

**ANALİTİK KİMYA VE
BİYOKİMYA ARAŞTIRMALARINDA
GÜNCEL YÖNTEMLER VE UYGULAMALAR**

GONCA KAVGACI

EĞİTİM
yayınevi

**ANALİTİK KİMYA VE BİYOKİMYA ARAŞTIRMALARINDA
GÜNCEL YÖNTEMLER VE UYGULAMALAR**

Gonca Kavgacı

Yayınevi Grubu Genel Başkanı: Yusuf Ziya Aydođan (yza@egitimyayinevi.com)

Genel Yayın Yönetmeni: Yusuf Yavuz (yusufyavuz@egitimyayinevi.com)

Sayfa Tasarımı: Kübra Konca Nam

Kapak Tasarımı: Eğitim Yayınevi Tasarım Birimi

T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı

Yayıncı Sertifika No: 76780

E-ISBN: 978-625-8793-50-5

1. Baskı, Haziran 2026

Kütüphane Kimlik Kartı

**ANALİTİK KİMYA VE BİYOKİMYA ARAŞTIRMALARINDA
GÜNCEL YÖNTEMLER VE UYGULAMALAR**

Gonca Kavgacı

E-ISBN: 978-625-8793-50-5

V+71 s., 135x215 mm

Kaynakça var, dizin yok.

Copyright © Bu kitabın Türkiye'deki her türlü yayın hakkı Eğitim Yayınevi'ne aittir. Bütün hakları saklıdır. Kitabın tamamı veya bir kısmı 5846 sayılı yasanın hükümlerine göre kitabı yayımlayan firmanın ve yazarlarının önceden izni olmadan elektronik/mekanik yolla, fotokopi yoluyla ya da herhangi bir kayıt sistemi ile çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

EĞİTİM
yayınevi

Yayınevi Türkiye Ofis:

Konya: Eğitim Yayınevi Tic. Ltd. Şti., Fevzi Çakmak Mah. 10721 Sok. B Blok, No: 16/B, Safakent, Karatay, Konya, Türkiye

İstanbul: Salon Yayınları, Atakent mah., Yasemen sok., No: 4/B, Ümraniye, İstanbul, Türkiye

Santral: +90 332 351 92 85

Editör hatları: +90 533 151 50 42, +90 507 151 50 43

bilgi@egitimyayinevi.com

Yayınevi Amerika Ofis: New York: Egitim Publishing Group, Inc.

P.O. Box 768/Armonk, New York, 10504-0768, United States of America
americaoffice@egitimyayinevi.com

Lojistik ve Sevkiyat Merkezi: Kitapmatik Lojistik ve Sevkiyat Merkezi, Fevzi Çakmak Mah. 10721 Sok. B Blok, No: 16/B, Safakent, Karatay, Konya, Türkiye

İnternet Satış: www.kitapmatik.com.tr

Whatsapp hattı: +90 553 950 50 37

bilgi@kitapmatik.com.tr

Kitabevi Şubesi: Eğitim Kitabevi, Şükran mah. Rampalı 121, Meram, Konya, Türkiye

Whatsapp hattı: +90 501 651 92 85

bilgi@egitimkitabevi.com

EĞİTİM YAYINEVİ
GRUBU

EĞİTİM
yayınevi

SALON
yayıncılık

Kitapmatik
Eğitim

kitapmatik
Eğitim

EĞİTİM
kitabevi

İÇİNDEKİLER

ÖZ GEÇMİŞ	IV
ÖNSÖZ	V

BÖLÜM 1

Bazı Hayvan Türlerine ait Zehirlerin Peptitlerinin Farklı Kanser Hücreleri Üzerindeki Antikanser Mekanizmaları.....	1
1.1. GİRİŞ	2
1.2. Kaynaklar	16

BÖLÜM 2

Instrumental Analyses of Some Experiments Conducted in Analytical Chemistry.....	19
2.1. Introduction.....	20
2.2. Results.....	54
2.3. References	56

BÖLÜM 3

Sanal Laboratuvarlarda Yapılan Kimya Deneylerine İlişkin Yönergeler	58
3.1. GİRİŞ.....	59
3.2. Kaynaklar	66

BÖLÜM 4

Analitik Kimya ve Biyokimya Araştırmalarındaki Güncel Yöntemlere Genel Bakış	67
4.1. GİRİŞ	68
4.2. Kaynaklar	70

ÖZ GEÇMİŞ¹

Gonca KAVGACI 11.08.1992 tarihinde, Trabzon’da doğdu. Araştırmacı ilköğrenimini Eynesil Mustafa Yüksel İlkokulu ve Ortaokulunda tamamladı. Ortaöğrenimini 2010 yılında Eynesil Çok Programlı lisesinde tamamladı. 2010 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği programını kazandı. 2014 yılında bu programdan mezun oldu. 2017 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Fen Bilgisi Eğitimi Tezli Yüksek lisans Programını kazandı. 2020 yılında bu programdan mezun oldu. 2026 yılında Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Doktora programını kazandı ve bu programda öğrenimini devam ettirmektedir. 2017-2019 yılları arasında Eynesil Anadolu Lisesinde Kimya öğretmeni, yine aynı yıllarda Eynesil Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesinde Fizik ve Kimya öğretmeni olarak ücretli çalıştı. Araştırmacı bekâr olup, orta düzeyli İngilizce bilgisine sahiptir.

1 Doktora Öğrencisi Gümüşhane Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Bölümü, gancagul96@gmail.com, Türkiye, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-4041-7236>

ÖNSÖZ

“Bilim dünyasında, maddeyi atomik ve moleküler düzeyde anlama ve canlı sistemlerin karmaşık mekanizmalarını çözme arzusu, analitik kimya ve biyokimya disiplinlerinin kesiştiği noktada muazzam bir sinerji yaratmıştır. Bu çalışma, her iki alanın temel prensiplerini modern teknolojinin sunduğu enstrümantal yeniliklerle harmanlayarak, araştırmacılara rehberlik etmeyi amaçlamaktadır. Günümüzde, hastalıklara erken tanı konulmasından yeni nesil ilaç etken maddelerinin geliştirilmesine kadar pek çok kritik süreç; kütle spektrometresi, ileri kromatografik yöntemler ve yüksek hassasiyetli elektrokimyasal teknikler gibi yenilikçi araçlara dayanmaktadır. Özellikle biyokimya alanında, protein yapıları ve metabolik yolların (pH) ve sıcaklık gibi spesifik ortam koşullarındaki (T) davranışlarının ölçülmesi, bu yöntemlerin hatasız uygulanmasını gerektirir. Bu kitabın/çalışmanın ortaya çıkmasında değerli akademisyen Prof. Dr. Duygu ÖZDEŞ, Prof. Dr. Meryem TOPAL, Doç. Dr. Adem ÖZBEK, Dr. Öğr. Üyesi Pınar BOZBEYOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Murat KIRANŞAN hocalarıma ve bu yolda her zaman desteğini esirgemeyen doktora sürecime başlamama destek olan Fatih KOÇ hocama teşekkür eder; eserin öğrencilerimize, araştırmacılarımıza ve bilime gönül veren tüm okuyuculara faydalı olmasını dilerim.”

Gonca KAVGACI

BÖLÜM 1

Bazı Hayvan Türlerine ait Zehirlerin
Peptitlerinin Farklı Kanser Hücreleri
Üzerindeki Antikanser Mekanizmaları

1.1. GİRİŞ

Kanser hücreleri, sürekli ve dengesiz bir şekilde vücutta bölünerek diğer organlara giderek o bölgelere yerleşerek bölünebilme yeteneği kazanan hücreler bütünüdür. Yengeçler, düşmanını uzun dişli kollarıyla tutar ve yavaş yavaş kemirerek yer. Bu benzerlik nedeni ile kanserin kelime anlamı yengeçtir. DNA'da yapı değişikliğiyle başlayan süreçte temel neden; kanserin bir genom hastalığı olduğundan kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıdır. Kanserdeki ölümlerin çoğu tümöral dokunun kendisinden değil, sekonder olarak gelişen metabolik değişimlerden kaynaklanmaktadır. Tüm dünyada ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan hemen sonra, ikinci sırada kanser gelmektedir [11]. Kanser, tüm dünya çapında insan vücudunda ölümcül nedenler arasındaki öncelikli olan sağlıksal bir problemdir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının (IARC), istatistik verilerinin sonuçlarına göre 2011-2012 yıllarında 14 milyon insan yeni kanser vakası olarak kaydedilmiştir. Bunlardan 8 milyon vaka ölüm ile sonuçlanmıştır. Bu vakalarda ilk sırada 1,6 milyon kişi ile akciğer kanseri, ikinci sırada ise 1,5 milyon kişi ile meme kanseri yer almaktadır [5]. ABD'de 2016 yılında 1,658,210 kişi yeni kanser vakası olarak kaydedilmiştir. Bunlardan 595,690 kişi kanserden dolayı yaşamını yitirmiştir. Kanser tipleri arasında erkeklerde akciğer ve prostat kanseri görülürken kadınlarda meme kanseri en yaygın görülen kanser tipi olarak görülmüştür [6].

Antik çağlardan günümüze Çin, Mısır ve Hindistan gibi medeniyetlerde zehirler bazı hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanıldığını göstermektedir. Hindistanlı hekim Sushruta (M.Ö. 7.yüzyıl) yılan zehirlerinin uzun yaşamla ilgisi olduğunu söylemiş ayrıca Charaka adlı başka bir hekim ise "udra raga" adı verilen bir sindirim sistemi hastalığının tedavisinde yılan zehirlerini kullanmıştır [1].Biyotoksinler, patofizyolojik

problemlere karşı kullanılabilmesi ve kanser tedavisinde kullanılacak yeni ilaçların geliştirilebilme potansiyelleri ortaya koymuştur [4]. Hayvanlar alemi incelendiğinde, çok basit yapıları canlılardan daha gelişmiş organizasyonlu canlılara kadar birçok türde zehir üretimi görülmektedir. Hayvan zehirlerinin antikanser potansiyellerine dayalı pek çok araştırma bulunmakla birlikte bu çalışmaların özellikleri, örümcek, akrep ve yılan zehirleri üzerinde odaklandığı görülmektedir. Yirminci yüzyılın başlarında az rastlanan bir kanser türü olarak tanımlanan akciğer kanserinin sıklığı 20. yüzyılın sonlarına doğru giderek artan bir şekilde devam etmiştir. Erkeklerde prostat kanserinden sonra, kadınlarda meme kanserinden sonra en sık görülen kanser türü akciğer kanseri olmuştur. Akciğer kanseri her iki cinsten de ölüme en sık neden olan kanser türüdür. Akciğer kanserinin etiolojisinde en önemli faktör sigaradır. Sigara akciğer kanserlerinin yaklaşık %85-90'undan sorumludur. Akciğer kanserinin oluşuna etki eden başka bir faktör ise asbesttir. Asbest maruziyeti, sigara kullanımıyla birleştiğinde akciğer kanserine yakalanma oranını yaklaşık 90 kat arttırmaktadır. Radyasyona maruz kalanlarda akciğer kanseri riski artmaktadır. Radon gazı akciğer kanserine sebep olan bir radyoaktif maddedir. Ayrıca bis (klorometil) eter, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, krom, nikel ve organik arsenik bileşikler gibi maddelere maruz kalanlarda akciğer kanseri daha sık görülmektedir [10]. Ülkemizde 1983 yılında Kansere Savaş Daire Başkanlığı kurulmuştur. Bu yıllarda kanser hastalığı bildirimini zorunlu hastalıklar arasına alınmış ve kanser sıklığı çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, organa özgü kanser sayıları ile ülkemizde ilk kez kanserin profili görülmüştür. Ülkemizde tüm yaş gruplarında 2014 verilerine göre erkeklerde en çok sırasıyla akciğer-bronş-trake kanserleri, prostat kanseri, kolorektal kanser ve mesane kanseri görülmektedir. Kadınlarda ise sırasıyla meme kanseri, tiroit

kanseri, kolorektal kanser ve uterus kanseri önde gelmektedir. Ayrıca ülkemizde 0-14 yaş (çocukluk çağı) grubunda hem erkek hem kız çocuklarda kan kanseri, 15-24 erkeklerde testis kanseri kadınlarda tiroit kanseri, 25-49 ve 50-69 yaş gruplarında ise erkeklerde akciğer-bronş-trake kanserleri, kadınlarda meme kanseri görülmektedir [7].



