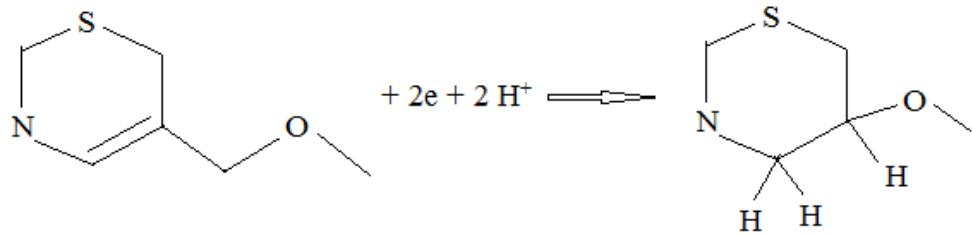
**Tablo 5.15.** 16.129  $\mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın CV Yöntemi ile pH 2 ve 3'de  $E_p-E_{p/2}$  Kaymalarından Hesaplanan  $\alpha_{\text{cna}}$  Değerleri

pH	$E_p-E_{p/2}$	$\alpha_{\text{cna}}$	n=1	n=2
2	80	0.600	0.600	0.3
3	77.78	0.617	0.617	0.308

Bu durum ilk basamağın hız belirleyici olduğunu ve bu basamağa kadar 2 elektron transfer olduğunu göstermektedir (55).

Asidik pH'lardaki I numaralı pik akımı, pH 7'deki II. pik akımına göre çok daha düşük olduğu için miktar tayini çalışmalarında ve elektrokimyasal davranışların incelenmesinde II. pik seçilmiştir.

CEFA molekülünün pH 2 ve 3'deki voltamogramında gözlenen ve sinyali daha küçük olan III numaralı pike ait indirgeme mekanizmasının kaynaklarda belirtildiği gibi



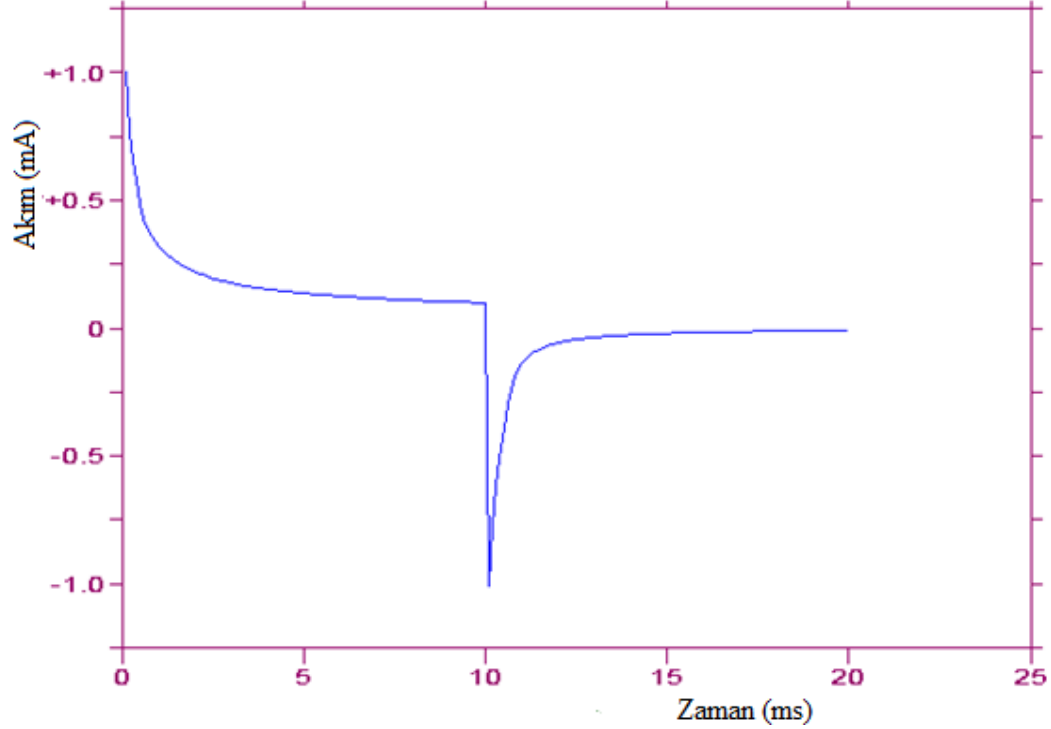
şeklinde olduğu düşünülmektedir (19,61).

