

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DEĞERLENDİRME MERKEZİ**

ÇİNKO TAYİNİ İÇİN SPEKTROFLUORİMETRİK METOT  
GELİŞTİRİLMESİ

Rauf BİLGİÇ

KİMYA ANABİLİM DALI


104472


104472


ANKARA  
2001


Her hakkı saklıdır


Doç.Dr. Adnan KENAR danışmanlığında ve Doç.Dr. Orhan ÇAKIRER eş danışmanlığında, Rauf BİLGİÇ tarafından hazırlanan bu çalışma 01/06/2001 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Esmâ KILIÇ İmza : 

Üye : Prof.Dr. Orhan ATAKOL İmza : 

Üye : Doç.Dr. Adnan KENAR İmza : 

Üye : Doç.Dr. Kadir PEKMEZ İmza : 

Üye : Doç.Dr. Orhan ÇAKIRER İmza : 

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof.Dr. Esmâ KILIÇ**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ÇİNKO TAYİNİ İÇİN SPEKTROFLUORİMETRİK METOT GELİŞTİRİLMESİ

Rauf BİLGİÇ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Adnan KENAR  
Eş-Danışman : Doç. Dr. Orhan ÇAKIRER

Bu çalışma, bazı Schiff bazlarının çinko ile verdiği komplekslerin spektrofotometrik olarak incelenmesini ve çinkonun fluorimetrik tayininde kullanılabilirliğinin araştırılmasına dayanmaktadır. Çalışmada çinkonun, Schiff bazları ile verdiği komplekslerin floresans özellik taşımasından yararlanılarak, kantitatif çinko tayininin mümkün olup olmayacağı araştırılmıştır.

Standart olarak hazırlanan çinko(II) klorür çözeltisi ile N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve türevleri kullanılarak Schiff bazlı çinko(II) kompleksleri oluşturularak fluorimetrik tayin için optimum şartlar belirlenmiştir. Optimum şartlar elde edildikten sonra, standart çinko(II) örnekleri kullanılarak karşılaştırmalı tayinler yapılmıştır. Sonuçta çinko(II) iyonun bu bileşikler yardımıyla spektrofotometrik olarak tayin edilebileceği anlaşılmıştır. Ayrıca önerilen böyle bir tayin metodu ile, ortamda bulunabilen bazı katyonların bozucu etkileri ve çinko(II) iyonun alt tayin sınırı da araştırılmıştır.

**2001, 61 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** Çinko tayini, Schiff bazı, Ligand, gravimetri Spektrofotometrik metot.

## ABSTRACT

Master Thesis

### THE IMPROVEMENT OF SPECTROFLUORIMETRIC METHOD FOR ZINC DETERMINATION

Rauf BİLGİÇ

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor : Assos. Prof. Dr. Adnan KENAR  
Co-Supervisor: Assos. Prof. Dr. Orhan ÇAKIRER

This study is based on a spectrofluorimetric analysis of complexes resulting from reaction of some Schiff bases with zinc and on examination of the usability of zinc in the fluorimetric analysis of zinc. In this study, the possibility of quantitative Zinc analysis is investigated with the use of fluorescence bearing complexes that are driven out of the interaction between zinc and Schiff bases.

Standardly prepared zinc(II) chlorine solution and Schiff bases which are N,N'-bis-salicydene-1,3-propanediamine and its derivatives are used to produce zinc(II) complexes. The conditions in which these complexes display maximum fluorescence properties are determined. After these optimum conditions are determined, comparative analysis are carried out by using standard zinc(II) samples and it is understood that the zinc(II) ion can be determined spectrofluorimetrically with the help of these standard samples. Besides, the effects of interference's from other metal ions in a experimental conditions and the detection limit of zinc(II) ion are investigated using proposed method.

**2001, 61 pages**

**Key Words :** Zinc determination, Schiff base, Ligand, Gravimetry, Spectrofluorimetric method.

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Eser element analizleri için spektrofluorimetrik yöntem geliştirilebilmesi amacıyla; Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü tarafından 98-05-04-01 no'lu proje kapsamında desteklenen bu proje, çinko(II) iyonun fluorimetrik olarak tayininin araştırılmasına dayanmaktadır.

Bana araştırma olanağını sağlayan ve yüksek lisans çalışmamın her safhasında her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm, tez çalışmalarımın danışmanlığını yürüten değerli hocam Sayın Doç.Dr. Adnan KENAR ve eş danışmanım Sayın Doç.Dr. Orhan ÇAKIRER'e, yardımseverlikleri, bilgi ve tecrübeleri ile beni aydınlatan Sayın Prof.Dr. Esma KILIÇ'a, Sayın Prof. Dr. Orhan ATAKOL'a, Sayın Yrd.Doç.Dr. Mustafa TAŞTEKİN'e ve Analitik Kimya anabilim dalı araştırma elemanlarına ayrıca, gösterdiği sabır ve anlayışından ötürü sevgili eşim Makbule BİLGİÇ'e en içten duygularla teşekkürlerimi sunarım.

Rauf BİLGİÇ  
Ankara, Haziran 2001

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER</b> .....	3
2.1. Floresans ve Floresans Spektroskopisi.....	3
2.2. Floresans Türleri.....	7
2.3. Fluorimetrik Yöntemler.....	11
2.4. Schiff Bazları ve Özellikleri.....	20
2.5. Çinko Tayin Yöntemleri.....	27
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	36
3.1. Kullanılan Schiff Bazları .....	36
3.1. Kullanılan Schiff Bazları .....	37
3.3. Standart Referans Maddeler.....	38
3.4. Kullanılan Cihazlar.....	40
<b>4. DENEYSEL ÇALIŞMA</b> .....	41
4.1. Stok Çözeltilerde Çinko(II)'nin Gravimetrik Tayini.....	42
4.2. Çinko(II)'nin Fluorimetrik Tayini İçin Uygun Schiff Bazı Seçimi.....	43
4.3. Çinko(II)-Schiff Bazı Kompleksi Tayini İçin En Uygun Şartlar.....	45
4.4. Çinko(II) nin Fluorimetrik Tayini İçin Kalibrasyon Grafiği.....	48
4.5. Çözeltilerde Çinko(II) Tayini .....	49
4.6. Standart Numune Analizleri .....	50
4.7. Bozucu Etkilerinin İncelenmesi.....	51
4.8. Tayin Alt Sınırının Belirlenmesi.....	52
<b>5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA</b> .....	53
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER DİZİNİ

$I_a$	Absorplanan Işın
Å	Angström
E	Enerji Seviyeleri
$\lambda$	Dalga Boyu
$I_o$	Gelen Işın Demeti Şiddeti
I	Geçen Işın Şiddeti
$\Phi_F$	Kuantum Verimi
c	Konsantrasyon
mL	Mililitre
ppm	Milyonda Bir Kısım
ppb	Milyarda Bir Kısım
$\epsilon$	Molar Absorptivite
M	Molarite
s	Saniye

### KISALTMALAR DİZİNİ

A	Absorpsiyon
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AES	Atomik Emisyon Spektroskopisi
BPKPH	Benzil 2-piridil keton 2-piridil hidrazon
DMF	Dimetil formamid
DPMTH	1,5-bis(2,3-dihidroksi fenil metilen) tiyokarbohidrazon
ESCA	X-Işınları Elektron Spektroskopisi
ETAAS	Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
EtOH	Etil Alkol
F	Fluoresans
FKV	Fluoresans (fotoluminesans) Kuantum Verimi
$I_F$	Fluoresans Şiddeti
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
ICP	İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma spektroskopisi
L	Ligand
MeOH	Metanol
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
3-OHPAT-3	Hidroksipiridin aldehit tiyosemikarbazon
3-OHPAA-3	Hidroksi piridin aldehit azin
PAA	Fenil Asetaldehit
PADAP	Piridil azo bileşikleri
PAN	Piridil Azo Naftol
PAR	Piridil Azorezorsinol

SATCH	Salisil tiyokarbohidrazon
S	Temel Singlet Hal
S*	Uyarılmış Singlet Hal
T	Temel Triplet Hal
T*	Uyarılmış Triplet Hal
UV	Morötesi Işın
XRF	X-Işınları Floresans Spektroskopisi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Bir moleküldeki ışımali ve ışımasız geçişler.....	7	
Şekil 2.2.	Bir molekülün floresans bantları.....	8	
Şekil 2.3.	Kinin sülfatın 0,2 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> özeltisindeki floresans spektrumu.....	10	
Şekil 2.4.	Absorbans ile floresans arasındaki fark (A: absorpsiyon F: floresans).....	11	
Şekil 2.5.	LS-50B model spektrofluorimetre şeması.....	12	
Şekil 2.6.	Floren ve Bifenilin molekül yapıları.....	16	
Şekil 2.7.	a. Floresans özellik göstermeyen 8-hidroksi kinolin b. Bis-(8-hidrosikinolinato)-inko(II).....	16	
Şekil 2.8.	Floresans şiddeti ile derişim arasındaki değişim.....	19	
Şekil 2.9.	N-(4-nitrofenil)-4-nitro-salisilaldemin Schiff bazı	21	
Şekil 2.10.	N-(4-dimetil amino benzil) salisilaldemin Schiff bazı.....	21	
Şekil 2.11.	N-fenilbenzaldemin Schiff bazı.....	22	
Şekil 2.12.	Dört dişli ligand inko (II) kompleksi.....	24	
Şekil 2.13.	2-(3-piridil metil imino metil) fenol.....	25	
Şekil 2.14.	1. 2-(2-piridil imino metil) fenol 2. N,N'-bis-(Salisiliden)-2,3-piridindiamin 3. N,N'-bis-(Salisiliden)-2,6-piridindiamin.....	25	
Şekil 2.15.	Ditizon molekülünün yapısı .....	28	
Şekil 2.16.	Piridilazonaftol(PAN) molekülünün yapısı.....	29	
Şekil 2.17.	pH=11,3, [Zn]=5x10 <sup>-6</sup> M ve [BPKPH]= 1x10 <sup>-6</sup> M şartlarında A, C düzeltilmemiş uyarılma spektrumları, B ve D ise düzeltilmiş emisyon spektrumları A ve B kompleksin, C ve D ise inko(II)'nin spektrumları.....	32	
Şekil 4.1.	N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazının floresans spektrumu.....	43	
Şekil 4.2.	N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazının floresans spektrumu.....	44	
Şekil 4.3.	a.0,2mL 10 <sup>-2</sup> M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin, b.0,2 mL 10 <sup>-2</sup> M N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazı ile 0,2 mL 10 ppm'lik inko(II) özeltisi ve 0,00 mL su + 1,6 mL MeOH içeren komplekslerin spektrumları.....	45	
Şekil 4.4.	Değişik oranlardaki su + MeOH karışımlarının 10 ppm'lik inko(II) ile 0,2 mL 10 <sup>-2</sup> M N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin komplekslerinin floresans spektrumları (1) 0,00 mL su + 1,6 mL MeOH, (2) 0,2 mL su + 1,4 mL MeOH ve (3,4,5,6,7,8,9) diğer oranlar.....	46	
Şekil 4.5.	10ppm'lik inko(II)'nin 0,2mL 10 <sup>-2</sup> M N,N'-bis-Salisiliden-1,3- propandiamin kompleksinin pH değişimine bağlı floresans şiddetleri... Şekil 4.6.	Stok inko(II) hazırlanan özellilerin derişimlerine karşı ölçülen floresans şiddetlere göre çizilen kalibrasyon grafiği.....	47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Etil alkol içinde benzenin fluoresans özelliğine sübstitüentlerin etkisi.....	14
Çizelge 2.2.	Emisyon dalga boyu ve fluoresans ışın şiddetine bazı sübstitüentlerin etkisi.....	15
Çizelge 3.1.	Zink technick III bileşimi.....	39
Çizelge 3.2.	Zinkoxyd IV bileşimi.....	39
Çizelge 3.3.	Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firma ve saflık dereceleri.....	40
Çizelge 4.1.	Stok olarak hazırlanan çinko klorür çözeltisindeki çinko(II)'nin gravimetrik yöntemle tayininden elde edilen sonuçlar.....	42
Çizelge 4.2.	10 ppm'lik Çinko(II)'nin N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin komplekslerinin fluoresans ölçümleri için karışım oranları.....	44
Çizelge 4.3.	Değişik oranlardaki su + MeOH karışımlarının 10ppm'lik Çinko(II)'nin N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin kompleksinin fluoresans şiddetlerine etkisini incelemek için hazırlanan çözeltiler.....	45
Çizelge 4.4.	En iyi pH aralığının tespiti amacıyla, değişik pH'larda karıştırılan ayarlı tampon çözeltiler ve diğer maddelerin karışım oranları.....	46
Çizelge 4.5.	10 ppm'lik çinko(II)'nin 0,2mL 10 <sup>-2</sup> M N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin kompleksinin pH'a bağlı çalışmaların sonuçları.....	47
Çizelge 4.6.	Stok çinko(II) çözeltisinin fluorimetrik tayin için hazırlanışı ve fluoresans şiddetleri.....	48
Çizelge 4.7.	Anma derişimi 7 ppm olan çözeltinin fluoresans şiddetleri ve şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden elde edilen düzeltilmiş derişimleri.....	49
Çizelge 4.8.	Anma derişimi 25 ppm olan çözeltinin fluoresans şiddetleri ve şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden elde edilen düzeltilmiş derişimleri.....	50
Çizelge 4.9.	Standart Numune Analizlerinin fluoresans şiddetleri ve düzeltilmiş derişim değerleri.....	50
Çizelge 4.10.	Değişik derişimlerdeki Çinko(II) çözeltisi ile değişik derişimlerdeki Cd(II), Cu(II), Pb(II) ve Ag(I) kanyonların karışımından elde edilen çözeltilerin pH=7'deki fluoresans şiddetleri.....	51
Çizelge 4.11.	0,3 mL amonyum asetat tamponu (pH=7), 2,1 mL MeOH, 0,3 mL 10 <sup>-2</sup> M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propan diamin Schiff bazı ve 0,3 mL idistile su kullanarak çinko(II)'nin tayin alt sınırının tespiti için yapılan fluorimetrik ölçümler ve Şekil 4.8'deki kalibrasyon grafiğinden yararlanarak düzeltilmiş derişim değerleri.....	52
Çizelge 5.1.	Çinko(II) çözeltisinin gravimetrik ve fluorimetrik derişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	54
Çizelge 5.2.	Standart Referans çözeltiler ile stok çözelti fluorimetrik analiz sonuçlarının karşılaştırılması.....	55
Çizelge 5.3.	Çinko(II)'nin fluorimetrik olarak tayininde bozucu bazı kanyonların etkisi.....	56
Çizelge 5.4.	Bir Tek Analiz için Tayin Alt Sınırı sonuçları.....	57

## 1. GİRİŞ

Enstrümental analiz yöntemlerinin gelişimine paralel olarak, değişik alanlarda ve değişik amaçlarla yapılan kimyasal araştırmaların sayısı gittikçe artan bir ivme göstermiştir. Bu alanlardan biri de eser element analizleridir. Derişimleri tayin sınırının altında olması nedeniyle klasik analiz yöntemleriyle nitel ve nicel analizleri yapılamayan eser elementlerle ilgili çalışmaların başlangıcı 1940'lı yıllara uzanır. 1960'lı yıllarda yoğunluk kazanan bu alandaki çalışmalar, (Reichert vd 1999) günümüzde de sürmekte ve çok önemli sonuçlara ulaşılmaktadır. Son yirmi yıldır eser elementlerle ilgili birçok süreli yayının varlığını sürdürebilmesi, konunun öneminin ve değişik alanları ilgilendirmesinin bir göstergesidir.

Literatür araştırmaları, eser element analizleriyle ilgili çalışmaların önemli bir kısmının organizmalardaki eser elementlerin tayin edilmesine ve çevre kirliliği araştırmalarına yönelik olduğunu göstermiştir. İnsan vücudunda çinkonun varlığı ilk olarak 1939 yılında belirlenmiştir. Çinkonun, karbonik anhidraz enziminin yapısında bulunduğu anlaşılmıştır. Daha sonraki araştırmalar diğer esansiyel eser elementlerin de canlılarda bulunduğunu belirlemiştir. Bu eser elementlerden Mo, Cu, Se ve Co, enstrümental analiz yöntemlerinin önemli gelişim gösterdiği 1947-1956 yıllardan sonra tespit edilmiştir. Bunların organizmalarda çok önemli işlevleri olduğu ise ancak 1960'lı yıllardan sonra anlaşılabilmiştir. Eser elementlerin organizmalardaki işlevleri üzerine çalışmalar günümüzde de bütün hızıyla sürmektedir. Klinik ve laboratuvarlarda yoğun olarak süren bu tür araştırmalar, 1980'li yıllardan sonra biyoinorganik kimya adı altında yeni bir çalışma alanının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Reichert vd 1999).

Eser elementlerle ilgili araştırmalar, bu elementlerin varlıklarının veya eksikliklerinin canlılarda bazı hastalıklara neden olduğunu; çeşitli alanlarda yaygınlaşan kullanımları dolayısıyla çevre kirliliği oluşturduklarını ve kirliliğin gittikçe tehlikeli boyutlara eriştiğini ortaya koymuştur. Örneğin, civanın minamoto sendromuna neden olduğu 1952'de açıklanabilmiş; Se eksikliğinin kalp yetmezliğine neden olduğu 1965-1966 yıllarında anlaşılabilmiştir. Çinko eksikliğinin ise, çocuklarda büyümenin durmasına neden olduğu 1960-1970 yılları arasında tespit edilmiştir. Böylece; bu yıllardan sonra çeşitli tedavi yöntemleri önerilebilmiştir (Atakol vd 1999).

Eser elementler arasında çinko, demirden sonra canlıların bünyesinde en çok bulunan elementtir. Yaklaşık 60 kg'lık bir insanda 0,5-2,0 g arasında

çinko bulunur. Çinko elementi, mikro organizmalar, bitkiler ve hayvanların gelişiminde; protein ve nükleik asit metabolizmalarında, özellikle DNA ve RNA'nın sentezlenmesinde önemli rol oynar (Garcia vd 1986). Çinko eksikliği, zeka geriliğine, yeterince gelişememeye, yaraların iyileşmemesine, saç dökülmesine ve daha birçok komplikasyona neden olur. Bu yüzden dünyanın bir çok yerindeki sağlık kurumları, çinko ile ilgili araştırma birimleri ve çinko ilaçları üretim merkezlerini faaliyete geçirmişlerdir.

Vücuttaki önemli işlevi dolayısıyla günümüzde birçok diyet bileşimine çinko takviyeleri yapılmaktadır. Ancak; çinkonun canlı bünyesine nasıl alındığı ve nerede depolandığı konusunda halen kesin veriler bulunmamaktadır. Araştırmalar; çinkonun vücutta belli değerin üzerinde olması durumunda toksik etki yaptığını da ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, çinkolu atıklar çevre kirliliğine sebep olmaktadır (Atakol vd 1999).

Yukarıda verilen kısa açıklamalar bile, söz konusu eser elementlerin nitel ve nicel analizlerinin doğru, hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılabilmesinin önemini açıkça ortaya koymaktadır. Ancak; bu eser elementlerden çinko tayini, duyarlı analitik yöntemlerin birçoğu ile mümkün olmayan elementlerden biridir.  $d^{10}$  elektronik yapısına sahip olması dolayısıyla, UV-görünür alan spektroskopisi çinko analizi için çok yararlı sonuçlar vermemektedir.  $^{67}\text{Zn}$  izotopunun bağlı oranının azlığından dolayı, NMR yöntemi de çinko tayini için kullanılamaz. Çinkonun atomik spektroskopi dallarından ICP'de gözlenebilme sınırı 2 ppm olup, oldukça yüksektir. Yalnızca ETAAS yönteminde 0,002 ppm seviyesinde gözlenebilme sınırına sahiptir. Yani; eser çinko analizlerinde güvenilir tayin yöntemi olarak yalnızca ETAAS yönteminin kullanılabilir olduğu söylenebilir (Atakol vd 1999).

Eser element analizlerinin önemi, bunların tayininde kullanılan güvenilir yöntemlerin sayısının sınırlı olması, fluorimetrik yöntemlerin son yıllarda eser element analizlerinde oldukça yaygın olarak kullanılması ve metal komplekslerinin floresans özelliği göstermesi düşüncelerinden hareketle, bu çalışmada eser çinko tayini için yeni bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; ilk olarak iki farklı Schiff bazı sentezlenmiş ve bu Schiff bazlarının  $\text{Zn(II)}$  kompleksleri hazırlanmıştır. Daha sonra, hazırlanan komplekslerin floresans özellikleri incelenmiştir. Son olarak; bu komplekslerin floresans özelliklerinin analitik amaçlı çinko tayininde kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır. Önerilen yöntemin doğruluk ve güvenilirliği çeşitli yöntemlerle test edilmiştir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

Bu bölümde sırasıyla; spektroskopik yöntemlerin kuramsal esasları, spektrofotometrik yöntem ve uygulamalara ilişkin bazı temel bilgiler, Schiff bazları, çinko tayin yöntemleri ve Schiff bazı-metal komplekslerine ilişkin kaynak araştırmalarına yer verilmiştir.

