

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Rumex Pulcher TÜRÜ BİTKİDEN ANTRAKİNON ELDESİ VE
BİTKİDEKİ ANTRAKİNON MİKTARININ SPEKTROSKOPİK OLARAK
BELİRLENMESİ

DİDEM ÇAKMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA
HAZİRAN 2003

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

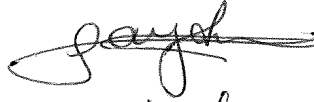
Prof.Dr.Keriman GÜNEYDİN danışmanlığında Didem Çakmak tarafından hazırlanan bu çalışma 19.06.2003 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Fen-edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

İMZA

Başkan: Prof.Dr.Keriman GÜNEYDİN



Üye :Yrd.Doç.Dr.Fatma AYDIN



Üye : Yrd.Doç.Dr.M.Kemal SANGÜN



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Kod no: 128

Prof.Dr. Mustafa KAPLANKIRAN



Bu çalışma M.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.
Proje No: 02 M 0502

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin çizelge şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı fikir ve sanat eserleri kapsamındaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	I
ABSTRACT	II
ÖNSÖZ	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
1.GİRİŞ	1
1.1. Antrakinonlar	1
1.1.1. Antrakinonların Kimyasal Yapısı ve özellikleri	1
1.1.2. Antrakinonların Farmakolojik Özellikleri	3
1.1.3. Renk Reaksiyonları ve Farklandırılmaları	5
1.2. Koordinasyon Bileşikleri ve Kompleks Oluşumları	6
1.2.1. Şelat Bileşiklerinin Önemi	7
1.2.2. Koordinasyon Bileşiklerinin Oluşumu Ve Stabilitesi	8
1.2.2.1. Metal iyonlarının Etkisi	8
1.2.2.2. Donör Karakterinin Etkisi	10
1.3. Mor Ötesi ve Görünür Bölge Spektroskopisi	10
1.3.1. UV ve VIS Spektroskopisinde Kullanılan Özel Terimler	11
1.3.1.1. Kromofor Grup	11
1.3.1.2. Auxokrom Grup	11
1.3.1.3. Batokrom Kayma	12
1.3.1.4. Hipsokrom Kayma	12
1.3.1.5. Hipokromik Etki	12
1.3.1.6. Hiperkromik Etki	12
1.3.2. Elektronik Geçiş Tipleri	12
1.3.2.1. $\sigma - \sigma^*$ Geçişleri	13
1.3.2.2. $n - \sigma^*$ Geçişleri	13
1.3.2.3. $\pi - \pi^*$ Geçişleri	13
1.3.2.4. $n - \pi^*$ Geçişleri	13

1.3.3. Absorpsiyon Bandlarının Sınıflandırılması	14
1.3.3.1. R Bandları	14
1.3.3.2. K Bandları	14
1.3.3.3. B Bandları	14
1.3.3.4. E Bandları	14
1.4. Kolorimetri ve Spektrofotometri	15
1.4.1. Spektrofotometri ve Kolorimetri Teorisi	18
1.4.1.1. Lambert yasası	19
1.4.1.2. Beer Yasası	20
1.4.1.2.1. Beer Yasasının Uygulanması	22
1.4.1.2.2. Beer Yasasından Sapmalar	23
1.4.2. Renk Ölçüm Metotlarının Sınıflandırılması ve Karşılaştırılması	24
1.4.2.1. Standart Seriler Metodu	24
1.4.2.2. Eşleştirme Metodu	24
1.4.2.3. Seyreltme Metodu	25
1.4.2.4. Dengeleme Metodu	25
1.4.2.5. Fotoelektrik Fotometre Metodu	25
1.4.2.6. Spektrofotometrik Metot	26
1.4.3. Cihazlar	27
1.4.3.1. Işın Kaynağı	27
1.4.3.1.1. Döteryum ve Hidrojen lambaları.....	27
1.4.3.1.2. Tungsten telli Lambalar	27
1.4.3.1.3. Ksenon Ark Lambaları	27
1.4.3.2. Dalgaboyu Seçici	28
1.4.3.2.1. Filtreler	28
1.4.3.2.2. Monokromatörler.....	28
1.4.3.3. Numune Kabı	28
1.4.3.4. Işın Transduserleri	29
1.4.3.5. Sinyal İşlemcileri	29
1.4.4. Cihaz Tipleri	29
1.4.4.1. Tek Işınlı Cihazlar	29

1.4.4.2. Çift Işınlı Cihazlar	30
1.4.4.3. Çok Kanallı Cihazlar	31
1.4.5. Kolorimetrik Çalışmalar	31
1.4.5.1. Kolorimetrik çalışmalar hakkında Belirlenecek Genel Noktalar	31
1.4.5.2. İyi Bir Kolorimetrik Analizin Kriterleri	32
1.4.6. Kolorimetrik Çalışmalar ile İlgili Uygulamalar	34
1.4.6.1. Alüminyum	34
1.4.6.2. Antimon	35
1.4.6.3. Berilyum	35
1.4.6.4. Magnezyum	36
1.4.6.4.1. Titan Sarısı metodu	36
1.4.6.4.2. Solokrom Siyahı Metodu	37
1.4.7. UV – VIS Spektrofotometreleri ile Ölçüm	38
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	40
3. MATERYAL VE YÖNTEM	43
3.1. Materyal	43
3.2. Yöntem	44
3.2.1. Ekstraksiyon ve Kromatografi İşlemleri	44
3.2.2. Spektroskopik Çalışmalar	49
3.2.3. Emodyene Ait pH Denemeleri	51
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	52
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	67

ÖZET

***Rumex Pulcher* TÜRÜ BİTKİDEN ANTRAKİNON ELDESİ VE BİTKİDEKİ ANTRAKİNON MİKTARININ SPEKTROSKOPİK OLARAK BELİRLENMESİ**

Polyganaceae familyasına ait bitkiler zengin antrakınon kaynağı olarak bilinmektedir. Bu çalışmada, bu familyaya ait *Rumex Pulcher* bitkisinin tohum ve köklerinden antrakınon saflaştırma işlemleri yapılmıştır. Bitkinin tohum ve kök kısımlarına ayrı ayrı, sırasıyla, ekstraksiyon, kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi işlemleri uygulanmış, tohum kısmından antrakınon elde edilememiş, kök kısmından ise bir antrakınon türü olan emodin saflaştırılmıştır. Bitkinin kök kısmındaki emodin, glikozit yapısındadır. Bu yüzden, ince tabaka kromatografisi öncesi yapılan hidroliz işlemi, çalışma için önemlidir.

Antrakınonların buldukları materyaldeki varlıkları, verdikleri tanınma reaksiyonları ile belirlenebilmektedir. Bu reaksiyonlardan biri de, alkollü Magnezyum çözeltisi ile verdikleri renkler olup, Shibata renk reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır. Çalışmamızın temelini bu reaksiyonun kantitatif amaçlı kullanılıp kullanılmayacağını test etmek oluşturmaktadır.

Çalışmada UV – VIS Spektrofotometresi ile spektroskopik tayinler yapılmıştır. Bitki kökünden saflaştırılan emodin, standart çözeltileri hazırlamak için kullanılmıştır. Spektroskopik sonuçlar emodin ile Mg^{+2} iyonu arasında oluştuğunu düşündüğümüz kompleksin varlığını doğrulamıştır. Ve bu kompleksin renk şiddetinin, antrakınon konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değiştiği sonuçlarla belirlenmiştir.

Dolayısıyla Mg – Emodin kompleksine ait kolorimetrik çalışma sonrası çizilen kalibrasyon grafiği yardımıyla, bitkideki emodin miktarı, tüm işlemlerden önce, basit bir çalışmayla belirlenebilmektedir.

2003, 77 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antrakınon, *Rumex pulcher*, emodin, UV – VIS Spektroskopisi, Kolorimetrik metotlar.

ABSTRACT

ISOLATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF ANTHRAQUINONES FROM RUMEX PULCHER

Polygonaceae family plants especially Rumex species are known as rich source of anthraquinones. In this study we have separated Emodin (1,6,8 tri hydroxy – 3 methyl anthraquinone) from Rumex Pulcher which is grown as a wild plant in Hatay region. Our work was focused to find an simplified analytical method for quantitative determination of emodin amount. For this purpose we have used the colour reaction of emodin with alcoholic magnezium acetate (shibata reaction).

Extraction, Column Chromatography, Thin Layer Chromatography and some chemical methods have been used to separate the emodin which is only one of the anthraquinone that exist in Rumex Pulcher. We have compared the isolated emodin with standard emodin (all the spectral data published) procured from Istanbul University faculty of pharmacy and have used it to prepare the standard solution necessary to draw the calibration curve.

The quantitative determination have been made by using UV – VIS spectrophotometer.

2003,77 pages

Keywords : Anthraquinone, Rumex pulcher, Emodin, UV – VIS Spectroscopy, Colorimetric Methods.

ÖNSÖZ

Bitkiler İlaç sanayiinde model olarak alınan, zaman zaman kullanım alanı bulan, birçok hammaddenin kaynağıdır. Antrakinonlar da çeşitli farmakolojik özelliklere sahip ve çok sayıda bitkiden izole edilebilen bir organik reaktiftir. Çalışmamızda, Hatay yöresinde yetişen Rumex Pulcher türü bitkideki antrakinon miktarını belirlemek için basit spektroskopik bir yöntem geliştirilmesi ve bu yöntem sayesinde izole edilmek istenen antrakinon miktarının amaca uygun olup olmadığını kolayca test edebilmek için bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Bana bu çalışmayı yapma olanağını sağlayan, çalışmamı ilgi ve özenle yöneten, değerli hocam Prof. Dr. Keriman GÜNAYDIN' a (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen – Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü), çalışma arkadaşlarıma ve aileme teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1.2.1. Bazı Antrakinonlara Ait Fonksiyonel Gruplar.....	4
Çizelge 1.2.2.1.1. Şelat Oluşturabilen Bazı Metallerin Periyodik Sisteme Göre Dağılımı.....	9
Çizelge 1.4.1. Renklerin Yaklaşık Dalgaboyu Aralıkları.....	16
Çizelge 1.4.2. Radyasyonun Çeşitli Tipleri İçin Dalgaboyu ve Frekans Yaklaşık değerleri, Frekans Aralığına Bağlı ses Aralıkları.....	17
Çizelge 4.1. Emodin'e ait ¹ H-NMR sinyalleri.....	52
Çizelge 4.2. Emodin-kalsiyum Kompleksine Ait Gözlenen Absorbans Değerleri.....	60
Çizelge 4.3. Emodin-Magnezyum Kompleksine Ait Gözlenen Absorbans Değerleri.....	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.4.4.1.1. Tek Işınlı Cihaz.....	30
Şekil 1.4.4.2.1. Çift Işınlı Cihaz.....	30
Şekil 1.4.4.3.1. Çok Kanallı Cihaz.....	31
Şekil 3.1.1. Rumex Pulcher'in Genel Görünümü.....	43
Şekil 3.2.1.1. Soxhlet Cihazı.....	45
Şekil 3.2.1.2. Kromatografi Kolonu.....	46
Şekil 4.1. Emodine ait Aromatik H' leri gösteren ¹ H-NMR Spektrumu.....	53
Şekil 4.2. Emodine ait OH Gruplarını gösteren ¹ H-NMR Spektrumu.....	54
Şekil 4.3. Emodine ait CH ₃ grubunu gösteren ¹ H-NMR Spektrumu.....	55
Şekil 4.4. Emodin'e ait IR Spektrumu.....	56
Şekil 4.5. Emodin'e ait Kütle Spektrumu.....	57
Şekil 4.6. Emodin'e ait UV Spektrumu.....	58
Şekil 4.7. Mg – Emodin Kompleksine ait UV Spektrumu.....	59
Şekil 4.8. Ca – Emodin Kompleksine ait UV Spektrumu.....	59
Şekil 4.9. Kalsiyum – Emodin Kompleksi Kalibrasyon Diyagramı.....	62
Şekil 4.10. Magnezyum – Emodin Kompleksi Kalibrasyon Diyagramı.....	63

1. GİRİŞ

Bitkiler, var olan doğal kaynakların en önemlilerinden biridir. Başta gıda olmak üzere, giyecek olarak yada tıbbi olarak çok değişik kullanım alanlarına sahiptirler ve bu alanlar her geçen gün gelişmektedir. Örneğin Botanikçiler bitkileri sistematik yönden incelerken, Eczacılar insan sağlığında kullanılan ilaç yapımına yönelik, Kimyagerlerse bitkilerin kimyasal bileşiminin belirlenmesine yönelik yoğunlaşan çalışmalar yapmışlardır.

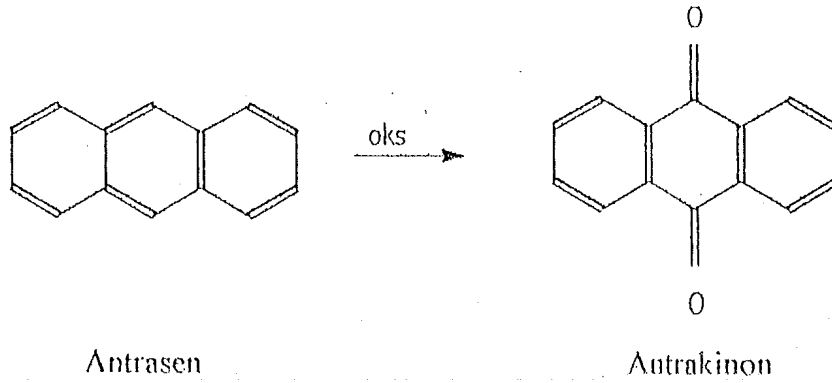
Etkin olarak kullanılan ilaçların gelişmesinde doğal ürünlerden elde edilen kimyasal maddeler model alındığından, bitki ekstraktlarının kimyasal bileşimlerinin araştırılması her geçen gün daha da fazla önem kazanmaktadır. Bir bitkinin kimyasal bileşimi belirlenebildiği takdirde, ki bu konuda bitkinin kimyasal içeriğinin kantitatif miktarı çok önemlidir, kimya yada eczacılık sanayinde nerelerde kullanılacağı konusunda karar verilebilir.

Bu açıdan ele alınıp incelendiğinde, çok sayıda farmakolojik etkiye sahip olan ve birçok bitkinin yapısında yer alan Antrakınonlar önemli bir yere sahiptirler.

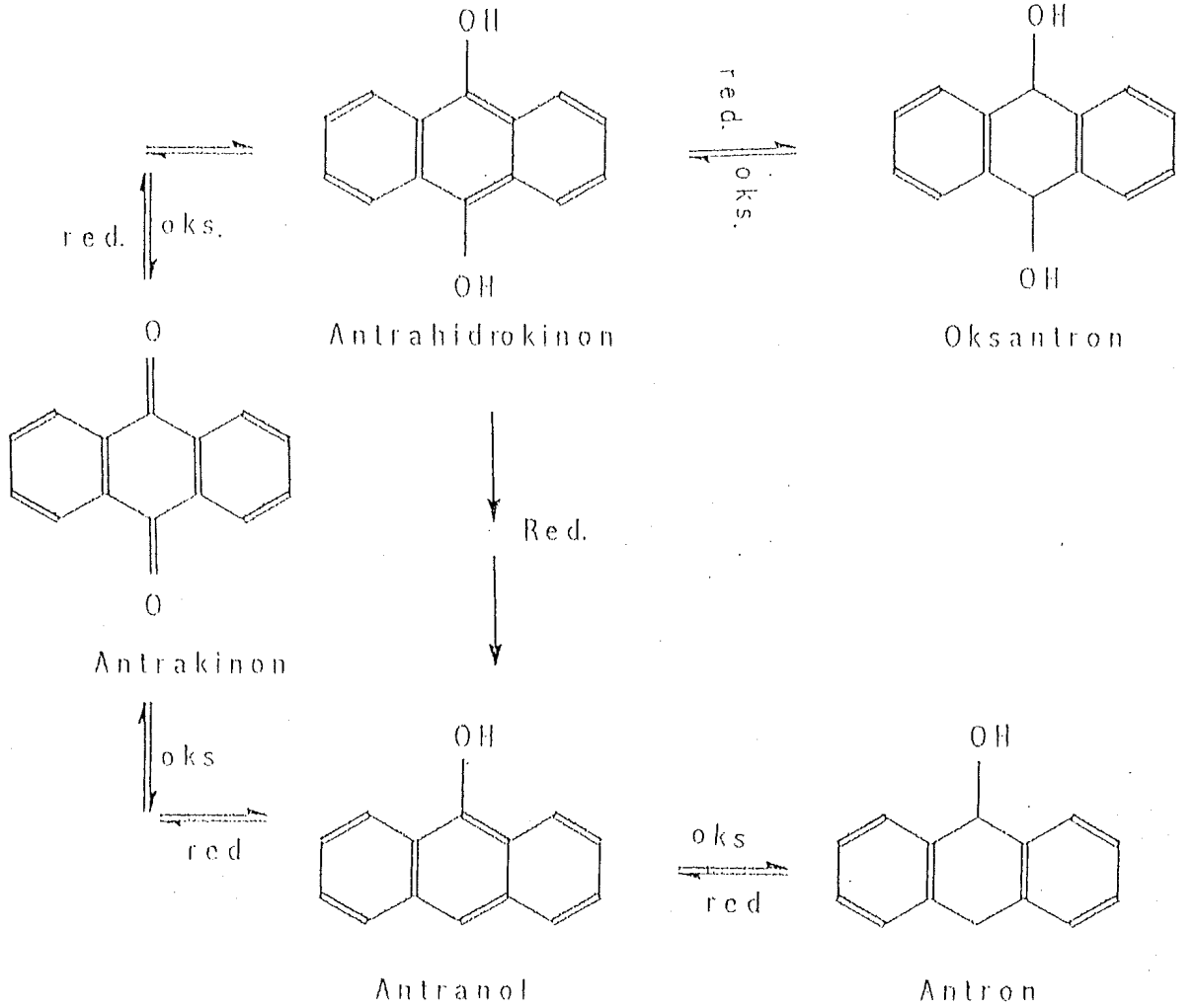
1.1. ANTRAKİNONLAR

1.1.1. Antrakınonların Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

9, 10 - dihidro - 9, 10 diokso antrasen olarak da bilinen antrakınonlar ilk olarak 1835' de Laurent tarafından antrasenin oksidasyonu ile ele geçirilmişlerdir.



Antrasen türevi bileşikler bitkide 3 tipte bulunur. Oksantron, antron ve antrakinon. Oksantron' un enol şekli antrahidrokinon, antronun enol şekli antranol adımlır.



Bu üç tip arasında en stabil olanı antrakinonlardır; antranol ve antrahidrokinonlar kolaylıkla okside olarak antrakinon haline geçerler.

1869 yılında Graebe tarafından alizarinin, antrakinonun bir dihidroksi türevi olduğunun keşfedilmesinden itibaren, antrakinon ve türevleri üzerindeki çalışmalar bugüne kadar sürmüştür ve hala sürmektedir. Antrakinonlar boya üretimi için temel maddedir.

Antrakinonlar fluoresans göstermez. Soluk sarı, iğnemsî kristaller şeklindedir. 286 °C de bozunmadan eriyip, 377 °C de atmosfer basıncı altında kaynarlar.

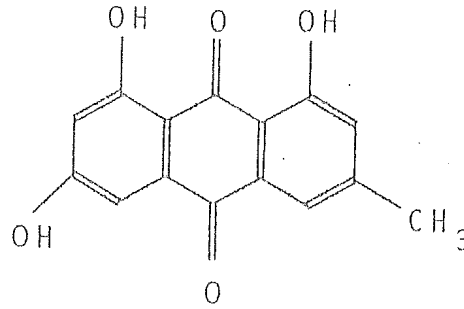
Antrakinonlar soğukta benzen ve alkolde çok az çözünür, glacial asetik asit veya nitrobenzen, diklorbenzen gibi yüksek kaynama noktasına sahip solventlerden kristallendirilebilirler.

Antrakinonlar ve türevleri derişik sülfirik asitle oksonyum tuzlarını oluştururlar. Genel olarak antrakinonlar nispeten inert bileşiklerdir. Isıya ve kimyasal reaktiflere karşı dayanıklıdır.

Kinon yapısına sahip olmalarına rağmen, kinon bileşiklerinin karakteristik reaksiyonları antrakinonlarda görülmez yada güçlkle görülür.

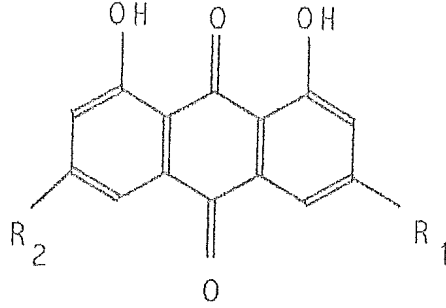
1.1.2. Antrakinonların Farmakolojik Özellikleri

Antracen türevi bileşiklerden purgatif olarak tesir eden ve eczacılık yönünden önemli olan 1, 8 – dihidroksi antrakinon türevi maddelerdir. Değişik antrakinonların tesiri de farklıdır. Örneğin emodol, antrakinonlar içinde en etkili olanıdır. Ağrı kesici özelliklerinin yanı sıra bakteri ve virüs öldürücü özellikleri ile de tanınmaktadır.



Emodol

Molekülde fenol gruplarının sayısı arttıkça aktivite de artar. Bir fenolik grup taşıyan antrakinonlar etkisiz, iki fenolik grup taşıyan antrakinonlar etkili, üç fenolik grup taşıyan antrakinonlar daha kuvvetlidir. Fenolik gruplar asetillenerek kapatılırsa etki de azalır.



	R ₁	R ₂
Chrysophanol	- CH ₃	- H
Aloe – emodin	- CH ₂ OH	- H
Emodin	- CH ₃	- OH
Physicon	- CH ₃	- OCH ₃
Rhein	- COOH	- H

Çizelge 1.1.2.1. Bazı Antrakinonlara ait Fonksiyonel Gruplar

Fenolik grupların etkisi moleküldeki konumuna göre de değişmektedir. Fenolik gruplar α konumunda olursa purgatif tesir de artar.

En yüksek etki antranollerden ileri gelir. Bazı araştırmacılara göre antrakinonların etkisi, bağırsak florası tarafından antranollere indirgenmesi ile olur.

Antranoller antrakinonlardan çok daha purgatif maddelerdir, fakat bağırsağı tahriş edici özelliği de vardır.

Buna ilave olarak antranollerin bulantı ve kusma gibi yan etkileri olmasına rağmen, antrakinonlar tehlikesiz ve bağımlılık oluşturmeyen maddeler olarak bilinirler. Glikozidik antrakinonlar suda kolayca eriyerek ince bağırsaktan absorbe olur. Kana geçer, sonra kalın bağırsaktan dışarı atılırlar. Böylece alınan ilacın hemen hemen tamamı etkili olur. Bu sebeple, glikozidler, serbest antrakinonlardan daha etkilidir.

