

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ BAZI SCHİFF BAZLARI KULLANILARAK
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE BİYOLOJİK
ÖRNEKLERDE Ni(II), Cu(II) TAYİNİ**

Ebru (MURAT) PİRİNÇÇİ

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Habibe ÖZMEN

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, yürütülmesinde ve çalışmalarım süresince destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Habibe ÖZMEN'e, sentezlemiş oldukları orijinal maddeleri bu tezde kullanmama izin veren Sayın Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI ve Doç. Dr. İbrahim YILMAZ'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm sevgili arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Murat GENÇ'e, Sayın hocam Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye ve F.Ü. Kimya Bölümü Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim.

Manevi desteğiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili anne ve babama, sevgili eşime ve dünyaya gelişi ile hayatıma yepyeni bir anlam katan küçük kızım Duru'ya teşekkürü bir borç bilirim.

EBRU PİRİNÇÇİ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	VII
TABLOLARIN LİSTESİ.....	IX
ÖZET.....	X
SUMMARY.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Koordinasyon Bileşikleri.....	3
2.1.1 Koordinasyon Bileşiklerinin Önemi.....	5
2.2 Siklobütan ve Türevleri.....	5
2.2.1 Siklobütan Sentezi.....	5
2.2.2 Siklobütan ve Türevlerinin Önemi.....	6
2.3 Tiyazoller.....	6
2.3.1 Tiyazollerin Reaksiyonları.....	7
2.3.2 Tiyazollerin Sentezi.....	7
2.3.3 Tiyazollerin Önemi.....	8
2.4 Schiff Bazları.....	8
2.5 Bakır.....	10
2.5.1 Bakırın Biyolojik Önemi.....	10
2.5.2 Bakırın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	13
2.6 Nikel.....	17
2.6.1 Nikelin Biyolojik Önemi.....	17
2.6.2 Nikelin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	18
2.7 Bakır ve Nikelin Spektrofotometrik Tayini İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	21
2.8 Bakır ve Nikel İçin Uygulanan Analiz Yöntemleri.....	26
2.9 Eser Elementler İçin Zenginleştirme Teknikleri.....	28
2.9.1 Buharlaştırma İle Zenginleştirme.....	28
2.9.2 Çöktürme İle Zenginleştirme.....	29
2.9.3 Seçici Çözme.....	30
2.9.4 Flotasyon.....	31
2.9.5 Adsorpsiyon.....	31
2.9.6 Elektrokimyasal Yöntemler.....	33

	<u>Sayfa No</u>
2.9.7 Sıvı- Sıvı Ekstraksiyonu.....	33
2.10 Ultraviyole/Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopisi.....	35
2.10.1 Ultraviyole ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi.....	35
2.10.2 UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri.....	37
2.10.2.1 Işık Kaynakları.....	37
2.10.2.2 Dedektörler.....	37
2.10.2.3 Monokromatörler.....	38
2.10.3 Tek Işınlı Spektrofotometreler.....	38
2.10.4 Çift Işınlı Spektrofotometreler.....	38
2.11 Lambert- Beer Yasası.....	39
2.11.1 Lambert-Beer Yasasından Sapmalar.....	40
2.12 UV Spektroskopisi İle Yapılan Analitik Uygulamaları.....	41
2.13 Kompleks Stokiometrisinin Bulunması.....	42
2.13.1 Mol Oranı Yöntemi.....	42
2.13.2 Job veya Devamlı Değişmeler Yöntemi.....	43
2.14 Organik Bileşiklerin Absorpsiyonu.....	44
2.15 İnorganik Türlerin Absorpsiyonu.....	45
2.16 Yük-Aktarım Absorpsiyonu.....	45
2.17 Örnek Çözme Teknikleri.....	46
2.17.1 Yükseltgeyici Proseslerle Çözme.....	47
2.17.1.1 Kuru çözme.....	46
2.17.1.2 Yaş Çözme.....	47
2.17.1.2.1 Açık Sistemde Çözme.....	47
2.17.1.2.2 Kapalı Sistemde (Yüksek basınç altında) Mikrodalga ile Çözme.....	48
2.17.1.3 Fotooksidasyonla Çözme.....	49
2.17.1.4 Eritişle Çözünürleştirme.....	50
2.17.1.4.1 Asidik Eritiş.....	50
2.17.1.4.2 Bazik Eritiş.....	50
2.17.1.5 Ekstraksiyon ile Çözme.....	50
2.17.1.5.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu.....	50
2.17.1.5.2 Katı-Sıvı Ekstraksiyonu.....	50
3 MATERYAL METOT.....	52
3.1 Kullanılan Cihazlar.....	52