### 2.1. Floresans ve Floresans Spektroskopisi

Bir atom veya molekülün en kararlı durumu, elektronlarının en düşük enerjili orbitallerde bulunduğu durumdur. Bu durum, atomun veya molekülün temel enerji düzeyini veya temel halini oluşturur. Bir kaynaktan uygun miktar enerji aldığı anda elektronlar daha yüksek enerjili düzeylere geçerler. Bu suretle atom veya molekül uyarılmış hale geçer. Atom veya molekülün sadece en yüksek enerjili dolu orbitali ve en düşük enerjili boş orbitali dikkate alındığında, temel ve uyarılmış hallerdeki elektron dizilişleri;



şeklinde gösterilebilir. Uyarılmış durumdaki bir atom veya molekül kararsızdır. Fazla enerjisini kaybederek, kararlı hale gelmek ister. Bu enerjiyi çeşitli yollarla verir. Uyarılmış atom veya moleküldeki elektron temel enerji düzeyine dönerken, fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık şeklinde verebilir. Gözlenen bu ışık yayılması (emisyon) olayına genel olarak **lüminesans** denir. Yayılan fazla enerjinin tümü ışık şeklinde ise, yayılan ışığın enerjisi, uyarılmış ve temel hal enerji düzeyleri arasındaki enerji farkına eşittir.

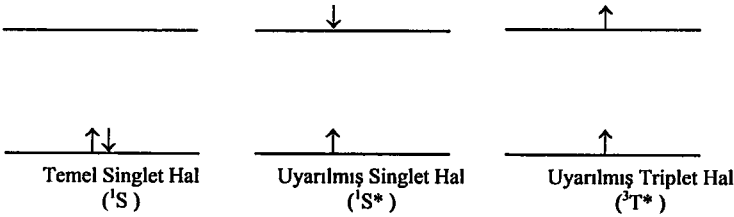
Lüminesans olayına dayanan analitik yöntem, bilinen en eski yöntemlerden biri olup, günümüzde kimya dışında ziraat, tıp, biyoloji, eczacılık gibi bir çok alanda geniş kullanımı vardır. Literatürde, bu alanlardaki maddelerin lüminesans özelliklerinin değişik amaçlarla incelendiği çok sayıda çalışma yer almaktadır.

Lüminesans teknikleri, genellikle lüminesans özelliği gösteren maddenin uyarılış şekli ve kullanılan enerji kaynağına göre adlandırılır ve sınıflandırılır.

lır. Uyarılma olayı, atom veya moleküllerin fotonları absorplaması sonucu gerçekleşiyorsa, gözlenen ışık emisyonuna **fotoluminesans** denir. Molekülün primer uyarılması için gereken enerjiyi bir kimyasal tepkime veriyorsa, olaya **kemilüminesans**; bazı organizmalardan bu enerji karşılanıyorsa **bioluminesans**; bir elektrot tepkimesinden enerji sağlanıyorsa **elektrokemilüminesans**; sistem ısıtılarak lüminesans gözleniyorsa, **termoluminesans** adları verilir (Guilbault 1983).

Birçok madde lüminesans özelliği gösterir. Yani; birçok madde, absorpladığı ışını aynı veya daha uzun dalga boyunda ışın olarak geri verir. Bu ışınlar, fluoresans ve fosforesans olmak üzere ikiye ayrılır. Işığın absorplanması sonucu uyarılan (eksitasyon) bir maddede sistemler arası bir geçiş izlenmezse, yani elektron spin değişimi yoksa bu olaylar hızlıdır. Bu olaya **fluoresans** denir. Maddenin fluoresans özelliği üzerine kurulmuş olan tayin metodu da **fluorimetri** veya **fluoresans spektroskopisi** olarak adlandırılır.

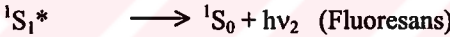
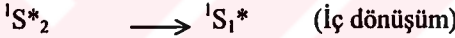
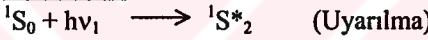
Fluoresans spektroskopiyi açıklayabilmek için, atom veya moleküldeki elektronların singlet ve triplet konumlarını tanımlamak yararlı olacaktır. Bir atom veya molekülün elektronları, orbitallere spinleri zıt olarak yerleşmiş ise bu durum **singlet hal** olarak adlandırılır. Orbitalerin birinde tek bir elektron varsa **dublet hal**; iki ayrı orbitalde spinleri birbirine paralel birer elektron varsa **triplet hal** ortaya çıkar. Triplet haldeki molekül paramagnetik özellik gösterir. Bir triplet hal, daima uyarılmış singlet halden meydana gelir. Çünkü elektronik geçişler, multiplitesi aynı olan haller arasında mümkündür. Singlet, dublet veya triplet haldeki bir sistem, temel enerji düzeyinde bulunabileceği gibi, uyarılmış enerji düzeylerinde de bulunabilir. En yüksek enerjili dolu orbitaller ve en düşük enerjili boş orbitaller kullanılarak temel ve uyarılmış haldeki singlet ve triplet sistemler aşağıdaki gibi gösterilebilir (Guilbault 1983).



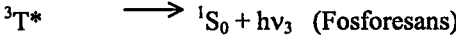
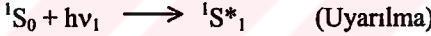
Uyarılmış tripletin enerjisi, kendisini meydana getiren uyarılmış singletinkinden daha düşüktür. Pauli prensibine göre, farklı orbitallerde bulunan spinleri paralel iki elektron uzayda aynı yeri dolduramaz. Başka bir deyimle, singlet hallerde büyük elektron itmeleri olmasına rağmen tripletlerde bu durum yoktur (Skoog vd 2000).

Işık absorplayarak uyarılmış bir molekül, absorpladığı fazla enerjiyi tamamen veya kısmen ışımasız yoldan kaybedebilir. Bir molekülün elektronik enerji düzeyleri, titreşim enerji düzeylerinin üst üste çakışmasına imkan verecek kadar yakın ise, fazla enerjinin ısı şeklinde atıldığı iç dönüşümler görülebilir. Dolayısıyla; uyarılmış singlet türü bir molekülden, yine ışımasız yoldan daha düşük enerjili triplet türü uyarılmış bir molekül oluşabilir. Olasılığı az olan ve bu nedenle yavaş gerçekleşen bu olayda üst orbitaldeki elektronun spini ters çevrilerek sistemler arası geçişler görülür. Uyarılmış bir triplet sisteminden temel haldeki bir singlet sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa **fosforesans** denir. Floresans ve fosforesans ışımları aşağıda sematize edilmiştir (Skoog vd 2000).

Floresans:

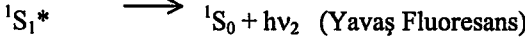
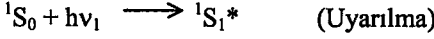


Fosforesans:



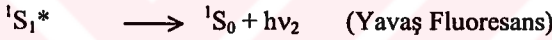
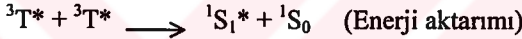
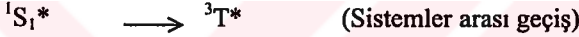
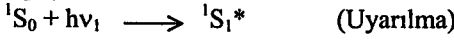
Uyarılmış bir molekül, singlet halden triplet hale geçtikten sonra, ortamdan ısı alarak yeniden uyarılmış singlet haline geçip ışık yayabilir. Yani iki kez üst üste sistemler arası geçiş olabilir ki; böyle bir durumda sürenin biraz uzamasından ( $10^{-9}$ - $10^{-8}$  s) dolayı **E-tipi gecikmeli (delayed) veya yavaş floresans** gözlenebilir (Udenfriend 1969).

E-tipi yavaş fluoresans:



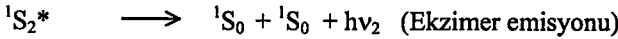
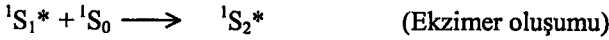
Diğer yandan; uyarılmış singlet haldeki bir molekül ile sistemler arası geçiş sonucu triplet uyarılmış moleküller birbirleriyle çarpışıp yeniden uyarılmış singlet haline geçerek ışık yayabilir. Buradan yayılan gecikmiş fluoresansa **P-tipi gecikmeli fluoresans** adı verilir (Udenfriend 1969).

P-tipi yavaş fluoresans:



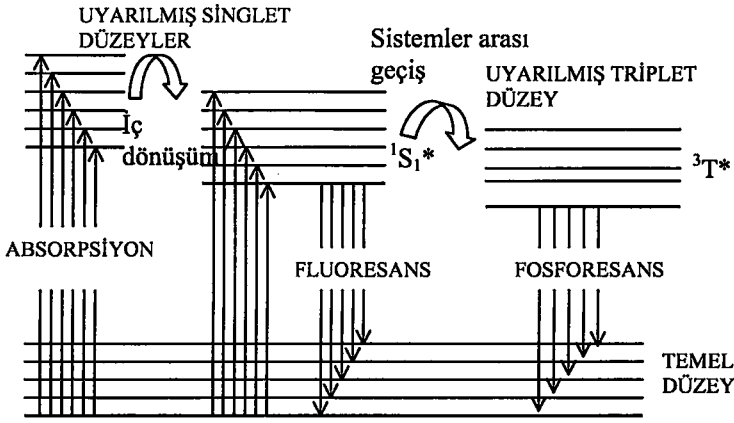
Bir başka durum ise; derişik bir çözeltide, uyarılmış bir singlet molekül ile temel haldeki bir molekülün çarpışması sonucu uyarılmış bir dimer (ekzimer) oluşmasıdır. Lüminesans, bu uyarılmış dimerden kaynaklanıyorsa, bu olaya **ekzimer emisyonu** denir. Bu durumda yayılan ışığın dalga boyu, fluoresans dalga boylarından uzundur.

Ekzimer emisyonu:



Bir moleküldeki ışımalı ve ışısız geçişler şekil 2.1'de gösterilmiştir (Skoog vd 2000).





Şekil 2.1. Bir moleküldeki ışıklı ve ışısız geçişler

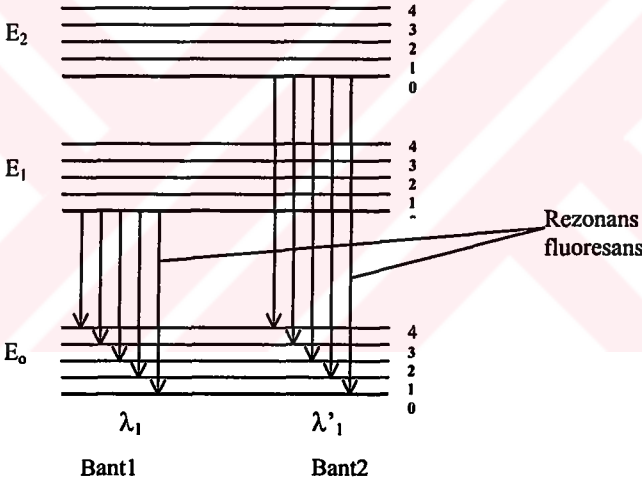
Bir molekülün ışığı absorplaması ne kadar güçlü oluyorsa, lüminesans olayı da o kadar şiddetli gerçekleşir. Örneğin, heteroatom içermeyen aromatik bileşiklerde ve konjüge dienlerde  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişindeki molar absorpsiyon katsayısı yaklaşık 10000 olup, şiddetli fluoresans görülür. Öte yandan bu tür moleküllerde  $n \rightarrow \pi^*$  geçişleri de söz konusudur. Ancak, bu geçişlerde molar absorpsiyon katsayısı yaklaşık 1000 olduğundan, bu tür moleküllerin yaydığı fluoresans daha az şiddetlidir (Guilbault 1983).

## 2.2. Fluoresans Türleri

En basit fluoresans türü, atom buharları tarafından meydana getirilen atomik fluoresanslardır. Örneğin, buhar halindeki Na atomu 590 nm dalga boyulu ışınları absorplayarak  $E_0$ 'dan  $E_1$  enerji seviyesinde uyarılır. Uyarılmış atomlar, çok kısa bir sürede aynı dalga boyulu ışınların emisyonu ile durulur. Buna **fluoresans ışması** denir. Aynı şekilde; 390 nm dalga boyulu ışınlarla uyarılarak elektronları  $E_0$ 'dan  $E_2$  enerji seviyesine çıkan Na atomları da bir süre sonra, aynı şekilde emisyon yoluyla durulur. Ancak; uyarılmış bir atomun ortamdaki diğer türlerle etkileşip, ışısız enerji aktarımı yaparak  $E_1$  seviyesine düşmesi; o seviyeden de 590 nm'lik foton emisyonu ile temel hale dönmesi mümkündür. Hatta hiç bir ışımaya yapmadan ısı aktarımı ile temel hale durulma da mümkündür (Skoog vd 1996).

Çözeltilerden normal olarak izlenen, **Stokes fluoeransıdır**. Stokes fluoeransı, absorplanan fotondan daha az enerjili, daha büyük dalga bo-yundaki emisyonu verilen addır. Öte yandan, bazı moleküllerde uyarılmış haldeki elektron, fazla termal enerji sayesinde üst titreşim seviyelerinde ışımaya yapabilir. Bu durumda emisyon dalga boyu, daha küçük olur. Buna **anti-stokes fluoeransı** denir. Anti-stokes fluoeransının ancak yüksek sıcaklıklardaki seyreltik gazlarda izlenebildiği ifade edilmektedir (Guilbault 1983).

Uyarıcı fotonun absorplanması ve eş enerjide geri verilmesine de **rezonans fluoerans** denir. Fluoerans özelliği, maddenin gaz, sıvı ve katı hallerinde görülebilir. Eğer moleküler fluoerans söz konusu ise, bu durumda ışın bantları oluşur. Fluoerans emisyon bantları, moleküler absorpsiyon bantları gibi, dalga boyları birbirine çok yakın pek çok sayıda çizgiden oluşmuştur (Şekil 2.2).



Şekil.2.2. Bir molekülün fluoerans bantları

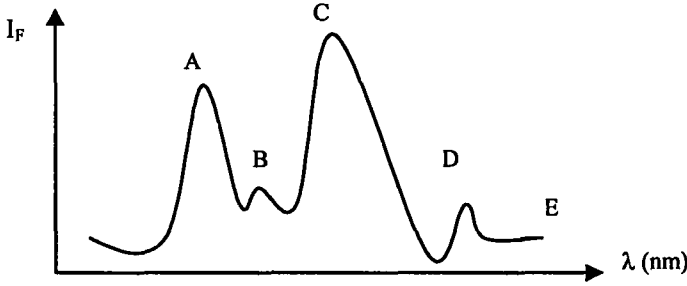
Fluoerans özelliği, uyarıcı ışının dalga boyuna bağlı değildir. Yani; madde ister  $\lambda_1$  isterse  $\lambda_2$  dalga boyundaki ışınlarla uyarılsın, yaydığı fluoerans ışınları sadece  $\lambda'$  ile gösterilir. Ancak, uygun dalga boylarındaki ışınlarla uyarılmazsa, absorplanan ışık enerjisi azalır ve fluoerans şiddeti değişir (Skoog vd 1996).

Işın yayan (lümİnesans) maddelerde temel halin en yüksek titreşim seviyesi ile, maddenin birinci elektronik uyarılmış halinin en alt titreşim seviyesi arasında önemli bir fark bulunmasına rağmen; ışın yaymadan temel hale dönen maddelerde, temel halin en yüksek titreşim seviyesi ile, maddenin birinci elektronik uyarılmış halinin en alt titreşim seviyesinin çakışması veya birbirleri arasındaki farkın az olması söz konusudur. Böyle durumlarda ise, ne fluoresans ne de fosforesans ışınması gözlenmez. Işın yaymadan temel hale dönüş ile ışın yayarak temel hale dönüş arasında farklılık kısaca böyle özetlenebilir (Skoog vd 1996).

Işın absorplayan tüm moleküller fluoresans özelliği gösterebilirler. Ancak, yapısal özelliklerinden dolayı fluoresans özelliği gösteren molekül sayısı azdır. Fluoresans özellik gösteren bir molekülün yapısal özelliği, ışınmasız durulma süreçlerini yavaşlatan veya fluoresans durulmasının hızını artıran türde olmalıdır. Pek çok molekülde bu yapısal özellikler olmadığından, fluoresans durulmasından daha hızlı bir ışınmasız durulmaya uğrarlar ve böylece fluoresans gözlenmez (Skoog vd 1996).

Eğer bir elektron, elektronik geçiş için yeterli olmayan bir foton absorpsiyonu ile uyarılıyorsa, enerjisi korunur ve eş-enerjili bir foton  $10^{-15}$  saniye içinde yayımlanır. Bu olay fluoresans değildir. Buna; yerine saçılma (Rayleigh saçılması) denir. Eğer moleküller fluoresans şiddeti zayıf ve absorpsiyon ile fluoresans dalga boyları yakınsa, Rayleigh saçılması ciddi hatalara sebep olabilir.

Rayleigh saçılmasının bir diğer türü de, uyarma dalga boyuna yakın ve genellikle daha uzun dalga boylarına dağılmış sabit enerji farklarını içeren Raman Saçılmasıdır. Raman bantlarının şiddeti, Rayleigh saçılmasından çok daha zayıftır. Ancak, yüksek yoğunluktaki kaynaklar kullanıldığında, yani ışık şiddeti büyük ışık kaynakları ile uyarıldığında izlenebilir. Raman saçılmasının azalması, hassaslık ve lineer dinamik oranlarının artmasına neden olur. Böylelikle çok iyi kalibrasyon eğrileri ve düşük tayin sınırlarına ulaşılabilir (şekil 2.3) (Winefordner vd 1972).



Şekil 2.3. Kinin sülfatın 0,2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisindeki fluoresansı

A: 320 nm'de uyarılma + birinci Rayleigh Saçılması

B: 360 nm'de suyun Raman Saçılması

C:450 nm'de Kinin fluoresansı

D:640 nm'de ikinci dereceden Rayleigh Saçılması

E:720 nm'de ikinci dereceden Raman Saçılması

Fluoresans ölçümlerinde, S/N (sinyal/gürültü) oranının artması, istenilen bir durumdur. Böylelikle bazı pikler daha rahat izlenebilir. Oran azaldıkça, gürültü dolayısıyla pik sayısı da artar (Winefordner vd 1972).

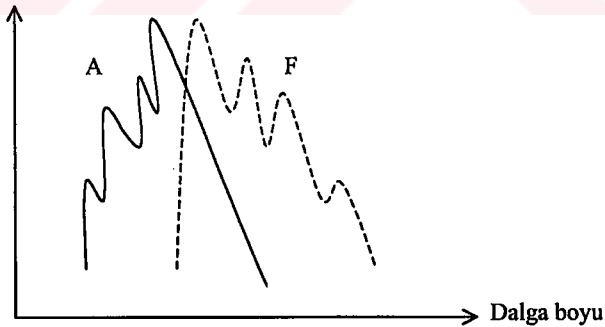
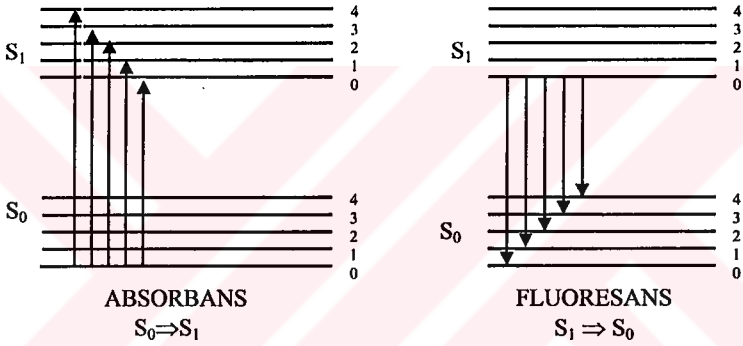
Uyarılma ve fluoresans spektrumlarındaki pik maksimumları arasındaki dalga boyları farkı, **Stokes Kayması** olarak adlandırılır. Bunlar; moleküllerin yaydığı fluoresans bantlarının dalga boylarının, uyarılmayı sağlayan (fluoresansa yol açan) ışınınkinden daha uzun olması durumunda gözlenir. Stokes kayması, uyarılma ile iyonizasyon gibi moleküler yapı değişimlerini de gösteren önemli bir parametredir (Udenfriend 1969).

$$\text{Stokes Kayması (cm}^{-1}\text{)} = 10^7 \left( \frac{1}{\lambda_{\text{ex}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{em}}} \right)$$

Stokes kayması kimyasal açıdan önemlidir. Bu kaymaya eşdeğer olan enerji, uyarılan moleküler yapı ile ilgilidir. Örneğin; 5-hidroksindol bileşiği için 295 nm dalga boyundaki uyarılma sabit tutulursa, pH=7'de 330 nm'de izlenen fluoresans maksimumu, kuvvetli asit ortamında 550 nm'ye kayar. Bu durum, kuvvetli asidik ortamlarda uyarılmış molekülün, ortamdan proton aldığını belirtir. Büyük Stokes kayması, absorpsiyon ve emisyon spektrumları arasında küçük bir çakışmaya neden olur ve self absorpsiyon problemi ortaya çıkar (Guilbault 1983).

