T.C

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SCHIFF BAZLARI KULLANARAK BAZI METAL İYONLARININ SPEKTROFOTOMETRİK VE SPEKTROFLUOROMETRİK YÖNTEMLE TAYİNİ

Halide Şahin

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Konya, 2006

T.C

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

SCHIFF BAZLARI KULLANARAK BAZI METAL İYONLARININ SPEKTROFOTOMETRİK VE SPEKTROFLUOROMETRİK YÖNTEMLE TAYİNİ

Halide Şahin

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 09.08.2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Salih YILDIZ

(Danışman)

(Üye)

Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ

(Üye)

Yrd. Doç. Dr. Beniz GÜNDÜZ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SCHIFF BAZLARI KULLANARAK BAZI METAL İYONLARININ SPEKTROFOTOMETRİK VE SPEKTROFLUOROMETRİK YÖNTEMLE TAYİNİ

Halide Şahin

Selçuk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof.Dr. Salih YILDIZ
2006, 81 Sayfa

Jüri : Prof.Dr. Salih YILDIZ
Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ
Yrd. Doç. Dr. Beniz GÜNDÜZ

Bu çalışma, eser miktarda bakır tayini için, doğruluğu, kesinliği, güvenilirliği, ve seçiciliği yüksek olan spektrofluorometrik ve spektrofotometrik bir yöntem geliştirilmesi amacıyla yapıldı. Bakırın *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL) ile kompleksi oluşturularak, NANAL-Cu kompleksinin uyarma ve emisyon dalga boyları ile absorbans dalga boyu, uygun çözücü ortamı, pH, sıcaklık, kompleks oluşum süresi, kompleksin fluoresans şiddetinin sabit kaldığı zaman aralığı (kararlılık süresi) belirlendi. Optimum koşullarda tayin edilebilecek minimum bakır konsantrasyonu 0,635 ppm olarak bulundu.

Bakır tayini için *chrome azurol S* ile alternatif bir kinetik metot geliştirildi. CAS-Cu(II) kompleksinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 520 nm olarak bulundu. CAS ile Cu(II)'nin kompleksleşme reaksiyonu 25 ˚C'de pH 5'de %50 alkol-su ortamında gerçekleştirildi. Belirlenen optimum şartlar altında reaksiyon hızına sıcaklığın etkisi incelenerek Arrhenius denkleminden aktivasyon enerjisi hesaplandı. Ayrıca belirlenmiş zaman aralığı metodu kullanılarak kinetik spektrofotometrik metal tayini yapıldı. Bakır için tayin aralığı 2,54-6,35 ppb olarak tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Bakır, fluorometrik tayin, Schiff bazı, 2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden (NANAL), fotometrik tayin, chrome azurol S, kinetik tayin.

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

SPECTROPHOTOMETRİC AND SPECTROFLUORMETRİC DETERMINATION OF SOME METAL IONS USING SCHIFF BASES

Halide Şahin

Selcuk University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Salih YILDIZ

2006, Pages : 81

Jury: Prof. Dr. Salih YILDIZ
Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ
Yrd. Doç. Dr. Beniz GÜNDÜZ

This study was designed in order to develop a accurate, reliable, sensitive and highly selective method for the analysis of trace copper**.** To determine the metal by fluorometric method and fotometric method, an copper complex were formed with 2-hydoxynaphthaline-1-carbaldehyde (NANAL). The excitation and emission wavelengths and absroption wavelength of complex, suitable solvent medium, pH, temperature, complex formation time were investigated in which NANAL- Cu complex had the minimum fluorescence intensity. Under optimum conditions, the minimum detectable copper concentration was 0,635 ppm.

A new alternative kinetic method developed for the copper determination with chrome azurol S. CAS-Cu has an absorbance at 520 nm. CAS-Cu complexation reaction was carried out in the following conditions; at 25 ˚C, in amonium acetate buffer (pH:5), in %50 alcohol-water medium. Furthermore, kinetic parameters were calculated by the Arrhenius equations using the data from the experiment of effect of temperature on reaction rates at specied conditions. Moreover, in the complexation reaction, for determination of metal spectrofotometrically was used fixed time method. Under optimum condition, a linear relationship is obtained between absorbance and concentration of copper in the range 2,54-6,35 ppb.

Keywords: Copper, fluorimetric analysis, Schiff bases, 2-hydoxynaphthaline-1-carbaldehyde (NANAL), Spectrophotometric analysis, chrome azurol, kinetic determination.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Salih Yıldız danışmanlığında tamamlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Çalışmam süresince, bilgi ve tecrübeleri ile bana her konuda yardımcı olan, yol gösteren ve beni teşvik eden sayın danışmanım, çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Salih Yıldız'a saygı ve şükranlarımı sunarım

Çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Yrd. Dç. Dr. Beniz Gündüz'e, Arş Grv. Salih Z. Baş ve Arş Grv. Esra Matlaş'a da teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca çalışmalarım boyunca maddi ve manevi yanımda olan, beni teşvik eden ve bana destek olan annem Asiye Hatipoğlu ve değerli eşim Taner Şahin'e teşekkür ederim.

Halide ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. TEORİK KISIM 3
2.1. Işığın Absorplanması 3
2.1.1. Atomik Absorpsiyon 4
2.1.2. Absorpsiyon Kanunları 4
2.1.3. Beer Kanunu 5
2.1.4. Lambert Kanunu 6
2.1.5. Lambert-Beer Kanunu 7
2.1.6.Moleküler Absorpsiyon 8
2.2. Lüminesans Olayı 10
2.3. Fotolüminesans Olayının Elektronik Geçişinin Kaynağı 11
2.3.1. Fluoresans 12
2.3.2. Fosforesans 13
2.3.3. Geciktirilmiş Fluoresans 15
2.4. Fluresanssa Etki Eden Faktörler 16
2.4.1. Molekül Yapısının Fluoresansa Etkisi 16
2.4.2. Fluoresansa pH'ın Etkisi 19
2.5. Fotolüminesans Teorisi 19
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI 25
3.1. Schiff Bazları, Kompleksleri ve Önemleri 25
3.2. Bakır ve Bakır Toksitesi 32
4. LİTERATÜR ÖZETLERİ 36
5. MATERYAL VE YÖNTEM 40
5.1 Kullanılan Cihazlar 40
5.2. Kimyasal Maddeler 40
5.2.1 Schiff bazı 40
5.2.2 Çözücüler 41
5.2.3 Stok bakır çözeltisi 42
5.2.4 Tampon çözeltileri 42
5.2.5. Hidroklorik asit ve amonyak çözeltisi 42

5.3 Deneysel İşlem 42
5.3.1. Schiff Bazı Kullanılarak Bakır(II)'nin Fluorometrik ve Fotometrik Tayini 42
5.3.2. Farklı Bir Ligand (CAS) Kullanarak Bakırın Kinetik Parametrelerinin İncelenmesi ve Kinetik Tayini 46
6. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA 50
6.1. Schıff Bazı Kullanılarak Bakır(II)'nin Fluorometrik ve Fotometrik Tayini 50
6.1.1. Schiff bazının (NANAL) Fluoresans Özelliğinin İncelenmesi 50
6.1.2. NANAL-Cu Kompleksinin Uyarma ve Emisyon Dalga Boyları ile Absorpsiyon Dalga Boyunun Belirlenmesi 51
6.1.3.Uygun pH'ın Belirlenmesi 52
6.1.4. Uygun Çözücü Karışımının Belirlenmesi 54
6.1.5 Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin İncelenmesi 56
6.1.6 Kompleks Oluşum Süresinin İncelenmesi 57
6.1.7. Kompleks Stokiyometrisinin Belirlenmesi 60
6.1.8 Çeşitli Bakır Derişim Aralıklarında Kalibrasyon Grafiklerinin Çizilmesi 61
6.1.9. NANAL-Cu kompleksinde Bakırın Geri Dönüşüm Testleri 63
6.1.10. Yabancı İyonların Etkisi 64
6.2 Farklı Bir Ligand (CAS) Kullanarak Bakırın Kinetik Parametrelerinin İncelenmesi ve Kinetik Tayini 66
6.2.1. Çalışma Dalga Boyunun Belirlenmesi 66
6.2.2. Ligand Konsantrasyonunun Etkisi 67
6.2.3. pH'nın Etkisi 68
6.2.4. Çözücü Etkisi 69
6.2.5. Sıcaklığın Etkisi 70
6.2.6.Bakır(II) Tayini 72
6.2.7. Yabancı İyon Etkisi 73
7. SONUÇ 74
8. KAYNAKLAR 76
9. ÖZGEÇMİŞ 81

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bakır pek çok biyokimyasal ve fiziksel fonksiyon için gerekli bir besindir. Fe (III) ve Zn (II) den sonra insanlarda en çok bulunan üçüncü eser elementtir (Barceloux, 1999). Bakır çeşitli hücre ve dokularda küçük miktarlarda, karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Turnlund, 1998).

Bütün canlıların bu metali su, toprak ve besin yoluyla bünyelerinde bulundurmaları kaçınılmazdır. Bakır alımı büyük ölçüde besin seçimi ve alışkanlığa bağlıdır. Memeliler bakırı sudan çok yiyeceklerle alır. Günlük besinlerle alım miktarı 1,5-3,0 mg/gün, çocuklar için 0,7-2,5 mg/gün ve bebekler için 0,4-0,7mg/gün dür (U.S. AF,1990). Doğal sular organik maddelere bağlı bakır şeklinde, 4-10 µg Cu l^{-1} bakır içerir (Barceloux, 1999). İçme sularındaki bakır konsantrasyonu 2 mg l^{-1} den fazla olmamalıdır (World Health Organisation, 1993), ve içme suyuyla günlük bakır ihtiyacımızın %6-13'ünü alırız (Fitzgerald, 1998). Topraktaki bakırın doğal konsantrasyonu yaklaşık 50 ppm'dir. Bakır toz, volkanlar, orman yangınları gibi doğal kaynaklı ve bakır tasfiye fırınları, demir ve çelik üretimi, belediye çöp yakma fırınları gibi insan üretimli olarak havada bulunur. Atmosferdeki bakırın bileşimi 5-20 ng Cu m^{-3} aralığındadır (Barceloux, 1999).

İnsanlarda bakır tuzlarının gram miktarlarda vücuda alınması karın ağrısı, kusma, ishal, hematuri, proteunuri, yüksek tansiyon, çarpıntı, koma gibi belirtilerle mide, bağırsak, karaciğer ve böbrek hastalıklarına sebep olabilir (U.S. AF, 1990). Bakır toksitesi Wilson hastalığı, siroz, Hint çocuk sirozu ve safra kanallarında tıkanıklık (cholestasis) gibi hastalıklara da sebep olur ve bu hastaların karaciğer, böbrekler, beyin, kemik ve kornealarında yüksek seviyelerde bakır bulunur (Scheinberg, 1983). Çok düşük seviyelerde bakır alımında ise Menke's sendromu ve nörodejeneratif bozukluklar görülmüştür (Aeseth, 1986).

Metal zehirlenmelerinin insan sağlığı açısından önemi son derece büyüktür. Bu nedenle bu hastalıkların belirlenmesi için dokularda metallerin kalitatif ve kantitatif tayinlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla metal tayinleri için pek çok spektroskopik yöntem geliştirilmiştir.

Fluoresans ve fosforesans spektrumları, absorpsiyon spektrumları gibi deneysel şartları verilen bir madde için karakteristiktir. Bu spektrumlar maddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılabilir. Lüminesans metodlar diğer absorbsiyometrik tekniklerden yaklaşık 10^3 defa daha duyarlıdır. Lüminesans teknikler organik ve mineral katıların molekül yapılarının incelenmesi ile fotokimya ve moleküler biyoloji alanlarında geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

Bu çalışmada eser miktarda bakır tayini yapılmıştır. Bu amaçla fluoresans özellik gösteren ve bir Schiff bazı olan *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL) kullanılarak bakır-NANAL kompleksi oluşturulmuş, NANAL' ın fluoresansını söndürmesinden (quanching yöntemi) yararlanılarak bakır tayini gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan bu kompleksin fluoresans ve absorbans özellikleri incelenerek optimum koşullarda çizilen kalibrasyon eğrilerinden bakır için çalışma derişim aralığı ve tayin sınırı bulunmuştur. Ayrıca farklı bir ligand olarak *chrome azurol S* (CAS) kullanılarak bakır tayini için alternatif bir kinetik metot önerilmiştir. Bu kinetik metotta CAS-Cu (II) kompleksinin kinetik parametreleri incelenmiş kinetik spektrofotometrik tayini yapılmıştır.

2. TEORİK KISIM

2.1. Işığın Absorplanması

Çeşitli dalga boylarında ışın içeren bir demet, şeffaf bir ortamdan geçirilirse, içinden bazı dalga boylarının kaybolduğu görülür. Buna ışının absorplanması denir.

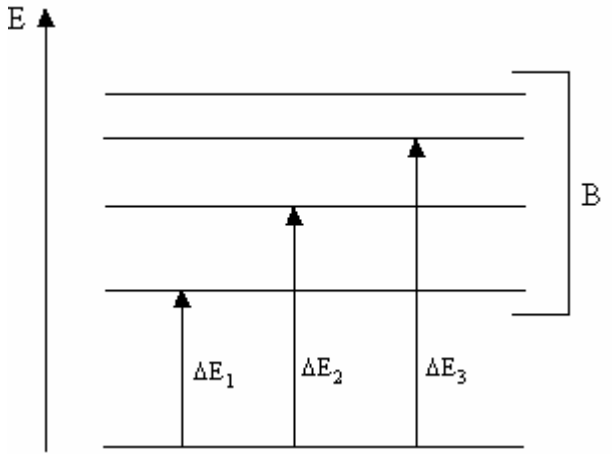
Absorpsiyonla ışın enerjisi maddenin iyon, atom veya moleküllerine aktarılır. Böyle ışın enerjisini absorplamış olan atom, iyon veya moleküller uyarılmış hale geçerler. Uyarılmış bir atom veya molekül 10^{-8} sn kadar yaşayabilir. Sonra absorpladığı ışın enerjisini geri vererek tekrar eski haline veya temel haline döner. Madde tarafından absorplanan ışın enerjisinin geri verilmesi, genellikle ısı şeklinde olur ve madde çok az ısınır. Maddenin titreşim enerjisi artar.

Bazı maddeler ise absorpladığı ışın enerjisini kısa süreli olmak üzere , daha uzun dalga boylu ışınlar halinde yayar. Buna fotolüminesans olayı denir. Bu olayın çok kısa süreli olmasına flouresans, daha uzun süreli olanına fosforesans adı verilir.

Atomların ve iyonların sınırlı sayıda uyarılmış halleri vardır (Şekil 2.1). Bu nedenle sınırlı sayıda ışın enerjisini veya sınırlı sayıda ışın dalgalarını absorplarlar. İki türlü absorpsiyon vardır.

1-Atomik absorpsiyon

2-Moleküler absorpsiyon



Şekil 2.1 Bir atomun uyarılmış halleri

2.1.1. Atomik Absorpsiyon

Sodyum buharından beyaz ışın demeti geçirilirse, demetten sarı ışının absorplandığı diğer bir ifadeyle kaybolduğu görülür. Sarı ışının sodyum atomları tarafından absorplanması, sodyum atomlarında 3s enerji seviyesinde bulunan bir elektronun sarı ışını absorplayarak 3p enerji seviyesine çıkmasıyla açıklanabilir. Bu sodyum atomunda 3s orbitaliyle 3p orbitali arasındaki enerji farkının sarı ışının ($\lambda = 5893\ A^o$) enerjisi kadar olduğunu söyler. Buna şekildeki ΔE_1 enerjisi denebilir.

Atomların en dış tabaka elektronları ultraviyole ve görünür ışınlarla uyarılmış hale getirildikleri halde, iç tabaka elektronlarını uyarılmış hale getirmek için X-ışınları kullanılır.

Atomların en dış tabaka elektronlarının uyarılması (rezonans ışınlaması) üzerine kurulmuş olan spektroskopi dalına atomik absorpsiyon, en iç tabaka elektronlarının uyarılması üzerine kurulmuş olan spektroskopi dalına da X-ışınları spektroskopisi denir.

2.1.2. Absorpsiyon Kanunları

Bir maddenin ışık veya elektromagnetik enerji absorplaması olayı iki basamaklıdır.

Birinci basamak;

$$M + h\nu \rightarrow M^*$$

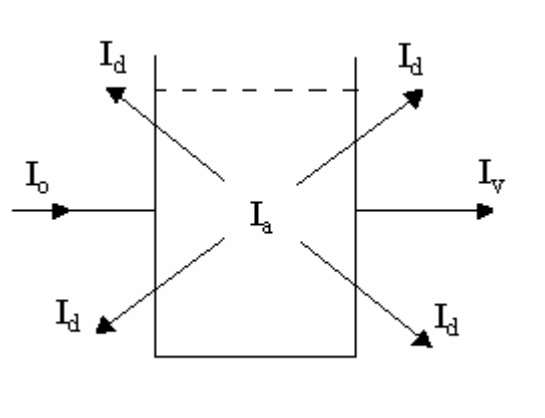
dır. M* ışın absorplayarak uyarılmış olan atom, iyon veya moleküldür. Absorpsiyonla uyarılmış olan taneciğin ömrü 10^{-8} saniye kadardır.

İkinci basamakta ;

$$M^* \rightarrow M + \text{ısı}$$

olayı meydana gelir. Ortalama ömürleri çok kısa olduğundan, ortamdaki M* konsantrasyonu oldukça düşüktür.

Şeffaf bir kap içinde bulunan bir çözelti üzerine bir ışın demeti düşürülürse; I_o şiddetindeki ışın demetinin bir kısmı çözeltide absorplanır (I_a), bir kısmı çözelti tarafından dağıtılır (I_d), bir kısmı yansır (I_y) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 I_o şiddetindeki bir ışın demetinin geçirgen yüzey ve çözelti üzerine düşmesi

Buna göre,

$$I_o = I + I_a + I_d + I_y \qquad (2.1)$$

olur. Bunlardan I_d ve I_y ihmal edilecek kadar az olduğundan; $I_o = I + I_a$ olur. Bu bağıntıyla ilk ilgilenen bilim adamları Beer ve Lambert-Bouger olmuştur.

2.1.3. Beer Kanunu

Beer'e göre (1852) aynı derinlikte bir çözeltiden geçen ve çözelti tarafından absorplanan monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözeltinin konsantrasyonu ile logaritmik veya üstel olarak azalır (Şekil 2.3). Bu gerçek logaritmik olarak;

$$I = I_o\, e^{-bc} \qquad (2.2)$$

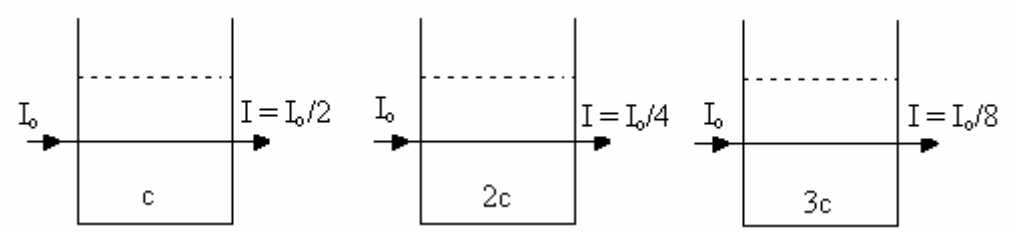
$$\ln I = \ln I_o - bc \qquad (2.3)$$

veya

$$I = I_o 10^{-ac} \qquad (a = b/2{,}303) \qquad (2.4)$$

$$\log I = \log I_o - ac \qquad (2.5)$$

şeklinde verilir.



Şekil 2.3 Beer Kanunun şematik olarak gösterilişi

I_o gelen ışının şiddeti, I çözeltiyi terkeden ışının şiddeti, a çözeltinin türüne ve monokromatik ışının dalga boyuna bağlı bir sabit, c ise çözeltinin konsantrasyonudur.

2.1.4. Lambert Kanunu

Lambert'e göre (1760), bir çözeltiden geçen monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözeltinin derinliğiyle (çözelti içinde aldığı yolla) logaritmik veya üstel olarak azalır (Şekil 2.2). Bu gerçek logaritmik olarak,

$$I = I_o\, e^{-bl} \qquad (2.6)$$

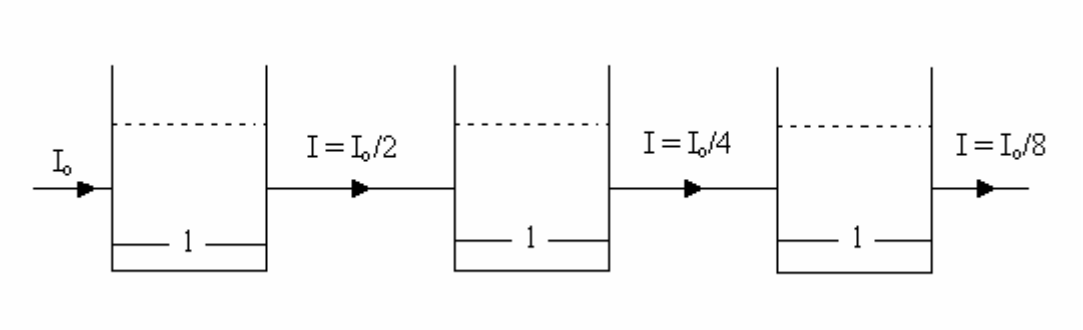
$$\ln I = \ln I_o - bl \qquad (2.7)$$

veya

$$I = I_o\, 10^{-al} \quad (a = b/2{,}303) \tag{2.8}$$

$$\log I = \log I_o - al \tag{2.9}$$

şeklinde gösterilir. I_o gelen ışın demetinin şiddeti, a çözeltiden geçen ışın demetinin dalga boyuna bağlı bir sabit, l çözeltinin derinliğidir.



Şekil 2.4 Lambert kanunun şematik olarak açıklanması

2.1.5. Lambert-Beer Kanunu

Yukarıda açıklanan iki kanun birleştirilirse, bir çözeltiden geçen monokromatik ışın şiddeti, çözeltinin derinliği (Işının çözelti içinde aldığı yol) ve konsantrasyonu ile logaritmik ve üstel olarak azalır. Buna göre;

$$I = I_o\, 10^{-\varepsilon lc} \tag{2.10}$$

ifadesi yazılır. Bu eşitliğe Lambert-Beer kanunu denir. Eşitlikte I_o gelen ışının şiddeti, I çözeltiden çıkan ışın demetinin şiddeti, ε çözeltinin kalınlığı, c ise çözeltinin konsantrasyonudur. Eşitliğin eksi logaritması alınırsa;

$$\log \frac{I_o}{I} = \varepsilon lc \tag{2.11}$$

olur. $\log I_o/I$ ye absorbans denir ve A ile gösterilir. Eşitliklerden anlaşılacağı gibi ε sabiti çözelti konsantrasyonunun ve ışın yolunun veriliş birimine göre değişir. Bunu sabit hale getirmek için konsantyrasyon molarite, ışın demetinin geçtiği yol da cm olarak alınır. Böylece bulunan ε molar absorplamadır. Buna göre yukarıdaki eşitlik

$$A = \varepsilon lc \tag{2.12}$$

şeklinde verilir.

Ölçme yapılırken I_o ve I şiddetleri ayrı ayrı ölçülmez. Onun yerine söz konusu dalga boyundaki çözelti ve saf çözücüden geçen ışın demeti şiddetleri ölçülür. Saf çözücüden geçen ışın demetinin şiddeti I_o olarak kabul edilir. Buna göre

$$A = \log\frac{I_o}{I} = \log\frac{I_{o(\text{çözücü})}}{I_{(\text{çözelti})}} \tag{2.13}$$

eşitliği yazılır.

Bir ışın demetinin çözeltiden geçen kısmının çözücüden geçen kısmına oranına geçirgenlik (transmitans) denir ve T ile gösterilir.

$$T = \log\frac{I_o}{I} \tag{2.14}$$

ve

$$A = \log\frac{I_o}{I} \tag{2.15}$$

yazılır. Bu eşitlik

$$A = -\log T \tag{2.16}$$

şeklinde de yazılabilir.

