

**BENZOİK ASİT BİLEŞİKLERİNİN
pK DEĞERLERİNİN UV SPEKTROSKOPİSİ
YOLUYLA TAYİNİ**

Güzide PEKCAN

**Yüksek Lisans Tezi
KİMYA ANABİLİM DALI
ISPARTA 2005**

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BENZOİK ASİT BİLEŞİKLERİNİN
pK DEĞERLERİNİN UV SPEKTROSKOPİSİ
YOLUYLA TAYİNİ

GÜZİDE PEKCAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ISPARTA 2005

İÇİNDEKİLER	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. KURAMSAL TEMELLER	4
1.1.1. Benzoik Asit Hakkında Genel Bilgi	4
1.1.2. Karboksilik Asitlerin Asitlik Kuvvetleri	6
1.1.3. Benzoik Asitlerin Asitlik Kuvvetleri	10
1.1.4. Elektron Çekici ve Elektron Salıcı Gruplar	11
1.1.5. İyonlaşma Sabitlerinin Tayin Yöntemleri	13
2. KAYNAK BİLGİSİ	16
3. MATERYAL VE METOT	30
3.1. Genel Bilgi	30
3.2. Kullanılan Cihazlar	30
3.2.1. UV-Görünür Spektrofotometre Cihazı	30
3.2.2. Su Banyosu	30
3.2.3. pH-metre	30
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	31
3.3.1. Kullanılan Çözeltiler	33
3.4. Metot	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	38
4.1. Elektrot Kalibrasyonu	38
4.1.1. Su Ortamı	40
4.1.2. %10 ACN-Su Ortamı	41
4.1.3. %20 ACN-Su Ortamı	43
4.1.4. %30 ACN-Su Ortamı	44
4.2. Numunelerin UV Spektrumlarının Eldesi	46
4.2.1. Su Ortamı	46
4.2.2. %10 ACN-Su Ortamı	47
4.2.3. %20 ACN-Su Ortamı	47
4.2.4. %30 ACN-Su Ortamı	48
4.3. pHAB Programı İle Verilerin Değerlendirilmesi	49
4.3.1. Su Ortamı	53
4.3.2. %10 ACN-Su Ortamı	54
4.3.3. %20 ACN-Su Ortamı	55
4.3.4. %30 ACN-Su Ortamı	56
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
6. KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	66

ÖZET**Benzoik Asit Bileşiklerinin pK Değerlerinin
UV Spektroskopisi Yoluyla Tayini**

Benzoik asit ve benzoik asit türevlerinin su, %10, %20, %30 (v/v) asetonitril-su ortamlarında spektrofotometrik ölçümlerle pKa değerleri tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, çözücülerin asit dengelerini etkilediğini göstermiştir. Spektroskopik verilerden pKa değerlerinin hesaplanmasında pHAB bilgisayar programı kullanılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Benzoik asit, benzoik asit türevleri, asetonitril-su, spektrofotometri.

ABSTRACT**Determination of the pK Values of Benzoic Acid Compounds
using UV Spectroscopy**

The dissociation pK_a values of benzoic acid and substituted benzoic acids have been determined in water and acetonitrile-water media (10%, 20%, 30%) by spectrophotometric measurements. The results obtained shows that the solvents affect the acid equilibria. The pHAB computer program has been used for the calculation dissociation constants from spectrophotometric data.

KEYWORDS: Benzoic acid, substituted benzoic acids, acetonitrile-water, spectrophotometry.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında her türlü desteğini esirgemeyen danışman hocam SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. A. Hakan AKTAŞ'a, hesaplamalarımda kullandığım pHAB programını bana sağlayan Sayın Dr. Peter GANS'a, kimyasal maddelerimin maddi ödeneği için Bilimsel Araştırma Projelerine (0812-YL-04), çalışmalarım için hem maddi hem de manevi desteğini asla esirgemeyen ve beni bugünlere getiren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Güzide PEKCAN

Isparta - 2005

SİMGELER DİZİNİ

pKa	: İyonlaşma (kararlılık) sabiti
MeCN (ACN)	: Asetonitril
ϵ	: Dielektrik sabiti
DAD	: Diode-array dedektör
LC	: Sıvı Kromatografisi
CE	: Kapiler elektroforez
UV-Vis	: Ultra viyole görünür bölge spektrofotometresi
E°	: Standart elektrot potansiyeli
a	: Aktivite
μ	: İyonik şiddet
γ	: Aktivite katsayısı
R	: Korelasyon katsayısı
E	: Deney sırasında ölçülen mV değeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Absorpsiyon spektrumları: a) niflumik asit, b) nitrazepam, c) piridoksim, d) kinon	17
Şekil 2.2. 2-merkaptto-5-R-amino-1,3,4-thiadiazole maddesinin farklı pH'lardaki UV spektrumları	18
Şekil 2.3. Absorpsiyon spektrumları: a) icotidine , b) lupitidine , c) SK&F 93944	20
Şekil 2.4. Oksimin farklı pH'lardaki absorpsiyon spektrumları	22
Şekil 2.5. Polifenolik Asitlerin %30 luk ACN ortamında dalga boyu-pH-absorbans grafiği.	26
Şekil 2.6. 4.00×10^{-5} M Cef için pH 11.2 de farklı zamanlarda alınan spektrumları	28
Şekil 2.7. 4.00×10^{-5} M Cefp nin farklı pH'larda alınan spektrumları.	29
Şekil 4.1. Su ortamında benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği.	40
Şekil 4.2. %10 ACN-su ortamında benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği.	41
Şekil 4.3. %20 ACN-su ortamında benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği.	43
Şekil 4.4. %30 ACN-su ortamında benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği.	44
Şekil 4.5. Su ortamında benzoik asitin dalga boyu - absorbans grafiği	46
Şekil 4.6. %10 ACN-su ortamında benzoik asitin dalga boyu – absorbans grafiği.	47
Şekil 4.7. %20 ACN-su ortamında benzoik asitin dalga boyu – absorbans grafiği.	47
Şekil 4.8. %30 ACN-su ortamında benzoik asitin dalga boyu – absorbans grafiği.	48
Şekil 4.9. Su ortamında pH-absorbans grafiği.	53
Şekil 4.10. Su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği	53
Şekil 4.11. %10 ACN-su ortamında pH-absorbans grafiği.	54
Şekil 4.12. %10 ACN-su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği.	55
Şekil 4.13. %20 ACN-su ortamında pH-absorbans grafiği.	55
Şekil 4.14. %20 ACN-su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği.	56
Şekil 4.15. %30 ACN-su ortamında pH-absorbans grafiği.	56
Şekil 4.16. %30 ACN-su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği.	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı karboksilik asitlerin pK_a değerleri (Su ortamında) . . .	6
Çizelge 1.2. Asetik asit ve kloroasetik asitin pK_a değerleri.	8
Çizelge 1.3. Bazı asidik bileşiklerin pK_a değerleri.	9
Çizelge 1.4. Alkol, fenol ve karboksilli asitlerin pK_a değerleri.	9
Çizelge 1.5. Elektron salıcı ve elektron çekici gruplar.	11
Çizelge 1.6. Elektron salıcı ve elektron çekici grupların pK_a değerleri . .	12
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bileşiklerin kimyasal yapıları.	31
Çizelge 3.2. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri	32
Çizelge 4.1. Su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri . .	40
Çizelge 4.2. Su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen E° değerleri .	41
Çizelge 4.3. %10 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri	42
Çizelge 4.4. %10 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen E° değerleri.	42
Çizelge 4.5. %20 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri.	43
Çizelge 4.6. %20 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen E° değerleri.	44
Çizelge 4.7. %30 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri.	45
Çizelge 4.8. %30 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen E° değerleri	45
Çizelge 4.9. Çalışmada kullanılan bileşiklerin pK_a değerleri.	49
Çizelge 4.10. Program yardımıyla hesaplanan pK_a değerleri	52

1. GİRİŞ

Asit kararlılık sabitleri, farklı pH değerlerinde çözeltilerde bulunan moleküllerin iyonlaşma derecesini belirlemek için kullanılan önemli parametrelerdir. Organik çözücülerin asitlik sabitleri, analitik yöntemlerin çoğunda temel rol alır. Bu nitelikte, asit – baz özelliklerinin; toksiklik , kromatografik alıkonma ve organik asit – bazların farmakolojik özelliklerini etkilediğini gösterir.

Benzoik asit, C_6H_5COOH , aromatik asitlerin en basit örneğidir. Benzoik asit birçok bitkinin yaprak, kabuk ve meyvelerinde bulunur. Gıdalarda mikrobiyolojik bozunmayı önlemek için kullanılır. Benzoik asit, gıdalarda genellikle sodyum tuzu olarak kullanılır.

Benzoik asit, tek protonlu bir maddedir. Bu çalışmada bazı benzoik asit türevlerinin tek ve iki protonlu bileşiklerinin, kararlılık sabitleri yani pKa değerleri su ve su - organik çözücü ortamlarında saptanmıştır.

İyonlaşma sabitleri, pK_a , bileşiklerin en önemli fizikokimyasal özelliğidir ve bileşiğin iyonlaşma özelliğini belirleyen temel parametredir. Bu parametrenin bilinmesi herhangi bir bileşik ile çalışmalara başlamadan önce takip edilecek deneysel yolu tayin etmek için gerekmektedir.

pK_a tayini için su ortamı öncelikli ortamdır, ancak su-organik çözücü karışımları veya susuz organik çözücüler, suda çözünmeyen bileşiklerin asitlik ve bazlık sabitlerinin tayinlerinde tercihli olarak kullanılmaktadır. Bu ortamların sıvı kromatografik ve kapiler elektroforetik ayırmalarda kullanılması ve bileşiklerin ayırmadaki davranışlarında iyonlaşma sabitlerinin etkin olmasından dolayı bu ortamlardaki iyonlaşma sabitlerine ihtiyaç duyulmaktadır. İyonlaşma yöntemlerinin tayininde alternatif yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar,

- Potansiyometrik yöntemler

- Spektroskopik yöntemler
- Sıvı kromatografik yöntemler
- Elektroforetik yöntemlerdir.

En genel yöntem potansiyometrik titrasyondur. Fakat yöntem olarak geniş çapta spektrofotometriye dayandırılan yöntem de kullanılır. Bu yöntemlerin çoğunda, analitin fiziksel özelliği, çözelti pH'ının fonksiyonu olarak ölçülür ve elde edilen veriler kararlılık sabitlerinin belirlemesi için kullanılır. Asetonitril – su karışımlarının kullanımında, ortamdaki pH'ın doğru ölçümüne gerek vardır. Ölçümler, kabul edilen IUPAC kuralları kullanılarak benzer yolla sudaki fonksiyonları bulunur.

Asetonitril, MeCN, en önemli dipolar aprotik çözücülerden biridir. MeCN, elektro kimyada reaksiyon ortamı olarak kapsamlı şekilde kullanılır ve ayrıca HPLC' de ve susuz ortam titrasyonlarında çözücü olarak da kullanılır. Bu çözücü, düşük dielektrik sabitine ($\epsilon = 36$) ve düşük iyonlaşma sabitine ($pK_s = 33,6$) sahiptir. Bundan dolayı, MeCN, çoğu polar iyonik çözelti için çözücü gücüyle, kuvvetli bir ayırım yapan çözücü gibi davranır.

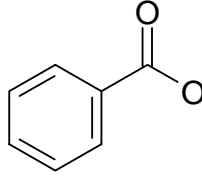
Spektrofotometrik metot ise, pH değerleri ya bilinen ya da ölçülen absorbans yapmayan tampon çözeltilerin bir serisinde iyonlaşan türlere karşı moleküler türlerin (nötral moleküller) oranının tam olarak belirlenmesine dayanır. Bu amaç için, iyonlaşmayan türlerin spektrumu, bu türleri tamamıyla içeren türleri belirlemek için seçilen pH' da saf iyonlaşan türlerin benzer olarak ayrıldığı durum ile karşılaştırılır. İki türün absorbansları arasında büyük oranda farklılıkların olduğu dalga boyuna dikkat edilir. Bu “analitik dalga boyu” olarak adlandırılır. Değişik pH değerleri kullanılarak, iki türün spektrumu arasında bulunan değer belirlenir, iyonlaşmayan türe karşı iyonlaşan türün oranı belirlenir. Bu mümkündür, çünkü iki bileşen karışımının bir dizisi, iki türün oranı çözeltinin deneysel olarak ölçülen pH değerine bağlı olarak değerlendirilir.

Beer Kanunu, kapsamlı olarak denenmiştir ve kimyasal karışıklıkların olmadığı 10^{-2} M in altındaki derişimlerde genellikle durum kontrol altına alınmıştır. Yüksek derişimlerde absorbans – derişim grafiği doğrusal değildir. Fakat derişim yine de bir kalibrasyon eğrisi yardımıyla belirlenebilir. (Levie,1997).

1.1. Kuramsal Temeller

1.1.1. Benzoik asit hakkında genel bilgi

Benzoik asit, C_6H_5COOH , aromatik karboksilik asittir. Bu bileşik ilk kez 1988 yılında Avrupa da üretilmiştir. % 60 kadarı fenolden, % 30 kaprolaktamdan elde edilmiştir. % 5 i sodyum ve diğer benzoatlar, % 3 ü benzoil-klorür, benzoat esterleri, metilbenzoat ve diğer ürünlerin eldesinde kullanılmaktadır.



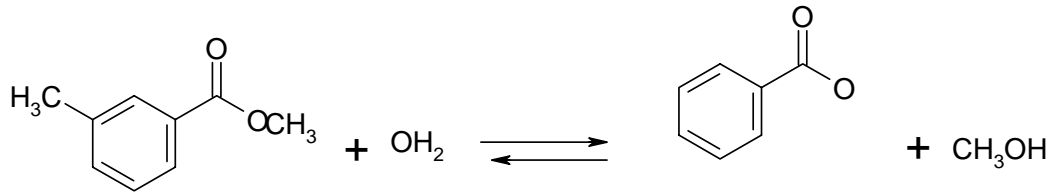
Benzoik Asit (Benzen karboksilik asit)

Benzoik asit, beyaz renkli iğne ve yaprakçık görünümünde bir maddedir. Benzoik asit birçok bitkinin yaprak, kabuk ve meyvelerinde bulunur. Gıdalarda mikrobiyolojik bozunmayı önlemek için kullanılır. Benzoik asit, gıdalarda genellikle sodyum tuzu olarak kullanılır. İlave edildiği gıdanın tadını etkiler. Meyve suyunda % 0,15-0,25 kadar bulunur. Ayrıca hem benzoik asit hem de ester ve tuzları dış macununda, salisilik asitle birlikte ilaç eldesinde kullanılırlar.

Benzoik asidin erime noktası $121,4^{\circ}C$, kaynama noktası $249,2^{\circ}C$ dir. Sıcak suda ve organik çözücü karışımında kolaylıkla eriyerek çözünür.

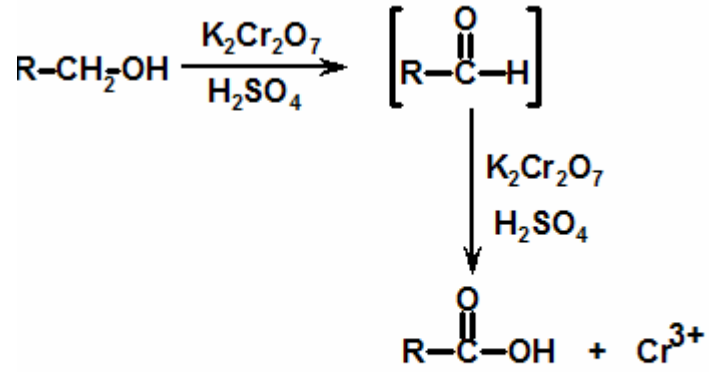
Benzoik asit :

- Asit türevlerinin (ester, amit, anhidrit, asit halojenür, nitril) karbonil karbonuna su yada OH^- iyonunun etkimesiyle meydana gelir. Esterlerin karboksilli asitlere ve alkollere hidrolizi tipik örnektir (Pine,1987).

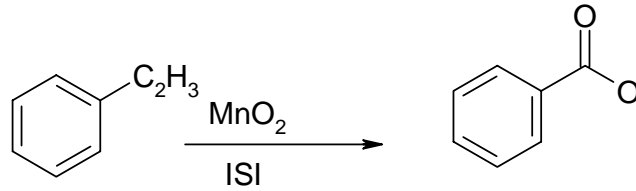


- Birincil alkollerin kromik asit ($K_2Cr_2O_7/H_2SO_4$) ve ısı varlığında yükseltgenmesi ile oluşur. Aldehitlerin Ag^+ gibi kromik aside göre daha ılıman bir yükseltgenle yükseltgenerek elde edilir (Solomons,1984).

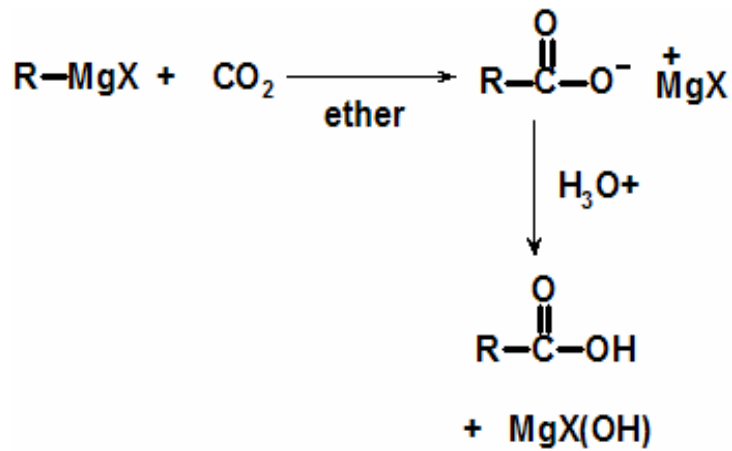
(R: Benzen)



- Alkenler MnO_2 gibi güçlü yükseltgenle yükseltgenerek elde edilir (Pine,1987).



- Grignard tepkimesi ile benzoik asit elde edilir (Solomons,1984).



1.1.2 Karboksilik asitlerin asitlik kuvvetleri

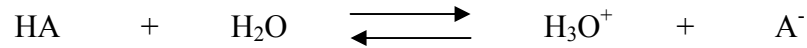
Karboksilik asitlerde asitlik ; karboksilik asitin çözücüyle verdiği reaksiyon sonucu belirlenir. Karboksilik asit protonunu çözücüye verir ve kendisi anyon oluşturur.

Çizelge 1.1. Bazı karboksilik asitlerin pK_a değerleri (Su ortamında)

Bileşikler	pK_a Değerleri
RCH_3	~ 45-50
RNH_2	~ 35
RCH_2	~ 25
ROH	~15-19
H_2O	~ 15,7
$ArOH$	~ 10
H_2CO_3	~ 6,4
$R(Ar)CO_2H$	~ 5

Asitlik kuvveti, Bronsted asidinin sudaki iyonlaşma gücünü belirleyen bir terimdir. Bronsted asidine göre bir kimyasal reaksiyonda proton alan tür, baz proton veren tür ise asittir. Bronsted asidinin sudaki iyonlaşma boyutunun ölçüsüne *asitlik kuvveti* denir. Asit ne kadar fazla iyonlaşmışsa yani proton vermişse o kadar kuvvetli asittir. Bir asitin kuvveti onun K_a ya da pK_a değeri ile verilir (Çizelge 1.1) (Fessenden,1990).

Zayıf bir asitin su ile verdiği reaksiyon tersinir olup, denge düşük enerji tarafa doğrudur. Buna göre, anyonu kararlı kılan herhangi bir yapısal etken, konjuge asidin asitlik kuvvetini artırır ve dengeyi H_3O^+ ve anyon (A^-) yönüne kaydırır.



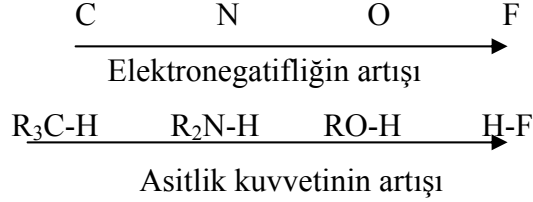
A^- anyonunu kararlı kılan ve dolayısıyla HA asidinin kuvvetini artıran başlıca etmenler şunlardır.