Antrasen türevi maddelerinde dolayı purgatif olarak kullanılan droglar, özellikle Liliaceae, Leguminosae, polygonaceae ve Rhamnaceae familyalarına ait bitkilerden elde edilmektedir.

Droglarda bu maddelere serbest olarak ancak %0.2 – 0.8 oranında rastlanmaktadır. Fakat polimerlerin oranı %1-7 arasında değişmektedir.

Drogların depolanması sırasında, indirgenmiş birer antrakinon türevleri olan antranol ve antrahidrokinon hava ile temas ettikleri için oksitlenerek antrakinon oluştururlar ve böylece etken madde olarak antrakinon miktarı artar.

Droğun depolanması sırasında olan bu oksidasyon, temas yüzeyi küçük yüzeylerde daha çabuktur (ADAM ve ark, 1965).

1, 8 – dihidroksi antrakinon türevi maddeler purgatif tesirlidir. Bu etki, ilacın kalın bağırsak çeperinde peristaltizmi arttırması suretiyle kendini gösterir.

Serbest antrakinonlar suda az çözündüklerinden güç absorbe olurlar.

Katartik etkili droglarda ise suda kolay eriyerek ince bağırsaktan absorbe olur, kana geçer ve sonra kalın bağırsaktan atılırlar. Böylece alınan ilacın hemen hemen tamamı fesir yüzeyine gelmektedir (TANKER ve TANKER, 1998).

1.1.3. Renk reaksiyonları ve farklılandırılmaları

Antrakinonların NaOH ve Na₂CO₃ deki çözünürlüğü, -OH gruplarının pozisyonu konusunda bilgi verir.

β - OH grubu bulunan antrakinonlar Na₂CO₃ çözeltisinde, tüm hidroksi antrakinonlar ise NaOH çözeltisinde çözünürler (ADAM ve ark, 1965).

Ayrıca NaOH çözeltisi ile oluşan renklerden - OH gruplarının durumu konusunda fikir edinilebilir (Borntraeger reaksiyonu)

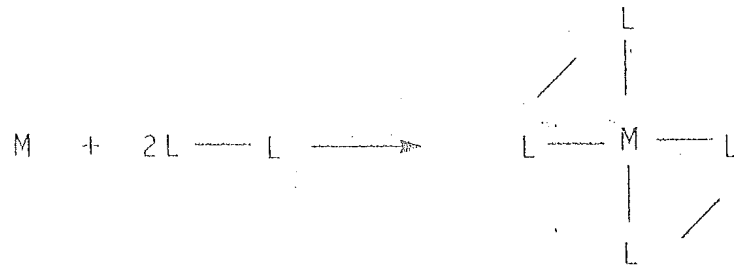
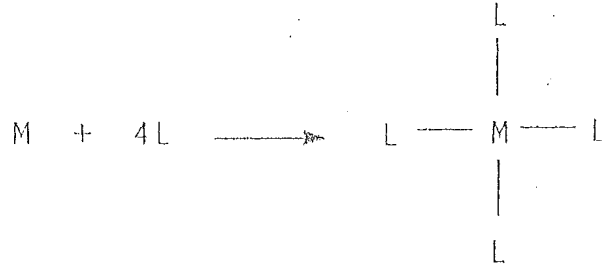
Hidroksi antrakinonlar magnezyum asetatla da çeşitli renkler verirler (shibata renk reaksiyonu) (THOMSAN, 1971)

Ortohidroksi grupları bulunan antrakinonlar, zirkonyum iyonu ile, asit çözeltide de dayanıklı olan kırmızı – mor renkli kompleksler verirler (SHIBATA ve ark, 1950; BOWIE, 1969).

1.2. Koordinasyon Bileşikleri ve Kompleks Oluşumları

Bir metal iyonu, bir elektron verici (elektron donör) bileşen ile bağ oluşturursa meydana gelen yeni maddeye kompleks veya koordinasyon bileşiği denir. Metal iyonuyla reaksiyona giren madde de iki veya daha fazla donör özelliğe sahip gruplar varsa bu durumda reaksiyon sonunda bir yada daha fazla halka oluşmuş olur ki bu durumda meydana gelen bileşik şelat bileşiği yada metal şelat bileşiği olarak adlandırılır. Kompleks veya koordinasyon bileşiği için karakteristik olan, kısmen ayrışmasına rağmen, çözeltideki kararlılığıdır. Koordinasyon bileşikleri kimyanın gelişmesi 18. yüzyıla rastlar.

Elektron alan metal ve şelat oluşturucu arasındaki elektron çiftinin meydana getirdiği bağ, metal ve şelat oluşturucu tabiatına bağlı olmakla beraber genellikle polar kovalent özellik taşır. Kompleks ve şelat bağlarını şematik olarak şu şekilde gösterebiliriz.



M: Metal iyonu L: Ligand (kompleks Oluşturucu donör) L – L: Şelat oluşt. donör

Periyodik sistemin yaklaşık olarak bütün metalleri kompleks veya şelat oluştururlar. Aynı zamanda çok sayıda kompleks ve şelat oluşturucu bilinmektedir. Bununla beraber metalle bağ oluşturan donör atomları V. ve VI. Grubun yanında Azot, Oksijen ve Kükürt elementleridir.

Ligandlar genel olarak şu tiplere ayrılırlar:

- a) Bir veya daha fazla serbest elektron çifti içerenler
 - a.i) Metalden elektron almak için boş orbitali olmayanlar. H_2O , NH_3 , F^- gibi.
 - a.ii) Metalden π elektronu almak için boş veya boşaltılabilen orbitallere sahip olanlar. I^- , CN^- , NO_2^- gibi.
 - a.iii) Boş metal orbitallerine verilebilir ilave π elektronlarına sahip olanlar. OH^- , NH_2^- , Cl^- gibi.
- b) Serbest elektron çifti bulunmayan fakat π elektronları bulunanlar. Etilen, benzen gibi.

Metalin direkt olarak karbona bağlandığı kovalent bileşikler Metal Organik bileşiklerdir. Bunların özellikleri kompleks ve şelatlardan farklıdır.

Metal şelatların kimyasal ve fiziksel özellikleri normal kompleksler ile aynı veya onlardan yalnız kalitatif olarak farklıdır. Bazıları ise temelde farklılık gösterirler. Bu yüzden şelat bileşikleri ayrı bir sınıf bileşik olarak incelenmelidir.

1.2.1. Şelat Bileşiklerinin Önemi

Metal şelatların teorik ve deneysel çalışmalar ile bunlara yakın sahalardaki değeri bugün genel olarak kabul edilmiştir. Şelat oluşturucu reaktifler geniş ölçüde kalitatif ve kantitatif çalışmalarda kullanılmaktadır. Mesela, dimetilglioksim, kupferron, 8 - oksi- kinolin ve o - fenantrolin analitik ayırma ve çöktürmelerde kullanılan en önemli bileşiklerdir.

Şelat bağları teorisinin ortaya çıkmasında o - o²⁻ dioksiazo bileşikleri ile Krom ve Alizarin lakları gibi boyar maddeler sahasındaki yeni gelişmeler başlangıç oldu.

Fizyolojik kimyada biüret reaksiyonu, aminoasitlerin ağır metal tuzları ve brenzkatehin ilaçları şelat bileşiklerinin önemini gösterirler. Klorofil, kan boyar maddesi ve cytocrom özellikle hayatsal olaylarda büyük önem taşır. Şelat boyaları, mesela phtalocyanin bugün geniş kullanım alanı bulmuştur.

Son yıllarda çözüner şelat özelliğine sahip bir sıra amino – poli karboksilli asitler çeşitli sahalarda kullanılmaktadır. Bu maddeler teknikte metal iyonlarının uzaklaştırılmasında mesela, suyun sertliğinin giderilmesinde, Katalitik etkileri önlemede, çözeltileri berraklaştırmada kullanılmaktadır. Bunların en önemliler EDTA' nın alkali tuzları ve kondanse fosfor asitleridir.

Asetil aseton' un oluşturduğu metal kompleksleri uçucu oluşları ve polar olmayan çözücülerdeki yüksek çözünlüklerinden dolayı metallerin saf olarak elde edilmesinde çok büyük önem taşırlar. İyon değıştiricilere ve ekstraksiyon tekniklerine bağılı olarak şelat oluşturucuların özellikle radyoaktif elementlerin ayrılmasında kullanışlı olduğu görölmüştür.

1.2.2. Koordinasyon Bileşiklerinin Oluşumu Ve Stabilesi (sağlamlığı)

Koordinasyon bileşikleri, basit olarak direkt koordinasyondan, komplike elektronik değışimlere kadar uzanan olası mekanizmalarla meydana gelebilir (SIDGWICK, 1941). Normal bir koordinasyon bileşiginde merkezi metal ve ligand atomları farklı rol oynarlar. (AB_x) gibi bir kompleksin sağlamlığında ve diğler özelliklerinde en önemli faktör (A) merkez atomu veya akseptörün atom numarası, valensi ve koordinasyon sayısı ile donörün ve ona bağılı diğler atomların tabiatıdır.

1.2.2.1. Metal iyonlarının Etkisi

Periyodik sistemdeki metallerin büyük bir kısmı, özellikle geçiş metalleri kompleks ve şelat bileşikleri yapabilirler. Son zamanlarda alkali ve toprak alkali metallerinin de şelat bileşikleri oluşturdukları görölmüştür. Bir kısmı çok kararlı olan bu bileşikler, ancak kompleks oluşturucudan daha sağlam bağlanabilen şelat ligandları varlığında mümkündür.

Çizelge 1.2.2.1.1. de kolay ve bazı hallerde şelat oluşturabilen metallerin periyodik sisteme göre dağılımı görülebilir.

Periyod	Kolay şelat oluşturan metallere	Az şelat oluşturan metallere
1	H	
2	Be, B	Li
3	Mg, Al, Si	Na
4	Se, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As	K, Ca
5	Y, Zr, Nb, MO, Te, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb	Rb, Sr
6	Lantanidler, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, au, Hg, Tl, Pb, Bi	Cs, Ba
7	Aktinidler	Fr, Ra

Çizelge 1.2.2.1.1. Şelat Oluşturabilen Bazı Metallerin Periyodik Sisteme Göre Dağılımı

Deneyler kompleks oluşturma yatkınlığının 2 ve 3 değerlikli metallerde en fazla olduğunu göstermiştir. Bununla beraber diğer değerlikli metallerde sağlam kompleks oluşturabildikleri görülmüştür.

Kompleks bileşiklerinde metal atomunun koordinasyon sayısı elementin tabiatına bağlıdır. Genel olarak, metalin değerliği ne kadar büyükse koordinasyon sayısı da o kadar yükselir.

Bazı elementler için koordinasyon sayıları şu şekildedir:

<u>Metal</u>	<u>Koordinasyon sayısı</u>
Na	4
Mg	6
Ca	6
Al	6
Co	4, 5, 6
Cd	4

1.2.2.2. Donör karakterinin etkisi

Ligand tek atomlu bir donör de olabilir, daha büyük bir molekülde olabilir. Metalle bağ yapan atoma bağlı grup veya gruplar, metalle bağın sağlamlığı üzerine önemli derecede etki yaparlar. İki veya daha fazla dişli şelat grupları metalle bir halka oluşturursa, bu durum komplekse büyük bir stabilite verir (BEKAROĞLU, 1972)

1.3. Mor Ötesi ve Görünür Bölge (UV - VIS) Spektroskopisi

Morötesi ve görünür bölge spektroskopisi, moleküller tarafından bu bölgeye ait radyasyonların absorpsiyonunu gerektirir ve absorpsiyon sonucu olarak σ , π veya n orbitallerindeki elektronlar düşük enerji seviyesinden daha yüksek bir enerji seviyesine geçerler. Elektronik geçişler gerçekleştiğinden, bu radyasyonların absorplanması sonucu oluşan spektrumlar elektronik spektrumlar olarak adlandırılır.

Ultraviyole (UV) bölge dalgaboyu $\lambda = 100 - 380$ nm arasında ve görünür bölgesi (VIS) $380 - 780$ nm arasında bulunan radyasyonları içerir.

İnsan gözüne renkli görünen maddelerin absorpsiyon gösterdiği $380 - 780$ nm aralığı önemli bir bölgedir (WADE, 1995).

Elektronik geçişlerde iştirak eden enerjiler aşağıdaki bağıntı ile hesaplanır:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu = hc / \lambda$$

$$h = 6,62 * 10^{-27} \text{ erg.sn} ; c = 2,9979 * 10^{10} \text{ cm / s}$$

$$\text{VIS bölge için } \lambda = 780 - 380 \text{ nm} \quad E = 36,5 - 75,4 \text{ Kcal / mol}$$

$$\text{UV bölge için } \lambda = 380 - 200 \text{ nm} \quad E_0 = 75,4 - 143 \text{ Kcal / mol}$$

Radyasyonun çeşitli tipleri için, karşılık gelen dalgaboylarının sıralaması şu şekildedir :

$$\text{Mikro dalga} > \text{IR} > \text{VIS} > \text{UV}$$

1.3.1. UV ve VIS spektroskopisinde kullanılan özel terimler

1.3.1.1. Kromofor grup

Elektronik spektrum verebilen atom grubu.

Başlangıçta (O.N.Witt,1876) kromofor terimini, doymamış kovalent bağlı gruplar içeren renkli maddeler için kullandı. (VIS absorbe) (chromos=renk, phoros=taşıyıcı) Fakat daha sonra UV spektrumunu VIS spektrumun bir devamı olduğu anlaşıldığında kromofor terimi UV ve VIS radyasyonları absorbe eden her bir atom grubu için kullanıldı.

1.3.1.2. Auxokrom grup

Doymuş bir atom grubu (-OH, -NH₂, -Cl gibi) bir kromofor yanında bulunduğu, absorpsiyonun gerçekleştiği maksimum dalga boyu (λ_{max}) ve maximum şiddeti değişir.

1.3.1.3. Batokrom kayma (Kırmızıya doğru)

Absorbsiyon maksimumunu daha büyük dalga boylarına kayar (düşük uyarma enerjileri)

1.3.1.4. Hipsokrom kayma (Maviye doğru)

Absorbsiyon maksimumunu düşük dalga boylarına kayar(yüksek uyarma enerjisi)

1.3.1.5. Hipokromik etki

Absorbsiyon şiddeti azalır.

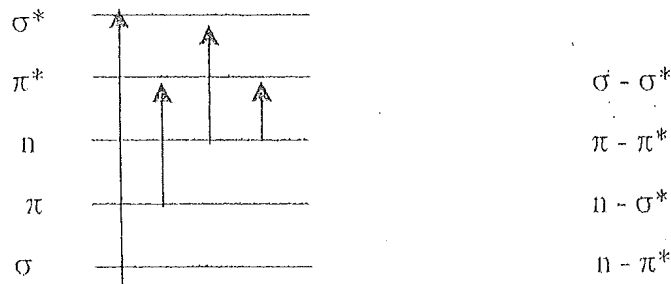
1.3.1.6. Hiperkromik etki

Absorbsiyon şiddeti artar (WILLIAMS ve ark, 1935).

1.3.2. Elektronik geçiş tipleri

UV ve VIS radyasyonların, organik moleküller tarafından absorpsiyonu ile temel halde bağ orbitalinde bulunan elektronlar antibağ orbitaline geçerler. σ ve π bağ orbitalinde bulunan elektronlar dışında bağ yapmayan n elektronları da elektronik geçişlere maruz kalırlar. Bu elektronlar uyarılmaları durumunda σ^* veya π^* antibağ orbitallerine geçebilirler.

$\sigma - \sigma^*$; $\pi - \pi^*$; $n - \sigma^*$; $n - \pi^*$ geçiş tipleri UV ve VIS spektroskopisine özgü geçişlerdir.



1.3.2.1. $\sigma - \sigma^*$ geçişleri

Tek bağ içeren maddelere özgüdür ve elektronun spini değişmez singlet - singlet exite bir hal söz konusudur. ($\uparrow\downarrow$) Bu singlet hali spin inversiyonu ile bir triplet hale dönüşebilir. ($\uparrow\uparrow, \downarrow\downarrow$) Fakat temel halden direkt bir uyarılma ile triplete geçiş yasaktır.

$\sigma - \sigma^*$ geçişi gerçekleşmesi için muazzam enerji gereklidir, iki enerji seviyesi arasındaki fark büyüktür.

C - C ve C - H bağlarına özgü bu tip geçişler 180 nm altında vakum UV bölgesindeki ışınların absorpsiyonu ile gerçekleşir. Bu bölgeye deneysel açıdan ulaşmak çok zordur. Diğer taraftan yapı hakkında verdiği bilgiler pek önemli değildir ve genellikle daha az incelenen bir bölgedir.

1.3.2.2. $n - \sigma^*$ geçişleri

O, S, N, halojen gibi serbest elektron çifti (bağ yapmayan elektronlar) taşıyan heteroatomlu organik moleküllere özgüdür. Enerjiler daha düşüktür, $\sigma - \sigma^*$ geçişine göre daha büyük dalgaboyunda absorpsiyon verirler. Heteroatomun elektronegativitesi azaldıkça batokrom kayma gözlenir.

1.3.2.3. $\pi - \pi^*$ geçişleri

π bağ orbitalinde bulunan bir elektron π^* antibağ orbitaline geçer.

Temel halde bağ orbitalinde bulunan elektron, uyarılmış halde antibağ orbitalinde bulunur.

1.3.2.4. $n - \pi^*$ geçişleri

Heterojen çift bağ $C=O$, CN , $C=S$ içeren moleküllere özgüdür. Bağ yapmayan n orbitallerinden bir elektron π^* antibağ orbitaline geçerek uyarılır. Örnek olarak $C=O$ kromofor grubu verilebilir. Bu grupta hem $\pi - \pi^*$, hem de $n - \pi^*$ geçişleri söz konusudur (EĞE, 1999).

1.3.3. Absorbsiyon bandlarının sınıflandırılması

1.3.3.1. R bandları

Radikalik $n - \pi^*$ geçişlerinden dolayı gözlenir. CO ve NO₂ molar absorbtivitenin değeri düşüktür. $\epsilon_{\max} < 100$, yasak bandlardır.

1.3.3.2. K bandları

Konjuge çift bağ içeren doymamış moleküllerde gözlenir, ϵ yüksektir (> 10000)

1.3.3.3. B bandları

- benzenoidik - aromatik ve hetero aromatik moleküllere özgüdür. Geçiş bandlar şeklinde ortaya çıkar.(ekstinksiyon düşüktür)

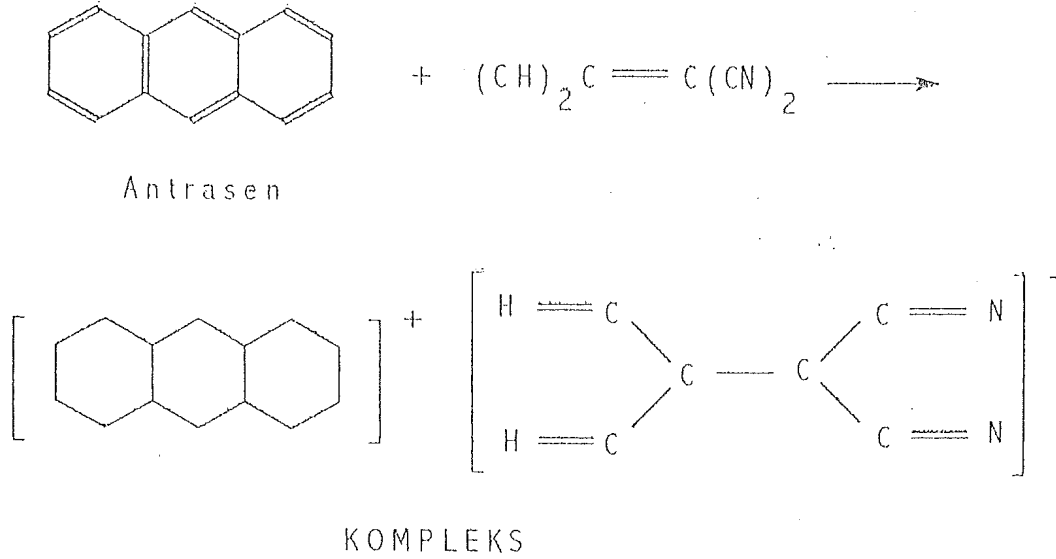
Benzen 230-270 nm de geniş band verir. ϵ 230 dur. Stiren molekülü λ_{\max} 282 nm de B bandının yanında(ϵ_{\max} 450) bir K bandı verir. λ_{\max} 244 nm. ($\epsilon = 12000$)

1.3.3.4. E bandları (Etilenik)

Aromatik moleküllere özgüdür, 3 çift bağın verdiği absorpsiyondur.

Bu klasik bandlar yanında, yük transfer bandları da mevcuttur. Bu bandlar 'yük transfer komplekslerin' IR spektrumunda gözlenir. Elektron veren bir molekülden elektron alan bir moleküle yük transferi söz konusudur. İyod benzen içinde C₆H₆I₂ kompleksini verir. Yani bir band oluşur.

Antrasen ve Tetrasianeten arasındaki yük transfer kompleksi parlak yeşil renktedir.(antrasen + tetrasianeten)



4 CN⁻ grubu antrasenin elektronlarını çekerler.

Tetrasianeten → Lewis asiti

Antrasen → Lewis bazı

olarak adlandırılır (MCMURRY, 1996).

1.4. KOLORİMETRİ VE SPEKTROFOTOMETRİ

Kolorimetrik analiz, genellikle kimyada kullanılan bir terim olup, temelde, ortamdaki bazı bileşenlerin konsantrasyon değişimi ile sistemin renginin değişimidir. Renk değişimi genellikle, uygun bir reaktifin eklenmesi sonucu renkli bir bileşiğin oluşumuyla ya da sistemin bütününe ait bir değişimle meydana gelir. Aynı koşullar altında, maddenin bilinen miktarına yapılan uygulamaya ile gözlenen renk şiddetleri karşılaştırılır.

Kolorimetri, maddenin bilinen konsantrasyonu ile ilgili olarak ışığın absorpsiyonunun ölçülmesi yoluyla bir maddenin konsantrasyonunun saptanması olarak düşünülebilir. Görsel kolorimetride, genelde doğal ya da suni beyaz ışık, ışık kaynağı olarak kullanılır ve kolorimetre olarak isimlendirilen basit cihazda ölçüm yapılır. Fotoelektrik kolorimetre olarak adlandırılan cihazda ise göz yerini fotoelektrik hücre alır. Ölçüm sırasında, filtreler içinden geçen beyaz ışığın karşılaştırmaya uygun dalgaboyu seçilerek kullanılır. Filtre, renkli camın tabaka formunda olup, sadece seçilen spektral bölgedeki ışığı geçirir. Fotometre filtresi adını alır ve kullanıldığı cihaza göre uygulaması değişir.

Spektrofotometrik analizde spektrumun UV bölgesine kadar uzanan, radyasyonun seçilen dalgaboyunu 1 nm den daha az band genişliğine sahip kesinlikte veren bir radyasyon kaynağı kullanılır. Bu uygulama daha komplike olup genellikle pahalı cihazlarda kullanılır.