2.1.6.Moleküler Absorpsiyon

Moleküllerde enerji seviyesi atomlardakine göre daha çoktur. Bir molekülün toplam enerjisi E olduğuna göre;

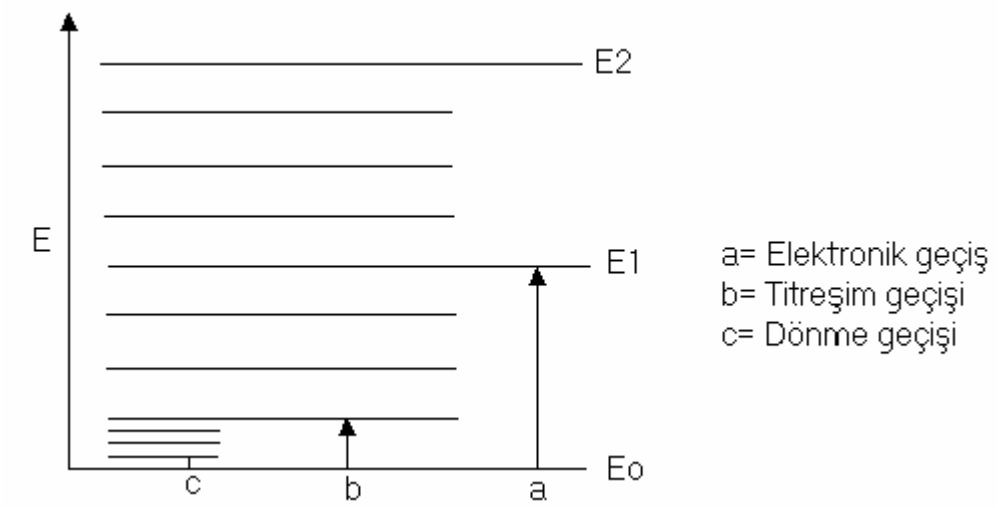
$$E = E_e + E_t + E_r \qquad (2.17)$$

dir. E_e elektronik enerjisini, E_t titreşim enerjisini, E_r rotasyon veya molekülün ağırlık merkezi etrafında dönme enerjisini gösterir. E_e enerji terimi diğer enerji terimlerinden (E_t ve E_r) daha büyüktür. Bu nedenle elektronik geçişler dalga boyları 200-800 nm arasında olan UV ve görünür alan ışınlarıyla gerçekleşir.

E_t, titreşim geçişleri daha düşük enerjilidir. Bunlar için dalga boyları 1000-1500 nm olan IR ışınları kullanılır.

E_r, rotasyon enerji seviyeleri enerjice, titreşim enerji seviyelerinden de daha düşük olduklarından, bu geçişler için dalga boyları 10000-100000 nm arasında olan ışınlar gereklidir.

Bir molekülün UV ve görünür alan spektrumu, molekülün bağ elektronlarından birinin, bir foton enerjisini absorplayarak bir üst elektronik seviyeye geçmesi şeklinde açıklanabilir. Elektronik seviyedeki geçişler daima titreşim ve rotasyon seviyelerindeki geçişlerle birlikte meydana gelir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Enerji seviyeleri arasındaki geçişler

Organik ve inorganik maddeler UV ve görünür alanda absorpsiyon yaparlar. Her iki grup maddede de elektron geçişinin temeli aynı olmasına rağmen açıklanma metotları farklıdır. Organik maddelerin absorplanmaları molekül orbital teorisine

göre, inorganik maddelerin ki ise kristal alan teorisine göre yapılır. Molekül orbital teorisi molekül orbitalleri kabulüne dayanır.

2.2. Lüminesans Olayı

Soğurdukları ışık enerjisini tekrar ışık enerjisi olarak yayma özelliğine sahip olan maddelere "fotolüminesans maddeler"; bu olaya da "fotolüminesans olayı" adı verilir.

Lüminesans spektrumları normal olarak ultraviyole ve görünür bölgededir ve daima tekabül ettikleri soğurma spektrumlarına göre daha uzun dalga boylarına kaymışlardır. Maddenin kimyasal yapısına, fiziksel durumuna ve sıcaklığına bağlı olarak farklı lüminesans olayları gözlenebilir.

1- Fluoresans (normal ve hızlı)
2- Fosforesans
3- Geciktirilmiş Fluoresans

Bu farklı lüminesans olayları birbirinden emisyon dalga boyları veya emisyon ve absorpsiyon arasında geçen zaman (lifetime = ömür) ile ayırt edilir. Normal fluoresans, bir madde için, her hangi bir fiziksel durumda ve hem adi hem de düşük sıcaklıklarda gözlenebilir. Fluoresansın ömrü genellikle çok kısadır. 10^{-10} – 10^{-8} sn arasındadır.

Maddeler genellikle katı veya katı çözelti halinde iken çok düşük sıcaklıkta fosforesans özellik gösterirler. Fosforesans, fluoresanstan öncelikle spektrumlarının durumuyla ayırt edilir. Fosforesans spektrumları daha uzun dalga boylarına kaymıştır. Aynı zamanda fosforesans ömrü oldukça uzundur. (10^{-4} sn birkaç sn hatta daha uzun)

Geciktirilmiş fluoresans olayına birkaç maddede rastlanmıştır ve genellikle fosforesans yayan maddelerle aynı fiziksel haldedirler. Emisyon spektrumları hızlı fluoresans için verilenler gibidir. Yalnız uyarılma ve yayılma arasında geçen zaman fosforesans ömrü mertebesindedir.

Yukarıda izah edilen fluoresans ve fosforesans spektrumları, absorpsiyon spektrumları gibi deneysel şartları verilen bir madde için karakteristiktir. Bu

spektrumlar maddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılabilir. Lüminesans metodlar diğer absorbsiometrik tekniklerden yaklaşık 10^3 defa daha duyarlıdır.

Lüminesans teknikler organik ve mineral katıların molekül yapılarının incelenmesi ile fotokimya ve moleküler biyoloji alanlarında geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

2.3. Fotolüminesans Olayının Elektronik Geçişinin Kaynağı

Bir molekül, UV veya görünen ışığı absorpladığı zaman, elektronlardan biri daha yüksek enerji seviyesine çıkar. Elektron temel seviyesine döndüğü zaman ise fluoresans veya bir başka lüminesans olayı meydana gelir. Moleküllerdeki elektronlar karakterize ettikleri bağa göre; σ ve π elektronları olarak sınıflandırılır. Sigma (σ) elektronları tek bağ teşkil eden elektronlardır. Pi (π) elektronları ise ikili, üçlü bağların ve aromatik sistemlerin bağını teşkil eden elektronlardır.

Bir molekül uygun dalga boyunda bir ışık absorpladığı zaman absorplanan ışık enerjisi ya dönme enerjisine çevrilir (30 μ dan büyük dalga boyları için) veya titreşim enerjisine çevrilir. (1-30 μ dalga boyları için) ya da daha büyük bir enerji absorplanmışsa (1μ dan daha küçük dalga boyları için) molekülün elektronik yapısının değişimine harcanır. Lüminesans olayları, molekül içindeki elektronik dağılımındaki değişimin görünür veya mor ötesi ışık yayması sonucudur.

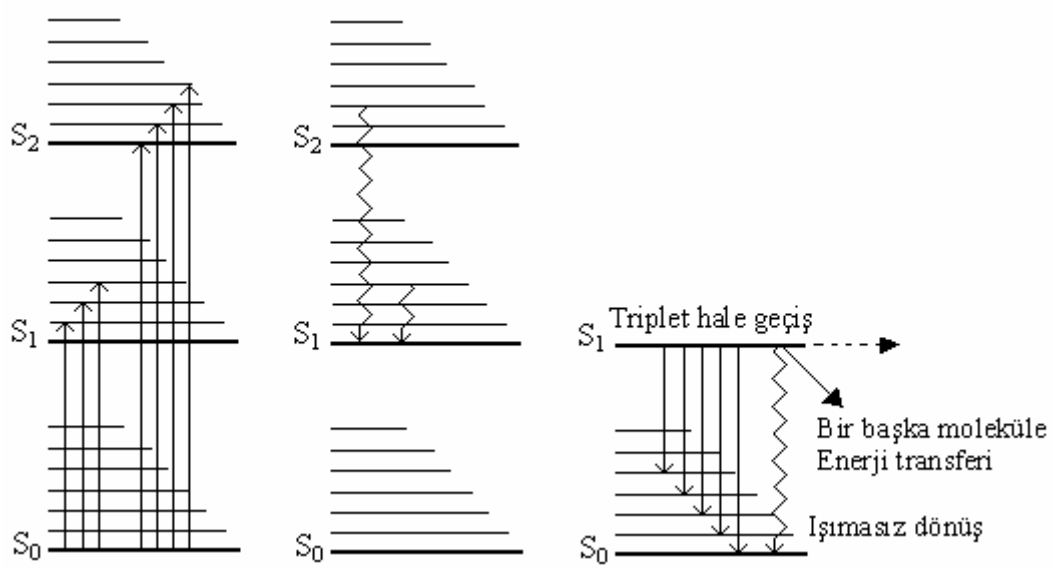
Lüminesans olayını molekülsel enerji seviyeleri diyagramıyla açıklamaya çalışalım: Molekülün en düşük enerji seviyesi temel hal denilen uyarılmamış halidir. Diğer enerji seviyeleri uyarılmış hallerdir. Bunlarda birli (singlet) haller ve üçlü (triplet) haller olarak ikiye ayrılır.

Uygun bir dalga boyundaki ışığın absorplanmasıyla molekülün temel halden singlet durumlara doğrudan doğruya geçmesi sağlanır. Halbuki triplet hallere temel halden doğrudan geçiş mümkün değildir. İlgili elektron, molekül içerisinde singlet uyarılmış bir durumdan başlayarak triplet hale geçebilir.

2.3.1. Fluoresans

Şekil 2.6 daki molekülsel enerji diyagramında singlet enerji seviyesi diyagramını göz önüne alalım. Bu durumda molekül, temel halin sıfırıncı titreşim seviyesinde kabul edilmiştir. Uygun enerjili bir fotonun absorpsiyonu, molekülü uyarılmış bir halin titreşim seviyelerinden birine uyarır. Böyle bir geçiş için gerekli zaman 10^{-15} sn mertebesindedir.

Genellikle molekül bir uyarılmış durumda veya daha üst bir titreşim seviyesinde kalmaz; molekül içi bir enerji dönüşüm işlemi, onu uyarılmış birinci singlet halin en düşük titreşim düzeyine geri getirir. Bu dönüşüm, 10^{-13} - 10^{-11} saniyelik bir sürede oluşur.



Absorpsiyon Fazı Soğurma (10^{-15} sn) (a)

İç Değişim Fazı (10^{-13}-10^{-11} sn) (b)

Emisyon Fazı veya Temel hale ışımasız dönüş (10^{-10}-10^{-8} sn) (c)

Şekil 2.6. Fluoresans emisyonunun şematik diyagramı (Jablonski diyagramı)

Bu şekilde birinci uyarılmış halin titreşim düzeyine getirilen molekül şartlara bağımlı olarak bu durumda 10^{-10} – 10^{-8} sn arasında kalabilecek kararlılıktadır. Temel halin en düşük titreşim düzeyine dönüş üç yolla olabilir ;

1- Molekülün temel halin titreşim düzeylerinden birine, daha sonra da bir enerji dönüşümüyle en düşük titreşim düzeyine geri dönmesi ile ışığın emisyonu fluoresans olayının meydana gelmesine yol açar.

2- Molekül içerisindeki enerji dönüşümü veya çevredeki diğer moleküller ile enerji değişimi, dönme veya titreşim enerjisi şeklinde olur (Şekil 2.6b). Bu geçişler ışın yayıcı değildir.

3- Bir molekül, bir titreşim seviyesine uyarıldıktan sonra, temel hale, bir başka moleküle enerji transferi ile döner (Şekil 2.6c).

Bu diyagramdaki açıklamalardan da görüldüğü gibi verilen bir emisyon spektrumu; bir miktar enerjinin iç dönüşümlerde harcanması veya ışımasız dönüşümlerle harcanması nedeniyle daima uyarıcı olarak görev yapan absorpsiyon spektrumlarından daha düşük frekans bölgesinde (veya daha uzun dalga boyu bölgesinde) meydana gelir.

Fluoresans emisyonunun diğer mümkün yöntemlere göre üstünlüğü kuantum verimi nicel olarak belirlenebilir. Kuantum verimi; yayılan fluoresans fotonlarının sayısının absorplanmış fotonların sayısına oranı olarak tanımlanır.

2.3.2. Fosforesans

Fosforesans olayını izah edebilmek için Şekil 2.7. de gösterilen bir molekülün singlet ve triplet durumlarının enerji seviyeleri diyagramını göz önüne alalım.

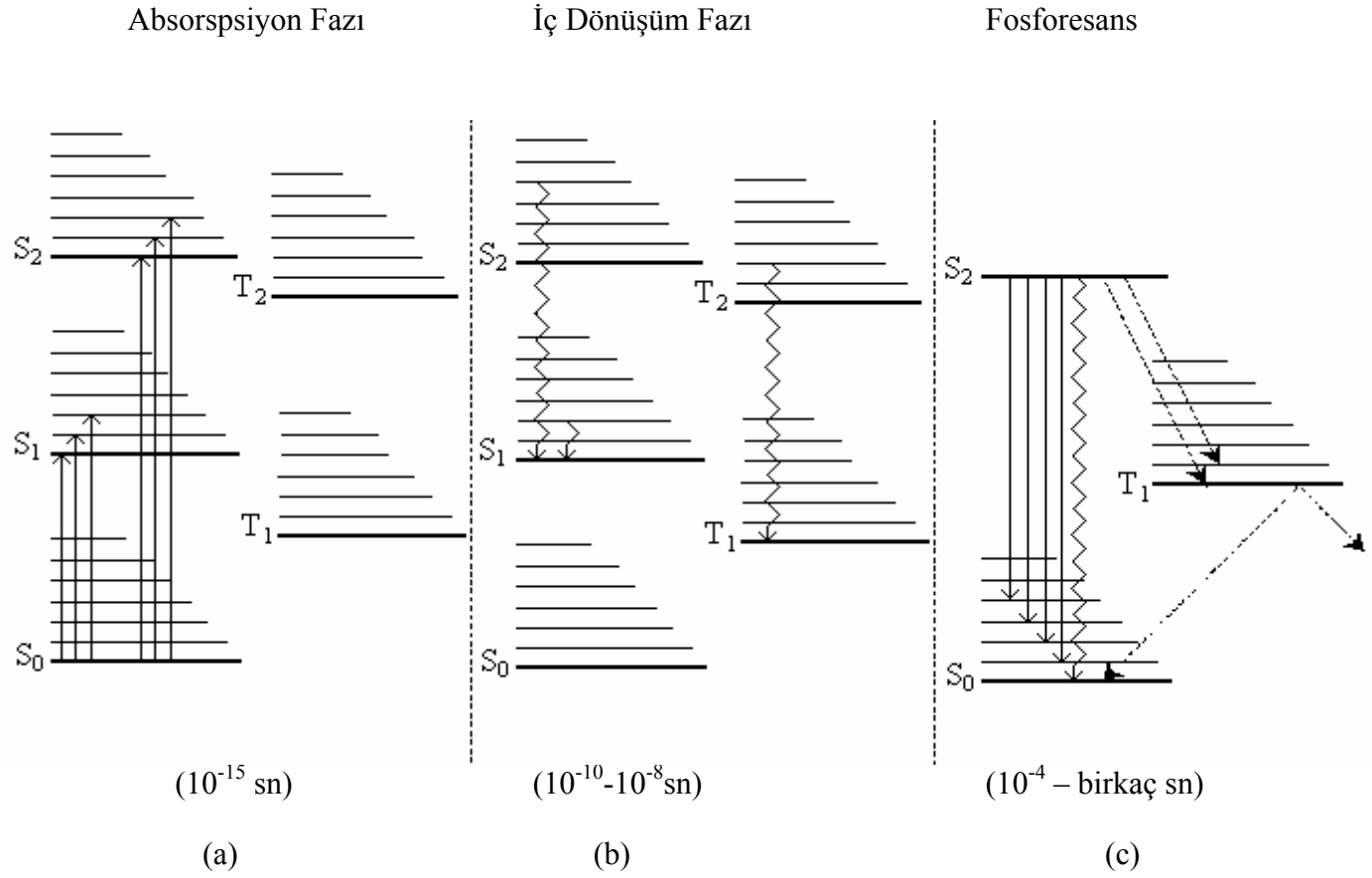
Işık ışınlarının absorpsiyonu, molekülü temel halin en düşük titreşim seviyesinden , uyarılmış bir singlet durumun titreşim düzeylerinden birini uyarır (Şekil 2.7a). Bu geçiş 10^{-15} sn mertebesinde meydana gelir. Uyarma enerjisinin fazlasını atmak için;

1- Fluoresans oluşturarak birinci uyarılmış singlet durumunun en düşük enerji düzeyine dönebilir yada ;

2- Uyarılmış bir triplet hale titreşim düzeylerinden birine geçer ve sonra uyarılmış triplet durumunun en düşük enerji düzeyine inebilir.

Molekül birinci uyarılmış durumdan temel hale daha önce söylendiği gibi ışıma oluşturmadan veya fluresans yayarak dönebilir.

Molekül birinci uyarılmış triplet durumunda ise (yukarıda ikinci maddede belirtildiği gibi) ışığın emisyonu ile temel hale dönüş zordur. Sonuç olarak; oldukça yavaş bir emisyonla temel hale dönülür. Uyarılmadan 10^{-4} – bir kaç sn lik bir süreye kadar oluşan bu ışımalı dönüşte fosforesans meydana gelir.



Şekil 2.7. Fosforesans Emisyonunun şematik diyagramı

Molekül birinci uyarılmış triplet durumunun en düşük titreşim seviyesinde sadece fosforesans ışıma ile temel hale dönmez. Bu arada başka moleküllere enerji transferi olabilir veya ışımasız deaktivasyonla temel hale dönebilir. (Şekil 2.7c)

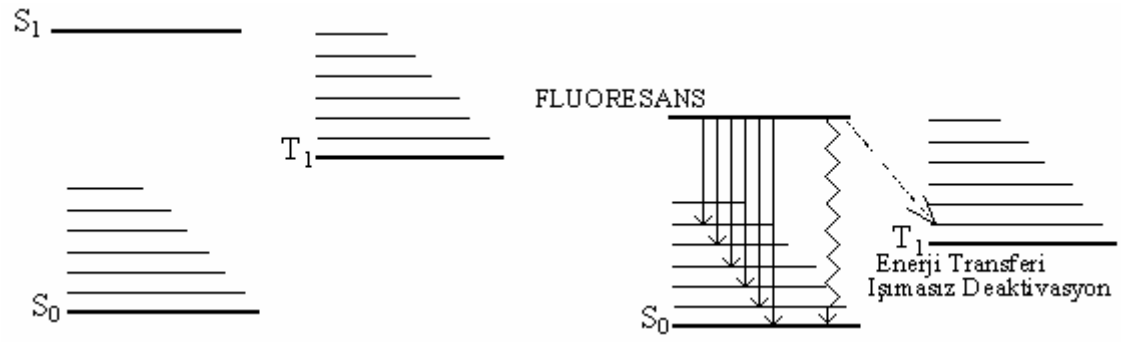
Denemelerle fosforesans gösteren bir maddenin daima aynı derecede fluoresans göstereceği bulunmuştur. Enerji düzeyleri diyagramında, fosforesans emisyonunun fluoresanstan daha düşük bir frekansta veya daha uzun bir dalga boyunda meydana geldiği görülmektedir. Fluoresans ve fosforesans ömürleri farklı olduğundan, iki emisyon uygun mekanik aletler kullanılarak ayrılabilir.

Fosforesans, en iyi şekilde katı veya viskoz bir ortamda, ışımasız deaktivasyonun azalmasına sebep olan düşük sıcaklıkta gözlenir.

2.3.3. Geciktirilmiş Fluoresans

Geciktirilmiş fluoresans olayı, singlet veya triplet durumların bir enerji düzeyi diyagramı yardımıyla da izah edilebilir. Olayların birbirini izleyişi fosforesans için anlatıldığı gibidir. Yani absorsiyon ve dahili enerji dönüşümünde sonra moleküller ya birinci uyarılmış halin en düşük titreşim seviyesinde ya da birinci triplet halin en düşük titreşim seviyesindedirler. (Şekil 2.7b)

Belirli moleküller için özel deneysel şartlar altında triplet halin en düşük titreşim seviyesinden singlet halin en düşük titreşim düzeyine geçişi mümkündür (Şekil 2.8a). Bu değişme için gerekli olan enerji, içinde bulunan şartlar tarafından sağlanır. Bu şartlar altında birinci uyarılmış singlet hale dönüşten sonra fluoresans emisyonu meydana gelebilir (Şekil 2.8b).



Şekil 2.8 Geciktirilmiş fluoresansın şematik diyagramı

Bu tartışmadan, bu yeni emisyonun spektral karakteristiklerinin normal fluoresansınkine mutlak benzediği görülebilir. Bununla beraber lüminesans emisyonu uzun bir süre sonra meydana gelir.

2.4. Fluresanssa Etki Eden Faktörler

2.4.1. Molekül Yapısının Fluoresansa Etkisi

Moleküllerde fluoresans şiddeti molekül yapısına bağlı olarak;

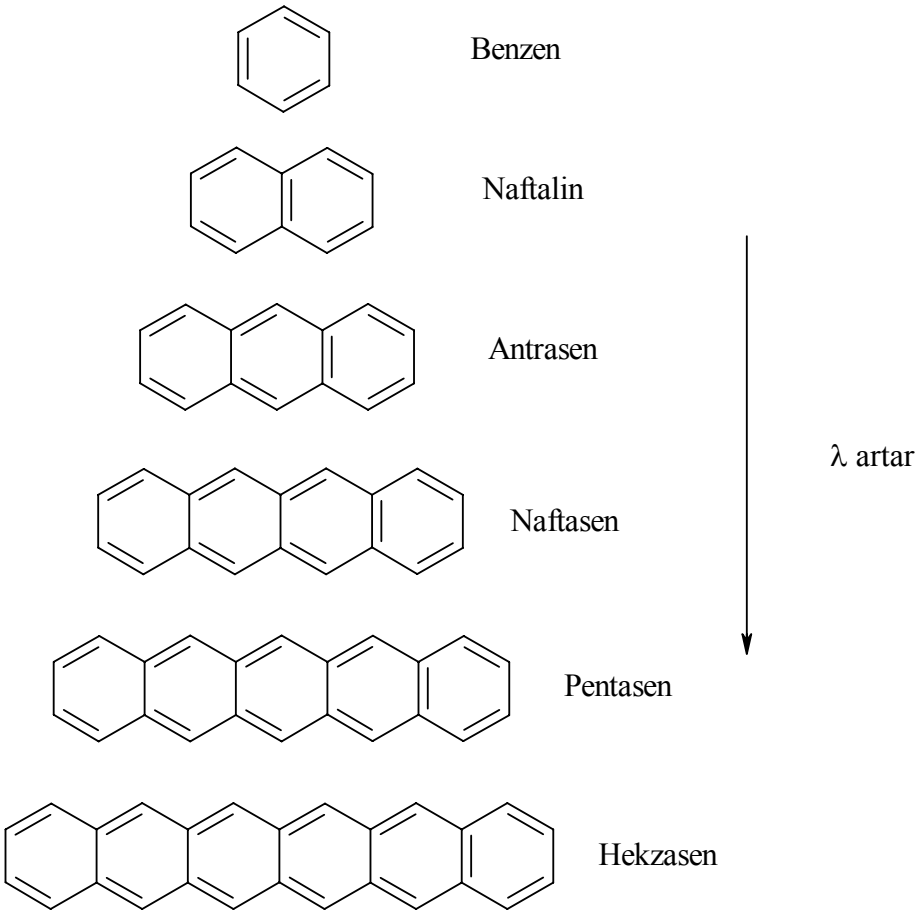
1) Çift bağ konjügasyonunun geniş bir şekilde delokalize olmasına,
2) Molekülün rijitliğine, düzlemsel olmasına ve
3) Bağlı bulunan sübstitüentlere bağlıdır.

2.4.1.1. Konjügasyon etkisi:

Konjügasyona hem aromatik hem de alifatik bileşiklerde rastlanır. Bu iki bileşik türü karşılaştırıldığı zaman; aromatik konjügasyonda π elektronları delokalize durumda, alifatik konjügasyonda ise lokalize durumda olduğu görülür. Yani π elektronları aromatik bileşiklerde düşük bir enerjiyle uyarılabilirken alifatik bileşiklerde molekül yapısını bozmadan uyarılabilecek kadar gevşek bağlı değildirler. Ancak alifatik karbonil bileşikleri fluoresans kuantum verimini çok düşük olacak şekilde bir fluoresans yapalibirler. Çünkü karbonil oksijeni üzerindeki bağ yapmamış elektron çifti π* orbitaline düşük bir enerji ile uyarılabilir.

Yukarıda belirtildiği gibi aromatik bileşiklerde konjuge durumdaki çift bağların π elektronları delokalize durumdadır. Halka sayısı arttıkça delokalizasyon da artar. Bunun sonucu olarak ta halka sayısı arttıkça fluoresans sayısı artar.

Benzende fluoresans yüksek enerjili fotonlarla gerçekleştirilirken pentasende düşük enerjili fotonlarla olmaktadır. Benzendeki fluoresans daha yüksek enerjili olan UV bölgede olurken, pentasendeki fluoresans görünür bölgede olur.