1. A^- anyonunda negatif yükü taşıyan atomun elektronegatifliği
2. A^- nin büyüklüğü
3. A^- da negatif yükü taşıyan atomu melezleşme şekli
4. A^- daki negatif atoma bağlı diğer atom ya da grupların indüktif etkisi
5. A^- nin rezonans kararlılığı

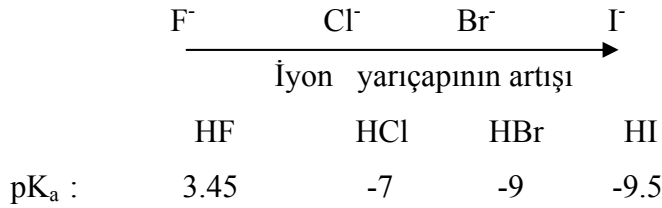
6. A⁻ nin solvasyonu

Bu etmenleri kısa kısa açıklayacak olursak;

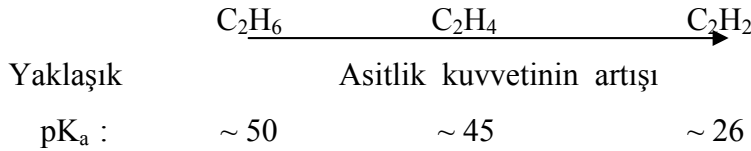
1. Elektronegatiflik: Elektronegatifliği fazla olan atom, bağ elektronlarını, az olandan daha çok çeker. Negatif yükü taşıyan atomun çok elektronegatif olması, anyonu daha kararlı kılar.



2. Büyüklük: Hacimli atomlar negatif yükü, küçük atomlar göre daha çok dağıtırlar. Yük dağılımının fazla olması, anyonun kararlı olmasını sağlar. Büyüklüğün etkisi, elektronegatiflikten daha önemlidir.



3. Melezleşme: $sp^3 \rightarrow sp^2 \rightarrow sp$ sırasına göre melez orbitaldeki s karakteri artması, karbon atomunun elektronegatifliğini de arttırdığından, CH bağının polarlığı ve dolayısı ile asitlik kuvveti artar. H atomu taşıyan atomun daha elektronegatif olması, aynı zamanda anyonun kararlı olmasını sağlar ve asitlik kuvvetini artırır. Bu nedenle alkin, alkenden daha kolay proton kaybeder ve daha asidiktir.



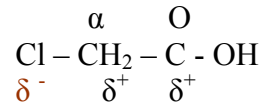
Yukarıda 3 bölümde incelenen asitlik kuvvetine etki eden özellikler, daha çok hidrojen atomu taşıyan atomun asitlik kuvvetini etkilemektedir.

4. İndüktif Etki: σ – bağları boyunca elektron çekilmesi olayına indüktif etki denir.

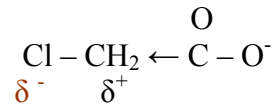
Çizelge 1.2. Asetik asit ve kloroasetik asidin pK_a değerleri

Bileşiğin formülü	pK_a
CH_3CO_2H	4,75
$ClCH_2CO_2H$	2,81

Kloroasetik asit, asetik asitten daha kuvvetlidir. Bunun nedeni klor atomunun elektronegatifliğidir. İyonlaşmamış asitte Cl atomunun elektron çekmesinden dolayı, α karbonunda pozitif yük oluşur. Böylece, komşu iki atomda pozitif yük oluşur ve yüksek enerjili bir yapı meydana gelir.

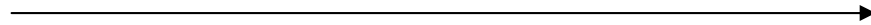
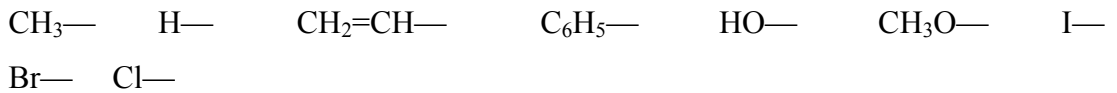


Oysa, klorun varlığı anyonun enerjisini azaltır. Karboksilat grubunun negatif yükü, komşu δ^+ yükü tarafından kısmen dağılıma uğratılır.



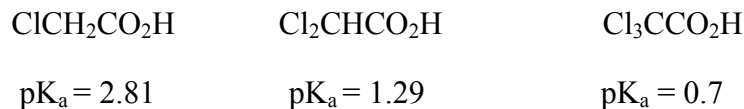
Karboksil grubuna yakın konumdaki elektronegatif gruplar, asidin kararlılığını azaltarak ve anyonun kararlılığını artırarak, asitlik kuvvetini artırırlar.

Aşağıda bazı gruplar, elektron çekme güçlerine göre sıralanmıştır.



Elektron çekme gücünün artışı

Elektron çekici gruplar arttıkça, indüktif etki de artar. Örneğin, dikloroasetik asit kloroasetik asitten, trikloroasetik asit dikloroasetik asitten daha güçlüdür.



Elektron çekici grupların pK_a üzerine etkisi şu şekildedir:

Çizelge 1.3. Bazı asidik bileşiklerin pK_a değerleri

Bileşiğin Adı	Bileşiğin Formülü	pK_a Değerleri
Propanik Asit	$CH_3CH_2CO_2H$	4,87
Asetik Asit	CH_3CO_2H	4,75
2-Fenilasetik Asit	$C_6H_5CH_2CO_2H$	4,31
2-Hidroksiasetik Asit	$HOCH_2CO_2H$	3,87
2-Kloroasetik Asit	$ClCH_2CO_2H$	2,81

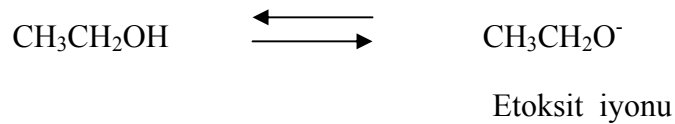
Karboksil grubu ile elektronegatif grup arasındaki atomların sayısı arttıkça, indüktif asitlik kuvveti üzerine etkisi azalır. Yapıdaki alkil grupları arttıkça elektron salıcı özellik artar. Bağın kısmi iyonik karakteri azalır, proton verilmesi zorlaşır.

5. Rezonans kararlılık: Alkol, fenol ve karboksilli asitlerin hepsi de OH^- grubu taşıdıkları halde, bu türlerin asitlik kuvvetleri arasında çok büyük farklar vardır. Bu farklar doğrudan anyonun rezonans kararlılığına bağlanabilir.

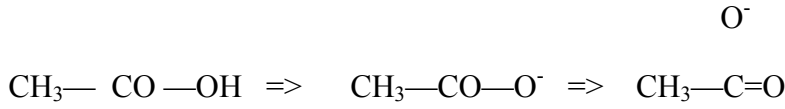
Çizelge 1.4. Alkol, fenol ve karboksilli asitlerin pK_a değerleri

Bileşiğin Adı	pK_a Değerleri
ROH	15,19
ArOH	10
RCO_2H	5

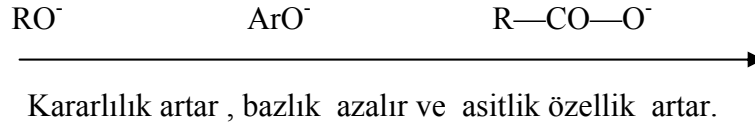
Alkollerde, anyon rezonans kararlılığına sahip değildir. Alkoksidin negatif yükü tümüyle oksijen atomu üzerinde lokalize olmuştur. Çünkü rezonans olmadığı için negatif yükün delokalize olabileceği bir yer yoktur. Bu nedenle oluşan etoksit iyonu, fenolden ve karboksilik asitten oluşan anyonlara göre çok kararsızdır.



Karboksilli asitte ise karboksilat iyonunun negatif yükü iki elektronegatif oksijen atomu tarafından paylaşılmıştır.



Fenolün asitliği alkol ve karboksilli asit arasında olup, fenoksit (fenolat) iyonunun oksijeni aromatik halkaya bağlıdır ve negatif yük kısmen halkaya delokalize olur.



6. Solvasyon : A- iyonunun çözücü molekülleri tarafından sarılması olayına solvasyon denir. Anyonun solvasyonu, bir bileşiğin asitliği üzerinde önemli bir etkendir. Çünkü çözücü molekülleri anyonu sararak, negatif yükün dipol – dipol etkilemesi yoluyla dağılmasını sağlayabilirler. Bu yüzden solvasyonu arttıran herhangi bir etmen bileşiğin çözelti içindeki asitliğini artırır. Örneğin, suyun solvatize etme gücü alkolden büyüktür ve bundan dolayı, karboksilli asitler sulu çözeltilerinde, alkol çözeltilerinde olduğundan 10^5 kat daha asidiktir.

1.1.3 Benzoik asitlerin asitlik kuvvetleri

Benzoik asit ve süstitüe benzoik asit bileşiklerinin asitlik kuvvetleri üzerine aromatik halkadan kaynaklanabileceği düşünülen rezonans kararlılığının etkisi yoktur. Çünkü karboksilat iyonunun negatif yükü iki karboksilat oksijen atomuna dağılmıştır, fakat aromatik halkaya fazla dağılmış değildir (Karboksilat oksijenleri aromatik halkaya doğrudan bağlı olmadıklarından, negatif yükün halkaya delokalize olduğu rezonans yapılar yazılamaz). Ayrıca benzoik asitler yapısında aril grubu içerdiğinden dolayı alkil grubu içeren karboksilli asitlere göre daha elektron çekicidir (Fessenden,1990).

Benzoat iyonu negatif yükünün halkaya delokalize olmamasına karşın, benzoik asit fenolden daha kuvvetli asittir. Çünkü benzoat iyonunda negatif yük, iki

elektronegatif oksijen atomuna eşit olarak dağılmıştır. Oysa, fenoksit iyonunda negatif yükün büyük bir kısmı tek bir oksijen atomu üzerinde yoğunlaşmıştır.

Benzen halkası, karboksilat grubunun rezonansına katılmadığından, halka üzerindeki sübstitüentler asitlik üzerine daha çok indüktif olarak etkilerler. Buna göre, *elektron çekici* gruplar çoğu kez benzoik asidin asitlik kuvvetini artırır.

Elektronegatif sübstitüentin asitliği artırma nedeni, asidin kararlılığını azalması, anyonun kararlılığını artırmasıdır.

1.1.4. Elektron çekici ve elektron salıcı gruplar

Bir kovalent bağda, bir atomun elektronları kendine çekme eğilimine yani elektronegatifliğe bakılarak o grubun elektron salıcı ya da elektron çekici olduğuna karar verilir. Elektron salıcı gruplar, bir aromatik halkada orto ve para yönlendirici gruplardır. Bağlandıkları halkanın etkinliğini artırır. Elektron çekici gruplar, bir aromatik halkada meta yönlendirici gruplardır. Bağlandıkları halkanın etkinliğini azaltır.

Yapıda elektron çekici bir grubun olması asitlik kuvvetini artırırken, elektron salıcı grupların olması asitlik kuvvetini azaltır.

Çizelge 1.5. Elektron salıcı ve elektron çekici gruplar

o-, p- yönlendiriciler (elektron salıcı)	m- yönlendiriciler (elektron çekici)
- NH ₂ , - NHR , - NR ₂	- COR
- OH	- CO ₂ R
- OR	- SO ₃ H
- NHCOR	- CHO

- C ₆ H ₅ (Aril)	- CO ₂ H
- R (Alkil)	- CN
- X (Etkinlik azaltan)	- NO ₂
	- NR ₃ ⁺

Halojenler diğ er o- ve p- yönlendiricilerden farklı davranırlar. Gelen grubu o- ve p- ya yönlendirirler ama elektrofilik yerdeğ iştirme ye karşı halkanın etkinliğini azaltırlar.

Benzoik asitlerde karboksil grubuna göre m- ve p- konumunda bulunan elektron salıcı alkil grupları, benzoik asitin asitlik gücünü azaltırlar. Bunlar elektron vererek iyonlaşmamış asidin kararlılığını artırır, anyonun kararlılığını azaltırlar.

Hemen hemen bütün orto- sübstitüentler (ister elektron çekici , ister elektron salıcı olsun) benzoik asitin asitlik gücünü arttırlar. Buna orto etkisi denir ve orto etkisi hem sterik etki hem de elektronik etmenlerden kaynaklanır.

Eğ er benzoik asit üzerinde A gibi gruplar varsa ;

Çizelge 1.6. Elektron salıcı ve elektron çekici grupların pK_a değ erleri

	A	o-	m-	p-
Elektron salıcı	CH ₃	3 . 9	4 . 3	4 . 4
Standart	H	4 . 2	4 . 2	4 . 2
Elektron çekici	Br	2 . 9	3 . 8	4 . 0

Orto- pozisyondan para- pozisyona doğru asitlik azalır. $-\text{CO}_2\text{H}$ ile A süstitüenti ne kadar yakın durumdaysa asitlik gücü o kadar fazladır.

1.1.5. İyonlaşma sabitlerinin tayin yöntemleri

İyonlaşma sabitleri, pK, bileşiklerin en önemli fiziko kimyasal özelliğidir ve bileşiğin iyonlaşma özelliğini belirleyen temel parametredir. Bu parametrenin bilinmesi herhangi bir bileşikle çalışmalara başlamadan önce takip edilecek deneysel yolu tayin etmek için gerekmektedir.

pK_a tayini için su ortamı öncelikli ortamdır, ancak su-organik çözücü karışımları veya susuz organik çözücüler, suda çözünmeyen bileşiklerin asitlik ve bazlık sabitlerinin tayinlerinde tercihli olarak kullanılmaktadır. Bu ortamların sıvı kromatografik ve kapiler elektroforetik ayırmalarda kullanılması ve bileşiklerin ayırmadaki davranışlarında iyonlaşma sabitlerinin etkin olmasından dolayı bu ortamlardaki iyonlaşma sabitlerine ihtiyaç duyulmaktadır. İyonlaşma yöntemlerinin tayininde alternatif yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar

1. Potansiyometrik yöntemler
2. Spektroskopik yöntemler
3. Sıvı kromatografik yöntemler
4. Elektroforetik yöntemlerdir.

Potansiyometrik yöntemler, kullanılan cihazın basit olması ve her laboratuarda bulunması, titrasyon için basit bir düzeneği gerektirmesi ve sonuçların yorumlanabilmesindeki kolaylık nedeniyle tercih edilirler. Ancak kullanılan elektrodun kararlı ve çalışılan ortama uygun olması gereklidir. Son zamanlarda elektrot teknolojisindeki gelişmeler tekrarlanabilirlik ve ayarlığı yeterli hale getirmiştir. Su-organik çözücü karışımlarında IUPAC' in önerdiği titrant KOH'dir. Ayarlı olması gerekir, titrasyon karbonat hatası getirmeyecek koşulda yapılmalıdır. Susuz ortamlarda ise titrant olarak TBAOH'in 2-propanoldeki ayarlı

çözeltisi kullanılmaktadır. Elektrot standardizasyonun yapılmaması durumunda elde edilen iyonlaşma sabitleri, bağıl değerlerdir. Son zamanlarda gerek su-organik çözücü karışımlarında ve gerekse susuz ortamda elektrot standardizasyonları yapılabilmektedir ve elde edilen iyonlaşma sabitleri termodinamik değerlerdir. Çeşitli grafiksel yöntemler iyonlaşma sabitlerinin tayininde kullanılmaktadır. mL-pH, ϕ -pH ve n-pH ilişkisi kullanılarak hazırlanabilir. Ayrıca tüm titrasyon koşullarını, iyonik şiddette dahil olmak üzere dikkate alan ve sistematik yaklaştırmayı temel alan pKPot programları bu amaçla kullanılmaktadır. Su-organik çözücü karışımlarının ve susuz ortamların özelliklerinin bilinmesi, elde edilen iyonlaşma sabitlerinin yorumlanmasını sağlamaktadır. Titre edilen bileşiklerin 3-5 mM derişimi yeterlidir.

Spektroskopik yöntemlerde, moleküler ve iyonik hallerin farklı absorpsiyon özelliklerinden yararlanılır. Su-organik çözücü karışımlarında veya susuz ortamlarda spektroskopik yöntemle iyonlaşma sabiti tayininde önceleri tamponlar kullanılarak elektrot kalibre edilmekte takiben farklı pH değerlerinde moleküler ve iyonik formların absorbans değerleri kaydedilmekteydi. Günümüzde elektrot standardizasyonu yapılarak işleme başlanmaktadır. Bu tip bir çalışma akış hücreli bir spektrofotometre gerektirir. Sonuçların değerlendirilmesi, bu amaç için hazırlanmış bilgisayar programı ile gerçekleştirilir. Potansiyometriden daha düşük derişimde analit yeterlidir. Çözücünün absorbansının analitin absorbansını etkilememesi için uygun bir sistem hazırlanır. Yapılan spektrum taramasının geniş alınması durumunda ikinci ve üçüncü iyonlaşma sabitlerinin tayinlerine de imkan tanır.

Sıvı kromatografik yöntemler asitlerin ve bazların iyonlaşma sabitlerinin tayininde son yıllarda sıklıkla kullanılan metodlar arasındadır. Bu metotta kullanılan kolonun özelliklerine göre belirlenen pH değerlerinde kapasite faktörleri hesaplanır. Sıvı kromatografi yöntemi düşük derişimlerde analit ile çalışabilme, çalışılan bileşiklerdeki safsızlıkların belirlenebilmesi ve bu safsızlıkların hata getirmemesi gibi avantajlarından dolayı sıklıkla kullanılır. Potansiyometrik yöntemlerde olduğu gibi titrant ve analit derişiminin kesin olarak bilinmesi gerekmez. Kapasite faktörünün pH ile değişimi grafiğe geçirildiğinde yine sigmoidal davranış gözlenir.

Bu sigmoidalin orta noktasındaki pH değeri, o bileşiğin çalışılan ortamdaki iyonlaşma sabitini verir. Ayrıca asidik veya bazik bileşiklerin pKa sabitlerinin tayininde ortamın iyonik şiddetini de dikkate alarak hesaplama yapabilen non-lineer regresyon programları da geliştirilmiştir.

Sıvı kromatografik yöntemlerin en önemli dezavantajı mobil fazın pH'sının dolayısıyla tayin edilen pKa değerinin kolon dolgu materyalinin kararlılığı ile sınırlı olmasıdır. Ayrıca suda ve düşük organik çözücü bileşimlerinde alıkonma zamanlarının uzun olmasından dolayı pKa sabitlerinin tayini mümkün olmamaktadır.

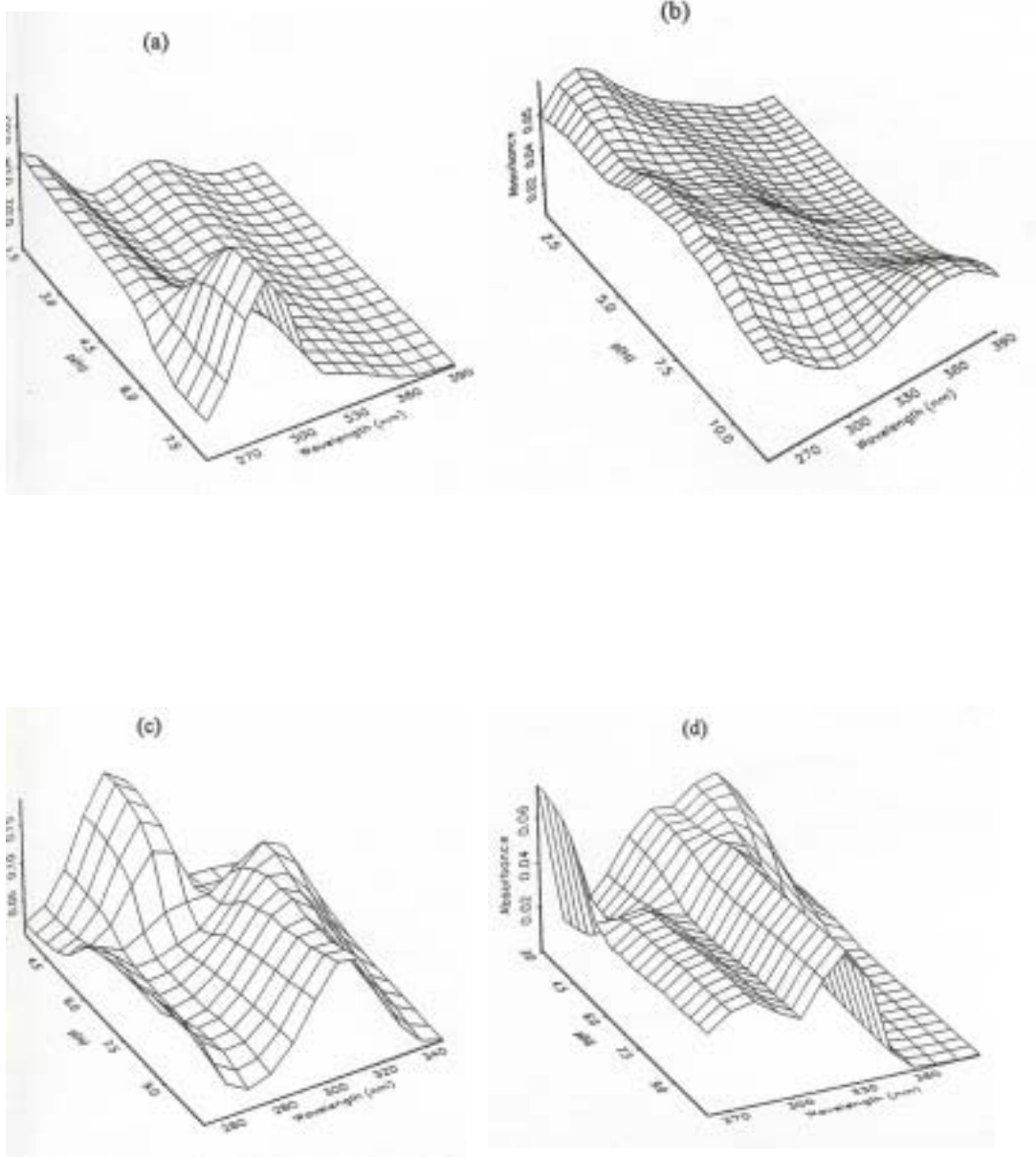
Genel olarak asitlerin ve bazların iyonlaşma sabitlerinin tayininde spektral verilerin kullanıldığı yöntemlere diode-array dedektörlerin (DAD) kullanıldığı sıvı kromatografik ve elektroforetik yöntemleri ilave edilebilir. Bu yeni yöntemde, piklerin maksimumlarında DAD dedektör ile kaydedilen absorbans spektrumlarının yeniden düzenlenmesi ile hesaplama yapılır. DAD dedektör ile çalışılan her yonteme uygulanabilir. Spektroskopik, kromatografik ve elektroforetik yöntemlerin avantajlarının bir arada kullanılmasından dolayı çok daha doğru ve kesin sonuçlar elde edilebilmektedir. Ayrıca LC veya CE ile elde edilen pKa değerlerinin LC-DAD veya CE-DAD ile karşılaştırma olanağı sağlar.