Görsel spektrometre, görsel sisteme sahip bir cihazdır, Spektral bölgenin seçilen dalgaboyunda, radyasyonun iletiminin miktarının ölçülmesi ile elektromagnetik radyasyona ait dağılımı belirler. Fotometre iletilen radyasyonun şiddet ölçümü ile miktarın fonksiyonunu belirlemek amacıyla kullanılan bir cihazdır. Spektrofotometrede spektrometre ve fotometre bir arada olduğu zaman, seçilen dalgaboyunda, örnekten ve referans materyalden iletilen radyasyon arasındaki farkın karşılaştırılması mümkün olur.

Kolorimetrik ve spektrofotometrik metotların en büyük avantajı maddelerin çok küçük miktarlarının belirlenebilmesini sağlamasıdır. Kolorimetrik metotların limiti daha üsttedir, genellikle %1 ya da %2 den daha az miktar varlığının belirlenmesinde kullanılır.

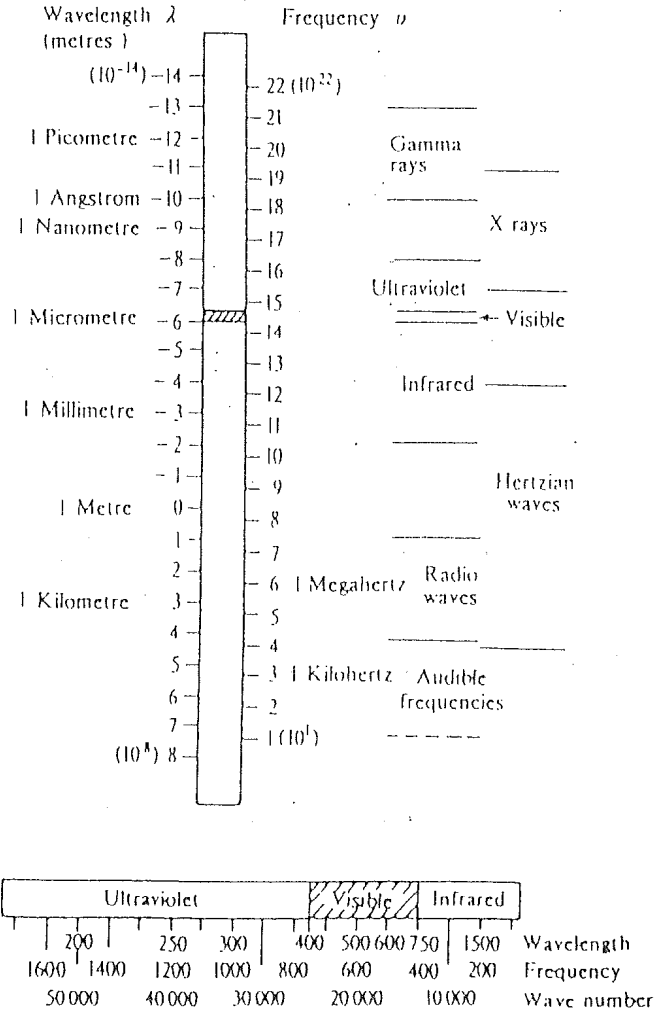
Radyasyonun, insan gözünün duyarlı olduğu ışık içeriği, rengin farklılaşmasına bağlı olarak farklı dalgaboyu aralıklarına denk gelir. Beyaz ışık tüm dalgaboylarındaki bileşenlerin karışımıdır ve görünür bölgede 400 – 760 nm aralığının tamamını kaplar.

Ultraviyole	<400 nm	Sarı	570 - 590 nm
Viyole	400 - 500 nm	Turuncu	590 -620 nm
Mavi	450 - 500 nm	Kırmızı	620 - 760 nm
Yeşil	500 - 570 nm	Infrared	>760 nm

Çizelge 1.4.1. Renklerin Yaklaşık Dalgaboyu Aralıkları

Görsel algılama, renkli cisme özgül ışığın belli dalga boyunda absorpsiyonuna bağlı olarak rengin ortaya çıkışı ile olur. Diğer dalga boyları maddenin doğasına ve cismin renginin göz tarafından algılanmasına bağlı olarak ya yansır ya da iletilir. Eğer cisim beyaz görünüyorsa tüm dalga boylarını yansıtıyordur. Eğer cisim siyah görünüyorsa ışığın çok küçük bir kısmını yansıtıyordur. Eğer mavi görünüyorsa, o renge ait dalga boyunu yansıtıyor, gerisini absorbe ediyordur.

Elektromagnetik radyasyonun visible bölgeye kaymasıyla önem kazandığı düşünülmüştür.



Çizelge 1.4.2. Radyasyonun Çeşitli Tipleri İçin Dalga boyu ve Frekans Yaklaşık Değerleri, Frekans Aralığına Bağlı Ses Aralıkları:

γ ışınları ve X ışınları UV – VIS , IR ve radyo dalgalarına göre daha düşük dalgaboyundadır. Kolorimetri ve spektrofotometri Visible bölge ve yakın ultraviole bölge ile ilgilendir.

Elektromagnetik aralıklar dalgaboyu, λ , olarak ifade edilir. (pikler arasındaki uzaklığın ölçüsüdür, genelde cm olarak ifade edilir.) Bir diğer önemli ifade dalga sayısı, ν , her cm deki dalganın sayısıdır. Frekans, ν , her saniyedeki dalga sayısıdır.

$$1 / \text{Dalgaboyu} = \text{Dalga Sayısı} = \text{Frekans} / \text{Işık Hızı}$$

$$1 / \lambda = \nu = \nu / c$$

$$\text{Angstrom} = 1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm}$$

$$\text{Nanometre} = 1 \text{ nm} = 10 \text{ \AA} = 10^{-7} \text{ cm}$$

$$\text{Mikrometre} = 1 \mu\text{m} = 10^4 \text{ \AA} = 10^{-4} \text{ cm}$$

$$\text{Işık hızı} = c = 2.99793 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$$

$$\text{Dalga Sayısı} = \nu = 1 / \lambda \text{ her cm deki dalga}$$

$$\text{Frekans} = \nu = c / \lambda \cong 3 \times 10^{10} / \lambda \text{ her saniyedeki dalga}$$

1.4.1. Spektrofotometri ve Kolorimetri Teorisi

Işık homojen ortama düştüğü zaman bir kısmı yansır, bir kısmı absorbe olur, geriye kalan kısmı da iletilir. Gelen ışının şiddeti I_0 , absorbe olan ışın I_a , iletilen ışın I_t ve yansıyan ışın I_r olmak üzere

$$I_0 = I_a + I_t + I_r$$

Cam hücreler kullanıldığında yansıyan ışık gelen ışığa göre % 4 olduğu için ihmal edilir. Bu durumda

$$I_0 = I_a + I_t$$

1.4.1.1

Lambert ortamın kalınlığı ile ışığın absorpsiyonundaki değişim üzerine çalışmıştır. Daha sonraki uygulamalarda Beer farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler için aynı denemeleri yapmış ve sonuca ulaşmıştır. Bu yüzden Lambert yasası ve Beer yasası birleştirilerek Lambert – Beer yasası olarak kullanılır.

1.4.1.1. Lambert Yasası

Monokromatik ışık geçirgen bir ortama verildiği zaman şiddetteki azalmanın oranı ile ortamın kalınlığı, ışığın şiddetiyle orantılıdır. Bu eşitliğe göre, absorbe eden ortamın kalınlığı aritmetik olarak arttığı zaman, yayılan ışığın şiddeti üstel olarak azalır.

$$- dI / dl = kI \quad 1.4.1.2$$

λ dalgaboyunda gelen ışığın şiddeti I , ortamın kalınlığı l , orantı faktörü k , $I = I_0$ da yerine konulup, $l = 0$ durumu için integrasyon yapıldığında

$$\ln I_0 / I_t = kl$$

veya

$$I_t = I_0 e^{-kl} \quad 1.4.1.3$$

L kalınlığında absorpsiyon ortamı üzerine düşen ışığın şiddeti I_0 , iletilen ışığın şiddeti I_t ve k absorpsiyon ortamı ve dalgaboyuna bağlı bir sabit olduğunda,

$$I_t = I_0 10^{-0.4343kl} = I_0 10^{-Kl} \quad 1.4.1.4$$

Burada $K = k / 2.3026$ olup absorpsiyon katsayısı olarak adlandırılır. Absorpsiyon katsayısı genellikle ışık şiddetini $1 / 10$ ' una indirmek için gerekli olan kalınlığın (1 cm) karşılığı olarak bulunur.

Eşitlik 1.4.1.4' den,

$$I_t / I_0 = 0.1 = 10^{-Kl}$$

veya

$$Kl = 1 \quad \text{ve} \quad K = 1 / l$$

I_t / I_0 oranı ortamın kalınlığı l ' ye bağılı gelen ışık – yansıyan ışık oranıdır, Transmittans olarak adlandırılır.

Ortamın absorpsiyonu A :

$$A = \log I_0 / I_t \quad 1.4.1.5$$

olarak verilir.

Böylece ortam seçilen dalgaboyunda gelen ışığın %10 unu iletiyorsa absorpsiyon 1 dir.

1.4.1.2. Beer yasası

Kantitatif analizlerde genellikle çözeltilerle çalışıldığı düşünülürken, monokromatik ışık için ışık absorpsiyonu ve ışık iletimi, sadece absorpsiyon tabakasının kalınlığının bir fonksiyonu olarak görülmemelidir. Beer çalışmalarında, ışık iletimi yada absorpsiyonu üzerine çözeltideki renkli bileşenin konsantrasyonunun etkisini incelemiştir. Lambert' in bulduğu ışık iletimi ve tabakanın kalınlığı arasındaki ilişkinin aynısını ışık iletimi konsantrasyon arasında bulmuştur. (eşitlik 1.4.1.3) Monokromatik ışığın yayılımının şiddeti, absorbe eden maddenin konsantrasyonu aritmetik olarak arttığı zaman, üstel olarak azalır.

$$I_t = I_0 e^{-k'c} = I_0 10^{-0.4343kc} = I_0 10^{-K'c} \quad 1.4.1.6.$$

c : konsantrasyon

k' ve K' : sabitler

(1.4.1.4), (1.4.1.5), (1.4.1.6) birleştirildiğinde

$$I_t = I_0 10^{-acl} \quad 1.4.1.7$$

veya

$$\log I_0 / I_t = acl \quad 1.4.1.8$$

Bu kalorimetri ve spektrofotometrinin temel eşitliğidir ve Lambert – Beer yasası olarak ifade edilir. a' 'nın değeri, konsantrasyonun ifade şekline bağlı olacaktır. Eğer c , mol / dm³ ve l cm ise a ϵ sembolüyle gösterilir ve molar absorptivite yada molar absorpsiyon katsayısı yada molar ekstinksiyon katsayısı olarak ifade edilir.

Bu spesifik absorpsiyon katsayısı E_s , her kalınlık (yol uzunluğu) ve konsantrasyon ünitesindeki absorpsiyon olarak bulunabilir.

Maddenin molekül ağırlığı kesin olarak bilinmediği zaman moleküler absorpsiyon katsayısının yazılması mümkün değildir.

$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 325 nm = 30 gibi gösterilir.

Bu, madde için 325 nm dalgaboyunda, 1 cm yol uzunluğunda ve %1 konsantrasyonda (her 100 cm³ çözeltide ağırlığının % 1 i yada 1 gr) bir çözeltinin $\log I_0 / I_t$ değerinin 30 olduğu anlamına gelir.

Absorbans, A, Transmittans, T, ve molar absorpsiyon katsayısı arasındaki ilişki şu şekilde gösterilir.

$$A = \epsilon cl = \log I_0 / I_t = \log 1 / T = -\log T \quad 1.4.1.9$$

Spektrofotometrelerin skalaları genellikle Absorbansı ve sıklıkla aynı zamanda %T' ı direkt olarak okuyacak şekilde kalibre olmuştur. Kolorimetrik ölçümler için I_0 genellikle saf solvent ile iletilen ışığın şiddeti olarak anlaşılır yada çözelti içindeki ışığın şiddeti; I_t ise, çözülden çıkan ışığın şiddeti yada çözelti ile iletilen ışığın şiddetidir.

Absorpsiyon katsayısı (yada ekstinksiyon katsayısı) yol uzunluğu birimi için absorbans :

$$K = A / t$$

veya

$$I_t = I_0^{-Kt}$$

Spesifik absorpsiyon katsayısı (yada absorbans indeksi) her yol uzunluğu birimi ve konsantrasyon birimi için absorbans:

$$E_s = A / cl$$

veya

$$I_t = I_0 10^{-E_s cl}$$

Molar absorpsiyon katsayısı (yada molar ekstinksiyon katsayısı) 1 cm yol uzunluğu ve 1 mol/dm³ konsantrasyon için spesifik absorpsiyon katsayısıdır.

$$\epsilon = A / cl$$

1.4.1.2.1. Beer Yasasının Uygulanması

Konsantrasyonları c_1 ve c_2 olan renkli maddelerin iki çözeltisi temel alınıp, bir cihaza yerleştirilirse, tabaka kalınlığı değişik olsa da kolayca ölçülebilir.

2 tabaka olduğu zaman, renk şiddeti:

$$I_{t1} = I_0 10^{-\epsilon l_1 c_1} = I_{t2} = I_0 10^{-\epsilon l_2 c_2} \quad 1.4.1.10$$

Burada l_1 ve l_2 , sistem görsel dengede olduğu zaman, sırasıyla c_1 ve c_2 konsantrasyonundaki çözeltilerin kolonlarının uzunluğu.

Bu koşullar altında Beer yasası:

$$l_1 c_1 = l_2 c_2 \quad 1.4.1.11$$

Bir kolorimetre çift amaçlı kullanılabilir.

- c_1 ve c_2 türleri için Beer yasasına uygun inceleme amaçlı 11 eşitliğine uyarak
- Bilinen konsantrasyonda c_1 çözeltisi ile bilinmeyen konsantrasyonun c_2 bir renkli çözeltisinin karşılaştırılarak c_2 nin belirlenmesi. Burada, eğer kullanılan konsantrasyon aralığı Beer yasasına uyuyorsa ve cihazda görsel eksiklik yoksa, 1.4.1.11 eşitliği geçerli olur.

Spektrofotometre kullanıldığında bilinen konsantrasyonun çözeltisi ile karşılaştırma yapmak gerekli değildir. Cihaz ile, iletilen ışığın şiddeti yada daha iyisi I_t / I_0 oranı (transmittans), bir bilinen l kalınlığı için direkt olarak bulunur. L ve c Beer yasasının 1.4.1.6 eşitliğine göre ise çalışma yapılabilir ve ϵ değeri bulunabilir.

Bilinmeyen çözeltinin konsantrasyonu C_x

$$C_x = \frac{\log I_0 / I_t}{\epsilon l}$$

Ekstinksiyon katsayısı (ϵ) gerçekte gelen ışığın dalgaboyu, sıcaklık ve kullanılan solventle doğrudan ilgilidir. Genelde, en iyi çalışma, çözeltinin maksimum absorpsiyon (minimum transmittans) gösterdiği dalgaboyunda çalışılarak yapılır. Böylece maksimum duyarlılık sağlanır.

Eşit hücreler için Beer yasası:

$$C \propto \log I_0 / I_t$$

$$C \propto \log 1 / T$$

Yada

$$C \propto A$$

Bu durumda ordinata A (yada 1/T) ye karşı absise c (konsantrasyon) grafiğe geçirilirse $c = 0$ ve $A = 0$ ($T = \%100$) noktasından geçen bir düz doğru gözlenir. Bu kalibrasyon eğrisi, çözeltilerin bilinmeyen konsantrasyonlarını, aynı materyal sonrası absorpsiyon ölçümleri ile, belirlemek için kullanılır.

1.4.1.2.2. Beer yasasından sapmalar

Beer yasası genellikle, yapı renkli iyon yada konsantrasyon ile değişmeyen çözünür halde renkli elektrolit içermiyorsa konsantrasyonun aralığını geniş tutar. Renkli bileşen ile reaksiyon vermeyen elektrolitlerin küçük miktarları, genellikle ışık absorpsiyonunu etkilemez. Elektrolitlerin büyük miktarları maksimum absorpsiyonun kaymasına neden olur ve böylece ekstinksiyon katsayısının değeri değişir. Çözeltide katı- renkli iyonlar, ayrışan ve birleşen yapılar olduğu zaman çözeltideki türlerin doğası konsantrasyon değişimiyle çeşitleneceğinden genellikle uyumsuzluklar gözlenir. Bu yasa, konsantrasyon değiştikçe, renkli katı formda farklı komplekslerin oluştuğu durumlarda geçerli değildir.

Aynı zamanda monokromatik ışık kullanılmadığında uyumsuzluklar olur. $\log I_0 / I_t$ yada $\log T$ ye karşı konsantrasyon grafiği çizildiğinde maddenin davranışı, her zaman sıfırdan geçecek bir doğru şeklinde olmalıdır.

Beer yasası kullanılmayan çözeltiler için kalibrasyon eğrisi en iyi bilinen konsantrasyonda standart serileri kullanılarak hazırlanır. Cihazdan okunan ordinata, 100 cm^3 de mg, yada 1000 cm^3 de mg olarak konsantrasyon absise karşı çizilir. En hassas çalışma için, gerçek karşılaştırmaya rastlayacak konsantrasyon aralığıyla, çözeltiler konsantrasyon aralığı örtüşecek şekilde kalibrasyon eğrisi hazırlanmalıdır.

1.4.2. Renk Ölçüm Metotlarının Simülendirilmesi ve Karşılaştırılması

Kolorimetrik ölçümün en temel prensibi, miktarı bilinen maddenin renk oluşumuyla belirlenmesi ve bilinmeyen madde üzerinde aynı koşullarda renk oluşumu sağlanarak karşılaştırma yoluyla ölçüm yapılmasıdır. 2 çözeltinin karşılaştırılması için genellikle 6 metottan biri yada daha fazlası kullanılır. Eğer standartların serisinin hazırlanması mümkün değilse, çözelti için absorbanans yada transmittans değeri ölçülerek molar absorpsiyon katsayısı hesaplanır. Ve bilinmeyen konsantrasyon absorpsiyon katsayısı ile gözlenen A yada T değeri kullanılarak eşitlik (12) , (13) gereği hesaplanır.

1.4.2.1. Standart Seriler Metodu

Nessler tüpüne konulan test çözeltisi bilinen hacme tamamlanır, karıştırılır. Rengi, benzer şekilde hazırlanmış standart serileriyle karşılaştırılır. Bilinen çözelti ile renk uyumu sağlayan konsantrasyon, bilinmeyen konsantrasyonudur. Bu metodun doğruluğu, standart serilerin doğruluğuna bağlı olup hata oranı $\% \pm 3$ ile $\% \pm 8$ aralığındadır.

Standartlar, tuz çözeltileriyle hazırlanabilir. FeCl_3 sulu HCl de (sarı), sulu CoCl_3 (pembe), sulu CuSO_4 (mavi), sulu $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (turuncu). Maddenin belirlenmesinde bilinen miktarlarla standartlar hazırlanır, sonra tamamen aynı koşullar bilinmeyene uygulanır.

1.4.2.2. Eşleştirme Metodu

Standart çözelti, saptanmak istenen bileşene reaktif eklenerek renk oluşturmasıyla hazırlanır. Bilinmeyen örnek çözelti aynı hacme ayarlanır. Bu metodun doğruluğu Standart seriler metoduna göre daha azdır.

1.4.2.3. Seyreltme Metodu(Tamamlama Metodu)

Örnek ve standart çözelti aynı boyuttaki cam tüplere konulur. Ve yatay konumdaki tüpler gözlemlenir. Aynı kalınlıktaki yatay çözeltiler gözlemlendiğinde, renk şiddeti fazla olan daha konsantredir. Tüplerdeki karşılaştırma çözeltilerinin yüksekliklerine orantılandığında orijinal çözeltinin konsantrasyonu bulunur. Bütün metotlar içerisinde en az hatalı olan budur.

1.4.2.4. Dengeleme metodu

Bu metot, tüm kolorimetrelerin temelini oluşturur. 2 tüpte karşılaştırma yapılır ve bir tüpteki sıvının yüksekliği, 2 tüpteki dikey renk şiddetleri aynı olacak şekilde ayarlanır. Tüplerden birindeki konsantrasyon bilindiğinde, 2 tüpteki sıvı yükseklikleri kıyaslanarak hesaplama yapılır.

$$C_1 l_1 = C_2 l_2$$

Bu basit orantı ile Beer yasası kullanılabilir ve beyaz ışık yerine monokromatik ışık kaynağı kullanılırsa yöntemde daha büyük oranda kesinlik sağlanır. Genel bir yaklaşım olarak, çözeltiler karşılaştırılırken konsantrasyonlar arasında çok büyük farklılıklar olamaması tercih edilir ve bir deneysel çalışmada en fazla doğruluk için kalibrasyon eğrisi oluşturulmaya çalışılır. Genellikle beyaz ışık kullanıldığından yöntemin doğruluğu % 7 civarındadır. Doğruluğun artması renk filtreleri ile üretilen monokromatik ışık kullanılması ile mümkün olur.

1.4.2.5. Fotoelektrik Fotometre Metodu

Bu metotta insan gözü yerini kullanışlı fotoelektrik hücreler alır.(ışığın şiddetinin ve dolayısıyla absorpsiyonun direkt olarak ölçülmesi amacıyla kullanılır.) Cihazlar maddenin renginden bağımsız olarak ışık absorpsiyonunu ölçen fotoelektrik hücreler içerir bu sebeple fotoelektrik kolorimetre yada fotometre yada daha iyi bir adlandırma ile absorpsiyometre olarak isimlendirilir.

Cihazın niteliği ışık kaynağının içeriğine bağlıdır. Cihaz, monokromatik ışığa yakın duyarlılığı yüksek ışık filtreleri (fotoelektrik fotometre filtresi), çözelti için cam hücre, çözelti ile iletilen radyasyonu algılamak için fotoelektrik hücre ve fotoelektrik hücrenin yanıtını belirleyecek bir aygıt içerir. Cihaz öncelikle, bilinen konsantrasyondaki çözelti serilerini tanımlayarak kalibre olur ve konsantrasyonlara bağlı eğri oluşturur. Kalibrasyon çözeltisinin referansı ve hücrenin yanıtı ile bilinmeyen çözeltinin konsantrasyonu belirlenir.

Bu cihazlar 1 yada 2 fotosel içermesine göre farklı formlarda kullanılır. Bir hücreli tipte ışığın absorpsiyonu, saf solventle gözlenen değerle bağlantılı olarak, çözelti ile direkt olarak belirlenir. Tek ışık kaynağı kullanımında ışık şiddetinin sabitlenmesi çok zordur, fotosellerde yorulma olması durumunda ışık şiddetinin her değişiminde dengeyi yeniden kazanmak gereklidir. 2 hücreli tip, ışık kaynağının iki hücredeki şiddetinde değişme olmaması konusunda daha güvenilirdir. Bu türde iki fotosel mevcuttur, aynı ışık kaynağı ile aydınlatılır ve her birini bir galvanometre ayarlar. Test çözeltisi bir hücreye saf solvent bir hücreye yerleştirilerek ölçüm yapılır.

