



**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**ONNO TİPİNDEKİ SCHIFF BAZLARININ ÇİNKO TAYİNİNDE  
FLORESANS KEMOSENSÖRÜ OLARAK  
KULLANILABİLİRLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÖZGÜR İLERİ**

**TEMMUZ 2016**

**DÜZCE**

## KABUL VE ONAY BELGESİ

Özgür İLERİ tarafından hazırlanan “ONNO tipindeki schiff bazlarının çinko tayininde floresans kemosensörü olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi” isimli lisansüstü tez çalışması, Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye  
(Tez Danışmanı)  
Doç. Dr. Ümit ERGUN  
Düzce Üniversitesi

Üye  
Yrd. Doç. Dr. Ersin ORHAN  
Düzce Üniversitesi

Üye  
Prof. Dr. Zehra YAZAN  
Ankara Üniversitesi

Tezin Savunulduğu Tarih:15.07.2016

### ONAY

Bu tez ile Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Özgür İLERİ’nin Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesini almasını onamıştır.

Doç. Dr. Resul KARA  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15 Temmuz 2016

**Özgür İLERİ**



*Aileme*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve bu tezin hazırlanmasında süresince gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli danışmanım Doç. Dr. Ümit ERGUN' a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardım ve desteğini esirgemeyip bilgi birikimini benimle paylaşan Dr. Ece ERGUN' a, Yrd. Doç. Dr. Ersin ORHAN' a ve ayrıca kimyasal madde desteklerinden ötürü Prof. Dr. Orhan ATAKOL' a şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen maddi ve manevi yanımda olan sevgili aileme, Berivan BAYAR' a ve çalışma arkadaşım Muhammed Fatih KÜÇÜKMÜZEVİR' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

15 Temmuz 2016

Özgür İLERİ

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	İ
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	VII
ÖZET .....	1
ABSTRACT .....	2
1. GİRİŞ.....	3
1.1. AMAÇ VE KAPSAM .....	3
1.2. SCHIFF BAZI.....	3
1.3. MOLEKÜLER LÜMİNESANS SPEKTROSKOPİSİ.....	5
1.3.1. Floresansın Teorisi.....	5
1.3.2. Uyarılmış Haller .....	5
1.3.3. Deaktivasyon (Aktifliğin Bozulması) .....	8
1.3.4. Titreşim Durulması.....	8
1.3.5. İç Dönüşüm (İç Değişme) .....	8
1.3.6. Dış Dönüşüm (Değişme) .....	9
1.3.7. Fosforesans .....	10
1.3.8. Kuantum Verimi .....	10
1.3.9. Yapısal Sertliğin Etkisi.....	10
1.3.10. Sıcaklık ve Çözücünün Etkileri .....	11
1.3.11. Floresansa pH Etkisi.....	12
1.3.12. Floresans Şiddetine Konsantrasyonun Etkisi.....	12
1.4. FLORESANS ANALİZ CİHAZLARI .....	14
1.4.1. Cihazların Kısımları .....	15
1.4.1.1. Işın Kaynakları .....	15
1.4.1.2. Filtreler ve Monokromatörler .....	15
1.4.1.3. Dedektörler .....	15
1.4.1.4. Hücreler ve Hücre Bölmeleri.....	15
1.4.1.5. Florometreler .....	16

1.4.1.6. Spektrofluorometreler .....	17
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>18</b>
2.1 N,N'-BİS(SALİSİLİDEN)- 2,2'-DİMETİL-1,3-DİAMİNOPROPAN (LDMH <sub>2</sub> ) .....	18
2.2 N, N'-BİS(2-HİDROKSİBENZİL)-2, 2'- DİMETİL-1, 3-DİAMİNO PROPAN (LDM <sup>H</sup> H <sub>2</sub> ) SENTEZİ .....	19
<b>2.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI .....</b>	<b>19</b>
2.3.1. 3x10 <sup>-4</sup> M Ligand :.....	19
2.3.2. 3x10 <sup>-5</sup> M Ligand :.....	19
2.3.3. 3x10 <sup>-5</sup> M Zn : .....	19
2.3.4. 3x10 <sup>-5</sup> M Al : .....	19
2.3.5. 3x10 <sup>-5</sup> M Ca : .....	20
2.3.6. 3x10 <sup>-5</sup> M Mn : .....	20
2.3.7. 3x10 <sup>-5</sup> M Fe :.....	20
2.3.8. 3x10 <sup>-5</sup> M Pb : .....	20
2.3.9. 3x10 <sup>-5</sup> M Mg : .....	20
2.3.10. 3x10 <sup>-5</sup> M Co : .....	20
2.3.11. 3x10 <sup>-5</sup> M Cr : .....	20
2.3.12. 3x10 <sup>-5</sup> M Cu : .....	20
2.3.13. 3x10 <sup>-5</sup> M Ni : .....	21
2.3.14. 3x10 <sup>-5</sup> M Cd : .....	21
2.3.15. 3x10 <sup>-5</sup> M Hg : .....	21
<b>2.4. KOMPLEKSLERİN HAZIRLANMASI .....</b>	<b>21</b>
<b>3.BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>22</b>
3.1. “LDMH <sub>2</sub> – METAL” KOMPLEKSLERİNİN FLORESANS ŞİDDETLERİ VE GİRİŞİMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI .....	22
3.2. İNDİRGENMİŞ “LH <sub>2</sub> -ZN” KOMPLEKSİ İÇİN UYARILMA VE EMİSYON TARAMASI.....	25
3.3. “LDMH <sub>2</sub> – ZN” KOMPLEKSİNİN ZAMANA KARŞI ŞİDDET DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ.....	25
3.4. “LDMH <sub>2</sub> – ZN” KOMPLEKSİ İÇİN ÇÖZÜCÜ ETKİSİ İNCELENMESİ ..	26
3.5. “LDMH <sub>2</sub> – ZN” KOMPLEKSİNİN PH DEĞİŞİMİNE KARŞI FLORESANSININ İNCELENMESİ .....	27

<b>3.6. ‘LDMH<sub>2</sub> – ZN’ KOMPLEKSİNİN KALİBRASYON EĞRİSİ .....</b>	<b>28</b>
<b>3.7. GERÇEK NUMUNE ANALİZİ .....</b>	<b>32</b>
<b>4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>35</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>36</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>40</b>





## ŞEKİL LİSTESİ

ŞEKİL 1. 1. SCHİFF BAZI GENEL YAPISI.....	3
ŞEKİL 1. 2. KONDENZASYON REAKSİYONU ŞEMASI [3].....	4
ŞEKİL 1. 3. UYARILMIŞ HALLER [23].....	6
ŞEKİL 1. 4. ABSORPSİYON, FLORESANS VE FOSFORESANS İÇİN JABLONSKİ DİYAGRAMI [24] .....	7
ŞEKİL 1. 5. FLOREN VE BİFENİL .....	11
ŞEKİL 1. 6. KOMPLEKS ÖRNEĞİ .....	11
ŞEKİL 1. 7. BİR FLOROMETRE VE SPEKTROFLOROMETRENİN KISIMLARI [23] .....	14
ŞEKİL 1. 8. TİPİK BİR FLOROMETRE [25] .....	16
ŞEKİL 1. 9. TURNET MODEL 110 FLOROMETRENİN OPTİK DİZAYNI [23] .....	16
ŞEKİL 1. 10. BİR SPEKTROFLOROMETRE [26].....	17
ŞEKİL 2. 1. LDMH <sub>2</sub> LİGANDI .....	18
ŞEKİL 2. 2. LDM <sup>H</sup> H <sub>2</sub> LİGANDI.....	19
ŞEKİL 2. 3. LİGAND – METAL KOMPLEKSİNE ÖRNEK OLARAK ÇİNKO KOMPLEKSİ.....	21
ŞEKİL 3. 1. LDMH <sub>2</sub> -ZN GENEL UYARILMA TARAMASI.....	23
ŞEKİL 3. 2. LDMH <sub>2</sub> -ZN KOMPLEKSİ 349 NM TARAMASI (UYARILMA) .....	23
ŞEKİL 3. 3. ÇİNKO VE ALÜMİNYUM KOMPLEKSLERİNDE ŞİDDET KARŞILAŞTIRMALI GİRİŞİM ARAŞTIRMASI (ETANOL ÇÖZELTİSİNDE) .....	24
ŞEKİL 3. 4. ÇİNKO VE ALÜMİNYUM KOMPLEKSLERİNDE ŞİDDETE DAYALI DALGA BOYU KARŞILAŞTIRMASI (ETANOL ÇÖZELTİSİNDE) .....	24
ŞEKİL 3. 5. LDM <sup>H</sup> H <sub>2</sub> -ZN KOMPLEKSİ FLORESANS ŞİDDETİ .....	25
ŞEKİL 3. 6. LDMH <sub>2</sub> -METAL KOMPLEKSİNİN ZAMANA KARŞI GRAFİĞİ (ETANOL ÇÖZELTİSİ).....	26
ŞEKİL 3. 7. LDMH <sub>2</sub> – ZN KOMPLEKSİ ÇÖZÜCÜ ETKİSİ .....	27
ŞEKİL 3. 8. LDMH <sub>2</sub> -ZN KOMPLEKSİNİN PH DEĞİŞİMİNE KARŞI FLORESANS ŞİDDETİ .....	28
ŞEKİL 3. 9. LDMH <sub>2</sub> -ZN KOMPLEKSİNİN 20 SAAT SONUNDAKİ KONSANTRASYON-ŞİDDET EĞRİSİ .....	29
ŞEKİL 3. 10. LDMH <sub>2</sub> -ZN KOMPLEKSİNİN 20 SAAT SONUNDAKİ KALİBRASON EĞRİSİ.....	30
ŞEKİL 3. 11. ÇİNKO KOMPLEKSİNİN TEK TEK METALLERLE KARIŞIMININ FLORESANS ŞİDDETİ KARŞILAŞTIRMASI ( 2x10 <sup>-4</sup> M LİGAND 2x10 <sup>-5</sup> M METAL) .....	31
ŞEKİL 3. 12. ÇİNKO KOMPLEKSİNİN TÜM METALLERLE KARIŞIMININ FLORESANS ŞİDDETİ KARŞILAŞTIRMASI.....	31

## ÇİZELGE LİSTESİ

ÇİZELGE 2. 1. LDMH <sub>2</sub> İÇİN IR VERİLERİ (CM <sup>-1</sup> ) [28].....	18
ÇİZELGE 3. 1. LDMH <sub>2</sub> -METAL KOMPLEKSLERİ İÇİN DALGA BOYLARI .....	22
ÇİZELGE 3. 2. LDMH <sub>2</sub> -ZN KOMPLEKSİ İÇİN FLORESANS ŞİDDETİ VERİLERİ .....	29
ÇİZELGE 3. 3. NUMUNEYE AİT OKUNAN FLORESANS ŞİDDETİ VE BU ŞİDDETLERE GÖRE HESAPLANAN KONSANTRASYON DEĞERLERİ .....	32



## SİMGELER VE KISALTMALAR

AC	Aseton
Ac	Alternatif akım
ACN	Asetonitril
Al	Alüminyum
Atm	Atmosfer
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
DMF	Dimetil formamid
DMSO	Dimetil sülfoksit
Em	Emisyon
EtOH	Etil alkol / etanol
Ex	Uyarılma
F	Florometrede konsantrasyon – ilişki parametresi
Fe	Demir
Hg	Cıva
$k_{ec}$	Dış dönüşüm hızı
$k_d$	Ayrışma hızı
$k_f$	Floresans bağıl hızı
$k_i$	Sistemler arası geçiş hızı
$k_{ic}$	İç dönüşüm hızı
$k_{pd}$	Ön ayrışma hızı

LDMH <sub>2</sub>	N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-diaminopropan
LDM <sup>H</sup> H <sub>2</sub>	N,N'-bis(2-hidroksibenzil)-2,2'-dimetil-1,3-diaminopropan
LOD	Belirleme sınırı
LOL	Linerlikten/Düzlemsellikten sapma noktası
LOQ	Tayin sınırı
M	Molarite
MeOH	Metil alkol
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
Ni	Nikel
NO <sub>3</sub>	Nitrat
SRM	Sertifikalı Referans Materyal
THF	Tetrahidrofur
Pb	Kurşun
P <sub>0</sub>	Kaynağın gücü
Ppb	Milyarda bir
s	Saniye
Zn	Çinko
$\lambda_{em}$	Emisyon dalga boyu
$\lambda_{ex}$	Uyarılma dalga boyu

## ÖZET

### ONNO TİPİNDEKİ SCHIFF BAZLARININ ÇİNKO TAYİNİNDE FLORESANS KEMOSENSÖRÜ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN İNCELENMESİ

Özgür İLERİ

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ümit ERGUN

Temmuz 2016, 53 sayfa

Floresans kemosensörler metal iyonları gibi çevresel ve biyolojik türleri belirlemek için kullanışlı birer araç olarak geliştirilmişlerdir. Çinko iyonu ( $Zn^{2+}$ ) biyolojik önem yüzünden oldukça ilgi çekmiştir. Buna göre N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-diaminopropan ve bu Schiff bazının indirgenmiş türevi N,N'-bis(2-hidroksibenzil)-2,2'-dimetil-1,3-diaminopropan ( $LDM^H H_2$ ) sentezlenip çinko iyonunun tayini için kullanıldı.  $LDMH_2-Zn$  kompleksi yüksek floresans şiddeti sergilerken,  $LDM^H H_2-Zn$  floresans cevap vermedi. Dahası alkali, toprak alkali ve diğer geçiş metalleri  $Zn^{2+}$  seçiciliğine hiçbir girişim göstermedi. Diğer bir deyişle, bu kemosensör  $Zn^{+2}$ , yi diğer metallerden ayırt edebilmektedir.  $LDMH_2-Zn$  kompleksinin floresans şiddetini arttırmak için optimizasyon çalışmaları yürütüldü. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek floresans şiddeti nötral pH' da, etanol-su karışımında  $10^{-4}$  M ligand konsantrasyonunda elde edildi. Son olarak, kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve yöntem Sertifikalı Referans Madde (SRM) ile test edildi.