Kapiler elektroforez yönteminde (CE) çok düşük örnek hacimleri ile çalışabilme olanağı vardır. Sıvı kromatografi yönteminden farklı olarak suda pKa tayini yapabilmemiz mümkündür. Asidik veya bazik türlerin iyonlaşma sabitlerinin tayininde farklı pH'lardaki mobiliteler kullanılır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

Raylene M.Dyson ve arkadaşları 1997 yılında kararlılık sabitlerini belirlemek için spektrofotometrik titrasyon yöntemini kullanmışlardır. Spektrofotometrik titrasyonlarda; derişimin doğrusal ve doğrusala yakın profilleri ve ortamda ikincil türlerin varlığı, verilerin düzenlenmesinde zorluklara neden olur. İlk durumda, hesaplanan absorpsiyon spektrumları ve ikincil durumda uygun denge sabitleri yoktur ve oldukça zayıf olarak tanımlanır. Sonuçta veriler için güvenilir, mantıklı bir model yetersiz kalır. Bu çalışmada yapılan analizlerde; farklı ilk derişimlerde spektrofotometrik titrasyonlarının bazıları eş zamanlı analiz edilir. Bu yolda, derişim matrisi en yüksek düzeye çıkarılır, ikinci olarak her bir tür için önemli oluşumlar söz konusudur. Sonuçlandırılan denge sabitleri ve absorpsiyon spektrumları, dikkate değer ölçüde tanımlanır. EQUISPEC programı ile denge sabitleri değerlendirilir. Meydana gelen verilerle, üst üste gelen lineer bağlantılarla ve zinc için yeniden üretilip belirlenen kararlılık sabitleriyle bu program başarılı bir şekilde test edilir. Zinc: 1,10-fenantralin sisteminde dietilentriamin-Cu²⁺ kompleksidir.

R.I. Allen ve arkadaşları 1998 yılında iyonlaşan ilaçların asit-kararlılık sabitlerini spektrofotometrik yolla tayin etmişlerdir. Çok dalga boylu spektrofotometrik yaklaşımla, fazlasıyla çözünebilen ilaç bileşiklerinin asit kararlılık sabitleri yani pKa değerleri belirlenmiştir. Kimyasal sistemin iyonik şiddeti ve pH' s1, ticari olarak uygun titratör ile manuel olarak belirlenirken, ilaç çözeltilerin UV absorpsiyon spektrumları fiber optik dip probe, ışık kaynağı , fotodiyot (PDA) dedektör içeren cihaz ile elde edilir. Hedef faktör analizleri (TFA) ile, farklı pH' larda kaydedilen çok dalga boylu UV absorpsiyon verilerinden pKa değerleri elde edilir. Bu çalışma WApH adı verilen bir tekniğe başvurulmuştur. WApH tekniğinde pKa sonuçları, pH' nın bir fonksiyonu olarak dalga boyu ve absorbans değişiminden belirlenir. WApH tekniği ile bazı saf ilaçlar olan, niflumik asit, nitrazepam, piridoksim, kinolon ve terbutalin türü bileşiklerle çalışılmıştır. pKa değerleri, pH – metrik olarak bulunur. Eğer reaksiyona giren türlerin absorpsiyon spektrumları benziyorsa, WApH tekniği ile pKa tayininde doğruluk elde edilmesi güçtür.



Şekil 2.1. Absorpsiyon spektrumları a) niflumik asit b) nitrazepam c) piridoksim d) kinolon (R.I. Allen ,1998)

Liviu Roman ve arkadaşları 1998 yılında 2-merkaptto-5-R-amino-1,3,4-thiadiazole türevlerinin kararlılık sabitlerini spektroskopik ve potansiyometrik olarak tayin etmişlerdir. Organik bileşiklerin asitlik sabitlerini saptamak için, potansiyometrik ve spektrofotometrik teknikler en kullanışlı olanlarıdır. Sonuçlar karşılaştırılırken, 2-merkaptto-5-R-amino-1,3,4-thiadiazole ün 3 türevi için bu yöntemlerin her ikisini de kullanmışlardır. Spektrofotometrik yöntemle pKa tayini için iyonlaşan ve

iyonlaşmayan türler arasındaki derişim oranı belirlenir. Bu oran, spektral verilerden hesaplanır.

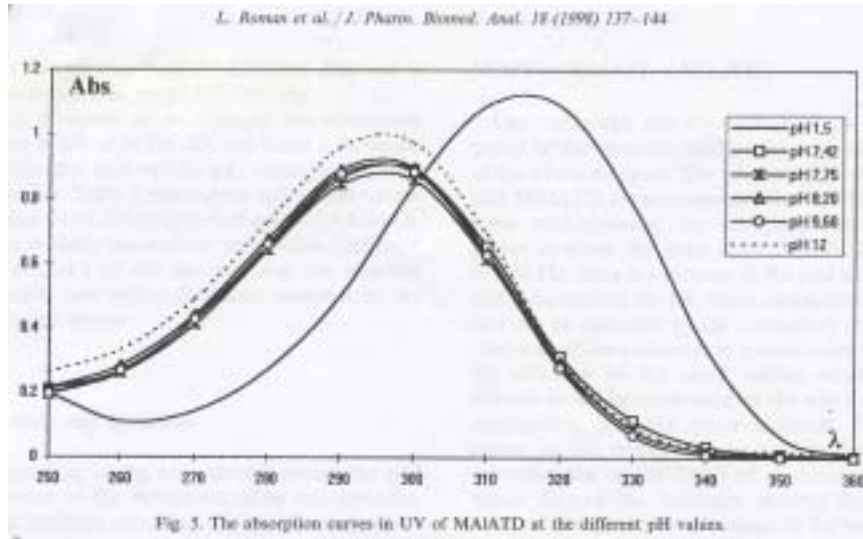
$$pK_a = pH - \log f - \log (\epsilon - \epsilon_A / \epsilon_B - \epsilon)$$

ϵ_A : Asidin ortamdaki kararlı reaktifin molar absorpsansı

ϵ_B : Ortamdaki A^- anyonunun molar absorpsansı

ϵ : Orta pH değerinde ($HA+A^-$) karışımının molar absorpsansı

pK_a için potansiyometrik metot, 0,1 M NaOH ile bir potansiyometrik titrasyonla pH değerlerinin ölçümünden oluşur. Sonuçlar, türevlerinin çok az asitlik karakterini kanıtlar. pK_a değerleri, amino grup substituentlerinin özellikleriyle etkilenirler ve sonuçlar teorik düşünceyi saptarlar. Çözeltinin optik yoğunluğu pH'ya bağlı olarak değiştiiğinden beri, düşünölen reaktiflerin pK_a değerleri spektrofotometrik olarak belirlenir. pK_a değerlerini spektrofotometrik olarak belirlemek için Lambert-Beer yasasına göre uygun olan 275-290 nm arasında asidik ve bazik formlarının farklı dalga boylarındaki oranının belirlenmesine gerek vardır.



Şekil 2.2. 2-merkapt-5-R-amino-1,3,4-thiadiazole maddesinin farklı pH lardaki UV spektrumları (Liviü Roman , 1998)

Patricia Balderas –Hernández ve arkadaşları 1998 yılında su ortamında timol mavisinin tekrar kristallenmesi için uygun sabitler SQUAD ve SUPERQUAD

programları kullanarak hesaplamışlardır. Spektrofotometrik, potansiyometrik ve kondüktometrik veriler için en iyi model, uygun düşük şiddette ($1,5 \cdot 10^{-4} - 3,0 \cdot 10^{-4} \text{M}$) SUPERQUAD programı ile $\text{HL}^- = \text{L}^{2-} + \text{H}^+$ $-\log K = 8,919 \pm 0,070$ ve $\text{H}_3\text{L}_2^- = 2\text{L}^{2-} + 3\text{H}^+$; $-\log K = 29,806 \pm 0,1333$ değerleri bulunur. SQUAD programı ile $1,1 \text{ M}$ iyonik şiddette $\text{HL}^- = \text{L}^{2-} + \text{H}^+$ $-\log K = 8,9 \pm 0,000$, $\text{H}_3\text{L}_2^- = 2\text{L}^{2-} + 3\text{H}^+$ $-\log K = 30,730 \pm 0,032$ ve $\text{H}_4\text{L}_2 = 2\text{L}^{2-} + 4\text{H}^+$ $-\log K = 32,106 \pm 0,033$ değerleri elde edilmiştir.

R.C. Mitchell ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları çalışmada, çok protonlu iyonlaşan asit türlerinin, asit kararlılık sabitlerini çok dalga boylu spektrofotometre ile belirlenmiştir. Çok dalga boylu spektrofotometrik titrasyon metodu (WApH), pH sı 2-10 arasında olan 4 asit kararlılık sabiti olan bazı multi-protik histamin H_2 -reseptör karşıtlarının incelemesinde kullanılmıştır. Çözeltilerin UV absorpsiyon spektrumları, fiber optik dip probe, ışık kaynağı, fotodiyot (PDA) dedektör içeren cihaz kullanılarak pH- metrik titrasyon ile elde edilir. Hedef faktör analizi, farklı pH da kaydedilen spektral verilerden pKa değerlerinin elde edilmesi için kullanılır. Yetersiz absorpsiyon spektrumları, titrasyon eğrisinin tamponsuz bölgesinde elde edildiğinden dolayı orta pH düzeniyle pKa değerlerinin bazıları not edilir. Bu çalışmada 3 tür histamin H_2 -reseptör karşıtı olan icotidine, lupitidine, ve SK&F 93944 incelenmiştir.

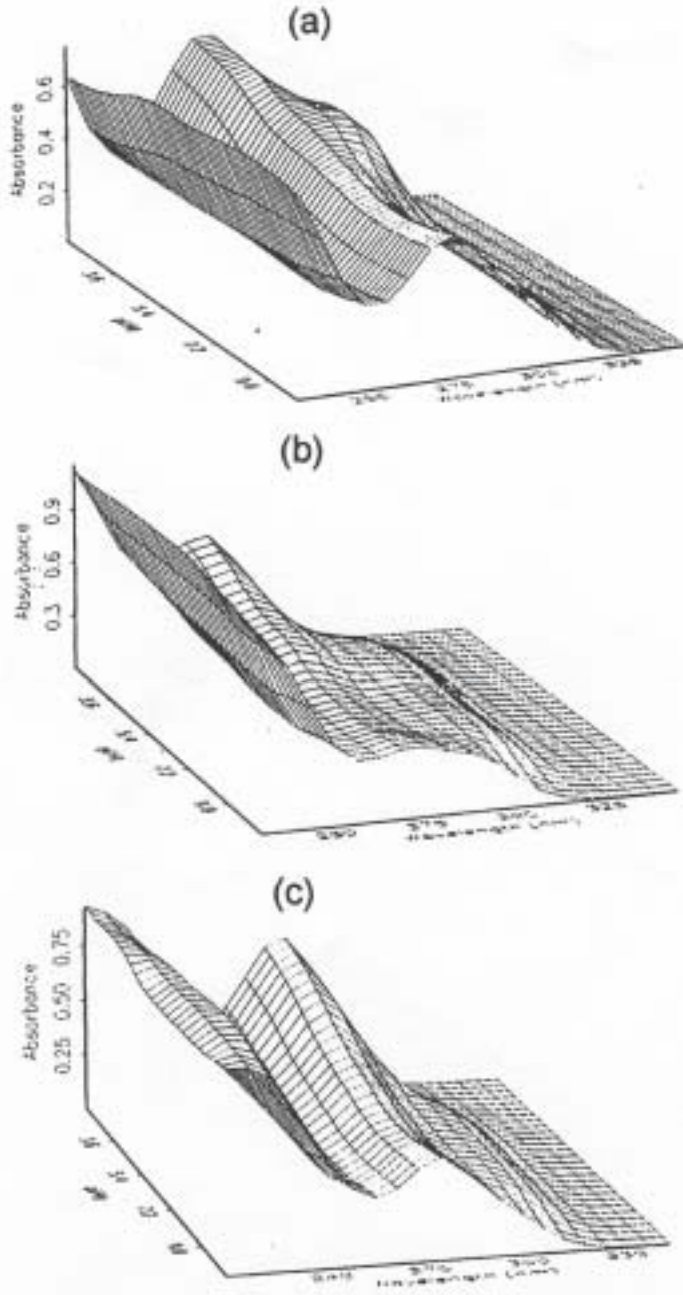


Fig. 3. Absorption spectra of (a) icotidine, (b) lupitidine and (c) SK&F 93944.

Şekil 2.3. Absorpsiyon spektrumları: a)icotidine ,b)lupitidine , c)SK&F 93944 R.C. (Mitchell , 1999)

Issam Jano , James E. Hardcastle I 1999 yılında poliprotik asit ve bazların kararlılık sabitlerini belirlenmesi için bir denklem geliştirmişlerdir. Çözeltilerin pH sınır işlevinin önemli olduğu poliprotik asit ve bazların ölçülen asit ve bazlık özellikleri kararlılık sabitlerinin belirlenmesinde kullanılır. Bu amaç için bu çalışmada özel bir

denklem yer alır. Bu denklem, kararlılık sabiti için asit veya bazların özellikleri arasında bağıntı kurar. Ayrıca limit değerlerini ve çözelti türlerinin aktivite katsayılarını ve çözeltilerin pH sını göz önüne alır. Denklem non-linear least-square fitting yöntemine dayanır ve kararlılık sabitlerinin bulunmasını sağlar.

Issam Jano , James E. Hardcastle II 1999 yılında bazı poliprotik asit ve bazların kararlılık sabitlerini, spektrofotometrik ve ters-faz HPLC verileri ile belirlemişlerdir. Çözelti pH sı ve ortamdaki türlerin asit ve bazlık özellikleri bağıntılı olan bir denklem geliştirilmiştir. Bu metoda, çözeltideki türü kararlılığından sonuçlandırılan her bir tür için önceden ölçülen sınırlı özellikler olmaksızın kaçışan pK_a değerlerinin hesaplanması için başvurulur. Spektrofotometrik ölçümler, asit ve bazların kararlılık sabitlerinin belirlenmesi için kullanılır. Beer kanunu sulu çözeltilerde kabul edilir. Bir iyojenik çözeltinin ölçülen molar absorptivitesi, çözücünün kararlılığı ile sonuçlandırılan farklı yapıların özeti bu çalışmadadır. Her bir çözelti türünün molar absorptivitesi 1 ve 2 nolu eşitliklerle bulunur.

$$p = \frac{p_0 + \sum_{r=1}^n p_r K_c(r) e^{rx}}{1 + \sum_{r=1}^n K_c(r) e^{rx}}$$

Eşitlik 1

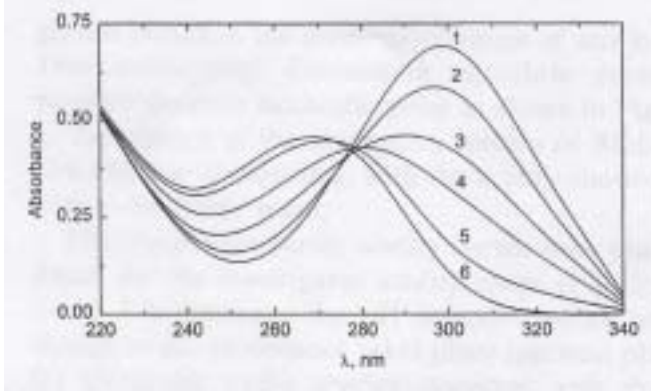
$$\epsilon = \frac{\epsilon_0 + \sum_{r=1}^n \epsilon_r K_c(r) e^{rx}}{1 + \sum_{r=1}^n K_c(r) e^{rx}}$$

Eşitlik 2

Bazı asit ve bazların kararlılık sabitlerini hesaplamak için bu bağıntı kullanılır. Bu çalışma bazı maddeleri protonlayarak , bu protonlanan türlerin pK_a larını belirler.

M.M. Çakar ve arkadaşları 1999 yılında bazı oksim-asetilkolesterase reaktivatörlerinin protolitik dengelerini spektrofotometrik ve elektrokimyasal olarak incelemişlerdir. Oksimlerin mono-, bis- imidazol türevleri, standart panzehirlerde kullanılanlardan daha etkili asetilkolesterase reaktivatörü içerirler. Elektrokimyasal incelemeler, spektrofotometrik metotlarla belirlenen dengelerin varlığını saptarlar. Bu oksimlerin kararlılık sabitleri üst üste gelen dengelerin sayısal davranışıyla belirlenir. Bu belirlemede Lavendberg-Marquard Least Square metodu kullanılır ve bazı benzer bileşiklerle karşılaştırma yapıldığında, asetilkolesterase reaktivatörlerinin

etkisi bulunur. İncelenen oksimlerin iyonik formlarının pH ya bağlı olarak dağılımı kararlılık sabitlerinin bulunan değerlerinden hesaplanır. Sonuçların çoğu, oksim anyonunun fiziksel pH 7,4 (optimum pH) de uygun şekle gelebileceğine ve bağıntının asetilkolesterase için reaktivite yeteneğinin artabileceğine işaret eder.



Şekil 2.4. Oksimin farklı pH lardaki absorpsiyon spektrumları (M.M. Çakar ,1999)

R.Wróbel ve L.Chmurzynski 2000 yılında potansiyometrik ölçümlerde, moleküler asitler ve fenoller gibi bileşiklerin asit kararlılık sabitlerinin ikili çözücü sistemlerinde belirlenmesi için yeni bir teknik geliştirmişlerdir. İlk basamakta , bir standardın pK_a değeri, ikili sistemlerin tek çözücülerinden birinde ve ikili çözücü karışımlarında basit tampon bileşikler ve asitlerin ekimolar çözeltilerinin e.m.f. lerindeki farklılıklardan tahmin edilir. Standart maddelerin pK_a değerleri, çözeltilerde iyonlaşma sabitlerinin tayininde Kostrowicki ve Livo yöntemleri gibi genel yöntemlere dayalı olan prosedür kullanılarak tam değerlerin tayini için bu yol sonraki temeli sağlayarak tahmin edilir. Bu yeni metot, potansiyometrik ölçümlerde standart olarak sıklıkla kullanılan (pikrik asit ve 2,6-dinitrofenol) bileşikler için asetonitril-metanol, asetonitril-aseton ve asetonitril – dimetilsülfoksit gibi çift bileşenli sistemlerde pK_a değerlerini belirler. Çözücü karışımları, polar aprotik sistemleri ve amfiprotik metanolün her ikisini de içeren sistemlerdir. Çift çözücülü sistemlerin her biri ile çalışılırken, her bir çözücü için benzer olan bağıntı ; e.m.f ve standart sistemlerin bileşiklerinin derişim oranlarının logaritması arasındaki lineer bağıntıdır. Cam elektrodun karakter eğilimi ile, 59.14mV nin teorik olarak Nerst değeri hemen hemen eşittir. Diğer taraftan, standartların pK_a değeri ve mol kesirleri arasındaki bağıntı, çalışılan bütün çözücü sistemlerinde non-lineerdir.

$$E = E^{\circ} + s \cdot \text{p}a_{\text{H}^+} \quad (\text{Nerst Eşitliği})$$

E: e.m.f. (belirli hidrojen aktivitesi için)

E° : Hücrenin standart e.m.f.si

s: Cam elektrodun karakterizasyonuna bağlı olarak eğim.