Şekil 1. Bazı Zehirli hayvan Türleri [8]

Hayvanlar âlemine bakıldığında çok basit yapılı organizmalardan yüksek yapılı organizmalara birçok büyük grupta zehirli canlıların bulunduğu görülmektedir (Şekil 1). Bunlar arasında başta sürüngenler, balıklar olmak üzere amfibi ve memeliler gibi omurgalılar, deniz yıldızı gibi derisi dikenliler, koni salyangozu ve ahtapotlar gibi yumuşakçalar, örümcekler, akrepler böcekler ve çıyanlar gibi eklem bacaklılara ait 100.000'den fazla türün zehre sahip olduğu bilinmektedir [9]. Havyan sınıfının çoğunun zehri, antikanser araştırmalarda kullanılmaktadır. Bu çalışmalar akrep, örümcek, arı, amfibi ve yılan zehirleri üzerinde ağırlık kazanmıştır [4]. Antikanser peptitler farklı açılardan kanser gelişmesine karşı mücadeleye izin veren kansere hedeflendirilmiş ilaçların tasarımı için önemli bir kaynak sunar. Bazı küçük moleküller etkili olarak dokulara girer ve kanser hücrelerini ortadan kaldırır. Bu moleküller tümörler üzerine doğrudan, kemoterapötiklerle birlikte sinerjistik olarak veya biyobozunur

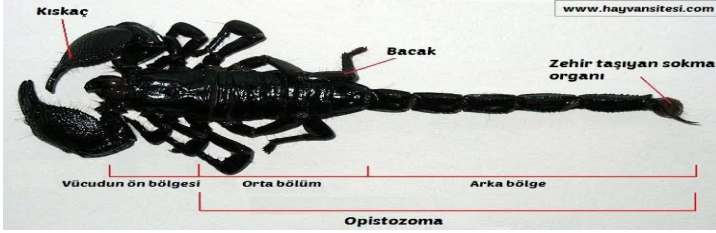
ya da düşük seçicilikte ilaçlar için yapılan taşıyıcı araçlar içinde gönderilerek gösterirler [9].



Şekil 2. Akrep Zehirleri [2]

Akrep zehirleri

Akrepler dünyada yaklaşık 400 milyon yıldır varlığını sürdüren canlılardır [3]. Birçok ülkede akrep sokmaları önde gelen sağlık sorunlarından biridir. Yılda 1,2 milyondan fazla akrep sokması rapor edilmekte ve akrep sokmaları arteryal hipertansiyon veya hipotansiyon, taşikardi veya bradikardi gibi önemli sağlık sorunlarına sebep olmaktadır [6]. Diğer taraftan akreplerin geleneksel tedavi yöntemlerinde Afrika ve Asya'daki eski kültürlerde kullanıldığı bildirilmektedir [13]. Akrepler yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi ve potansiyel kanser tedavisinde kullanılabilecek biyolojik aktif moleküler, antiviral, antifungal ve antimalarial peptitler, serotonin, histamin gibi düşük molekül ağırlıklı moleküler, inorganik tuzlar, mukus ve nörotoksinleri içermektedir [4].



Şekil 3. Akrep Zehirlerinin Antikanser Araştırmalarda Kullanılması [5]

Akrep zehirleri ile ilgili anti kanser çalışmalarda en önde gelen peptit *Leiurus quinquestriatus*'tan izole edilen cholorotoxindir (Cltx). Cholorotoxin 36 amino asitten ve 4 disülfid köprüsünden oluşan kısa zincirli bir peptittir [18]. Chlorotoksin hücre zarında klor kanallarına girip inhibe ederek glioma hücrelerinde etkili olmaktadır. Bu peptit sadece glioma hücrelerine bağlanmakta, normal hücrelerde ya çok az ya da hiç aktivite göstermemektedir. Bu toksin matriks metalloproteinaz II (MMP-2) ye bağlanarak ekstraselüler matriks enzimi olan jelatinaz aktivitesini inhibe etmektedir. MMP-2 glioma ve ilişkili kanserlerde tümör invazyonuyla alakalı bir protein olarak bilinir ve özellikle bu kanser tiplerinde bu protein sentezi fazladır. Chlorotoksin glioma hücrelerinde MMP-2 ye etkili bir şekilde bağlanmakta ve klor kanallarındaki akımın bozulmasıyla düşük jelatinaz aktivitesine sebep olmaktadır [6]. Lipozomlarla modifiye edilmiş cholorotoksinin; BALB/c farelerin elde edilen MMP-2 ekspresyonu yüksek olan agresif metastatik meme kanseri hücrelerinde oldukça yüksek antimetastatik etki gösterdiği bildirilmiştir [1]. Çin kırmızı akrebi (*Buthus martensii* Karsch) zehrinden izole edilen serin proteinaz benzeri BMK-CBP peptitinin, MCF-7 (meme kanseri) hücre hattında doza bağlı olarak hücreye bağlandığı gösterilmiştir [6]. [8] tarafından yapılan çalışmada *Heterometrus bengalensis* (Hindistan siyah akrebi) zehrinden izole edilen bengalin olarak adlandırılan peptitin U937

(histiositik lenfoma) ve K562 (kronik myeloid lösemi) hücre hatları üzerinde antikanser etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bengalin mitokondriyal zar potansiyelini sitozole sitokrom c in salınmasını başlatarak potansiyelin kaybına sebep olmakta ve ısı şok proteinleri (heat shock protein) 70 ve 90 ekspresyonunu azaltmaktadır. Bu sonuçlar bengalinin insan lösemi hücreleri üzerine antikanser etkisini kabul edilen mitokondriyal ölüm basamakları olarak gösterilen bu mekanizmalarla etkilediğini göstermektedir.

Örümcek Zehri



Şekil 4. Örümcek Zehirleri [4]

Örümcekler artropodanın çok çeşitli gruplarından biridir; 38 000 kadar türü tanımlanmıştır ve göreceli olarak toksinleri şu ana kadar az çalışılmıştır. Örümcek zehrinin içeriği moleküler olarak çok çeşitlilik gösterir. Örneğin *Atrax robustus* örümceğinin zehri 1000 den fazla peptit içermektedir. Her bir farklı örümcek zehrinin 500 den fazla farklı toksin içerdiği tahmin edilmekte, böylece 38000 kadar tanımlanmış örümceğin zehrinin 19 milyon kadar toksin içerdiği düşünülmektedir. Bu kadar çok farklı peptitin oluşu yeni farmakolojik maddelerin geliştirilmesi için önemli bir kaynak sağlamaktadır [7]. *Macrothele raven* türü örümceğin zehri ile yapılan bir çalışmada insan servikal (rahim ağzı) kanseri hücre

hattı olan HELA hücre hattında proliferatif ve sitotoksik etkisi araştırılmıştır ve çalışmada etidyum bromid /akridin oranj boyamalarında morfolojik değişiklikler gözlenmiş doza bağlı olarak HELA hücrelerinin proliferasyonunun inhibe edildiği olduğu saptanmıştır. Ayrıca apoptoz ve nekroz oranlarının yükseldiği ve kaspaz-3'ün regülasyonunun arttığı bildirilmiştir [3]. [11] yaptıkları çalışmada Macrothele raven zehrinin lösemi hücre hattında (K562) doza ve zamana bağlı olarak hücrelerin büyümelerini baskıladığını bildirilmiştir. DNA fragmentasyon yöntemiyle Annexin-V ve propidyum iyodur ikili boyamalarında apoptojenik olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda kaspaz-3 ve kaspaze-8 indüklediği rapor edilmiştir.

Arı Zehri

Bal, polen, propolis, balmumu ve arı zehri gibi arı ürünleri binlerce yıldır insanlık tarafından romatoid artrit, romatizmal hastalıklar, siyatik, kas ağrılarında ve multiple skleroz (MS) gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır [2]. Arı zehri içerisinde proteinler (fosfolipazA2, fosfolipazB, hiyolurinidaz, fosfataz, glikosidaz), peptitler (melittin, apamine, secapin, pamin, minimin, adolapin, terciapin, kardiopеп, melittin f, proteaz inhibitör), aminler (Histamine Dopamin Nöradrenalin), aminoasitler (aminobütirik asit, a-amino asitler), şekerler (Glukoz, fruktoz), feromonlar ve Mineraller (P, Ca, Mg) gibi çok çeşitli maddeler bulunur [9]. [6] yaptığı çalışmada arı zehrinin insan lösemi U937 hücrelerinde apoptozu indüklediği ve bu apoptozu ERK ve Akt sinyal yollarının down regülasyonu ile sağladığını rapor etmişlerdir. Arı zehrinde ilk olarak 1985 te insan lösemi hücrelerinde calmodulin inhibitörü olarak hücrelerin büyümesini ve klonojenitesinin etkilendiği gösterildi [5]. Aynı yıl [2] benzer bir etki mekanizmasıyla melittinin astrastoma hücrelerinde de aynı etkiyi yaptığını rapor etti.

Melittin suda çözünebilen bir peptit olarak *Apis mellifera* dan izole edilmiş ve hepatoselüler karsinoma hücreleri üzerinde büyümelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir. Melittin tümör hücrelerinin migrasyonunu ve hareketinin azalmasını Rac-1'e bağlı sinyal yolaklarının baskılanmasıyla sağlar. Melittin Rac-1 sinyal yolağının inhibisyonuyla metastazın önlenmesini sağlar ve bu yüzden melittin karaciğer karsinomlarında potansiyel terapötik ajan olarak önerilebilir [19].

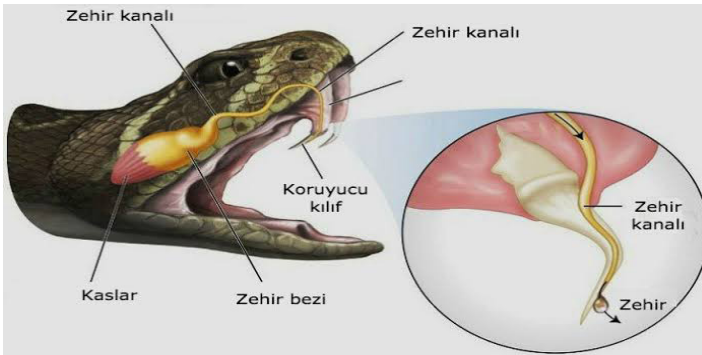
Sürüngen zehirleri



Şekil 8. Amfibi [3]

Amfibiler avcılarına karşı kendilerini korumak için farklı morfolojik fizyolojik ve davranışsal birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalardan biri de derilerinde bulunan glandular bezlerden salgılar yapmalarıdır. Bu bezler zehir bezi olarak da adlandırılmakta ve hayvanın vücudu bu salgılarla kaplanmaktadır. Eski kültürlerden beri amfibilerin tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Amfibi derisinde bulunan bu salgılar peptitler, proteinler, steroidler ve alkaloidler gibi birçok biyoaktif maddenin bulunduğu ve bu maddelerin antifungal, antiprotozoal, antidiabetik etkileri var olduğu gösterilmiştir. Bu biyoaktif maddelerin potansiyel olarak yeni ilaçların geliştirilmesi için kullanılabileceği

düşünülmektedir [17]. Geleneksel çin tedavisinde kullanılan Chan Su olarak adlandırılan Bufo derisinden elde edilen zehir, insan akciğer karsinoma hücrelerine (A549) farklı dozlarda verilmiş ve doza bağlı olarak hücrelerin büyümesini ve canlılığını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca anti-apoptotic Bcl-2 ekspresyonunu azalttığı, pro-apoptotik Fas ligandın ve ölüm reseptörü 4 ün ekspresyonunu artırması ve mitokondriyal membran potansiyelini azaltmasıyla apoptozu indüklediği görülmüştür (Yun ve ark. 2009). Bufo derisinden izole edilen chan su mesane kanser hücre hattı olan T24 hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak kanser hücrelerinin gelişimini engellediği ve ölümüne yol açtığı gösterilmiştir. Aynı zamanda T24 hücrelerinde apoptozu antiapoptotik genler olan Bcl-2 ve Bcl-Xs/L ekspresyonunu azalttığı ve proapoptotik etkisi bilinen Bax ekspresyonu artırdığı ortaya konulmuştur [6]. Bufo melanostictus tan elde edilen bufolin K562 (insan kemik iliği) kronik miyeloid lösemi hücrelerine verilmiş, sonuç olarak WT1 ekspresyonunu düşürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca bufolinin konsantrasyonun artması DNA sentezini ve topoizomeraz 2 aktivitesinin inhibe etmektedir. Ayrıca bufalin hücre siklusunda ML1 hücrelerini G2 fazında U937 hücrelerini seçici olarak S ve G2 fazında durdurmuştur [11].



Şekil 10. Yılan zehirleri [15]

Yılan zehirleri tükürük bezlerinin değişip farklılaşması sonucu oluşan özelleşmiş zehir bezlerinde oluşmaktadır [9]. Yılan zehirleri bir çok protein, peptit, enzim, toksin içermektedir Yılan zehrinin içeriği yaşa, cinsiyete, ekolojik etkilere ve beslenme koşullarına göre değişebilir [9-13].

Yılan zehirleriyle ilgili yapılan çalışmalar genel olarak şu başlıklar altında toplanabilir;

1. Peptitlerinden veya diğer içeriklerinden, ilaç (antikanser antikougulan antimikrobiyal vb.) geliştirme amaçlı yapılan çalışmalar [7].
2. Yılan ısırıklarına veya ısırık sonrası zehirlenmelerine karşı etkin tedavi geliştirme amaçlı çalışmalar [10].
3. Farklı coğrafik bölgelerde, farklılık gösteren zehirlere karşı anti serum geliştirmeye yönelik çalışmalar [3].
4. Yılan zehirlerinin sistematik alanında kullanılmasına yönelik çalışmalar [8].

Yılan zehirlerini 3 tip olarak sınıflandırabiliriz.