### 5.6.2. M-CKE ile CEFA'nın Elektrot Mekanizması

M-CKE ile yapılan çalışmalarda CEFA'nın yaklaşık 1.3 V civarında pH 2'de maksimum değere sahip olan ve pH artışı ile azalan yükseltgenme piki gözlenmiştir.

Şekil 5.10'da CEFA için çift potansiyel tekniği uygulanarak elde edilen akım zaman grafiği görülmektedir. 100 ms süresinde grafikten okunan  $I_b$  ve  $I_f$  değerlerinin oranı ( $I_b / I_f$ ) hesaplanmıştır. Bu değer 0.382 bulunmuştur. ( $I_b / I_f$ ) değerinin 1'den küçük olması geri potansiyelde gözlenen akımın küçük olduğunu, dolayısıyla

yükseltgenme ürününün kimyasal tepkimeye girdiğini göstermektedir. Bu durum yükseltgenmenin EC mekanizmasına göre olduğunu doğrulamaktadır.



**Şekil 5.10.**  $31.25 \mu\text{g mL}^{-1}$  CEFA'nın M-CKE ile Çift Potansiyelli Kronoamperometrik Voltamogramı (t- İ)  
Başlangıç potansiyeli  $E_1 = 800 \text{ mV}$ .  
Yükseltgenmenin olduğu potansiyel  $E_2 = 1600 \text{ mV}$

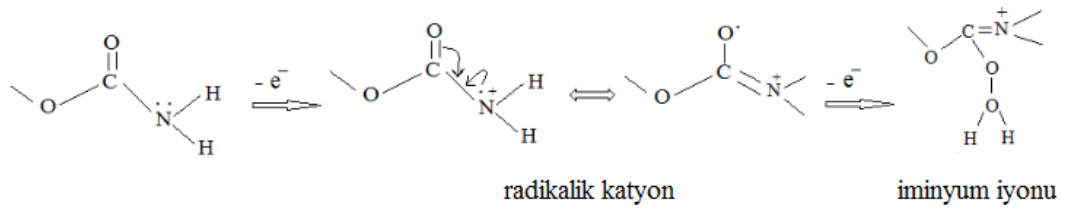
Seçilen 100 ms süresinde ( $I_b / I_f$ ) oranı için bulunan değer Şekil 5.9'da verilen çalışma grafiğinde (33) yerine konarak elektron aktarımını takip eden kimyasal tepkimenin hız sabiti  $9.459 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Takip eden kimyasal tepkimenin hız sabitinin çok küçük olmaması da elektron aktarımından sonra kimyasal tepkimenin oluştuğunun göstergesidir.

Elektrot tepkimesi düşük tarama hızlarında tersinir olduğu halde CV yönteminde düşük tarama hızlarında anodik pikin gözlenmemesi de (Bkz. Şekil 4.35) takip eden kimyasal tepkimenin varlığını gösterir.

CV ve çift potansiyelli CA yöntemlerinden elde edilen bulgular ile yükseltgenmenin EC mekanizmasına göre olduğu kanıtlanmıştır.

Bölüm 5.5.2.3’de yükseltgenme mekanizmasında 2 elektronun yer aldığı bulunmuştur.