Ölçülen E değerlerinin temelinde, eğer hücre parametreleri s ve E° biliniyorsa, çözültideki hidrojen iyonu aktivitesi belirlenir.

D. Barrón ve J. Barbosa 2000 yılında tetrahidrofuranda türevlenmiş fenolik maddelerin asit- baz davranışlarının ve asitlik gücünün kararlılığını belirlenmişlerdir. Türevlenmiş fenollerin bir serisinin kararlılık sabiti ve onların tetrabutylamonyum tuzları, potansiyometrik ve kondüktometrik metotlarla tetrahidrofuranda belirlenebilir. Bu çözücüdeki asitlik gücünün kararlılığı, diğer amfiprotik ve aprotik çözücülerle karşılaştırılır. Tetrahidrofurandaki fenollerin ve benzoik asitlerin asitlik gücünün kararlılığı sudakinden yüksektir ve düşünülebilecek diğer çözücülerden daha iyidir.

P.Lubal ve arkadaşları 2000 yılında potansiyometrik ve spektroskopik olarak humik asitlerle oluşan uranil komplekslerinin asitlik derecesini incelemişlerdir. Spesifik uranil iyon-seçici elektrot kullanılarak potansiyometrik çalışma ile farklı humik asitlerin (HAS), uranil komplekslerinin 1:1 ve 1:2 oranında (metal:ligand) oranındaki türleri incelenir. Şartlı kararlılık sabitleri spektroskopik olarak bulunur ve LETAGROP-ETITR programı ile hesaplanır. Kararlılık sabitleri, HA grupları içeren, örneğin, atık sularından arındırılmış uranil örneği ile yapılır. HA; -COOH, -OH, -NH₂ gibi fonksiyonel gruplar içerir. HA çözeltilerinin UV-Vis spektrumları 200-800 nm de quartz küvet kullanılarak yapılır.

J. Barbosa ve arkadaşları 2001 yılında kapiler elektroforez, sıvı kromatografisi, potansiyometri ve UV-Visible spektrofotometresi kullanarak zwitteronik ilaçların pK_a değerlerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada, su ve su-organik çözücü karışımında geniş ölçüde kullanılan ilaçlar, çoğunlukla biyolojik olarak aktif moleküllerdir ve fiziksel pH değerinde tamamiyle veya kısmen iyonlaşırlar. Kararlılık sabiti, bu bileşiklerin absorpsiyonun tamamen anlaşılması, ilaç moleküllerinin moleküler

düzyeyde transport ve reseptör olarak bağlanması için önemlidir. Böylelikle hem pH ya hem de asidin derişimine bağı olan bakteriyel DNA gyrase tipi zwitteronik kinolon maddelerinin anti bakteriyel aktivitesinin pH ile değıştığı gözlenmiştir. Bu çalışmada, numune çözeltileri $4 \cdot 10^{-4}$ M olarak hazırlanmıştır. $6 \cdot 10^{-3}$ M HCl çözeltilisi 0,1 M NaOH ile potansiyometrik olarak standardize edilmiştir. Ortamda çözücü olarak su-asetonitril kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda ilaçların aktivite gösterdiği pH yı incelemek için ilaçların iyonlaşma durumunun gerektiğı bildirilmiştir.

Karin Carlsson ve Bo Karlberg 2001 yılında, zayıf asitlerin kararlılık sabitlerini mikro – hacim akış titrasyonu ile belirlemişlerdir. Bir bölmeli akış analiz sistemi olan mikro – hacim, pH indikatörleri ve spektroskopik tayinin kullanıldığı 3-6 sırasında kararlılık sabitlerini belirlemek ve zayıf asitlerin titrasyon için geliştirilmiştir. Sistem, bir piston pompası, peristaltik pompa, dedektör ve 250 µm reaksiyon silika kapilerinden ibarettir. Asit derişimini belirlemek için analitik yöntem, hava girişini, fenolftalien indikatör çözeltilisini, asit örneğini, NaOH çözeltilisini ve son olarak piston pompasının kullanıldığı tekrar hava girişini içerir. Peristaltik pompa ile pompalama başladığında, reaksiyon kapilerinin her bir türünde, değışik tamponlar yayılır. Daha sonra, asit örneğı nötralleştirilir ve pH 552 nm indikatör absorbansı ölçümüyle kaydedilen hava bölmesiyle kenetlenen sıvı bölmesine karşı değıştirilir. Asit derişimi 35-100 Mm dır, örnek hacmi 1 µL den azdır, zaman 2 dakikadan azdır ve R.S.D değerleri 0-2% olarak bulunmuştur. İki metot denenmiştir. Bunlardan ilki 200 mL den daha az örnek tüketir fakat molar örnek derişimlerinin önceden bilinmesi gerekir. Lineer absorbans gösteren 598 nm de pH nın fonksiyonu olan fenolftalien karışımı yerine kullanılan bir indikatör karışımı kullanılır. Asit derişimi hakkında bilgi vermeyen ikinci bir yaklaşım yarı nötralizasyon noktasında pH belirlenmesine dayanan ve indikatör çözeltilerinin hepsini içeren bir yöntemdir.

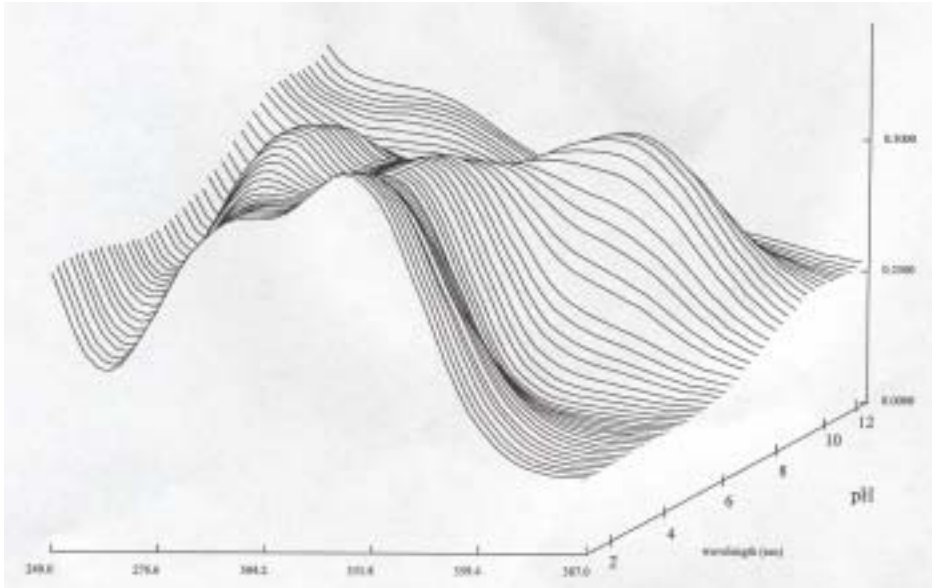
Kin Y. Tam , Krisztina Takács – Novák 2001 yılında tek , çift ve üç proton içeren 25 tane ilaç bileşiminin pK_a değerlerini spektroskopik olarak belirlemişlerdir. Kullanılan yöntem, dip-probe absorpsiyon (D-PAS) spektroskopisi olarak adlandırılan çok dalga boylu spektrofotometrik tekniktir. Bu yöntem, alışılmış bir spektrofotometrik titrasyon esasına dayanır. Bu deneylere, $25.0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ de 0,15 M KCl ün iyonik

şiddeti uygulanır. Deneyle, Semmelweis ve Sirius adı verilen iki ayrı laboratuarda pK_a tayini yapılmıştır. Bu yöntemle ölçülen değerler, literatür verileri ile uyum göstermektedir. İlaçlarda yapılan bu çalışmada, bir molekülün iyonizasyonunun derecesini belirlemek için gerekli olan parametre asit – kararlılık sabitleridir (pK_a). Bu esnada ilaç moleküllerinin farklı iyonlaşan türlerinin farmokinetik ve farmodinamik özellikleri değişir. İlaçların keşfi ve geliştirilmesinde, pH – metrik titrasyonda pK_a tayinin doğruluğu için önde gelen bileşenin suda çözünübilirliği yeteri kadar yüksek değildir. Ancak örnek, eğer bir su-organik çözücü karışımında yeteri kadar iyonlaşabiliyorsa pH – metrik olarak iyonlaşma değerleri belirlenir. Hazırlanan çözelti derişimi 10^{-5} - 10^{-6} M dır.

Tzventanka Philipova ve arkadaşları 2002 yılında bazı süstitue 1,4- ve 9,10-antrakinin maddelerin pK_a değerleri belirlemiştir. Amino, hidroksi ve klor içeren antrakinin maddelerinin pK_a değerleri spektrofotometrik titrasyon ile ve titrasyon sonucu oluşan verilerin Förster Cycle hesaplamaları ile incelenmesi ile belirlenir. Bu maddelerde özellikle hidroksi -1,4- antrakinin yapılarının asitliği yaklaşık 2,5 pK_a dan yüksektir.

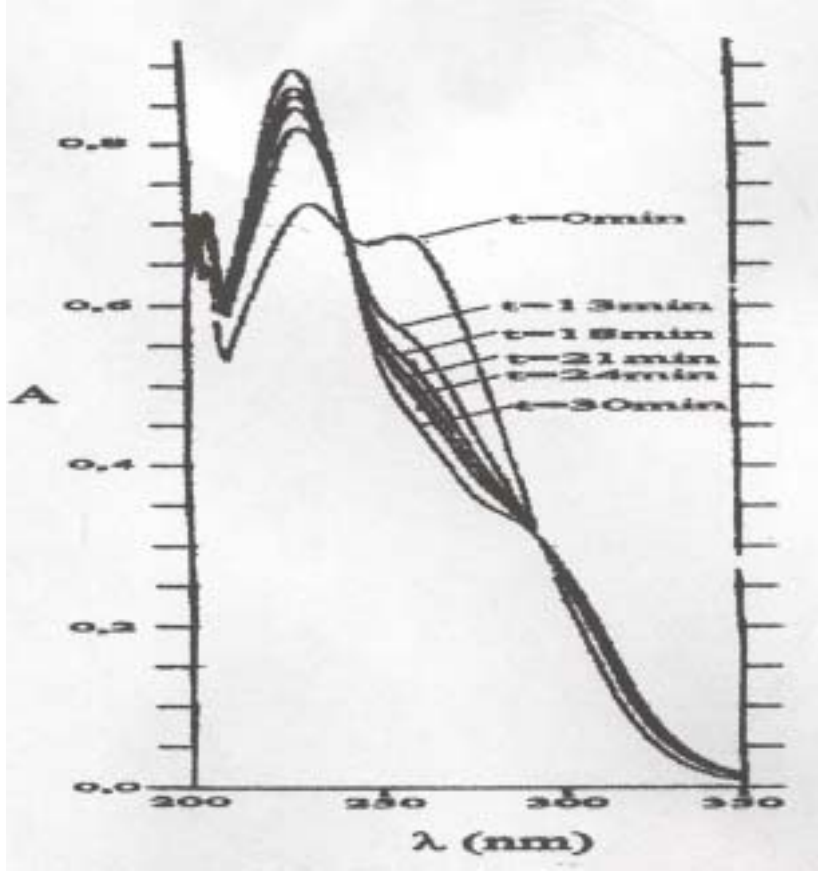
J.L.Beltrán ve arkadaşları 2003 yılında potansiyometrik, spektroskopik ve sıvı kromatografik yöntemlerini kullanarak su ve su - asetonitril karışımlarında polifenolik asitlerin pK_a değerlerini belirlemiştir. Bu çalışmada $6,10^{-3}$ M HCl ve 0,1 M NaCl ; tris(hidroksimetil)-aminometana karşı ayarlanır. NaOH çözeltisi potasyumhidrojenftalata göre Gran Metodu ile potansiyometrik olarak hazırlanır. Her bir polifenolik asit çözeltisi $5,10^{-4}$ M dır ve 0,1 M NaCl çözeltisi ile iyonik şiddet ayarlanır. Farklı maddelerin pK_a değerleri, sudaki ve farklı asetonitril – su karışımlarındaki (25°C ve 0,1 M iyonik şiddette NaCl) spektrofotometrik titrasyonlardan bulunan verilerle belirlenir. İlk basamakta; elektrot sistemi E° değerini belirlemek için potansiyometrik ölçümlerle Gran Metodu ile kalibre edilir. Öncelikle gereken sıcaklık şartlarında analiz edilen bileşikler içeren uygun bir karışım; (iyonik şiddet ve çözelti bileşimi) kalibrasyonu tamamlanan çözelti üzerine eklenir. Ya HCl ya da NaOH çözeltilerinin çok az bir kısmı eklenerek numune karışımı eklenen çözeltinin pH ları değiştirilir. pH 2 den 12 ye değişene kadar çok az

miktarda asit veya baz eklenir. Bu miktar test çözeltisinin pH sında ölçülebilir bir değişikliğe neden olacak kadar yeterli miktarda hem de izin verilen hacim artışı ihmal etmek için yeteri kadar küçüktür. Her pH’ da UV-Vis spektrumu, her polifenolik asit için farklı spektrumda maksimum λ bulmak için 1 nm kararlılıkla kaydedilir. Her ekleden sonra, potansiyel kararlılığı sağlanır ve potansiyel veri, kalibrasyon basamağında hesaplanan E° değeri kullanılarak çözeltinin pH değerleri hesaplanır. Bu çalışmada UV – Vis Spektrometrik titrasyonunda, test çözeltisi peristaltik pompa anlamına gelen bir spektrofotometrik akış hücresi ile pompalanır. Titrantın her eklenmesinden sonra ve kararlılık için potansiyel okunmasından sonra spektrum kaydedilir. Bütün veriler biriktirilir. STAR adı verilen program kullanılarak protonasyon sabitleri belirlenir. Bu program multilinear regresyon ile saf bileşiklerin molar absorpsiyonları ve kararlılık sabitlerini hesaplar. Bu program 50 farklı noktada 50 spektrum ile çalışır. Program, 25 tür ve fazlasını içeren 5 bileşik için sistemin kontrol altında tutulmasını sağlar. STAR programı, gerçek olarak kabul edilen belirli bir türün varlığına dayandırılan kimyasal dengenin bir önceki örneğini gerektirir. Bu örnekten ve eklenen kimyasal bilgilerden, bileşenlerin toplam derişimleri, çözeltilerin pH’ ları, deneysel spektral veriler, önerilen kararlılık sabiti ve her bir türün uygun olan saf haldeki spektrumları sağlanır.

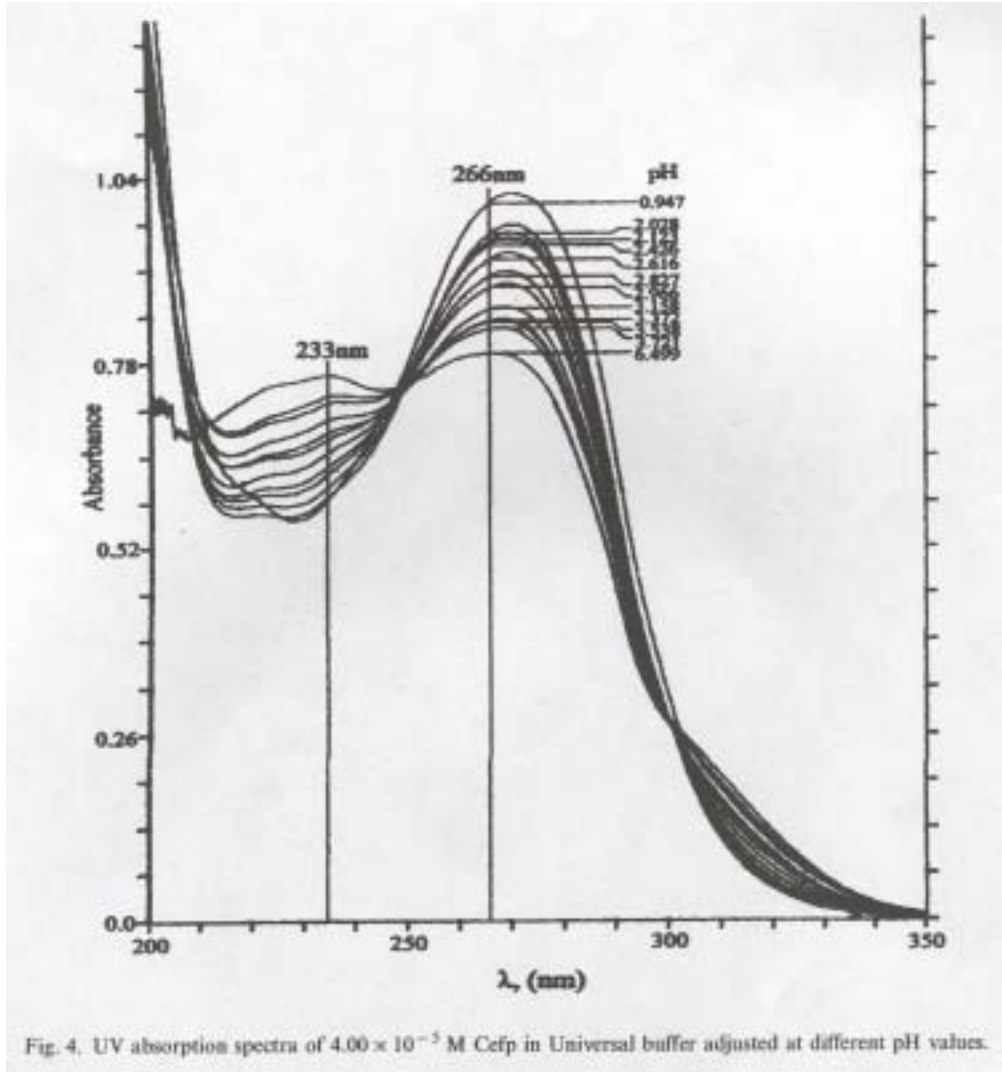


Şekil 2.5. Polifenolik asitlerin %30 luk ACN ortamında dalgaboyu-pH-absorbans grafiği (J.L.Beltrán , 2003)

Vassilis Evagelou ve arkadaşları 2003 yılında cefepime ve cefpirome türlerinin kararlılık sabitlerinin direk karakterizasyonu ve bu sabitlerin belirlenmesi için UV spektroskopisi ve potansiyometri yöntemlerini kullanmışlardır. İki analitik dalga boyunda ve farklı durumlardaki absorbans / pH profilleri diprotik asitlerin bu türlerinin bulunması için belirlenmiştir. Titrasyon eğrileri, üst üste gelen iki kararlılık sabitiyle üç protonlu asit profillerini gösterir. Her iki tekniğin sonuçlarının karşılaştırılması da, Δ -3 cephem çekirdeğinin 7 pozisyonundaki amit ve aminotiazol grubu ile Δ -3 cephem çekirdeğinin 4 pozisyonundaki karboksilik asit grubunun 3 kararlılık sabitinin belirlenmesi içindir. Alkali çözeltilerindeki Cef in kararlılık sabiti çalışmaları, 3. pK_a değerinin tayinini yürüten ölçümlerin doğruluğunu değerlendirmek için uygulanır. Deney pK_a değerleri PALLAS / PKALC ve Advanced Chemical Development (ACD) Software paketlerindeki programlarla hesaplanır. Cefepime (Cef) ve Cefpirome (cefp), gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı aktivitenin board spektrumu belirlenir. Bu maddeler bir pH düzenindeki zwitterion türlerinin oluşumunda cephem çekirdeğinin 3. pozisyonunda kuarterner azot, bir aminotiazol grubu ve bir karboksilik asit grubu içerir. Cef in üst üste gelen 2 pK_a değeri, sırasıyla asidik ($-CO_2H$) ve bazik (aminotiazol) merkezi için nitelendirilen gruplardan kaynaklanır.