### 2.3. Fluorimetrik Yöntemler

Fluoresans spektroskopisi bazı yönleriyle absorpsiyon spektroskopisine benzemekle beraber, duyarlılık yönüyle ondan çok üstündür. Fluorimetre de uyarıcı ışık şiddeti artırılabilir veya azaltılabilir. Gerçek sinyal tam bir kararlık (0) zemine göre kaydedilebilir. Oysa absorpsiyon ölçümlerinde, seyreltik bir ortamın absorpladığı ışık kesri kaydedilebilir. Detektörü üzerine düşen ışık şiddet farkının ölçülmesine bağlı sinyal verir. Absorpsiyon yöntemlerinin daha az duyarlı olmasının ana nedeni budur. Ancak floresans gösteren maddelerin sayısı az olduğundan fluorimetri, absorptimetrye göre daha az kullanılır. Bir maddenin absorpsiyon spektrumu ile floresans emisyonu spektrumu birbirlerinin ayna resmi gibidir (şekil 2.4) (Anonim 1987).



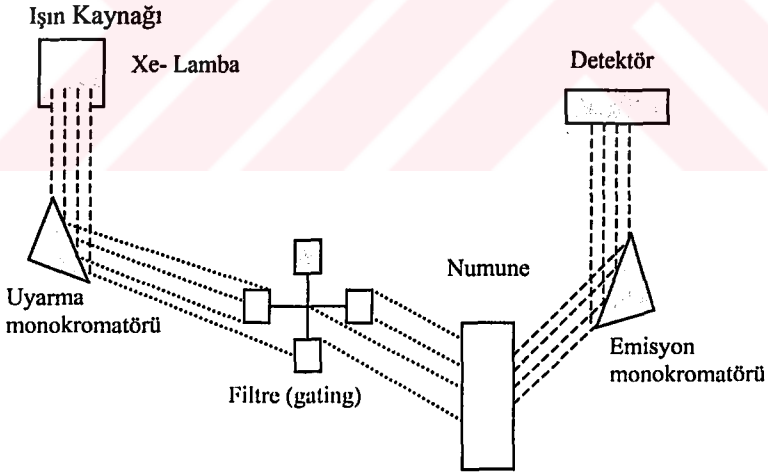
Şekil 2.4. Absorbans ile floresans arasındaki fark (A: absorpsiyon F: floresans)

Moleküler emisyon (fluoresans) en önemli nicel analiz tekniklerindedir. Duyarlılığı (hassasiyeti) ve seçiciliği tartışılmaz bir üstünlüğe sahiptir. Milyarda bir kısım (ppb) gibi çok hassas tayinlerde kullanılır. Normal fotometrik yöntemlerden en az 1000 kat daha duyarlıdır. Bu denli hassas olmasının temelinde, doğrudan fluoresans ışımının ölçülmesine bağlı olması gerçeği vardır. Fluoresans ölçümlerindeki seçicilik iki etkene bağlı olarak değişir.

- Her moleküler yapı fluoresans özellik göstermez. Ancak, bu analiz için bir avantajdır. Her floresant madde ışık absorplar, ancak her absorpsiyon gösteren madde floresant değildir.

- İki farklı dalga boyu ayarı yapılarak, yöntemin seçiciliği artırılabilir. Eğer aynı uyarılma ile fluoresans gösteren yapılar varsa, emisyon dalga boyları arasında 10 nm kadar farklılık olsa bile, yeterli seçicilik sağlanmış demektir (Miller 1981).

Spektrofluorimetreler esas olarak iki monokromatörden oluşur. Bunlar 90°'lik optiklerle geçen radyasyon ışını yok ederek Rayleigh ve Raman saçılmalarını azaltır. LS-50B model bir spektrofluorimetrenin genel şeması şekil 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.5. LS-50B model spektrofluorimetre şeması

Spektrofluorimetrik yöntem ve ölçüm şartlarına ilişkin bazı temel kavramlar ise kısaca şöyle özetlenebilir:

Fluorimetrik ölçümde, yayılan foton sayısının absorplanan foton sayısına oranına o molekülün **fluoresans kuantum verimi** (FKV) denir ve  $\Phi_f$  ile gösterilir. Floresant özellikte olmayan moleküllerin kuantum verimi sıfır veya sıfıra yakındır. Uyarılmış singlet molekülün enerjisi ile temel haldeki molekülün enerjisi birbirinden ne kadar farklı ise, iç dönüşüm olayının olasılığı o kadar azalır; fluoresans verimi artar. Benzer biçimde bir molekülün uyarılmış singlet ve uyarılmış triplet hallerinin enerjileri ne kadar farklı ise, sistemler arası geçiş olasılığı da o kadar azalır; dolayısıyla, yine fluoresans verimi artar.

Öte yandan uyarılmış singlet ve uyarılmış triplet hallerinin enerjileri birbirlerine yaklaşırsa, sistemler arası geçiş olasılığının artmasıyla birlikte fosforesans verimi artar (Miller 1981) (Şekil 2.1).

Fluoresans özelliğini (FKV, emisyon dalga boyu, ışın şiddeti gibi) etkileyen etkenler; madde yapısı, yapısal rijidite, sıcaklık, çözeltili etkisi, ortamın pH değeri, uyarıcı ışının dalga boyu ve şiddeti ve derişim etkisi olarak sayılabilir. Bunlar sırasıyla kısaca şöyle açıklanabilir.

Moleküllerin düzlemselliği, dönmenin engellenmiş olması, konjugasyon ve halka sayısının artması gibi **madde yapısı** ile ilgili özellikler genellikle fluoresans verimini artırır. Fluorimetri, molekülün ayrıntılı yapısıyla fazla ilgilenmeyen bir yöntemdir. Çok sayıda organik ve inorganik yapıdan sadece çok azı anlamlı fluoresans özellik gösterir (Anonim 1987).

En şiddetli fluoresans özelliği gösteren maddeler, yapısında aromatik halkalar bulunan yapılardır. Çünkü bu tür maddelerde  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişleri söz konusudur. Karbonil grubu içeren alifatik ve alisiklik bileşikler ile çok sayıda çift bağ içeren konjüge sistemlerde de fluoresans özelliği görülür. Bu özellikleri, aromatik halkaların kondensasyonu ile daha da artar. Piridin, tiyofen, pirol ve furan gibi heterosiklik yapılar fluoresans özelliği göstermezler. Ancak bu tür maddeler içeren bitişik halka yapısındaki moleküller -örneğin kinolin, indol gibi- fluoresans özelliği gösterirler (Skoog vd 1996).

Doymuş hidrokarbonlarda ise,  $\pi$  ve n tipi elektron olmadığı için, bütün elektronik geçişler  $\sigma$  tipi elektronlar tarafından olacaktır ( $\sigma^* \rightarrow \sigma$ ). Bu yüzden doymuş aromatik olmayan bileşikler floresant değildir. Bu yapılarda çok

zayıf ve vakum UV'de (140-170 nm) fluoresans ( $\Phi_F \approx 10^{-3}$ ) izlenebilir. Uyarılma katsayısı, yüksek olan moleküller daha iyi fluoresans verir. Yüksek konjügasyona sahip aromatik olmayan yapılarda da (örneğin, karoten, vitamin A, vitamin A-aldehit gibi) fluoresans özelliği gözlenebilir. Çünkü bunlarda  $\pi \rightarrow \pi^*$  enerji farkı yeterince küçüktür (Guilbault 1983).

Doymuş aromatiklerin hemen hepsinde fluoresans izlenir. Işıma şiddeti hem halka sayısı ile artar, hem de bathokromik (kırmızıya kayma) etki gösterir. Aromatik hidrokarbonlar kuvvetli fluoresans özellik gösterir, çünkü  $\pi \rightarrow \pi^*$  uyarılması en düşük enerjili ve uyarılma katsayısı oldukça büyük ( $\epsilon_{\max} = 10^4$ ) olan geçişlerdir (Guilbault 1983).

Halkalı organik moleküllerde, halkanın elektron yoğunluğunu arttıran sübstitüentler de molekülün fluoresans veriminin artırır. Bu etki benzen halkası ve ona bağlı bazı sübstitüentler üzerinde incelenecek olursa, benzen halkasının sübstitüsyona uğradığı zaman, hem absorpsiyon hem de fluoresans bandında bir değişimin olduğu ve fluoresans şiddetinin de çoğu kez değiştiği görülür. Bunlara ilişkin bazı örnekler çizelge 2.1'de verilmiştir (Skoog vd 2000).

Floresant bir bileşikteki,  $\pi$  elektronlarını delokalize edebilen sübstitüentler genellikle, uyarılmış singlet hal ve temel hal arasında oluşan olası bir geçişi artırır. Bu sonuç fluoresansı da artırır. Genellikle o-, p- pozisyonlarındaki sübstitüentler halkaya elektron verirler ve muhtemel fluoresansı artırırlar. m- pozisyonundaki sübstitüentler ise halkadan elektron çekerler ve muhtemel fluoresansı azaltırlar. Aromatik bileşiklerin fluoresans özelliğine bilinen bazı sübstitüentlerin etkileri çizelge 2.2'de verilmiştir (Guilbault 1983).

Çizelge 2.1. Etil alkol içinde benzenin fluoresans özelliğine sübstitüentlerin etkisi.

Madde	Fluoresans dalga boyu (nm)	Bağıl şiddet
Benzen	270-310	10
Toluen	270-320	17
Propilbenzen	270-320	17
Florobenzen	270-320	10
Klorobenzen	275-345	7
Bromobenzen	290-380	5
İyodobenzen	-	0
Fenol	285-365	18
Fenolat	310-400	10



Çizelge 2.1'in devamı

Anisol	285-345	20
Anilin	310-405	20
Anilinyum iyonu	-	0
Benzoik asit	310-390	3
Benzonitril	280-360	20
Nitrobenzen	-	0

Çizelge 2.2. Emisyon dalga boyu ve fluorensans ışın şiddetine bazı süstitüentlerin etkisi

Süstitüent	Dalga boyuna etkisi	Işın şiddetine etkisi
Alkil	Etkilemez	Önemsiz ölçüde artar veya azalır
CO <sub>2</sub> H	Artar	Büyük ölçüde azalır
OH, OCH <sub>3</sub> , OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Artar	Artar
CN	Etkilemez	Artar
NH <sub>2</sub> , NHR, NR <sub>2</sub>	Artar	Büyük ölçüde artar
NO <sub>2</sub> , NO	Büyük ölçüde artar	Büyük ölçüde artar veya tam söndürme (quenching)
SH	Artar	Azalır
SO <sub>3</sub> H	Etkilemez	Etkilemez
F, Cl, Br, I	Artar	Azalır

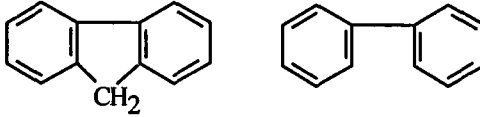
Heteroatomların aromatik halkaya girmesi, genellikle yapıda enerji seviyesi daha kararsız  $n \rightarrow \pi^*$  geçişlerini hakim kılar. Dolayısıyla bu tür yapılarda da sistemler arası geçişin ( $S_1^* \rightarrow T_1^*$ ) hızlanmasından dolayı fluorensans verimi azalır (Anonim 1987).

Genellikle bir molekülün fluorensans özellikleri aşağıdaki hususlara bağlı değişimler göstermektedir.

- Uyarılma katsayısı büyük olan moleküllerde, ( $\epsilon_{\max} = 10^2 - 10^5 \text{L/mol-cm}$ ) kuvvetli fluorensans,
- $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişlerinde kuvvetli,  $n \rightarrow \pi^*$  geçişleri zayıf, fluorensans özellik gösterirken,  $\sigma \rightarrow \pi^*$  geçişlerinden fluorensans gözlenmemektedir.
- Uyarılmış ve temel seviyeler arasındaki enerji farkı ne kadar azalır, ışınım olasılığı o kadar artmaktadır.
- Molekülde uyarılan bir elektronun moleküle çok zayıf bağlanmış olması gerekir.

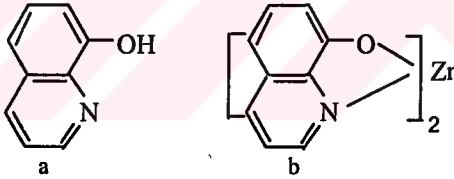
e) Molekül yapısında veya fonksiyonel gruplarda ısısal sönümü hızlandıran yapılar olmamalıdır (Guilbault 1983).

Fluoresans özelliğini etkileyen diğer bir etken **yapısal rijiditedir**. Bir molekülde rijitliğin olmaması, iç dönüşüm hızında ve dolayısıyla ışımsız sönümde bir artışa neden olur. Dolayısıyla molekül yapısının rijit olması onun fluoresans özelliğini artırır. Örneğin; şekil 2.6'da molekül yapıları verilen florenin fluoresansı, bifenilden 5 kat daha şiddetlidir.



Şekil 2.6 Floren ve Bifenilin molekül yapıları

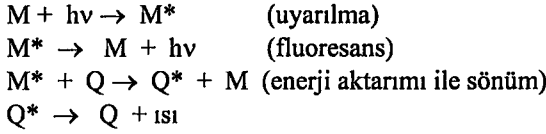
Metal iyonları ile bazı organik maddelerin oluşturduğu komplekslerin fluoresansındaki artışın, bu yapının rijitliğinden kaynaklandığı öne sürülmektedir. Örneğin, şekil 2.7'de gösterildiği gibi fluoresans özelliği olmayan 8-hidroksi kinolin Zn(II) katyonu ile verdiği kompleksin fluoresansı oldukça şiddetlidir (Skoog 1996).



Şekil 2.7. a. Fluoresans özellik göstermeyen 8-hidroksi kinolin  
b. Bis-(8-hidrosikinolinato)-çinko(II)

Sıcaklık artması ile uyarılmış moleküllerin çarpışma olasılığı daha da artacağından, iç dönüşüm ve sönüm olasılığı artar; fluoresans ışınması ise zayıflar. Genellikle her 1°C için, fluoresans şiddetinin % 1 değiştiği varsayılır. Örneğin, bu değer Rodamin B için % 5'e kadar yükselebilmektedir. Özellikle E-tipi gecikmiş fluoresansın gözlemlendiği sistemlerde, sıcaklığın artması iç dönüşüm olayını daha verimli hale getirir (Guilbault 1983). Sönüm olayı

veya floresans veriminin azalması aşağıdaki mekanizma ile gösterilebilir (M: floresant molekül) (Udenfriend 1962).

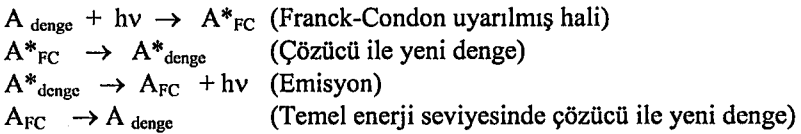


Sönüme neden olan etkenler ise; sıcaklık, moleküler oksijen, derişim ve safsızlık (örneğin, eser miktarlarda iyot, azot oksitler, dikromat floresansta belirgin azalmaya neden olurlar) şeklinde sayılabilir (Anonim 1987).

Çözücünün viskozitesinin düşmesi, floresans ışımasını azaltır. Çünkü viskozitesi düşük çözücülerde moleküler çarpışmalar azalır. Ayrıca, çözücü polarlığının artması da floresans şiddetini etkiler. Polar çözücülerde  $n \rightarrow \pi^*$  geçişleri olduğundan, floresans ışımasını büyütür. Çözücü polaritesi fazlaysa, bu ortamda uyarılmış molekül daha kararlı kalabilir ve floresans spektrumları daha uzun dalga boylarına (kırmızıya) kayar (Guilbault 1983).

Çözeltideki herhangi bir yapı, fluoroforun tipik ışımaya şiddetini değiştirebilir. Elektronik geçiş hızları, molekülerin hareket hızından çok daha hızlıdır. Bu nedenle bir foton absorpsiyonu ve emisyonu süresince hareketsiz kaldığı kabul edilir (Franck-Condon prensibi). Ancak; uyarılmış ve uyarılmamış molekül, etrafındaki çözücü molekülleri için yeni bir düzenleme (orientasyon) durumuna girebilir. Elektronik uyarılma, molekül geometrisini ve yük dağılımını önemli ölçülerde değiştirebilir (Guilbault 1983).

Basit bir uyarılma ve sönüm olayında çözücü ile denge olayları aşağıdaki gibi gösterilebilir.



İçinde ağır atomlar bulunan çözücüler (örneğin  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$ ) floresans ışımasının şiddetini azaltır (ağır atom etkisi). Çünkü atom numarası arttıkça, spin ve toplam orbital momentleri arasındaki etkileşim büyür; uyarılmış singlet halin, uyarılmış triplet hale dönüşme olasılığı artar. Dolayısıyla floresans azalırken, fosforesans artar (Skoog vd 2000).

Çözelti içinde **moleküler halde çözünmüş O<sub>2</sub>** (yaklaşık 10<sup>-3</sup> M O<sub>2</sub>) genellikle fluoressansta % 20 azalmaya neden olur. Çünkü O<sub>2</sub> paramagnetik olduğundan singlet halin, triplet hale dönüşmesi kolaylaşarak fluoressansı azaltır (Guilbault 1983). Dolayısıyla, fluoressans ölçümlerinde tamamen oksijensiz bir ortam gerekir. Bunu sağlamak üzere fluoressans ölçümlerinden önce 2-3 dakika çözeltiden N<sub>2</sub> gazı geçirilmesi gerekir.

Floresant maddenin **derişimi** de bir etkendir. Fluoressans süresince yayılan ışın miktarı, absorplanan ışın miktarına bağlıdır. Uyarılmış bir molekül ışınmasız enerji kaybıyla temel enerji düzeyine geri dönebileceği için, yayılan fotonların sayısı, genellikle absorplanan fotonlarının sayısından daha az olur. Belirlenen deney şartlarında belli bir maddenin kuantum verimi Φ<sub>F</sub>, sabittir. Yayılan fluoressans şiddeti I<sub>F</sub> ile kuantum verimi Φ<sub>F</sub>, absorplanan ışına I<sub>a</sub> bağlıdır.

$$I_F = \Phi_F I_a \quad (1)$$

Öte yandan, Lambert-Beer yasası,

$$I = I_0 10^{-\epsilon bc} \quad (2)$$

eşitliği ile ifade edildiğinden, absorplanan ışına I<sub>a</sub> denilirse,

$$I_a = I_0 - I \quad (3)$$

$$I_a = I_0 - (I_0 10^{-\epsilon bc}) \quad (4)$$

olur. Burada I<sub>0</sub>, çözelti üzerine gelen ışının şiddeti; I ise b uzunluğundaki bir ortamdan geçtikten sonraki ışının şiddeti; ε, moleküllerin molar absorpsiyon katsayısı; c ise derişimdir. Eşitlik (4) teki I<sub>a</sub> değeri, eşitlik (1)'de yerine konulursa;

$$I_F = \Phi_F I_0 (1 - 10^{-\epsilon bc}) \quad (5)$$

eşitliğine dönüşür. Bu eşitliğin Maclaurin serisi olarak açılmasıyla aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$I_F = I_0 \Phi_F \left[ 2,303 \epsilon bc - \frac{(2,303 \epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2,303 \epsilon bc)^3}{3!} \dots \dots \right]$$

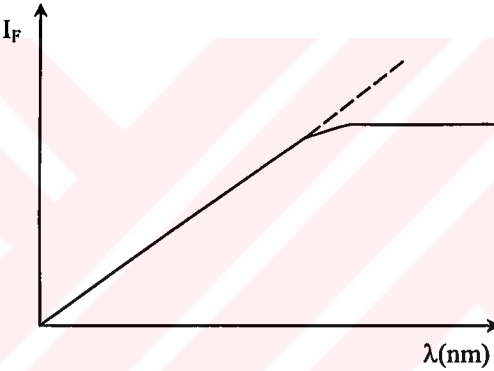
$10^{-8}$ – $10^{-5}$  M aralığındaki seyreltik çözeltiler için 2,303εbc 0,05 olması şartıyla, 2,303εbc teriminden sonraki bütün terimler ihmal edilebilir. Böylece;

$$I_F = I_0 \Phi_F 2,303\epsilon bc \quad (6)$$

eşitliği elde edilir. Derişimin dışındaki tüm parametreler sabit olacağından, aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$I_F = k.c$$

Floresant ışımının şiddeti, maddenin derişimi ile orantılıdır. Floresans şiddeti, derişim attıkça artar. Ancak, bu artış belli bir noktadan sonra derişimle orantılı olmaz ve hemen hemen sabit kalır (şekil 2.8). Bunun nedeni, self (öz) söndürme ve self (öz) absorpsiyondur.



Şekil 2.8. Floresans şiddeti ile derişim arasındaki değişim

Self söndürme, floresant moleküllerinin birbirlerine çarparak enerjilerini kaybetmeleri sonucu, ışımaz sönüm (radyasyonsuz enerji kaybı) göstermelerinden kaynaklanır. Self absorpsiyon ise; floresant moleküllerinin yaydıkları ışının dalga boyu, bu moleküllerin absorpladıkları ışının dalga boyu ile aynıysa ve floresant bir molekülün yaydığı ışın çözelti içinden geçerken, diğer floresant moleküller tarafından absorplandığında görülen bir durumdur (Guilbault 1983).