1.4.2.6. Spektrofotometrik Metot

Çözeltide maddenin konsantrasyonunun belirlenmesi için şüphesiz ki en güvenilir metottur. Fakat Çok pahalıdır. Bir spektrofotometrede, ışığın neredeyse monokromatik bandlarına sahip ve sürekli kullanıma izin veren arıtılmış fotoelektrik fotometre filtresi bulunur.

Bir spektrofotometrenin temel kısımları

- i) radyant ışık kaynağı
- ii) monokromatör: Monokromatik ışık izole eden yada daha doğru seçerek ışık kaynağından yayılan enerjinin sınırlı bandlarını veren
- iii) çözücü ve test sırasında çözeltiler için cam veya silika hücreler
- iv) çözelti yada solvent içinden geçen enerjinin yayılımını ölçen yada algılayan bir aygıt (BASSETT ve ark, 1978).

1.4.3. CİHAZLAR

Ultraviyole ve görünür bölgede moleküler absorbanans ölçen cihazların bazıları basit ve ucuz olmakla beraber daha karmaşık yapılı, bilgisayar kontrollü modeller pahalıdır. Cihazlarda bir yada daha fazla sayıda ışın kaynağı, dalgaboyu seçici, numune kabı, ışın transduserleri, sinyal işlemcileri ve okuma düzenekleri vardır.

1.4.3.1. Işın kaynağı

Moleküler absorbanans ölçümleri için, geniş bir dalgaboyu aralığında gücü ani olarak değişmeyen bir sürekli ışın kaynağı seçilir.

1.4.3.1.1. Döteryum ve hidrojen lambaları

Ultraviyole bölgede döteryum veya düşük basınçtaki hidrojenin elektriksel uyarılması ile sürekli spektrum elde edilir. Hem hidrojen hem de döteryum lambaları 160 – 375 nm aralığında sürekli spektrumlu ışın verirler.

1.4.3.1.2. Tungsten telli lambalar

Görünür bölge için en yaygın olarak kullanılan lamba tungsten telli lambadır. Bu lambanın enerji dağılımı siyah cismin ışınmasına benzerdir. Tungsten telli lamba 350 – 2500 nm aralığında kullanılabilir.

1.4.3.1.3. Ksenon ark lambaları

Bu lambalarda, ksenon atmosferinden geçen elektrik akımı şiddetli ışın oluşturur. Spektrum 200 – 1000 nm arasında sürekli, 500 nm civarında enyüksek şiddete ulaşır.

1.4.3.2. Dalgaboyu seçici

Spektroskopik analizlerin çoğunda bant adı verilen ve dar, sürekli dalgaboyu gösteren ışıklara ihtiyaç duyulmaktadır. Dar bant genişlikleri, absorbans ölçümlerinin duyarlılığını artırır, seçicilik sağlar, optik sinyal ile derişim arasında doğrusal ilişki elde etmede aranılan özelliklerden biridir.

1.4.3.2.1. Filtreler

Dalgaboyu seçiminde iki tür filtre kullanılır. Girişim filtreleri ve absorpsiyon filtreleri. Absorpsiyon filtreleri spektrumun görünür bölgesiyle sınırlandırılmışken, girişim filtreleri ultraviyole, görünür ve infrared bölgeleri için kullanılabilir.

Girişim filtreleri, çok dar ışın bantları elde etmek için, optik girişim olayına dayanır.

Absorpsiyon filtreleri, genel olarak girişim filtrelerinden daha ucuz olup görünür bölgedeki bant seçimlerinde yaygın olarak kullanılmışlardır. Bu filtreler spektrumun belirli bölgesini absorplama işlevi gösterirler. Bant genişlikleri büyük ve dar bant veren filtrelerden geçen ışın şiddeti kesri daha düşüktür.

1.4.3.2.2. Monokromatörler

Birçok spektroskopik yöntemde ışınların dalgaboyunu sürekli olarak değiştirmek istenir veya gerekir. Bu işlem spektrum taraması olarak adlandırılır. Monokromatörler spektral taramaları yapabilmek için tasarlanmış sistemlerdir.

1.4.3.3. Numune kabı

Ultraviyole bölge için (350 nm altı) kuvars veya erimiş silis kullanılarak, 350 -- 2000 nm için silikat camlarından yapılmış olabilir.

1.4.3.4. Işın transduserleri

Eski spektroskopik cihazlarda dedektör olarak göz, fotoğraf plakası veya filmi kullanılırken, şimdi bu düzeneklerin yerini büyük ölçüde ışın enerjisini elektrik sinyaline çeviren transduser sistemleri almıştır.

1.4.3.5. Sinyal işlemcileri

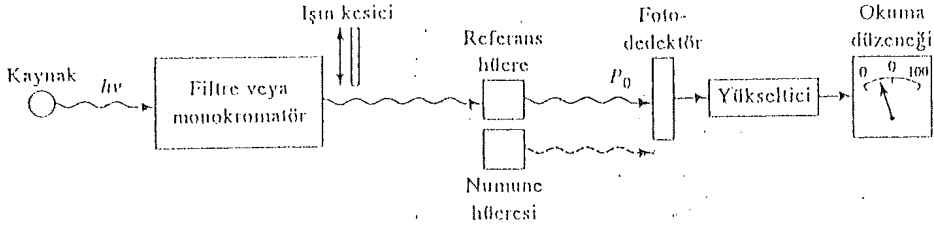
Transduserden alınan elektrik sinyalini yükselten elektronik bir düzendir. Sinyali doğru akımdan alternatif akıma değiştirebilir, sinyalin faz değişimini sağlayabilir ve sinyalde istenmeyen bileşenleri uzaklaştırabilir.

Kolorimetre insan gözünün dedektör olarak kullanıldığı bir veya daha fazla renk karşılaştırma standartı kullanarak absorpsiyon ölçümlerini yapan cihazdır. Fotometre ise bir ışın kaynağı, filtre ve fotoelektrik transduser ile kayıt sisteminden oluşan bir cihazdır. Genelde fotometre denildiğinde kolorimetre veya fotoelektrik kolorimetre ima edilmektedir. Filtreli fotometreler ticari olarak görünür ve ultraviyole bölgedeki absorpsiyon ölçümleri için imal edilmişlerdir. Spektrometre, ışın şiddetini dalgaboyu ve frekansın fonksiyonu olarak belirleyen aletlerdir. Bazı spektrometrelerin dağıtma modülleri çok kanallı olabilmektedir ve bu yüzden iki veya daha fazla frekans aynı anda incelenebilmektedir. Spektrofotometre, bir çeşit spektrometre olup, bir veya daha fazla çıkış sliti bulundurmaktadır. Bunların hemen arkasına yerleştirilen fotoelektrik transduserler, iki demetin ışın gücü oranını, absorpsiyon spektroskopide olduğu gibi dalgaboyunun fonksiyonu olarak belirleyebilmektedir.

1.4.4. Cihaz Tipleri

1.4.4.1. Tek ışınlı cihazlar

Işın kaynağı, dalgaboyu seçimi için filte veya monokromatör, ışın yoluna sıra ile konulacak hücreler, transduser, yükseltici ve sinyal okuma düzeneği içerir.

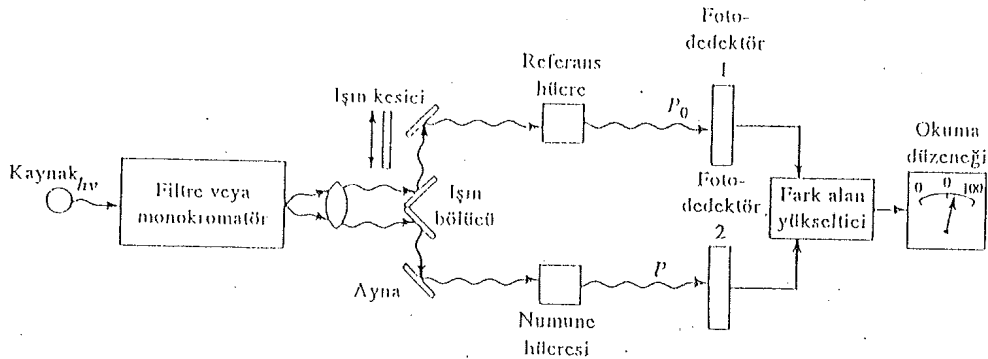


Şekil 1.4.4.1.1. Tek Işınlı Cihaz

1.4.4.2. Çift ışınlı cihazlar

Genelde modern fotometre ve spektrofotometreler çift ışınlıdır. Işın bölücü olarak adlandırılan V şeklinde bir ayna ile oluşturulan iki ışından biri referans çözeltisinden geçerek transdusere ulaşır ve ikincisinde aynı anda numune çözeltisinden geçerek ikinci bir eşdeğer transdusere ulaşır. İki transduserin cevapları yükseltilir ve cevapların oranı elektronik olarak ölçülür ve okuma cihazında gösterilir. Elle çalıştırılan cihazlarda, ölçüm iki basamaklıdır, ilk basamakta ışın kesici ışını keserken, cihaz sıfıra yararlanır. İkinci basamakta, ışın yolu açılır ve geçirgenlik veya absorban, okuma düzeneğinden doğrudan okunur.

Çift ışınlı cihazların çok kısa süreli değişimler hariç ışın şiddetindeki sapmaların ve transduser ve yükselticideki salınımların sonuçlara etkisini önleme avantajları vardır. Ayrıca dalgaboyu ile ışın şiddetindeki büyük değişimlerin etkisini de önlerler.

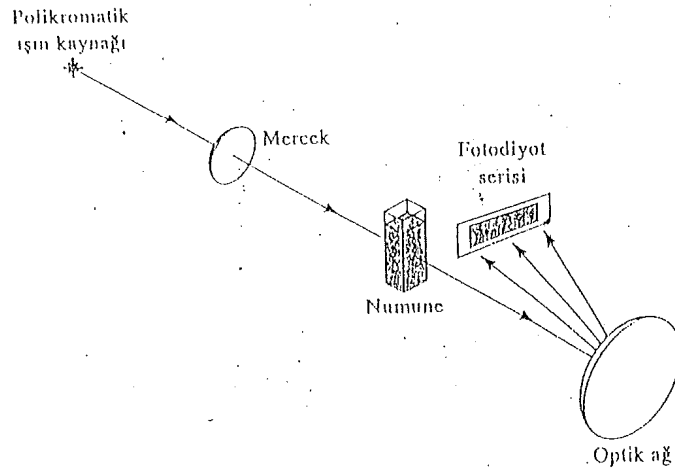


Şekil 1.4.4.2.1. Çift Işınlı Cihaz

1.4.4.3. Çok kanallı cihazlar

Piyasada görülen en son spektrofotometre tek ışıklı diyot serili transduserli bir cihazdır. Bir lambadan çıkan ışınlar önce numune veya çözücü kabından geçer ve sonra sabit optik ağılı monokromatöre ulaşır. Ayrılan ışınlar fotodiyot transduserine düşer. Bu transduserde bir silikon çip boyunca yerleştirilmiş yüzlerce doğrusal fotodiyot serileri bulunur. Her bir diyodun çıktısı farklı bir dalgaboyundaki ışına karşılık gelir ve bu cevaplar sırayla kaydedilerek spektrum elde edilir. Elektronik kayıt işlemi hızlı olduğu için tüm spektrum verileri birkaç saniyede toplanır. Diyot serili bir cihaz, kinetik incelemelerde orta hızdaki reaksiyonların ara ürünlerini incelemek için ve sıvı kromatografi kolonu veya kapiler elektroforez kolonundan çıkan bileşenlerin kalitatif ve kantitatif tayininde çok yararlıdır.

Fakat dezavantajı ayırma güçlerinin sınırlı olması ve yüksek fiyatlarıdır (KILIÇ ve ark, 1998).



Şekil 1.4.4.3.1. Çok Kanallı Cihaz

1.4.5. Kolorimetrik Çalışmalar

1.4.5.1. Kolorimetrik çalışmalar bakıldığında belirlenecek genel noktalar

Fotoelektrik hücrelerin (Filtreli fotometre yada absorpsiyometre yada spektrofotometre) kullanımına bağlı olarak çoğu çalışmada görsel metotlar ortadan kalkmıştır. Böylece kolorimetrik çalışmalarda deneysel hatalar azaltılmıştır. Fotoelektrik kolorimetre olarak adlandırılan ucuz cihaz her laboratuvarında bulunabilir.

Spektrofotometrelerin kullanımı spektrumun UV bölgesine kadar uzanan çalışmaları kapsar, böylelikle analistler çalışmalarında tek dalgaboyuna bağlı kalmak zorunda kalmazlar.

Maddenin belirlenmesi için kolorimetrik prosedürün seçimi şu sebeplere bağlıdır:

- a) Bir kolorimetrik metot düşük konsantrasyonlar için titrimetrik yada gravimetrik işlemlere göre, daha hızlı ve daha basit şekilde, sıklıkla daha güvenilir sonuçlar verecektir.
- b) Kolorimetrik metot sıklıkla gravimetrik yada titrimetrik prosedürün uygun olmadığı durumlarda kullanılır
- c) Kolorimetrik prosedürler benzer örneklerin bileşenlerinin bazılarının rutin analizleri için işlemi hızlandırdığından dolayı avantajlıdır.

1.4.5.2. İyi bir kolorimetrik analizin kriterleri

1) Renk reaksiyonu karakteristik olmalı: Çok az reaksiyon belirli maddeler için spesifikdir, seçicidir. Maddeyle ilgili küçük gruplardan kaynaklanan çok renk ortaya çıkar, Diğer kompleks formundaki bileşiklerin tanımlanması amacıyla cihazlar kullanıldığı zaman, absorpsiyon seviyelerinin değiştirilmesi ve pH kontrolü ile gözlenenin spesifik olması için yaklaşıklık ortadan kalkar.

2) Renk ve konsantrasyon orantılı olmalı: Görsel kolorimetreler için maddenin belirlenen konsantrasyonu ile renk şiddeti artışının lineer olması önemlidir. Bu fotoelektrik cihazlar için gerekli değildir, rengin cihaz tarafından okunması ile çözeltinin konsantrasyonu belirlenir ve kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Diğer yandan açıktır ki, fotoelektrik kolorimetreler kullanıldığı zaman Beer yasasında izlenen sistem kullanışlıdır.

3) Rengin kararlılığı: Doğru okumaya müsait olan, yeterli kararlılıkta renk üretilmelidir. Reaksiyonlar uygulanabilir, renkler maksimum süre sonraya uzanır, maksimum rengin periyodu kesin ölçüm yapılabilmesi için gerekli uzunlukta olmalıdır. Bunun sağlanabilmesi için de diğer yapıların etkisi ve deneysel koşullar (sıcaklık, pH, hava kararlılığı vs) bilinmelidir.

4) Tekrarlanabilirlik: Kolorimetrik prosedür spesifik deneysel koşullar altında tekrarlanabilir sonuçlar vermelidir. Bu reaksiyonun stokiyometrik kantitatif kimyasal değişim sunması gerekli değildir.

5) Çözeltinin temizliği: Temiz standartlarla karşılaştırma yapılıyorsa çözelti çökelekten uzaklaştırılmalıdır.

6) Yüksek duyarlılık: Özellikle çok küçük miktarları saptanabildiği zaman renk reaksiyonları yüksek duyarlılıkta ve avantajlıdır. Ayrıca reaksiyonun UV den çok Visible bölgede güçlü absorpsiyon yapması daha caziptir. UV bölgede diğer maddelerin engelleyici etkileri daha belirgindir.

Çoğu kolorimetrik reaksiyonların seçici karakterine bakıldığında, yapının belirlenmesi için spesifik renk reaksiyonu olarak kullanıma hazır prosedür kontrolü önemlidir. İnorganik sıradan metotları ile madde izolasyonu başarılabilir. Kimyasal ayırmanın bazı metotları can sıkıcı ve uzun olabilir. Çok düşük miktarlar için düşünüldüğünde, çözünmeden kaynaklı kayıplar, aşırı doygunluk engelleyicidir.

Her maddenin ayrılabilmesi ve spesifik renk reaksiyonlarının oluşturulabilmesi için izlenecek proses

- a) Kompleks iyonlarının yada reaktif olmayan komplekslerin oluşumu ile engelleyici yapıların etkilerinin yok edilmesi
- b) pH ayarlaması, çoğu reaksiyon pH limitleri ile oluşur
- c) Bazen uygun kimyasal uygulamalardan sonra bir organik solventle ekstraksiyon ile engelleyici maddelerin uzaklaştırılması
- d) Bir organik kompleksin oluşumu ile maddenin izolasyonu ve belirlenmesi mümkündür. Sonra bir organik solventle ayrılır. Bu metot (a) ile birlikte. Bir kompleks iyon dönüşümü ile, çözünür organik kompleks oluşturularak iyon engellemesi önlenir.
- e) Uçurma ile ayırma;bu metot sınırlı uygulanır. Fakat iyi sonuçlar verir. HCl in verdiği triklorürden arseniğin destile edilmesi gibi.
- f) Civa katot yada kontrollü katot potansiyeli ile elektroliz
- g) Fiziksel metotların uygulamaları seçici absorpsiyon, kromatografik ayırmalar ve iyon değiştirici ayırmalarda kullanılır.

Standart eğrilerin bir noktada ayrıldığı düşünülebilir. Filtreli fotometre yada spektrofotometrenin kullanıldığı yaygın metotta belirlenecek her bileşen için standart eğri (referans yada kalibrasyon eğrisi) oluşturma gereksinimi vardır. Bileşenin uygun miktarları alınır, rengin geliştirilmesi ve uygun dalgaboyunda iletim yada absorpsiyonun ölçülmesi için örnek çözeltisiyle aynı uygulamaya tabi tutulur. Absorpsiyon ($\log I_0 / I_t$) konsantrasyona karşı grafiğe geçirilir. Eğer Beer yasası göz önünde bulundurulursa bir doğru oluşmalıdır. Bu doğru aynı deneysel koşullar altında ögenin gelecekteki belirlemelerinde de kullanılır. Absorpsiyon konsantrasyonla direkt orantılı olduğu zaman doğrunun oluşturulması için sadece birkaç nokta gereklidir. Standart eğri aralıklarıyla oluşturulur. Filtreli fotometre kullanıldığı zaman filtrenin ve ışık kaynağının özelliği zamanla değişebilir.

Standart eğri çizildiğinde blank (kör) çözeltinin iletiminin belirlenmesi gerekir. Bu işlem 0 konsantrasyonunu verir. Bazı renkli çözeltiler için iletimin sıcaklık katsayısından bahsedilebilir ve bu sıcaklık kalibrasyon eğrileri oluşturulurken birbirinden çok farklı değildir.

1.4.6. Kolorimetrik Çalışmalar ile İlgili Uygulamalar

1.4.6.1. Alüminyum

Alüminyumun kolorimetrik belirlenmesinde kullanılan reaktifler aurintrikarboksilat (alüminon) ve eriokrom siyanin R' dir. Oldukça iyi sonuç gösterir. PH 5.9 – 6.1 aralığında ortamda demir ve bakır olmaması koşuluyla çinko, nikel, mangan ve kadmiyum engellemesi önemsizdir. Çeliğin analizinde engelleyici elementleri ayırmak için çözelti selüloz kolondan geçirilebilir. Konsantre HCl ve yeni damıtılmış etil metil keton (8 : 192 v / v) karışımı ile demir ve diğer elementler ortamdan uzaklaştırılabilir. Alüminyum kolondan (1 : 5 v / v) sulandırılmış HCl geçirilmesi ile örnek hiç nikel içermeyecek şekilde elde edilir.

Yöntem:

2-70 µg aralığında Alüminyum ve serbest engelleyici elementler içeren çözelti 250 ml.lik kaba aktarılır. Üzerine 5 ml H₂O₂ eklenip iyice karıştırılır. PH 6 ya ayarlanarak üzerine 5 ml eriokrom siyanin R çözeltisi eklenip karıştırılır. 50 ml tampon çözelti eklenerek, 30 dk sonra 535 nm.de spektrofotometre ile Absorbans okunur. Kalibrasyon eğrisi 0, 1, 2, 3, 4, 5 ml standart Alüminyum çözeltileri ile hazırlanır.

1.4.6.2. Antimon

Bu prosedür, KI çözeltisinin aşırısı ile Antimon (III) ün H₂SO₄ içindeki çözeltisinin muamele edilmesiyle sarı tetraiyodoantimonat (III) asit (HSbI₄) oluşumunu temel alır.

Visible bölgenin 425 nm si spektrofotometrik ölçümlerde kullanılabilir. Daha hassas ölçüm için UV 330 nm kullanılır. Bizmut, bakır, kurşun, nikel, çinko, tungsten ve molibdatın oldukça büyük miktarları engelleyicidir.

Yöntem:

100 ml.de 0.15 – 1.8 mg Sb içeren çözelti yavaşça H₂SO₄ e eklenir. (1.2 – 1.5 M) 10 ml.si 50 ml.lik balon jöjeye alınır, üzerine 25 ml KI – askorbik asit reaktifi eklenir. Ve % 25 lik (v / v) H₂SO₄ ile tamamlanır. Karıştırılır ve hızlıca 425 nm yada 330 nm de Absorbans değerleri ölçülür. Reaktif blank olarak alınır.

Kalibrasyon eğrisi uygun hacimlerdeki standart antimon çözeltilerine örneklerle aynı uygulamaların yapılması ile hazırlanan çözeltilerin ölçümleri ile hazırlanır.

1.4.6.3. Berilyum

Alkali koşullar altında 4 nitrobenzen- azo-arsinol ile reaksiyonu sonucu berilyumun eser miktarlarının spektrofotometrik tayini kolaylıkla yapılır. Bu reaktif asıl ortamında sarıdır, berilyum ile kırmızı-kahverengi renk verir. Borik asit tamponu kullanılarak ortamın alkalinite sınırı ayarlanır, bu şekilde tekrarlanabilirlik artar. Alüminyum 25 ml.de 240 mg varlığında engelleyicidir. Alüminyumun her molü için ortama bir mol fazla NaOH eklenmesi yoluyla etkisi azaltılabilir. Diğer elementler ilk olarak NaOH ile muamele edilerek etkileri önlenir. Fakat berilyumun erken çökmesi

olasıdır. Çinkonun etkisi çok azdır. Sülfid ile çöktürülerek ortamdan uzaklaştırılabilir. Bakır etkisi önemlidir. Çok küçük miktarları bile NaOH çözeltisinde çözülür. Bakır, Nikel, Demir ve Kalsiyumun küçük miktarlarının engellemesi EDTA ve trietanol amin ile kompleks oluşumuyla engellenebilir.