- Nörotoksik olanlar (insan vücudunda sinir sistemi üzerine etki edenler)
- Hemotoksik olanlar (kardiovasküler sistem üzerine etki edenler)
- Sitotoksik olanlar (özel olarak hücreleri veya dokuları hedef alarak etki edenler) [5]

Nörotoksinler sinir sistemi üzerine ileri derecede etki yapmakta, kalp ve/veya solunum problemlerine sebep olmaktadır. Nörotoksinler etkilerini sinapslarla nöronlar arasındaki iletişimi engelleyerek ya da nöron zarında iyon geçişini inhibe ederek gösterir. Bu toksinler sinir sisteminde asetilkolinin bağlanma bölgelerinde asetilkolinin şeklini alarak asetilkolini taklit eder ve bağlanmasını engeller [19].

Hemotoksin olarak bilinen toksinler ise eritrositler üzerine etki etmekte ,dolaşım sisteminde ve kas dokularında zararlara ve kangrene sebep olur. Kardiotoksinler özellikle kalp üzerine etki eden yapıya sahiptir. Bunlar kalbin kaslarına bağlanarak kalp kasının kasılmasını önlemektedir [13].

Viperidae familyasında bulunan çingiraklı yılanlar, bakır kafalı yılan ve su mokaseni gibi yılanların zehirleri hemotoksik olmasına rağmen kobralar, deniz yılanları, mercanyılanları ve bungarus cinsi yılanların zehirleri nörotoksiktir. Fakat bazı yılan türleri zehirlerinde hem nörotoksik hem de hemotoksik bileşikler içerebilir.

Geçmişten günümüze kadar biyotoksinler çok farklı şekilde kullanılmış günümüzde biyoteknoloji ve moleküler biyolojinin gelişmesiyle bu alanda yapılan çalışmalar artmış ve birçok yeni ilaç geliştirilmiştir. Özellikle yılan zehirlerinin kan hücrelerine olan etkilerinin araştırılması sonucu geliştirilen, kan pıhtılaşması üzerine etki eden birçok molekül bulunmuştur. Bu anlamda engerek zehirlerinden elde edilen Integrilin® (Echis carinatus zehrinden) ve Aggrastat (Sistrurus miliaris zehrinden) ilaçlar antiagregan olarak kullanılmaktadır [11].

Zehirler tek bir yapıdan değil yüzlerce hatta binlerce peptid protein ve kimyasaldan oluşmaktadır. Farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda şu ana kadar 20 farklı tip toksik enzim bulunduğu bilinmektedir. En yaygın olarak yılan zehirlerinde L-amino oksidazlar, serin proteazlar, metalloproteinazlar ve fosfolipaz A2 bulunmaktadır [7].

Tablo 1. Zehirli bazı hayvanların antikanser mekanizmaları

Toksin Türleri	Toksin Adları	Antikanser Mekanizmaları	Kanser Hücresi Türleri
svPLA	CC-PLA2-1 ve CC-PLA2-2	Hücre adezyonunun ve fibrinojen ve fibronektine migrasyonunun inhibisyonu	Beyin mikrovasküler endotel hücreleri (HBMEC'ler) [3]
	MVL-PLA2	Anti-anjiyojenik etkiler Mikrotübül dinamikliğini artırır	mikrovasküler endotel hücreleri(HMEC-1) [6]
Sitotoksinler veya Kardiyotoksinler	CTX-I ve CTX-II	Lizozomal yolla apoptotik etki	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Meme kanseri hücresi (MCF-7) [1] ➤ Hepatoselüler karsinom (HepG2) [2] ➤ Prostat kanseri (DU145) [7] ➤ İnsan promyelositik lösemi hücresi (HL-60) [4]
	Kardiyotoksin III	<ul style="list-style-type: none"> ➤ HGF/c-Met-bağımlı PI3K/ Akt, ERK1/2 ve NF-κB sinyal yolu yoluyla HGF kaynaklı ➤ istila ve göçün inhibisyonu 	İnsan meme kanseri (MDAMB-231) hücreleri [9]
metalloproteinazlar	Yarhagin	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kanser hücresi proliferasyonunun İnhibisyonu ➤ Increase in apoptosis ➤ Increase in caspase-3 	B16F10 murine melanoma cells [5]
svLAAOs	OH-LAAO	Apoptosis by oxidative reaction of H ₂ O causing alteration of gene expression	Prostate adenocarcinoma (PC-3 cells) [8]
	Rusvinoxidase	Apoptosis with DNA fragmentation via the activation of caspase-8 and caspase-7	MCF-7 [3]

Disintegrins	Obtustatin	Specific binding to $\alpha\beta1$ integrin causing the inhibition of tumour cells adhesion and migration	S-180 sarcoma [1]
	Rhodostomin	Anti-inflammatory effect by blocking the adhesion of activated neutrophils to fibrinogen and attenuating superoxide production	Neutrophils [10]
	Lebein	Inhibition of VEGF-induced neovascularization	Human colon cancer cells [12]
Bee venom	Melittin	Apoptosis via mitochondrial pathway	Human gastric cancer cell(SGC-7901)[14]
		L tipi Ca kanalının aktivasyonu	İnsan MG63 osteosarkom hücreleri [11]
		MAPK sinyal yolunda yer alan enflamatuar mediatörlerin inhibisyonu	Lewis akciğer kanseri hücresi (VEGF-A-hm LLC) [15]
yaban arısı zehri	Polybia-MPI	gözenek oluşumu	Prostat ve mesane kanseri [14]

Kanser belirtileri kanser gelişiminde yer alan çeşitli adımlar sırasında edinilen biyolojik yetenekleri tanımlamak için oluşturulmuştur.

Tablo 2. Kanserın ayırt edici özellikleri

Kanserın Ayırt Edici Özellikleri	<ul style="list-style-type: none"> ➤ proliferatif sinyallemeı sürdüremek [16] ➤ büyüme baskılayıcılarından kaçınmak [17] ➤ hücre ölümüne direnmek [18] ➤ replikatif ölümsüzlüğü sağlamak [19] ➤ anjiyogenezi indüklemek [2] ➤ istila ve metastazı aktive etmek [3]
---	--

5'i 2011'de, hücreseı metabolizmaya dahil olmak ve bağışıklık yıkımından kaçınmak için ortaya çıkan iki özellik önerildi.

Tartışma ve Sonuç

Birçok kemoterapötik ajanın klinik kullanımı, tatmin edici olmayan klinik sonuçlara yol açan bir dizi önemli yan etkiye neden olabilir. Ek olarak, spesifik olarak hedeflenmiş kanser tedavisinin uygulanmasının, artık fonksiyonel yeteneklerle kanser gelişimini destekleyebileceği ve tümör hücrelerinin kemoterapiye adaptasyonuna veya direncine yol açabileceği bildirilmiştir. Bunların bir sonucu olarak, doğal kaynaklardan elde edilen antikanser ajanların kanser tedavisi için umut verici araçlar olduğu görülmektedir. Bu derleme, hayvan zehri ve peptitlerinin bazı hayvansal ürünlerin, çoklu süreçlere veya tümör gelişiminin ayırt edici özelliklerine müdahale ederek antitümör etkiler gösterdiğini göstermektedir. Zehir peptitlerinin, özellikle svlaao'ların, parçalanmalarını veya melittinin, potansiyel olarak kanser büyümesinin mutasyonunu veya yeniden şekillenmesini içeren, hedefe yönelik tedavinin spesifik inhibisyonunun neden olduğu adaptif direnci önlemesi beklenir. Bir dizi zehir bileşeninin tümör gelişimi üzerinde umut verici bir etkiye sahip olduğu gösterilmiş olsa da, bu antikanser peptitlerinin etkinliğini ve güvenliğini kanıtlamak için daha ileri klinik öncesi ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu toksinlerin doğal potansiyelinin, klinik olarak yararlı ajanların yanı sıra kanser değerlendirmesi için teşhis araçları üretmek için kullanılabilirliğini öngörülmektedir.

1.2. Kaynaklar

1. Akkaya, A., & Ugurtas, I. H. (2012). Rediscovery of *Vipera ammodytes* (LINNAEUS, 1758) at Uludag-Bursa, Turkey, after 62 years. *Herpetozoa*, 24(3-4), 181-185.
2. Al-Asmari, A. K., Riyasdeen, A., Al-Shahrani, M. H., & Islam, M. (2016). Snake venom causes apoptosis by increasing the reactive oxygen species in colorectal and breast cancer cell lines. *OncoTargets and therapy*, 6485-6498.
3. Ali, M. A. A. S. M. (2012). Studies on bee venom and its medical uses. *Int J Adv Res Technol*, 1(2), 69-83.
4. Anindita Debnath, A. D., Uttora Chatterjee, U. C., Minati Das, M. D., Vedasiromoni, J. R., & Aparna Gomes, A. G. (2007). Venom of Indian monocellate cobra and Russell's viper show anticancer activity in experimental models.
5. Anonim 2017 a. Sağlık Bakanlığı Türkiye Kanser İstatistikleri Ankara 2017
6. Anonim 2017 b. Cosmasie Brillant blue G-250 boyasının (www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/27815?lang=en®ion=TR) Erişim Tarihi 15.05,2017
7. Ari, F., Ulukaya, E., Oran, S., Celikler, S., Ozturk, S., & Ozel, M. Z. (2015). Promising anticancer activity of a lichen, *Parmelia sulcata* Taylor, against breast cancer cell lines and genotoxic effect on human lymphocytes. *Cytotechnology*, 67(3), 531-543.
8. ARIKAN, H., Göçmen, B., İğci, N., & Akman, B. (2014). Age-dependent variations in the venom proteins of *Vipera kaznakovi* Nikolsky, 1909 and *Vipera ammodytes* (Linnaeus, 1758)(Ophidia: Viperidae). *Turkish journal of zoology*, 38(2), 216-221.

9. Arikan, H., Kumlutaş, Y., TÜRKOZAN, O., & Baran, I. (2003). Electrophoretic patterns of some viper venoms from Turkey. *Turkish journal of zoology*, 27(3), 239-242.
10. Armugam, A., Cher, C. D., Lim, K., Koh, D. C., Howells, D. W., & Jeyaseelan, K. (2009). A secretory phospholipase A2-mediated neuroprotection and anti-apoptosis. *BMC neuroscience*, 10(1), 120.
11. Batchelor, W. B., Tolleson, T. R., Huang, Y., Larsen, R. L., Mantell, R. M., Dillard, P., ... & Harrington, R. A. (2002). Randomized comparison of platelet inhibition with abciximab, tirofiban and eptifibatide during percutaneous coronary intervention in acute coronary syndromes: the COMPARE trial. *Circulation*, 106(12), 1470-1476.
12. Bernardini, S., Cannata, S., Filoni, S., Luly, P., & Rufini, S. (1996). Effect of ammodytin L from the venom of *Vipera ammodytes* on *Xenopus laevis* differentiated muscle fibres and regenerating limbs. *Toxicon*, 34(1), 81-90.
13. Bogdanov, S. (2020). Antiviral properties of the bee products: a review. *Bee Products Science*, 1-16.
14. Boldrini-Franca, J., Correa-Netto, C., Silva, M. M., Rodrigues, R. S., De La Torre, P., Perez, A., ... & Calvete, J. J. (2010). Snake venomomics and antivenomics of *Crotalus durissus* subspecies from Brazil: assessment of geographic variation and its implication on snakebite management. *Journal of proteomics*, 73(9), 1758-1776..
15. Bradbury, M. W., & Deane, R. (1993). Permeability of the blood-brain barrier to lead. *Neurotoxicology*, 14(2-3), 131-136.
16. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

17. Bjarnason, J. B., & Fox, J. W. (1994). Hemorrhagic metalloproteinases from snake venoms. *Pharmacology & therapeutics*, 62(3), 325-372.
18. Budak, A., & Göçmen, B. (2008). *Herpetoloji*. Ege Üniversitesi Yayınları Fen Fakültesi Yayın No. 194, İzmir, Turkey, Ege University Printing House.
19. Calderon, L. A., Sobrinho, J. C., Zaqueo, K. D., de Moura, A. A., Grabner, A. N., Mazzi, M. V., ... & Soares, A. M. (2014). Antitumoral activity of snake venom proteins: new trends in cancer therapy. *BioMed research international*, 2014(1), 203639.

BÖLÜM 2

**Instrumental Analyses of Some
Experiments Conducted in Analytical
Chemistry**

2.1. Introduction

Spectrophotometry, it is a branch of science that studies the transmittance/absorbance properties of a substance as a function of wavelength. It is a method based on the absorption of light energy. Light is an electromagnetic radiation and is characterized by its frequency (ν) or wavelength (λ). Light energy is given by $E = h \cdot \nu$ or $E = h \cdot c / \lambda$. In these equations, h (Planck's constant) = 6.62×10^{-27} erg.s and $c = 3 \times 10^{10}$ cm/s. Light can be absorbed by atoms, ions, and molecules. The absorbed energy causes electrons to move from low-energy orbitals (ground state) to higher-energy orbitals (excited state). For an energy to be absorbed, it must equal the difference between two energy levels [1,3]

The absorption of light at a specific wavelength, regardless of the spectral region, is an indicator of the presence of a structure capable of absorbing energy. By recording the absorption amount as a function of wavelength, an absorption spectrum is formed. In the UV and visible region (UV/GB) spectrum, the absorbances are plotted against wavelength and a maximum is observed at the wavelength where absorption is highest. is observed (λ_{\max}). In the infrared spectrum, % transmittance versus wavelength

The graph is plotted, and a minimum is observed at the wavelength where absorption is highest. Light absorption is measured with a spectrophotometer. This measurement involves atoms, ions, or molecules. It is the measurement of the difference between the intensity

of the incident light (I_0) and the intensity of the transmitted light (I)

The Lambert-Beer Law;

- The relationship between the absorbance (A) and the concentration (C) and the path taken by light in the sample (l). The relationship between the absorbance (A) and the concentration (l) Decays.

explains.