Şekil 2.6. $4,00 \cdot 10^{-5}$ M Cef için pH 11.2 de farklı zamanlarda alınan spektrumları (Vassilis Evagelou , 2003)



Şekil 2.7. $4,00 \cdot 10^{-5}$ M Cefp nin farklı pH' larda alınan spektrumları
(Vassilis Evagelou , 2003)

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Genel Bilgi

Bu çalışmada, spektrofotometrik ölçümlerle su ortamı , %10 -%20 - %30 (v/v) asetonitril – su ortamlarında seçilen benzoik asit maddelerinin pK_a değerleri belirlenmiştir.

3.2 Kullanılan Cihazlar

3.2.1 UV-Görünür spektrofotometre cihazı

UV – Vis spektrumları, bilgisayar tarafından kontrol edilen 1 cm uzunluğundaki hücre ile donatılan Perkin – Elmer LAMBDA 20 spektrofotometresi kullanılarak not edilen her bir pH değerinden absorptiometik pK_a değerlerini belirlemede kullanıldı. Spektrometrede yer alan peristaldik pompa, sürekli akışla, kapalı bir döngü içerisinde Teflon veya Tygon tüp aracılığıyla spektrofotometre hücre içerisine doğru titrasyon kabından çözelti dolaştırıldı.

3.2.2 Su banyosu

Hücre sıcaklığı, (Heto CBN 8-30 ve sıcaklık kontrol hücresi Heto HMT 200) içeren soğutucu sistemli bir su banyosu ile $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1$ ye sürekli olarak ayarlanır ve numune çözeltisi, manyetik olarak karıştırıldı.

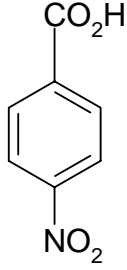
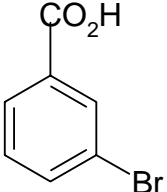
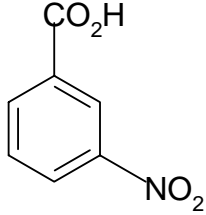
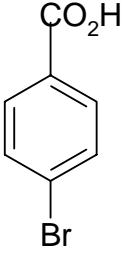
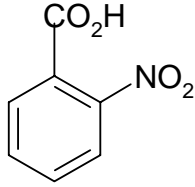
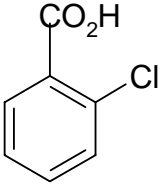
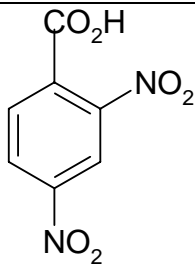
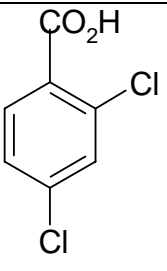
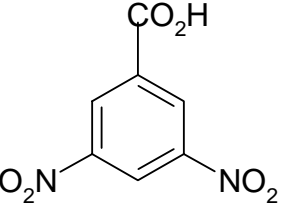
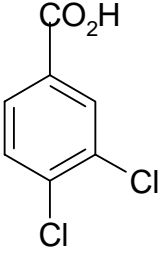
3.2.3 pH - metre

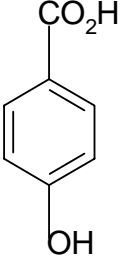
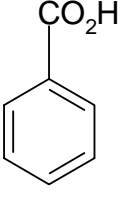
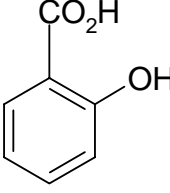
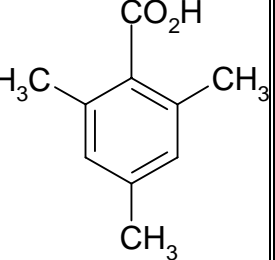
Çözeltinin pH' sını belirlemek için e.m.f ölçümleri Hanna HI 1332 Ag / AgCl, pH elektrot sistemi olan Mettler - Toledo MA 235 pH / iyon cihazı kullanılarak yapıldı ($\pm 0,1$ mV).

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyleerde analitik saflıkta olan kimyasallar kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasallar Çizelge 3.1 de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Bileşğin Adı	Bileşğin Formülü	Bileşğin Adı	Bileşğin Formülü
4-Nitrobenzoik asit		3-Bromobenzoik asit	
3-Nitrobenzoik asit		4-Bromobenzoik asit	
2-Nitrobenzoik asit		2-Klorobenzoik asit	
2,4-Dinitrobenzoik asit		2,4-Diklorobenzoik asit	
3,5-Dinitrobenzoik asit		3,4-Diklorobenzoik asit	

4-Hidroksibenzoik asit		Benzoik asit	
2-Hidroksibenzoik asit		2,4,6-trimetil benzoik asit	

Çalışmada kullanılan kimyasalların özellikleri Çizelge 3.2 de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan kimyasalların özellikleri

Kimyasal Madde	Özellik
4-Nitrobenzoik asit	Fluka
3-Nitrobenzoik asit	Merck
2-Nitrobenzoik asit	Aldrich
2,4-Dinitrobenzoik asit	Fluka
3,5-Dinitrobenzoik asit	Fluka
3-Bromobenzoik asit	Aldrich
4-Bromobenzoik asit	Aldrich
2-Klorobenzoik asit	Merck
2,4-Diklorobenzoik asit	Merck
3,4-Diklorobenzoik asit	Merck
4-Hidroksibenzoik asit	Fluka
2-Hidroksibenzoik asit	Fluka
Benzoik asit	Fluka
2,4,6-Trimetilbenzoik asit	Merck
Asetonitril	Merck
Sodyumhidroksit	Fluka
Sodyumklorür	Fluka
Hidroklorik asit	Merck

Su , 0.05 S. cm^{-1} den düşük kondüktiviteye sahip , Milli – Q su arıtma (Millipore Corp.) sisteminden sağlanmıştır.

3.3.1 Kullanılan çözeltiler

Çalışmada spektrofotometrik olarak pK_a tayini için her bir benzoik asit maddesinin $5.10^{-4} \text{ mol / L}$ olan çözeltileri hazırlanır. Bütün çözeltiler $0,1 \text{ mol / L NaCl}$ ün iyonik şiddetine göre ayarlandı.

%10 Asetonitril ortamı (500 mL)

50 mL asetonitril alınarak üzerine 450 mL saf su eklenerek hacmi 500 mL ye tamamlanır.

%20 Asetonitril ortamı (500 mL)

100 mL alınarak üzerine 400 mL saf su eklenerek hacmi 500 mL ye tamamlanır.

%30 Asetonitril ortamı (500 mL)

150 mL alınarak üzerine 350 mL saf su eklenerek hacmi 500 mL ye tamamlanır.

0,1 M NaCl çözeltisi

2,925 gram NaCl tartılıp bir miktar çözücüde çözülerek hacmi 500 mL ye tamamlanır. Çözücü olarak su, %10 -%20 - %30 (v/v) asetonitril – su ortamları kullanılmıştır.

0,1 M HCl çözeltisi

Titrisolden hazırlanan 1 M HCl den 5 mL alınır. Üzerine 40 mL su ve 5 mL çözücü eklenir.

0,1 M NaCl ve 0,1 M HCl çözeltilerinin hazırlanması işlemi ortamın her değişiminde tekrarlanmaktadır.

Derişik NaOH çöztisi

5 gram NaOH tartılıp bir miktar suda çözümlenerek hacmi 25 mL ye tamamlanır.

Benzoik asitlerin standart çözeltileri**4-Nitrobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M**

0,00209 g tartılarak 25 lik balon jöjeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

3-Nitrobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00209 g tartılarak 25 lik balon jöjeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

2-Nitrobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00209 g tartılarak 25 lik balon jöjeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

2,4-Dinitrobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00265 g tartılarak 25 lik balon jöjeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

3,5-Dinitrobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00265 g tartılarak 25 lik balon jöjeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

3-Bromobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00251 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

4-Bromobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00251 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

2-Klorobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00196 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

2,4-Diklorobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00239 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

3,4-Diklorobenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00239 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

4-Hidroksibenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00173 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

2-Hidroksibenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00173 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

Benzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00153 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

2,4,6-trimetilbenzoik asit , $5 \cdot 10^{-4}$ M

0,00205 g tartılarak 25 lik balon jojeye konmuş ve hacim kullanılan çözücü ile tamamlanmıştır.

Kimyasal maddelerin hazırlanması işlemi, su , %10 -%20 - %30 (v/v) asetonitril – su ortamlarında tekrarlanmaktadır.

3.4. Metot

Farklı maddelerin pK_a değerleri; $25^\circ\text{C} \pm 0,1$ sıcaklıkta ve 0,1 mol / L iyonik şiddette (NaCl) olan farklı MeCN - su karışımlarında ve suda spektrofotometrik titrasyonlardan bulunan verilerle belirlenir. İlk basamakta, elektrot sistemi, E° değerini bulmak için potansiyometrik ölçümlerin yer aldığı Gran metodu ile kalibre edilir. 20 mL 0,1M NaCl çözeltisi üzerine 0,1 mL aralıklarla 2,0 mL 0,1 M HCl eklenir. Kalibrasyon tamamlandıktan sonra çözelti bileşimi , kalibrasyon çözeltisine eklenir ve daha sonra NaOH in çok az bir kısmı eklenir. Spektral veriler; pH değerleri çok az baz eklenerek 1,0-12,0 arasında değiştirilerek okundu. Eklenen miktarlar, numune çözeltisinin pH sında ölçülebilir bir değişime neden olmak için yeterli derecede yüksektir. Fakat hacmin artışına izin vermeyecek kadar da az miktarda olması gerekir. Her bir pH' da , her bir benzoik asit maddesi için yaklaşık maksimum λ da farklı spektrumlar

sağlamak için 1 nm kararlılıkla spektrumlar kaydedilir. Her ekleden sonra, potansiyelin kararlı olması sağlanır ve okunan potansiyel değerleri kalibrasyon aşamasında hesaplanan E° değeri kullanılarak çözeltinin pH değerlerini hesaplamak için kullanılır. UV – Vis spektrofotometrik titrasyonlarında, numune çözeltisi, peristaltik pompa olarak adlandırılan spektrofotometrik akış hücresi ile pompalanır. Titrantın her eklenişinden ve kararlı potansiyel okumak için bekleme aşamasından sonra, spektrum kaydedilir. Titrasyon sırasında çözelti bir magnetik karıştırıcı ile karıştırılır. Konuyla ilgili bütün veriler kaydedilir ve yeni eklenen titrant hacmi, dönüşümü yeniden başlatmak için eklenir. Veriler, multi linear regression ile saf türlerin molar absorbansını ve kararlılık sabitlerini hesaplayan pHAB programı kullanılarak oluşturulur. Bu program 100 farklı noktada 100 spektrum ile çalışır. pHAB programı, gerçek olarak kabul edilen belirli bir türün varlığına dayandırılan kimyasal dengenin bir önceki örneğini gerektirir. Bu örnekten ve eklenen kimyasal bilgilerden, bileşenlerin toplam derişimleri, çözeltilerin pH' ları, deneysel spektral veriler, önerilen kararlılık sabiti ve her bir türün uygun olan saf haldeki spektrumları sağlanır. Optimizasyon, non – linear squares yöntemi ile yapılır (Peter Gans, 1999).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

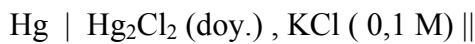
4.1 Elektrot Kalibrasyonu

İlk olarak potansiyometrik ölçümlerin yer aldığı Gran metodu ile elektrot kalibrasyonu yapılır. Kalibrasyon derişimi iyi bilinen güçlü bir asit (0,1 M HCl) çözeltisiyle iyonik şiddeti belli bir çözeltinin (0,1 M NaCl) titrasyonudur. Deney sonucunda kalibrasyon grafiği çizilir. E° değerleri hesaplanır. Kalibrasyon ve titrasyon süresince pH skalası yerine mV skalası kullanılır. Kullanılan çözücü asetonitril olduğu için cihazın yüksek elektrik direnç yapıp, kararsız potansiyel okumalarına neden olması da imkansızdır. Elektrot kalibrasyonunun yapılmasındaki amaç standart elektrot potansiyeli olan E° değerinin bulunmasıdır. Standart elektrot potansiyeli ; sıvı temas potansiyeli, sınır potansiyeli, asimetri potansiyeli, aktivite katsayısı kavramlarını kapsar (Demirelli,2003). Bu kavramlar teorik olarak belirlenemez . Bu büyüklükler hesaplanamadığından deneysel olarak bulunur. Bu işlem sonrasında elektrodun cevabı, analitin derişimi türünden değil , analit aktivitesi cinsinden olur. Aktivite terimi (a) ; bir dengede yer alan türlerin belirli bir iyonik şiddetteki etkin derişimini kantitatif olarak ifade edilmesidir. İyonik şiddet (μ) ise ortama ilave edilen elektrolitin denge üzerine yaptığı etkinin ifadesidir (Skoog,1999).

$$a_x = \gamma_x [X] \quad (4.1)$$

γ :Aktivite katsayısı

Dikkat edilmesi gereken nokta kalibrasyonda kullanılan titrant ve analitin iyonik şiddetlerinin eşit olması gerekir. Çünkü ; E° , sıvı temas potansiyeline bağlıdır. Sıvı temas potansiyeli sabit kabul edilir. Eğer elektrot dolgu çözeltisi ile ortamın iyonik şiddeti farklı olursa sıvı temas potansiyeli sabit olmaz. Bu çalışmada 0,1M NaCl çözeltisi ve kalomel elektrot kullanılmıştır. NaCl tek yüklü iyonlardan oluşan kuvvetli bir elektrolittir. Bu nedenle iyonik şiddeti, bu çözeltideki tuzun molar derişimi ile aynıdır. Kalomel elektrotun elektrot şeması ise şu şekildedir.



Çözeltide KCl 'ün molar derişimi 0,1 M dir. Her iki türün de molar derişimleri aynıdır.

HCl çözeltisinin hidrojen iyonu aktivitesi (a) ve E° değeri kullanarak pH şu şekilde hesaplanır.

$$E = E^\circ - 0,059 \log a_{H^+} \quad (4.2)$$

$$E = E^\circ - 0,059 \text{ pH}$$

$$\text{pH} = (E - E^\circ) / 0,059$$

Kalibrasyon sonuçları regresyon analizi ile değerlendirilir. Regresyon analizi, aralarında sebep – sonuç ilişkisi bulunan iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkiyi, o konu ile ilgili hesaplamalar ve değerlendirme yapabilmek amacıyla kullanılır. Kalibrasyon grafiklerinin eldesinde , noktalardan geçen en iyi doğru türetilir. Bu doğru en küçük kareler yöntemi ile incelenir. Bu yöntemle incelemek için bu doğruyu elde edebilecek bir eşitlik verilir.

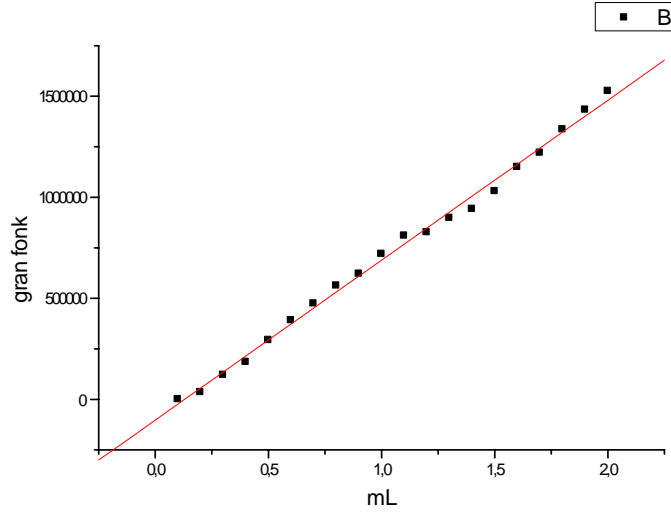
$$Y = A + B * X$$

R:Korelasyon katsayısı

Bu doğruyu oluşturan eksenler arasında doğrusal bir ilişki olmalıdır. Bu yöntemle ayrıca korelasyon katsayısı hesaplanır. Kalibrasyonun doğruluğunun yeterli olup olmadığına karar vermede korelasyon katsayısına bakılır. Korelasyon katsayısı, değişkenlerin yönü ve etkileşimlerin nasıl olduğu hakkında bilgi verir. Korelasyon katsayısı $0 < R \leq 1$ aralığında değişir. Elde edilen R değerlerinin özellikle $\sim 0,999$ olması yeterlidir.

Sonuçlar ve çizilen grafikler aşağıdaki gibidir.

4.1.1. Su Ortamı



Şekil 4.1. Benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği (R= 0,99773)

Çizelge 4.1'de Su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri

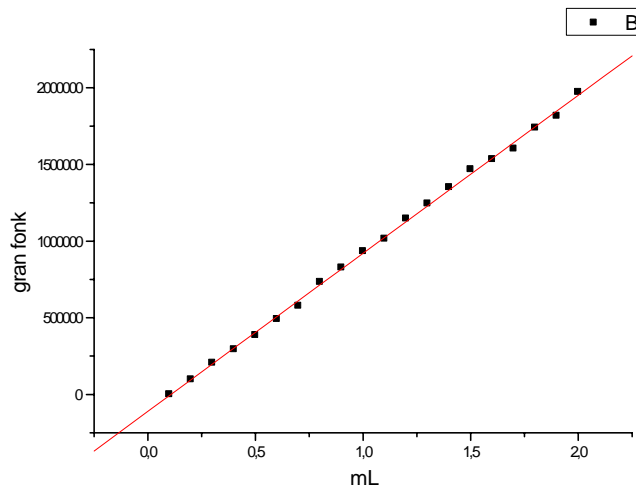
Bileşik Adı	Korelasyon Katsayısı
4-nitrobenzoik	0,99827
3-nitrobenzoik	0,99961
2-nitrobenzoik	0,99959
2,4-Dinitrobenzoik asit	0,99973
3,5-Dinitrobenzoik asit	0,99897
3-Bromobenzoik asit	0,99952
4-Bromobenzoik asit	0,99944
2-Klorobenzoik asit	0,99944
2,4-Diklorobenzoik asit	0,99944
3,4-Diklorobenzoik asit	0,99944
4-Hidroksibenzoik asit	0,99944
2-Hidroksibenzoik asit	0,99944
2,4,6- Trimetilbenzoik asit	0,99944

Çizelge 4.2’de ise Su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen E° değerleri değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.2. Su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen E° değerleri mV

Kimyasal Madde	E° (mV)
4-Nitrobenzoik asit	400,5998
3-Nitrobenzoik asit	401,0999
2-Nitrobenzoik asit	401,0051
2,4-Dinitrobenzoik asit	402,2006
3,5-Dinitrobenzoik asit	400,9548
3-Bromobenzoik asit	401,071
4-Bromobenzoik asit	400,5998
2-Klorobenzoik asit	400,5996
2,4-Diklorobenzoik asit	400,5998
3,4-Diklorobenzoik asit	400,5998
4-Hidroksibenzoik asit	400,5997
2-Hidroksibenzoik asit	400,5998
Benzoik asit	401,0999
2,4,6-Trimetilbenzoik asit	400,5997

4.1.2. %10 ACN-Su Ortamı



Şekil 4.2. Benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği ($R = 0,99945$)

Çizelge 4.3'de %10 ACN-su ortamında kalibrasyon sonrası elde edilen R değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.3. % 10 ACN-Su ortamında elde edilen R değerleri

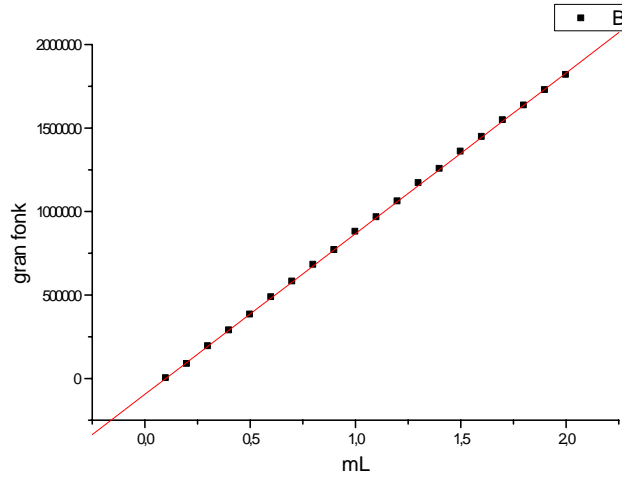
Bileşik Adı	Korelasyon Katsayısı
4-nitrobenzoik	0,99880
3-nitrobenzoik	0,99844
2-nitrobenzoik	0,99844
2,4-Dinitrobenzoik asit	0,99867
3,5-Dinitrobenzoik asit	0,99867
3-Bromobenzoik asit	0,99870
4-Bromobenzoik asit	0,99983
2-Klorobenzoik asit	0,99846
2,4-Diklorobenzoik asit	0,99994
3,4-Diklorobenzoik asit	0,99994
4-Hidroksibenzoik asit	0,99994
2-Hidroksibenzoik asit	0,99994
2,4,6- Trimetilbenzoik asit	0,99994