Sulu ortamda amitin yükseltgenme mekanizması için kaynaklarda N üzerindeki bir elektronun kaybedilmesi ile radikalik katyon oluştuğu, ardından ikinci elektron ve bir  $H^+$  kaybedilerek iminyum iyonu oluştuğu ve aynı anda su molekülü eklendiği belirtilmiştir (62).



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında antibakteriyel bir madde olan CEFA'nın farmasötik preparatlardan analizi için hem indirgenmesine hem yükseltgenmesine dayanan 2 ayrı SWV yöntemi geliştirilmiştir.

CEFA'nın indirgenmesinde ADCE, yükseltgenmesinde M-CKE kullanılmıştır. Pik potansiyel değerleri ADCE için -1060 mV, M-CKE için 1300 mV civarında gözlenmiştir.

Geliştirilen elektroanalitik yöntemlerin kararlılık, doğrusallık, duyarlılık, kesinlik, doğruluk, cihaz tekrarlanabilirliği, sağlamlık, tutarlılık, özgünlük gibi validasyon parametreleri değerlendirilmiş ve geçerlilikleri kanıtlanmıştır. Valide edilen yöntemler piyasada satılmakta olan CEFA içeren Cefaks ticari isimli farmasötik preparatların analizine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Geliştirilen SWV yöntem verilerinin, karşılaştırma yöntemi olarak seçilen bir spektrofotometrik yöntemden elde edilen veriler ile istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda anlamlı fark olmaması geliştirilmiş yöntemlerin doğru olduğunu kanıtlamıştır.

Ayrıca CEFA'nın elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Bunun için yapılan CV ve SWV deneyleri sonucunda C=O piki için indirgenme mekanizmasının 2 elektronlu, -NH<sub>2</sub> için yükseltgenme mekanizmasının da 2 elektronlu olduğu bulunmuştur. CV, CA ve CC yöntemleri ile, akım karakteri belirlenmiş ve CEFA için difüzyon katsayısı (D), elektron aktarım hız sabiti (k<sub>f</sub>), kimyasal tepkimenin hız sabiti (k) hesaplanmıştır. Ayrıca CV ve çift potansiyelli CA yöntemlerinden elde edilen bulgular ile indirgenme ve yükseltgenmenin EC mekanizmasına göre olduğu kanıtlanmıştır.

Çalışmada kullanılan iki elektrot (ADCE ve M-CKE) çalışma kolaylığı, çalışma süresi, duyarlılık, tekrarlanabilirlik açısından karşılaştırıldığında ADCE tercih edilebilir. Çünkü; ADCE'de her bir cıva damlası ile yeni bir yüzey oluşturulur, sonuçlar tekrarlanabilirdir ve çalışma süresi kısadır. M-CKE ise yüzey belirli aralıklarla yenilenmelidir, çalışmalar ADCE kadar kolay değildir ve çalışma süresi uzayabilir.

CEFA'nın elektroanalitik yöntemlerle analizi ve elektrokimyasal davranışları ile ilgili çalışma bulunmaması, yapılan tez çalışmasının literatüre katkı sağlaması

açısından önemlidir. Geliştirilen elektroanalitik yöntemlerin; basit, hızlı, duyarlı ve ekonomik olmalarının yanısıra az miktarda numune ile çalışılması, ayırma ya da zenginleştirme gibi zaman alıcı ön işlemlere gerek duyulmadan analizlerin yapılması CEFA analizi için HPLC ve UV spektrofotometrik yöntemlere alternatif olarak önerilebileceği düşünülmektedir. CEFA'nın kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler ile analizi için yapılan çalışmalarda verilen LOD ve LOQ değerlerinin, geliştirilen SWV yöntemleri ile elde edilen sonuçlardan daha büyük olduğu görülmektedir.

CEFA, hidroliz ile CEF'e dönüştüğünden tez çalışmasında geliştirilen yöntemler biyolojik materyallere uygulanmamıştır. Bu nedenle daha alt tayin sınırlarına düşülmediğinden daha hassas olan sıyırma yöntemleri denenmemiştir. Ancak sonraki çalışmalarda CEF için kare dalga sıyırma voltametri yöntemleri ile çalışılması düşünülmektedir.