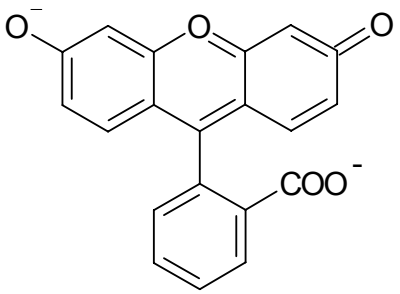


2.4.1.2 Molekülün rijitliğinin ve düzlemselliğinin etkisi

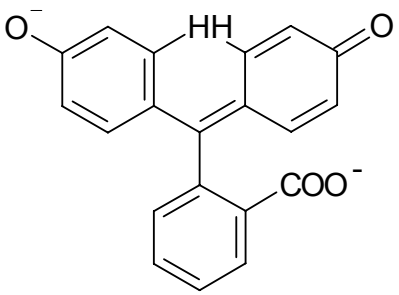
Rijitlik, molekülün esnek olmama özelliği olarak ifade edilebilir. Rijit bir molekül üzerine düşen fotonun enerjisi titreşim enerjisine dönüştürülemez ve geriye yansıtılır. Bu sert ve parlak bir metal blok üzerine düşürülen ışığın geriye yansımasına benzetilebilir. Fluoresans özellik gösteren bir boya sert bir yüzeye absorbe edilirse rijiditesi artar.

Rijit olmayan moleküllerde iç dönüşme daha kolay olduğundan ışın yaymaksızın enerji kaybı olma ihtimali çok daha fazladır. Bu hal, bilindiği gibi fluoresans şiddetini azaltır. Bundan başka, rijit olmayan bir molekülün bir tarafı diğer tarafına göre daha zayıf bir enerjiyle uyarılmış olabilir. Bu da fluoresans verimini azaltabilir. Örnek olarak, yapı olarak birbirine çok benzeyen floressein ve fenolftalein moleküllerini ele alalım: floresseinin alkol su karışımındaki çözeltisi çok

kuvvetli fluoresans olduğu halde, fenolftaleinin çözeltisi fluoresans özellik göstermez.



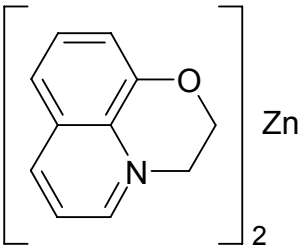
Fluoressin



Fenolftalein

Floressein molekülü rijit bir yapıya sahip olduğu halde fenolftalein molekülü rijit değildir. Bu nedenle fenolftalein uyarıldığı zaman temel hale dönmek için iç dönüşümü tercih edilir.

Şelat kompleksi veren bir ligand bir katyonla kompleks verdiği zaman rijiditesi artar. Örneğin; çinko katyonuyla 8-hidroksi kinolinin verdiği kompleks şiddetli fluoresanstır.



2.4.1.3 Moleküldeki sübstitüentlerin etkisi:

-NO_2 gibi π elektronunu delokalize eden (gevşeten) sübstitüentler, fluoresansı ya azaltırlar ya da tamamen yok ederler.

Örneğin; benzen UV bölgede fluoresans yapar. Bu moleküle (-NH_2) grubu sübstitüe edilirse fluoresansı artar ve yüksek dalga boyuna kayar. (-NO_2) ile sübstitüe edilirse fluoresans özelliği tamamen kaybolur. Bunun nedeni, anilinde (C_6H_5-NH_2**:**) bağ yapmamış elektron çifti bulunması, nitrobenzende (C_6H_5-NO_2) bu halin görülmemesidir.

Bağ yapmamış elektron çiftleri düşük enerjili ışık fotonlarıyla molekül yapısını bozmadan bir üst enerji seviyesine uyarılabilirler.

2.4.2. Fluoresansa pH'ın Etkisi

Proton aktarımı tepkimeleri çok hızlı tepkimeler olduğundan, proton aktarımının temel durumdaki moleküllerle olduğu gibi, uyarılmış moleküllerle de gerçekleşme olasılığı çok yüksektir. Ortamın pH'ındaki değişmeler, hem temel hem de uyarılmış molekülleri etkileyeceği için pH, bir floresasns verimini etkileyen bir faktör olabilir. Asit veya baz grubu içeren maddelerin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış hallerinin floresasns ışımalarının dalga boyları ve şiddetleri birbirlerinden farklıdır.

2.5. Fotolüminesans Teorisi

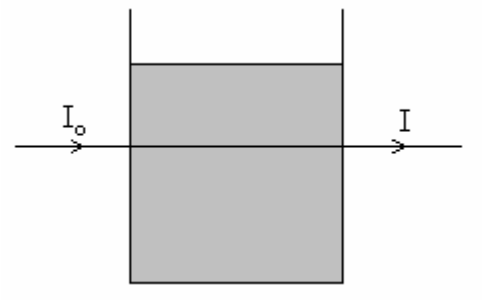
Fotolüminesans boyunca yayılan radyasyonun miktarı, absorblanan radyasyonun (ışığın) miktarına bağlıdır. Mümkün olan uyarılmış bir molekül radyasyonsuz bir enerji kaybıyla temel enerji düzeyine geri döndüğü için, yayılan radyasyonun fotonlarının sayısı genellikle absorblanan fotonların radyasyonunun fotonlarının sayısından daha az olur. Kuantum ürünü, kuantum verimini veya lüminesans verimini Φ, absorblanan fotonların sayısının yayılan fotonların sayısına oranı olarak verilebilir. Kuantum verimini, fluoresansın normal formları boyunca biri geçmemelidir. Belirlenen deney şartlarında belli bir maddenin kuantum verimi sabittir. Yayılan radyasyonun ışık şiddeti F, kuantum veriminin ve absorblanan radyasyonun şiddeti cinsinden şöyle yazılabilir.

$$F = \Phi(I_0 - I) \tag{2.18}$$

Absorblanan radyasyonun ışık şiddeti, gelen uyarıcı radyasyonun (ışığın) I_0 ve geçen radyasyonun (ışığın) I arasındaki farka eşittir. Buradan

$$I_a = I_0 - I \qquad (2.19)$$

elde edilir.



Şekil 2.9

Geçen ışığın (radyasyonun) şiddeti Beer yasasından hesaplanabilir.

$$A = \varepsilon l C = -\log \frac{I}{I_o} \qquad (2.20)$$

Burada

ε : Maddenin molar absorblanma katsayısı

C : Çözeltideki çözünen maddenin molar konsantrasyonu

l : optik ışık yolu

Geçen ışık şiddetine göre Beer yasasının çözümü verilirse:

$$I = I_o 10^{-\varepsilon l C} = I_o e^{-2{,}303\,\varepsilon l C} \qquad (2.21)$$

Eşitlik 2.20 de I yerine yukarıdaki eşitlikteki değeri yazılırsa

$$F = \Phi[I_o - I\, e^{-2{,}303\,\varepsilon l C}] \qquad (2.22)$$

şeklini alır.

Yukarıdaki eşitlikteki üstel ifadeler sonsuz seriler şeklinde yazılırsa;

$$e^x = 1 + X + \frac{X^2}{2!} + \frac{X^3}{3!} + ... + \frac{X^n}{n!} \quad (2.23)$$

Eşitlik (2.22) deki üstel ifadeler yerine seriler konursa şu denklem ortaya çıkar:

$$F = \Phi I_0 \left[1 - 1 + 2{,}303\varepsilon lC - \frac{(2{,}303\varepsilon lC)^2}{2} + \frac{(2{,}303\varepsilon lC)^3}{6} - .....\right] \quad (2.24)$$

$$F = \Phi I_0 \left[2{,}303\varepsilon lC - \frac{(2{,}303\varepsilon lC)^2}{2} + \frac{(2{,}303\varepsilon lC)^3}{6} - .....\right] \quad (2.25)$$

Seyreltik çözeltiler için absorbans (εlC) küçüktür. (εlC), 0,05 e eşitse Eşitlik 2.25 deki serilerin ikinci terimi, birinci terimin %2,5'u kadardır ve bunu takip eden terimler daha küçük veya eşittir. Analitin konsantrasyonu sabit alınmak suretiyle absorbans 0,05'den küçük tutulursa birinci terim hariç serilerdeki terimlerin tümü, ihmal edilir ve Eşitlik 2.25 şu şekilde basitleştirilir.

$$F = \Phi I_o 2{,}303 \varepsilon lC \quad (2.26)$$

Eşitlik (2.26) dan görüldüğü gibi seyreltik çözeltiler için (10^{-8} – 10^{-5} M) yayılan fotolüminesansın şiddeti kuantum verimi, gelen veya absorblanan ışığın şiddeti ve analitin konsantrasyonuyla orantılıdır. Çoğu laboratuar cihazlarında yalnızca dedektöre gelen toplam lüminesansın sabit bir kesri, f, ölçülür ve bu denkleme, dedektörün cevabı için de bir değerin "R" ilave edilmesi gerekir. Bu iki faktörün ilavesi ile Eşitlik (2.26) şöyle verilir:

$$F = 2{,}303 f R \Phi I_o \varepsilon lC \quad (2.27)$$

Belirli bir analit, hücre ve cihaz için sabitlerin bileşimi, basitçe şu eşitlikle verilir.

$$F = K\, I_o\, C \qquad (2.28)$$

veya eşitlik (2.28)'de I_0'da sabit yapılırsa, C'den başka hepsi sabit olacağından tümü K′ sabiti ile gösterilebilir. Sonuç olarak, fluoresans ışın şiddeti ile konsantrasyon arasında:

$$F = K' C \qquad (2.29)$$

bağıntısı bulunur. K^I sabiti konsantrasyonu düşük ve belli bir takım çözeltilerin F fluoresansı ölçmek suretiyle hesaplanır. Absorbansı küçük (A<0,05) çözeltilerde fluoresans şiddeti konsantrasyonla doğru orantılıdır ve doğrunun eğimi K′ 'yı verir. Ama konsantrasyon arttıkça doğruda sağa doğru bir bükülme olur. Yani fluoresans konsantrasyonla orantılı olarak artmaz. Bunun nedeni

1- Self - söndürme
2- Self – absorbsiyon'dur.

Self söndürme, floresant moleküllerin birbirlerine çarparak enerjilerini birbirlerinin enerjice daha düşük olan taraflarına aktarmaları ve böylece radyasyonsuz bir enerji kaybı olmasıdır. Bu floresant taneciklerle çözücü molekülleri arasında meydana gelen dış dönüşmeye benzer. Bu olay konsantrasyonun artmasıyla artar.

Self – absorpsiyon, fuloresant moleküllerin yaydıkları ışının dalga boyu, bu moleküllerin absorbladıkları ışının dalga boyunun aynıysa, fluoresant bir molekülün yaydığı ışın çözelti içinden geçerken öteki fluoresant moleküller tarafından absorplanır.

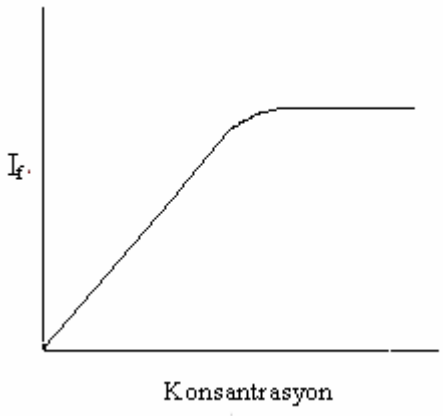
Absorbans yaklaşık 0,05'den çok daha büyük olduğunda Eşitlik (2.25) deki parantez içerisinde olan ilk terim dışındaki terimler bir anlam taşır ve lüminesans

şiddeti ile konsantrasyon arasında doğrusal (lineer) olmayan bir bağıntı söz konusudur. Absorbans çok büyük olduğu zaman Eşitlik (2.25) basit bir şekilde

$$F = \Phi I_o \quad (2.30)$$

ile verilir. Ve lüminesans şiddeti böyle konsantrasyondan bağımsız olmaktadır. Eşitlik (2.30)'un esası, gelen ışın şiddetinin hücrenin her yerinde aynı olduğunu kabul eder. Seyreltik çözeltiler için bu kabul uygundur, ancak yüksek konsantrasyonlarda absorbsiyon (absorbans 2'den daha büyük) hücrenin içerisinden geçen ışığın şiddetini büyük ölçüde azaltır ve gözlenen lüminesansta da bir azalmaya sebep olur. Çoğu cihazlar, ışık şiddetindeki azalmanın, yüksek analit konsantrasyonlarında önemli yeri olan hücrenin merkezindeki lüminesans şiddetini ölçmek için tasarladıklarından dolayı, analit konsantrasyonunun bir fonksiyona karşı lüminesans şiddetinin grafiği çoğu kez bir maksimumdan geçer ve gerçektende yüksek konsantrasyonlarda lüminesans şiddeti azalır.

Bu durum, analitin aynı yayma şiddetine sahip iki konsantrasyona sahip olması halinde mümkündür. Eğer belirli bir denemede bir problem olduğundan şüpheleniliyorsa, analit çözeltisi seyreltilebilir ve lüminesans tekrar ölçülür. Eğer lüminesans, seyreltilmeyle orantılı olarak azalıyorsa, konsantrasyon mümkün olan ölçülerin ikisinin de daha altındadır. Lüminesans artıyorsa veya beklendiği kadar çok azalmıyorsa, analit konsantrasyonu muhtemelen mümkün olan değerin daha üstündedir.



Şekil 2.10 Konsantrasyonun fluoresans şiddeti ile değişimini gösteren grafik

Eşitlik (2.26) daki molar absorblanma katsayısı (ε) gelen uyarıcı ışığın λ_e (uyarma dalga boyu) dalga boyuna bağlıdır ve $\varepsilon(\lambda_e)$ yazabiliriz. Fluoresans kuantum veriminin normal olarak, uyarılma dalga boyuna bağlı değildir. Molar absorblama katsayısının uyarma dalga boyunun bir fonksiyonu olduğu ifadesini ve kuantum verimini (Φ) yerine de fluoresans kuantum verimi (Φ_f) yazarsak, ifade aşağıdaki şeklini alır.

$$F = I_0\,[2{,}303.\varepsilon(\lambda_e)1C]\,\Phi_f \qquad (2.31)$$

Deneysel bir işlem ile yayılan ışık gelme açısı tayin edilecek belli bir katı üzerinde gözlenmiştir. Ayrıca fluoresans spektrumun $d\lambda_f$ dalga boylarının yayılan bir bölümü bir monokromatör veya bir filtre yardımıyla ayrılarak ölçüm yapılmıştır. Bu şartlar altında birim bant genişliği başına yayılan foton sayısı aşağıdaki bağıntıyla verilmiştir.

$$\frac{df}{d\lambda_f} = K_I\, I_0\,[2{,}303.\ \varepsilon(\lambda_e)1C]\ \frac{d\Phi_f}{d\lambda_f} \qquad (2.32)$$

Burada K_I ölçüm yapılan aletin geometrisine bağlı bir sabittir.

Sonuç olarak; seyreltik çözeltilerde nicel analiz, kalibrasyon eğrisi oluşturularak veya standart ekleme yöntemine göre gerçekleştirilir. Çözeltide bulunan bir madde, lüminesant bir maddenin yaydığı ışığı söndürüyor yani azaltıyorsa, lüminesansı önleyen bu maddenin de nicel analizi yapılabilir. Lüminesanstaki azalma, genellikle, bu önleyici maddenin miktarı ile doğru orantılıdır. Burada da, lüminesans şiddetinin azalmasının lüminesansı önleyici madde derişimine karşı ölçülmesiyle bir kalibrasyon eğrisi çıkarılabilir veya standart ekleme yönteminden yararlanılabilir.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

3.1. Schiff Bazları, Kompleksleri ve Önemleri

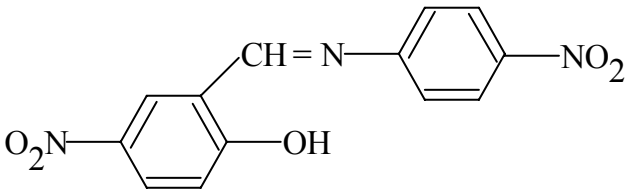
Schiff bazları, ilk olarak 1869'da H. Schiff tarafından salisilaldehit ile anilinin kondenzasyon reaksiyonundan elde edilmiş olan ve yapısında *azometin bağı (imin)* bulunduran organik maddelerdir (Gündüz, 2002). Diğer bir söyleyişle; primer aminler ile karbonil bileşiklerinin (aldehit veya keton) kondenzasyon reaksiyonu vererek oluşturdukları azometin bileşikleridir (Bilgiç, 2001).

$$\underset{\text{Amin}}{R\text{-}NH_2} + \underset{\text{Karbonil}}{R'\text{-}CHO} \rightarrow \underset{\text{Schiff bazı (Azometin bileşiği)}}{R\text{-}N = CH\text{-}R'} + H_2O$$

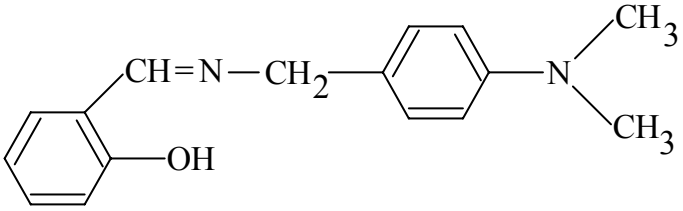
Aldehit ve aminler çok çeşitli olduğundan çok sayıda Schiff bazı elde edilebileceği açıktır. Ancak her Schiff bazının da iyi bir ligand olduğu düşünülmemelidir. Örneğin, Ph-CH=N-Ph, Ph-CN=N-R gibi fonksiyonel grup olarak sadece imin grubu içeren Schiff bazları iyi bir ligand değildir. Schiff bazları içinde en iyi ligandlar imin grubuna orto durumunda -OH, $-NH_2$, -SH, $-OCH_3$ gibi gruplar bulunduranlardır, (Canel, 1993).

Schiff bazları, amfiprotik çözücülerde çok zayıf bazik özellik gösterir. Bu bazlık, molekülde bir başka pozisyona asidik bir grup girmesine engel olmaz. Bazlık, aminlerdeki gibi iminik azot üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftinden kaynaklanır. Bu ortaklanmamış elektron çiftinin, azot üzerindeki durumuna bağlı olarak

Schiff bazları asidik veya bazik ortamlarda hidroliz olurlar. Moleküle bağlı diğer elektron salıcı gruplar Schiff bazının bazlığını arttırırken, nitro ve siyano gibi elektron çekici gruplar bazlık özelliğini azaltır. Bu gruplar aynı zamanda hidrolizi de etkiler. Örneğin, Şekil 3.1'de verilen Schiff bazı asidik ortamda, Şekil 3.2'de verilen Schiff bazı ise bazik ortamda hidroliz olmaz (Atakol, 1986).

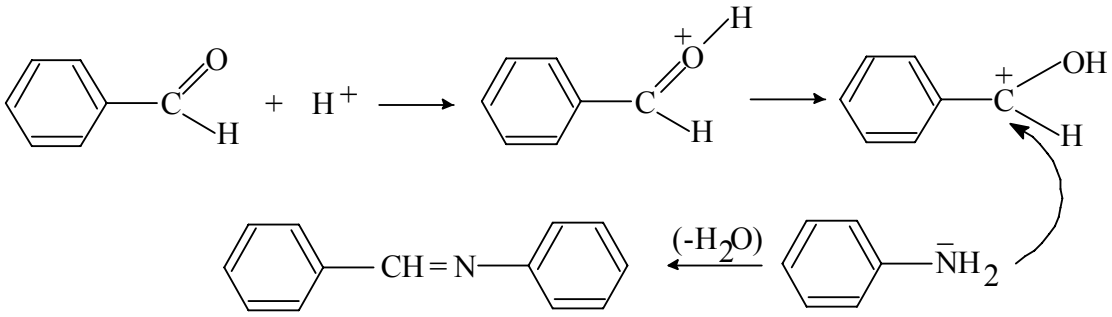


Şekil 3.1. N-(4-nitrofenil)-4-nitro-salisilaldimin Schiff bazı

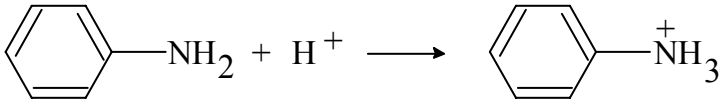


Şekil 3.2. N-(4-dimetil aminobenzil) salisilaldimin Schiff bazı

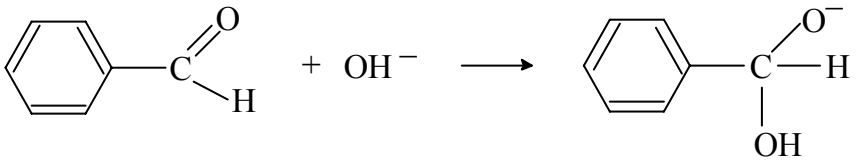
Schiff bazlarının meydana gelmesinde, ortamda bulunan az miktardaki asit veya baz katalitik etki yapar.



Ancak bu mekanizma sürerken aminin bir kısmı ortamdaki asitle amonyum formuna dönüşerek bloke olur.

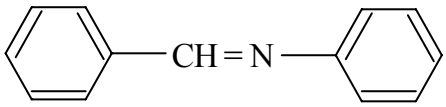


Benzer şekilde, bazlar asidin tersine amini aktive ederken karbonili deaktive ederler (Atakol, 1986).



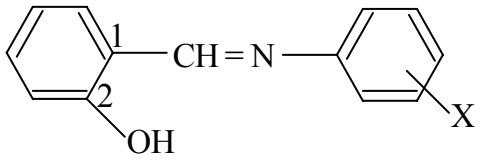
Buna göre, Schiff bazlarının meydana gelmesinde, karbonil ve primer aminin moleküler yapısına bağlı olarak bir optimal pH değeri söz konusudur. Amfiprotik ortamlarda Schiff bazının formasyonu çözücüye büyük ölçüde bağlıdır (Atakol, 1986).

Schiff bazları keşfedildikten sonra yaklaşık 50 yıl boyunca yalnızca boyar madde olarak kullanılmıştır. Azometin grubu, kromofor bir grup olduğundan, Schiff bazlarının çoğu renklidir. N-fenilbenzaldemin veya 1-(feniliminometil) benzen (Şekil 2.9) renksizdir. Ancak, moleküle -OH, -NH_3, -SH gibi oksokrom veya -NO_2 gibi kromofor gruplar bağlanırsa, molekül renklenir. Günümüzde, boya olarak kullanılan 1000' den çok Schiff bazı vardır (Atakol, 1986).



Şekil 3.3. N-fenilbenzaldimin Schiff bazı

Schiff bazlarının bilimsel alandaki önemi, Paul Pfeiffer tarafından koordinasyon kimyasında ligand olarak kullanılmalarından sonra ortaya çıkmıştır. Pfeiffer, 1932-1940 yılları arasında dünyanın birçok yerinden gelen araştırmacılara yüzlerce Schiff bazlı metal kompleksleri hazırlatmıştır. 1950-1980 yılları arasında koordinasyon kimyası alanında dünyaca ünlü birçok bilim adamının yetişmesini sağlamıştır. Karbonil bileşiği aromatik olan Schiff bazları,

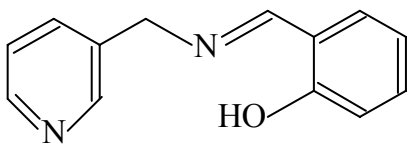


azometin bağına göre 2 pozisyonunda bir donör atom içeriyorsa, oldukça kuvvetli ligandlar kabul edirler. Salisilaldehitli Schiff bazları bunlara iyi birer örnektir. Çünkü; metal iyonu, iminik azot ve 2 pozisyonundaki donör atom tarafından koordine edilirse, altılı halka meydana gelir. Oluşan halka, zayıf da olsa aynı zamanda, π elektron delokalizasyonuna sahip bir halka olduğundan tercih edilen bir yapıdır. Öte yandan -OH grubu yerine -SH, $-NR_2$ ve $-OCH_3$ gruplarının gelmesi de aynı etkiyi gösterir. Ayrıca 2 pozisyonundaki grup -OH olduğu durumda, -OH ve iminik azot arasındaki hidrojen bağının bugüne kadar gözlenen en kısa hidrojen bağı olduğu kristalografik olarak kanıtlanmıştır. Bu durum, Schiff bazı moleküllerinin bazı spektral özelliklerini de etkiler. Örneğin, karbonil komponenti aldehit olduğunda, ortaya çıkan imin bağında bulunan CH grubu IR ve NMR yöntemlerinde spesifik sinyaller verirler. IR spektrum-larında bu Schiff bazlarında -OH esnemeleri beklenen dalga sayısında 1000 cm^{-1} kadar düşük enerjiye kayar. Bu esneme bandı 2850 cm^{-1} civarında orta şiddete yakın keskin bir pik verir. 60 MHz'lik NMR'da 8,5-9 ppm değerleri arasında bir pik görülür. Azota bağlı olan grubun yapısı değiştirilerek, Schiff bazlarından çeşitli geometrilerde ligandlar üretmek mümkündür. Örneğin, diaminler kullanılarak ONNO donör sisteminde 4 dişli ligandlar hazırlamak mümkündür. Bu nedenle bu Schiff bazları koordinasyon kimyasında önemlidir (Atakol, 1986).