Çizelge 4.4'de ise % 10 ACN-Su ortamında çalışmada kullanılan kimyasal maddelerden elde edilen E° değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.4. % 10 ACN-Su ortamında elde edilen E° değerleri

Kimyasal Madde	E° (mV)
4-Nitrobenzoik asit	411,8587
3-Nitrobenzoik asit	408,3159
2-Nitrobenzoik asit	406,4678
2,4-Dinitrobenzoik asit	409,0363
3,5-Dinitrobenzoik asit	409,8458
3-Bromobenzoik asit	409,8458
4-Bromobenzoik asit	408,9716
2-Klorobenzoik asit	410,7965
2,4-Diklorobenzoik asit	407,8679
3,4-Diklorobenzoik asit	407,8679
4-Hidroksibenzoik asit	407,8670
2-Hidroksibenzoik asit	407,8679
Benzoik asit	409,0091
2,4,6-Trimetilbenzoik asit	407,8679

4.1.3. %20 ACN-Su Ortamı



Şekil 4.3. Benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği (R = 0,99994)

Çizelge 4.5’de % 20 ACN- Su çalışma ortamında çalışmada kullanılan maddelerden elde edilen R değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.5. % 20 ACN-Su ortamında elde edilen R değerleri

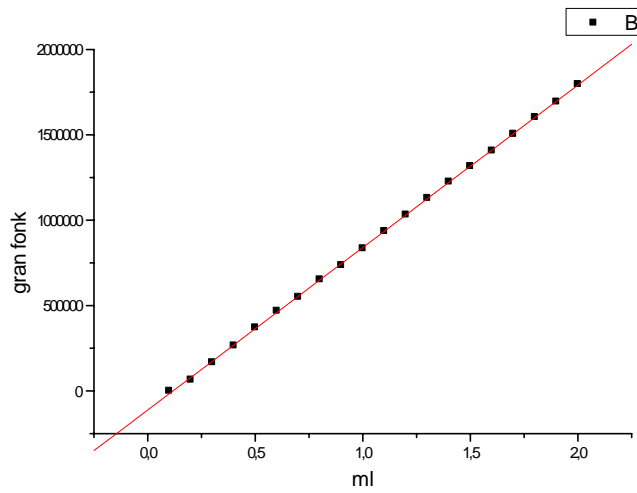
Bileşik Adı	Korelasyon Katsayısı
4-nitrobenzoik	0,99989
3-nitrobenzoik	0,99989
2-nitrobenzoik	0,99990
2,4-Dinitrobenzoik asit	0,99989
3,5-Dinitrobenzoik asit	0,99951
3-Bromobenzoik asit	0,99993
4-Bromobenzoik asit	0,99993
2-Klorobenzoik asit	0,99990
2,4-Diklorobenzoik asit	0,99989
3,4-Diklorobenzoik asit	0,99993
4-Hidroksibenzoik asit	0,99978
2-Hidroksibenzoik asit	0,99998
2,4,6- Trimetilbenzoik asit	0,99993

Çizelge 4.6'da ise % 20 ACN-Su ortamında çalışmada kullanılan kimyasal maddelerden elde edilen E° değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.6. % 20 ACN-Su ortamında elde edilen E° değerleri

Kimyasal Madde	E° (mV)
4-Nitrobenzoik asit	407,2634
3-Nitrobenzoik asit	407,2630
2-Nitrobenzoik asit	407,2000
2,4-Dinitrobenzoik asit	407,2634
3,5-Dinitrobenzoik asit	406,0056
3-Bromobenzoik asit	409,1448
4-Bromobenzoik asit	409,1448
2-Klorobenzoik asit	409,1448
2,4-Diklorobenzoik asit	409,1448
3,4-Diklorobenzoik asit	409,1448
4-Hidroksibenzoik asit	409,1448
2-Hidroksibenzoik asit	409,1448
Benzoik asit	407,8679
2,4,6-Trimetilbenzoik asit	409,1448

4.1.4. %30 ACN-Su Ortamı



Şekil 4.4. Benzoik asit için elde edilen elektrot kalibrasyon grafiği (R = 0,99993)

Çizelge 4.7’de % 30 ACN- Su çalışma ortamında çalışmada kullanılan maddelerden elde edilen R değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.7. % 30 ACN-Su ortamında elde edilen R değerleri

Bileşik Adı	Korelasyon Katsayısı
4-nitrobenzoik	0,99973
3-nitrobenzoik	0,99957
2-nitrobenzoik	0,99989
2,4-Dinitrobenzoik asit	0,99967
3,5-Dinitrobenzoik asit	0,99959
3-Bromobenzoik asit	0,99957
4-Bromobenzoik asit	0,99943
2-Klorobenzoik asit	0,99923
2,4-Diklorobenzoik asit	0,99951
3,4-Diklorobenzoik asit	0,99934
4-Hidroksibenzoik asit	0,99923
2-Hidroksibenzoik asit	0,99985
2,4,6- Trimetilbenzoik asit	0,99934

Çizelge 4.8’de ise % 30 ACN-Su ortamında çalışmada kullanılan kimyasal maddelerden elde edilen E° değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.8. % 30 ACN-Su ortamında elde edilen E° değerleri

Kimyasal Madde	E° (mV)
4-Nitrobenzoik asit	408,248
3-Nitrobenzoik asit	408,4896
2-Nitrobenzoik asit	408,4800
2,4-Dinitrobenzoik asit	408,4896
3,5-Dinitrobenzoik asit	408,4896
3-Bromobenzoik asit	408,4896
4-Bromobenzoik asit	408,4896
2-Klorobenzoik asit	407,8285
2,4-Diklorobenzoik asit	408,0000
3,4-Diklorobenzoik asit	407,8285
4-Hidroksibenzoik asit	407,8285
2-Hidroksibenzoik asit	408,8200
Benzoik asit	409,1448
2,4,6-Trimetilbenzoik asit	407,8285

Hesaplanan E° değerleri , deney esnasında ölçülen mV değerlerini pHAB programı için gerekli olan pH değerlerine dönüştürmek için kullanılır.

$$\text{pH} = E - E^\circ / 0,059 \quad (4.3)$$

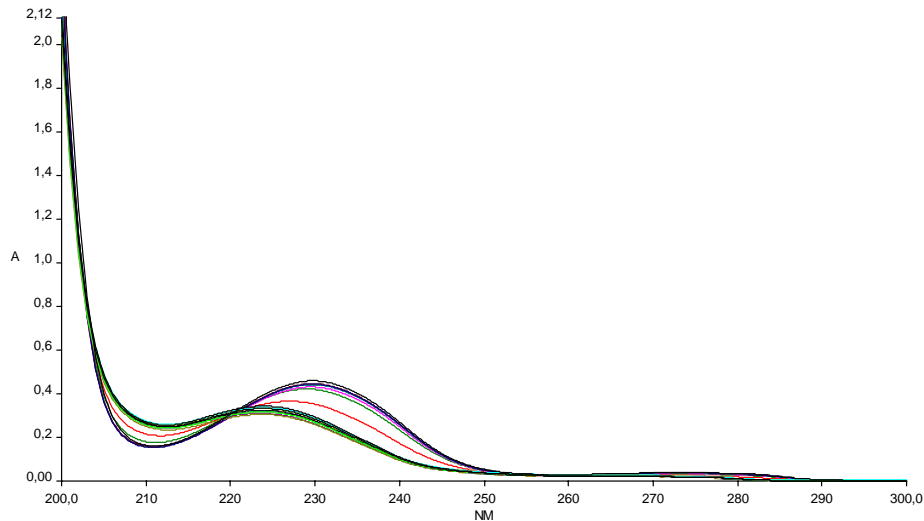
Her deneyden önce mutlaka elektrot kalibrasyonu yapılmıştır.

4.2. Numunelerin UV Spektrumlarının Eldesi

Elektrot kalibrasyonundan sonra kalibrasyon çözeltisine standart numune çözeltisi ilave edilmiştir. 30 farklı noktada çok az miktarlarda NaOH eklenmesi ile oluşan karışımın yine 30 noktada spektrumları alınmıştır.

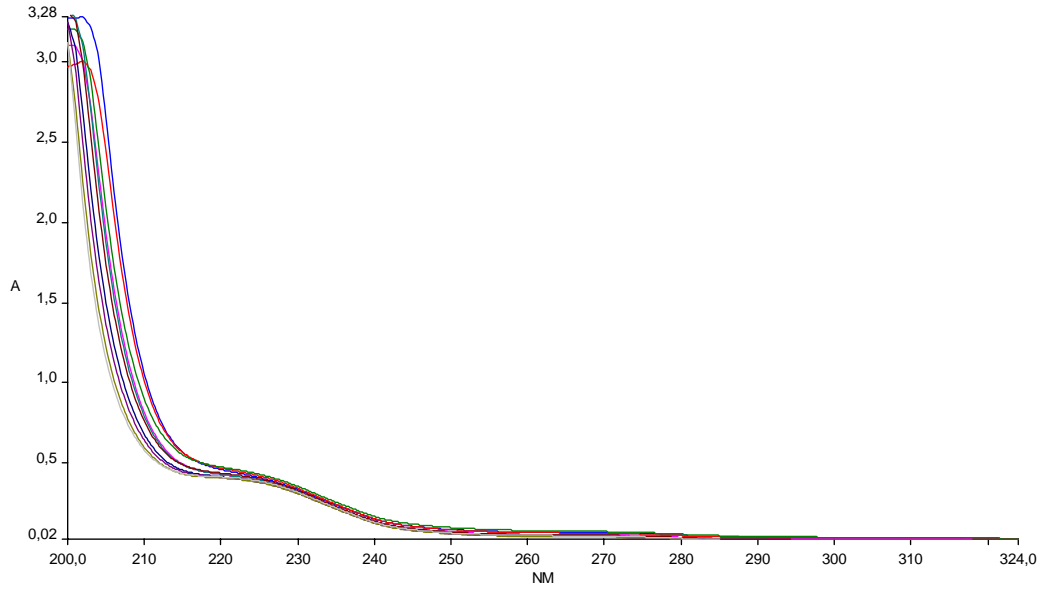
Her bir ortamda elde edilen spektrumlarda oluşan isosbestik noktalar aşağıdaki gibidir. Bu noktalarda dengede ışığı absorplayan türlerin ışığı absorplama miktarlarının eşit olduğu bir dalga boyu vardır. Ölçümlerin bu dalga boyunda yapılması ile bir türden diğerine geçiş olsa bile Lambert – Beer doğrusaldır.

4.2.1. Su Ortamı



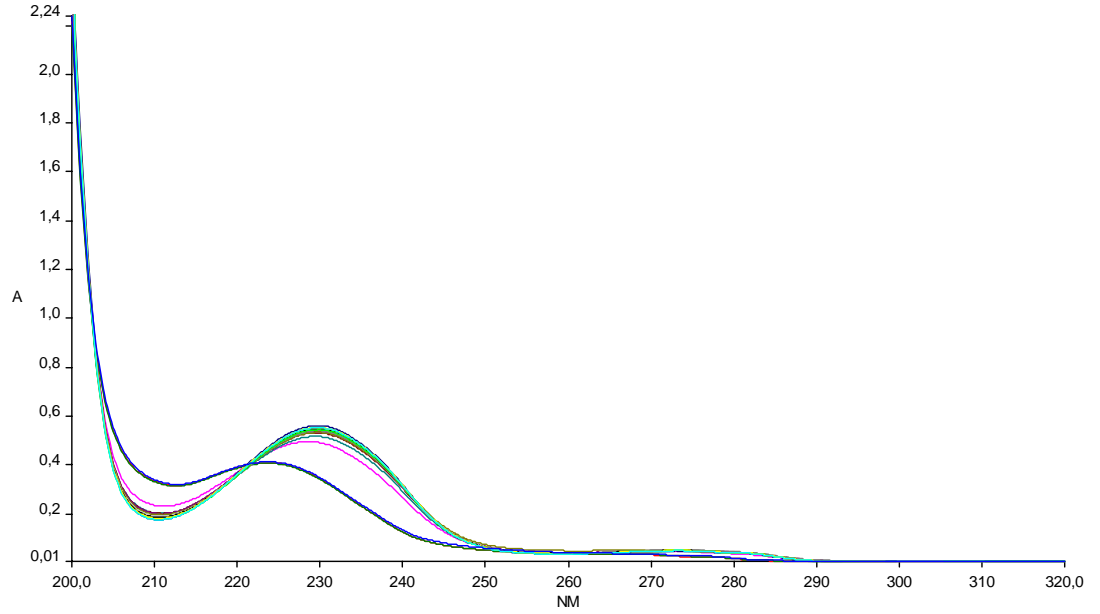
Şekil 4.5. Su ortamında farklı pH değerlerinde benzoik asitin dalga boyu - absorpsiyon grafiği

4.2.2. %10 ACN-Su Ortamı



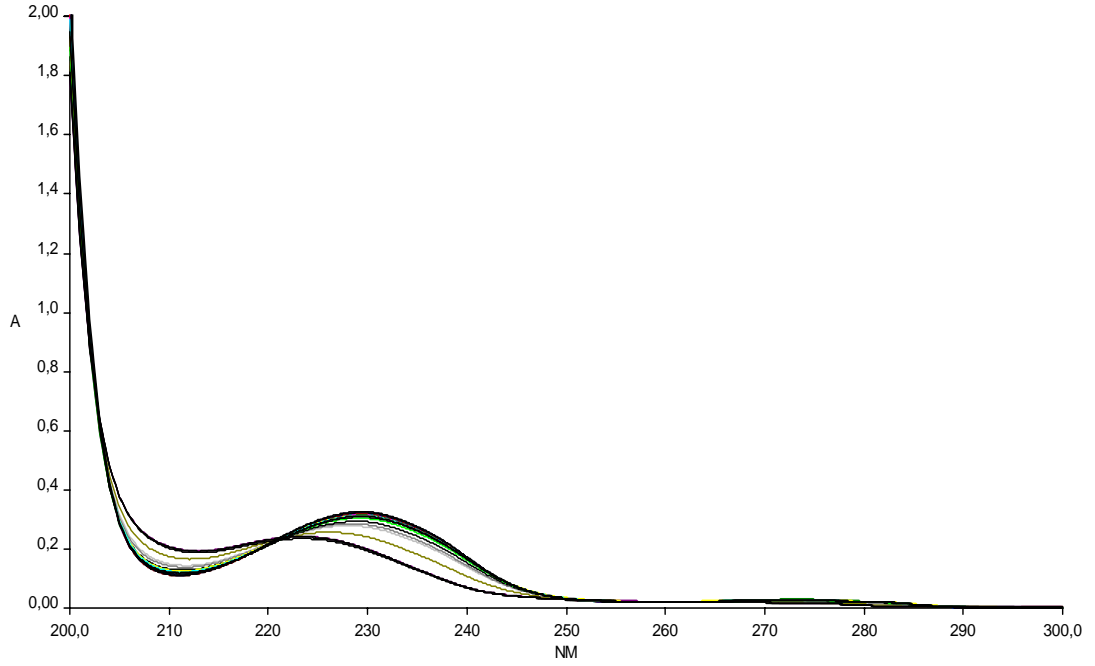
Şekil 4.6. %10 ACN – su ortamında farklı pH değerlerinde benzoik asitin dalga boyu - absorbans grafiği

4.2.3. %20 ACN-Su Ortamı



Şekil 4.7. % 20 ACN-Su ortamında farklı pH değerlerinde benzoik asitin dalga boyu - absorbans grafiği

4.2.4. %30 ACN-Su Ortamı



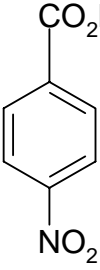
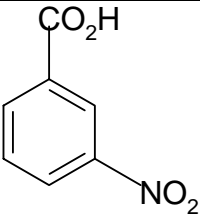
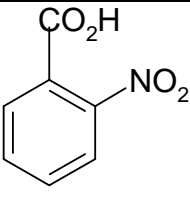
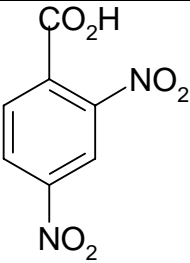
Şekil 4.8. % 30 ACN-Su ortamında farklı pH değerlerinde benzoik asitin dalga boyu - absorpsiyon grafiği

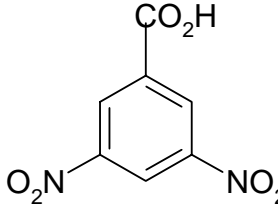
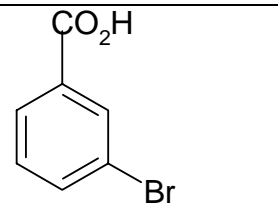
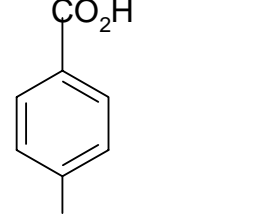
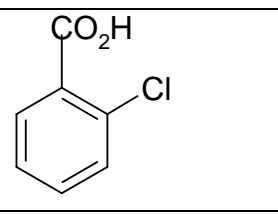
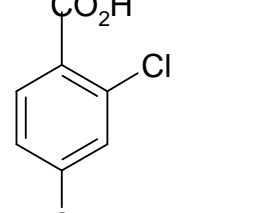
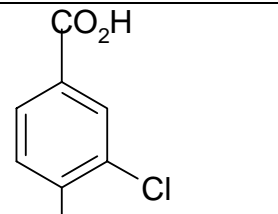
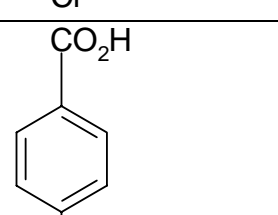
Yukarıdaki grafikler incelendiğinde 4 farklı ortamdaki bileşiğin iyonlaşan AH türü ile oluşan iyon türü (A⁻) nün ışığı absorpsiyon miktarlarının eşit olduğu isosbestik noktalar görülmektedir. Spektrofotometrik titrasyonun dönüm noktasına yaklaşıldığında her bir spektrumda farklılaşmalar başlar. Spektrofotometrik titrasyonlarda dönüm noktasını kaçırma endişesi yoktur. Bu nedenle dönüm noktasına yaklaşıldığı tüm spektrumlar bir arada açılarak incelenebilir. Tam bu noktaya gelindiğinde okunan dalga boyu isosbestik noktayı verir. Su ortamından % 30 luk ACN-su karışımına gelindiğinde ortamda iyonlaşma daha kolay meydana gelmektedir. Çünkü titrasyon aşamasında baz eklendiğinde numune çözeltisi çok kolay dengeye gelmektedir ve okunan mV değerleri daha kararlı ve hızlı okunmaktadır. Bu durum asetonitrilin düşük dielektrik sabitine ($\epsilon = 36$) ve düşük iyonlaşma sabitine ($pK_s = 33,6$) sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bundan dolayı ACN, bazik ve suya göre düşük dielektrik sabitine sahiptir.

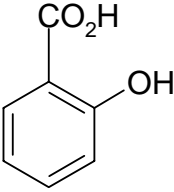
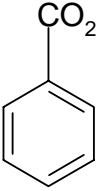
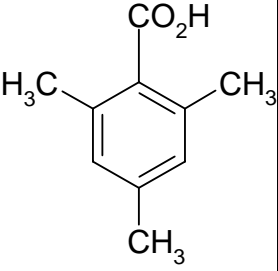
4.3. pHAB Programı İle Verilerin Değerlendirilmesi

Programı ile hesap yapmak için öncelikle ölçülen mV değerlerinin pH ya çevrilmesi gerekir. Ayrıca her titrasyon sonrası elde edilen spektrumların verileri kaydedilir ve pHAB programı yardımıyla pK_a değerleri hesaplanır. Bileşiklerin bulunan teorik pK_a değerleri Çizelge 4.9 da görülmektedir.