**Anahtar sözcükler:** Schiff bazı, Ağır metaller, N,N'-bis(salisiliden)-2,2'-dimetil-1,3-diaminopropan, Çinko, Floresans

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF ONNO TYPE SCHIFF BASES AS A FLUORESCENCE CHEMOSENSOR FOR ZINC ANALYSIS

Özgür İLERİ

Duzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ümit ERGUN

July 2016, 53 pages

Fluorescent chemosensors have been developed to be a useful tool to determine the environmentally and biologically important species such as metal ions. Zinc ion ( $Zn^{2+}$ ) has attracted a great deal of attention because of the biological significance of this metal. In this regard, N,N'-bis(salicylidene)-2,2'-dimethyl-1,3-propanediamine (LDMH<sub>2</sub>) and the reduced derivative of this Schiff base bis-N,N'-(2-hydroxybenzyl)-2,2'-dimethyl-1,3-propanediamine (LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub>) have been synthesized and used as fluorescent chemosensor for the detection of zinc ions. While LDMH<sub>2</sub>-Zn complex displayed a high fluorescence emission, LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub>-Zn showed no fluorescence response. Moreover, other common alkali, alkaline earth and transition metal ions exhibited no interference on the selectivity of  $Zn^{2+}$ . In other words, this chemosensor could distinguish clearly  $Zn^{2+}$  from other ions. Optimization studies were then carried out on LDMH<sub>2</sub>-Zn complex in order to increase the fluorescence intensity of this molecule. According to obtained results, the highest fluorescence intensity was achieved at neutral pH,  $10^{-4}$  M ligand concentration and in ethanol–water mixture. Finally, the calibration curve was created and the method was tested with a Certified Reference Material (CRM).

**Keywords:** Schiff base, Heavy metals, N,N'-bis(salicylidene)-2,2'-dimethyl-1,3-diaminopropane, Zinc, Fluorescence

# 1. GİRİŞ

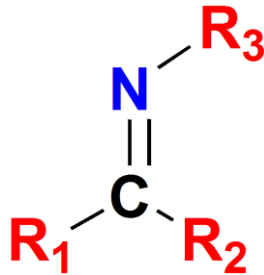
## 1.1. AMAÇ VE KAPSAM

Bu çalışmanın amacı Schiff bazlarını ligand olarak kullanarak, analitik olarak kabul edilebilir düzeyde çinko miktarını, ligandla çinkonun kompleksleşmesi sonucu oluşan floresans şiddetindeki artışla belirlemek üzere yöntem geliştirmek ve literatürdeki bazı eksiklikleri kapatmak olmuştur. Bunun için deneyler on üç metal iyonu çözeltisinde yapılmış ve kırk sekiz metal iyonun bulunduğu Sertifikalı Referans Materyal (SRM) ile de test edilmiştir. Floresans şiddetine etki eden çözücü, pH ve zaman gibi etkenler araştırılmış olup, maksimum floresans şiddetinin ölçüldüğü koşullar yanında kalibrasyon grafikleri çizilip belirleme sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) ve düzlemsellikten sapma noktası (LOL) gibi analitik parametreler belirlenmiştir. Kaynaklar kısmında da bir bölümü verilen literatür araştırmalarında, bu çalışmada yapılan deneylerin ve bulunan analitik parametrelerin tamamının toplu halde bulunmadığı belirlenip, ilerleme şeması buna göre düzenlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda yöntemin analitik parametreleri, seçiciliği, oluşan kompleksin kararlılığı, pH aralığı ve çözücü etkileri gibi verilerden yola çıkılarak çinko miktarı tayininde analitik bir yöntem olarak kullanılabilceğine karar verilmiştir.

## 1.2. SCHIFF BAZI

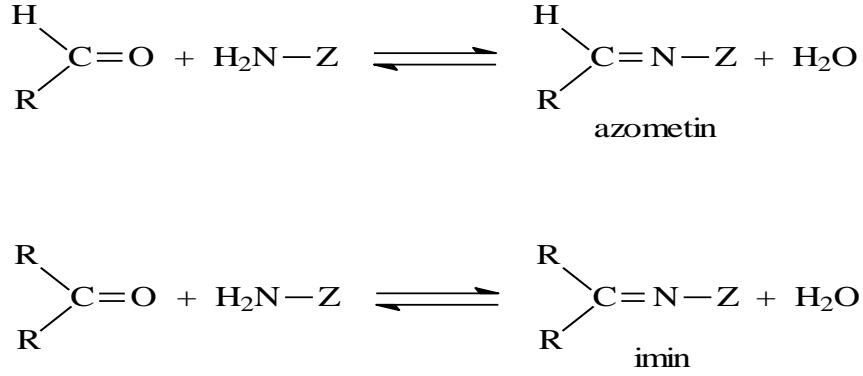
Schiff bazlarının ilk kez elde edilmesi 18. yüzyılın sonunda H. Schiff tarafından gerçekleştirilmiş ve Pfeiffer ligand olarak kullanılmalarında öncülük etmiştir [1-2].

Literatür araştırmalarında 19. yüzyılın ortalarından itibaren Schiff bazlarına rastlamak olasıdır. Ligand olarak kullanılmaları kolay olduğu için son yıllarda metal kompleksi çalışmaları oldukça hız kazanmıştır [3].



Şekil 1. 1. Schiff bazı genel yapısı

Schiff bazları, amin türevlerinin karbonil türevleri ile verdikleri kondenzasyon reaksiyonu sonucu meydana gelmektedir. Reaksiyonda karbonil karbonu ile amin azotu arasında çiftli bağ oluşmakta ve bir mol su açığa çıkmaktadır. Oluşan bu bağa azometin ya da imin bağı adı verilir. Oluşan kondenzasyon reaksiyonu şeması aşağıdaki gibidir.



**Şekil 1. 2.** Kondenzasyon reaksiyonu şeması [3]

Schiff bazlarının çalışma alanları oldukça geniştir. Oluşturdukları kompleksler çeşitli renkler sergiledikleri için boyar madde, antimikrobiyel özelliklerinden ötürü ilaç yapımında, metal tayininde ve biyoizlenebilirlik uygulamalarında kullanılabilir. [4-5] Konjuge Schiff bazları optoelektrik özelliklerinden dolayı organik ve perovskit yapılı güneş hücrelerinde, organik alan etkili transistörlerde ve elektrokromik aletlerde kullanılabilir [6-9]. Ayrıca bazı Schiff bazlarının düşük floresans veya fosforesans özellik göstermelerine karşılık çeşitli metal iyonları ile oluşturdukları şelatların floresans şiddetlerinin arttığı belirlenmiştir. Bu nedenle, Schiff bazları  $\text{Zn}^{2+}$  dahil birçok metal iyonunun florimetrik tayininde kullanılmıştır. Son yıllarda literatürde bu çalışmalara oldukça fazla rastlanmaktadır [10-22].



### 1.3. MOLEKÜLER LÜMINESANS SPEKTROSKOPİSİ

Fotoluminesans kimyasal sistemlerin çoğunda vardır; yani dışarıdan enerji alıp uyarıldıklarında aynı veya daha uzun dalga boylarında ışın yayırlar. Lüminesans iki biçimde meydana gelir;

- floresans
- fosforesans

Floresans ve fosforesans farklı oluşum mekanizmalarına sahiptir ve uyarılmış halin ortalama yaşam süresiyle mekanizmalar arasındaki fark anlaşılabilir.. Floresansta ışınma, uyarıcı ışınlar durdurulduktan hemen sonra kesilir ( $< 10^{-6}$  s); fakat fosforesansta ışın kaynağı kesildikten bir süre sonra da devam eder. Analitik yönden floresans fosforesansa göre daha değerli olduğundan ilerideki konular bunun üzerine yoğunlaşacaktır.

Florimetrimin yapısından kaynaklanan hassasiyeti, en önemli özelliklerinden birisidir. Yöntemin en düşük tayin sınırı, bir absorpsiyon yöntemine göre on kattan daha düşüktür (1-100 ppb) ve seçicilik farklı yöntemlerden daha belirgindir. Böyle avantajlara sahip olması aynı zamanda bu yöntemi çok kullanılan bir yöntem yapmaz çünkü floresans özellik oluşturan yapılar oldukça sınırlı sayıdadır [23].

#### 1.3.1. Floresansın Teorisi

Floresans özellik basit ve kompleks gazlarla beraber sıvı ve katı kimyasal sistemlerde görülebilir. Seyreltik atomik buharlar en basit şekilde floresans özellik gösterir. Örneğin, sodyum atomundaki 3s elektronları, 5896 ve 5890 Å<sup>0</sup> daki ışınların absorplanmasıyla 3p haline uyarılırlar. Çok kısa bir süre sonra uyarılmış elektronlar temel hale dönerken uyarıldıkları dalga boylarında ışınlar saçarlar. Bu tip floresansa, yani absorplanan ışının aynı dalga boyunda yayılmasına "rezonans ışını veya floresansı" denir [23].

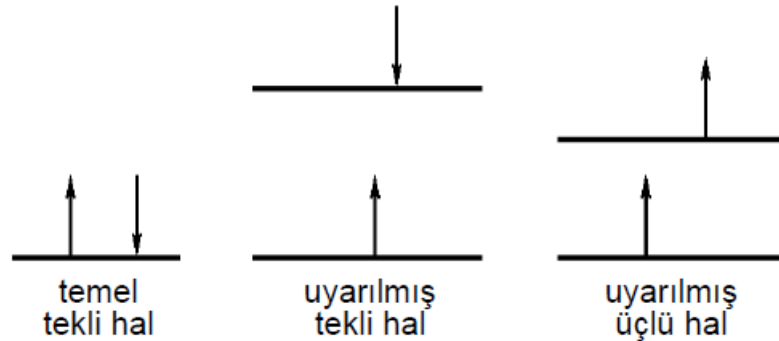
#### 1.3.2. Uyarılmış Haller

İki atom arasındaki bağ, bağları oluşturan bir çift elektronun buldukları orbitallerin üst üste çakışmasıyla meydana gelen bir veya daha fazla moleküler orbitalden oluşur.

Bu atomik orbitallerin birleşmesiyle birer bağ ve anti-bağ orbitali meydana gelir; bağ orbitalinin enerjisi daha düşüktür bu yüzden temel haldeki elektronlar bu orbitale yerleşirler. Tüm moleküler orbitaller elektronik enerji seviyeleri üzerinde birbirine oldukça yakın bir miktar titreşim enerji seviyeleri bulundurur. Bu yüzden uyarılabilen her madde, enerji seviyeleri arasındaki geçişlerden dolayı, birbirinin hemen ardından gelen titreşim pikleri gösterir.

Moleküllerin çoğunda elektron sayısı çifttir; uyarılmamış halde, elektronlar çeşitli atomik ve moleküler yörüngelerde çiftler şeklinde bulunurlar. Pauli dışlama ilkesi bize bir orbitalde bulunan iki elektronun spinlerinin farklı olduğunu söyler (yani çiftleşmiş spinler). Çiftleşmiş spinlerde (çift sayıda elektronu bulunan sistemler) yönlü elektron spinini bulunmamaktadır ve molekül diamagnetik özellik gösterir. Sistemdeki elektron spinlerinin tümünün çiftleştiği bir moleküler elektronik hale "tekli (singlet)" hal denir; böyle moleküller magnetik alana maruz bırakıldıklarında enerji seviyelerinde yarıma (bölünme) gözlenmez (burada çekirdek spininin etkisi ihmal edilmiştir). Serbest radikaller için ise temel hal bir "ikiz (doublet veya dublet)" haldir; bu durumda, tek elektron magnetik alanda iki farklı halde bulunabilir ve enerji seviyesi ikiye bölünür.

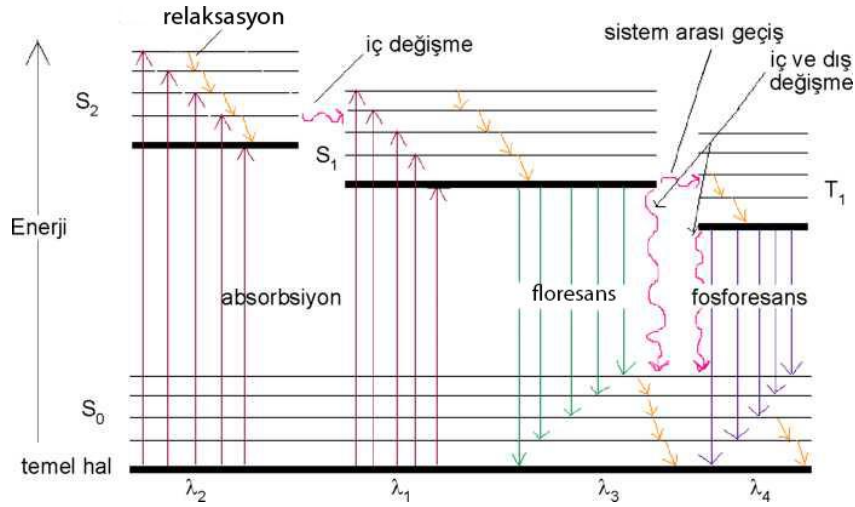
Molekülde bulunan elektronlardan birinin, bir üst enerji seviyesine getirilmesiyle, bir tekli veya "üçüz (triplet)" durum meydana gelir. Uyarılmayla tekli hale geçirilen elektron, temel haldeki elektronun spinleriyle çiftleşmiş haldedir; üçlü (üçüz) halde ise bu elektronların spinleri çiftleşmiş olmayıp paralel haldedir. Bu haller aşağıdaki gibi gösterilebilir.



Şekil 1. 3. Uyarılmış haller [23]

Triplet durumundaki bir molekülün özellikleri, tekli haldeki özellikleriyle karşılaştırıldığında farklılıklar gözlenir. Örneğin, molekül üçlü halde paramagnetik özellik gösterirken, tekli halde diamagnetik özellik gösterir.. Elektronik haldeki değişikliklerle de alakalı olan tekli-üçlü geçişi (veya tersi) olasılığı, tekli-tekli geçişe göre daha azdır. Bu yüzden triplet durumun ortalama yaşam süresi tekli halden oldukça fazla olabilmektedir (1-100 sn arası). Uyarılmış tekli hal içinse yaşam süresi  $10^{-8}$  s kadardır. Ayrıca temel haldeki moleküllerin ışın etkisiyle üçüz duruma gelmeleri hızlı bir şekilde meydana gelmez, bundan dolayı meydana gelen absorpsiyon piklerinin şiddeti, benzer tekli geçişte oluşan piklerin şiddetinden fark edilir miktarda daha azdır. Moleküllerin uyarılmış tekli hallerinin bir arada bulunmasıyla triplet durum meydana gelebilir böylece fosforesans özellikler meydana çıkar.

Şekil 1.4' de lüminesans özellik gösteren bir molekülün enerji seviyelerinin bir bölümü sergilenmiştir. En altta bulunan kalın siyah çizgi temel haldeki enerji seviyesidir; doğası gereği tekli hal olup  $S_0$  ile gösterilmiştir.



