

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**ERIOCHROME BLACK T MODİFİYE
KALEM GRAFİT ELEKTROT İLE
VOLTAMMETRİK ATORVASTATİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYSEL ERDİNÇ

BALIKESİR, HAZİRAN - 2019

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**ERIOCHROME BLACK T MODİFİYE
KALEM GRAFİT ELEKTROT İLE
VOLTAMMETRİK ATORVASTATİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYSEL ERDİNÇ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Nuri NAKİBOĞLU (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Zekerya DURSUN

Prof. Dr. Sema BAĞDAT

BALIKESİR, HAZİRAN - 2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

AYSEL ERDİNÇ tarafından hazırlanan “ERIOCHROME BLACK T MODİFİYE KALEM GRAFİT ELEKTROT İLE VOLTAMMETRİK ATORVASTATİN TAYİNİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 14.06.2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği /oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Nuri NAKİBOĞLU


.....

Üye
Prof.Dr.Zekerya DURSUN


.....

Üye
Prof.Dr.Sema BAĞDAT


.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

Bu tez alışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2018/17 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

**ERIOCHROME BLACK T MODİFİYE KALEM GRAFİT ELEKTROT
İLE VOLTAMMETRİK ATORVASTATİN TAYİNİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
AYSEL ERDİNÇ
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. NURİ NAKİBOĞLU)
BALIKESİR, HAZİRAN - 2019**

Bu çalışmada poli Eriochrome Black T modifiye Kalem Grafit Elektrodu (pEBT/PGE) ile ilaç tabletlerinde Atorvastatin (ATOR) tayini için yeni bir voltammetrik yöntemin çalışma koşulları incelenmiştir. Hazırlanan EBT/PGE elektrodu ve yalın PGE elektrodunun $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisindeki döngüsel voltammetrik davranışları, ATOR çözeltisindeki differansiyel puls voltammogramları ve SEM görüntüleri karşılaştırılarak karakterize edilmiştir. Farklı tarama hızlarında $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisindeki döngüsel voltammogramlar alınarak çizilen $I_p - V^{1/2}$ grafiğinden elektrot alanı $1,037 \pm 0,019$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca 1×10^{-4} M ATOR çözeltisinin 0,04 M BR tamponlu (pH = 5) ortamda farklı tarama hızlarında döngüsel voltammogramları alınarak çizilen $I_p - V$, $I_p - V^{1/2}$ ve $\log I_p - \log V$ grafiklerinden ATOR'un EBT/PGE elektrottaki yükseltgenme tepkimesinin diffüzyon kontrollü olduğu anlaşılmıştır. Buna ek olarak $E_p - V$, $E_p - \log V$ grafiklerinden yararlanarak ATOR'un formal potansiyeli 1,0453 V, elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı 2 ve tepkimenin heterojen hız sabiti 865 s^{-1} olarak hesaplanmıştır. Yöntemin doğrusal aralığı $4 \times 10^{-6} \text{ M} - 2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$, kalibrasyon grafiğinin doğru denklemi $I_p (\mu A) = 0,0133 (\pm 7,44 \times 10^{-4}) C_{ATOR} + 0,0538 (\pm 0,062)$ ve varyasyon katsayısı, $R^2, 0,9961$ olarak bulunmuştur. Yöntemin dedeksiyon limiti ve tayin sınırı $8 \times 10^{-6} \text{ M}$ ATOR derişimi için elde edilen pik akımlarının standart sapması (N = 5) esas alınarak (3s ve 10s) sırasıyla $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ ve $6,7 \times 10^{-6} \text{ M}$ olarak hesaplanmıştır. Yöntem piyasada bulunan tabletlerde ATOR tayini için uygulanmış yüzde gerçeklik (%G), yüzde bias ve yüzde bağıl standart sapma sırasıyla %96.8, %3.2 ve %2.58 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu tablet üzerine standart ATOR çözeltisinden eklenen örneklerdeki geri kazanımlar % 107 ve % 104 olarak belirlenmiştir. Yöntemin tabletlerde ATOR tayini için camısı karbon ve cıva esaslı elektrotlara göre daha basit ve ucuz olması yanında ve doğru sonuç da verdiği gözlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Atorvastatin, EBT, kalem grafit elektrot, diferansiyel puls voltammetrisi, modifiye elektrot.

ABSTRACT

VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF ATORVASTATIN WITH ERIOCHROME BLACK T MODIFIED PENCIL GRAPHITE ELECTRODE

MSC THESIS

AYSEL ERDİNÇ

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: PROF. DR. NURİ NAKİBOĞLU)

BALIKESİR, JUNE 2019

In this study, the working conditions of a new voltammetric method for determination of Atorvastatin (ATOR) in drug tablets with poly Eriochrome Black T modified Pencil Graphite Electrode (pEBT / PGE) were investigated. The cyclic voltammetric behaviors of the prepared EBT / PGE electrode and bare PGE electrode in $K_3Fe(CN)_6$ solution were characterized by comparing the differential pulse voltammograms and SEM images in the ATOR solution. The electrode area was calculated as $1,037 \pm 0,019$ from the $I_p - V^{1/2}$ graph drawn by taking cyclic voltammograms in $K_3Fe(CN)_6$ solution at different scanning rates. In addition, cyclic voltammograms for different scanning rates were also recorded in 1×10^{-4} M ATOR solution in the presence of 0.04 M BR buffered (pH = 5). $I_p - V$, $I_p - V^{1/2}$ and $\log I_p - \log V$ graphs were drawn and the electrode oxidation reaction of ATOR at EBT / PGE was found to be diffusion controlled. In addition, using the $E_p - V$ and $E_p - \log V$ graphs, the formal potential of ATOR was calculated as 1,0453 V, and the number of electrons transferred and the heterogeneous rate constant of the reaction were calculated as 2 and 865 s^{-1} , respectively. The linear range of the method was $4 \times 10^{-6} \text{ M} - 2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$, and equation of the calibration graph was $I_p (\mu A) = 0,0133 (\pm 7,44 \times 10^{-4}) C_{ATOR} + 0,0538 (\pm 0,062)$ ($R^2 = 0.9961$). The detection limit and the limit of quantification of the method based on the standard deviation ($N = 5$) of the peak currents obtained for the concentration of $8 \times 10^{-6} \text{ M}$ ATOR were calculated as $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ and $6,7 \times 10^{-6} \text{ M}$, respectively. The trueness (% T), bias and relative standard deviation of the method were found to be 96.8%, 3.2% and 2.58%, respectively. In addition, the recoveries obtained from two samples spiked with the standard ATOR solution were determined as 107% and 104%. It was observed that the method was simpler and cheaper than the glassy carbon and mercury based electrodes for the determination of ATOR in the tablets as well as giving the good accuracy.

KEYWORDS: Atorvastatin, EBT, pencil graphite electrode, differential pulse voltammetry, modified electrode.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Statin.....	1
1.1.1 Atorvastatin	1
1.1.2 Atorvastatinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	2
1.2 Elektrokimyasal Teknikler	4
1.2.1 Voltammetri.....	6
1.2.2 Voltammetride Kullanılan Çalışma Elektrotları.....	8
1.2.2.1 Cıva Kökenli Elektrotlar.....	9
1.2.2.2 Katı Elektrotlar	10
1.2.2.3 Modifiye Elektrotlar	10
1.2.3 Voltammetrik Tayin Yöntemleri	11
1.2.3.1 Diferansiyel Puls Voltammetri Tekniği (DP).....	12
1.2.3.2 Döngüsel Voltammetri Tekniği (CV).....	12
1.2.3.3 Kare Dalga Voltammetri Tekniği (SW)	14
1.2.4 Elektrokimyasal Sıyırma Teknikleri.....	15
1.2.4.1 Anodik Sıyırma Voltammetrisi (ASV).....	16
1.2.4.2 Katodik Sıyırma Voltammetrisi (CSV)	16
1.2.4.3 Adsorptif Sıyırma Voltammetrisi (AdSV)	16
1.3 Atorvastatin Tayin Yöntemleri.....	17
1.3.1 Atorvastatinin Voltammetrik Tayini	18
2. DENEYSEL BÖLÜM	21
2.1 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	21
2.1.1 Gümüş–Gümüş Klorür (Ag/AgCl) Referans Elektrodu Hazırlanması.....	22
2.1.2 Çözelti Hazırlanması	22
2.1.3 Ator Tablet Hazırlanması	23
2.1.4 Ator kalsiyum Çözelti Hazırlanması	23
2.2 Metot	24
2.2.1 Eriochrome Black T Film Modifiye Kalem Grafit Elektrot (EBT/PGE)’un Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	24
2.2.2 Döngü Sayısının Pik Akımına Etkisi.....	25
2.2.3 EBT/PGE Elektrodunun Elektrot Alan Hesabı	25
2.2.4 ATOR’un EBT/PGE Elektrodundaki Elektrokimyasal Davranışı ...	25
2.2.5 Pik Akımına pH Etkisi.....	26
2.2.6 Kalibrasyon Grafiği	26
2.2.7 Tablet Örnek Uygulamaları	26
3. BULGULAR	27
3.1 EBT Modifiye Kalem Grafit Elektrot (EBT/PGE)’un Hazırlanması ve Karakterizasyonu	27
3.2 Döngü Sayısının Pik Akımına Etkisi	31

3.3	EBT/PGE Elektrodunun Elektrot Alan Hesabı	32
3.4	ATOR'un EBT/PGE Elektrodundaki Elektrokimyasal Davranışı	35
3.5	Pik Akımına pH Etkisi	41
3.6	Kalibrasyon Grafiği	44
3.7	Örnek Uygulamaları	46
3.8	Elektrot Kararlılığı	48
4.	SONUÇ VE TARTIŞMA	49
4.1	EBT Modifiye Kalem Grafit Elektrot (EBT/PGE)'un Hazırlanması ve Karakterizasyonu	49
4.2	Döngü Sayısının Pik Akımına Etkisi	50
4.3	EBT/PGE Elektrodunun Elektrot Alan Hesabı	50
4.4	ATOR'un EBT/PGE Elektrodundaki Elektrokimyasal Davranışı	51
4.5	Pik Akımına pH Etkisi	53
4.6	Kalibrasyon Grafiği ve Örnek Uygulamaları	53
4.7	Elektrot Kararlılığı	54
5.	KAYNAKLAR	56

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1:	Atorvastatinin molekül yapısı.....	3
Şekil 1.2:	Atorvastatin kalsiyumun molekül yapısı.	3
Şekil 1.3:	Elektrokimyasal tekniklerin sınıflandırması [7].	5
Şekil 1.4:	Voltammetrik hücre ve üçlü elektrot sistemi [10].	7
Şekil 1.5:	Çalışmalarda kullanılan hücre ve üçlü elektrot sistemi.	7
Şekil 1.6:	Voltammetrik çalışma elektrotların sınıflandırılması [12].	8
Şekil 1.7:	Diferansiyel puls uyarma sinyali ve elde edilen voltammogram [10].	12
Şekil 1.8:	Tersinir bir elektrot tepkimesi için elde edilen akım-potansiyel eğrileri [12].	14
Şekil 1.9:	Döngüsel voltammetriye ait uyarma sinyali ve voltammogram grafiği [10].	14
Şekil 1.10:	Kare dalga yöntemine ait uyarma sinyali ve voltammogramı [10].	15
Şekil 1.11:	Atorvastatin tayininde kullanılan metodlar [3].	18
Şekil 1.12:	Atorvastatinin elektroanalitik metodlarla tayininin yıllara göre dağılımı [3].	19
Şekil 2.1:	Voltammetrik ölçüm cihazı ve hücre.	21
Şekil 2.2:	Thermo Orion star A211 pH-metre.	21
Şekil 2.3:	EBT'nin molekül yapısı.	24
Şekil 3.1:	PGE yüzeyine EBT kaplama (I) (1×10^{-3} M EBT, 0.05 M H ₂ SO ₄ , t _d :5 s, E _{baş} : -400 mV, E _{bit} : +1400 mV, tarama hızı: 100 mV/s, N _{tarama} : 20, E _{step} : 2 mV, CV).	28
Şekil 3.2:	PGE yüzeyine EBT kaplama (II) (1×10^{-3} M EBT, 1×10^{-2} M NaOH, t _d : 5 s, E _{baş} : - 400 mV, E _{bit} : +1400 mV, tarama hızı: 100 mV/s , N _{tarama} : 20, E _{step} : 2 mV, CV).	28
Şekil 3.3:	Yalın PGE elektrodunun SEM görüntüsü.	29
Şekil 3.4:	EBT/PGE elektrodunun SEM görüntüsü ve EBT'nin molekül yapısı.	29
Şekil 3.5:	K ₃ Fe(CN) ₆ çözeltisinin yalın PGE ve EBT/PGE ile alınan voltammogramları (1) Aktivasyonu yapılan yalın PGE ile alınan voltammogram (2) Aktive edilen EBT/ PGE ile alınan voltammogram (0.1 M KCl 1×10^{-3} M K ₃ Fe(CN) ₆ N _{tarama} : 1, E _{step} : 2 mV, t _d : 5 sn, Tarama Hızı: 100 mV/s, CV).	30
Şekil 3.6:	ATOR'un yalın PGE ve EBT/PGE elektrodu ile alınan voltammogramları (1) %50 metanol ve pH=5 BR tampon ile alınan kör sinyali (2) Aktivasyonu yapılan yalın PGE ile alınan voltammogram (3) EBT modifiye PGE ile alınan voltammogram (%50 metanol - su ortamında 1×10^{-4} M ATOR, pH = 5 0.04 M BR tamponu, t _d : 5 s, E _{baş} : +600 mV, E _{bit} : +1400 mV, Tarama Hızı: 10 mV/s, Estep: 5 mV, DP).	30
Şekil 3.7:	Döngü sayısına bağlı pik yükseklikleri (%50 metanol - su ortamında 1×10^{-4} M ATOR, pH = 5 0.04 M BR tamponu, t _d : 5 s, E _{baş} : +600 mV, E _{bit} : +1400 mV, Tarama Hızı: 10 mV/s, Estep: 5 mV, DP).	31

Şekil 3.8:	ATOR'un döngü sayısına bağlı pik akım grafiği.....	32
Şekil 3.9:	K ₃ Fe(CN) ₆ çözeltisinin tarama hızına göre voltammogramları (0.1 M KCl, 10 ⁻³ M K ₃ Fe(CN) ₆ , N _{tarama} : 1, E _{step} : 2 mV, t _d : 5 s, CV).	33
Şekil 3.10:	K ₃ Fe(CN) ₆ çözeltisinin farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltammogramları, (1) 10 mV/s, (2) 25 mV/s, (3) 50 mV/s, (4) 75 mV/s, (5) 100 mV/s, (6) 125 mV/s, (7) 150 mV/s (0.1 M KCl, 10 ⁻³ M K ₃ Fe(CN) ₆ , N _{tarama} : 1, E _{step} : 2 mV, t _d : 5 sn, CV). ...	33
Şekil 3.11:	10mV/s – 150mV/s aralığında tarama hızlarının kareköküne bağlı anodik pik akım grafiği.....	34
Şekil 3.12:	ATOR'un farklı tarama hızlarıyla alınan pik akım voltammogramları, (1) 10 mV/s, (2) 25 mV/s, (3) 50 mV/s, (4) 75 mV/s, (5) 100 mV/s, (6) 150 mV/s, (7) 200 mV/s, (8) 250 mV/s, (9) 300 mV/s, (10) 350 mV/s, (11) 400 mV/s, (12) 450 mV/s, (13) 500 mV/s, (14) 550 mV/s, (15) 600 mV/s (pH = 5 0.04 M BR tamponu, 1×10 ⁻⁴ M ATOR, t _d : 5 s, E _{baş} : + 600 mV, E _{bit} : + 1500 mV, E _{step} : 2 mV, CV).	35
Şekil 3.13:	0,3V/s – 0,6V/s aralığında tarama hızlarına bağlı pik akım grafii.....	37
Şekil 3.14:	0,3V/s – 0,6V/s aralığında tarama hızlarının kareköküne bağlı pik akım grafiği.....	37
Şekil 3.15:	Doğrusal değerlerle oluşturulan tarama hızlarının logaritmalarına bağlı pik akımının logaritma değerleriyle oluşturulan grafik.	38
Şekil 3.16:	10 mV/s – 600 mV/s aralığında tarama hızına bağlı pik potansiyel grafiği.	39
Şekil 3.17:	100mV/s – 350 mV/s aralığında doğrusal değerlerle oluşturulan tarama hızına bağlı pik potansiyel grafiği.....	39
Şekil 3.18:	Tarama hızının logaritma değerine bağlı pik potansiyel grafiği. .	40
Şekil 3.19:	10 mV/s – 150 mV/s doğrusal değerlerle oluşturulan tarama hızı logaritmasına bağlı pik potansiyel grafiği.	40
Şekil 3.20:	EBT modifiye PGE' nin pH değerlerine göre davranışları, (1) pH = 2, (2) pH = 3, (3) pH= 4, (4) pH=5, (5) pH= 6, (6) pH = 7, (7) pH = 8 (1×10 ⁻⁴ M ATOR, 0.04 M BR tamponu, t _d : 5 s, E _{baş} : + 600 mV, E _{bit} : + 1500 mV, Tarama Hızı: 10 mV/s, E _{step} : 5 mV, DP).	41
Şekil 3.21:	pH'a bağlı pik akım grafiği.....	42
Şekil 3.22:	pH'a bağlı pik potansiyel grafiği.....	43
Şekil 3.23:	ATOR'un kalibrasyon grafiğine ait voltammogramları, (pH: 5 0,04 M BR tamponu, E _{baş} : +600 mV, E _{bit} : +1400 mV, tarama hızı: 10mV/s, t _d : 5 s, E _{step} : 5 mV, DP).	44
Şekil 3.24:	Kalibrasyon grafiği.	45
Şekil 3.25:	ATOR tablet örneğine standart katma yöntemiyle alınan voltammogramlar, (pH: 5 0,04 M BR tamponu, örnek ATOR tablet, E _{baş} : +600 mV, E _{bit} : +1400 mV, t _d : 5 s, E _{step} : 5 mV, tarama hızı: 10 mV/s, DP).	46
Şekil 3.26:	Zamana karşı pik akım grafiği.	48
Şekil 4.1:	ATOR'un tepkime mekanizması [22].	52

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1: Atorvastatinin voltammetrik yöntemle yapılan tayinlerinden bazı örnekler.	20
Tablo 3.1: Yalın PGE ve EBT/PGE elektrodunun pik akım ve pik potansiyel değerleri.	31
Tablo 3.2: Döngü Sayısına bağlı elde edilen ATOR pik akım ve pik potansiyel değerleri.	32
Tablo 3.3: $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin tarama hızlarına göre pik akım ve pik potansiyel değerleri.	34
Tablo 3.4: Tarama Hızına göre Pik Akım ve Yükseklikleri.	36
Tablo 3.5: ATOR'un pH değerlerine göre pik akım ve pik potansiyel değerleri.	42
Tablo 3.6: Kalibrasyon grafiği için ATOR'un derişimine bağlı pik akım ve potansiyel değerleri.	45
Tablo 3.7: ATOR tabletlerinin bulunan (mg) değerleri, %G, %Bias ve %BSS.	47
Tablo 4.1: Atorvastatinin voltammetrik yöntemle yapılan tayinlerinden bazı örneklerle bu çalışmanın karşılaştırılması.	55

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sürekli desteğini gördüğüm, analitik kimya ile ilgili katkılarından ve en önemlisi yetişmemde büyük payı olan değerli danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Nuri NAKİBOĞLU**'na teşekkür ederim.

Üniversite eğitimim boyunca üzerimde emeği olan tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi, manevi desteğini esirgemeyen annem **Sefire ERDİNÇ**'e, babam **Erol ERDİNÇ**'e ve sevgili kardeşim **Büşra ERDİNÇ**'e, teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim için beni her zaman yüreklendiren, desteğini hissettiğim ve bu aşamada bana yardımcı olan nişanlım **Erim ER**'e teşekkür ederim.

Yüksek lisansın bana kazandırdığı sevgili arkadaşlarım **Ayşe SELEK**'e ve **Kübra ÇIKRIKCI**'ya, bana verdiği desteklerden dolayı **Mevlüt ALNIAÇIK**'a teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

1.1 Statin

Statinler 1976'da Endo ve meslektaşları tarafından, bir küf mantarı olan 'Penicillium citrinium'dan izole edilerek kolesterol sentezi inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Daha sonra Alberts ve arkadaşları tarafından (1980), Aspergillus terreus'dan elden edilen ve insanda kullanımı uygun görülen ilk statin olan lovastatini elde etmişlerdir [1,2].

Lovastatin elde edilışinden ve Birleşik devletler yiyecek ve ilaç kurulu (FDA) kabul edilmesinden günümüze kadar ihtiyaca ve yan etkilerini göre 7 statin daha geliştirilmiştir. Bunlardan fungal kaynaklı ürünler: lovastatin, simvastatin, pravastatin ve tamamen sentetik yolla elde edilenler: atorvastatin, rosuvastatin, fluvastatin, cerivastatin, pitavastatindir. Bu statin grubu ilaçlar, HMG-CoA redüktaz inhibasyonu yaparak hiperlipidemi tedavisinde kullanılırlar ve son 30 yıldır en sık reçete edilen ilaç gruplarındandır [2,3].

Statin çeşitlerinin kendi aralarında karaciğer metabolizması, fizikokimyasal özellikleri, elde edilışı, spesifik aktivite, etkinlik dereceleri ve muhtemel yan etkileri bakımından farklılıkları vardır. Atorvastatin ve rosuvastatin aralarında en etkin olanlarıdır ve tayin yöntemleri ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada atorvastatinin voltammetrik tayini ile ilgili yöntem geliştirilmesi ve miktar tayini yapılması amaçlandı [3,4].

1.1.1 Atorvastatin

Atorvastatin vücutta bir tür yağ olan kolesterolün üretilmesini engelleyen statin ailesinden sentetik bir ilaçtır. Atorvastatin, kolesterolün üretilmesinde önemli rol oynayan mevalonoik asidin üretimini katalizleyen 3 - hidroksi - 3 metilglutaril

CoA (*HMG – CoA*) enzimini inhibe ederek kandaki kolesterolün düşürülmesi görevini görür ve bu sebeple HMG – CoA redüktaz inhibitörü olarak da bilinir [5,6].