Günümüzde, spektral yöntemlerin gelişmesiyle, biyokimyasal bazı reaksiyon-ların mekanizmaları açıklanabilmiştir (Reichert, 1999). Canlılarda bazı reaksiyonların Schiff bazları üzerinden yürüdüğü, Schiff bazlarının aldehit ve amin komponent-lerinin toksik etkilerini yok ettikleri ve serbest metal iyonlarını şiddetle bağladıkları bu şekilde belirlenmiştir. Bu nedenle, Schiff bazları farmakolojide ve biyoinorganik kimyada yaygın kullanılırlar. Likit kristal yapımında kullanılan madde türevlerinin çoğu Schiff bazlarıdır. Ayrıca, Schiff bazlı metal kompleksleri radyofarmasötik madde olarak da radyoloji alanında kullanılır.

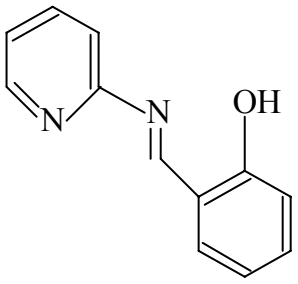
Özellikle yük/yarıçap oranı büyük olan metal iyonları olmak üzere tüm metal iyonları, bulundukları ortamda eksi yük veya eksi yük yoğunluğu bulunduran atom veya atom gruplarını çevresinde toplarlar. Böylece metal iyonu ile diğer atom ya da atom grupları, kompleks bileşiği oluştururlar. Kompleks bileşiklerde bulunan metal iyonuna *merkez atomu*, metal iyonuna bağlı bileşiklere de *ligand* adı verilir. Dolayısıyla Schiff bazları da ligand olarak adlandırılırlar (Atakol, 1986).

Schiff bazlarının yapısal özelliklerine örnek olarak, n-hekzilaminin, izobütiril aldehit, glutaraldehit ve propiyonaldehit gibi alifatik aldehitlerden elde edilen ligandlar verilebilir. Bunlar ya emisyon vermeyen ya da zayıf emisyon veren Schiff bazlarıdır. Öte yandan benzaldehit, o-ftalaldehit, fenilasetaldehit (PAA) gibi aromatik aldehitlerden elde edilen Schiff bazları kuvvetli floresanttır. Bu durum aromatik aldehitlerden elde edilen Schiff bazlarının kararlılığı ile açıklanır. Yapıya bağlı olarak fluoresans şiddetinin değişme özelliğinden yararlanarak, amino bileşiklerinin hassas tayini için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla, amin bileşikleri çeşitli aromatik aldehitlerle Schiff bazına dönüştürülerek, bunların fluoresans şiddetleri ölçülür. Örneğin, HPLC yöntemiyle aminoasit analizlerinde o-ftalaldehit Schiff bazı oluşturan aldehit olarak kullanılmaktadır. Fluorometrik dedektör yardımıyla kolondan çıkan Schiff bazı türevleri tespit edilmektedir. Aromatik Schiff bazlarının tümünün fluoresans özelliği gösterdiği söylenemez. 2-(3-piridilmetilimino metil)fenol Schiff bazı (Şekil 2.10) bunlardan biridir. pH 8'de ve polar protik çözücülerde (örneğin, dioksan/su (1:1), DMF, metanol gibi) fluoresans özellik göstermezler. Bunun nedeni, tautomerik içsel değişimle keto amine doğru bir eğilim göstermesi ve enol yapının azalması ola-rak açıklanmıştır (Cimerman, 1999). Benzer şekilde, 2-(2-piridil imino metil)fenol (Şekil 2.11.1), N,N'- bis(salisiliden)-2,3-piridindiamin (Şekil 2.11.2) ve N,N'-bis(sali-

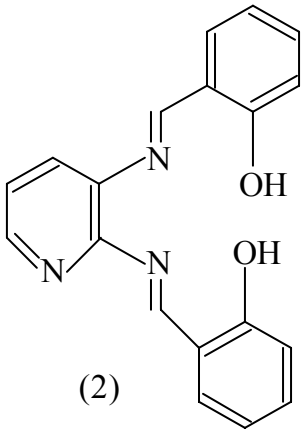


Şekil 3.4. 2-(3-piridil metil imino metil) fenol
siliden)-2,6-piridindiamin

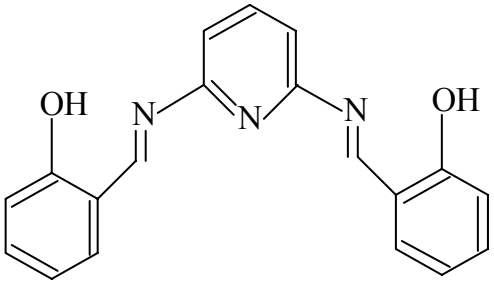
Şekil 3.4 gibi Schiff bazları da apolar veya az polar çözücülerde fluoresans özelliği göstermezler. Bununla birlikte, polar çözücülerde (örneğin, metanol, dioksan/su (1:1) , DMF) ve nötr veya az bazik ortamlarda zayıf emisyonlar verirler ($0,001< \phi_F< 0,072$). Çünkü bu Schiff bazlarının, bütün çözücülerde anol-imin yapısında bulundukları ifade edilmektedir. pH<7 ortamlarında ise, piridin-yum katyonunun oluşumundan ötürü, emisyonlarda artış görülmüştür ($0,061< \phi_F< 0,519$), (Cimerman, 1999). Bu dört Schiff bazı apolar çözücüler içinde enol formunda, -OH grubunun protonu ile imino azotu arasında hidrojen bağlı olarak bulunurlar. Tautomerik içsel değişim, tautomerik katsayılar incelendiğinde yalnız 2-(3-piridil metil iminometil)fenol Schiff bazı için önemlidir.



(1)



(2)



(3)

Şekil 3.5..1. 2-(2-piridil iminometil)fenol
2. N,N'-bis(salisiliden)-2,3-piridindiamin
3. N,N'-bis(salisiliden)-2,6-piridindiamin

Çünkü bu Schiff bazının k sabiti 0,1 iken, diğerlerinin sırasıyla 0,001; 0,08; 0,02 olarak bulunmuştur (Cimerman, 1999). Bu Schiff bazlarından 2-(3-piridil metil iminometil)fenol nötr ve zayıf bazik ortamlarda, polar çözücülerde olduğu gibi

apolar çözücülerde de çok kuvvetli fluoresans vermiştir. Kuantum verimi, çözücülere ve pH'a bağlı olarak ($0,023 < \phi_F < 0,435$) arasında değişmiştir. Bu durumun, siklik yapının daha fazla rijit olmasından kaynaklandığı, kuantum verimlerinin, kuvvetli asidik ve bazik ortamlarda siklik yapının azalmasından ötürü düştüğü ifade edilmiştir (Cimerman, 1999). Başka bir çalışmada da (Ruiz, 1984), Schiff bazlarına çözücü etkisi incelen-miştir. 3-Hidroksi piridin aldehit tiyosemikarbazon (3-OH-PAT) Schiff bazının, etanol-DMF içinde oldukça zayıf floresant maddeler oldukları görülmüştür. Ayrıca, 3-hidroksipiridin-2-aldoksim Schiff bazının etanol-su ortamında çok kuvvetli fluoresans verdiği halde, etanol-DMF içinde fluoresans özelliği bulunmadığı belirlenmiştir. Etanol-su ortamında ayrıca, 3-hidroksi piridin-2-aldoksim Schiff bazının sadece bazik ortamlarda fark edilebilir fluoresansı varken, 3-hidroksi piridin-2-aldoksim Schiff bazının sadece asidik ortamda, piridin-2-aldehit-2-piridil hidrazon Schiff bazının ise, hem asidik hem de bazik ortamlarda fluoresans verdikleri ancak, spektrumlarının birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir. Zamana bağlı olarak fluoresans şiddetlerindeki değişim incelendiğinde, çözücülerin derişimlerinin de fluoresans şiddetlerini etkiledikleri görülmüştür. Yapılan deneylere göre, 3-hidroksi piridinaldehit tiyosemikarbazon (3-OH-PAT) Schiff bazı için %30-40, 3-hidroksi piridinaldehit azin (3-OH-PAA) Schiff bazı için ise %35-50 aralığında etanol kullanılması durumunda en iyi fluoresans şiddetleri elde edilmiştir.

Seçilen literatür örneklerinden anlaşılacağı gibi, Schiff bazlarının fluoresans özellikleri, yapısal özelliklerine, tautomerik dengeye, pH değerine ve çözücüye bağlı olarak değişmektedir. Diğer yandan, Schiff bazlarına sübstitüent grupların katılması da fluoresans şiddetlerini ve kuantum verimlerini önemli ölçülerde etkilediği ve analitik olarak tayin alt sınırlarını değiştirdiği için, sübstitüent etkisinin dikkate alınması gerekir. Bu amaçla, farklı yerlerde sübstitüent içeren Schiff bazlarının bir çok katyonla vermiş oldukları komplekslerin fluorometrik özellikleri araştırılmış ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Bunları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür:

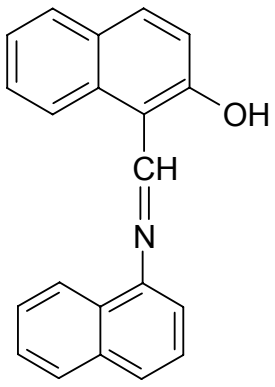
- Analitik anlamda tek başına Schiff bazlarının spektorfluorometrik uygulamaları yoktur.

- Fluorometrik reaktif olarak kullanılmaları sonucunda fluoresant kompleksler oluştururlar.

- Fluoresans özellikleri artıran faktörler tüm kompleksler için genelleştirilemez.

Bu nedenle, Schiff bazlarının metallerle oluşturdukları komplekslerin fluorometrik özellikleri hakkında çalışmalar literatürde daha fazla oranda yer almaktadır. Çünkü, Schiff bazlarının metallerle verdikleri komplekslerin özelliklerinin kullanıldığı bir çok analitik uygulama alanları bulunmaktadır. Geçiş elementleri dışındaki bazı katyonların (Be, Mg, Al, Ga vb.) çeşitli ligandlarla vermiş olduğu kompleksler genellikle renksiz-dir. Bunların spektrofotometrik yöntemlerle tayinlerinde çeşitli güçlüklerle karşılaşılır. Bunun için, kendisi fluoresans özellik göstermese bile, bu metallerle verdikleri kompleksleri floresant olan ve yapısında O, N ve S gibi heteroatomlar içeren ligandlar bir çok metalin spektrofluorometrik yöntem ile tayinlerinde kullanılmaktadır (Anonim, 1987). Schiff bazları bu amaçla kullanılan en önemli ligandlardır.

Schiff bazları ve metal komplekslerinin çeşitli kalitatif ve kantitatif tayinlerde, radyoaktif maddelerin zenginleştirilmesinde, ilaç sanayiinde, boya endüstrisinde ve plastik sanayiinde kullanımının yaygınlaşması, biyokimyasal aktiviteleri yüzünden büyük ilgi çekmesi ve özellikle son yıllarda sıvı kristal teknolojisinde kullanılabilecek pek çok Schiff bazının sentezlenmesi bu maddelerle ilgili çalışmaların önemini daha da arttırmıştır (Mark, 1980). Aynı zamanda Schiff bazları ve metal kompleksleri anti-tümör ve antibakteriyel aktivitelerinden dolayı biyolojik ve farmasötik sıvılarda kullanılmakta ve her geçen gün artan bir önem kazanmaktadır (Mazumder, 1996). Bu tez çalışmasında da bir Schiff bazı olan *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL) kullanılmıştır.



Şekil 3.6. *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden (NANAL)*

3.2. Bakır ve Bakır Toksitesi

Bakır pek çok biyokimyasal ve fiziksel fonksiyon için gerekli bir besindir. Fe (III) ve Zn (II)' den sonra insanlarda en çok bulunan üçüncü eser elementtir (Barceloux, 1999). Çeşitli hücre ve dokularda küçük miktarlarda, karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Turnlund, 1998). Bakır alımı büyük ölçüde besin seçimi ve alışkanlığa bağlıdır. Memeliler bakırı sudan çok yiyeceklerle alır. Bakırca zengin gıdalar istiridye, karaciğer, fındık, baklagiller, hububatların tümü ve kuru meyvelerdir (Sandstead, 1995). Günlük besinlerle alım miktarı 1,5-3,0 mg/gün, çocuklar için 0,7-2,5 mg/gün ve bebekler için 0,4-0,7mg/gün dür. (U.S. AF,1990) Doğal sular organik maddelere bağlı bakır ile 4-10 μg Cu l^{-1} bakır içerir (Barceloux, 1999). İçme sularındaki bakır konsantrasyonu 2 mg l^{-1} den fazla olmamalıdır (World Health Organisation, 1993), ve içme suyuyla günlük bakır ihtiyacımızın %6-13 ünü alırız (Fitzgerald, 1998). Topraktaki bakırın doğal konsantrasyonu yaklaşık 50 ppm'dir. Bakır toz, volkanlar, orman yangınları gibi doğal kaynaklı ve bakır tasfiye fırınları, demir ve çelik üretimi, belediye çöp yakma fırınları gibi insan üretimli olarak havada bulunur. Atmosferdeki bakırın bileşimi 5-20 ng Cu/m^3 aralığındadır (Barceloux, 1999).

İnsan vücudunda bakırın emilimi diğer besin maddelerinin varlığı ve kimyasal şeklini içeren pek çok faktöre bağlıdır. Vücuda alınan bakırın yaklaşık % 30-50 si ince bağırsakta emilirken çok az bir kısmı da midede emilir (Turnlund ve ark. 1997). Amino asitler , özellikle histidin, metiyonin, sistin amino asit iletim sistemine doğru absorpsiyonu sağlayan bakıra bağlanır. Sitrik, glukonik, laktik ve asetik asitler gibi organik asitler hızlı bir şekilde emilen bakırla şelatlar oluşturur. Diğer taraftan çinko, demir, kalsiyum, fosfor ve C vitamini bakır absorpsiyonunu azaltır (Jacop ve ark., 1987). İnce bağırsakta emilen bakır kanda plazma albüminine bağlanarak karaciğere taşınır (Turnlund ve ark. 1998). Karaciğerde tutulan bakır safrada salgılanır.

Karaciğer hücrelerinde tutulan bakır bakır bağlı proteinler ile bakır bağlı enzimlerin sentezinde kullanılır (Gaetke ve Chow, 2003). Yetişkinlerin karaciğerinde 18-45 µg Cu g^{-1} aralığında bakır varken (Barceloux, 1999) kan 6 mg bakır içerir (Linder ve ark., 1998).

Bakır böbrekler, dalak, kalp, karaciğer, kas, mide, bağırsak, tırnak ve saç gibi dokularda bulunur (U.S. AF. 1990). Vücuttaki bakır cuprous Cu(I) ve cupric Cu(II) şekilleri arasında değişir ve genellikle Cu(II) şeklinde olmasına rağmen hücre içinde Cu(I) halinde bulunur (Linder ve Hazegh-Azam, 1996). Vücudumuzda nörolojik aktivite ve hücreler arası iletişim bakıra bağlıdır. Bakır kanda hemoglobin üretiminde katalizör etkisi gösterir (Seiler, 1988). Ayrıca metabolizmamızdaki kritik enzimlerin işleyişi için de gereklidir. *Lysil oksidase, cytochrome c oksidase, superoksidase dismutase, dopamine β-hydroxilase ve tyrosinase* gibi pek çok enzim için kofaktör olarak görev yapar (Linder, 1991).

2,2-7,8 mg Cu L^{-1} bakır içeren içme sularının uzun süre kullanılması sonucu bakır toksitesi oluşur (Mueller-Hoecker ve ark., 1988). İnsanlarda bakır tuzlarının gram miktarlarda vücuda alınması karın ağrısı, kusma, ishal, hematuri, proteunuri, yüksek tansiyon, çarpıntı, koma gibi belirtilerle mide, bağırsak, karaciğer ve böbrek hastalıklarına sebep olabilir (U.S. AF, 1990). Bakırın toksik olarak yüksek seviyesi, örneğin Wilson hastalığındaki gibi, bakır metabolizmasının genetik bozukluğu yüzünden olabilir (Wilson, 1912). Wilson hastalığı, hücre içi bakır transferini sağlayan P-tipi ATPase'ın şifresini yazan ATP7B'deki mutasyon yüzünden karaciğerdeki bakır düzeninin otozomal resesif bozulmasıdır (Bull ve ark., 1993; Tanzi ve ark., 1993). Wilson hastalığının klinik göstergesi karaciğer sirozu, eritrositlrerin parçalanmasıyla oluşan anemi, nörolojik anormallikler ve korneada bulanıklıktır (Goyer, 1991). Bakır toksitesi Wilson hastalığının yanında siroz, Hint çocuk sirozu ve safra kanallarında tıkanıklık (cholestasis) gibi hastalıklara da sebep olur ve bu hastaların karaciğer, böbrekler, beyin, kemik ve kornealarında yüksek seviyelerde bakır bulunur (Scheinberg, 1983). Ayrıca hayvansal deneylerde bakır sülfatın ağız yoluyla veya damar içine verilmesi durumunda bebek ölümlerinin ve gelişim anormalliklerinin arttığı gözlenmiştir (Lecyk, 1980). Çok düşük seviyelerde bakır alımında ise Menke's sendromu ve nörodejeneratif bozukluklar görülmüştür

(Aeseth, 1986). Bakır eksikliği insanlarda demir miktarı yeterli alınsa dahi kansızlığa neden olur (Cohen, 1960).

Bakır yüksek elektriksel ve termal iletkenliği yüzünden yaygın olarak kullanılır ve yıllık tüketimde demire yakındır. Elektrik mühendisliği, iletişim (%50), makine yapımı (%25), inşaat, gıda ve kimyasal üretim (%25) gibi pek çok endüstride kullanılır (Narayana, 2000).

4. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Sandor ve arkadaşları 2003 yılında yapmış oldukları "Bakırın hassas tayini için lüminesans hakzanükleer Cu(I)-kümesi" adlı çalışmada bakır tayini için lüminesans olan bir hekzanükleer grup kullandılar. Sulu çözeltide lüminesans olmayan N-etil-N-metilsülfoniltiyoüre (EMT) ligantı sadece Cu(II) iyonuyla 663 nm de maksimum emisyon veren canlı kırmızı renkli lüminesans Cu(I)-kümesi oluşturmuştur. Lüminesans şiddeti Cu(II) konsantrasyonuyla orantılıdır ve μg L^{-1} seviyesinde hassas bakır tayini yapılabilmiştir. pH 2 ile 7 arasında yapılan çalışmalarda pH nın küme oluşumu üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir. Her yerde bulunabilen Fe(III), Al(III), Ca(II), Mg(II),gibi metal iyonları ve Ni(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II) ve Pb(II) gibi ağır metaller ile alkali metal iyonları 50 mg L^{-1} konsantrasyonuna kadar ihmal edilebilinmiştir. Sulu çözeltilerde Cu(II) nin tayin sınırı 113 μg L^{-1} dir. Bileşiğin lüminesans şiddeti $6{,}0x10^{-6}$ ve $2{,}75x10^{-5}$ mol L^{-1} bakır aralığında lineerdir. Küme oluşumu musluk suyu, endüstriyel sular ve aktif çamurdaki bakırın kantitatif tayinin için kullanılmıştır.

Rapisarda ve arkadaşları 2002 yılında "Bakır tayini için bir metot olarak Cu(I) ile batokuproyin disülfonatın fluoresansının engellenmesi" adlı çalışmada biyolojik numunelerde bakır tayini yapmışlardır. Geliştirilen metot, pH 7.5 de Cu(I) in artan konsantrasyonuyla (λ_{ex} 580 nm) 770 nm de batokuproyin disülfonat emisyonunun lineer olarak azalmasına dayanır. Proteinlerdeki toplam bakırın tayini için prosedür, bakırı açığa çıkarmak için HCl ile muameleyi, bakırı kararlı yapan sitratın varlığında pH 7.5 değerine nötralleştirmeyi ve şelatlaştırıcı madde varken askorbat ile bakırı Cu(I)'e indirgemeyi içermektedir. Bu tayin seçilen proteinde atomik absorpsiyon spektroskopisi analizleriyle benzer sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Önerilen fluorometrik tayinin sonuçları biyolojik numunelerdeki Cu(I) ve toplam bakır tayini için basit ve uygundur. Önerilen metot asetil coli'den alınan aktif NADH dehidrojenaz-2 enziminde Cu(I) in direk tayinine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Ayrıca Fe(III)/(II), Mn(II), Zn(II), Co(II), Cd(II) ve Ni(II) bakırdan on kat fazla konsantrasyona kadar Cu(I) in fluorometrik tayininde girişim yapmadığı tespit edilmiştir.

Meshkova ve arkadaşları "Bakır iyonlarıyla Terbiyumun 4*f*-lüminesansı ve analitiksel uygulamaları" adlı çalışmalarında bakırın terbiyum kompleksi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bakır(II) iyonlarıyla terbiyumun lüminesansının keskin sensitizasyonu, Tb:CU:HCPhO=1:1:1 oranıyla 1.5-bis(2-hidrazinkarbofenoksi)-3-okzapentan (HCPhO)' nın Tb-Cu metal-karışım kompleksinde gözlenmiştir. Bakır(II) iyonları pH=6 da hızlı bir şekilde Tb-HCPhO da terbiyumun lüminesansını söndürmüştür. Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) ve Cd(II) nin 1000 kat fazla miktarlarının varlığında, eser miktarlarda bakırın lüminesans tayini yapılabilmiştir. Kalibrasyon grafiği 0,01 ile 0,5 μg mL^{-1} bakır konsantrasyon aralığında lineerdir. Bakır tayininin sonuçları çinko ve nikel bazlı alaşımların *Certified Reference Materials* (COS) analizleriyle doğrulanmıştır.

Cano-Raya ve arkadaşları "Bakır(II) ve diğer metal iyonlarıyla Europiyum tetrasiklin hidrojen peroksit kompleksinin fluoresansının söndürülmesi" adlı çalışmalarında bakır tayini için zaman ayarlı bir metot geliştirmişlerdir. Europiyum tetrasiklin kompleksi [Eu(Tc)] üzerine hidrojen peroksitin eklenmesiyle komplesin lüminesans şiddetinde 15 kat artış meydana gelmiştir. Bu lüminesans Cu^{+2}, Fe^{+3}, Ag^{+}, Al^{+3}, Zn^{+2}, Co^{+2}, Ni^{+2} Mn^{+2}, Ca^{+2} ve Mg^{+2} tarafından söndürülmüştür. Hem statik hem de dinamik olarak söndürme Cu^{+2} ile gerçekleşmiştir. Bu metot da bakır 1,6 μmol L^{-1} konsantrasyonuna kadar lineerdir ve tayin sınırı 0,2 μmol L^{-1} dir.

Dalaman ve arkadaşları "3-{2-[2-(hidroksiimin-1-metil-propilenamin)-etilamin]-etilimin}-bütan-2-bir oksim ile farmakolojik ve biyolojik numunelerde bakırın spektrofotometrik tayini" adlı çalışmalarında çay, domates yaprağı, fındık ve çeşitli ilaçlarda bakır tayini yapmışlardır. 3-{2-[2-(hidroksiimin-1-metil-propilenamin)-etilamin]-etilimin}-bütan-2-bir oksim, (H_2mdo), oda sıcaklığında bazik ortamda bakır(II) ile kararlı 1:1 oranında kompleksleşme reaksiyonu vermiştir. Kompleks $0,16x10^4$ $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ molar absorplama katsayısıyla 570 nm de maksimum absorpsiyon vermiştir. (H_2mdo) ligantı kullanılarak geliştirilen

spektrofotometrik metotta pH, kompleks kararlılığı, ligand miktarı ve yabancı iyonların tolerans limitleri gibi faktörler optimize edilmiştir. Bakır 0,2-225 mg L^{-1} konsantrasyon aralığında lineerdir. Metot farmakolojik ve biyolojik numunelerdeki bakır tayini için kolaylıkla uygulanabilmiştir.