**Şekil 1. 4.** Absorpsiyon, floresans ve fosforesans için Jablonski Diyagramı [24]

Şekil 1.4' ün üst kısmında bulunan yatay kalın çizgiler, uyarılmış farklı elektronik seviyelerin temel titreşim durumundaki enerji seviyeleridir. En soldaki ve onun sağındaki çizgiler birinci (S<sub>1</sub>) ve ikinci (S<sub>2</sub>) elektronik tekli halleri, en sağdaki çizgiler (T<sub>1</sub>) birinci elektronik üçlü durumu sergiler. Doğal olarak, üçlü halin uyarılma enerjisi, karşılığı olan tekli hallerden daha düşüktür. Tüm elektronik haller için fazlaca titreşim enerjisi vardır. Bu enerji seviyeleri ince yatay çizgilerle gösterilmiştir.

Şekil 1.4' de görüldüğü gibi, örnekteki molekülün uyarılması, farklı dalga boylarındaki ışınların absorpsiyonuyla meydana gelmiştir, bunlardan biri  $\lambda_1$  ( $S_0 \rightarrow S_1$ ) dalga boyu dolayında, diğeri daha kısa olan  $\lambda_2$  ( $S_0 \rightarrow S_2$ ) dolayındadır. Uyarılma sonrasında molekül birkaç uyarılmış titreşim seviyesinden birisine geçer. Üçüz duruma direkt uyarılma mümkün değildir, çünkü bu durum sistemlerarası geçiş ile elektronun spininde bir değişiklik gerektirir [23].

### 1.3.3. Deaktivasyon (Aktifliğin Bozulması)

Yarılan moleküller farklı mekanik aşamalarla temel durumlarına ulaşırlar. Şekil 1.4' deki yeşil ve mor oklarla görüldüğü gibi, bu aşamalardan ikisi floresans ve fosforesanstır. Pembe zikzaklı çizgilerle belirtilen diğer deaktivasyon aşamaları ışımsız durumlardır. Temel duruma ulaşmada en olması muhtemel aşama yaşam süresi en az olan uyarılmış haldir. Bu duruma göre, floresansla uyarılmış halin bozulması diğer aşamalara göre daha hızlıysa, floresans olayı gözlenir. Eğer ışımsız bozunumun hız sabiti daha yüksekse, floresans olayı gözlenmez veya çok zayıftır [23].

### 1.3.4. Titreşim Durulması

Şekil 1.4' de gözleendiği üzere, uyarılan bir molekül bu işlem aşamasında enerji seviyelerinden herhangi birisine çıkabilir. Çözeltilerde, çözücü molekülleriyle uyarılmış moleküller arasında oluşan çarpışmalardan fazla enerji kaybolur; bundan dolayı çözücü sıcaklığında artma meydana gelir. Eğer uyarılan bir molekülün ortalama yaşam süresi  $10^{-12}$  saniye veya daha az ise relaksasyon işlemi olur; bu süre bir elektronik uyarılmış halin yaşam süresinden daha kısadır. Bu yüzden, çözeltide floresans meydana gelmesi, her zaman "uyarılmış bir halden en düşük titreşim seviyesine" geçiş olmasına bağlıdır. Titreşim durulması yeterliyse geçişlerden meydana gelen floresans bandı absorpsiyon bandından daha düşük frekanslarda gözlenir [23].

### 1.3.5. İç Dönüşüm (İç Değişme)

İç dönüşüm bir molekülün uyarılmış durumdan, ışın yaymadan daha düşük enerjili seviyelere geçmesi anlamına gelir. Bu durum, elektronik seviyelerin titreşim seviyelerinde üst üste binme yaratacak kadar yakınlaşmasıyla oluşur. Çakışma hali iki uyarılmış tekli enerji seviyesi için Şekil 1.4' de sergilenmiştir. Bu tür durumlarda uyarılmış hallerin potansiyel enerjileri birbirine denktir; bu denklik kolay geçişlere olanak sağlar. İç dönüşüm olasılığı üst üste çakışan titreşim seviyeleri yoluyla, uyarılan

durumdan floresansla enerji kaybetme olasılığından daha fazladır. Yani,  $\lambda_2$  ışınıyla uyarılması sonunda  $S_2$  ve  $S_0$  arasındaki bir geçişten meydana gelen bandın çıkmasıyla,  $\lambda_3$  dalga boyunda floresans üretilir. Sonunda, uyarılan molekül titreşim relaksasyonları, iç değişme ve diğer relaksasyonlar aracılığıyla daha düşük enerjili durumun en düşük titreşim seviyesine iner. Bu durumda, floresans uyarılmayı meydana getiren  $\lambda_1$  ya da  $\lambda_2$  dalga boylarına bağlı olmayarak, "sadece"  $\lambda_3$  meydana gelir.

Şekil 1.4' de görülen iç değişme durumlarının ( $S_1 \rightarrow S_0$  ve  $T_1 \rightarrow S_0$ ) mekanizması çok iyi bilinmemektedir. Eğer temel durumun enerji seviyeleri ilk uyarılmış durumun titreşim seviyeleri üzerine düşerse deaktivasyon yukarıdaki yolla gerçekleşir. Bu durum alifatik moleküllerde oldukça fazla meydana gelir bu yüzden bu tür bileşiklerde floresans çok az gerçekleşir; yani, üst üste düşen enerji seviyeleri çok hızlı enerji transferi olmasını, böylece floresansı engeller.

Ön ayrışma molekül içi değişimlere neden olabilir. Eğer elektronlar uyarılma enerjilerinden daha yüksek bir enerjiyle uyarılırlarsa bağ kopmaları meydana gelir. Büyük moleküllerde, kromoforların elektronik uyarılma enerjilerinden daha az kuvvetli bağları bulundurma olasılığı fazladır. Fazla enerjinin titreşim enerjisine geçmesi ile kromoforların uyarılması sonucunda buldukları bağlar kopar.

Ön ayrışma ve ayrışma olayları farklıdır; ayrışmada absorblanan ışın, bir kromoforun elektronunu kromoforik bandı koparabilecek kadar yüksek bir titreşim seviyesine doğrudan uyarır; bir iç değişme olayı yoktur. Ayrışma işlemi de floresans olayına rakiptir [23].

### **1.3.6. Dış Dönüşüm (Değişme)**

Uyarılmış bir elektronik halin deaktivasyonu, uyarılmış molekül ve çözücü (veya diğer moleküller) arasındaki etkileşim ve enerji transferi ile ilgilidir. Bu işlemlere "dış dönüşüm" denir. Çözücünün floresans şiddetini önemli derecede etkilemesi dış değişme olayının varlığını gösteren bir örnektir; ayrıca tanecikler arasındaki çarpışma sayısını azaltan koşullar (düşük sıcaklık ve yüksek viskozite) floresansın yükselmesini sağlarlar. Dış değişmenin detayları çok iyi bilinmemektedir.

En düşük uyarılmış tekli ve üçüz hallerden temel hale ışımsız geçiş, iç değişme olayları kadar, dış değişme olayları ile de ilgilidir [23].

### 1.3.7. Fosforesans

Deaktivasyon olayı fosforesansla da ilgilidir. Uyarılmış bir üçüz hale sistemler arası geçişten sonra iç veya dış dönüşüm, veya fosforesans yoluyla deaktivasyon oluşur. Bir üçlü-tekli geçişi olasılığı, bir tekli-tekli değişiminden daha azdır, ve uyarılmış üçlü halin ortalama yaşam süresi, emisyonla göre,  $10^{-4}$  - birkaç saniye aralığındadır. Buna göre, böyle bir geçişten oluşan emisyon, ışılandırma kesildikten sonra bir süre daha devam eder. Bu tip emisyon sadece çok düşük sıcaklıklarda veya viskoz ortamlarda gözlenebilir [23].

### 1.3.8. Kuantum Verimi

Bir floresans olaydaki kuantum verimi, uyarılmayla ışımaya yapan molekül sayısının tüm uyarılan molekül sayısına oranıdır. Floresin gibi bazı moleküller için kuantum verimi, uygun koşullarda, 1'e ulaşabilir.

Şekil 1.4' deki bilgilere ve deaktivasyon işlemleri üzerindeki incelemelere göre bir bileşiğin floresans kuantum verimi  $\phi$ , en düşük uyarılmış tekli halin olduğu işlemlerin bağıl hızları ile saptanmalıdır; bu işlemler dış ve iç dönüşmeler, sistemler arası geçiş, floresans, ön ayrışma ve ayrışmadır. Bu ilişkileri aşağıdaki denklemle gösterebiliriz. (k hız sabitleridir).

Floresansın kuantum verimi	Floresansın yaşam süresi
$\phi = \frac{\text{yayılan fotonların sayısı}}{\text{absorplanan fotonların sayısı}}$	$\phi = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ec} + k_{ic} + k_{pd} + k_d} \quad (1.1)$

Denklemler, yapısal ve çevresel etkenlerle değişen floresans şiddetinin kalitatif olarak yorumlanmasına imkan sağlar. Floresans hız sabiti  $k_f$  hariç diğer değerlerin küçük olmasının floresansı artıracığı açıktır.  $k_f$  değerinin büyük olması, ön ayrışma hız sabiti  $k_{pd}$ , ve ayrışma hız sabiti  $k_d$ , kimyasal yapıya bağlıdır, diğer k değerleri çevreden oldukça, az miktarda da yapıdan kaynaklanır [23].

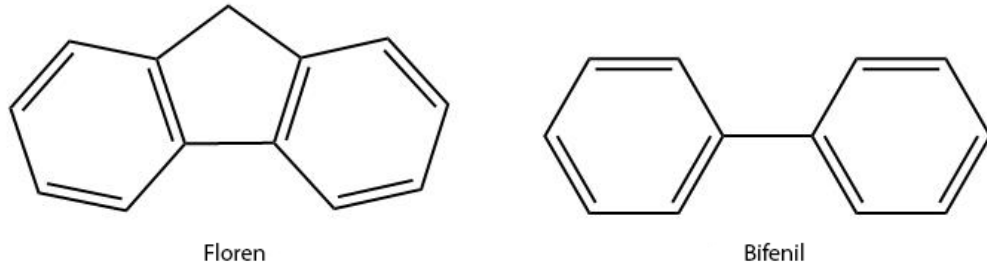
### 1.3.9. Yapısal Sertliğin Etkisi

Gerçekleştirilen deneyler sonucunda yapısı set olan maddelerin floresans özelliği daha şiddetli gösterdikleri anlaşılmıştır. Örneğin, benzer koşullarda floren ve bifenilin, 1.0 ve 0.2 dolayında kuantum verimleri sergilemiştir.

Floren barındırdığı metilen köprüsü sayesinde daha sert bir yapıya sahiptir bundan dolayı

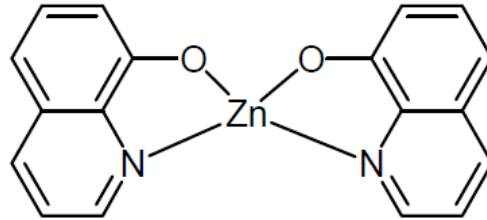
bifenilden daha şiddetli floresans özellik gösterir. Ayrıca, floresans boyalar katı bir yüzey (sertliği artırıcı etki) üzerinde absorplandığında emisyon artar.

Şelatlaştırıcı bazı moleküller metal iyonlarıyla kompleks oluşturduklarında floresans özellik artar, bunun sebebi molekül sertliğindeki artmanın bir sonucudur. Örneğin, 8-hidroksikinolinin floresans şiddeti, çinko kompleksininkinden çok daha azdır.



**Şekil 1. 5.** Floren ve bifenil

Bir molekülün sertliğini kaybetmesi iç değişme hızını ( $k_{ic}$ ) artırarak ışısız deaktivasyon olasılığını yükseltir. Sertlik göstermeyen bir molekülün herhangi bir parçası diğer parçalarına göre farklı frekansta titreşimi yapabilir; bu tür hareketler enerji kaybına neden olabilir [23].



**Şekil 1. 6.** Kompleks örneği

### 1.3.10. Sıcaklık ve Çözücünün Etkileri

Sıcaklıkta artış moleküllerin çoğunda floresans kuantum verimini düşürür, çünkü sıcaklık arttıkça çarpışma sıklığı artar ve böylece dış dönüşüm ile deaktivasyon olasılığı yükselir. Çözücü viskozitesindeki düşüşle de dış değişme olasılığı artacağından aynı etkiyi gösterir. Çözücünün polaritesinin etkisi de önemli olabilir,  $n \rightarrow \pi^*$  geçiş enerjilerinin polar çözücülerde fazlaştığı,  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişinin ise düştüğü gözlenmiştir. Bu kaymalar bazen,  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçiş enerjisini  $n \rightarrow \pi^*$  geçişinin altına düşürecek kadar büyük olur; sonuçta floresans artırılır.

Bir molekülde ağır atom bulunması veya ağır atomlar içeren çözücüde bulunması floresansını azaltır; karbon tetrabromür ve etil iyodür bu tip maddelerdendir. Bu durumda etki, floresans maddelere ağır atomların süstitüsyonunda görülen etki ile aynıdır; orbital spin etkileşmesiyle üçlü oluşum hızını artırır ve böylece floresans düşer [23].

### 1.3.11. Floresansa pH Etkisi

Süstitüentleri asidik veya bazik özellik gösteren bileşiklerin floresansı genelde pH' a bağlıdır. Bileşiğin iyonize ve iyonize olmamış hallerinin dalga boyu ve emisyon şiddetleri farklıdır. Örneğin, mor ötesi bölgede oluşan 1-naftol-4-sülfonik asidin floresansı gözle belirlenemez. Görünür bölgede olması için baz eklenerek fenolat iyonuna dönüştürülürse emisyon piki gözlenebilir. Aralarındaki farklılık, fenolün asit ayrışma sabitinden çıkarılan pH' dan farklı bir pH' da oluşur; nedeni uyarılmış molekülün asit ayrışma sabitinin aynı molekülün temel durumdaki değerinden farklılık göstermesidir. Asit ve baz ayrışma sabitinin uyarılmayla farklılık göstermesi normaldir. Bu nedenlerden ötürü, floresansa içeren analitik işlemlerde pH' ın çok iyi kontrol altına alınması gerektiği açıkça belli olmaktadır [23].

### 1.3.12. Floresans Şiddetine Konsantrasyonun Etkisi

Bir çözeltinin floresans şiddetinin, emisyon yapan taneciklerin konsantrasyonuna göre çizilen eğrisi, düşük konsantrasyonlarda, bir doğru şeklindedir. Bu Beer Yasasından açıklanabilmektedir

Monokromatik ışın için absorbans, ışık yolu b ve absorblayan türün derişimi c ile doğru orantılıdır. Bu bağıntı aşağıda verilmiştir;

$$A = abc \quad 1.2$$

Burada a orantı sabiti olup absorbtivite adıyla anılır. a' nın büyüklüğü b ve c için kullanılan birimlere bağlıdır. Absorblayan türlerin çözeltilerinde b genellikle santimetre, c ise litrede gram olarak verilir. Buna göre A,  $Lg^{-1}cm^{-1}$  birimlerinde olacaktır.