**KAYNAKLAR**

1. Amir, S.B., Hossain, M., Mazid, M. (2013) Development and validation of UV spectrophotometric method for the determination of cefuroxime axetil in bulk and pharmaceutical formulation. *Journal of Scientific Research*, 6 (1), 133-141.
2. Pritam, J., Manish, P., Sanjay, S. (2011) Development and validation of UV-spectrophotometric method for determination of cefuroxime axetil in bulk and in Formulation. *International Journal of Drug Development & Research*, 3 (4), 318-322.
3. Chaudhari, S., Karnik, A., Adhikary, A., Tandale, R., Vavia, P. (2006) Simultaneous UV spectrophotometric method for the estimation of cefuroxime axetil and probenecid from solid dosage forms. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 68 (1), 59.
4. Game, M., Sakarkar, D., Gabhane, K., Tapar, K. (2010) Validated spectrophotometric methods for the determination of cefuroxime axetil in bulk drug and tablets. *International Journal of ChemTech Research*, 2 (2), 1259-1262.
5. Ingale, P.L., Dalvi, S.D., Jadav, D.D., Gudi, S.V., Patil, L.D., Kadam, Y.A. (2013) Simultaneous estimation of cefuroxime axetil and potassium clavulanate-analytical method development and validation. *Der Pharma Chemica*, 5 (5).
6. Pavankumar, K.P., T.; Jagadeeswaran, M.; Grace, A. Caroline; Sivakumar, T. (2013) Spectrophotometric determination for the analysis of cefuroxime axetil in pharmaceutical dosage forms. *Analytical Chemistry*, 13 (9), 347-354.
7. Sengar, M.R., Gandhi, S.V., Rajmane, V., Patil, U.P., Gandhi, B.B. (2010) Simultaneous determination of cefuroxime axetil and potassium clavulanate in tablet dosage form by spectrophotometry. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 3 (1), 260-262.
8. Shelke, S., Dongre, S., Rathi, A., Dhamecha, D., Maria, S., Dehghan, M.H.G. (2009) Development and validation of UV spectrophotometric method of cefuroxime axetil in bulk and pharmaceutical formulation. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2 (2), 222-000.

9. Can, N.Ö., Altiookka, G., Aboul-Enein, H.Y. (2006) Determination of cefuroxime axetil in tablets and biological fluids using liquid chromatography and flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 576 (2), 246-252.
10. Kumar, P.S., Jayanthi, B., Abdul, K., Prasad, U., Kumar, Y.N., Sarma, P. (2012) A validated high performance liquid chromatography (HPLC) method for the estimation of cefuroxime axetil. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* (3).
11. Sengar, M.R., Gandhi, S.V., Patil, U.P., Rajmane, V.S. (2009) Reverse phase high performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of Cefuroxime Axetil and potassium clavulanate in tablet dosage form. *Int. J. Chem. Tech. Res*, 1, 1105-1108.
12. Ingale, P.L., Dalvi, S.D., Jadav, D.D., Gudi, S.V., Patil, L.D., Kadam, Y.A. (2013) Simultaneous determination of cefuroxime axetil and potassium clavulanate in pharmaceutical dosage form by RP-HPLC. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 5.
13. Krzek, J., Dąbrowska-Tylka, M. (2003) Simultaneous determination of cefuroxime axetil and cefuroxime in pharmaceutical preparations by thin-layer chromatography and densitometry. *Chromatographia*, 58 (3-4), 231-234.
14. Pramdar, Y., Gupta, V.D., Bethea, C., Zerai, T. (1991) Stability of cefuroxime axetil in suspensions. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 16 (5), 341-344.
15. Ranjane, P.N., Gandhi, S.V., Kadukar, S.S., Bothara, K.G. (2010) HPTLC determination of cefuroxime axetil and ornidazole in combined tablet dosage form. *Journal of chromatographic science*, 48 (1), 26-28.
16. Ranjane, P.N., Gandhi, S.V., Kadukar, S.S., Ranher, S.S. (2008) Simultaneous determination of cefuroxime axetil and ornidazole in tablet dosage form using reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*, 26 (6), 763-765.
17. Altria, K., Rogan, M. (1990) Reductions in sample pretreatment requirements by using high-performance capillary electrokinetic separation methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 8 (8), 1005-1008.