	<u>Sayfa No</u>
3.2 Kullanılan Çözücüler.....	52
3.2.1 Ekstraksiyon İşleminde Kullanılan Çözücüler.....	52
3.2.2 Çözme İşleminde Kullanılan Çözücüler.....	53
3.3 Kullanılan Çözeltiler.....	53
3.3.1 Yüzey Aktif Madde Çözeltilerin Hazırlanması.....	54
3.4 Yabancı iyon etkisinin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	55
3.5 Örneklerin Analize Hazırlanması.....	56
3.6 DeneySEL Kısım.....	56
3.6.1 Genel Bilgi.....	56
3.6.2 Schiff Bazlarının Sentezi.....	57
3.6.3 Komplekslerin Sentezi.....	58
3.6.3.1 Bakır(II) Kompleksinin Sentezi.....	58
3.6.3.2 Nikel(II) Komplekslerinin Sentezi.....	58
3.6.4 L ₁ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Cu(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi.....	58
3.6.4.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi.....	58
3.6.4.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi.....	58
3.6.4.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi.....	59
3.6.4.4 Kullanılacak Tampon Çözeltisinin Seçimi.....	59
3.6.4.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi.....	59
3.6.4.6 Ligand Miktarının Etkisi.....	59
3.6.4.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi.....	60
3.6.4.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması.....	60
3.6.4.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi.....	60
3.6.5 L ₁ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Ni(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi.....	60
3.6.5.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi.....	60
3.6.5.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi.....	61
3.6.5.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi.....	61
3.6.5.4 Kullanılacak Tampon Çözeltisinin Seçimi.....	61
3.6.5.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi.....	61
3.6.5.6 Ligand Miktarının Etkisi.....	61
3.6.5.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi.....	62
3.6.5.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması.....	62

3.6.5.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi.....	62
3.6.6 L ₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Cu(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi.....	63
3.6.6.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi.....	63
3.6.6.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi.....	63
3.6.6.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi.....	63
3.6.6.4 Kullanılacak Tampon Çözeltilisinin Seçimi.....	63
3.6.6.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi.....	63
3.6.6.6 Ligand Miktarının Etkisi.....	64
3.6.6.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi.....	64
3.6.6.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması.....	64
3.6.6.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi.....	64
3.6.7 L ₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Ni(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi.....	65
3.6.7.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi.....	65
3.6.7.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi.....	65
3.6.7.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi.....	65
3.6.7.4 Kullanılacak Tampon Çözeltilisinin Seçimi.....	65
3.6.7.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi.....	65
3.6.7.6 Ligand Miktarının Etkisi.....	66
3.6.7.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi.....	66
3.6.7.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması.....	66
3.6.7.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi.....	66
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	67
4.1 Sentezlenen Schiff Bazları ve Cu(II),Ni(II) Komplekslerinin Karakterizasyonu.....	68
4.2 L ₁ ve L ₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Cu(II) Tayini İçin Optimal Şartlar.....	70
4.2.1 Çalışılan Maksimum Dalga Boyu.....	70
4.2.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi.....	71
4.2.3 pH Çalışma Aralığı.....	71
4.2.4 Kullanılan Tampon Çözeltilisinin Seçimi.....	72
4.2.5 Oluşan Komplekslerin Stokiyometrilerinin Belirlenmesi.....	73
4.2.6 Ligand Miktarının Etkisi.....	74
4.2.7 Çalkalama Süresi.....	75

	<u>Sayfa No</u>
4.2.8 Yabancı İyon Etkisi.....	76
4.2.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi.....	78
4.3 L ₁ ve L ₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Ni(II) Tayini İçin Optimal Şartlar.....	79
4.3.1 Çalışılan Maksimum Dalga Boyu.....	79
4.3.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi.....	80
4.3.3 pH Çalışma Aralığı.....	80
4.3.4 Kullanılan Tampon Çözeltilisinin Seçimi.....	81
4.3.5 Oluşan Komplekslerin Stokiyometrilerinin Belirlenmesi.....	82
4.3.6 Ligand Miktarının Etkisi.....	83
4.3.7 Çalkalama Süresi.....	84
4.3.8 Yabancı İyon Etkisi.....	85
4.3.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi.....	86
4.4 Spektrofotometrik Metodun Hassasiyeti.....	88
4.5 Yöntemin Örneklerle Uygulanması.....	94
4.5.1 Biyolojik Sıvılarda Cu Tayini.....	94
4.5.2 Biyolojik Sıvılarda Ni Tayini.....	95
5 KAYNAKLAR.....	97