Denklem 1.2' de derişim litrede mol, hücre uzunluğu ise santimetre olarak verildiğinde absorbtivite , molar absorbtivite adını alır ve özel simgesi  $\epsilon$  olur. Böylece b santimetre, c ise litrede mol birimleriyle verilirse,

$$A = \epsilon bc \quad 1.3$$



Bağıntısında  $\epsilon'$  un birimleri  $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  olur. Denklem 1.2 ve 1.3 Beer yasasının bağıntılarıdır ve hem atomik hem de moleküler absorpsiyon ölçüleriyle kantitatif analizin temelini oluştururlar.

Beer yasasının uygulanışında bazı sınırlamalar vardır. Bu yasanın geçerliliği için çözeltilerin homojen ve şeffaf olduğu kabul edilir. Özellikle çözeltideki taneciklerin elektriksel olarak birbirini etkilemediği varsayılır, bu yüzden çözeltiler 0,01 M' dan daha seyreltik olarak hazırlanması önerilir. Ayrıca kullanılan ışının tamamen monokromatik olduğu, saçılma ve yansımaların olmadığı varsayımların arasındadır.

Floresans ışının gücü  $F$ , sistem tarafından absorplanan uyarıcı demetin ışın gücü ile orantılıdır ve  $F'$  nin floresans madde konsantrasyonuyla ilişkisi Beer yasasından çıkarılabilir.

$$F = K'(P_0 - P) \rightarrow \frac{P}{P_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad 1.4$$

$P_0$  çözeltiliye gelen demetin gücü,  $P$  demetin  $b$  uzunluğundaki ortamı geçtikten sonraki gücüdür.

$A < 0.05$  olduğunda denklemin açılımındaki bazı terimler çok küçük olur ve;

$$F = 2.3K'\epsilon bcP_0 \quad 1.5$$

yazılabilir. Sabit  $P_0$ ' da eşitlik aşağıdaki şekli alır;

$$F = Kc \quad 1.6$$

Verilere göre çözeltilinin floresans şiddetinin, emisyon gerçekleştiren tanecik konsantrasyonuna göre çizilen eğrisi, analit konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Konsantrasyon, 0,05' den büyük absorbansa kadar arttırılmasından sonra doğrusallık ortadan kalkar ve  $F$ , doğru ekstrapolasyonunun alt tarafında çıkar.

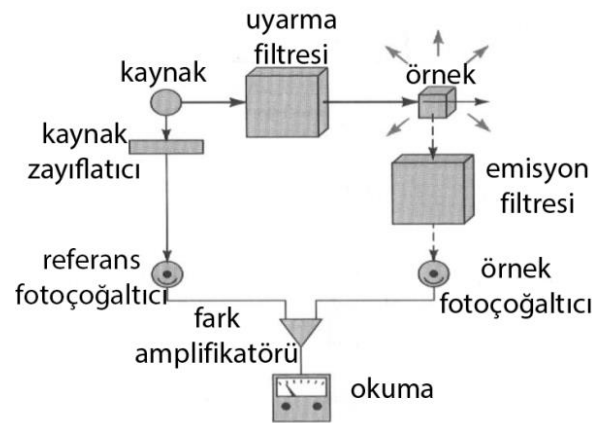
Negatif sapmaların yüksek konsantrasyonlarda iki nedeni bulunur, bunlar kendini-absorblama ve kendini zayıflatmadır. İlki, moleküllerin uyarılmış durumdaki çarpışmalarının bir sonucudur, böylece ışısız enerji transferi olur; bu olay dış dönüşümde meydana gelen çözücü moleküllerine enerji aktarılmasına benzer. Konsantrasyon, kendini zayıflatmayı artırır. Kendini absorplama, absorpsiyon dalga

pikiyle emisyon dalga boyunun çakımasıyla oluşur; yayılan demet çözeltiye geçerken floresans zayıflar. Bu olayların etkileri nedeniyle, floresans şiddet konsantrasyon eğrisi, çoğu zaman, bir maksimum gösterir [23].

#### 1.4. FLORESANS ANALİZ CİHAZLARI

Floresans cihazlarının bölümleri mor ötesi-görünür bölge fotometreler veya spektrofotometrelerine benzerlik gösterir. Şekil 1.8' de bu bölümlerin florometre ya da spektrofluorometredeki yerleşimleri sergilenmiştir. Hemen hemen tüm floresans cihazlarda, kaynak gücündeki dalgalanmaları gidermek için, çift demetli optikler kullanılır. Önce örnek demeti bir uyarıcı filtre veya monokromatörden geçerek örnekten çıkan floresans dalga boylarını uyarır, fakat diğer dalga boylarını etkilemez. Örnekten her yönde floresans ışın yayılır, bunlar en iyi, uyarılan demete göre doğru açı altında gözlenebilir; çözülden ve hücre duvarlarından saçılan diğer ışınlar floresans şiddetin ölçülmesinde hatalara neden olabilirler. Yayılan ışın, ölçülecek floresans piki ayıran ikinci bir filtre veya monokromatörden geçtikten sonra bir fotoelektrik dedektöre ulaşır.

Referans demet, gücünü floresans ışına göre 100 kat veya daha fazla azaltan bir filtreden geçer; referans ve örnek fototüplerinin çıkışı sonra bir işlem amplifikatörüne, bunun çıkışı da bir metre veya kaydediciye beslenir.



Şekil 1. 7. Bir florometre ve spektrofluorometrenin kısımları [23]

Spektrofluorometrelerde iki monokromatör vardır. Bunlardan biri uyarılmış ışının dar bir bant olmasını sağlar, diğeri özel bir floresans dalga boyunu diğerlerinden ayırır. Bu tip cihazlarla "floresans", "uyarma", ve "absorbsiyon" spektrumları ölçülebilir. Bir uyarma spektrumu, emisyon monokromatörünün en yüksek floresans dalga boyuna

ayarlanmasıyla elde edilir; floresans çıkışı uyarma dalga boyuna karşı grafiğe alınır. Bir floresans spektrumunda ise, uyarma dalga boyu sabit, floresans dalga boyları değişkendir.

Spektroflometrelerin seçiciliği, moleküllerin elektronik ve yapısal özelliklerinin kalitatif ve kantitatif incelenmesine olanak verir. Kantitatif çalışmalarda basit cihazlar yeterlidir. Gerçekte, fazla pahalı olmayan florometreler, geliştirilmiş spektrofotometreler kadar seçici ve uygun cihazlardır [23].

#### **1.4.1. Cihazların Kısımları**

Florometreler ve spektroflorometreler sadece detaylarda farklıdır; burada bu farklılıklar belirtilecektir [23].

##### *1.4.1.1. Işın Kaynakları*

Uygulamaların çoğunda, absorpsiyon ölçmelerinde kullanılan tungsten veya hidrojen lambasından daha şiddetli bir kaynağa gereksinim vardır. Bu bir civa veya ksenon ark lambası olabilir. Ksenon ark lambası, akımın bir ksenon atmosferinden geçirilmesiyle yüksek şiddette ışın üretir. Spektrum 250-600 nm dolayında bir pik verir. Bazı cihazlarda, lambada bir kapasitörün deşarjı ile düzgün pırıltılar elde edilir; böylece yüksek şiddetler alınır. Civa ark lambaları şiddetli hat spektrumu verirler. Yüksek-basınç lambaları (~ 8 atm.) 366, 405, 436, 546, 577, 691 ve 773 nm' de hatlar verir. Düşük basınç lambalarında silika pencereler bulunur, bunlar ayrıca 254 nm' de' de şiddetli bir hat verirler [23].

##### *1.4.1.2. Filtreler ve Monokromatörler*

Florometrelerde girişim ve absorpsiyon filtreleri kullanılır. Spektroflorometrelerin çoğunda ise optik ağılı monokromatörler bulunur [23].

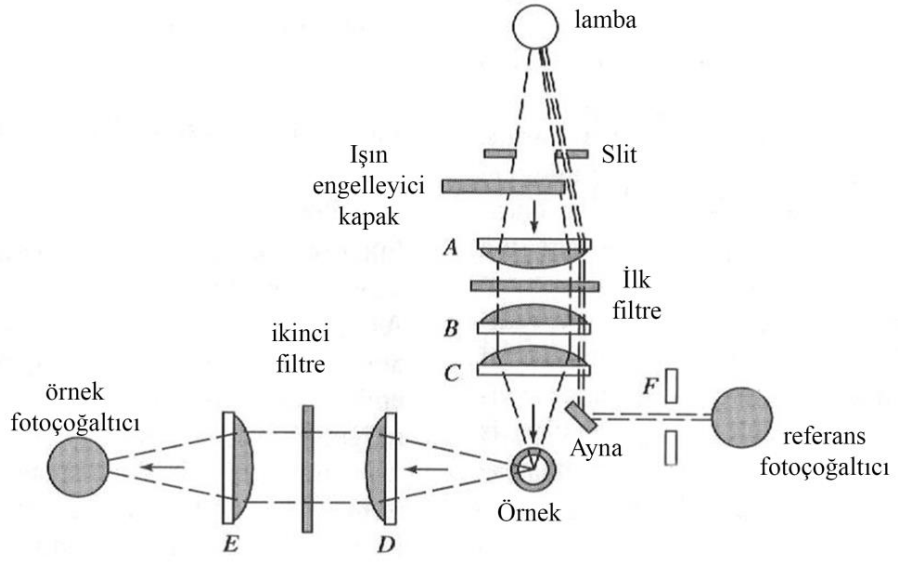
##### *1.4.1.3. Dedektörler*

Tipik floresans sinyalin şiddeti düşüktür ve ölçülmesi için büyük derecelerde kuvvetlendirmeye gereksinim vardır. Hassas floresans cihazlarda dedektör olarak en çok fotomultiplier tüpler kullanılır [23].

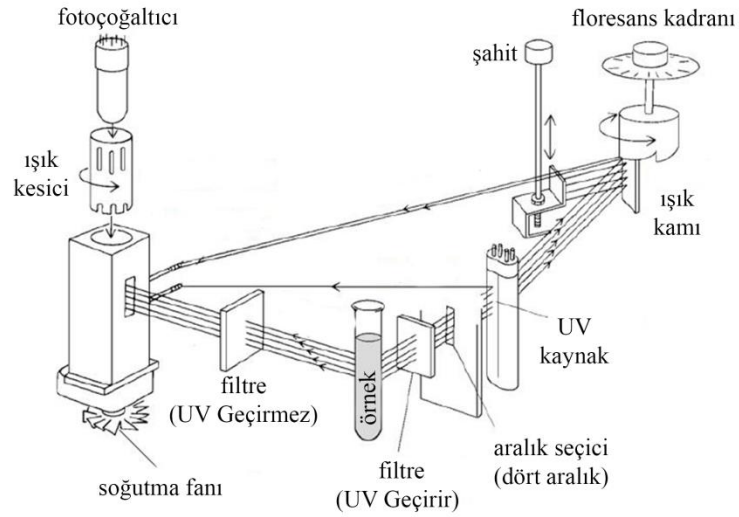
##### *1.4.1.4. Hücreler ve Hücre Bölmeleri*

Silindirik ve dikdörtgen hücreler cam veya silikondan yapılır. Hücrenin bulunduğu bölme dedektöre ulaşan saçılan ışını en aza indirecek şekilde dizayn edilmelidir. Bu amaçla bölmeye baffiller yerleştirilir [23].

#### 1.4.1.5. Florometreler



Şekil 1. 8. Tipik bir florometre [25]

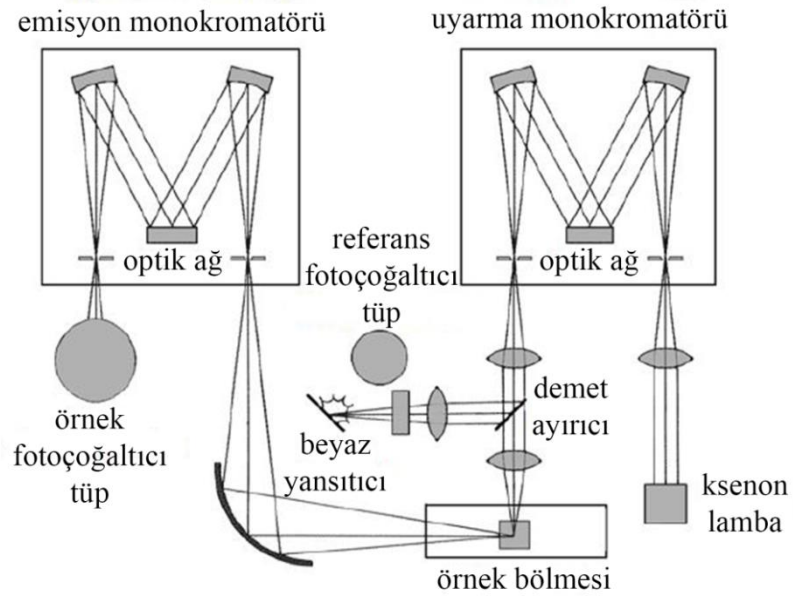


Şekil 1. 9. Turnet model 110 florometrenin optik dizaynı [23]

Şekil 1.10' da, bir civa lambası ve tek bir fotoçoğaltıcı tüp (dedektör olarak) bulunan çift demetli bir florometrenin şematik diyagramı verilmiştir. Lambadan gelen ışının bir kısmı bir filtreden geçerek örneğe gelir. Floresans ışın sonra ikinci bir filtreden dedektöre geçer. Bir referans demet ışık kamının aynalanmış yüzeyinden, fotoçoğaltıcı tüpü yönlendiren bir parlak ışık borusuna yansıtılır. Dönen ışık kesici bu referans demetin ve floresans demetin, sıra ile, dedektör yüzeyine çarpmasını sağlar, böylece güçleri farklı olan demetler bir ac sinyali üretirler; ac sinyalinin fazını kuvvetli olan demet belirler. Bu fark ve işareti, bir faz hassas aletle bir metre ibresini hareket ettirecek şekilde dönüştürülür. Referans demetin gücü sonra ışık kamının dönmesiyle değişir, kam dedektöre ulaşan referans demetin miktarını mekanik olarak artırır veya azaltır [23].