- $A = k \cdot l \cdot C$
- k represents absorbtivity and is used when concentration is given in g/L. Concentration

if given in mol/L (M), the k coefficient is denoted by ϵ (molar absorbtivity). ϵ

depends on the type of substance and wavelength.

Device Information in UV/Vis Spectrophotometry:

- Light source [8]
- Monochromator (Wavelength selector)
- Sample container (cuvette)
- Detector [4]
- Recorder

Applications of spectrophotometry;

- Qualitative analysis
- Quantitative analysis
- Determination of equilibrium constant
- Determination of molecular weight
- Kinetic studies

* Photometric titration

Quantitative analysis;

- is based on the Lambert-Beer law.
- A series of solutions with known concentrations is prepared and their absorbances are determined.

- The absorbance values against concentration are plotted on a graph and a straight line is drawn.
- The unknown concentration is determined using the formula $y=mx+n$.

Spectrophotometric caffeine determination;

- First, 5 mg of pure caffeine is weighed and dissolved in 50 mL of water. The resulting

solution has a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$. Then, the necessary dilutions are made from this solution.

resulting in 4.0, 8.0, 12.0, 16.0, and 20.0 $\mu\text{g/mL}$ caffeine solutions, each containing 10 mL

(Dilution calculations will be performed by the students) [5]

The wavelength range in the spectrophotometer is set to 400-200 nm. Standard solutions

The absorbances at 272 nm, where the highest absorbance is observed in the spectral ranges, are measured and recorded. Based on these data, the linear regression equation is obtained.

and this equation is subsequently used for the determination of samples whose concentration is unknown [2,6]

- The absorbance value of the caffeine-containing sample whose concentration is unknown is measured using the same instrument parameters and is determined using the linear regression equation.

the concentration of the sample is calculated [9]

Calorimetry, The region of the light spectrum with wavelengths between 400-800 nm is defined as the visible region. The human eye can detect light within this wavelength range. This perception is expressed as color and varies according to the wavelengths contained in the light reaching the eye. White light contains all wavelengths within this range. When an object absorbs certain wavelengths of white

light, the remaining wavelengths determine the object's color. For example, an object that absorbs light around 420-440 nm appears yellow. Absorb no wavelength in the visible region Objects that reflect all wavelengths appear white, while objects that absorb all wavelengths appear black. Rays incident on substances may be absorbed (after which the substance may fluoresce), they are either scattered by hitting the substance or through the substance without any interaction they'll pass. Rays that the substance does not absorb (rays that are emitted in the case of fluorescence are also emitted are included), they form the color of the substance [3]. Therefore, the color of substances by light absorption there is a relationship Decoupled between. In the following table, the difference between the absorbed wavelength range and the color Decembers is shown: the relationship is given [1].

We provide analysis by using the colors of the various items in your daily life. For example, a food that wasn't damaged us in understanding color will give us an idea whether it is even tastier. The color of the tea tells us how brewed the tea is, so which of the substances that give the taste to the tea it gives an idea about the amount it can be. Just as we can do qualitative analysis by looking at the color of substances, it is also possible to do quantitative analysis using color intensity. Because the color density of substances is proportional to the concentration of the substance. Using the color of the substance the analysis performed is called colorimetry. Colorimetric measurements absorbance in laboratories, usually using spectrophotometers it is done indirectly through measurements. However, color measurements are very important colorimeter devices that directly measure color intensity are used in industries (such as clothing). Also there are also software that can measure the color intensities from images, and thanks to this, the computer and colorimetric measurements can be made easily using mobile phones [6].

Colorimetric Fe^{3+} Analysis;

In this experiment, visual determination will be performed to roughly estimate the concentration of an Fe^{3+} sample. In this method, the concentration of the sample to be analyzed is determined by preparing standard solutions of known concentrations and comparing them with the sample. The color intensities are compared with those of the sample. In comparison operations, the sample solution its concentration is determined by observing the harmony of its color with the colors of the solutions in the standard series. This method can be used when very precise results are not required and simple analyses will suffice [5].

For the colorimetric analysis of a sample containing Fe^{3+} , Fe^{3+} standards:

- 0.006 g of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ compound is weighed and 3 mL of concentrated HCl is added to it; the volume is brought to

50 milliliters with pure water to prepare the standard Fe^{3+} solution.

- From this solution, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, and 5 mL are taken sequentially into tubes numbered 1 to 5, and diluted to 10 mL with pure water.

Fe^{3+} sample:

- 10 mL of the sample is transferred to another test tube.

$\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ solution:

- 10 mL of a 3.0 mM solution of potassium ferrocyanide, which will form a colored product upon reaction with Fe_{3+} , is prepared.

Experiment:

- 1 mL of potassium ferrocyanide is added to each tube (standards and sample).

The tubes are shaken thoroughly [5,8].

- A color that darkens in different shades of blue in the tubes where the standards are located

the calibration sequence is obtained. Between which standards the color of the sample containing Fe^{3+} should be Decolored

it is determined that it corresponds. According to this, what is the concentration of Fe^{3+} in the sample

it is found to be in December. (Molecular Weights: $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O} = 422.39 \text{ g/mol}$,

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 270.30 \text{ g/mol}$, $\text{Fe} = 55.85 \text{ g/mol}$)

$4 \text{ FeCl}_3 + 3 \text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \rightarrow \text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 + 12 \text{ KCl}$
Prussian blue

Fluorescence Spectroscopy, In the most stable state of atoms or molecules, electrons fill the orbitals with the lowest energy levels among the different energy levels, and this state is called the lowest energy state, the stable state, or the ground state [3]. When energy is applied externally to a species in its ground state, electrons can absorb this energy and transition to higher-energy orbitals. This state is unstable and is called the excited state [7,9]. Excited-state unstable species return to a stable state by releasing this absorbed energy through various means. This is the energy the fact that its emission is in the form of light is called luminescence, and the field of science that studies this light is also luminescence spectroscopy is called [1,2]. Luminescence depends on the spin of the electron in the excited state it occurs through two different mechanisms; fluorescence and phosphorescence. If you have been warned, the spin of an electron that has switched to high-energy orbitals is at the basic level with the electron in the opposite direction, this state is called a singlet state. In the opposite case, that is, the high-energy orbital if it is in the same direction as the electron

located at the basic level with the transitioned electron, this becomes a triplet state the name is given. When molecules or atoms are excited, they typically transition from the ground singlet state to the excited singlet state within a very short time (~10 nanoseconds) emits in the form of light, and this phenomenon is called fluorescence. Fluorescence event daily as used in life in fluorescent and neon lamps, in materials such as highlighters It can also be observed naturally in certain species of scorpions, corals, and fungi [6,9].

The return from the excited triplet state to the ground state, which is a less common phenomenon, is relatively longer. This process occurs over a duration (from 1 millisecond to 1 second) and is called phosphorescence. Some molecules have been observed to exhibit phosphorescence over much longer periods. For example, long-term phosphorescence is observed in materials such as glow-in-the-dark toys, lamp switches. Also, naturally, some marine species such as jellyfish, crab, octopus phosphorescence is also observed in living things. Regarding the source that provides the energy required to excite the species in the luminescence phenomenon, luminescence may be referred to by different names. For example, light energy to excite molecules [2].

When used, it is called photoluminescence if activated by light, electroluminescence if activated by electrical energy, chemiluminescence if activated by chemical reaction energy, bioluminescence if activated by biomolecules in living organisms, etc [4].

Stimulated species radiate the energy they absorb during the return to the basic state in a way that as well as they can lose (fluorescence and phosphorescence), there are various types that they can lose without radiating mechanisms exist, and this energy loss typically occurs in the form of a mixture of radiative and non-radiative mechanisms. The more dominant

radiative mechanisms are, the more as much fluorescence or phosphorescence is observed. In the opposite case, fluorescence and/or phosphorescence may not be observed. In irradiation-free relaxation mechanisms, usually stimulated the electron loses its energy in the form of heat by using transitions between vibrational levels. Dec. In fluorescence propagation, molecules absorb energy due to irradiation they emit a lower energy. Therefore, fluorescence spectroscopy is sent to the molecule fluorescence is observed at wavelengths longer than the wavelength of light. This is higher the phenomenon of a shift to wavelengths is called a Stokes shift. The main factor determining fluorescence is the molecular structure and the fluorescence emission of a molecule to get an idea of what that substance is by using the wavelength of the light it makes it may be possible. Therefore, fluorescence spectroscopy can provide information in qualitative analyses. Although the molecular structure is the primary factor determining fluorescence, the solvent used, temperature, pH [1,4,8].

External factors such as dissolved oxygen also affect fluorescence intensity. In dilute solutions, a direct proportionality can be established between the concentration of the molecule and the fluorescence intensity:

$$F = kC$$

Here, F is the fluorescence intensity, k is the fluorescence constant, and C is the concentration of the substance. This equation shows us that quantitative analysis can be performed using fluorescence intensity measurements in dilute solutions. Devices used in fluorescence spectroscopy, UV-visible region absorption although they are similar to the devices used in spectroscopy, there are some differences [9]. Firstly In absorption spectrophotometers, the portion of the light directed at the sample that passes through without being absorbed is measured, so the light source, sample, and detector are aligned

in the same direction. Fluorescence in spectrophotometers, it is measured that the sample absorbs the rays and then emits them 90° to the detector sample chamber as requested it is placed at an angle. So from the light source The rays that emerge and are not absorbed by the sample do not reach the detector; only the fluorescence emitted by the sample is measured. The light that will reach the sample and the light emitted by the sample To select the wavelengths, both a pre-sample and a post-sample wavelength selector (usually a monochromator) is used [6].

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF RIBOFLAVIN (VITAMIN B2)

First, weighed 2,5 mg of pure riboflavin and 50 ml acetic acid solution (0.02 M) soluble (it may take longer Solubility and dissolution by using heat or ultrasonic bath the process can be accelerated, if it is to be heated, a glass material suitable for heating should be used). Obtained the concentration of the resulting solution is 50 µg/ml. Then the necessary dilutions from this solution are by preparing 0.2; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 µg/mL riboflavin solutions, each in 10 mL volumes. is prepared (dilution calculations will be done by the students). Fluorescence In the spectrophotometer device, 450 nm is selected as the excitation wavelength and the emission range is set to 460 - 800 nm. The slit December is 5 nm and the photointroducer tube voltage is 700 V he will be elected. The highest fluorescence in the fluorescence emission spectra of standard solutions the intensity at 526 nm, which is their intensity, will be measured and noted. Based on these data, linear the regression equation will be obtained, and this equation will then be applied to the samples whose concentration is unknown it will be used for determination. Of the sample containing riboflavin, the concentration of which is unknown (multivitamin tablets, energy drinks vs) The fluorescence intensity is measured using the same instrument

parameters, and the concentration of the sample is calculated using the linear regression equation [6,7].

Polarimetry, Substances that rotate the plane of polarized light to the right or left are called optically active substances. Those that rotate the plane of polarized light to the right are called dextrorotatory, while those that rotate it to the left are called levorotatory. A plus (+) sign is placed in front of compounds that rotate to the right, and a minus (-) sign is placed in front of those that rotate to the left. Optically active compounds form two types of molecules, one being the mirror image of the other. Mirror these two molecules, which are in symmetry, do not overlap each other. In this way, each other's mirror molecules with an image are called optical isomers. The optical isomerism of a substance is for this, there must be an asymmetric carbon atom. The devices used to measure the angle of rotation of the plane of polarized light are called polarimeters [1,2].

The polarimeter is used for the determination of molecular sizes and concentration amounts and for the determination of foodstuffs. it is used in their control. The polarimeter consists of two polarizers: one fixed and the other rotatable in a vertical plane. The fixed polarizer, made of calcite crystals, is called the polarizer, while the rotatable one is called the analyzer. (A polarizer is an instrument that transforms an unpolarized beam into a beam with a defined polarization). Light falls kutuplanara polarizor get in on the analyzer. The light passed through the analyzer konan article turns the plane of polarization of light. The amount of translation, the analyzer light again it is found by rotating so that it does not pass. Thus, the different rotation angles of the substances can be found. These angles optically indicate the amount of activity.

FACTORS AFFECTING THE ROTATION ANGLE;

** Temperature*

** The wavelength of the light used (the smaller the wavelength, the greater the translation angle it becomes big).*

- The length of the path through which light passes*
- The structure of the substance*
- The concentration of the substance*

The purpose of the method in polarimetry is to determine the concentration using the measured rotation angle.

since it is, the work to be done is to keep the factors other than my concentration constant and turn the angle with my concentration

it is to establish a connection Decoupled between [6].

The compound bound to the asymmetric carbon atom is also optically active.

Optical activity is the ability of a substance to deflect polarized light from its initial plane.

When planar-polarized light interacts with asymmetric organic or inorganic compounds,

the plane of the polarized light changes angle.

If the angle change results in the plane of the polarized light rotating clockwise, i.e., to the right, this

The rotation in which the direction is dextrorotary (+) is called rotation, while the opposite rotation is called levorotary (-) rotation [7].