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1	Bir Spektrofotometrenin Temel Bileşenleri.....37
Şekil 2.2	Mol oranı yöntemi ile kompleks stokiyometrisinin bulunması.....43
Şekil 2.3	Job veya devamlı değişmeler yöntemi ile kompleks stokiyometrisinin bulunması.....44
Şekil 4.1	L_1 , L_2 ligandları ile bu ligandların L_1 :Cu(II), L_1 :Ni(II) komplekslerinin molekül formülleri.....67
Şekil 4.2	L_2 :Cu(II), L_2 :Ni(II) komplekslerinin molekül formülleri.....68
Şekil 4.3	5×10^{-4} M L_1 ligandının(a) ve 3 µg/mL L_1 :Cu(II) (b) kompleksinin Spektrumları.....70
Şekil 4.4	5×10^{-4} M L_2 ligandının(a), ve 3 µg/mL L_2 :Cu(II) (b) kompleksinin Spektrumları.....71
Şekil 4.5	L_1 :Cu(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi.....72
Şekil 4.6	L_2 :Cu(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi.....72
Şekil 4.7	Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre L_1 :Cu(II) kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi.....73
Şekil 4.8	Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre L_2 :Cu(II) kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi.....74
Şekil 4.9	Ligand (L_1) miktarı- absorbans eğrisi.....75
Şekil 4.10	Ligand (L_2) miktarı- absorbans eğrisi.....75
Şekil 4.11	Çalkalama süresi-absorbans eğrisi (L_1 :Cu).....76
Şekil 4.12	Çalkalama süresi-absorbans eğrisi (L_2 :Cu).....76
Şekil 4.13	5×10^{-4} M L_1 ligandının ve 3 µg/mL L_1 :Ni(II) kompleksinin spektrumları.....79
Şekil 4.14	5×10^{-4} M L_2 ligandının ve 3 µg/mL L_2 :Ni(II) kompleksinin Spektrumları.....80
Şekil 4.15	L_1 :Ni(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi.....81
Şekil 4.16	L_2 :Ni(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi.....81
Şekil 4.17	Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre L_1 :Ni(II) kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi.....82

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.18	Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre $L_2:Ni(II)$ kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi.....83
Şekil 4.19	Ligand (L_1) miktarı- absorbans eğrisi.....84
Şekil 4.20	Ligand (L_2) miktarı- absorbans eğrisi.....84
Şekil 4.21	Çalkalama süresi-absorbans eğrisi ($L_1:Ni$).....85
Şekil 4.22	Çalkalama süresi-absorbans eğrisi ($L_2:Ni$).....85
Şekil 4.23	$L_1:Cu(II)$ kompleksine ait kalibrasyon grafiği.....91
Şekil 4.24	$L_2:Cu(II)$ kompleksine ait kalibrasyon grafiği92
Şekil 4.25	$L_1:Ni(II)$ kompleksine ait kalibrasyon grafiği93
Şekil 4.26	$L_2:Ni(II)$ kompleksine ait kalibrasyon grafiği94