Yöntem:

Berilyumun nötral çözeltisi (10 ml de 5-8 µg element içeren) 25 ml balona alınır. 2.8 ml 2 M NaOH eklenir. (alüminyum miktarına göre daha fazla da olabilir) 5 ml 0.64 M borik asit çözeltisi ve 6 ml boya çözeltisi eklenir ve saf suyla tamamlanır, iyice karıştırılır. Tercihen 2 cm hücrede 520 nm de Transmittans ölçülür.

Kalibrasyon eğrisi oluşturulurken 5-8 µg Be içerecek şekilde berilyum sülfat ile aynı deneysel koşullar geçerli olarak standart çözeltiler hazırlanır.

Boya çözeltisi, 0.025 gr 4 nitro benzen azo orsinol 0.1 M NaOH ile birkaç saat kaynatılarak hazırlanır, kullanılmadan önce süzülmalıdır.

1.4.6.4. Magnezyum

Magnezyum tayininde iki metot yaygın olarak kullanılır. Titan sarısı metodu ile renkli kolloidal süspansiyon yada solokrom siyahı metoduyla kırmızı renkli kompleks oluşumu söz konusudur. 2. Yöntem çoğu yönden tercih edilir.

1.4.6.4.1. Titan sarısı metodu

Titan sarısı (dehidro tiyo-p- toluidin sülfonik asidin sodyum tuzu) organik boya varlığında pH >12 de NaOH ile kırmızı renkli Mg(OH)₂ çökeleği oluşur. 4-5 ppm altındaki Mg konsantrasyonlarında oldukça kararlı süspansiyonlar oluşur. Hidroksil amonyum Klorür varlığı ile rengin solması engellenir. Bu reaktif tek başına iken NaOH çözeltisinde sarı-kahverengi renk verir.

Metallerin çoğu engelleyicidir, kısmen alkali hidrokisit çözeltilerinde çözünmez hidrokisitler (Cd, Ni, Co) yada NaOH fazlasında çözünür hidrokisitler (Al, Zn, Sn) verirler. Fosfatın oldukça büyük miktarlarında renk kaybolur, kalsiyum magnezyum rengine yakın şiddette renk verir. Kalsiyumdan kaynaklanan hatalar örnek ve standart çözeltilere aynı miktarda Ca eklenerek azaltılır.

Yöntem:

Demir, Alüminyum, Fosfat gibi sulu amonyak çözeltisinde tamamen çöken engelleyici elementler tamamen yok edilir. Aynı zamanda kalsiyum, amonyum oksalat çözeltisi ile ve diğer metaller de uygun ayırma metotları ile ortamdan ayrılır. Amonyum tuzlarını uzaklaştırmak için süzme ve kurutma işlemleri yapılır. ve çökelek birkaç damla seyreltik HCl ile çözülerek balon jode uygun hacme tamamlanır.

50 ml lik balona 5 ppm yada daha az Mg içerecek şekilde örnek çözelti alınır. Seyreltik NaOH çözeltisi ile nötrale edilir. 35 ml su, 1 ml % 5 lik hidroksil amonyum klorür çözeltisi ve 1 ml %0.15 lik titan sarısı sulu çözeltisi, 5 ml 1 M NaOH çözeltisi eklenerek balon çalkalanır ve saf su ile tamamlanır, karıştırılır, maksimum 535 nm ışın veren filtrelili fotometre ile renk şiddeti ölçülür.

Kalibrasyon eğrisi oluşturulurken 0, 1, 2, 3, 4, 5, µg Mg içeren standartlar hazırlanır. (saf magnezyum ve seyreltik HCl ile hazırlanır) Her çözelti örnekle aynı işlemlere tabi tutulur.

1.4.6.4.2. Solokrom Siyahı Metodu

Organik reaktiflerin eklenmesiyle Mg ile çözünür renkli komplekslerin oluşturulmasıyla kolloidal sistemlere özgü zorluklardan kurtulunur. Bu reaktiflerden biri solokrom siyahı Mg ile kırmızı çözünür kompleks oluşturur. Bu renk kararlı değildir. Ca, Cu, Mn, Fe, Al, Co, Ni engelleyicidir. PH 10,1 e tamponlanır. 1 Mg iyonu tek kompleks oluşur. Kalsiyum magnezyumdan metanol fazlalığında sülfat çökeleği halinde ayrılır.

Yöntem:

100µg dan az Mg içeren, kalsiyum ve diğer metallere temizlenmiş, nötral örnek çözeltisi 100 ml lik balon jöjeye alınır. 25 ml tampon çözelti eklenerek karıştırılır. 10 ml solokrom siyahı çözeltisi dikkatlice eklenir, karıştırılır ve 100 ml ye tamamlanır. 520 nm de Absorbans, benzer şekilde Mg içerikli hazırlanmış blank çözeltiye karşı ölçülür. (BASSETT ve ark, 1978).

1.4.7. UV – VIS Spektrofotometreleri ile Ölçüm

Potasyum Nitrat (KNO_3) için konsantrasyonun ve kalibrasyon eğrisinin belirlenmesi:

Bir inorganik bileşik, örneğin KNO_3 örneği, UV bölgesinde absorpsiyon verir ve elle ayarlanan UV – VIS spektrofotometre kullanılarak gözlemlenir.

Absorbans ve %T yaklaşık =.1 M KNO_3 çözeltisinin 240 – 360 nm de 5 nm aralıkla, maksimum ve minimum civarında daha az aralıklarla ölçülür. Manual spektrofotometreler A ve %T değerlerinin ikisine bağı olarak belirler oysa double beam spektrofotometreler iki değeri bir skalada gösterir.

Spektrofotometrik datalar normal durumlarda aşağıdaki şekillerde sunulur:

Genel prosedür, Absorbansa karşı Dalgaboyu (nm) dur. Grafikten maksimum absorbansa (yada minimum transmittansa) karşı gelen dalgaboyu okunur, kalibrasyon eğrisi hazırlanırken bu dalgaboyunda ölçüm yapılır.

İki sebeple bu nokta seçilir:

- i) Bu bölgede iki farklı konsantrasyon arasında en büyük farkta Absorbans gözlenir, böylece konsantrasyon çalışmalarında maksimum duyarlılık sağlanır.
- ii) Dalgaboyunun yavaş değişimine karşı eğride Absorbans en az değişir.

Genel bir kural olmamakla birlikte, hazırlanan çözeltinin derişimi kullanılan spektrofotometreye bağı olacaktır. Genellikle 0.01 – 0.001 M çözelti en yüksek absorbans için uygun konsantrasyondur. Diğer konsantrasyonlar bu örnekten seyreltme

yolu ile hazırlanır. Bu konsantrasyonlarda seçilen absorptans aralığı 0.3 – 1.5 arasındadır.

Maddenin konsantrasyonunun belirlenmesi için bileşğin maksimum absorpsiyonunun dalgalıoyu seçilir. (KNO_3 için 302,5 – 305 nm) ve seçilen dalgalıoyunda maddenin 4 yada 5 konsantrasyonunun (2, 4, 6, 8, 10 gr $\text{KNO}_3 / \text{dm}^3$) absorptansı ölçülerek kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Absorptansa karşı konsantrasyon çizilir. Eğer bileşik Beer yasasına uyumlu lineer kalibrasyon eğrisi veriyorsa, doğru orjinden geçecektir. Eğer bilinmeyen çözeltinin absorptansı kalibrasyon eğrisinde gözlenirse konsantrasyon belirlenmiş olur.

Eğer bilinen bileşik Beer yasasına uyuyorsa molar absorpsiyon katsayısı ϵ bir standart çözeltinin absorptansının ölçümünden hesaplanır. Bilinmeyen konsantrasyonu aynı koşullarda ölçülen Absorptans değerinden yararlanılarak ϵ değerinin kullanılmasıyla belirlenir.

Yöntem:

110 °C de 2 – 3 saat kurutulan ve desikatörde soğutulan KNO_3 ün 10 g / dm^3 sulu çözeltisi hazırlanır. 240 – 350 nm aralığındaki %T ve A değerleri hassas bir spektrofotometre yardımı ile ölçülür. Dataları göstermenin 3 farklı yolu vardır:

- i) Absorptansa karşı dalgalıoyu
- ii) %T ye karşı dalgalıoyu
- iii) $\log \epsilon$ ye karşı λ

Eğrilerden maksimum absorpsiyonun dalgalıoyu (yada minimum transmittans) belirlenir.

2, 4, 6, 8, gr $\text{KNO}_3 / \text{dm}^3$ içeren örneklerin absorptansı bu dalgalıoyunda okunur. Absorptansa karşı konsantrasyon grafiğe geçirilir.

KNO_3 ün bilinmeyen çözeltisinin absorpsiyonu, kalibrasyon eğrisinden okunarak konsantrasyon belirlenir (BASSETT ve ark, 1978).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Antrakınonlar, genellikle Polyganaceae familyası başta olmak üzere birçok familyaya ait türlerden izole edilmektedir.

Rumex türleriyle ilgili bu güne kadar yapılan çalışmalarda çok sayıda antrakınon ve türevi bileşikler izole edilmiştir.

Rumex Japonicus içindeki antrakınon miktarı tespit edilip, elde edilen antrakınonun hayvanlar üzerindeki etkisi karşılaştırılmıştır (CHOONG, 1961).

Rumex Crispus ve Rheum palmatum kökleri su, alkol ve eterde ekstrakte edilmiş ve her iki kökün ekstraktındaki antrakınon, antrasen ve antron miktarları tespit edilmiştir.

Rheum palmatum ve Rumex Crispus ekstraktındaki antrakınon miktarı karşılaştırıldığında Rumex Crispus'ta fazla olduğu anlaşılmıştır. Farmakolojik etkileri karşılaştırıldığında Rumex Crispus'un Rheum palmatumdan daha etkili olduğu anlaşılmıştır (ARIAS ve MOLFINO, 1962).

Rumex orientalis bitkisinden 6-asetil-5-5hidroksi-3-metoksi-7-metil-1,4-naftakinon elde edilmiş, ayrıca bu bitkiden Musizin, Chrysophanol, Emodin, Physicon, Aloe Emodin ve Stigmasterol gibi antrakınon türevleri de izole edilmiştir (MANJU, 1980).

Üç yıllık Rumex domesticus, Rumex orientalis, Rumex sanquienus bitkilerinin yaprakları ekstrakte edilerek, ince tabaka kromatografisi ve fizikokimyasal metotlar kullanılarak Chrysophanol, Physicon, Frangula Emodin ve Aloe emodin ayrılmıştır (GRZNAR ve RODO, 1978).

Rumex hastatus'da Rumex Crispus'da olduğu gibi Emodin, Chrysophanol, Physicon bileşikler tespit edilmiştir (ALHABAD, 1980).

Üç yıllık *Rumex Alpinus*'un kök ve sapında antrakinon türevlerine rastlanmıştır (BABULKA ve ark, 1982).

Rumex Pulcher ile yapılan çalışmada bitkinin kök kısmında Emodin glikozit sülfat, Emodin diglikozit sülfat, emodin glikozit, emodin diantron, Emodin yapıları tespit edilmiştir. Bitkinin kök kısmı oda sıcaklığında metanolde bekletilmiş, sonra birkaç saat süreyle hidroliz edilerek glikozitler parçalanmış ve ince tabaka kromatografisi uygulamaları ile emodin türevleri saflaştırılıp, bitkideki emodin miktarı belirlenmiştir (HARBORNE ve MOKHTARI, 1977).

Rumex abyssinica türü bitkinin kök kısımlarına ekstraksiyon, kolon Kromatografisi, İnce tabaka Kromatografisi işlemleri uygulanmış, 1 kg kökün Petrol Eteri ekstresinden alınan 1' er g' lık kısımlara bu işlemler uygulandığında 100 mg Chrysophanol, 19 mg Physicon ve 0.65 g Emodin ayrılmıştır (MUNAVU ve ark, 1984).

Rumex Maritimus türü bitkinin 230g' ı Petrol Eteri – Metanol (1 : 1) karışımı ile ekstrakte edilip Petrol Eteri, Etil Asetat, Metanol sırasıyla polarlıkları arttırılarak kolon kromatografisine tabi tutulup İnce Tabaka Kromatografisi ile saflaştırma yapıldığında 5 mg 1-8 dihidroksi-3- metil antrakinon ayrılmıştır (AHMED ve ark, 1991).

Rumex Crispus L. ve *Rumex Gracilescens* türü bitkilerde antrakinon türevlerinin varlığı $MgCl_2$ (MeOH) çözeltisi ile tespit edilmiş, İnce Tabaka Kromatografisi ile saflaştırma yapılmış, her tür için toplam antrakinon miktarları tespit edilmiştir. *R. Crispus*' ta % 2.86, *R. Gracilescens*' te % 4 oranında antrakinon içeriği belirlenmiştir (DEMİREZER, 1994).

Trichoderma Polysporum türü bitki ile çalışma yapılmış kloroform ekstresine Kolon Kromatografisi uygulanmış 35 mg 1 hidroksi -3- metil antrakinon, 20 mg 1,8 dihidroksi antrakinon ve 8 mg 1-6-8 trihidroksi -3- metil antrakinon (emodin) saflaştırılmıştır (DONNELLY ve SHERIDAN, 1986).

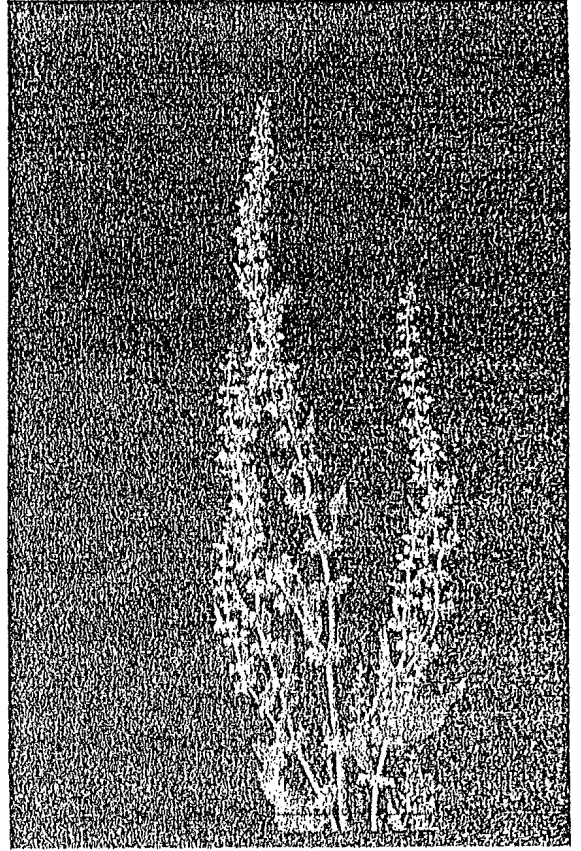
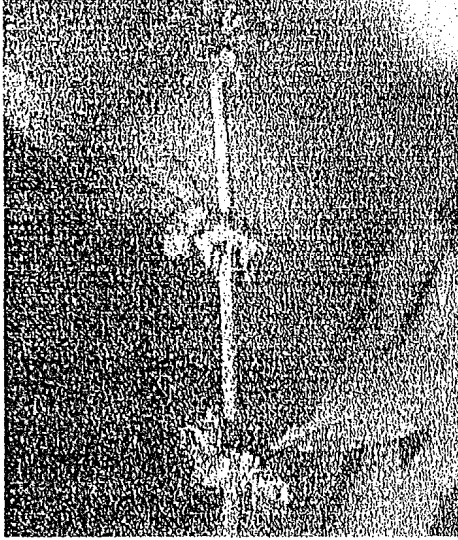
Kenya'da Rumex türleri incelendiğinde yapılarında Chrysophanol, physicon ve emodin belirlenmiştir (MIDIWO ve RUKUNGA, 1985).

Antrakinon pigmentlerinin Kağıt Kromatografi incelemeleri yapılmış Chrysophanol, Physicon, Emodin, Alizarin, Tetrahidroksi antrakinon gibi birçok antrakinon için R_f değerleri ve tabakadaki renkleri belirlenmiştir. Tabakalardaki antrakinonlar üzerine metanollü Magnezyum Asetat çözeltileri püskürtülmüş, antrakinonlardaki hidroksil grubunun konumuna göre reaktifle farklı renkler verdikleri belirlenmiştir (SHIBATA ve ark, 1950).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Çalışmada kullanılan bitki, halk arasında kızılcecik olarak adlandırılmakla beraber, Gazi Üniversitesi Botanik Profesörü Hayri DUMAN tarafından polyganaceae familyasına ait Rumex Pulcher (L.) Lam olarak belirlenmiştir. Çalışma boyunca kullanılan tüm bitki Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Alahan Kampüsü civarından toplanmıştır. Bitki Nisan – Temmuz ayları aralığında yeşil görümlü, tohumlu, iri yapraklı olup, Temmuz ayından itibaren rengi bordo – kahverengi ye dönerek kurumakta, tohumlar dikensi bir hal alıp, yaprakları büzüşmektedir.



Şekil 3.1.1. Rumex Pulcher'in Genel Görünümü

Deneyde kullanılan tüm çözücüler Merck'ten satın alınmış, silikajel olarak Merck Kieselgel 60 F₂₅₄, hazır aluminyum tabaka olarak gene Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ kullanılmıştır.

UV – VIS spektrofotometre olarak örneklerin maksimum absorpsiyon verdikleri dalgaboyu belirlenirken, spektrum tarama için SHIMADZU marka 1601 model çift ışınli spektrofotometre, konsantrasyon çalışmaları için ise SHIMADZU marka 1208 model tek ışınli spektrofotometre kullanılmıştır. Ölçümler sırasında 1 cm kalınlığa sahip cam hücreler kullanılmıştır.

pH ölçümleri WTW marka pHmetre kullanılarak yapılmıştır.

Madde yapısının aydınlatılmasında TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi'nde bulunan cihazlar kullanıldı. ¹H – NMR spektrumları için Bruker AC-200 Süper iletken Magnetli FT-NMR model cihaz ve çözücü olarak da CDCl₃, IR spektrumu için JASCO FT, IR-5300 model cihaz ve kütle spektrumu için ise VG-Zabspre GC – MS cihazı kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

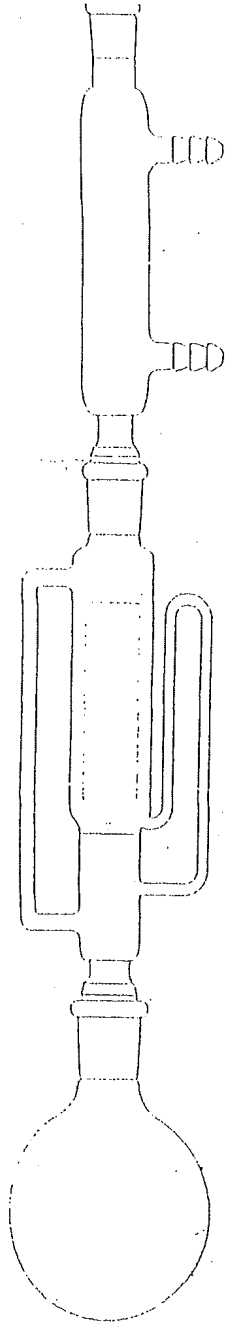
Bu bölümde, Rumex Pulcher kök ve tohumlarından emodin ayrılması için yapılmış olan ekstraksiyon ve kromatografi işlemleri ile daha sonrasında yapılmış olan spektrofotometrik analizlerle bitkideki emodin miktarını belirlemeye yönelik çalışmalar anlatılacaktır.

3.2.1. Ekstraksiyon ve Kromatografi İşlemleri

2001 yılı Temmuz ayında Alahan Bölgesinden toplanan bitki örnekleri, kök ve tohum kısmı ayrı ayrı olmak üzere, ince toz haline getirilip, havada kurutularak ekstraksiyon işlemi için hazırlandı.

Yapılan tüm ekstraksiyon ve kromatografi işlemleri bitkinin kök ve tohum kısımlarına aynı şekilde uygulandı. Bitki tohum bakımından çok zengin olduğu için çalışmalara önce tohum kısmı incelenerek başlandı.

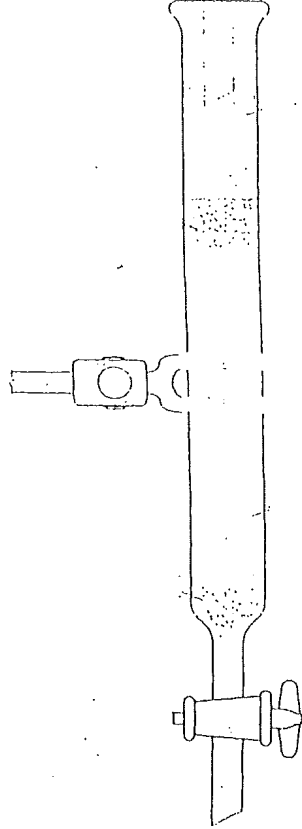
İnce toz haline getirilmiş 20 g tohum, süzgeç kağıdı ile hazırlanmış olan kartuşa konularak Soxhlet cihazına yerleştirildi. 250 ml lik balona 200 ml metanol konularak sıcakta 8 saat ekstrakte edildi. Döner buharlaştırıcıda, vakum altında metanol uzaklaştırılıp, koyu kahverengi renkte bir ekstrakt elde edildi.



Şekil 3.2.1.1. Soxhlet cihazı

Elde edilen metanol ekstresine kolon kromatografisi uygulandı. Bunun için öncelikle döner buharlaştırıcıda fazla metanolü uzaklaştırılmış olan ekstre yaklaşık kendi miktarında silikajelle karıştırıldı. Çeker ocak altında zaman zaman karıştırılarak kuruyana kadar bekletildi.

20 cm uzunluğunda 1,5 cm iç cidara sahip kolon kullanıldı. Önce kolonun en alt kısmına cam pamuğu yerleştirildi. Yaklaşık kolonun $\frac{3}{4}$ ' ünü kaplayacak şekilde, dolgu maddesi olarak silikajel (Kieselgel 60 F₂₅₄), ilave edildi. Dolgu maddesinin üst yüzeyini korumak ve maddeyi daha kolay uygulamak için ince bir tabaka halinde kum ilave edildi.



Şekil 3.2.1.2: Kromatografi kolonu

Elue edilecek madde konulmadan önce kolondaki dolgu maddesi ilk kullanılacak çözücü olan hekzanla her tarafı ıslanacak şekilde yıkanı. Daha sonra silikajelle karıştırılmış olan çözücüsü uçurulmuş toz haldeki madde ilave edildi. En üst kısma tekrar çok ince bir tabaka halinde kum ilave edildi. Üstten çözücü ilave edilerek eluasyon işlemi başlatıldı.

İlk çözücü olarak hekzan kullanıldı, daha sonra hekzanın polarlığı diklormetanla yavaş yavaş artırılarak, tamamen diklormetana geçildi. Bu arada kolondan geçen her 10 ml' nin çözücüsü döner buharlaştırıcıda uçurulup, balonda kalan az miktardaki çözücüyle alınarak, numaralanmış küçük cam şişelere konuldu. İşlem boyunca çözücünün polaritesi yavaş yavaş arttırılmaya devam edildi. Çözücü sırası olarak Hekzan -- Diklormetan -- Etilasetat -- Metanol -- Su izlendi.