Proton aktarımlı tepkimeler çok hızlı gerçekleştiğinden, proton aktarımının temel durumdaki moleküllerde olduğu gibi, uyarılmış moleküllerle de gerçekleşme olasılığı oldukça yüksektir. Ortamın pH değerindeki değişmeler

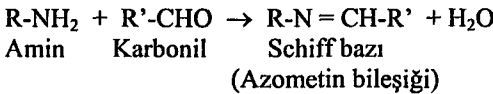
hem temel hem de uyarılmış molekülleri etkileyeceğinden; pH değeri bir molekülün floresans verimini etkileyen bir faktör olabilir. Asidik veya bazik gruplar içeren maddelerin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış türlerinin floresans ışımalarının dalga boyları ve şiddetleri birbirinden farklıdır. Dolayısıyla, analiz yapılırken pH kontrolü yapılması ve uygun pH ortamında çalışılması gerekir.

Bir molekülün temel ve uyarılmış halleri farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir. Uyarılmış bir molekül farklı geometri ile farklı atomlar arası uzaklıklara ve farklı dipol momentlere sahip olduğundan, uyarılmış singlet ve temel enerji seviyeleri arasında  $5-pK_a$  ünitesi kadar kayma gösterdiği bilinmektedir. Örneğin, fenolün temel enerji seviyesinde  $pK_a=10$  iken, uyarılmış singlette bu değer 4.0 ve uyarılmış triplette 8,5'tur. Fenoller, tioller, aromatik aminler uyarıldığında daha asidik karakter taşırlar; azot veya kükürtlü heterosiklikler, karboksilli asitler, aldehit ve ketonlar ise daha bazik karakter gösterirler. Bu nedenle ortam pH'ı da floresansı değiştirebilir. 5-hidroksi kinolinde olduğu gibi bazı yapılarda uyarılmış halde hidrojen bağı kurabilir (Guilbault 1983).

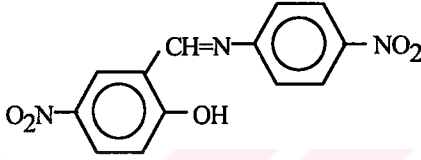
**Işının dalga boyu ve şiddeti** de floresansı etkiler. Floresans ışması meydana getiren dalga boylarının alt sınırı 250 nm kadardır. Bu nedenle  $\sigma^* \rightarrow \sigma$  geçişlerine karşılık gelen floresanslara pek rastlanmaz. Bu dalga boyunda ancak  $\pi^* \rightarrow \pi$  ve  $\pi^* \rightarrow n$  geçişleri sonucu oluşan ışınlar görülebilir. Gelen ışının şiddetinin (yoğunluğu) artması, floresansı artırır. Ancak, örneğin 200 nm'lik bir ışınımın enerjisi, 140 kkal/mol kadardır. Bu büyüklükteki enerji, floresans ışması yapan molekülün bağlarından bir kısmını koparır (fotodissosyasyon) ve ürün oluşması (fotokimyasal tepkime) gibi olaylar yüzünden de floresans verimi azalabilir (Anonim 1987).

#### 2.4. Schiff Bazları ve Özellikleri

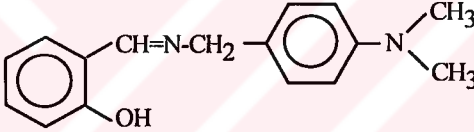
Schiff bazları, ilk olarak 1969'da H. Schiff tarafından salisil aldehit ile anilin kondensasyonu reaksiyonundan elde edilmiş olan ve yapısında **azometin bağı** (imin) bulduran organik maddelerdir. Diğer bir söyleyişle; primer aminler ile karbonil bileşiklerinin (aldehit veya keton) kondensasyon tepkimesi vererek oluşturdukları azometin bileşikleridir.



Schiff bazları, amfiprotik çözücülerde çok zayıf bazik özellik gösterir. Bu bazlık, molekülde bir başka pozisyona asidik bir grup girmesine engel olmaz. Bazlık, aminlerdeki gibi iminik azot üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftinden kaynaklanır. Bu ortaklanmamış elektron çiftinin azot üzerindeki durumuna bağlı olarak Schiff bazları asidik veya bazik ortamlarda hidroliz olurlar. Moleküle bağlı diğer elektron salıcı gruplar Schiff bazının bazlılığını artırırken, nitro ve siyano gibi elektron çekici gruplar bazlık özelliğini azaltır. Bu gruplar aynı zamanda hidrolizi de etkiler. Örneğin; şekil 2.9'da verilen Schiff bazı asidik ortamda, şekil 2.10'da verilen Schiff bazı ise bazik ortamda hidroliz olmaz (Atakol 1986).

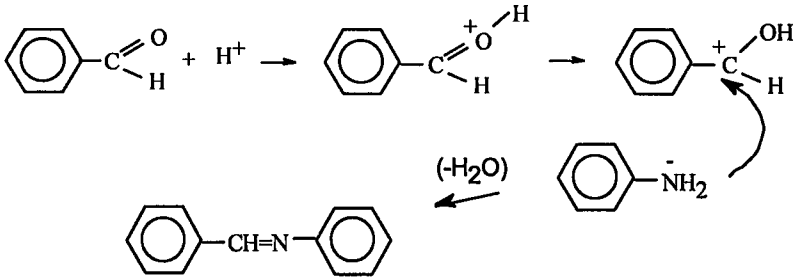


Şekil 2.9. N-(4-nitrofenil)-4-nitro-salisilaldemin Schiff bazı

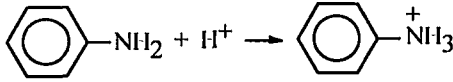


Şekil 2.10. N-(4-dimetil amino benzil) salisilaldemin Schiff bazı

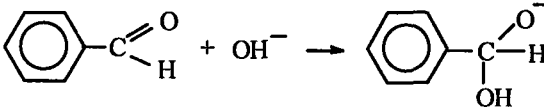
Schiff bazlarının meydana gelmesinde, ortamda bulunan az miktardaki asit veya baz katalitik etki yapar.



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

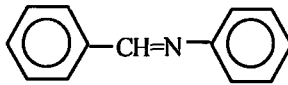


Benzer şekilde, bazlar asitin tersine amini aktive ederken, karbonili deaktive ederler (Atakol 1986).



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

Schiff bazları keşfedildikten sonra yaklaşık 50 yıl boyunca yalnızca boyar madde olarak kullanılmıştır. Azometin grubu, kromofor bir grup olduğundan, Schiff bazlarının çoğu renklidir. N-fenilbenzaldemin veya 1-(fenil imino metil) benzen (şekil 2.11) renksizdir. Ancak moleküle -OH, -NH<sub>3</sub>, -SH gibi oksokrom veya -NO<sub>2</sub> gibi kromofor gruplar bağlanırsa, molekül renklenir. Günümüzde boya olarak kullanılan 1000'den çok Schiff bazı vardır (Atakol 1986).

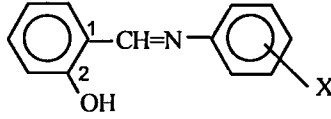


Şekil 2.11. N-fenilbenzaldemin Schiff bazı

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



Karbonil bileşği aromatik olan Schiff bazları,

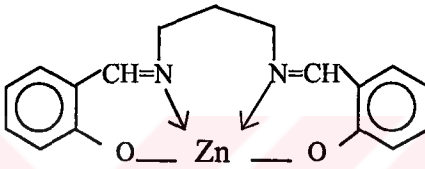


azometin bağına göre 2 pozisyonunda bir donör atom içeriyorsa, oldukça kuvvetli ligandlar kabul edilirler. Salisil aldehitli Schiff bazları bunlara iyi birer örnektir. Çünkü; metal iyonu, iminik azot ve 2 pozisyonundaki donör atom tarafından koordine edilirse, altılı halka meydana gelir. Oluşan halka, zayıf ta olsa aynı zamanda,  $\Pi$  elektron delokalizasyonuna sahip bir halka olduğundan tercih edilen bir yapıdır. Öte yandan  $-\text{OH}$  grubu yerine  $-\text{SH}$ ,  $-\text{NR}_2$  ve  $-\text{OCH}_3$  gruplarının gelmesi de aynı etkiyi gösterir. Ayrıca 2 pozisyonundaki grup  $-\text{OH}$  olduğu durumda,  $-\text{OH}$  ve iminik azot arasındaki hidrogen bağının bugüne kadar gözlenen en kısa hidrogen bağı olduğu kristalografik olarak kanıtlanmıştır. Bu durum Schiff bazı moleküllerinin bazı spektral özelliklerini de etkiler. Örneğin; karbonil komponenti aldehit olduğunda, ortaya çıkan imin bağında bulunan  $\text{CH}$  grubu IR ve NMR yöntemlerinde spesifik sinyaller verirler. IR spektrumlarında bu Schiff bazlarında  $-\text{OH}$  esnemeleri beklenen dalga sayısında  $1000\text{ cm}^{-1}$  kadar düşük enerjiye kayar. Bu esneme bandı  $2850\text{ cm}^{-1}$  civarında orta şiddete yakın keskin bir pik verir.  $60\text{ MHz}$ 'lik NMR'da  $8,5\text{-}9$  ppm değerleri arasında bir pik görülür. Azota bağlı olan grubun yapısı değiştirilerek, Schiff bazlarından çeşitli geometrilerde ligandlar üretmek mümkündür. Örneğin, diaminler kullanılarak ONNO donör sisteminde 4 dişli veya 6 dişli ligandlar hazırlamak mümkündür. Bu yüzden bu Schiff bazları koordinasyon kimyasında önemlidir (Atakol 1986).

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

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

Bu çalışmada kullanılan ligandlar, verici atomları oksijen ve azot olan ONNO tipinde dört dişli ligandlardır. Çinko(II) ile şekil 2.12'deki gibi bir koordinasyon bileşiğini oluştururlar.

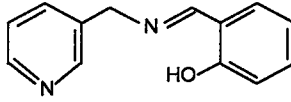


Şekil 2.12..Dört dişli ligand çinko (II) kompleksi

Schiff bazlarının yapısal özelliklerine örnek olarak, n-hekzil aminin; izobütirilaldehit, glutaraldehit ve propiyonaldehit gibi alifatik aldehitlerden elde edilen ligandlar verilebilir. Bunlar ya emisyon vermeyen ya da zayıf emisyon veren Schiff bazlarıdır. Öte yandan benzaldehit, o-ftalaldehit, fenilasetaldehit (PAA) gibi aromatik aldehitlerden elde edilen Schiff bazları kuvvetli floresanttır. Bu durum aromatik aldehitlerden elde edilen Schiff bazlarının kararlılığı ile açıklanır. Yapıya bağlı olarak fluoresans şiddetinin değişme özelliğinden yararlanarak, amino bileşiklerinin hassas tayini için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla, amino bileşikleri çeşitli aromatik aldehitlerle Schiff bazına dönüştürülerek, bunların fluoresans şiddetleri ölçülür. Örneğin, HPLC yöntemiyle aminoasit analizlerinde o-ftalaldehit Schiff bazı oluşturucu aldehit olarak kullanılmaktadır. Fluorimetrik detektör yardımıyla kolondan çıkan Schiff bazı türevleri tespit edilmektedir.

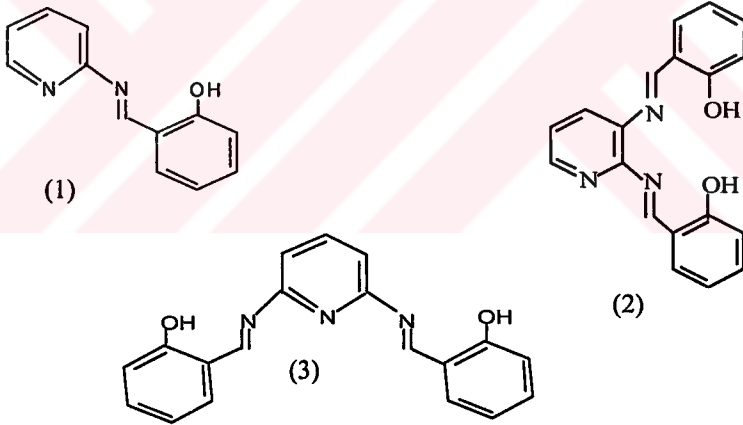
Aromatik Schiff bazlarının tümünün fluoresans özelliği gösterdiği söylene-  
mez. 2-(3-piridil metiliminometil) fenol Schiff bazı (şekil 2.13) bunlardan  
birdir. pH=8 de ve polar protik çözücülerde [örneğin Dioksan/H<sub>2</sub>O (1:1),  
DMF, MeOH gibi] fluoresans özellik göstermezler. Nedeni tautomerik içsel

değişimle keto amine doğru bir eğilim göstermesi ve enol yapının azalması olarak açıklanmıştır (Cimerman vd 1999).



Şekil 2.13. 2-(3-piridil metil imino metil) fenol

Benzer şekilde, 2-(2-piridiliminometil)fenol (şekil 2.14.1), N,N'-bis (salisiliden)-2-3-piridindiamin (şekil 2.14.2) ve N,N'-bis-(Salisiliden)-2-6-piridindiamin gibi Schiff bazları da (şekil 2.14.3) apolar veya az polar çözücülerde floresans özelliği göstermezler. Bununla birlikte, polar çözücülerde [örneğin, MeOH, DMF, dioksan/su (1:1)] ve nötr veya az bazik ortamlarda zayıf emisyonlar verirler ( $0,001 < \Phi_F < 0,072$ ). Çünkü bu Schiff bazlarının , bütün çözücülerde enolimin yapısında buldukları ifade edilmektedir. pH<7 ortamlarında ise, piridinyum kationunun oluşumundan ötürü, emisyonlarda artış görülmüştür ( $0,061 < \Phi_F < 0,519$ ), (Cimerman vd 1999).



Şekil 2.14. 1. 2-(2-piridil imino metil) fenol  
2. N,N'-bis-(Salisiliden)-2,3-piridindiamin  
3. N,N'-bis-(Salisiliden)-2,6-piridindiamin

Bu dört Schiff bazı apolar çözücüler içinde enol formunda, OH grubunun protonu ile imino azot arasında hidrojen bağı olarak bulunurlar. Tautomerik içsel değişim, tautomerik katsayılar incelendiğinde yalnız 2-(3-piridil metil iminometil) fenol Schiff bazı için önemlidir. Çünkü bu Schiff bazının k sabiti 0,1 iken, diğerlerinin sırasıyla 0,01; 0,08; 0,02 olarak bulunmuştur (Cimerman vd 1999).

Bu Schiff bazlarından 2-(3-piridil metil iminometil) fenol nötr ve zayıf bazik ortamlarda, polar çözücüler de olduğu kadar apolar çözücülerde de çok kuvvetli floresans vermiştir. Kuantum verimi, çözücülere ve pH'a bağı olarak ( $0,023 < \Phi_F < 0,435$ ) arasında değişmiştir. Bu durumun siklik yapının daha fazla rijit olmasından kaynaklandığı, kuantum verimlerinin kuvvetli asidik ve bazik ortamlarda siklik yapının azalmasından ötürü düştüğü ifade edilmiştir (Cimerman vd 1999).

Başka bir çalışmada da (Ruiz vd 1984) Schiff bazlarına çözücü etkisi incelenmiştir. 3-hidroksi piridin-2-aldoksim Schiff bazının EtOH + su ortamında en kuvvetli; 3-hidroksi piridin aldehit tiyosemikarbazon (3-OH-PAT) Schiff bazının EtOH + DMF içinde oldukça zayıf floresant maddeler oldukları görülmüştür. Ayrıca 3-hidroksi piridin-2-aldoksim Schiff bazının EtOH + su ortamında çok kuvvetli floresans verdiği halde, EtOH + DMF içinde floresans özelliği bulunmadığı belirlenmiştir. EtOH+su ortamında ayrıca 3-hidroksi piridin-2-aldoksim Schiff bazının yalnız bazik ortamlarda fark edilebilir floresansı varken, 3-hidroksi piridin-2-aldoksim Schiff bazının yalnız asidik ortamda; piridin-2-aldehit-2-piridil hidrazon Schiff bazının ise, hem asidik hem de bazik ortamlarda floresans verirken, spektrumlarının da birbirlerinden farklı olduğu belirlenmiştir. Zamana bağı olarak floresans şiddetlerindeki değişim incelendiğinde, çözücülerin derişimlerinin de floresans şiddetlerini etkiledikleri görülmüştür. Yapılan deneylere göre 3-hidroksi piridinaldehit tiyo semi karbazon (3-OH-PAT) Schiff bazı için % 30-40, 3-hidroksi piridinaldehit azin (3-OH-PAA) Schiff bazı için ise % 35-50 aralığında EtOH kullanılması durumunda en iyi floresans şiddetleri elde edilmiştir.

Seçilen literatür örneklerinden anlaşılacağı üzere, Schiff bazlarının floresans özellikleri; yapısal özelliklerine, tautomerik dengeye, pH değerine ve çözücüye bağı olarak değişmeler göstermektedir.

Diğer yandan Schiff bazlarına sübstituent grupların katılması da floresans şiddetlerini ve kuantum verimlerini önemli ölçülerde etkilediği ve analitik

olarak tayin alt sınırlarını değiştirdiği için, sübstituent etkisinin dikkate alınması gerekir. Bu amaçla, farklı yerlerde sübstituent içeren Schiff bazlarının bir çok katyonla vermiş oldukları komplekslerin fluorimetrik özellikleri araştırılmış ve değişik sonuçlar elde edilmiştir. Bunları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür.

- Analitik anlamda tek başına Schiff bazlarının spektrofluorimetrik uygulamaları yoktur.
- Fluorimetrik reaktif olarak kullanılmaları sonucunda floresant kompleksler oluştururlar.
- Floresans özellikleri artıran faktörler tüm kompleksler için genelleştirilemezler.

Bu yüzden Schiff bazlarının metallerle oluşturdukları komplekslerin fluorimetrik özellikleri hakkında çalışmalar literatürde daha fazla oranda yer almaktadır. Çünkü Schiff bazlarının metallerle verdikleri komplekslerin özelliklerinin kullanıldığı bir çok analitik uygulama alanları bulunmaktadır. Geçiş elementleri dışındaki bazı katyonların (Be, Mg, Al, Ga vb.) çeşitli ligandlarla vermiş olduğu kompleksler genellikle renksizdir. Bunların spektrofotometrik yöntemlerle tayinlerinde çeşitli güçlükle karşılaşılır. Bu nedenle kendisi fluoerans özellik göstermese bile, bu metallerle verdikleri kompleksleri floresant olan ve yapısında O, N ve S gibi hetero atomlar içeren ligandlar bir çok metalin spektrofluorimetrik yöntemle tayinlerinde kullanılmaktadır (Anonim 1987). Schiff bazları bu amaçla kullanılan en önemli ligandlardır.

## 2.5. Çinko Tayin Yöntemleri

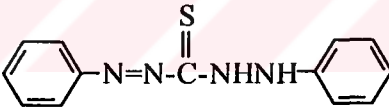
Çinko (Zn), atom numarası 30, elektron konfigürasyonu  $3d^{10}4s^2$ , atom yarıçapı 1,25 Å, iyon yarıçapı 74 Å, iyonlaşma enerjisi 217 kkal, erime noktası 693 K, kaynama noktası 1811 K olan bir elementtir. Bileşiklerinde sadece 4s orbitalindeki 2 elektronu vererek  $Zn^{+2}$  iyonu halinde bulunur.  $Zn^{+2}$  iyonunun son orbitali  $3d^{10}$  dur. Tüm d orbitalleri dolu olduğundan,  $Zn^{+2}$  iyonu yöne bağlı elektronegativite göstermez ve tüm yönlerden gelen ligandları eşit oranda çeker. Çekim gücü yalnızca çekirdek yükünden kaynaklanır.  $Zn^{+2}$  için 4'lü 5'li ve 6'lı koordinasyonlar arasında, kararlılıkta enerji olarak pek fazla fark yoktur. Çinkonun, 4'lü koordinasyon oluşturarak çarpık tetrahedral yapı oluşturduğu, bir çok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Atakol 1986).

Çinko(II)'nin değişik spektroskopik yöntemlerle doğrudan araştırılması zordur. Çünkü, d orbitalleri tamamen dolu olduğundan d-d geçişleri mümkün değildir. Dolayısıyla, UV-görünür alan spektroskopisi ile analizi oldukça zordur. Çinko(II) diamagnetik olduğundan, çinko kompleksleri ESR spektroskopisi ile de incelenemez. Doğada % 4,11 oranında bulunan <sup>67</sup>Zn izotopu küçük bir magnetik momente sahip olduğundan, NMR spektroskopisi ile de incelenemez. Çinko bileşikleri; X-ışını kırınımının yanında, XRF (X-ışınları floresans spektroskopisi, ESCA (X-ışınları elektron spektroskopisi), AES ve AAS ile incelenebildiği gibi spektrofotometrik olarak ta incelenebilmektedir.

Spektrofotometrik tayinlerinde çeşitli organik ligandlar kullanılır. Bu ligandlar, çinko(II) ile renkli kompleksler oluşturur. Bu kompleksler bir organik faza çekildikten (ekstraksiyon) sonra, spektrofotometrik olarak tayin yapılır.

Çinko(II)'nin spektrofotometrik tayininde kullanılan bazı organik maddeler ve yöntemler kısaca aşağıda özetlenmiştir:

Çinko(II)'nin **Ditizon** kullanarak spektrofotometrik yöntemle tayini, en duyarlı yöntemlerden biridir. CCl<sub>4</sub> içinde,  $\lambda_{max} = 538$  nm'de, çinko ditizonat'ın molar absorptivitesi  $9,26 \cdot 10^4$  ( $a=1,42$ )'dir. Maskeleyici maddelerde ve doğru pH'ta ditizon (şekil 2.15) metodu çinko için özgün bir yöntemdir.



Şekil 2.15. Ditizon molekülünün yapısı

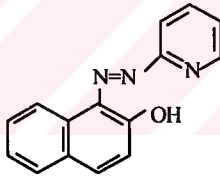
pH = 4-11 aralığında CCl<sub>4</sub> içerisinde ditizonlu çinko çözeltisinin çalkalanması, çinko ditizonat Zn(HD<sub>2</sub>)<sub>2</sub> oluştururken, organik bir tabakanın yeşilden pembeye değişimi gözlenir. Ekstraksiyon oldukça yavaştır. Tiyosülfat, maskeleyici madde olarak kullanılır. pH=4-5,5 (asetat tampon) aralığında tiyosülfat Cu(II), Ag(I), Hg(II), Bi(III), Pb(II) ve Cd(III) ile kararlı kompleksler oluşturur. Dolayısıyla bu metal iyonlarının ditizon ile bir tepkime vermelerini engeller. Ayrıca tiyosülfat küçük miktarlarda Ni(II) ve Co(II) de

maskeler. Bu metallerin yüksek derişimlerinde, küçük miktarda siyanit'in maskeleyici madde olarak kullanılması tavsiye edilir. İyodat, tıyoüre ve ditiyokarbonatlar da bozucu kanyonları maskelemek için kullanılan diğer maddelerdir (Marczenko 1986).

Asetat tamponunda Fe(III), Al(III), Ti(III) ve diğer kolaylıkla hidrolizlenen metaller içeren çözeltilerde çinkonun ekstraksiyonu için ortama tartarat veya sitrat eklenmesi yapılması gerekir.

Çinko tayininin kesinliğini artırmak için çift ekstraksiyon uygulanması gerekir. Ortamdaki ditizon fazlalığı, seyreltik  $NH_3$  çözeltisi ile çalkalayarak ekstaksiyonla uzaklaştırılır. Çinkonun ditizon ile tayininde toluen de çözücü olarak kullanılır. Bu yöntemle çinkonun Cd(III) metali ve bileşikleri, Ga(II) ve Al, Ni, Co(II), Au(II), Fe(II)oksit, Ge(II) bileşikleri, silikat kayaları, meteoritler, alkaliler ve organik maddeler içinde tayini mümkündür (Marczenko 1986).

Çinko(II)'nin piridilazonaftol (PAN) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle tayini bir diğer yöntemdir. PAN çeşitli kanyonlarla olduğu gibi çinko(II) ile de renkli kompleksler veren bir ligandtır. Kompleks  $CCl_4$  veya diğer çözücülerle ekstrakte edilebilir. PAN (şekil 2.16), polar olmayan çözeltilerde çözünür ve sarı renklidir. 560 nm maksimum dalga boyunda çinko-PAN kompleksinin kloroformlu çözeltisinin molar absorptivitesi  $5,2 \cdot 10^4$  ( $a=0,79$ )'tür.



Şekil 2.16. Piridilazonaftol(PAN) molekülünün yapısı

Yüksek molekül ağırlıklı aminler ortamında klorür komplekslerinde olduğu gibi benzen veya ksilen ile ekstraksiyonun da ayırmanın daha iyi olması metodun seçiciliğini artırmaktadır.  $Fe^{3+}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Mo^{+3,16}$  vb bozucu metaller; iyodat, tıyosülfat, tartarat, küprizon ile maskelenir. Çinkonun PAN ile tayini, iyonik olmayan yüzey aktif maddeler örneğin polioksietilen, nonilpentil eter içinde yapılır. Ayrıca PAN ile Ni, Co, Cu, alüminosilikat ve demir filizleri ile göl suları içinde tayinlerde kullanılır (Marczenko 1986).

**Diğer spektrofotometrik yöntemler arasında; çeşitli azo reaktifler ile çinkonun spektrofotometrik tayini de vardır. PAR (piridil azorezorsinol) bunlardan biridir. Setildimetil benzilamonyum klorür ortamında molar absorptivitesi  $9,1.10^4$ 'tür.**

Piridil azo bileşiklerinin brom ve klor türevleri (örneğin 5-Br-PADAP)'de molar absorptivitesi  $1,3.10^5$  olan çok duyarlı yöntemdir. Duyarlılık, non-iyonik surfaktantların (örneğin triton X-100 ve anyonik surfaktant olan lauril sülfat) kullanılmaları ile artar.

Bunlar dışında azo reaktifler de çinko tayininde kullanılmaktadır. Çinkonun 5-nitro feno-(2-azo-1')-2'-( $\beta$ -asetil hidrazon) naftalinle tayininde Cd'un 500 kat fazla olduğu ortamlarda bile bozucu etkisi bulunmaktadır (Marczenko 1986).

**Çinko (II)'nin spektrofluorimetrik tayininden söz etmeden, genel olarak inorganik maddelerin fluorimetrik özelliklerinde söz edilmesi yararlı olacaktır. İnorganik maddeler arasında doğrudan doğruya floresans özelliği gösterenler oldukça azdır. İnorganik maddelerin fluorimetrik tayini için başlıca üç yöntem literatürlerde yer almaktadır.**

Bunlardan birincisi; doğal floresans özelliği gösteren inorganik tuzların tayinidir. Bunların doğrudan HCl veya HBr gibi uygun asitle çözülmesiyle hazırlanan çözeltilerinin tayini yapılabilir. Çözeltilerinde doğal floresans özellik gösteren türlere en önemli örnek lantanit ve aktinitlerdir. Bu tür elementlerin atomik yapılarındaki ortak özellikleri, UV ışınının absorpsiyonu ile daha yüksek enerjili orbitallere geçen "f" elektronlarının dolmamış seviyelerinin varlığıdır. Lantanit ve aktinitlerin normal olarak sulu çözeltilerinde rastlanan şekli  $M^{+3}$ 'tür. Bu elementlerin çoğu katı halde floresanttır. Ancak, yalnız samaryum (Sm), europiyum (Eu), gadolinyum (Gd), terbiyum (Tb) ve disprosiyum (Dy) sulu çözeltide floresans özellik gösterir (Guilbault 1983).

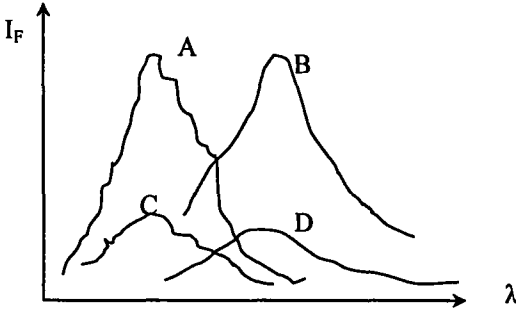
Bir diğer tayin yöntemi; **fluoresans özelliğini azaltan veya söndüren (engellenen) maddelerle yapılan tayindir.** Floresant olmayan bazı bileşikler, lüminesant söndürmeyle (quencing) veya lüminesant tepkime ürünü oluşturmak üzere bileşiklerle tepkime veren bir kimyasal reaktif yardımıyla nicel olarak tayin edilebilir. Örneğin; Sakamoto vd (1993 ve 1991) yaptığı çalışmalarda, floresans özellik gösteren Tb(III) ve Eu(III) çözeltilerine, bakır(II) nitrat trihidrat, nikel(II) nitrat heksahidrat veya bu katyonların  $N,N'$ -



di(salisiliden)-1,3-propandiamin komplekslerinin eklenmesiyle floresans şiddetlerindeki değişimleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, bakır(II) nitrat trihidrat eklenmesinde, Te(III) ve Eu(III) çözeltilerinin floresans şiddetleri pek fazla bir değişim göstermemesine rağmen, nikel(II) nitrat heksahidrat eklenmesiyle floresans şiddetinde kısmen de olsa azalma olduğu görülmüştür. Ancak; özellikle Cu(II) ve Ni(II) kationlarının N,N'-di(salisiliden)-1,3-propandiamin ile yaptığı komplekslerin ilavesinde Te(III) ve Eu(III) çözeltilerinin floresans şiddetlerini tamamen söndürdüğü görülmüştür. Tb(III) ile Eu(III)'ün floresans şiddetlerindeki azalmalar, Cu(II) ve Ni(II) kationları ile heteronükleer oluşumlardan ve fenolik oksijen atomları arasında bir köprü oluşmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Böylelikle nicel analizi yapılan iyonun değişik tür maddelerle karışımının floresans şiddetindeki azalmanın çalışma eğrisinden yararlanarak tayini yapılabilmektedir.

Son grup tayin yöntemi, bazı metallerin floresant bir ürün oluşturmak üzere floresant olmayan bir ligand veya kompleksleştirici ile tepkimeye sokularak tayin edilmesidir. Genellikle kompleksleştirici madde olarak kullanılan organik ligandlar oksijen ve azot gibi heteroatomlar içerir ve floresant değildirler. Fluorimetrik bir reaktifin ilavesiyle tayin edilebilmekte olan inorganik elementler arasında Al, Au, B, Be, Ca, Cd, Ga, Mg, Sb, Se, Si, Sn, W, Zn, Zr yer almaktadır (Guilbault 1983).

Örneğin, kadmiyum, galyum ve indiyum kationlarının bulunduğu ortamda, çinkonun benzil 2-piridil keton 2-piridil hidrazon (BPKPH) Schiff bazı ile yaptığı kompleksten yararlanarak fluorimetrik tayini önerilmiştir. Floresans çalışmalarında çinko(II)'nin tek başına floresans özellik göstermemesine rağmen şelatlaşma ile floresans şiddetlerinde dikkati çekecek şekilde bir artışın olduğu görülmüştür (şekil 2.17). Ayrıca bu çalışmada hidrazonların metal iyonlarının spektrofluorimetrik olarak tayinleri için çok iyi flurojenik reaktifler oldukları ileri sürülmüştür. Bu çalışmada kadmiyum, galyum ve indiyum kationlarının bulunduğu ortamda ve bazik şartlarda, çinko(II)'nin benzil-2-piridil keton 2-piridil hidrazon kompleksi ile fluorimetrik olarak tayin alt sınırı 15ng/mL olarak bulunmuştur (Garcia-Sanchez vd 1982).



Şekil 2.17. pH=11,3, [Zn]= $5 \times 10^{-6}$ M ve [BPKPH]=  $1 \times 10^{-6}$ M şartlarında A, C düzeltilmemiş uyarılma spektrumları, B ve D ise düzeltilmiş emisyon spektrumları A ve B kompleksin, C ve D ise çinko(II)'nin spektrumları

Benzer başka bir çalışmada ise, çinko(II)'nin pikogram seviyesinde tayini için, pH= 4,4-4,7 aralığında % 52'lik (v/v) etil alkol ve iyonik olmayan triton x-100 yüzey aktif maddeli ortamda, çinko(II) salisil tiyokarbohidrazon ile tepkimeye sokularak fluorimetrik olarak tayin edilebileceği ortaya konulmuştur (Garcia de Torrees vd 1989). Önerilen bu yöntemin, Cd(II) ve Hg(II)'li ortamlarda yüksek seçiciliğe ve hassasiğe sahip olduğu öngörülmüştür. Salisil tiyokarbohidrazon (SATCH) reaktifi hızlı bir şekilde çinko(II) iyonları ile tepkime vererek sarı renkli kompleks oluşturduğu belirtilmiştir. Bu reaktifin tek başına zayıf absorpsiyon spektrumuna sahip olduğu belirtilmiş ve kompleks oluşumu ile fluoresans şiddetinin arttığı görülmüştür. Öte yandan ortama yüzey aktif maddesinin eklenmesiyle, kompleksin uyarılma dalga boyu 392 nm'den 418 nm'ye bathokromik bir kayma göstermiş, fluoresans şiddetleri yaklaşık olarak 1000 katlık bir artış göstermiştir. Ayrıca; pH etkisi, etil alkollü ortamda çinko(II), SATCH ve yüzey aktifli kompleksin 2 -12 aralığında fluoresans şiddetleri ölçülerek en yüksek fluoresans şiddetlerinin 4,4-4,7 pH aralığında elde edildiği gözlenmiştir. Yayında aynı şekilde değişik miktarlarda yüzey aktif maddesi ve değişik yüzdelerde etil alkol kullanılarak en yüksek fluoresans şiddetinin elde edildiği şartlar belirlenmiştir. Çalışmalar sonucunda; %1'lik triton X-100 yüzey aktif maddesinin 1-5 mL arasında kullanılması, [SATCH] derişiminin  $8 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-4}$  M aralığında olması, etil alkol oranını % 52- 72 (v/v) olması ile çinko(II)'nin tayin alt sınırı 10 µg/mL olarak verilmiştir. Öte yandan yabancı iyon etkileri de 80 ile 4000 kat fazla miktarlarda ortama konularak fluoresans şiddetlerine etkileri incelenmiştir. Burada 5 µg/L Zn(II) iyonuna 0,4mg/L miktarlarında Cu(II), Ni(II), Co(II), Fe(II) ve Fe(III) iyonlarının şiddetli bozucu etkileri tespit edilmiştir.

Genellikle kompleksleştirici madde olarak kullanılan organik ligandların oksijen ve azot gibi heteroatomlar içerdiklerinden söz edilmişti. Çinkonun spektrofotometrik tayinlerinde, değişik ligand kullanımlarında floresans özellikler de değişmektedir. Örneğin Schilt, A. ve Hillison, E. (1980) yaptıkları çalışmada, çinko tayini için ferrouz tipli 38 ligandı incelemişlerdir. Bunlardan ancak 8 tanesinin pH=2-6 arasında, çinko için hassas fluorimetrik reaktifler olarak kullanılan kompleksleştirici maddeler, 2-(4-Metil-2-piridil)-benzimidazol, 2-(4-Metil-2-piridil-5(6)-fenil benzimidazol, 2-(1-izokinonil)-benzimidazol, 2-(1-izokinonil)-5(6)-fenil benzimidazol, 2-(3-izokinonil)benzimidazol, 2-(2-piridil) -2H-imidazo[4,5-h] kinolin ve 2-(3- izokinonil) -3H-imidazo[4,5-h] kinolin'dir.

West vd (1986) yaptıkları çalışmada ise, 2,2'-piridil bis(2-kinolil hidrazon), (PBQH), ligandını çinko(II) ve Cd(II) tayini için şelatlaştırıcı olarak kullanılmıştır. Bu ligand geçiş metal iyonları ile birlikte Zn(II) ve Cd(II) için % 80'lik etil alkol/ su ve pH=8 tampon çözeltisinde renkli kompleksler vermektedir. Bu komplekslerin, molar absorptiviteilerinin diğer geçiş metallerine göre daha büyük değerlere sahip oldukları tespit edilmiştir. Ancak Zn(II) ve Cd(II) komplekslerinin en yüksek absorpsiyon dalga boyları birbirlerine oldukça yakın olduğundan, PBQH, Zn(II) ve Cd(II) için seçici özellikte ligand değildir. Seçiciliğin az olması süstitue hidrazonların yaygın bir özelliğidir. Bu yüzden analitik çalışma öncesi ayırma işlemlerine ihtiyaç olduğu belirtilmektedir. Çalışmada anyon değiştirme yöntemi ile ayırmanın gerçekleştirilebileceği ortaya konulmuştur. Öte yandan en uygun pH değerleri ligand : metal oranı ve bozucu iyon etkileri incelenmiştir. Buna göre, pH= 8-10 aralığında, ve ligand: metal oranının 4:1 oranında en yüksek floresans şiddetleri görülmüştür. Ayrıca bu tür katyonların önerilen yöntem ile tayinlerinde alkali metaller, toprak alkali metaller, Al, lantanit ve aktinitlerin bozucu etkileri görülmemiştir. Analiz için hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden yararlanarak Zn(II) ve Cd(II) için tayin alt sınırı  $3,5 \times 10^{-7}$  M bulunmuştur.

Çinkonun ortamda bulunan başka tür katyonlarla birlikte tayinlerinin mümkün olabileceği Bark vd (1969) tarafından ortaya konulmuştur. Bu amaçla 2,2'-piridilbenzimidazol ligandı ile galyum, indiyum ve çinkonun birlikte spektrofotometrik tayinleri araştırılmıştır. Spektrofotometrik tayin için, en uygun pH aralığının tespiti, ligand derişimi, en yüksek uyarılma ve emisyon dalga boyları gibi spektral özelliklerin bulunmasından sonra elde edilen kalibrasyon grafikleri yardımıyla, çinko(II), 15-800 ng/mL aralığında

tain edilebilmiştir. Yapılan çalışmada, çinkonun Ga ve Indinyumlu veya yalnız Ga'lu veya yalnız In'lu ortamlarda tainin mümkün olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca, çinko kompleksinden 100 kat daha derişik Co(II), Ce(IV), Cu(I), Cu(II), Fe(III), Hg(II), Ni(II), MoO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, Pt(IV), Pd(II), Ag(I), S<sup>-2</sup> iyonlarının floresans sönümüne neden oldukları da görülmüştür.

Çinkonun özellikle atık sularda, spektrofiorimetrik tayini üzerine yapılan çalışmada o-hidroksi benzaldehitden türetilen 1,5-bis(2,3-dihidroksi fenil metilen) tiyokarbohidrazon (DPMTH) ligand olarak kullanılmıştır. Bu ligand, saf etilalkol içinde  $1 \times 10^{-2}$  M olarak hazırlanmış ve çinko oksit ile perklorik asitten hazırlanan 0,1 M çinko(II) perklorat stok çözeltisi ile kompleksi elde edilmiştir. Deneysel şartlarda, DPMTH'in floresans özelliği görülmemiştir. Zn(II)'nin DPMTH ile verdiği sarı renkli kompleksinin en yüksek floresans şiddeti, pH'nın 6,1-7,3 aralığında tespit edilmiştir. Bütün floresans ölçümleri  $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Bu sıcaklıkta, floresans şiddetleri en az 1 saat kararlı kalmıştır. Sıcaklık  $15^\circ\text{C}$  den  $45^\circ\text{C}$ 'ye yükseltildiğinde floresans şiddetleri her  $1^\circ\text{C}$ 'de %1,17 oranında doğrusal olarak azalmaktadır. Çözelti içindeki etil alkol %'si floresans şiddetine önemli ölçüde etkilemektedir. %80'lik etil alkol kullanımında en yüksek floresans emisyonun dalga boyu fazla değişmemesine karşılık uyarılma dalga boyunda bathkromik kayma gözlenmiştir. İyonik şiddetin floresans emisyon şiddetlerine etkisini incelemek üzere farklı derişimlerde sodyum ve potasyum tuzları ortama konularak test edilmiştir. Deneysel sonuçlara göre, iyonik şiddet floresans emisyonunu önemli miktarda değiştirmemektedir. Çalışma sonucunda, atık sularda çinko(II) 0,3-3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  mertebesinde tain edilebil-diği belirtilmektedir (Afonso vd 1986).

Çinko tainlerinde ortamda bulunan başka tür kasyonların, aynı tür ligandlarla kompleksler vermesinden ötürü çinko tainleri güçleşebilmektedir. Örneğin çinko ve kadmiyum organik ligandlarla floresant kompleksler oluşturmalarından ötürü fluorimetrik olarak tain edilebilirler. Ancak Cd'un floresant kompleksleri oluşurken aynı zamanda Zn'ninde floresant kompleksleri oluşur. Hatta Huston vd (1990)'nin yaptığı çalışmada; (anthrilmetil)pentasiklen ile elde edilen kadmiyum ve çinko komplekslerinin, emisyon spektrumları üst üste çakıştığından tek dalga boylu ölçümlerle bu metal iyonlarının taininin oldukça güç olduğu ifade edilmektedir. (Prat vd 1992). Bu sorun, senkron spektrofiorimetrisi ile aşılmaktadır. Senkron spektrofiorimetre, uyarma ve emisyon monokromatörleri aralarında sabit bir dalga boyu farkı, ( $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$ ), elde edilinceye kadar eş zamanlı (simultane) tarama yapılarak yani aynı anda iki taneciğin birlikte taini için

spektrum elde etme yöntemine denir. Senkorinize (uyuşumlu) spektrumlar, tek başına seçiciliği yükseltme yeteneğine sahiptir. Ancak bir çok durumda ilave ayırmalar (resolution) için türevsel spektroskopiye ihtiyaç vardır. Türevsel spektroskopi, birbirleri üzerine çakışan spektrumların birbirlerinden ayrılmasına yardımcı olmaktadır. Dolayısıyla senkorinize ve türevsel tekniklerin birleştirilmesi ile, artan seçicilik, yüksek duyarlılık ve daha düşük alt tayin değerleri elde edilebilir. Bu yöntem, özellikle birden fazla floresant madde içeren karışımların nicel analizlerinde kullanılır.

8-(p-toluen sulfonamido)-kinolinle sodyum laurilsülfat miseller ortamında çinko(II) ve Cd(II) komplekslerinin spektrofluorimetrisi üzerine yapılan bir çalışmada da, (Prat vd 1992) birinci türev spektrumları iki sabit dalga boyunda Zn(II) ve Cd(II) tayinleri için kullanılmıştır.

Garcia Sanchez vd (1986) senkorinize türevsel fluorimetri yöntemini kullanarak, çinko(II) ile fluorejenik tepkime veren 2-furalaldehit 2-piridil hidrazon (FAPH) ligandının kompleksinden yararlanarak, domuz ciğerlerinde ve çevresel dumanlarda ng/mL seviyesinde çinko tayinin mümkün olabileceğini göstermiştir.

Bir başka çalışmada ise, Al ve Zn karışımları birincil ve ikincil türev senkronize fluorimetrik yöntemle tayin edilmiştir (De La Pena vd 1988). Bu amaçla Al ve Zn 8-hidroksi kinin-5-sülfonik asit ile hegzadesiltrimetil amonyum bromür, (HQS), yüzey aktif maddesi ile birlikte kompleksleri oluşturulmuştur. Bu kompleksin pH=5-7 arasında maksimum fluoresans şiddeti verdiği gözlenmiştir. Bu çalışmada, çinko(II)'nin 0,1-1 µg/ml arasında tayin edilebildiği öngörülmüştür.

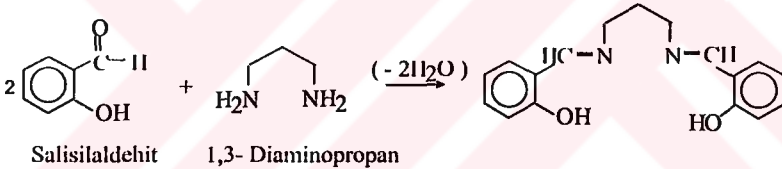
Ayrıca, fluoresans şiddetlerine analit ile reaktiflerin karıştırma sırasının değiştirilmesinin pek fazla bir etkisinin olmadığı da bir çok yayında belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çinko tayini için spektrofotometrik bir metot geliştirilmesini amaçlayan bu çalışmada ilk olarak iki Schiff bazı sentezlenmiştir. Daha sonra bu bazların çinko kompleksleri hazırlanmıştır. Hazırlanan komplekslerin fluorimetrik özellikleri incelenerek, analitik amaçlı kullanılıp kullanılmayacakları ve bunun optimal şartları araştırılmıştır.

#### 3.1. Kullanılan Schiff Bazları

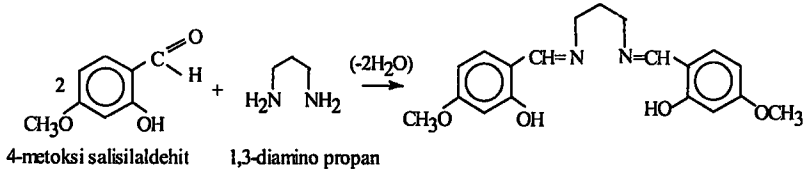
Çalışmada ilk olarak kompleksleri hazırlanması düşünülen iki Schiff bazı sentezlenmiştir. Bunlardan; **N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin** literatürdeki yöntemle uygun hazırlanmıştır (Arıcı vd 1999). Bu amaçla; etil alkolle yıkanmış 200 mL'lik behere yaklaşık 9,71 g (0,08mol) salisilaldehit konularak, yaklaşık 100 mL etil alkolde çözülmüştür. Kaynama sıcaklığına kadar kontrollü ısıtıldıktan sonra, çözeltiye yaklaşık 2,957 g (0,04 mol) 1,3-diaminopropan azar azar ilave edilmiştir. 24 saat bekletildikten sonra, oluşan sarı renkli kristaller vakum altında süzölmüştür. Elde edilen N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazının molekül ağırlığı 282 g/mol; erime sıcaklığı 58 °C ve elde edilme verimi yaklaşık % 92'dir.



Elde edilen N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazından yaklaşık 0,28 g ( $10^{-3}$  mol) tartılarak, 100 mL'lik ölçülü bir balonda MeOH ile çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan 100 mL'lik yaklaşık  $10^{-2}$  M derişimdeki bu çözelti stok çözelti olarak kullanılmıştır.

Kompleksleri hazırlanması düşünülen ikinci Schiff bazı **N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin** de literatürdeki yöntemle uygun hazırlanmıştır (Arıcı vd 1999). Bu amaçla; etil alkolle yıkanmış 200 mL'lik bir behere yaklaşık 1 g ( $6,58 \cdot 10^{-3}$  mol) 4-metoksi salisilaldehitten konularak, yaklaşık 25 mL etil alkolde çözülmüştür. Kaynama sıcaklığına dek ısıtılan çözeltiye yaklaşık 0,25 g ( $3,4 \cdot 10^{-3}$  mol) 1,3-diaminopropan azar azar ilave

edilmiştir. Karışım 24 saat bekletildikten sonra, oluşan sarı renkli kristaller vakum altında süzölmüştür. Elde edilen N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazının moleköl ağırlığı 342 g/mol'dür.



Elde edilen N,N'-bis(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazından yaklaşık 0,342 g ( $10^{-3}$  mol) tartılarak, 100 mL'lik ölçölü bir balonda MeOH ile çözülmüştür. Hazırlanan 100 mL'lik yaklaşık  $10^{-2}$  M derişimdeki bu çözeltili stok çözeltili olarak kullanılmıştır.

### 3.2. Kullanılan Diğer Çözeltiler

Çalışmada çeşitli amaçlarla kullanılan diğer çözeltiler kısaca aşağıda verilmiştir. Bu çözeltilerin önemli bir kısmı çözeltili ortamının pH ayarlamalarında kullanılmıştır. Diğer çözeltiler ise kompleks hazırlamada ve bozucu etkileri incelemede kullanılan metal tuzu çözeltileridir.

**Çinko(II) klorür çözeltilisi;** 1 litre çözeltilde yaklaşık 1 gram Zn(II) iyonu içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bunun için; yaklaşık 0,47 g susuz çinko klorür tartılarak 1 litrelik ölçölü balonda, bidistile su ile çözülmüştür. Hazırlanan 1 litrelik çözeltili stok çözeltili olarak kullanılmıştır. Çözeltildeki çinko(II) derişimi pirofosfat şeklinde çöktürölmek suretiyle gravimetrik olarak ayarlanmıştır.

**Potasyum hidrojenftalat çözeltilisi;** pH-metrenin ayarlanmasında primer standart olarak kullanılmak üzere 1 g  $C_8H_5KO_4$  (MERCK-4874) 50 mL bidistile su içinde çözümlenerek hazırlanmıştır. Çözeltilinin pH değeri 4,13'tür.

**Sodyum bikarbonat çözeltilisi;** pH-metrenin ayarlanmasında kullanılmak üzere 1 g  $NaHCO_3$  (FLUKA-71630) 50 mL bidistile su içinde çözümlenerek hazırlanmıştır. Çözeltilinin pH değeri 8,20'dir.

**Sodyum Asetat çözeltilisi;** çalışmada çözeltili ortamının pH ayarlamalarında kullanılmıştır. 250 mL ölçölü bir balonda 20,5 g  $NaCH_3COO$  (MERCK-6268) bidistile su ile çözümlenerek 1 M derişimde stok sodyum asetat çözeltilisi

hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden alınan örneklerle hesaplanan oranlarda çift damıtık su ve HCl eklemek suretiyle pH=3,5 -4- 5-6 olan çözeltiler hazırlanmıştır. Ayarlamalar pH-metre kullanılmak suretiyle yapılmıştır.

**Amonyum Asetat çözeltisi;** çalışmada çözelti ortamının pH ayarlamalarında kullanılmıştır. pH değeri 7,00 olan bir çözelti hazırlamak için, 100 mL ölçülü bir balonda yaklaşık 1,541 g  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$  (MERCK-1116) bidistile su ile çözülmüştür. Yaklaşık 0,2 M'lık bu çözelti pH-metre kullanılarak ayarlanmıştır.

**Amonyum klorür çözeltisi;** çalışmada çözelti ortamının pH ayarlamalarında kullanılmıştır. 100 mL ölçülü bir balonda yaklaşık 5,35 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Riedel-de Haen-11209) bidistile su ile çözülmüştür. Hazırlanan yaklaşık 1 M'lık stok amonyum klorür çözeltisinden, NaOH eklemek suretiyle pH değerleri 8 ve 9 olan çözeltiler hazırlanmıştır.

**Cu(II) çözeltisi;** yaklaşık 3,14 g  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  alınarak 100 mL'lik ölçülü balonda, bidistile suda çözülmüştür. Hazırlanan 100 mL'lik stok çözeltinin her mL'sinde yaklaşık 10 mg Cu(II) bulunması amaçlanmıştır.

**Pb(II) çözeltisi;** yaklaşık 2,06 g  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  tartılarak 100 mL'lik ölçülü bir balonda bidistile suda çözülmüştür. Hazırlanan 100 mL'lik stok çözeltinin her mL'sinde yaklaşık 10 mg Pb(II) bulunması amaçlanmıştır.

**Ag(I) çözeltisi;** yaklaşık 1,57 g  $\text{AgNO}_3$  tartılarak 100mL'lik ölçülü bir balonda bidistile suda çözülmüştür. Hazırlanan 100 mL'lik stok çözeltinin her mL'sinde yaklaşık 10 mg Ag(I) bulunması amaçlanmıştır.

**Cd(II) çözeltisi;** yaklaşık 2,37 g  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  tartılarak 100mL'lik ölçülü bir balonda bidistile suda çözülmüştür. Hazırlanan 100 mL'lik stok çözeltinin her mL'sinde yaklaşık 10 mg Cd(II) bulunması amaçlanmıştır.

### 3.3. Standart Referans Maddeler

Geliştirilmesi düşünülen fluorimetrik metodun doğruluk ve güvenilirliğini; gerçek numunelere uygulanabilirliğini test etmek amacıyla çeşitli standart referans maddeler kullanılmıştır. Bunlara ilişkin bilgiler aşağıda verilmiştir. **Zink technick III çözeltisi;** hazırlamak amacıyla bileşimi çizelge 3.1.'de verilen madde kullanılmıştır. Bu madde, Dr.Hoefner's Substanz firmasından temin edilmiştir (Nr.1004). Referans çözelti hazırlamak üzere, bir behere



0,12 g Zink technick III konularak ve HNO<sub>3</sub> ile çözünürleştirilmiştir. Daha sonra bidistile su ile 100 mL'ye seyreltilmiştir.

Çizelge 3.1. Zink technick III bileşimi

Element	Bileşimi, %
Zn	98,80
Pb	1,17
Fe	0,02
Cu	0,01
Al +Cd	Eser miktarda

**Zinkoxyd IV çözeltisi;** hazırlamak amacıyla bileşimi çizelge 3.2.'de verilen madde kullanılmıştır. Bu madde, Dr.Hoefner's Substanz firmasından temin edilmiştir (Nr.944). Referans çözelti hazırlamak üzere, bir behere 0,14 g Zinkoxyd IV konularak ve HNO<sub>3</sub> ile çözünürleştirilmiştir. Daha sonra bidistile su ile 100 mL'ye seyreltilmiştir.

Çizelge 3.2. Zinkoxyd IV bileşimi

Element/Bileşik	Bileşimi, %
SiO <sub>2</sub>	2,60
Zn	68,40
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,10
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,35
CaO	4,15
MgO	4,30

**Standart Zn(II) çözeltisi;** Wako Pure Chemical Industries Ltd.'den temin edilmiştir (YL G9 116 Zn.1000). Çözeltinin derişimi 1000 ppm dir.

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddelerin, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firma ve saflık dereceleri

Madde	Firma	Saflık Derecesi
Salisilaldehit	MERCK	>99 %
1,3-Diamino propan	MERCK	>99 %
4-Metoksi salisilaldehit	MERCK	>99 %
Çinko klorür, ZnCl <sub>2</sub>	MERCK	-
Amonyum klorür, NH <sub>4</sub> Cl	Riedel-de Haen	99,8 %
Diamonyum hidrojenfosfat, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Riedel-de Haen	-
Hidroklorik asit, HCl	Riedel-de Haen	36,5-38 %
Sodyum asetat, CH <sub>3</sub> COONa	MERCK	>99 %
Amonyak, NH <sub>3</sub>	MERCK	24 %
Metil alkol, CH <sub>3</sub> OH	MERCK	99,5 %
Etil alkol, C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	MERCK	-
Potasyum hidrojenftalat, C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub>	MERCK	99,9-100%
Sodyum bikarbonat, NaHCO <sub>3</sub>	FLUKA	>98 %
Sodyum hidroksit, NaOH	MERCK	97 %
Amonyum asetat, NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> COO	MERCK	96 %
Kadmiyum asetat, Cd(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	MERCK	-
Cu (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	MERCK	-
Kurşun nitrat, Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	DAMON-GUIDE	-
Gümüş Nitrat, AgNO <sub>3</sub>	MERCK	-
Zink technick.III	Dr.Hopfner's Analysen	98,8 %
Zinkoxyd IV	Dr.Hopfner's Analysen	68,4 %

### 3.4. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada floresans ölçümleri Perkin-Elmer LS-50 markalı, Xe-Lambalı bir Lüminesans Spektrometre ile yapılmıştır. Bütün enstrümental parametreler, floresans veri yönetici yazılımı olan, FLwinlab adlı yazılım (software) programıyla düzenlenmiştir. Her türlü ölçüm, çizim ve çalışma grafikleri bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Fluorimetrik ölçümlerde ortamın pH değerinin floresans şiddeti üzerine etkisi dikkate alınarak, ortam pH değerleri uygun tampon çözeltiler kullanılmak suretiyle ayarlanmıştır. Ayarlar, Jenway-3040 Ion Analyser pH-metre yardımıyla kontrol edilmiştir.

#### 4. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışma esas olarak, çinko(II) iyonunun seçilen N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ile N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazlarıyla oluşturduğu komplekslerin fluorimetrik özelliklerinin incelenmesini; bunların çinko(II) iyonunun nicel tayininde kullanılıp kullanılmayacağına araştırılmasını amaçlamıştır.

Bu amaçla, ilk olarak söz konusu iki Schiff bazı daha önce açıklandığı şekilde sentezlenmiştir. Sonra, yaklaşık 1000 ppm derişimindeki çinko(II) stok çözeltisi hazırlanmış; çözelti, çinko pirofosfat şeklinde çöktürülmek suretiyle gravimetrik olarak ayarlanmıştır. Daha sonra, Çinko(II)'nin N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazlarıyla kompleksleri hazırlanmıştır.

Fluoresans özellik gösterip göstermediklerini belirlemek amacıyla, sırasıyla Schiff bazlarının ve Schiff bazı-Zn(II) komplekslerinin çeşitli ortam ve şartlarda floresans spektrumları alınmıştır. Söz konusu Schiff bazları saf su ortamında çözünmediği için, çeşitli çözücü karışımları denenmiş, MeOH/su karışımının amaca uygun olduğu görülmüştür.

Çinko(II) iyonunun N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazlarıyla oluşturdukları komplekslerin spektrumlarında, uyarma dalga boyundan daha farklı bir dalga boyunda emisyon pikleri görüldüğünden, bu Schiff bazlarının çinko(II)'nin nicel tayininde kullanılabilecekleri anlaşılmıştır. Bu Schiff bazlarından N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiaminin çinko(II) ile oluşturduğu kompleksin daha şiddetli emisyon piki vermesinden dolayı, çinko(II) tayininde N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ligandının kullanılmasının daha uygun olacağı değerlendirilmiş; çalışmalar bu ligand üzerinde yoğunlaştırılmıştır.

Ligand olarak N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazının seçilmesinden sonra, fluorimetrik tayin için en uygun uyarma ve emisyon dalga boyları, en uygun ortam pH değeri, çözeltinin içerebileceği en uygun su oranı, MeOH ile tamponun karışımının en uygun oranları araştırılmıştır.

Fluoresans özelliğinin nicel amaçlı kullanımını belirleyen en uygun parametreler belirlendikten sonra, çinko(II) iyonlarının nicel tayinleri için fluorimetrik bir yöntem önerilmiştir. Önerilen yöntemin doğruluk ve güve-

nirliğinin belirlenmesi amacıyla standart referans maddelerin analizleri de yapılmıştır. Ayrıca; inko(II) iyonun fluorimetrik tayini üzerine muhtemel bazı kanyonların bozucu etkiler yapıp yapmadıkları da deneysel olarak incelenmiştir. Önerilen yöneme ilişkin yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Çalışmadaki tüm deneyler, en az beşer kez tekrarlanmıştır.

#### 4.1. Stok çözeltideki inko(II)'nin Gravimetrik Tayini

Daha önce açıklandığı üzere, inko(II)klorür kullanılarak yaklaşık 1000 ppm derişiminde stok çözelti hazırlanmış ve gravimetrik ynemele (Gündüz 1990) ayarlanmıştır. Bu amaçla; stok çözeltiden alınan 50'şer mL'lik numuneler 400 mL'lik beş behere alınmış; üzerlerine 5'er mL derişik HCl konulmuş ve kaynama sıcaklığına kadar ısıtılmıştır. Beherler ısıtıcıdan alınıp, üzerine yaklaşık 5'er g NH<sub>4</sub>Cl ilave edildikten sonra homojen oluncaya dek karıştırılmıştır. Başka bir beherde, bidistile suda yaklaşık 1 g CH<sub>3</sub>COONa ve yaklaşık 1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> zlerek hazırlanan çözelti bu karışımlara ilave edilmiştir. Metil kırmızısı indikatörlüğünde kırmızıdan sarıya dönüşünceye dek çözeltiye pipetle NH<sub>3</sub> eklenmiştir. Bu noktadan sonra da 1mL fazla NH<sub>3</sub> eklendikten sonra, kum banyosunda 2 saat bekletilmiş ve mavi bant süzgeç kağıdıyla szlmştr. Çökelek darası alınmış bir kroze de 900°C sıcaklıkta sabit tartıma getirilmıştir. Desikatörde yeterli süre bekletilen çinko pirofosfat (Zn<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) halindeki numuneler, analitik terazide tartılıp; tartımlar arasındaki fark % 0,03-4 oluncaya kadar işlemler tekrarlanmıştır. Tartım farkları, çinko pirofosfat için geçerli gravimetrik faktör olan 0,4291 ile çarpılarak inko(II)'nin kütleleri bulunmuştur. Bulunan kütle değerleri (a); ppm Zn =[(a) g Zn/ 50 mL çözelti]x10<sup>6</sup> formülünde yerine konularak stok Zn(II) zeltisinin derişimi ppm cinsinden hesaplanmış; sonuçlar izelge 4.1'de verilmiştir.

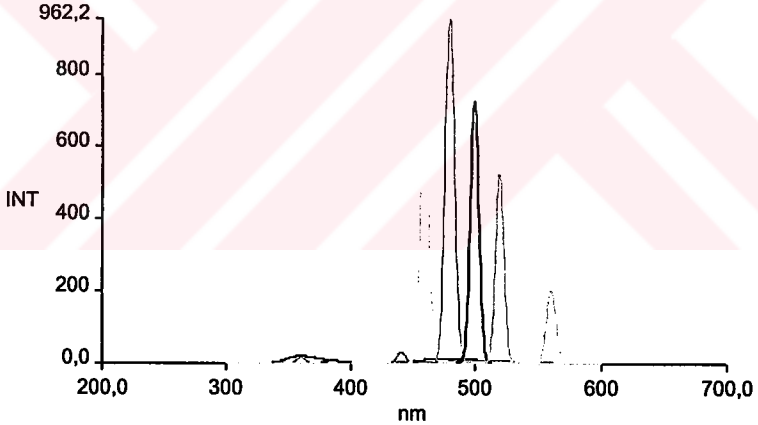
Çizelge 4.1. Stok olarak hazırlanan çinko klorür çözeltisindeki inko(II)'nin gravimetrik ynemele tayininden elde edilen sonuçlar

	Zn <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> kütlesi (g)	m <sub>inko(II)</sub> kütlesi (g)	Stok inko(II) zeltisinin derişimi (ppm)
1nci kroze	0,1005	0,0431	862,49
2nci kroze	0,1154	0,0518	990,36
3nci kroze	0,1155	0,0497	994,65
4nci kroze	0,1163	0,0499	998,09
5nci kroze	0,1137	0,0488	975,77
Stok inko(II) zeltisinin ortalama derişimi (ppm) ve standart sapması			964,27 ± 57,53

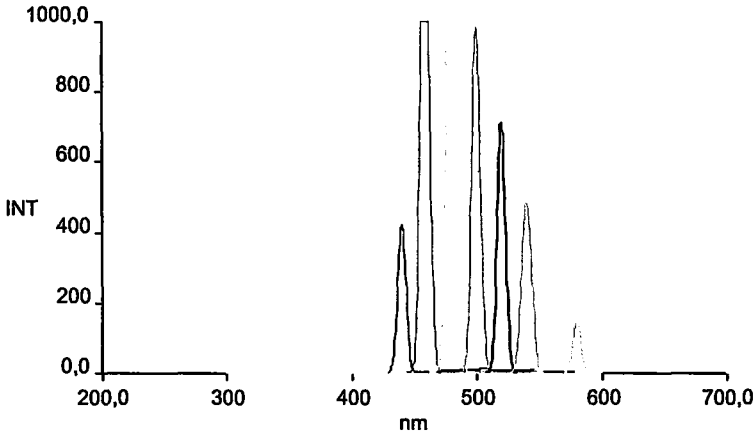
Hazırlanan çinko(II) stok çözeltisinin hesaplanan ortalama derişimi 964,27  $\pm$ 57,5ppm olup, bu değere göre gerçek derişim ortalaması %95 olasılıkla 892,75 $\mu$ <1035,79 aralığında bulunmuştur. Ancak; seyreltme ve hesaplama işlemlerinde çalışma ve ifade kolaylığı açısından bu çözeltinin anma derişimi 1000 ppm olarak kabul edilmiş ve son hesaplamalarda elde edilen sonuçlar 964,3/1000 faktörüyle çarpılarak düzeltilmiştir.