Ailesel (*heterozigot*), ailesel olmayan birincil hiperkolesterolemi ve nadir rastlanan ailesel homozigot hiperkolesterolemi hastalarında yükselen toplam kolesterol ve LDL kolesterolü düşürme amacıyla kullanılır. Bu hastalarda kalp krizi, felç ve kalp hastalığı risklerini azaltılmak için diyet ile birlikte kullanılır.

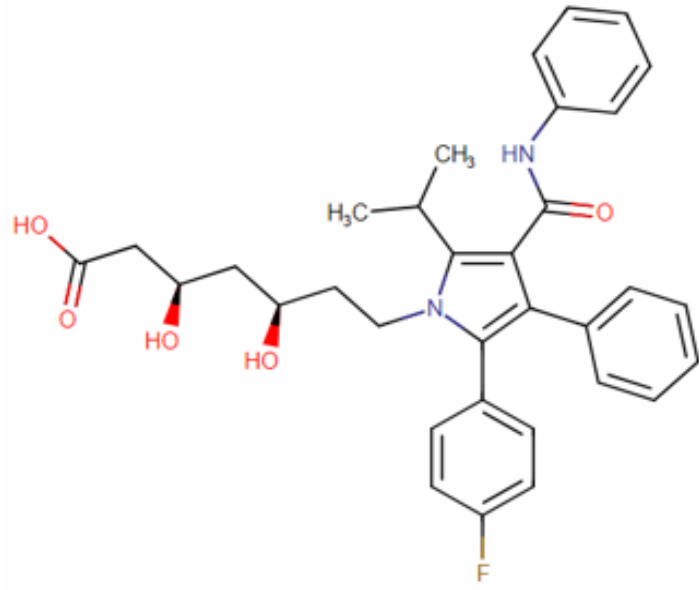
Atorvastatin, yaklaşık 15 gün boyunca günlük 40 mg alınan hastalarda total kolesterölü %34, düşük dansiteli lipoprotein kolesterölü (*LDL*) %48 oranında düşürdüğü gözlemlenmiştir [5].

1.1.2 Atorvastatinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

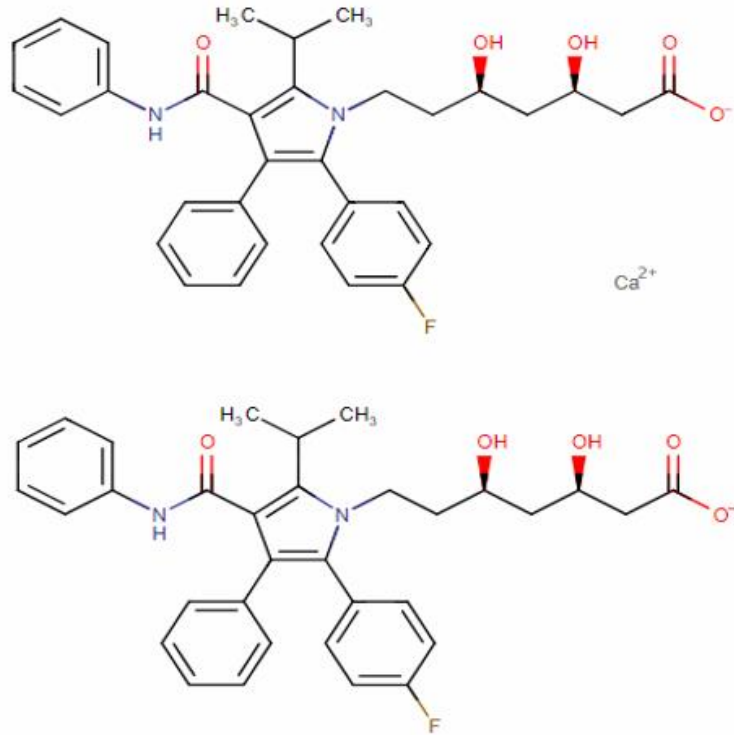
ATOR'un kimyasal formülü $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, molekül ağırlığı 558,64 g/mol'dür. Atorvastatin kalsiyum halinde bulunur ve ATORCa kimyasal formülü $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$ molekül ağırlığı 1154,45 g/mol'dür. ATOR ve ATORCa'nın molekül yapısı Şekil 1.1 ve Şekil 1.2'de verilmiştir.

Atorvastatin oral alındığında oldukça hızlı adsorbe olur. Kan proteinlerinde 1 - 2 saat içinde maksimum zirve emilimine ulaşır ve yaklaşık %98 oranında bağlanmış olur. Kolesterol sentezi akşam vakti daha fazla olduğu için, atorvastatinin o saatlerde kullanımında kolesterolü yaklaşık %30 oranında daha fazla düşüş gösterdiği bilinmektedir.

Atorvastatinin yarılanma ömrü yaklaşık 15 saattir. Atorvastatin pH 4 ve daha düşük pH'da olan sulu çözeltiler içinde çözünmez, distile su ile hazırlanmış pH 7 civarı fosfat tamponunda, asetonitril ve etanol içinde çok az çözünür. Atorvastatin metanolde tamamen çözünme gösterir [5].



Şekil 1.1: Atorvastatinin molekül yapısı.



Şekil 1.2: Atorvastatin kalsiyumun molekül yapısı.

1.2 Elektrokimyasal Teknikler

Elektrokimya, anot ve katot bulunan bir hücre sisteminin, elektrik enerjisi üreten veya harcayan redoks (*indirgenme-yükseltgenme*) reaksiyonlarını inceler. Elektrokimyasal tekniklerde, elektrot - çözelti sistemine elektriksel bir etki uygulanarak sistemin verdiği cevap ölçülür ve bu cevap sistemin özelliği hakkında bilgi verir.

Bu teknikler, analizi yapılan elementin yükseltgenme basamağına özgü yapılabilir. Diğer analitik yöntemlere bakıldığında elementin toplam derişim saptanabilirken, elektroanalitik tekniklerde o elementin örneğın seryum elementinin toplam derişimi yerine seryum (*III*) ve seryum (*IV*) türlerinin belirlenmesini de sağlar.

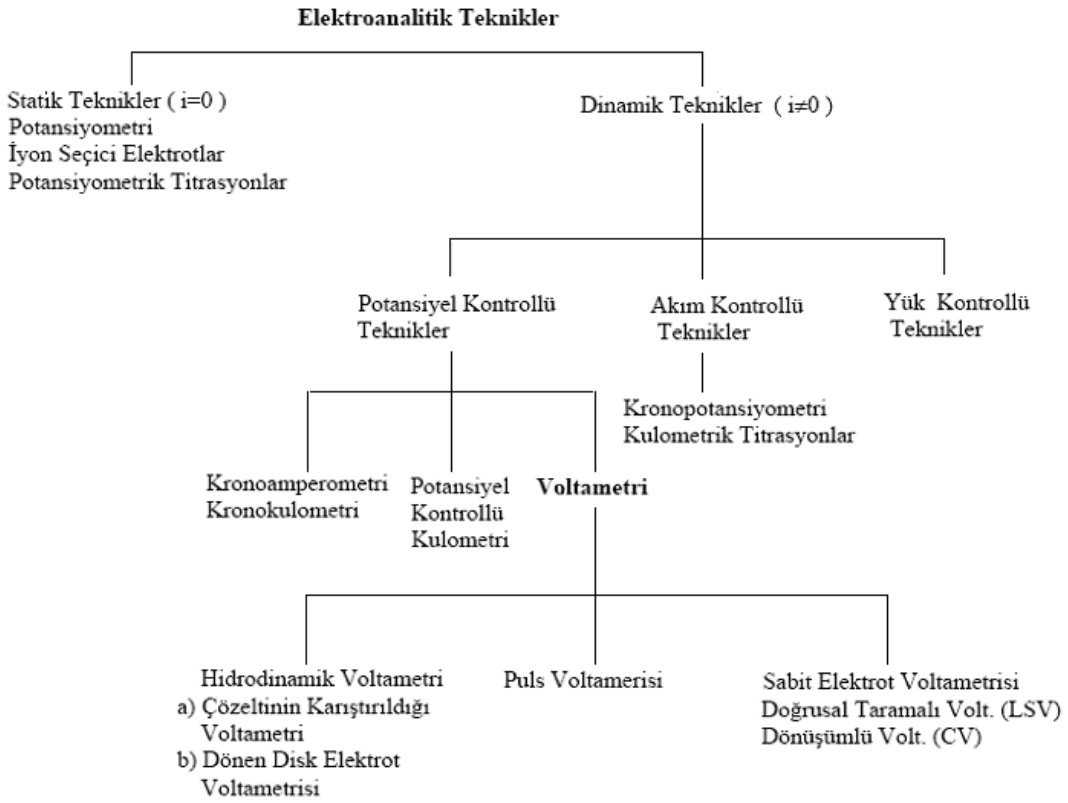
Bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri bulunur. Bu parametreler elektrokimyasal tekniğın adını belirler. Örneğın voltametri de potansiyel-akım, kronoamperometri de zaman-akım parametreleri incelenir [7,8,9].

Elektrokimyasal Tekniklerin Kullanım Alanları

- Kantitatif analiz
- Kalitatif analiz
- Elektrot reaksiyonlarının mekanizmalarının belirlenmesi
- Elektrokimyasal ve kimyasal reaksiyonların kinetiklerinin incelenmesi
- Adsorpsiyon olayların incelenmesi
- Standart indirgenme potansiyellerin belirlenmesi
- Denge sabitlerinin bulunması
- Difüzyon katsayısının bulunması [7]

Elektrokimyasal Tekniklerin Avantajları

- Ucuz olması
- Seçici olması
- Çok az numune ile çalışılabilmesi
- Alt tayin sınırının düşük olması (*LOD*)
- Doğrusallık aralığının geniş olması
- Çok farklı elektrotlarla çalışılabilmesi [7]



Şekil 1.3: Elektrokimyasal tekniklerin sınıflandırması [7].

1.2.1 Voltammetri

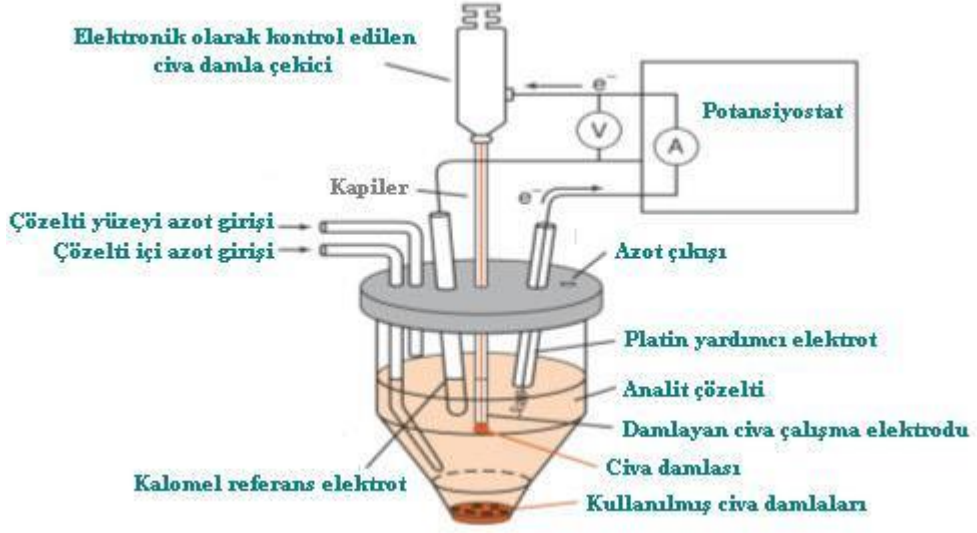
Voltammetri, kelime anlamına bakıldığında volt, amper ve ölçüm anlamına gelen metri kelimelerinden gelmekte ve kısaca potansiyel uygulanıp akımın ölçüldüğü tekniğin genel adıdır, ölçümden elde edilen akım - potansiyel eğrilerine de voltammogram adı verilmektedir.

Voltammetrik ölçümler referans, karşıt ve çalışma elektrodunun olduğu üçlü elektrot sisteminde gerçekleştirilir. Bu ölçümlerde referans (*polarlanmayan*) ile çalışma (*polarlanabilen*) elektrodu arasında pozitif (*anodik*) veya negatif (*katodik*) yönde potansiyel uygulanarak, çalışma ve karşıt elektrot arasındaki akım ölçülür. Çalışma elektrodu üzerinde yükseltgenme ile oluşan akıma anodik akım, indirgenme ile oluşan akıma katodik akım adı verilir.

Voltammetride amaca bağlı olarak çeşitli türde elektrot seçimi yapılabilir GC, Pt, Au, HMDE ve MFE en çok tercih edilen çalışma elektrotlarıdır. Çalışma elektrodu olarak cıva damla elektrodunun kullanıldığı voltammetrik tekniği polarografi, bu teknikten elde edilen eğrilere de polarogram adı verilir [7,10].

Ölçümler sırasında potansiyeli sabit kalan elektrot referans elektrottur, bu elektrot polarizlenmeyen elektrot olarak da bilinir. Bu elektrot potansiyel değişimlerinden minimum etkilenir ve diğer elektrotlara kıyasla karşılaştırma görevi görür. İdeal bir referans elektrot tersinir olmalı ve Nernst eşitliğine uymalıdır ayrıca potansiyeli zaman, sıcaklık ve hücreden az miktarda akım geçmesi ile etkilenmemelidir. En yaygın kullanılanları; Ag/Ag^+ , $Ag/AgCl$, SHE ve SCE referans elektrotlarıdır. Genellikle soymetallerden seçilen üçüncü elektrot karşıt (yardımcı) elektrottur, potansiyeli ölçülmez ve bilinmez. Görevi ise akımın pilden geçmesini sağlamaktır [7].

Voltammetri ile metal iyonlarının (*Pd, Cd, Cu vb.*), anyonların (*Cl⁻, CN⁻, F⁻ vb.*), bazı organik ve inorganik bileşiklerin analizi yapılmaktadır. *Voltammetri*; element analizi, kompleks oluşumu, hidroliz, çözünürlük, adsorbsiyon, kimyasal reaksiyonların stokiyometrik ve kinetik incelemelerinde ve ilaç tayinleri gibi alanlarda kullanılmaktadır [10].



Şekil 1.4: Voltammetrik hücre ve üçlü elektrot sistemi [10].

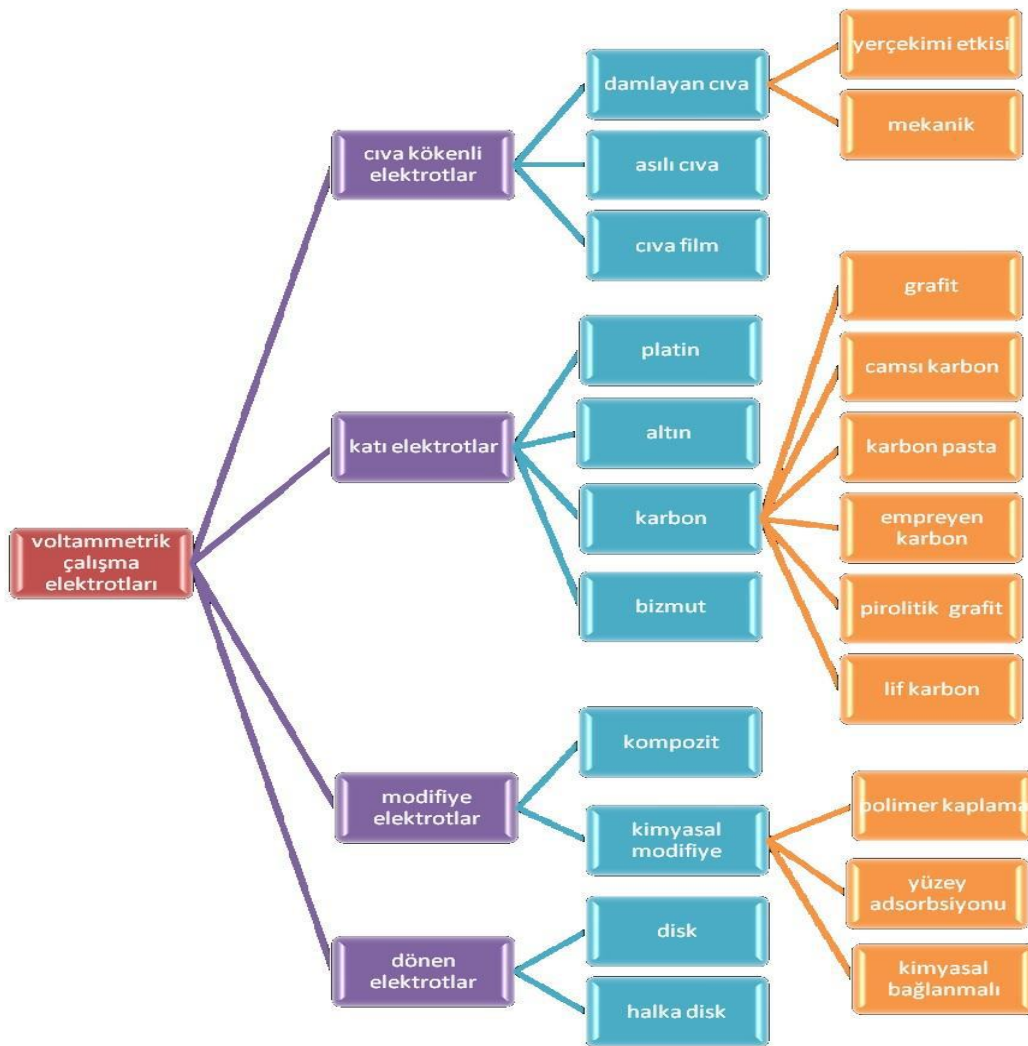


Şekil 1.5: Çalışmalarda kullanılan hücre ve üçlü elektrot sistemi.

1.2.2 Voltammetride Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltammetrik ölçümler, çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında yapılır ve bu polarizasyonun sağlanması için elektrot alanı birkaç milimetre kare olan mikro elektrotlar kullanılır. Bir çalışma elektrodu; iletken olmalı, çalışılan potansiyel aralığında inert olmalı, negatif potansiyel aralığı yüksek olmalı, istenilen geometrik şekil kolaylıkla verilebilir ve kolay işlenebilir olmalıdır.

Çalışma elektrotları; cıva kökenli elektrotlar, katı elektrotlar ve modifiye elektrotlar olarak sınıflandırılır [7,11].



Şekil 1.6: Voltammetrik çalışma elektrotların sınıflandırılması [12].

1.2.2.1 Cıva Kökenli Elektrotlar

Bu tip elektrotların damlayan cıva elektrodu, asılı cıva damla elektrodu, durgun cıva damla elektrodu ve cıva film elektrodu gibi çeşitleri vardır.

Damlayan cıva damla elektrodunda (*DME*) akış hızlarının, elektrodun olduğu hazne yüksekliğinin yer çekim ile ayarlanması ya da manyetik etkiyle kontrol edilen bir iğne tarafından mekanik olarak ayarlanmasıyla, cıva haznesinden sürekli olarak cıva damlatılan elektrot çeşididir.

Asılı cıva damla elektrodu (*HMDE*), cıva haznesine bağlı kapilerden akan cıva damlasının ucuna bir iğne ya da vida düzeneği yardımıyla asılı durması ile olur. Bu yöntemin avantajı, tüm voltammogram ölçümleri tek bir cıva damlasıyla yapıldığından önceki işlemler sırasında adsorblanan türlerden ve diğer elektrot kirliliklerinden uzak olmasıdır.

Durgun cıva damla elektrodu (*SDME*), cıva haznesine bağlı kapilerden akan cıva damlasının ucuna bir iğne ya da vida düzeneği yardımıyla belli bir süre asılı durması ile olur. Ölçümler, her damlanın durgun olarak durduğu anda alınır.

Cıva film elektrodu (*MFE*), inert bir madde üzerine (*grafit, camsı karbon, platin, altın vb.*) yaklaşık 1-100 µm kalınlığında cıva filmi kaplanması ile elde edilir. Bu kaplama elektrokimyasal olarak ve amalgam yoluyla elde edilerek iki şekilde yapılır [10].

Cıva kökenli elektrotlar;

- Elektrodun negatif potansiyel aralıklarında kullanılabilmesi
- Sürekli olarak yeni bir cıva yüzeyi oluşturulabildiği için diğer işlemlerden gelen safsızlıkların cıvadan uzaklaştırılabilmesi
- Sürekli cıva damlası oluşturulabildiği için tekrarlanabilir akımlar elde edilmesi ve geniş potansiyel aralığında ölçüm alınabilmesi gibi avantajları vardır. Ancak cıva kolay yükseltgendiğinden anodik sınırın küçük olması ve insan sağlığına cıvanın etkilerinden dolayı dezavantajları vardır [10].

1.2.2.2 Katı Elektrotlar

Katı elektrot çeşitleri genel olarak; metalden oluşan elektrotlar (*platin, altın vb.*), karbon bazlı elektrotlar (*grafit, camsı karbon, karbon pasta vb.*) ve gümüş nikel gibi elektrotlar olarak sınıflandırılabilir.

Platin ve altın elektrotlar yüksek saflıkta metallere yapılır ve bu elektrotlar doğrudan ya da kimyasal modifiye işlemleri uygulanarak kullanılabilir. Bu elektrotlarda mekanik parlatma ve belli potansiyel aralıklarında potansiyel taraması yöntemleri kullanılır.

Karbon bazlı elektrotlar, katı elektrotlarda en çok tercih edilen elektrotlardır. Bu elektrotlar, cıva kökenli elektrotların aksine geniş bir anodik potansiyel aralığına sahiptirler bunun yanında düşük elektriksel direnç, düşük zemin akıma, tekrarlanabilir yüzey yapısı, kolay üretim ve düşük maliyet gibi avantajları bulunur. Bu elektrotların kullanımında tekrarlanabilir sonuçların doğru bir şekilde alınabilmesi için yüzey parlatma ve ön işlemlerin doğru bir şekilde uygulanması gerekir ayrıca elektrokimyasal ya da termal yüzey prosedürleri uygulanarak bu elektrotları aktive etmek gerekir. Metal elektrotlara göre elektron transfer hızları yavaştır. En çok kullanılan karbon elektrotlar; grafit, camsı karbon, ağsı vitroz karbon, karbon pasta, karbon fiber ve karbon filmlerdir [10,13].