100 diklormetan	100 Metanol
97,5 Diklormetan + 2,5 Etil Asetat	97,5 metanol + 2,5 su
95 Diklormetan + 5 Etil Asetat	95 metanol + 5 su.
92,5 Diklormetan + 7,5 Etil Asetat	100 Su

100 Etil Asetat
 97,5 Etil Asetat + 2,5 metanol
 95 Etil Asetat + 5 Metanol

Numaralı şişelerde toplanmış olan fraksiyonların saf olup olmadıkları ince tabaka kromatografisiyle kontrol edildi.

10x25 boyutlarında küçültülen Merck Kiesegel 60 F₂₅₄ hazır alüminyum plakalar üzerine gelen fraksiyonlar (her tabakaya yaklaşık 15'er tane) sırayla pasteur pipetiyle ekildi. Büyük kromatografi tankları kullanılarak yürütme işlemi yapıldı. Benzer fraksiyonlar birleştirilerek bu sefer 2x5 boyutundaki hazır alüminyum plakalar üzerine ekilen fraksiyonlar, küçük tanklar kullanılarak yürütüldü. 2 ve 3'lü halde solvent karışımları kullanıldığı halde net bir saflaştırma sağlanamadı.

Bir sonraki denemede gene 20 gr tohum alınarak Soxhlet cihazıyla önce 8 saat süreyle hekzan ekstresi alındı. Sonra kartuş kurutularak üzerine Kloroform ekstresi ve sırasıyla Etil Asetat ve Metanol ekstreleri de alındı. Renksiz-sarı arası renk gösteren hekzan ekstresi sonrası Kloroform, Etil asetat ve metanol ekstreleri için gittikçe koyulaşan kahverengi renk gözlemlendi.

Çözücüsü döner buharlaştırıcıda uçurulan Kloroform, Etil Asetat ve Metanol ekstrelere içeresine gene yaklaşık olarak ekstrakt miktarına eşdeğer silikajel emdirilerek her ekstreya ayrı ayrı kolon kromatografisi uygulandı. Gene %2,5 oranında polarlaştırma faktörü kullanıldı, ve çözücü polarite artırma sırası olarak Kloroform ekstresine uygulanan kolon kromatografisi için Hekzan – Karbontetraklorür – Diklormetan – Kloroform – Aseton, Etil Asetat ekstresine uygulanan kolon kromatografisi için Hekzan – karbontetraklorür – Kloroform – Etil Asetat – Metanol, Metanol ekstresine uygulanan kolon kromatografisi için Hekzan – Kloroform – Aseton – Metanol – Su izlendi. Fraksiyonlar aynı şekilde 10' ar ml halinde alınıp, çözücüsü döner buharlaştırıcıda uçurularak numaralı küçük şişelerde toplandı. Uygulanan ince tabaka kromatografi çalışmalarında net bir ayrılma, saflaşma gözlenemedi. Fraksiyonlara alkollü Magnezyum asetat çözeltisi eklendiğinde de antrakınonlara özgü renk reaksiyonları gereği (SHIBATA COLOUR REACTIONS) gözlenmesi gereken pembe – viyole tonları gözlenemedi. Bu çalışma sonrasında Rumex Pulcher türü bitkinin tohumlarında antrakınon türevlerine rastlanamadığı söylenebilir.

Bitkinin tohumlarına uygulanan denemelerin tümü yıkanıp, kurutulmuş toz haldeki kök kısmına da uygulandı. Aynı şekilde önce Metanol ekstresi alınıp kolon kromatografisi uygulandı. Çeşitli polaritelerde çözücü sistemleriyle çalışılarak ince tabaka kromatografisi uygulamaları yapıldı. Fakat saf madde elde edilemedi.

Hekzan – Kloroform - Etil Asetat – Metanol ekstrelere üst üste alınarak daha sonra bu ekstrele uygulanan kolon kromatografisi ve arkasından yapılan ince tabaka kromatografi işlemleri de aynı sonucu verdi. Fakat kök kısmına uygulanan kolon kromatografisinde elde edilen fraksiyonlara alkollü magnezyum asetat çözeltisi eklendiğinde vişne çürüğü renk gözlendi. Bu rengi gösteren fraksiyonlar birleştirildi.

Rumex Pulcher türü bitkide emodin ve türevi antrakınonların mevcudiyeti 1977 yılında yapılan bir çalışmayla belirlendiği için öncelikle birleştirilen fraksiyonlar glikozit yapısından kurtarılmak için 2 M HCl eklenerek geri soğutucu altında ısıtma yoluyla reflax edildi. Daha sonra 250 ml'lik ayırma hunisi kullanılarak kloroform fazına alındı, Na₂SO₄ üzerinde kurutma yapıldı ve Kloroform döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı, antrakınonlar saf olmamakla beraber etanolde çözülerek ayrılmış oldu.

Tekrar ince tabaka kromatografisi işlemleri uygulandığında Hekzan - Etil Asetat - Asetik Asit (15 : 4 : 1) sisteminde tek leke halinde, tabaka üzerinde turuncu renkte gözlenen saf madde elde edildi. (emodin)

Saflaştırılan madde, İstanbul Üniversitesi eczacılık Fakültesi' nde Prof. Dr. Gülaçtı Topçu tarafından saflaştırılan, tüm spektral dataları belirli, saf emodin ile karşılaştırılarak sonuçlar onaylanmış olundu.

3.2.2. Spektroskopik Çalışmalar

Öncelikle bitkiden ayrılan antrakinon yapıları ile alkollü metal asetatlar arasındaki renk deneme kontrolleri yapıldı. Demir, Magnezyum, Alüminyum, Kalsiyum, Kadmiyum, Nikel, Kobalt, Stronsiyum, Kurşun ve Antimon asetatların alkollü çözeltileri hazırlanarak üzerlerine eşit miktarda alkolde çözünmüş antrakinon örnekleri eklendi. Bu denemeler sonrasında Magnezyum ve Kalsiyum ile hemen Kadmiyum ile de 2-3 gün içerisinde pembe tonlarında renk verdiği gözlemlendi.

Magnezyum ve Kalsiyum toprak alkali metalleri ile çalışmalara başlandı.

Magnezyum ve Kalsiyumun alkolde 0,1 M'lık çözeltileri hazırlandı. Üzerine eşit miktarda antrakinon çözeltisi eklendi. Antrakinon yapısındaki konjugasyon sebebiyle UV- VIS bölgede absorpsiyon vereceği için, Kör çözelti antrakinon etanol karışımı olarak belirlendi.

Emodin Kalsiyum ve Magnezyumla oluşturduğu kompleksler için maksimum absorpsiyonun gözlemlendiği dalga boyu belirleme için Spektrum taraması SHIMADZU marka 1601 model çift ışınlı UV - VIS spektrofotometre kullanılarak 1 cm'lik cam hücreler ile yapıldı. Öncelikle kör çözelti hücreye konularak, Cihaz 200 - 800 nm arasındaki tüm dalga boylarında bu çözeltinin yaptığı absorpsiyona karşı sıfırlandı. Daha sonra Mg - antrakinon ve Kalsiyum - Antrakinon karışımları hücrelere konuldu. Önce Mg - Antrakinon kompleksi, sonra Kalsiyum - Antrakinon kompleksi olmak üzere bu iki çözelti için 200 - 800 nm arasında spektrum taraması yapıldı. Magnezyum - Antrakinon kompleksi 512 nm de kuvvetli bir absorpsiyon verdiği, Kalsiyum - Antrakinon kompleksinin 517 nm de gösterdiği maksimum absorpsiyon nispeten daha zayıf olduğu gözlemlendi.

Bundan sonraki aşamada konsantrasyon çalışmalarına başlandı. Konsantrasyon Tayin çalışmaları için SHIMADZU marka 1208 model UV – VIS spektrofotometre kullanıldı.

3 metil-1, 6, 8 trihidroksi- antrakinon (emodin) standartları bitki kökünden saflaştırılan emodin ile hazırlandı.

Öncelikle Magnezyum Asetat ve Kalsiyum Asetata ait 0.1 M, 0.05 M, 0.025 M, 0.0125 M' lik çözeltiler hazırlandı. Üzerlerine 1' er ml saf emodinin etanoldeki çözeltisinden eklendi. Ve oluşan kompleksler için absorbens değerleri okundu. Kör çözelti olarak gene etanol-antrakinon karışımı kullanıldı. Ve okunan absorbens değerlerinin Magnezyum ve Kalsiyum konsantrasyonuyla değişmediği gözlemlendi. Çözeltilere 1'er ml daha antrakinon çözeltisi eklendiğinde özellikle magnezyum asetat çözeltisi için absorbens değerinde belirgin düzeyde artış saptandı. Böylelikle kompleks oluşumunun ortamdaki metal derişiminden çok antrakinon derişimine bağlı olduğu belirlenmiş olundu.

Bu sonuç üzerine Emodine ait alkolde 100 ppm lik çözelti hazırlanarak, arkasından seyreltme usulü ile 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm, 6,25 ppm, 3,125 ppm ve 1,562 ppm' lik antrakinon çözeltileri ve 0,1 M'lik Magnezyum asetat, 0,1 M'lik Kalsiyum Asetat çözeltileri hazırlandı.

Kalsiyum Asetat ve Emodin arasındaki kompleks oluşturma ve emodin konsantrasyonuna bağlı kalibrasyon eğrisi çizme çalışmalarında şu yol izlendi: Hazırlanan Emodin konsantrasyonlarına 1'er ml Kalsiyum Asetat çözeltisi eklenerek (kör çözelti etanol-antrakinon karışımı olmak üzere) 1 cm' lik hücrelerde 517 nm de absorbens değerleri okundu.

Magnezyum Asetatla yapılan çalışmalarda aynı yol izlenmiş, 100 ppm ile 1,562 ppm arasındaki emodin çözeltilerine 1'er ml 0.1 M Magnezyum Asetat çözeltisi eklenmiş ve gene aynı şekilde spektrofotometrede bu defa 512 nm de Absorbans değerleri okunmuştur.

Emodinin Magnezyumla oluşturduğu kompleksin, doğrusal bir kalibrasyon diyagramı verdiği, dolayısıyla bitkideki antrakinon miktarını belirlemek için bu kompleksin kullanılabilceği gözlemlendikten sonra, 1 g kök eterde oda sıcaklığında 2 gün bekletilerek kökteki organik bileşenler etere alındı. 2 M HCl eklenerek su banyosu

üzerinde birkaç saat süreyle hidroliz edildi. Daha sonra ayırma hunisi kullanılarak organik yapılar CHCl_3 fazına alındı. CHCl_3 kuruluğa kadar uçurularak elde edilen sarı renkli ekstrakt 10 ml etanolde çözüldü. Üzerine 1 ml 0,1 M Magnezyum Asetat eklenip 512 nm de Absorbans değeri okundu. Okunan Absorbans değerinden kalibrasyon eğrisi kullanılarak 1 g Rumex Pulcher kökündeki emodin miktarına geçildi.

3.2.3. Emodine Ait pH Denemeleri

Daha önce yapılan çalışmalar antrakinon türevlerinin asidik ve bazik ortamda pH değişimine karşı renk değişimi gösterdiklerini belirlemiştir. Emodinin bu özelliğine dair bir çalışma yapılmamış olmakla beraber indikatör özelliği gösterip göstermediği bilinmemektedir.

Bu amaçla yapılan çalışmada öncelikle hazırlanan emodin çözeltisi bir süzgeç kağıdının tamamına emdirilerek süzgeç kağıdına asidik ve bazik özellikte iki çözelti damlatılmıştır. BORNTRAGER reaksiyonuna göre antrakinonlar Na, K gibi metallerle renk verdiği için dolayı bazik çözelti olarak NH_3 , asidik çözelti olarak da HCl seçilmiştir. Yapılan deneme sonucunda emodinin asidik ortamda sarı, bazik ortamda pembe renk verdiği belirlenmiştir.

Daha sonra yapılan çalışmada bir seri deney tüpünde NH_3 ve HCl in çeşitli oranlarda karışımını içeren değişik pH larda çözeltiler hazırlanmış, baz zayıf karakterli olduğundan pH kontrolü pH metre kullanılarak yapılmıştır. Emodin'e ait sarı – pembe dönüm noktası 7 – 8 pH aralığında gözlenmiştir. Dolayısıyla emodin'in pH 8 noktasında aktif bir indikatör olabileceği söylenebilir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

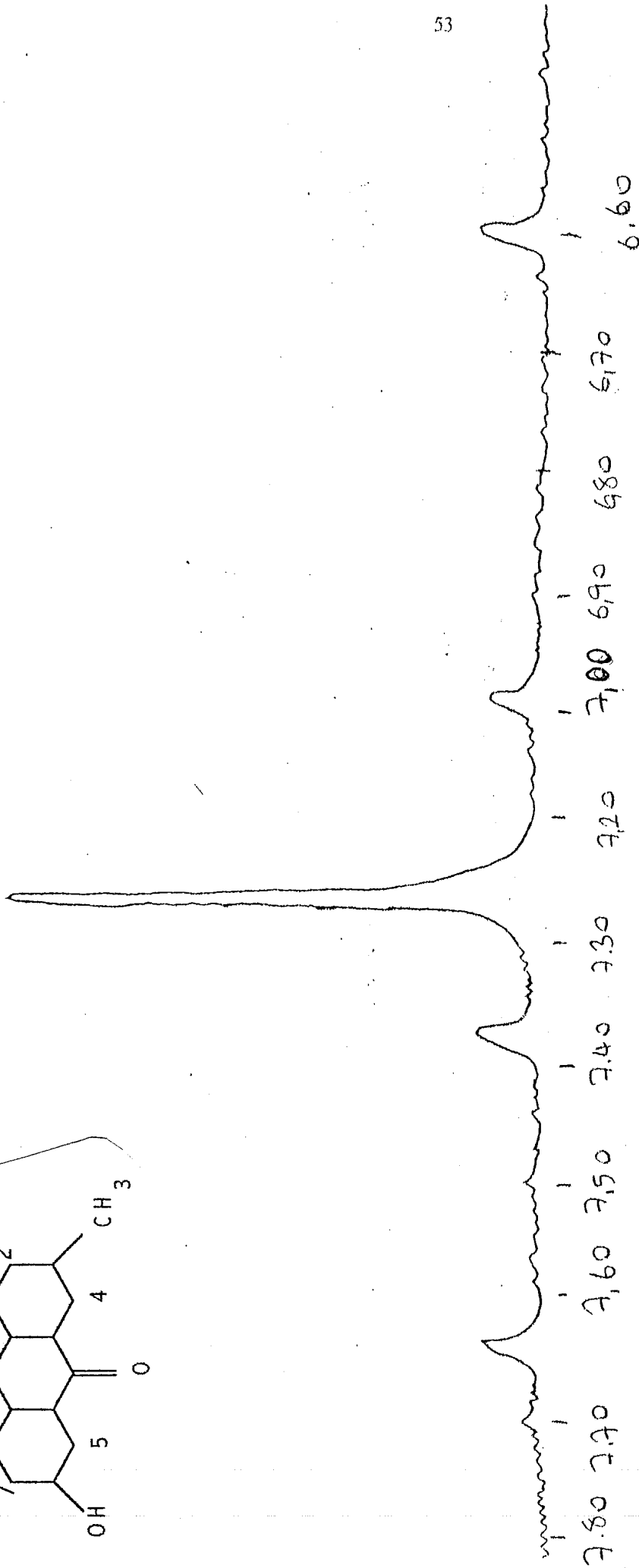
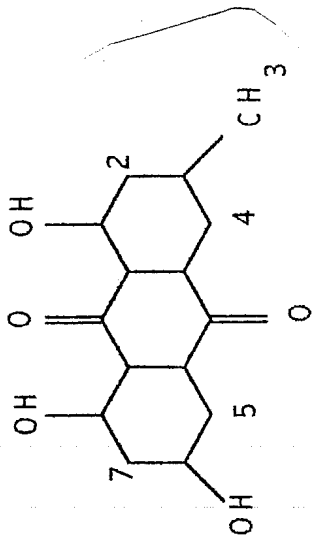
Rumex Pulcher L. Türü bitki tohumlarına uygulanan ekstraksiyon ve kromatografi işlemleri sonucu net bir saflaştırma sağlanamadı. Sonrasında etanollü Mg (CH₃COO)₂ çözeltisi ile denenen renk reaksiyonlarında (SHIBATA COLOUR REACTIONS) antrakinonlara özgü renkler gözlenemedi. Bu çalışmalar sonunda bitkinin tohum kısmında antrakinon türevlerine rastlanmadığı sonucuna ulaşıldı.

Bitkinin Kökleri üzerinde yapılan ekstraksiyon, kolon kromatografisi işlemleri sonucunda saf antrakinon yapısına ulaşılamadı. Fakat etanollü Mg (CH₃COO)₂ çözeltisi ile denenen renk reaksiyonları sonrasında gözlenen vişne çürüğü renk kök kısmında antrakinon türevleri bulunduğunu gösterdi. Kolon kromatografisi sonrası renk reaksiyonları veren fraksiyonların birleştirilip hidroliz işlemine tabi tutulması ile glikozit yapısında olduğu tahmin edilen antrakinonlar serbest hale geçirildikten sonra ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılan ve silika gel tabaka üzerinde turuncu olarak gözlenen saf maddenin emodin olduğu belirlendi. Hekzan – Etil Asetat – Asetik Asit (17 : 4 : 1) sistemiyle saflaştırılan maddeye ait R_f değeri 0.28, erime noktası tayini sonrasında gözlenen 257 – 258 °C değerleri, literatürde emodin için belirlenmiş olan değerlerle karşılaştırıldığında, ¹H – NMR, IR ve Kütle Spektrumlarının da incelenmesi ile bu saf maddenin emodin olduğu sonucuna ulaşıldı.

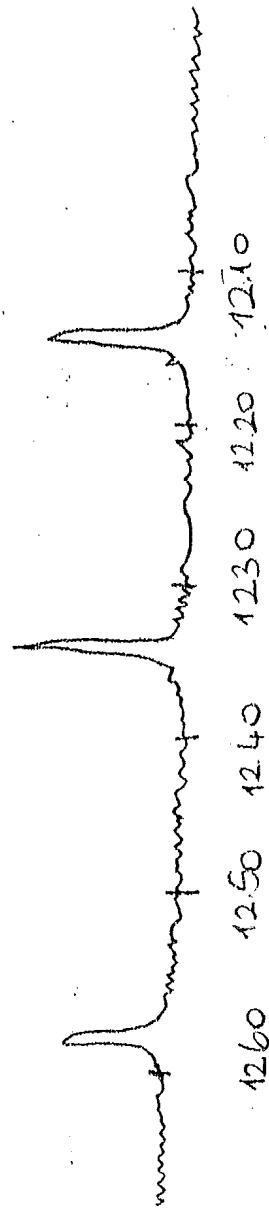
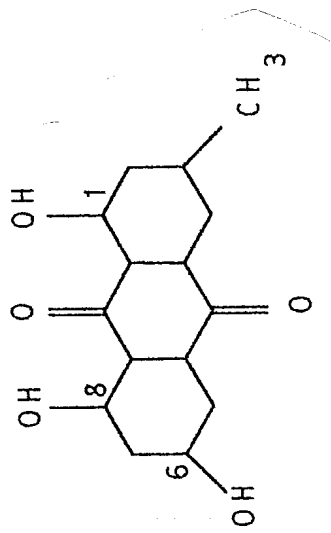
Emodine ait ¹H – NMR sinyalleri, IR Absorpsiyon bandları ve bunların spektrumları ile Kütle spektrumu görüldüğü gibidir.