18. Raj, K.A. (2010) Determination of cefixime trihydrate and cefuroxime axetil in bulk drug and pharmaceutical dosage forms by electrophoretic method. *Int. J. ChemTech. Res*, 2, 337-340.
19. Aleksić, M.M., Lijeskić, N., Pantić, J., Kapetanović, V.P. (2013) Electrochemical behavior and differential pulse voltammetric determination of ceftazidime, cefuroxime-axetil and ceftriaxone. *Facta universitatis-series: Physics, Chemistry and Technology*, 11 (1), 55-66.
20. Katzung, B.G., Masters, S.B., Trevor, A.J. (2004) Basic & clinical pharmacology.
21. Ağ Sitesi: [mtegm.meb.gov.tr](http://mtegm.meb.gov.tr)
22. Shah, P.M. (2002) Classification of oral cephalosporins. *International journal of antimicrobial agents*, 19 (2), 163-164.
23. Direnç, Ö.R.A.İ.K. (2002) Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdaki edinilmiş enfeksiyonlar, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi (35), 83-100.
24. Eroğlu, L. (1990) Yeni antibiyotiklerin (sefuroksim aksetil, rokitromisin, azitromisin, siprofloksasin) farmakokinetik ve istenmeyen etki açısından özellikleri *Klinik Derg.*, 3 (3), 103-107.
25. Kissinger, P., Heineman, W.R. (1996). Laboratory techniques in electroanalytical chemistry, Revised and Expanded: CRC press.
26. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H. (2000). Enstrümantal analiz ilkeleri: Bilim Yayıncılık.
27. Riley, T., Tomlinson, C., James, A.M. (1987) Principles of electroanalytical methods.
28. Zuman, P. (1967). Substituent effects in organic polarography (c. 384): Springer.
29. Meites, L., Delahay, P. (1966) Polarographic techniques. *Journal of The Electrochemical Society*, 113 (5), 124C-124C.
30. Wang, J. (1994). "Analytical electrochemistry" (3 bs.). USA: Wiley-VCH, Inc.
31. Bond, A.M. (1980). "Modern polarographic methods in analytical chemistry". USA: Marcel Dekker, Inc.
32. Bond, A.M. (1980). Modern polarographic methods in analytical chemistry (c. 4): CRC Press.



33. Pletcher, D., Greff, R., Peat, R., Peter, L., Robinson, J. (2001). Instrumental methods in electrochemistry: Elsevier.
34. Çekirdek, P. (2005) *Voltametik metotlarla ditiyofosfonat anyonlarının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 15-20.*
35. Wopschall, R.H., Shain, I. (1967) Adsorption effects in stationary electrode polarography with a chemical reaction following charge transfer. *Analytical Chemistry*, 39 (13), 1535-1542.
36. Wopschall, R.H., Shain, I. (1967) Effects of adsorption of electroactive species in stationary electrode polarography. *Analytical Chemistry*, 39 (13), 1514-1527.
37. Lovrić, M., Komorsky-Lovrić, Š., Bond, A. (1991) Theory of square-wave stripping voltammetry and chronoamperometry of immobilized reactants. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, 319 (1), 1-18.
38. O' Dea, J.J., Ribes, A., Osteryoung, J.G. (1993) Square-wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 345 (1), 287-301.
39. Dreyer, D.R., Park, S., Bielawski, C.W., Ruoff, R.S. (2010) The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, 39 (1), 228-240.
40. Dean, J.A. (1985) Lange's handbook of chemistry.
41. Gordon, C.L., Wichers, E. (1957) Purification of mercury and its physical properties. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 65 (5), 369-387.
42. İsbir, A.A., Solak, A.O., Üstündağ, Z., Bilge, S., Natsagdorj, A., Kiliç, E. ve diğerleri. (2005) The electrochemical behavior of some podands at a benzo [c] cinnoline modified glassy carbon electrode. *Analytica chimica acta*, 547 (1), 59-63.
43. Hummers Jr, W.S., Offeman, R.E. (1958) Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*, 80 (6), 1339-1339.
44. Yola, M.L., Eren, T., Atar, N. (2015) A sensitive molecular imprinted electrochemical sensor based on gold nanoparticles decorated graphene oxide: Application to selective determination of tyrosine in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 210, 149-157.