Each of the optical isomers that rotate the direction of polarized light to the right or left is called an enantiomer of the other

DETERMINATIONS MADE WITH A POLARIMETER

- *Determination of molecular sizes,*
- *Determination of substance concentrations,*
- *Quality control of food products [4],*
- *Determination of purity of substances produced in scientific research,*

APPLICATION AREAS OF POLARIMETRY

- * *Pharmacy; Measuring the concentration of some optically active compounds in manufactured medicines used for.*
- * *Cosmetic Industry; In the supervision of essences and aromatic oils used and it is used in quality control.*
- * *Food Industry; In the quality control of the produced foods and the top and bottom of additives it is used to determine the boundaries. In foods that usually contain sugar the optical activity of the substances is taken advantage of [6].*

GLUCOSE MONOHYDRATE ASSAY

- *1 M stock solution is prepared. (19.817 g of glucose monohydrate is weighed and dissolved in water, and the solution is diluted to 100*

The ML balloon is completed to 100 ml injojede)

- * *Based on this stock solution, 0.1 M, 0.15 M, 0.20 M, 0.25 M and 0.50 M are standard*

solutions are prepared [4].

- *The sample whose concentration is unknown will be given to you by your responsible assistant.*
- *The small tube is filled with pure water until there are no air bubbles left, and it is placed exactly in the center*

of the device's reading compartment, then the cap is closed. Through the device's microscope hole, the color of the dual compartments is adjusted to match. If the compartment on the right side is dark, the color press the LEFT key until it is synchronized, and if the pane on the left side is darker, until the color is synchronized until the RIGHT key is pressed. In other words, it is set by pressing the R and L keys. Colors Once they are equalized, the ZERO SET button is pressed. The screen displays a red zero count. The samples to be analyzed are then placed in the reading compartment of the tube without any air bubbles remaining. By looking through the microscope glass, the colors of the two compartments are adjusted to be equal, and the red numbers displayed on the screen are recorded.

- The recorded values are plotted against concentration to generate a calibration graph [5].

and the regression equation is calculated. (Excel can be used for this)

- The given sample is measured in the same way, and the obtained value is substituted into the regression equation. by replacing it, the concentration of the sample is calculated.

Refractometry is an instrumental method that uses the refraction property of substances to refract light it is one of the methods of analysis. Refractometer for the instruments used in the determination of refractive index is called.

Refractive index (refractive index), such as the boiling point, melting point, density of a substance

it is one of its physical properties and has a refractive index specific to each substance.

By utilizing this property, substances can be identified, and both qualitative and quantitative analysis can be performed by exploiting the relationship between refractive index and concentration

Refractive Index:

The refractive index of a substance is determined by measuring the (refraction) of a parallel beam of light as it changes direction when passing from one medium to another.

The refractive index of a substance depends on the wavelength of the radiation used, temperature, concentration, and pressure

The refractive index is usually measured in transparent objects. For example, the refractive index of organic liquids varies between 1.25 and 1.80, while in solids this value is between 1.3 and 2.5.

The angle of incidence of the beam is proportional to the beam's speed and the refractive index. Knowing the angles of incidence and reflection

in the case of, the ratios of the refractive indices of the two media can be found. Or the refractive index of a medium

if it is known, the index of the other medium can also be calculated thanks to this correlation.

The movement of the beam in regions with different refractive indices occurs as follows:

- When the beam passes from a low-dense environment to a very dense environment, no matter what angle it comes from, it returns to normal*

he breaks by approaching and passes to the second medium.

- When rays pass from a medium of high density to one of low density, the angle made by the ray with the normal increases. Incidence when we gradually increase the*

angle, the angle of refraction also gradually increases in parallel.

- When the angle-increasing process continues, a point is reached at which the incident rays proceed parallel to the surface separating the two media. That is, the refraction angle becomes 90° . Thus,

the angle of arrival is called the boundary angle (critical angle).

- If the beam takes a value smaller than the critical angle, reflection region of the result is brilliant occurs.
- If the ray arrives at an angle greater than the critical angle, it cannot pass into the second medium and instead returns to the medium from which it came by making an angle equal to the normal. This is called total reflection.
- Here, a strong (dark) region forms from the point where the boundary angle is formed. The refractive index is calculated based on the line separating the bright and dark regions.

Abbe Refractometer

The Abbe refractometer is the most convenient and most widely used refractometer. Two on the Abbe refractometer the substance to be determined the refractive index is placed between the prism as a liquid film. Dec. Prisms are used inside the refractometry device. The incident light passes through the sample and arrives at the prism at different angles.

If the incident angle is smaller than the critical angle, a bright region forms. If the incident angle is larger than the critical angle,

A dark region forms. The boundary between the dark and bright regions corresponds to the critical angle. Applications of Refractive Index Measurement

- *Refractive index n_D and n_D is one of the constants used in determining the concentration of a chemical species*
- *It is used in industry for purity control. From the relationship between refractive index and concentration, concentration determination can be made.*
- *It is also used in sugar analysis, silica dioxide determination in glass, and aromatic hydrocarbon analysis in petroleum. The refractive index is utilized.*

Experimental Procedure:

- *From 1%, 2%, 3%, 4%, and 5% glucose solutions, add 1% glucose to the Abbe refractometer sequentially.*

A few drops of the glucose solution are dropped onto the prism, and the other prism is covered. The diffused glucose solution is observed through the lens, and dark and light regions are observed. Dark and When the hairline separating the bright region is positioned exactly at the center of the crosshair, the refractive index is read.

- *Before measuring the refractive index of other solutions, the prisms are thoroughly cleaned with distilled water and a 2%*

The measurement is performed by dropping 2 drops of the solution onto the prism. This procedure is repeated for other solutions and the refractive indices are recorded.

- * *The values of the refractive indices of glucose solutions are transferred to the table and the calibration equation is can be found. In this equation, the concentration of the unknown glucose solution is determined by is done.*

Separation Techniques

The samples that need to be analyzed are mostly in a mixture of different substances

they are found. The analytical signals given by these substances in the mixture are usually

they influence each other, that is, make an attempt. Therefore, before performing qualitative or quantitative analysis of such samples, the components present in the sample must be separated from each other.

For example, the analytical signal of an excipient in a pharmaceutical preparation is that of the active ingredient. If it is interfering with the signal, removing the interfering substance from the environment will eliminate this problem. may be removed. Or, in a pharmaceutical preparation containing two active ingredients, A and B, the active ingredients A and B may be affecting each other's analytical signals. In this case, ingredient A While components A and B can be separated from each other, their analyses can be performed in their pure forms [5]. Thus, no interference occurs. Another example can be given from cation analyses. Barium in the sample subjected to the flame test and if there are calcium cations, then due to the green color that barium gives to the flame, calcium has a flame the tile red color it gives may not be selected. Therefore, the steps of systematic analysis are by adding acetic acid and potassium chromate to the medium, barium chromate precipitates, while the calcium cation remains in solution. After centrifugation, the resulting The supernatant (filtrate) will not contain barium and will only show a brick-red color in the flame. The precipitate, on the other hand, will not contain calcium and will dissolve in acid; when tested with the flame test, only a green flame will be observed. Thus, the analysis of these cations shows that the other cation present in the sample it will be performed without being affected by the signal (flame color). Separation

techniques are often used for the analysis of samples found in the mixture it is taken advantage of. Precipitation, filtration, crystallization, extraction, distillation, chromatography are the most it is one of the separation techniques used [7,9].

Chromatography, To separate the various substances in the mixtures from each other and thus to qualitative and quantitative analysis one of the separation techniques that allows is chromatography. In all chromatographic applications, the so-called "fixed phase" and "moving phase" are connected to each other and there are two separate phases (media) that do not mix. The stationary phase stays stationary in the assembly, the moving phase (The mobile phase), on the other hand, is in motion over the stationary phase. Separation occurs based on the interaction of the substances in the mixture with the stationary phase and the mobile phase. The purpose of the stationary phase is to retain the substances. Retaining the sample by holding it in place, while the purpose of the mobile phase is to drag the substances along with it by moving them [5,7]. Thus, in chromatography, there are two components that operate with opposite purposes present. While the mobile phase carries the substances along, the stationary phase attempts to retain them. Each substance in the mixture interacts with the stationary phase and the mobile phase at different rates. and therefore they are dragged at different speeds. The substance with the highest affinity for the stationary phase will move the slowest and be retained the most. The substance with the highest affinity for the mobile phase will on the other hand, it will be the substance that drifts the fastest, therefore the least detained. Migration of substances the fact that their velocities are different, the molecules of each substance are grouped on a constant phase by it causes it to progress. Thus, the substances in the mixture are separated from each other. Chromatography was first used in 1906 by the Russian botanist Mikhail Tswett.

Tswett filled a glass tube (column) with calcium carbonate and placed it vertically in this setup. In the glass column, he placed the leaf extract prepared in petroleum ether. he poured the extract, then continued to pour only petroleum ether into the column of the extract in it he made his way downward. The extract has only a single shade of green at the very beginning [3].

However, as we progress along the column, it begins to separate into different shades of green and yellow. The reason for this is that the leaf extract contains compounds that are distinct from each other. It is the progression of molecules such as α -xanthophyll, β -xanthophyll, α -chlorophyll, and β -chlorophyll, which possess distinct colors, through the column at different speeds by forming colored groups within themselves. Tswett, this is chromatography (chroma-to), which means writing in color (chroma) to the method (graphein)-he gave his name to the graph. Each differently colored compound eluted from the column was collected in a separate beaker, allowing qualitative and quantitative analysis to be performed [4,6].

The components that make up the apparatus developed by Tswett are as follows.

- Stationary phase: calcium carbonate
- Mobile phase: petroleum ether (also the sample solvent)
- Sample: extract containing leaf pigments
- Analytes: α -xanthophyll, β -xanthophyll, α chlorophyll, and β -chlorophyll

Separation mechanisms in chromatography

Chromatography methods can be grouped according to the chemical mechanism of the separation performed as adsorption, partition, ion exchange, molecular exclusion, or affinity chromatography.

The most important of these separation mechanisms are adsorption and partition.

Adsorption is the phenomenon of substances adhering to solid surfaces. Where the stationary phase is a solid. The separation principle in chromatographic systems is adsorption. In these systems, the stationary phase is a solid. It acts as an adsorbent. Substances passing over the stationary phase along with the mobile phase are adsorbed onto the stationary phase with different forces. Substances that are strongly adsorbed move slowly when they are drifting, the substances with weaker adsorption are carried faster by the effect of the moving phase they drift. Thus, substances whose affinities to the adsorbent (adsorption powers) are different they will be separated from each other. Partition is the process by which a dissolved substance distributes itself between two immiscible fluids. It occurs in two liquids that are in equilibrium and dissolved in each other. It gives information about the concentrations/ amounts of a substance found in these phases. For example, 100 units of a substance come to equilibrium after the unit A substance is dissolved in a mixture of octanol and water [4,6,7].

When it is expected that 80 units of substance A are present in octanol and 20 units of substance A are present in water, this means that 80% of substance A is distributed in octanol. The partition coefficient of each substance is the ratio of the concentration of the substance in each liquid phase. This ratio indicates which liquid phase of the substance in question is of interest to it also gives information about being high. In this example, the interest of substance A to octanol is more than to water.

In chromatography systems based on partition mechanisms, the stationary phase is liquid, while the mobile phase is liquid or gas. In these systems, a liquid layer coated as a film on a solid surface is most commonly used as the stationary phase.

The substances present in the sample are soluble in both phases, but since their distribution rates differ, they separate from each other by moving at different speeds on the stationary phase. For example, a substance with high partitioning in the mobile phase matter moving more together will move faster, with a high partition in the stationary phase the substance will be detained for a longer time [1].

Classification of chromatographic methods

According to separation mechanism (Based on stationary phase type)

- 1. Adsorption chromatography (Stationary phase: solid)
 - a) Liquid-solid chromatography (mobile phase: liquid)*
 - b) Gas-solid chromatography (mobile phase: gas)**
- 2. Partition (adsorption) chromatography (stationary phase: liquid)
 - a) Liquid-liquid chromatography (mobile phase: liquid)*
 - b) Gas-liquid chromatography (mobile phase: gas)**
- 3. Ion exchange chromatography*
- 4. Molecular sieve chromatography*
- 5. Affinity chromatography*

According to the mode of application

- 1. Planar
 - a) Paper chromatography*
 - b) Thin-layer chromatography**
- 2. Column
 - a) Column chromatography*
 - b) Gas chromatography*
 - c) High-performance liquid chromatography**

PAPER CHROMATOGRAPHY AND THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

CHROMATOGRAPHY

One of the simplest and oldest chromatographic methods is paper chromatography. Chromatography its paper is a kind of filter paper and acts as a fixed phase. As a moving phase, it is different solvents and a mixture of them can be used. The only difference between thin layer chromatography (ITC) and paper chromatography is as a fixed phase an adsorbent such as silica, alumina coated in a thin layer on a smooth surface is used. This stationary phase assembly is called the ITC plate. ITC comes in different sizes and in thicknesses, with different substances in the desired polarity in accordance with the analysis to be performed there are commercial plates that are coated. In paper and thin layer chromatography, samples are placed on the paper/plate, near one end It is applied in small volumes and the sample solvents are allowed to evaporate [8].