1.2.2.3 Modifiye Elektrotlar

Voltammetride kullanılan elektrotların çalışma koşullarının sınırlı olmasından dolayı kimyasal ya da elektrokimyasal özellikleri değiştirilerek modifiye elektrotlar geliştirilir. Elektrot yüzeyine önderiştirme sağlayan kimyasal maddelerle işlem ya da elektrot yüzeyinin elektrot aktarma özelliğinin yani elektrokataliz yapılar hazırlanır.

Elektrodun yüzeyini kaplama tekniğiyle kimyasal ya da elektrokimyasal olarak farklı özelliklere sahip yeni elektrot elde etme yöntemine modifikasyon, elde edilen elektroda modifiye elektrot denir. Modifikasyonda, elektrot yüzeyine çeşitli türlerin kuvvetli ve tersinmez olarak adsorbe olması ile elektrotların elektrokimyasal

olarak davranışının değiştiği gözlemlenmiştir. 2011 yılında Öztekin ve arkadaşları tarafından poli-4-nitroanilini, amin oksidasyon yöntemi ile hazırlanan camsı karbon elektrot yüzeyleri metal tayininde kullanılmış, hazırlanan yüzeyin yüksek hassasiyete sahip olduğu tespit edilmiştir [10,14].

Modifiye elektrotlarda, maddeler elektrot yüzeyine kendiliğinden ya da dışardan bir etki ile tutunurlar bunun sonucunda elektrot yüzeyinde yeni bir tabaka oluşur eğer var olan bir tabaka varsa o tabakanın üzerine yeni bir tabaka oluştururlar. Elektrot yüzeyinin iletkenliğinin kaybetmemesi için, tutunan maddelerin iletken olmasına ya da elektrodun iletkenliğini kaybettirmeyecek şekilde kaplanmasına dikkat edilmelidir.

Modifiye ediciler organik ya da inorganik maddelerden seçilebilir. Organik maddeler genellikle polimerlerden, inorganik maddeler ise ligandlar, kompleksler ya da metal oksitlerinden seçilir. Polimer film elektrotların en önemli özelliği elektroaktif merkez içermesidir, bu elektrot ile substrat arasında elektron transferini sağlar. Polimer kaplanmış elektrotlarda, iletken bir metal üzerine iletken bir çözelti ve arasında elektrokimyasal olarak aktif polimer tabaka bulunur, bu tabaka iletkenlik özelliklerine sahiptir. Bu polimer filmlerin yapısının incelenmesi için de genellikle taramalı elektron mikroskopundan (*SEM*) faydalanılmaktadır [14].

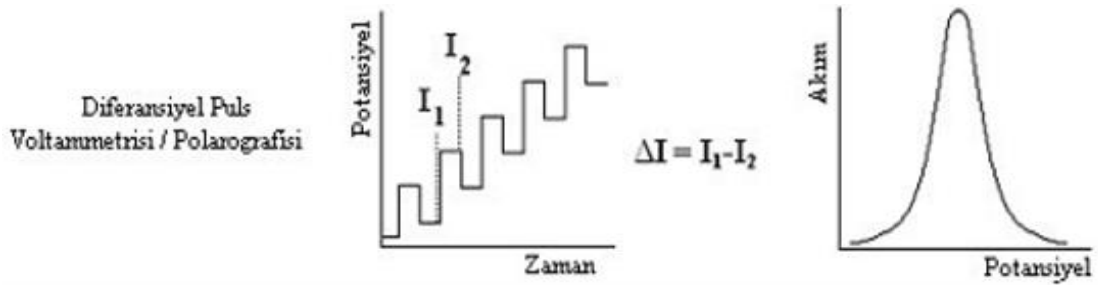
1.2.3 Voltammetrik Tayin Yöntemleri

Voltammetrik yöntemlerde sistem, çalışma elektrodu içeren hücreye potansiyel uygulanarak elektroaktif türün elektrot yüzeyine elektrolizlenmesi ile olur. Bu potansiyel uygulamasıyla karakteristik akım cevapları oluşur. Voltammetrik yöntemde bu kullanılan potansiyele ve elektrodun çeşidine göre adlandırılır. En çok kullanılan uyarma sinyallerine göre; diferansiyel puls voltammetri, kare dalga voltammetri ve döngülu voltammetri gibi çeşitleri vardır [10,11].

1.2.3.1 Diferansiyel Puls Voltammetri Tekniği (DP)

Puls teknikleri birçok elektroaktif türün eser miktarda tayininde oldukça sık kullanılmaktadır, bu tekniklerden en çok tercih edileni de diferansiyel puls tekniğidir. Normal puls tekniğinde sonunda ölçülen akım az da olsa kapasitif akım içermektedir, bu akımın daha da az olduğu ve seçimliliğin artırılması için pulstan önce ve sonra iki akımın ölçölüp farkının alındığı tekniğe diferansiyel puls voltammetrisi denir.

Diferansiyel puls tekniği, kapasitif akımın oldukça küçük olmasından ötürü normal pulsa göre oldukça duyarlıdır, 10^{-7} M - 10^{-8} M derişimlerde tayini yapılabilmektedir. Ayrıca normal puls tekniğinde yarı potansiyel farkı minimum 0.2 V olması gerekirken, diferansiyel puls tekniğinde 0.04 V – 0.05 V olan maddelerin bile pik yükseklik ölçümlerinin yapılabiliyor olmasıdır [7,10].



Şekil 1.7: Diferansiyel puls uyarma sinyali ve elde edilen voltammogram [10].

1.2.3.2 Döngüsel Voltammetri Tekniği (CV)

Çözeltide, çözelti elektrot arasındaki elektroaktif türlerin incelenmesinde en uygun voltammetrik yöntemlerden birisi döngüsel voltammetridir, bu yöntem elektrokimyasal reaksiyonların nicel ve nitel analizi hakkında bilgi verir. Bu yöntemin çalışma prensibi, potansiyelin önce doğrusal olarak artması ve en yüksek değer ulaştıktan sonra aynı doğrusallıkla düşüş göstererek başlangıç noktasına ulaşmasıdır.

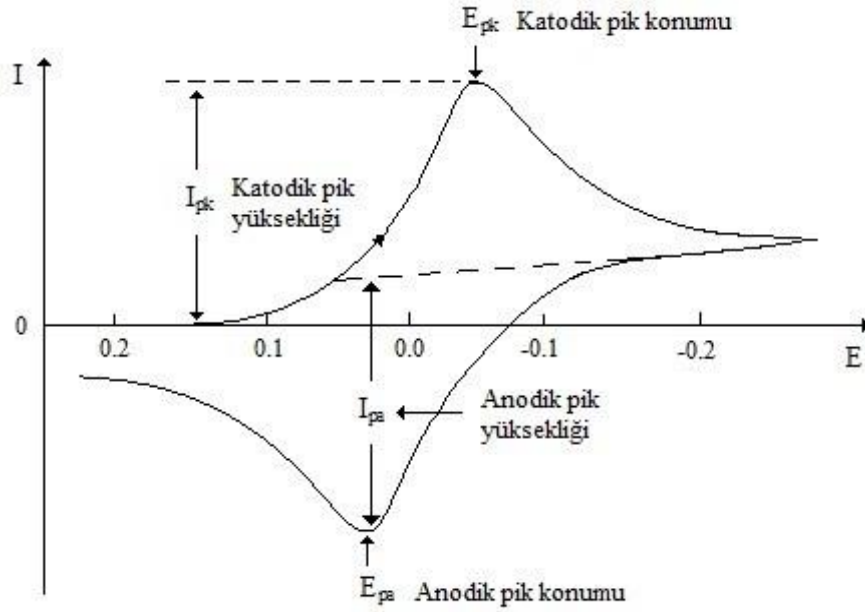
Bu teknikle; çalışılan maddenin yükseltgenme - indirgenme reaksiyonları ve hızları, tersinir olup olmadığı, tepkime ürünlerinin kararlılığı, adsorpsiyonun varlığı, kantitatif analizler hakkında bilgi vermesi gibi birçok parametre çalışılabilmektedir ve bu nedenlerden ötürü elektrokimyasal çalışmaların başında oldukça sık kullanılan bir tekniktir.

Döngüsel voltammetri tekniğinde, elektrokimyasal olarak aktif tür içeren çözeltide çalışma elektroduna belli bir yönde doğrusal olarak artan bir potansiyel uygulanır belli bir potansiyele ulaşıktan sonra tam tersi yönde yine doğrusal aynı potansiyel uygulanır. Burda türlerde başlangıçta indirgenme oluyorsa tersi yönde yükseltgenirler, eğer başlangıçta yükseltgenme oluyorsa tersi yönde indirgenme olur. Bu sayede maddelerin kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini ve kararlı olup olmadıklarını anlamak mümkündür. Ancak bu uygulanan potansiyeller tepkimelerin başlamadığı değerlerde olmalıdır [8,10,11].

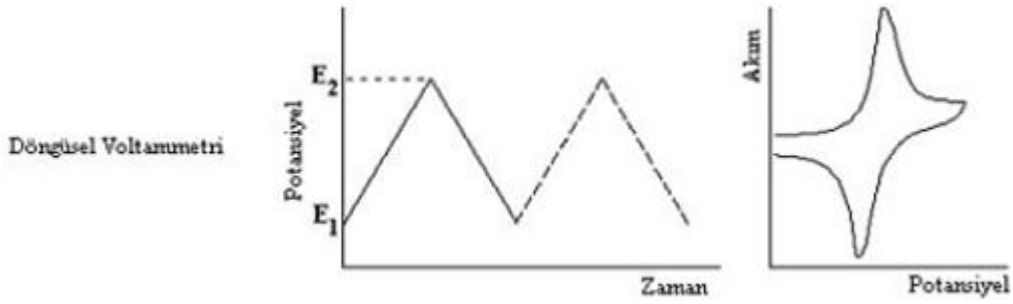
Döngülü voltammetride, tarama hızı değiştirilerek pik yüksekliğinin değişimi gözlenebilir. Pik akım ve tarama hızı değerlerinden Fick'in ikinci kanunundan hareketle Randles-Sevcik eşitliği elde edilmiştir.

$$I_p = 0,4463nF(nFRT)^{1/2}C_0D^{1/2}V^{1/2} \quad (1.1)$$

Bu eşitlikte; **I_p**: Pik Akımı, **n**: Elektron Sayısı, **F**: Faraday Sabiti, 96480 C/mol **R**: Gaz Sabiti, 8,314 J/Kmol **D**: Difüzyon Katsayısı, (K₃(FeCN)₆) için 7,6.10⁻⁶ cm²/s **V**: Tarama Hızı, **C**: Maddenin derişimidir. Formülde de görüldüğü gibi maddenin derişimi ile tarama hızının karekökü ile doğru orantılıdır, bu sayede reaksiyonun tersinirliği belirlenebilir. I_p - V^{1/2} grafiği doğrusal ve orjinden geçiyorsa sistem tersinirdir. Ayrıca sistemin tersinir olması için anodik ve katodik pik potansiyel farkının 59 mV olması gerekir [11].



Şekil 1.8: Tersinir bir elektrot tepkimesi için elde edilen akım-potansiyel eğrileri [12].

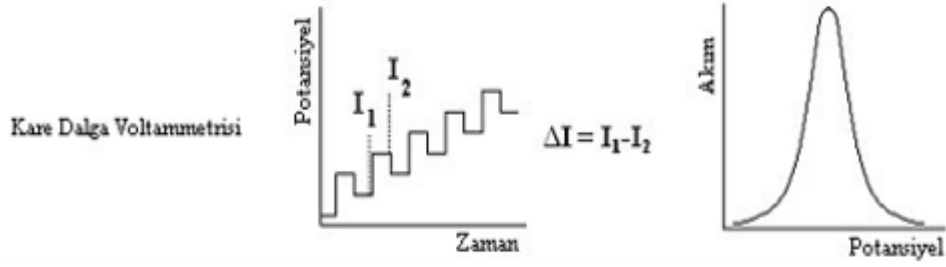


Şekil 1.9: Döngüsel voltammetriye ait uyarma sinyali ve voltammogram grafiği [10].

1.2.3.3 Kare Dalga Voltammetri Tekniği (SW)

Uygulanan potansiyel, yarısında pozitif yönde diğer yarısında negatif yönde değer alarak akımın üst akımın ölçüldüğü ve üst üste basamakların birleştirilmesiyle kare şeklinde dalga oluşturulan tekniğe kare dalga tekniği denir.

Bu teknikte anodik ve katodik bölgelerin iki akımı ölçülür ve bu toplamı pik akım değerini verir. Bu sayede kare dalga tekniği oldukça hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü taşır, yaklaşık tayin edilebilme sınırı 10^{-8} M'dır. Analiz süresi diferansiyel puls tekniğinde yaklaşık 3 dakika iken, kare dalga tekniğinde birkaç saniyede voltammogram kaydedilebilir [7,10].



Şekil 1.10: Kare dalga yöntemine ait uyarma sinyali ve voltammogramı [10].

1.2.4 Elektrokimyasal Sıyırma Teknikleri

Eser miktarda bulunan elementlerin tayini için yöntem geliştirilmesi en çok ihtiyaç duyulan konulardan olmuştur. Sıyırma yöntemleri de duyarlılığın iyileştirilmesi için geliştirilmiştir ve elektrokimyasal çalışmalarda duyarlılığı en yüksek olan tekniktir.

Bu işlemlerde, örnek hazırlanan çözeltilerde bu eser miktardaki analitler karıştırılır ve analitin çalışma elektrodu üzerine belli bir potansiyelde ve sürede biriktirmesi sağlanır. Elektrot yüzeyine biriken analitin elektroliz ve karıştırma işlemleri durdurularak voltammetrik yöntemlerden biri ile tayini yapılır, tayin esnasında analit elektrot yüzeyinden sıyırılır bu yüzden sıyırma teknikleri adı verilir. Analit biriktirme işlemi sırasında yükseltgeniyorsa sıyırma aşamasında indirgenme, biriktirme işlemi sırasında indirgeniyorsa sıyırma aşamasında yükseltgenme gösterir. Bu yöntemde amaç analitin elektrot yüzeyine biriktirilerek derişimin artırılması yani çözeltilerdeki derişimden daha yüksek olmasıdır.

Sıyırma teknikleri spektroskopik yöntemlere bakıldığında kolaylığı, eş zamanla ve çoklu element analizinin yapılabilmesi, maliyet ucuzluğu ve yüksek duyarlılık gibi avantajlara sahiptir. Bu teknikler sayesinde analitin 10^{-7} M civarı tayini yapılabilen diferansiyel puls yöntemlerinde, sıyırma tekniği ile tayini yapıldığında duyarlılığı 10^{-10} - 10^{-11} M düzeylerinde tayin yapılabilme imkanı sağlamaktadır [7,11].

1.2.4.1 Anodik Sıyırma Voltammetrisi (ASV)

Anodik sıyırma voltammetrisi, çözelti içeriğindeki metal iyonlarının belli bir süre negatif potansiyelde indirgenerek elektrot yüzeyine metalik olarak önderiştirildiği, ardından potansiyelin anodik yönde taranıp bu metallerin yükseltgenerek yüzeyden sıyrıldığı ve bu sırada akım değişiminin izlendiği yöntemin adıdır. Kısaca bu esnada biriktirme ile elektrot yüzeyine toplanan metalin, yüzeyden anodik çözünme ile ayrılmasıdır.

Bu teknikle elde edilen pik akımları metalin yükseltgenmesi ile ilgili olduğundan metalin elektrottaki ve çözeltideki derişimine ilişkin bilgi de verir.

Anodik sıyırma voltammetrisi, düşük derişimlerde metal iyonlarının (kurşun, kadmiyum, talyum, indiyum, bakır, galyum vb.) tayininin yapılabildiği duyarlılığı yüksek elektrokimyasal bir tekniktir [10,13].

1.2.4.2 Katodik Sıyırma Voltammetrisi (CSV)

Katodik sıyırma voltammetrisi, elektroaktif türün mikro elektrot ile çözünmeyen tuzlar oluşturarak elektrot yüzeyine biriktirilmesi, sonrada potansiyelin katodik yönde taraması ile indirgenerek tayininin yapıldığı ve pik akımının gözlemlendiği yöntemin adıdır. Mikroelektroda pozitif potansiyelde belli bir süre biriktirme uygulanarak elektrot ile analitin arasında bir çözünmeyen tuz oluşur. Bu işlemlerde biriktirme sırasında elektroaktif tür anot, sıyırma sırasında katot gibi davranır [10].

1.2.4.3 Adsorptif Sıyırma Voltammetrisi (AdSV)

Voltammetrik yöntemlerde elektrokimyasal olarak biriktirilemeyen eser miktarda organik ve inorganik bileşiklerin tayini için kullanılan bir tekniktir. Adsorptif sıyırma tekniğinde, kullanılan analit önce birkaç dakika süre ile çalışma elektrodu daldırılarak bekletilir ve fiziksel adsorbe olması sağlanır, sonra voltammetrik yöntemle tayini yapılır.

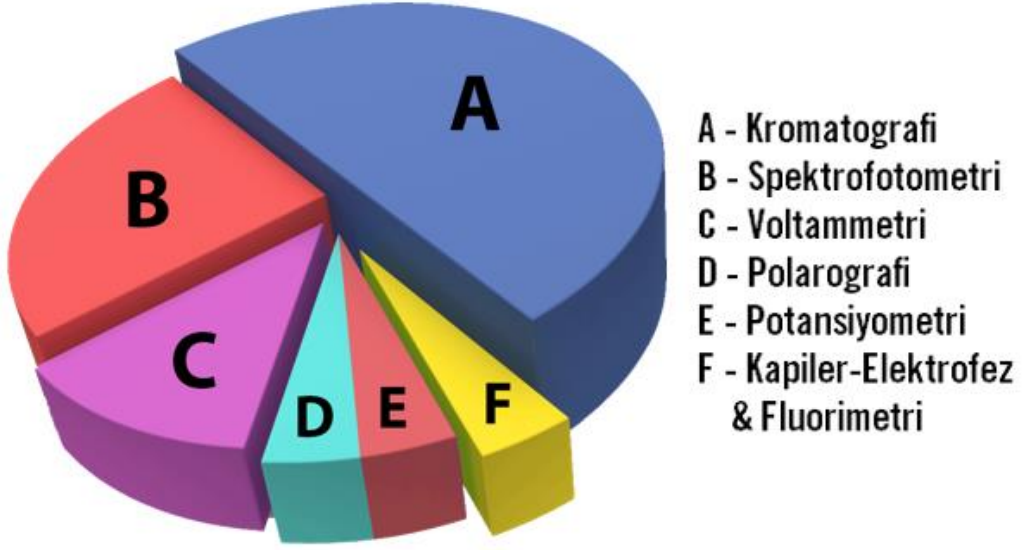
Adsorptif toplamının iki temel çalışma prensibi vardır; birincisi maddenin kendiliğinden elektrot yüzeyine adsorbe olması, ikincisi metal iyonunun bir ligandla tepkimeye girerek kompleks oluşturması ile önderiştirme yapılmasıdır. Biriktirme aşamalarından sonra ise, madde genellikle katodik yönde doğrusal taramalı ya da puls voltammetrik yöntem ile tayini yapılır ve pik akımı gözlemlenir, bu sebeple adsorptif katodik sıyırma voltammetrisi olarak isimlendirilebilir [10,11].

1.3 Atorvastatin Tayin Yöntemleri

Atorvastatin tayininde; kromatografi, spektrofotometri, kapiler elektrofez, potansiyometri, polarografi, voltammetri, fluorimetri gibi analiz metotları kullanılabilir.

Kromatografik ve spektroskopik teknikler; analizlerin önemli bir kısmını oluşturur ve toplu ilaçlardaki statin içeriğinin belirlenmesi mümkündür. Ayrıca bu yöntemler oldukça hassastır, duyarlılığı 0,01-1 ng/mL düzeylerine kadar ulaşılabilir. Ancak bu yöntemlerin kullanılan cihazların pahalı olması, zaman alıcı türevlendirme ya da ekstraksiyon işlemleri, analiz süresinin uzun olması gibi dezavantajları vardır. Bu sebeplerden ötürü atorvastatin tayini için, daha hızlı, daha ucuz, basit aynı zamanda yeterli hassasiyete sahip elektrokimyasal teknikler kullanımı oldukça artış göstermiştir.

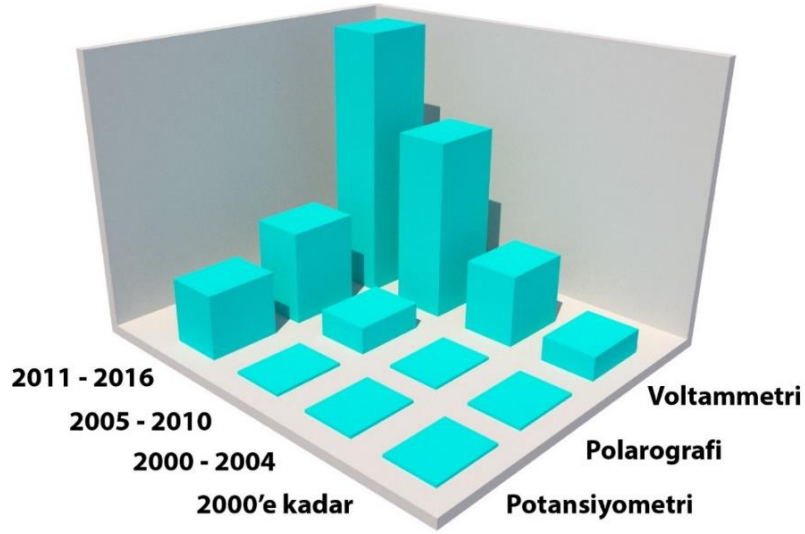
Bu teknikler son yıllarda yayın sırasında 3. sırada yer almaktadır, bunlardan %90'ı voltammetrik tayinlerdir. Hızlı, ucuz, hassas kullanımları bir yana, daha karmaşık sistemlerin analizine de olanak tanımaktadırlar. Çünkü maddenin yükseltgenme indirgenme basamağına göre tayini yapılabilir ve diğer bileşenler de ayırt edilebilmektedir. Bu çalışmanın amacı, elektrokimyasal tekniklerden voltammetrik yöntemle *ATOR* tayini için yöntem iyileştirmektir [3,15].