#### 4.2. Çinko(II)'nin Fluorimetrik Tayini İçin Uygun Schiff Bazı Seçimi

Çinko(II)-Schiff bazı kompleksinin fluorimetrik tayinlerine geçmeden önce; kaynak araştırmaları sonucu avantaj sağlayacağı düşünülen birkaç Schiff bazının fluoresans özellik gösterip göstermediklerini belirlemek üzere, fluoresans spektrumları alınmıştır. Spektrumlar incelendiğinde sadece uyarma dalga boyunda fluoresans (rezonans) verdikleri görülmüş; başka dalga boyunda emisyon pikine rastlanmamıştır (şekil 4.1 ve şekil 4.2). Dolayısıyla incelenen Schiff bazlarının fluoresans özellik göstermedikleri anlaşılmıştır.



Şekil 4.1. N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazının fluoresans spektrumu

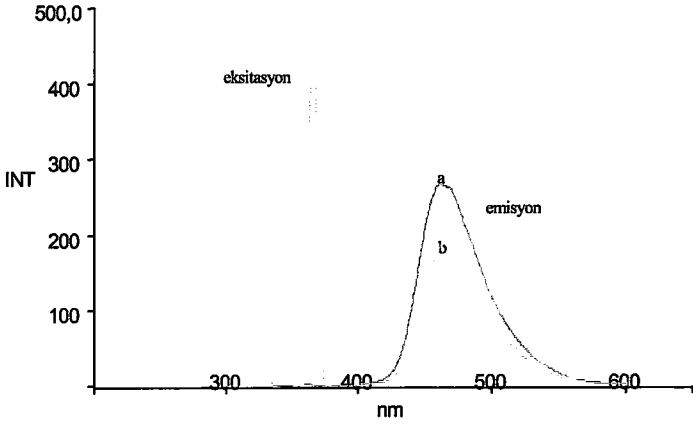


Şekil 4.2. N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazının fluoresans spektrumu

Çalışmada daha sonra; N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin ve N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazlarının önceden açıklandığı üzere, anma derişimi 10 ppm olan çinko(II) çözeltisi ve çizelge 4.2'deki oranlarda çözücü karışımı kullanılarak iki ayrı kompleks hazırlanmıştır. Bu komplekslerin fluorimetrik spektrumları alınmış; en uygun uyarma dalga boyunun  $\lambda_{\text{eks}}$  360 nm ve emisyon dalga boyunun  $\lambda_{\text{em}}$  470 nm olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.3).

Çizelge 4.2. 10 ppm'lik Çinko(II)'nin N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin komplekslerinin fluoresans ölçümleri için karışım oranları

Bidistile su (mL)	Metanol (mL)	10 ppm'lik çinko(II) çözeltisi (mL)	$10^{-2}$ M Ligand (mL)
0,0	1,6	0,2	0,2



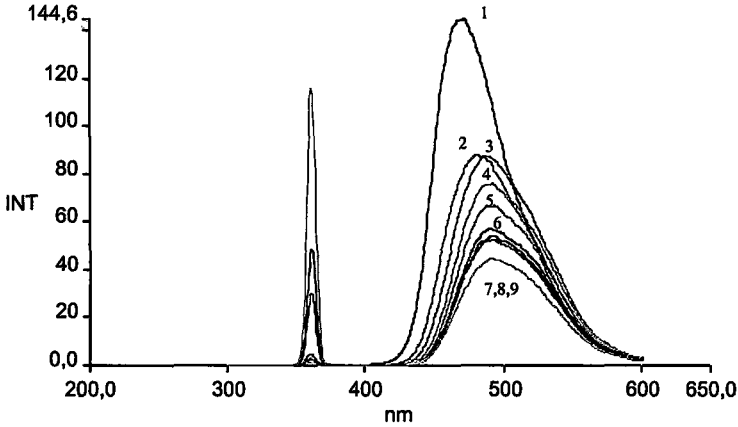
Şekil 4.3. a. 0,2mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin, b. 0,2 mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazları ile 0,2 mL 10 ppm'lik çinko(II) çözeltisi ve 0,0 mL su + 1,6 mL MeOH içeren komplekslerin spektrumları

#### 4.3. Çinko(II)-Schiff Bazı Kompleksi Tayini İçin En Uygun Şartlar

Çinko(II)- N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin kompleksinin fluoresans özelliği üzerine çözücü etkisini incelemek amacıyla, çizelge 4.3'teki verilen oranlardaki su + MeOH karışımları hazırlanmış ve fluoresans ölçümleri yapılmıştır (şekil 4.4).

Çizelge 4.3. Değişik oranlardaki su + MeOH karışımlarının 10ppm'lik Çinko(II)'nin N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin kompleksinin fluoresans şiddetlerine etkisini incelemek için hazırlanan çözeltiler

Bidistile su (mL)	Metanol (mL)	10 ppm'lik çinko(II) çözeltisi (mL)	$10^{-2}$ M Ligand (mL)
0,0	1,6	0,2	0,2
0,2	1,4	0,2	0,2
0,4	1,2	0,2	0,2
0,6	1,0	0,2	0,2
0,8	0,8	0,2	0,2
1,0	0,6	0,2	0,2
1,2	0,4	0,2	0,2
1,4	0,2	0,2	0,2
1,6	0,0	0,2	0,2



Şekil 4.4. Değişik oranlardaki su + MeOH karışımlarının 10 ppm'lik çinko(II) ile 0,2 mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin komplekslerinin fluoresans spektrumları (1) 0,00 mL su + 1,6 mL MeOH, (2) 0,2 mL su + 1,4 mL MeOH ve (3,4,5,6,7,8,9) diğer oranlar.

Spektrumların değerlendirilmesi sonucunda, ortamda en az oranda su içeren çözeltilerin en yüksek fluoresans şiddeti verdiği görülmüştür.

Çözelti ortamının en uygun pH aralığının belirlemek amacıyla da çalışma yapılmıştır. Değişik pH'lardaki tampon çözeltiler, çözücü, çinko(II) ve ligand oranları çizelge 4.4'te verildiği şekliyle (0,2 mL tampon çözelti + 1,4 mL MeOH + 0,2 mL 1000 ppm'lik, 100 ppm'lik veya 10 ppm'lik çinko(II) çözeltileri + 0,2 mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazı) alınmak suretiyle çok sayıda karışımın spektrumu alınmıştır.

Çizelge 4.4. En iyi pH aralığının tespiti amacıyla, değişik pH'larda karıştırılan ayarlı tampon çözeltiler ve diğer maddelerin karışım oranları

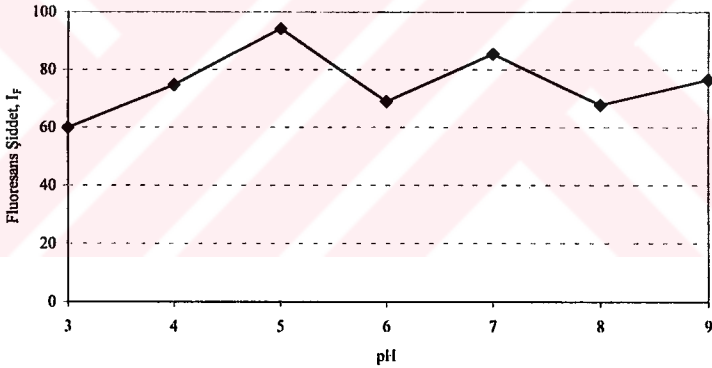
pH	Tampon hacmi (mL)	Metanol (mL)	1000 ppm, 100ppm, 10ppm, 1ppm gibi değişik derişimlerde çinko(II) çözeltisi(mL)	$10^{-2}$ M Ligand(mL)
3	0,2	1,4	0,2	0,2
4	0,2	1,4	0,2	0,2
5	0,2	1,4	0,2	0,2
6	0,2	1,4	0,2	0,2
7	0,2	1,4	0,2	0,2
8	0,2	1,4	0,2	0,2
9	0,2	1,4	0,2	0,2



Yapılan çalışmalar sonucunda pH=5-8 aralığında 10 ppm'lik çinko(II) çözeltisinin yüksek floresans şiddetleri verdiği görülmüştür. Tampon çözeltinin her bir deneyden hemen önce hazırlanması gerektiği, buna en uygun olanının ise pH=7 tampon çözeltisi olduğu için, çalışmalarımızda bunu sağlayan amonyum asetat çözeltisi kullanılmıştır. Deneysel sonuçlar çizelge 4.5'de ve şekil 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. 10 ppm'lik çinko(II)'nin 0,2mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin kompleksinin pH'a bağlı çalışmaların sonuçları

pH	$\lambda_{\text{eks.}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	Floresans Şiddet, $I_F$
3	363	473	59,84
4	365	465	74,69
5	362	468	94,22
6	359	483	68,90
7	361	471	85,35
8	362	472	67,71
9	358	477	76,52



Şekil 4.5. 10ppm'lik çinko(II)'nin 0,2mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandi amin kompleksinin pH değişimine bağlı floresans şiddetleri

Yüksek derişimlerde çinko(II) iyonları (1000ppm ve 100ppm) içeren karışımlar için floresans piklerinin oldukça şiddetli oldukları görülmüştür. Ancak; bu derişimlerdeki komplekslerin elde edilen spektrum pikleri çok geniş ve gürültülü olduklarından, yüksek derişimde çinko(II) iyonları içeren

karışımlar yerine derişimi 10 ppm olan çinko(II) çözeltileri ile çalışılması uygun bulunmuştur.

Bu tayinler yapılırken önce pre-scan metodu kullanılarak maksimum uyarma  $\lambda_{eks}$  ve maksimum emisyon  $\lambda_{em}$  değerleri bulunmuş; sonra çalışma koşullarına uygun hassas ayarlar yapılmıştır.

Uygun slit aralıkları, uyarma ve emisyon için 5 nm ve 10 nm olmak üzere ayrı ayrı denenmiştir. 10 nm'de ölçülen fluoresans şiddetlerinin yüksek oranda çıkması, çalışmada maksimum dalga boylarının görülebilmesini engellemiştir. Bu yüzden slit aralığı 5 nm olarak seçilmiştir.

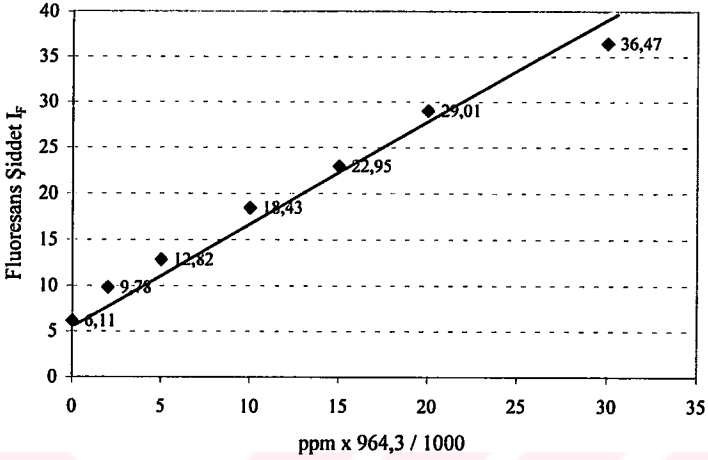
#### 4.4. Çinko(II) nin Fluorimetrik Tayini İçin Kalibrasyon Grafiği

Kalibrasyon grafiği çizmek amacıyla ilk olarak 0,0001 ppm - 100 ppm arasında bir seri çözelti hazırlanmış; bu çözeltilerin emisyon şiddetleri ölçülerek derişimlerine karşılık grafiğe geçirilmiştir. Ancak; bu kalibrasyon grafiğinde, 1 ppm'in altındaki derişimlere karşılık ölçülen emisyon şiddetleri yaklaşık aynı olduğu için, 1 ppm'in üzerindeki derişimlerde çalışılması uygun görülmüştür. Buna göre; 0 , 2 , 5 , 10 , 15, 20 ve 30 ppm derişimlerindeki çinko(II) çözeltilerinden 5'er seri hazırlanarak fluoresans şiddetleri ölçülmüş (çizelge 4.6) ve derişime karşı grafiği çizilmiştir (şekil 4.6).

Deneysel şartlarda değişiklikler olabileceği düşüncesiyle, her çalışma serisi öncesinde kalibrasyon grafiği yeniden çizilmiştir.

Çizelge 4.6. Stok çinko(II) çözeltilerinin fluorimetrik tayin için hazırlanışı ve fluoresans şiddetleri

Stok çinko(II) çözeltileri (ppm)	Stok çinko(II) çözeltisi(mL)	Metil Alkol (mL)	pH=7 tapanu(mL)	10 <sup>-2</sup> M Ligand(mL)	I <sub>F</sub>
0	0,3	2,1	0,3	0,3	6,11
2	0,3	2,1	0,3	0,3	9,78
5	0,3	2,1	0,3	0,3	12,82
10	0,3	2,1	0,3	0,3	18,43
15	0,3	2,1	0,3	0,3	22,95
20	0,3	2,1	0,3	0,3	29,01
30	0,3	2,1	0,3	0,3	36,47



Şekil 4.6. Stok çinko(II) hazırlanan çözeltilerin derişimlerine karşı ölçülen fluoresans şiddetlere göre çizilen kalibrasyon grafiği

#### 4.5. Çözeltilerde Çinko(II) Tayini

Çinko(II) stok çözeltisinden seyreltme yoluyla, 5'er serilik anma derişimi 7 ve 25 ppm olan çözeltiler hazırlanarak, fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Şekil 4.6'deki çalışma grafiği kullanılarak çizelge 4.7 ve çizelge 4.8'de elde edilen fluoresans şiddetlerine karşılık gelen düzeltilmiş derişim değerleri bulunmuştur. Düzeltilmiş derişim değerleri, şekil 4.6'deki kalibrasyon grafiğinde her ölçülen fluoresans şiddetine karşılık gelen derişim değerinin 964,3/1000 değeri ile çarpılmasından elde edilen değerlerdir.

Çizelge 4.7. Anma derişimi 7 ppm olan çözeltinin fluoresans şiddetleri ve şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden elde edilen düzeltilmiş derişimleri

7 ppm için $I_f$	Düzeltilmiş Derişim (ppm)
17,28	8,48
15,91	7,13
17,91	9,25
19,99	11,28
20,55	11,67
Ortalama: 9,56 ppm	

Çizelge 4.8. Anma derişimi 25 ppm olan çözeltinin fluoresans şiddetleri ve şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden elde edilen düzeltilmiş derişimleri

25 ppm için $I_F$	Düzeltilmiş Derişim (ppm)
33,25	24,30
32,71	23,91
30,19	21,50
31,03	22,37
29,79	21,21
Ortalama: 22,66 ppm	

#### 4.6. Standart Numune Analizleri

Önerilen metodun doğruluk ve güvenilirliğini belirlemek amacıyla, standart numune analizleri de yapılmıştır. Bu amaçla; 1000 ppm derişimindeki çinko(II) standart çözeltisi, zink technick III ve zinkoxyd IV standartları analiz edilmiştir.

Zink technick III ve zinkoxyd IV alaşimleri yaklaşık 0,1 g tartılarak nitrik asitte çözünürleştirilmiş, bidistile suyla 100 mL çözelti hazırlanmıştır. Elde edilen bu çözeltilerden 10'ar ppm'lik Zn(II) içeren 5 seri çözelti hazırlanmıştır. Ayrıca 1000 ppm'lik çinko(II) çözeltisinden de 10 ppm'lik ve 20 ppm'lik iki ayrı 5'er seri çözeltiler hazırlanarak fluorimetrik ölçümleri yapılmıştır.

Ölçülen fluoresans şiddetlerine karşılık gelen derişimler şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden bulunarak, düzeltilmiş derişim değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar, çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Standart Numune Analizlerinin fluoresans şiddetleri ve düzeltilmiş derişim değerleri

$\mu=10$ ppm Zn(II)		$\mu=20$ ppm Zn(II)		Zink technick III		Zinkoxyd IV	
$I_F$	Derişim	$I_F$	Derişim	$I_F$	Derişim	$I_F$	Der.
18,19	9,74	31,32	21,02	20,41	11,47	16,59	8,20
19,45	10,60	27,91	18,32	17,10	8,68	15,89	7,61
17,52	8,97	27,10	18,42	18,23	9,64	15,29	6,94
17,04	8,68	29,07	19,29	18,97	10,32	14,65	6,56
17,63	9,06	25,83	16,58	19,81	10,89	15,69	7,42
19,08	10,41	32,67	22,56				
19,44	10,80	27,74	18,13				
18,35	10,02	28,69	18,90				
18,22	9,74						
Ortalama	9,78 ppm	Ortalama	19,15 ppm	Ortalama	10,20 ppm	Ortalama	7,35 ppm

#### 4.7. Bozucu Etkilerinin İncelenmesi

Çinko(II)'nin fluorimetrik tayini üzerine muhtemel bazı katyonların bozucu etkisi de deneysel olarak incelenmiştir. Bu amaçla, önerilen metot çeşitli karışımların analizine uygulanmıştır. Bozucu iyon olarak  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$  ve  $Ag^{+}$  kullanılmış; bu iyonlar ile Zn(II) iyonunu değişik oranlarda içeren ikili karışımlar hazırlanmıştır. Karışımlar 1 mL'de 10 mg bozucu iyon içerecek şekilde  $Cd(NO_3)_2$ ,  $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ ,  $Pb(NO_3)_2$ ,  $AgNO_3$  bileşikleri kullanılarak hazırlanmıştır. Bu iyonların çinko iyonu ile derişim oranları 1:1, 1:10 ve 1:50 olan karışımlarının fluorimetrik ölçümleri, Zn tayini ile aynı koşullarda yapılmıştır. Şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiği kullanılarak derişim değerleri bulunmuş, bunlardan düzeltilmiş derişim değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar, çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Değişik derişimlerdeki Çinko(II) çözeltisi ile değişik derişimlerdeki Cd(II), Cu(II), Pb(II) ve Ag(I) katyonların karışımdan elde edilen çözeltilerin pH=7'deki fluoresans şiddetleri

Zn:Cd (1:1)		Zn:Cd (1:10)		Zn:Cd (1:50)	
$I_F$	Derişim(ppm)	$I_F$	Derişim(ppm)	$I_F$	Derişim(ppm)
25,00	12,34	24,67	12,05	12,69	4,92
21,22	9,93	25,00	12,15	13,43	5,11
19,49	8,97	23,44	11,18	15,39	6,27
19,78	9,16	26,77	12,92	13,76	5,30
20,40	9,45	23,67	11,47	14,23	5,97
Ortalama : 9,97ppm		Ortalama : 11,95ppm		Ortalama : 5,51ppm	

Zn:Cu (1:1)		Zn:Cu (1:10)		Zn:Cu (1:50)	
$I_F$	Derişim(ppm)	$I_F$	Derişim(ppm)	$I_F$	Derişim(ppm)
18,49	8,20	8,42	3,08	3,19	-
16,17	6,94	8,35	2,89	3,03	-
15,93	6,75	8,91	3,18	2,79	-
15,36	6,26	9,18	3,47	1,85	-
16,89	7,33	10,88	4,43	2,22	-
Ortalama : 7,10ppm		Ortalama : 3,41ppm		Ortalama : -	

Zn:Pb (1:1)		Zn:Pb (1:10)		Zn:Pb (1:50)	
$I_F$	Derişim(ppm)	$I_F$	Derişim(ppm)	$I_F$	Derişim(ppm)
18,87	9,16	17,54	8,19	4,77	0,86
17,06	8,10	15,23	6,95	4,86	0,96
17,99	8,67	15,96	7,47	4,72	0,77
16,54	7,71	16,12	7,70	4,80	0,91
18,43	8,87	15,95	7,43	4,91	1,01
Ortalama : 8,50ppm		Ortalama : 7,54ppm		Ortalama : 0,90ppm	

Zn:Ag (1:1)		Zn:Ag (1:10)		Zn:Ag (1:50)	
I <sub>F</sub>	Derişim(ppm)	I <sub>F</sub>	Derişim(ppm)	I <sub>F</sub>	Derişim(ppm)
16,79	7,91	14,77	6,94	5,59	1,35
16,68	7,71	16,49	7,81	5,62	1,39
19,47	9,35	18,85	9,16	5,45	1,25
15,86	7,23	16,95	8,00	5,07	1,06
16,48	7,67	17,39	8,19	5,09	1,06
Ortalama : 7,97ppm		Ortalama : 8,02ppm		Ortalama : 1,22ppm	

#### 4.8. Tayin Alt Sınırının Belirlenmesi

Önerilen metodun tayin alt sınırını belirlemek amacıyla, çinko(II) iyonu içermeyen; 0,3 mL amonyum asetat tamponu (pH=7), 2,1 mL MeOH, 0,3 mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve 0,3 mL bidistile sudan oluşan 5 seri karışımın fluoressans şiddetleri ölçülmüştür. Ölçülen fluoressans şiddetlerinden Şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiği kullanarak derişim değerleri bulunmuştur. Düzeltilmiş değerler Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. 0,3 mL amonyum asetat tamponu (pH=7), 2,1 mL MeOH, 0,3 mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propan diamin Schiff bazı ve 0,3 mL idistile su kullanarak çinko(II)'nin tayin alt sınırının tespiti için yapılan fluorimetrik ölçümler ve Şekil 4.8'deki kalibrasyon grafiğinden yararlanarak düzeltilmiş derişim değerleri

Fluoressans Şiddet	Derişim (ppm)
4,18	0,48
3,18	0
3,54	0,28
2,77	0
4,42	0,77
Ortalama: 0,30ppm	

## 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmada, çinko(II) iyonu ile N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ve N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin Schiff bazlarından elde edilen komplekslerin fluorimetrik özellikleri incelenmiş; bu özelliklerin çinko(II) iyonlarının nicel tayininde kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır.