Çizelge 4.9. Çalışmada kullanılan bileşiklerin pK_a değerleri

Bileşiğin Adı	Bileşiğin Formülü	Su pK_a	% 10 ACN pK_a	% 20 ACN pK_a	% 30 ACN pK_a
4-Nitrobenzoik asit		3,43 ^a 3,44 ^b 3,43 ^c	3,50 ^a	3,82 ^a	4,10 ^a
3-Nitrobenzoik asit		3,49 ^a 3,49 ^b 3,46 ^c	3,54 ^a	3,75 ^a	4,01 ^a
2-Nitrobenzoik asit		2,22 ^a 2,17 ^b 2,17 ^c	2,58 ^a	2,95 ^a	3,29 ^a
2,4-Nitrobenzoik asit		1,42 ^a 1,43 ^b 1,43 ^c	—	—	—

3,5-Nitrobenzoik asit		2,82 ^a 2,82 ^b	—	—	—
3-Brombenzoik asit		3,82 ^a 3,81 ^b 3,81 ^c	—	—	—
4-Brombenzoik asit		3,97 ^a 4,00 ^b 3,96 ^c	—	—	—
2-Klorobenzoik asit		2,94 ^a 2,94 ^b 2,90 ^c	—	—	—
2,4-Diklorobenzoik asit		2,72 ^a	—	—	—
3,4-Diklorobenzoik asit		3,60 ^a	—	—	—
4-Hidroksibenzoik asit		4,58 ^a 4,58 ^b pka2:9,23 ^b 4,57 ^c	—	—	—

2-Hidroksibenzoik asit		2,98 ^a 3,00 ^b pka ₂ :12,38 ^b 2,98 ^c	—	—	—
benzoik asit		4,21 ^a 4,21 ^b 4,204 ^c 4,231 ^d	4,49 ^a	4,77 ^a	5,05 ^a
2,4,6-trimetil benzoik asit		3,44 ^a 3,44 ^b	—	—	—

a: S.Espinosa , E. Bosch , M.Rosés , 2002

b: John A. Dean, (11.Edition), Lange's Handbook Of Chemistry , McGraw - Hill Book Company

c: David R.Lide , 2002 , Handbook of Chemistry and Physics

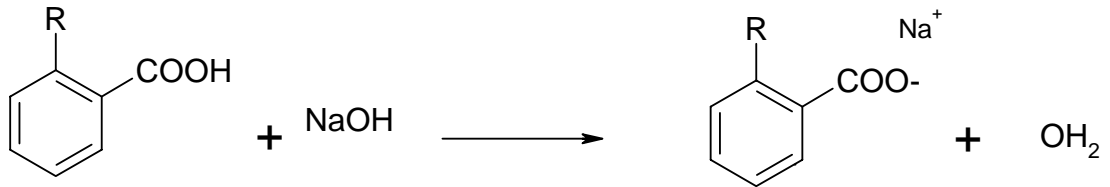
d: John A. Dean, Analytical Chemistry Handbook , McGraw - Hill Book Company

Program yardımıyla hesaplanan pKa değerleri ise Çizelge 4.10 da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Program yardımıyla hesaplanan pKa değerleri

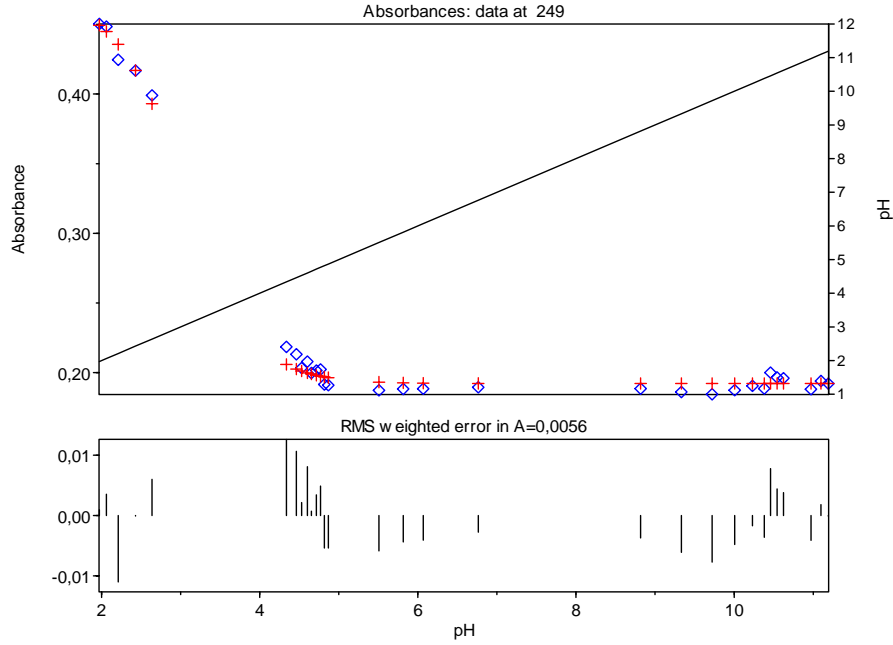
Bileşimin Adı	Su pK _a	% 10 ACN pK _a	% 20 ACN pK _a	% 30 ACN pK _a
4-Nitrobenzoik asit	3,4400±0,0105	3,4800±0,0452	3,8194±0,0328	4,1138±0,0934
3-Nitrobenzoik asit	3,4532±0,0110	3,5155±0,1119	3,7254±0,0489	4,0469±0,0202
2-Nitrobenzoik asit	2,3586±0,0217	2,4374±0,0116	2,9309±0,0110	3,2875±0,0205
2,4-Dinitrobenzoik asit	2,3493±0,0105	2,6534±0,1344	2,7489±0,0174	2,9090±0,0090
3,5-Dinitrobenzoik asit	2,8109±0,0137	2,9766±0,0248	3,3500±0,0740	3,8000±0,0256
3-Brombenzoik asit	3,8124±0,0190	3,9500±0,0280	4,2832±0,0173	4,5000±0,0373
4-Brombenzoik asit	3,9705±0,0806	4,1475±0,0536	4,4620±0,0723	4,5300±0,0118
2-Klorobenzoik asit	2,9418±0,0105	3,1400±0,0930	3,5333±0,0815	3,8000±0,0739
2,4-Diklorobenzoik asit	2,7132±0,1193	3,0162±0,1263	3,1142±0,0615	3,4811±0,0486
3,4-Diklorobenzoik asit	3,5780±0,0480	3,7821±0,0763	4,1964±0,0087	4,4848±0,0607
4-Hidroksibenzoik asit	4,5331±0,0272 9,2166±0,0001	4,8593±0,0108 9,4985±0,0106	5,0027±0,0480 9,5669±0,0001	5,2806±0,0147 9,9074±0,0142
2-Hidroksibenzoik asit	3,0022±0,0510 12,284±0,0495	3,2257±0,0285 12,556±0,0127	3,6338±0,0335 12,762±0,0781	3,8000±0,0544 13,246±0,0558
benzoik asit	4,2031±0,0720	4,4832±0,0416	4,7771±0,0379	4,9697±0,0300
2,4,6-trimetil benzoik asit	3,4042±0,0753	3,5500±0,0854	3,9716±0,0407	4,3320±0,0397

pHAB ile hesaplanan verilere göre programda pH-absorbans ve pH- absorbans-titrasyon sonucu oluşan iyon türünün % bileşimi grafikleri otomatik olarak çizilmektedir. Ayrıca bu hesaplama sırasında istenilen pH da ortamda oluşan iyon türü ve iyonlaşan türün % bileşimleri de görülmektedir.



4.3.1. Su Ortamı

Benzoik Asit

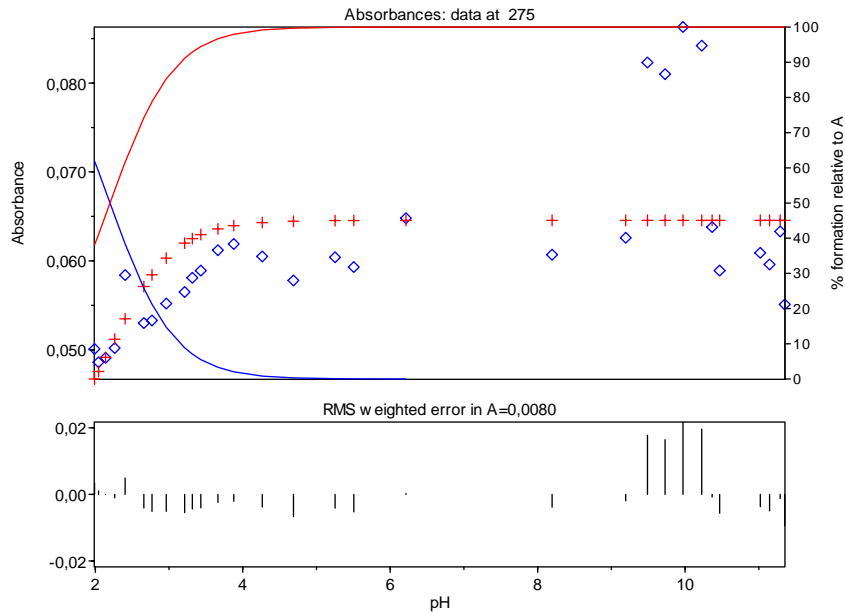


Şekil 4.9. Su ortamında pH-absorbans grafiği

* : Titrasyon sırasında ortamda oluşan iyon türü

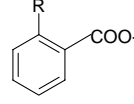
* : Ortamda iyonlaşan tür

-:pH



Şekil 4.10. Su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği

pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafikleri incelendiğinde titrasyonun ilk anında ortamda iyonlaşan tür olarak bulunan benzoik asit ve türevleri (AH) maksimum miktardadır. Titrasyon esnasında eklenen çok az miktardaki NaOH bazı



sayesinde deneysel aşamanın sonuna doğru (A^-) türünün miktarı ilk aşamaya göre artmaktadır. Her bir bileşik için ilk pH daki (asidik bölgedeki) AH türü \sim % 96,00 , A^- türü \sim % 4,00 ; son pH daki (bazik bölgedeki) AH türü \sim % 0,00 , A^- türü \sim % 100,00 dür.

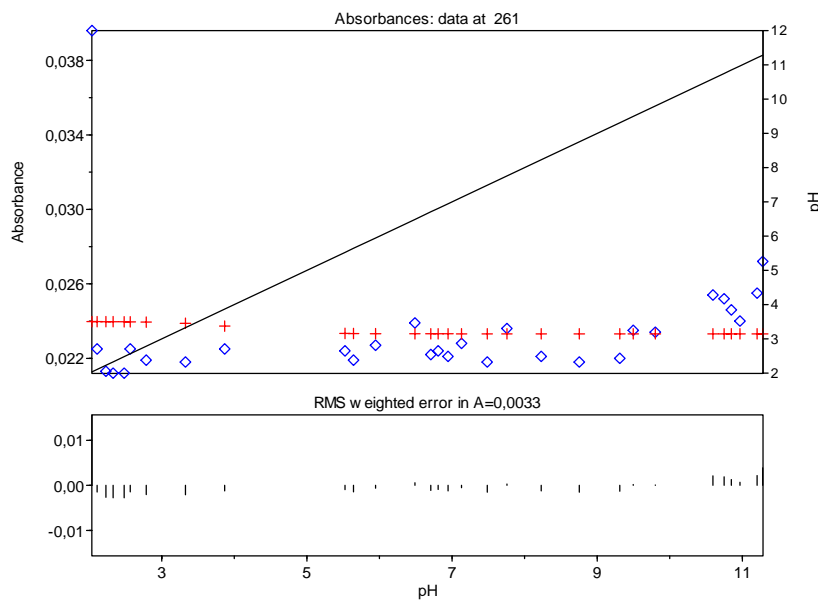
Kullanılan pHAB programı ile hesaplama sonrası yukarıdaki gibi oluşturulan grafikler üzerinde istenilen pH da ne kadar AH ve A^- türü madde olduğu okunabilir.

4-Nitrobenzoik Asit için pH=6,05 de A^- miktarı %99,883 iken AH miktarı %0,117 dir.

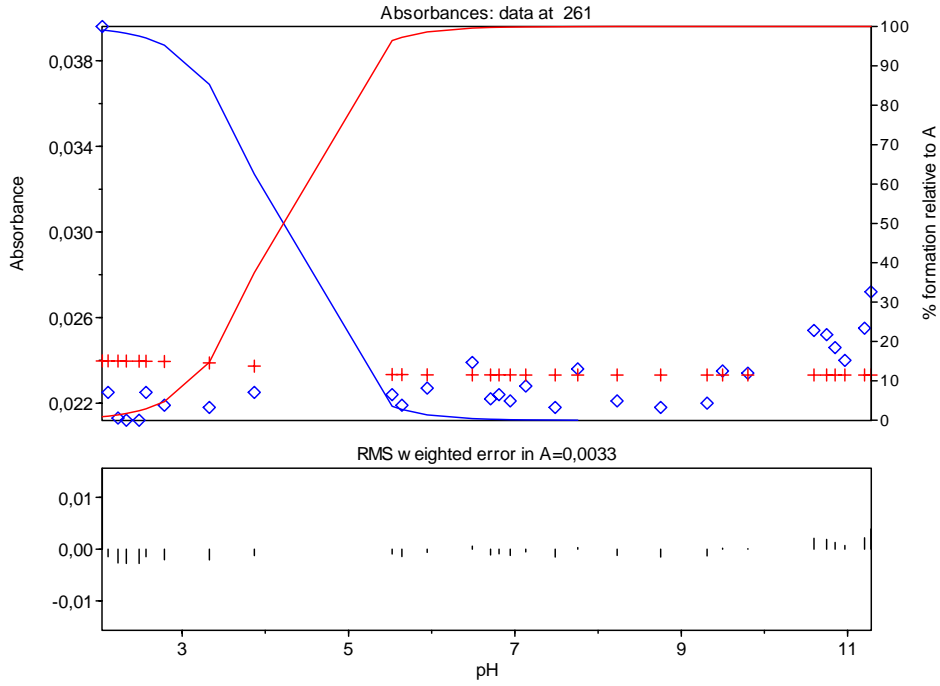
2,4-Dinitrobenzoik asit için pH=5,93 de A^- miktarı %99,988 iken AH miktarı %0,012 dir.

4.3.2. %10 ACN-Su Ortamı

Benzoik Asit



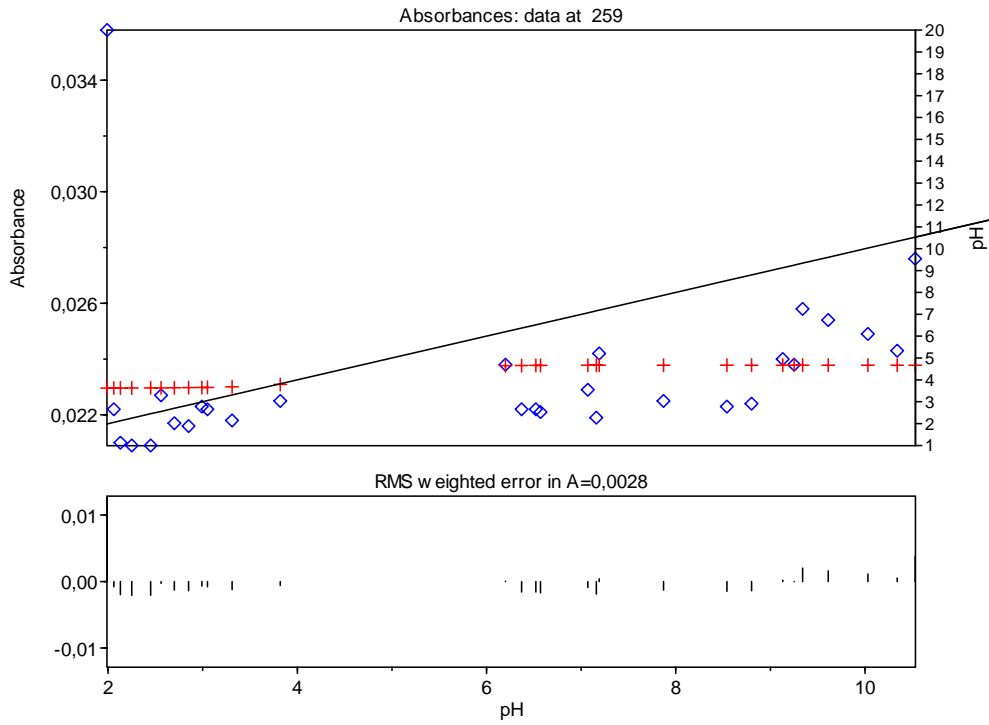
Şekil 4.11. %10 ACN-su ortamında pH-absorbans grafiği



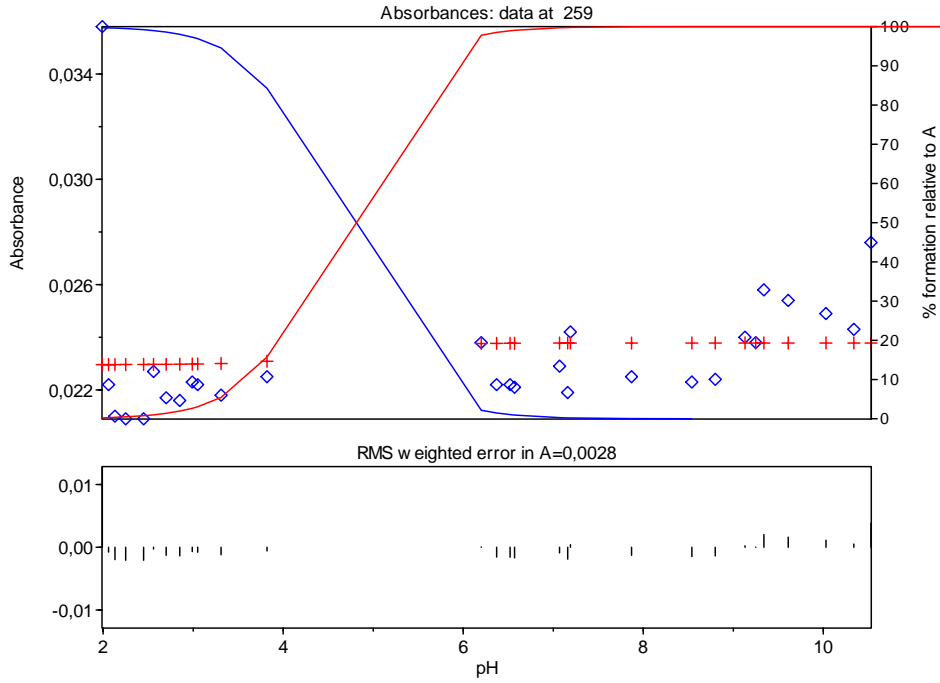
Şekil 4.12. %10 ACN-su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği

4.3.3. %20 ACN-Su Ortamı

Benzoik Asit



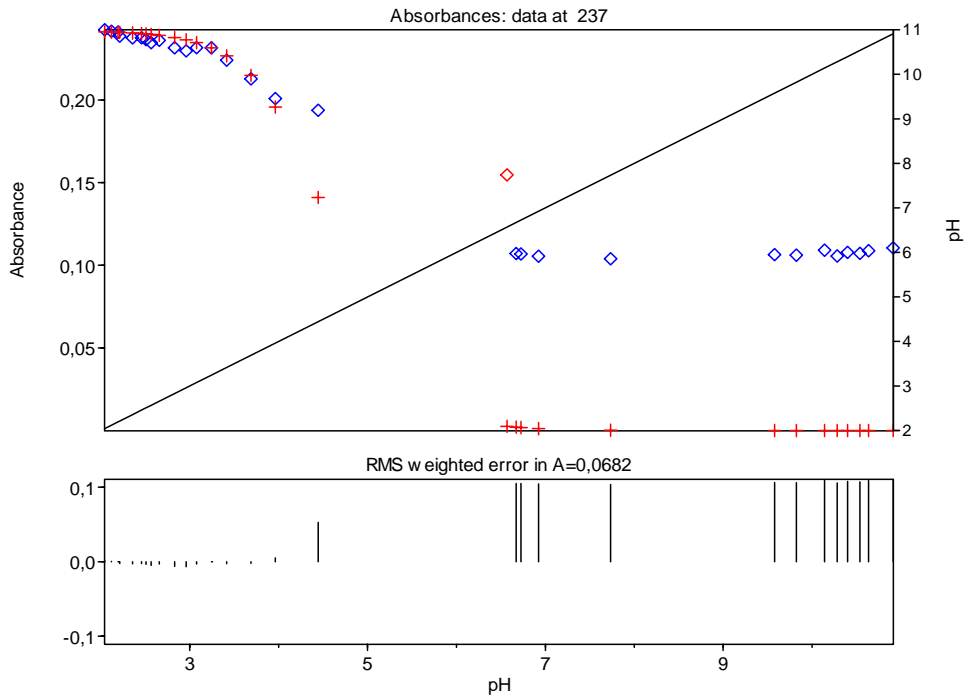
Şekil 4.13. %20 ACN-su ortamında pH-absorbans grafiği