Konum	¹ H – NMR (CDCl ₃)
H – 2	7,63
H – 4	7,37
H – 5	6,98
H – 7	6,60
OH – 1	12,65
OH – 6	12,33
OH – 8	12,12
CH ₃ – 3	2,45

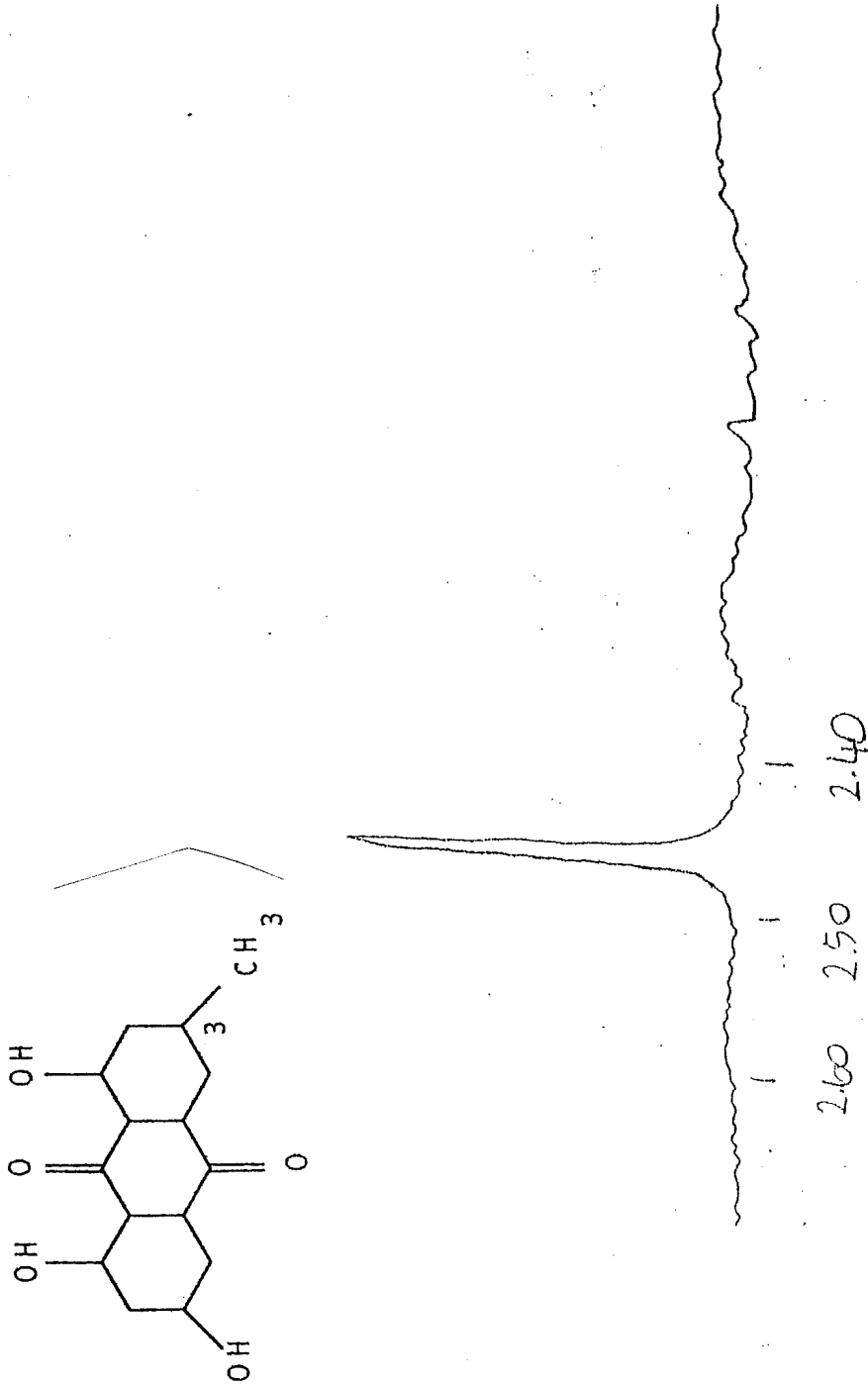
Çizelge 4.1. Emodine ait ¹H – NMR sinyalleri



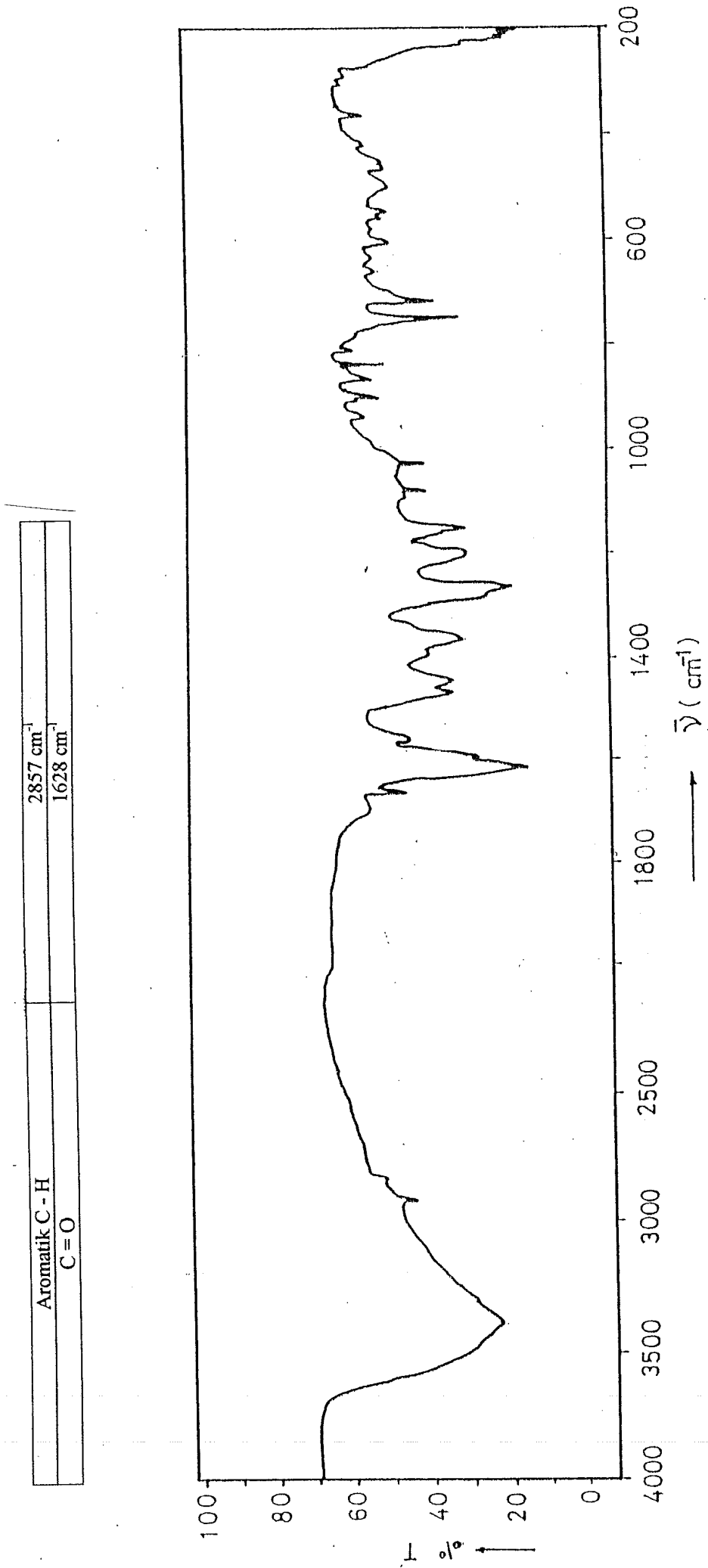
Şekil 4.1. Emodine ait Aromatik H' lerini gösteren ¹H-NMR Spektrogramu



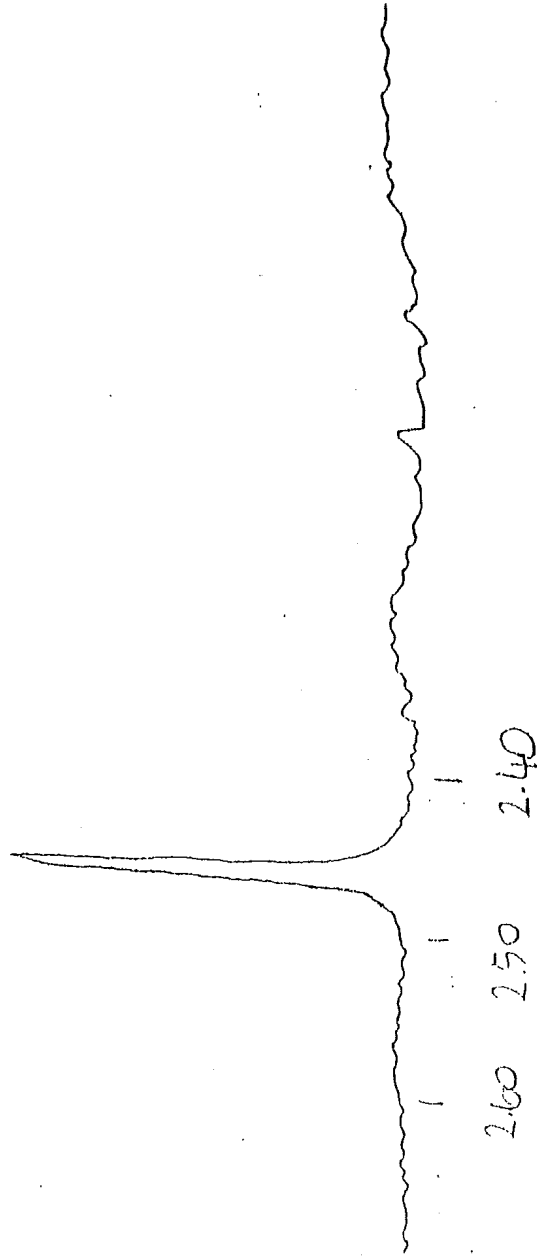
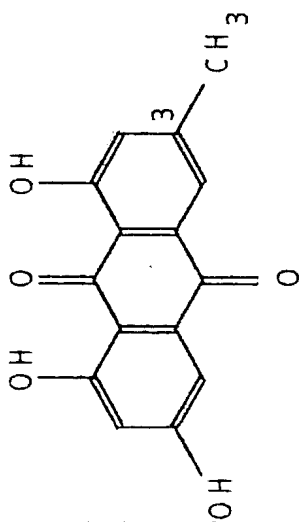
Şekil 4.2. Emodine ait OH Gruplarını gösteren $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



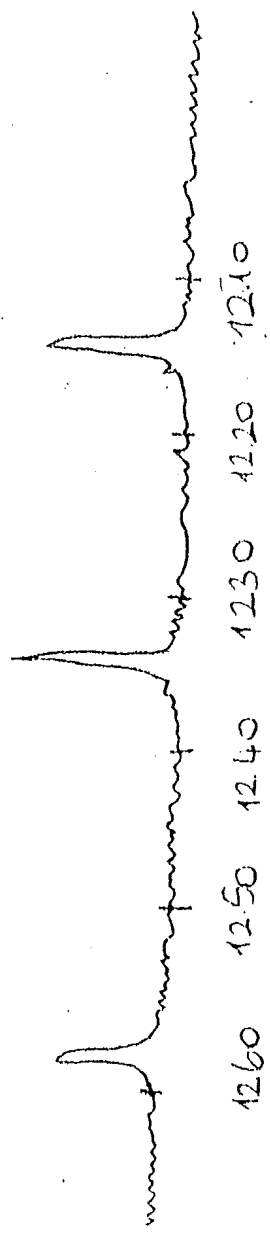
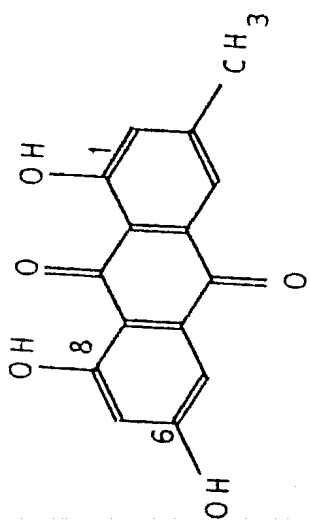
Şekil 4.3. Emodine ait CH₃ grubunu gösteren ¹H-NMR Spektrumu



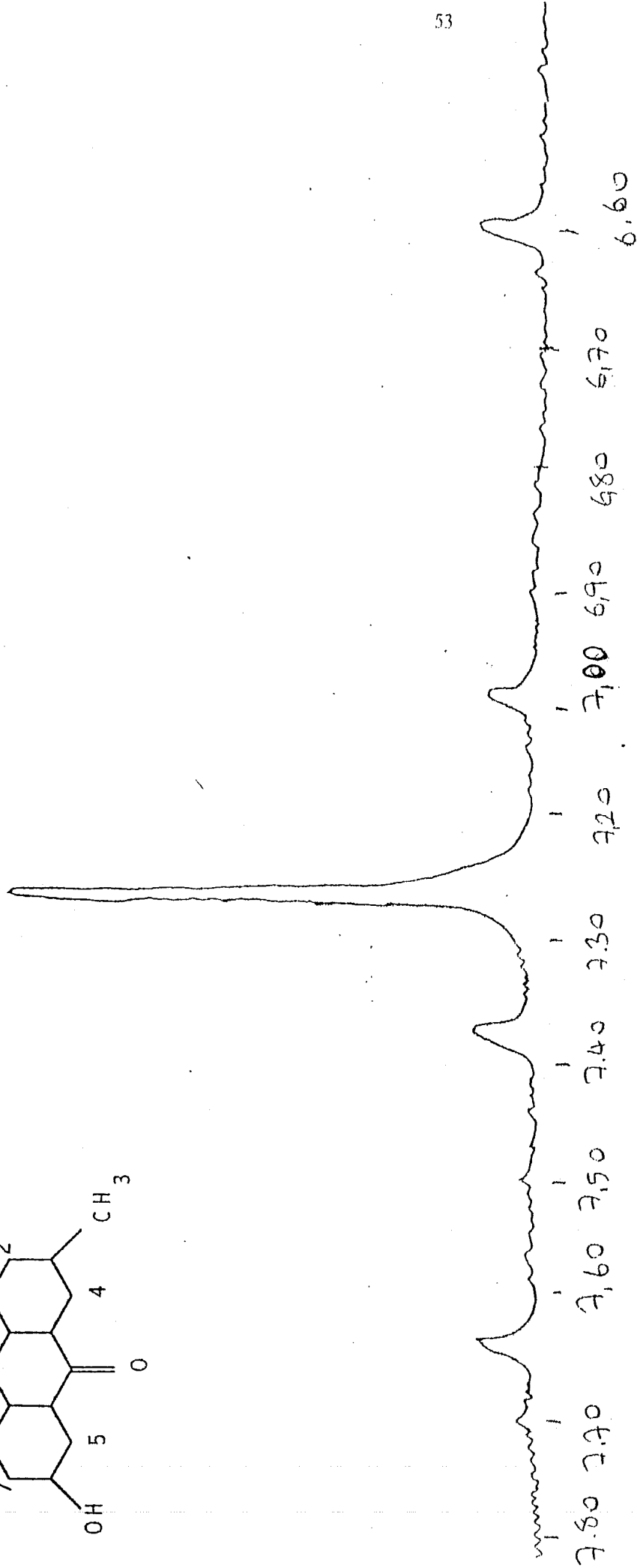
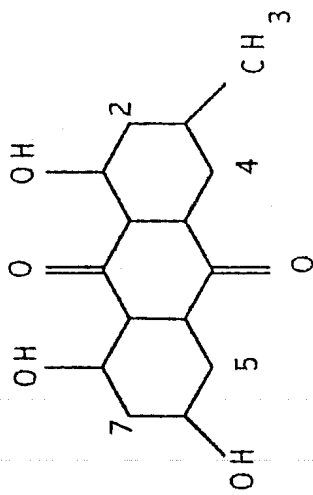
Şekil 4.4. Emodin'e ait IR Spektrumu



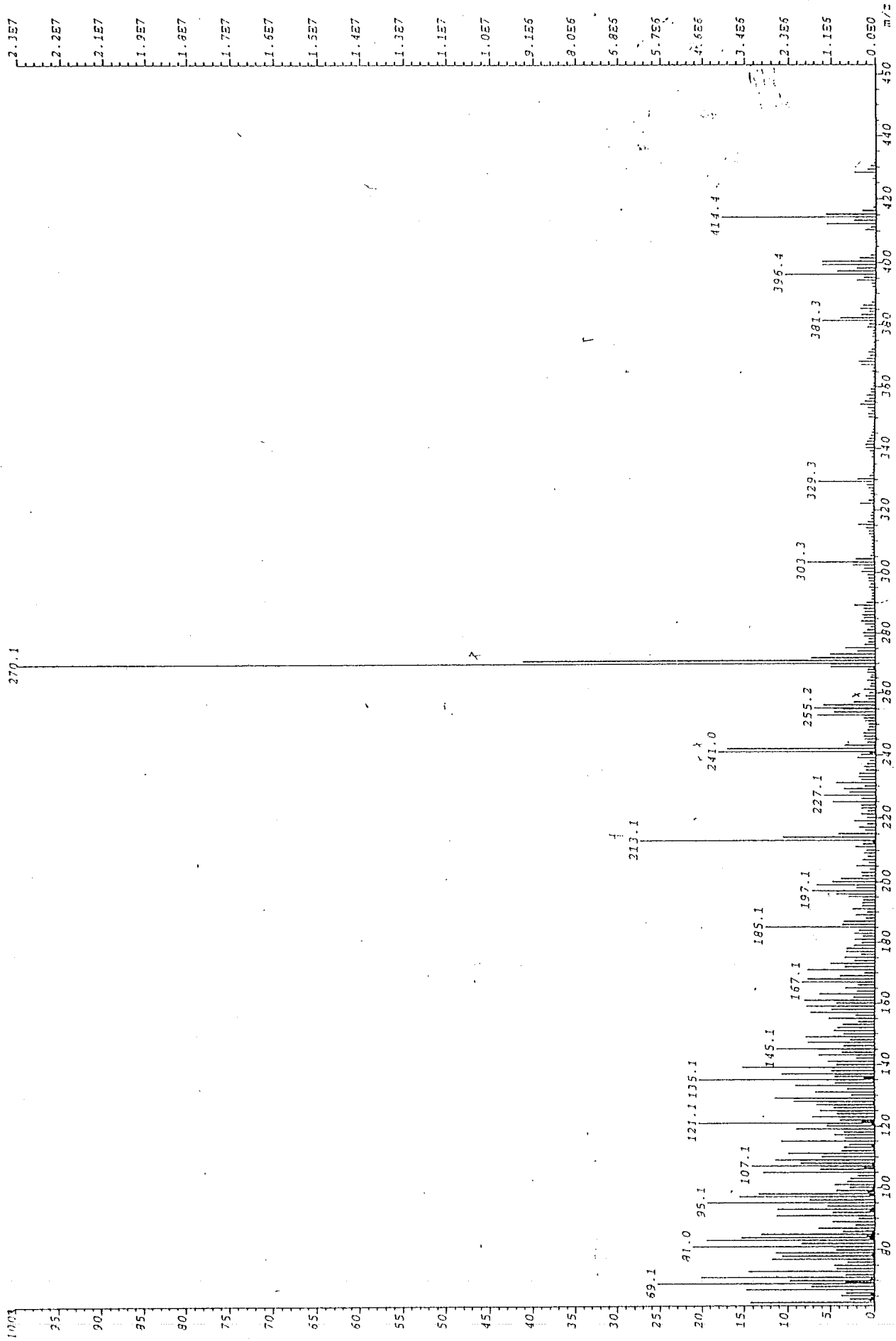
Şekil 4.3. Emiodine ait CH₃ grubunu gösteren ¹H-NMR Spektirumu



Şekil 4.2. Emodin'e ait OH Gruplarını gösteren ¹H-NMR Spektrumu



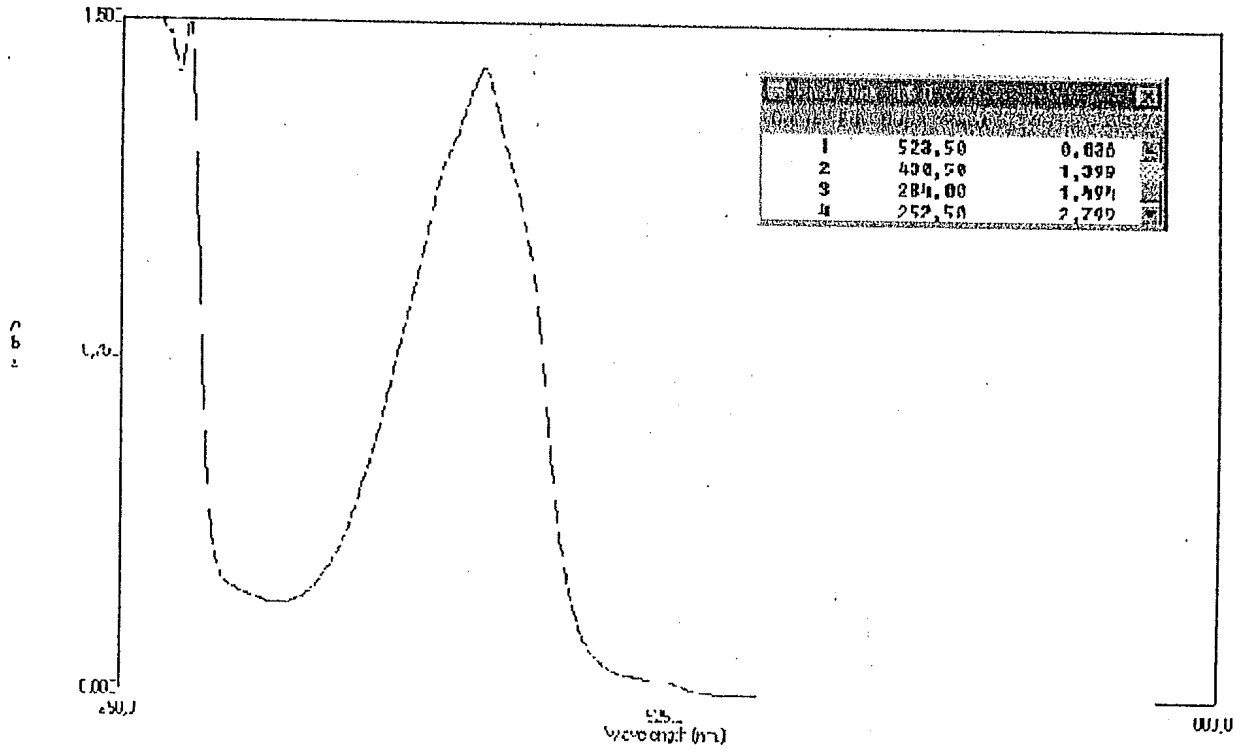
Şekil 4.1. Emodine ait Aromatik H' leri gösteren $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



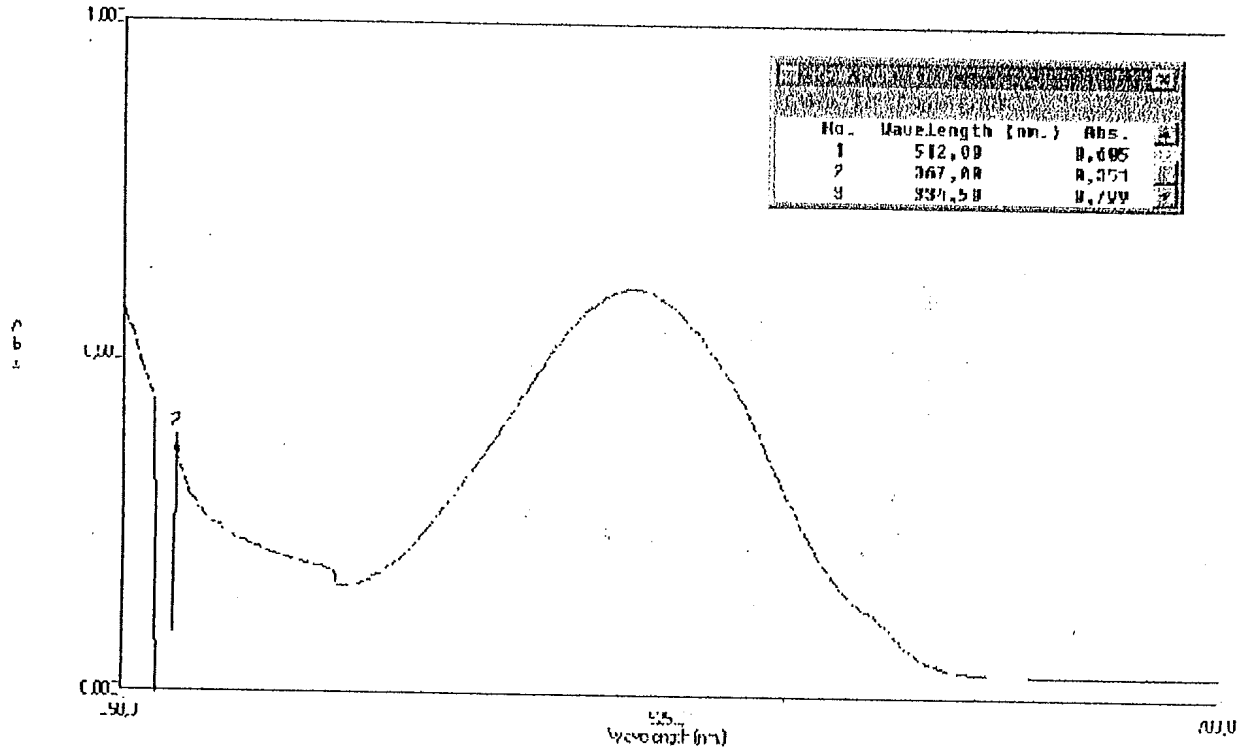
Şekil 4.5. Emodin'e ait Kütle Spektrumu

Spektroskopik çalışmalara geçildiğinde çeşitli metal asetatlarla yapılan renk denemelerinde emodinin sadece kalsiyum ve magnezyumla spektroskopik incelemeye uygun renk verdiği gözlemlendi.