Chaisuksant ve arkadaşları "Naftazarin kullanarak alaşımlarda bakırın spektrofotometrik tayinin" adlı çalışmalarında naftazarini (5,8-dihidroksi-1,4-naftakinon) bakırın spektrofotometrik tayini için renkli belirteç olarak önermişlerdir. Polinükleer kompleks, %1,5 (w/v) sodyum dodesil sülfat ve 0,1 M amonyum asetat içeren %50 (v/v) etanol su ortamında Cu:Naph=4:6 mol oranına sahiptir. Bakır naftazarin kompleksi $1,84x10^4$ $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ molar absorplamayla 330 nm de absorpsiyon maksimumu göstermiştir. Beer Yasasına 4-5 ppm Cu(II) konsantrasyonuna kadar uyulur. Metot alaşım numunelerinde bakır tayinine uygulanmıştır.

Safavi ve arkadaşları "Nanogram seviyesinde bakırın hassas kinetik spektrofotometrik tayini" çalışmasında bakırı kinetik yöntemle tayin etmişledir. Metot bazik ortamda sodyum sülfitle Ponceu S nin indirgenmesi üzerine bakırın katalitik etkisine dayalıdır. Reaksiyonun hızı 560 nm de spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve bakır %2 standart sapmayla 2-400 ng mL^{-1} aralığında tayin edilmiştir. Metot, standart ekleme metodu kullanılarak musluk suyu, atık sular ve sığır karaciğer dokularında bakırın tayinine başarıyla uygulanmıştır.

Hua Yang ve arkadaşları " Piren bağlı makrosiklik/γ-siklodekstrin kompleksi kullanarak suda Cu^{+2} nin fluoresans tanınması" adlı çalışmalarında bir piren-fonksiyonel fluoroforu, 1, suda Cu^{2+} için supramoleküler 1/ γ-CD kompleksi oluşturmak için kullanmışlardır. Suda γ-CD çözeltisi, 378 nm ve 397 nm de piren monomer fluoresans emisyonu göstermiştir. Cu^{2+} nın varlığında ise 1:2 metal-ligant kompleks oluşumu yüzünden monomer fluoresansdaki azalmayla piren ekzimer 452 nm de emisyon göstermiştir. Supramoleküler kompleksin tanınma karakteristiklerine bağlı olunduğundan sudaki Cu^{2+} nın konsantrasyon tayini için fluoresant oranlı metot

uygulanmıştır. Optimum şartlarda sulu çözeltide Cu^{2+}' nin $1,2x10^{-6}$-$4,5x10^{-4}$M aralığında tayin edilebileceği bulundu.

Crespo ve arkadaşları "1,5-difenilkarbazit'in oksidasyonuna Cu(II) nin katalitik etkisiyle suda eser miktarda bakır(II) nin kinetik metotla tayini" adlı çalışmalarında Cu(II) ve 1,5 difenilkarbazit (DPC) arasındaki reaksiyonu analitiksel açıdan tekrar gözden geçirmişlerdir. Cu-DPC kompleksinin oluşumu yerine oksijen ortamında DPC nin difenilkarbazona (DPCO) oksidayonunun, Cu(II)' nin katalizör görevi yaptığı ana reaksiyon olduğu görüldü. Böylece ölçümler oksidasyon ürünü DPCO' ya göre alınmıştır. Bazı özel şartlar altında Cu(II) ve DPCO arasında bir şelat kompleks oluşumu da gözlenmiştir. Bu reaksiyonların kinetik parametreleri hesaplanmış ve metot doğal sularda Cu(II) tayinine uygulanmıştır.

Cano-Raya ve arkadaşları "Bakır(II) için atılabilir sensörle fluoresans rezonans enerji transferi" adlı çalışmalarında radyasyonsuz rezonans enerji transferine dayalı bir metot geliştirmişlerdir. Porfirazin 2,7,12,17-tetra-*tert*-bütil-5,10,15,20-tetraaza-21H,23H-porfin (TP) nin fluoresansındaki değişime dayalı sulu çözeltide Cu(II) konsantrasyonun ölçümü için bir atılabilir sensör geliştirilmiştir. Sensör TP, şelarlaştırıcı madde çinko ve benzotonyum klorit iyon çifti içeren bir PVC çözeltisiyle desteklenen poliester ile yapılmıştır. Ölçümlerin temeli fluoresans donör olarak kullanılan membrana immobilize edilmiş TP'den bakır(II) tarafından uyarılan akseptör olarak davranan çinkoya ışımasız rezonans enerji transferine (RET) bağlıdır. Çinko-Cu(II) kompleksinin absorpsiyon spektrumu, RET prosesiyle analitiksel sinyal veren TP'nin emisyon spektrumuyla çakışır. Sensör % 1,9 standart sapmayla 0,039-14 μ mol L^{-1} aralığında 10 dakikada bakırı tayin edebilmiştir . Metot doğal sularda (nehir, kaynak) bakır tayini için başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

5. MATERYAL VE YÖNTEM

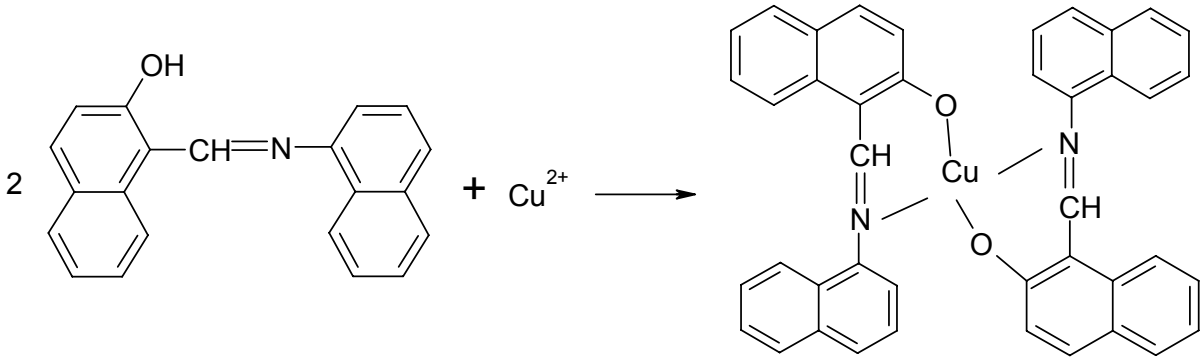
5.1 Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada fluoresans ölçümleri Schimadzu RF 5000 marka spektrofluorometre kullanılarak yapılmıştır. Schimadzu marka spektrofluorometrenin kalibrasyonunda, 2-10 μg L^{-1} derişim aralığında olacak şekilde hazırlanan uranin (floresseinin sodyum tuzu) çözeltileri kullanıldı. Ayrıca ölçümler yapılmadan önce, ksenon ark lambasının performansı 0,1 ppm'lik kinin sülfat çözeltisiyle kontrol edildi. Cihazın sinyal (S) /gürültü (N) oranı ise dikey ve yatay ayna ayarlarının değiştirilmesiyle, 70'in üzerinde olacak şekilde ayarlandı. Kullanılan cihazda S/N değeri 100 idi. Uyarma monokromotorunun slit aralığı 3 nm emisyon monokromotorunun slit aralığı ise 3 nm olarak ayarlandı ve tüm ölçümler bu aralıkta yapıldı. Absorbans ölçümleri Schimadzu UV-1700 pharmaspec çift ışın demetli UV-Visible spektrofotometre ile yapıldı. Deney çözeltilerinin pH'larını ayarlamak amacıyla Jenway 3040 marka pH-metre ve Orion marka kombine cam-pH elektrodu kullanıldı. pH-metrenin kalibrasyonu, Hanna firmasından temin edilen pH 4 ve pH 7 tampon çözeltileri kullanılarak yapıldı.

5.2. Kimyasal Maddeler

5.2.1 Schiff bazı

Çalışmada kullanılan Schiff Bazı 2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden, (NANAL), Merck firmasından temin edilen 1-naftilamin ve 2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden kullanılarak, sentezlendi ve etanolde kristallendirilerek saflaştırıldı (Temel, 2001).



NANAL'ın fluoresans özelliklerinin incelenmesi amacıyla, N,N-dimetilformamit (DMF), dioksan ve kloroformda, 10^{-4} M'lık stok çözeltileri hazırlandı. NANAL, N,N-dimetilsülfoksit (DMSO), etanol ve metanolde çözünmemiştir. Ayrıca çalışmada, bazı metal iyonları ile fluoresent bir kompleks oluşturmak üzere kullanılan Schiff bazının stok çözeltisi, yine derişimi 1×10^{-4} M olacak şekilde N,N-dimetilformamitte hazırlandı ve kullanılacağı zaman uygun derişimlere seyreltildi.

Kullandığımız diğer ligantımız chrome azurol S (CAS) Merck firmasından temin edildi. Absorbans özelliklerinin incelenmesi için N,N-dimetilformamit (DMF), dioksan, N,N-dimetilsülfoksit (DMSO), etanol, metanol, asetonitril, 2-propanol, kloroform ve suda 1×10^{-4} M lık stok çözeltileri hazırlandı. Bakır (II) ile kompleks oluşturmak için kullanılan chrome azurol S (CAS)'nin stok çözeltisi de etanolde 1×10^{-3} M olacak şekilde hazırlandı.

5.2.2 Çözücüler

Ligantların hazırlanmasında kullanılan dioksan (3115, ekstra saf), N,N-Dimetilformamid, Kloroform, N,N-Dimetilsülfoksit, Etanol, Metanol Merck firmasından temin edildi. Tüm deneysel çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanmasında, ultra saf su kullanıldı.

5.2.3 Stok bakır çözeltisi

Bakır stok çözeltisi (100 ppm), Merck firmasından temin edilen atomik absorpsiyon spektroskopisi için kullanılan 1000 ppm'lik standart bakır çözeltisinden, ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

5.2.4 Tampon çözeltileri

Deney çözeltilerinin pH'sını ayarlamak amacıyla kullanılan amonyum klorür çözeltisi, Merck firmasından temin edilen ekstra saflıktaki amonyum klorürden, ultra saf su kullanılarak hazırlandı. 33,5 g amonyum klorüre ultra saf suda çözüldükten sonra 42 ml Merck firmasından temin edilen 13,5 M amonyak ilave edildi ve 250 ml ye yine ultra saf su ile seyreltilerek pH' ı 9,5 olan amonyum klorür çözeltisi hazırlandı. Bu tampon çözeltisi bazik ortamda yapılan deneylerde kullanıldı. Asidik ortamda ise deney çözeltilerinin pH' sını ayarlamak amacıyla kullanılan %20'lik amonyum asetat çözeltisi, Merck firmasından temin edilen ekstra saflıktaki amonyum asetattan, ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

5.2.5. Hidroklorik asit ve amonyak çözeltisi

Deney çözeltilerinin pH' sını ayarlamak için kullanılan 1M HCl ve 1M NH_3 çözeltileri, Merck firmasından alınan %37'lik ekstra saf hidroklorik asit ve ekstra saf amonyaktan ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

5.3 Deneysel İşlem

5.3.1. Schiff Bazı Kullanılarak Bakır(II)'nin Fluorometrik ve Fotometrik Tayini

Schiff bazıyla kompleks oluşumuna dayanarak bakırın spektrofluorometrik ve spektrofotometrik tayini için bu çalışmada kullanılan deneysel işlem şöyledir:

25 mL'lik ölçülü balona bakır derişimleri 0,318-1,588 ppm olacak şekilde stok bakır çözeltilerinden uygun hacimlerde kondu. Bunun üzerine, 2,5 mL $1x10^{-4}$ M

Schiff bazı (NANAL), 1,5 mL %20'lik amonyum asetat çözeltisi ve 7,5 ml N,N,-dimetilformamit eklendi. Daha sonra 1M HCl veya 1M NaOH çözeltileri kullanılarak pH 5.0'e ayarlandı. Çözeltilerin hacmi ultra saf suyla 25 mL'ye tamamlandı. Kompleks oluşumu için oda sıcaklığında 10 dakika beklendi. Hazırlanan bu çözeltilerin uyarma ve emisyon spektrumları alındı ve fluoresans şiddetleri ölçüldü.

5.3.1.1. Schiff bazının (NANAL) Fluoresans Özelliğinin İncelenmesi

Schiff bazı *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL)'ın fluoresans özelliklerinin incelenmesi amacıyla, N,N-dimetilformamit (DMF), dioksan, kloroform, etanol, metanol ve N,N-dimetilsülfoksit (DMSO) de, 10^{-4} M'lık stok çözeltileri hazırlandı. NANAL, N,N-dimetilsülfoksit (DMSO), etanol ve metanolde çözünmemiştir.

Tablo 5.1

	DMF	DMSO	Etanol	Metanol	Dioksan	Kloroform
NANAL	çözündü	çözünmedi	çözünmedi	çözünmedi	çözündü	çözündü

Her bir çözücüde hazırlanan 10^{-4} M'lık NANAL çözeltilerinin, uyarma dalga boyu 250-400 nm aralığında 10'ar nm değiştirilerek, her bir dalga boyunda 350-550nm aralığında emisyon spektrumları kaydedildi. Her bir Schiff bazı çözeltisinin maksimum fluoresans verdiği uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi (Gündüz, 2004).

5.3.1.2. Uyarma ve Emisyon Dalga Boyları ile Absorpsiyon Dalga Boyunun Belirlenmesi

Kompleksleştirici olarak kullanılan Schiff bazının uyarma ve emisyon dalga boyunu belirlemek için *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL)'ın DMF'de hazırlanan $1x10^{-3}$ M'lık stok çözeltisinden alınan 2,5 mL' lik kısım üzerine 1,5 mL %20'lik amonyum asetat çözeltisi ve %40 DMF-%60 su ortamını sağlayacak şekilde

DMF eklendi. Bu çözeltiye 6-7 mL saf su eklenip çözeltinin pH sı 1M HCl ile 5'e ayarlanarak çözelti hacmi ultra saf su ile 25 mL'ye tamamlandı. NANAL çözeltilerinin, uyarma dalga boyu 250-400 nm aralığında 10'ar nm değiştirilerek, her bir dalga boyunda 350-550 nm aralığında emisyon spektrumları kaydedildi. Her bir Schiff bazı çözeltisinin maksimum fluoresans verdiği uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. 200-700 nm aralığında absorpsiyon spektrumu alındı ve maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu tespit edildi.

NANAL-Cu kompleksinin uyarma ve emisyon dalga boyu ile absorpsiyon dalga boyunun belirlenmesi için *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL)'ın DMF'de hazırlanan $1x10^{-3}$ M'lık stok çözeltisinden alınan 2,5 mL alınıp üzerine $1x10^{-4}$ M bakır çözeltisi, üzerine 1,5 mL %20'lik amonyum asetat çözeltisi ve %40 DMF-%60 su ortamını sağlayacak şekilde DMF eklendikten sonra pH sı 1M HCl ile 5'e ayarlanarak çözelti hacmi ultra saf su ile 25 mL'ye tamamlandı. NANAL-Cu kompleksinin maksimum fluoresans verdiği uyarma ve emisyon dalga boyları ile maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyları tespit edildi.

5.3.1.3. Uygun pH'nın Belirlenmesi

Kompleks oluşumu için en uygun pH'nın belirlenmesi amacıyla, %40 DMF-%60 su ortamında 0,635 ppm bakır içeren çözeltinin pH'sı 4-10 aralığında değiştirilerek bir seri NANAL-Cu kompleksi hazırlandı. NANAL'ın ve hazırlanan bu çözeltilerin fluoresans şiddetleri, kompleks için belirlenen uyarma ve emisyon dalga boyunda kaydedildi ve fluoresans şiddetleri pH'ya karşı grafiğe geçirildi. Aynı şekilde maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyundaki absorbans şiddetleri ölçüldü ve absorbans şiddetleri pH'ya karşı grafiğe geçirildi. Kompleks oluşumu için en uygun pH aralığı belirlendi.

5.3.1.4. Uygun Çözücü Karışımının Belirlenmesi

NANAL'ın 0,635 ppm bakır içeren NANAL-Cu kompleksinin pH 5 de DMF yüzdesi %10-70 aralığında değiştirilerek, daha önce belirlenen maksimum emisyon ve absorbans dalga boyunda fluoresans ve absorbans şiddetleri ölçüldü. Buna göre hem schiff bazının hem de NANAL-Cu kompleksinin maksimum fluoresans ve absorbans verdiği en uygun çözücü yüzdesi bulundu.

5.3.1.5. Kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisinin incelenmesi

Schiff bazıyla bakır arasındaki kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisini incelemek amacıyla NANAL ve NANAL-Cu çözeltileri 25-50˚C aralığında 5.3.1 de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Kaydedilen fluoresans ve absorbans şiddetleri sıcaklığa karşı grafiğe geçirildi ve en uygun sıcaklık değeri tespit edildi.

5.3.1.6. Kompleks oluşum süresinin incelenmesi

NANAL'ın bakır için seçilen pH, çözücü yüzdesi, sıcaklık ve dalga boylarında, %20 amonyum asetat tamponunda bakır içeren çözeltisi için kompleks oluşum süresi belirlendi. Çözeltinin 1-30 dakika arasında 5 dakikada bir, 30-240 dakika arasında 10 dakikada bir fluoresans ve absorbans şiddetleri ölçülerek, zamana karşı grafiğe geçirildi. Böylece bakır için NANAL-metal kompleksinin optimum oluşum süresi belirlendi.

5.3.1.7. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi

NANAL-Cu kompleksinin stokiyometrisi job metoduyla belirlendi. Bu amaçla bakır ve Schiff bazının $1x10^{-4}$ M lık çözeltileri hazırlanarak, Schiff bazının bakıra mol oranı 0:10 ile 10:0 arasında olacak şekilde bir seri çözelti hazırlandı. Bütün çözeltilere 1,5 mL %20'lik amonyum asetat çözeltisi ve %40 DMF-%60 su ortamını sağlayacak şekilde DMF eklendikten sonra pH sı 1M HCl ile 5'e ayarlanarak çözelti hacmi ultra saf su ile 25 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltilerin fluoresans ve absorbans şiddetleri ölçülerek Schiff bazı hacmine karşı grafiğe geçirildi.

5.3.1.8. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi

NANAL-Cu kompleksinin pH 5'de 0,318-1,588 ppm bakır içeren çözeltilerinin (her bir çözelti 1,5 mL %20'lik amonyum asetat çözeltisi ve %40 DMF-%60 su ortamını sağlamak üzere 7,5 mL DMF içermektedir) fluoresans ve absorbans şiddetleri ölçülerek, bakır derişimine karşı grafiğe geçirildi. Ayrıca elde edilen eğrilerden tayin edilebilecek en düşük bakır konsantrasyonu da belirlendi.

5.3.1.9. NANAL-Cu Kompleksinde Bakırın Geri Dönüşüm Testleri

Bakırın geri dönüşüm testleri için, 2,5 mL $1x10^{-3}$ M NANAL, 2,5 mL 0,318-1,588 aralığındaki bakır çözeltilerinden, 1,5 mL %20 lik amonyum asetat çözeltisi, %40 DMF-%60 su ortamını sağlayacak şekilde 7,5 mL DMF eklendi ve pH 1 M HCl ile 5'e ayarlandı. 330 nm uyarma, 435 emisyon dalga boyunda fluoresans şiddetler, 460 nm absorpsiyon dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü.

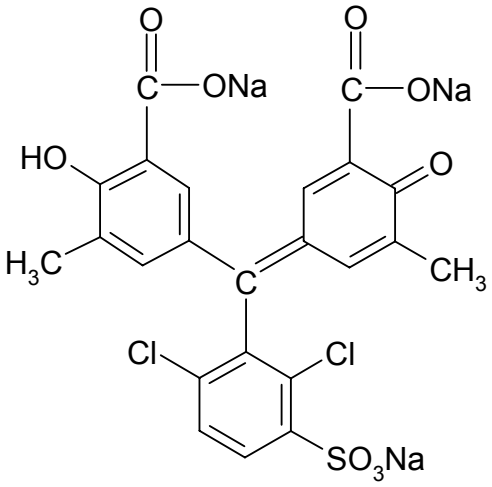
5.3.1.10. Bakır tayinine yabancı iyonların etkisi

Bakırın fluorometrik ve fotometrik tayinine çeşitli anyon ve katyonların bozucu etkisini incelemek amacıyla, 0,635 ppm bakır içeren çözeltiye, incelenen iyonun bakıra oranı sırasıyla 1000, 100, 10, 1 ve 0,1 olacak şekilde incelenen iyonu içeren çözelti eklenerek optimum şartlarda çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltinin fluoresans ve absorbans şiddetleri ölçülerek, NANAL-Cu kompleksinin fluoresans ve absorbans şiddetinde meydana getirdiği farklar belirlendi.

5.3.2. Farklı Bir Ligand (CAS) Kullanarak Bakırın Kinetik Parametrelerinin İncelenmesi ve Kinetik Tayini

Chrome azurol S (CAS), metal iyonlarıyla kompleks oluşturma kabiliyeti ve yüksek molar absorplama gücü olan organik bir maddedir (Simpson, 1997; Marczenko, 1986). CAS çeşitli elementlerin tayininde hassas metotlar sağlar (Soylak, 2000). Ayrıca farmakolojik ve biyolojik maddelerin tayini için kullanışlıdır

(Starczewska, 2000). *Chrome azurol S* (CAS)'nin molekül yapısı aşağıda gösterilmektedir.



Şekil 5.1. Chromazurol S'nin molekül yapısı

5.3.2.1 CAS'ın çeşitli çözücülerde çözünürlük tayini

Chrome azurol S (CAS)'ın hangi çözücüde ve hangi koşullarda çözündüğünü belirlemek amacı ile, Tablo 6.5. de fiziksel özellikleri verilen N,N-Dimetil formamit, N,N-Dimetil sülfoksit, dioksan, etanol, metanol ve 2-propanolde çözünürlükleri incelendi. Oda sıcaklığında çözünmeyenler su banyosunda ısıtılarak çözülmeye çalışıldı. Çözünme sonucunda 25 ml çözücüye 6,05 ppm olacak şekilde ilave edilen 0,15 mg CAS ile berrak renkteki çözücüler pembe, bordo, ve turuncu renkte çözeltiye dönüşmüştür. Böylece *chrome azurol S* (CAS) 'ın bütün çözücülerde çözündüğü anlaşılmıştır.

5.3.2.2. Çalışma dalga boyunun belirlenmesi

Aşağıda verilen genel çalışma şartlarında elde edilen absorbans-zaman grafiklerinden faydalanarak deneysel hız sabitleri belirlendi. Reaksiyon hızına etki eden faktörleri belirlemek için gerekli çalışma şartları hazırlanarak gerçekleştirilen reaksiyonların absorbans-zaman grafikleri çizildi. Bu grafiklerden faydalanarak elde

edilen verilerle reaksiyon optimizasyonu ve reaksiyon hız denklemine etkileri bulundu. Belirlenen optimum şartlarda reaksiyon farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilerek reaksiyon hızına sıcaklığın etkisi incelendi.

Chromazurol S ile kompleks oluşumuna dayanarak bakırın kinetik tayini için yapılan bu çalışmada kullanılan deneysel işlem şöyledir: 25 mL'lik bir ölçülü balona %50 etanol-%50 su ortamını sağlayacak şekilde 10 mL etanol, 1,5 mL % 20'lik amonyum asetat çözeltisi, 2,5 mL 1×10^{-3} M CAS ve bakır stok çözeltisinden uygun hacimde konuldu. Daha sonra 1 M HCl ve 1 M NH_3 çözeltileri kullanılarak pH 5,0'e ayarlandı. Çözeltilerin hacmi ultra saf suyla 25 mL'ye tamamlandı. 200-700 nm aralığında absorpsiyon spektrumu alındı ve maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu tespit edildi.

5.3.2.3. Ligand konsantrasyonun etkisi

5.3.2.2. de belirtilen şartlar sabit tutularak ($1x10^{-4}$ M Cu, pH 5, 1,5 ml amonyum asetat çözeltisi, %50 etanol-%50 su) CAS çözeltisinden farklı miktarlarda ilave edilerek absorbans değişimleri kaydedildi ve başlangıç hızları belirlendi.

5.3.2.4. pH'nın Etkisi

pH'nın optimizasyonu ve reaksiyon hızına etkisini belirlemek için 2,5 mL $6x10^{-5}$ M CAS, 2,5 mL $1x10^{-5}$ M bakır, 1,5 mL % 20'lik amonyum asetat çözeltisi, %50 etanol-%50 su ortamını sağlayacak şekilde 10 mL etanol eklendi ve pH 4-8 aralığında değişecek şekilde bir seri çözelti hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyundaki absorbans şiddetleri 1 saat boyunca ölçüldü.

5.3.2.5. Çözücü etkisi

Bölüm 5.3.2.2.de verilen çalışma şartlarında ([L]:$6x10^{-5}$M, [Cu]: $1x10^{-5}$M, 1,5 ml %20' lik amonyum asetat çözeltisi, pH=5) çözücü miktarı dışındaki şartlar sabit tutulup ortamdaki çözücü oranı %20-70 etanol olacak şekilde değiştirilerek

maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyundaki absorbans şiddetleri 1 saat boyunca ölçüldü.

5.3.2.6. Sıcaklığın etkisi

Kompleksleşme reaksiyonuna sıcaklığın etkisini belirlemek için farklı sıcaklıklarda (25-45˚C) optimum şartlardaki reaksiyonun absorbans şiddetleri 1 saat süreyle incelendi.

5.3.2.7. Bakır (II) tayini

Bakır(II) iyonunun kinetik spektrofotometrik tayini için CAS-Cu kompleksinin pH 5'de 0,00225-0,00635 ppm bakır içeren çözeltilerinin (her bir çözelti 1,5 mL %20'lik amonyum asetat çözeltisi ve %50 DMF-%50 su ortamını sağlamak üzere 10 mL etanol içermektedir) absorbans-zaman grafikleri çizildi. Belirlenmiş zaman aralığı metodu kullanılarak kalibrasyon grafiği çizildi ve elde edilen eğrilerden tayin edilebilecek en düşük bakır konsantrasyonu da belirlendi.

5.3.2.8. Bakır tayinine yabancı iyonların etkisi

Bakırın kinetik spektrofotometrik tayinine çeşitli anyon ve katyonların bozucu etkisini incelemek amacıyla, 0,635 ppm bakır içeren çözeltiye, incelenen iyonun bakıra oranı sırasıyla 1000, 100, 10, 1 ve 0,1 olacak şekilde incelenen iyonu içeren çözelti eklenerek optimum şartlarda çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltinin absorbans şiddetleri ölçülerek CAS-Cu kompleksinin absorbans şiddetinde meydana getirdiği farklar belirlendi.

6. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

6.1. Schıff Bazı Kullanılarak Bakır(II)'nin Fluorometrik ve Fotometrik Tayini

6.1.1. Schiff bazının (NANAL) Fluoresans Özelliğinin İncelenmesi

Bu çalışmada Schiff bazı olarak kullanılan NANAL'ın N,N-dimetil formamit, ve dioksan ortamlarında alınan emisyon spektrumları incelendiğinde, dipol momentleri yüksek olan DMF (μ= 3,86)' de en yüksek, dipol momenti düşük olan dioksan (μ= 0,45)' da ise en düşük fluoresans şiddetine sahip olduğu gözlenmiştir.

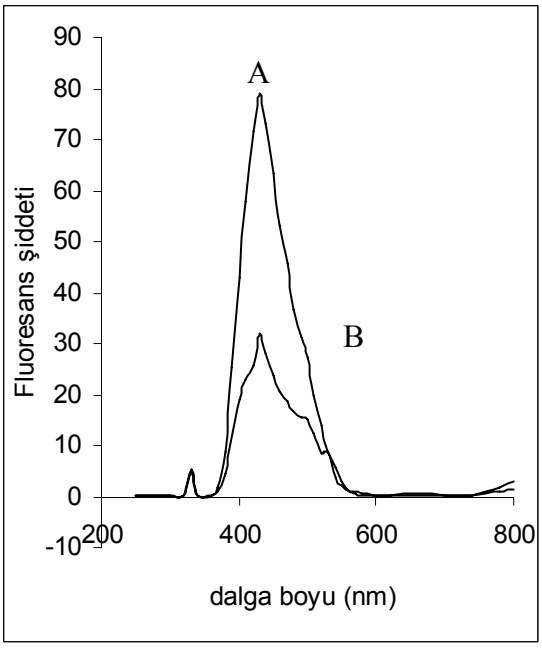
Tablo 6.1 NANAL' ın farklı çözücülerdeki uyarma ve emisyon dalga boyları ve bu dalga boylarındaki fluoresans şiddetleri. ([NANAL]:1×10^{-5} M)

Çözücü	λ_{ex}	λ_{em}	**Fluoresans şiddeti**	
			Çözücü	NANAL
N,N-dimetilformamit	460	510	2,170	68,376
Kloroform	300	521	0,752	28,332
Dioksan	290	507	1,813	12,743

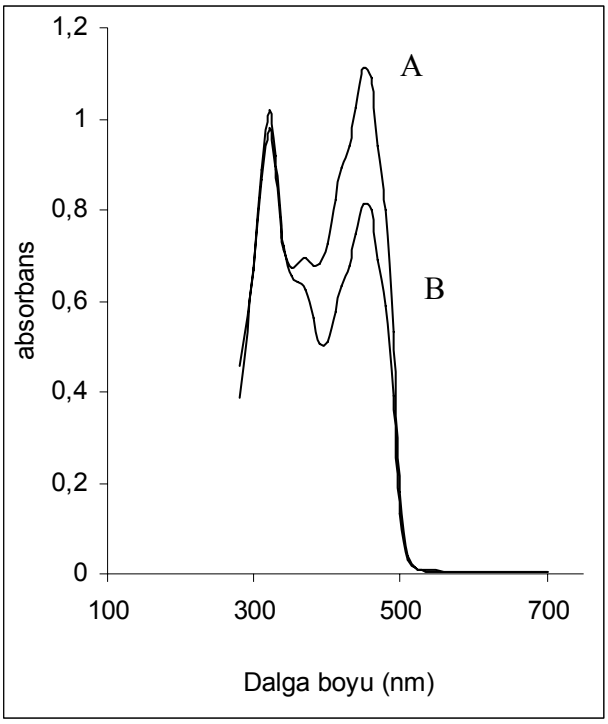
Polar çözücülerde fluoresans şiddetinin artması şöyle açıklanabilir; çözücülerin dipol momentinin büyük ve viskozitesinin küçük olması Schiff bazının böyle bir çözücü içerisindeki çözünürlüğünü, dolayısıyla da iyonlaşma kabiliyetini arttırır. Böylece bu çalışmada kullanılan büyük moleküllü bir Schiff bazı olan NANAL'ın polar çözücülerde büyük ölçüde iyonlaşması sağlanarak iyonlaşmış molekül üzerine gönderilen uyarıcı ışığın maksimum düzeyde absorplanması sağlanmış olur. Bu durumda uyarılmış molekülün absorpsiyon enerjisi maksimumdur (ikinci uyarılmış enerji düzeyine geçiş) ve buna bağlı olarak uyarılmış molekül absorpladığı enerjinin çok az bir kısmını çözücü moleküllerine aktararak çok kısa bir süre içinde (10^{-6} sn) yüksek enerjili bir fluoresans ışımasıyla temel hale geri döner (Gündüz, 2004)

6.1.2. NANAL-Cu Kompleksinin Uyarma ve Emisyon Dalga Boyları ile Absorpsiyon Dalga Boyunun Belirlenmesi

NANAL'ın 0,635 ppm bakır içeren çözeltisinin 5.3.1.2 de anlatıldığı gibi pH 5'de uyarma ve emisyon spektrumları alındı. NANAL-Cu kompleksinin pH 5'de maksimum fluoresans şiddetine sahip olduğu uyarma dalga boyu 330 nm emisyon dalga boyu 435 nm olarak tespit edildi. Yine alınan absorpsiyon spektrumundan maksimum absorbans dalga boyu 460 nm olarak bulundu.



Şekil 6.1. NANAL-Cu kompleksi ve aynı şartlarda (blank) NANAL'ın uyarma ve emisyon spektrumu (pH=5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, slit aralığı:3 nm, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm, A:blank, B: kompleks.)



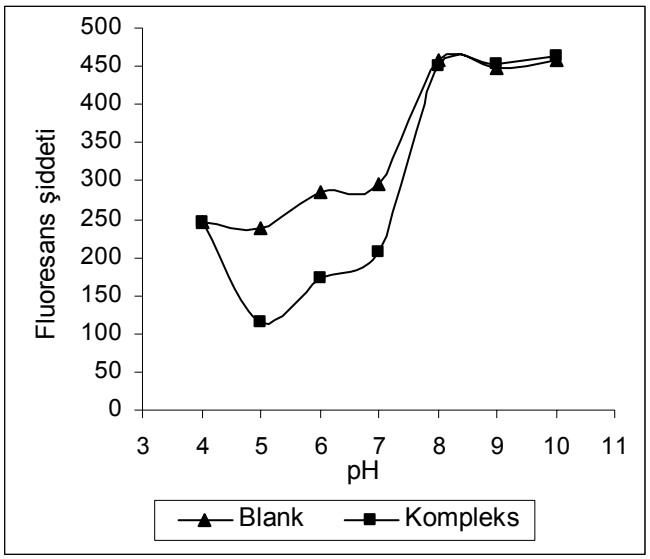
Şekil 6.2 NANAL-Cu kompleksi ve aynı şartlarda (blank) NANAL'ın absorpsiyon spektrumu (pH=5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, λ_{abs} =460 nm, A: kompleks, B: blank.)

6.1.3.Uygun pH'ın Belirlenmesi

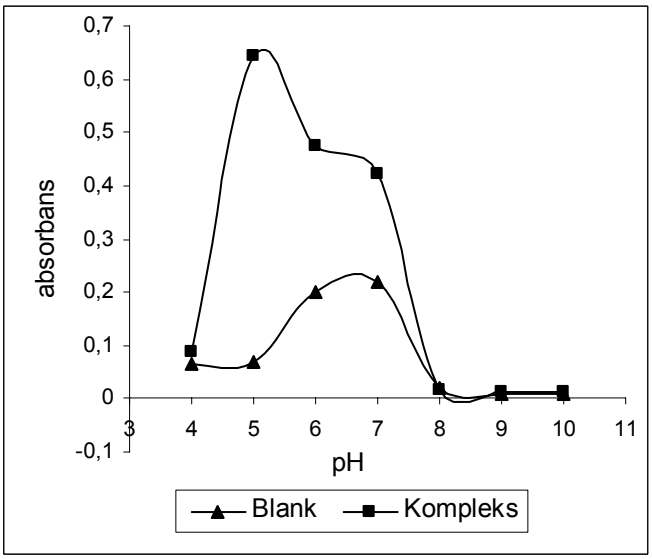
Schiff bazının bakır ile en fazla kompleks oluşturabildiği optimum pH'yı bulmak amacıyla yapılan çalışmada, metal kompleksi Bölüm 5.3.1.2 de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin fluoresans şiddetleri, her bir kompleks için belirlenen uyarma ve emisyon dalga boylarında (λ_{ex}=330 nm ve λ_{em}=435 nm); absorpsiyon ölçümleri 460 nm dalga boyunda blank (NANAL) ve bakır içeren her bir çözeltinin pH'sı 4-10 aralığında değiştirilerek fluoresans şiddetleri ölçüldü. Ölçülen fluoresans şiddetleri ve absorpsiyon değerleri pH'ya karşı grafiğe geçirildi.

Bakırın λ_{ex} =330 nm, λ_{em}=435 nm dalga boyunda NANAL' ın fluoresans şiddetini düşürdüğü gözlenmiştir. Maksimum kompleks oluşumu fluoresans şiddetindeki en fazla düşüş gözlendiği pH değerinde olur. Bu nedenle pH-fluoresans şiddet grafiğinden maksimum fluoresans şiddeti düşmesi 5-5,5 aralığında gözlendiği için çalışmada optimum pH değeri 5 olarak seçildi. Absorpsiyon spektrumunda ise

460 nm dalga boyunda kompleks oluşumu sonucu NANAL'ın absorbansını en çok arttıran değer optimum pH olarak seçildi.



Şekil 6.3 NANAL-Cu kompleksi ve aynı şartlarda (blank) NANAL'ın fluoresans şiddetinin pH ile değişim grafiği (pH=4-10, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, slit aralığı:3 nm, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm)

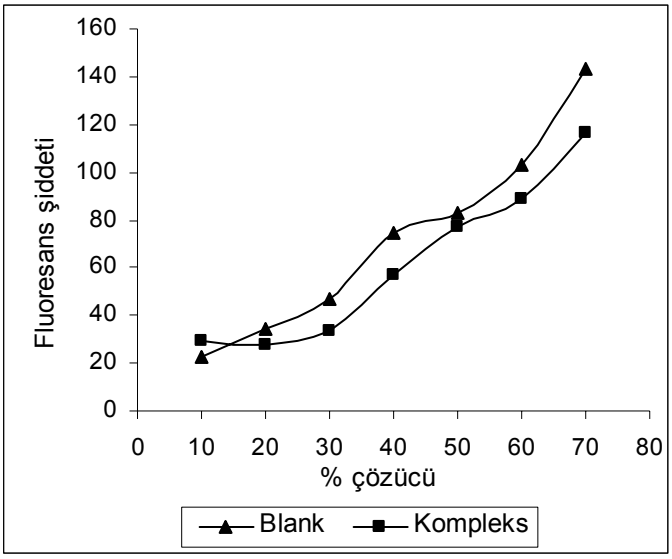


Şekil 6.4 NANAL-Cu kompleksi ve aynı şartlarda (blank) NANAL'ın absorbansının pH ile değişim grafiği (pH=4-10, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, λ_{abs} =460 nm.)

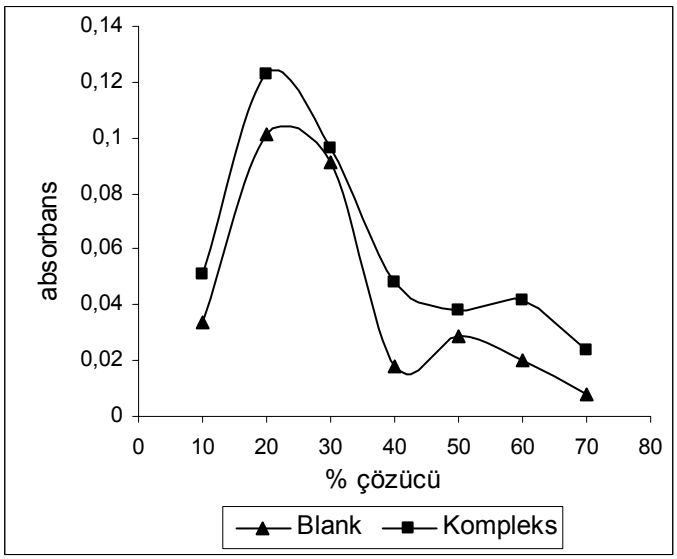
pH 7'den sonra NANAL-Cu kompleksinin fluoresans şiddetinin yükseldiği absorbans şiddetinin düştüğü gözlenmiştir. Bunun nedeni, pH 7'den sonra kompleksin parçalanarak bakır hidroksit iyonlarıyla reaksiyona girmesi olabilir. pH 4'den daha düşük pH'larda ise inceleme yapmak mümkün olmamıştır. Çünkü, çok düşük pH' larda Schiff bazı parçalanmaktadır.

6.1.4. Uygun Çözücü Karışımının Belirlenmesi

Schiff bazlarının çoğu su ortamında çözünmediği için bu maddelerle çalışırken sudan farklı çözücülerin kullanılması gerekmektedir. Fakat bu çalışmada sulu ortamda çözünmüş bakır tayini amaçlandığı için çalışmalar su-organik çözücü ortamında yapılmıştır. Bakır, kompleks oluşumu sonucunda λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm dalga boylarında NANAL'ın fluoresans şiddetini düşürdüğü için Şekil 6.5'deki fluoresans şiddetinin çözücü yüzdesine bağlılığı grafiğinden bakırın en fazla kompleks oluşturduğu çözücü ortamının %40 DMF-%60 su olduğu belirlendi. Absorpsiyon spektrumunda da λ_{abs}=460 nm dalga boyunda kompleks oluşumu sonucu NANAL'ın absorbansını en çok arttıran çözücü yüzdesi %40 DMF-%60 su olduğu bulundu.(Şekil 6.6). %80 - %90 ve %100 DMF içeren çözeltiler kullanılan reaktiflerin (tampon çözelti) bu ortamda çözünürlüğünün az olması ve bu çözücü yüzdelerinde pH ayarının yapılmasının mümkün olmamasından dolayı hazırlanamadı.

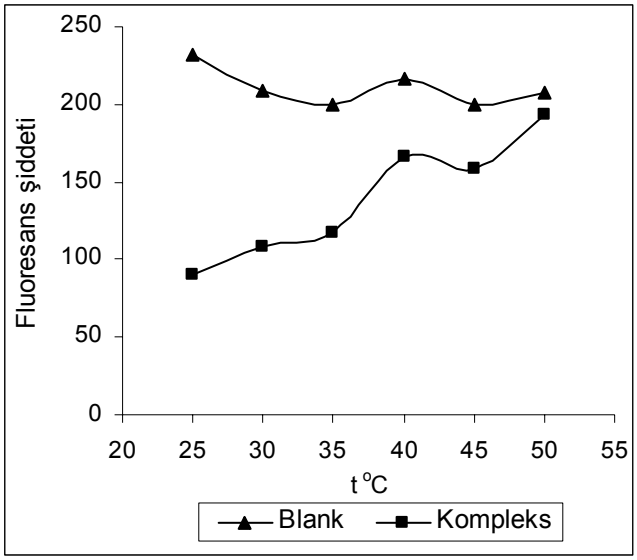


Şekil 6.5. NANAL-Cu kompleksinin fluoresans şiddetinin çözücü yüzdesi ile değişim grafiği (%10-70 DMF, [NANAL]:1×10^{-4} M, [Cu]:1×10^{-5}M, pH=5, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm, slit aralığı:3 nm)

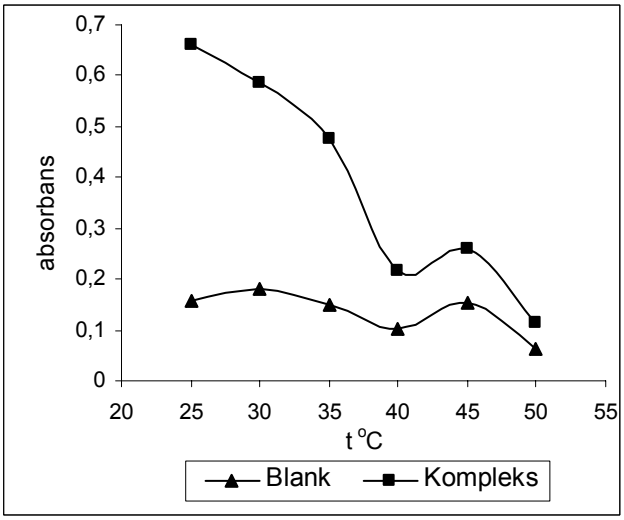


Şekil. 6.6. NANAL-Cu kompleksinin absorbansının çözücü yüzdesi ile değişim grafiği (%10-70 DMF, [NANAL]:1×10^{-4} M, [Cu]:1×10^{-5}M, pH=5, λ_{abs}=560 nm)

6.1.5 Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin İncelenmesi



Şekil 6.7 NANAL-Cu kompleksinin fluoresans şiddetinin sıcaklık (^{o}C) ile değişim grafiği (t^{o}C:25-50^{o}C, pH:5, [NANAL]:1×10^{-4} M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF-%60 su, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm, slit aralığı:3 nm)



Şekil 6.8 NANAL-Cu kompleksinin absorbans şiddetinin sıcaklık (^{o}C) ile değişim grafiği (t^{o}C:25-50^{o}C, pH=5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF-%60 su, λ_{abs}=460 nm)

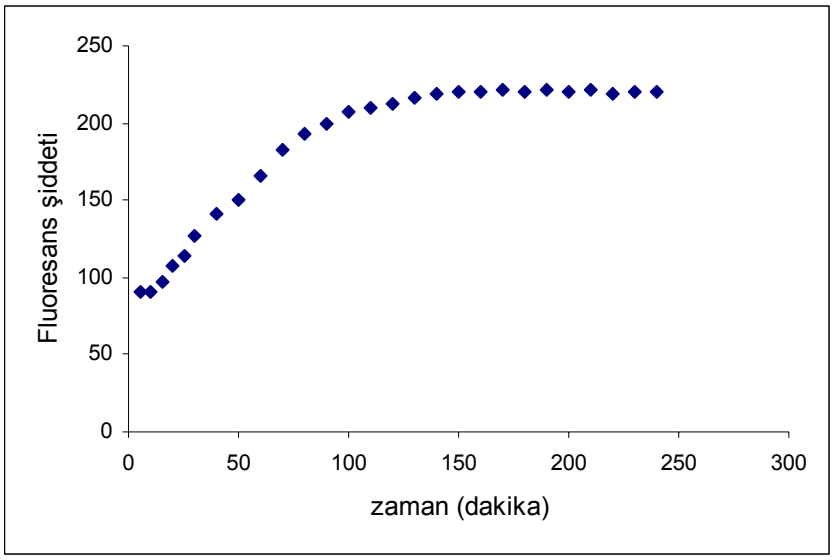
Schiff bazıyla bakırın kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisini incelemek amacıyla çözeltiler Bölüm 5.3.1.5'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Her bir metal için optimum pH ve çözücü yüzdelerinde oluşturulan komplekslerin fluoresans şiddetleri ve absorbansları 25-50°C aralığında ölçüldü. Kaydedilen fuoresans şiddetleri ve absorbansı, sıcaklık değerlerine karşı grafiğe geçirildi.

Metal komplekslerinin oluşumu için optimum sıcaklıkları belirlemek amacıyla bakır için çizilen sıcaklığa karşı fluoresans şiddetleri grafiği (Şekil 6.7) incelendiğinde bakırın en düşük fluoresans şiddetini veren sıcaklığın 25^{o}C olduğu belirlendi. UV spektrumunda ise optimum sıcaklık, kompleksin maksimum absorbans verdiği sıcaklık 25^{o}C olarak belirlendi. Sonuç olarak; kompleks oluşumu için en uygun sıcaklık 25^{o}C' dir

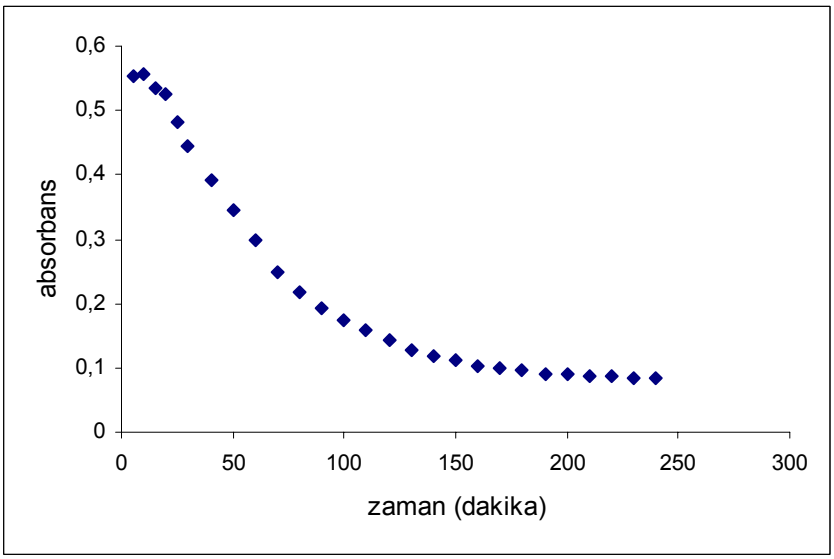
6.1.6 Kompleks Oluşum Süresinin İncelenmesi

NANAL'ın bakır için seçilen pH, çözücü yüzdesi, sıcaklık ve dalga boylarında, %20 amonyum asetat tamponunda bakır içeren çözeltisi için kompleks oluşum süresi belirlendi. Çözeltinin 1-30 dakika arasında 5 dakikada bir, 30-240 dakika arasında 10 dakikada bir fluoresans ve absorbans şiddetleri ölçülerek, zamana karşı grafiğe geçirildi. Böylece bakır için NANAL-metal kompleksinin optimum oluşum süresi belirlendi.

Şekil 6.9 daki NANAL-Cu kompleksinin zamana(dakika) karşı fluoresans şiddeti grafiğinden bakırın NANAL çözeltisine ilave edilmesiyle ilk dakikada kompleks oluşturarak NANAL'ın (blank) fluoresans şiddetini düşürdüğü, absorbansını arttırdığı gözlendi. Kompleks reaksiyonunun dengeye gelmesi çalışma esnasındaki deney koşullarına bağlı olarak yaklaşık 10 dakika sürdü. fluoresans ölçümü yapılan 240 dakika süresince bakır kompleksinin fluoesansının artarak 120 dakika sonra NANAL'ın (blank) fluoresans şiddetine ulaştığı, kompleksin tamamen bozunduğu gözlenmiştir.