Şekil 1.11: Atorvastatin tayininde kullanılan metodlar [3].

1.3.1 Atorvastatinin Voltammetrik Tayini

Son on yılda statinlerin belirlenmesinde yüksek hassasiyet, doğruluk ve geniş doğrusal aralık sundukları için elektrokimyasal yöntemlerin kullanımının giderek arttığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra biyolojik numunelerde statinlerin nicelleştirilmesi, maddenin özel yükseltgenme ya da indirgenme basamağı ile tayini yapılabildiği için daha karmaşık örneklerde de kullanılan yöntem olmuştur [3].



Şekil 1.12: Atorvastatinin elektroanalitik metodlarla tayininin yıllara göre dağılımı [3].

Atorvastatinin farklı çalışma elektrotları kullanılarak voltammetrik tayin yöntemiyle elektrokimyasal davranışının incelendiği çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda çoğunlukla camsı karbon ve cıva kökenli elektrotlar kullanılmıştır. Bu çalışmalardan ilki Erk. tarafından farmasotik ürünlerdeki atorun elektrokimyasal tayini insan kan plazmasında yapılmıştır. Söz konusu çalışmada pH = 2 Britton-Robinson (BR) tamponunda GCE kullanılarak diferansiyel puls adsorptif sıyırma ve kare dalga adsorptif sıyırma voltammetrik yöntemleri ile tayini yapılmıştır ve geri kazanımları oldukça iyi düzeylerde (% 100.5, % 98.5) bulunmuştur [3].

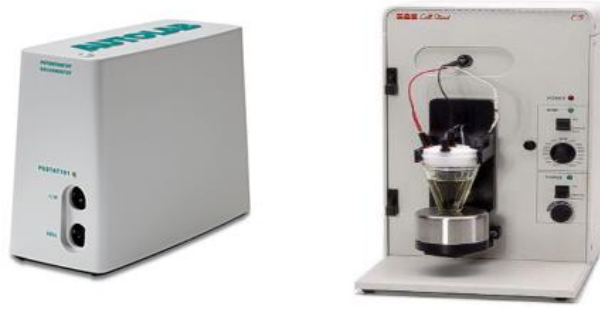
Tablo 1.1: Atorvastatinin voltammetrik yöntemle yapılan tayinlerinden bazı örnekler.

Teknik	Örnek	Çalışma Elektrodu	Ortam	LOD (M)	Referans
DPP	İlaçlar, saf örnekler	HMDE	pH 7.50, boraks tamponu	2.33 nM	16
DPP	İlaçlar, saf örnekler	SMDE	pH 7.50, boraks tamponu	42.9 µM	17
DPP	İlaçlar, saf örnekler	DME	pH 7.50, boraks tamponu	0.23 mM	18
AdsDPV, AdsSWV	İlaçlar, çivili insan plazması	GCE	pH 2, BR tamponu	4.0 nM, 2.0 nM	15
DPV, SWV	Film kaplı tabletler	GCE	pH 5, BR tamponu, 20% metanol	0.595 µM, 0.47 µM	19
AdsSWV; AdsDPV	Tabletler, insan kan serumu, idrar	GCE	pH 2.5, BR tamponu	6.55 µM, 0.153 µM	20
DPV, SWV; DPV, SWV	Tabletler, insan serumu ve idrar	GCE BDDE	0.1 M H ₂ SO ₄	0.211 µM, 0.205 µM, 0.227 µM, 0.131 µM	21
LSV	İlaçlar, insan plazması	PPY ve CNT ile modifiye edilmiş GCE	pH 2, BR tamponu	1.5 nM	22
DPV	İlaçlar, idrar	CTAB ortamında CPE	pH 3.0, fosfat tamponu	4.08 nM	23
AdsDPV	İlaçlar, biyolojik örnekler	VACNT-GOE	pH 2, fosfat tamponu, 20% metanol	9.4 nM	6

2. DENEYSEL BÖLÜM

2.1 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Voltammetrik ölçümler için Autolab Potantiostat / galvonostat markalı cihaz ve Basi C3 hücre stand kullanıldı. Çalışma elektrodu olarak EBT polimer film modifiye kalem grafit elektrot (*EBT/PGE*), referans elektrot olarak KCl ile doymuş Ag/AgCl elektrodu kullanıldı. Yardımcı elektrot olarak platin tel kullanıldı.



Şekil 2.1: Voltammetrik ölçüm cihazı ve hücre.

pH ölçümleri için Thermo Orion Star A211 model pH - metre ve Orion Ross kombine cam elektrodu kullanıldı ve pH ölçümlerinden önce 4 – 7 - 10 tamponları ile kalibre edildi.



Şekil 2.2: Thermo Orion star A211 pH-metre.

Tartım işlemlerinde Radwag AS 220/C/2 marka analitik terazi kullanıldı. Tüm cam malzemeler deterjanlı su ile yıkanıp çeşme suyuyla iyice durulandıktan

sonra deiyonize sudan geçirildi. Çözelti hazırlama işlemleri için Purelab Option-Q marka cihazdan alınan 18.2 MΩ dirence sahip ultra saf su kullanıldı.

Tüm çözelti hazırlama, seyreltme ve ekleme işlemleri için isotherm marka mikropipet ve tek kullanımlık uçlar olarak kullanıldı.

2.1.1 Gümüş–Gümüş Klorür (Ag/AgCl) Referans Elektrodu Hazırlanışı

Gümüş-Gümüş Klorür (*Ag/AgCl*) Referans Elektrodu hazırlamak için önce 0.5 mm kalınlığında gümüş tel ince zımpara ile parlatıldıktan sonra ultra saf su ile yıkandı. Daha sonra 1:1 etanol-saf su karışımında, ultrasonik banyo içerisinde 10 dakika bekletildi. Tekrar saf su içerisine konuldu ve 10 dakika daha ultrasonik banyoda bekletildi. Elektrot gövdesi olarak kullanılacak olan bir ucu dar diğer ucu daha geniş cam boru iyice yıkanarak temizlendi. Bir beher içerisine 0.6 g agar ve 0.1 g KCl alındı ve üzerine 10 mL saf su ilave edildi. Isıtıcı üzerine su banyosuna konularak jel haline gelinceye kadar ısıtıldı ve sıcakken cam borunun dar ucundan yükselecek şekilde içerisine belli bir miktar çekilerek kurumaya bırakıldı. Diğer taraftan zımparalanmış gümüş tel üçlü elektrot sisteminde çalışma elektrodunun yerine takıldı, bağlantılar yapıldıktan sonra 1 M HCl elektrolit ortamında, 1 V 10 saniye biriktirme işlemi yapılarak karartıldı. Kaplama işlemi de tamamlandıktan sonra 3.5 M KCl cam çubuk içerisine aktarıldı, Ag/AgCl kaplı tel içerisine batırıldı, hava almayacak şekilde kapatıldı ve kullanılmadan önce 1 hafta doygun KCl çözeltisinde bekletildi.

2.1.2 Çözelti Hazırlanması

Her ölçümde aktivasyon ve EBT kaplama işlemleri elektroda uygulandı ve çözeltiler günlük olarak hazırlandı. Atorkalsiyum (ATORCa) stok çözeltileri için gereken miktarda ATORCa tartılıp metanolde çözülerek hazırlandı. Seyreltik çözeltiler bundan gerekli hacimler alınarak ve metanol-su oranı % 40 olacak şekilde BR tamponu ve metanol kullanılarak hazırlandı. Uygulanan bu işlemlerde çözeltiler stok çözeltilerden günlük hazırlandı.

pH ayarlamak için kullanılan (BR) tampon çözeltisi hazırlanışı; stok çözeltiler 1 M asetik asit, 1 M borik asit, 1 M fosforik asit hazırlandı. Hesaplamaları yapılarak son derişimleri 0.08 M olacak şekilde gerekli hacimler stok çözeltilerden alınıp ultra saf su ile tamamlandı. 7 tane 50 mL'lik çözeltiler beherlere alınarak, 1 M'lık NaOH (*Merck*) çözeltisi ile pH 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 - 8 değerlerine pH metrede ayarlandı. pH ayarlaması yapılan çözeltiler 100 mL'lik balon jodelere aktarılarak hacimleri ultra saf su ile tamamlandı.

2.1.3 Ator Tablet Hazırlanması

Tablet uygulaması için SANOVEL ilaç firmasının ATOR 10 mg'lık tabletleri kullanıldı. Ana stok ATOR tablet çözeltisi için 10 adet 10 mg'lık (0.1 g) tablet kullanıldı. Agat havanda ezilen tabletler bir behere alınıp az miktarda metanolde (*Merck*) çözüldükten sonra behere aktarıldı ve 25 °C'de 15 dakika süreyle ultrasonik banya konuldu. Daha sonra 3500 rpm'de 15 dakika süre ile santrifüjlendi ve kalan partiküller için bir miktar metanol eklenerek ultrasonik banyoda bekletildi ve santrifüjlenerek berrak kısım diğeriyle birleştirildi. 50 mL'lik balon jodeye alınarak son hacim metanol ile tamamlandı.

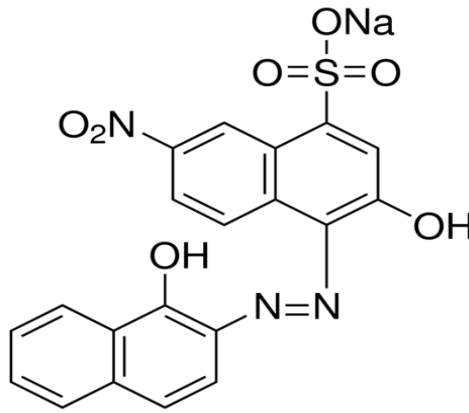
2.1.4 Ator kalsiyum Çözelti Hazırlanması

ATORCa çözelti hazırlanışı; ana stok ATOR çözeltisi olarak ($5 \times 10^{-3} M$) 0.144 g ATORCa tartıldı ve behere aktarılarak az miktarda metanol ile çözüldü. 25 mL'lik balon jodeye aktarılarak kalan hacim metanol ile tamamlandı. Gerekli derişimlerdeki çözeltiler bu ana stok çözeltilisinden uygun miktarlarda alınıp seyreltilerek günlük olarak hazırlandı.

2.2 Metot

2.2.1 Eriochrome Black T Film Modifiye Kalem Grafit Elektrot (EBT/PGE)'un Hazırlanması ve Karakterizasyonu

EBT kaplama işleminden önce elektrot aktivasyon işlemi yapıldı. Bu işlem için elektrolit çözeltisi olarak 10 mL 0.1 M KCl hazırlandı ve PGE ucu (TOMBOW marka 0.5 HB) 1 cm elektrolit çözeltisine daldırıldı. +1.45 V sabit potansiyelde 90 s bekletildi ve sonra -1 V ile +1 V arasında 100 mV/s tarama hızında sabit bir zemin elde edilene kadar (10 tekrarlı) döngüsel voltammogramlar alındı. Bu işlemten sonra EBT modifiye PGE elektrodu hazırlamak için, son derişimleri asidik çözeltide 10^{-3} M EBT, 0.05 M H_2SO_4 ve bazik çözeltide 10^{-3} M EBT, 10^{-2} M NaOH olacak şekilde stok çözeltilerden gerekli hacimler alınarak son hacim 10 mL'ye tamamlandı. - 400 mV ile + 1400 mV arasında sırasıyla, asidik ve bazik çözeltilerde ayrı ayrı olmak üzere gerekli döngü sayılarında döngüsel voltammogramlar alınarak EBT/PGE elektrotlar hazırlandı. PGE'nin EBT ile modifikasyon işleminin başarılı olup olmadığı, gerek kaplama sırasında elde edilen döngüsel voltammogramların literatürde verilenle karşılaştırması yapılarak, gerek SEM görüntüleri alınarak ve gerekse 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$ ve 0,1 M KCl içeren çözeltinin yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarındaki döngüsel voltammogramları karşılaştırılarak kontrol edildi. Ayrıca ATOR'un 0.04 M pH = 5 olan BR tamponunda yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarındaki DP voltammogramları karşılaştırıldı [24].



Şekil 2.3: EBT'nin molekül yapısı.

2.2.2 Döngü Sayısının Pik Akımına Etkisi

Son derişimleri 1×10^{-3} M EBT ve 0.05 M H_2SO_4 olan asidik çözelti ve 1×10^{-3} M EBT, 1×10^{-2} M NaOH olan bazik çözeltide ayrı ayrı olmak üzere - 400 mV ile + 1400 mV potansiyel aralığında 5, 10, 15, 20, 25, 30 döngü sayılarında 100 mV/s tarama hızlarında döngüsel voltammogramları alındı. Her bir döngü sayısında hazırlanan EBT/PGE elektrotları 5 mL BR tamponu (pH = 5) ve son derişimi 1×10^{-4} M olacak şekilde ATOR içeren çözeltinin son hacmi % 40 metanol içerecek şekilde 10 mL'ye tamamlanmış çözeltiye alınarak 600 mV ile 1400 mV arasında DP voltammogramları alındı ve her bir döngü sayısı için pik akımları ölçüldü.

2.2.3 EBT/PGE Elektrodunun Elektrot Alan Hesabı

Hazırlanan EBT/PGE elektrodunun aktif yüzey alanının hesaplanması için 0,1 M KCl ve 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin 10 – 25 – 50 – 75 – 100 – 125 – 150 – 175 – 200 – 225 – 250 – 275 – 300 – 325 – 350 – 375 – 400 – 425 – 450 – 475 – 500 – 525 – 550 – 575 – 600 – 625 – 650 – 675 – 700 – 725 – 750 – 775 – 800 – 825 – 850 – 875 – 900 – 925 – 950 – 975 – 1000 mV/s tarama hızlarında döngüsel voltammogramları alınarak $I_p - V^{1/2}$ grafiğı çizildi. Randles – Sevcik eşitliğinden elektrot alanı hesaplandı.

2.2.4 ATOR'un EBT/PGE Elektrodundaki Elektrokimyasal Davranışı

ATOR'un EBT/PGE elektrodundaki elektrokimyasal davranışı pH = 5 olan BR tamponlu ve % 40 metanollü ortamda 1.10^{-4} M ATOR içeren çözelti de +600 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600 mV/s tarama hızlarında döngüsel voltammogramlar alınarak ve pik akımlar ve pik potansiyelleri ölçülerek incelendi.

2.2.5 Pik Akımına pH Etkisi

pH çalışması için, stok hazırlanan BR tampon çözeltisinden 1 M NaOH ile pH = 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 olacak şekilde 7 çözelti hazırlandı. Son derişimi 1×10^{-4} M ATOR, % 40 metanol ve pH'ları ayarlanan 0,04 M BR tamponu olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. EBT/PGE elektrot ile ayrı ayrı pH'ı bilinen ATOR çözeltilerinin 600 mV ile 1400 mV potansiyel aralığında DP voltammogramları alınarak pik akımı ve pik potansiyel değerleri ölçüldü.

2.2.6 Kalibrasyon Grafiği

Kalibrasyon grafiğinin çizilmesi için 5×10^{-6} M, 5×10^{-5} M, 5×10^{-4} M'lık stok ATORCa çözeltilerinden gerekli miktarlarda ekleme yapılarak, son derişimleri 4×10^{-6} M - $2,5 \cdot 10^{-4}$ M arasında 11 farklı derişimde ATOR çözeltilerinin +600 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında DP voltammogramları alınarak pik akım ve pik potansiyel değerleri ölçüldü ve kalibrasyon grafiği oluşturuldu.

2.2.7 Tablet Örnek Uygulamaları

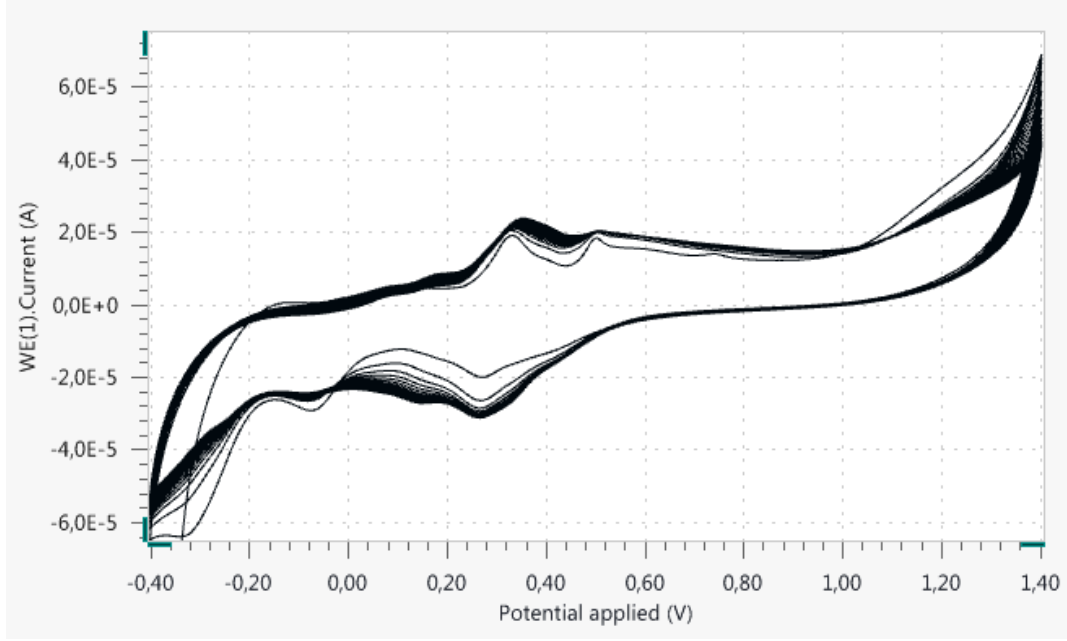
Örnek uygulaması için 10 tablet ATOR 50 mL metanolde çözümlenerek ana stok çözelti ($3,6 \times 10^{-3}$ M) hazırlandı. Bu çözeltilerden 50 µL alınıp pH = 5 olan BR tamponu ortamında ve % 40 metanol olacak şekilde son hacim 10 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltilerin DP voltammogramı alındıktan sonra sırasıyla 1×10^{-2} M'lık stok ATOR çözeltisinden 40 µL'lik 3 ardışık eklemeler yapılarak standart katma işlemi gerçekleştirildi. Her bir katım için DP voltammogramları alındı ve pik akımları ölçülerek standart katma grafiği oluşturuldu ve ayrı ayrı 5 kere bu deneme tekrarlandı. Bu grafiklerden tabletlerdeki ATOR miktarları hesaplandı.

3. BULGULAR

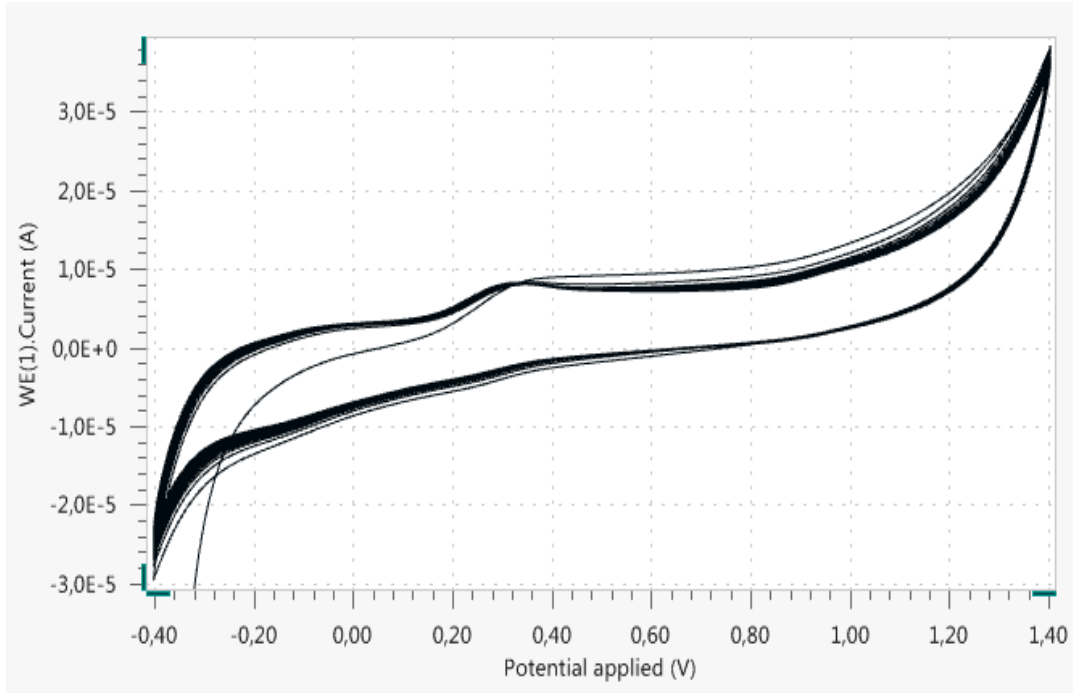
3.1 EBT Modifiye Kalem Grafit Elektrot (EBT/PGE)'un Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Elektrot modifikasyonu için koşullandırma sonrasında 10^{-3} M EBT ve 0.05 M H_2SO_4 içeren asidik ve 10^{-3} M EBT ve 10^{-2} M NaOH içeren bazik çözeltilerde alınan döngüsel voltammogramlar sırasıyla Şekil 3.1'de ve Şekil 3.2'de verildi.