Afterwards, the paper/plate is immersed into the mobile phase at a level lower than the one at which the samples were applied. Adhesion force of liquid molecules in the mobile phase (capillary with the effect), they begin to move upwards, that is, towards the upper end of the paper/plate. When the mobile phase molecules reach the points where the samples are applied, the sample they dissolve their molecules and drag them with themselves. The different substances in the samples are fixed and since their interest in the moving phases will be different, they are separated from each other by drifting at different speeds. Substances with a high interest in the moving phase progress faster and reach the upper parts. Stationary Components with high affinity for the phase progress more slowly and are found in the lower regions of the paper/plate. In paper and thin-layer chromatography, the closed glass vessel called the development chamber is used as the carrier. After

the mobile phase is added to a height of approximately 0.5 cm into the material, the lid is closed to equilibrate the entire volume within the chamber with the mobile phase. A line is drawn 1.5 cm above the bottom edge of the paper/plate, and the location where the standards and samples will be applied is marked on this line. The samples and reference materials are placed on this line. is applied onto it and its codes are marked. Never applied to chromatographic paper or plates. No marking is made with a ballpoint pen; a pencil is used. The paper/plate is then placed inside the tank and the tank lid is closed. The mobile phase moves a certain distance on the paper/plate. when it reaches the height, the line level reached by the moving phase is also marked by removing it from the tank. The outer boundaries of the stains left by the substances found in the analyzed sample are also lead it is marked with a pencil. If the substances being analyzed are colored, their path will be easily visible. To determine how far colorless substances have traveled, a mark is made on the paper/plate at the starting point. The paper/plate may need to be treated with reagent spray or examined under UV light [7,9].

The resulting paper/plate is now a chromatogram. This chromatogram by looking at which substances have a higher interest in which phase, whether a sample is pure (pure samples have a single stain, while mixed samples have more than one stain), whether two different samples come from the same source (similar samples the chromatogram patterns they give will be similar), can be detected. In the same time By comparing the stains produced by the sample with the standards' stains, it can be determined which substances a sample contains. The most objective approach for such analyses is the comparison of retention factors. In paper and thin-layer chromatography, the retention factor (R_f) of a substance is the ratio of the distance the substance travels to the distance the mobile phase travels

from the baseline. In paper and thin-layer chromatography, by comparing the retention factors of substances, it can be determined whether these substances are the same or not. For example, in the above case [6].

In the chromatogram, there are two spots produced by sample D. Since these spots have retention factors that are the same or very close to the retention factors of substances A and C, we can say that sample D contains substances A and C. The retention factor of a substance depends on its physicochemical properties, the stationary phase used, the thickness of the stationary phase, the mobile phase used, the ambient temperature, and whether the column is saturated or not. The distance traveled by the substance on the paper/plate is determined by the level of the mobile phase in the tank, the time the paper/plate spends in the tank, and consequently, the distance traveled by the mobile phase. It depends on the distance. Therefore, in paper and thin-layer chromatography, when comparing unknown samples and references, it is preferable to conduct the experiments simultaneously using the same setup [5].

Scenario : In a suicide case, a letter is at the bedside of the victim and a tablet is on his pillow fragments have been found. The police suspect that the incident was a murder, not a suicide. Police, for you to examine these tablet fragments, the ink stain on the letter and the three suspects he sent the black ink pens that were on it. You need to give it to the prosecutor The report states which suspect's pen the ink on the letter belongs to, which active ingredients were found in the fragmented tablet pieces and whether these you need to explain how you came to the decision. It will be studied in groups of three people. Students personal protection in the laboratory they will come with materials (apron, glasses, gloves) [3].

Steps to Follow:

- *Two beakers, one of which you will use as a solvent tank for paper chromatography after putting enough ethanol to the liquid level to be 0.5 cm, cover it with an hour glass turn it off.*

Ink analysis: Paper chromatography

- *The baseline as chromatography paper and the ink stain found at the crime scene (X) you will receive a filter paper that is enclosed. Hold the edges of this paper and try not to touch its surface as much as possible.*
 - *The parts marked as A, B and C on the starting line are coded A, B and C create the ink stain with the pens taken from the suspects. You will Create Ensure that the spots have the same shape, thickness, and length as the X-coded spot.*
 - *Gently place the paper into the solvent tank (beaker). The ethanol in the beaker is shaken. If you place it in this condition, your mobile phase will not advance at the same level across the plate. Cover the beaker's opening with a watch glass.*
 - *Wait for the mobile phase to rise approximately 4/5 of the way up the paper.*
 - *Remove the paper from the beaker and mark the level reached by the mobile phase (the end line) with a pencil.*
 - *Wait for the paper to dry.*
- * Tape your chromatography paper to the place indicated on your report page. (Other in the group students should*

place the chromatography paper and the resulting spots on the report page as a representation they will draw.)

** Answer the questions on the report page.*

Drug analysis : Thin Layer Chromatography

- A prelude to the ITK plate given to you so that it is 1.5 cm above the bottom edge draw the line. (With a pencil!)*
- The three active ingredients that you will apply to the plate as a standard substance are an unknown there will be a sample. That is why the starting line is equal from the edges and from each other write the codes of the samples under them by making 4 small markings at a distance. (Plates grab the edges and try not to touch the surface as much as possible.)*
- To the points you specify the standard substance and sample solutions on the plate you will use glass capillary tubes (capillary) to apply. The same for each be careful to take a solution in volume, for this, when you immerse the containers in the solution how far the solution goes in the containers, and how far when applying it to the plate you need to be careful when it lands.*
- Wait for the spots to dry, that is, for the solvents of the samples to evaporate.*
- Gently place the plate into the solvent tank (beaker). The ethanol in the beaker is shaken.*

If you place it while it is in this state, your mobile phase will not advance at the same level across the plate.

(ATTENTION! The ethanol level in the tank must be high enough to wet the lower end of the plate, but low enough not to touch the spots you have formed.)

** By closing the mouth of the beaker with a watch glass, the moving phase is up to about 4/5 of the plate wait for him to come out.*

- *Remove the plate from the beaker and mark the level reached by the mobile phase (end line) with a pencil on the area.*
- *Wait for the plate to dry.*
- *Place the dried plate under a UV lamp and draw the boundaries of the formed stains with a lead pencil.*
- *Stick your license plate to the designated area on your report sheet. (Other students in the group will draw the ITK license plate and any stains on it as a representation on the report sheet.)*
- *Answer the questions on the report sheet.*

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

High-performance liquid chromatography (YPSK or HPLC), substances in a mixed state a modern device used to distinguish, diagnose and determine quantities from each other and this is the name given to the method in which the device is used. YPSK enables the automated performance of column chromatography on an device and its analytical measurement. Pharmaceutical active ingredients in pharmaceutical preparations, degradation products in pharmaceutical preparations and impurities, drug molecules in the blood and metabolites of these molecules, drugs contain Effective compounds, the chemical composition of foods, enzymes in the organism, amino acids, proteins, polysaccharides, etc. are frequently used for the quantification of many analytes. YPSK, many It is the most important instrument in quality control laboratories for the industry. In high-performance liquid chromatography, a stainless steel column is coated with a liquid phase [5].

VOLTAMMETRY AND POLAROGRAPHY

Based on the measurement of the current as a function of the potential applied to the electrode the electrochemical

method is called voltammetry. Voltammetric experiments are conducted in an electrochemical cell and typically use a three-electrode system. These electrodes are the working electrode, reference electrode, and counter (auxiliary) electrode. Working in voltammetry method a potential is applied between the electrode and the reference electrode, the value of which Decelerates over time, and the current between the working electrode and the Decelerating electrode is measured. Measured the applied potential the graph against the current value is called a voltamogram. In voltammetry, any substance December of the potentials that can be applied to study the electrochemical behavior, the study its electrode depends on the type of solvent and electrolyte [2].

Polarography, the first of the voltammetric methods, was discovered in 1922 by the Czech chemist Jaroslav Heyrovsky , and he won the Nobel Prize in Chemistry in 1959 for this invention. In polarography, an important branch of electrochemistry, in a different way from voltametry,

a dripping mercury electrode is used as a working electrode. Applied in this method the graph of the potential against the measured current value is called a polarogram. After the substance to be analyzed begins to react with the electrode, at the potential against the smallest change that may occur, the increase in current will be rapid. The size of the current It is limited by the rate at which the electroactive species reaches the electrode surface, and for this reason, no increase is observed beyond a certain potential value. The current magnitude in this region where no increase is observed is called the limiting current (C-D).A small current before the electroactive substance reacts with the electrode. is observed. Causes such as charge buildup in the electrical double layer and impurities in the solution thus give rise to this current magnitude, which is called the residual current (A-B). The magnitude of the current

in this region is called the diffusion current (i_d). Diffusion the potential corresponding to half of its current is called the half-wave potential ($E_{1/2}$). Voltammograms and polarograms are both qualitative (qualitative) and quantitative (quantitative) of the substance it allows us to do the analysis:

1) There is a certain half-wave potential for each substance under certain conditions. Half wave potentials are qualitative, since they are characteristic for electroactive substances they are used in analysis.

2) They are used in quantitative analysis by exploiting the property that the diffusion flux is proportional to the concentration. This relationship is given by Ilkovich's equation:

$$i_d = 605 n D$$

$$1/2 C m$$

$$2/3 t$$

$$1/6$$

i_d : diffusion current

n : number of electrons involved in the electrode reaction

D : diffusion coefficient of the solute

C : concentration of the solute

m : mercury mass in mg/s

t : drip time in s

605: a number containing the geometry of the drop and the Faraday constant

While the other parameters for the electrode and the substance used in the Ilkovic equation are constant, the i_d value is there is a linear relationship between C and i_d ($i_d = k \times C$). It is different by taking advantage of this the calibration obtained by the measured current values of the standard substances in the concentrations based on the equation, the amount of substance in the unknown sample

can be calculated. In quantitative analysis, the i_d values read for solutions of known and unknown concentration are also quantity determinations can also be made by proportioning:

Drug Analysis by Voltammetric Method

In this experiment, the concentration of the drug solution being administered will be determined by voltammetry. For this purpose, first, five different concentrations will be prepared from the stock solution of the drug active ingredient. by preparing the solutions, the current values will be measured and the countercurrent to the concentration will be accurately obtained it will be done [8].

A stock solution of the active substance standard contained in the drug sample will be prepared (1×10^{-3} M).

Based on this stock solution, 2×10^{-5} M, 4×10^{-5} M, 6×10^{-5} M, 8×10^{-5} M, and

1×10^{-4} M

The analysis solutions will be prepared in a H_2SO_4 supporting electrolyte medium. Each one will be The measured current value will be plotted against concentration values to obtain the correct equation to be determined. The measured current value of the given sample (whose concentration is unknown) will be substituted into this equation to calculate the sample's concentration.

CONDUCTOMETRIC TITRATION (CONDUCTIVITY TITRATION)

Conductivity (C) is the measure of the ability of a substance to conduct electric current. $C = 1/R$ That is, it is the reciprocal of resistance(R) Unit: $S.m^{-1}$ (The Siemens unit is named after the German scientist and inventor Werner von Siemens) As is well-known, pure water does not conduct electricity; theoretically, its conductivity is zero because it contains no ions [5].

It is said that there is none. However, in practice, even though there are very few ions left in pure water, a conductivity reading of around microsiemens (μS) is obtained. Whether a water is pure or not can be determined by looking at its conductivity value. For example, the conductivity of ultrapure water is $0.055 \mu\text{S}/\text{cm}$, while the conductivity of distilled water is $0.5 \mu\text{S}/\text{cm}$. When near the coast, this value in sea water is around $56,000 \mu\text{S}/\text{cm}$. The conductivity imparted to the solvent by the ions depends on the solvent's properties such as viscosity, and the solute. It varies depending on the number, size, and charge of the ions. The analysis method based on conductivity changes in solution is called conductivity measurement. (conductivity measurement) is called. Instruments used for conductivity measurement are called conductometers. Conductometers consist of an electrical source, a conductivity cell containing the analysis solution, and a consisting of a resistance meter. The most sensitive part of the device, the conductivity cell, typically uses platinum electrodes coated with platinum black [3].

Titration in which the inflection point is determined by utilizing changes in conductivity during the reaction of an unknown-concentration sample (analyte) with a titrant of known concentration it is called conductometric titration. Conductometric titration method, dark color or clear it is quite suitable, which is widely used in the analysis of non-solutions and precipitation reactions it is one of the methods. Titration of a Strong Acid with a Strong Base In the titration of a strong acid with a strong base, HCl and NaOH solutions can be used. 50 mL of the prepared analyte (strong acid (HCl)) solution is taken and the conductometer is it is placed in the conduction cell. The initial conductivity is measured. The magnetic mixer is activated. The titration is started by adding drops of the titrant (NaOH) solution from the buret. After each 0.1 – 0.2 mL of titrant is added, the conductivity is measured. Conductivity

values are plotted on the *Y* axis of the coordinate plane, and titrant volumes in milliliters are plotted on the *X* axis of the coordinate plane. In the titration of a strong acid with a strong base, as NaOH is added, the hydrogen ion concentration decreases, causing the conductivity to decrease rapidly up to the equivalence point. After this point, since there will be excess hydroxyl ions in the environment, conductivity will increase rapidly again. Using the amount of NaOH at the equivalence point obtained from the graph, the concentration of the analyzed acid is determined [7].

Calculations

These values obtained for determining the equivalence point are uploaded to a data processing program such as “Microsoft Excel” or “Open Office Calc”. The data is divided into two parts: the sections where conductivity decreases and the sections where conductivity increases. The correct equations for these two separate data groups are derived, and these two equations are set equal to each other to find the intersection point of the lines. The *x* value found is the equivalence point. For example;

When the two linear equations $y = 150x + 47.6$ and $y = -150x + 211.2$ are equated to each other:

$$150x + 47.6 = -150x + 211.2$$

$$300x = 163.6$$

$$x = 0.545 \text{ is found.}$$

NOTE: These calculations can also be performed using the linear regression functions of scientific calculators.

POTENTIOMETRY

A comparison (reference) electrode and a suitable study (indicator) electrode was created with quantitative analysis of ions in the solution of the cell using voltage values measured in the electrochemical cell its analysis is called

potentiometry. Electrochemical cells are the cells in which redox reactions occur. Potential in these cells in order for it to occur, redox reactions, i.e. electron transfer, are required. Electrode Their potential cannot be measured absolutely, but by comparing it with the potential of the reference electrode the potential difference between them is measured [6].

Advantages of the Potentiometric Method,

- In cases where a suitable colored indicator is not possible,*
- For dark-colored or very dilute solutions*
- Can be used for the analysis of two or more components*

Electrodes are important because potential measurements are essential in potentiometry. A potential in the measurement; reference electrode, indicator electrode are used.

Reference Electrodes:

The potential of the reference electrode is constant and unaffected by the applied external potential.

An ideal reference electrode;

- 1. must be reversible and comply with the Nernst equation*
 - 2. It must be able to return to its original potential after being exposed to a small current.*
 - 3. It must not be affected by temperature changes.*
- Calomel and Ag/AgCl electrodes are the most commonly used reference electrodes.*

Indicator Electrode (Working Electrode):

These are electrodes whose potential varies depending on the solution composition and are used together with a reference electrode . The potential of the electrode is affected and changes with the applied external potential. Membrane electrodes (glass electrode, ion selective electrodes v.b) and

metal electrodes are examples of this class [8].

** Metal Electrodes:*

Class I Electrodes: These are metal electrodes that are in equilibrium with their own ions in solution.

- *Zn metal immersed in a solution containing Zn^{2+} ions*
- *Ag metal immersed in a solution containing Ag^+ ions*
- *Cu metal immersed in a Cu^{2+} solution*

II. Class Electrodes: Metal in equilibrium with a saturated solution of a slightly soluble salt

they are electrodes.

- *Ag metal in equilibrium with a saturated solution of $AgCl$*
- *Hg metal in equilibrium with a saturated solution of Hg_2Cl_2*

III. Class Electrodes: With a saturated solution of two slightly soluble salts with the same anion or metals that are also in equilibrium with a solution containing two complex ions with the same ligand

- *Saturated solution of $Hg_2C_2O_4$ salts*
- *Saturated solution of CaC_2O_4 salts*
- *Hg metal*

• Membrane Electrodes:

These are electrodes that are sensitive to specific ions. The most important of these is the glass electrode. The glass electrode; is an electrode sensitive to H^+ ions and is used in pH measurement. Today, glass electrodes in pH meters are used in combination with a calomel electrode in the form of a bubble made of special glass containing a specific concentration, usually 0.1 M HCl solution is present, and an $Ag/AgCl$ electrode is immersed in it. This electrode is immersed in the solution. At this moment, a potential is generated due to

the concentration difference between the two solutions. This potential is the reference It is read against the electrode. The potential difference formed depends on the pH of the solution.

Potentiometric Titration:

Potentiometry is an electroanalytical method that is also used in titration processes. In this method, titration is performed without the use of an indicator. Because there is no suitable indicator for the titration of certain substances or the indicator may degrade in the environment in which it is used. In acid-base reactions, the ion-selective electrode used is the glass electrode [2,4].

Experimental Procedure:

Before starting the experiment, the pH meter must be calibrated with both a basic and an acidic buffer solution. The acid to be titrated (10 mL HCl) is transferred to the beaker and 30 mL of distilled water is added. The mixture is stirred for a certain period of time using a magnetic stirrer. First, the glass electrode is immersed in the solution, and its pH is measured using a pH meter . The buret is filled with the adjusted NaOH solution. Then, equal portions are added to it in By adding NaOH, the pH is measured after each addition, and the volume of titrant added is plotted on a graph. it is passed. A sudden increase in pH indicates the equivalence point. Titration after all values have been read the curve is obtained and the molarity of HCL is found. The turning point of the curve is precisely To determine it, the first and second derivative curves are plotted [6].

2.2.Results

Instrumental analysis is the analysis of the chemical or physical properties of analytes (components in the sample) by scientific instruments and devices (spectroscope, chromatograph, etc.) is a modern analytical chemistry method in which it is studied

qualitatively (qualitatively) or quantitatively (quantitatively) using. Compared to classical wet chemical methods, it provides high sensitivity, speed, and reliability in the analysis of very small amounts (trace levels) of substances. Key Features and Methods of Instrumental Analysis Working Principle: Devices are used that produce a signal proportional to the quantity or type of component in the sample. Area of Application: Component identification and concentration determination in sectors such as environmental (water and soil analysis), pharmaceuticals, food, casting, and forensic medicine. Basic Method Groups: Spectroscopic Methods: UV-Vis, IR, AAS, ICP-MS (Light-matter interaction). Chromatographic Methods: GC (Gas), HPLC (Liquid) (Separation and Detection). Electroanalytical Methods: Potentiometry, Conductivity (Electrical Interaction). Thermal Analysis Methods: DSC, TGA (Temperature Effect). Advantages High Precision: Accurate results even at low concentrations (ppm/ppb level). Speed: Serial and rapid analysis of large numbers of samples. Minimum Sample: Analysis typically possible with small sample amounts. Non-destructive Analysis: Some methods (for example, XRF) can perform analysis without damaging the sample.

2.3. References

1. Agatonovic-Kustrin, S., Doyle, E., Gegechkori, V., & Morton, D. W. (2020). High-performance thin-layer chromatography linked with (bio) assays and FTIR-ATR spectroscopy as a method for discovery and quantification of bioactive components in native Australian plants. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 184, 113208.
2. Ankaralıgil, P., & Güneşer, B. (2021). Fonksiyonel Gıda Bileşenlerinin Tespit Edilmesinde Enstrümental Analiz Tekniklerinin Önemi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (28), 251-258.
3. Argyri, A. A., Jarvis, R. M., Wedge, D., Xu, Y., Panagou, E. Z., Goodacre, R., & Nychas, G. J. E. (2013). A comparison of Raman and FT-IR spectroscopy for the prediction of meat spoilage. *Food Control*, 29(2), 461-470.
4. Berketaş, S., & Çam, M. (2020). İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) meyve ve yapraklarının antioksidan ve antidiyabetik özellikleri. *Akademik Gıda*, 18(3), 270-278.
5. Feng, T., Sun, M., Song, S., Zhuang, H., & Yao, L. (2019). Gas chromatography for food quality evaluation. In *Evaluation technologies for food quality* (pp. 219-265). Woodhead Publishing.
6. Hara, R., Ishigaki, M., Kitahama, Y., Ozaki, Y., & Genkawa, T. (2018). Excitation wavelength selection for quantitative analysis of carotenoids in tomatoes using Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 258, 308-313.
7. Hassoun, A., Sahar, A., Lakhal, L., & Aït-Kaddour, A. (2019). Fluorescence spectroscopy as a rapid and non-destructive method for monitoring quality and authenticity of fish and meat products: Impact of different preservation conditions. *Lwt*, 103, 279-292.

- 8.Lee, M. S. (Ed.). (2012). *Mass spectrometry handbook*. John Wiley & Sons.
- 9.Nawrocka, A., & Lamorska, J. (2013). Determination of Food Quality by Using Spectroscopic. *Advances in agrophysical research*, 347.
- 10.Otles, S., & Ozyurt, V. H. (2015). Instrumental food analysis. *Handbook of food chemistry*, 151-164.

BÖLÜM 3

Sanal Laboratuvarlarda Yapılan Kimya
Deneylerine İlişkin Yönergeler

3.1. GİRİŞ

Sanal Laboratuvar, bir kimya laboratuvarının çevrimiçi simülasyonudur. Öğrencilerin kimyasal hesaplamaları gerçek laboratuvar kimyasıyla ilişkilendirmelerine yardımcı olmak için tasarlanmıştır. Laboratuvar, öğrencilerin yüzlerce standart reaktif (sulu çözelti) arasından seçim yapmalarına ve bunları gerçek bir laboratuvara benzer şekilde kullanmalarına olanak tanır (Özyörük vd.1994).

Stokiyometri

Mol, Molarite ve Yoğunluk

Glikoz Seyreltme Problemi

Bu etkinlikte öğrenciler, sanal laboratuvarı kullanarak standart 1M glikoz çözeltisinden 0,025M glikoz çözeltisi oluşturacaklardır. İlk olarak, karıştırılacak 1M glikoz çözeltisi ve suyun doğru hacimlerini hesaplayacaklardır (Onur,1999).

Asit Seyreltme Problemi

Bu etkinlikte öğrenciler, sanal laboratuvarı kullanarak 11,6 M HCl'lik konsantrite bir stok çözeltiden 500 mL 3 M HCl çözeltisi oluşturacaklardır. Öncelikle 11,6 M HCl çözeltisi ve suyun doğru hacimlerini hesaplamaları gerekmektedir.

Kola ve Sükroz Konsantrasyon Problemi

Bu etkinlikte öğrenciler sanal laboratuvarı kullanarak bir gazlı içecek tarifi için sakkaroz çözeltisi hazırlarlar. Ardından çözeltilerinin konsantrasyonunu molarite, kütlece yüzde ve yoğunluk cinsinden hesaplarlar.

Katı Maddelerden Stok Çözümleri Üretmek

Bu etkinlikte öğrenciler, sanal laboratuvarı kullanarak katı tuzlardan başlayarak stok çözeltiler oluşturacaklardır. Öğrenciler öncelikle çözeltiyi oluşturmak için gereken doğru

katı madde miktarını hesaplamalıdır. Ardından çözeltiyi hazırlarlar.

Bilinmeyen Metalin Tanımlanması (Metal Yoğunluğu Problemi)

Bu etkinlikte öğrenciler, sanal laboratuvarı kullanarak bilinmeyen bir metalin yoğunluğunu ölçerek ve ölçümlerini bilinen metallerin yoğunluklarıyla karşılaştırarak metalin türünü belirlerler (Pütün vd.,2008).

Yoğunluğundan Bilinmeyen Bir Sıvının Tanımlanması

Bu etkinlikte öğrenciler, sanal laboratuvarı kullanarak, içindeki çözeltilerin yoğunluklarını kullanarak yanlış etiketlenmiş şişelerin kimliğini belirlemeye yönelik bir deney tasarlarlar.

Alkol Yoğunluğu Problemi

Bir alkol çözeltisinin yoğunluğunu kullanarak konsantrasyonunu belirleyin.

Reaksiyon Stokiyometrisi ve Sınırlayıcı Reaktifler

Arseniğin Gravimetrik Yöntemle Belirlenmesi Bangladeş'teki yeraltı suyu kirliliği bağlamında ele alınan bu stokiyometri ve analitik kimya etkinliği, arsenikle kirlenmiş kuyuların belirlenmesiyle ilgili sorunları inceliyor.

Stokiyometrik Katsayıların Belirlenmesi

Bu etkinlikte öğrenciler, sanal laboratuvarı kullanarak 4 bilinmeyen maddenin birbirleriyle nasıl tepkimeye girdiğini ve bu tepkimelerin stokiyometrik katsayılarını belirleyeceklerdir.

Stokiyometri ve Çözelti Hazırlama Problemi

Bu sınırlayıcı reaktifler probleminde, öğrenciler farklı oranlardaki çözeltileri karıştırarak yalnızca 1 ürün içeren nihai bir çözelti elde etmeye çalışırlar.

Ders Kitabı Tarzı Sınırlayıcı Reaktif Problemleri

Sanal laboratuvarı kullanarak cevaplarınızı “tahmin etme ve kontrol etme” yöntemi olarak kullanılabilecek, ders kitabı tarzında, reaktiflerle ilgili alıştırmalar.

Ders Kitabı Tarzı Sınırlayıcı Reaktifler Problemi II

Bu etkinlikte öğrenciler, sınırlayıcı reaktifler içeren deneylerle pratik yapacak ve bilinmeyen bir çözeltinin konsantrasyonunu belirleme konusundaki bilgilerini test edeceklerdir.

DNA Konsantrasyonunu Tahmin Etme

Bu sınırlayıcı reaktifler probleminde, öğrencilere belirli konsantrasyonlarda DNA çözeltileri verilir ve belirli hacimlerde karıştırıldıktan ve reaksiyon gerçekleşikten sonra hangi ürünlerin ve reaktiflerin kalacağını tahmin etmeleri istenir.

DNA Çözeltisinin Bilinmeyen Konsantrasyonu Problemi

Bu ileri düzey sınırlayıcı reaktif probleminde, öğrenciler sanal laboratuvarı kullanarak, DNA'ya bağlanan bilinen miktarlarda floresan boya ile reaksiyona sokarak DNA çözeltisinin konsantrasyonunu belirlerler (Dölen,1988).

Termokimya

Enerji ve Entalpi

Kamp Sorunu I

Bu MRE senaryosunun bu bölümünde öğrenciler bir reaksiyonun entalpisini ölçerler.

Kamp Kurma Problemi II

Bu MRE senaryosunun bu bölümünde öğrenciler, reaktiflerin konsantrasyonları değiştirildikçe bir reaksiyonun entalpisindeki değişimi belirlerler.

ATP Reaksiyonu (Termokimya ve Bağlanma)

ATP reaksiyonunun entalpisini belirleyin.

Sulu Çözeltide Reaksiyon Isısının Belirlenmesi

Bu etkinlikte öğrenciler, bir reaksiyonun ısısını belirlemek için bir deney yaparlar.

Kahve Sorunu

Sanal laboratuvarı kullanarak, istenen sıcaklığa ulaşmak için sıcak kahveye ne kadar süt eklemeniz gerektiğini belirleyin.

Motor soğutma sıvısının ısı kapasitesinin ölçülmesi.

Yeni motor soğutma sıvıları geliştiren bir şirkette analitik kimyager olarak göreviniz, yeni geliştirilen bir ürünün ısı kapasitesini belirlemek ve ardından ısı kapasitesinin mevcut ürünün ısı kapasitesinden daha büyük mü yoksa daha küçük mü olduğunu tespit etmektir.

Motor soğutma sıvısının ısı kapasitesinin ölçülmesi II (Gelişmiş sürüm)

Yoğunluğu bilinmeyen bir sıvının ısı kapasitesini ölçün ve karşılaştırın.

Kamp Problemi III

Bu MRE senaryosunun bu bölümünde öğrenciler, karıştırıldığında belirli bir sıcaklığa ulaşan çözeltiler oluştururlar.

Tepkime Isıları - Hess Yasası

Bu etkinlik, Hess Yasası'nı üç reaksiyon kullanarak göstermektedir: NaOH'nin suda çözünürlüğü, NaOH'nin HCl'de çözünürlüğü ve bir HCl çözeltisi ile bir NaOH çözeltisinin reaksiyonu.

Denge

LeChatlier İlkesi

Kobalt Klorür ve LeChatlier Prensibi

Bu etkinlikte öğrenciler, kobalt klorür reaksiyonunun denge durumunu güvenli bir şekilde keşfederler.

Denge Hesaplamaları

DNA Bağlanma Problemi

Bu etkinlikte öğrenciler, DNA-boya reaksiyonunun bağlanma sabitini ölçerek biyokimyasal sistemlerdeki denge sabitlerini incelerler (Coşkun, 2023).

Asit-Baz Kimyası

Kuvvetli Asitler ve Bazlar

Güçlü Asit ve Baz Problemleri

Sanal Laboratuvar kullanılarak kontrol edilebilen, ders kitaplarında yer alan güçlü asit ve baz problemleri.

Ardışık Seyreltme Yöntemiyle pH Ölçeğinin Belirlenmesi

Bu etkinlik, HCl, NaOH, pH metre ve evrensel indikatör çözeltisi kullanılarak ardışık seyreltme yönteminin sınıf içi gösterimine eşlik etmek üzere oluşturulmuştur.

Zayıf Asitler ve Bazlar

Zayıf Asit ve Baz Problemleri

Sanal Laboratuvar kullanılarak kontrol edilebilen, ders kitaplarında yer alan zayıf asit ve baz problemleri.

Çözeltideki Bir Proteinin pKa Değerinin ve Konsantrasyon Oranının Belirlenmesi

Sanal laboratuvarı kullanarak;

Bir proteinin pKa değerini belirleyin, ardından proteinin protonlanmış/protonlanmamış formunun belirli bir konsantrasyon oranına sahip bir tampon çözelti oluşturun.

Bilinmeyen Asit ve Baz Problemi Bu alıştırımda öğrenciler, bilinmeyen bir asit ve bazın titrasyon eğrisini çizerek pKa değerlerini ve konsantrasyonlarını belirleyeceklerdir.

Tampon Çözeltileri

Tampon Çözümü Oluşturma

Belirli özelliklere sahip bir tampon çözelti tasarlama alıştırması.

DNA - Boya Bağlanması: Denge ve Tampon Çözeltiler

Öğrenciler biyolojik ortamda denge ve tampon çözeltilerini incelerler.

Çözeltideki Bir Proteinin pKa Değerinin ve Konsantrasyon Oranının Belirlenmesi

Sanal laboratuvarı kullanarak;

Bir proteinin pKa değerini belirleyin, ardından proteinin protonlanmış/protonlanmamış formunun belirli bir konsantrasyon oranına sahip bir tampon çözelti oluşturun.

Asit/Baz Titrasyonları

KHP çözeltisi ile NaOH'nin standardizasyonu: Asit-Baz Titrasyonu Sanal Laboratuvarı kullanarak, bilinmeyen bir NaOH çözeltisini (yaklaşık 0,2 M), 25,00 mL KHP standart çözeltisi ile titrasyon yoluyla dört anlamlı rakama kadar standardize edin.

Oksidasyon/İndirgeme ve Elektrokimya

Standart İndirgeme Potansiyelleri

Oksidasyon-İndirgeme Reaksiyonlarını Keşfetmek

Bakır (Cu), magnezyum (Mg), çinko (Zn) ve kurşun (Pb) elementlerini en güçlüden en zayıfa doğru indirgeyici madde sırasına göre sıralayacak bir deney tasarlayın.

Analitik Kimya/Laboratuvar Teknikleri

Asit/Baz Titrasyonları

KHP çözeltisi ile NaOH'nin standardizasyonu: Asit-Baz Titrasyonu Sanal Laboratuvarı kullanarak, bilinmeyen bir NaOH çözeltisini (yaklaşık 0,2 M), 25,00 mL KHP standart

çözeltisi ile titrasyon yoluyla dört anlamlı rakama kadar standardize edin.

Gravimetrik Analiz

Bilinmeyen Gümüş Klorür Gravimetrik analiz yöntemi kullanarak gümüş nitrat çözeltisindeki gümüş iyonu konsantrasyonunu belirleyin.

3.2. Kaynaklar

- Coşkun, N. (2023). Kimya Ders Denetimi. *Milli Eğitim Dergisi*, 52(238), 1447-1474.
- Dölen, E., Marmara Üniversitesi Yayın No: 455, Eczacılık Fakültesi Yayın No:3, “Analitik Kimya Volumetrik Yöntemler” 1988.
- Onur, F. (1999). *Analitik kimya laboratuvar föyü: 2. kantitatif analiz*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.
- Özyörük, G., Salih, B., Gökoğlu, E., Pekmez, N., Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Ders Teksirleri No:30, “Analitik Kimya Laboratuvarı Nitel Analiz Uygulamaları”, Ankara, 1994.
- Pütün, A.E., Kılıç, M., Hoşgün, E.Z., Anadolu Üniversitesi, Mühendislik – Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, “Analitik Kimya Laboratuvarı Deney Föyü”, Kim 230, 2008.

BÖLÜM 4

Analitik Kimya ve Biyokimya
Araştırmalarındaki Güncel Yöntemlere
Genel Bakış

4.1. GİRİŞ

Analitik kimya ve biyokimya araştırmalarındaki güncel yöntemler; kütle spektrometrisi, ileri kromatografi, mikroakışkan sistemler ve yapay zeka destekli veri analizine odaklanmaktadır [4]. Bu teknolojiler sayesinde hastalıkların erken teşhisi, kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları, biyobelirteç keşfi ve yüksek hassasiyetli moleküler analizler mümkün hale gelmiştir [2].

1. Kütle Spektrometrisi (MS) ve Görüntüleme

Kütle spektrometrisi, modern biyokimya araştırmalarının temel taşıdır. Özellikle **Kütle Spektrometresi Görüntüleme (MSI)**, doku kesitlerindeki moleküllerin (proteinler, lipidler ve metabolitler) doğrudan haritalandırılmasını sağlar. [1].

- **Uygulama:** Kanser teşhisi, tümör sınırlarının belirlenmesi ve ilaçların dokulardaki dağılımının izlenmesi [3].

2. İleri Kromatografik Ayırma Teknikleri

Karmaşık biyolojik sıvıların (kan, idrar vb.) analizinde yüksek çözünürlük sağlayan teknikler öne çıkar [3].

- **Boyutsal Kromatografi: İki Boyutlu Sıvı Kromatografisi (2D-LC)**, tek boyutlu sistemlerin yetersiz kaldığı karmaşık proteomik (protein) ve metabolomik çalışmalarda yüksek ayırma gücü sunar [4].
- **Kapiler Elektroferez - Kütle Spektrometrisi (CE-MS):** Çok küçük örnek hacimleriyle çalışan, özellikle peptid ve protein analizlerinde yüksek verimlilik sağlayan hassas bir yöntemdir [9].

3. Mikroakıřkan Sistemler ve Çip Üzerinde Laboratuvar (Lab-on-a-Chip)

Mikroboyutlu kanallarda sıvıların manipüle edilmesini sağlayan bu teknolojiler, analiz süreçlerini hızlandırır ve reaktif tüketimini minimuma indirir. [10].

- **Uygulama:** Tek hücre analizi (single-cell analysis), DNA/RNA sekanslama hazırlıkları ve hasta başı test (Point-of-Care) cihazları [7].

4. Biyosensörler ve Nanoteknoloji

Biyolojik moleküllerin tespiti için altın nanopartiküller, karbon nanotüpler ve kuantum noktalar gibi nanomalzemeler kullanılır [8].

- **Uygulama:** Spesifik DNA dizilerinin, patojenlerin (virüs/bakteri) ve spesifik hastalık belirteçlerinin (biyobelirteçler) hızlı, ucuz ve yüksek hassasiyetle tespit edilmesi [3].

5. Yapay Zeka (AI) ve Kemometri

Kromatografi ve spektrometri gibi yöntemlerden elde edilen devasa veri setleri (big data) yapay zeka ve makine öğrenimi algoritmalarıyla analiz edilir [5].

- **Uygulama:** Karmaşık spektral verilerin sınıflandırılması, ilaç tasarımı, hastalık risk faktörlerinin modellenmesi ve metabolomik profillerin tespiti [2,1-4].

6. CRISPR ve Moleküler Tanı Araçları

Biyokimya alanında gen düzenleme teknolojileri, analitik amaçlı teşhis yöntemlerine entegre edilmiştir.

- **Uygulama:** *CRISPR-Cas13* sistemleri gibi yöntemler kullanılarak nükleik asitlerin (RNA/DNA) yüksek hassasiyetle floresan veya kolorimetrik olarak algılanması [6].

7. Yüksek Verimli Tarama (High-Throughput Screening - HTS)

Robotik sistemler ve otomatik sıvı işleyicileri kullanılarak binlerce kimyasal veya biyolojik bileşiğin kısa sürede analiz edilmesini sağlayan yöntemdir [2].

- **Uygulama:** İlaç keşif süreçleri, enzim aktivitesi testleri ve toksikoloji çalışmaları [10].

4.2. Kaynaklar

1. Agatonovic-Kustrin, S., Doyle, E., Gegechkori, V., & Morton, D. W. (2020). High-performance thin-layer chromatography linked with (bio) assays and FTIR-ATR spectroscopy as a method for discovery and quantification of bioactive components in native Australian plants. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 184, 113208.
2. Ankaralıgil, P., & Güneşer, B. (2021). Fonksiyonel Gıda Bileşenlerinin Tespit Edilmesinde Enstrümental Analiz Tekniklerinin Önemi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (28), 251-258.
3. Argyri, A. A., Jarvis, R. M., Wedge, D., Xu, Y., Panagou, E. Z., Goodacre, R., & Nychas, G. J. E. (2013). A comparison of Raman and FT-IR spectroscopy for the prediction of meat spoilage. *Food Control*, 29(2), 461-470.
4. Berketaş, S., & Çam, M. (2020). İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) meyve ve yapraklarının antioksidan ve antidiyabetik özellikleri. *Akademik Gıda*, 18(3), 270-278.
5. Feng, T., Sun, M., Song, S., Zhuang, H., & Yao, L. (2019). Gas chromatography for food quality evaluation. In *Evaluation technologies for food quality* (pp. 219-265). Woodhead Publishing.
6. Hara, R., Ishigaki, M., Kitahama, Y., Ozaki, Y., & Genkawa, T. (2018). Excitation wavelength selection for quantitative analysis of carotenoids in tomatoes using Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 258, 308-313.
7. Hassoun, A., Sahar, A., Lakhal, L., & Aït-Kaddour, A. (2019). Fluorescence spectroscopy as a rapid and non-destructive method for monitoring quality and authenticity of fish and meat products: Impact of different preservation conditions. *Lwt*, 103, 279-292.

- 8.Lee, M. S. (Ed.). (2012). *Mass spectrometry handbook*. John Wiley & Sons.
- 9.Nawrocka, A., & Lamorska, J. (2013). Determination of Food Quality by Using Spectroscopic. *Advances in agrophysical research*, 347.
- 10.Otles, S., & Ozyurt, V. H. (2015). Instrumental food analysis. *Handbook of food chemistry*, 151-164.