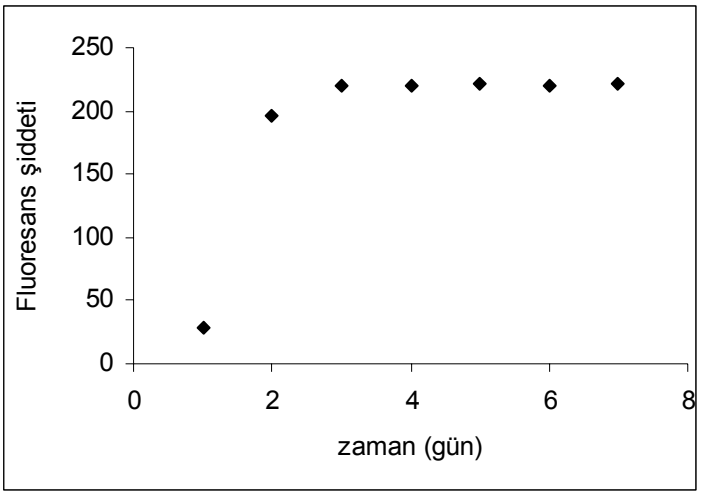


Şekil 6.9. NANAL-Cu kompleksinin fluoresans şiddetinin zamanla(dakika) değişim grafiği (t:0-240 dk,pH=5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, slit aralığı:3 nm, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm)

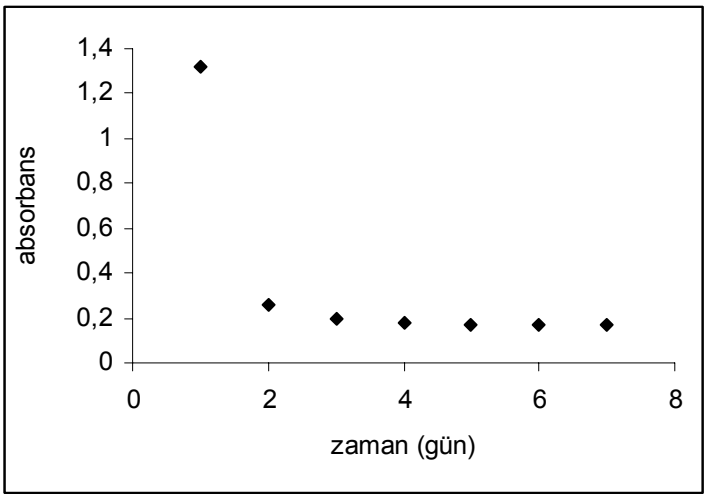


Şekil 6.10. NANAL-Cu kompleksinin absorbans şiddetinin zamanla(dakika) değişim grafiği (t:0-240 dk, pH= 5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, λ_{abs}=460 nm)

Şekil 6.11 ve 6.12 deki NANAL-Cu kompleksinin fluoresans ve absorbans şiddetinin zamana (gün) bağlılığı grafiğinden kompleksin 1 gün kararlı kaldığı gözlemlendi. 1 günden sonra Schiff bazının bozunduğu tespit edilimiştir. Schiff bazı ortamın sulu olması ve zayıf asidik olmasından dolayı hidroliz olmuştur.



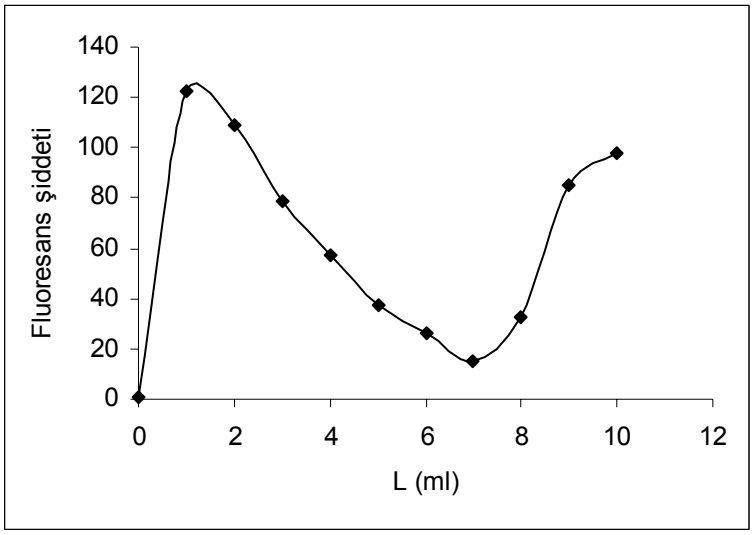
Şekil 6.11 NANAL-Cu kompleksinin fluoresans şiddetinin zamanla(gün) değişim grafiği (t:1-7 gün, pH=5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, slit aralığı:3 nm, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm)



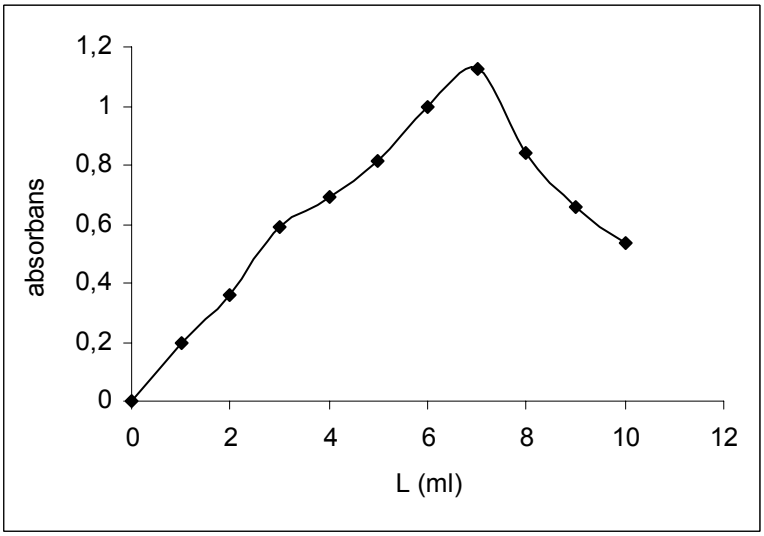
Şekil 6.12 NANAL-Cu kompleksinin fluoresans şiddetinin zamanla(gün) değişim grafiği (t:1-7 gün, pH= 5, [NANAL]:1×10^{-4}M, [Cu]:1×10^{-5}M, %40 DMF- %60 su, λ_{abs}=460 nm)

6.1.7. Kompleks Stokiyometrisinin Belirlenmesi

NANAL'ın Cu(II) iyonuyla verdiği kompleksin stokiyometrisi literatürde 1:2 olarak belirtilmiştir (Temel ve ark. 2001). Aynı oranın, çalışılan optimum şartlarda da geçerli olduğu Job metodu ile tespit edildi.



Şekil 6.13. Job metoduyla NANAL-Cu(II) kompleksinin stokiyometrik oranının fluorometrik tayini

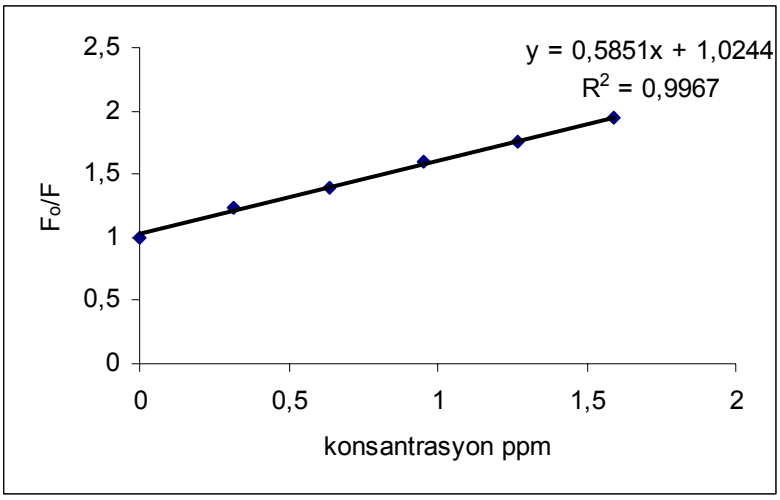


Şekil 6.14. Job metoduyla NANAL-Cu(II) kompleksinin stokiyometrik oranının fotometrik tayini

6.1.8 Çeşitli Bakır Derişim Aralıklarında Kalibrasyon Grafiklerinin Çizilmesi

Schiff bazı (NANAL) kullanılarak, bakırın fluorometrik tayininin yapılabilmesi amacıyla kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi gerekmektedir. Bu kalibrasyon grafiklerinden yararlanılarak bakırın tayin edilebileceği konsantrasyon aralıkları ve tayin edilebilecek en düşük metal konsantrasyonu belirlenebilir. Fluoresans şiddeti ile konsantrasyon arasındaki doğrusal ilişki ancak belli bir konsantrasyona kadar söz konusu olduğundan geniş bir aralıkta tek bir kalibrasyon eğrisinin çizilmesi mümkün olmamıştır. Bu nedenle, NANAL-Cu kompleksinin pH 5' de 0,318-1,588 ppm aralığında bakır içeren ve optimal koşullarda hazırlanan çözeltilerinin 330 nm uyarma dalga boyu ve 435 nm emisyon dalga boyunda fluoresans şiddetleri ölçülerek, Stern-Volmer eşitliğine göre kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

Yine 0,318-1,588 ppm konsantrasyon aralığında her bir bakır çözeltisinin 460 nm absorbsiyon dalga boyunda UV-Visible Spektrofotometre ile absorbsiyon şiddeti ölçülmüştür. Bakır konsantrasyonları ölçülen absorbsiyon şiddetleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Spektrofluorometrik ve spektrofotometrik yöntem ile tayin edilecek minimum bakır derişimi 0,635 ppm olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.15. NANAL-Cu kompleksinin fluorometrik yöntemle çizilen kalibrasyon eğrisi ([Cu]:0,318-1,588 ppm, [NANAL]:1×10^{-4}M, pH=5, %40 DMF- %60 su, slit aralığı:3 nm, λ_{ex}=330 nm, λ_{em}=435 nm)

Fluoresanst bir madde üzerine fluoresanst olmayan bir madde ilave ettiğimiz zaman fluoresant maddenin fluoresansında sönme meydana gelir.

$$B + Q \rightarrow BQ$$

b, Q' nun ortamda bulunmasıyla oluşan fluoresant olmayan BQ kompleksine çevrilen kısmı α olan fluoresant maddenin toplam konsantrasyonudur. Q, uyarılmış durumdaki B' yi tek başına söndüremiyorsa veya Q ya da BQ iç filtreler gibi görev yapıyorsa gözlenen fluoresans şiddet (F) daima kompleksleşmeyen B' nin konsantrasyonuyla orantılıdır (Parker, 1968).

$$F = k(1- \alpha)b \quad (6.1)$$

$$F_0 = kb \quad (6.2)$$

$$\frac{F_0-F}{F} = \frac{\alpha}{1-\alpha} = K_c[Q] \quad (6.3)$$

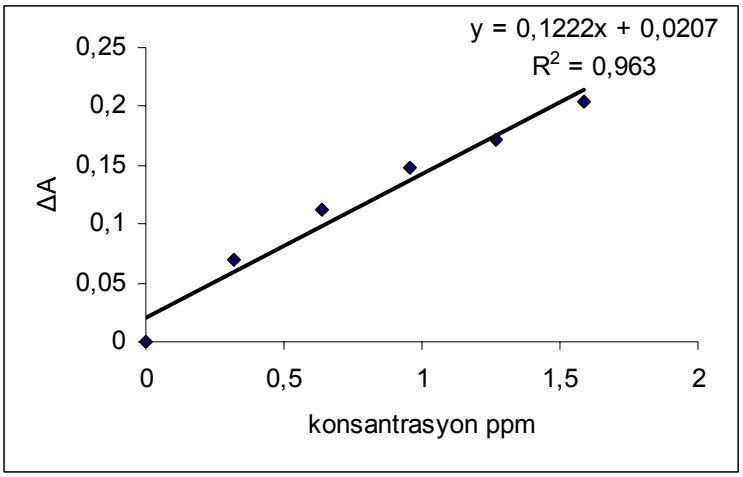
Bakır gibi geçiş metalleri katyonları kompleksleri fluoresans özelliği göstermezler. Bunun nedenleri şöyledir:

1- Geçiş elementleri katyonları genellikle paramagnetiktir. Paramagnetik maddeler haller arası geçişi kolaylaştırdıklarından singlet hal kolayca triplet hale dönüşür.

2- Geçiş elementleri katyonlarında enerjice birbirlerine çok yakın seviyeler olduğundan, iç dönüşümler kolaylaşır (ışınsız enerji yayma) (Gündüz, 2002)

Şekil 6.15'deki kalibrasyon grafiğinden de anlaşılacağı gibi, 0,318-1,588 ppm derişim aralığında bakır içeren numunelerde, bakır tayini büyük bir doğrulukla yapılabilir. Çünkü, bu konsantrasyon aralığında kalibrasyon eğrisinin regrasyon katsayısı 0,9967'dir.

Yine yöntemi karşılaştırmak amacıyla 0,318-1,588 ppm bakır derişim aralığında spektrofotometrik yöntemiyle kalibrasyon grafiği çizildi. Bu konsantrasyon aralığında fotometrik yöntemle çizilen kalibrasyon eğrisinin Şekil 6.16'dan görüldüğü gibi denklemi y=0,1222x + 0,207 olan eğrinin regrasyon katsayısı 0,963 değeriyle 1'e yakın değerdedir.



Şekil 6.16. NANAL-Cu kompleksinin fotometrik yöntemle çizilen kalibrasyon eğrisi ([Cu]: 0,318-1,588 ppm, [NANAL]:1×10^{-4}M, pH=5, %40 DMF- %60 su, λ_{abs}=460 nm)

6.1.9. NANAL-Cu kompleksinde Bakırın Geri Kazanım Testleri

Bakırın geri dönüşüm kazanım için, 2,5 mL $1x10^{-3}$ M NANAL, 2,5 mL 0,318-1,588 aralığındaki bakır çözeltilerinden, 1,5 mL %20 lik amonyum asetat çözeltisi, %40 DMF-%60 su ortamını sağlayacak şekilde 7,5 mL DMF eklendi ve pH 1 M HCl ile 5'e ayarlandı. 330 nm uyarma, 435 emisyon dalga boyunda fluoresans şiddetler, 460 nm absorpsiyon dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar tablo 6.1 ve tablo 6.2 de gösterilmektedir.

Tablo 6.1. Bakırın fluorometrik metotla geri kazanım testleri

eklenen (ppm)	bulunan (ppm)	% geri kazanım
0,318	0,368	115
0,635	0,63	99
0,953	0,977	102
1,271	1,242	97
1,588	1,556	98

Tablo 6.2. Bakırın fotometrik metotla geri kazanım testleri

eklenen (ppm)	bulunan (ppm)	% geri kazanım
0,318	0,403	126
0,635	0,755	118
0,953	1,042	109
1,271	0,23	96
1,588	1,5	94

6.1.10. Yabancı İyonların Etkisi

Schiff bazlarının pek çok metal iyonuyla kompleks oluşturduğu bilinmektedir**.** Bu nedenle önerilen spektrofluorometrik ve spektrofotometrik bakır tayini metoduna çeşitli anyon ve katyonların etkisinin incelenmesi gerekmektedir. Bu amaçla tablo 6.3 de verilen iyonların bakır tayinine bozucu etki yapıp yapmadıkları incelenmiştir.

Tablo 6.3 Bakırın fluorometrik tayinine yabancı iyonların etkisi

İyon	**Tolerans limiti (m/m)***
Cd^{2+}, In^{3+}, Ti^{4+}, Be^{2+}	1000
Ca^{2+}, Zr^{4+}, Mg^{2+}, Sc^{3+}, $C_2O_4^{2-}$, Se^{3+}	100
Fe^{3+}, Ba^{2+}, Ga^{3+}, CrO_4^{2-}	10
Co^{3+}, $B^{3+,}$ F^-	0,1
Al^{3+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Ni^{2+},	0,01

Tablo 6.4 Bakırın fotometrik tayinine yabancı iyonların etkisi

İyon	**Tolerans limiti (m/m)***
Cd^{2+}, In^{3+}, Ti^{4+}, Be^{2+}, Ga^{3+}	1000
Ca^{2+}, Zr^{4+}, Sc^{3+}, $C_2O_4^{2-}$, Se^{3+}	100
CrO_4^{2-}	10
Fe^{3+}, Ba^{2+}, Co^{3+}	1
Co^{3+}, $B^{3+,}$ F^-	0,1
Al^{3+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Ni^{2+},	0,01

* m/m: mol/mol
$[Cu^{2+}]$: $1x10^{-5}$ mol mL^{-1}

6.2 Farklı Bir Ligand (CAS) Kullanarak Bakırın Kinetik Parametrelerinin İncelenmesi ve Kinetik Tayini

Tablo 6.5 CAS'ın absorbans şiddeti üzerine çözücülerin etkisi

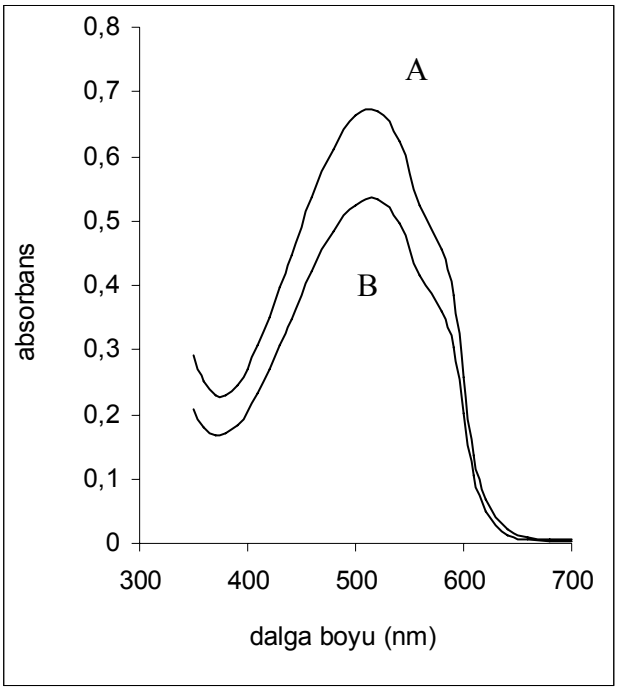
Çözücü	Çözücünün Özellikleri				Chromazurol S'nin Absorpsiyon Özellikleri	
	D^a	μ^b	η^c	I_f	Λ_{abs}(nm)	I_{abs}
Ethanol	28	1.83	0.89	1.76	530	1,007
Methanol	33	1.71	0.54	0.93	508	1,33
Dioksan	2.2	0.45	1.20	1.81	597	0,081
DMF	37	3.86	0.80	6.17	593	3,01
DMSO	46	3.96	1.96	6.39	591	2,96
2-Propanol	19.4	1.66	2.08	0.53	591	0,166

CAS'ın çeşitli çözücülerde absorpsiyon dalga boylarının belirlenmesi amacıyla CAS'ın N,N-dimetil formamit, N-N'dimetil sülfoksit, kloroform, dioksan, etanol ve metanolde 10^{-5} M'lık çözeltilerinin 200-700 nm uyarma dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları elde edildi. Böylece her bir çözücü için absorbansların net bir şekilde gözlendiği ve en yüksek absorbans şiddetinin elde edildiği en uygun dalga boyları belirlendi. CAS'ın bütün çözücülerdeki absorpsiyon dalga boyları ile bu dalga boylarındaki absorbans şiddetleri Tablo 6.5. de verilmektedir.

C*hrome azurol S*'nin absorbans şiddeti polarlığı fazla olan DMF ve DMSO'de daha fazla, polaritesi düşük olan 2-propanol ve dioksanda daha azdır. *Chrome azurol S*'nin bakır ile kompleks oluşumu da göz önüne alındığında çözücü olarak etanolü seçtik.

6.2.1. Çalışma Dalga Boyunun Belirlenmesi

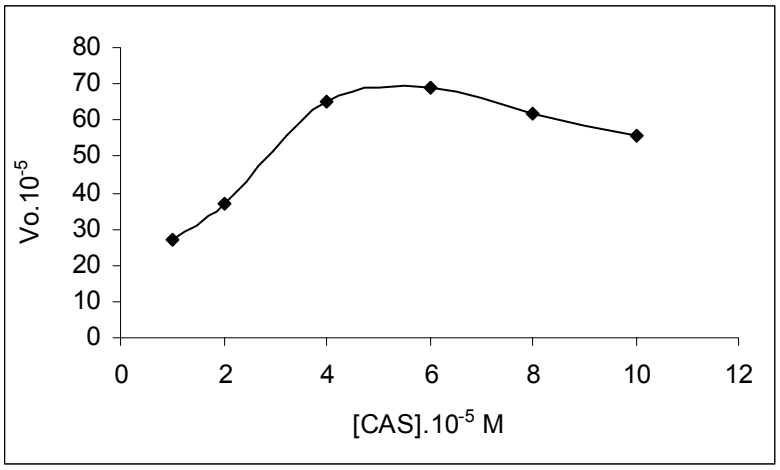
Cu(II)-CAS kompleksinin 5.3.2.2'de anlatıldığı şekilde etanolde absorpsiyon spektrumu alındı ve maksimum absorbans şiddeti verdiği dalga boyu 520 nm olarak tespit edildi. (Şekil 6.17)



Şekil 6.17. Cu-CAS kompleksinin absorpsiyon spektrumu ([CAS]:1x10^{-4} M, [Cu]:1x10^{-5} M, pH:5, A: kompleks, B:CAS (blank))

6.2.2. Ligand Konsantrasyonunun Etkisi

5.3.2.3 de belirtilen şartlar sabit tutularak (1x10^{-4} M Cu, pH 5, 1,5 ml amonyum asetat çözeltisi, %50 etanol-%50 su) CAS çözeltisinden farklı miktarlarda ilave edilerek absorbans değişimleri kaydedildi ve başlangıç hızları belirlendi. En yüksek hız elde edilen ligand konsantrasyonu 6x10^{-5} M optimum değer olarak seçildi.



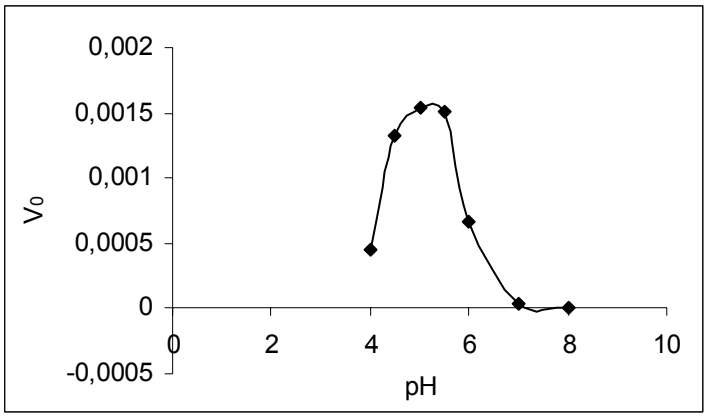
Şekil 6.18. CAS-Cu(II) kompleksleşme reaksiyonuna ligand konsantrasyonunun etkisi (Cu: $1x10^{-4}$ M)

Tablo 6.6. Ligand miktarına göre başlangıç hızı ve k_{den} değerleri

[CAS]x10^{-5} M	1	2	4	6	8	10
$V_o x10^{-5}$ ($\Delta A/\Delta t$)	27	37	65	69	62	56
k_{den} (sn^{-1})	27	18,5	16,25	11,5	7,75	5,6

6.2.3. pH'nın Etkisi

CAS'ın bakır ile kompleks oluşum kinetiğine pH nın etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada, metal kompleksi Bölüm 5.3.2.4 de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin absorbans şiddetleri, her bir kompleks için belirlenen absorbans ölçümleri 520 nm dalga boyunda çözeltinin pH'sı 4-8 aralığında değiştirilerek absorbans şiddetleri 60 dakika boyunca 2 dakikada bir ölçüldü. Elde edilen absorbans-zaman grafiklerinden başlangıç hızları hesaplandı ve optimum pH değeri 5 olarak bulundu.



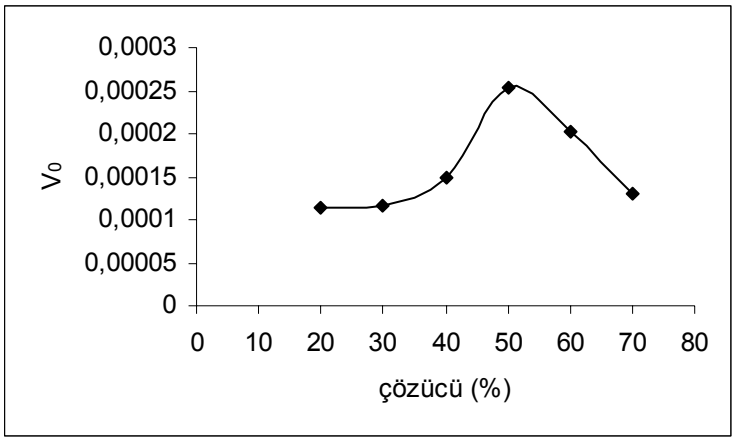
Şekil 6.19.CAS-Cu(II) kompleksleşme reaksiyon hızının pH'ya göre değişimi

Tablo 6.7. CAS-Cu kompleksleşme reaksiyonu pH ve başlangıç hız değerleri

pH	4	4,5	5	5,5	6	7	8
$V_o x10^{-5}$ ($\Delta A/\Delta t$)	044,5	132	154	151	65,8	3	1,25

6.2.4. Çözücü Etkisi

CAS'ın bakır ile kompleks oluşum kinetiğine çözücünün etkisini incelemek amacıyla 2,5 mL $6x10^{-5}$ M CAS, 2,5 mL $1x10^{-5}$ M Cu, 1,5 mL %20'lik amonyum asetat ve çözücü yüzdesi %20-70 olacak şekilde farklı miktarlarda etanol eklenip pH 5'e ayarlandı. 520 nm dalga boyunda 1 saat boyunca absorbansı kaydedildi. Elde edilen absorbans-zaman grafiklerinden başlangıç hızları hesaplandı.



Şekil 6.20. CAS-Cu(II) kompleksleşme reaksiyon hızının çözücü ile değişimi

Tablo 6.8. CAS-Cu kompleksleşme reaksiyonu için çözücü ve ilk hız değerleri

% Etanol	20	30	40	50	60	70
$V_o x10^{-5}$ ($\Delta A/\Delta t$)	11,3	11,7	14,8	25,3	20,3	13,1

6.2.5. Sıcaklığın Etkisi

Kompleksleşme reaksiyonuna sıcaklığın etkisini belirlemek için farklı sıcaklıklarda (25-45˚C) optimum şartlardaki reaksiyonun başlangıç hızları ve deneysel hız sabitleri belirlendi. Daha sonra Arrhenius denklemi kullanılarak gerekli hesaplamalar yapıldı. Arrhenius denkleminde kullanılan hız sabitinin reaksiyona ait gerçek hız sabiti olması gerekmektedir. Eşitlik 6.6 kullanılarak tespit edilen deneysel hız sabitlerinden gerçek hız sabitlerine geçildi. Bunun için reaksiyonu metale göre yalancı birinci mertebeye indirgeyerek elde ettiğimiz k_{den}

$$v=k_{ger.}[CAS][Cu^{2+}] \quad (6.4)$$

$$v=k_{den.}[Cu^{2+}] \quad (6.5)$$

$$k_{den.}=k_{ger.}[CAS] \quad (6.6)$$

eşitliği yazılabilir.

Tablo 6.9. CAS-Cu kompleksleşme reaksiyonuna ait değişik sıcaklıklardaki k değerleri

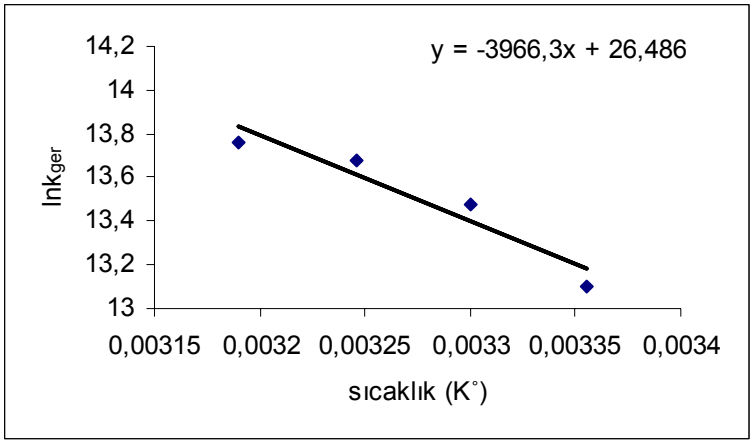
Sıcaklık (˚C)	25	30	35	40
1/Tx10^{-3} (1/K)	3,355	3,3	3,246	3,19
lnk$_{den}$	3,72	3,76	3,96	4,03
lnk$_{ger}$	13,1	13,48	13,68	13,76

Reaksiyon hızı ile sıcakılk arasındaki ilişkiyi veren bağıntıyı 1889 yılında İsveçli kimyacı S. Arrhenius türetmiştir.

$$k = A.e^{-Ea/RT} \quad (6.7)$$

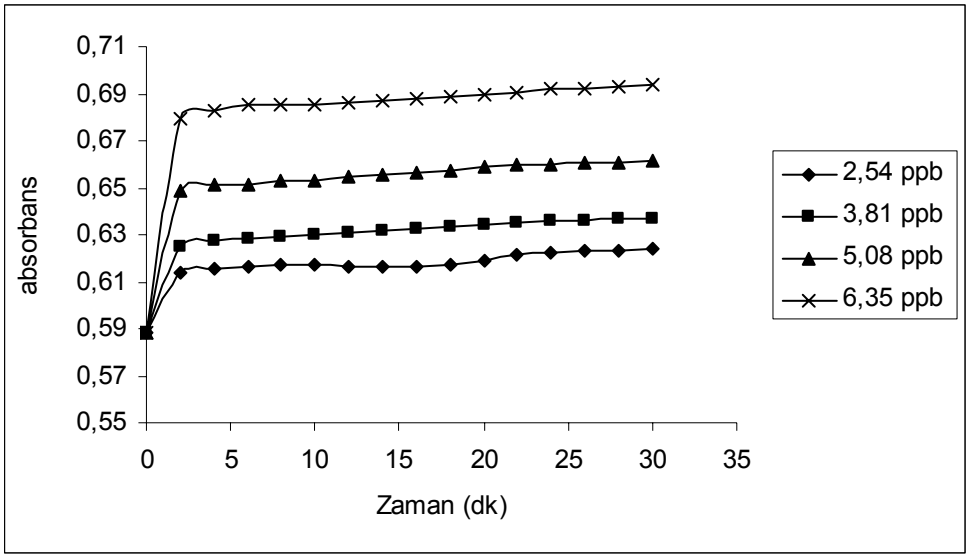
$$\ln k = \ln A - E_a/RT \quad (6.8)$$

Buna göre, lnk ile 1/T arasında çizilen grafiğin eğiminden aktivasyon enerjisi, kesim noktasından da Arrhenius sabiti hesaplanır. CAS-Cu kompleksleşme reaksiyonunun aktivasyon enerjisi grafiğin eğiminden 32975,82 J mol^{-1} bulunmuştur.

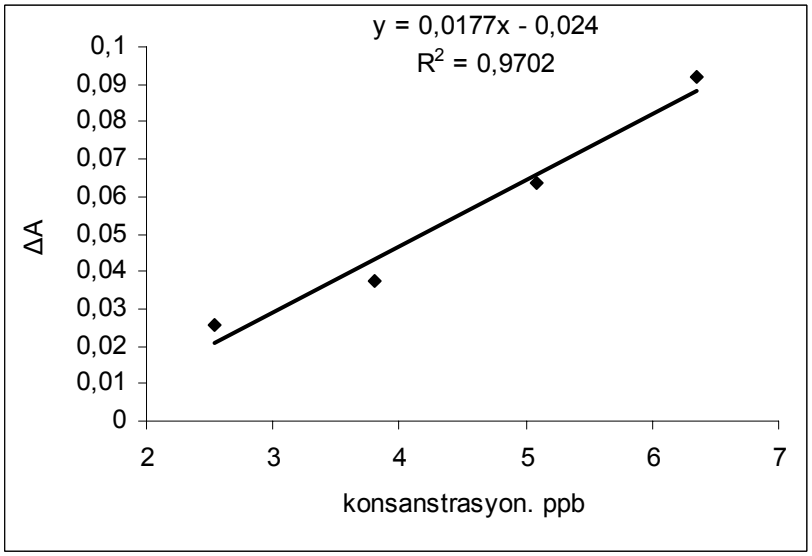


Şekil 6.21. CAS-Cu(II) kompleksleşme reaksiyon hızına sıcaklığın etkisi

6.2.6.Bakır(II) Tayini



Şekil.6.22. CAS-Cu(II) kompleksleşme reaksiyonu için optimum şartlarda farklı metal konsantrasyonlarındaki absorbans-zaman eğrileri



Şekil 6.23. Belirlenmiş zaman metoduyla çizilen kalibrasyon eğrisi

Bu absorbans-zaman değişimlerinden faydalanılarak kalibrasyon grafiklerinin çiziminde belirlenmiş zaman aralığı metodu kullanılmıştır. Reaksiyon başlangıcından

itibaren 2 dakika geçtiği andaki absorbans değeri metal konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilerek elde edilen kalibrasyon eğrisi 2,54 – 6,35 ppb aralığında lineerdir. Tayin sınırı 0,6 ppb ($1x10^{-8}$ M) bakır dır.

6.2.7. Yabancı İyon Etkisi

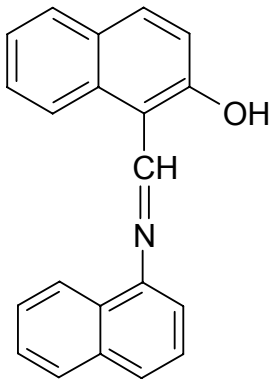
Bakırın kinetik spektrofotometrik tayinine çeşitli anyon ve katyonların bozucu etkisini incelemek amacıyla, 0,635ppm bakır içeren çözeltiye, incelenen iyonun bakıra oranı sırasıyla 1000, 100, 10, 1 ve 0,1 olacak şekilde incelenen iyonu içeren çözelti eklenerek optimum şartlarda çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltinin absorbans şiddetleri ölçülerek CAS-Cu kompleksinin absorbans şiddetinde meydana getirdiği farklar belirlendi.

Tablo 6.10. CAS kullanarak yapılan kinetik fotometrik bakır tayinine yabancı iyonları etkisi

İyon	**Tolerans limiti (m/m)***
Cd^{2+}, Ti^{4+}, In^{3+}, Sc^{3+}, Zr^{4+}, Se^{3+}, Ga^{3+}, B^{3+} Mn^{2+}	1000
Be^{2+}, Ca^{2+}, Co^{2+}, Ba^{2+}, Ni^{2+}	100
Al^{3+}	10
Mg^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{3+}	1

* m/m: mol/mol

7. SONUÇ



Şekil 7.1. *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden (NANAL*)

Bu çalışma Schiff bazı *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL) kullanılarak eser miktarda bakır içeren numunelerde bakırın tayini için spektrofluorometrik ve spektrofotometrik bir yöntem geliştirilmek amacıyla yapıldı. Bu amaçla, Schiff bazının bakır ile metal kompleksi oluşturularak fluoresans ve absorbans özellikleri incelendi.

Geçiş metalleri katyonları kompleksleri fluoresans özelliği göstermezler. Bunun nedenleri şöyledir:

1- Geçiş elementleri katyonları genellikle paramagnetiktir. Paramagnetik maddeler haller arası geçişi kolaylaştırdıklarından singlet hal kolayca triplet hale dönüşür.

2- Geçiş elementleri katyonlarında enerjice birbirlerine çok yakın seviyeler olduğundan, iç dönüşümler kolaylaşır (ışınsız enerji yayma) (Gündüz, 2002)

Fakat geçiş metalleri fluoresans özellik gösteren Schiff bazlarıyla kompleks oluşturarak fluoresans özellik gösterebilirler. Böylece bakırın *2-hidroksinaftalin-1-karbaldehiden* (NANAL) ile kompleks oluşturarak fluoresans şiddetini azalttığı (söndürdüğü) tespit edildi. NANAL'ın eser miktardaki bakır tayini için kullanılabileceği gözlendi.

Belirlenen optimum şartlarda (pH:5, %40 DMF-%60su, 25 ˚C, [NANAL]:1x10^{-5} M, λ_{ex}: 330 nm, λ_{em}: 435 nm, slit aralığı:3 nm ve λ_{abs}:420 nm) kalibrasyon grafikleri çizildi. Bakır NANAL'ın fluoresansını söndürdüğü için kalibrasyon denklemleri Stern-Volmer eşitliğine göre çizilmiştir. Elde edilen

kalibrasyon grafiklerinin 0,318-1,588 ppm derişim aralığında lineer olduğu gözlenmiştir. Tayin sınırı 0,635 ppm olarak tespit edilmiştir. Ayrıca geri dönüşüm denemelerinde yüksek verim elde edilmiştir.

NANAL-Cu kompleksi oluşturularak yapılan spektrofotometrik ve spektrofluorometrik bakır tayini deney sonuçları karşılaştırıldığında, her iki metodun sonuçlarının birbirini desteklediği görülmektedir. Her iki metotla elde edilen sonuçların benzerliği geliştirilen yöntemin güvenirliğini göstermektedir. Ayrıca geliştirilen yöntemin az zaman alması, daha az reaktif ve çözücü gerektirmesi, tekrarlanabilir olması metodun kullanılabilirliğini göstermektedir.

Bakır tayini için alternatif bir metot geliştirildi. Bakırın *chrome azurol S* (CAS) ile kompleksi oluşturularak kompleksleşme kinetiği incelendi ve kinetik tayini yapıldı. CAS-Cu kompleksleşme kinetiğine ligand konsantrasyonu, pH, çözücü yüzdesi gibi değişkenlerin etkilerine bakıldı ve başlangıç hızları tespit edildi. Reaksiyon metale göre Pseudo birinci mertebeden kabul edilerek farklı sıcaklıklarda bulunan k hız sabitleri kullanılarak aktivasyon enerjisi bulunmuştur. Buna göre CAS-Cu (II) kompleksleşme reaksiyonunun aktivasyon enerjisi 32975,82 J mol^{-1}'dür.

Kinetik bakır tayini için belirlenmiş zaman aralığı metodu uygulanmıştır. Elde edilen kalibrasyon grafikleri 2,54 – 6,35 ppb aralığında lineerdir. Ayrıca yabancı iyonları bakır tayini ile çok fazla girişim yapmadığı tespit edilmiştir. Çok düşük konsantrasyonlara inme imkanı sağlaması, 2 dakika gibi kısa zamanda tayin imkanı vermesi ve yabancı iyonların tayini etkilememesi metodun güvenilirliği ve kullanışlılığını gösterir.

8. KAYNAKLAR

Anonim., 1987, Kimya Mühendisleri Odası Seminer Notları. TMMMO Yayını, s.61, Ankara.

Atakol, O., 1986, o,o'-Dihidroksi Schiff bazlarının geçiş elementleri katyonlarıyla verdiği komplekslerin incelenmesi. Doktora Tezi. Ank. Üniv., Ankara.

Atalay, T., Özkan, E., 1994. Kinetic-spectrophotonetric determination of cobelt with 2-methylindole-3-carboxaldehidyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone. Tr. J. Of Chemistry, 19, 60-65.

Atalay, T., Özkan, E., 1994. Kinetic studyof the 2-methylindole-3-carboxaldehidyde thiosemicarbazone / copper(II) system determination of copper. Tr. J. Of Chemistry, 18, 120-125.

Barceloux, D. G.,1999, Copper. Clin. Toxical, 37, 217-230

Baş, S.Z., 2004. Oligostirenlerin fraksiyonlarına ayrılması ve farklı molekül ağırlıklı oligostirenlerin modifikasyon kinetiğinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Bilgiç, R., 2001, Çinko tayini için spektroflorimetrik metot geliştirilmesi. Yüksek Lisans tezi, Ank. Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Bull, P.C., Thomas, G.R., Rommens, J.M., Forbes, J.R., Cox, D.W., 1993. The Wilson disaese gene is putative copper transporting P-type ATPase similar to the Minkes gene. Nat. Genet. 5, 327-337.

Canel, E., 1993, Koordinasyon bileşiklerinin kararlılık sabitlerine çözücünün etkisinin potansiyometrik metotla incelenmesi. Doktora tezi, Ank. Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Cano-Raya, C., Fernendez Ramos, M.D., Capitian Vallvey, L.F., 2006. Fluoresance resonance energy transfer disposable sensor for copper(II). Anal. Chim. Acta, 555, 299-307.

Cano-Raya, C., Fernendez Ramos, M.D., Capitian Vallvey, L.F., Wolfbeis, O.S., Schaeferling, M., 2005. Fluoresans quenching of the europium tetracycline hydrogen peroxide complex by copper(II) and other metal ions. Apply. Spectrosc., 95, 1209-1216.

Chaisuksant, R., Palkowong-na-ayuthaya, W., Grudpan, K., 2000. Spectrophotometric determination of copper in alloys using naphthazarin. Talanta, 53, 579-585.

Cimerman, Z., Miljanic, S., Antolic, J., 1999, Fluorescence characteristics of Schiff bases derived from amino- and aminoalkylpyridines. Spectroscopy Letters, 32; 1: 181-196.

Cohen, J.M., 1960. Taste thieshold cocerretions of metals in drinking water. Journal of the American Water Works Association, 52: 660.

Crespo, A.G., Andrade, F.J., Inon, F.A., Tudino, M.B., 2005. Kinetic method for the determination of trace amounts of copper(II) in water matrices by its cataytic effect on the oxidation of 1,5-diphenylcarbazide. Anal. Chim. Acta, 539, 317-325.

Dalaman, Ö., Tüfekçi, M., Nohut, S., Güner, S., Karaböcek, S., 2002. Spectrophotometric determination of copper in pharmaceotical and biological samples with 3-{2-[2-(hydroxyimino-1-methyl-propylideneamino)-ethylamino]-ethyl-imino}-butan-2-one oxime. Jour. of Pharm. And Bio. Anal., 27, 183-189.

Fitzgerald, D.J., 1998. Safety guidelines for copper in water. Am. J. Clin. Nutr. 67, 1098-1102.

Goyer, R.A., 1991. Toxic effect of metals. Casarett and doull's Toxicology, 4th ed. Pergamon pres, New York, N.Y., 653-655

Gündüz, B., 2002. Eser alüminyum tayini için spektrofluorimetrik yöntem geliştirilmesi, Doktora Tezi. S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Gündüz, B., Küçğkkolbaşı, S., Matlaş, E., Temel, H., Yıldız, S., 2004. Effects of solvent ob the fluorescence of some schiff bases. Adnan Menderes Üni. 4th AACD Congress, proceeding book.

Gündüz, T., 1998, Kimyacılar İçin İstatistik, 1. Baskı, 4. Bölüm, s. 39, Gazi Büro Kitabevi, Ankara.

Gündüz, T., 2002, İnstrümental Analiz, Altıncı baskı, Bölüm 12, Gazi Büro Kitabevi, Ankara.

Hua Yang, R., Zhang, Y., An Li, K., Liu, F., Chan, W., 2004. Fluorescent ratioable recognition of Cu^{2+} in water using a pyrene- attached macrocycle/ γ-cyclodextrin compleks. Anal. Chim. Acta, 525, 97-103.

Jacop, R., Skala, J., Omaye, S., Turnlund, J., 1987. Effect of varying ascorbic acid intakes on copper absorption and ceruloplasmine levels of young man. J. Nutr. 117, 2109-2115.

Lecyk, M., 1980. Toxicity of cupric sulfate in mice embryonic development. Zool. Pol. 28: 101-105

Linder, M.C., Hazegh-Azam, M., 1996. Copper biochemistry and molecular biology. Am. J. Clin. Nutr, 63, 797-811

Linder, M.C., Wooten, L., Cerveza, P., Cotton, S., Shulze, R., Lomeli, N., 1998. Copper transport. Am. J. Clin. Nutr. 67, 965-971.

Marczenko, M., 1986. Seperation and Spectorphotometric Determination of Elements, Wiley Chichester.

Maltaş, E., 2005. Biyolojik ortamlardaki bazı eser elementlerin fluorometrik yöntemle tayini. Yüksek lisans Tezi. S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Mark, H.F., 1980, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.

Mazumder, A., Nezmati, N., Pilon, A.A., Sunder, S., Pommier, Y., 1996, Chemical trapping of ternary complexes of human immunodeficiency virus type 1 integrase, divalent metal, and DNA substrates containing an abasic site. Implications for the role of lysine 136 in DNA binding. J. Biol. Chem., 271, 27330-8.

Medien, H.A.A., Zahran, A.A., 2001. Spectrophotometric kinetic and determination of quinones and barbiturates. Spectrochimica Acta Part A, 57, 2505-2511.

Meshkova, S.B., Topilova, Z.M., Gorodnyuk, V.P.,Kiriyak, A.V., Antonovich, V.P., Andrianov, A.M., 2004. Sensitization of the 4f-Luminescence of terbium with copper ıons and its analytical application. Journal of Anal. Chem. 59, 945-949.

Mueller-Hoecker, J., Meyer, U., Wiebecke, B., 1988. Copper storage disease of the liver and chronic dietary copper intoxication in two further german infants mimicking Indian childhood cirrhosis. Pathol. Red. Pract. 183, 39-45.

Narayana, B., Bhat, N.G., Bhat, K.S., Nambiar, C.H., Ramachandra, B., Joseph, A., 2000, Selective complexometric determination of copper in ores and alloys using 2,2'-dipyridyl as masking agent. Microchemical Journal, 64, 221-225.

Rapisarda, V.A., Volentini, S.I., Farias, R.N., Massa, E.M., 2002. Quenching of bathocupreine disulfonate fluorescence by Cu(I) as a basis for copper quantification. Anal. Biochem. 307, 105-109.

Reichert, D.E., Lewis, J.S., Anderson, C.J., 1999, Metal complexes as diagnostic tools. Coordination Chemical Reviews. 184, 3-66.

Ruiz, J.V., DeTorres, A.G., Cano-Pavon, J.M., 1984, Fluorescence properties of some Schiff bases derived from 3-Hydroxypyridine-2-aldehyde and of their metal chelates. Talanta, 1; 31: 29-32.

Safavi, A., Maleki, N., Farjami, F., 2001. Selective kinetic spectrophotometric determination of copper at nanograms per mililiter level. Talanta, 54, 397-402.

Sandor, M., Geistmann, F., Schuster, M., 2003. Luminescent hexanuclear Cu(I)-cluster fort he selective determination of copper. Anal. Chim. Acta 486, 11-19.

Sandstead, H.H., 1995. Requirments and toxicity of essential trace elements illustrated by zinc and copper. Am. J. Clin. Nutr. 61, 621-624

Seiler, H. G.; Sigel, H. and Sigel, A.; Handbook of Toxicity of Inorganic Compounds; Marcel Dekker, Inc., New York, 1988, p 56.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Çeviri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., 1996, Analitik Kimya. Bilim Yayıncılık, s. 601-609, Ankara.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Çeviri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., 2000, Enstrümental Analiz İlkeleri. Bilim Yayıncılık, s. 355-377, Ankara.

Soylak, M., Türkoglu, O., 2000. Spectrophotometric determination of samarium(III) with chrome azurol S in the presence of cetylpyridinium chloride. Talanta 53 125-129

Starczewska, B., Mielech, K,.2000. Application of chrome azurol S for the extractive spectrophotometric determination of fluoexetine and fluoxamine. Phar. And Bio. Anal. 23, 243-247

Tanzi, R.E., Petrukhin, K., Chernov, I., Pellequer, J.L., Wasco, W., Ross, B., Romano, D.M., Parano, E., Pavone, L., Brzustowitcz, L.M., 1993. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase homology to the mankes disease gene. Nat. Genet. 5, 344-350.

Temel, H., Çakır, Ü., Uğraş, H.İ, 2001. Synthesis and Charecterization of Zn(II), Cu(II) and Ni(II) complexes

Turnlund, J.R., 1998, Human whole-body copper metabolism. Am. J. Clin. Nutr., 67, 960-964.

Turnlund, J.R., Keyes, W.R., Peiffer, G.L., Schott, K.C., 1998. Copper absorption, excretion, and retention by young men consumung low dietary copper determined by using the stable isotope 65Cu. Am. J. Clin. Nutr. 67, 1219-1225.

Turnlund, J.R., Scgott, K., Peiffer, G., Jang, A., Keyes, W., Keen, C., Sakanashi, T., 1997. Copper status of young men consuming a low-copper diet. Am. J. Clin. Nutr. 65, 72-78.

Torreggiani, A., Tamba, M., Trinchero, A., Bonora, S., 2005. Copper(II)-Quoercetin complexes in aquenos solutions: spectroscopic and kinetic properties. Jour., of Mole. Structure, 744-747, 759-766.

Tsalev, D. L.; Zaprianov, Z. K.; 1984. Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice; volume 1; CRC Press, Inc., Cleveland, OH,; p 120.

Wilson, S.A.K., 1912. Progressive lenticular degeneration: a familial nerveus disease associated with cirrhosis of the liver. Brain 34, 295-507

World Health Organization. Guidelines for drinking water quality. Volume 1, Recommendations , second eddition. WHO, Geneva, 1993, p46-174.

Yıldız, S., Lüminesans spektroskopisi (Basılmamış ders notları).

9. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Konya'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Konya'da tamamladım. 2000 yılında, Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazandım ve yüksek öğrenimimi 2004 yılında tamamladım. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisansa başladım.