45. Guideline, I.H.T. (2005) Validation of analytical procedures: text and methodology. *Q2 (R1)*, 1.
46. Green, J.M. (1996) Peer reviewed: a practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, 68 (9), 305A-309A.
47. Brainina, K.Z. (1974) Stripping voltammetry in chemical analysis.
48. Jain, R., Gupta, V.K., Jadon, N., Radhapyari, K. (2010) Voltammetric determination of cefixime in pharmaceuticals and biological fluids. *Analytical biochemistry*, 407 (1), 79-88.
49. Kapetanovic, V., Aleksic, M., Erceg, M., Veselinovic, D. (2000) Electrochemical study of cefetamet–Na and its polarographic determination. *Il Farmaco*, 55 (1), 13-20.
50. Kapetanović, V., Aleksić, M., Zuman, P. (2001) Two-step reduction of the O-methyloxime group in the antibiotic cefetamet. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 507 (1), 263-269.
51. Aleksić, M.M., Kapetanović, V. (2006) Voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of cefotaxime in urine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 593 (1), 258-266.
52. SubbaReddy, G., VijayaNarasimha, M., Reddy, S.J. (2010) Polarographic reduction behaviour of some potential antibiotic cephalosporins. *Intel. J. Pharmapharmal. Sci*, 4, 190-193.
53. Bernacca, G., Nucci, L., Pergola, F. (1994) Polarographic behavior of the  $\beta$ -lactam antibiotic Cefuroxime and study of the reduction mechanism in acidic media. *Electroanalysis*, 6 (4), 327-332.
54. Elving, P.J. (1963) Variation of the half-wave potential of organic compounds with pH. *Pure and Applied Chemistry*, 7 (2-3), 423-454.
55. Jain, R., Mishra, R., Dwivedi, A. (2009) Voltammetric behaviour of an antibiotic drug and its enhancement determination in presence of cetyltrimethylammonium bromide. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 68 (11), 945.
56. Al-Ghamdi, A.F., Hefnawy, M.M., Almagd, A., Belal, F.F. (2012) Development of square-wave adsorptive stripping voltammetric method for determination of acebutolol in pharmaceutical formulations and biological fluids. *Chemistry Central Journal*, 6 (1), 15.

57. Rifi, M.R.,Covitz, F.H. (1974). Introduction to organic electrochemistry: M. Dekker.
58. Kolthoff, I.M.,Lingane, J.J. (1952). Polarography: in 2 vol: Interscience Publ.
59. Abdel-Rahman, M.A., Abdel-Hamid, R., Rabia, M.K.,El-Dessouki, M.M. (1991) Kinetic studies on the chemical and electrochemical reduction of some 4-arylidene-5-pyrazolone compounds. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 64 (12), 3713-3717.
60. Aleksić, M., Kapetanović, V.,Zuman, P. (2004) Polarographic and voltammetric behavior of the antibiotic cefetamet; Reduction of the methoxyimino group. *Collection of Czechoslovak chemical communications*, 69 (7), 1429-1442.
61. Zuman, P., Kapetanović, V.,Aleksić, M. (2000) Recent developments in electroanalytical chemistry of cephalosporins and cefamycins.
62. Legorburu, M.J., Alonso, R.M.,Jiménez, R.M. (1993) Voltammetric study of the diuretic xipamide. *Bioelectrochemistry and bioenergetics*, 32 (1), 57-66.