TABLoların LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 Yetişkin İnsan Vücut Sıvılarında ve Gastrointestinal Sıvılarda Bakır Konsantrasyonu	13
Tablo 2.2 Bakırın fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	15
Tablo 2.3 Nikelin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	20
Tablo 2.4 Nikel tayini için çeşitli reaktiflerin bağıl duyarlılıkları.....	23
Tablo 2.5 Bakır tayini için çeşitli reaktiflerin bağıl duyarlılıkları.....	27
Tablo 2.6 Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon arasındaki temel karşılaştırma kriterleri	32
Tablo 2.7 Bazı maddelerin absorpsiyon pikleri ve molar absorptivite değerleri.....	41
Tablo 3.1 Yabancı iyon etkisinin belirlenmesinde kullanılan iyon ve iyonun hazırlandığı bileşikler.....	55
Tablo 4.1 L ₁ , L ₂ Ligandlarının ve Cu(II), Ni(II) komplekslerinin analitik ve fiziksel verileri.....	68
Tablo 4.2 L ₁ , L ₂ Ligandlarının ve Cu(II), Ni(II) komplekslerinin karakteristik IR pikleri (cm ⁻¹).....	69
Tablo 4.3 L ₁ , L ₂ Ligandlarının ¹ H NMR verileri.....	69
Tablo 4.4 L ₁ ligandı ile 3 mg/L Cu(II)'nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi.....	77
Tablo 4.5 L ₂ ligandı ile 3 mg/L Cu(II)'nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi.....	78
Tablo 4.6 L ₁ ligandı ile 3 mg/L Ni(II)'nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi.....	86
Tablo 4.7 L ₂ ligandı ile 3 mg/L Ni(II)'nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi.....	87
Tablo 4.8 Uygulanan metodla, Cu(II) ve Ni(II) tayininde elde edilen hassasiyetlik değerleri.....	90
Tablo 4.9 L ₁ :Cu(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.....	90
Tablo 4.10 L ₂ :Cu(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.....	91
Tablo 4.11 L ₁ :Ni(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.....	92
Tablo 4.12 L ₂ :Ni(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.....	93
Tablo 4.13 Biyolojik sıvılarda, geliştirilen spektrofotometrik metod ve AAS kullanılarak Cu miktarları.....	96
Tablo 4.14 Biyolojik sıvılarda, geliştirilen spektrofotometrik metod ve AAS kullanılarak Ni miktarları.....	96

ÖZET

Doktora Tezi

YENİ BAZI SCHIFF BAZLARI KULLANILARAK SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE BİYOLOJİK ÖRNEKLERDE Ni(II), Cu(II) TAYİNİ

Ebru (MURAT) PİRİNÇÇİ

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı
2008, Sayfa: XII + 110

Bu çalışmada, 2, 4 disubstitüe tiyazol türevi Schiff bazları 4-(1-mezitil-1-metilsiklobütil-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol (L_1) ve 4-(1-fenil-1-metilsiklobütil-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol (L_2) kullanılarak biyolojik sıvılarda Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonlarının tayini için spektrofotometrik bir metod geliştirilmiştir. Biyolojik sıvılarda uygulama için geliştirilen metodun optimum reaksiyon şartları ve diğer analitik parametreler belirlenerek analiz için kullanılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında, L_1 ve L_2 ile Bakır (II) ve Nikel(II) iyonlarının sulu ortamda renkli kompleksleri oluşturuldu. Elde edilen kompleksler suda çözünmediği için kloroform fazına ekstrakte edilerek çözeltilerin absorpsiyonları kloroform fazında ölçüldü. Komplekslerin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyları bu çözücü kullanılarak belirlenmiştir. Bütün tayinler belirlenen dalga boylarında yapılmıştır. Metod; pH, gerekli reaktif miktarı, zaman, mol oranı, interferans türler, tampon gibi parametreler için optimize edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, komplekslerin kalibrasyon eğrileri oluşturularak molar absorpsiyon katsayısı, spesifik molar absorpsiyon katsayısı, Sandell's hassasiyeti ve rölatif standart sapma değerleri belirlenmiştir.

Biyolojik sıvılarda Bakır ve Nikel tayini için geliştirilen metod, Standart Referans Material (Metals in human serum, Medisafe® Metalle S, Level 1, ME 28341) kullanılarak Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik metod ile kıyaslanarak geliştirilen metodun biyolojik örneklerde bakır ve nikel tayini için uygun olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Schiff bazı, Tiyazol, Bakır, Nikel, Kompleks, Spektrofotometri.

SUMMARY

Doctorate Thesis

DETERMINATION OF COPPER AND NICKEL IN BIOLOGICAL FLUIDS WITH SPECTROPHOTOMETRIC METHOD BY USING A NEW SOME SCHIFF BASES

Ebru (MURAT) PİRİNÇÇİ

Firat University
Graduate School of Natural and Applied Sciences,
Department of Chemistry
2008, Page: XII + 110

In this study, a spectrophotometric method has been developed for the determination of Cu^{+2} and Ni^{+2} ions in biological fluids by using 2,4 disubstitüe thiazole derivate Schiff bases, 4-(1-mezitil-1-metilsiklobütil-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol (L_1) and 4-(1-fenil-1-metilsiklobütil-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol (L_2) ligands. Optimum reaction conditions along with other analytical parameters of the developed method in the application on biological fluids were determined which were used in the analysis.