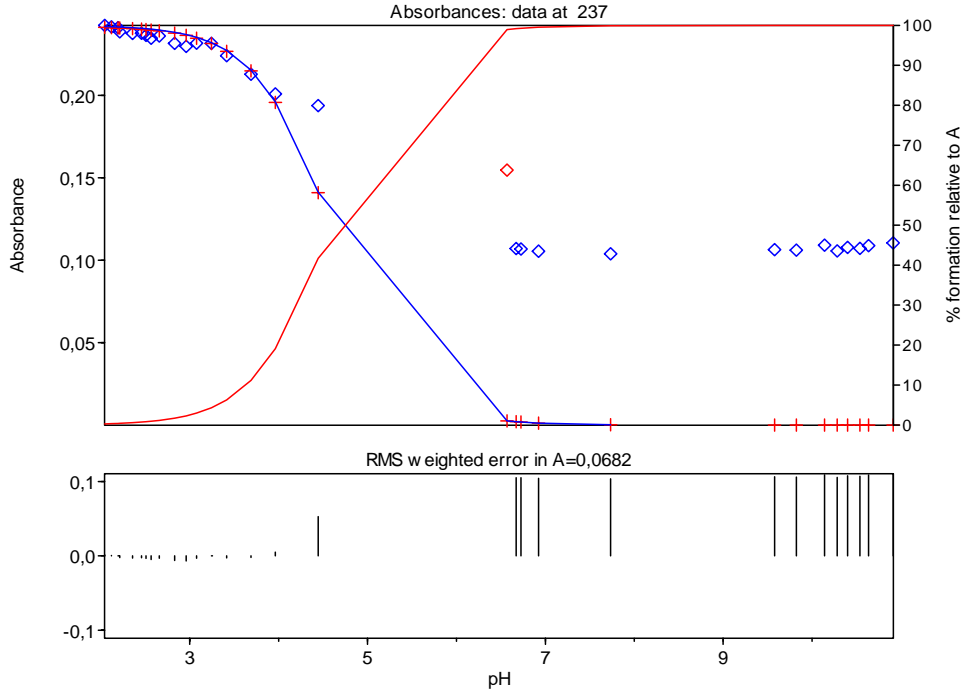
Şekil 4.14. %20 ACN-su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği

4.3.4. %30 ACN-Su Ortamı

Benzoik Asit



Şekil 4.15. %30 ACN-su ortamında pH-absorbans grafiği



Şekil 4.16. %30 ACN–su ortamında pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiği

Grafikler incelendiğinde, 4 ortamda da pH – Absorbans grafiklerinde pH'nın asidik bölgeden bazik bölgeye doğru artışı söz konusudur. pH- absorbans-% oluşan iyon türünün grafiklerinde ise her bir ortamda titrasyon sırasında ortamda oluşan iyon türü ve ortamda iyon oluşturan türün % miktarları görülmektedir. Grafikler incelendiğinde başlangıçta AH miktarı % 100 iken eklenen NaOH bazı etkisiyle protonunu vermekte ve anyon oluşturmaktadır. Oluşan anyon miktarı titrasyonun sonunda % 100'e ulaşmaktadır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada benzoik asit ve benzoik asit bileşiklerinin iyonlaşma sabitleri spektrofotometrik yolla tayin edilmiştir.

İyonlaşma sabitleri, pK_a , bileşiklerin en önemli fizikokimyasal özelliğidir ve bileşiğin iyonlaşma özelliğini belirleyen temel parametredir. Bu parametrenin bilinmesi herhangi bir bileşik ile çalışmalara başlamadan önce takip edilecek deneysel yolu tayin etmek için gerekmektedir.

Benzoik asit ve türevlendirilmiş benzoik asit bileşiklerinin literatürlerde sadece su ortamındaki pK_a değerleri verilmiştir. Ama %10 , %20 , %30 ACN – Su ortamlarındaki değerleri şu ana kadar belirlenmemiştir. Literatürlere katkı amacıyla bu çalışmada farklı çözücü ortamlarındaki pK_a değerleri belirlenmiştir.

Çalışmada ilk olarak elektrot kalibrasyonu yapılmıştır. Kalibrasyon sonucunda değerler incelenirken Gran fonksiyonu temel alınmıştır. Böylece standart elektrot potansiyeli olan E° değeri hesaplanmıştır. Hesaplanan E° değerleri, daha sonraki aşamalarda mV olarak ölçülen değerlerin pH ya çevrilmesinde kullanılmıştır. Yapılan kalibrasyonun doğruluğunun yeterli olup olmadığı kalibrasyon işlemi sonrasında regresyon yöntemi ile korelasyon katsayısı hesaplanarak incelenmiştir. Kalibrasyon grafiği çizilmiş ve pozitif korelasyon meydana geldiği gözlenmiştir. Pozitif korelasyonda, korelasyon katsayısı olan R değeri $0 < R \leq 1$ arasında olmalıdır. Hesaplanan R değerleri hepsinde de $R \leq 1$ dir. Bu nedenle yapılan kalibrasyonlar yeterli görülmüştür.

Kalibrasyon sonrasında, kalibrasyon çözeltisi üzerine standart numune çözeltisinden 2 mL eklenerek titrasyona başlanmıştır. İlk başta hep 200-900 nm arası taranmış, daha sonra hangi dalga boyu aralığında spektrum verdiğine bakılmıştır. Bu işlem sonrasında en uygun dalga boyu aralığı alınarak ilk spektrum alınmıştır. Bu çalışmada yer alan bütün maddelerin ilk spektrumları hep NaOH eklenmeden alınmıştır. Böylelikle 2. spektrum alınırken 1. spektrum üzerinden karşılaştırma yapılmıştır. NaOH in eklenen miktarı bir kapiler ucu kadardır. Bu

nedenle eklenen baz miktarları , hacim artışına izin vermeyecek kadar az, numune pH sınırın ölçülebilir bir değişimine neden olacak derecede yeterli miktardadır. Böylelikle pH değerleri 1,0 – 12,0 arasında 30 noktada değiştirilmiştir. Deneyin ilk aşamalarında daha derişik NaOH eklenirken , orta aşamalarına doğru ~ 5 kat daha seyreltilmiş NaOH eklenmiştir. Dönüm noktasını aştıktan sonra tekrar derişik NaOH eklenmiştir. Dönüm noktasına yaklaşıldığına, okunan mV değerlerinin daha hızlı değişim göstermesi ile ve okunan spektrumların isosbestik noktaya yaklaşımı ile karar verilir. Spektrumlara bakıldığında dönüm noktasına kadar birbirine çok yakın yerlerde spektrumlar elde edilmiştir. Ama dönüm noktasına yaklaşıldığında eklenen baz ile artık pH nın nötral bölgede yer almasından dolayı, spektrumda sıçrama oluşur. Dönüm noktası sonrasında ise isosbestik nokta sonrası yine birbirine yakın spektrumlar oluşur.

Gerek kalibrasyon gerekse spektrofotometrik ölçümler sırasında sıcaklık hep $25\pm 0,1$ °C de tutulmuştur. Çünkü artan sıcaklık ile daha fazla çözünüp ortamda daha fazla iyon oluşabilirdi. Bu nedenle sıcaklık hep $25\pm 0,1$ °C de tutulmuştur. Çalışmada sadece bazın etkisi incelenmiştir.

Bu çalışma sırasında 4 ayrı ortamda deneyler yapılmıştır. Farklı ortamlarda çalışmadaki amaç 14 bileşiğin bu ortamlarda nasıl iyonlaştıklarını incelemektir.

İlk olarak su, çözücü olarak alınmıştır. Bir çözücü, reaksiyona girecek maddeleri çözen ve çarpışan taneciklerin reaksiyona girmelerini kolaylaştıran bir ortamdır. Her maddeyi çözecek çözücüye, universal çözücü denir. Su, universal olmaya en uygun çözücüdür. Ancak suyun çözücü olarak en büyük eksikliği, organik maddelerin büyük çoğunluğunu çözememesidir. Organik maddelerin özelliklerinin tam olarak araştırılması için uygun bir çözücüde çözünmeleri gerekir. Su – organik çözücü karışımları, suda az çözünen veya hiç çözünmeyen bileşiklerin asitlik sabitlerinin tayininde kullanılır.

Su ortamındaki pKa değerlerine bakıldığında 14 tür için sonuçlar hep diğer ortamlara bakıldığında minimum değerdedir. Suda bileşikler daha asidiktir, pKa

değeri azaldıkça asitlik artar. Çünkü suyun dielektrik sabiti ($\epsilon : 78$), asetonitrile göre daha yüksektir ve iyonlaşma suda daha fazla meydana gelmektedir.

Asetonitril – su çözücü karışımları, su dışında kullanılan çözücülerdendir. Asetonitril, düşük dielektrik sabitine ve düşük iyonlaşma değerine sahiptir. Ayrıca geniş bir potansiyel çalışma aralığı vardır. ACN – su karışımlarından %10, %20, %30 luk karışımlar kullanılmıştır.

%10 dan %30 a gidildikçe pKa değerlerindeki artma ortamda artan asetonitril miktarı sayesinde çözünmenin daha yavaş olmasından kaynaklanır. Bileşik ortamda daha az çözünürse iyonlaşma daha az olur. Böylece eklenen NaOH miktarı ile reaksiyona giren H^+ miktarı da azalır ve böylece pKa değerlerinde de artma gözlenir.

İncelenen 14 bileşikten 13 ü elektron verici ve elektron alıcı farklı gruplar içerir. Bu tür benzoik asitlere türevlendirilmiş benzoik asitler denir. Bu benzoik asitler şu grupları içerirler.

- 1) Nitro grubu içerenler
- 2) Halojen grubu içerenler
- 3) Hidroksil grubu içerenler
- 4) Alkil grubu içerenler

Asetonitril – su karışımının etkisi hepsinde de su ortamından %30 luk ortama doğru artan iyonlaşma sabitleri ile gözlenmektedir. Ayrıca bileşikler içerdikleri grupların farklı pozisyonlara bağlanması ile de değişik pKa değerlerine sahip olurlar.

Aynı çözücü ortamında, benzoik asitlerde asitlik incelenirken yapıda yer alan aromatik halkanın rezonansının asitlik gücüne etkisi yoktur. Çünkü karboksilat oksijenleri aromatik halkaya doğrudan bağlı değildirler ve titrasyon esnasında oluşan benzoat iyonunun negatif yükünün delokalizasyonuna etki etmezler.

Çünkü benzoat iyonunda negatif yük, iki elektronegatif oksijen atomuna eşit olarak dağılmıştır. Benzen halkası rezonansa katılmadığından, halka üzerindeki substituentler asitlik üzerine daha çok indüktif yolla (σ – bağları boyunca \bar{e} çekilmesi) etkilerler. Karboksil grubuna yakın konumdaki elektronegatif grupları, asitin kararlılığını azaltarak ve anyonun kararlılığını arttırarak , asitlik kuvvetini arttırırlar.

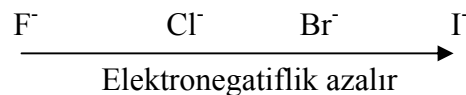
Nitro grubu elektron çekici bir gruptur. İndüktif etki ile $-\text{CO}_2\text{H}$ grubuna en yakın bulunduğu konum ile en uzak bağlı bulunduğu konum arasında fark vardır. Orto pozisyonuna bağlı olan 2 - nitrobenzoik asit (o-nitrobenzoik asit) ile para pozisyonuna bağlı olan 4 - nitrobenzoik asit (p-nitrobenzoik asit) arasında p – pozisyonunda pKa değeri daha fazladır. Benzoik asitlerde orto – etkisi nedeniyle orto- pozisyonda asitlik fazladır.. Yapıda elektron çekici bir grubun olması asitlik kuvvetini arttırır. Bu nedenle 2 - nitrobenzoik asit daha asidiktir.

Halojen grubu içeren benzoik asitlerde ise, halojen grubu elektron çekici bir gruptur. Brom içeren 2 tür bileşik vardır:

3 - Bromobenzoik asit (m – bromobenzoikasit)

4 - Bromobenzoik asit (p – bromobenzoikasit)

4- Bromobenzoik asit yapısında brom p- pozisyonundadır ve asitlik gücü daha azdır. Br^- ve Cl^- grubu içeren benzoik asitlere bakıldığında ise, iki halojen arasında fark vardır. Brom ve klor arasında, elektronegatiflik farkı vardır. Elektronegatifliği fazla olan atom, bağ elektronlarını, az olandan daha çok çeker. Negatif yükü taşıyan atomun çok elektronegatif olması, anyonu daha kararlı kılar.

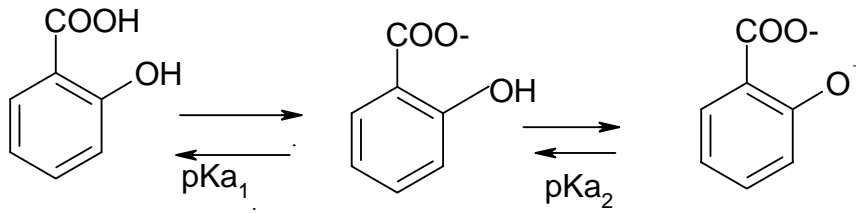


Hidroksil grubu içerenler ise iki tanedir.

2 – Hidroksibenzoik asit (m – Hidroksibenzoik asit)

4 – Hidroksibenzoik asit (p – Hidroksibenzoik asit)

2 – Hidroksibenzoik asit , 4 – Hidroksibenzoik asit e göre daha fazla asidiktir. Hidroksil grubu, elektron salıcı bir gruptur. Halkaya o- , p- pozisyonunda bağlandıklarında halkanın etkinliğini arttırmırlar. 4 – Hidroksibenzoik asit diğer türe göre daha asidiktir. Bu bileşikler iki protonludur. Bu nedenle iki basamakta iyonlaşırlar ve iki farklı pKa değerine sahiptirler. Birinci pKa değeri fenolik yapıya göre daha kuvvetli olan karboksil grubu protonuna aittir. İkincisi ise fenolik yapıda yer alan protona aittir.



Alkil grubu içeren 2,4,6 – Trimetilbenzoik asit ile benzoik asit karşılaştırıldığında metil – grubu içeren 2,4,6 – Trimetilbenzoik asit daha az asidiktir. Çünkü metil grubu elektron salıcı bir gruptur ve halkanın etkinliğini azaltır. Bu nedenle pKa değeri benzoik aside göre daha düşüktür.

6. KAYNAKLAR

Allen, R.I., Box, K.J., Comer, J.E.A., Peake, C., Tam, K.Y., 1998. Multiwavelength spectrophotometric determination of acid dissociation constants of ionizable drugs, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 17, 699-712.

- Balderas-Hernández, P., Ramirez, M.T., Rojas-Hernández, A., Gutiérrez, A., 1998. Determination of pKa's for thymol blue in aqueous medium: evidence of dimer formation, *Talanta*, 46, 1439-1452.
- Barbosa, J., Barrón, D., Jiménez-Lozano, E., Sanz-Nebot, V., 2001. Comparison between capillary electrophoresis, liquid chromatography, potentiometric and spectrophotometric techniques for evaluation of pKa values of zwitterionic drugs in acetonitrile-water mixtures, *Analytica Chimica Acta*, 437, 309-321.
- Barrón, D., Barbosa, J., 2000. Acid-base behaviour of substituted phenolic substances and resolution of acid strength in tetrahydrofuran, *Analytica Chimica Acta*, 403, 339-347.
- Beltrán, J.L., Sanli, N., Fonrodona, G., Barrón, D., Özkan, G., Barbosa, J., 2003. Spectrophotometric, potentiometric and chromatographic pKa values of polyphenolic acids in water and acetonitrile-water media, *Analytica Chimica Acta*, 484, 253-264.
- Čakar, M.M., Vasić, V.M., Petkovska, Lj.T., Stojić, D.Lj., Avramov-Ivić, M., Milovanović, G.A., 1999. Spectrophotometric and electrochemical study of protolytic equilibria of some oximes-acetylcholinesterase reactivators, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 20, 655-662.
- Carlsson, K., Karlberg, B., 2001. Micro-volume flow titration and screening the dissociation constants (pKa) of weak acids, *Analytica Chimica Acta*, 434, 149-156.
- Dean, A.J., 2003. *Analytical Chemistry Handbook*, Mc Graw Hill Companies Inc., Gravimetric and volumetric analysis, Section 3, pp:5-19.
- Dean, A.J., 2003. *Lange's Handbook of Chemistry*, Mc Graw Hill Companies Inc., Section 5, pp: 5-13.
- Demirelli, H., 2003. Yapılandırıcı öğretim teorisine dayalı laboratuvar aktivitesi: Elektrot kalibrasyonu ve Gran metodu, *G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, Cilt 23, Sayı 2, 161-170.
- Dyson, R.M., Kaderli, S., Lawrance, G.A., Maeder, M., Zuberbühler, A.D., 1997. Second order global analysis: the evaluation of series of spectrophotometric titrations for improved determination equilibrium constants, *Analytica Chimica Acta*, 353, 381-393.
- Espinosa, S., Bosch, E., Rosés, M., 2002. Retention of ionizable Compounds in high-performance liquid chromatography: 14. Acid-base pK values in acetonitrile-water mobile phases, *Journal of Chromatography*, 964, 55-66.
- Evangelou, V., Tsantili-Kakoulidou, A., Koupparis, M., 2003. Determination of the

dissociation constants of the cephalosporins cefepime and cefpirome using UV spectrometry and pH potentiometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 31, 1119-1128.

- Fessenden, R.J., Fessenden, J.S., 1990. *Organic Chemistry*, Brooks/Cole Companies, Fourth Edition, California, pp:82-84,100.
- Gans, P., Sabatini, A., Vacca, A., 1999. Determination of equilibrium constants from spectrophotometric data obtained from solutions of known pH: The program pHab, *Annali di Chimica*, 89, by Società Chimica Italiana.
- Jano, I., Hardcastle, J.E., 1999. General equation for determining the dissociation constants of polyprotic acids and bases from additive properties. Part I. Theory, *Analytica Chimica Acta*, 390, 261-266.
- Jano, I., Hardcastle, J.E., 1999. General equation for determining the dissociation constants of polyprotic acids and bases from additive properties. Part II. Applications, *Analytica Chimica Acta*, 390, 267-274.
- Levie, R., 1997. *Principles of Quantitative Analysis*, Mc Graw Hill Companies Inc., pp: 492-497.
- Lide, D.R., 2002. *Handbook of Chemistry and Physics*, 83RD Edition, pp:8-35.
- Lubal, P., Fetsch, D., Široky, D., Lubalová, M., Šenkýr, J., Havel, J., 2000. Potentiometric and spectroscopic study of uranyl complexation with humic acids, *Talanta*, 51, 977-991.
- Mitchell, R.C., Salter, C.J., Tam, K.Y., 1999. Multiwavelength spectrophotometric determination of acid dissociation constants Part III. Resolution of multiprotic ionization systems, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 20, 289-295.
- Philipova, T., Ivanova, C., Kamdzhilov, Y., Molina, M.T., 2002. Deprotonation and protonation studies of some substituted 1,4- and 9,10-anthraquinones, *Dyes and Pigments*, 53, 219-227.
- Pine, H.S., 1987. *Organic Chemistry*, Mc Graw Hill Companies Inc., Fifth Edition, New York, pp: 667-675.
- Roman, L., Mirel, S., Florean, E., Oprean, R., 1998. The potentiometric and spectrophotometric determination of dissociation constants for some 2-mercapto-5-R-amino-1,3,4-thiazole derivatives, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18, 137-144.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, H.J., 1999. Analytical Chemistry, Sixth Edition, Saunders College Publishing, America, pp: 141-142.

Solomons, T.W.G., 1984. Organic Chemistry, John Wiley & Sons. Inc., pp:814.

Tam, K.Y., Takács-Novák, K., 2001. Multi-wavelength spectrophotometric determination of acid dissociation constants: a validation study, Analytica Chimica Acta, 434, 151-167.

Wróbel, R., Chmurzyński, L., 2000. Potentiometric pKa determination of standart substances in binary solvent systems, Analytica Chimica Acta, 405, 303-308.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Güzide Pekcan

Doğum Yeri : Isparta

Doğum Yılı : 1980

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1994-1998 : Isparta Gazi Lisesi

Lisans 1998-2002 : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya
Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce