

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**NİKEL(II) FTALOSİYANİN KOMPLEKSİ KULLANILARAK DEMİR TAYİNİ
İÇİN YENİ BİR SPEKTROFLORİMETRİK METODUN GELİŞTİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Kimyager Yasemin ÇAĞLAR

**HAZİRAN 2014
TRABZON**

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

NİKEL(II) FTALOSİYANİN KOMPLEKSİ KULLANILARAK DEMİR TAYİNİ
İÇİN YENİ BİR SPEKTROFLORİMETRİK METODUN GELİŞTİRİLMESİ

Kimyager Yasemin ÇAĞLAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“DOKTOR (KİMYA)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20.05.2014
Tezin Savunma Tarihi : 05.06.2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ümmühan OCAK

Trabzon 2014

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalında

Yasemin ÇAĞLAR Tarafından Hazırlanan

**NİKEL(II) FTALOSİYANİN KOMPLEKSİ KULLANILARAK DEMİR TAYİNİ
İÇİN YENİ BİR SPEKTROFLORİMETRİK METODUN GELİŞTİRİLMESİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 20/05/2014 gün ve 1554 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

DOKTORA TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mehmet TÜFEKÇİ

Üye : Prof. Dr. Ümmühan OCAK

Üye : Prof. Dr. Münevver SÖKMEN

Üye : Prof. Dr. Esin CANEL

Üye : Doç. Dr. Hasan GENÇ

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarları'nda yapılmıştır ve 113T001 nolu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Bu tez çalışmasının yapılması esnasında değerli zamanlarını bana ayıran, bilgi ve tecrübesini hiçbir zaman benden esirgemeyen, bilimsel açıdan iyi yetişmem konusunda çok özverili ve fedakar davranan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ümmühan OCAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Deneysel ve teorik çalışmalarım sırasında her türlü destek ve yardımlarını gördüğüm hocam Sayın Doç. Dr. Miraç OCAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Yöntemde kullanılan bileşiğin sentezlenmesini ve karakterizasyonunu yapan hocam Sayın Prof. Dr. Halit KANTEKİN ve değerli dostum Arş. Gör. Dr. Ece Tuğba SAKA'ya teşekkür ederim.

İletkenlik ölçümü deneylerimi gerçekleştirmemde yardımcı olan Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Kerim Serbest'e teşekkür ederim. Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen çalışma grubumuzdan doktora öğrencisi arkadaşım Aysel BAŞOĞLU'na ve yüksek lisans öğrencisi Serhat GÜN'e teşekkür ederim.

Tez izleme jürisi üyelerinden Sayın Prof. Dr. Münevver SÖKMEN'e ve Sayın Doç. Dr. Hasan GENÇ'e doktora tez izleme raporlarımın incelenmesi sırasındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Doktora tez çalışmalarım sırasında ve özel yaşamımda yanımda olan ve desteğini, anlayışını eksik etmeyen sevgili eşim Ahmet ÇAĞLAR'a, varlığı ile bana moral kaynağı olan kızım Çağla Naz'a, hayatımın her aşamasında sevgileriyle yanımda olan canım ailem Muteber-Ali GÖBEL'e yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Yasemin ÇAĞLAR
Trabzon 2014

TEZ BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Nikel(II) Ftakosiyanin Kompleksi Kullanılarak Demir Tayini İçin Yeni Bir Spektroflorimetrik Metodun Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Ümmühan OCAK’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 05/06/2014

Yasemin ÇAĞLAR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	IX
SUMMARY	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş ve Çalışmanın Amacı	1
1.2. Demir	3
1.2.1. Genel Bilgiler.....	3
1.2.2. Kullanım Alanları	5
1.2.3. Demir ve Yaşam	5
1.2.4. Demir Tayin Metotları	6
1.3. Sensörler	7
1.3.1. Moleküler Sensörler.....	8
1.3.2 Floresent Moleküler Sensörler	10
1.3.3. Katyon Bağlayıcı Floresent Sensörler	11
1.3.4. Katyon Bağlayıcı Floresent Sensörlerin Çalışma Mekanizmaları	11
1.3.4.1. Işına Dayalı Elektron Transferi (PET).....	12
1.3.4.2. Işına Dayalı Yük Transferi (PCT).....	13
1.3.4.3. Uyarılmış Dimer Oluşumu.....	14
1.4. Ftalosiyanimler.....	14
1.4.1. Ftalosiyanimlerin Genel Sentez Metotları	16
1.4.2. Ftalosiyanimlerin Fiziksel Özellikleri.....	18
1.4.3. Ftalosiyanimlerin Kimyasal Özellikleri	18
1.4.4. Ftalosiyanimlerin Spektral Özellikleri	19
1.4.4.1. Absorpsiyon Spektrumları	19

1.4.4.2.	IR Spektrumları.....	20
1.4.5.	Ftalosiyanın Uygulama Alanları.....	20
1.5.	Ultraviyole-Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopisi.....	21
1.6.	Floresans Spektroskopisi	23
1.6.1.	Floresansın Tarihi	23
1.6.2.	Floresansın Teorisi.....	24
1.6.3.	Floresans ve Elektronik Geçişler	27
1.6.4.	Floresansı Etkileyen Faktörler	27
1.6.5.	Spektrofluorometre	29
1.6.6.	Floresansa Dayalı Analitik Metotlar	30
1.6.6.1.	Floresans Sönümüne Dayanan Metotlar	31
1.7.	Kompleks Stokiyometrisinin Bulunması	33
1.8.	Kalibrasyon	36
1.8.1.	Dış Kalibrasyon Metodu	36
1.8.2.	Standart Ekleme Metodu.....	36
1.8.3.	İç Standart Ekleme Metodu	38
1.9.	Metot Validasyonu.....	38
1.9.1.	Gözlenebilme Sınırı	39
1.9.2.	Tayin Sınırı	39
1.9.3.	Doğrusal Aralık.....	39
1.9.4.	Duyarlık	39
1.9.5.	Doğruluk	40
1.9.6.	Keskinlik	40
1.9.7.	Uyarlık	40
1.9.8.	Özgünlük.....	41
1.9.9.	Güven Aralığı ve Güven Seviyesi.....	41
1.10.	Literatür Özeti.....	41
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	49
2.1.	Kullanılan Cihazlar	49
2.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	50
2.3.	Çözeltilerin Hazırlanması	50
2.3.1.	Metal Çözeltilerinin Hazırlanması.....	50
2.3.2.	Ligand Çözeltisinin Hazırlanması.....	51

2.4.	Başlangıç Maddelerinin Sentezi	51
2.4.1.	1-(2-Hidroksietil)4-piperidon etilen ketal (1) Sentezi	51
2.4.2.	4-Nitroftalimid Sentezi	51
2.4.3.	4-Nitroftalamid Sentezi.....	52
2.4.4.	4-Nitroftalonitril (2) Sentezi	52
2.4.5.	4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4.5]dek-8-il)etoksi]ftalonitril (3) Sentezi	52
2.5.	Ni-Pc Kompleksinin Sentezi.....	53
2.6.	Numunelerin Analize Hazırlanması.....	55
2.6.1.	Gıda Numunelerinin Analize Hazırlanması.....	55
2.6.2.	Demir İçeren İlaç Tabletlerinin Analize Hazırlanması.....	55
2.6.3.	Standart Referans Materyallerin Analize Hazırlanması	56
3.	BULGULAR.....	57
3.1.	Ligand Çözücüsünün Tespiti	57
3.2.	Spektrofotometrik Ölçümler	57
3.3.	Spektroflorimetrik Ölçümler.....	60
3.3.1.	Ligant Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	60
3.3.2.	Kemosensor Özelliğinin Belirlenmesi	60
3.3.3.	Seçimliliğinin Belirlenmesi.....	61
3.3.4.	Kompleks Oluşumunun Belirlenmesi	62
3.3.5.	pH'ın Etkisinin Belirlenmesi	63
3.3.6.	Kompleks Kararlılığının Zamanla Değişimi.....	64
3.4.	Önerilen Metot	64
3.5.	Metodun Optimizasyonu.....	65
3.6.	Metodun Validasyonu	67
3.6.1.	Çalışma Aralığının Belirlenmesi ve Lambert-Beer Kanunu.....	67
3.6.2.	Gözlenebilme Sınırı (GS) ve Tayin Sınırının (TS) Belirlenmesi.....	68
3.6.3.	Metodun Doğruluğunun Tespit Edilmesi.....	68
3.6.4.	Metodun Kesinliğinin Tespit Edilmesi	70
3.7.	Yabancı İyon Etkisinin Belirlenmesi	72
3.8.	Standart Referans Materyallerin Analizi	73
3.9.	Gerçek Numunelerin Analizi	73
4.	TARTIŞMA	75
5.	SONUÇLAR.....	89

6.	KAYNAKLAR	90
7.	EKLER.....	100

ÖZGEÇMİŞ

Doktora Tezi

ÖZET

NİKEL(II) FTALOSİYANİN KOMPLEKSİ KULLANILARAK DEMİR TAYİNİ İÇİN YENİ
BİR SPEKTROFLORİMETRİK METODUN GELİŞTİRİLMESİ

Yasemin ÇAĞLAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ümmühan OCAK
2014, 99 Sayfa, 7 Ek Sayfa

Bu çalışmada yeni bir 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksiftalosiyanimato nikel(II) bileşiği (Ni-Pc) ile direkt numune ortamında spektrofotometrik demir tayin yöntemi geliştirildi. Bu yöntem Fe(III) katyonunun Ni-Pc bileşiği ile metanol:su ortamında 1:1 floresent bir kompleks oluşturmasının ardından, artan Fe(III) konsantrasyonu varlığındaki floresans sönümlenmesine dayanmaktadır. Ni-Pc:Fe³⁺ kompleksi pH:5,0'da maksimum floresans şiddet göstermekte ve dördüncü dakikadan itibaren floresans cevabı kararlılığa ulaşmaktadır. Floresans ölçümler için kompleks 350 nm'de uyarılmış ve 360-560 nm'ler arası emisyon şiddetleri kaydedilmiştir. Yöntemin doğrusal aralığı 2,0 - 23 mg/L, gözlenebilir sınıırı 1,29 mg/L, tayin sınırı 3,88 mg/L olarak hesaplanmıştır. Önerilen metot modifiye bir standart ilave etme metodunu içermektedir. Bu metodun standart referans materyallerin analizi ile doğruluğu gösterildikten sonra nane, ıspanak, roka, semizotu, dereotu, mercimek, kurufasülye gibi gıdalarda ve iki farklı demir ilacı tabletinde demir analizi yapılmıştır. Bu ölçümlerin tümü için % BSS değerleri %4'ün altında bulunmuştur. Değirmendere Deresi Deliklitaş mevkiinden alınan dere suyu da numuneye ilave edilen demirin geri kazanımı ile analiz edilmiştir. 5 mg/L demir(III) ilavesi için % geri kazanım değeri 95,6 bulunmuştur. Ayrıca ligant ile Fe(III) arasındaki etkileşmenin ayrıntılı incelenebilmesi için Ni-Pc bileşiğinin Fe(III) kompleksi sentezlenmiştir. Kompleksin yapısı IR Spektrofotometrisi, Kütle Spektrometrisi ve iletkenlik ölçümü yöntemleri ile incelenmiştir. Bu çalışmalara dayanarak Ni-Pc'nin Fe(NO₃)₃ ile iyonik bir kompleks oluşturduğuna karar verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nikel ftalosiyanın, spektrofotometri, demir, standart ilave etme metodu.

PhD. Thesis

SUMMARY

A NOVEL SPECTROFLUORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF IRON WITH
NICKEL(II) PHTHALOCYANINE COMPOUND

Yasemin ÇAĞLAR

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Ümmühan OCAK
2014, 99 Pages, 7 Appendix Pages

In this work, the new spectrofluorimetric iron determination method that applied directly in the sample environment with a novel 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksiftalosiyanimato nikel(II) compound (Ni-Pc) have been developed. This method is based on the fluorescence quenching with increasing Fe(III) concentration after forming a 1:1 fluorescent complex of Fe(III) and the Ni-Pc in methanol and water. The Ni-Pc:Fe³⁺ complex show the maximum fluorescence intensity at pH:5,0 and the fluorescence response is to achieve stability from the fourth minutes. The complex has been excited at 350 nm and the emission intensities has been recorded from 360 nm to 560 nm for fluorescence measurements. The linear range, the values of limit of detection (LOD) and the values of limit of quantification have been calculated respectively as 2,0 - 23 mg/L, 1,29 mg/L and 3,88 mg/L. The proposed method contains a modified standard addition method. After the accuracy of the method shown with standard reference materials, the iron analyze has been performed in foods as mint, spinach, rocket, purslane, dill, lentil, haricot bean and two different iron tablets. The % RSS values of all analyzes were below 4%. The stream water sample taken from Değirmendere Deresi Deliklitaş locality has been analyzed by the recovery of iron that added in to sample. The % recovery value for 5 mg/L iron that added in to sample has been found as 95,6. Furthermore, the Ni-Pc:Fe³⁺ complex has been synthesized in order to examine the interaction between Fe(III) and Ni-Pc in detail. The structure of complex has been investigated with IR Spectrophotometry, Mass Spectrometry and conductivity measurement. It was concluded that an ionic complex between Ni-Pc and Fe(NO₃)₃ has been formed.

Key Words: Nickel phthalocyanine, spectrofluorimetry, iron, standard addition method,

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Hematit (a) ve manyetit (b) cevherleri	4
Şekil 2. 18-taç-6 bileşiğinin K^+ ile seçimli kompleksleşmesi	9
Şekil 3. Saksitoksinin kimyasal yapısı.	9
Şekil 4. Bazı floresent gruplar	11
Şekil 5. Metal katyonu ile ışına dayalı elektron transferindeki değişim	12
Şekil 6. PCT sensörlerindeki spektral kaymalar	13
Şekil 7. Metalli ve Metalsiz Ftalosiyeninler.....	15
Şekil 8. Ftalosiyeninleri elde etmek için kullanılan başlangıç bileşikleri	16
Şekil 9. Farklı çözücülerde (a) H_2Pc ; (b) $ZnPc$ nin UV-Vis. spektrumları	20
Şekil 10. Hidrojen molekül orbitallerinin hidrojen atom orbitallerinden oluşumu.....	22
Şekil 11. Molekül orbitalleri arasındaki elektron geçişleri	22
Şekil 12. Bir bardak Lignum nephriticum ve onun balon jodedeki floresent çözeltisi.....	23
Şekil 13. Absorpsiyon ve emisyon spektrumları arasındaki kayma.....	24
Şekil 14. Bir molekülün çeşitli spin halleri	25
Şekil 15. Jablonski diyagramı	25
Şekil 16. Floresans cihazının kısımları	29
Şekil 17. Floreseinin, iyodür iyonu varlığındaki floresans sönümlemesi	32
Şekil 18. Dinamik ve statik sönümler birarada iken Stern-Volmer grafiği.....	33
Şekil 19. Mol oranı metodunun grafik gösterimi	34
Şekil 20. Job metodu ile kompleks stokiometrisinin bulunması	36
Şekil 21. Standart ekleme metodu ile bilinmeyen numune derişiminin hesaplanması	37
Şekil 22. Bir metodun çeşitli validasyon parametrelerinin gösterimi	40
Şekil 23. 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksi]ftalonitril (3) bileşiğinin sentezi.....	53
Şekil 24. Ni-Pc bileşiğinin sentezi	54
Şekil 25. Ligandın Uv-Vis. absorpsiyon spektrumu ($[Ni-Pc]:5,0 \times 10^{-5}$)	57
Şekil 26. Ligandın Uv-Vis. absorpsiyon spektrumuna on katı konsantrasyondaki metal katyonlarının etkisi.....	58
Şekil 27. Artan Fe(III) konsantrasyonunun ligandın 350 nm'deki absorbansına etkisi.....	59

Şekil 28. Artan Fe(III) konsantrasyonunun 350 nm'deki absorbandsaki değişimi.....	59
Şekil 29. Metanol:su (1:1) ortamında $2,0 \times 10^{-6}$ M Ni-Pc bileşiğinin floresans spektrumu (Uyrama dalga boyu:350 nm)	60
Şekil 30. Ligandın floresans spektrumuna bazı katyonların 10 kat etkisi.....	61
Şekil 31. Ligandın 425 nm'deki floresans şiddetinin 10 kat metal konsantrasyonu varlığındaki floresans şiddetlerine oranı	62
Şekil 32. Job metodu ile ligant:metal stokiometrisinin belirlenmesi	63
Şekil 33. Ligant:metal 1:1 kompleksinin farklı pH'lardaki floresans şiddeti	63
Şekil 34. Ligant:metal 1:1 kompleksinin floresans şiddetinin zamanla değişimi	64
Şekil 35. Artan Fe(III) konsantrasyonuna karşı ligandın floresans şiddetindeki değişim ($[\text{Ni-Pc}] = 2,0 \times 10^{-6}$ M).....	65
Şekil 36. Ligandın 425 nm'deki floresans şiddetinin artan Fe(III) konsantrasyonu ile değişimi ($[\text{Ni-Pc}] = 2,0 \times 10^{-6}$ M)	66
Şekil 37. Fe(III)'ün tayini için belirlenen doğrusal aralık ve Lambert- Beer kanunundan sapma.....	68
Şekil 38. Ni-Pc ligandı ile roka numunesinde demir tayini için uygulanan standart ekleme metodu	80
Şekil 39. Roka numunesi için standart ekleme işleminde elde edilen tüplerdeki karışımların floresans spektrumları.....	81
Şekil 40. Uygulanan standart katma metodu ile roka numunesindeki demir (III) konsantrasyonunun hesaplanması	81
Şekil 41. Ni-Pc:Fe(III) etkileşimi ile ilgili Stern-Volmer grafiği.....	86
Şekil 42. Artan Fe(III) konsantrasyonu ile Ni-Pc bileşiğinin sönme etkinliğine sıcaklığın etkisi (a: 20 °C, b: 45 °C. $[\text{Ni-Pc}]:2,0 \times 10^{-6}$ M).....	87
Şekil 43. Ni-Pc:Fe(III) kompleksi için $1/[\text{Fe(III)}] F_0/(F_0-F)$ 'e karşı değişimi	87

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Ftalosiyaninlerin Genel Sentez Metotlarından Bazıları	17
Tablo 2. Job metodu için hazırlanan tüplerin içerikleri.....	35
Tablo 3. Katı numunelerin mikrodalga cihazı ile çözünürleştirilmesi için uygulanan program	55
Tablo 4. Tampon türü ve pH değişikçe spektrofotometrik demir tayinindeki %BSS değerleri (Numune: Tablet 1).....	67
Tablo 5. Sabit standart konsantrasyonu değişikçe spektrofotometrik demir tayinindeki %BSS değerleri (Numune: Tablet 1)	67
Tablo 6. Standart referans materyallerin önerilen metotla analizinden elde edilen sonuçların öğrenci t-testi (student's t-test) ile irdelenmesi	69
Tablo 7. Ticari ilaç tabletleri için akredite laboratuardan elde edilen sonuçlarla önerilen metottan elde edilen sonuçların öğrenci t-testi (student's t-test) ile karşılaştırılması	70
Tablo 8. Gıda numuneleri için akredite laboratuardan elde edilen sonuçlarla önerilen metottan elde edilen sonuçların öğrenci t-testi (student's t-test) ile karşılaştırılması	70
Tablo 9. Gün içi kesinlik değerleri	71
Tablo 10. Günler arasındaki kesinlik değerleri	71
Tablo 11. Demir tayini için yabancı iyonların tolerans konsantrasyonları	72
Tablo 12. Standart referans materyallerde demir tayini	73
Tablo 13. Ticari ilaç tabletlerinde demir tayini	73
Tablo 14. Sebze numunelerinde demir tayini.....	73
Tablo 15. Kuru baklagil numunelerinde demir tayini	74
Tablo 16. Dere suyunda demir tayini	74

KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ

A	: Absorbans
A°	: Angström
AES	: Atomik Emisyon Spektrometrisi
BSS	: Bağlı Standart Sapma
dak	: Dakika
DMAE	: 2-(dimetilamino)etanol
DMF	: N,N-dimetilformamid
DMSO	: Dimetil sülfoksit
E.n	: Erime Noktası
F	: Metal ile Etkileşmiş Ligandın Floresans Şiddeti
F ₀	: Ligandın Floresans Şiddeti
F.Ş	: Floresans şiddeti
g	: Gram
GS	: Gözlenebilme Sınırı
HEPES	: 2-[4-(2-hidroksietil)piperazin-1-il]etansülfonik asit
HOMO	: En Yüksek Enerjili Dolu Moleküler Orbital
IC	: İç Dönüşüm
ICP	: İndüktif Eşlemlmiş Plazma
IR	: Infrared Spektroskopisi
ISC	: Sistemler Arası Dönüşüm
IUPAC	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
L	: Ligand
LUMO	: En Düşük Enerjili Boş Moleküler Orbital
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
MS	: Kütle Spektroskopisi
nm	: Nanometre

Pc	: Ftalosiyenin
PcH ₂	: Metalsiz Ftalosiyenin
PcM	: Metalli Ftalosiyenin
PCT	: Işına Dayalı Yük Transferi
PET	: Işına Dayalı Elektron Transferi
ppb	: Milyarda Kısım
ppm	: Milyonda Kısım
s	: Saniye
THF	: Tetrahidrofuran
UV-Vis	: Ultraviyole-görünür Bölge Spektroskopisi
ZnPc	: Çinko Ftalosiyenin
X _{ORT}	: Deneysel Olarak Bulunan Değerlerin Ortalaması
¹³ C-NMR	: Karbon-13- Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
W	: Watt
<i>h</i>	: Planck Sabiti
cm ⁻¹	: Dalga sayısı
[M] ⁺	: Moleküler İyon Piki
°C	: Santigrat derece
δ _{ppm}	: Kimyasal Kayma Değeri
ε _{max}	: Maksimum Molar Absorptivite Katsayısı

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş ve Çalışmanın Amacı

Ağır metaller çevre kirliliğinin ana kaynaklarından biri olarak kabul edilir. Ağır metallerin asıl tehlikeleri canlı hücrelerde ve çevrede birikme özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Endüstriyel atıkların içerdiği ağır metaller toprakta birikir ve ekosistemi oldukça etkiler. İnsan aktiviteleri çevresel ağır metal kirliliğini artırıcı yöndedir [1]. Civanın toksik etkileri uzun yıllardır çok iyi bilinmesine rağmen civa ve bileşikleri endüstriyel uygulamalarda çokca kullanılır. Sürekli olarak inorganik civa tuzuna maruz kalmak insan vücudunun fizyolojik ve nörolojik sistemlerini etkiler. Diğer ağır metaller ile karşılaştırıldıklarında demir ve kobalt kısmen daha az toksiktirler; fakat belirli bir dozun üstündeki miktarları ciddi sağlık problemlerine yol açmaktadır. Alüminyum nörotoksik bir elementtir. Kadmiyum ve kurşunun ise çok az miktarları bile zehirlidir [2].

Metal iyonlarının seçici tayinleri ve miktarlarının belirlenmesi tıp, biyoloji, çevre, gıda bilimleri ve kimya gibi birçok alanda büyük bir öneme sahiptir. Bu amaç için uygun sensörlerin geliştirilmesi analitik kimyada oldukça önemli bir araştırma konusudur [3].

Literatürde sensörlerin farklı tanımları verilmiştir. Kimyasal bir bilgiyi faydalı bir analitik sinyale dönüştüren cihazlara sensör denir. Sensörler pek çok farklı şekilde sınıflandırılabilirler. Sinyal dönüştürme işleminin prensibi açısından fiziksel ve kimyasal sensörler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Pek çok optik kimyasal sensör absorpsiyon ve floresans metotlarını esas almıştır. Analit ile aynı absorpsiyona ve emisiyona sahip girişim yapan türler ihtimali olmadığı için floresans metal sensörler gelişmiş hassasiyet ve seçicilik sağlarlar [4, 5].

Spektroflorimetri metotları en hassas analitik metotlar arasındadır. Maddenin çözeltisi üzerine ışın enerjisi gönderilerek madde uyarılır. Uyarılan maddenin aldığı enerjiyi geri vererek ilk haline dönmesi esnasında davranışları incelenir. Bu inceleme sonucunda madde hakkında nitel ve nicel çok değerli bilgiler elde edilir. Madde üzerine gönderilen ışınlar, ultraviyole, görünür alan ve nadiren de infrared ışınlardır. Yayılan ışınlar genelde absorplanan ışıdan daha uzun dalga boyludur (daha düşük enerjilidir). Floresant maddelerin ışın yayma ömrü genel olarak 10^{-5} - 10^{-8} saniyedir. Floresansışıması

sadece madde üzerine ışın gönderildiği sürece görülür. Işın gönderilmesi durduğu anda floresans ışınması da durur.

Florosensörler analit ile etkileştiklerinde tespit edilebilen bir değişiklik gösteren moleküllerdir. Genel olarak katyon tayini için bir florosensör, ‘iyonofor’ ve ‘florofor’ olarak adlandırılan iki bileşen içerir. İyonofor seçici olarak katyon tanımadan sorumlu kısımdır. Taç eterler, kriptandlar ve kaliksarenler iyonofor olarak kullanılabilir çok çeşitli moleküllerden bazılarıdır. Florofor ise katyon tanımayı çeşitli işlemler vasıtası ile optik bir sinyale dönüştüren kısımdır. Katyon ve iyonofor arasındaki etkileşim sonucu floresans şiddeti artabilir veya azalabilir [6, 7].

Ftalosiyanimler kimyasal sensör geliştirmek için oldukça uygun maddelerdir [8]. Ftalosiyanimler uzun zamandan beri bilinen, yüksek konjugasyonlu düzlemsel 18- π elektronuna sahip 16 üyeli (8 karbon, 8 azot) sentetik makrosiklik bileşiklerdir. Metalsiz ftalosiyanimler ‘PcH₂’, metalli ftalosiyanimler ise ‘PcM’ formülleri ile gösterilir. Ftalosiyanimler, hemoglobin, klorofil ve B₁₂ vitamini gibi porfirinlere yapısal olarak benzemelerine rağmen, doğada mevcut değildirler. Ftalosiyanimler oldukça canlı renktedirler, yüksek karalılıktadırlar ve görünür bölgede güçlü $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine sahiptirler. Bu bileşiklerin özellikleri amaca göre değiştirilebilmekte ve bu sayede farklı kullanım alanları sağlanabilmektedir [9].

Önerilen bu tez çalışmasının amacı demir tayini için avantajlı yeni bir metot geliştirmektir. Bu amaca yönelik literatürdeki metotların çoğu çeşitli ayırma veya ön deriştirme basamakları içerir. Bu da analiz süresinin uzamasına sebep olur. Önerilen çalışmadaki ligant Fe²⁺ ve Fe³⁺ iyonları ile seçimli olarak etkileştiği için böyle bir ayırma basamağına ihtiyaç yoktur. Bu da tayin süresini kısaltır.

Bu tez çalışmasında ilk olarak periferik pozisyonlarda dört 1-(2-oksietil)-4-piperidon etilen ketal grupları taşıyan bir Ni-Pc kompleksi sentezlenmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda bu kompleksin incelenen bir seri geçiş metali katyonundan sadece Fe²⁺ ve Fe³⁺ iyonları ile etkileştiği gözlenmiştir. Bu gözleme dayanarak kompleksin çeşitli gıda örneklerindeki toplam demirin seçimli spektrofotometrik tayinine yönelik bir metot geliştirilmiştir.

1.2. Demir

1.2.1. Genel Bilgiler

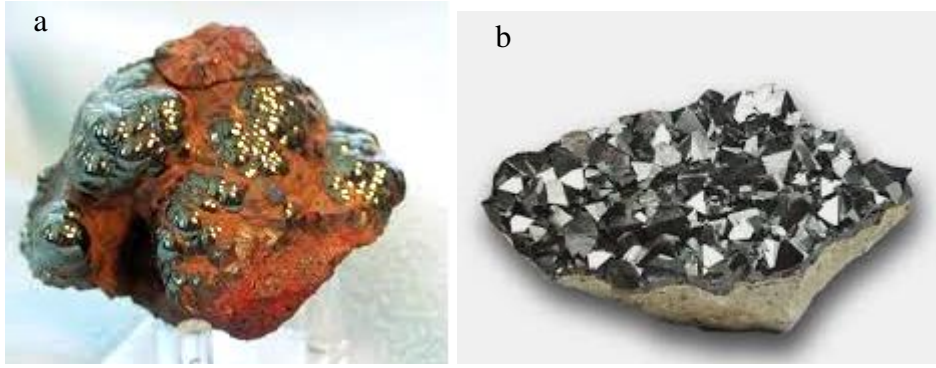
Demir modern endüstrinin temel hammaddesini oluşturmakta olup, bir toplumun gelişmişliğini gösteren temel taşlardan biridir. Yerkabuğunun %5,1'ini teşkil ederek, oksijen, silisyum ve alüminyumdan sonra en çok bulunan dördüncü element durumundadır. Yerkürenin merkezindeki sıvı çekirdeğin tek bir demir kristali olduğu düşünülmekle beraber, demir nikel alaşımı olma ihtimali daha yüksektir. Dünyanın merkezindeki yüksek demir kütlelerinin dünyanın manyetik alanına etki ettiği düşünülmektedir. Demir tüm *d*-metallerinin en yaygın kullanılanıdır ve biyolojik sistemlerde oldukça önemli bir role sahiptir. Pek çok protein ve enzimin ayrılmaz bir parçasıdır. Oksijen taşınmasında görevli proteinin temel bileşenidir. Bütün organizmalar için gerekli bir elementtir [10-12].

Demir metali demir cevherlerinden elde edilir ve kolayca oksitlendiğinden doğada nadiren elementel halde bulunur. Elementel demire dünyada üç yerde rastlanmaktadır. Atlas okyanusunun kuzeyinde, kuzey kutbundaki en büyük buz örtüsü ile kaplı, Danimarka'ya bağlı özerk bir bölge olan Grönland adasında Ovifaf'ta bazaltlar (bir tür volkanik kütle) içinde büyük kütleler halindeki demirin bileşiminde az miktarda karbon, kükürt ve nikel vardır. Amerika'nın Arizona eyaletinde bulunan demir içinde elmasa rastlanmaktadır. Son zamanlarda Yeni Zelanda da nikel ile karışık olarak elementel demir bulunmuştur. Zaman zaman düşen meteoritlerde de elementel demire rastlanmaktadır. Bu demirlerin bileşiminde %20'ye kadar çıkan nikel ve az miktarda krom, kobalt, silisyum ve fosfor bulunur [13].

Demir genellikle Fe^{2+} ve Fe^{3+} olmak üzere iki yükseltgenme basamağında bulunur. Çok değişik bileşikler halinde mevcut olan demirin başlıca cevherleri hematit (Fe_2O_3) ve magnetit (Fe_3O_4) oksitleridir. Magnetit, demir siyahı renginde, yağlı metal parlaklığında, porselen üzerinde siyah çizgi bırakan, kuvvetli manyetik özellik gösteren bir mineraldir. Saf halde %72 demir ihtiva eder. Hematit iki cins olarak tanınır. Birincisi spekulant ve diğeri kırmızı hematittir. Hematit deyince genellikle kırmızı hematit kastedilmektedir. Hematit %70 oranında demir içerir. Adını kan kırmızısı renginden dolayı Yunanca kan sözcüğünden alan hematit, zaman zaman boya maddesi olarak kullanılır [13, 14].

Demirin daha az oranda da limonit ($\text{Fe}_3\text{O}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) ve siderit (FeCO_3) cevherlerinden üretimi mümkün olabilmektedir. Limonit koyu kahveden sarıya kadar çeşitli renklerde mat, porselen üzerinde kahverengi-sarı, kahverengi bir çizgi bırakan bir mineraldir. Limonit filizi dünya demir üretiminde oldukça önemli bir yüzde oluşturur. Siderit ise sarımsı beyaz ve bezelye renginde, mat ve porselen üzerinde beyaz veya açık gri bir renk bırakan bir mineraldir. Siderit limonit ile birlikte bulunur ve %43 demir içerir. Siderit, çeşitli türlerde tortul kayalarda birleşme ya da kayaların kimyasal değişimleri sonucu oluşur [13].

Bir sülfür minerali olan pirit (FeS_2) de bol miktarda demir bulunmaktadır. Buna rağmen, kükürdün uzaklaştırılması güç olduğundan pirit pek kullanılmaz. Pirit elektriği iletir ve ısıtıldığında zayıf bir elektrik akım üretir. Sahip olduğu altın renginden dolayı çoğu zaman altınla karıştırıldığından 'aptal altını' olarak adlandırılır. Pirit sülfürik asit üretiminde kullanılır [13].



Şekil 1. Hematit (a) ve manyetit (b) cevherleri

Türkiye'de bugüne değin yaklaşık 900 adet demir oluşumu saptanmış, bunlardan ekonomik olabileceği düşünülen 500 kadarının etüdü yapılmıştır. Ülkemizde entegre demir-çelik fabrikalarında kullanılacak özellikteki demir cevheri rezervleri; Sivas-Erzincan-Malatya, Kayseri-Adana, Kırşehir-Kırıkkale-Ankara ve Balıkesir bölgelerinde yer almaktadır.

Demir yataklarımız genelde küçük ve orta boy yataklar kapsamı içine girebilir. Bu yatakların % 88'i çok küçük, %11'i küçük ve ancak %1'i orta büyüklükteki yataklar sınıfına girmektedir. Orta büyüklükteki yataklar, Divriği, Hekimhan-Hasançelebi ve Deveci ile Sakarya-Çamdağ demir yataklarıdır [15].

1.2.2. Kullanım Alanları

Demir tüm dünyada üretilen metallerin ağırlıkça %95'ini oluşturur. Düşük fiyatı ve yüksek mukavemet özelliklerinden dolayı demir ve bileşikleri endüstride yaygın bir kullanım alanına sahiptirler. Demir cevherleri esas olarak çelik üretiminde kullanılırlar. Çelikler çeşitli sertlikte, eğilme dayanımında ve çekilebilir özelliktedir. İçme suyu boruları için yapı materyali, otomotiv ve gemi gövdesi yapımı, gıda renklendiricisi, su arıtmada pelteleştirici, binaların yapısal bileşeni, plastiklerde ve boyalarda pigment, bilgisayarlarda manyetik depolama ünitelerinin yapımı diğer kullanım alanlarına örnektir [16].

Saf demir bağıl olarak eğilebilir ve dövülebilir özelliktedir. Fakat karbon atomları döküm demirini çok sert ve kırılğan yapar. Az miktar mekanik ve termal şoka maruz kalan demir dekoratif malzeme yapımında kullanılır [14].

1.2.3. Demir ve Yaşam

Demir biyolojik sistemlerde oldukça önemli bir role sahiptir. Özellikle 3+ yükseltgenme basamağındaki demir insan vücudu için gerekli bir elementtir. Hemoglobin, miyogloblin, stokrom gibi çoğu proteinin üretiminde ve oksijenin taşınmasında önemli bir rol oynar. Protein metabolizmasındaki enzimlere yardımcı olarak bakır ve kalsiyum etkinliğini artırır. İnce bağırsaklarda absorbe olarak karaciğer, dalak, kemik iliği ve kanda depolanır. Demir eksikliği hücrelere oksijen iletimini azaltarak yorgunluğa ve bağışıklık sisteminin zayıflamasına yol açar. Çocuklarda ve bebeklerde yaygın olarak gözlemlenen demir eksikliği kırmızı kan hücrelerinin sayısının azalmasına sebep olarak zihinsel gelişimi geciktirir.

Demir eksikliği bitkilerde kloroz denilen fizyolojik bir bozukluğa neden olur. Demir bitkide klorofil gibi önemli bileşiklerin yapı taşı oluşturur ve bunun bitkide yeterince bulunmaması kloroz (sarılık) oluşmasına neden olur. Kloroza yakalanmış ağaçlar hemen kurumaz ancak sarılık ve yaprak dökümü sonucunda asimilasyon alanı azalan bitkinin fizyolojik dengesi bozulur, gelişme yavaşlar, meyve verimi düşer ve kuruma görülür. Bu tüm dünyada önemli ve yaygın bir tarım problemidir.

Sağlıklı yetişkin bir kişinin vücudunda çoğu hemoglobin şeklinde toplam 4 g kadar demir bulunur. Her gün ter, dışkı ve saç ile 1 mg civarında demir kaybedilir. Bu sebeple, demir dengesinin korunması için mutlaka günlük kayıp karşılanmalıdır. Günlük alınması

gereken demir miktarı 19-50 yaşları arasındaki erkek ve kadınlar için sırası ile 8 ve 18 mg olarak tavsiye edilir.

Metal alımı aşırı yüksek olduğu zaman gerekli elementler de toksik etki yapabilirler. Demirin fazlası insanlar için zehirleyicidir. Aşırı miktarda alınan iki değerlikli demir vücuttaki peroksitlerle reaksiyona girerek serbest radikaller oluşturur. İnsan vücudu demirin emilimini çok sıkı kontrol eden bir mekanizmaya sahipse de vücuttan atılmasına ilişkin fizyolojik bir yetisi yoktur. Demir ve bileşiklerinin zehirli dozu depresyon, solunum güçlüğü, baygınlık, kasılma ve kalp krizi gibi ciddi sağlık problemlerine neden olabilir. Uzun süre yüksek dozda demir alımı şeker hastalığına, deride gri renk tonu oluşumuna ve karaciğer zehirlenmesine sebep olur [14, 17, 18, 19].

1.2.4. Demir Tayin Metotları

Biyolojik, çevresel ve endüstriyel alanlardaki önemli rollerinden dolayı demirin nicel olarak tayin edilmesi oldukça önemlidir. Bu amaç için spektrofotometri [20], atomik absorpsiyon spektroskopisi [21], ICP-MS [22], katodik sıyırma voltametrisi [23], elektrokimyasal analiz [11], polarografi [11], iyon kromatografisi [24], ve florimetri [25] gibi pek çok metot önerilmiştir.

Alev ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi demir tayin etmek için en çok kullanılan metotlardandır. Fakat bu metotlar maliyet ve rutin analizde kullanılan cihazlar bakımından dezavantajlara sahiptirler [26]. Demir analizi için önerilen voltametrik metotlar matriks girişimlerine yatkındırlar [27]. ICP VE ICP-AES/MS metotları ve oldukça hassas olan ekstraksiyon metotları zaman alıcı ve basit olmayan metotlardır [28, 29]. Spektrofotometri ve spektroflorimetri bahsedilen metotlar içinde basitliği, deneysel hızı ve geniş uygulama alanları bakımından en avantajlı metotlardandır [30].

Analitik tekniklerin başarısı düşük tayin limitine ve yüksek seçiciliklerine bağlıdır. Diğer önemli bir kriter ise kalibrasyon grafiğinin eğiminin yüksek olmasıdır. Başarılı bir teknik küçük miktardaki konsantrasyon değişikliklerine bile cevap vermelidir [6]. Spektroflorimetrisinin yüksek hassasiyet ve seçicilik özelliklerinden dolayı floresans ölçümüne dayalı analitik metotlar katyon tayini için oldukça başarılıdırlar. Floresans spektroskopisinin genel özellikleri arasında hassaslık, seçicilik, düşük maliyet, kolay bir teknik olması, hızlıca uygulanabilirlik, numuneyi tahrip etmemek ve çok bileşenli sistemlere uygulanabilirlik sayılabilir [31, 32].

Absorpsiyon spektroskopisinin aksine florimetri bir molekülün çeşitli özelliklerinin incelenmesine olanak sağlar. Maksimum pik pozisyonunun şekli, floresans yarı ömrü, floresans kuantum verimi ve floresans polarizasyonu bu özelliklerden bazılarıdır.

Florimetrik metotlar direkt florimetrik metotlar ve türetilmiş florimetrik metotlar olarak iki kısımda incelenir. Direkt florimetrik metotlar çözücü ve pH ayarlanmasının dışında herhangi bir ön işleme gerek duymaz. Standart bir spektrofluorimetre kullanılarak uygun bir dalga boyunda uyarılan numunenin floresans ışınması gözlenir. Bu yöntem ilaç, gıda, su, yağ analizlerinde, sağlık ve endüstri gibi pek çok alanlarda kullanılabilir.

Doğal olarak bütün moleküller floresans özellik göstermezler. Analitin yeterli floresans sinyal vermemesi durumunda türetilmiş florimetrik metotlar kullanılır. İlk olarak analit floresant bir ürün oluşacak şekilde uygun bir reaktif ile reaksiyona sokulur. Daha sonra floresans ölçümleri yapılır [4].

1.3. Sensörler

Sensörler pek çok alanda karşımıza çıkarlar. Civalı termometre mekanik, pH cam elektrot ise elektrokimyasal bir sensöre örnek olarak verilebilir. Bu tip sensörler için ideal olanı örneğe direkt uygulanabilmesi ve ölçüm sonucunun birkaç saniye içinde gözlenebilmesidir. Örnekleme, reaktif ekleme ya da seyreltme gerekmemelidir. Bu sensörlerin en belirgin özelliğidir, çünkü yukarıda belirtilen işlemler analitik uygulamaların hepsine hata getirir [33].

Artan çevre bilinci sensörlerin cazibesine önemli katkıda bulunmaktadır. Gıda üretim ve kontrol alanında, klinik laboratuvar uygulamalarında ve diğer pek çok rutin analizlerde çeşitli sensörlerin geliştirilmesine büyük bir çaba harcanmaktadır [34].

Literatürde sensörlerin farklı tanımları verilmiştir. Sensörlerin özellikleri ve gereksinimleri konusundaki müzakereler ise hala devam etmektedir. Sensörlerle ilgilenen IUPAC komisyonu tarafından sensör tanımı şu şekilde yapılmıştır: ‘Bir kimyasal sensör, özel numune bileşeninin konsantrasyonundan toplam bileşim analizine kadar uzanan kimyasal bir bilgiyi faydalı bir analitik sinyale dönüştüren cihazdır. Bahsedilen kimyasal bilgi analitin kimyasal reaksiyonundan ya da araştırılan sistemin fiziksel özelliğinden kaynaklanabilir. Sensör, ilave olarak örnekleme, örnek transferi, sinyal işleme ve veri işleme fonksiyonlarına sahip olmalıdır’.

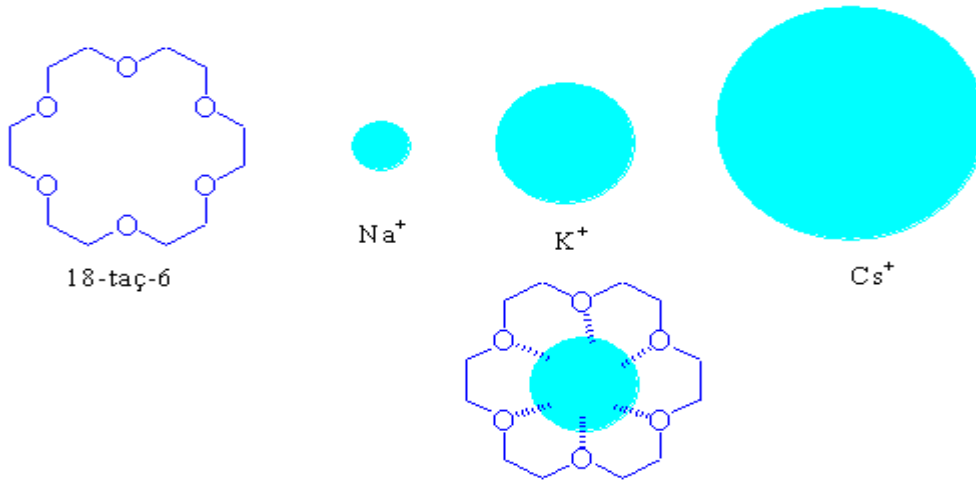
Sensörler pek çok farklı şekilde sınıflandırılabilirler. Sinyal dönüştürme işleminin prensibi açısından fiziksel ve kimyasal sensörler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Bu ana gruplar da optik, elektrokimyasal, manyetik alan gibi alt gruplara bölünebilir. Kullanım alanlarına göre sensörler klinik, çevresel ve endüstriyel olarak üç gruba ayrılabilirler. Ayrıca sensörleri boyutları açısından sınıflandırmak da diğer bir bakış açıdır [33].

1.3.1. Moleküler Sensörler

Analit ile etkileştiklerinde tespit edilebilen bir değişiklik gösteren moleküllere ‘moleküler sensörler’ denir. Bu değişiklikler genellikle spektroskopik olarak incelenebilen değişikliklerdir. Sensörün analitle etkileşmesi sensörün spektroskopik özelliklerini değiştirir. Mesela sensör floresans özelliği gösteren bir molekül ise bu özelliği azalabilir, artabilir veya kaybolabilir. Bu değişimin incelenmesinden analitin tayini yapılabilir.

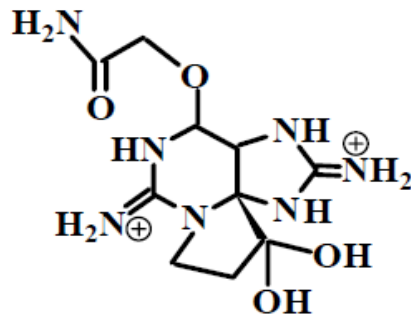
Moleküler sensörlere örnek olarak taç eterler verilebilir. Taç eterlerin literatüre girişi ilginçtir. Pedersen, 1967’de yaptığı bir çalışma sırasında tesadüfen bu tip bileşiklerin ilk örneğini reaksiyon karışımından izole etmiş ve yapısını aydınlatmıştır. Pedersen, yaptığı bu çalışmada istenilen ürün bis(fenol) bileşiğinin yanında yan ürün olarak dibenzo-18-taç-6 bileşiğinin elde edildiğini belirtmiştir. Taç eterler tesadüfi bir şekilde keşfedilmiştir, fakat hemen sonrasında polieterlerin 1. grup katyonların varlığında beklenmedik özellikler gösterdiği fark edilmiştir.

Taç eterler Na^+ , K^+ gibi iyonları koordine edebilen moleküllerdir. Halka içerisindeki boşlukların büyüklüklerine bağlı olarak seçici bağlama yapabilmeleri kimyasal açıdan çok önemlidir. Örnek olarak 18-taç-6, K^+ katyonunu çok iyi tuttuğu halde Na^+ katyonu boşluk için küçük, Cs^+ katyonu ise büyük gelmektedir (Şekil 2) [35, 36].



Şekil 2. 18-taç-6 bileşiğinin K⁺ ile seçimli kompleksleşmesi

Saksitoksin deniz canlılarından elde edilen nörotoksik bir madde olup kimyasal silah yapımında kullanılmaktadır. Saksitoksinin tespiti ve nicel tayini bu nedenle çok önemlidir. Saksitoksin bir bis(guanidinyum) iyonudur (Şekil 3) ve guanidinyumların taç eterlere bağlanabilmeleri nedeni ile antrasen ile modifiye olmuş iki taç eterin floresans sinyalleri test edilmiştir. Aminometilantrasenler serbest ligant olarak düşük ışın yayarlar. Çünkü azot atomunun ortaklanmamış elektronlarından uyarılmış basamaktaki florofora elektron transferi olur. Bu da floresans şiddetini azaltır. Ortaklanmamış elektronların bir protona bağlanmaları antrasenin floresans şiddetinde artışa neden olur. Bu durum saksitoksin için şu şekilde açıklanmıştır: Saksitoksin sahip olduğu yedi hidrojen atomundan birini taç eter halkasındaki benzilik azot atomlarından birine vererek antresenin floresansını sağlamaktadır [37].



Şekil 3. Saksitoksinin kimyasal yapısı [37]

Bir kemosensör reseptör ve raportör denen iki kısımdan oluşur. Reseptör denen birinci kısım analite bağlanma fonksiyonunu gerçekleştirdiği için moleküler sensörün seçiciliğinden sorumludur. Raportör denen ikinci kısım analit ve sensör etkileşiminin tespit edilebilir bir sinyale dönüşmesinden sorumludur [38]. Kemosensörler raportörün çalışma prensibi açısından şu şekilde sınıflandırılırlar [39]:

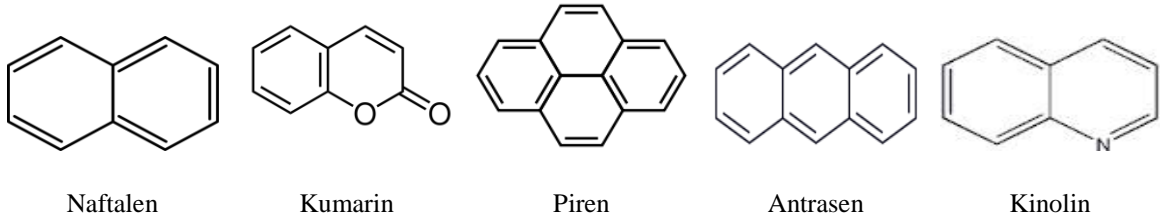
1. Optik kimyasal sensörler.
2. Elektrokimyasal sensörler.
3. Kütle hassasiyetli kimyasal sensörler.
4. Magnetik kimyasal sensörler.
5. Termometrik kimyasal sensörler.
6. Elektriksel kimyasal sensörler.
7. Diğer fiziksel özellikleri kullanan kimyasal sensörler.

Reseptörün analit ile etkileşmesi sonucunda optik olgularda meydana gelen değişiklikleri inceleyen kimyasal sensörler optik kimyasal sensörlerdir. Bu optik olgular absorpsiyon, reflektans, luminesans, floresans, kırma indeksi, ışık saçılması vs. şeklinde sıralanabilir. Pek çok kimyasal sensör absorpsiyon ve floresans metodlarını esas almıştır [39].

1.3.2. Floresant Moleküler Sensörler

İyon bağlama özelliği gösteren moleküllere ‘iyonofor’ maddeler denir. Eğer bir iyonofora floresans grubu dahil edilirse oluşan bileşik ‘floroyonofor’ olarak isimlendirilir. Katyon ya da anyonun moleküle bağlanması üzerinden floresans özellik gösteren grubun floresans özelliklerindeki değişimin takibi ile kompleks oluşumunun incelenmesi mümkündür. Bu anlamda floroyonoforlar iyon tayinlerinde kullanılabilen floresant moleküler sensörler olarak düşünülebilir. Makrosiklik bileşikler bu moleküler sensörlerin iyon bağlayıcı kısımlarını oluşturur [40].

Floresans özellik taşıyan bazı bileşik sınıfları floroyonoforların yapısında sinyal üretici olarak kullanılır. Bu türden bileşikler genellikle konjuge çifte bağ taşıyan organik bileşiklerdir. Bunlara örnek olarak piren, antrasen, naftalen, kinolin ve kumarin gibi bileşikler verilebilir (Şekil 4). Bu bileşiklerin çeşitli substitüe olmuş halleri makrohalkalara bağlandığında floresant sensörler elde edilir.



Şekil 4. Bazı floresent gruplar

Çeşitli şekillerde floroionoforlar oluşabilir. Bu oluşumlarda floresent sinyal üretici kısım ionofora bir ara kısım ile bağlanabileceği gibi direkt bağlanma da gerçekleşebilir [34].

1.3.3. Katyon Bağlayıcı Floresent Sensörler

Katyon bağlayıcı floresent sensörler çevresel ve biyolojik örneklerdeki metal konsantrasyonlarını ölçmek için kullanılacak mükemmel maddelerdir. Floresensör ve katyon arasındaki doğrusal ilişki nicel ölçümün temelidir [41].

Katyon bağlayıcı floresans sensörlerin oluşumunda katyon bağlayıcı ve sinyal üretici kısımlar çok önemlidir. Floroionoforun katyon bağlayıcı kısmı ligandın yapısına, katyon özelliklerine (iyon çapı, yükü, koordinasyon sayısı, sertliği gibi) ve çözücünün türüne göre katyon bağlanmasının seçiciliğinden ve kuvvetinden sorumludur. Bu durum supramoleküler kimya alanı ile ilişkilidir. Sinyal üretici kısım ise katyon bağlanmasını floroforun fotofiziksel özelliğinde bir değişiklik olarak ifade eden optik bir sinyale dönüştürür. Bu durum da fotofizikle ilişkilidir [34].

1.3.4. Katyon Bağlayıcı Floresent Sensörlerin Çalışma Mekanizmaları

Katyon bağlayıcı floresent sensörlerin çalışma mekanizmalarını ışına dayalı işlemlerin yapısına göre 3 başlık altına inceleyebiliriz [6]:

1. Işına dayalı elektron transferi (PET).
2. Işına dayalı yük transferi (PCT).
3. Uyarılmış dimer (excimer) oluşumu.

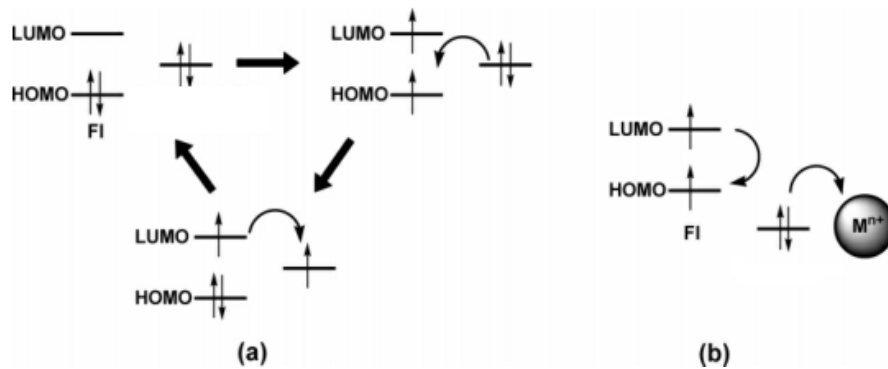
1.3.4.1. Işına Dayalı Elektron Transferi (PET)

Bir maddenin absorpladığı ışın enerjisinin hiç değilse bir kısmını yeniden ışın enerjisi halinde vermesi olayına ‘ışın yayma’, ‘ışırma’ veya ‘emisyon’ denir. Işın yayma uyarılan bir moleküldeki bir elektronun molekülün HOMO orbitalinden LUMO orbitaline geçmesini takiben gerçekleşir. Etkili bir ışın yayma gözlenirse bu molekül florofor olarak isimlendirilir. Genellikle yayılan ışının enerjisi uyarılan ışının enerjisinden daha düşüktür [42].

Sensörün katyon bağlayıcı kısmının elektron donör, sinyal üretici kısmının ise elektron akseptör olarak davrandığı sistemlerde ışına dayalı elektron transferi bir katyon tarafından kontrol edilir.

Bir floroionofora katyon bağlanmadan önce sensörün florofor kısmı ışınla uyarıldığında HOMO orbitalindeki bir elektron LUMO orbitaline geçer. Bu durumda reseptör kısmındaki donör atomun HOMO orbitalinden floroforun HOMO orbitaline bir elektron aktarılır. Artık floroforun HOMO orbitalindeki elektron eşleşmiş olduğu için bu durumda floresans ışınmasına sebep olacak olan LUMO orbitalinden HOMO orbitaline elektron aktarılması mümkün olmaz. Bu duruma floresans sönümü (quenching) denir [43].

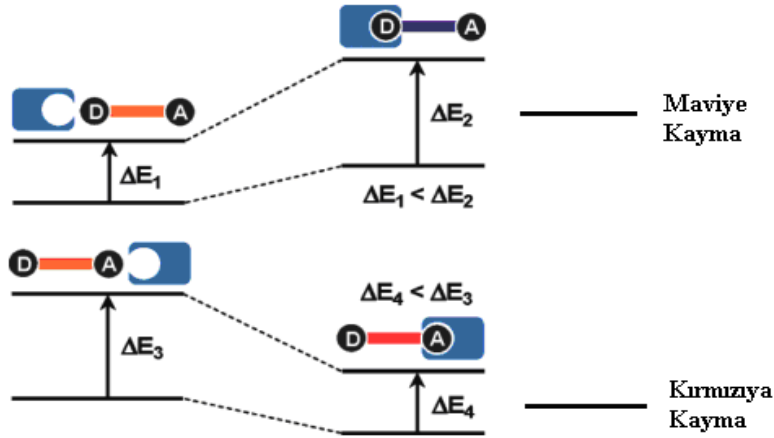
Sensörün reseptör kısmına bir katyon bağlandığında donör atomun redoks potansiyeli artar. Bu durumda donör atomun HOMO orbitali floroforun HOMO orbitalinden daha düşük enerjili olur ve bu iki orbital arasındaki elektron geçişi mümkün olmaz. Artık floroforun LUMO orbitalinden HOMO orbitaline elektron geçişi gerçekleşebilir. Sonuç olarak PET mekanizması engellendiği için floresans ışınmasının önünde bir engel kalmaz. Bu duruma anti-PET mekanizması denir [44 - 46].



Şekil 5. Metal katyonu ile ışına dayalı elektron transferindeki değişim [7]

1.3.4.2. Işına Dayalı Yük Transferi (PCT)

PCT sensörlerde katyon bağlanması sonucu sensörün floresans şiddeti azalabilir veya artabilir. Genellikle PCT mekanizması ile floresans artışı anti-PET mekanizması ile olan kadar fazla değildir. PCT sensörlerin PET sensörlerden temel farkı, katyon bağlanması sonucu PCT sensörlerin floresans spektrumlarında kayma gözlenmesidir.



Şekil 6. PCT sensörlerindeki spektral kaymalar [7]

Bu sensörlerde florofor kısım elektron verici ve elektron alıcı kısımları aynı anda içerir. Işınla etkileşme durumunda bu kısımlar arasında molekül içi yük aktarımı gerçekleşir. Bu kısımlardan birinin bir katyonla etkileşmesi sonucunda floroforun kuvantum verimi ve yarı ömrü gibi fotofiziksel özellikleri değişir. Fotofiziksel özelliklerdeki bu değişimler katyonun yükü ve yarıçapına bağlıdır [47, 48].

Floroforun elektron veren kısmı katyonla etkileştiğinde bu grubun elektron verme karakteri azalır ve yük transferi için daha çok enerjiye ihtiyaç duyulur. Bu durum 'maviye kayma' olarak adlandırılır. Aksine floroforun elektron alıcı kısmı katyonla etkileştiğinde, katyon da elektron alıcı özellik gösterdiği için bu kısmın elektron çekme karakteri artar. Sonuç olarak molekül içi yük aktarımı için daha az enerjiye ihtiyaç duyulur. Bu durum ise 'kırmızıya kayma' olarak adlandırılır [49, 50].

1.3.4.3. Uyarılmış Dimer Oluşumu

Zayıf etkileşimde bulunan aromatik halkalar söz konusu olduğunda uyarılmış dimer oluşumundan bahsedilebilir. Aromatik halkalar van der Waals etkileşim mesafesinde ise halkalardan birinin uyarılması onun komşusu ile olan etkileşiminin artmasına neden olur ve bu durum uyarılmış dimer oluşumu ile sonuçlanır. Uyarılmış bir floroforun temel haldeki diğer bir floroforla etkileşimi sonucu oluşan bileşiğe ‘uyarılmış dimer’ denir [51]. Monomer florofor emisyonu ile karşılaştırıldığında uyarılmış dimer emisyonu daha uzun dalga boyunda yayvan görünümlü bir uyarılmış dimer bandı oluşturur [52-55].

Uyarılmış halde kalma süreleri uzun olan floroforların oluşturduğu uyarılmış dimer yapıları daha uzun ömürlüdür. Viskoz çözücülerin uyarılmış dimer oluşumunu engellemesi önemli bir husustur [56-59]

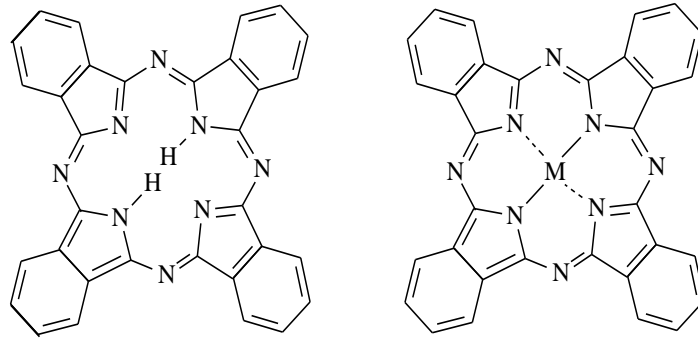
Uyarılmış florofor temel hale dönerse dimeri oluşturan monomerler birbirlerini iterler. Bir arada bulunan florofor gruplarının birbirlerinden ayrılması ve bu grupların yönelimleri metal iyonlarının koordinasyonları ile kontrol edilir. Bunun için monomer floresansının uyarılmış dimer floresansına oranından faydalanılır [60-63].

1.4. Ftalosiyaninler

Ftalosiyaninler kimyasal sensör geliştirmek için oldukça uygun maddelerdir. Ftalosiyanin kelimesi yunanca nafta (kaya yağı) ve siyanin (koyu mavi) terimlerinden türetilmiştir. Ftalosiyaninler dört tane pirol türevinin azo-metin bağlarıyla birbirine bağlanmasıyla oluşan 18- π elektron sistemine sahip makrosiklik bileşiklerdir. Renkleri maviden sarımsı yeşile kadar değişebilen ftalosiyaninler (Pc), yapısal olarak porfirinlerle benzer olmalarına rağmen porfirinler gibi doğal olarak bulunmazlar [64].

Ftalosiyaninler, ilk kez 1907 yılında Braun ve Tcherniac tarafından South Metropolitan Gaz Company (Londra)’da, yüksek sıcaklıkta ftalimid ve asetik anhidritten o-siyanobenzenamid reaksiyonu sonucu yan ürün olarak tesadüfen koyu renkli çözünmeyen bir yan ürün olarak elde edilmişlerdir (Şekil 7). Benzer şekilde de Diesbach ve Von der Weid 1927’de Fribourg üniversitesinde o-dibromobenzen’in bakır siyanür ile piridin içerisinde 200 °C’de ısıtılması ile mavi renkli bir ürün olan ftalosiyanin bileşiğini %23 verimle elde etmişlerdir. Fakat yapısını aydınlatamamışlardır [65].

1929'dan 1933'e kadar Londra üniversitesinde Linstead ve çalışma arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalar sonucu bu bileşiklerin yapıları aydınlatılmıştır. Linstead metallsiz ftalosiyanın yapısını elementel analiz, kütle ve oksidatif bozunma sonuçlarını değerlendirerek aydınlatmıştır. Ayrıca Linstead yaptığı araştırmalar ile ftalosiyanın dört izoiminoindolin biriminden oluşan simetrik bir makro halka olduğunu ve kavitesine değişik metal iyonlarını alabildiğini göstermiştir. Önerdiği bu yapının doğruluğunu ise X-ışını kırınım tekniğini kullanarak kanıtlamıştır. 1930 ile 1940 yılları arasında ise çok sayıda metalli ftalosiyanın sentezlenmiştir. Günümüzde ise hem ülkemizde hem de dünyada ftalosiyanın sentezi, yapısal karakterizasyonu ve kullanım alanları önemli bir çalışma alanı oluşturmuştur [66]. Aynı zamanda Linstead ftalosiyanın doğal olarak bulunan porfirin halka sistemi ile oldukça yakından ilişkili olduğunu ve aralarındaki farkın dört benzo süstitüentten ve dört mezo pozisyonun her birindeki azot atomlarından ileri geldiğini göstermiştir. Gerçekten de bazı kaynaklarda ftalosiyanın tanımlanırken çok sık olmamasına karşın tetrabenzotetraazaporfirin şeklinde tanımlanmıştır. Ftalosiyanın düzlemsel makro moleküller olmakla beraber, konjuge π elektronlarının yapıda simetrik olarak dağılmasından dolayı aromatik özellik gösteriyor kabul edilirler [67].

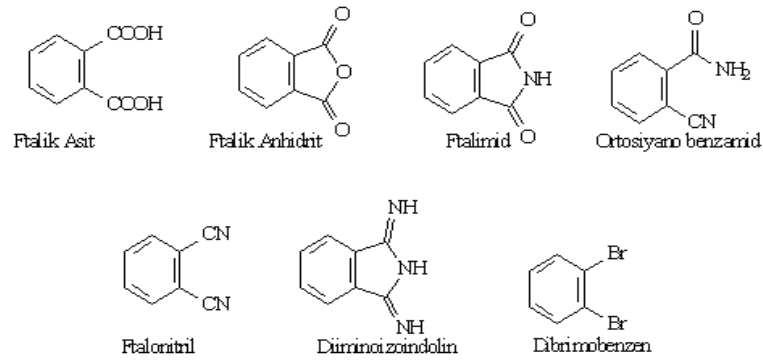


Şekil 7. Metallsiz ve Metalli Ftalosiyaninler

Ftalosiyaninler (Pc), 18- π elektron sistemli düzlemsel makro halkalardır ve dört iminoizindolin biriminin kondenzasyonundan meydana gelirler (Şekil 7). Ftalosiyanin ligandı metallerin hemen hepsiyle koordine edilebilir [68].

1.4.1. Ftalosiyanın Genel Sentez Metotları

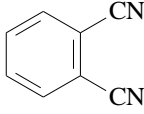
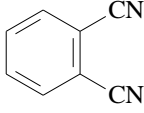
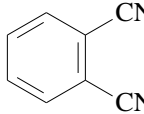
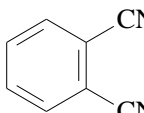
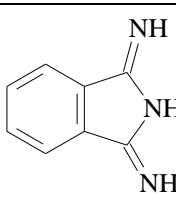
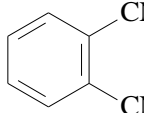
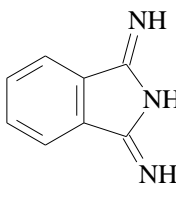
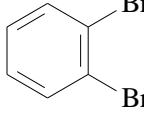
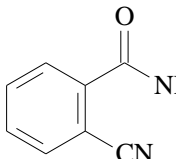
Ftalosiyanimler, aromatik o-dikarbosiklik asit türevleri (ftalik asitler, ftalonitriller, ftalik anhidritler, ftalimidler, diiminoizindolinler) (Şekil 8) ile o-siyanobenzamidlerin birlikte, yüksek kaynama noktasına sahip bir çözücü içinde veya doğrudan ısıtılmasıyla elde edilirler. Ftalosiyanimlerin periyodik tablodaki hemen her metalle kompleksleri sentezlenebilir [69]. Örneğin bir metal tuzu varlığında ve genellikle yüksek kaynama noktasına sahip bir çözücü içerisinde kullanılan metalin ftalosiyanim türevi elde edilir [70].



Şekil 8. Ftalosiyanimleri elde etmek için kullanılan başlangıç bileşikleri

Ftalosiyanim bileşiklerinin genel sentez metotlarından bazı örnekler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Ftalosiyeninlerin genel sentez metotlarından bazıları

Metot 1	 $\xrightarrow{\text{Baz, } \Delta}$ H_2Pc
Metot 2	 $\xrightarrow{\text{Li(Na,Mg),Alkol, } \Delta}$ H_2Pc
Metot 3	 $\xrightarrow{\text{Hidrokinon, } \Delta}$ H_2Pc
Metot 4	 $\xrightarrow{\text{Metal yada Metal tuzu, } \Delta}$ H_2Pc
Metot 5	 $\xrightarrow{\text{DMAE, } \Delta}$ H_2Pc
Metot 6	 $\xrightarrow{\text{Metal tuzu, } \text{çözücü, } \Delta}$ MPc
Metot 7	Daha önce sentezlenen ftalosiyeninlerin modifikasyonu ile ftalosiyeninlerin sentezi
Metot 8	 $\xrightarrow{\text{Metal tuzu, DMAE, } \Delta}$ MPc
Metot 9	 $\xrightarrow{\text{CuCN, } \Delta}$ CuPc
Metot 10	 $\xrightarrow{\text{DMAE, } \Delta}$ H_2Pc
Metot 11	H_2Pc $\xrightarrow{\text{Metal yada Metal tuzu, } \Delta}$ MPc
Metot 12	M_1Pc $\xrightarrow{\text{Metal yada Metal tuzu, } \Delta}$ M_2Pc

1.4.2. Ftalosiyeninlerin Fiziksel Özellikleri

Dört izoiminoindolin çekirdeğinden oluşan ftalosiyenin molekülü oldukça gergin bir yapıdadır. Metalli ftalosiyeninlerin elde edilmesi sırasında ortamda bulunan metal iyonunun template etkisi ürün veriminin yükselmesini sağlar. Bundan dolayı metallsiz ftalosiyeninlerin elde edilmesinde ürün verimi metal içeren ftalosiyenlere göre daha düşüktür. Ftalosiyenin molekülünün merkezini oluşturan, izoiminoindolin hidrojen atomları metal iyonu ile kolaylıkla yer değiştirerek metal içeren ftalosiyenin oluşumunu destekler. Ftalosiyenin kimyasal özellikleri merkez atomuna ve süstitüentlerine bağlıdır [71].

Ftalosiyeninlerin en önemli iki özelliği yüksek termal kimyasal kararlılığa ve keskin renge sahip olmalarıdır. Ftalosiyeninlerin çoğunun rengi bağlı olan grubun özelliğine, materyalin kimyasal ve kristal yapısına bağlı olarak koyu maviden bronz yeşile kadar çok çeşitlilik göstermektedir. İlk sentezlenen bakır ftalosiyenin mavi renkli olmasına karşın merkez halkaya süstitüe olmuş klor atomlarının sayısının artması ile oluşan ftalosiyenin rengi yeşile doğru değişebilmektedir.

Ftalosiyeninlerin çoğunun erime noktası yoktur. Ftalosiyeninler 500 °C'nin üstünde ve yüksek vakum altında buharlaşır ve süblimleşir. Fakat bazı ftalosiyeninler vakum altında 900 °C' de dahi kararlıdırlar.

Ftalosiyeninlerin üretim şekline göre birçok kristal yapısı gözlenmiştir [71]. En önemli iki kristal yapısı, α -formu ve termodinamik olarak daha kararlı olan β -formudur. β -formunda metal atomu oktahedral bir yapıya sahiptir. α -Formu ise daha sık bir şekilde üst üste istiflenmiş ftalosiyenin moleküllerinden oluşmaktadır. 200 °C' nin üzerinde ısıtma ile α -formu, daha kararlı olan β -formuna dönüşür. Metallsiz ve düzlemsel metaloftalosiyeninlerde görülen diğer bir kristal yapısı da x-formudur. α -formunun öğütülmesiyle elde edilen H₂Pc'nin x-formu, optoelektronik uygulamaların fotoduyarlılığını arttırmasından ve infrared bölgesinde kuvvetli absorpsiyonu olmasından dolayı ilginç bulunmuştur [72].

1.4.3. Ftalosiyeninlerin Kimyasal Özellikleri

Ftalosiyeninlerin kimyasal özellikleri genellikle merkez atoma bağlı olarak değişir. Metal ftalosiyeninlerin bazı özellikleri ile birbirinden ayrılan iki çeşidi vardır. Birinci çeşit

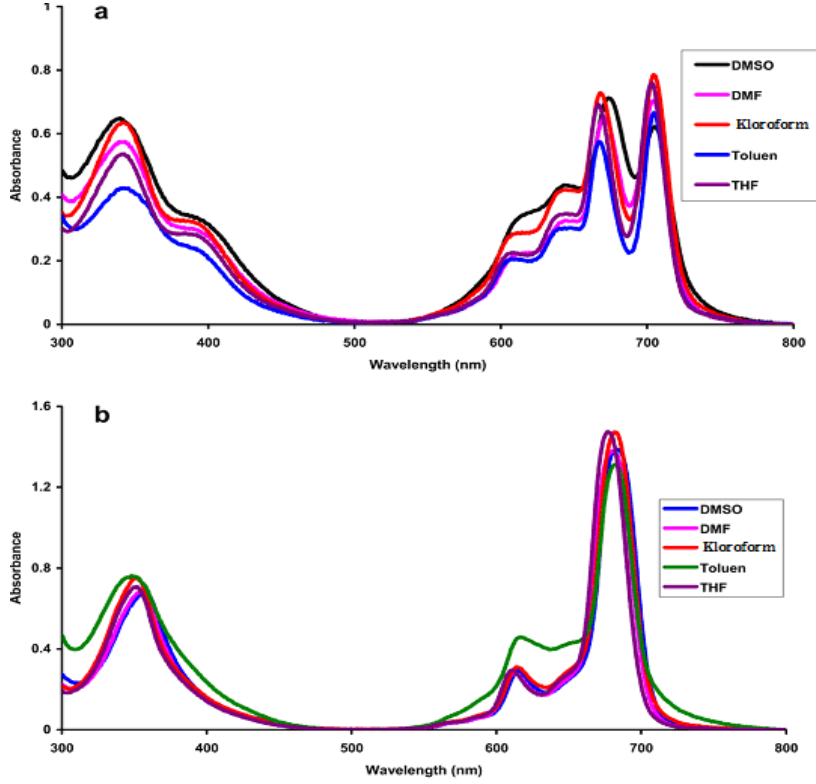
ftalosiyanimler alkali ve toprak alkali metalleri içerip organik çözücülerde çözünmezler, vakumda yüksek sıcaklıkta süblime olmazlar, asitlerle kolayca metalsiz ftalosiyanimlere dönüşebilirler. İkinci çeşit ftalosiyanimler ise kloronaftalin, kinolin gibi çözücülerde kısmi olarak çözünürler. Bu ftalosiyanimler vakumda asitlere karşı oldukça dayanıklıdır.

Ftalosiyanimlerin kararlılığı merkez kavitenin çapı ile metal atomunun atomik çapının uygun olmasına bağlıdır. Ftalosiyanimlerin merkez kavitesinin çapı $1,35 \text{ \AA}$ 'dır. Metallerin atomik çapları bu değerden önemli düzeyde büyük veya küçük olduğu zaman metal atomları ftalosiyaniminden kolaylıkla ayrılabilir [73].

1.4.4. Ftalosiyanimlerin Spektral Özellikleri

1.4.4.1. Absorpsiyon Spektrumları

Ftalosiyanim bileşikleri, görünür ışığı absorpladıklarından renkli maddeler olup çoğunlukla mavi ve yeşil renklere görünürler ve ultraviyole bölgede karakteristik absorpsiyon bandları verirler. Organik çözücülerde 10^{-4} - 10^{-5} M derişimlerde yapılan hesaplamalar neticesindeki ölçümlerde, 600 - 700 nm aralığında Q bandı olarak bilinen şiddetli $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerinin olduğu görülmektedir. Bu bölge, metalli ve metalsiz ftalosiyanimlerin de ayırt edilmesinde kullanılan karakteristik bir bölgedir. Metalli ftalosiyanimler 600 - 700 nm aralığında tek bir band oluştururken, metalsiz ftalosiyanimler bu bölgede iki eşit band oluştururlar. Q bandındaki $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerinin şiddeti metal iyonuna göre de farklılık gösterebilir. 600 nm civarında gözlenen bandlar Q bandının titreşim tonlarıyla meydana gelir. Metalli ftalosiyanimlerin kloroform, DMSO gibi çözücüler içinde alınan spektrumları genellikle 675 - 710 nm aralığında kuvvetli bir bant, yaklaşık 610 nm'de zayıf bir bant ve yaklaşık 640 nm'de omuz şeklinde kendini gösterir. 320 - 400 nm aralığında gözlenen $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri, ftalosiyanim bileşiklerinin karakteristik renklerinden kaynaklanan banttır ve B (Soret) bandı olarak isimlendirilir. Spektroskopik sonuçlar, kullanılan çözücünün polaritesi ve derişimine göre de farklılıklar gösterebilir. Çözücü derişiminin 10^{-5} M ve daha düşük olduğu durumlarda 675 - 710 nm civarında gözlenen bandın şiddeti azalırken, derişimin artması agregasyona neden olacağından 600 nm civarında gözlenen bandın şiddeti artar. Çözücü polaritesinin artışı 680 nm civarında gözlenen Q bandının şiddetini azaltırken, meydana gelen agregasyonla 640 nm civarında gözlenen omuz şeklindeki bandın şiddetini artırmaktadır (Şekil 9) [74].



Şekil 9. Farklı çözücülerde (a) H₂Pc; (b) ZnPc nin UV-Vis. spektrumları

1.4.4.2. IR Spektrumları

Ftalosiyanın bileşiklerinin IR spektrumları, gözlenen titreşim bantlarının fazlalığı ve makrosiklik yapının büyüklüğünden dolayı yorumlanmalarını zorlaştırır. Metalli ve metallsiz ftalosiyanın IR spektrumları çok benzer olmasına karşın, metallsiz ftalosiyanın 3280 cm⁻¹'de zayıf bir (-NH) titreşim bandının gözlenmesi önemli bir fark olarak gösterilebilir. Farklı metalli ftalosiyanın bileşiklerinin IR spektrumlarında gözlenen fark, aynı metalli ftalosiyanın bileşiklerinin α - ve β - yapıları arasında gözlenen farktan çok değildir.

1.4.5. Ftalosiyanın Uygulama Alanları

İlk olarak ftalosiyanın sadece boyar madde olarak kullanılmalarına karşın, son zamanlarda endüstrinin farklı alanlarında ve tıbbi alanda çok geniş kullanım alanları bulmuştur. Ftalosiyanın kullanımında kaliteli ürün olmaları üç faktöre dayanmaktadır.

Bunlar parlak mavi-yeşil renklere sahip olmaları, olağanüstü kimyasal kararlılıkları ve ışığa karşı oldukça dayanıklı olmalarıdır.

Ftalosiyanınların uygulama alanları olarak boyar madde, katalizör, fotodinamik terapi, optik veri depolama, kimyasal sensör yapımı, sıvı kristal, elektrokromik görüntüleme ve nükleer kimya alanlarını sayabiliriz [75-80].

1.5. Ultraviyole-Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopisi

Ultraviyole-görünür alan moleküler absorpsiyon spektroskopisi yapı tayininde, nitel ve nicel analizde çok kullanılan bir metottür. Bu metot maddenin yapısındaki elektronik geçişlerle ilgilidir.

Ultraviyole ve görünür alanlarda ışın absorplayan bir madde önce uyarılmış hale gelir.

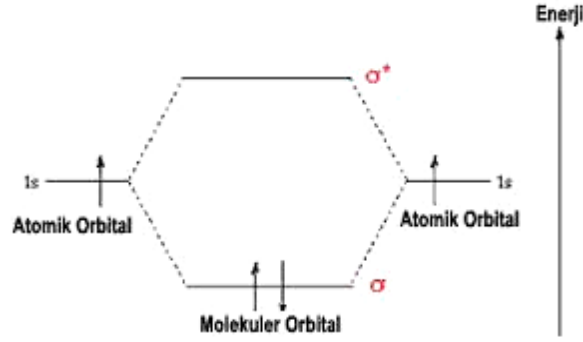


Uyarılan tür (M^*) bu halde yaklaşık 10^{-8} saniye kadar kalır ve absorpladığı ışın enerjisini ortama vererek eski haline döner.

Bir maddenin ışın absorplaması bağ elektronları üzerinden gerçekleşir. Bu nedenle her absorpsiyon piki üzerinde çalışılan maddenin kimyasal bir bağı ile ilgilidir. Ultraviyole ve görünür alan spektroskopisi yardımı ile maddelerin nicel tayini için elektronik geçişlerden yararlanır. Elektronik geçişler üç temel gruba ayrılırlar [81]:

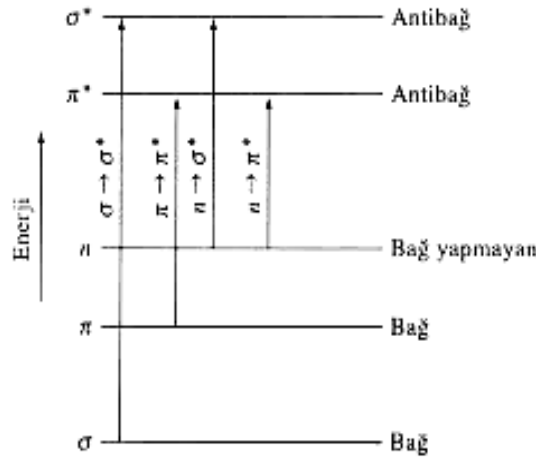
1. σ , π ve n elektronları geçişi.
2. d ve f elektronları geçişi.
3. Yük aktarma kompleksi elektronları geçişi.

σ , π ve n geçişleri daha çok organik bileşiklerde görülür. Böyle geçişler moleküler orbital teori ile daha kolay açıklanırlar. Moleküler orbital teori atom orbitallerinin örtüşerek molekül orbitalleri oluşturması kabulüne dayanır. Bunlar bağ ve karşı bağ orbitalleri olmak üzere başlıca iki tanedir. Bu iki moleküler orbital hidrojen molekülü üzerinden incelenebilir. H_2 molekülü iki hidrojen atomundan meydana gelir. Atomlardan her birinde bir elektron ve bir atom orbitali bulunur. Uygun simetri ve enerjideki hidrojen atom orbitalleri belirli bir uzaklığa kadar yaklaşınca birbirleri ile örtüşerek moleküler orbitalleri oluştururlar. Bunlar σ bağ orbitali ve σ^* karşı bağ orbitalleridir (Şekil 10).



Şekil 10. Hidrojen molekül orbitallerinin hidrojen atom orbitallerinden oluşumu [82]

Bir molekülün σ bağ orbitalindeki bir elektron ışın ile uyarıldığı zaman, σ^* karşı bağ orbitaline geçer. Buna ' $\sigma \rightarrow \sigma^*$ uyarılmış hal' denir. Bu iki orbital arasındaki enerji farkı fazla olduğu için (Şekil 11) bu geçiş oldukça fazla enerji gerektirir [82].



Şekil 11. Molekül orbitalleri arasındaki elektron geçişleri

Ortaklanmamış elektron çifti içeren bileşikler $n \rightarrow \sigma^*$ geçişi için oldukça uygundur. Bu geçiş $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişinden daha az enerjiye ihtiyaç duyar.

Absorpsiyon spektroskopisinin organik bileşiklere uygulanması $n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerini temel alır. Çünkü bu geçişler absorpsiyon pikini deneysel olarak en uygun spektral bölge olan 700 - 800 nm arasına düşürür.

Pek çok geçiş metali elektronik spektrumun ultraviyole ve görünür bölgesinde absorpsiyon yapar. Birinci ve ikinci sıra geçiş metal elementlerinin $3d$ ve $4d$ elektronları, lantanit ve aktinit serilerinin ise $4f$ ve $5f$ elektronları absorpsiyondan sorumludur.

Yük absorpsiyonu yapan türler molar absorptiviteyi çok yüksek olduğu için ($\epsilon_{\max} > 10,000$) analitik amaçlar için oldukça önemlidirler. Pek çok inorganik bileşik yük transfer absorpsiyonu gösterdiği için 'yük-transfer kompleksleri' olarak isimlendirilirler [83].

1.6. Floresans Spektroskopisi

1.6.1. Floresansın Tarihi

'Moleküler floresans', 'moleküler fosforesans' ve 'kemilüminesans' maddenin bir birine yakın üç fiziksel özelliğidir. Bu özelliklere 'lüminesans' denir [81].

Luminesans en eski analitik metotlardan biridir. Geçmiş İspanyol fizikçi ve botanikçi Nicolás Bautista Monardes'in 1565 tarihindeki bir gözlemine kadar uzanır. Monardes o yıllarda geleneksel idrar söktürücü olarak kullanılan Lignum nephriticum'un ışık emisyonunu rapor etmiştir.



Şekil 12. Bir bardak Lignum nephriticum ve onun balon jodedeki floresent çözeltisi.

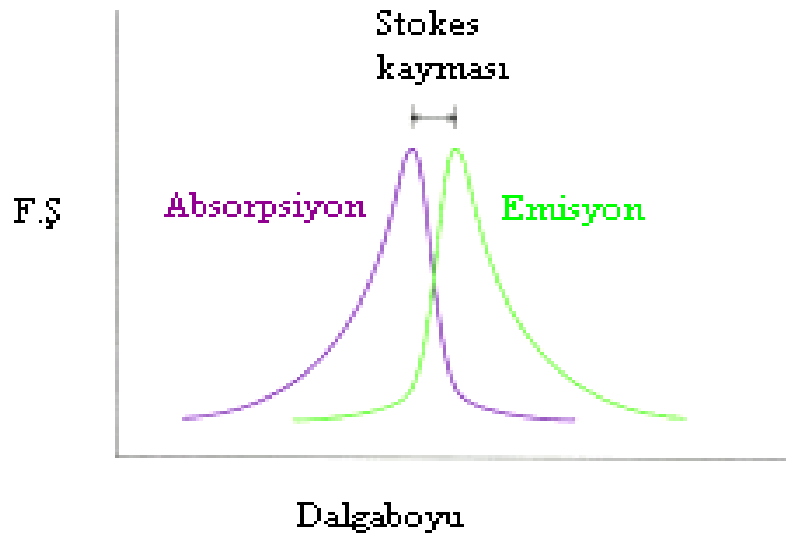
Monardes'ten sonra 1833 yılında Brewster klorofilin kırmızı emisyonunu gözlemlemiş ancak bu gözlem 1852 yılında Sir G.G Stokes tarafından rapor edilmiştir. Floresans kelimesi, Sir G.G Stokes tarafından Latince damla anlamına gelen 'fluo' ve saçılma anlamına gelen 'spar' kelimelerinden türetilmiştir. Daha sonra Stokes floresansın mekanizmasını da açıklamıştır [84].

1.6.2. Floresansın Teorisi

En basit floresans seyreltik atomik buharlardan elde edilendir. Örneğin buharlaşmış sodyum atomunun 3s elektronları dalgaboyları 5896 ve 5890 Å olan ışınları absorpladıkları zaman 3p orbitallerine uyarılırlar. Yaklaşık 10^{-8} saniye sonra elektronlar, bu iki dalga boyununun direkt emisyonu ile temel hale geri dönerler. Bu tür floresansa 'rezonans floresansı' denir.

Moleküler türler de bazan rezonans floresansı gösterirler. Fakat daha çok rezonans bandından daha uzun dalga boyunda ışın yayımı şeklinde moleküler floresans gösterirler.

Bir molekül veya atom bir foton absorpladığında enerji kazanarak uyarılmış duruma geçer. Ancak sistem kararlı hale gelmek için foton yayarak yani ışımaya yaparak enerjiyi vermelidir. Yayılan bu fotonun enerjisi absorplanan fotonun enerjisinden daha az bir enerjiye sahiptir. Bu enerji farkı 'Stokes kayması'dır (Şekil 13).

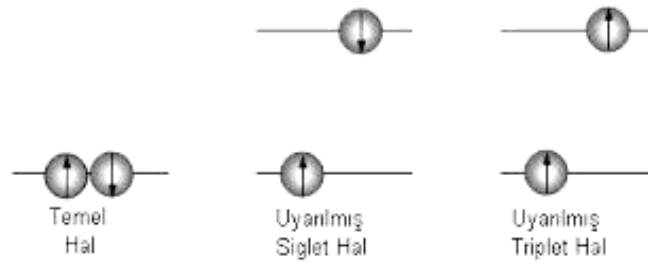


Şekil 13. Absorpsiyon ve emisyon spektrumları arasındaki kayma

Floresans olayında, maddenin bir kromofor grubunda bulunan bir elektron molekül üzerine gönderilen kısa dalga boylu ışını 10^{-14} saniye gibi çok kısa bir zamanda absorplar ve bir üst enerji seviyesine çıkar. Buradan çeşitli mekanizmalarla temel hale döner.

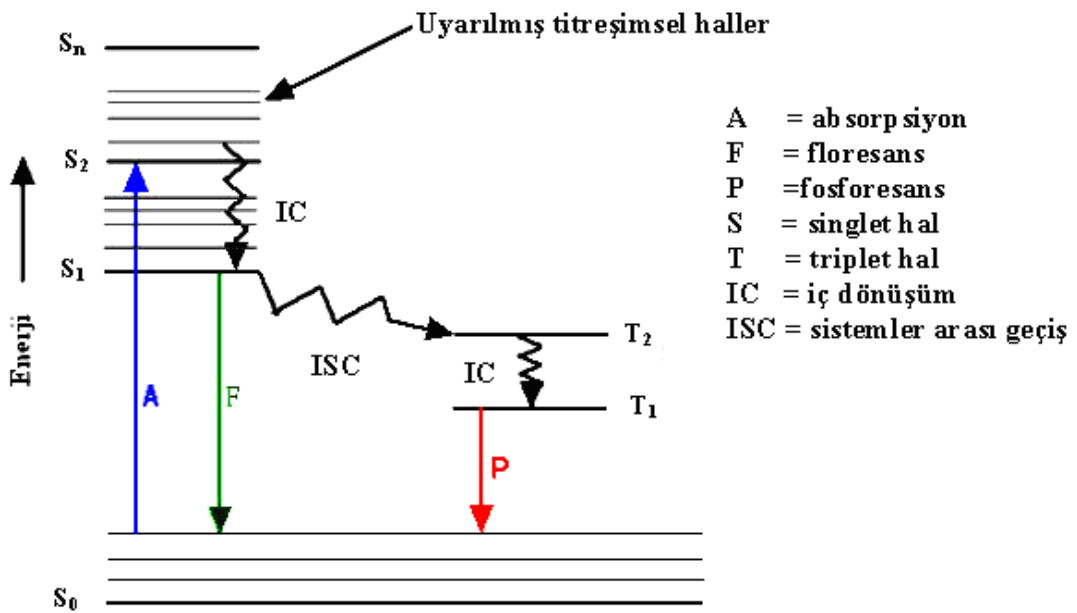
Bir atomda elektronların orbitallere dağılışı elektron dizilişi olarak bilinir. Elektron dizilişinin yapılabilmesi için spin kuvantum sayısının bilinmesi gerekmektedir. Dirac (1928) elektronların çekirdek çevresinde dönme hareketinden başka kendi eksenleri

çevresinde döndüklerini varsaymıştır. Buna göre elektronlar saat yönünde veya karşıt yönde dönebilirler. Bu nedenle spin kuantum sayısı $+1/2$ ve $-1/2$ olmak üzere iki değer alabilir. Bu varsayıma göre bir orbital en çok iki elektron alabilir. Bu elektronlar karşıt spinli olmalıdır. Madde floresans ışınları yaydığı zaman uyarılan elektronun spini değişmez. Elektronun spinini değiştirmeden üst enerji seviyelerine çıkmasına 'uyarılmış singlet' denir. Buna karşılık madde fosforesans ışınları yaydığı zaman elektronun spini değişir. Molekülün bu haline 'uyarılmış triplet' denir (Şekil 14).



Şekil 14. Bir molekülün çeşitli spin halleri [83]

Her molekül bir seri enerji seviyesine sahiptir. Ana seviyeler arasında da çeşitli titreşim seviyeleri vardır. Bu farklı enerji seviyeleri Şekil 15'deki Jablonski diyagramında görülmektedir.



Şekil 15. Jablonski diyagramı

Elektronik enerji düzeyleri başlıca temel (S_0) ve uyarılmış ($S_1, S_2 \dots S_n$) singlet ve uyarılmış triplet (T_1, T_2) enerji düzeyleridir. Diyagramdan görüldüğü gibi, bir molekülün uyarılması, S_0 dan S_1 'e λ_1 ; S_0 dan S_2 'ye λ_2 (daha kısa) dalga boylu ışınların soğurulmasıyla sağlanabilir. Moleküllerde elektronik uyarılmalar yanında titreşim uyarılmalar da olur. Doğrudan triplet hale (S_0 'dan T_1 'e) uyarılma gözlenmez (yasaklanmış geçiş). Foton soğurularak uyarılma süreci çok hızlı ($10^{-14} - 10^{-15}$ s) bir olay olup, çok kısa bir sürede gerçekleşir. Uyarılmış molekül birkaç adım üzerinden geçişler yaparak temel hale döner. Bu geçişler başlıca floresans, fosforesans gibi foton yayımı (yeşil ve kırmızı oklarla gösterilen geçişler), ve titreşim geçişleri, iç dönüşüm, dış dönüşüm, sistemler arası geçiş gibi ışımsız (dalgalı oklarla gösterilen geçişler) ısıl, kinetik geçişlerdir [85].

Uyarılan bir molekül fazladan bir enerji yüklenir. Bu enerjiyi, titreşim enerjisi ve elektronik enerji olarak geri verebilir. Molekül hangi enerji seviyesine uyarılırsa uyarılsın (S_2, S_3), ilk olarak enerjisinin bir kısmını titreşim enerjisi halinde geri verir (IC) ve ilk uyarılma seviyesi olan S_1 'in elektronik enerji seviyesine gelir. Buradan temel hale geçmek için üç yol izleyebilir:

1. Temel hale floresans ışın yayarak inebilir (F).
2. Temel hale titreşim yaparak inebilir. Bu durum şu şekilde açıklanır: S_1 elektronik seviyesinden S_0 temel elektronik seviyesinin titreşim seviyelerini sıra ile inebilir. Bu duruma iç dönüşüm denir (IC).
3. Temel hale spin değişikliği yaparak inebilir. Molekül önce spin değişikliği yaparak T_1 elektronik seviyeye geçer. Bu durum 'sistemler arası geçiş' olarak adlandırılır (ISC). Daha sonra fosforesans ışınması yaparak S_0 temel elektronik seviyeye iner.

Bu yollardan en uzun olanı fosforesan ışın yayarak temel hale geçiş olduğu için daha çok diğer iki yol izlenir. Bu durum fosforesan ışın yayan maddelerin floresan ışın yayan maddelerden neden daha az olduğunu açıklar. Sonuç olarak şu söylenebilir ki; moleküllerin büyük bir kısmı temel hale titreşim yoluyla dönerler.

Bir molekülün elektronik absorpsiyon spektrumu çeşitli absorpsiyon bandları içerebilir. Bu bandlardan her biri temel halden farklı uyarılmış singlet hallere geçişleri temsil eder. Bir molekülün floresans spektrumu ise hemen hemen sadece tek bir emisyon bandı içerir. Bunun nedeni floresansın sadece en düşük enerjili uyarılmış singlet halden (S_1) temel hale (S_0) geçişte gözlenmesidir. Floresans spektrumunda

birden fazla bandın görülmesi, farklı kimyasal türlerin floresansta bulunduğunu gösterir. Genellikle safsızlıklar da birden fazla floresans bandının oluşmasına neden olur. Bazen ışık duyarlı izomerizm ve proton transferi gibi fizikokimyasal ve kimyasal olaylarda birden fazla floresans bandının oluşmasına neden olur [85].

1.6.3. Floresans ve Elektronik Geçişler

Floresans ışını elde etmede kullanılan ışınların dalga boyları 250 nm'den daha büyük olmalıdır. Daha küçük dalga boylu ışınlar molekülde dissosyasyon ve parçalanmalara neden olurlar. Dalga boyu 250 nm'den daha düşük olan ışınlarla $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişleri meydana gelir. Bunlar enerjileri çok yüksek geçişlerdir. Bu nedenle moleküller dalga boyu 250 nm'nin üstündeki ışınlarla uyarılırlar. Moleküllerde $\pi^* \rightarrow \pi$ ve $\pi^* \rightarrow n$ geçişlerinin gözlenmesi floresans ışınlarından kaynaklanır. Floresans bu iki geçişten daha çok $\pi^* \rightarrow \pi$ geçişinden meydana gelir. Böyle geçişlerden meydana gelen floresans ışınları şiddetli floresans ışınlarıdır. Bunların kuvantum verimleri de yüksektir. Bu şekilde olmasının başlıca iki nedeni vardır:

1. $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişinin molar absorptivitesi çok yüksektir ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişinin 100 - 1000 katı arasındadır. Bunun bir sonucu olarak da $\pi^* \rightarrow \pi$ elektronik geçişinin ömrü 10^{-7} - 10^{-9} saniye, $\pi^* \rightarrow n$ geçişinin ömrü ise 10^{-5} - 10^{-7} saniyedir.
2. $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerinde sistemler arası çapraz geçişler çok zayıftır. Başka bir ifade ile bu tür geçişlerde singlet-triplet geçişi tercih edilmez.

Kuantum verimi ya da diğer bir ifadeyle kuvantum etkinliği (Φ), floresans ışınması yapan moleküllerin sayısının toplam uyarılmış moleküllerin sayısına oranıdır. Floresein gibi oldukça floresant bir molekül için bazı şartlar altındaki kuvantum verimi bire yaklaşıp. Önemli derecede floresans ışınması yapmayan kimyasal türler sifira yakın kuvantum verimlere sahiptirler [81, 85].

1.6.4. Floresansı Etkileyen Faktörler

Moleküler yapı ve kimyasal çevre floresansı etkileyen en önemli iki faktördür. Floresansı etkileyen faktörler molekül yapısı, yapısal rijidite, çözücü etkisi, sıcaklık etkisi, pH etkisi, çözülmüş oksijen etkisi, derişim etkisi başlıkları altında açıklanabilir.

a. Floresans ve yapı: En etkili floresans düşük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişine sahip aromatik fonksiyonel grup içeren bileşiklerde görülür. Çok sayıda konjüge çifte bağ içeren fonksiyonel gruplar da floresans özellik gösterebilir. Fakat bu grupların sayısı, floresans özellik gösteren aromatik grupların sayısından oldukça azdır. Piridin, furan, pirol ve tiyofen gibi basit heterosiklikler floresans davranışta bulunmazlar. Bu gibi moleküllerde floresans özelliğinin görülmeyişinin sebebi en düşük enerjili geçişin $n \rightarrow \pi^*$ olmasıdır. Bu geçiş sonucu uyarılmış molekül kolaylıkla triplet hale geçer. Fakat bu moleküllerin bir fenil halkası ile birleşmesi $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi olasılığını arttıracak için floresans kuvantum verimi artar.

b. Yapısal rijidite: Yüksek esneklik derecesi olan moleküllerin çarpışma olasılıkları yüksek olduğundan floresans özellikleri düşüktür. Fakat daha sert, esnemez yapılar daha düşük çarpışma olasılıklarına sahiptirler ve böylece floresans potansiyelleri daha yüksektir. Ayrıca bazı metal kompleksleri, ligantlarının gösterdikleri floresans verimliliğinden daha yüksek verimlilik gösterir. Mesela 8-hidroksikinolin molekülünün floresans şiddeti çinko iyonları varlığında daha sert bir kompleks oluşturduğundan floresans şiddeti artar.

c. Çözücü etkisi: Çözücülerin, moleküllerin floresans davranışı üzerinde önemli etkileri vardır. Bu etkileri 'çözücü polaritesi', 'çözücü viskozitesi' ve 'ağır atom etkisi' olmak üzere üç başlık altında toplayabiliriz. Polar çözücüler $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi için gerekli enerjiyi düşürdükleri için floresans şiddetini artırırlar. Viskozitesi yüksek çözücüler çarpışma deaktivasyonunu azalttıkları için yine floresans şiddetini artırıcı etkiye bulunurlar. Ağır atom içeren çözücüler ise floresans şiddetini azaltırlar.

d. Sıcaklık etkisi: Çoğu molekülün floresans kuvantum verimi sıcaklığın artması ile azalır. Çünkü sıcaklığın artması moleküllerin çarpışma deaktivasyonunu artırır.

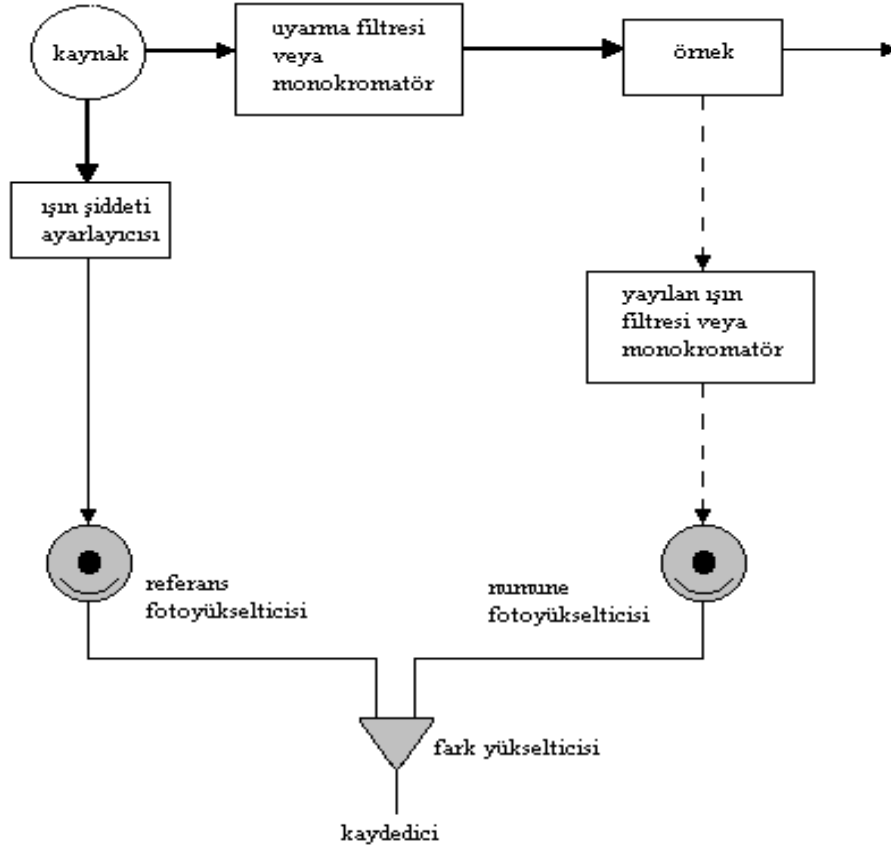
e. pH etkisi: Asidik ya da bazik bir süstitüent içeren aromatik bileşiklerin floresansı genellikle pH'a bağlıdır. Böyle maddelerin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış hallerinin floresansları birbirinden farklıdır. Anilin nötral ve bazik ortamda ultraviyole ve görünür alan floresansı gerçekleştirirken anilinyum iyonu çok az floresans verir.

f. Çözünmüş oksijen etkisi: Oksijen ve onun gibi paramanyetik maddeler, uyarılmış molekülün singlet halden triplet hale geçişini kolaylaştırır. Bu da floresansı azaltır. Bazen de analit oksijen ile yükseltgenip floresans şiddeti azalabilir.

g. Derişim etkisi: Bir maddenin yaydığı floresans ışınının şiddeti düşük konsantrasyonlarda, numunenin konsantrasyonu ile orantılı olarak artar. Bu orantı yüksek konsantrasyonlarda bozulur [81, 85].

1.6.5. Spektroflorometre

Floresans ölçme cihazının kısımları ultraviyole-görünür alan cihazının kısımlarına benzer. Şekil 16'da tipik bir florometrenin başlıca kısımları görülmektedir. Neredeyse tüm florometrelerde, güç kaynağındaki dalgalanmaları önlemek için çift-ışın yollu optikler kullanılır. Kaynaktan çıkan ışınlar uyarma filtresinden geçerek numuneye ulaşırlar. Bu filtre, sadece numuneyi uyarmada kullanılacak ışını geçirir. Uyarılan numuneden her yöne floresans ışması gerçekleşir; fakat bunlardan en uygunu uyarmada kullanılan ışınla dik açıda bulunan emisyon ışmasıdır. Diğer açılar çözeltideki saçılmaları arttırdıkları için büyük hatalara sebep olurlar [81, 85].



Şekil 16. Floresans cihazının kısımları [85]

Yayılan ışın filtresinden geçen floresans ışması numune fotoyükselticisine ulaşır. Öte yandan kaynaktan çıkan ışınlardan uyarma filtresine dik olanları ışın şiddeti ayarlayıcısından geçerek referans fotoyükselticisine ulaşır. Işın şiddeti ayarlayıcısında, ışın

demetinin şiddeti yaklaşık olarak floresans ışının şiddetine eşit olacak şekilde ayarlanır. Bunun için de referans ışının şiddeti yaklaşık 100 defa düşürülür. Fark yükselticide, floresans ve referans ışınların enerjilerinin farkı alınıp yükseltilerek kaydediciye gönderilir.

Spektroflorometrelerde ışın kaynağı olarak, düşük basınçlı civa ark lambalar ve yüksek basınçlı ksenon ark lambalar kullanılır [81, 85, 86].

1.6.6. Floresansa Dayalı Analitik Metotlar

Moleküler floresans spektroskopisi, hassasiyeti, basitliği ve yüksek seçiciliği nedeni ile pek çok farklı alandaki kimyasal analizlerde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Florimetrik analiz direkt metotlar ve indirekt metotlar olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Floresans moleküllerin varlığı durumunda pek çok örnek direkt floresans metotlarla analiz edilebilir. Kan serumundaki proteinler, flavonlar, kumarinlar ve bitki ekstraktlarındaki klorofiller direkt floresans analiz için mükemmel şartlara sahiptirler. Fakat moleküllerin büyük bir kısmı floresans özellik göstermezler, ya da zayıf floresans özellik gösterirler. Bu durumda direkt florimetrik analiz mümkün olamayacağı için indirekt florimetrik analiz kullanılır. İndirekt florimetrik metotlarda, analit floresans özellik gösterecek bir bileşik oluşturmak üzere uygun bir reaktifle reaksiyona sokulur ya da analit, ona duyarlı floresans bir moleküle etkileştirilir. Bu etkileşim ile floresans özellik artabilir veya azalabilir.

Pek çok organik molekül floresans özellik gösterdiği için direkt florimetrik metotlarla analiz edilebilirler. Florosein ve kinin gibi oldukça floresans moleküller ppt seviyesinde dahi analiz edilebilirler.

Bir çözeltideki inorganik iyonlar üç klasik metotla analiz edilebilirler:

1. İyon uygun bir inorganik reaktif (HCl, HBr, vs...) içeren bir çözeltiye ilave edilirse, iyonun direkt floresansı ölçülebilir.
2. İyon floresans özellik göstermeyen bir organik ligantla etkileştirilerek oldukça floresans bir metal şelat oluşturulur. Bu sayede iyonun nitel analizi yapılabilir.
3. İyon floresans özellik gösteren bir ligandın floresans şiddetini azaltıcı yada artırıcı etkide bulunursa, bu özellik sayesinde iyon analiz edilebilir [84, 85].

1.6.6.1. Floresans Sönümüne Dayanan Metotlar

Geçiş metallerinin floresant kompleksler oluşturmasını sınırlayan başlıca iki faktör vardır. Bunlardan ilki bu katyonların çoğunun paramagnetik olmasıdır. Paramagnetik özellik sistemler arası geçişi artırarak uyarılmış triplet hal oluşumuna neden olur ve floresansı engeller. Bu faktörlerden ikincisi ise geçiş metal komplekslerinin birbirine çok yakın enerji seviyelerine sahip olmalarıdır. Bu yakınlık ise titreşim (iç dönüşüm) deaktivasyonunu artırarak floresansı azaltır.

Analit konsantrasyonunun artması ile floresans şiddeti azalabilir. Yani floresans sönümü gerçekleşebilir. Floresans sönümünün mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Uyarılmış hal reaksiyonları, moleküler yeniden düzenlenme, enerji transferi ve temel hal kompleks oluşumu gibi çeşitli moleküler etkileşimler sönümle sonuçlanabilir. Floresans sönümü ‘dinamik sönüm’ ve ‘statik sönüm’ olmak üzere genel olarak iki kısımda incelenebilir.

Dinamik sönüm, uyarılmış hal süresi boyunca floroforun bir atom ya da molekül ile etkileşmesi sonucu gerçekleşir. Florofor temel hale ışımaz olarak döner. Dinamik sönüm, floroforun uyarılmış halde kalma süresine ve sönüme sebep olan madde ile olan etkileşme özelliğine bağlıdır. Floresansın azalmasına sebep olan maddelere ‘söndürücü (kuençir)’ denir. En çok bilinen söndürücüler, O_2 , I^- ve Cs^+ ’dir. Dinamik sönüm en basit şekilde Stern-Volmer bağıntısı ile açıklanır:

$$I_0/I = 1 + K_{sv}[Q] \quad (2)$$

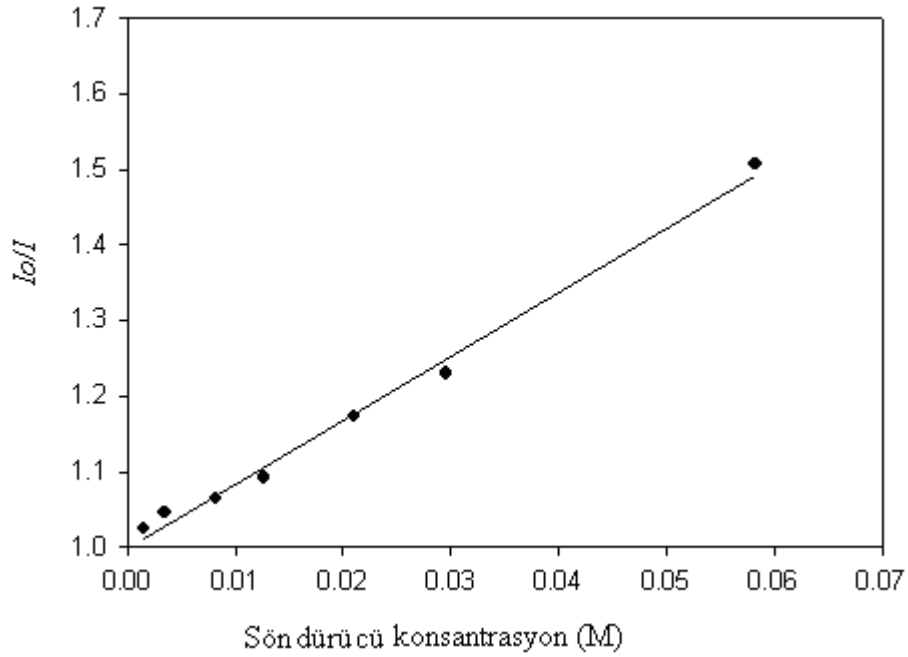
I_0 = Söndürücü yokluğundaki floresans şiddeti

I = Söndürücü varlığındaki floresans şiddeti

$[Q]$ = Söndürücü konsantrasyonu

K_{sv} = Stern-Volmer sabiti

Şekil 17’de I^- varlığındaki floresein sönümlemesi görülmektedir. Söndürücü konsantrasyonuna karşı I_0/I grafiğe geçirilirse, eğimi K_{sv} ’ye eşit olan bir doğrusal grafik elde edilir. Bu şekilde çizilen grafiklere genel olarak Stern-Volmer grafikleri denir [84].



Şekil 17. Floreseinin, iyodür iyonu varlığındaki floresans sönümü [87]

Bazı hallerde, florofor bir başka molekül ile temel halde kararlı bir non-floresent kompleks oluşturur. Bu duruma floroforun ‘statik sönümü’ denir. Statik sönümün, söndürücü konsantrasyonuna ve kompleksin oluşum sabitine bağımlı olması Gregorio Weber tarafından şu bağıntı ile açıklanmıştır:

$$I_0/I = 1 + K_a[Q] \quad (3)$$

I_0 = Söndürücü yokluğundaki floresans şiddeti

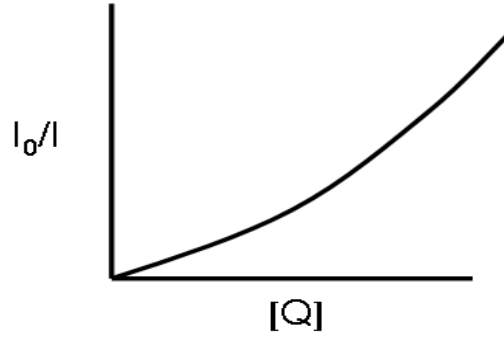
I = Söndürücü varlığındaki floresans şiddeti

$[Q]$ = Söndürücü konsantrasyonu

K_a = Kompleks oluşum sabiti

Statik sönüm floroforun uyarılma ömrü (τ) ile ilgili değildir. Çünkü bu durum floroforun emisyonunu engellemez. Emisyon yapan türler yine ilgili florofordur. Ancak bir kısmı non-floresent komplekse döndüğünden ışıma yapan florofor sayısı azalmıştır.

Eğer bir numunede statik ve dinamik sönümlenin her ikisi birden gerçekleşirse bu durumda Stern-Volmer grafiği Şekil 18’de görüldüğü gibi olur [87].

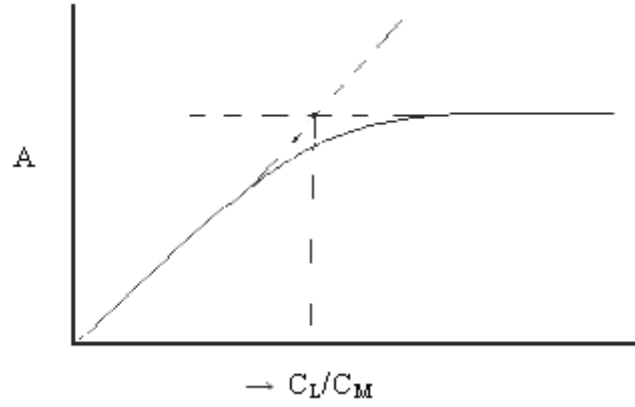


Şekil 18. Dinamik ve statik sönmeler birarada iken Stern-Volmer grafiği [87]

1.7. Kompleks Stokiyometrisinin Bulunması

Bir geçiş metali ile bir liganttan meydana gelen kompleksin metal-ligant oranına kompleks stokiyometrisi denir. Bir kompleksin stokiyometrisinin bulunması için kullanılan başlıca üç metot vardır [81]. Bunlar: Mol oranı metodu, eğim oranı metodu ve Job metodudur.

1. Mol oranı metodu: Mol oranı metodunda stokiyometrisi bilinmeyen kompleks katyonunun uygun konsantrasyonda bir çözeltisi hazırlanıp absorpsiyon spektrumu alınır. Bu katyon M ile temsil edilir. Daha sonra da L ile temsil edilen ligandın uygun konsantrasyonda bir çözeltisi hazırlanıp absorpsiyon spektrumu alınır. Son olarak bu çözeltilerden alınan ikişer mL'lik kısımlar karıştırılıp karışımın absorpsiyon spektrumu alınır. Spektrumlardan komplekse ait olan absorpsiyon piklerinden en şiddetlisinin dalgaboyu tespit edilir. Bundan sonra, ligandın katyona oranı ($[L]/[M]$) 1, 2, 3, 4 vs... olan bir seri çözelti hazırlanır. Yukarıda sözü edilen dalgaboyunda 1cm kalınlıkta bir kaptayla bunların absorpsiyonları ölçülür. Bu ölçümler $[L]/[M]$ 'ye karşı grafiğe geçirilir (Şekil 19). Grafikteki eğrilerin ekstrapolasyonu ile elde edilen doğruların kesiştiği noktanın karşı geldiği x eksen değeri L/M değerini verir [81].



Şekil 19. Mol oranı metodunun grafik gösterimi

2. Eğim oranı metodu: Eğim oranı metodu teşekkül eden kompleks zayıf ve bir tane olduğu zaman uygulanır. Kompleksin



dengeğine göre oluştuğu düşünülebilir. Mol oranı metodunda olduğu gibi kompleksin bir spektrumu alınır ve en yüksek absorpsiyon yaptığı dalgaboyu bulunur. Daha sonra bütün ölçümler bu dalga boyunda yapılır.

İlk olarak $[L]/[M]$ oranı çok büyük tutularak, başlangıç konsantrasyonu C_M olan M kationunun tamamen kompleksleşmesi sağlanır. Bu durum

$$[M_xL_y] = C_M / x \quad (5)$$

eşitliği ile ifade edilir. Hazırlanan bu çözeltinin belirlenen dalga boyundaki absorpsiyonu ölçülür (A_1);

$$A_1 = \varepsilon[M_xL_y] = \varepsilon C_M / x \quad (6)$$

yukarıdaki eşitlik A_1 'in C_M ile değişmesini gösterir ve eğim ε/x 'dir.

İkinci olarak $[M]/[L]$ oranı çok yüksek tutularak, başlangıç konsantrasyonu C_L olan L ligandının tamamen kompleksleşmesi sağlanır. Bu durum da

$$[M_xL_y] = C_L / y \quad (7)$$

eşitliği ile ifade edilir. Hazırlanan bu çözeltinin de belirlenen dalga boyundaki absorpsiyonu ölçülür (A_2). A_2 'nin C_L ile değişmesi

$$A_2 = \varepsilon[M_xL_y] = \varepsilon C_L / y \quad (8)$$

eşitliği ile ifade edilir. Eğimler ve eşitlikleri taraf tarafa bölündüğünde elde edilen Eşitlik 9'daki y/x ifadesi kompleks stokiyometrisini belirler [81].

$$\frac{A_1 C_L}{A_2 C_M} = \frac{y}{x} \quad (9)$$

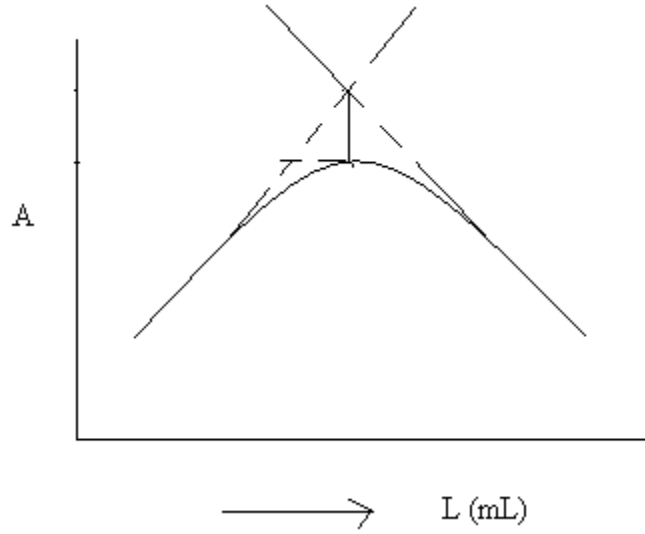
3. Job metodu: Metot Job tarafından geliştirildiği için çoğu kez 'Job metodu' olarak isimlendirilir. Bazen de 'sürekli değişmeler yöntemi' olarak da isimlendirilir. M ve L'den meydana gelen kompleksin bir spektrumu alınır ve maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyu tespit edilir.

Ligandın ve metalin aynı çözücüde aynı konsantrasyonda birer çözeltisi hazırlanır. Daha sonra aşağıdaki çözeltilerin absorpsiyonları ölçülür.

Tablo 2. Job metodu için hazırlanan tüplerin içerikleri

M(mL)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
L(mL)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Ölçülen absorpsiyon değerleri metalin yada ligandın mL sayılarına karşı grafiğe geçirilir Grafiğin maksimum noktasının x eksenini üzerindeki izdüşümünden kompleks stokiyometrisi bulunur [81, 88].



Şekil 20. Job metodu ile kompleks stokiyometrisinin bulunması

1.8. Kalibrasyon

Gravimetri ve kulometri hariç bütün analitik metotlar nicel analiz için kullanıldıklarında kalibrasyona gerek duyulur. Kalibrasyon, bir cihazdan ölçülen analitik sinyalin analitin konsantrasyonu ile olan ilişkisinin doğru olarak saptanması amacıyla yapılan bir işlemdir. Sinyalin (cevabın) kalibrasyonu yapılmadan bir örnek için alınan verilerle konsantrasyon hesaplaması yapılamaz. Kalibrasyon için en çok kullanılan metotlar dış kalibrasyon grafiği metodu, standart ekleme metodu ve iç standart ekleme metodudur [81, 89].

1.8.1. Dış Kalibrasyon Metodu

Analit derişimi kesin olarak bilinen birkaç standart çözeltinin sinyali ölçülür. Daha sonra analit derişimine karşı sinyal grafiğe geçirilir. Dış kalibrasyon grafiğinin başarısı, standart çözeltilerin ortamının analit çözeltisinin ortamına benzemesine bağlıdır [90].

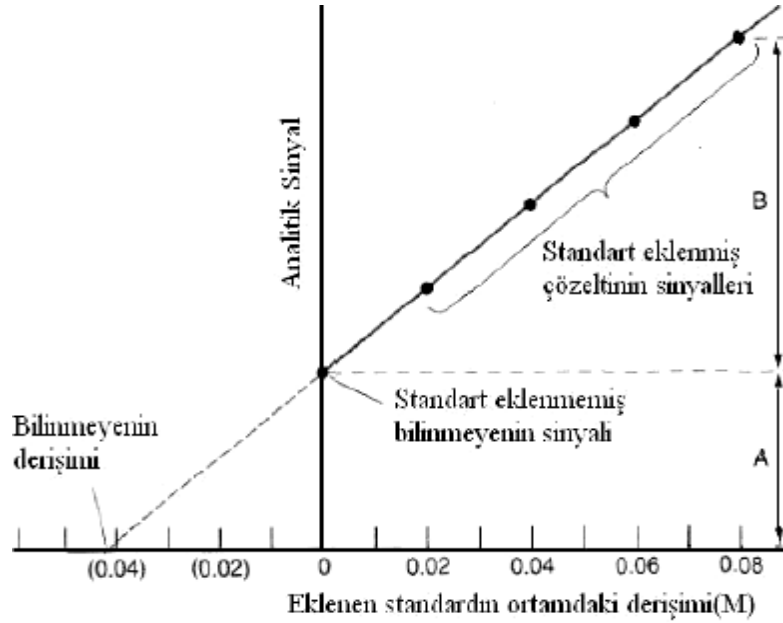
1.8.2. Standart Ekleme Metodu

Bir numunede analit, genellikle numunedeki diğer bileşenlerden tamamen izole edilemez. Bazı durumlarda numune matriksi, analitik sinyalleri artırıcı ya da azaltıcı

etkilerle girişime neden olur. Dış kalibrasyon grafiği metodu ile matriks etkisi engellenemez. Çünkü tamamen saf bir matrikse sahip standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizilir. Analiz edilecek olan numune çözeltisi ise, girişime neden olabilecek pek çok bileşen içerebilir. Numune ve standartların matrikslerini birbirine benzeterek sonuçların doğruluğunu artırmak için sıkça başvurulan metotlardan biri 'standart ekleme metodudur'.