## EKLER

### Ek 1. Korelasyon Katsayısı ve Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü

Bulunan korelasyon katsayısının önemli bir katsayı mı yoksa tesadüfe bağlı bir katsayı mı olduğu test edilmiştir.

Testin yapımında işlemler:

1. Ho: Korelasyon katsayısı tesadüfe bağlı bir değerdir ( $r = 0$ ).
2. Test istatistiğinin hesaplanması:

$$T = \frac{r}{S_r}$$

$$S_r = \sqrt{\frac{1 - r^2}{n - 2}} \quad (\text{Korelasyon katsayısının standart hatası})$$

Yanılma olasılığı olarak  $\alpha = 0.05$  seçilmiştir. Serbestlik derecesi  $n - 2$ 'dir.

3. Karar: Hesapla bulunan  $t_{\text{hesap}}$  değeri,  $n-2$  serbestlik dereceli  $t_{\text{tablo}}$  değerinden büyükse korelasyon katsayısının anlamlı olduğu söylenir.

## Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü

1. Kareler toplamları bulunur:

a) Regresyon Kareler Toplamı (RKT):

$$RKT = \frac{\left[ \Sigma xy - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n} \right]^2}{(\Sigma x)^2 - \frac{\Sigma x^2}{n}}$$

b) Y Ortalamadan Ayrılış Kareler Toplamı (YOAKT):

$$YOAKT = \Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n}$$

c) Regresyondan Ayrılış Kareler Toplamı  $\Rightarrow$  RAKT = YOAKT - RKT

2. Serbestlik dereceleri bulunur:

a) Regresyon Serbestlik Derecesi (RSD) = 1

b) Y Ortalamadan Ayrılış Serbestlik Derecesi  $\Rightarrow$  YOASD = n-1

c) Regresyondan Ayrılış Serbestlik Derecesi  $\Rightarrow$  RASD = YOASD - RSD

3. Kareler ortalamaları bulunur:

a) Regresyon Kareler Ortalaması  $\Rightarrow$  RKT / RSD

b) Regresyondan Ayrılış Kareler Ortalaması  $\Rightarrow$  RAKO = RAKT / RASD

Yanılma olasılığı  $\alpha = 0.05$  seçilmiştir.

4.  $F = RKO / RAKO$

5. Yanılma olasılığı  $\alpha = 0.05$  seçilmiştir.  $p = 0.05$  düzeyinde RSD ve RASD serbestlik derecelerindeki tablo  $F_{\text{tablo}}$  değerleri bulunur.
4. Karşılaştırma: Hesapla bulunan  $F_{\text{hesap}}$  değeri,  $F_{\text{tablo}}$  değerinden büyükse regresyon doğrusuna uyumun anlamlı olduğu söylenir ( $p > 0.05$ ).

## Ek 2. İstatistiksel Katsayıların Hesaplanması

### Bağlı Standart Sapma Hesaplanması

$$\text{Bağlı Standart Sapma (BSS)} = \frac{SS}{\bar{X}} \times 100$$

SS: Standart Sapma

$\bar{X}$ : Aritmetik ortalama

### % Bağlı Hata Hesaplanması

$$\% \text{ Bağlı Hata (\%BH)} = \frac{|(\text{Olmaması gereken miktar} - \text{Bulunan miktar})|}{\text{Olmaması gereken miktar}} \times 100$$

### Standart Hata Hesaplanması

$$\text{Standart Hata (SH)} = \frac{SS}{\sqrt{n}}$$

SS: Standart sapma

n: Ölçüm sayısı

### %Geri Kazanım Hesaplanması

$$\% \text{ Geri kazanım} = \frac{\text{Bulunan miktar}}{\text{Olmaması gereken miktar}} \times 100$$

### Evren Ortalaması Güven Aralığının Hesaplanması

$$\mu = \bar{X} \pm S_{\bar{X}} t \quad \text{veya} \quad \bar{X} - S_{\bar{X}} < \mu < \bar{X} + S_{\bar{X}}$$

$\mu$  : Evren ortalaması

$\bar{X}$  : Örneklem ortalaması

$S_{\bar{X}}$  : Standart hata

t : Seçilen yanılma düzeyi ( $\alpha$ ) ve n-1 serbestlik derecesindeki t tablosundaki değer.

### Ek 3. Mann-Whitney U testi

Parametrik test varsayımları yerine getirilmediğinde, iki bağımsız gruba ilişkin ortalamaların karşılaştırılmasında kullanılır.

Mann–Whitney U testinde, gruptaki gözlem sayılarına bağlı olarak iki farklı test istatistiği vardır. Her iki gruptaki gözlem sayıları 20 ya da daha az olduğunda test işlemleri:

$H_0$ : İki dağılım arasında fark yoktur.

$H_1$ : İki dağılım arasında fark vardır.

$$U_1 = n_1 n_2 + \frac{n_1(n_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = n_1 n_2 - U_1$$

ile verilir. Burada;

$n_1$ = Birinci gruptaki gözlem sayısı

$n_2$ = İkinci gruptaki gözlem sayısı

$R_1$ = Birinci gruptaki değerlerin sıra numaralı toplamı

İstatistiksel karar için;  $U_1$  ve  $U_2$  değerinden büyük olanı seçilen  $\alpha$  yanılma düzeyindeki  $n_1$  ve  $n_2$  serbestlik dereceli  $U_{\text{tablo}}$  istatistiği ile karşılaştırılır.  $U_{\text{hesap}} > U_{\text{tablo}}$  ise  $H_0$  hipotezi kabul edilir,  $U_{\text{tablo}} > U_{\text{hesap}}$  ise  $H_0$  hipotezi reddedilir.



#### Ek 4. Kruskal Wallis Varyans Analizi

Parametrik test varsayımları yerine getirilmediğinde, bir değişken yönünden ikiden fazla bağımsız grup arasında fark olup olmadığının belirlenmesinde kullanılır.

Test işlemleri:

Bütün gruptaki değerler küçükten büyüğe doğru tek dizi halinde sıralanır ve her bir değere sıra numarası verilir. Aynı değerler için ortalama sıra numarası hesaplanır aynı olan değerlere verilir.

Test istatistiğinin (KW) hesaplanması:

$$KW = \frac{12}{n(n+1)} \left[ \sum_{j=1}^k \frac{T_j^2}{n_j} \right] - k(n+1)$$

$T_j$ : j. gruptaki değerlerin sıra numaraları toplamı (her bir grup için);

$n_j$  : j. gruptaki denek sayısı (her bir grup için);

k: Grup sayısı

n: Toplam gözlem sayısı

$H_0$  : İki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark yoktur.

$H_1$ : İki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark vardır.

$\alpha = 0.05$  yanılma düzeyi için (grup sayısı – 1) serbestlik derecesindeki tablo değerine ( $KW_T$ ) bakılır.

Karar :  $KW_T > KW$  ise  $H_0$  hipotezi kabul edilir.

$KW_T < KW$  ise  $H_0$  hipotezi reddedilir.

## ÖZGEÇMİŞ

12 Ağustos 1987 yılında Ankara'da doğdum. 2006 yılında kazanmış olduğum Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2011 yılında olarak mezun oldum. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde lisansüstü eğitime başladım. 2013 yılı Haziran'da araştıma görevlisi olarak başladığım Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda halen çalışmaktayım.