#### 1.4.1.6. Spektroflorometreler

Bu cihazlarda iki tane optik ağı monokromatör vardır. Ksenon lambasından gelen ışın birinci monokromatörde dağıtılır ve örneği uyarır. Oluşan floresans ışın, ikinci monokromatörden dağıtıldıktan sonra, bir fotoselde algılanır. Okuma bir metre veya kaydedici ile yapılır. Cihaz, sadece birinci monokromatör ile absorban ölçmelerinde kullanılabilir [23].

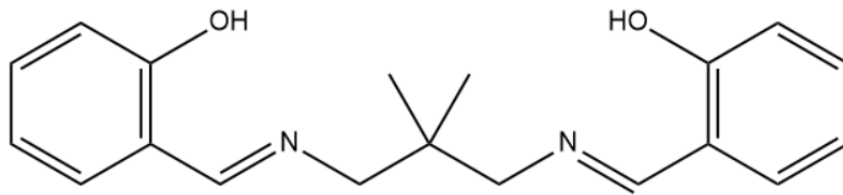


Şekil 1. 10. Bir Spektroflorometre [26]

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

Deneylerde kullanılan tüm tuzlar ve çözücüler Merck, tetrahidrofuran (THF) ise Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Floresans ölçümlerinde bölümümüzde bulunan TÜBİTAK 1111T490 numaralı projeden temin edilen Shimadzu RF-5301-PC model spektrofotometre, pH ölçümlerinde HANNA Instruments HI 2221 kullanılmıştır.

### 2.1 N,N'-BİS(SALİSİLİDEN)- 2,2'-DİMETİL-1,3-DİAMİNOPROPAN (LDMH<sub>2</sub>)



Şekil 2. 1. LDMH<sub>2</sub> ligandı

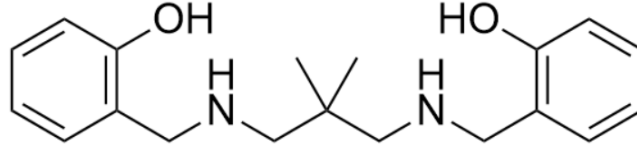
Salisilaldehit ve 2,2'-dimetil-1,3-diaminopropan' in etanoldeki çözeltileri 2:1 oranında yüksek sıcaklıkta karıştırıldı ve sarı kristallerin oluşumu gözlemlendi. 1:1 etanol-su karışımında tekrar kristallendirme yapıldı. İşlem sonunda çözeltilerde oluşan kristaller süzülerek kurumaya bırakıldı. Kuruma sonunda ince, sarı kristaller tekrar elde edildi [27].

Çizelge 2. 1. LDMH<sub>2</sub> için IR verileri (cm<sup>-1</sup>) [28]

$\nu_{OH}(\text{alifatik})$	$\nu_{C-H}(\text{aromatik})$	$\nu_{C-H}(\text{alifatik})$	$\nu_{C=N}$	$\delta_{CH_2}$	$\delta_{C-H}(\text{aromatik})$
2713	3009	2848	1635	1464	760
2848	3053	2961			

## 2.2 N, N'-BİS(2-HİDROKSİBENZİL)-2, 2'- DİMETİL-1, 3-DİAMİNO PROPAN (LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub>) SENTEZİ

3 g LDMH<sub>2</sub> 50 mL MeOH' de çözüldü ve NaBH<sub>4</sub> ile renksiz çözelti elde edilene kadar muamele edildi. Elde edilen çözelti 250 mL buzlu suya eklenip 24 saat bekletildi. Oluşan beyaz renkli katı %70' lik EtOH çözeltisinden tekrar kristallendirildi ve indirgenmiş Schiff bazı elde edildi [27].



Şekil 2. 2. LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub> ligandı

LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub> için NMR verileri;  $\delta=6,72-6,77$  ve  $7,12-7,18$  ( $H_{Ar}$ ),  $3,88-4,34$  ( $H_{CH_2}$ , benzil),  $2,38-2,54$  ( azota komşu  $H_{CH_2}$ ),  $0,98-1,22$  ( $H_{CH_3}$ ),  $5,26$  ( $H_{N-H}$ ) [29].

## 2.3. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

### 2.3.1. $3 \times 10^{-4}$ M Ligand :

LDMH<sub>2</sub>' den 0,0186 g tartılır ve 200 mL balon jöjeye konulup üzeri EtOH ile tamamlanır.

### 2.3.2. $3 \times 10^{-5}$ M Ligand :

$3 \times 10^{-4}$ M ligand dan 2 mL alınıp 20 mL' lik balon jöjeye konulup üzeri EtOH ile tamamlanır.

### 2.3.3. $3 \times 10^{-5}$ M Zn :

Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O' dan 0,0178g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,5 mL alınarak 50 mL ye tamamlandı.

### 2.3.4. $3 \times 10^{-5}$ M Al :

Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O'dan 0,0225g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.5. $3 \times 10^{-5}$ M Ca :**

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'dan 0,0142g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.6. $3 \times 10^{-5}$ M Mn :**

$\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ' dan 0,0151g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.7. $3 \times 10^{-5}$ M Fe :**

$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ' dan 0,0242g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.8. $3 \times 10^{-5}$ M Pb :**

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ' den 0,0199g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.9. $3 \times 10^{-5}$ M Mg :**

$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ' dan 0,0154g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.10. $3 \times 10^{-5}$ M Co :**

$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ' dan 0,0175g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.11. $3 \times 10^{-5}$ M Cr :**

$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 'dan 0,0240g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### **2.3.12. $3 \times 10^{-5}$ M Cu :**

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 'dan 0,0145g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.



### 2.3.13. $3 \times 10^{-5}$ M Ni :

Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O'dan 0,0174g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### 2.3.14. $3 \times 10^{-5}$ M Cd :

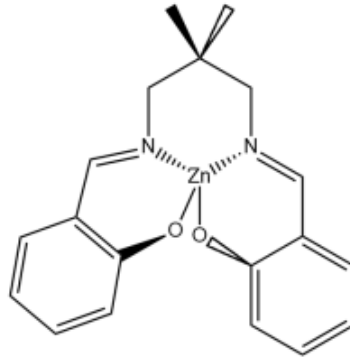
Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O'dan 0,0185g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

### 2.3.15. $3 \times 10^{-5}$ M Hg :

Hg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O' dan 0,0204g tartıldı ve deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 0,2 mL alınarak deiyonize su ile 20 mL' ye tamamlandı.

## 2.4. KOMPLEKSLERİN HAZIRLANMASI

Çözeltilerin hazırlanması bölümünde anlatılan ligand ve metal tuzları çözeltileri ve teker teker deney tüplerinde bire bir oranda hazırlanıp tepkimeye bırakıldı.



Şekil 2. 3. Ligand – metal kompleksine örnek olarak çinko kompleksi

### 3.BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. “LDMH<sub>2</sub> – METAL” KOMPLEKSLERİNİN FLORESANS ŞİDDETLERİ VE GİRİŞİMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

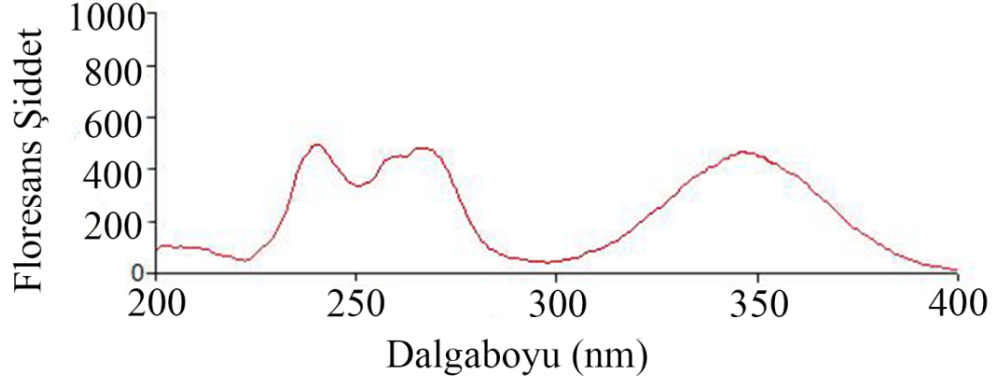
Materyal ve yöntem bölümünde anlatıldığı gibi çözeltiler hazırlandı. Cihazdan uyarılma ve emisyon slit aralıkları 3 nm olarak ayarlandı. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir.

Çizelge 3. 1. LDMH<sub>2</sub>-metal kompleksleri için dalga boyları

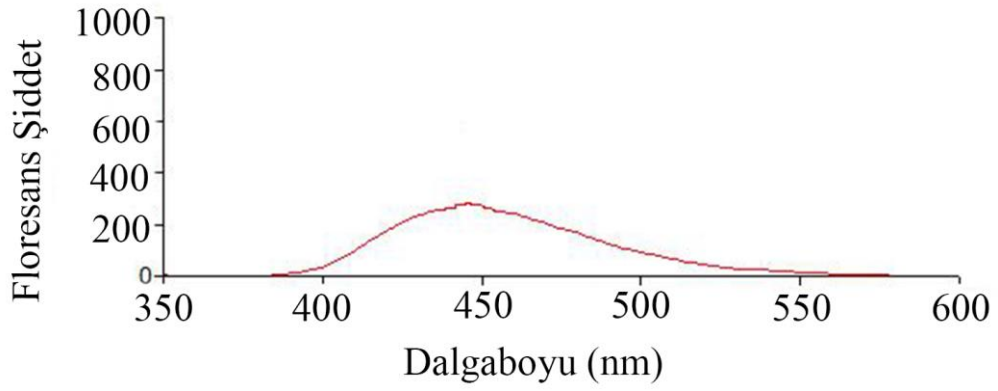
Kompleks	$\lambda_{em}$	$\lambda_{ex}$
LDMH <sub>2</sub> -Zn	450	349
LDMH <sub>2</sub> -Fe	467	366
LDMH <sub>2</sub> -Co	468	365
LDMH <sub>2</sub> -Pb	467	366
LDMH <sub>2</sub> -Hg	465	364
LDMH <sub>2</sub> -Cd	467	363
LDMH <sub>2</sub> -Cu	469	365
LDMH <sub>2</sub> -Mg	469	365
LDMH <sub>2</sub> -Ca	470	362
LDMH <sub>2</sub> -Ni	471	363
LDMH <sub>2</sub> -Cr	470	364
LDMH <sub>2</sub> -Mn	469	365
LDMH <sub>2</sub> -Al	500	356

Çizelge 3.1’ de görüldüğü üzere çinko ve alüminyum kompleksleri diğer komplekslere göre daha fark edilebilir sonuçlar vermiştir.

Farklı her kimyasal bileşiğin özelliklerinin değişik olduğundan daha önce bahsedildi. Ligand ile kompleks oluşturan her metal kullanılan yöntemden dolayı farklı değerler sergilemektedir. Yapılan ölçümler sonucunda çinko metalinin ligandla kompleks oluşturarak diğer metallere göre çok daha fazla floresans şiddeti gösterdiği saptandı. Bunun sebebi Schiff bazlarında imin bağlarının çinko metaline karşı gösterdiği affinite olarak öngörüldü. Çinko kompleksi için  $\lambda_{ex}$ : 349 nm olarak ölçüldü ve yaklaşık olarak 450 nm civarında emisyon piki gözlemlendi

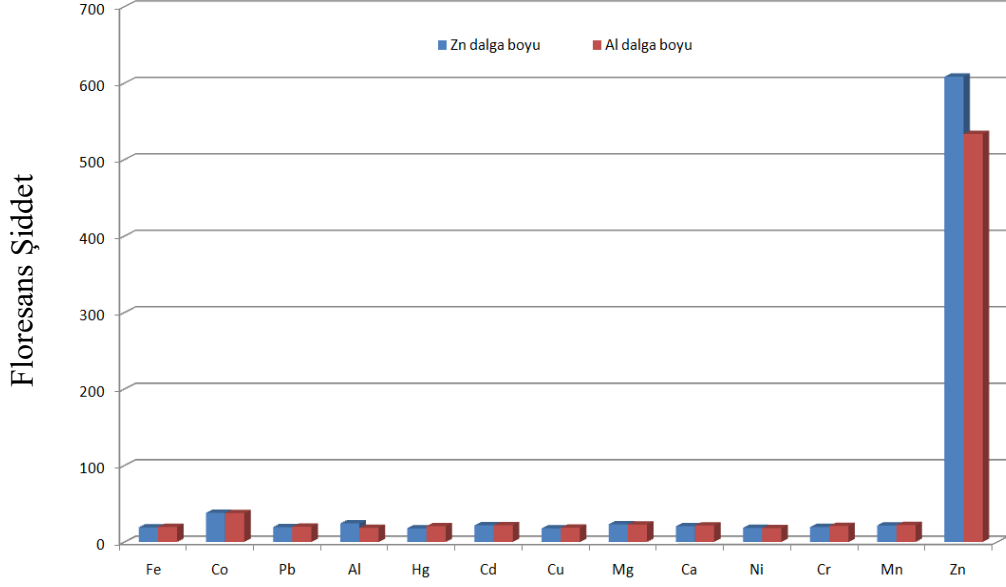


Şekil 3. 1. LDMH<sub>2</sub>-Zn genel uyarılma taraması

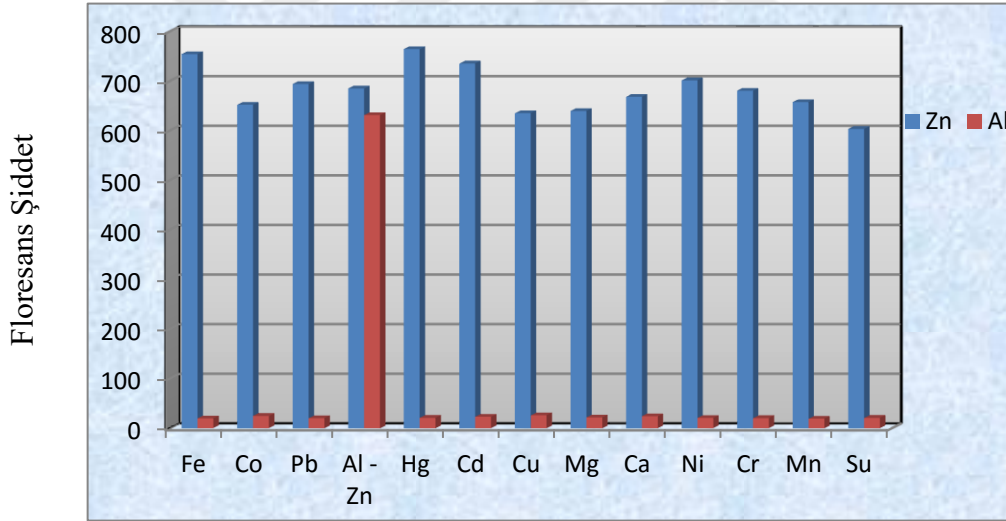


Şekil 3. 2. LDMH<sub>2</sub>-Zn kompleksi 349 nm taraması (uyarılma)

Ölçümlerde ligandın ayrıca alüminyuma affinite gösterdiği fakat emisyon pikinin 500 nm civarında olduğu gözlemlendi. Bu yüzden alüminyum için genel bir tarama yapıldı ve  $\lambda_{ex}$ : 356 nm olarak belirlendi. Fakat bu dalga boyunda da çinko kompleksi alüminyuma göre daha fazla floresans şiddeti göstermiştir.



**Şekil 3. 3.** Çinko ve alüminyum komplekslerinde şiddet karşılaştırmalı girişim araştırması (etanol çözeltisinde)

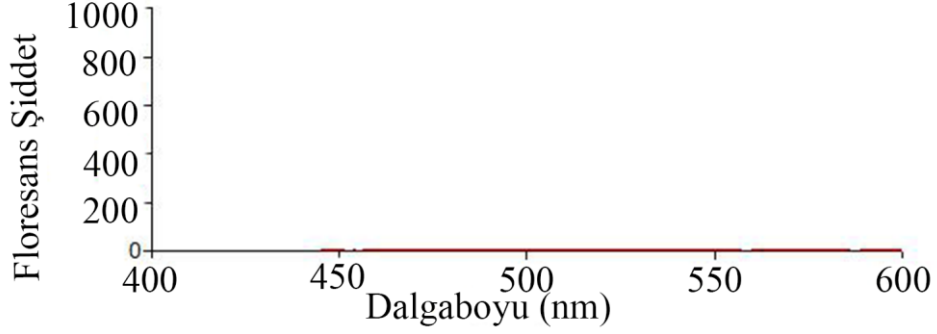


**Şekil 3. 4.** Çinko ve alüminyum komplekslerinde şiddete dayalı dalga boyu karşılaştırması (etanol çözeltisinde)

Şekil 3.3 ve Şekil 3.4' den görüldüğü üzere hem dalga boyu hem de girişim çalışmalarında çinko diğer metallerle göre üstün bir seçicilik göstermiştir.

### 3.2. İNDİRGENMİŞ “LH<sub>2</sub>-ZN” KOMPLEKSİ İÇİN UYARILMA VE EMİSYON TARAMASI

İndirgenmiş LDMH<sub>2</sub> (LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub>) ile hazırlanan Zn<sup>2+</sup> kompleksine ait emisyon taraması Şekil 3.5’ de verilmiştir.

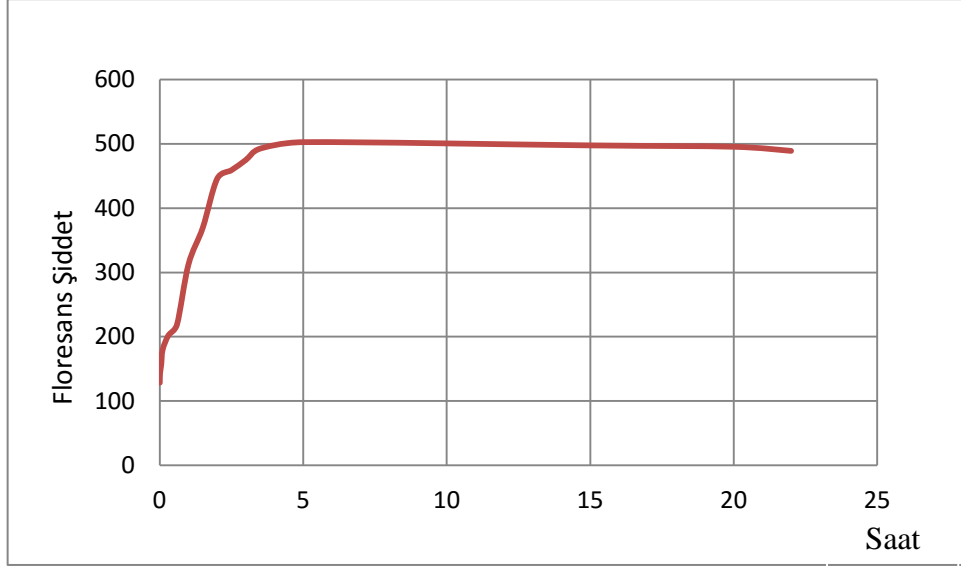


Şekil 3. 5. LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub>-Zn kompleksi floresans şiddeti

Bu şekilden de görüldüğü üzere LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub> – Zn kompleksinin emisyon taramasında herhangi bir pik elde edilmemiştir. Bu durum, ligandın yapısında bulunan imin bağının (C=N) gerek ligandın gerekse kompleksin floresans özellik göstermesinde etkin olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde Schiff bazının ve Schiff bazı komplekslerinin floresans özellik göstermesinde imin bağına ait uyarılmanın etkin olduğu yorumu yapılmıştır [20-22]. Bu çalışmada yapılan bu yorumlar deneysel olarak ilk defa ortaya koyulmuştur. Elde edilen bu sonuçlardan sonra indirgenmemiş tür olan LDMH<sub>2</sub> ile çalışmalara devam edilmiştir.

### 3.3. “LDMH<sub>2</sub> – Zn” KOMPLEKSİNİN ZAMANA KARŞI ŞİDDET DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ

Anında gerçekleşen kimyasal tepkimeler olduğu gibi reaksiyon vermesi zaman alan tepkimeler de bulunmaktadır. Tepkime tamamlandığında oluşan yeni maddenin kimyasal ve fiziksel özellikleri kendini oluşturan maddeden farklılık gösterir. Bu yüzden LDMH<sub>2</sub> ile çinko metali kompleksinin zamana karşı gösterdiği floresans şiddetindeki değişimi çalışmaya uygun görüldü. Kompleksin tam olarak oluştuğu zamanı tespit edebilmek, gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) gibi analitik veriler dolayısıyla çalışmanın güvenilebilirliği için oldukça önemlidir.



**Şekil 3. 6.** LDMH<sub>2</sub>-Metal kompleksinin zamana karşı grafiği (etanol çözeltisi)

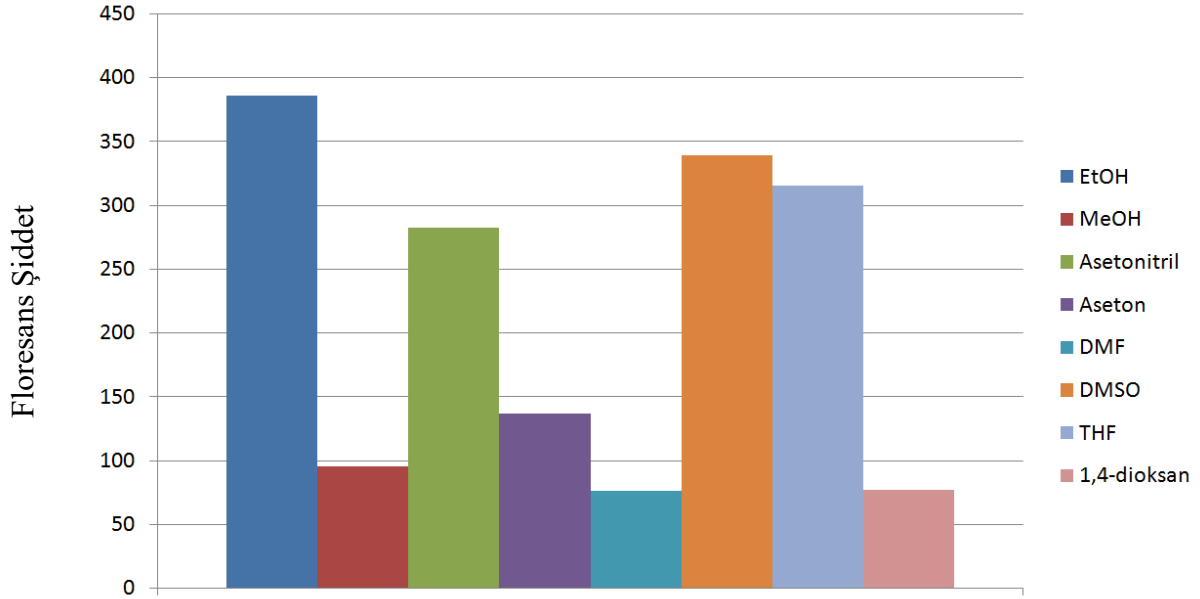
$3 \times 10^{-4} \text{M}$  hazırlanan ligand çözeltisinden ve metal çözeltisinden 1:1 oranda alınarak deney tüpünde reaksiyona sokuldu ve kuartz küvette ilk beş saatte her saat başı, sonrasında ise Şekil 3.6' deki zaman aralıklarıyla floresans ölçümleri alındı. Uyarılma (ex) slit aralığı ve emisyon (em) slit aralığı 3,0 nm olarak ayarlandı. Yapılan genel taramalardan optimum uyarılma dalga boyunun 349 nm olduğu belirlendi.

Şekil 3.6 elde edilen verileri sergilemektedir. Bulgulardan çalışma için en uygun zamanın beş saatten sonrası olduğu açıkça görülmektedir.

### 3.4. "LDMH<sub>2</sub> – Zn" KOMPLEKSİ İÇİN ÇÖZÜCÜ ETKİSİ İNCELENMESİ

$3 \times 10^{-3} \text{M}$  LDMH<sub>2</sub> kompleksi hazırlamak için, 0,0186 g LDMH<sub>2</sub> tartıldı ve 20 mL ölçekli balon jöjelere aktarıldı. EtOH, MeOH, ACN, AC, DMF, DMSO, THF ve 1,4-dioksan çözeltileri sırasıyla hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden 2 ml alınarak başka 20 ml hacimli balonlarda kendi çözücüleriyle seyreltilerek  $3 \times 10^{-4} \text{M}$  çözeltileri hazırlandı.

$3 \times 10^{-4} \text{M}$  ligand çözeltisinden 2 mL,  $3 \times 10^{-5} \text{M}$  Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> çözeltisinden 1 mL alınıp bir deney tüpü içerisinde reaksiyona sokulduktan sonra beş saat beklendi.  $\lambda_{\text{ex}}$ :349 nm olarak ayarlanıp veriler elde edildi.



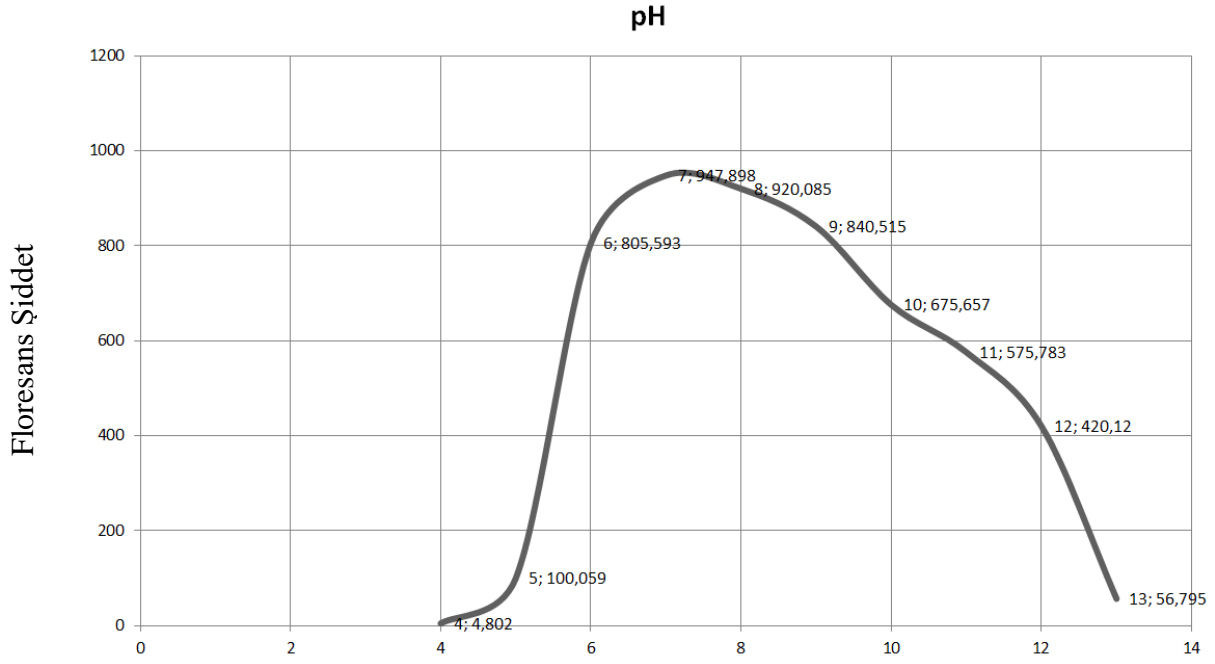
Şekil 3. 7. LDMH<sub>2</sub> – Zn kompleksi çözücü etkisi

Etil alkol Şekil 3.7' de görüldüğü gibi en yüksek floresans şiddetini göstermiştir. Floresansın  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişlerinin enerjisinin düşmesiyle gerçekleştiğini bildiğimize göre etanolün bu geçişi diğer çözücülere göre kolaylaştırdığını söyleyebiliriz. DMSO ve THF her ne kadar etil alkol değerlerine yakın olsalar da hem çevre ve canlı vücudu için alkolden daha fazla zararlı oldukları hem de gösterdikleri göreceli düşük şiddet yüzünden çalışmada etil alkol çözücü olarak kullanıldı.

### 3.5. “LDMH<sub>2</sub> – Zn” KOMPLEKSİNİN pH DEĞİŞİMİNE KARŞI FLORESANSININ İNCELENMESİ

Lüminesans gösteren her bileşiğin floresans veya fosforesans şiddetleri asidik veya bazik ortamlarda farklılık gösterir. Bunun sebebi bileşiğin protonlanmış ve protonlanmamış hallerinin uyarılma ve emisyon dalga boylarının farklı olmasıdır.

Hazırlanan 2 mL  $3 \times 10^{-4}$  M LDMH<sub>2</sub> çözeltisi ile 2 mL  $3 \times 10^{-5}$  M Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> çözeltileri belirli pH aralıklarına getirildi ve beş saat beklendikten sonra floresans şiddetleri ölçüldü. Slit aralıkları uyarılma ve emisyon için 3 nm olarak ayarlandı. Uyarılma dalga boyu etanol çözeltisinde kullanılan 349 nm olarak ayarlandı.



**Şekil 3. 8.** LDMH<sub>2</sub>-Zn kompleksinin pH değişimine karşı floresans şiddeti

Şekil 3.8’ da görüldüğü üzere pH 5 ve daha asidik bölgelerde kompleksin floresans özelliğinin kaybolduğu görülmektedir. Bunun sebebi imin bağındaki azotun protonlanarak Schiff bazının hidrolize uğramasıdır. Bu durum ligandın parçalanmasına diğer bir ifade ile kompleksin bozunmasına neden olmaktadır. Çözeltinin pH’ ı 7’ ye yaklaştıkça floresans şiddetinde önemli bir artış gözlenmekte ve pH 7 olduğunda maksimum floresans şiddeti göstermektedir. Çalışmanın en önemli bulgularından birisini bu oluşturmuştur çünkü böylece su veya kan numunelerinden direkt olarak örnek alıp inceleme yapılabilmesinin önü açılmıştır. pH 7’ den sonra ise floresans şiddetinde düşüş gözlenmektedir. Bu düşüşün sebebi çinko iyonlarının hidroksit tuzlarını oluşturmasından dolayı kompleksin bozunması olarak ön görülmüştür.

### 3.6. “LDMH<sub>2</sub> – ZN” KOMPLEKSİNİN KALİBRASYON EĞRİSİ

Kalibrasyon, analitik parametrelerin güvenli ve tekrarlanabilir olması için mutlaka yapılması gereken bir işlemdir. Böylece deneylerde hangi konsantrasyon aralığında çalışılması gerektiği, en düşük tayin miktarı ve yöntemin hangi konsantrasyon değerlerinden sonra sapma gösterdiği gibi parametreler bulunabilir.

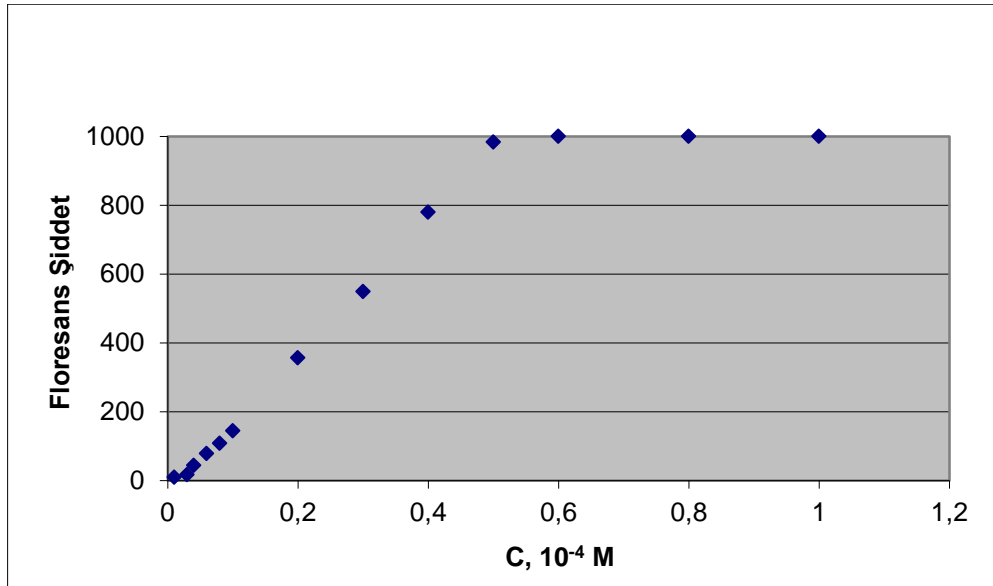
Bu çalışmada,  $1 \times 10^{-4}$  ve  $0,01 \times 10^{-4}$  M aralığında çinko içeren kalibrasyon çözeltileri optimizasyon çalışmalarında bulunan parametreler doğrultusunda hazırlanmış ve



floresans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ölçüm değerleri Çizelge 3.2' de verilmiştir. Şekil 3.9 ve Şekil 3.10' da ise bu değerlere göre çizilmiş olan konsantrasyon-şiddet eğrisi ve bu eğrinin doğrusal olduğu aralık için kalibrasyon grafiği gösterilmiştir.

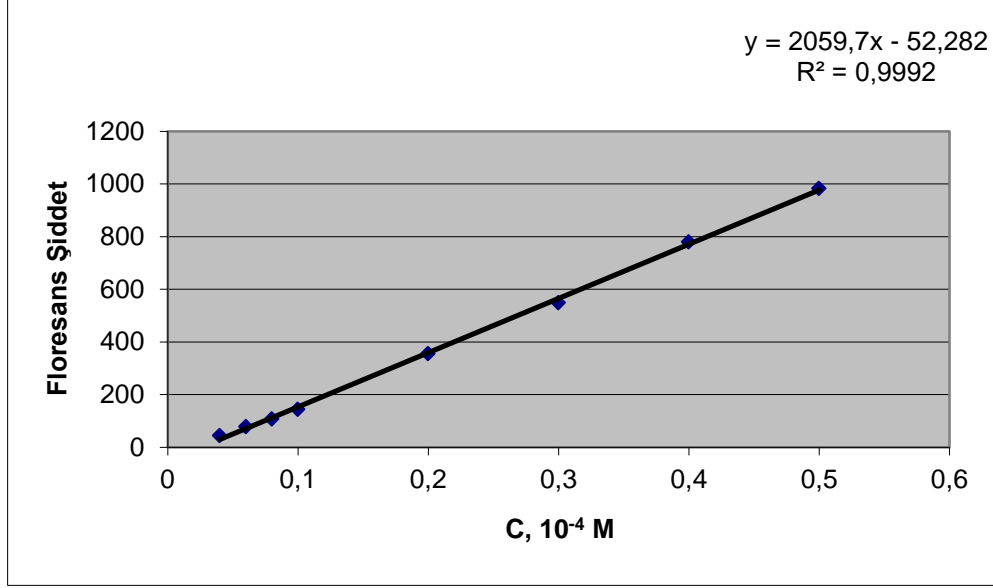
Çizelge 3. 2. LDMH<sub>2</sub>-Zn kompleksi için floresans şiddeti verileri

C,10 <sup>-4</sup> M	Şiddet (450 nm)
0,01	9
0,03	17
0,04	44
0,06	78
0,08	108
0,1	144
0,2	356
0,3	549
0,4	780
0,5	983
0,6	>1000
0,8	>1000



Şekil 3. 9. LDMH<sub>2</sub>-Zn kompleksinin 20 saat sonundaki konsantrasyon-şiddet eğrisi

(1-0,01 x10<sup>-4</sup>M)



Şekil 3. 10. LDMH<sub>2</sub>-Zn kompleksinin 20 saat sonundaki kalibrasyon eğrisi

$$(0,5-0,04 \times 10^{-4} \text{ M})$$

Şekil 3.9' de verilen kalibrasyon-şiddet eğrisinden görüldüğü üzere yüksek çinko konsantrasyonlarında ( $1 - 0,6 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) floresans şiddeti cihazın okuyabileceği maksimum değerden fazla olduğundan doğrusallıktan sapmaktadır. Söz konusu eğride  $0,5 - 0,04 \times 10^{-4} \text{ M}$  çinko konsantrasyonu aralığı ile ölçülen şiddet değerleri arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur. Buna göre numune analizlerinde kullanılacak olan kalibrasyon grafiği bu konsantrasyon aralığı için çizilmiştir. Bunun yanında,  $0,04 \times 10^{-4} \text{ M}$ ' dan daha düşük konsantrasyonlarda, kalibrasyon eğrisinin eğiminde doğrusallıktan sapma tespit edildiğinden, bu derişimler kalibrasyon grafiğine dahil edilmemiştir.

Standart sapma resüidial standart sapmadan ( $S_y$ ) hesaplanmıştır.

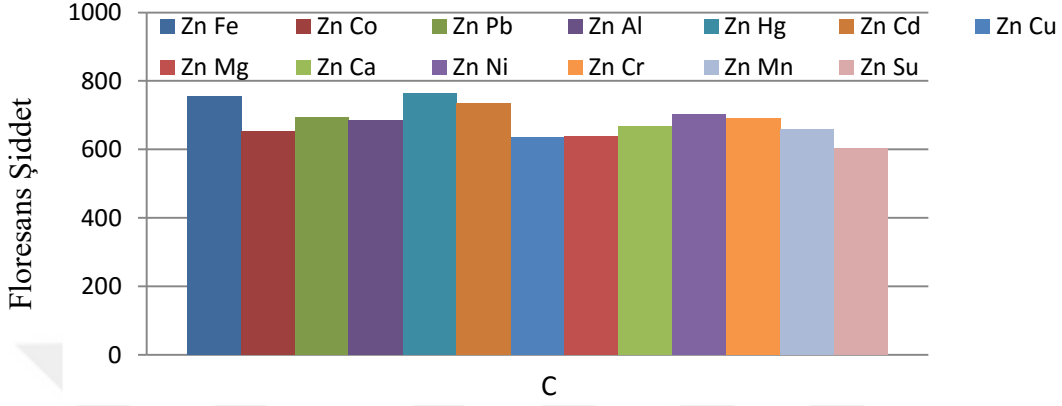
$$\sigma = S_y = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{N - 2}} \quad 3.1$$

Burada  $y$  cihazın okuduğu değer,  $y_i$  doğru denklemden hesaplanan değerdir.  $N$  ise deney sayısıdır.

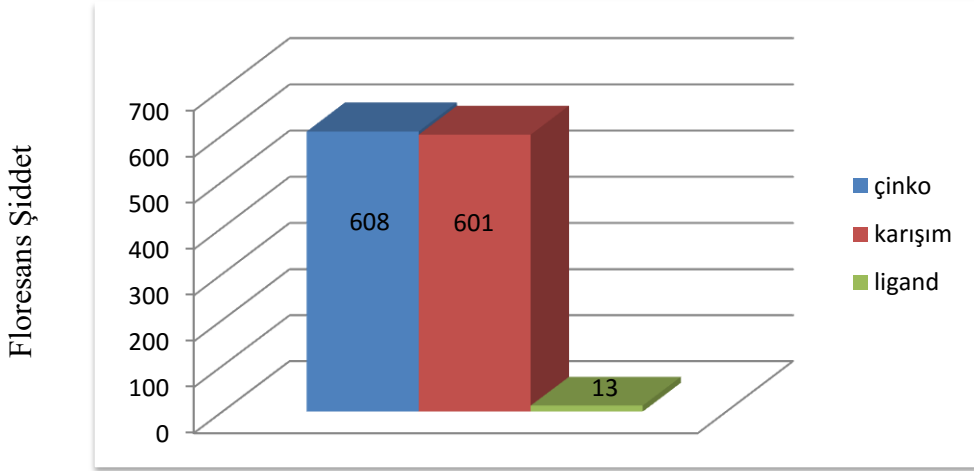
$$\text{LOD} = 3 \times \frac{\sigma}{m} \quad 3.2$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{\sigma}{m} \quad 3.3$$

Eğim  $m$  olup, LOD değeri  $2 \times 10^{-6}$  M, LOQ ise  $5 \times 10^{-6}$  M hesaplanmış ve LOL ise Şekil 3.10' dan anlaşılacağı üzere  $0,5 \times 10^{-4}$  M olarak bulunmuştur (LOD ve LOQ resüdiyal standart sapmadan hesaplanmıştır). Çalışma aralığı  $4 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-5}$  M olarak belirlenmiştir.



Şekil 3. 11. Çinko kompleksinin tek tek metallerle karışımının floresans şiddeti karşılaştırması ( $2 \times 10^{-4}$  M ligand  $2 \times 10^{-5}$  M metal)



Şekil 3. 12. Çinko kompleksinin tüm metallerle karışımının floresans şiddeti karşılaştırması

Şekil 3.11'de iki metal karışımının bulunduğu, Şekil 3.12'de ise on üç metal karışımının bulunduğu çözelti ortamına ligand eklenerek floresans araştırmaları yapıldı. Sonuçlardan da görüldüğü üzere her iki karışım ortamından da ligand başarıyla çinko(II) metalini seçti. Bunun üzerine gerçek numune analizleri yapıldı.

### 3.7. GERÇEK NUMUNE ANALİZİ

Bu çalışmada geliştirilmiş olan metodun güvenilirliğini test etmek için bir Sertifikalı Referans Madde (SRM) kullanılmış ve bu SRM içinde bulunan  $Zn^{2+}$  miktarı, belirlenmiş metot parametreleri çerçevesinde analiz edilmiştir. Kullanılmış olan SRM'nin kodu: ICP-MS-68A, Lot numarası: 0725329 olup bu SRM yüksek saflıktaki (% 99,964) 48 adet metal tuzlarından oluşmaktadır. Bu SRM' de her bir metal konsantrasyonu 10 mg/L  $\pm$  %0,5'dir ve bu metallerin hidrolizini önlemek için standart %2' lik  $HNO_3$  ile asitlendirilmiştir. Kalibrasyon grafiğinden de anlaşılacağı üzere bu numunedeki çinko konsantrasyonu kalibrasyon doğrusunun dışına çıktığından numune 1/10 oranında (1 mg/L olacak şekilde) seyreltilmiştir. Numunenin pH'ı çok düşük olduğu için numune seyreltik NaOH ile pH 7,0' ye ayarlanmıştır. Hazırlanmış olan bu numuneden 2 mL alınıp 2 mL  $2 \times 10^{-4}$  M lık LDMH<sub>2</sub> ile karıştırılmış ve bu çözeltinin floresans ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlar, Şekil 3.9' de verilen kalibrasyon grafiği yardımıyla hesaplanmış ve Çizelge 3.3' de gösterilmiştir.

**Çizelge 3. 3.** Numuneye ait okunan floresans şiddeti ve bu şiddetlere göre hesaplanan konsantrasyon değerleri

Şiddet	C (mg/L)	10xC (mg/L)
92,43	0,92	9,19
93,63	0,93	9,26
94,05	0,93	9,29
95,02	0,94	9,35
94,49	0,93	9,32
91,77	0,91	9,15
95,06	0,94	9,36
95,27	0,94	9,37
94,38	0,93	9,31
93,23	0,92	9,24

$$\left( \frac{\text{Şiddet}(y)+52,282}{2059,7} \right) \times 10^{-4} \times 2 \times 65,39 \times 1000 = C(\text{ppm}) \quad 3.4$$

Çizelge 3.3'te bulunan değerler Denklem 3.4 kullanılarak, Şekil 3.10'daki verilerle elde edilmiştir. Son konsantrasyonun on ile çarpılması, işlem sırasında uygulanan seyrelte faktöründen ötürü yapılmıştır.

Sonuç % 95 güven seviyesinde  $9,28 \pm 0.05$  mg/L olarak hesaplanmıştır. Analiz sonuçlarını gerçek değerle karşılaştırmak dolayısıyla da metodun sistematik hatasını bulmak için z-skoru hesaplanmıştır. Z-skoru, sertifikalı referans materyalle Horwitz değeri kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplanır [30-31].

$$Z = \frac{\bar{X}_{bulunan} - X_{CRM}}{\sigma_A} \quad 3.5$$

Bu formülde  $\sigma_A$  hedef standart sapma olup değeri Horwitz fonksiyonuna,  $H_A$ , göre hesaplanır [31]. Buna göre,

$$\sigma_A = kH_A \quad 3.6$$

olarak ifade edilir. Bu eşitlikte  $k$  faktörü analiz amacına göre 0,5;1,0;1,5 değerleri alabilmektedir. Yüksek kesinlik istenen analizlerde  $k = 0,5$ ; iyi yapılandırılmış rutin analizlerde  $k = 1,0$ ; genel analitik ölçümlerde ise  $k = 1,5$  olarak atanır [32].  $H_A$  ise SRM de belirtilen analit konsantrasyonun g/g olarak değerinin yer aldığı aralığına karşılık gelen formülden hesaplanır. Buna göre,

$$H_A = \begin{cases} 0,22X_{SRM} & X_{SRM} < 1,2 \times 10^{-7} \\ 0,02(X_{SRM})^{0,8495} & 1,2 \times 10^{-7} \leq X_A \leq 0,138 \\ 0,01\sqrt{X_{SRM}} & X_A > 0,138 \end{cases} \quad 3.7$$

SRM' de belirtilen çinko konsantrasyonu ppm cinsinden olduğundan öncelikle  $10^{-6}$  ile çarpılarak g/g'a çevirilir. Buna göre  $10 \times 10^{-6}$ ,  $1,2 \times 10^{-7} \leq X_A \leq 0,138$  aralığına denk geldiğinden Horwitz fonksiyonu olarak  $0,02(X_{SRM})^{0,8495}$  ifadesi kullanılır. Buna göre,

$$H_A = 0,02(10 \times 10^{-6})^{0,8495} = 1,13 \times 10^{-6} \quad 3.8$$

olarak bulunur. Geliştirilen metodun amacı doğrultusunda hedef standart sapma  $k = 1,0$  alınarak hesaplanmıştır.

$$\sigma_A = 1 \times 1,13 \times 10^{-6} = 1,13 \times 10^{-6} g/g = 1,13 ppm \quad 3.9$$

şeklinde hesaplanan hedef standart sapma, z-skor denkleminde yerine konur. Geliştirilmiş olan metot ile yapılan 10 adet ölçümün ortalaması 9,28 mg/L'dir. Buna göre,

$$z = \frac{9,28-10}{1,13} = -0,64 \quad 3.10$$

olarak hesaplanır. Bulunan z-skor değeri,  $|z| = 0,64$ , aşağıdaki kriterlere göre değerlendirilir [30].

$|z| \leq 2$  ise analiz uygundur, metotla bulunan sonuç başarılıdır.

$2 < |z| < 3$  ise bulunan sonuç kabul edilebilir, ancak sistematik hatanın irdelenmesi gerekir.

$|z| \geq 3$  ise analiz sonucu başarısızdır, düzeltici faaliyet uygulanmalıdır.

Bu değerlendirme kriterlerine göre, geliştirilen metotla yapılan SRM analizinin sonucu (9,28 mg/L) başarılıdır.

#### 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, bir Schiff bazı LDMH<sub>2</sub> ve indirgenmiş türevi LDM<sup>H</sup>H<sub>2</sub> sentezlenmiş ve çeşitli metal iyonlarına karşı gösterdiği floresans cevapları incelenmiştir. Buna göre LDMH<sub>2</sub>'nin Al ile olan kompleksinin analitik amaçlı kullanılamayacak kadar düşük floresans özelliğe sahip olduğu gözlenirken Zn ile yüksek floresans duyarlık gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşılık, indirgenmiş türevinin Zn ve Al dahil olmak üzere çalışılan hiçbir metal iyonu ile floresans cevabı vermediği tespit edilmiştir. Bu nedenlerden dolayı, metot sadece Zn 'nin florometrik tayini için optimize edilmiş, en uygun pH, çözücü ve ligand konsantrasyonu belirlenmiştir. Optimize edilmiş bu şartlar altında diğer iyonların girişim etkileri incelendiğinde ise önemli bir girişim gözlenmemiştir. Bu çalışmaların ardından farklı konsantrasyonlardaki LDMH<sub>2</sub>-Zn kompleksleri için kalibrasyon grafiği çizilerek analitik parametreler ( LOD, LOQ, LOL, çalışma aralığı, regresyon katsayısı, doğru denklemi) belirlenmiştir. Metodun doğruluğunu test etmek için Zn dahil 48 adet metal iyonu içeren Sertifikalı Referans Madde, geliştirdiğimiz bu metot ile tayin edilmiştir. 10 ppm Zn<sup>2+</sup> içeren SRM için metodumuzla bulunan 9,28 değeri -%7,2' lik Bias ortaya çıkarmıştır. Bu sonuca göre yöntemimizde bir sistematik hata bulunmadığı ve LDMH<sub>2</sub> ligandının Zn<sup>2+</sup> için florometrik bir kemosensör olarak kullanılabileceği anlaşılmıştır. Yapılan z skor testi de yöntemimizde önemli bir sistematik hata olmadığını desteklemektedir.

Bundan sonraki çalışmalarda, çalışma aralığının genişlemesini sağlayabilecek ve daha hızlı dengeye gelerek analizin tamamlanma süresini kısaltabilecek ligandların tasarlanmasıyla bu metodun daha da geliştirilebileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Martell, A.E., Calvin, M., Die Chemie der Metallchelate Verbindungen. Verlag Chemie, GMBH, 71, (1958), 576.
- [2] Pfeiffer, A., Tricyclische Orthokondensierte Nebenvalevzringe, *Liebigs Annalen der Chemie*, 492, (1932), 81-127.
- [3] Ergun, Ü., ONO ve ONNO Tipindeki Schiff Bazlarının Geçiş Metalleri Komplekslerinin Termal Bozunma Tepkimelerinde Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi vs Koordinasyon Bağ Enerjilerinin Hesaplanması, *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, (2009)
- [4] Alaghaz, A.N.M.A., Zayed, M.E., Alharbi, S.A., Synthesis, spectral characterization, molecular modelling and antimicrobial studies of tridentate azo-dye Schiff base metal complexes, *Journal of Molecular Structure*, 1084, (2015), 36-45.
- [5] Naskar, B., Modaka, R., Sikdara, Y., Maitia, D. K., Banik, A., et. al., A simple Schiff base molecular logic gate for detection of Zn<sup>2+</sup> in water and its bio-imaging application in plant system, *Journal of Photochemistry and Photobiology A; Chemistry*, 321, (2016), 99-109.
- [6] Hindson, J. C., Ulgut, B., Friend, R. H., Greenham, N. C., Norder, B., Kotlewski, A., Dingemans, T. J., All-aromatic liquid crystal triphenylamine-based poly(azomethine)s as hole transport materials for opto-electronic applications, *J. Mater. Chem.*, 20, (2009) 937-944.
- [7] Petrus, M. L., Bein, T., Dingemans, T. J., Docampo, P., A low cost azomethine-based hole transporting material for perovskite photovoltaics, *J. Mater. Chem. A*, 3, (2015), 12159-12162.
- [8] Isik, D., Santato, C., Barik, S., Skene, W.G., Charge-Carrier Transport in Thin Films of p-Conjugated Thiopheno-Azomethines, *Organic Electronics*, 13, (2012), 3022-3031.
- [9] Sicard, L., Navarathne, D., Skalski, T., Skene, W. G., On-Substrate Preparation of an Electroactive Conjugated Polyazomethine from Solution-Processable Monomers and its Application in Electrochromic Devices, *Adv. Funct. Mater.*, 23, (2013), 3549-3559.
- [10] Wang, W., Li, R., Song, T., Zhang, C., Zhao, Y., Study on the fluorescent chemosensors based on a series of bis-Schiff bases for the detection of zinc(II),



*Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 164, (2016), 133-138.

[11] Yan, M.H., Li, T.R., Yang, Z.Y., A novel coumarin Schiff-base as a Zn(II) ion fluorescent sensor, *Inorganik Chemistry Communications*, 14, (2011), 463-465.

[12] Shit, S., Sasmal, A., Dhal, P., Rizzoli, C., Mitra, S., Synthesis, structural variations and fluorescence studies of two dinuclear zinc(II) complexes of a Schiff base ligand with an extended carboxylate side arm, *Journal of Molecular Structure*, (2016), 1108, 475-481.

[13] Wang, W., Li, R., Song, T., Zhang, C., Zhao, Y., Study on the fluorescence chemosensors based on a series of bis-Schiff bases for the detection of zinc(II), *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 164, (2016), 133-138.

[14] Bhattacharyya, A., Roy, S., Chakraborty, J., Chattopadhyay, S., Two new hetero-dinuclear nickel(II)/zinc(II) complexes with compartmental Schiff bases: Synthesis, characterization and self assembly, *Polyhedron*, 112, (2016), 109-117.

[15] Aziz, A. A. A., Seda, S. H., Mohammed, S. F., Design of a highly sensitive and selective bulk optode based on fluorescence enhancement of N,N'-bis-(1-hydroxyphenylimine)2,2'-pyridil Schiff base: Monitoring of zinc(II) ion in real samples and DFT calculation, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 223, (2016), 566-575.

[16] Kantar, C., Mavi, V., Baltaş, N., İslamoğlu, F., Şaşmaz, S., Novel zinc(II)phthalocyanines bearing azo-containing Schiff base; determination of pKa values, absorption, emission, enzyme inhibition and photochemical properties, *Journal of Molecular Structure*, 1122, (2016), 88-99.

[17] Subha, L., Balakrishnan, C., Natarajan, S., Theetharappan, M., Subramanian, B., et. al., Water soluble and efficient amino acid Schiff base receptor for reversible fluorescence turn-on detection of Zn<sup>2+</sup> ions: Quantum chemical calculations and detection of bacteria, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, (2016), 249-256.

[18] Ali, O. A. M., Palladium(II) and zinc(II) complexes of neutral [N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] donor Schiff bases derived from furfuraldehyde: Synthesis, characterization, fluorescence and

corrosion inhibitors of ligands, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, (2014), 52-60.

[19] Abdel-Kader, N. S., El-Ansary, A. L., El-Tayeb, T. A., Elnagdi, M. M. F., Synthesis and characterization of Schiff base complexes derived from cephradine: fluorescence, photostability and photobiological applications, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 321, (2016), 223-237.

[20] Wang L., Li H., Cao D., A new photoresponsive coumarin-derived Schiff base: Chemosensor selectively for  $Al^{3+}$  and  $Fe^{3+}$  and fluorescence “turn-on” under room light, *Sensors and Actuators B*, 181, (2013), 749– 755.

[21] Yang L., Zhu W., Fang M., Zhang Q., Li C., A new carbazole-based Schiff-base as fluorescent chemosensor for selective detection of  $Fe^{3+}$  and  $Cu^{2+}$ , *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 109, (2013), 186–192.

[22] Wang W., Li R., Song T., Zhang C., Zhao Yu., Study on the fluorescent chemosensors based on a series of bis-Schiff bases for the detection of zinc(II), *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 164, (2016), 133–138

[23] Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., *Enstrümental Analiz İlkeleri*, 1. Baskı, Bilim Yayıncılık, (1998).

[24] Anonim, [http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical\\_Chemistry/Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy%3A\\_Theory](http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy%3A_Theory) (Erişim Tarihi: 31.05.2016)

[25] Anonim

[http://analyticl2010.weebly.com/uploads/5/7/4/8/5748856/spectrofluometry\\_chapter\\_3\\_b.ppt](http://analyticl2010.weebly.com/uploads/5/7/4/8/5748856/spectrofluometry_chapter_3_b.ppt).

(Erişim Tarihi: 31.05.2016)

[26] Anonim, [www.bayar.edu.tr/besergil/10\\_BOLUM\\_7.pdf](http://www.bayar.edu.tr/besergil/10_BOLUM_7.pdf)

(Erişim Tarihi: 31.05.2016)

[27] Zeybek, B., Ateş, B. M., Ercan, F., Aksu, M. L., Kılıç, E., Atakol, O., (2009) The effect of ligand basicity on the thermal stability of heterodinuclear  $Ni^{II}$ – $Zn^{II}$  complexes, *J. Therm. Anal. Calorim*, 98, (2009), 377-385.

- [28] Durmuş, S., Ergun, Ü., Juad, J.C., Emregül, K. C., Fuess, H., Atakol, O., Thermal Decomposition of Some Linear Trinuclear Schiff Base Complexes with Acetate Bridges, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 86-2, (2006), 337-346.
- [29] Ateş, B. M., Zeybek, B., Aksu, M., Ergun, Ü., Ercan, F., Aksu, M. L., Atakol, O., Thermal Decomposition of New Mononuclear Ni<sup>II</sup> Complexes with ONNO Type Reduced Schiff Bases and Pseudo Halogens, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 636, (2010), 840-845.
- [30] Prichard, E., Barwick, V., *Quality Assurance in Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, UK, (2005)
- [31] Thompson, M.; *The amazing Horwitz function* AMC Technical Brief No.17 Royal Society of Chemistry (2004)
- [32] International Atomic Energy Agency. *Worldwide Proficiency Test for X Ray Fluorescence Laboratories PTXRFIAEA/05 Determination of Minor and Trace Elements in Marine Sediment*, IAEA Analytical Quality in Nuclear Applications Series No. 5. Vienna, (2009)

# ÖZGEÇMİŞ

## *Kişisel Bilgiler*

Soyadı, adı : İLERİ, ÖZGÜR

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : GEBZE / 31.10.1989

Telefon : 0 (536) 885 39 13

Faks :

E-posta : ozgurilerii@gmail.com

## *Eğitim*

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Düzce Üniversitesi – Analitik Kimya	2016
Lisans	Düzce Üniversitesi - Kimya	2014
Lise	Semiha Şakir Y.Dil Ağırlıklı Lisesi	
	Matematik/Fen bilimleri	2007

## *İş Deneyimi*

Yıl	Yer	Görev
05.2013-07.2013	Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü	Stajyer öğrenci

## ***Yabancı Dil***

İngilizce (YDS : 73,75)

## ***Yayınlar***

1. “ONNO tipi bir Schiff bazı ve İndirgenmiş Türevinin Çeşitli Metallerle Yaptığı Komplekslerin Floresans Özelliklerinin İncelenmesi” M. Fatih KÜÇÜKMÜZEVİR, Özgür İLERİ, Ece ERGUN, Ümit ERGUN, gönderildi.