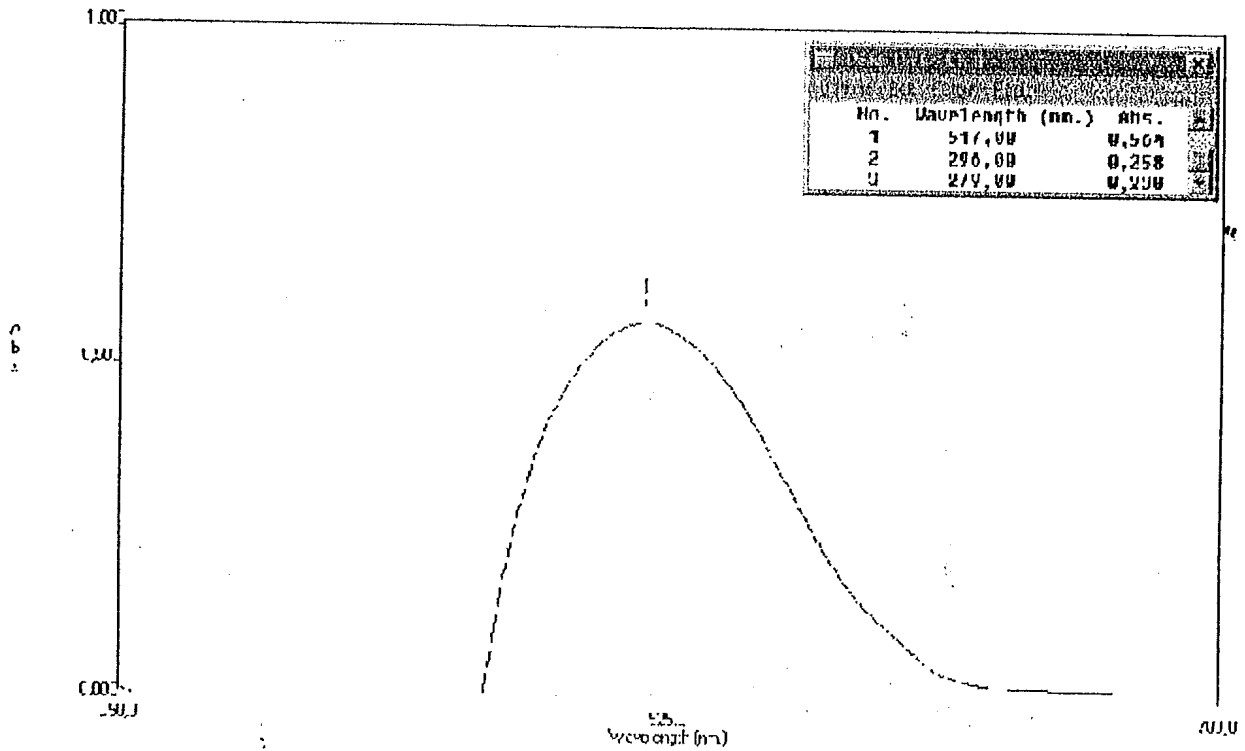
Spektroskopik çalışmalarda öncelikle sadece emodin için ve sonrasında Kalsiyum ve Magnezyum iyonlarının Emodin ile oluşturduğu kompleks için maksimum absorbansa ait dalgaboyu değerleri UV – VIS spektrofotometre ile belirlendi.



Şekil 4.6. Emodine ait UV Spektrumu



Şekil 4.7. Mg – Emodin Kompleksine ait UV Spektrumu



Şekil 4.8. Ca – Emodin Kompleksine ait UV Spektrumu

Yapılan spektroskopik çalışmalar sonrasında kalsiyum – emodin kompleks yapısının bitkideki antrakinon miktarını belirlemede yardımcı olmadığı gözlemlendi. Okunan Absorbans değerleri ve bu değerlere bağlı çizilen Abs – Kons (Absorbans – Konsantrasyon) kalibrasyon grafiği görüldüğü gibidir. Sonuçlar Kalsiyumun bitkideki antrakinon miktarını belirlemek için uygun olmadığını göstermektedir. Çünkü antrakinon derişimleri ile ortama eklenen kalsiyum iyonu ile oluşan kompleks miktarı arasında doğrusal bir oran yoktur. Düzgün bir kalibrasyon eğrisine ulaşılamamıştır.

Emodin Konsantrasyonları (ppm)	Gözlenen Absorbans Değerleri
100	1.456
50	1.307
25	0.568
12.5	0.155
6.25	0.093
3.125	0.088
1.562	0.072

Çizelge 4.2. Emodin-Kalsiyum kompleksine ait gözlenen Absorbans değerleri

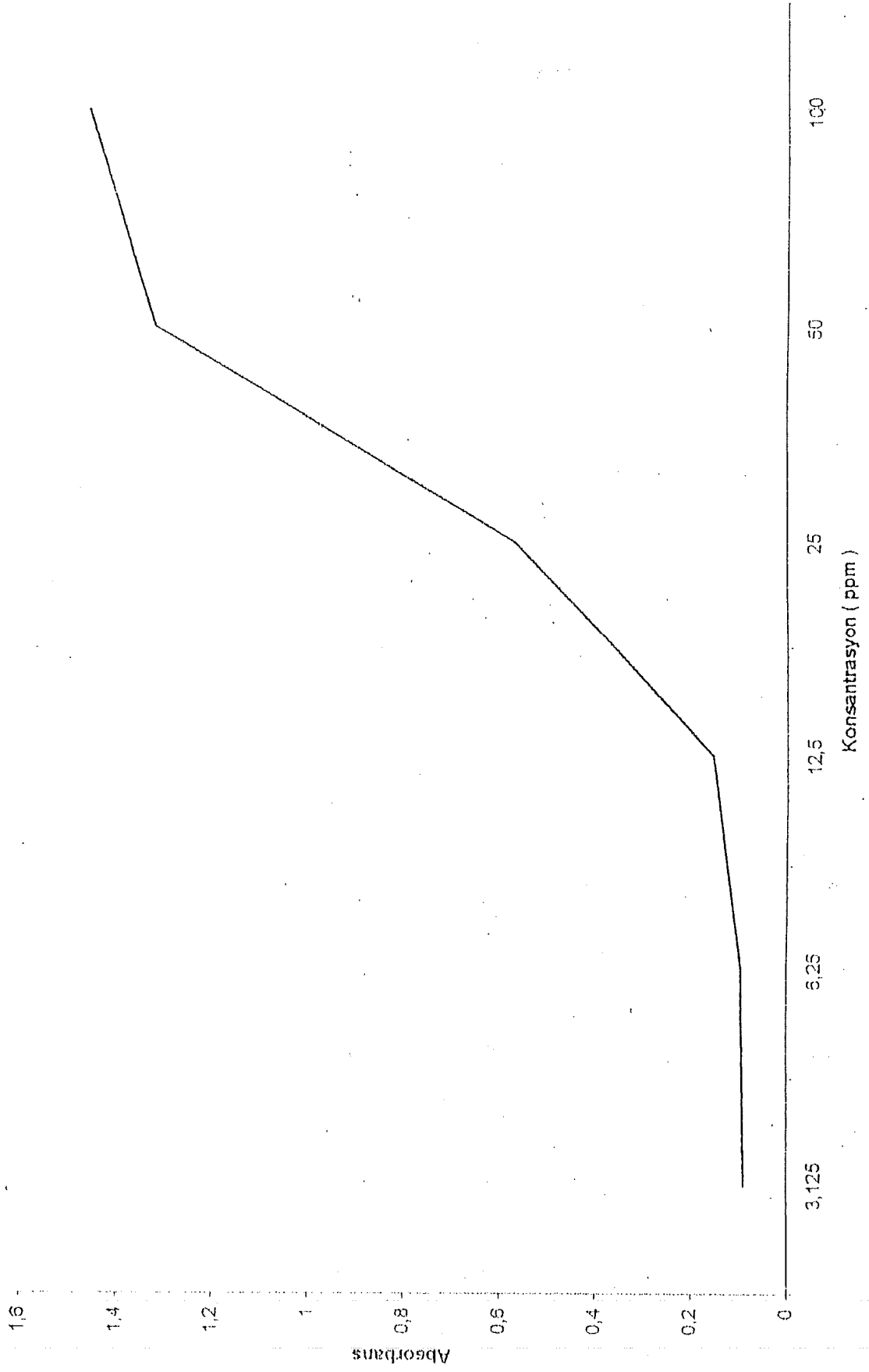
Magnezyum - emodin kompleksine ait ultraviyole spektroskopi çalışmaları sonucu , kompleksin emodin konsantrasyonu ile orantılı şekilde, absorpsiyon şiddetinde artma gösterdiği gözlemlenmiştir. Okunan Absorbans değerleri ve bu değerlere bağlı çizilen Abs – kons kalibrasyon grafiği görüldüğü gibidir. Bu sonuçlarla Bitkideki Antrakinon derişimini belirlemede Magnezyumun uygun metal olduğu görülmektedir. Antrakinon miktarı ile ortama Magnezyum metali verildiği zaman oluşan magnezyum-emodin kompleksi arasında doğrusal bir oran olduğu, düzgün bir Abs – Kons kalibrasyon eğrisi çizilebildiği ve belirlenebilecek antrakinon derişimi için alt sınırın gözlenebilmiş olduğu sonuçlarda görülmektedir.

Emodin Konsantrasyonları (ppm)	Gözlenen Absorbans Değerleri
100	0.452
50	0.335
25	0.258
12.5	0.165
6.25	0.093
3.125	0.043
1.562	0.042

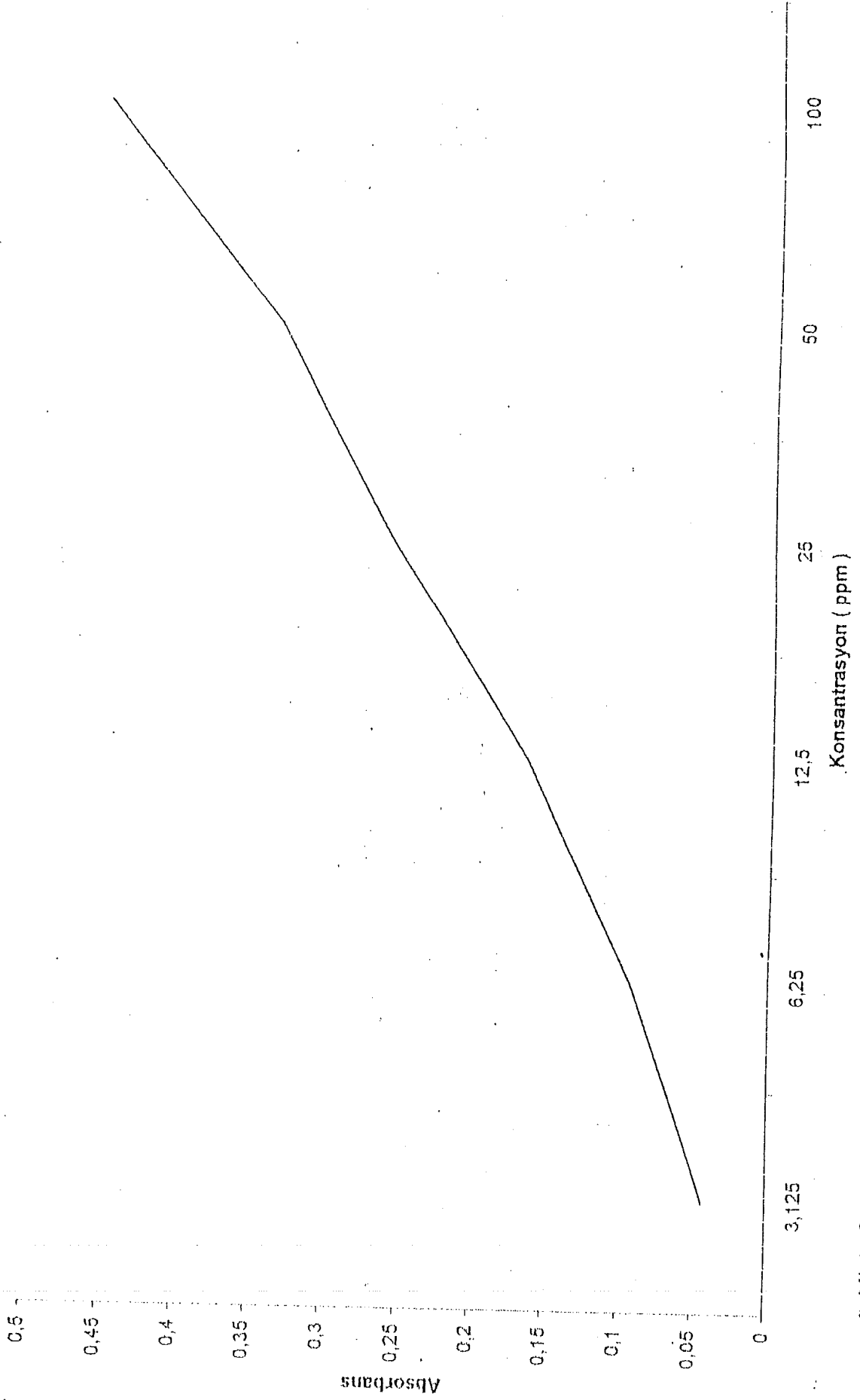
Çizelge 4.3. Emodin-Magnezyum kompleksine ait gözlenen Absorbans değerleri

Herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan sadece organik faza alınıp, hidroliz edilerek glikozit yapıları parçalanan kök ekstresi üzerinde yapılan spektroskopik işlem sonucu absorbans değeri 0,385 nm olarak gözlenmiştir. Bu değer kalibrasyon grafiğinde kesiştirildiğinde yaklaşık olarak 75 ppm' e karşılık gelmektedir. Bu sonuç 1 g kökte 0.75 mg emodin bulunduğunu göstermektedir.

Emodin'in indikatör özelliği incelendiğinde pH 8' de sarıdan pembeye dönen, indikatör özelliği gösteren bir madde olabileceği sonucuna ulaşıldı.



Şekil 4.9. Kalsiyum - Emodin Kompleksi Kalibrasyon Diyagramı



Şekil 4.10. Magnezyum - Emodin Kompleksi Kalibrasyon Diyagramı

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Polygonaceae familyası, genellikle kuzey yarıkürenin ılıman bölgelerinde yetişen, otsu, çalimsı veya tırmalayıcı bitkilerdir. Dünyada 32 cins ve 300 türden fazladır.

Memleketimizde 8 cins ve 70'e yakın türü vardır. Bu familyaya ait türler özellikle antrakinon türevleri bakımından zengindir. Bizim çalışmamızda faydalandığımız Rumex Pulcher L. bu familyaya ait bir tür olarak teşhis edilmiş olup, diğer Rumex türleri gibi nemli yerlerde yetişmektedir. Yıllık veya çok yıllık yabani bir bitkidir.

Rumex türleri, çeşitli kısımlarında çok sayıda antrakinon türevi içermekte ve bu özelliklerinden dolayı farmakolojik etkiler göstererek gerek halk arasında gerekse tıbbi çalışmalarda kullanılmaktadır. Hayvanlarda müshil etkisi göstermekte, emodin içeren türler mantarlara karşı ilaç yapımında kullanılmakta, safra söktürücü, ateş düşürücü etkilerinden faydalanılmaktadır. Özellikle emodin, antrakinonlar arasında en kuvvetli olanıdır. Purgatif etki göstermekte ve bu özelliğinden dolayı eczacık açısından önem taşımaktadır.

Antrakinonlar polgonaceae familyası dışında Leguminosae, Scrophulariaceae ve Rhamnaceae familyalarına ait çok sayıda türde de bulunmaktadır. Fakat çalışmamızda da görüldüğü gibi varlığını Borntrager Reaksiyonu veya Shibata Reaksiyonu gibi tanıma reaksiyonları ile belirlemek çok kolay olmasına rağmen saflaştırma işlemleri çok uzun çalışma gerektirmekte, çok fazla kimyasal ve zaman kaybına sebep olmaktadır. Bu sebeple, çalışmamızın başlangıç noktası, **'bu tanıma reaksiyonlarından faydalanarak bitkideki antrakinon miktarını çok az kimyasal ve zaman harcayarak tespit edebilir miyiz?'** sorusu olmuştur. Bu doğrultuda yürüttüğümüz çalışma sonucunda Shibata Reaksiyonlarında kullanılan Etanollü magnezyum çözeltisi ile antrakinonlar arasında kompleks oluşumunu gözlemlemiş ve bu kompleksten kaynaklanan rengin şiddetinin ortamdaki antrakinon miktarına bağlı olarak değişim gösterdiğini belirlemiş olmaktayız. Aynı zamanda bu çalışma süresince bitkinin tohum ve kök kısımları ayrı ayrı incelenmiş, tohum kısmında antrakinona rastlanamamıştır. Kök kısmından spektroskopik çalışmalarda da kullanılan emodin saflaştırılmıştır. Saflaştırılan emodin, spektroskopik çalışmalarda standart çözelti

hazırlamada kullanılmış, sonrasında Mg – emodin kompleksine ait bir konsantrasyon – absorbans kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu kalibrasyon eğrisi başlangıçta sorduğumuz soruyu büyük oranda yanıtlamaktadır.

İçerisinde emodin olup olmadığı belirlenmek istenen bir materyal, bir organik solventte çözülüp (tercihen etanol) Mg çözeltisiyle renk denemesi yapılarak içerisinde emodin olup olmadığı tespit edilebilir. İçerisinde emodin olduğu belirlenen materyal, Mg çözeltisi eklenmiş şekilde, Ultraviyole spektrofotometresinde 512 nm de Absorbans değeri ölçülüp, kalibrasyon grafiği kullanılarak içerdiği emodin miktarı belirlenebilir. Böylelikle çok az kimyasal ve zaman harcayarak elimizdeki materyalin amacımıza uygun olup olmadığını belirleyebiliriz.

Bu yöntem diğer antrakinon türevlerine de uygulanabilir, çalışılmak istenen antrakinon türevi için maksimum absorbansın gözleendiği dalgaboyu belirlendikten sonra bu dalgaboyunda antrakinon – Mg kompleksine özgü kalibrasyon eğrisi çizilerek materyalin antrakinon içerip içermediği veya içerdiği antrakinon miktarının amaca uygun düzeyde olup olmadığı kolayca ve kısa sürede saptanıp, ondan sonraki aşamada çalışmaya başlanabilir.

Çalışmamız kapsamında yaptığımız deneme ile tıbbi açıdan önemli bir yeri olan emodinin indikatör özelliği de gösterdiği görülmüştür. Çözücüsü etanol olarak belirlenmiş olan Emodin, dönüm noktası pH 8 olan, bu noktada rengi sarıdan pembeye dönen bir indikatör olabilir diyebiliriz.

KAYNAKLAR

- ADAM, L., MAGARETE, H. and KISGYORGY, Z., 1965. *Formacia*, 13(3): 143 – 148.
- AHMED, M., DATTA, B.K. and ROUF, A.S.S., 1991. Anthraquinone, Chromone And Flavone Derivatives From *Rumex maritimus*. *Pharmazie*, 46: 548 – 549.
- ALHABAD, A., 1980. *Indian J. Chem.*, 19(6): 531 – 532.
- ARIAS, J.J.R. and MOLFINO, C., 1962. *Rev Form*, 104: 151 – 155.
- BASSETT, J., DENNEY, R.C., JEFFERY, G.H. and MENDHAM, J., 1978. *Vogel's Textbook Of Quantitative Inorganic Analysis*, Fourth Edition. Longman Group Limited, 693 – 772s, London.
- BABULKA, P., MYIRED, Y.S. and PIVERZARG, S., 1982. *Herba Hung*, 21(2 – 3): 85, 97.
- BEKAROĞLU, Ö., 1972. *Koordinasyon Kimyası*, Cilt I. İ.T.Ü Basımevi, 59 – 61, 182 – 185, 190 – 193s.
- BOWIE, J.H. and WHITE, P.Y., 1969. *İbid*, 89.
- DEMİREZER, L.Ö., 1994. Anthraquinone Derivatives In *rumex Gracilescens* (Rech.) and *Rumex Crispus* L.. *Pharmazie*, 49: 378 – 379.
- DONNELLY, D.M.X. and SHERIDAN, M.H., 1986. Anthraquinones From *Trichoderma Polysporum*. *Phytochemistry*, 25(10): 2303 – 2304.
- EĞE, S., 1999. *Organic Chemistry*, Fourth Edition. 398 – 405.
- CHOONG, K., 1961. *Ang: Med. J.*, 1(8):807.
- GRZNAR, K. and RODO, K., 1978. *Farm obz*, 47(5): 195 – 199.
- HARBORNE, J.B. and MOKHTARI, N., 1977. Two Sulphated Anthraquinone Derivatives In *Rumex Pulcher*. *Phytochemistry*, 16: 1314 – 1315.
- KILIÇ, E., KÖSEÖĞLU, F. and YILMAZ, H., 1998. *Enstrümental Analiz ilkeleri*, Birinci baskı. Öncü Basımevi, 312 – 317, 145 – 178s.
- MANJU, S., 1980. *İndian J. Chem. Sect*, 15(6): 531 – 532.
- MCMURRY, J., 1996. *Organic Chemistry, Fourth Edition*, 519 – 525s.
- MIDIWO, J.O. and RUKUNGA, G.M., 1985. Distribution Of Anthraquinone Pigments In *Rumex* Species Of Kenya. *Phytochemistry*, 24(6): 1390 – 1391.

- MIUNAVU, R.M., MUDAMBA, L.O. and OGUR, J.A., 1984. Isolation And Characterization Of The Major Anthraquinone Pigments From Rumex Abyssinica. *Planta Medica*, 50(3): 111.
- SDGWICK, N.V., 1941. *J. Chem. Soc.*, 433.
- SHIBATA, B.S., TAKITO, M. and TANAKA, O., 1950. Paper Chromatography of Anthraquinone Pigments. *J. Ame. Chem. Soc.*, 72: 2789 - 2790.
- TANKER, M. and TANKER, N., 1998. *Farmakognazi*, Cilt I. Ankara Üniversitesi E. F. Yayınları, 151 - 164s, Ankara.
- THOMSON, R.H., 1971. Naturally Occuring Quinones. *Academic Press*.
- WADE, L.G., 1995. *Organic Chemistry*, Third Edition. 694 - 701s.
- WILLIAMS, H.D. and FLEMING, I., 1935. *Spectroscopic Methods In Organic Chemistry*, Third Edition. McGraw - Hill Book Company Limited, 1 - 33s, USA.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Hatay’ da doğdum. İlk, Orta ve Lise öğrenimimi aynı ilde tamamladım. 1996 yılında girdiğim İstanbul Teknik Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’ nden 2000 yılında mezun oldum. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat fakültesi, Kimya Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı yerde görev yapmaktayım.