İlk olarak, bir seri balojoje alınır ve bunların her birine konsantrasyonu bilinmeyen numuneden aynı hacimde konur. Daha sonra bu balonjojelere sırayla artan derişimlerde standart çözeltiler eklenir, fakat ilk numune çözeltisinde standart eklenmez. Son olarak tüm balonlardaki çözeltiler aynı hacme seyreltilir. Bu şekilde matriksleri birbirlerine benzetilerek elde edilen çözeltilerin sinyalleri ölçülür. Alınan sinyallere karşılık eklenen standartların derişimleri grafiğe geçirilir.

Elde edilen bu doğrusal grafiğin x eksenini negatif bölgede kestiği nokta analitin seyreltilmiş derişimini verir (Şekil 21). Bulunan değer seyreltme katsayısı ile çarpılarak numunedeki analit derişimi hesaplanır.



Şekil 21. Standart ekleme metodu ile bilinmeyen numune derişiminin hesaplanması

Tek standartla yapılan standart ekleme yönteminde doğrusal bir grafik çizmeden direkt sonuca gidilebilir. Fakat sonucun güvenirliliğini artırmak için eklenen standart sayısının da artırılması gereklidir [91, 92].

1.8.3. İç Standart Ekleme Metodu

Bir iç standart, bir analizde belirli miktarda olmak üzere numuneye, tanık çözeltilisine ve kalibrasyon standartlarına ilave edilen maddedir. İç standart olarak genelde çok az rastlanan ve numunede bulunmadığı bilinen maddeler seçilir. Bu tür maddeler analit ile aynı yerde sinyal vermemelidir. Ancak kimyasal özellikleri ile analite benzemelidir. Örnek olarak kanda sodyum ve potasyum tayinleri yapılmak istendiğinde lityum iyi bir iç standarttır. Çünkü kimyasal davranışı sodyum ve potasyuma benzemekle beraber kanda hiç bulunmaz.

Alternatif olarak iç standart, numune çözeltilisinin ana bileşeni olabilir. Bu durumda kalibrasyon grafiği, analit sinyalinin iç standart sinyaline oranı olarak çizilir. Bu oran kullanılarak analit derişimi bulunabilir. İç standart uygun seçilmişse, analizdeki sistematik ve rastgele hatalar giderilebilir [81].

1.9. Metot Validasyonu

Validasyon, diğer bir ifade ile geçerlilik bir metodun belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilmesidir. Valide edilmiş bir yöntemle çalışıldığında yapılan işlemin kesin, doğru, spesifik, tutarlı ve güvenilir olduğu garanti edilmiş olur.

Bir metotla yapılan ölçüm sonuçları çok çeşitli parametrelere bağlıdır. Bu nedenle metodun ölçüm sonucuna etki eden parametreleri tek tek ölçülerek, bu parametrelerin ölçüm sonucuna etkileri belirlenmelidir.

Standart bir metot bir laboratuvarında ilk defa uygulanacağı zaman, bir analiz için yeni bir metot geliştirildiği zaman, kullanılan metotta değişiklik yapıldığı zaman, geçerliliği belirlenmiş bir metot başka bir laboratuvarında kullanılacağı zaman veya farklı bir kişi ya da farklı bir cihazla kullanılacağı zaman, iki metodu karşılaştırmak için, kalite kontrol testleri sonunda metodun performansında bir değişme olduğu anlaşıldığı zaman metot validasyonu yapılır.

Bir metot validasyonu için temel parametreler şunlardır [93]: Gözlenebilme sınırı, tayin sınırı, doğrusal aralık, duyarlık, doğruluk, kesinlik, uyarlık, özgünlük, güven aralığı ve güven seviyesi.

1.9.1. Gözlenebilme Sınırı (GS)

Zemin gürültüsünden farklı olarak tespit edilen fakat miktarı belirlenemeyen en küçük analit derişimidir. GS %95 olasılıkla gözlenebilir. Bir yöntemin analitik performansı genellikle gözlenebilme sınırı ile ölçülür. Pratikte gözlenebilme sınırı, en az on tanık çözelti için bulunan sinyallerin standart sapmasının üç katı alınarak hesaplanabilir.

1.9.2. Tayin Sınırı (TS)

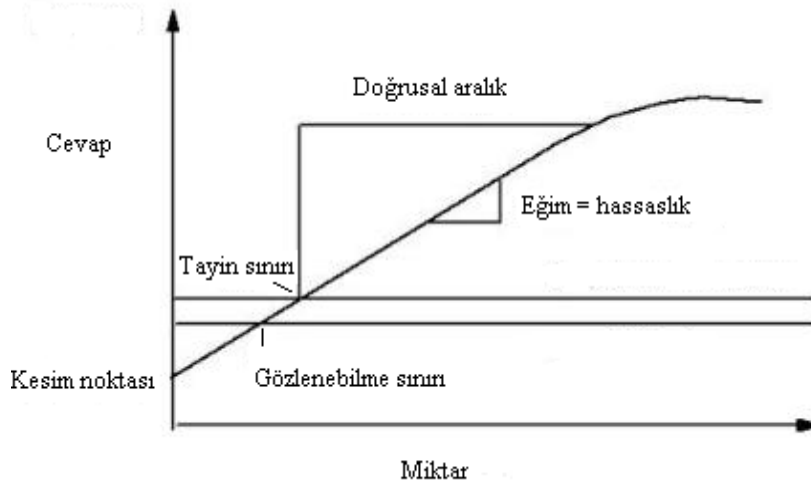
Uygun doğruluk ve kesinlikle miktarı saptanabilen en düşük analit derişimidir. Gözlenebilme sınırında tekrarlanabilirlik çok düşük olduğundan, sağlıklı ölçümler için tayin sınırı, GS değerinin 3 katı olarak alınır [94, 95].

1.9.3. Doğrusal Aralık

Kalibrasyon eğrisinde, tayin edilebilen en küçük derişimden (TS) doğrusallıktan sapma görülen derişime kadar olan derişim aralığıdır. Genelde sinyal-derişim eğrisi yüksek konsantrasyonlarda doğrusallıktan sapar ve eğim yani duyarlık azalır. Doğrusal aralığın geniş olması eser ve yan bileşenlerin aynı anda ya da aynı çözeltide tayin edilmelerini sağlar. Doğrusal aralığın dar olması durumunda standart sayısı artırılarak eğriye uygun bir fonksiyon bulunup eğrisel alanda da çalışmak mümkün olur.

1.9.4. Duyarlık

Okunan sinyal değerlerinin standart çözeltilerin konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilmesi ile elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğimi 'kalibrasyon duyarlılığı' olarak ifade edilir. Gözlenebilme sınırı, tayin sınırı doğrusal aralık ve duyarlık parametreleri Şekil 22'de gösterilmiştir.



Şekil 22. Bir metodun çeşitli validasyon parametrelerinin gösterimi

1.9.5. Doğruluk

Doğruluk, ölçülen değer in doğru kabul edilen değere yakınlığını gösterir. ‘Mutlak hata’ ya da ‘bağıl hata’ ile verilir. Mutlak doğru değer bilinmediği için, uluslararası bağımsız laboratuvarlar tarafından tayin edilmiş değerleri doğru değer olarak kabul edilen standart referans materyallerin tayininden elde edilen sonuç ile analitin kullanılan yöntemle elde edilen sonuçları karşılaştırılır.

1.9.6. Kesinlik

Kesinlik, ölçüm sonuçlarının birbirlerine yakınlığını ya da ölçümün tekrarlanabilirliğini gösterir. Kesinliği ifade etmek için ortalamadan sapmanın bir fonksiyonu olan ‘standart sapma’, ‘varyans’ ve ‘varyasyon katsayısı’ (bağıl standart sapma) terimleri kullanılır.

1.9.7. Uyarlık

Ölçüm sonuçlarının farklı kişi, farklı cihaz ve farklı laboratuvar şartlarında tekrarlanmasıdır. Farklı şartlarda kesinliğin bir ifadesidir.

1.9.8. Özgünlük

Analitik yöntemin sadece amaçlanan bileşeni tayin edebilme yeteneğidir, sayısal bir değeri yoktur.

1.9.9. Güven Aralığı ve Güven Seviyesi

Doğru değer, sonsuz miktarda numune üzerinde, sonsuz zamanda, sonsuz sayıda tekrar deneylerinde alınan sonuçların ortalamasıdır. Ancak pratikte bu kadar çok analiz yapmak mümkün olmaz. En az 20 tekrar deneyinden alınan sonuçların ortalamasına “doğru kabul edilen değer” denir. Rutin işlerde 20 tekrar analizi yapmak bile çok güçtür. Bu nedenle yapılan tekrar analizleri 3-5 ile sınırlı kalır. Bu 3-5 analizden elde edilen ortalama bir değer doğru değere yakın kabul edilir. Doğru değere ne kadar yakın olduğu belirli bir güven seviyesinde ve güven aralığında hesaplanır. Güven seviyesi yükseldikçe güven aralığı genişler. Dar bir aralıkta %95 emin olunamaz, ama geniş bir aralıkta emin olunabilir [96, 97].

1.10. Literatür Özeti

Cha vd., [98] hidrazon türevi bir ligant olan 2-pyridinecarbaldehyde-5-nitro-pyridylhydrazone (2PC-5NPH) kullanarak, metanol-su ortamında direkt Fe^{3+} tayini gerçekleştirmişlerdir. Ligant konsantrasyonu $1,0 \times 10^{-3}$ M olarak seçilmiştir. Yüzey aktif madde olarak hegzadesiltrimetilamonyum bromür (CTMAB) ve pH ayarlamak için hegzametilentetraamin (HTM) maddeleri saf suda çözülerek kullanılmıştır. Yöntem için optimum pH 7,0 olarak belirlenmiştir. Uyarma dalga boyu 300 nm olarak seçilmiş ve 420 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Tayin aralığı 0,20 - 1,45 ppm, gözlenebilme sınırı 0,028 ppm, %BSS 0,3 ppm olarak bulunmuştur. Ancak bahsedilen çalışma gerçek numunelere uygulanmamıştır.

Ragos vd., [99] 4-hidroksikinolin kullanarak sığır karaciğerinde su ortamında spektrofotometrik olarak Fe^{3+} tayin etmişlerdir. Tayin KOH kullanılarak bazik ortamda gerçekleştirilmiştir. 4-hidroksikinolin konsantrasyonu $1,0 \times 10^{-3}$ M olarak belirlenmiştir. Sığır karaciğerinde Fe^{3+} tayinini ciddi şekilde etkileyen metal katyonları maskeleyen için

potasyum florür ve trietilentetraamin çözeltileri kullanılmıştır. Tayin çözeltilisinin floresans kararlılığına ulaşması için 20 dakika beklenmiştir. Uyarma dalga boyu 305 nm olarak belirlenmiş ve 380 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Yöntem için tayin aralığı 5 - 10 µmol/L, % BSS 0,80 olarak bulunmuştur.

Asan vd., [100] salisilik asit kullanarak etanol-su ortamında direkt florimetrik Fe³⁺ tayin etmişlerdir. Tayin için akış enjeksiyon sistemi kullanılmıştır. Bu amaç için katyon değiştirme reçinesi içeren bir mini zenginleştirme kolonu akış enjeksiyon analiz sistemine bağlanmıştır. Taşıyıcı çözelti 2,0x10⁻⁶ mol/L salisilik asit içererek şekilde hazırlanmış ve pH'ı 8,5 olarak ayarlanmıştır. Uyarma dalga boyu 299 nm olarak seçilmiş ve 409 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Yöntemin tayin aralığı 5 - 100 µg/L, gözlenebilme sınırı 0,3 µg/L, % BSS 1,25 ve örnekleme hızı 60 h⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bahsedilen çalışma ile deniz suyu, nehir suyu ve kaynak sularında Fe³⁺ tayini yapılmıştır.

Zhou vd., [101] bir schiff bazı olan 2-pridinkarbaldehid-p-fenilhidrazon (2PC-PPH) ligandını kullanarak süt tozu ve yasmin çayında Fe³⁺ tayini gerçekleştirmişlerdir. Ligandın çalışma konsantrasyonu 2,0x10⁻⁴ mol/L olarak seçilmiştir. Optimum pH asetik asit-sodyum asetat tamponu kullanılarak 4,6 olarak belirlenmiştir. Tayin çözeltilisinin floresans kararlılığına ulaşması için 30 dakika beklenmiştir. Uyarma ve floresans şiddetlerinin ölçüldüğü dalga boyları sırası ile 288 ve 344 nm olarak seçilmiştir. Yöntemin doğrusal aralığı 6,0x10⁻⁷ - 1,0x10⁻⁵ mol/L, gözlenebilme sınırı 3,6x10⁻⁷ mol/L, %BSS'si 1,0x10⁻⁵ demir tayini için 4,9 olarak bulunmuştur. Bilinen bir metotla AAS'de 134,2 µg olarak bulunan 1 g süt tozu örneğindeki Fe³⁺ miktarı, önerilen metotla %3,8 hata ile 139,4 µg olarak bulunmuştur. Aynı şekilde 1 g yasmin çayında 192,5 µg olarak bulunan Fe³⁺ önerilen metotla %1,6 hata ile 189,5 µg olarak bulunmuştur.

Mao vd., [18] rodamin bazlı floresans bir prob olan RC maddesi ile %100 sulu sistemlerde fizyolojik pH noktasında Fe³⁺ tayini yapmışlardır. RC probunun optimum konsantrasyonu 1,0x10⁻⁵ mol/L olarak hesaplanmıştır. Optimum pH'ı ayarlamak için HEPES tampon çözeltisi kullanılmıştır. Önerilen metotta numunelerdeki Fe³⁺ için bir zenginleştirme işlemi uygulanmıştır. Bu işlem için literatüre göre sentezlenen aktif karbon bağlı etilendiamin (AC-EDA) adsorbenti ile dolgulu 50 mm x 9,0 mm boyutlarında bir PTFE kolon kullanılmıştır. Tayin çözeltilisinin floresans kararlılığına ulaşması için 5 dakika beklenmiştir. Uyarma dalga boyu olarak 500 nm seçilmiş ve 552 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Yöntemin doğrusal aralığı 6,0x10⁻⁸ - 720x10⁻⁸ mol/L, gözlenebilme sınırı 1,4x10⁻⁸ mol/L'dir. ICP - AES metodu ile musluk suyu numunesinde 78,5 mol/L ve

atık su numunesinde 189,3 mol/L olarak bulunan Fe^{3+} miktarları önerilen metot kullanılarak sırası ile 75,4 ve 187,3 mol/L olarak bulunmuştur.

Yi vd., [102] fosfonik asit bağlı floren türevleri olan 9,9-bis(3'-fosfonik asit propil)-2,7-difenilflorene (BPPDPF) ve 2,7-difenilflorene-9-ilfosfonik asit (DPFPA) ligandları ile su örneklerinde Fe^{3+} tayini yapmışlardır. Tayinler Tris-HCl tamponu kullanılarak pH 7,0'da gerçekleştirilmiştir. Floresans kararlılığına ulaşmak için her iki ligant durumunda da tayin çözeltileri 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. BPPDPF ve DPFPA ligandlarının floresans ölçümleri için uyarma dalga boyu 330 nm olduğu zaman spektrumlarında hem 377 nm ve hem de 359 nm'de sönüm gözlenmiş ve hesaplamalar bu dalga boylarında yapılmıştır. BPPDPF ligandı ile tayinde yöntemin tayin aralığı 1 - 8 μM , gözlenebilme sınırı 0,02 μM olarak, DPFPA ligandı ile tayinde ise yöntemin tayin aralığı 1 - 5 μM , gözlenebilme sınırı 0,01 μM olarak hesaplanmıştır. ICP-OES metodu ile musluk suyu numunesinde 1,218 μM olarak belirlenen Fe^{3+} miktarı BPPDPF ligandı ile 1,382 μM , DPFPA ligandı ile 1,314 μM olarak bulunmuştur.

Du vd., [103] bir çeşit rodamin B türevi olan rodamin amid (RHA) floresans probu ile asetik asit-sodyum asetat tamponu kullanarak su örneklerinde Fe^{3+} tayini gerçekleştirmişlerdir. Ortam pH'ı 3,2 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Fe^{3+} 'nin ortamda fazla miktarda bulunan KI ile reaksiyonu sonucu oluşan I_3^- anyonunun ağır atom etkisi ile RHA ligandının floresans şiddetindeki azalma temel alınmıştır. Fe^{3+} ve KI arasındaki reaksiyon için 10 dakika, ligant ilavesinden sonra floresans kararlılığına gelmek için 10 dakika beklenmiştir. Tayin çözeltileri 510 nm'de uyarılmış ve 575 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Yöntemin tayin aralığı 0,5 - 5 $\mu mol/L$, gözlenebilme sınırı 0,3 $\mu mol/L$, tayin sınırı 0,5 $\mu mol/L$ olarak hesaplanmıştır. Yöntem göl suyu, atık su ve musluk suyu numunelerine uygulanmıştır. %BSS değerleri bu numuneler için 2,0 - 6,0 arasında bulunmuştur.

Cha vd., [104] salisilik asit kullanarak pH 8,5'de su ortamında direkt Fe^{3+} tayini gerçekleştirmişlerdir. Optimum salisilik asit konsantrasyonu 4×10^{-6} M belirlenmiştir. pH'ı ayarlamak için amonyum klorür, amonyum hidroksit çözeltileri kullanılmıştır. Uyarma dalga boyu 299 nm olarak seçilmiş ve 409 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Yöntem için tayin aralığı 0,0558 - 0,5580 $\mu g/mL$, gözlenebilme sınırı 5×10^{-8} M olarak belirlenmiştir. Musluk suyu ve doğal su numunelerinde 0,13 ve 0,19 $\mu g/mL$ olarak bulunan Fe^{3+} miktarları önerilen metot ile 0,12 ve 0,19 $\mu g/mL$ olarak bulunmuştur.

Shamsipur vd., [105] yeni bir floresant kimyasal sensör olan 5-(8-hidroksi-2-kinolinmetil)-2,8-ditiazin-5-aza-2,6-piridinifen ligandını sentezlemişler ve Fe^{3+} 'nin seçici tayini için kullanmışlardır. Tayin için, ligant, toz PVC, o-nitrofenil oktil eter (o-NPOE) ve sodyum tetrafenilborat (NaTPB) maddelerini farklı oranlarda içeren çözeltiyi tozsuz bir cam plaka üzerine yayarak bir membran hazırlamışlardır. Tayinden önce floresans kararlılığına ulaşması için membran pH'ı 5,5 olan bir asetat tamponu çözeltisinde 20 dakika bekletilmiştir. Yöntemin doğrusal aralığı $1,0 \times 10^{-7}$ - $6,0 \times 10^{-4}$ M, gözlenebilme sınırı $5,0 \times 10^{-8}$ M olarak hesaplanmıştır. Ispanak ve pirinç numunelerinde ICP-OES yöntemi ile 15,10 ve 26,40 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunan Fe^{3+} miktarları bahsedilen metot ile %2 bağıl hata ile 15,40 ve %1,1 bağıl hata ile 26,1 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. Metot ayrıca su numunelerine de uygulanmış ve sonuçlar %0,5 - 1,9 bağıl hata dahilinde bulunmuştur.

Huang vd., [106] doğal bir polisakkarit olan sitozan polimeri ile insan serumunda direkt Fe^{3+} tayini yapmışlardır. Sitozan yapısı gereği düşük bir floresans şiddetine sahiptir. 95°C 'de 9 saat ısıtılarak sitozanın floresans şiddeti arttırılmıştır. Isıtma işleminden önce asetik asit-sodyum hidroksit tamponu kullanılarak sitozan çözeltisinin pH'ı 6,0'a getirilmiştir. Sulu asetik asit çözeltisinde çözölen sitozan polimerinin optimum çalışma konsantrasyonu 3 mg/mL olarak belirlenmiştir. Orjinal sitozan çözeltisinin 325 nm olan uyarma dalga boyu ısıtma prodesüründen sonra 335 nm olarak belirlenmiştir. 432 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Yöntemin doğrusal aralığı $1,96 \times 10^{-8}$ - $2,0 \times 10^{-5}$ M, %BSS'si 6,8 olarak hesaplanmıştır.

Sayour vd., [107] suda çözünebilir 1-naftol-2-sulfonat ligandı ile spektrofotometrik olarak Fe^{3+} tayin etmişlerdir. Tayin için akış enjeksiyon sistemini kullanmışlardır. Yöntem için optimum pH 8,0 ve uyarma dalga boyu 283 nm olarak belirlenmiştir. 349 nm'deki floresans şiddetleri ölçülmüştür. Metodun çalışma aralığı 0,1 - 18 $\mu\text{g/mL}$, gözlenebilme sınırı 3,4 ng/mL olarak belirlenmiştir. Metot ile endüstriyel atık numunelerinde ve şehir kanalizasyon numunelerinde ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar 0,6 - 1,6 %BSS dahilinde bulunmuştur.

Dai vd., [108] 2,4-diklorofenilfloron (DCIPF) ligandını kullanarak Fe^{3+} tayini için yeni bir metot geliştirmişlerdir. Fe^{3+} 'ün DCIPF ile 1:4 kompleks oluşturduğu molar oranlar yöntemine göre belirlenmiştir. pH 5,2 - 5,9 aralığında Fe^{3+} ve DCIPF ligandının kırmızı renkli bir kompleks oluşturduğu gözlemlenmiştir. Uyarma ve emisyon dalga boyları sırasıyla 282 nm ve 560nm olarak belirlenmiştir. Fe^{3+} için 4 - 24 ng/mL ile 24 ng/mL

arasında doğrusal bir aralık görülmüştür. Gerçek numune olarak kullanılan Çin'in bitkisel ilaçlarında ve çayda %5'den daha düşük bağıl hata ile Fe^{3+} tayin edilmiştir.

Gandhi vd., [109] 2014 yılında Fe^{3+} tayini için RD-1 ve RD-2 sensörlerini sentezlemiştir. Tayin için optimum pH 7,4 olarak belirlenmiştir. Çalışmalar DMSO/H₂O'da (2:8) ortamında gerçekleştirilmiştir. Job eğrisi ve ESI-MS çalışmalarına göre; bileşiklerle Fe^{3+} arasında 1:1 bir bağlanma modeli olduğu öne sürülmüştür. Bahsedilen bileşiklere 1:1 oranında Fe^{3+} eklenmesiyle renksizden pembeye bir renk değişimi gerçekleşmiş ve kompleksler floresans özellik kazanmışlardır. Bu yüzden RD-1 ve RD-2; floresan sensörler olarak önerilmişlerdir. bu sensörler kullanılarak *Candida albicans* hücrelerde Fe^{3+} tayini gerçekleştirilmiştir.

Jung vd., [110] oksijen ve azot gibi metal bağlayıcı kısımlar içeren yeni bir floresant reseptör sentezlemiştir. THF/H₂O (1:99, v/v) çözücü sisteminde reseptörün Fe^{3+} iyonuna selektif olarak bağlandığı görülmüştür. Çalışmalar sırasında HEPES tamponu kullanılmıştır. Floresans çalışmalar, ligandın maksimum floresans gösterdiği 438 nm'de gerçekleştirilmiştir. Fe^{3+} için gözlenebilirlik sınırı $3,53 \times 10^{-5}$ M, doğrusal aralık 5 - 20 μ M'dir.

Zhang vd., [111] 2010 yılında, doğal floresans moleküllerin iyon tayininde kullanılması üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada doğal floresant madde olan üzüm kabuğu Fe^{3+} tayini için bir sensör olarak kullanılmıştır. Üzüm kabuğunun ana pigmenti olan antosiyanin floresans sensör maddesi olarak bilinmektedir. Yöntemin optimum pH'ı 5,0 olarak belirlenmiştir. Sensör, $1,0 \times 10^{-8}$ - $1,0 \times 10^{-5}$ M ($R^2=0.9888$) ve $3,2 \times 10^{-5}$ - $3,2 \times 10^{-4}$ M ($R^2=0.9856$) olmak üzere iki farklı konsantrasyon aralığında 60°C'de Fe^{3+} için bir kalibrasyon cevabı göstermiştir. Fe^{3+} için gözlenebilirlik sınırı 0,419 μ g/L olarak bulunmuştur. Tayin için geliştirilen bu sensör gerçek numunelere uygulanmamıştır.

Lin vd. [112] bir fenantroimidazol türevi olan 2-(4-(2,2-Bipridin-5-il)fenil)-1H-fenantro[9,10-d] imidazole bileşiği ile metanol-su ortamında florimetrik Fe^{3+} tayini gerçekleştirmişlerdir. Tayini için pH 5-10 arası uygun bulunmuştur. Çalışma çözeltileri 440 nm'de uyarılmış ve 500 nm'deki emisyon şiddetleri ölçülmüştür. Tayin aralığı $1,0 \times 10^{-5}$ - $1,5 \times 10^{-4}$ M ve gözlenebilirlik sınırı $5,26 \times 10^{-6}$ M olarak belirlenmiştir. Geliştirilen metot, Yuelu kaynak sularına, musluk sularına ve Xiang nehir sularına uygulanmıştır. Bunun için su örneklerine 1×10^{-5} ve 5×10^{-4} M konsantrasyonlarında Fe^{3+} katılarak geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Örneğin; 1×10^{-5} M Yuelu kaynak suyunda yapılan tayinde %99,4 geri kazanım ve $0,03 \times 10^{-5}$ bağıl standart sapma ile Fe^{3+} miktarı $4,97 \times 10^{-5}$ mol/L ;

5×10^{-4} M Yuelu kaynak suyunda ise %98,0 geri kazanım ve $0,05 \times 10^{-4}$ bağıl standart sapma ile Fe^{3+} miktarı $0,98 \times 10^{-4}$ mol/L olarak bulunmuştur.

Lee vd., [113] Fe^{3+} tayini için benzimidazole ve antrasen gibi iki floresent grup kaynaklı bir bileşik tasarlamışlardır. Geliştirilen yöntemde aynı uyarma dalga boyu ile iki florofor grup da uyarılmış ve bu grupların farklı floresans davranışları incelenmiştir. Bu ligand 1:1 asetonitril-su çözücü karışımında 367 nm'de uyarıldığında 424 nm'de maksimum emisyon gözlemlenmiştir. Çalışmada HEPES tamponu kullanılarak pH 7,0'a ayarlanmıştır. Metot gerçek numunelere uygulanmamıştır

Rodrigues vd., [114] tarafından sebzelerin katı ve sıvı yağlarından elde edilen biyodizel örneklerinde Fe^{3+} 'ün florimetrik tayini için etkili, basit bir nicel metot geliştirilmiştir. Tayin için suda çözülen CdTe kuantum noktalarıyla kaplı merkaptopropiyonik (CdTe QDs-kaplı MPA) kullanılmıştır. Tayin öncesinde sıvı yağ örneklerinden ultrasonik banyo kullanılarak %100 oranda demir ekstrakte edilmiştir. Uyarma dalga boyu 400 nm olarak seçilmiştir ve 420 - 700 nm'ler arasındaki emisyonlar kaydedilmiştir. Bu çalışmada tayin için iki farklı kalibrasyon doğrusu geliştirilmiştir. Bunlardan biri; sulu çözelti ile dış kalibrasyon tekniği ve diğeri; metalo-organik standartlar ile standart ekleme teknikleridir. Numunelerin bozucu etkileri nedeniyle ikinci teknik optimize edilmiştir. Optimum pH 7,4 olarak belirlenmiştir. Doğrusal çalışma aralığı 4,16 - 100 $\mu\text{g/L}$ ($R^2=0.9996$, $n=6$), gözlenebilme sınırı 1,25 $\mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur. Geliştirilen metotla elde edilen demir sonuçları bilinen bir yöntem olan GFAAS'den elde edilen sonuçlarla kıyaslanarak yöntemin doğruluğu gösterilmiştir.

Xu vd. [115] naftalimid türevi bir bileşik olan 2-hidroksietil metakrilatı (HEMA) UV-ışınlama ile aktifleştirilmiş cam lamel üzerine yayarak elde ettikleri kopolimeri Fe^{3+} 'ün seçici tayini için önermişlerdir. Fe^{3+} duyarlı bu membranın en az iki ay süre kararlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmalar 25°C 'de 0,05 mol/L Tris/HCl tampon çözeltisi kullanılarak pH 6,02'de gerçekleştirilmiştir ($\lambda_{uy}= 408$ nm ve $\lambda_{em}= 521$ nm'dir). Doğrusal aralık $1,5 \times 10^{-5}$ - $1,0 \times 10^{-3}$ M ve gözlenebilme sınırı $4,5 \times 10^{-6}$ M'dir. Geliştirilen sensör hazırlanmış ilaç numunelerindeki demir tayinde kullanılmıştır. Optimize şartlar altında üç çeşit sülfat tableti (ulusal ilaç onay numaraları: H31021572; H23020500; H51022557) analiz edilmiştir. Sonuçlar bilinen bir yöntem olan redoks titrasyon sonuçları ile karşılaştırıldığında % bağıl hatanın 2,5 değerinin altında olduğu belirlenmiştir

Feng vd. [116], β -siklo dekstrin ve 2,6-bis(benzoksazoli)piridin maddelerinden oluşan BBOZP-CD ligandını Fe^{3+} için seçici ve duyarlı bir floresent kemosenör olarak

önermişlerdir. Yapılan çalışmada çözücü sistemi, etanol su (1:9) karışımı olarak seçilmiş ve çalışma pH'ı 7 olarak ayarlanmıştır. Uyarma dalga boyu 320 nm olarak seçilmiştir. Artan Fe^{3+} iyonu varlığındaki floresans sönümü Stern-Volmer eşitliği ile incelenmiştir. $1,47 \times 10^{-2}$ mg/mL β -siklo dekstrin ve $6,63 \times 10^{-6}$ M 2,6-bis(benzoksazoli)piridin kullanıldığında Fe^{3+} için gözlenebilirlik sınırı $6,0 \times 10^{-7}$ M olarak bulunmuştur.

Hossein vd., [117] Fe^{3+} 'ün eser miktardaki tayini için basit ve etkili bir spektrofotometrik metot geliştirmiştir. Metot, yüzey aktif olarak TX-100'ün varlığında Ce^{+3} 'ün floresans şiddeti üzerindeki Fe^{3+} 'ün söndürücü etkisine dayandırılmıştır. Ce-Fe-TX-100 için uyarma dalga boyu 303,5 nm olarak belirlenmiş ve 354 nm'deki emisyonlar ölçülmüştür. Metot optimum şartlarda (pH:4, [TX-100]=%8,33 $\times 10^{-5}$ (v/v), 25°C) 0,13 μ g/mL gözlenebilirlik sınırı ile 0,2-15 μ g/mL doğrusal aralıkta Fe^{3+} tayinine imkan sağlamıştır. Çalışmada bazı inorganik anyon ve katyonların ciddi bir girişim etkisi gözlenmemiştir.

Wei vd., [118] mikro miktardaki Fe^{3+} 'ün tayini için yeni bir florimetrik metot geliştirmiştir. Bu metot klorojenik asit çözeltisindeki Fe^{3+} 'ün floresans sönümleme etkisine dayandırılmıştır. Asetik asit-sodyum asetat tampon çözeltisinde (pH 4,0) klorojenik asidin maksimum uyarma ve emisyon dalga boyları sırasıyla 338 nm ve 420 nm olarak belirlenmiştir. $9,30 \times 10^{-8}$ M gözlenebilirlik sınırı ile $3,2 \times 10^{-7}$ M ile $1,00 \times 10^{-4}$ M konsantrasyon arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur.

Zhang vd., [119] uyarılmış hal molekül içi proton transefer reaksiyonları yapabilen ve iyi fotofiziksel özelliklere sahip bir tür bileşik olan 2-(2'-hidroksi-fenil)-4(3H) – kuinazolinon (HPQ) bileşimini sentezlemişlerdir. Bu bileşik Fe^{3+} için fotokimyasal floroyonofor bir sensör olarak kullanılmıştır. HPQ membran üzerine Fe^{3+} eklenmesi uyarılmış hal molekül içi proton transfer reaksiyonlarını engelleyerek HPQ'nun floresans şiddetinde bir azalma meydana getirmiştir. Çalışma pH'ı 3,96 olarak optimize edilmiştir. Bu sensör Fe^{3+} 'e karşı $7,1 \times 10^{-7}$ ile $1,4 \times 10^{-4}$ M konsantrasyon aralığında doğrusal bir cevap göstermiştir. Gözlenebilirlik sınırı $8,0 \times 10^{-8}$ M olarak bulunmuştur. Çalışma pH aralığı ise 2,5 - 4,5 olarak belirlenmiştir. Sensör, alkali, toprak alkali ve geçiş metal iyonları gibi çok sayıda katyon varlığında Fe^{3+} için iyi bir seçicilik göstermiştir. Uyarma dalga boyu 364 nm olarak belirlenmiş ve 450 - 600 nm arasındaki emisyonlar kaydedilmiştir. Gerçek numune olarak üç çeşit multi vitamin tablet örneği kullanılmış ve Fe^{3+} %2'den daha düşük bağıl hata ile tayin edilmiştir.

Liping vd., [120] Fe^{3+} tayini için yeni ve duyarlı bir florimetrik metot geliştirmiştir. Serfadin'in (CEPC) floresansı üzerindeki Fe^{3+} 'ün söndürücü etkisine dayandırılan metot için optimum pH 3,0, CEPC'in konsantrasyonu 0,11 g/L, CEPC'nin maksimum uyarma ve emisyon dalga boyları sırasıyla 351 nm ve 431 nm olarak belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı $6,25 \times 10^{-7}$ mol/L, doğrusal aralık $1,6 \times 10^{-6}$ - $6,3 \times 10^{-4}$ mol/L ve bağıl standart sapma (N=11) %2,10 olarak hesaplanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar

İnfrared Spektrofotometresi	: Perkin Elmer One FT-IR Spektrofotometre (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
NMR Spektrofotometresi	: Varian Mercury 200 MHz NMR Spektrofotometre (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Kütle Spektrofotometresi	: Quatro MicroMass LC-MS/MS Spektrofotometre (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
UV-Vis Spektrofotometresi	: Unicam-UV2-100 UV-Vis Spektrofotometre (K.T.Ü. Kimya Bölümü) Thermo Evolution 60 Spektrofotometre (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Evaporatör	: BİBY STERILIN ModelRE100 (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
PTIQ Spektroflorimetresi	: QM-4-2006 A Photon Technologies International Quanta Master Spektroflorimetre (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
pH Metre	: Jenway 3040 Ion Analyser (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Vorteks Çalkalayıcı	: Labnet Model No 50100-320 V (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Numune Çözünürleştiricisi	: Milestone Ethos D marka kapalı sistem Mikrodalga Çözünürleştirme Cihazı (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Ultrasonik Banyo	: Bandelin (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Analitik Terazı	: Sartorius ED224S Hassas Terazı (K.T.Ü. Kimya Bölümü)
Kondüktometre	: Hanna Instruments EC 215 Conductivity Meter

2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarda 1,4-dioksa-8-azaspiro[4.5] dekan, asetonitril, kuru K_2CO_3 , 2-bromoetanol, H_2SO_4 , HNO_3 , ftalimid, NH_3 , tetrahidrofuran, dimetilformamit, tiyonil klorür, $NaHCO_3$, $MgSO_4$, kloroform, kuru $NiCl_2$, etanol, alüminyum oksit, Na_3PO_4 , NH_4CH_3COOH , $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Mn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, $Pb(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Ag(NO_3)$, $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$, $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $Ba(NO_3)_2$, $Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $Fe(ClO_4)_2 \cdot H_2O$, $KClO_4$, $Sr(ClO_4)_2 \cdot H_2O$, $Ca(ClO_4)_2 \cdot 4H_2O$, TBAF, TBACl, TBABr, TBAI, TBACH₃COOH, K_2CO_3 , $KHCO_3$, Na_2SO_4 , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , As^{5+} standart çözeltisi, Sb^{3+} standart çözeltisi, Sn^{2+} standart çözeltisi, metanol (spektrometrik saflıkta), pH 1,0 tamponu: Gilisin, sodyum klorür, hidroklorik asit, pH 2,0 tamponu: Sitrik asit, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, pH 3,0 tamponu: Sitrik asit, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, pH 4,0 tamponu: Potasyum hidrojen ftalat, pH 5,0 tamponu: Sitrik asit, sodyum hidroksit, pH 6,0 tamponu: Sitrik asit, sodyum hidroksit, pH 8,0 tamponu: Borik asit, sodyum hidroksit, hidroklorik asit reaktifleri kullanılmış olup, bu kimyasal reaktiflerin tümü Merck (Darmstadt/Germany) ve Fluka (Buch/Switzerland) firmalarından temin edilmiştir. Toprak-kum standart referans materyali (HPS, sandy-soil CRM-SA-C) ve bitki standart materyali (Polish CRM, Mixed Polish Herbs, INCT-MPH-2) High Purity Standart Inc., firmasından temin edilmiştir.

2.3. Çözeltilerin Hazırlanması

2.3.1. Metal Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmalar boyunca kullanılan Fe^{3+} çözeltisi, silikajel mavisi yanında vakumda kurutulan $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ tuzundan hazırlanan 1000 ppm'lik stok çözeltinin uygun oranda seyreltilmesi ile günlük olarak hazırlandı ve kullanıldı.

Kullanılan bütün metal katyonlar, silikajel mavisi yanında vakumda kurutulan nitrat ve perklorat tuzlarından uygun miktarlar tartılması sureti ile suda çözülerek hazırlanan stok çözeltilerden seyreltilerek kullanıldı.

2.3.2. Ligant Çözeltisinin Hazırlanması

0,5 g Ni-Pc tartılıp, 10 mL metanol çözücüsünde çözüldü ve son hacim metanol ile 100 mL'ye tamamlandı. Deneyler boyunca Ni-Pc'nin hazırlanan bu stok çözeltisi ($3,8 \times 10^{-3}$ M) uygun oranda seyreltilerek kullanıldı.

2.4. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

2.4.1. 1-(2-Hidroksietil)4-piperidon Etilen Ketal (1) Sentezi

300 mL'lik üç boyunlu bir balona 1,4-dioksa-8-azaspiro[4.5] dekan (5 g, 35,0 mmol) 100 mL kuru asetonitrilde $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de çözüldü. Üzerine kuru K_2CO_3 (14,5 g, 105,0 mmol) ilave edilerek yarım saat karıştırıldı. $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deki bu karışıma 30 mL kuru asetonitrilde çözülmüş (4,38g, 35,0 mmol) 2-bromoetanol 3 saatte damla damla ilave edildi. Damlatma tamamlandıktan sonra reaksiyon karışımı $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de azot atmosferinde geri soğutucu altında 5 gün kaynatıldı. İnce tabaka kromatografisi ile reaksiyon başından sonuna kadar kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon içeriği mavi bant süzgeç kağıdı ile süzülerek oluşan tuz ortamdan uzaklaştırıldı. Karışımda bulunan çözücü (asetonitril) düşük basınç altında evaporatörde kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Yağimsı kalıntıya 50 mL etanol ilave edildi ve oda sıcaklığında 1 gün karıştırıldı. Çöken katı kısım por:5 krozeden süzüldü ve vakum etüvünde $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kurutuldu. Verim: 8,14 g (%74), [121].

2.4.2. 4-Nitroftalimid Sentezi

250 mL'lik bir beher içine 25 mL H_2SO_4 kondu ve üzerine 6,5 ml % 65'lik HNO_3 yavaş yavaş ilave edildi. Bu karışım $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulduktan sonra ftalimid (5 g, 0,034 mol) küçük kısımlar halinde ilave edildi. Karışım $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 1 saat karıştırıldıktan sonra $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutuldu. Daha sonra karışım 150 g buza yavaş yavaş döküldü. Oluşan çökelti krozeden süzüldü ve saf suyla yıkandı. Elde edilen katı madde 200 mL etanolde ısıtılarak çözüldü ve kristallendirildi, daha sonra da vakum desikatöründe kurutuldu. Verim: 5,87 g (%45), E. n: $197 - 199\text{ }^{\circ}\text{C}$ [122].

2.4.3. 4-Nitroftalamid Sentezi

500 mL'lik tek boyunlu bir balona 4-nitroftalimid (5,7 g, 29,6 mmol) ve 35 mL %30'luk NH_3 kondü ve oda sıcaklığında 24 saat karıştırıldı. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı krozeden süzöldü ve katı madde saf suyla yıkandı. Katı maddeye 150 mL THF ilave edildi ve karıştırıldı. Beyaz katı madde krozeden süzöldü ve vakum etövünde 110 °C'de kurutuldu. Verim: 5,2 g (%84), E. n: 198 °C [122].

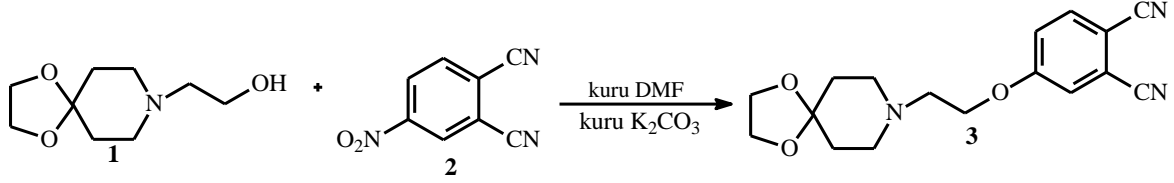
2.4.4. 4-Nitroftalonitril Sentezi (2)

250 mL'lik üç boyunlu bir balona 50 mL kuru DMF kondü ve reaksiyon ortamının sıcaklığı buz banyosu ile 0 °C'ye ayarlandı. Reaksiyon karışımı üzerine 5 mL tiyonil klorür sıcaklık 5 °C'yi geçmeyecek şekilde yavaş yavaş ilave edildi. İlaveden sonra karışım oda sıcaklığında 10 dakika karıştırıldı. Bu karışıma 4-nitroftalamid (5 g, 23,9 mmol) yavaş yavaş sıcaklık 5 °C'yi geçmeyecek şekilde ilave edildi. İlaveden sonra reaksiyon karışımı 3 saat daha oda sıcaklığında karıştırıldı ve 150 g buza dököldü. Oluşan katı madde krozeden süzöldü. Elde edilen katı madde önce % 5'lik NaHCO_3 çözültisiyle daha sonra fazla miktarda soğuk saf su ile yıkandı. Elde edilen açık sarı renkli katı madde vakum etövünde 65 °C'de kurutuldu. Verim: 3,35 g (%81), E. n: 193 °C [122].

2.4.5. 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksi]ftalonitril Sentezi (3)

300 mL'lik üç boyunlu bir balona azot atmosferinde 1-(2-Hidroksietil)4-piperidon etilen ketal (2 g, 10,69 mmol), 40 mL kuru DMF ve 4-nitroftalonitril (2,13 g, 10,69 mmol) kondü. Karışım 50 °C'de 10 dakika karıştırıldıktan sonra kuru K_2CO_3 (4,64 g, 32,07) 2 saatte küçük kısımlar halinde ilave edildi. Daha sonra reaksiyon ortamının çözünmüş oksijeni giderildi. Reaksiyon içeriği azot atmosferinde 50 °C'de 72 saat karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığına soğutuldu ve 100 g buza dökölerek 1 gün karıştırıldı. Sulu faz kloroform (3x50 mL) ile ekstrakte edilerek organik faz kuru MgSO_4 üzerinden kurutulurak kloroform düşük basınç altında evaporatörde kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Ele geçen ham ürün etanolden kristallendirildi. Katı madde vakum desikatöründe kurutuldu ve açık krem rengi madde elde edildi. Elde edilen bileşiğin CH_3OH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, CH_2Cl_2 , CHCl_3 , DMF,

THF, DMSO çözücülerinde çözünür olduğu belirlendi. Verim: 2,67 g (80%), E. n: 85 - 86 °C [123]

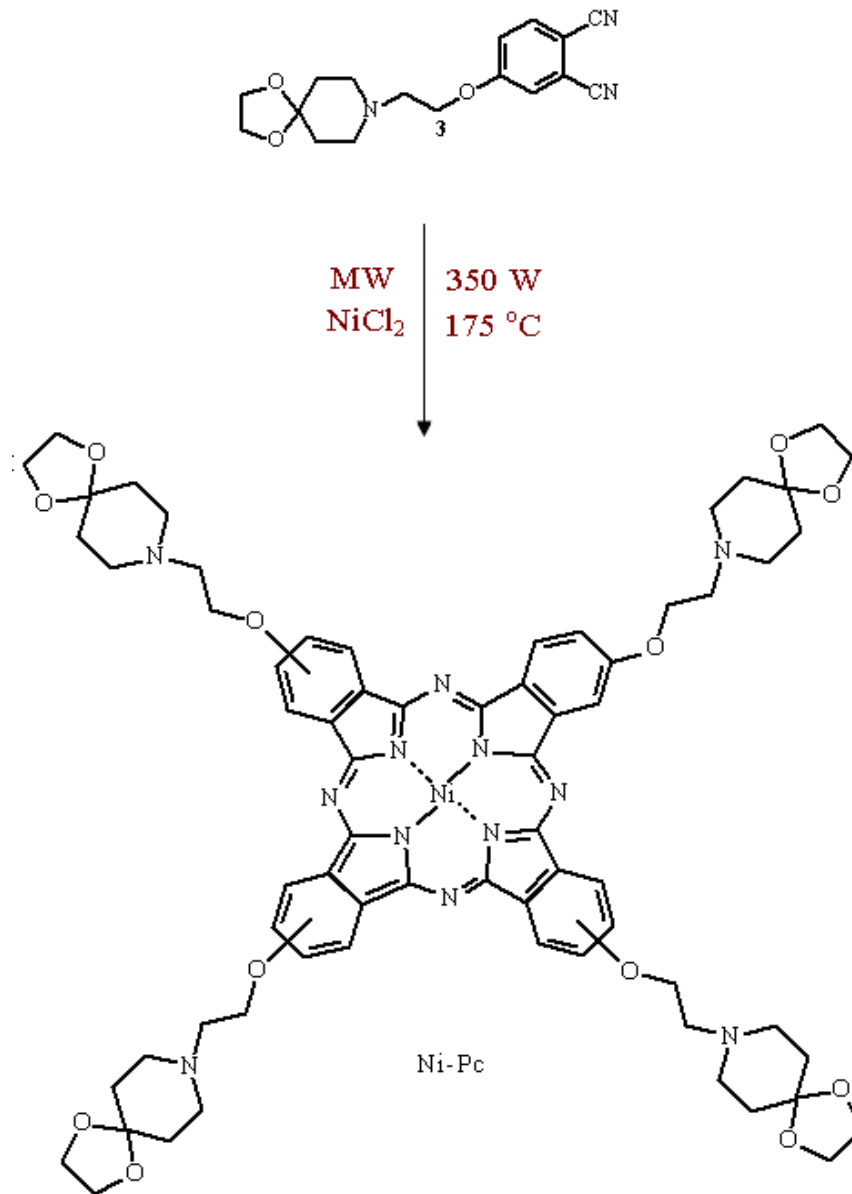


Şekil 23. 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksi]ftalonitril (3) bileşiğinin sentezi

2.5. Ni-Pc Kompleksinin Sentezi

Mikrodalga fırında tek boyunlu 50 mL'lik bir balona, 4-[2-(1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksi]ftalonitril (0,3 g, 0,95 mol), NiCl₂ (0,03g, 0,23 mmol) ve 3 mL 2-(dimetilamino)etanol kondu. Balon içeriği mikrodalga fırında 175 °C, 350 W'da 12 dakika bekletildi ve bu süre sonunda yeşil renkli madde oluşumu gözlemlendi. Reaksiyon içeriği oda sıcaklığına soğutulup yeşil renkli içeriğe 25 mL etanol ilave edildi. Çöken ham ürün süzüldü ve 40 mL etanol ilave edilerek geri soğutucu altında kaynatıldı. Yeşil katı madde alüminyum oksit yüklü kolonda CHCl₃:CH₃OH (9:1) çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. İnce tabaka kromatografisi kullanılarak uygun fraksiyonlar birleştirildi. Birleştirilen fraksiyonlar evaporatörde düşük basınç altında kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Ele geçen koyu yeşil renkli ürüne dietileter ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı ve süzüldü. Ürün vakum etüvünde kurutuldu. Verim % 50 olup erime noktasının 300 °C'nin üzerinde olduğu belirlendi. Elde edilen 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksiftalosiyanimato nikel(II) bileşiğinin metanol, etanol, diklorometan, kloroform, dimetilformamid, tetrahidrofur, dimetilsulfoksit gibi çözücülerinde çözünür olduğu tespit edilmiştir.

IR (KBr Tablet), $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3060 (Ar-H); 2951-2822 (C-H); 1607 (C=N); 1521 (C=C); 1231 (Ar-O-CH ₂); 1126 (N-CH ₂); 1091 (O-CH ₂)
¹ H-NMR (CDCl ₃), (δ :ppm)	: Ar-H (12, m) 6,6-8,2; 4,23 O-CH ₂ (8H, bs); 3,95 O-CH ₂ (16H,bs); 3,09 NCH ₂ (8H, bs); 2,94 NCH ₂ (16H, m) 2,01 NCH ₂ (16H, m)
¹³ C-NMR (CDCl ₃), (δ :ppm)	: 160,20, 136,97, 131,13, 129,04, 123,05, 118,28, 107,43, 104,54, 68,39, 64,61, 57,41, 52,52, 38,94, 35,00
UV-Vis (CHCl ₃), $\lambda_{\text{maks}}(\log \epsilon)\text{nm}$: 284 (log $\epsilon=4,90$); 353 (log $\epsilon=5,16$), 617 (log $\epsilon=4,79$); 683 (log $\epsilon=5,43$)
MS (ES ⁺), (m/z)	: 1333 [M+Na-1] ⁺



Şekil 24. Ni-Pc bileşiğinin sentezi

2.6. Numunelerin Analize Hazırlanması

2.6.1. Gıda Numunelerinin Analize Hazırlanması

Gıda numunesi olarak; ıspanak, dereotu, semizotu, roka, nane, kurufasülye ve mercimek kullanıldı. Sebze numuneleri yaş olarak, baklagiller kuru olarak marketten temin edildi. Numuneler ilk olarak musluk suyu ile daha sonra iki defa deiyonize su ile yıkandı. 110 °C’de bitki etüvünde kurutulan numuneler öğütücü ile parçalandıktan sonra kapalı sistem mikrodalga çözünürleştirme sistemiyle çözünürleştirildi. Bu amaç için 0,1 mg hassasiyetle tartılan katı numuneler teflon kaplara konuldu. Çözünürleştirme reaktifleri olarak 6 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ kullanıldı. Numuneler kapalı sistem mikrodalga çözünürleştirme ünitesinde Tablo 3’te verilen programa göre çözünürleştirildi. Elde edilen çözeltiler membrandan süzöldükten sonra kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve son hacim 25 mL olacak şekilde deiyonize su ile seyreltildi. Hazırlanan numune çözeltileri buzdolabında saklandı.

Tablo 3. Katı numunelerin mikrodalga cihazı ile çözünürleştirilmesi için uygulanan program

Basamak	Zaman (dakika)	Güç (W)	Basınç (atm)	Sıcaklık (°C)
1	6	250	45	160
2	6	400	45	180
3	6	650	45	220
4	6	250	45	220
Havalandırma süresi : 3 dk				

2.6.2. Demir İçeren İlaç Tabletlerinin Analize Hazırlanması

Bu çalışmada iki farklı ticari demir tableti analiz edildi. Bu tabletler Tablet 1 ve Tablet 2 olarak adlandırıldı. Demir tabletleri ıslak yakma prosesine göre çözünürleştirildi. Bir beher içerisine kuru demir tabletinden bir adet konularak 60 mL deiyonize suda ultrasonik banyo yardımı ile çözüldü. Beher ısıtıcı üzerine alınarak çözelti sıcaklığının 200 °C’ye gelmesi sağlandı. Çözelti üzerine 30 dakikada bir olmak üzere toplam 3 mL derişik HNO₃ asit ilave edildi. Bu işlem boyunca çözelti sıcaklığının 200 °C’de olması sağlandı.

Çözelti oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra membrandan süzülerek son hacim deiyonize su ile 25 mL'ye seyreltildi. Hazırlanan tablet çözeltileri buzdolabında saklandı.

2.6.3. Standart Referans Materyallerin Analize Hazırlanması

Metodun doğruluğunun gösterilmesi çalışmasında standart referans materyal olarak, toprak-kum standart referans materyali (HPS, sandy-soil CRM-SA-C) ve bitki standart referans materyali (Polish CRM, Mixed Polish Herbs, INCT-MPH-2) kullanıldı. 0,1 mg hassasiyetle tartılan katı standart numuneler teflon kaplara konuldu. Çözünürleştirme reaktifleri olarak 4,5 mL HCl, 1,5 mL HNO₃, 1,0 mL HF ve 2 mL H₂O₂ kullanıldı. Numuneler kapalı sistem mikrodalga çözünürleştirme ünitesinde Tablo 3'te verilen programa göre çözünürleştirildi. Elde edilen çözeltiler membrandan süzöldükten sonra kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve son hacim 25 mL olacak şekilde deiyonize su ile seyreltildi. Hazırlanan numune çözeltileri buzdolabında saklandı.

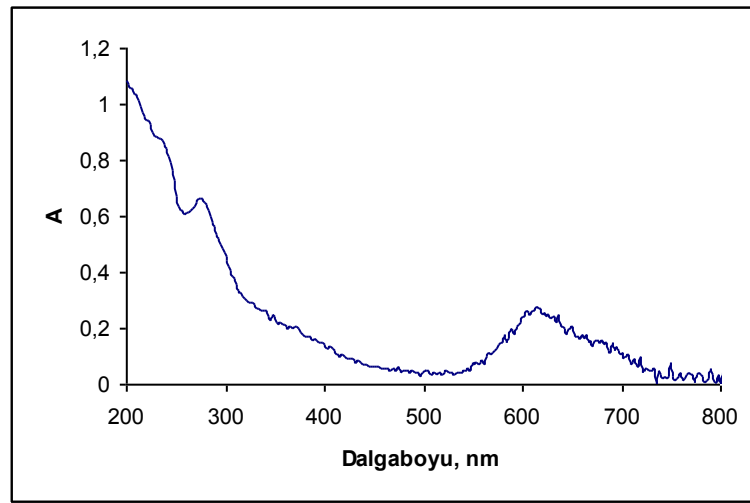
3. BULGULAR

3.1. Ligant Çözücüsünün Tespiti

Analitik amaçlı çalışmalar için ligandın (Ni-Pc) kloroform, diklorometan, THF, asetonitril ve metanol gibi çözücülerde çözünürlüğü kontrol edilmiştir. Bu çözücülerden metanolde iyi sonuçlar alınmıştır. Ayrıca metanolün su ile karışabilen çözücü olması gerçek numunelerin sudaki çözeltilerinde çalışılması hedeflendiğinden bir avantaj olarak düşünülmüş ve demirin metanol/su karışımında direkt tayinine imkan sağlayacağından ligant çözücüsü olarak metanolün kullanılmasına karar verilmiştir.

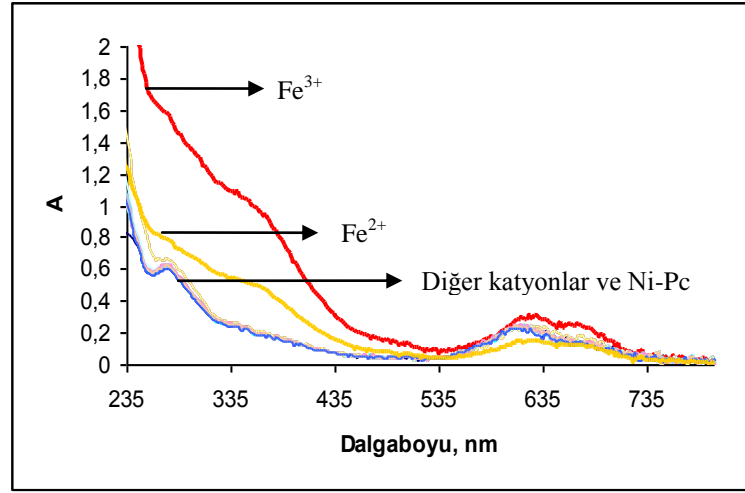
3.2. Spektrofotometrik Ölçümler

Ligandın metanolde $1,0 \times 10^{-5}$ - $5,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlandı. 2 mL ligant çözeltilerine 2 mL deiyonize su eklenerek oda sıcaklığında 5 dak. vorteks çalkalayıcı ile çalkalandı. Oluşan çözeltilerin 200 - 800 nm'ler arası absorpsiyon spektrumları alındı. Uygun absorbans değerleri $2,5 \times 10^{-5}$ M ligant çözeltisi için elde edildi (Şekil 25).



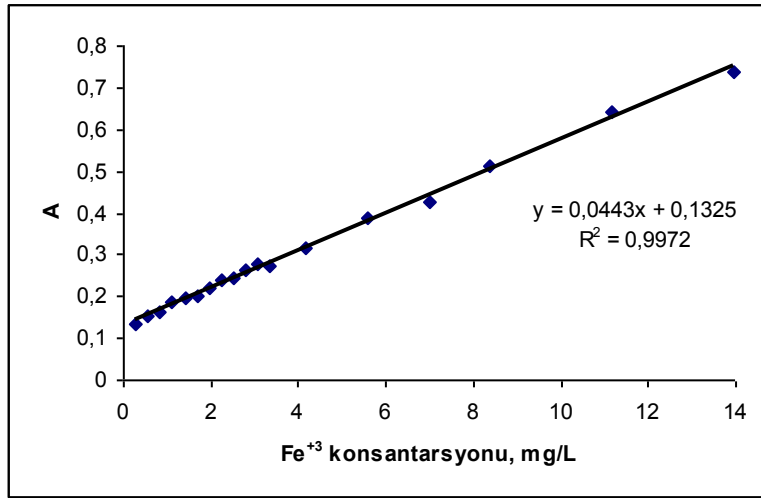
Şekil 25. Ligandın UV-Vis. absorpsiyon spektrumu ($[Ni-Pc]: 2,5 \times 10^{-5} M$)

Metal katyonlarının ligandın absorpsiyon spektrumuna etkisini belirlemek için 2 mL $5,0 \times 10^{-5}$ M ligant çözelti sine 2 mL $5,0 \times 10^{-4}$ M metal nitratların sudaki çözeltileri eklenerek 5 dak. vorteks çalkalayıcı ile çalkalandı. Her bir çözeltinin UV-Visible spektrofotometresinde absorpsiyon spektrumları ölçüldü (Şekil 26).



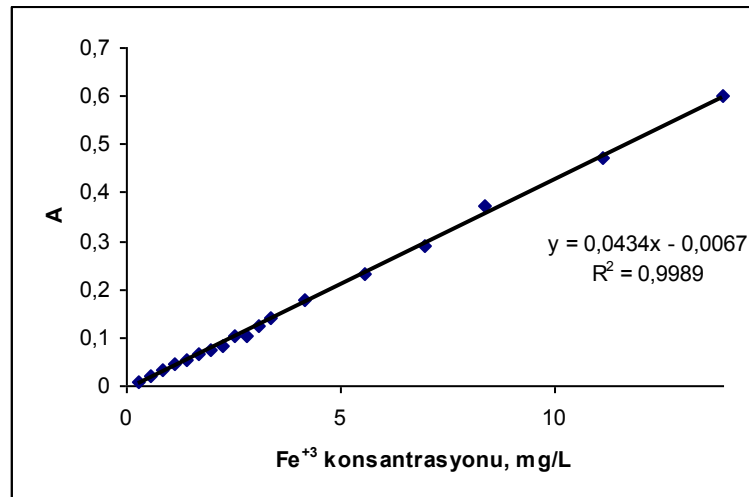
Şekil 26. Ligandın UV-Vis. absorpsiyon spektrumuna on katı konsantrasyondaki metal katyonlarının etkisi

Spektrumlar incelendiğinde sadece Fe^{2+} ve Fe^{3+} katyonlarının ligandın absorbansında önemli bir artışa neden olduğu, K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} ve Mn^{2+} katyonlarının ligandın absorpsiyon spektrumuna etkilerinin çok az olduğu görüldü. Bu nedenle ligandın Fe^{3+} ile etkileşimi spektrofotometrik titrasyon uygulanılarak ayrıntılı olarak incelendi. Bunun için artan konsantrasyonda Fe^{3+} 'ün sabit konsantrasyondaki ligant çözeltisinin UV-Visible absorpsiyon spektrumuna etkisi belirlendi. Ligant çözeltisinin konsantrasyonu $2,5 \times 10^{-5}$ M'dir. Bu çalışmalarda kullanılan metal konsantrasyonu aralığı 0,3 - 13,9 mg/L'dir.



Şekil 27. Artan Fe³⁺ konsantrasyonunun ligandın 350 nm'deki absorpsiyonuna etkisi

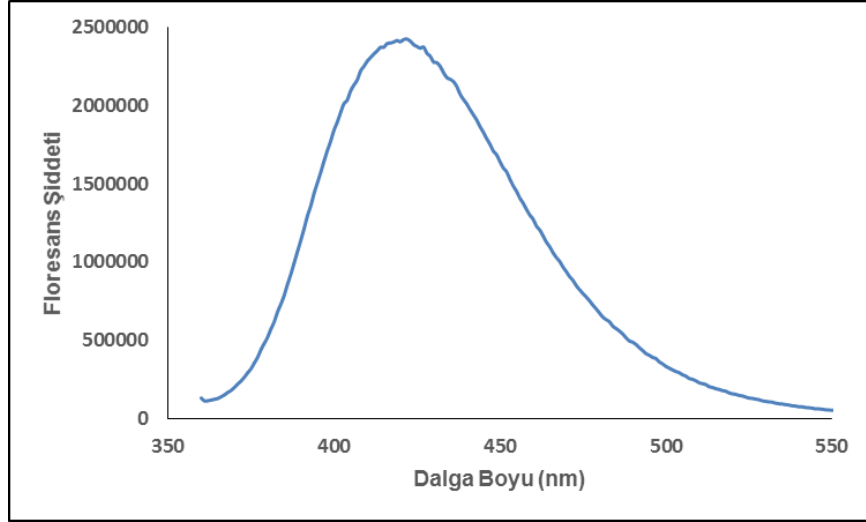
Spektrofotometrik titrasyon sonucunda artan Fe³⁺ konsantrasyonunun ligandın 350 nm'deki absorpsiyon şiddetini düzenli olarak arttırdığı görüldü (Şekil 27). Spektrofotometrik titrasyonu ortamda ligant yokken gerçekleştirdiğimizde de (Şekil 28) artan Fe³⁺ konsantrasyonunda artan absorpsiyon değerleri gözlemlendiği için düzenli değişimin liganttan kaynaklanmadığı anlaşıldı ve Fe³⁺ tayini için spektrofotometrik çalışmalardan faydalanamayacağımız sonucuna varıldı.



Şekil 28. Artan Fe³⁺ konsantrasyonunun 350 nm'deki absorpsiyondaki değişimi

3.3. Spektroflorimetrik Ölçümler

Floresans spektrumu alınırken ligant çözeltisi 350 nm’de uyarıldı. Slit aralığı 1 nm olarak ayarlandı. Emisyon spektrumu 360-560 nm’ler arasında alındı. Bu şartlar altında maksimum floresans şiddetinin 425 nm’de olduğu belirlendi.



Şekil 29. Metanol:su (1:1) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M Ni-Pc bileşiğinin floresans spektrumu (Uyarma dalga boyu:350 nm)

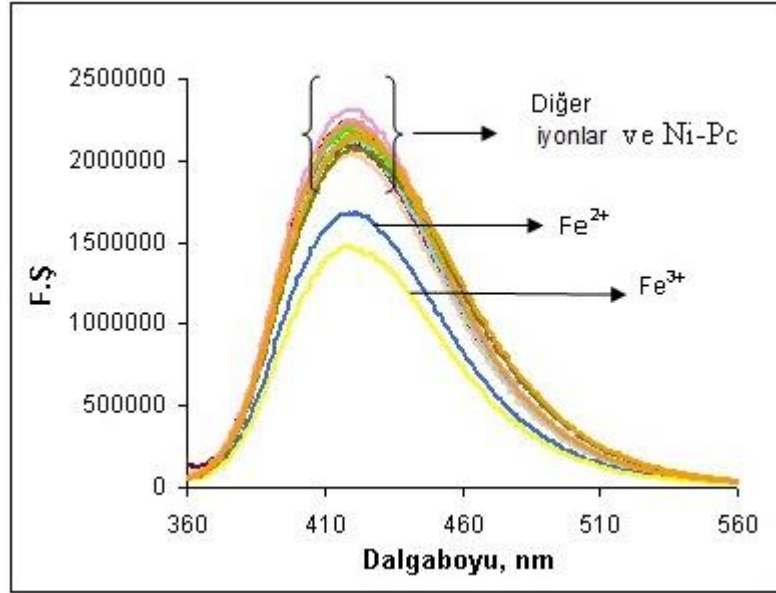
3.3.1. Ligant Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Önerilen analitik metotta kullanılacak ligant çözeltisinin konsantrasyonunu belirlemek için $1,0 \times 10^{-5}$ - $1,0 \times 10^{-7}$ M arasında değişen ligant çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin her birinden alınan 2’şer mL’lik kısımların üzerine 2 mL deiyonize su ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin emisyon spektrumları alındı.

3.3.2. Kemosensör Özelliğinin Belirlenmesi

Ligandın etkileştiği metal katyonlarının tespit edilebilmesi için, ligant konsantrasyonunun 10 katı metal içeren çözeltilerin emisyon spektrumları kaydedildi. Bu amaç için 2 mL $2,0 \times 10^{-6}$ M ligandın metanoldeki çözeltisine 2 mL $2,0 \times 10^{-5}$ M metal nitrat veya perkloratların sudaki çözeltileri eklenerek 5 dak. vorteks çalkalayıcı ile çalkalandı. Daha sonra bu çözelti karışımlarının floresans spektrumları kaydedildi. Floresans

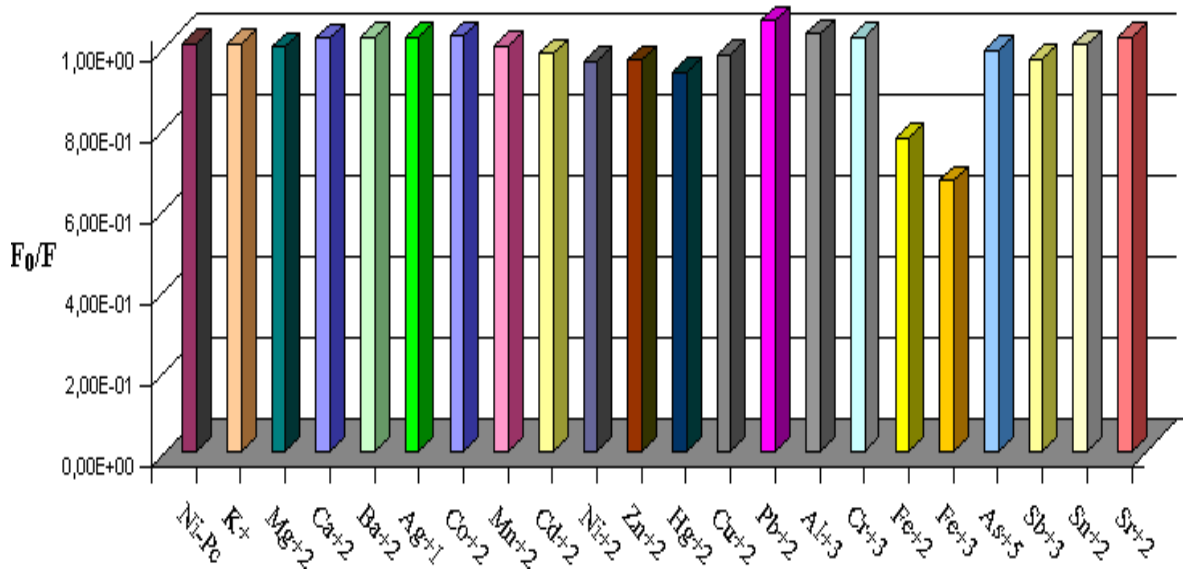
spektrumları incelendiğinde, K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , As^{5+} , Sb^{3+} , Sn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} ve Mn^{2+} katyonlarından sadece Fe^{3+} 'ün ve Fe^{2+} 'nin varlığında spektrumda önemli değişimler gözlemlendi. İncelenen metal katyonlar arasından sadece Fe^{3+} ve Fe^{2+} katyonları ligandın floresans şiddetinde önemli azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 30).



Şekil 30. Ligandın floresans spektrumuna bazı katyonların 10 kat etkisi.

3.3.3. Seçimliliğin Belirlenmesi

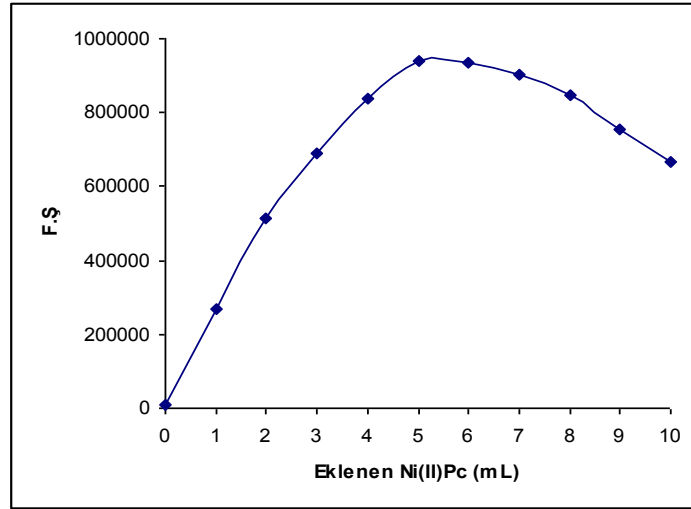
Seçimliliği göstermek için ligandın floresans şiddetini temsil eden F_0 değerinin metal-ligant karışımının floresans şiddetini temsil eden F' 'ye oranları 425 nm'deki floresans şiddetlerinin ölçümü ile belirlenmiştir (Şekil 31).



Şekil 31. Ligandın 425 nm'deki floresans şiddetinin 10 kat metal konsantrasyonu varlığındaki floresans şiddetlerine oranı

3.3.4. Kompleks Oluşumunun Belirlenmesi

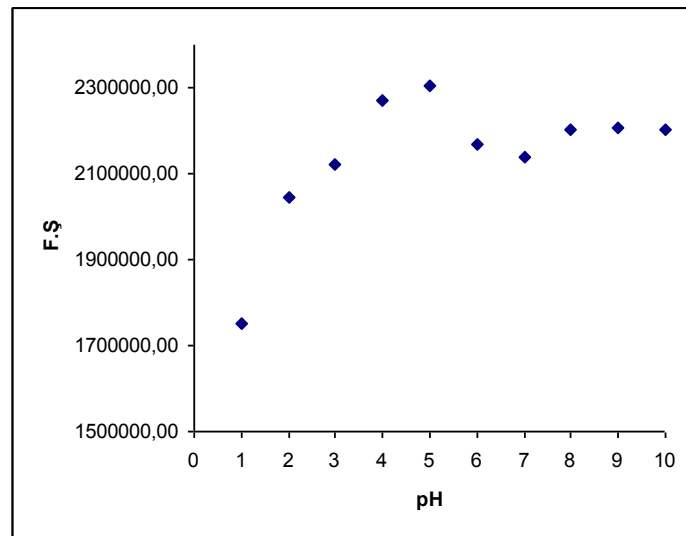
Ligandın Fe^{3+} ile oluşturduğu kompleksin stokiyo metrisi Job metodu kullanılarak bulundu. Job metodu [81] ile M:L oranını tespit etmek için ligant ve metal çözeltilerinin konsantrasyonları $1,0 \times 10^{-4} M$ olarak hazırlandı ve pH 5,0'a ayarlandı. Ligandın konsantrasyonu artarken metalin konsantrasyonunun azaldığı bir seri çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerin 425 nm'deki emisyon şiddetleri ligant hacmine karşı grafiğe geçirildi. Bu şekilde Job grafiği elde edildi. Elde edilen şekilde maksimum noktaya karşılık gelen değerin 5 mL Ni-Pc olduğu görüldü (Şekil 32). Geri kalan 5 mL'de metale aittir. Buna göre Fe^{3+} :Ni-Pc kompleksinin oranı (5/5) 1:1'dir.



Şekil 32. Job metodu ile ligant:metal stokiyometrisinin belirlenmesi

3.3.5. pH'ın Etkisinin Belirlenmesi

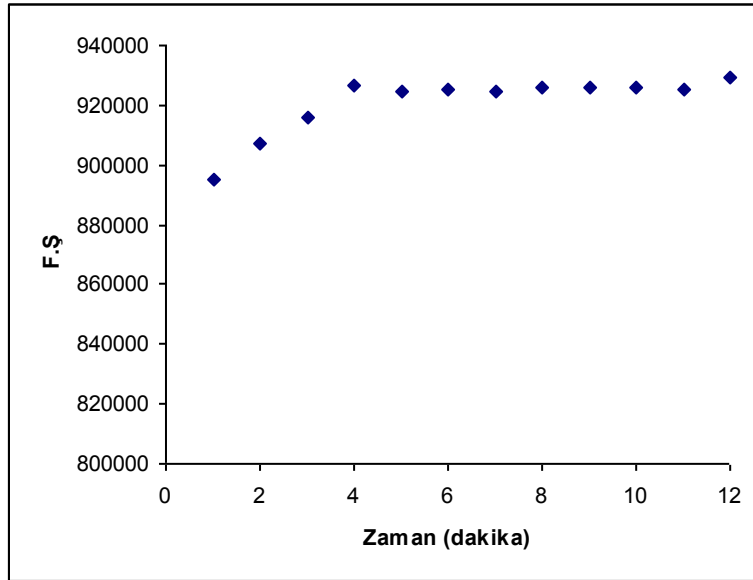
Spektroflorimetrik Fe^{3+} tayini gerçekleştirilirken ortamın hangi pH aralığında olması gerektiği tespit edildi. Bunun için ekivalent miktarda ($1,0 \times 10^{-6} M$) ligant ve Fe^{3+} içeren karışımların pH'ı uygun tampon çözeltiler kullanılarak 1,0'dan 10,0'a kadar ayarlandı. Her bir karışımın emisyon spektrumu alındı. 425 nm'deki emisyon şiddetleri pH değerlerine karşı grafiğe geçirildi. Böylece maksimum emisyon şiddetinin olduğu pH değerleri 5,0 olarak belirlendi (Şekil 33).



Şekil 33. Ligant:metal 1:1 kompleksinin farklı pH'lardaki floresans şiddeti

3.3.6. Kompleks Kararlılığının Zamanla Değişimi

2 mL $2,0 \times 10^{-6}$ M ligandın metanoldeki çözeltisine 2 mL $2,0 \times 10^{-6}$ M Fe^{3+} 'ün sudaki çözeltisi eklenip 5 dak. vorteks çalkalayıcıda çalkalandı ve emisyon spektrumu alındı. Bu çözeltinin 1-35 dakika arasında emisyon şiddetindeki değişimler ölçüldü. Floresans şiddetinin sabit kaldığı süre belirlendi. Fe^{3+} -ligant 1:1 kompleksinin dördüncü dakikadan itibaren kararlılığa ulaştığı ve 12 dakika boyunca kararlı kaldığı tespit edildi. Kompleksleşmenin kısa sürede gerçekleşmesi spektrofotometrik demir tayini için önerilen metodun hızlı olmasını sağladığından bu sonuç önemlidir.



Şekil 34. Ligant:metal 1:1 kompleksinin floresans şiddetinin zamanla değişimi

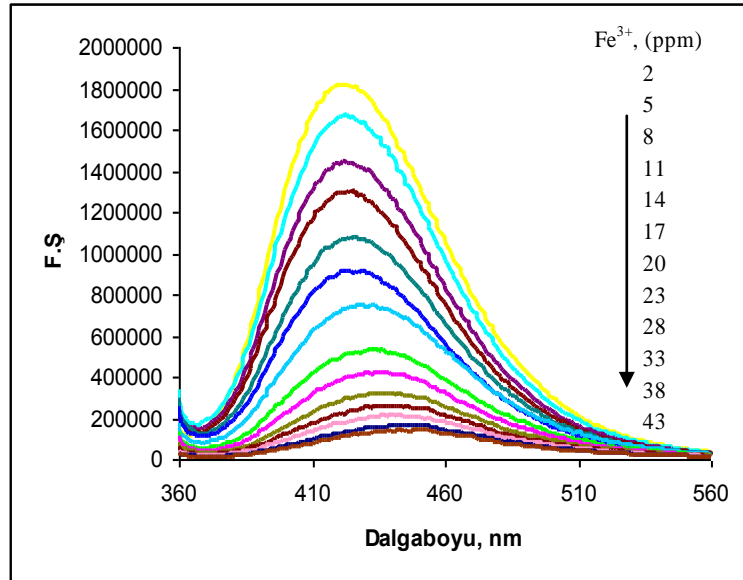
3.4. Önerilen Metot

Bütün tüplere, 1 mg/L sabit standart Fe^{3+} , 2 mL $2,0 \times 10^{-6}$ M ligant çözeltisi, uygun hacimde numune konuldu. İlk tüpe numune konmadı. İkinci tüpe 1 mg/L sabit standardın dışında standart ilave edilmedi. Üçüncü tüpten itibaren diğer tüplere giderek artan konsantrasyonda standart demir (III) nitrat çözeltisinden uygun hacimler ilave edildi. Bütün tüplerin pH'ı sitrik asit-sodyum hidroksit tamponu ile 5,0'a ayarlanarak son hacimleri 4 mL'ye tamamlandı. Floresans şiddetleri 425 nm'de ölçüldü. Uyarıcı dalga boyu 350 nm'dir. İlk tüpün floresans şiddeti F_0 , ikinci tüpün floresans şiddeti F olarak

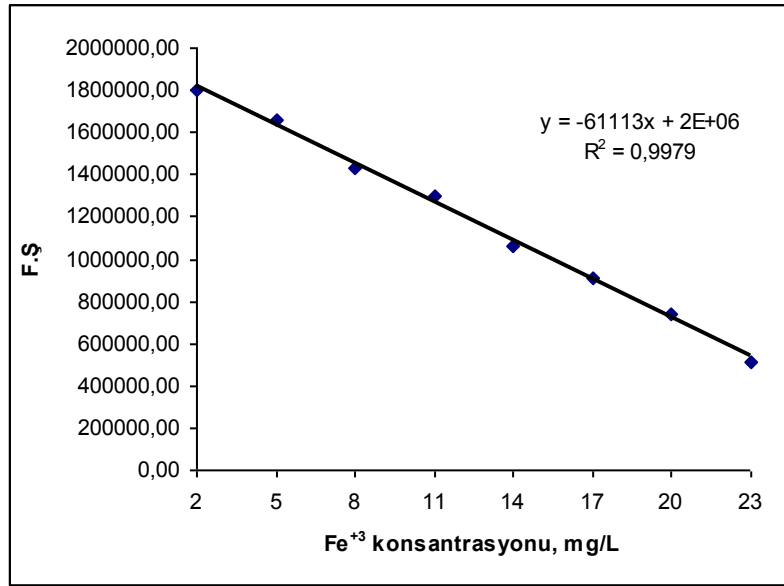
alındı. Artan standart konsantrasyonuna (ppm) karşı floresans şiddetleri grafiğe geçirildi. F_0-F değerinin kalibrasyon grafiğinin eğimine bölünmesi ile numunedeki Fe^{3+} miktarı belirlendi (Şekil 40).

3.5. Metodun Optimizasyonu

Bu çalışma kapsamında geliştirilen metodun optimize edilen ilk parametresi ligant konsantrasyonudur. Bunun için $2,0 \times 10^{-6}$ - $2,0 \times 10^{-7}$ M konsantrasyon aralığındaki bir seri ligant çözeltisinin Fe^{3+} ile spektrofotometrik titrasyonları gerçekleştirildi. Her bir titrasyon için floresans şiddetleri dalga boyuna karşı grafiğe geçirildi. Bütün grafiklerin maksimum şiddet verdikleri dalga boyu olan 425 nm'deki emisyon şiddetleri artan Fe^{3+} konsantrasyonuna (mg/L) karşı grafiğe geçirildi (Şekil 35). Bu konsantrasyonlarda en yüksek R^2 değeri veren kalibrasyon grafiği $1,0 \times 10^{-6}$ M ligant çözeltisi için elde edilen spektrofotometrik titrasyona ait grafiklerdir (Şekil 36). Daha düşük ligant konsantrasyonlarında artan Fe^{3+} konsantrasyonu ile beklenen düzenli floresans cevabı elde edilemediğinden çalışmanın devamında bu ligant konsantrasyonunun kullanılmasına karar verildi.



Şekil 35. Artan Fe^{3+} konsantrasyonuna karşı ligandın floresans şiddetindeki değişim ($[Ni-Pc] = 1,0 \times 10^{-6}$ M)



Şekil 36. Ligandın 425 nm'deki floresans şiddetinin artan Fe³⁺ konsantrasyonu ile değişimi ([Ni-Pc] = 1,0x10⁻⁶ M)

Metodun optimize edilen ikinci parametresi ortamın pH'ı ve kullanılan tamponun türüdür. Ligandın Fe³⁺ ile oluşturduğu kompleksin en yüksek floresans şiddetini pH 5,0'da verdiği spektrofotometrik ölçümler kısmında belirlendi. Bu ölçüm için sitrik asit-sodyum hidroksit tamponu kullanıldı. Kullanılan tamponu optimize etmek için sitrik asit-sodyum hidroksit, asetik asit-amonyum asetat, HEPES ve borik asit-sodyum hidroksit-hidroklorik asit tamponları kullanılarak elde edilen farklı pH değerlerinde, ligant ile Fe³⁺ tayinleri yapıldı. % hatası 5'in altında olan ölçümün pH'ın sitrik asit-sodyum hidroksit tamponu ile 5,0'a ayarlandığı çalışma olduğu görüldü (Tablo 4). Sonuç olarak tampon çözelti olarak sitrik asit-sodyum hidroksit tamponunun kullanılmasına ve tayin pH'ı olarak pH 5,0'a karar verildi.

Tablo 4. Tampon türü ve pH değıştikçe spektrofiorimetrik demir tayinindeki %BSS değeri (Numune: Tablet 1)

Kullanılan tampon	pH	% Bağıl Hata
Sitrik asit/Sodyum hidroksit/Hidroklorik asit	3,1	15,1
Asetik asit/Amonyum asetat	4,3	12,3
Sitrik asit/Sodyum hidroksit	5,0	2,99
Asetik asit/Amonyum asetat	5,0	6,8
Sitrik asit/Sodyum hidroksit	6,0	8,9
HEPES	7,1	61,9
Borik asit/Sodyum hidroksit/Hidroklorik asit	8,5	75,4

Metodun optimize edilen üçüncü parametresi sabit standart konsantrasyonudur. Sabit standart konsantrasyonunun 0,5 – 5 mg/L arasında olduğu bir seri çalışmada ligant ile Fe³⁺ tayinleri yapıldı. Bunun için 6 mg/L Fe³⁺ içeren Tablet 1 çözeltisi, sabit standart konsantrasyonu 0,5, 1, 1,5 ve 2 mg/L olan çalışmalarla tayin edildi. Bu çalışmalarda diğeri tüm parametreler sabit tutulup sadece sabit standart konsantrasyonu değıştirildi. % hatası 5'in altında olan ölçümün 1 mg/L sabit standart konsantrasyonunda olduğu görüldü (Tablo 5).

Tablo 5. Sabit standart konsantrasyonu değıştikçe spektrofiorimetrik demir tayinindeki %BSS değeri (Numune: Tablet 1)

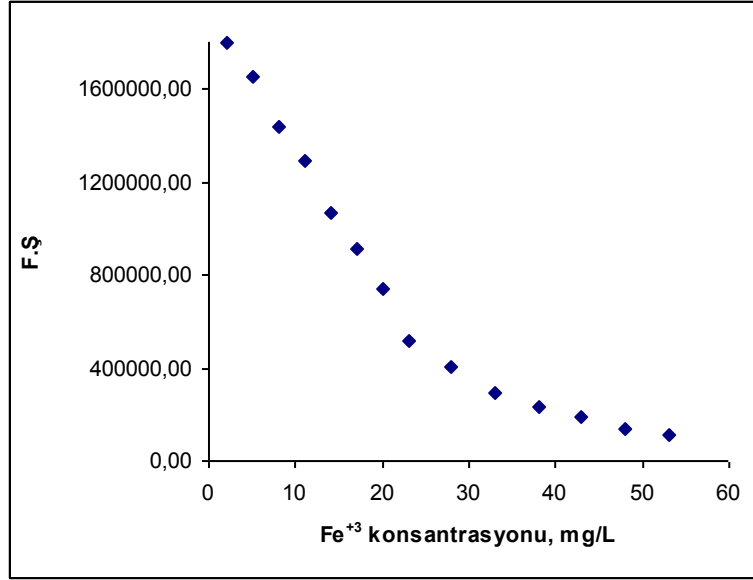
Sabit Standart Konsantrasyonu (mg/L)	% Bağıl Hata
0,5	5,6
1	1,7
1,5	6,7
2	6

3.6. Metodun Validasyonu

3.6.1. Çalışma Aralığının Belirlenmesi ve Lambert-Beer Kanunu

Demirin spektrofiorimetrik tayini için geliştirilen yöntemin doğrusal çalışma aralığı spektrofiorimetrik titrasyon ile belirlendi. Artan Fe³⁺ iyonu konsantrasyonu ile ligant çözeltisinin floresans şiddetindeki düzenli azalmanın görüldüğü konsantrasyon aralığının

2-23 mg/L arası olduğu tespit edildi. 23 mg/L'den sonra Lambert-Beer Kanunu'ndan sapma görüldü (Şekil 37).



Şekil 37. Fe³⁺'ün tayini için belirlenen doğrusal aralık ve Lambert-Beer kanunundan sapma

3.6.2. Gözlenebilme Sınırı (GS) ve Tayin Sınırının (TS) Belirlenmesi

Metodun gözlenebilme sınırı, 11 adet tanık numunenin analizinden elde edilen sinyallerin standart sapmasının üç katının kalibrasyon grafiğinin eğimine oranı alınarak 1,29 mg/L olarak hesaplandı.

Metodun tayin sınırı, 11 adet tanık numunenin analizinden elde edilen sonuçların sinyallerin standart sapmasının dokuz katının kalibrasyon grafiğinin eğimine oranı alınarak 3,88 mg/L olarak hesaplandı.

3.6.3. Metodun Doğruluğunun Tespit Edilmesi

Metodun doğruluğunu göstermek için iki yöntem kullanıldı.

1. Standart referans materyallerin analizi: Metodun doğruluğunun tespiti için iki ayrı standart referans materyal önerilen metotla analiz edildi. Bunlar toprak-kum standart referans materyali (HPS, sandy-soil CRM-SA-C) ve bitki standart referans materyali

(Polish CRM, Mixed Polish Herbs, INCT-MPH-2)'dir. Üç tekrar numunesi analiz edildi ve her iki standart referans materyalin analizi için de sonuçlar arasındaki fark ($X_R - X_{ORT}$), kritik değer (ts/\sqrt{N})'den % 95 güven seviyesi ile daha düşük bulundu. Böylece gözlenen hatanın rastgele hatalardan kaynaklandığına karar verildi (Tablo 6). Dolayısıyla metodun doğruluğu gösterildi.

Tablo 6. Standart referans materyallerin önerilen metotla analizinden elde edilen sonuçların öğrenci t-testi (student's t-test) ile irdelenmesi

Element	Veriler					
	s	X_R	X_{ORT}	$X_R - X_{ORT}$	$*ts/\sqrt{N}$	Karşılaştırma
Fe ^a	0,04	5,30	5,36	0,06	0,10	0,06 < 0,10
Fe ^b	0,06	5,00	4,99	0,01	0,15	0,01 < 0,15

^a Toprak-kum standart referans materyali (HPS, sany-soil CRM-SA-C)S
^b Bitki standart referans materyali (Polish CRM, Mixed Polish Herbs, INCT-MPH-2)
 $*t = 4,30$ (%95 güven seviyesinde), N: 3
 X_R = Standart referans materyallerin demir konsantrasyonu
 X_{ORT} = Standart referans materyallerin önerilen metotla bulunan demir konsantrasyonu

2. Standart metodlarla analiz: Yöntemin doğruluğunu tespit etmek için numuneler literatürde bilinen standart metotlarla analiz edildi. Önerilen metotla elde edilen sonuçlar referans metotlardan elde edilenler ile karşılaştırıldı. Bunun için gıda numuneleri ICP spektroskopik metodu ile Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvarında, ticari ilaç tabletleri ise Düzen Norwest Laboratuvarında (Ankara) analiz ettirildi. Aynı numunelerin paralelleri önerilen metotla analiz edildi. Sonuçlar t- testi ile istatistiksel olarak değerlendirildiğinde yukarıda anlatıldığı gibi %95 güven seviyesinde önerilen metot sonuçları ile akredite laboratuvar sonuçları arasındaki farklılıkların rastgele hatalardan kaynaklandığı görüldü (Tablo 7, 8). Böylece önerilen metodun bir sistematik hatasının olmadığı sonucuna varıldı. Dolayısıyla yöntemin doğruluğu tekrar gösterildi. Akredite laboratuvarın kullandığı ICP metodunun projede önerilen metottan (spektroflorimetrik) farklı bir prensibe dayanması önerilen metodun doğruluğunu teyit etmede daha anlamlı olmuştur.

Tablo 7. Ticari ilaç tabletleri için akredite laboratuardan elde edilen sonuçlarla önerilen metottan elde edilen sonuçların öğrenci t-testi (student's t-test) ile karşılaştırılması

Element	Veriler					
	s	X _R	X _{ORT}	X _R - X _{ORT}	*ts/ \sqrt{N}	Karşılaştırma
Fe ^a	0,13	6,30	6,32	0,02	0,32	0,02 < 0,32
Fe ^b	0,21	6,00	6,13	0,13	0,52	0,13 < 0,52

^aTablet 1, ^bTablet 2
*t = 4,30 (%95 güven seviyesinde), N: 3
X_R = Akredite Laboratuardan alınan demir konsantrasyonu (mg/L)
X_{ORT} = Önerilen metotla bulunan ortalama demir konsantrasyonu (mg/L)

Tablo 8. Gıda numuneleri için akredite laboratuardan elde edilen sonuçlarla önerilen metottan elde edilen sonuçların öğrenci t-testi (student's t-test) ile karşılaştırılması

Element	Veriler					
	s	X _R	X _{ORT}	X _R - X _{ORT}	*ts/ \sqrt{N}	Karşılaştırma
Fe ^a	0,18	5,00	5,00	0	0,45	0,00 < 0,45
Fe ^b	0,09	5,00	5,04	0,04	0,22	0,04 < 0,22
Fe ^c	0,04	5,63	5,57	0,06	0,09	0,06 < 0,09
Fe ^d	0,12	5,00	4,95	0,05	0,30	0,05 < 0,30
Fe ^e	0,05	5,00	4,97	0,03	0,12	0,03 < 0,12
Fe ^f	0,13	4,80	4,97	0,17	0,32	0,17 < 0,32
Fe ^g	0,07	5,00	5,11	0,11	0,17	0,11 < 0,17

^a Ispanak, ^b Nane, ^c Roka, ^d Semizotu, ^e Dereotu, ^f Kurufasulye, ^g Mercimek
*t = 4,30 (%95 güven seviyesinde), N: 3
X_R = Akredite Laboratuardan alınan demir konsantrasyonu (mg/L)
X_{ORT} = Önerilen metotla bulunan ortalama demir konsantrasyonu (mg/L)

3.6.4. Metodun Kesinliğinin Tespit Edilmesi

Metodun kesinliği iki farklı şekilde belirlendi.

a. Tekrarlanabilirlik (gün içindeki kesinlik): Bunun için 6 tekrar numunesi en az 3 farklı numune matrisi için aynı günde önerilen metotla aynı analizci tarafından analiz edildi. Ölçümlerin ortalamadan standart sapmasının ortalama değere oranının 100 katı (yani % bağıl standart sapma) hesaplandı Sonuçlar Tablo 9'da gösterildi.

Tablo 9. Gün içi kesinlik değerleri

Numune	%Bağıl Standart Sapma
Ispanak	3,73
Nane	1,85
Roka	0,91
Semizotu	2,53
Dereotu	1,09
Kurufasülye	2,63
Mercimek	2,25
Tablet 1	0,26
Tablet 2	2,11

b. Orta kesinlik (günler arasındaki kesinlik): Tekrarlanabilirlik ölçümlerindeki çalışmaların aynısı 7 gün boyunca farklı analizciler tarafından gerçekleştirildi. Benzer şekilde ölçüm sonuçları için % bağıl standart sapma değerleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 10'da gösterildi.

Tablo 10. Günler arasındaki kesinlik değerleri

Numune	%Bağıl Standart Sapma
Ispanak	1,72
Nane	2,08
Roka	0,37
Semizotu	3,65
Dereotu	1,88
Kurufasülye	3,88
Mercimek	1,07
Tablet 1	0,24
Tablet 2	1,17

Metodun kesinliğini ifade eden % bağıl standart sapma değerleri her iki parametre için de %5'in altında bulundu. Bu durum demir tayini için önerilen metodun kesinliğinin yüksek olduğunun ifadesidir.

3.7. Yabancı İyon Etkisinin Belirlenmesi

Çeşitli katyon ve anyonların demirin spektrofotometrik tayini esnasındaki bozucu etkileri araştırıldı ve tolerans limitleri tespit edildi. Bunun için $1,0 \times 10^{-6}$ M ligant ve ekivalent miktarda Fe^{3+} içeren çözeltiye uygun hacimlerde yabancı iyonlar ilave edilerek karışımlar hazırlandı. Karışımların 425 nm'deki floresans şiddetleri ekivalent miktarda ligant ve Fe^{3+} içeren çözeltinin floresans şiddeti ile karşılaştırıldı. Analiz sonucunda %5'den daha fazla farka sebep olmayan en yüksek yabancı iyon konsantrasyonu tolerans limiti olarak belirlendi ve Tablo 11'de verildi.

Tablo 11. Demir tayini için yabancı iyonların tolerans konsantrasyonları

İyonlar	Eklenen Tuzu	Tolerans Sınırı (mgL^{-1})
Na^+	Na_3PO_4	28
K^+	KClO_4	156
Mg^{2+}	MgSO_4	98
Ca^{2+}	$\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$	160
Sr^{2+}	$\text{Sr}(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	350
Ba^{2+}	$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$	550
Al^{3+}	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	11
Ag^+	AgNO_3	43
NH_4^+	$\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COOH}$	7,2
Cu^{2+}	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	508
Co^{2+}	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	472
Hg^{2+}	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	100
Pb^{2+}	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	1656
Ni^{2+}	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	294
Cd^{2+}	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	562
Zn^{2+}	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	327
Mn^{2+}	$\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	440
F^-	TBAF	8
Cl^-	TBACl	15
Br^-	TBABr	32
I^-	TBAI	51
NO_3^-	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	992
ClO_4^-	KClO_4	400
CH_3COO^-	TBACH ₃ COOH	24
CO_3^{2-}	K_2CO_3	24
HCO_3^-	KHCO_3	25
SO_4^{2-}	Na_2SO_4	40
PO_4^{3-}	Na_3PO_4	38
HPO_4^{2-}	Na_2HPO_4	40

3.8. Standart Referans Materyallerin Analizi

Geliştirilen yöntem ile standart referans maddeler analiz edildi ve sonuçlar Tablo 12'de verildi.

Tablo 12. Standart referans materyallerde demir tayini

Numuneler	Fe miktarı (mg/g)	
	Bulunan	Sertifikalı Değer
Toprak-kum standart referans materyali	14,30±0,04	13,9±1,2 ^a
Bitki standart referans materyali	0,47±0,06	0,46 ^b
^a %95 güven seviyesinde toplam belirsizlik		
^b Belirsizlik verilmemiştir.		

3.9. Gerçek Numunelerin Analizi

Geliştirilen yöntemin doğruluğu test edildikten sonra yöntem, ticari ilaç tabletlerine, sebzelere, baklagillere ve atık su numunelerine uygulandı. Sonuçlar Tablo 13 ile Tablo 16 aralığında verildi.

Tablo 13. Ticari ilaç tabletlerinde demir tayini

Numuneler	Fe miktarı (g/kg)	
	Bulunan	Akredite Laboratuvar Sonucu
Tablet 1	156,79±0,13	157,30±2,05
Tablet 2	141,04±0,21	138,50±1,07

Tablo 14. Sebze numunelerinde demir tayini

Numuneler	Fe miktarı (mg/kg)	
	Bulunan	Akredite Laboratuvar Sonucu
Ispanak	220,04±0,18	219,17±17,75 ^a
Nane	653,61±0,09	648,42±52,52 ^a
Roka	616,07±0,04	606,97±49,16 ^a
Semizotu	134,33±0,05	135,69±10,99 ^a
Dereotu	79,59±0,61	80,07±6,48 ^a
^a Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvarının uyguladığı metodun toplam belirsizliği		

Tablo 15. Kuru baklagil numunelerinde demi tayini

Numuneler	Fe miktarı (mg/kg)	
	Bulunan	Akredite Laboratuar Sonucu
Kurufasülye	106,58±0,13	102,94±8,34 ^a
Mercimek	88,29±0,07	86,39±7,00 ^a
^a Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvarının uyguladığı metodun toplam belirsizliği		

Metodun tayin sınırı doğal sulardaki demir konsantrasyonundan yüksek olduğu için dere suyu numunesinin analizi ilave edilen standart konsantrasyonunun geri kazanımı şeklinde çalışıldı. Sonuçlar Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 16. Dere suyunda demir tayini

Numune	Fe miktarı (mg/kg)		
	Eklenen	Bulunan	% Geri Kazanım
Değirmendere suyu	5,00	5,22±2,40	95,60

4. TARTIŞMA

Çevresel numunelerdeki metal tayinleri için hassas ve seçici floresent kemosensörlerin tasarlanması ve analitik uygulamaları son zamanlardaki en ilgi çekici araştırma alanlarından biridir. Bu nedenle floresent kemosensör geliştirilmesine dayanan pek çok çalışma literatüre kazandırılmıştır. Ancak sunulan bu doktora tez çalışması için yapılan literatür araştırmasında ftalosiyanın bileşiklerinin floresent kemosensörler olarak kullanıldıkları demir tayin metotlarına rastlanmamıştır.

Literatürdeki metal tayin yöntemleri genellikle atomik absorpsiyon ve atomik emisyon metotlarına dayanmaktadır. Bu metotların tayin sınırlarının ppb mertebesinde olduğu çalışmalar da vardır. Ancak bahsedilen metotlar genellikle analiz öncesinde bir ön ayırma veya zenginleştirme işlemine gerek duyarlar. Ayrıca bu metotların uygulanması için pahalı cihazlara ihtiyaç vardır. Kullanılan yanıcı ve yakıcı gazlar ve plazma oluşturma işlemi yüksek maliyet getirmektedir. Buna ilaveten bahsedilen metotların uygulanması uzmanlık gerektirmektedir [81 – 84]. Bu nedenle metal tayinleri için daha ucuz, basit ve hızlı metotların geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Demirin insanlar için hayati önemi olması bu elementin çevresel örneklerde, kaynak sularında, gıdalarda ve diğer ortamlarda tayin edilmesini önemli bir araştırma konusu olarak gündemde tutmaktadır. Bu ortamlarda, literatürde verilen metotlara göre daha basit, ekonomik ve hassas demir tayini metotlarının geliştirilmesi analitik açıdan önemlidir. Bu amaca yönelik önerilen bu çalışmada, daha önce literatüre kayıtlı olmayan bir Ni-Pc bileşiği ile direkt numune ortamında basit ve hızlı spektrofotometrik demir tayini yöntemi geliştirildi ve bu yöntem çeşitli analitik parametreler açısından incelendi.

Yapılan çalışmada ilk olarak 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-iletoksiftalosiyanimato nikel(II) kompleksi (Ni-Pc) sentezlendi ve yapısı UV-Vis., IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektrumlarından elde edilen veriler kullanılarak aydınlatıldı. Ni-Pc'nin IR spektrumunda (Ek Şekil 1), 3 bileşiğinin 2231 cm⁻¹'de gözlenen C≡N grubuna ait gerilme titreşim frekansının gözlenmemesi, siklotramerizasyon reaksiyonu sonucu istenilen bileşiğin elde edildiğini doğrulamaktadır. Ni-Pc bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Ek Şekil 2), aromatik gruplardaki protonlara ait sinyaller $\delta = 6,6-8,2$ ppm'de alifatik grup protonlarına ait sinyaller $\delta = 4,23$ ppm, 3,95 ppm, 3,09 ppm, 2,94 ppm ve 2,01 ppm'de ortaya çıkmıştır. Ni-Pc bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumundaki karbon

atomlarına ait rezonanslar (Ek Şekil 3) sırası ile şöyledir: $\delta = 160,20, 136,97, 131,13, 129,04, 123,05, 118,28, 107,43, 104,54, 68,39, 64,61, 57,41, 52,52, 38,94, 35,00$ ppm. Ni-Pc bileşiğinin ($1,0 \times 10^{-3}$) oda sıcaklığında kloroformda alınan UV-Vis. spektrumunda (Ek Şekil 4) $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine karşılık gelen Q bandı 683 nm'de şiddetli bir absorpsiyon ($\epsilon = 3,0 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) ve 617 nm'de omuz şeklinde zayıf bir absorpsiyon bandı ($\epsilon = 7,5 \times 10^2 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) gözlenmiştir. Singlet Q bandının gözlenmesi metal içeren ftalosiyanın karakteristik özelliklerindedir. Bu bileşikler için gözlenen singlet Q bandı bileşiklerin simetrisinin D_{4h} olduğunu göstermektedir [124]. B bandları ise 340 - 360 nm arasında gözlenmiştir. Ni-Pc bileşiğinin kütle spektrumunda (Ek Şekil 5) moleküler iyon pikinin $m/z = 1334,96 [M+Na-1]^+$ 'da gözlenmesi bileşiğin yapısını desteklemektedir.

Ni-Pc bileşiğinin Fe^{3+} iyonu ile oluşturduğu kompleksin özelliklerinin incelenmesi için metanol:su ortamında demir kompleksi sentezlenmiştir. Bunun için ekvivalent miktardaki ($4 \times 10^{-3} \text{ M}$) Fe^{3+} 'ün sulu çözeltisi ile Ni-Pc'nin metanoldeki çözeltisi 40°C 'de 1 saat karıştırıldı. Çözücü kuruluğa kadar evaporatörde uzaklaştırıldı ve elde edilen kompleksin IR spektrumu alındı. IR spektrumunda Ni-Pc bileşiğindeki ftalosiyanın halkasındaki C=N gerilme titreşimlerine ait 1607 cm^{-1} 'de gözlenen pik demir (III) kompleksinde 1609 cm^{-1} 'e kaymıştır. Ayrıca Ni-Pc bileşiğinin IR spektrumunda görülmeyen fakat Fe^{3+} kompleksinin IR spektrumunda görülen 1383 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı koordine olmamış yani iyonik bağlı nitrat iyonunun varlığını göstermektedir (Ek Şekil 6). Literatürde nitrat komplekslerindeki gözlenen bu pikin D_{3h} simetrisinin ν_3 vibrasyonuna ait geçişle ilgili NO_2 gerilme titreşimi olduğu bildirilmektedir [125, 126]. $1234-1456 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen şiddetli pikler ise koordine olmuş nitrat iyonunun varlığını göstermektedir. Bu dalga sayılarında gözlenen piklerin nitrat komplekslerindeki koordinasyona katılan nitrat iyonlarının varlığında gözlenen NO_2 grubuna ait gerilme titreşimleri olduğu bildirilmektedir [125 - 128]. Bu sonuçlar Ni-Pc ile $Fe(III)$ iyonunun oluşturduğu komplekste hem iç koordinasyon küresinde kovalent olarak bağlanmış nitrat iyonunun hem de dışta iyonik bağlı nitrat iyonunun bulunduğunu göstermektedir. Kütle spektrumunun incelenmesinden $[Ni-PcFe(NO_3)_2]NO_3$ kapalı formülüne uyan iyon pikinin görülmesi ($1493 [M+2]^+$) yapının önerildiği şekilde olabileceğini göstermektedir (Ek Şekil 7). Bu durumda Ni-Pc molekülündeki periferel pozisyonlardaki dört azot atomunun demir (III) iyonuna koordine olduğu ve diğer iki koordinasyonun da nitrat iyonları ile sağlanmış olması mümkündür. Böylece beklenen kararlı bir oktahedral yapıda demir kompleksinin olduğu düşünülmektedir. Fe^{3+} iyonunun Ni-Pc bileşiğinin periferel pozisyonlardaki

oksijen atomlarından daha çok azot atomları ile etkileşmesi yumuşak asit baz ilkesine göre beklenebilir. Önerilen yapının desteklenmesi için demir (III) kompleksinin iletkenlik ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için kompleksin 4×10^{-4} M dimetilformamidteki çözeltisi kullanılmıştır ve iletkenliğinin literatürde verilen yöntemle göre $84 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ olduğu belirlenmiştir [129]. Bu sonuç oluşan kompleksin 1:1 tipinde elektrolit olduğunu dolayısıyla önerilen yapının doğru olabileceğini göstermektedir [129].

Ftalosiyanın zayıf floresans şiddetlere sahip oldukları bilinmektedir. Merkez halkaya bir metal katyonu bağlanarak ya da periferik pozisyondaki süstitüentler değiştirilerek ftalosiyanın floresans şiddetleri artırılabilir [130]. 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksi grubu süstitüe olmuş ve merkezinde Ni(II) içeren söz konusu ftalosiyanın bileşiğinin (Ni-Pc) oldukça yüksek floresans şiddete sahip olduğu görülmüştür (Şekil 29).

Birçok metal katyonun söz konusu bileşiğin floresans şiddetine etkisi metanol-su ortamında incelendi. Bu katyonlardan sadece Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonlarının Ni-Pc bileşiğinin floresans şiddetinde önemli bir azalmaya neden olduğu gözlemlendi. Fe^{3+} ile yapılan spektrofotometrik titrasyonda metal konsantrasyonu arttıkça Ni-Pc bileşiğinin floresans şiddetinin düzgün olarak azalması, söz konusu bileşiğin spektrofotometrik demir tayininde kullanılabilirliğini düşündürmüştür. Numuneler kapalı sistem mikrodalga çözünürleştirme sistemiyle çözünürleştirildiğinde ortamdaki bütün demirin Fe^{3+} 'e yükseltgenmesi nedeni ile çalışmalar Fe^{3+} katyonu temel alınarak gerçekleştirildi.

Ni-Pc kompleksinin spektrofotometrik demir tayininde kullanılacak konsantrasyonunu belirlemek için yapılan çalışmalar iki kısımda incelenebilir. İlk olarak derişimleri $1,0 \times 10^{-5}$ - $1,0 \times 10^{-7}$ M arasında değişen ligant çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin her birinden alınan 2'şer mL'lik kısımların üzerine 2 mL metanol ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin emisyon spektrumları alındı. $2,0 \times 10^{-6}$ - $2,0 \times 10^{-7}$ M konsantrasyon aralığındaki ligant çözeltilerin çalışma konsantrasyonu seçimi için uygun olabilecekleri görüldü. Daha sonra Ni-Pc kompleksinin konsantrasyonunu optimize etmek için $2,0 \times 10^{-6}$ - $2,0 \times 10^{-7}$ M konsantrasyon aralığında hazırlanan bir seri ligant çözeltisi ile spektrofotometrik Fe^{3+} titrasyonları gerçekleştirildi. Her bir titrasyon için floresans şiddetleri dalga boyuna karşı grafiğe geçirildi. Bütün grafiklerin maksimum şiddet verdikleri dalga boyu olan 425 nm'deki emisyonlar artan Fe^{3+} konsantrasyonuna (mg/L) karşı grafiğe geçirildiğinde en yüksek R^2 değeri veren kalibrasyon grafiğinin $1,0 \times 10^{-6}$ M ligant çözeltisi için elde edildiği görüldü (Şekil 36).

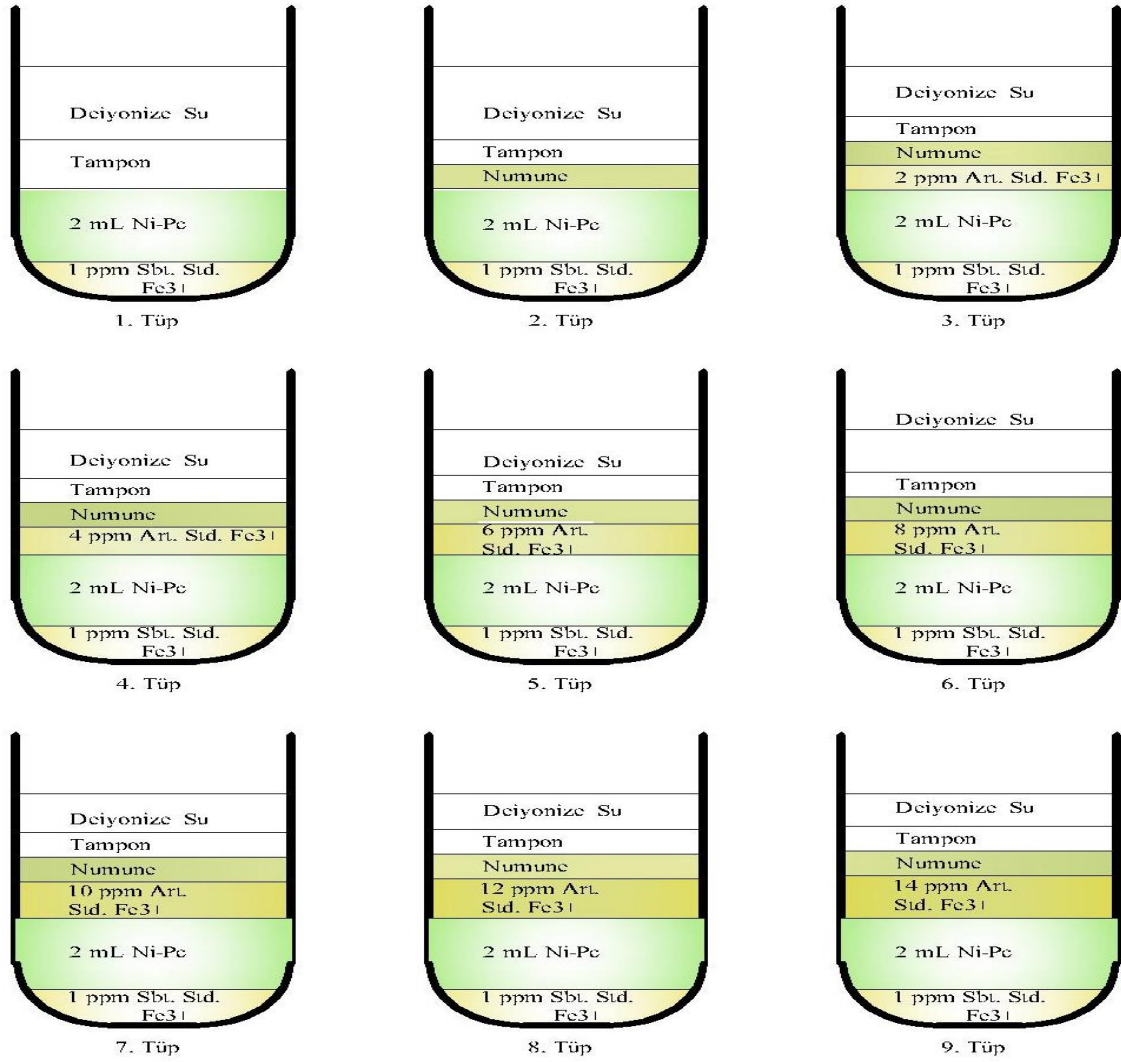
Oluşan Ni-Pc:Fe³⁺ kompleksinin stokiyometrisini tayin etmek için Job metodu (sürekli değişkenler metodu) uygulandı. Job metodunun uygulanması için ligandın ve demirin 1,0x10⁻⁴ M çözeltileri hazırlandı ve pH 5,0'a ayarlandı. Son hacim 10 mL olacak şekilde ligandın konsantrasyonu artarken Fe³⁺'ün konsantrasyonunun azaldığı bir seri çözeltinin floresans şiddetleri ölçüldü ve dalga boyuna karşı grafiğe geçirildi. Floresans spektrumunun maksimumu olan 425 nm'deki emisyonların ligant hacmine karşı değişimi grafiğe geçirildi. Elde edilen Job grafiğindeki eğrinin maksimum tepe noktasından apsis eksenine indirilen doğru bize M:L oranının 1:1 olduğu gösterdi (Şekil 32). Ftalosiyanın 1:1 kompleksleri oluşturduğuna dair benzer sonuçlar literatürde mevcuttur [8]. Ayrıca bu sonuç demir kompleksi için elde edilen IR ve kütle spektrumlarının ve iletkenlik ölçümlerinin sonucunda önerilen [Ni-PcFe(NO₃)₂]₂NO₃ kompleks formülü ile uyumludur.

pH'in demirin spektrofotometrik tayinine etkisinin incelenmesi için ekivalent miktarda (1,0x10⁻⁶ M) ligant ve Fe³⁺ içeren karışımların pH'ı uygun tampon çözeltiler kullanılarak 1'den 10'a kadar ayarlandı ve her birinin floresans spektrumları alındı. 425 nm'deki emisyon şiddetleri pH değerlerine karşı grafiğe geçirildiğinde ligandın Fe³⁺ ile oluşturduğu kompleksin en yüksek floresans şiddetini pH:5,0'da verdiği görüldü (Şekil 33). pH'ı ve kullanılan tamponu optimize etmek için sitrik asit-sodyum hidroksit, asetik asit-amonyum asetat ve HEPES tamponları kullanılarak elde edilen farklı pH değerlerinde, ligant ile Fe³⁺ tayinleri yapıldı. pH, sitrik asit-sodyum hidroksit tamponu ile 5'e ayarlandığında %5'in altında hata ile ölçümlerin gerçekleştirildiği görüldü. Bu nedenle çalışmalara bu tamponla ve pH 5,0'da devam edildi. Metal iyonlarının tayini için önerilen ftalosiyanın bileşiklerinin ligant olarak kullanıldığı bazı metodlarda ortam pH'ının buna yakın olduğu literatürdeki bilgilerde mevcuttur [131].

Oluşan kompleksin kararlılığının tespiti için; 2 mL 2,0x10⁻⁶ M Ni-Pc kompleksinin metanoldeki çözeltisine 2 mL 2,0x10⁻⁶ M Fe³⁺'ün sudaki çözeltisi eklenip 5 dak. vorteks çalkalayıcıda çalkalandı ve 1-35 dakika arasında 425 nm'deki emisyon şiddetinde meydana gelen değişiklikler incelendi. Fe³⁺-ligant 1:1 kompleksinin dördüncü dakikadan itibaren kararlılığa ulaştığı ve 12 dakika boyunca kararlı kaldığı tespit edildi (Şekil 34). Kompleksleşmenin kısa sürede gerçekleşmesi spektrofotometrik demir tayini için önerilen metodun hızlı olmasını sağladığından bu sonuç önemlidir. Literatürdeki demir tayini için bildirilen spektrofotometrik metotlarda önerilen floresant ligandların demir ile kompleksleşme süreleri oldukça uzundur. Örneğin Zhou [101] 2-pridinkarbaldehid-p-

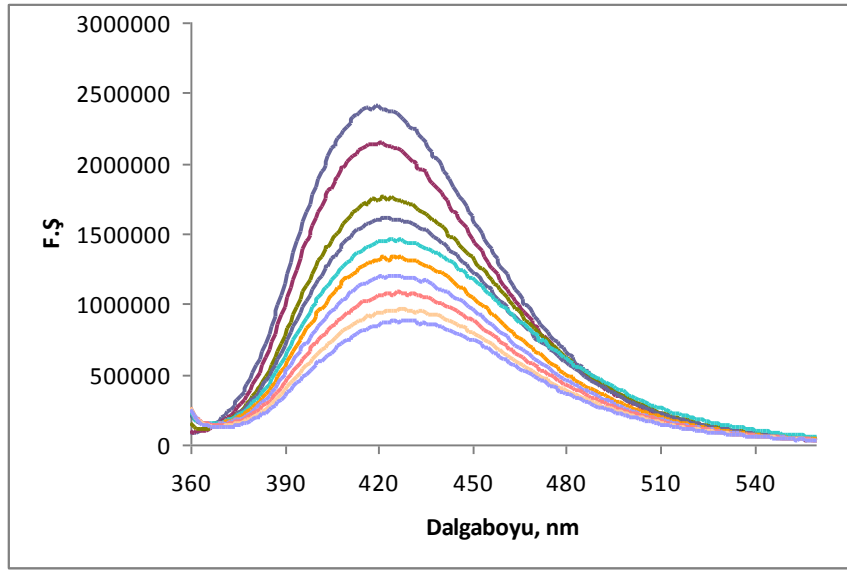
fenilhidrazon (2PC-PPH) ligandını kullanarak süt tozu ve yasmin çayında Fe^{3+} tayini gerçekleştirdiği çalışmasında tayin çözeltilisinin floresans kararlılığına ulaşması için 30 dakika beklenmesi gerektiğini bildirmiştir. Yi [102] 9,9-bis(3'-fosfonik asit propil)-2,7-difenilflore (BPPDPF) ve 2,7-difenilflore-9-ilfosfonik asit (DPFPA) ligantları ile su örneklerinde Fe^{3+} tayini yaparken floresans kararlılığına ulaşmak için her iki ligant durumunda da tayin çözeltilerini 24 saat oda sıcaklığında bekletmiştir. Du [103] rodamin amid (RHA) floresans probu ile su örneklerinde Fe^{3+} tayininde, çözeltilisinin floresans kararlılığına gelmesi için 20 dakika beklemiştir. Huang [106] doğal bir polisakkarit olan sitozan polimeri ile insan serumunda direkt Fe^{3+} tayini yaptığı çalışmasında sitozanın floresans şiddetini arttırmak için 9 saat ısıtmış ve daha sonra yöntemini uygulamıştır. Böylece bu tez çalışmasında önerilen metot literatürdeki spektrofotometrik demir tayini metotlarına göre daha hızlı bir metottur.

Geliştirilen yöntemde, Fe^{3+} 'ün spektrofotometrik tayini için numuneler çözünürleştirmeden başka herhangi bir ön işleme tabi tutulmamışlardır. Bu durum yöntemin uygulamadaki kolaylığını gösteren bir diğer önemli noktadır. Halbuki literatürde önerilen diğer metotlarda tayinden önce numuneye uygulanması gereken bazı iyileştirme işlemleri gerekmektedir. Örneğin Ragos [99] 4-hidroksikinolin kullanarak sığırci karaciğerinde su ortamında spektrofotometrik olarak Fe^{3+} tayini esnasında ciddi bozucu etkiye bulunan metal katyonları maskelemek için potasyum florür ve trietilentetraamin çözeltileri kullanmıştır. Bazı çalışmalarda da tayin öncesinde zenginleştirme işlemleri uygulanmıştır. Örneğin Asan [100] salisilik asit kullanarak etanol-su ortamında direkt fotometrik Fe^{3+} tayini için katyon değiştirme reçinesi içeren bir mini zenginleştirme kolonu ile numuneyi tayinden önce zenginleştirme işlemine tabi tutmuştur. Mao [18] rodamin bazlı floresans bir prob olan RC maddesi ile %100 sulu sistemlerde fizyolojik pH'da Fe^{3+} tayini esnasında literatüre göre sentezlenen aktif karbon bağlı etilendiamin (AC-EDA) adsorbenti ile dolgulu 50 mm x 9,0 mm boyutlarında bir PTFE kolon kullanmıştır. Bütün bu işlemler tayin süresini uzatan zaman alıcı işlemlerdir. Halbuki önerilen metotta tayin öncesinde hiçbir ön işlem yapmadan geliştirilen bir standart katma yöntemi ile direkt demir tayini gerçekleştirilmiştir. Uygulanan standart katma yönteminin ayrıntısı ve hesaplamalar aşağıda açıklanmıştır.



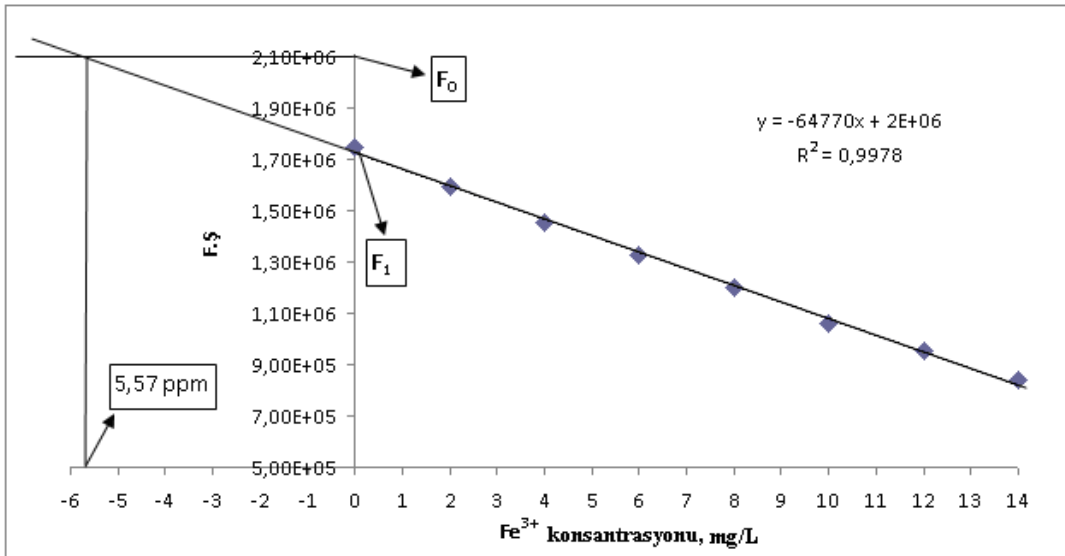
Şekil 38. Ni-Pc ligandı ile roka numunesinde demir tayini için uygulanan standart ekleme metodu

İlk olarak 1 mg/L sabit standart Fe^{3+} ve 2 mL Ni-Pc bütün tüplere ilave edildi. 1. tüpe numune ve artan standart eklenmedi. 2. tüpe uygun hacimde numune çözeltisi ilave edildi. 3 - 9 arası tüplere sırası ile artan ppm'lerde Fe^{3+} standardı ve 2. tüp ile aynı hacimde numune çözeltisi eklendi. Bütün tüplerin pH'ı 5,0' a ayarlandıktan sonra son hacimler deiyonize su ile 4 mL'ye tamamlandı (Şekil 38). El ile çalkalayarak homojen hale getirilen tüplerin floresans spektrumları, 350 nm'de uyarılmak sureti ile 360 - 560 nm'ler arası kaydedildi (Şekil 39).



Şekil 39. Roka numunesi için standart ekleme işleminde elde edilen tüplerdeki karışımların floresans spektrumları

Maksimum emisyonun gözlendiği 425 nm'deki emisyon şiddetleri artan Fe^{3+} konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirildi (Şekil 41). 1. tüpün floresans şiddeti F_0 , 2. tüpün floresans şiddeti F_1 ile gösterildi. Doğrusal grafiğin ekstraplasyonunun F_0 değeri ile kesiştiği noktadan x eksenine bir dikme indirildiğinde seyrelmiş numunenin konsantrasyonu mg/L olarak belirlenmiş oldu (Şekil 40).



Şekil 40. Uygulanan standart katma metodu ile roka numunesindeki demir konsantrasyonunun hesaplanması

Yöntemin doğruluğunu göstermek için iki metot kullanılmıştır. Bunlardan ilki standart referans materyallerin analizidir. Toprak-kum standart referans materyali (HPS, sany-soil CRM-SA-C) ve bitki standart referans materyali (Polish CRM, Mixed Polish Herbs, INCT-MPH-2) önerilen standart katma metodu ile analiz edilmiş ve sonuçlara öğrenci t-tesisi (student's t-test) uygulanmıştır. Yöntemden elde edilen sonuçlar ile standart referans materyallerden hesaplanan doğru değerlerin istatistik olarak birbiriyle aynı olduğu gösterilmiştir (Tablo 6). Tablo 6'dan görüldüğü gibi gerçek değer ile üç ölçüm sonucunun ortalaması arasındaki fark olan $X_R - X_{ORT}$ değeri %95 güven seviyesi için hesaplanan kritik değer olan ts/\sqrt{N} değerinden küçüktür. Bu sonuç gözlenen hataların rastgele hatalardan kaynaklandığını dolayısıyla önerilen metodun sistematik bir hatasının olmadığını göstermektedir [83]. Doğruluğun tespiti için uygulanan diğer metot ise standart metotlarla analizdir. Gıda numuneleri bilinen standart metotlarla Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda analiz edilmiş ve bu laboratuvardan alınan sonuçlar önerilen yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Öğrenci t-tesisi (student's t-test) uygulandığında sonuçların istatistiksel olarak aynı olduğu görülmüştür (Tablo 8). Tablo 8'den görüldüğü gibi akredite laboratuvardan alınan değer ile önerilen metotla elde edilen değerlerin ortalaması arasındaki fark olan $X_R - X_{ORT}$ değeri %95 güven seviyesi için hesaplanan kritik değer olan ts/\sqrt{N} değerinden küçüktür. Ayrıca iki farklı demir ilacı tableti Düzen Norwest Laboratuvarı'nda analiz edilmiş ve sonuçlar önerilen metottan elde edilen sonuçlar ile t-tesiti uygulanarak karşılaştırılmıştır. Tablo 7'de görüldüğü gibi bu numuneler için de istatistiksel olarak fark yoktur. Bu durum sonuçların doğruluğunu göstermektedir.

Literatürde demir tayini için bazı spektrofotometrik yöntemler önerilmiştir [98, 110, 111, 113, 116, 118, 120]. Jung'un önerdiği metot için gözlenebilme sınırı yaklaşık 2 ppm'dir [110]. Diğer çalışmalarda önerilen metotlarda gözlenebilme sınırları 0,04 ppm'in altındadır [98, 118, 120]. Lee [113] Fe^{3+} tayini için benzimidazole ve antrasen gibi iki floresent grup taşıyan sensörleri önermiştir. Ancak gözlenebilme sınırını vermemişlerdir. Zhang'ın üzüm kabuğunun ana pigmenti olan antosiyaninin floresans özelliğine dayandırdığı metotta gözlenebilme sınırı yaklaşık 0,4 ppb'dir [111]. Feng de, β -siklo dekstrin ve 2,6-bis(benzoksazoli)piridin maddelerinden oluşan BBOZP-CD ligandını Fe^{3+} için seçici ve duyarlı bir floresent kemosensör olarak önermiştir. Artan Fe^{3+} iyonu varlığındaki floresans sönümünü Stern-Volmer eşitliği ile incelemiştir. Fe^{3+} için gözlenebilme sınırı 1 ppb olarak bulunmuştur. Ancak önerilen metot gerçek numunelere uygulanmamıştır [116]. Bahsedilen diğer çalışmalarda da gerçek numunelere uygulama

yapılmadığından sonuçlarının bu tez çalışmasında önerilen sonuçlarla analitik metotların değerlendirilmesi açısından karşılaştırılması mümkün değildir.

Literatürde gerçek numunelerde demirin hassas spektrofotometrik tayinine dayanan birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan birinde Cha salisilik asit kullanarak pH 8,5’de sulara Fe^{3+} ’ün direkt tayini için hızlı bir metot önermiştir [104]. Yöntem salisilik asidin demir(III) ile etkileşimi sırasında floresans sönümüne dayanmaktadır. Yöntem için tayin aralığı yaklaşık 0,06 - 0,60 ppm’dir. Geliştirilen yöntem musluk suyu ve doğal su numunelerine uygulanmıştır.

Sayour, suda çözünebilen 1-naftol-2-sulfonatın potasyum tuzunu kullanarak spektrofotometrik Fe^{3+} tayinini önermiştir [107]. Tayin için akış enjeksiyon sistemini kullanmışlardır. Metodun çalışma aralığı 0,1 - 18 ppm olarak belirtilmiştir. Önerilen metotla endüstriyel atık numunelerinde ve şehir kanalizasyon numunelerinde ölçüm yapılmıştır.

Cha ve Sayour’un yöntemleri her ne kadar tayin sınırı açısından önerilen çalışmadakinden daha avantajlı gibi görünse de salisilik asidin ve 1-naftol-2-sulfonik asidin potansiyel toksik özelliğinden dolayı kullanılan ligantların sağlık açısından pratikte bir dezavantaj getirdiği söylenebilir.

Lin vd. [112] bir fenantroimidazol türevi ile metanol-su ortamında florimetrik Fe^{3+} tayini gerçekleştirmişlerdir. Tayin aralığı 0,6 - 8,4 ppm olarak belirlenmiştir. Geliştirilen metot, kaynak sularına, musluk sularına ve nehir sularına ilave edilen demir miktarlarının gerikazanımına dayandırılarak uygulanmıştır. Bunun sebebi metodun tayin sınırının bu sulardaki demir içeriğinden yüksek olması olabilir. Araştırmacılar başka matrikslerde çalışma yapmamışlardır.

Zhang [119] bir kinazolin türevi sentezlemiştir ve bu Fe^{3+} için fotokimyasal floroyonofor olarak kullanılmıştır. Ölçümler için bu bileşiğin kullanıldığı bir membran hazırlanmıştır. Bir optik fiber ile bir akış hücresi üzerinden numune çözeltisi geçirilmiştir. İki kollu optik fiber spektrofotometrenin dedeksiyon çemberine tutturulmuştur. Membran üzerine Fe^{3+} eklenmesi uyarılmış hal molekül içi proton transfer reaksiyonlarını engelleyerek kinazolin türevi bileşiğin floresans şiddetinde bir azalma meydana getirmiştir. Bahsedilen ayrıntılı işlemleri gerektiren bu yöntem demir tayini için 0,04 ile 7,8 ppm konsantrasyon aralığında doğrusal bir cevap göstermiştir. Seçici olduğu belirtilen bu yöntem sadece üç çeşit multi vitamin tablet örneğine uygulanmıştır.

Yapılan literatür araştırmasına göre, spektrofotometrik demir tayini için bu tez çalışmasında önerilen metottan daha basit ve daha az masraf gerektiren metot sayısının çok az olduğu söylenebilir [104, 107, 112, 119]. Ancak bu yöntemlerde de sınırlı sayıda matrikste çalışılmıştır. Bu matriksler de genellikle metotların uygun tayin sınırlarından dolayı su numuneleridir. Sadece Zhang önerdiği spektrofotometrik metodu ilaç numunelerine uygulamıştır [119]. Bu tez çalışmasında önerilen metot ise çeşitli sebzeler ve kuru baklagiller olmak üzere gıda örneklerine ve ilaç örneklerine uygulanmıştır. Buna ilaveten su matriksi için dere suyu numunesinde de ölçümler yapılmıştır. Bu numune için demir miktarı önerilen metodun tayin sınırına uygun olmadığından dolayı eklenen demirin geri kazanımı çalışması yapılarak metodun su numunelerine uygulanabildiği gösterilmiştir. Ayrıca ilaç tabletlerindeki demir miktarları da analiz edilmiştir. İlaveten toprak-kum ve bitki standart referans materyalleri de doğru olarak analiz edilmiştir. Böylece önerilen metodun bitki, gıda, su, toprak ve ilaç olmak üzere farklı numune matrikslerindeki demirin tayini için uygun olduğu gösterilmiştir.

Önerilen yöntemin sadece ligant, metanol, deiyonize saf su, sitrik asit-sodyum hidroksit tamponu dışında herhangi bir kimyasal gerektirmemesi ekonomik açıdan önemlidir. Literatürdeki önerilen spektrofotometrik metotların bazılarında ilave kimyasallar kullanılmıştır. Örneğin Cha [98] yüzey aktif madde olan hegzadesiltrimetilamonyum bromürü (CTMAB), Hossein [117] ise TX-100'ü kullanmışlardır. Ayrıca Ragos [99] Fe^{3+} tayinini ciddi şekilde etkileyen metal katyonlarını maskeleyen için potasyum florür ve trietilentetraamin çözeltilerini kullanmıştır. Bazı araştırmacılar da tayin için membran hazırlamışlardır. Örneğin Shamsipur [105] tayin için ligant, toz PVC, o-nitrofenil oktil eter ve sodyum tetrafenilborat maddelerini farklı oranlarda içeren çözeltiyi tozsuz bir cam plaka üzerine yayarak membran hazırlamıştır. Xu [115] naftalimid türevi bir bileşik olan 2-hidroksietil metakrilatı UV-ışınlama ile aktifleştirilmiş cam lamel üzerine yayarak elde ettikleri kopolimeri tayin için kullanmıştır. Bahsedilen metotlardaki işlemler bu tez çalışmasında önerilen metoda göre daha fazladır. Sonuç olarak önerilen metot literatürdeki spektrofotometrik metotlara göre hızlı ve basit bir metottur.

Çeşitli yabancı iyonların, Fe^{3+} 'ün direkt numune ortamından spektrofotometrik olarak tayinine olan etkilerini tespit etmek için $1,0 \times 10^{-6}$ M ligant ve ekivalent miktarda Fe^{3+} içeren çözeltilere uygun hacimlerde yabancı iyonlar ilave edildi. Karışımın 425 nm'deki floresans şiddeti ekivalent miktarda ligant ve Fe^{3+} içeren çözeltinin floresans

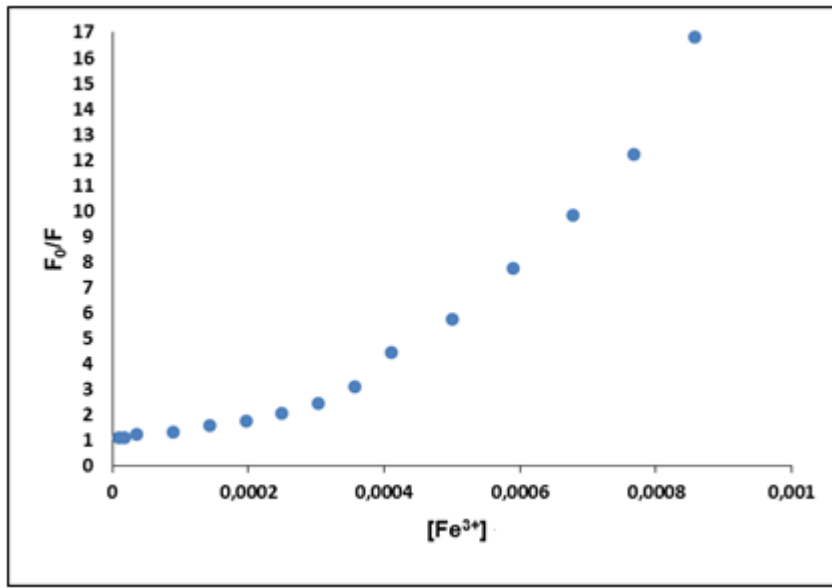
şiddeti ile karşılaştırıldı. Analiz sonuçlarında %5'den daha fazla farka sebep olmayan en yüksek yabancı iyon konsantrasyonu tolerans limiti olarak verildi (Tablo 11). Tablo 11'deki verilerden birçok iyonun yüksek konsantrasyonlarının bile tayini önemli ölçüde etkilemediği görülmektedir. Bu da önerilen metodun demir (III) iyonları için seçimli bir metot olduğunu ifade eder.

Yöntemin analitik değerlendirilmesi için % bağıl standart sapma (%BSS), gözlenebilme sınırı (GS), tayin sınırı (TS) belirlenmiştir. Bu metodun gözlenebilme sınırı, 11 adet tanık numune için elde edilen sinyallerin standart sapmasının üç katının kalibrasyon grafiğinin eğimine oranı alınarak 1,29 mg/L olarak hesaplanmıştır. Tayin sınırı ise 11 adet tanık numune için elde edilen sinyallerin standart sapmasının dokuz katının kalibrasyon grafiğinin eğimine oranı alınarak 3,88 ppm olarak hesaplanmıştır. Önerilen yöntemle ıspanak, nane, roka, semizotu, dereotu, kurufasülye, mercimek numunelerinde demir analizlerine ait sonuçların % bağıl standart sapma değerleri aynı gün içinde yapılan analizlerden yapılan hesaplamalara göre 0,26 - 3,73 değerleri arasında, farklı günlerde yapılan analizlerden yapılan hesaplamalara göre ise 0,24 - 3,88 değerleri arasında bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 9 ve Tablo 10'da verilmiştir. Bu sonuçlar metodun hem gün içi hem de günler arası kesinliğinin % 4'ün altında bağıl standart sapma değerlerine sahip olduğunu, dolayısıyla kesinliğinin yeterince iyi olduğunu göstermektedir.

Floresant bir türün floresans şiddetindeki sönümle ilgili literatürde önerilen mekanizmalar vardır. Bunlardan bazıları uyarılmış hal basamağında gerçekleşir. Örnek olarak çarpışmalı sönüm (collisional quenching), enerji transferi ve yük transfer reaksiyonları verilebilir. Bunlardan çarpışmalı sönüm çoğunlukla 'dinamik sönüm' olarak da bilinir. Diğeri ise temel halde bir kompleks oluşumundan kaynaklanır. Bu şekilde oluşan sönüme 'temel hal statik sönüm (static quenching)' denir. Uyarılmış halde gerçekleşen bir başka sönüm ise 'aktif küre statik sönüm (sphere of action static quenching)' modeli ile açıklanır [132 - 134].

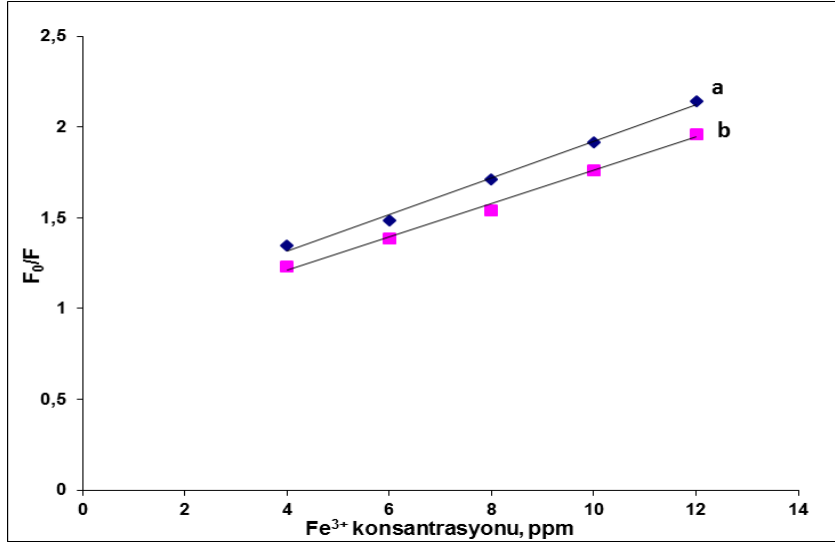
Stern-Volmer grafikleri söndürücü konsantrasyonuna karşı F_0/F değerlerinin çizilmesi ile elde edilir ve floresans sönümünün mekanizmasını açıklamada kullanılırlar. Hem statik sönüm hem de dinamik sönüm durumunda Stern-Volmer grafiği y eksenini 1'de kesen doğrusal grafiklerdir. Dinamik sönüm durumunda doğrunun eğimi Stern-Volmer sabitine eşittir. Statik sönüm durumunda ise Stern-Volmer grafiğinin eğimi kompleks kararlılık sabitine eşittir [132 -134, 135 - 137].

Artan Fe^{3+} konsantrasyonu ile Ni-Pc bileşiğinin floresans şiddetindeki sönümün mekanizması ile ilgili olarak Stern-Volmer grafiği çizilmiştir. Şekil 41 bu grafiği göstermektedir. Şekil 41'den görüldüğü gibi Stern-Volmer grafiğinin doğrusal kısmı için kesim noktası beklendiği gibi 1'e eşittir. Bununla birlikte grafiğin artan demir(III) konsantrasyonları ile doğrusallıktan pozitif yönde saptığı görülmektedir. Bu sonuç Fe^{3+} iyonu ile Ni-Pc bileşiği arasındaki etkileşim sonucunda gözlenen floresans sönümünün hem statik hem de dinamik sönümün aynı anda mevcut olmasından kaynaklanabileceğini gösterir [137, 138].



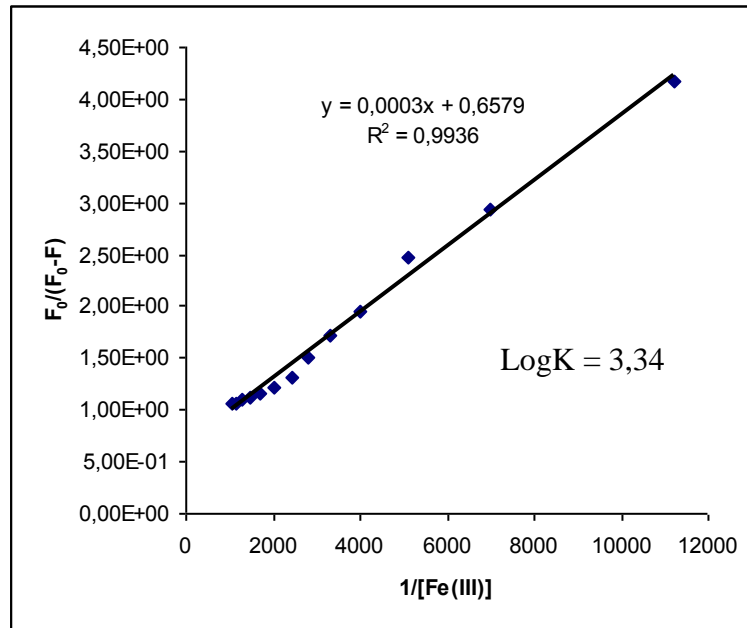
Şekil 41. Ni-Pc: Fe^{3+} etkileşimi ile ilgili Stern-Volmer grafiği

Dinamik ve statik sönüm mekanizmalarının farklılaştırılmasında floresans şiddeti üzerine sıcaklığın etkisinin incelenmesi bilinen bir yöntemdir. Çünkü dinamik sönüm çarpışmalı bir sönüm olduğundan sıcaklığın artması ile sönüm şiddetinin artması beklenir. Oysa statik sönüm floresant özelliği düşük olan bir kompleks oluşumu üzerinden temel halde gerçekleştiğinden sıcaklığın artması ile sönüm şiddeti değişmez. Bu iki mekanizmadan hangisinin daha etkili olduğunun belirlenmesi için 20 °C ve 45 °C'de kompleksleşme incelenmiştir. Şekil 42 sıcaklığın sönüm etkinliği (F_0/F) üzerindeki etkisini göstermektedir.



Şekil 42. Artan Fe³⁺ konsantrasyonu ile Ni-Pc bileşiğinin sönme etkinliğine sıcaklığın etkisi (a: 20 °C, b: 45 °C. [Ni-Pc]:1,0x10⁻⁶M)

Şekil 42'den görüldüğü gibi 20 °C'deki sönüm etkinliği 45 °C'deki sönüm etkinliğinden daha fazladır. Yani sıcaklığın artması sönüm etkinliği üzerinde artmaya sebep olmamıştır. Bu nedenle artan Fe³⁺ konsantrasyonu ile Ni-Pc bileşiğinin floresans şiddetindeki sönümün sebebinin büyük oranda statik sönümden kaynaklandığı düşünülebilir.



Şekil 43. Ni-Pc:Fe³⁺ kompleksi için 1/[Fe(III)] F₀/(F₀-F)'e karşı değişimi

Kompleksin kararlılık sabitinin hesaplanması için $1/[\text{Fe(III)}]'$ e karşı F_0/F_0-F' 'in değişim grafiği çizilmiştir. Şekil 43 bu değişimi göstermektedir. Böyle bir grafikte doğru denkleminin kesim noktasının eğime oranının logaritması kompleksin kararlılık sabitini verir [139]. Şekil 43'te görüldüğü üzere bu değer 3,34 olarak hesaplanmıştır.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, demir katyonunun direkt numune ortamından herhangi bir zenginleştirme işlemine gerek duyulmadan spektrofotometrik olarak tayininde kullanılmak üzere yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem Fe^{3+} katyonunun 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksifitalosiyanimato nikel(II) bileşiği ile metanol:su ortamında 1:1 floresent bir kompleks oluşturmasının ardından, artan Fe^{3+} konsantrasyonu varlığındaki floresans sönümlenmesine dayanmaktadır. Floresent çözeltiler 350 nm'de uyarılmış ve 360-560 nm arasındaki emisyon şiddetleri ölçülmüştür. Spektrumlar incelendiğinde 425 nm'de bir tepe noktasına sahip oldukları gözlenmiş ve bu dalga boyundaki emisyon şiddetleri artan Fe^{3+} konsantrasyonuna karşı garfiğe geçirilmiştir.

Yapılan literatür çalışmasında ftalosiyanimato bileşiklerinin metal tayinleri için floresans özelliklerinin kısmen araştırıldığı; fakat gerçek numunelerde analitik amaçlı reaktif olarak kullanılarak metal tayinlerinin gerçekleştirildiği uygulamalara rastlanmamıştır. Geliştirilen yöntemde daha önce literatüre kayıtlı olmayan 4-[2-(1,4-Dioksa-8-azaspiro[4,5]dek-8-il)etoksifitalosiyanimato nikel(II) kompleksi ile gerçek numune ortamından demir tayin edilebilmesi bu açıdan bir ilktir.

Önerilen yöntemin uygulaması son derece basit ve hızlıdır. Floresans çözeltilerin dördüncü dakikadan itibaren kararlılığa ulaşmaları yöntemin kısa süre içerisinde uygulanabilmesi bakımından oldukça avantajlı bir durumdur.

Spektrofotometrik demir tayini için kullanılan kimyasal sayısının fazla olmaması, geliştirilen bu yöntemin çevre dostu ve ekonomik olduğunun bir kanıtıdır.

6. KAYNAKLAR

1. Al-Radady, A.S., Davies, B.E. ve French, M.J., Distribution of Lead Inside the Home: Case Studies in the North of England, Sci. Total Environ., 145 (1994) 143-156.
2. Ansari, T.M., Marr, I.L. ve Tariq, N., Heavy Metals in Marine Pollution Perspective, J. Appl. Sci., 4 (2004) 1-20.
3. Qureshi, I., Qazi, M.A. ve Memon, S., A Versatile Calixarene Derivative for Transportation Systems and Sensor Technology, Sen. Act. B: Chem., 141 (2009) 45-49.
4. Wolfbeis, O.S., Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors, 1, C R C Press LLC, 1991.
5. Ensafi, A.A. ve Bakhshi, M., New Stable Optical Film Sensor Based on Immobilization of 2-Amino-1-Cyclopentene-1-DCithiocarboxylic Acid on Acetyl Cellulose Membrane for Ni(II) Determination, Sen. Act. B: Chem., 96 (2003) 435-440.
6. Kim, J.S. ve Quang, D.T., Calixarene-Derived Fluorescent Probes, Chem. Rev., 107 (2007) 3780-3799.
7. Leray, I. ve Valeur, B., Calixarene-Based Fluorescent Molecular Sensors for Toxic Metals, Eur. J. Inor. Chem., 40 (2009) 3525-3535.
8. Çağlar, Y., Gümrükçüoğlu, N., Saka, E.T., Ocak, M., Kantekin, H. ve Ocak, Ü., Phthalocyanine-based Fluorescent Chemosensor For the Sensing of Zn(II) in Dimethyl Sulfoxide-acetonitrile, J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem., 72 (2012) 443-447.
9. Leznoff, C.C. ve Lever A.B.P., Phthalocyanines Properties and Applications, New York, 1996.
10. Ball, D.F. ve Dartnell, J., Agglomeration of Iron Ores, New York, 1973.
11. Yang, L., Wang, L., Lin, L., Peng, Z. ve Lu, G., Polarographic Determination of Total Iron Content Using a $Fe^{2+/3+}$ -Methylthymol Blue- NO_2^- System, Analyt. Scienc., 20 (2004) 1655-1659.
12. Tokalioğlu, Ş. ve Gürbüz, F., Selective Determination of Copper and Iron in Various Food Samples by Solid Phase Extraction, Food Chem., 123 (2010) 183-187.
13. Ovalioğlu, R., Marin Sedimanter Demir Yataklarının Önemi ve Jönezleri Hakkında Yeni Düşünceler, Madencilik Dergisi, 3 (1969) 181-184.
14. Atkins, P. ve Jones, L., Chemistry, New York, 1997.

15. www.jmo.org.tr/, Demir. 24 Şubat 2014.
16. Takaji, K. ve Toshikatsu, Otani., Properties of Various Pure Irons: Study on pure Iron, Tetsu-to-Hagane, 50 (1964) 42-47.
17. Sheftel, A.D., Mason, A.B. ve Ponka, P., The Long History of Iron in the Universe and in Health and Disease, Bichim. Biophysic. Acta, 1820 (2012) 161-187.
18. Mao, J., He, Q. ve Liu, W., An Rhodamine-based Fluorescence Probe for Iron(III) Ion Determination in Aqueous Solution, Talanta, 80 (2010) 2093-2098.
19. Chen, Y. ve Barak, P., Iron Nutrition of Plants in Calcareous, Adv. Argon., 35 (1982) 217-240.
20. Blain, S. ve Treguer, P., Iron(II) and Iron(III) Determination in Sea Water at the Nanomolar Level with Selective On-line Preconcentration and Spectrophotometric Determination, Anal. Chim. Acta, 308 (1995) 425-429.
21. Sıong, T.E., Choo, K.S. ve Shahid, M., Determination of Iron in Foods by the Atomic Absorption Spectrophotometric and Colorimetric Methods, Pertanika, 12 (1989) 313-323.
22. Dufailly, V., Noel, L. ve Guerin, T., Determination of Chromium, Iron and Selenium in Foodstuffs of Animal Origin by Collision Cell Technology, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), After Closed Vessel Microwave Digestion, Anal. Chim. Acta, 565 (2006) 214 - 221.
23. Croot, P.L. ve Johanson, M., Determination of Iron Speciation by Cathodic Stripping Voltammetry in Seawater Using the Competing Ligand 2-(2-Thiazolylazo)-p-cresol (TAC), Electroanalysis, 12 (2000) 565-576.
24. Deutsch, F., Hoffman, P. ve Ortner, H., M., Field Experimental Investigation on the Fe(II) and Fe(III) Content in Cloudwater Samples, J. Atmos. Chem, 40 (2001) 87-92.
25. Pulido-Tofino, P., Barrero-Moreno, J.M. ve Perez-Conde, M.C., A Flow-through Fluorescent Sensor to Determine Fe(III) and Total Inorganic Iron, Talanta, 51 (2000) 537-542.
26. Canfranc, E., Abarca, A., Sierra, I. ve Marina M.L., Determination of Iron and Molybdenum in A Dietetic Preparation by Flame AAS After Dry Ashing, J. Pharm. Biomed. Anal, 25 (2001) 103-108.
27. Lu, G.H., Yao, X., Wu, X.G. ve Zhan, T., Determination of the Total Iron by Chitosan-modified Glassy Carbon Electrode, Microchem. J, 69 (2001) 81-87.
28. Hofmann, H., Hofmann, P. ve Lieser, K.H., Transition Metals in Atmospheric Aqueous Samples, Analytical Determination and Speciation, Fresenius J. Anal. Chem., 340 (1991) 591-597.

29. Babu, D.R. ve Naidu P.R., A Solvent Extraction-atomic Absorption Technique for the Simultaneous Determination of Low Concentrations of Iron, Nickel, Chromium and Manganese in Drinking Water, Talanta, 38 (1995) 175-179.
30. Demertzis. M.A., Low Dedection Limit Spectrophotometry, Anal. Chim. Acta, 505 (2004) 73-76.
31. Valeur, B., Molecular Fluorescence: Principles and Applications, 2001 Wiley-VCH Verlag GmbH ISBNs: 3-527-29919-X (Hardcover); 3-527-60024-8 (Electronic) <http://physweb.bgu.ac.il/>, 24 Şubat 2014.
32. Sharma, A. ve Schulman. S.G., Introduction to Fluorescence Spectroscopy, New York, 1999.
33. Lee, R.E.JR. ve von Lehmden, D.J., Trace Metal Pollution in the Environment, J. Air Pollut. Control Assoc., 23 (1973) 853-857.
34. Valeur, B. ve Leray, I., Design Principle of Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition , Coord. Chem. Rev., 205 (2000) 3-40.
35. Pedersen, C.S., Cyclic Polyethers and Their Complexes with Metal Salts, J. Am. Chem. Soc., 89 (1967) 7017-7036.
36. Izatt, R.M., Pawlak, K., Bradshaw, J.S. ve Bruening. R.L., Thermodynamic and Kinetic Data for Macrocycle Interactions with Cations and Anions, Chem. Rev., 91 (1991) 1721-2085.
37. Gawley, R.E., Zhang, Q., Higgs, P.I. ve Lebnac, R.M., Anthracylmethyl Crown ethers as Flourescence of Saxitin, Tetrahedron Letters, 40 (1999) 5461-5465.
38. Qazi, M.A., Querishi, I. ve Memon, S., Hg(II) Selective Complexation by Chromoionophoric Calix[4]arene Derivative, J. Fluoresc., 21 (2011) 1231-1230.
39. Hulanıckı, A., Glab, S. ve Ingman, F., Chemical Sensors Definitions and Classification, Pure and Appl. Chem., 83 (1991) 1247-1250 .
40. Beer, P.D., Gale, P.A. ve Smith, D.K., Supramolecular Chemistry, New York, 1999.
41. Cody, J. ve Fahrni, C.J., Fluorescence Sensing Based on Cation-induced Conformational Switching: Copper: Selective Modulation of the Photoinduced Intramolecular Charge Transfer of A Donor-acceptor Biphenyl Fluorophore, Tetrahedron, 60 (2004) 11099-11107.
42. Lakowicz, J.R., Ed. Principles of Fluorescence Spectroscopy, New York, 1999.
43. Martinez-Manez, R. ve Sancenon, F., Fluorogenic and Chromogenic Chemosensors and Reagents for Anions, Chem. Rev., 103 (2003) 4419-4476.
44. Desvergne, J.P. ve Czarnik, A.W., Chemosensors of Ion and Molecule Recognition, Netherland, 1997.

45. Kim, J.S., Noh, K.H., Lee, S.H., Kim, S.K., Kim, S.K. ve Yoon, J., Molecular Taekwondo 2. A New Calix[4]azacrown Bearing Two Different Binding Sites as A New Fluorescent Ionophore, J. Org. Chem., 68 (2003) 597-600.
46. Kim, J.S., Son, O.J., Rim, J.A., Kim, S.K. ve Yoon, J., Pyrene-Armed Calix[4]azacrowns as New Fluorescent Ionophores: 'Molecular Taekwondo' Process Via Fluorescence Change, J. Org. Chem., 67 (2002) 2348-2351.
47. Valeur, B., Bourson, J., Pouget, J. ve Czarnik A.W., Fluorescent Chemosensors for Iron and Molecule Recognition, p 25, ACS Symposium Series 538: American Chemical Society, Washington DC, 1993.
48. Retting, W. ve Lapouyade, R., Topics in Fluorescence Spectroscopy: in Probe Design and Chemical Sensing, Lakowicz, J.R., 4, 109, Plenum, New York, 1994.
49. Löhr, H.G. ve Vögtle, F., Chromo- and Fluoroionophore. A New Class of Dye Reagents, Acc. Chem. Res., 18 (1985) 65-72.
50. Akaya, E.U., Huston, M.E. ve Czarnic, A.W., Chelation enhanced fluorescence of Anthrylazamacrocycles Conjugate Probes in Aqueous Solution, J. Am. Chem. Soc., 112 (1990) 3590.
51. Klopffer, W., In Organic Molekular Photophysics, New York, 1970.
52. Kim, S.K., Lee, S.H., Lee, J.Y., Lee, J.Y., Bartsch, R.A. ve Kim, J.S., An Excimer-based, Binuclear, On-off Switchable Calix[4]crown Chemosensor, J. Am. Chem. Soc., 126 (2004) 16499-16506.
53. Winnik, F.M., Photophysics of Pre-associated Pyrene in Aqueous Polymer Solutions and in Other Organized Media, Chem. Rev., 93 (1993) 587-614.
54. Lee, S.H., Kim, S.H., Kim, S.K., Jung, J.H. ve Kim, J.S., Fluorescence Ratiometry of Monomer/excimer Emissions in A Spaca Through PET system, J. Org. Chem., 70 (2005) 9288-9295.
55. Lee, J.Y., Kim, S.K., Jung, J.H. ve Kim, J.S., Bifunctional Fluorescent Calix[4]arene Chemosensor for Both A Cation and An Anion, J. Org. Chem., 70 (2005) 1463-1466.
56. Winnik, M.A., Cyclization and the Conformation of Hydrocarbon Chains, Chem. Rev., 81 (1982) 491-524.
57. Wang, Y. ve Morewetz, H.J., Study of the Equilibrium and the Kinetics of the Fluorescence Enhancement on Mixing Solutions of Auramine and Poly(methacrylic acid), Macromolecules, 19 (1986) 1925-1930.
58. Morewetz, H.J., Fluorescence Studies of Polymer Dynamics, J. Lumin., 43 (1989) 59-71.

59. Goldenber, M., Emert, J. ve Morawetz, H.J., Intramolecular Excimer Study of Rates of Conformational Transitions. Dependence on Molecular Structure and the Viscosity of the Medium, J. Am. Chem. Soc., 100 (1978) 7171-7177.
60. Birk, J.B., Photophysics of Aromatic Molecules, New York, 1970.
61. Nohta, H., Satozono, H., Koiso, K., Yoshida, H., Ishida, J. ve Yamaguchi, M., Highly Selective Fluorometric Determination of Polyamines Based on Intramolecular Excimer-forming Derivatization with A Pyrene-labeling Reagent, Anal. Chem., 72 (2000) 4199-4204.
62. Okamoto, A., Ichiba, T. ve Saito, J., Pyrene-labeled Oligodeoxynucleotide Probe for Detecting Base Insertion by Excimer Fluorescence Emission, J. Am. Chem. Soc., 126 (2004) 8364-8365.
63. Mattay, J., Photochemistry of Arenes-Reloaded, Angewandte Chemie, 46 (2006) 663-665.
64. Moser, F.H. ve Thomas, A.L., The Phthalocyanines, Manufacture and Applications, 2, CRC:Boca Raton, Florida, 1983.
65. De Diesbach, H. ve Von der Weid, E., Quelques Sels Complexes o- Dinitriles avec le Cuivre la Pyridine, Helv. Chim. Acta., 10 (1927) 886-887.
66. Braun, A. ve Tcherniac, J., Über die Produkte der Eirwirkung von Acetanhydrid auf Phthalamid, Ber. Deutsch. Chem. Ges., 40 (1907) 2709-2714.
67. Mc Keown, N.B., Phthalocyanine Materials Sythesis, Structure and Function, Cambridge, 1998.
68. Atilla, D., Kılınc, N., Yüksel, F., Gürek, A.G., Öztürk, Z.Z. ve Ahsen, V., Synthesis, Characterization, Mesomorphic and Electrical Properties of Tetrakis(alkylthio)-substituted Lutetium (III) bisphthalocyanines, Synthetic Metals, 159 (2009) 13-21.
69. Leznoff, C.C. ve Lever A.B.P., Phthalocyanines-Properties and Applications, VCH, New York, 1993.
70. Leznoff, C.C., ve Lever A.B.P., Phthalocyanines-Properties and Applications, VCH, New York, 1989.
71. Sharp, J.H. ve Lardon, M., Spectroscopic Characterization of A New Polymorph of Metal-free Phthalocyanine, J. Phys. Chem., 72 (1968) 3230-3233.
72. Langa, F. ve Barra, E., Microwave Irradiation: More Than Just A Method for Accelerating Reactions, Contemp. Org. Synth., 12 (1997) 373-386.
73. Hamuryudan, E., Diaza-Dioksa Süstitüe Ftalosiyenin, Oksim ve Kompleksleri, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1994.

74. Saka, E.T., Durmuş, M. ve Kantekin, H., Solvent and Central Metal Effects on the Photophysical and Photochemical Properties of 4-benzyloxybenzoxy Substituted Phthalocyanines, J. Organometal. Chem., 4 (2011) 913-924.
75. Thomas, A.L., Phthalocyanine Research and Applications, CRC:Boca Raton, Florida, 1990.
76. Emmelius, M., Pawlowski, G. ve Vollmann, H.W., Materials for Optical Data Storage, Angew. Chem. Int. Ed., 28 (1989) 1445-1470.
77. Zhou, R., Josse, F., Göpel, W., Öztürk, Z.Z. ve Bekaroğlu, Ö., Review: Phthalocyanines as Sensitive Materials for Chemicals Sensors, Appl. Organomet. Chem., 10 (1990) 557-577.
78. Serrano. J.L., Metallomesogen, VCH, Weinheim, 1996.
79. Mortimer, R.J., Dyer, A.L. ve Reynolds, J.R., Electrochromic Organic and Polymeric Materials for Display Applications, Displays, 27 (2006) 2–18.
80. Bağdır, B., Yeni Ftalosiyanın Sentezi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2006.
81. Gündüz. T., İnrümental Analiz, Altıncı Baskı, Ankara, 2002.
82. Tunalı, N.K. ve Özkar. S., Anorganik Kimya, Üçüncü Baskı, Ankara, 1997.
83. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Principles of Instrumental Analysis, Florida, 1998.
84. Guilbault, G.G., Practical Fluorescence, Louisiana, 1990.
85. Sharma, A. ve Schulman, S.G., Introduction to Fluorescence Spectroscopy, Florida, 1999.
86. Küçüköz, B., Aza-Bodipy Bileşiklerinin Ultra Hızlı Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2012.
87. Hof, M. ve Makhan. R., Quenching of Fluorescence, Institute of Physical Chemistry, Czech Technical University, Prag, www.jh-inst.cas.cz/, 23 Şubat 2014.
88. Harevey, A.E. ve Manning. D.L., Spectrophotometric Methods of Establishing Empirical Formulas of Colored Complexes in Solution, J. Am. Chem. Soc., 72 (1950) 4488-4493.
89. Skoog, D.A., West, D.M. ve Holler, F.J., Fundamentals of Analytical Chemistry, Philadelphia, 1992.
90. Cantle, J.E., Atomic Absorption Spectrometry, Amsterdam, 1982.
91. Yıldız, A. ve Genç. Ö., Enstrümental Analiz, Ankara, 1983.

92. Metcalfe, E., Atomic Absorption Spectrometry, Chichester, 1987.
93. Haris, D.C., Quantitative Chemical Analysis, New York, 2007.
94. Stauffer, M.T., Undergraduate Analytical Chemistry: To Use and Evaluate Organic Chelators for Spectrophotometric Determination of Iron, Spect. Lett., 40 (2007) 439-452.
95. Long, G.L. ve Winefordner. J.D., Limits of Dedection, Anal. Chem., 55 (1983) 713-724.
96. Bauer, E.L., A Statistical Manuel for Chemists, New York, 1971.
97. Gündüz, T., Kimyacılar İçin İstatistik, Ankara, 1998.
98. Cha, K-W. ve Park. C-I., Spectrofluorimetric Determination of Iron(III) with 2-pyridinecarbalddhyde-5-nitro-pyridylhydrazone in the Presence of hexadecyltrimethylammonium Bromide Surfactant, Talanta, 43 (1996) 1335-1340.
99. Ragos, C.G., Demertzis. M.A. ve Issopoulos. P.B., A High-sensitive Spectrofluorimetric Method for the Determination of Micromolar Concentrations of Iron(III) in Bovine Liver with 4-hydroxyquinoline, Il Farmaco, 53 (1998) 611-616.
100. Asan, A., Andac. M. ve Isildak. I., Flow Injection Spectrofluorimetric Determination of Iron(III) in Water Using Salicylic Acid, Chem. Pap., 64 (2010) 424-428.
101. Zhou, Q., Liu. W., Chang. L. ve Chen. F., Spectral Study of The Interaction Between 2-pyridinecarbaldehyde-p-phenyldihydrazone and Ferric Iron and Its Analytical Application, Spect. Chim. Act. Part A: Mol. and Biomol. Spect., 92 (2012) 78-83
102. Yi, C., Tian. W., Song. B., Zheng. Y., Qi. Z., Qi. Q. ve Sun. Y., A New Turn-off Fluorescent Chemosensor for Iron(III) Based on New Dipenylfluorenes with Phosponic Acid, J. Lumin., 141 (2013) 15-22.
103. Du, Y., Chen. M., Zhang. Y., Luo. F., He. C., Li. M. ve Chen. X., Determination of Iron(III) Based on the Fluorescence Quenching of Rhodamine B Derivative, Talanta, 106 (2013) 261-265.
104. Cha, K-W. ve Park. K-W., Determination of Iron(III) with Salicylic Acid by the Fluorescence Quenching Method, Talanta, 46 (1998) 1567-1571.
105. Shamsipur, M., Sadeghi. M., Garau. A. ve Lippolis. V., An Efficient and Selective Fluorescent Chemical Sensor Based on 5-(8-hydroxy-2-quinolinylmethyl)-2,8-ditiha-5-aza-2,6-pyridinophane as A New Fluoroionophore for Determination of Iron(III) Ions. A Novel Probe for Iron Speciation, Anal. Chim. Act., 761 (2013) 169-177.
106. Huang, H., Liu. F., Chen. S., Zhao. Q., Liao. B., Long. Y., Zheng. Y. ve Xia. X., Enhanced Fluorescence of Chitosan Based on Size Change of Micelles and Application to Directly Selective Detection Fe³⁺ in Human Serum, Biosensors and Bioelectronics, 42 (2013) 539-544.

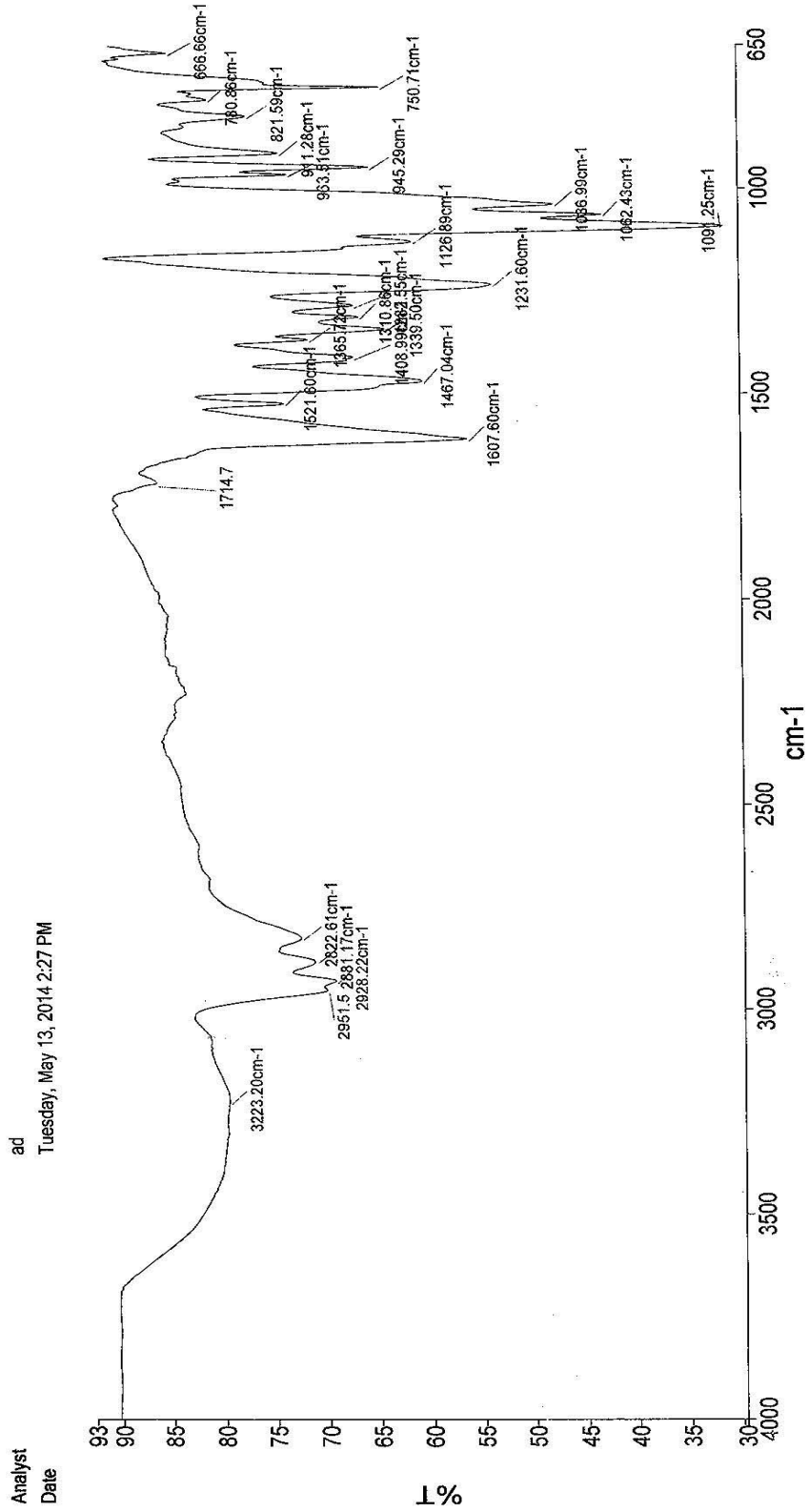
107. Sayour, H.E.M., Razek. T.M.A. ve Fadel. K.F., Flow Injection Spectrofluorimetric Determination of Iron in Industrial Effluents Based on Fluorescence Quenching of 1-naphthol-2-sulfonate, J. Fluoresc., 21 (2011) 1385-1391.
108. Dai, G. ve Aodeng G., Determination of Iron(III) in Chinese Herbal Medicine and Tea Based on Fluorescence Quenching of 2,4-dichlo-phenyfluorone, Guang pu, 24 (2004) 848-850.
109. Gandhi, S., Sathiyaraja, V. ve Chellappa, D., Turn-on Fluorogenic and Chromogenic Detection of Fe(III) and Its Application in Livingcell Imaging, J. Lumin., 145 (2014) 480-485.
110. Jung, H.J., Sing, N., Lee, D.Y. ve Jang, D.U., Single Sensor for Multiple Analytes: Chromogenic Detection of I and Fluorescent Detection of Fe³⁺, Tetrahedron Letters, 51 (2010) 3962-3965.
111. Zhang, M., Zheng, B., Yuan, H. ve Xiao, D., A Spectrofluorimetric Sensor Based On Grape Skin Tissue For Determination Of Iron(III), Bull. Chem. Soc. Ethiop., 24,1 (2010) 31-37.
112. Lin, W., Long, L., Yuan, L., Cao Z. ve Feng, J., A Novel Ratiometric Fluorescent Fe³⁺ Sensor Based on a Phenanthroimidazole Chromophore, Anal. Chim. Act., 634 (2009) 262-266.
113. Lee, D.Y., Singh N. ve Jang, D.O., Fine Tuning of a Solvatochromic Fluorophore for Selective Determination of Fe³⁺: A New Type of Benzimidazole-based Anthracene-coupled Receptor, Fuel, 117 (2014) 520-527.
114. Rodrigues, S.S.M., Lima, A.S., Teixeira, L.S.G., Korn, M.G.A. ve Santos, J.L.M., Determination of Iron in Biodiesel Based on Fluorescence Quenching of CdTe quantum dots, Fuel, 117 (2014) 520-527.
115. Xu, H-J., Hou, Y-M., Ma, Wu, X-F. ve Wei, X-J., A Highly Selective Fluorescent Sensor for Fe³⁺ Based on Covalently Immobilized Derivative of Naphthalimide, Spect. Chim. Act. Part A: Mol. and Biomol. Spect., 112 (2013) 116-124.
116. Feng, L., Chen, Z. ve Wang, D., Selective Sensing of Fe³⁺ Based on Fluorescence Quenching by 2,6-bis(benzoxazolyl)pyridine with β -cyclodextrin in Neutral Aqueous Solution, Spect. Chim. Act. Part A: Mol. and Biomol. Spect., 66 (2007) 599-603.
117. Hossein, T. ve Rozita, N., Effect of Surfactant on Spectrofluorimetric Determination of Fe(III), Asian Journal of Chemistry, 22 (2010) 6663-6668.
118. Wei, M., Long, L., Pu, Yun-yue; Xiao, Ning-le; Xie, Dan, Study on the Determination Iron (III) Based on Fluorescence Quenching of Chlorogenic Acid, Hunan Chengshi Xueyuan Xuebao, Ziran Kexueban, 21 (2012) 65-68.
119. Zhang, X-B., Cheng, G., Zhang, W-J., Shen, G-L. ve Yu R-Q., A Fluorescence Chemical Sensor for Fe³⁺ Based on Blocking of Intramolecular Proton Transfer of A Quinazolinone Derivative, Talanta, 71 (2007) 171-177.

120. Liping, L., Zaihui, D., Jiaoliang, W. ve Qingjiao, L., Determination of Fe(III) by Cerradine Fluorescence Quenching Method, Huagong Huanbao, 28 (2008) 549-552.
121. Pinna, G.A., Cignarella, G., Loriga, G., Murineddu, G., Mussinu, J.M., Ruiu, S., Faddad, P. ve Frattad, W., N-3(9)-Arylpropenyl-N-9(3)-propionyl-3,9-diazabicyclo[3.3.1]nonanes as Opioid Receptor Agonists. Effects on Affinity of Arylalkenyl Chain Modifications, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 10 (2002) 1929–1937.
122. Bıyıklıoğlu, Z., Novel Water-soluble Metal-Free and Metallophthalocyanines: Synthesis, Spectroscopic Characterization and Aggregation Properties, Synthetic Metals, 161 (2011) 508-515.
123. Saka, E.T., Göl, C., Durmuş, M., Kantekin, H. ve Bıyıklıoğlu, Z., Photophysical, Photochemical and Aggregation Behavior of Novel Pheripherally Tetra-Substituted Phthalocyanine Derivatives, J. Photocem. Photobio. A: Chem., 241 (2012) 67-68.
124. Takahashi, K., Kawashima, M., Tomita, Y. ve Itoh, M., Synthesis and Spectral and Electrochemical Properties of 2,3,9,10,16,17,23,24-octabutylthiophthalocyaninato Zinc(II), Inorg. Chim. Acta., 232 (1995) 69-72.
125. Radhakrishnan, P.K. ve Raju, K.C., Complexes of Iron(III) with 1,2-dihydro-1,5-dimethyl-2-phenyl-4-formyl(benzhydrazide)-3H-pyrazol-3-one, Ind. J. Chem., 44 (2005) 1812-1816.
126. Walmsley, F., Preparation and Characterization of Nickel and Cobalt Complexes, San Antino, 2010.
127. Santhi, S. ve Radhakrishnan Namboori, C.G., Synthesis, Characterization and Spectral Studies of Fe(III) and Cr(III) Base Complexes with Acetoacetanilidoethylenediamine, Oriet. J. Chem., 27 (2011) 1203-1208.
128. Arora, K., Sharma, M. ve Sharma, K.P., Studies of Some Lanthanide(III) Nitrate Complexes of Schiff Base Ligands, E-J. Chem., 6 (2009) 201-210.
129. Geary, W.J., The Use Of Conductivity Measurements In Organic Solvents for the Characterisation of Coordination Compounds, Coord. Chem. Rew., 7 (1971) 81-122.
130. Çamur, M., Bulut, M., Kandaz, M. ve Güney, O., Effects of Coumarin Substituents on the Photophysical Properties of Newly Synthesised Phthalocyanine Derivatives, Sup. Chem., 21 (2008) 624-631.
131. Hassan, S.S.M., Marzouk, S.A.M., Mohamed, A.H.K. ve Badawy, N.M., Novel Dicyanoargentate Polymeric Membrane Sensors for Selective Determination of Cyanide Ions, Electroanalysis, 16 (2004) 298-303.
132. Li, Z., Yang, Q., Chang, R., Ma, G., Chen, M. ve Zhang, W., N-Heteroaryl-1,8-naphthalimide Fluorescent Sensor for Water: Molecular Design, Synthesis and Properties, Dyes and Pigments, 88 (2011) 307-314.

133. Zeng, H. ve Durocher, G., Analysis of Fluorescence Quenching in Some Antioxidants from Non-linear Stern-Volmer plots, J. Lumin., 63 (1995) 75-84.
134. Behera, P.K., Mukherjee, T. ve Mishra, A.K., Simultaneous Presence of Static and Dynamic Component in the Fluorescence Quenching for Substituted Naphthalene-CCl₄ system, J. Lumin., 65 (1995) 131-136.
135. Min, J., Meng-Xia, X., Dong, Z., Yuan, L., Xiao-Yu, L. ve Xing, C., Spectroscopic Studies on the Interaction of Cinnamic Acid and Its Hydroxyl Derivatives with Human Serum Albumin, J. Molec. Struct., 692 (2004) 71-80.
136. Thipperudrappa, J. Ve Hanagodimath, S.M., Fluorescence Quenching of 1,4-bis[2-(2-metilfenil)ethenil]-benzen by Aniline in Benzene-acetonitrile Mixtures, Int. J. Lif. Scienc. Pharm. Resec., 3 (2013) 77-87.
137. Al-Kady, A.S., Gaber, M., Hussein, M.M., Ebeid, El-Z., Structural and Fluorescence Quenching Characterization of Hematite Nanoparticles, Spect. Chim. Act. Part A: Mol. and Biomol. Spect., 83 (2011) 398-405.
138. Redy, A., Thipperudrappa, J., Biradar, D.S., Lagare, M.T. ve Hanagodimath, S.M., Fluorescence Quenching of Anthracene by Aniline in Different Solvents, Ind. J. Pur. Appl. Phys., 42 (2004) 648-652.
139. Bourson, J. ve Valeur B., Ion-responsive Fluorescent Compounds. 2. Cation-steered Intramolecular Charge Transfer in A Crowned Merocyanine, J. Phys. Chem., 93 (1989) 3871-3876.

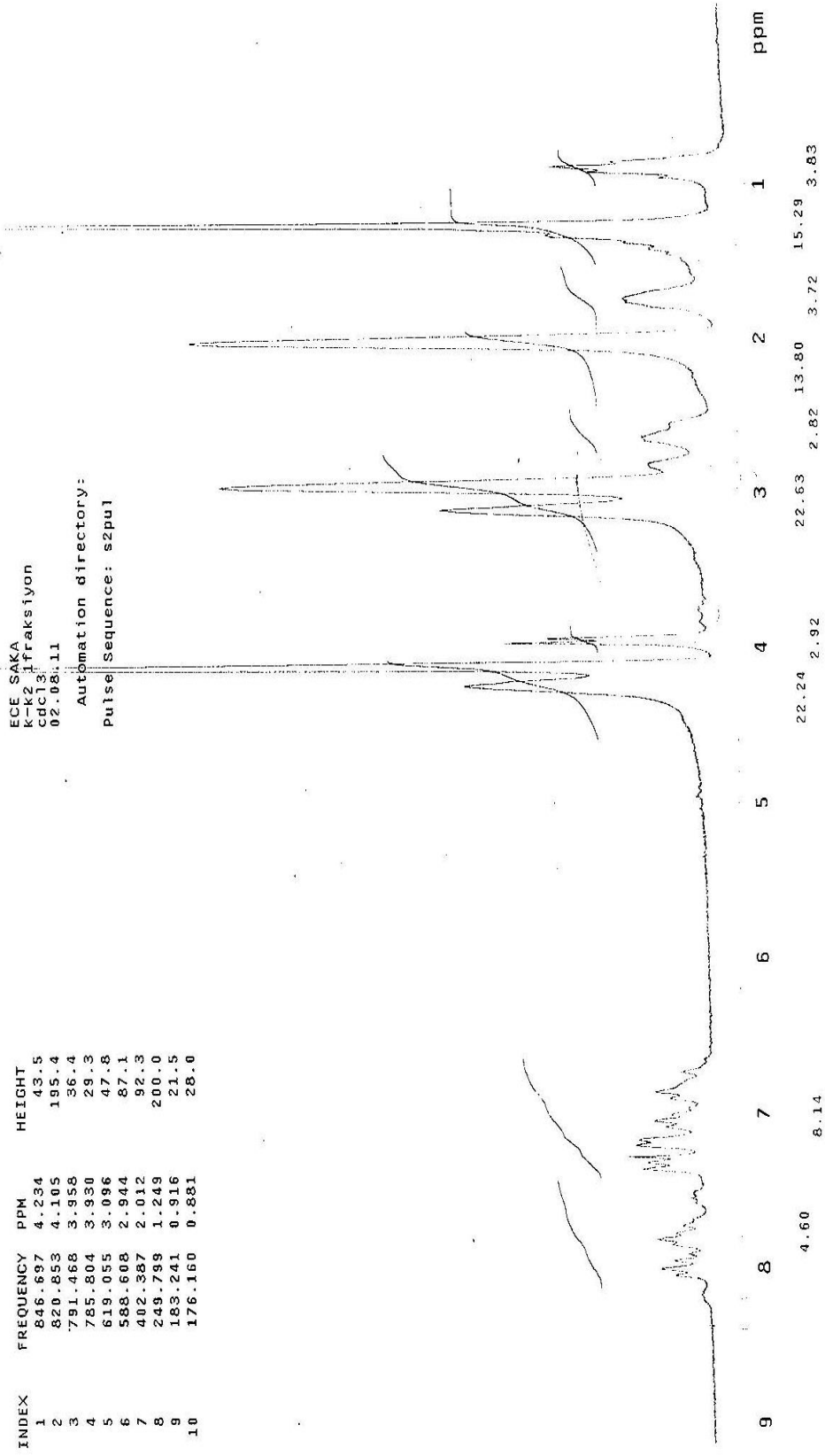
7. EKLER

PerkinElmer Spectrum Version 10.03.06
Tuesday, May 13, 2014 2:27 PM



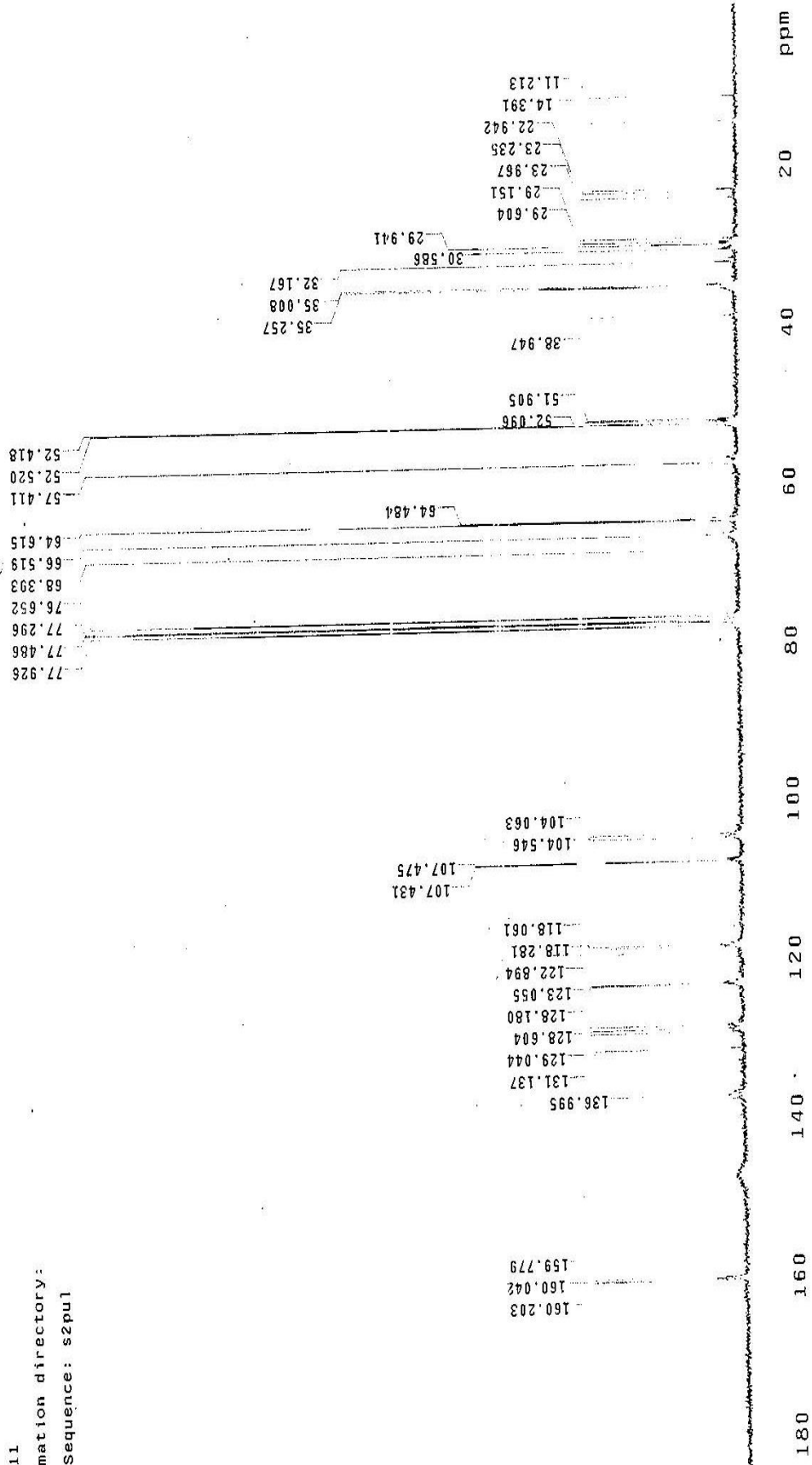
NI(II)-Pc_001_1 Sample 1283 By Administrator=2 Date Tuesday, May 13 2014

Ek Şekil 1. Ni-Pc Bileşiğinin IR spektrumu

Ek Şekil 2. Ni-Pc Bileşiminin ¹H-NMR spektrumu

ECE SAKAK-K2
 C8C13
 27.07.11

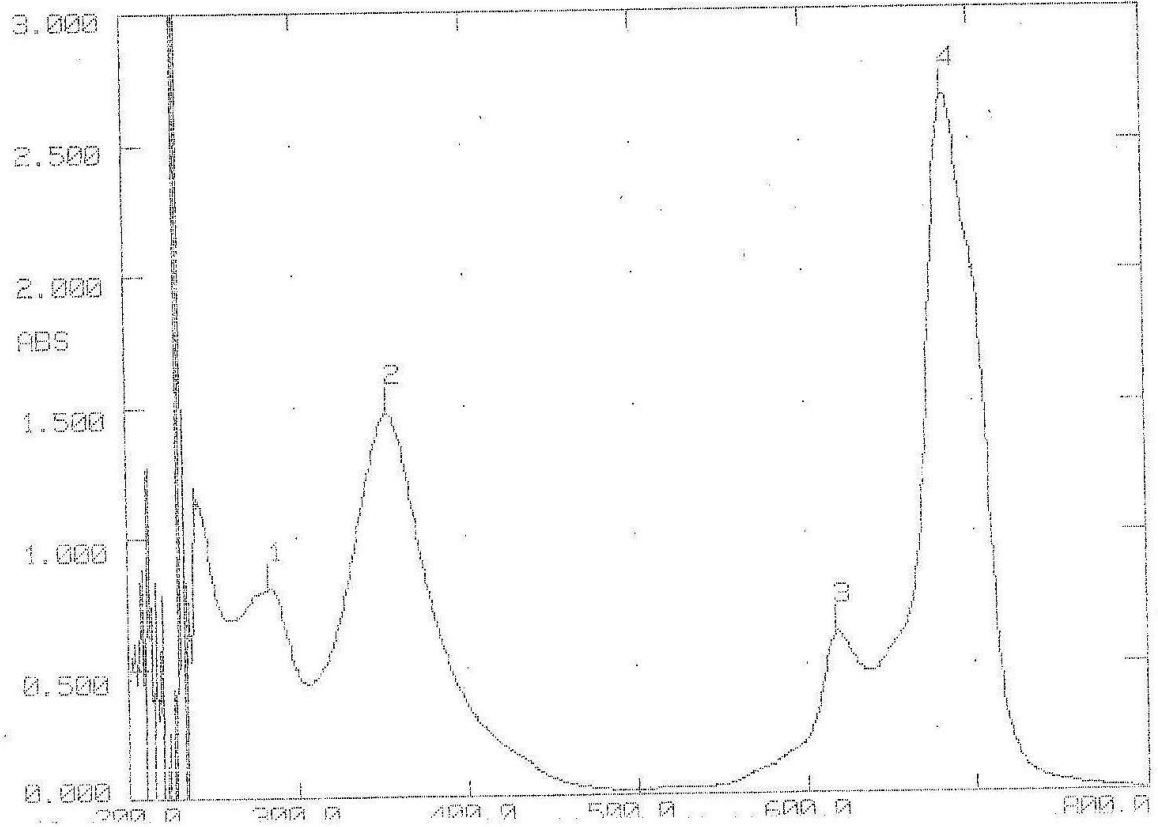
Automation directory:
 Pulse Sequence: s2pul



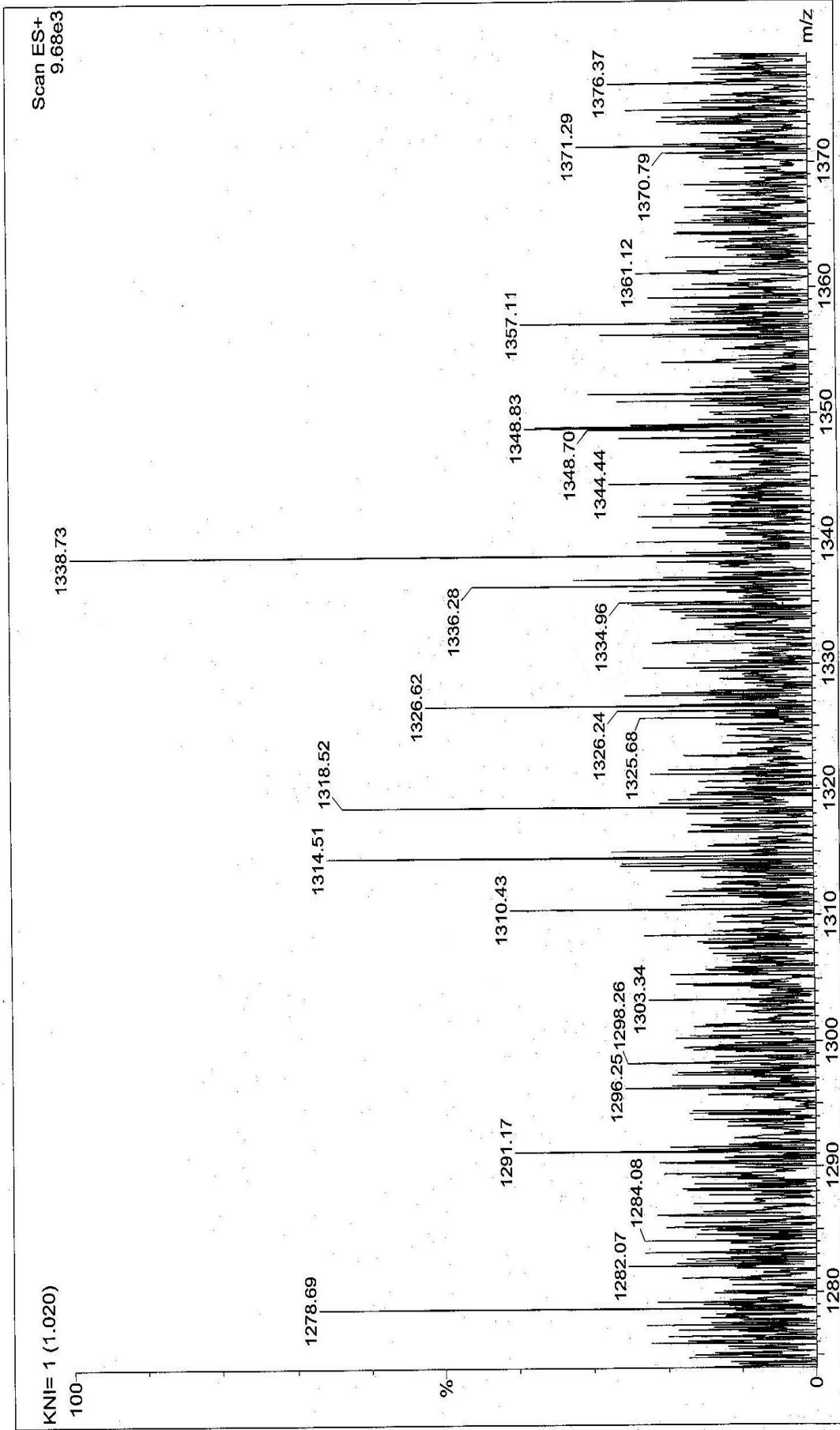
Ek Şekil 3. Ni-Pc Bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu

JNICAM UV2-100 UV/VISIBLE SPECTROMETER v3.32 PAGE 1
DATE: 09/06/11 TIME : 09:47:18 SERIAL No: 023403
ID: OPERATOR:
SCAN TYPE: INTELLISCAN SPEED: NORMAL DATA INT: 1.0nm
BASELINE: USER BANDWIDTH: 2.0nm LAMP CHANGE: 325 nm

TRACK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λ nm	284.0	353.0	617.0	693.0						
ABS	0.806	1.475	0.620	2.662						

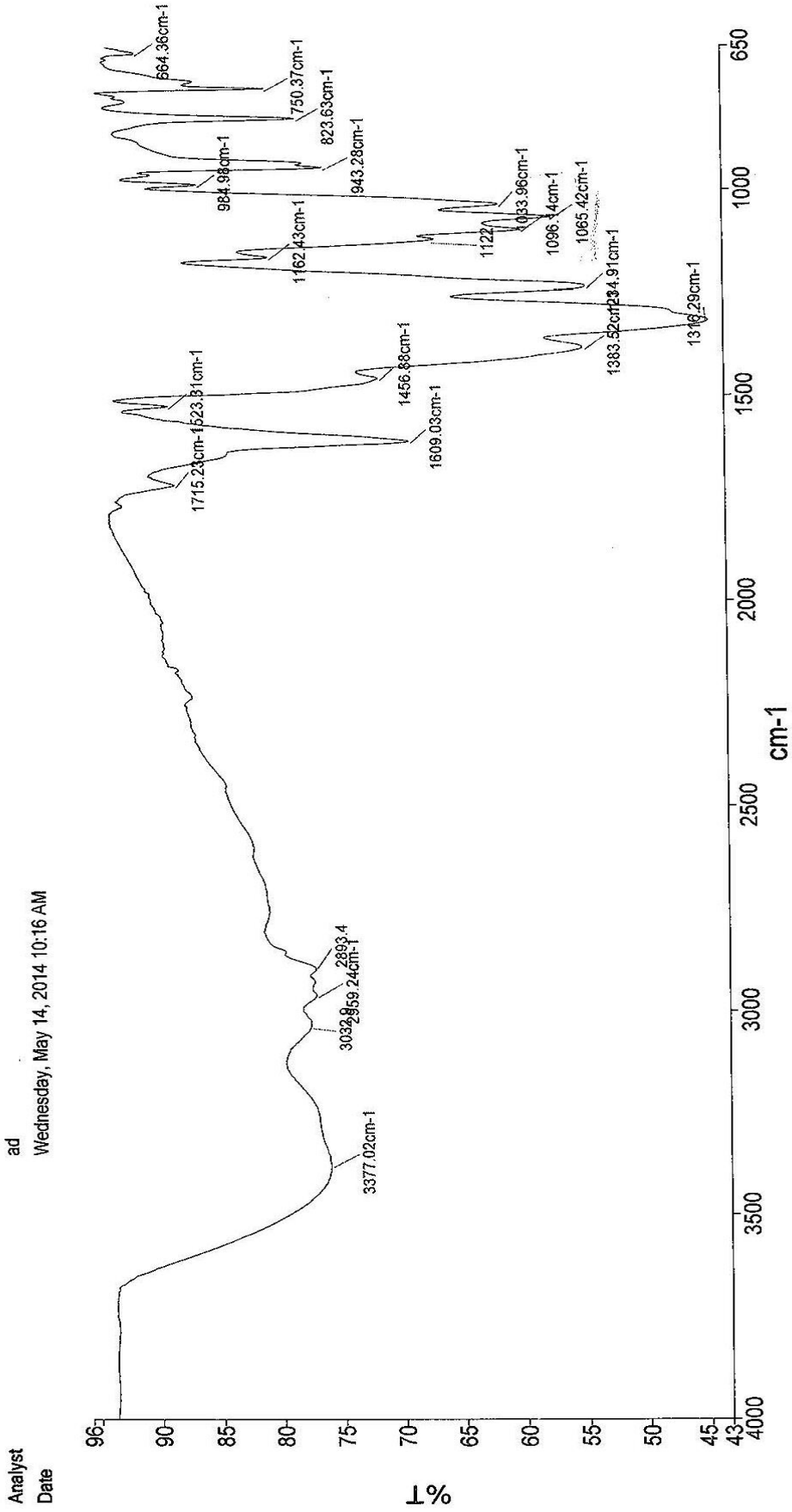


Ek Şekil 4. Ni-Pc Bileşiğinin UV – Vis. spektrumu

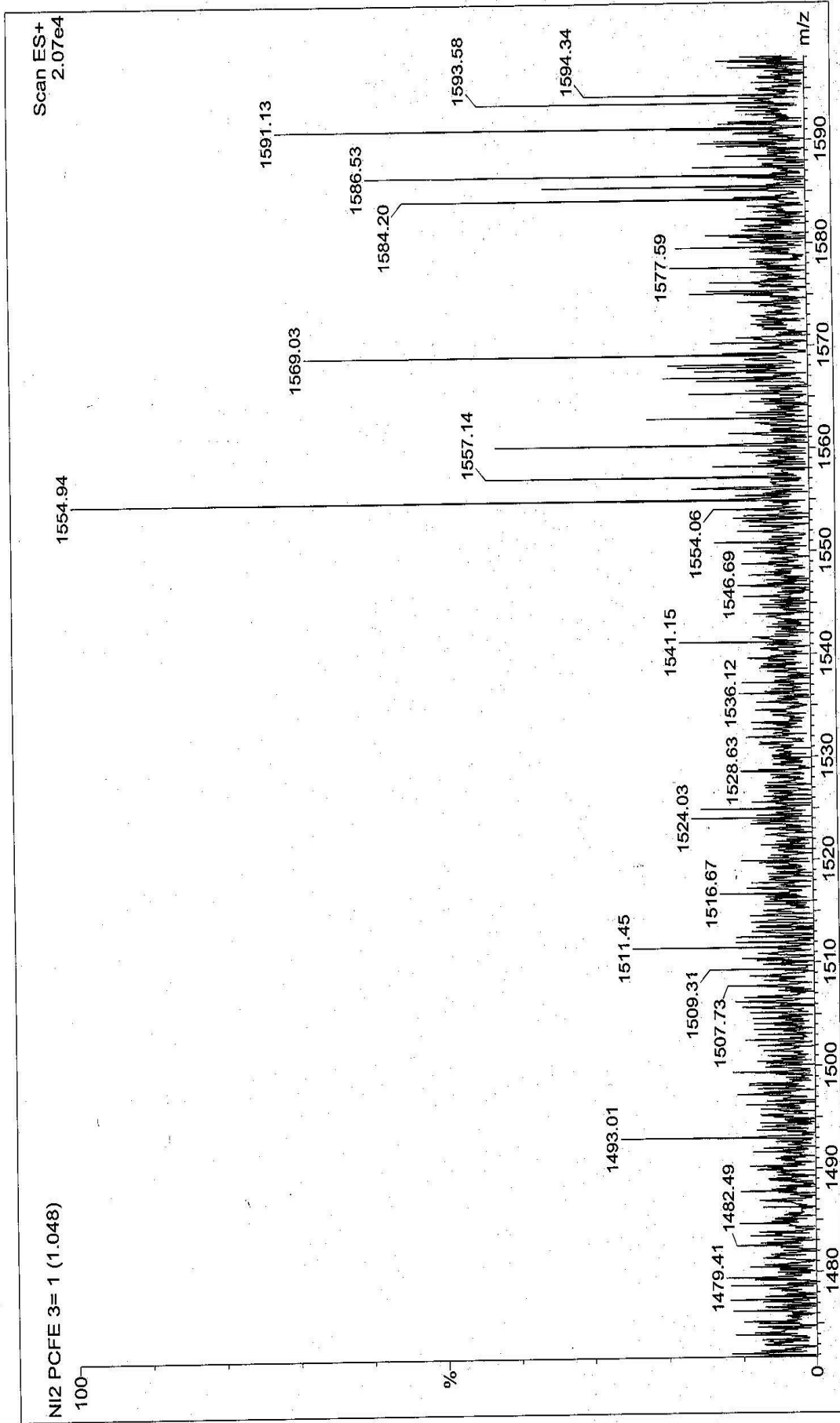


Ek Sekil 5. Ni-Pc Bilesiğinin kütle spektrumu

PerkinElmer Spectrum Version 10.03.06
Wednesday, May 14, 2014 10:16 AM



Ek Şekil 6. Ni-Pc:Fe(III) Bileşiğinin IR spektrumu



Ek Şekil 7. Ni-Pc:Fe(III) Bileşiğinin kütle spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

22.11.1981 tarihinde Tirebolu/Giresun'da doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Giresun'da tamamladı. 2000 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazandı. Bir yıl İngilizce hazırlık okuduktan sonra Haziran 2005'de bölüm birincisi olarak mezun oldu. 2005-2006 Eğitim-Öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans'a başladı. Kasım 2005'de Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne Araştırma Görevlisi olarak atandı. Temmuz 2008'de "Yeni Bir Ftalosiyanın ve Metal Bileşimlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu" adlı tez çalışmasını hazırlayarak Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. Yine 2008 yılı Ekim ayında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı'nda Doktora programına başladı. Yüksek Lisans Tezi ve yapmış olduğu diğer bilimsel çalışmaları yurtdışı bilimsel dergilerde yayımlandı. İyi derece İngilizce bilmekte olup, evli ve bir çocuk annesidir.