Yapılan inceleme ve değerlendirmeler sonucunda; N,N'-bis-Salisiliden-1,3-propandiamin ile Zn(II) iyonunun oluşturduğu kompleksin fluorimetrik özelliği, Zn(II) iyonunun nicel tayininde bu Schiff bazının kullanılabilceğini göstermiştir. Söz konusu Schiff bazı ile çinko iyonunun oluşturduğu kompleksin fluoresans spektrumu nicel tayinine imkan sağlayacak şiddette olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). İncelenen diğer Schiff bazı N,N'-bis-(4-metoksi salisiliden)-1,3-propandiamin ile çinko iyonunun oluşturduğu kompleksin fluoresans şiddetinin daha zayıf olmasının, azometin gruplarına göre pozisyonuna bağlı metoksi sübstüentlerinin halkadaki elektron yoğunluğunu azaltmasından kaynaklandığı değerlendirilmektedir.

Seçilen Schiff bazının nicel amaçlı tayinlerde kullanılabilmesi için en uygun koşullar da belirlenmeye çalışılmıştır. Spektrumların değerlendirilmesi sonucunda, ortamda en az oranda su içeren çözeltilerin en yüksek fluoresans şiddeti verdiği görülmüştür.

En uygun pH aralığının 5-8 olduğu, ancak hazırlanma kolaylığı açısından pH=7 tampon ortamında çalışmanın daha uygun olacağı değerlendirilmiştir (çizelge 4.5'de ve şekil 4.5).

Belirlenen kompleksin fluorimetrik spektrumları alınmış; en uygun uyarma dalga boyunun  $\lambda_{eks}$  360 nm ve emisyon dalga boyunun  $\lambda_{em}$  470 nm olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.3).

Önerilen metodun güvenilirliğini belirlemek amacıyla, elde edilen analiz sonuçları, her ne kadar daha az duyarlı bir metod olsa da, çinko(II) iyonunun gravimetrik analizi sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Anma derişimi 7 ppm olan çinko(II) nin fluorimetrik tayini için; 0,3 mL 7 ppm stok çözelti; 2,1 mL MeOH; 0,3 mL amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7) ve 0,3 mL  $10^{-3}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ligandı kullanılarak 5 seri kompleks çözelti hazırlanıp, bunların fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden yararlanarak çinkonun ppm cinsinden

derişimleri bulunmuş; buradan düzeltilmiş derişim değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.7). Bu işlemler 25 ppm derişimli çinko iyonu içeren numuneler için de tekrarlanmıştır (çizelge 4.8).

Stok çinko(II) çözeltilisinden hazırlanan ve anma derişimleri 7 ve 25 ppm olan çözeltilerdeki çinkonun fluorimetrik olarak bulunan derişimleri ile gravimetrik yolla bulunan derişimlerin istatistiksel karşılaştırılması % 95 güven aralığı için çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Çinko(II) çözeltilisinin gravimetrik ve fluorimetrik derişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Çözeltiler	$x_1$	$x_2$	$ x_1-x_2 $	$\frac{ts}{\sqrt{N}}$	Açıklama
Anma Derişimi 7 ppm	6,75	9,56	9,56-6,75=2,81	3,58	%95 güven aralığında bu iki sonuç arasında anlamlı bir fark yoktur.
Anma Derişimi 25 ppm	24,10	22,66	22,66-24,1=1,44	6,36	%95 güven aralığında bu iki sonuç arasında anlamlı bir fark yoktur.

$x_1$  : Anma derişimi bilinen çözeltilerin düzeltme faktörü ile çarpıldıktan sonra elde edilen düzeltilmiş değerleri

$x_2$  : Fluorimetrik ölçümler sonucu bulunan ortalama derişimler

Çizelgeden görüleceğı üzere, % 95 güven aralığında gravimetrik ile fluorimetrik analiz sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Dolayısıyla; önerilen yöntemde bir sapma söz konusu değildir; çinko(II) iyonunun fluorimetrik tayini mümkündür.

Önerilen metodun güvenilirliğini test etmek için standart numunelerin analizi de yapılmıştır. Bu amaçla; derişimi 1000 ppm olan Zn(II) standart çözeltilisinden hazırlanan 10 ve 20 ppm'lik çözeltiler ile yine Zink technick III ve Zinkoxyd IV standartlarından hazırlanan çözeltiler de önerilen yöntem kullanılarak analiz edilmiştir. En az 5'er serilik 0,3 mL standart çözeltiler alınarak üzerine; 2,1 mL MeOH, 0,3 mL amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7) ve 0,3 mL  $10^{-3}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin ligandı konularak kompleksleri elde edilmiştir. Komplekslerin ölçülen fluoresans şiddetleri ve şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden yararlanarak ppm cinsinden derişimler hesaplanmış ve düzeltilmiş derişimler belirlenmiştir (çizelge 4.9). Bu standart referans çözeltilerin fluorimetrik tayininden elde edilen değerler ile stok çözeltilinin fluorimetrik tayininden bulunan değerle-



rin istatistiksel karşılaştırılması %95 güven aralığı için çizelge 5.2.'de verilmiştir.

Çizelge 5.2. Standart Referans çözeltiler ile stok çözelti fluorimetrik analiz sonuçlarının karşılaştırılması

Çözeltiler	$\mu$	$\bar{x}$	$ \mu - \bar{x} $	$\frac{ts}{\sqrt{N}}$	Açıklama
$\mu=10$ ppm için	10	9,78	10-9,78=0,22	0,66	%95 güven aralığında iki sonuç arasında anlamlı bir fark yoktur.
$\mu=20$ ppm için	20	19,15	20-19,15=0,85	1,56	%95 güven aralığında iki sonuç arasında anlamlı bir fark yoktur.
Zink technick III	9,88	10,20	10,20-9,88=0,32	1,38	%95 güven aralığında iki sonuç arasında anlamlı bir fark yoktur.
Zinkoxyd IV	9,84	7,35	9,84-7,35=2,49	0,78	%95 güven aralığında iki sonuç arasında anlamlı bir fark görülmektedir.

x : Stok çinko(II) çözeltisinin fluorimetrik tayinleri sonucu ölçülen düzeltilmiş derişimlerinin ortalama değerleri

Çizelgeden görüleceği gibi, derişimi 1000 ppm olan standart referans çözeltiliden hazırlanan, derişimi 10 ve 20 ppm olan çinko(II) çözeltisi ile zink technick III standart referans çözeltisinin fluorimetrik olarak ölçülen şiddetlerine karşılık gelen düzeltilmiş derişim değerleri ile stok çinko(II) çözeltisi fluorimetrik tayinleri sonucu bulunan derişim değerleri arasında % 95 güven aralığında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu durum da çinko(II) iyonlarının fluorimetrik olarak tayinleri için seçilen metodun uygun olduğunu desteklemektedir.

Ancak; Zinkoxyd IV çözeltisinin floresans şiddetlerine karşılık gelen düzeltilmiş derişim değerleri ile stok çinko(II) çözeltisinin fluorimetrik tayinleri sonucu bulunan derişim değerleri arasında %95 güven aralığında anlamlı bir fark görülmüştür. Bunun sebebi, daha sonra açıklanacak bozucu etki yapan bazı bileşenlerin bu standart içinde daha yüksek derişimlerde bulunmasından kaynaklandığı (çizelge 3.2) değerlendirilmektedir.

Çinko(II)'nin fluorimetrik olarak tayininde bozucu etki yapan bazı iyonların önerilen metoda etkileri de incelenmiştir. Bu amaçla bozucu iyon olarak kadmium, bakır, kurşun ve gümüş katyonlarının çinko(II) ile derişimleri

oranı 1:1, 1:10 ve 1:50 olan ikili karışımlarının 0,3 mL'si 2,1 mL MeOH, 0,3 mL amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7) ve 0,3 mL  $10^{-3}$  M  $N,N'$ -bis-salisiliden-1,3-propandiamin ligandı karıştırılarak kompleksleri elde edilmiştir. Bu komplekslerin fluorimetrik şiddetleri ölçülerek ve şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden yararlanarak bulunan düzeltilmiş derişim değerleri çizelge 4.10 verilmiştir. Bulunan verilerin % 95 güven seviyesinde istatistiksel sonuçları çizelge 5.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.3. Çinko(II)'nin fluorimetrik olarak tayininde bozucu bazı katyonların etkisi

Bozucu iyonlar ve Zn ile oranları	$\bar{X}_1$	$\bar{X}_2$	Verilen serbestlik derecesi, t	$ \bar{X}_1 - \bar{X}_2 $	$t \cdot S_b \sqrt{\frac{N_1 + N_2}{N_1 \cdot N_2}}$	Açıklama
Zn: Cd (1:1)	10,37	9,97	9 için 2,26	10,37-9,97=0,4	1,42	Bozucu etki göstermez.
Zn: Cd (1:10)	10,37	11,95	9 için 2,26	10,37-11,95=1,58	0,91	Pozitif bozucu etki vardır.
Zn: Cd (1:50)	2,48	5,51	8 için 2,31	2,31-5,51=3,03	0,67	Pozitif bozucu etki vardır.
Zn: Cu (1:1)	10,37	7,10	9 için 2,26	10,37-7,10=3,27	0,94	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Cu (1:10)	10,37	3,41	9 için 2,26	10,37-3,41=6,96	0,87	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Cu (1:50)	2,48	0	8 için 2,31	2,48-0,00=2,48	0,31	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Pb (1:1)	10,37	8,50	9 için 2,26	10,37-8,50=1,87	0,88	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Pb (1:10)	10,37	7,54	9 için 2,26	10,37-7,54=2,83	0,81	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Pb (1:50)	2,48	0,90	8 için 2,31	2,48-0,90=1,58	0,33	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Ag (1:1)	10,37	7,97	9 için 2,26	10,37-7,97=2,40	0,99	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Ag (1:10)	10,37	8,02	9 için 2,26	10,37-8,02=2,35	0,99	Negatif bozucu etki vardır.
Zn: Ag (1:50)	2,48	1,22	8 için 2,31	2,48-1,22=1,26	0,35	Negatif bozucu etki vardır.

Çizelge 5.3'den görüleceği üzere; çinko(II)'nin kadmiyum ile derişimleri oranı (1:1) olduğu şartlarda bozucu etki görülmemesine rağmen diğer katyonların çinko(II) çözeltisi ile karışımların çinko(II) kompleksinin fluorimetrik şiddetlerini önemli ölçüde bozdukları belirlenmiştir. Çinko(II)'nin kadmiyum ile derişimleri (1:10) ve (1:50) oranlarında karışımlarının fluoresans şiddetlerine pozitif yönde bozucu etki göstermelerine karşın, diğerlerinin negatif yönde bozucu etkileri görülmüştür. Özellikle negatif bozucu etki gösteren katyonların yüksek derişim oranındaki (1:50) karışımlarının çinko(II) kompleksinin fluoresans şiddetini daha çok azaltmakta olduğu ve dolayısıyla ölçülebilen çinko(II) derişim değerlerinin oldukça düşük çıktığı gözlenmiştir.

Önerilen metodun tayin alt sınırı, çinko(II) iyonu içermeyen; 0,3 mL amonyum asetat tampon çözeltisi (pH=7); 2,1mL MeOH, 0,3mL  $10^{-2}$  M N,N'-bis-salisiliden-1,3-propandiamin Schiff bazı ve 0,3mL bidistile su bulunan çözeltinin fluoresans şiddetlerinin ölçülmesi ile belirlenmiştir. Ölçülen fluoresans şiddetleri, Şekil 4.6'daki kalibrasyon grafiğinden yararlanarak ppm cinsinden düzeltilmiş derişim değerleri bulunmuştur (çizelge 4.11). Bu sonuçların bir tek analiz için % 95 güven seviyesinde istatikselsel olarak değerlendirilmesi çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge 5.4. Bir Tek Analiz için Tayin Alt Sınırı sonuçları

$\bar{X}_1$ (ppm)	t	$S_b$	$\Delta x_{\min} > t \cdot S_b \sqrt{\frac{N_1 + N_2}{N_1 \cdot N_2}}$
0,30	5+1-2= 4 için 2,78	0,33	$\Delta x_{\min} > 0,99$

Çizelge 5.4.'te görüleceği üzere, bir tek analiz için 100 defada 95 defa derişimi 0,99 ppm'den büyük bir sonuç, çözelti içinde çinko(II) varlığını göstermektedir.

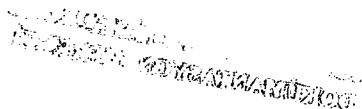
Sonuç olarak; önerilen metodun eser çinko analizinde güvenilir olarak kullanılabilceği; ancak metodun seçiciliğinin artırılması, tayin alt sınırının daha da düşürülmesi amacıyla farklı çözücü veya çözücülerin, farklı ligandların araştırılması gibi çalışmaların sürdürülmesinin yararlı olacağı değerlendirilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Afonso, A.M., Santana, J.J., Montelongo, F.G. 1986. Spectrofluorimetric determination of zinc with pyrocatechol-1-aldehyde 2-pyridyl Hidrazone. *Analyst*, (111); 327-329.
- Anonim. 1987. Kimya Mühendisleri oddası seminer notları. TMMMO yayını, 61 s., Ankara.
- Arıcı, C., Ercan, F., Atakol, O., Çakırer, O. 1999. Aqua[N,N'-bis (salicylidene)-1,3-propandiaminato] copper(II). *Acta Crystal*, C.55, 1654-1655.
- Atakol, O. 1986. o,o'-Dihidroksi Schiff bazlarının geçiş elementleri kationlarıyla verdiği komplekslerin incelenmesi. Doktora Tezi. A.Ü. Ankara.
- Atakol, O., Tatar, L., Akay, A., Ülkü, D. 1999. Crystal structure of [ $\mu$ -N,N'-Bis(salicylidene)-1,3-propandiaminato-methanolatozinc(II)] dichlorozinc(II) homodinuclear complex methanol solvate, *Analytical Sciences*, (15); 199-200
- Bark, L.S., Rixon, A. 1969. The spectrofluorimetric determination of gallium, indium and zinc with 2,2'-pyridylbenzimidazole. *Analytica Chimica Acta*, 425-432.
- Cimerman, Z., Miljanic, S., Antolic, J. 1999. Fluorescence characteristics of Schiff bases derived from amino- and aminoalkylpyridines. *Spectroscopy Letters*, 32(1); 181-196.
- De La Pena, A.M., Salinas, F., Sanchez, ME., Murillo, J.A. 1988. Simultaneous determination of aluminum and zinc by first- and-second derivative synchronous fluorimetry. *Analyst*, (113); 1435-1438.
- De Torres, A.G, Chakrabarti, A.K., Pozo, U.E., Cano, J.M. 1989. Sensitive spectrofluorimetric determination of zinc at ultra-trace Levels. *Analytica Chimica Acta*, (21); 363-369.

- Garcia-Sanchez, F., Navas, A., Laserna, J.J. 1982. Benzyl 2-pyridyl ketone 2- pyridyl hidrazone as reagent for the fluorimetric determination of zinc at ng/mL levels. *Talanta*, (29); 511-514.
- Garcia-Sanchez, F., Lopez, H.. 1986. Trace zinc determination by synchronous derivative fluorimetry. *Talanta*, (33); 785-789.
- Guilbault, G.G. 1983. *Practical Fluorescence*. Marcel Dekker Inc, 1-15., 79-137., 213-264, New York.
- Gündüz, T. 1990. *Kantitatif Analiz Laboratuar Kitabı*. Bilge Yayıncılık, 285 s., Ankara.
- Marczenko, Z. 1986. Separation and spectrophotometric determination of elements. John Wiley & Sons Inc, 636-641, New York.
- Miller, J. N. 1981. *Standarts in Fluorescence Spectrometry*. (2); Chapman and Hall, 1-75, New York.
- Prat, MD., Guiteras, J., Compano, R., Beltran, J.L. 1992. Spectro-fluorimetric method for simultaneous determination of zinc and cadmium. *Journal of Fluorescence*, 4 (1); 267-272.
- Pozo, M.E.U., Garcia De Torres, A., Pavon, J.M.C. 1987. Simultaneous determination of gallium and zinc in biological samples, wine, drinking water and wastewater by derivative synchronous fluorescence spectrometry. *Analytical Chemistry*, (59); 1129-1133.
- Reichert, D.E., Lewis, J.S., Anderson, C.J. 1999. Metal complexes as diagnostic tools. *Coordination Chemical Reviews*, (184); 3-66.
- Ruiz, J.V., De Torres, A.G., Cano-Pavon, J.M. 1984. Fluorescence properties of some Schiff bases derived from 3-Hidroxyppyridine-2-aldehyde and of their metal chelates. *Talanta*, 1 (31); 29-32.
- Sakamoto, M., Hashimura, M., Matsuki, K., Matsumoto, A., Okawa, H. 1991. Fluorescence quenching of Europium(III) by the interaction with Copper(II) or Nickel(II) complex of N,N'-Disalicylidene-1,3-propandiamine. *Chemistry Letters*, 1007-1010.

- Sakamoto, M., Yamamoto, K., Osaki, M. 1993. Effect of Copper(II) or Nickel(II) complexes N,N'-di(salicylidene)-1,3-propanediamine on fluorescence of terbium(III). *Journal of Alloys and Compounds*, (192); 42-44.
- Schilt, A. A., Hillison T.E. 1980. Investigation of selected Ferrioin-type compounds as fluorometric reagents. *Talanta*, (27); 1021-1024.
- Skoog, A. D., West, MD., Holler, F.J. Çeviri, Kılıç, E., Köseoğlu, F. 1996. *Analitik Kimya. Bilim Yayıncılık*, 601-610 s., Ankara.
- Skoog, A. D., West, MD., Holler, F.J. Çeviri, Kılıç, E., Köseoğlu, F. 2000. *Enstrümental Analizin Prensipleri. Bilim Yayıncılık*, 329-340, 355-376 s., Ankara.
- Udenfriend, S. 1962. *Fluorescence assay in Biology and Medicine. Academic Press Inc*, (1); 5-47, New York.
- Udenfriend, S. 1969. *Fluorescence assay in Biology and Medicine. Academic Press Inc*, (2); 1-19, New York.
- West, J. K., Pflaum, T.R. 1986. Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of Zinc and Cadmium with 2,2'-Pridil bis(2-Quinolyhidrazone). *Talanta*, 10 (33); 807-810.
- Winefordner, J. D., Schulman, S.G., O'Haver, T, C. 1972. *Luminescence spectrometry in analytical chemistry. Wiley-Interscience*, 281-283, U.S.A.



## ÖZGEÇMİŞ

1964 yılında İstanbul'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 1982-1983 yılında girdiği Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen ve Edebiyat Fakültesi Kimya Lisans bölümünün hazırlık sınıfında iken Kara Kuvvetleri adına açılan sınavı kazandı. Kara Kuvvetleri adına askeri öğrenci olarak bu üniversiteyi 1989 yılında bitirdi. Aynı yıl Kara Kuvvetleri Komutanlığının İzmir'de bulunan Maltepe Askeri Lisesine Öğretmen olarak atandı. Burada 10 sene öğretmenlik ve idari görevlerde bulundu. 1999 yılında Kara Harp Okuluna atandı. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya dalında Yüksek Lisansa başladı. Halen Kara Harp Okulunda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve iki çocuk sahibidir.