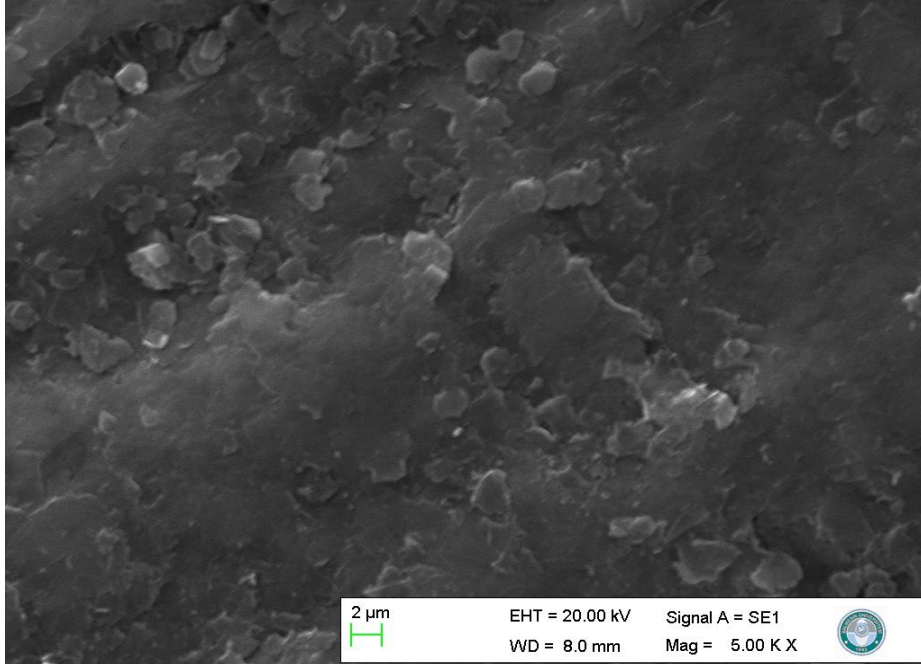
Ayrıca yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarının SEM görüntüleri alınarak Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'te gösterildi. Buna ek olarak yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarının 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$ ve 0,1 M KCl içeren çözeltideki döngüsel voltammogramlar Şekil 3.5'te ve 1×10^{-4} M ATOR'un 0.04 M pH = 5 olan BR tamponunda %40 metanol ortamında yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarındaki DP voltammogramları Şekil 3.6'da karşılaştırıldı. DP voltammogramlarından elde edilen pik akım ve pik potansiyelleri Tablo 3.1'de verildi.



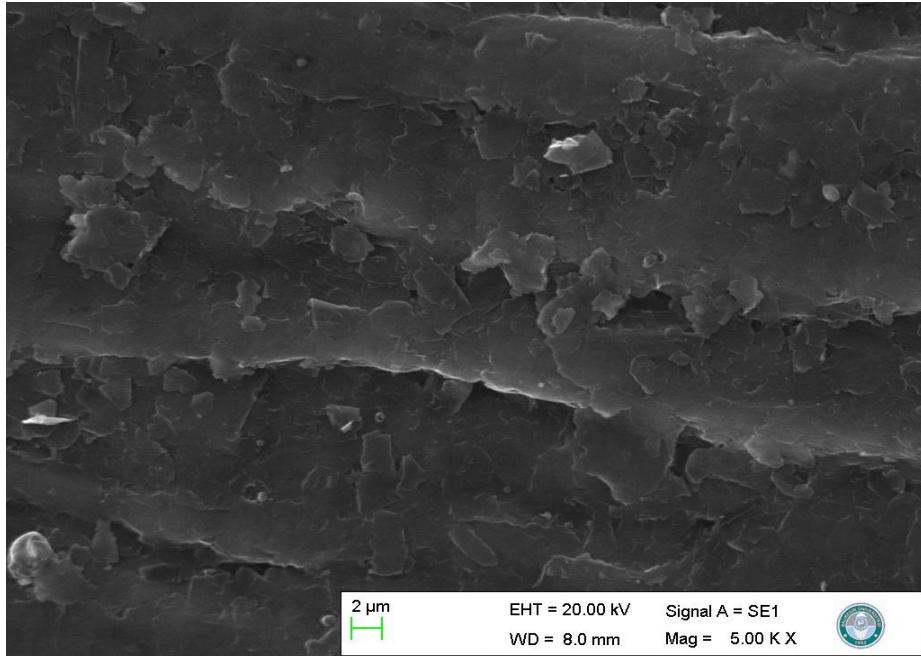
Şekil 3.1: PGE yüzeyine EBT kaplama (I) (1×10^{-3} M EBT, 0.05 M H_2SO_4 , t_d :5 s, $E_{baş}$: -400 mV, E_{bit} : +1400 mV, tarama hızı: 100 mV/s, N_{tarama} : 20, E_{step} : 2 mV, CV).



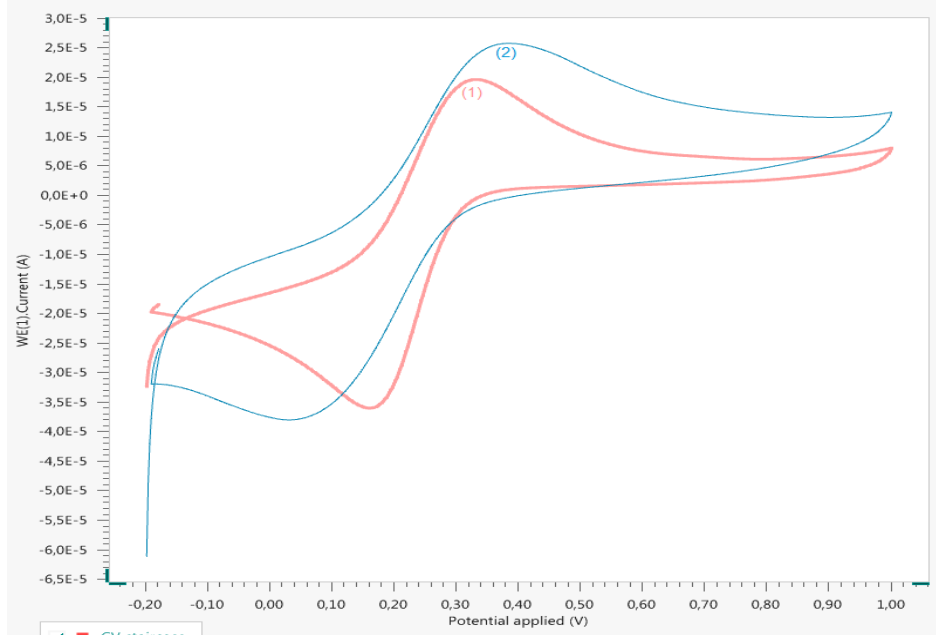
Şekil 3.2: PGE yüzeyine EBT kaplama (II) (1×10^{-3} M EBT, 1×10^{-2} M NaOH, t_d : 5 s, $E_{baş}$: - 400 mV, E_{bit} : +1400 mV, tarama hızı: 100 mV/s , N_{tarama} : 20, E_{step} : 2 mV, CV).



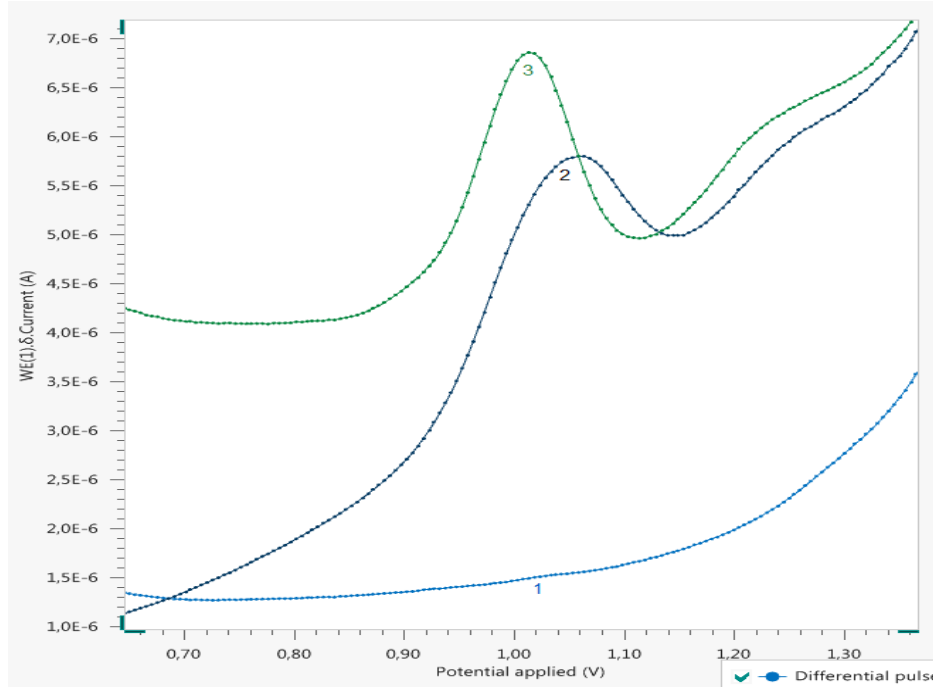
Şekil 3.3: Yalın PGE elektrodunun SEM görüntüsü.



Şekil 3.4: EBT/PGE elektrodunun SEM görüntüsü ve EBT'nin molekül yapısı.



Şekil 3.5: $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin yalnız PGE ve EBT/PGE ile alınan voltammogramları (1) Aktivasyonu yapılan yalnız PGE ile alınan voltammogram (2) Aktive edilen EBT/ PGE ile alınan voltammogram (0.1 M KCl 1×10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$ N_{tarama} : 1, E_{step} : 2 mV, t_d : 5 sn, Tarama Hızı: 100 mV/s, CV).



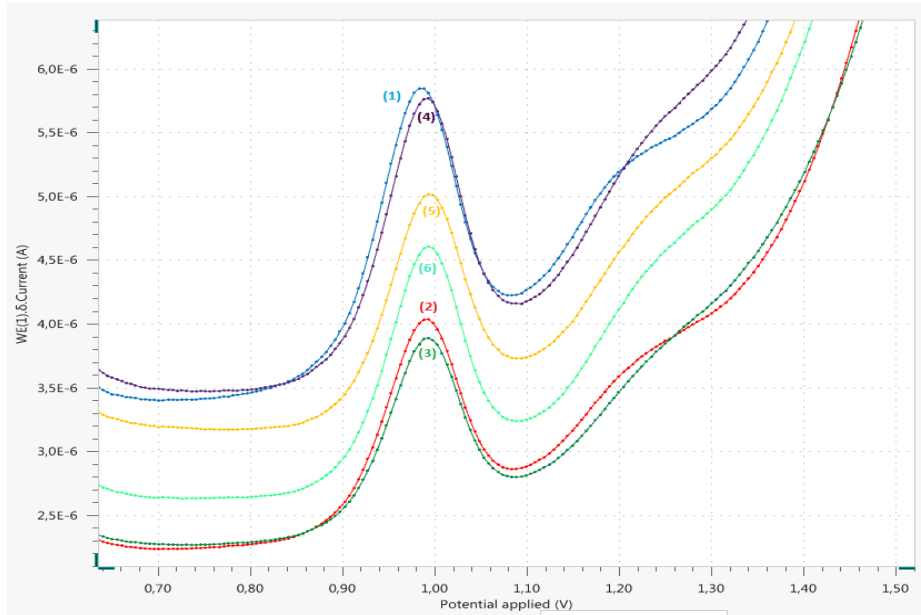
Şekil 3.6: ATOR'un yalnız PGE ve EBT/PGE elektrodu ile alınan voltammogramları (1) %50 metanol ve pH=5 BR tampon ile alınan kör sinyali (2) Aktivasyonu yapılan yalnız PGE ile alınan voltammogram (3) EBT modifiye PGE ile alınan voltammogram (%50 metanol - su ortamında 1×10^{-4} M ATOR, pH = 5 0.04 M BR tamponu, t_d : 5 s, $E_{baş}$: +600 mV, E_{bit} : +1400 mV, Tarama Hızı: 10 mV/s, Estep: 5 mV, DP).

Tablo 3.1: Yalın PGE ve EBT/PGE elektrodunun pik akım ve pik potansiyel değerleri.

Örnek	Pik Akımı (μA)	Pik Potansiyeli (V)
Yalın PGE elektrot	1,7973	1,0431
EBT/PGE elektrot	2,2129	1,0129

3.2 Döngü Sayısının Pik Akımına Etkisi

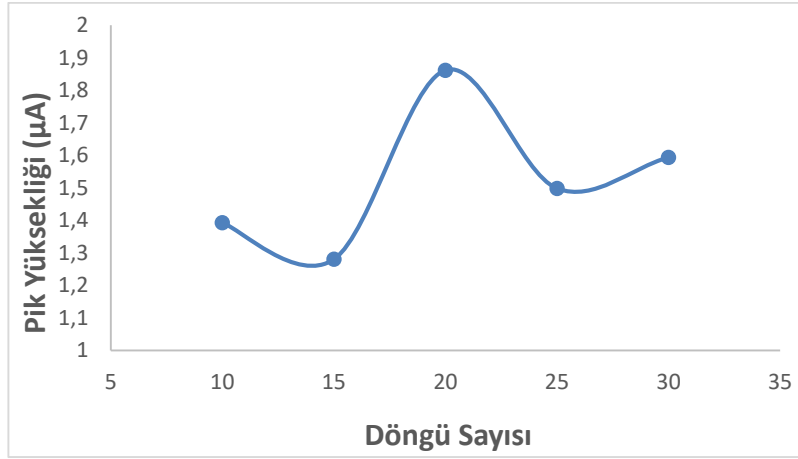
Son derişimleri 1×10^{-3} M EBT ve 0.05 M H_2SO_4 olan asidik çözelti ve 1×10^{-3} M EBT, 1×10^{-2} M NaOH olan bazik çözeltide ayrı ayrı olmak üzere - 400 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında 5, 10, 15, 20, 25, 30 döngü sayılarında 100 mV/s tarama hızlarında alınan döngüsel voltammetrik teknikle hazırlanan EBT/PGE elektrotlarının 5 mL pH = 5 olan BR tamponu %40 metanol ve 1×10^{-4} M ATOR içeren çözeltide 600 mV ile 1400 mV arasında DP voltammogramları Şekil 3.7’de ve bu voltammogramlardan her bir döngü sayısı için elde edilen pik akımları ve pik potansiyelleri Tablo 3.2’de ve I_p – döngü sayısı grafiği Şekil 3.8’de verildi.



Şekil 3.7: Döngü sayısına bağlı pik yükseklikleri (1) 5 döngüsel EBT kaplama, (2) 10 döngüsel EBT kaplama, (3) 15 döngüsel EBT kaplama, (4) 20 döngüsel EBT kaplama, (5) 25 döngüsel EBT kaplama, (6) 30 döngüsel EBT kaplama (%50 metanol - su ortamında 1×10^{-4} M ATOR, pH = 5 0.04 M BR tamponu, t_d : 5 s, $E_{baş}$: +600 mV, E_{bit} : +1400 mV, Tarama Hızı: 10 mV/s, Estep: 5 mV, DP).

Tablo 3.2: Döngü Sayısına bağlı elde edilen ATOR pik akım ve pik potansiyel değerleri.

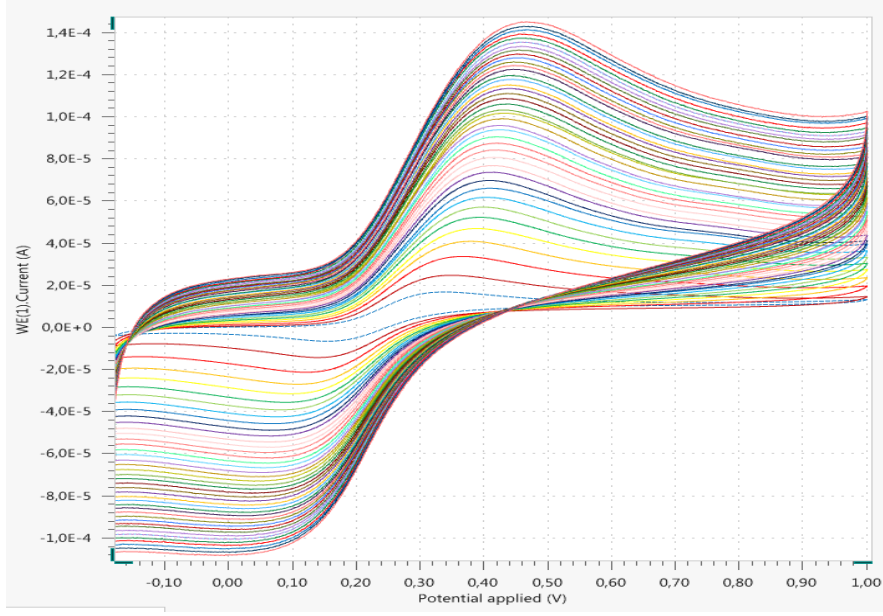
Döngü Sayısı	Pik Akımı (μA)	Pik Potansiyeli (V)
5	1,8041	0,9827
10	1,3922	0,9877
15	1,2803	0,9877
20	1,8617	0,9877
25	1,4981	0,9927
30	1,5937	0,9927



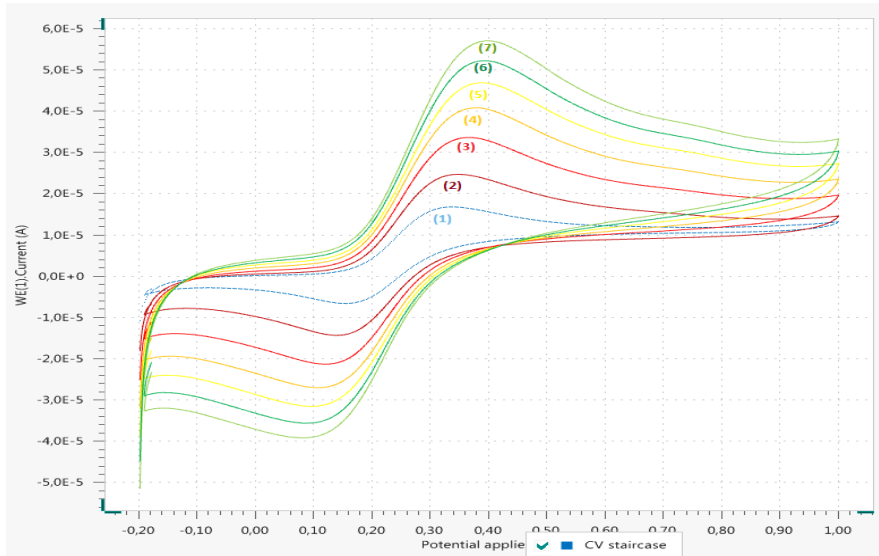
Şekil 3.8: ATOR'un döngü sayısına bağlı pik akım grafiği.

3.3 EBT/PGE Elektrodunun Elektrot Alan Hesabı

Hazırlanan EBT/PGE elektrodunun aktif yüzey alanının hesaplanması için 0,1 M KCl ve 10^{-3} M $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisinin 10 – 1000 mV/s tarama hızında alınan voltammogramları Şekil 3.9'da verilmiştir. Bu voltammogramlardan 10 – 25 – 50 – 75 – 100 – 125 – 150 mV/s tarama hızlarında pik akımının tarama hızının karekökü ile doğru orantılı olması nedeniyle bu aralıkta $I_p - V^{1/2}$ grafiği çizildi. Bu tarama hızı aralığına ait voltammogramları Şekil 3.10'da ve buradan elde edilen veriler tablo 3.3'te ve bu tablodan oluşturulan $I_p - V^{1/2}$ grafiği Şekil 3.11'de verildi. Elde edilen doğru denkleminde ($I_p = 3,2201V^{1/2} + 3,4481$, $R^2 = 0,999$) ilgili bilinen değerler yerine konularak elektrot alanı hesaplandı.



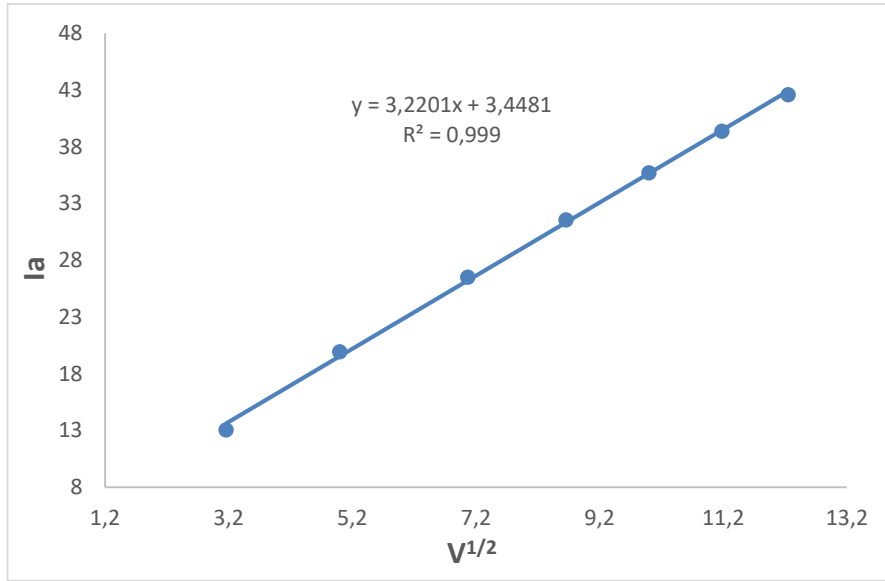
Şekil 3.9: $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin tarama hızına göre voltammogramları (0.1 M KCl, 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$, N_{tarama} : 1, E_{step} : 2 mV, t_d : 5 s, CV).



Şekil 3.10: $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltammogramları, (1) 10 mV/s, (2) 25 mV/s, (3) 50 mV/s, (4) 75 mV/s, (5) 100 mV/s, (6) 125 mV/s, (7) 150 mV/s (0.1 M KCl, 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$, N_{tarama} : 1, E_{step} : 2 mV, t_d : 5 sn, CV).

Tablo 3.3: $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisinin tarama hızlarına göre pik akım ve pik potansiyel değerleri.

Tarama Hızı (mV/s)	Anodik Pik Akımı (μA)	Anodik Pik Potansiyeli (V)	Katodik Pik Akımı (μA)	Katodik Pik Potansiyeli (V)
10	13,058	0,3273	-9,9767	0,16861
25	19,943	0,3395	-14,55	0,15396
50	26,492	0,3542	-18,36	0,14175
75	31,56	0,3688	-20,95	0,13687
100	35,697	0,3786	-22,87	0,12955
125	39,373	0,3810	-24,59	0,12711
150	42,588	0,3883	-25,96	0,12222

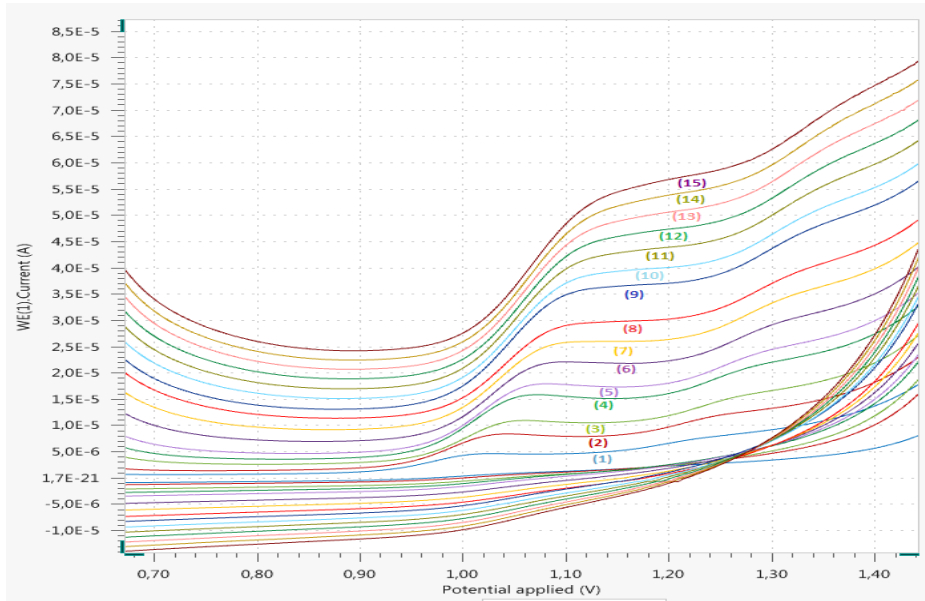


Şekil 3.11: 10mV/s – 150mV/s aralığında tarama hızlarının kareköküne bağlı anodik pik akım grafiği

3.4 ATOR'un EBT/PGE Elektrodundaki Elektrokimyasal Davranışı

ATOR'un EBT/PGE elektrodundaki elektrokimyasal davranışı pH = 5 olan BR tamponlu ve %40 metanollü ortamda 1×10^{-4} M ATOR içeren çözelti de +600 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600 mV/s tarama hızlarında döngüsel voltammogramları Şekil 3.12'de verildi. Her bir tarama hızı için pik akımları ve pik potansiyelleri ölçüldü. Tarama hızları, tarama hızlarının karekökü, tarama hızlarının logaritması, pik akımları, pik akımlarının logaritması ve pik potansiyelleri Tablo 3.4'te verildi. Bu Tablo'dan yararlanarak $I_p - V$, $I_p - V^{1/2}$, $\log I_p - \log V$, $E_p - V$ ve $E_p - \log V$ grafikleri sırasıyla Şekil 3.13, Şekil 3.14, Şekil 3.15, Şekil 3.16, Şekil 3.17, Şekil 3.18 ve Şekil 3.19'da verildi. $I_p - V$, $I_p - V^{1/2}$ ve $\log I_p - \log V$ grafiklerinden elektrot tepkimesinin kinetiği, $E_p - V$ grafiğinden formal potansiyel ($E^{0'}$), $E_p - \log V$ grafiğinden αn ve buradan elektron sayısı (n) ve elektrot tepkimesinin heterojen hız sabiti (k^0) hesaplandı.

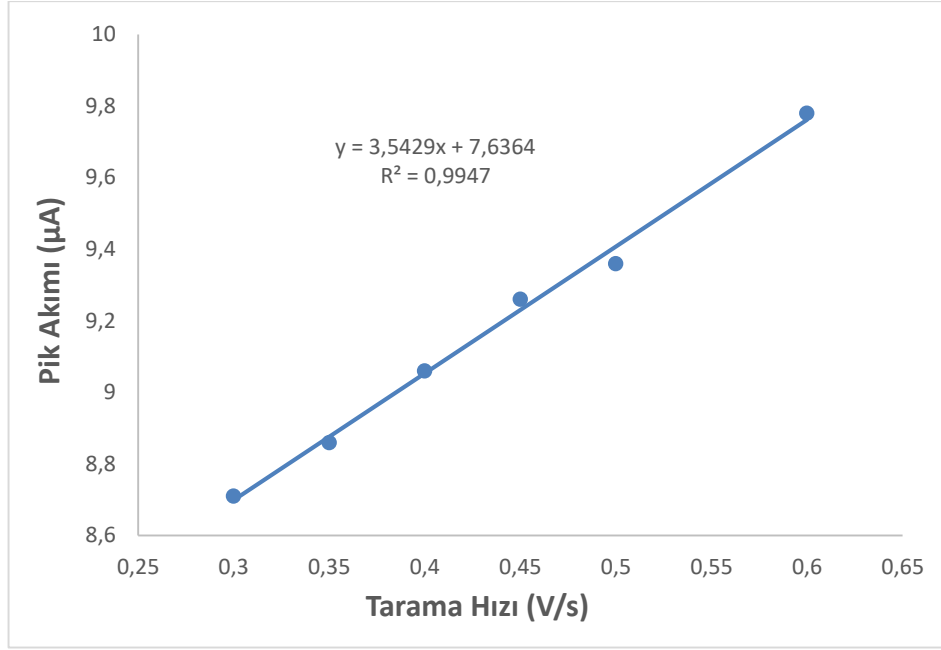
$$E_p = E^{0'} + \frac{2,303RT}{\alpha nF} \log \frac{RTk^0}{\alpha nF} + \frac{2,303RT}{\alpha nF} \log V \quad (3.1)$$



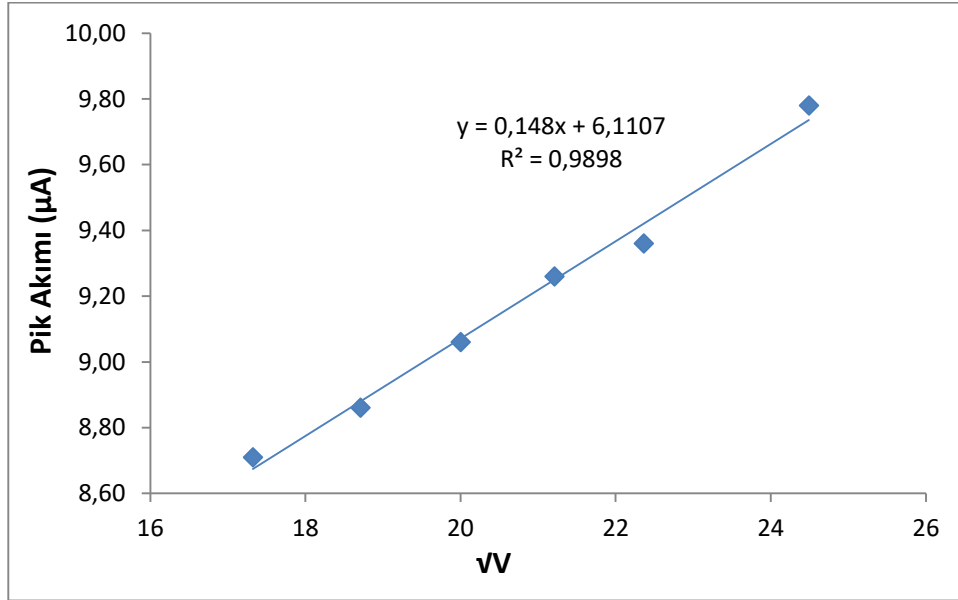
Şekil 3.12: ATOR'un farklı tarama hızlarıyla alınan pik akım voltammogramları, (1) 10 mV/s, (2) 25 mV/s, (3) 50 mV/s, (4) 75 mV/s, (5) 100 mV/s, (6) 150 mV/s, (7) 200 mV/s, (8) 250 mV/s, (9) 300 mV/s, (10) 350 mV/s, (11) 400 mV/s, (12) 450 mV/s, (13) 500 mV/s, (14) 550 mV/s, (15) 600 mV/s (pH = 5 0.04 M BR tamponu, 1×10^{-4} M ATOR, t_d : 5 s, $E_{baş}$: + 600 mV, E_{bit} : + 1500 mV, E_{step} : 2 mV, CV).

Tablo 3.4: Tarama Hızına göre Pik Akım ve Yükseklikleri.

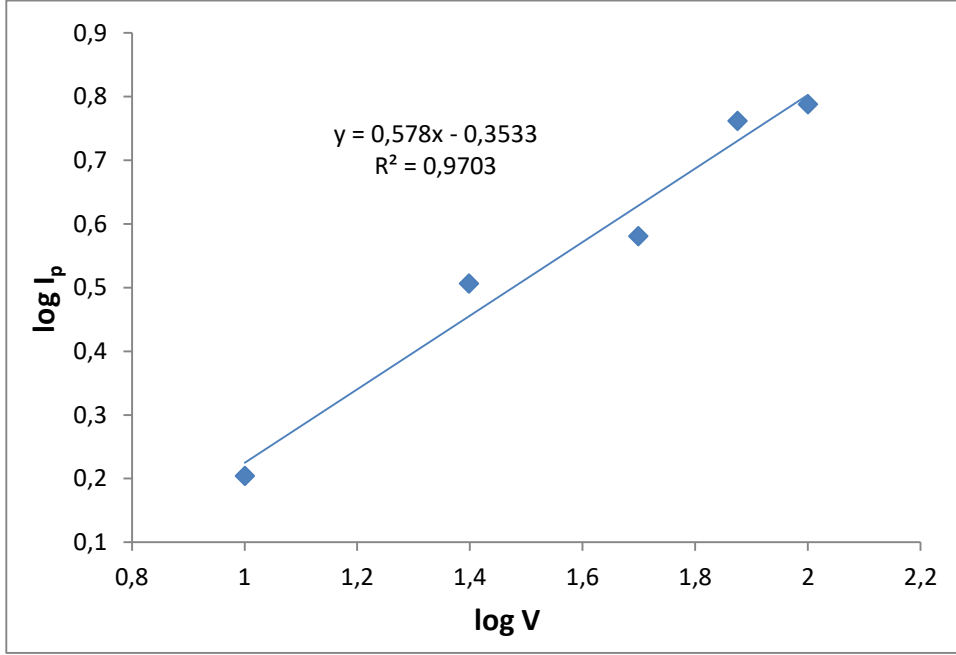
Tarama Hızı (V/s)	\sqrt{V}	log V	Pik Akımı (μA)	log I_p	Pik Potansiyeli (V)
0,01	0,1	1	1,6	0,204	1,0101
0,025	0,1581	1,3979	3,21	0,5065	1,0272
0,05	0,2236	1,6989	3,81	0,5809	1,0443
0,075	0,2739	1,875	5,78	0,762	1,0541
0,1	0,3162	2	6,14	0,788	1,0614
0,15	0,387	2,176	6,70	0,826	1,0736
0,2	0,4472	2,3	5,89	0,77	1,0785
0,25	0,5	2,3979	6,79	0,832	1,0883
0,3	0,5477	2,477	8,71	0,94	1,098
0,35	0,5916	2,544	8,86	0,947	1,1053
0,4	0,6325	0,602	9,06	0,957	1,1078
0,45	0,6708	2,6532	9,26	0,9666	1,1127
0,5	0,7072	2,6989	9,36	0,9713	1,1176
0,55	0,7416	2,74	9,81	0,9917	1,12
0,6	0,7746	2,778	9,78	0,99	1,1224



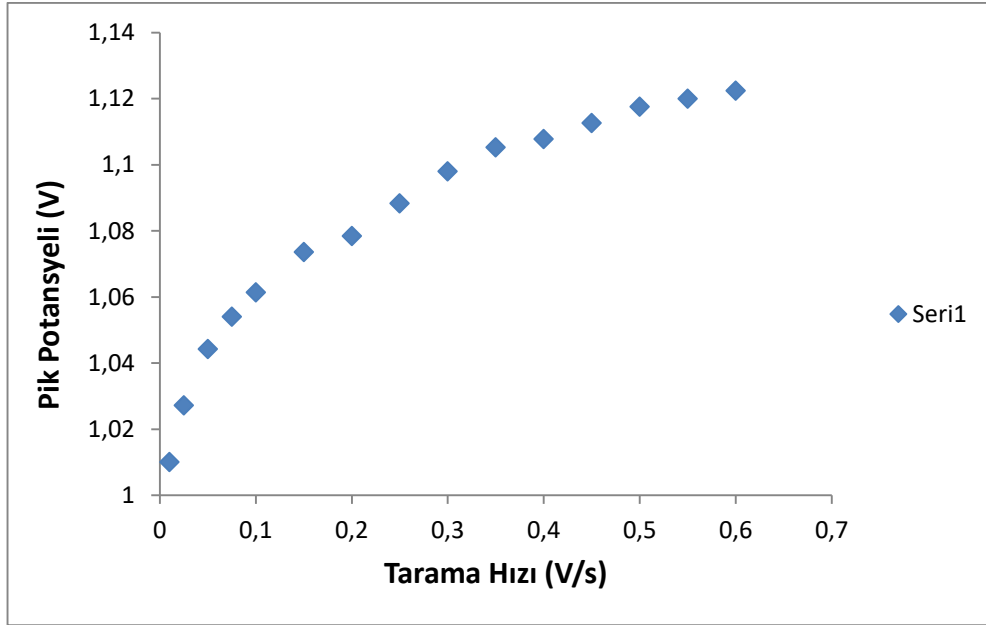
Şekil 3.13: 0,3V/s – 0,6V/s aralığında tarama hızlarına bağlı pik akım grafiği.



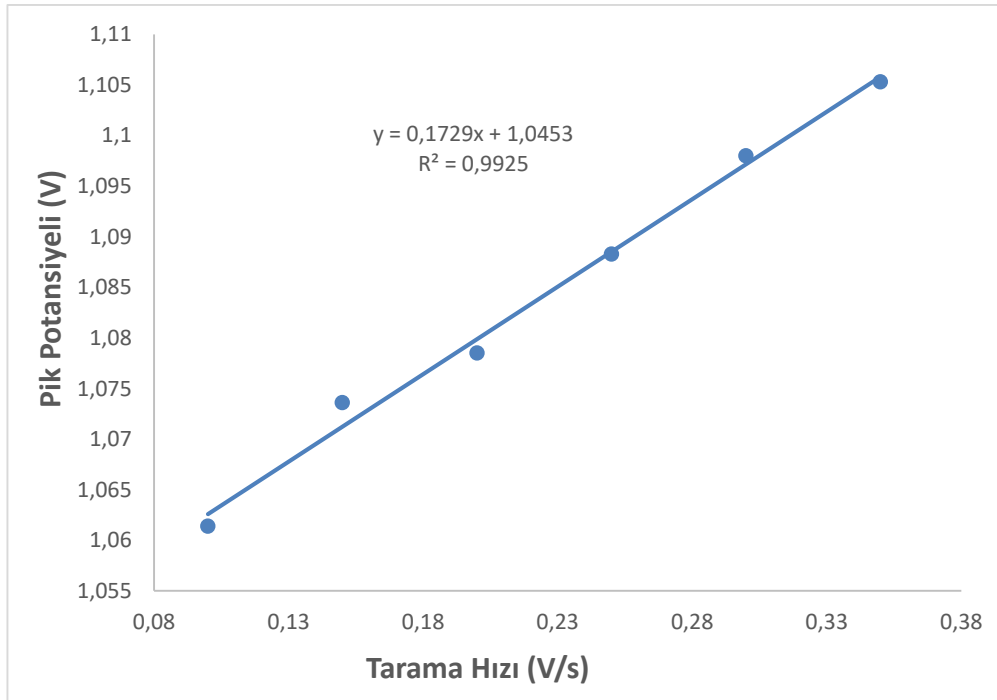
Şekil 3.14: 0,3V/s – 0,6V/s aralığında tarama hızlarının kareköküne bağlı pik akım grafiği.



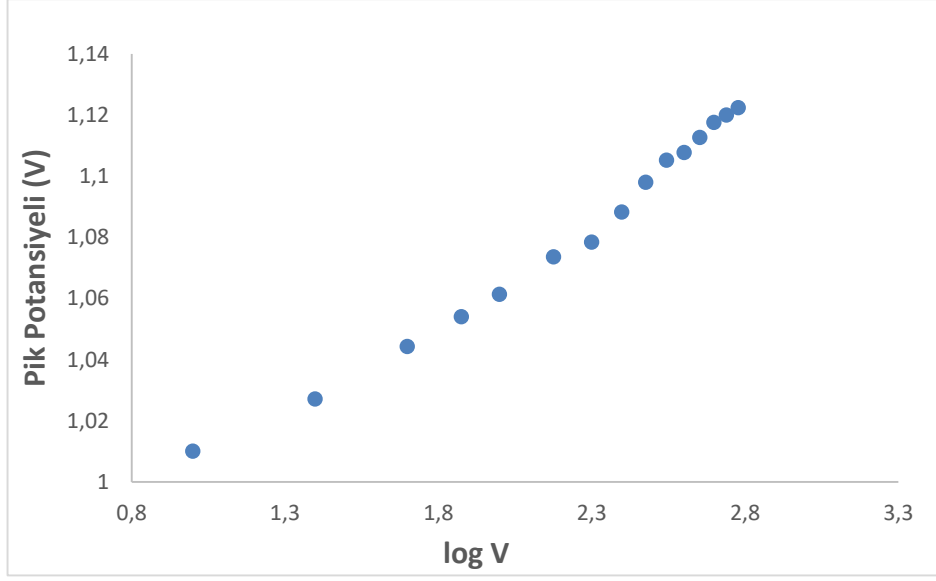
Şekil 3.15: Doğrusal değerlerle oluşturulan tarama hızlarının logaritmalarına bağlı pik akımının logaritma değerleriyle oluşturulan grafik.



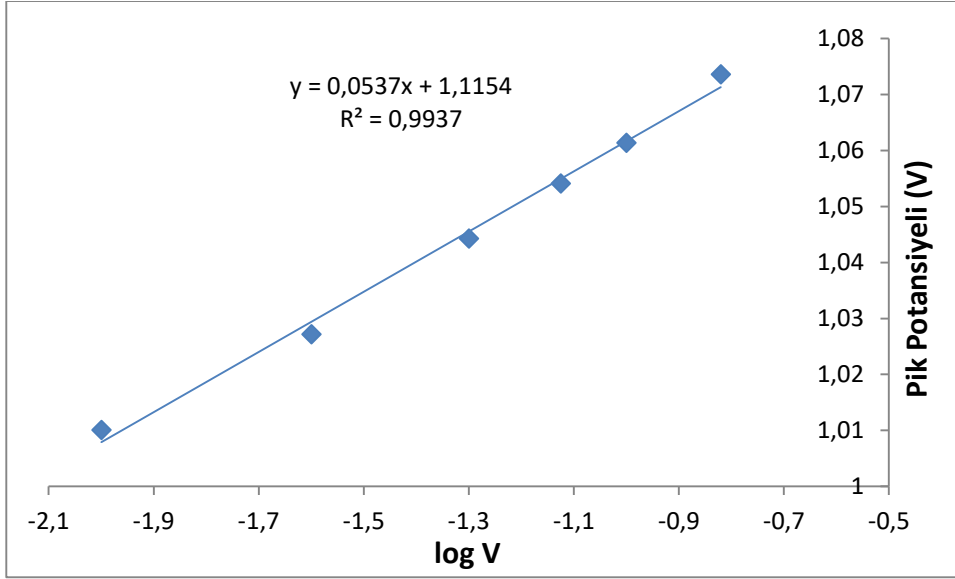
Şekil 3.16: 10 mV/s – 600 mV/s aralığında tarama hızına bağlı pik potansiyel grafiği.



Şekil 3.17: 100mV/s – 350 mV/s aralığında doğrusal değerlerle oluşturulan tarama hızına bağlı pik potansiyel grafiği.



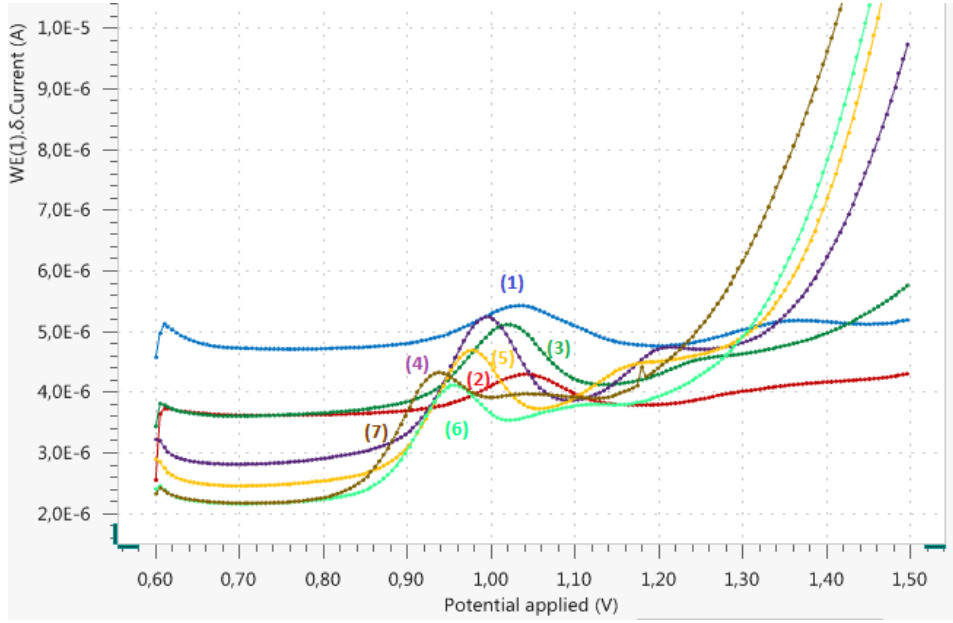
Şekil 3.18: Tarama hızının logaritma değerine bağlı pik potansiyel grafiği.



Şekil 3.19: 10 mV/s – 150 mV/s doğrusal değerlerle oluşturulan tarama hızı logaritmasına bağlı pik potansiyel grafiği.

3.5 Pik Akımına pH Etkisi

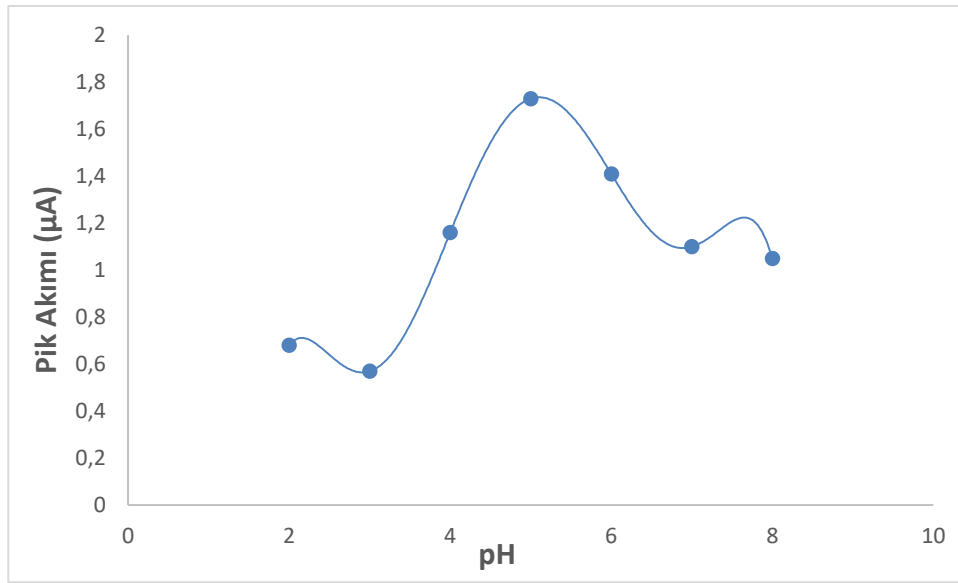
EBT/PGE elektrot ile son derişimleri 0.04 M BR tamponu, 1.10^{-4} M ATOR %40 metanol olacak şekilde pH = 2 – 8 aralığında alınan DP voltammogramları Şekil 3.20’de, bu voltammogramlardan elde edilen pik akımları ve pik potansiyeli değerleri Tablo 3.5’te ve buna bağlı I_p - pH grafiği Şekil 3.21’de, E_p – pH grafiği ise Şekil 3.22’de verildi.



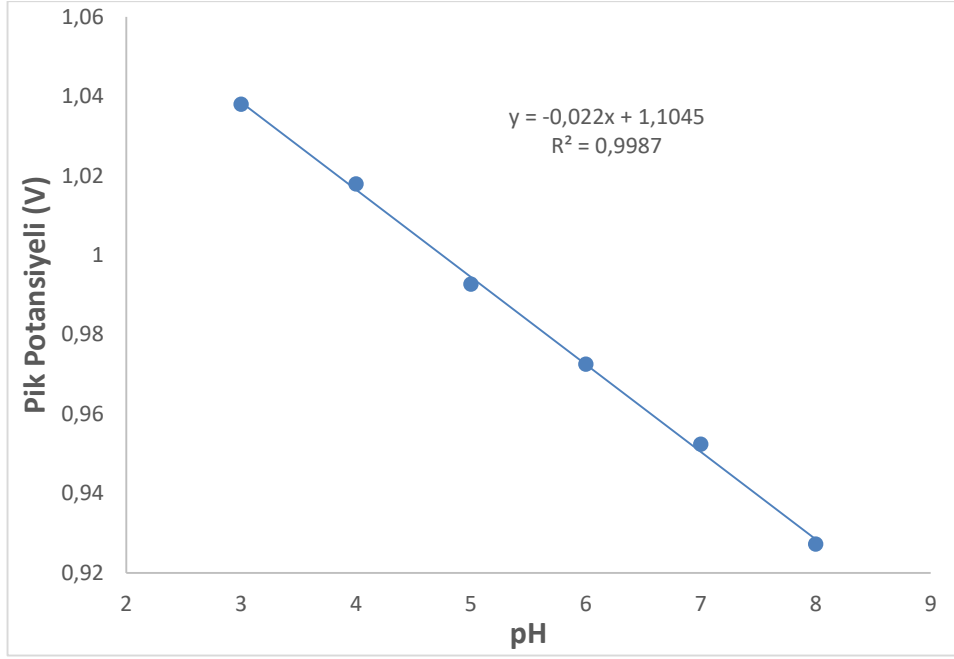
Şekil 3.20: EBT modifiye PGE' nin pH değerlerine göre davranışları, (1) pH = 2, (2) pH = 3, (3) pH= 4, (4) pH=5, (5) pH= 6, (6) pH = 7, (7) pH = 8 (1×10^{-4} M ATOR, 0.04 M BR tamponu, t_d : 5 s, $E_{baş}$: + 600 mV, E_{bit} : + 1500 mV, Tarama Hızı: 10 mV/s, E_{step} : 5 mV, DP).

Tablo 3.5: ATOR'un pH değerlerine göre pik akım ve pik potansiyel değerleri.

pH	Pik Akımı (μA)	Pik Potansiyeli (V)
2	0,68	1,038
3	0,57	1,038
4	1,16	1,018
5	1,73	0,993
6	1,41	0,973
7	1,10	0,952
8	1,05	0,927



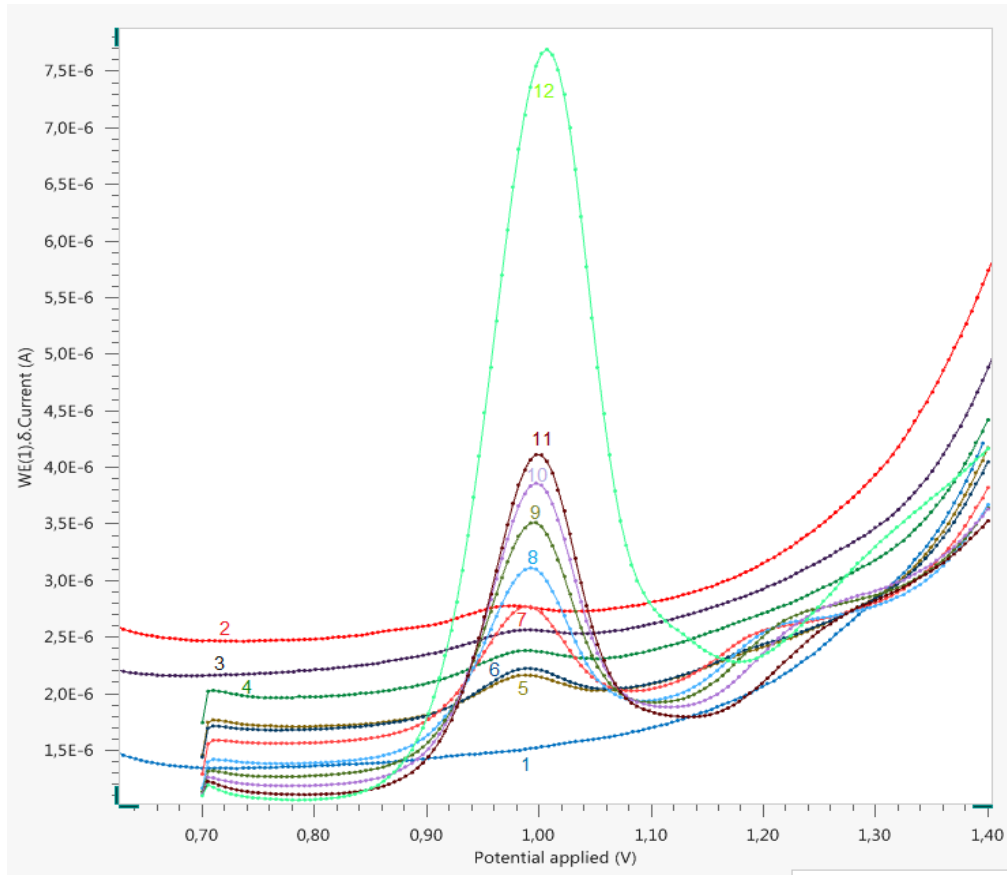
Şekil 3.21: pH'a bağlı pik akım grafiği.



Şekil 3.22: pH'a bağlı pik potansiyel grafiği.

3.6 Kalibrasyon Grafiği

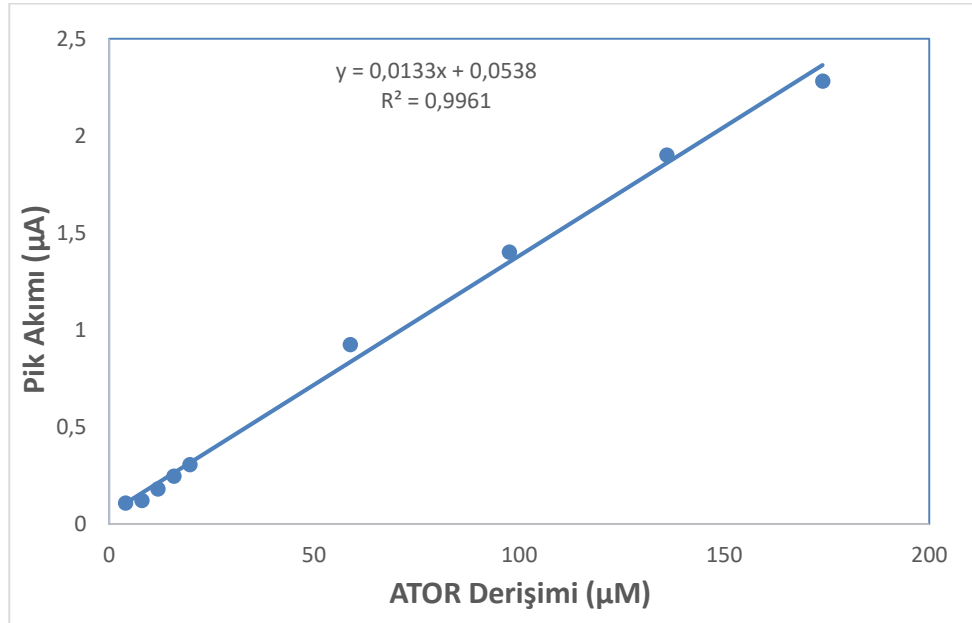
Optimum koşullarda 4×10^{-6} M - $2,5 \times 10^{-4}$ M arasında 11 farklı derişimde ATOR çözeltilerinin + 600 mV ile + 1400 mV potansiyel aralığında DP voltammogramları alınarak kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Elde edilen voltammogramları Şekil 3.23'te, bu voltammogramlardan her bir derişim için ölçülen akım değerleri Tablo 3.6'da ve buna göre çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 3.24'te verildi.



Şekil 3.23: ATOR'un kalibrasyon grafiğine ait voltammogramları, (1) %50 metanol ve pH=5 BR tamponu ile alınan kör sinyali (2) 4×10^{-6} M, (3) $7,97 \times 10^{-6}$ M, (4) $1,19 \times 10^{-5}$ M, (5) $1,58 \times 10^{-5}$ M, (6) $1,97 \times 10^{-5}$ M, (7) $5,88 \times 10^{-5}$ M, (8) $9,76 \times 10^{-5}$ M, (9) $1,36 \times 10^{-4}$ M (10) $1,74 \times 10^{-4}$ M, (11) $2,12 \times 10^{-4}$ M, (12) $2,5 \times 10^{-4}$ M, (pH: 5 0,04 M BR tamponu, $E_{baş}$: +600 mV, E_{bit} : +1400 mV, tarama hızı: 10mV/s, t_d : 5 s, E_{step} : 5 mV, DP).

Tablo 3.6: Kalibrasyon grafiği için ATOR'un derişimine bağlı pik akım ve potansiyel değerleri.

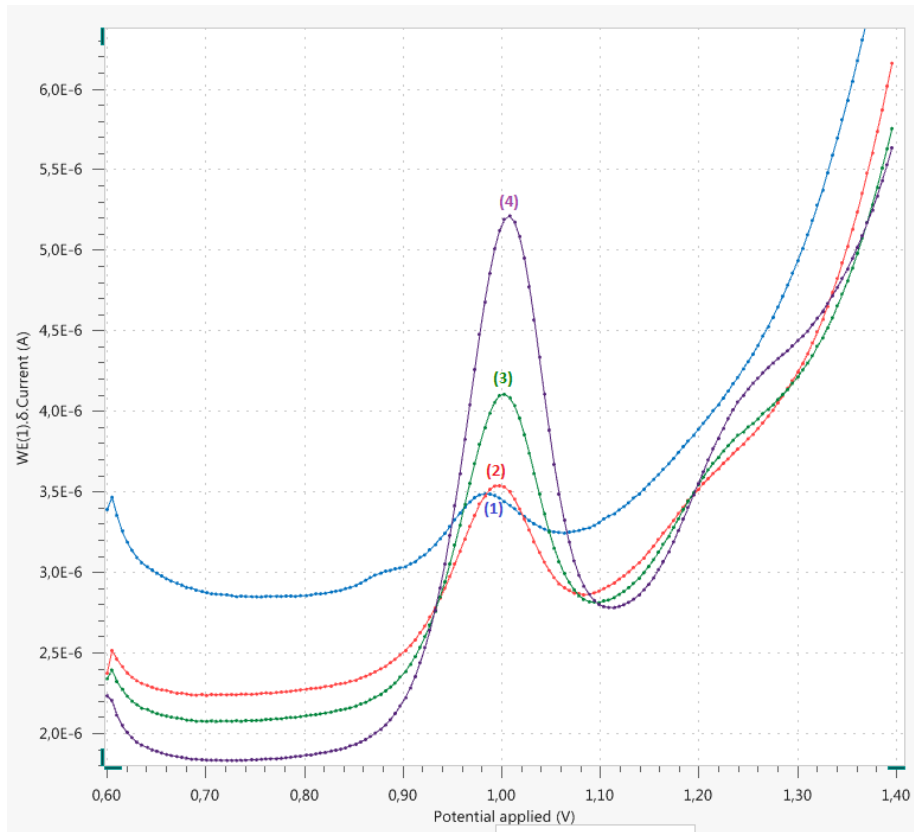
Ator Derişimi (mol/L)	Pik Akımı (μA)	Pik Potansiyeli (V)
$4,00 \cdot 10^{-6}$	0,108	0,96756
$7,97 \cdot 10^{-6}$	0,12	0,97763
$1,19 \cdot 10^{-5}$	0,180	0,98206
$1,58 \cdot 10^{-5}$	0,246	0,98206
$1,97 \cdot 10^{-5}$	0,306	0,98709
$5,88 \cdot 10^{-5}$	0,924	0,98709
$9,76 \cdot 10^{-5}$	1,4	0,99213
$1,36 \cdot 10^{-4}$	1,90	0,99213
$1,74 \cdot 10^{-4}$	2,28	0,99716
$2,12 \cdot 10^{-4}$	2,64	0,99716
$2,50 \cdot 10^{-4}$	6,01	1,0072



Şekil 3.24: Kalibrasyon grafiği.

3.7 Örnek Uygulamaları

Tabletlerdeki ATOR miktarının belirlenmesi için örnek olarak hazırlanan ATOR tablet çözeltisinden 50 μL alınarak pH: 5 BR tamponlu ortamda %40 metanol içerecek şekilde çözelti hazırlandı. 1×10^{-2} M stok ATOR çözeltisinden 40 μL olacak şekilde 3 standart eklenerek voltammogramları alındı ve bu deneme 5 kez tekrarlanarak hesaplamaları yapıldı. Voltammogramlar Şekil 3.25'te ve bulunan ATOR (mg) değerleri, % gerçeklik (%G), % bias ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri Tablo 3.7'de verilmiştir.



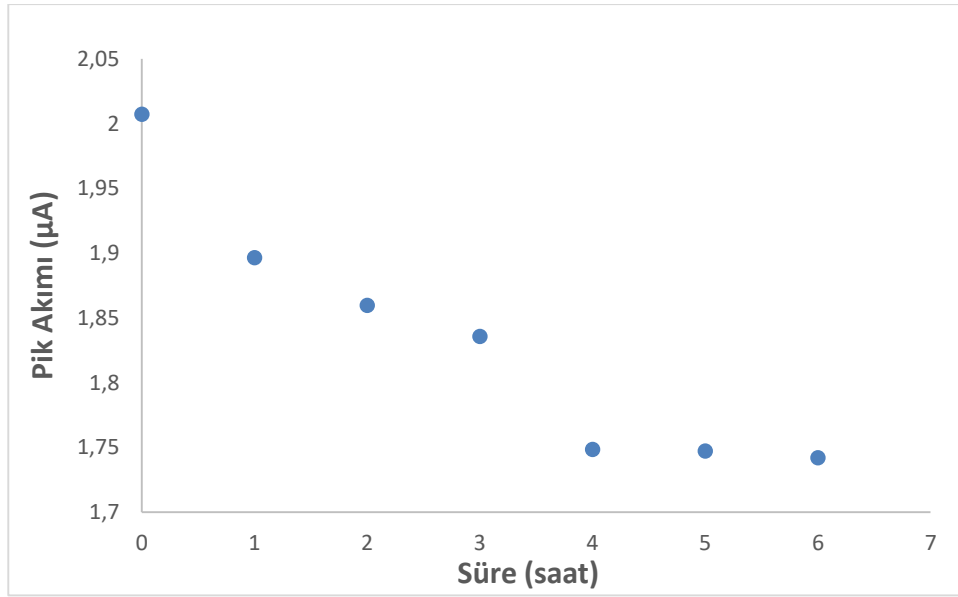
Şekil 3.25: ATOR tablet örneğine standart katma yöntemiyle alınan voltammogramlar, (1) 0 μL , (2) +40 μL 1×10^{-2} M ATOR, (3) +40 μL 1×10^{-2} M ATOR, (4) +40 μL 1×10^{-2} M ATOR (pH: 5 0,04 M BR tamponu, örnek ATOR tablet, $E_{\text{baş}}$: +600 mV, E_{bit} : +1400 mV, t_d : 5 s, E_{step} : 5 mV, tarama hızı: 10 mV/s, DP).

Tablo 3.7: ATOR tabletlerinin bulunan (mg) değerleri, %G, %Bias, %R ve %BSS.

Örneğin Tekrar Sayısı	Etiket değeri ATOR (mg)	Bulunan ATOR (mg)	%G (Gerçeklik)	%Bias	%BSS (Bağıl Standart Sapma)
1	10	9,64	96,4	3,6	
2	10	10,09	100,09	0,9	
3	10	9,64	96,4	3,6	
4	10	9,42	94,2	5,8	
5	10	9,61	96,1	3,9	
ortalama	10	9,68	96,8	3,2	2,58
	Eklenen ATOR (mg/L)	Bulunan ATOR (mg/L)	%R (Geri Kazanım)		
	6,37	6,81	107	-	-
	67,03	69,83	104	-	-

3.8 Elektrot Kararlılığı

Hazırlanan EBT/PGE elektrodunun kararlılığını gözlemlemek için son derişimleri 0.04 M BR tamponu, 1×10^{-4} M ATOR %40 metanol olacak şekilde 1 saat aralıklarla ATOR'un DP voltammogramları alındı. Bu voltammogramlardan pik akımları ölçüldü ve zamana karşı pik akım grafiğı çizilerek Şekil 3.26'da verildi.



Şekil 3.26: Zamana karşı pik akım grafiğı.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

4.1 EBT Modifiye Kalem Grafit Elektrot (EBT/PGE)'un Hazırlanması ve Karakterizasyonu

EBT/PGE elektrodunun hazırlanması için literatürde iki farklı yöntem önerilmiştir. Bunlardan bir tanesi önce 10^{-3} M EBT ve 0.05 M H_2SO_4 ortamda -400 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında yeterince döngü sayısında daha sonra 10^{-3} M EBT ve 10^{-2} M NaOH ortamda yeterince döngü sayısında -400 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında döngüsel voltammogram alma şeklindedir [24]. Diğerinde ise sadece 10^{-3} M EBT ve 10^{-2} M NaOH ortamda yeterince döngü sayısında -400 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında döngüsel voltammogram alma şeklindedir [25]. Bu çalışmada birinci yol tercih edilmiştir. Asidik ortamda kaydedilen voltammogramlarda (Şekil 3.1) anodik yönde +0,32 V civarındaki ve katodik yönde +0,28 V civarındaki piklerin giderek artması ve sabitlenmesi ve bazik ortamda sabit bir zemin elde edilinceye kadar ve akımların döngü sayısı arttıkça azalmasından (Şekil 3.2) elektropolimerizasyonun gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Literatürde asidik ortamda elde edilen voltammogramla ilgili bir bilgi verilmemiştir. Bazik ortamda elde edilen voltammogramı ise literatürde verilenle benzerlik göstermektedir.

Elektropolimerizasyonun, dolayısıyla EBT/PGE elektrot hazırlanma işleminin gerçekleşip gerçekleşmediğini görmek için yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarının Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'deki SEM görüntüleri karşılaştırıldığında her iki yüzeyin birbirinden net bir şekilde farklı olduğu görülmektedir. Ayrıca yine yalnız PGE ve EBT/PGE elektrotlarının 0,1 M KCl ve 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$ ortamındaki döngüsel voltammogramları (Şekil 3.5) ve 1×10^{-4} M ATOR'un 0.04 M pH=5 olan BR tamponunda %40 metanol ortamında DP voltammogramları (Şekil 3.6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında EBT/PGE elektrodunun pik akımlarının yalnız PGE elektroduna göre arttığı görülmektedir. Ayrıca DP voltammogramlarında EBT/PGE elektrodunda elde edilen pikin daha simetrik (gaussian) bir pik görünümünde olduğu yalnız PGE elektrottaki pik akımının ise simetrisinin bozuk olduğu görülmektedir. Buradan gerek pik akımının yüksek olması ve gerekse pik şeklinin daha düzgün olması nedeniyle EBT/PGE elektrodunun yalnız PGE elektroduna göre daha doğru ve

duyar ATOR tayini için kullanılabileceği anlaşılmaktadır. Buna ek olarak EBT/PGE elektrodunun camı karbon elektroduna göre çok daha ucuz ve yüzey temizliği gibi önışlem gerektirmemesi, camı karbon modifiye elektrotlara göre (karbon nanotüp, grafen, metal oksit) daha kolay hazırlanması, karbon pasta ve onun olası modifiye elektrotlarının zaman alıcı hazırlanma aşamalarını içermemesi gibi üstünlükleri vardır. Bu nedenlerle herhangi bir matrikste herhangi bir analitin tayini için kabul edilebilir bir doğruluk ve beklenen duyarlık sağlandığında PGE ve PGE modifiye elektrotlar öncelikli olarak önerilmelidir.

4.2 Döngü Sayısının Pik Akımına Etkisi

Son derişimleri 1.10^{-3} M EBT ve 0.05 M H_2SO_4 olan asidik çözelti ve 1×10^{-3} M EBT, 1×10^{-2} M NaOH olan bazik çözeltide ayrı ayrı olmak üzere -400 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında 5, 10, 15, 20, 25, 30 döngü sayılarında 100 mV/s tarama hızlarında alınan döngüsel voltammetrik teknikle hazırlanan EBT/PGE elektrotlarının her birinin ayrı ayrı ATOR çözeltilerindeki DP voltammogramlarının alınmasıyla elde edilen ve Şekil 3.8’de verilen grafikten pik akımlarının döngü sayısı 20’de maksimum yaptığı görülmektedir. Bu nedenle 20 döngü sayısı ATOR tayini için EBT/PGE elektrodu hazırlama işleminde optimum olarak alınmıştır.

4.3 EBT/PGE Elektrodunun Elektrot Alan Hesabı

Hazırlanan EBT/PGE elektrot alan hesabı 0,1 M KCl ve 10^{-3} M $K_3Fe(CN)_6$ içeren çözeltinin farklı tarama hızlarında döngüsel voltammogramları alınarak tersinir bir tepkime için aşağıda verilen Randless-Sevcik eşitliğine göre hesaplandı;

$$I_p = 0,4463 \left(\frac{F^3}{RT} \right)^{1/2} n^{3/2} A_0 D_0^{1/2} C_0 V^{1/2} \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte $T = 298$ K, $R = 8,314$ JK⁻¹mol⁻¹, $F = 96485$ Cmol⁻¹, $n = 1$ ve $D_0 = 7,6 \times 10^{-6}$ s⁻¹ alınarak ve Şekil 3.11’de gösterilen $I_p - V^{1/2}$ grafiğinin doğru denklemi $y = 3,2201V^{1/2} + 3,4481$ ($R^2 = 0,999$) şeklindedir. Bu doğru denkleminde her bir tarama hızı ve buna karşılık gelen akım değerleri yerine konularak elektrot aktif yüzey alanı (A_0) hesaplandı ve ortalaması alınarak $1,037 \pm 0,019$ olarak

bulundu. Literatürde CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) varlığında karbon pasta elektrodu ile ATOR tayini yönteminde elektrot alanı aynı yöntemle 0,1348 cm² olarak hesaplandığı belirtilmiştir [23]. Buradan EBT/PGE elektrodunun aktif yüzey alanının CPE elektrodundan daha büyük olduğu görülmektedir.

4.4 ATOR'un EBT/PGE Elektrodundaki Elektrokimyasal Davranışı

$E_p = f(V)$ grafiğinden 0,1 V/s – 0,35 V/s aralığında doğrusal olarak değişim göstermektedir. Bu doğrunun denklemi $E = 0,1729 V + 1,0453 (R^2 = 0,9925)$ dir. $E_p - V$ grafiğinde E_p eksenini kestiği nokta $E^{0'}$ değerini vermektedir. (Şekil 3.17) Buna göre ATOR'un pEBT - PGE'deki yükseltgenmesine ait formal potansiyel ($E^{0'}$) 1,0453 V olarak bulunmuştur [23,26]. Bu değer literatürde ATOR'un karbon pasta elektrodunda ve CTAB varlığında yükseltgenmesi için bulunan değerle uyumludur. (1,043 ± 0,06 V)

Diğer taraftan tersinmez bir elektrot tepkimesi için pik potansiyeli ile tarama hızının logaritması arasındaki ilişki Laviron eşitliğinden hesaplanabilmektedir.

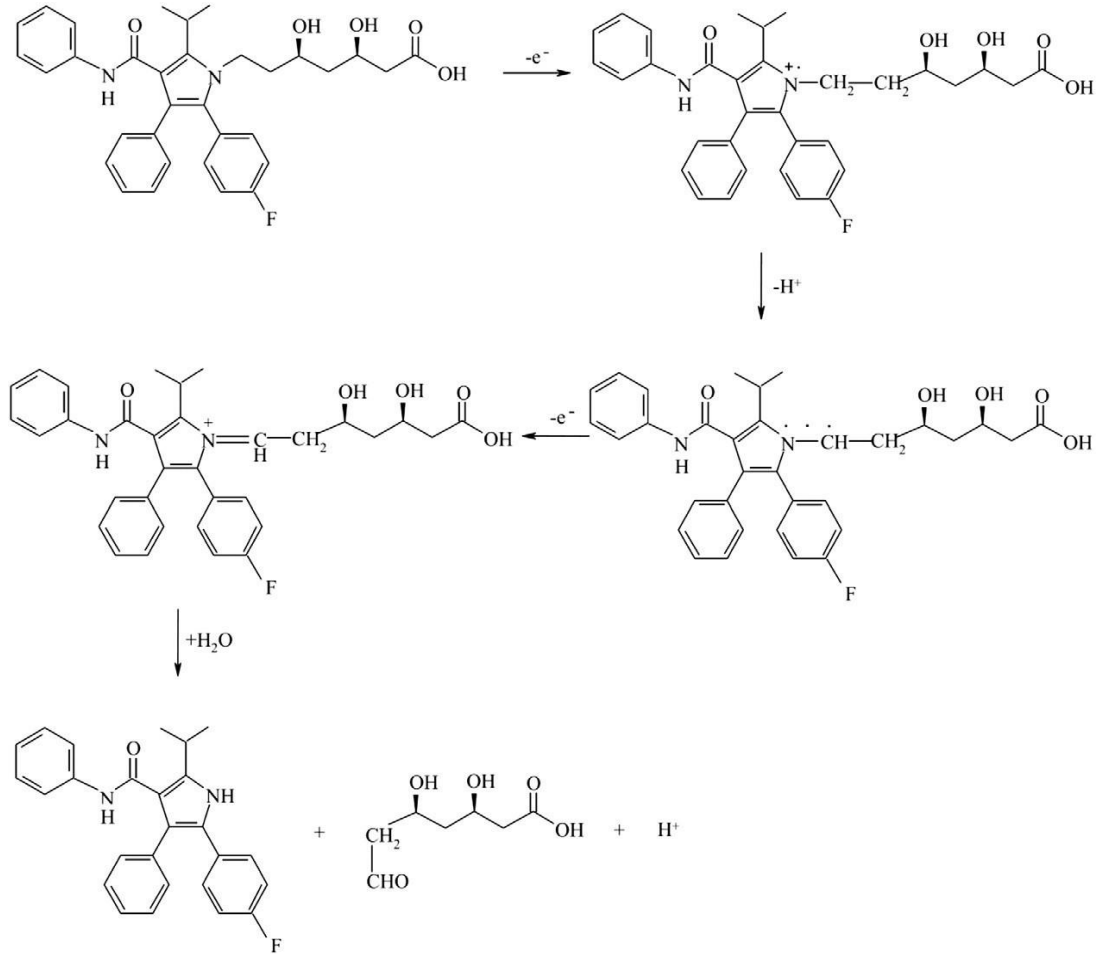
$$E_p = E^{0'} + \frac{2,303RT}{\alpha nF} \log \frac{RTk^0}{\alpha nF} + \frac{2,303RT}{\alpha nF} \log V \quad (4.2)$$

$E_p = f(\log V)$ grafiği tarama hızının 10 mV/s – 150 mV/s ($\log V = -2, -0,82$) olduğu aralıkta doğrusal olarak değişmekte ve doğru denklemi Şekil 3.19'dan aşağıdaki gibi elde edilmiştir;

$$E_p = 0,0537 \log V + 1,1154 (R^2 = 0,9937) \quad (4.3)$$

Bu eşitlik yardımıyla αn ve k_s hesaplanabilmektedir. Buna göre yapılan hesaplamalar sonucunda $\alpha n = 1,1$ ve $k_s = 865 \text{ s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Tersinmez bir elektrot tepkimesi için $\alpha = 0,5$ kabul edilerek tepkimenin elektron sayısı $n=2,2$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlarda literatürdeki verilerle örtüşmektedir. ATOR'un EBT/PGE elektrottaki tersinmez yükseltgenme tepkimesi için hesaplanan k_s değeri (865 s^{-1}) literatürde aynı tepkimenin nanosilikamodifiye CPE ve ZnO/NS/CPE elektrotlardaki yükseltgenme tepkimesi için sırasıyla 835 s^{-1} ve 995 s^{-1} olarak verilmiştir [26].

ATOR'un EBT/PGE elektrodundaki yükseltgenme tepkimesi ile ilgili yukarıda elde edilen α , n ve k_s değerleri literatürdeki verilerle uyum göstermektedir. Bu nedenle ATOR'un yükseltgenme tepkimesi ile ilgili tepkime mekanizmasında literatürde verilenle aynı ve aşağıdaki şekilde olacağı görülmektedir.



Şekil 4.1: ATOR'un tepkime mekanizması [22].

4.5 Pik Akımına pH Etkisi

EBT/PGE elektrodu ile ATOR'un son derişimi 1.10^{-4} M, BR tamponu 0,04 M ve %40 metanol içerecek şekilde hazırlanan çözeltinin pH 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 değerlerinde ayrı ayrı alınan DP voltammogramları ve buna göre çizilen ve Şekil 3.21'de verilen $I_p - pH$ grafiği incelendiğinde pik akımının pH ile arttığı ve pH = 5'te maksimum yaptığı görülmektedir. Bu nedenle EBT/PGE elektrodu ile ATOR'un yükseltgenmesi için pH = 5 optimum değer olarak alınmıştır.

4.6 Kalibrasyon Grafiği ve Örnek Uygulamaları

Optimum koşullarda 4×10^{-6} M - $2,5 \times 10^{-4}$ M arasında 11 farklı derişimde ATOR çözeltilerinin +600 mV ile +1400 mV potansiyel aralığında DP voltammogramları alınarak Şekil 3.24'te verilen kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemi $I_p (\mu A) = 0,0133 (\pm 7,44 \times 10^{-4}) C_{ATOR} + 0,0538 (\pm 0,062)$ ve varyasyon katsayısı, R^2 , 0,9961 olarak bulunmuştur. Yöntemin dedeksiyon limiti ve tayin sınırı 8×10^{-6} M ATOR derişimi için 5 tekrarlı voltammogramdan elde edilen akımların standart sapması esas alınarak (3s ve 10s) sırasıyla 2×10^{-6} M - $6,7 \times 10^{-6}$ M olarak hesaplanmıştır. LOD ve LOQ hesaplama yöntemi olarak kalibrasyon grafiğinin standart sapması ve sinyal/gürültü oranı yaklaşımları da denenmiş, ancak uyumlu sonuç elde edilememiştir. Yöntemimizle uyumlu sonuçlar sadece kalibrasyon grafiğinin en düşük ATOR derişiminin standart sapması için elde edilmiştir. Yöntem 10 tablet içeren örnekten alınan 5 tekrarlı ölçüm ile tabletteki ATOR miktarının tayini için uygulanmıştır. Elde edilen sonuçların verildiği Tablo 3.7'den ATOR içeriği etiket değeri 10 mg/Tablet olan örnek için ortalama ATOR miktarı $9,68 \pm 0,25$ mg, gerçeklik %96,8, bias 3,2 ve %BSS 2,58 olarak hesaplanmıştır. Genel olarak gerçekliğin % 95 – % 105 arasında ve % BSS'nin % 10'dan küçük olması bir analitik yöntem için kabul edilen kriterlerdir. Bu çalışmada ATOR tayini için geliştirilen EBT/PGE elektrodunun kullanıldığı voltammetrik yöntem ile elde edilen gerçeklik ve %BSS değerlerinin bu kriterlere uygun olması bu yöntemin tabletlerde ATOR tayini için kabul edilebilir sonuç verdiğini göstermektedir. Bu sonuçlar aynı zamanda tabletlerde ATORCa dışında

bulunan diğerk kimyasalların yönteme önemli bir girişiminin olmadığını da göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada ucuz bir karbon esaslı elektrot malzemesi olan kalem grafit EBT ile modifiye edilerek ilaç tabletlerinde ATOR tayini için voltammetrik bir yöntem geliştirilmiştir. Yöntemin ilaç tabletlerinde ATOR tayini için uygulanmasında gerek elektrot hazırlanması ve gerekse deneysel parametreler (ph, destek elektrolit, potansiyel tarama modu) optimize edilmiştir. Ayrıca hazırlanan elektrodun alanı, bu elektrotta ATOR'un elektrokimyasal davranışı (tarama hızının etkisi, elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı, heterojen hız sabiti (k_0), elektron transfer katsayısı (α), formal potansiyeli ($E^{0'}$)) hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntemin dedeksiyon limiti varolan cıva esaslı elektrotların kullanıldığı polarografik yöntemlerin ve bazı adsorpsiyona dayalı ve doğrudan potansiyel taramaya dayalı karbon esaslı elektrotların kullanıldığı voltammetrik yöntemlerin dedeksiyon limitlerinden daha iyi olduğu görülmektedir. EBT/PGE elektrodunun ucuz olması ve kolay hazırlanması nedeniyle daha pahalı, yüzey temizliği gibi zaman alıcı önişlem gerektiren camsı karbon elektrot ve onun destek olarak kullanıldığı diğerk modifiye elektrotlara alternatif olarak kullanılabilceği gösterilmiştir. Yöntem ilaç tabletlerinde ATOR tayini için yeterince duyar ve doğru sonuç vermektedir.

4.7 Elektrot Kararlılığı

Hazırlanan EBT/PGE elektrodunun kararlılığını gözlemlemek için 1 saat aralıklarla alınan ATOR'un pik akımlarının zamana karşı değişim grafiğinde (şekil 3.26) akımın zamanla azalma gösterdiği ve 4. Saatin sonunda belli bir akım değerinde sabitlendiği gözlemlendi. İlk 4 saatlik sürede pik akımlarındaki kayıplar sırasıyla %5, %7, %8 ve %12 olarak hesaplanmıştır. Burdan hazırlanan EBT/PGE elektrodunun ilk 3 saatte minimum kayıplar olduğu ve bu sürede oldukça kararlı bir kaplama işleminin gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Tablo 4.1: Atorvastatinin voltammetrik yöntemle yapılan tayinlerinden bazı örneklerle bu çalışmanın karşılaştırılması.

Teknik	Örnek	Çalışma Elektrodu	Ortam	LOD (M)	Referans
DPP	İlaçlar, saf örnekler	HMDE	pH 7.50, boraks tamponu	2.33 nM	16
DPP	İlaçlar, saf örnekler	SMDE	pH 7.50, boraks tamponu	42.9 µM	17
DPP	İlaçlar, saf örnekler	DME	pH 7.50, boraks tamponu	0.23 mM	18
AdsDPV, AdsSWV	İlaçlar, çivili insan plazması	GCE	pH 2, BR tamponu	4.0 nM, 2.0 nM	15
DPV, SWV	Film kaplı tabletler	GCE	pH 5, BR tamponu, 20% metanol	0.595 µM, 0.47 µM	19
AdsSWV; AdsDPV	Tabletler, insan kan serumu, idrar	GCE	pH 2.5, BR tamponu	6.55 µM, 0.153 µM	20
DPV, SWV; DPV, SWV	Tabletler, insan serumu, idrar	GCE BDDE	0.1 M H ₂ SO ₄	0.211 µM, 0.205 µM, 0.227 µM, 0.131 µM	21
LSV	İlaçlar, insan plazması	GCE modified with PPY and CNTs	pH 2, BR tamponu	1.5 nM	22
DPV	İlaçlar, idrar	CPE in the presence CTAB	pH 3.0, fosfat tamponu	4.08 nM	23
AdsDPV	İlaçlar, biyolojik örnekler	VACNT-GOE	pH 2, fosfat tamponu, 20% metanol	9.4 nM	6
DPV	Tablet	EBT/PGE	pH = 5, BR tamponu, %40 metanol	2 µM	Bu çalışmada

5. KAYNAKLAR

- [1] Adili Osmani, L., “Atorvastatin’in Diyabetik Sıçan Ovaryumları Üzerinde Biyokimyasal Ve Histolojik Etkilerinin İncelenmesi”, Doktora Tezi, *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Kocaeli, (2018).
- [2] Saygılı Kaya, M.B., “Ratlarda Amikasin İle Oluşturulan Ototoksisite Modelinde Atorvastatinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Deneysel Hayvan Çalışması”, Tıpta Uzmanlık Tezi, *Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Kulak Burun Boğaz Kliniği*, Ankara, (2018).
- [3] Antal, I., Koneracka, M., Zavisova, V., Kubovcikova, M., Kormosh, Z. and Kopcansky, P. “Statins determination: a review of electrochemical techniques”, *Critical reviews in analytical chemistry*, 47(6), 474-489, (2017).
- [4] Çakmak, B. A., “Sağlıklı bireylerden alınan periferik kanda in-vitro koşullarda atorvastatinin etkileri“, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, (2011).
- [5] Kaban, S., “Atorvastatin Etkin Maddesinin Farmasötik Preparatlarda Spektrofotometri Ve Voltametri Yöntemleri İle Miktar Tayini” Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Erzurum, (2015).
- [6] Silva, T. A., Zanin, H., Vicentini, F. C., Corat, E. J. and Fatibello-Filho, O., “Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of nanomolar levels of atorvastatin calcium in pharmaceutical and biological samples using a vertically aligned carbon nanotube/graphene oxide electrode”, *Analyst*, 139(11), 2832-2841, (2014).

- [7] Öztekin, Y., “Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli fenantrolin türevlerinin modifikasyonu, yüzey karakterizasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2008).
- [8] Mülazımoğlu, İ.E., “Camsı Karbon Elektrot Yüzeyine Çeşitli Flavonoid Türevlerinin Modifikasyonu, Yüzey Karakterizasyonu, Elektrokimyasal Ve Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi”, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Konya, (2008).
- [9] Erik, E.Z., “Tifensülfüron-Metil Herbisitinin Diferansiyel Puls Polarografisiyle Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2007).
- [10] Şahin, İ., “Voltammetrik Yöntemlerle Bor Tayini Ve Uygulamaları”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2007).
- [11] Güney, S., “Modifiye Elektrotların Geliştirilmesi ve Voltammetrik Tayinlerde Kullanılmalarının İncelenmesi”, Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, (2010).
- [12] Yaman, S., “Altın Disk Elektrotta Anodik Sıyırma Voltammetrisi İle Antimon Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2017).
- [13] Berber, E., “Cıva Kaplanmış Polimer / Grafit Kompozit Elektrotlarla Bazı Ağır Metal İyonlarının Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, (2008).
- [14] Karabilgin, E.E., “Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde 4-Nitro-1-Naftilaminin Elektrokimyasal Oksidasyonu ile Yeni Bir Modifiye Elektrot Hazırlanması”, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Konya, (2012).

- [15] Erk, N., “Development of electrochemical methods for determination of atorvastatin and analytical application to pharmaceutical products and spiked human plasma”, *Critical reviews in analytical chemistry*, 34(1), 1-7, (2004).
- [16] Ramadan, A. A., Mandil, H. and Hafez, B., “ Effect of hanging mercury drop electrode on differential pulse polarographic analysis of atorvastatin in pharmaceuticals using borax buffer at pH7.50”, *Int J Pharmacy and Pharm Sci*, 4(5), 540-546, (2012).
- [17] Ramadan, A. A., Mandil, H. and Hafez, B. “Differential pulse polarography of atorvastatin in pure and pharmaceutical dosage forms using static mercury drop electrode”, *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(1), 434-440, (2013).
- [18] Ramadan, A. A., Mandil, H. and Hafez, B., “Differential pulse polarographic determination of atorvastatin in pharmaceutical dosage forms using dropping mercury electrode”, *Asian Journal of Chemistry*, 25(6), 3467, (2013).
- [19] Dogan-Topal, B., Bozal, B., Demircigil, B. T., Uslu, B. and Ozkan, S. A., “Electroanalytical Studies and Simultaneous Determination of Amlodipine Besylate and Atorvastatine Calcium in Binary Mixtures Using First Derivative of the Ratio-Voltammetric Methods” *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 21(22), 2427-2439, (2009).
- [20] Eskiköy, D., Durmuş, Z. and Kiliç, E., “Electrochemical oxidation of atorvastatin and its adsorptive stripping determination in pharmaceutical dosage forms and biological fluids” *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 76(12), 1633-16490, (2012).
- [21] Dogan-Topal, B., Uslu, B. and Ozkan, S. A., “Investigation of electrochemical behavior of lipid lowering agent atorvastatin calcium in aqueous media and its determination from pharmaceutical dosage forms and biological fluids using boron-doped diamond and glassy carbon electrodes”, *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, 10(7), 571-582, (2007).

- [22] Kamalzadeh, Z. and Shahrokhian, S., "Electrochemical determination of atorvastatin on nano-scaled polypyrrole film", *Bioelectrochemistry*, 98, 1-10, (2014).
- [23] Abbar, J. C. and Nandibewoor, S. T., "Voltammetric oxidation and determination of atorvastatin based on the enhancement effect of cetyltrimethyl ammonium bromide at a carbon paste electrode", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106, 158-164, (2013).
- [24] Chandra, U., Swamy, B. K., Gilbert, O., Reddy, S. and Sherigara, B. S., "Determination of dopamine in presence of uric acid at poly (eriochrome black T) film modified graphite pencil electrode", *American Journal of Analytical Chemistry*, 2(02), 262, (2011).
- [25] Khashaba, P. Y., Ali, H. R. H. and El-Wakil, M. M., "A New and Cost Effective Approach for Simultaneous Voltammetric Analysis of two Related Benzimidazole Drugs and their Determination in Biological Fluids", *Electroanalysis*, 29(6), 1643-1650, (2017).
- [26] Bukkitgar, S. D., Shetti, N. P. and Kulkarni, R. M., "Construction of nanoparticles composite sensor for atorvastatin and its determination in pharmaceutical and urine samples", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 1462-1470, (2018).