In the first stage of the study, the coloured complexes of Copper (II) and Nickel (II) ions with L_1 , L_2 ligands were formed in aqueous media. Since the resulting complexes are not soluble in water, it extracted into chloroform and the absorption of the solution were measured from this solutions in each case. The maximum absorption wavelengthies for the complexes were determined from their organic solutions. All the determinations were carried out at the determined wavelengthies throughout the work. The method was optimized for pH, amount of reagents required, time, mol ratios, interfering species and buffer for the complexes.

In the second stage of the study, calibration curves complexes were obtained respectively. The molar absorptivity, specific molar absorptivity, Sandell's sensitivity and relative standard deviation were determined.

The developed method for Copper and Nickel determination in biological fluids was compared to Atomic absorption spectrophotometric method by using Standart Referans Material (Metals in human serum, Medisafe® Metalle S, Level 1, ME 28341). The developed method seems to be a sufficient route to determination of copper and nickel amounts in biological samples.

Keywords: Schiff bases, Thiazole, Copper, Nickel, Complexes, Spectrophotometry.

1. GİRİŞ

İnsanlar ve hayvanlar, normal büyüme ve çeşitli biyolojik fonksiyonları yerine getirebilmek için besin ve vitaminlere ek olarak, bazı elementlere de ihtiyaç duymaktadırlar. Yapılan araştırmalarda, sağlıklı ve hastalıklı insanların dokularında, periyodik tablodaki elementlerden 80 kadarının bulunabileceği belirtilmiştir (1). Bu elementlerin canlı organizmalarda oldukça önemli görevleri vardır. Bazı metallerin ultra eser veya eser miktarları olmaksızın birçok biyokimyasal reaksiyon için çok gerekli olan ko-faktörler meydana gelemez. Fakat metaller belli optimal seviyelerini aştıkları zaman hücrelere toksik etki yaparlar. Bu sebeple metallerin canlı organizmada istenilen seviyede bulunması istenir (2). Bazı ağır metaller uygun konsantrasyonlarda enzimatik aktiviteler için esansiyel olmalarına rağmen, normal konsantrasyonları geçtiklerinde enzimlerin önemli gruplarını inhibe ederler. Ag, Hg, Cu, Ni, ve Pb gibi metaller özellikle toksiktir ve genellikle katalitik aktivitelerden sorumlu enzimleri inhibe ederler (3). Dolayısıyla gıdalarda, insanların kullandığı çeşitli materyallerde, ilaç ve çevresel örneklerde bu metallerin tayininde kullanılabilecek yeni, pratik, ekonomik, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların alınabildiği, rutin analizler için uygun olan ve en önemlisi duyarlılığı yüksek yöntemlerin geliştirilmesi yönünde çeşitli araştırmalar olanca hızıyla devam etmektedir.

Eser elementlerin farklı ortamlardaki miktarlarının klasik metotlarla doğru olarak tayin edilmelerinde, klasik metotların tayin sınırlarının çok büyük olması sebebi ile onların yerine, çok daha hassas olan spektroskopik metotlar tercih edilmektedir. Spektroskopik metotla yapılan tayinlerin bir çoğunda da izlenen yol, tayini yapılacak metal iyonunu uygun organik bir ligandla kompleks haline getirerek, ya doğrudan ya da farklı bir ortama alınarak yapılan tayinler oluşturmaktadır. Eser elementlerin, çevre kirliliği ve biyolojik sistemlerdeki hayati önemleri, endüstri ve ileri teknoloji malzemelerinde (yarı iletkenler gibi) kullanılma mecburiyetleri sebebiyle, çok daha hassas bir biçimde tayinleri zorunlu hale gelmiştir. Günümüzde, çok daha hassas tayin yapma gayretleri, yeni metotların bulunması yanında, eski metotların geliştirilmesi şeklinde de sürdürülmektedir.

Çeşitli ligandların metallerle meydana getirdikleri koordinasyon bileşiklerinin biyolojik sistemlerdeki önemi arttıkça analitik kimyadaki uygulamaları da gün geçtikçe artmaktadır. Koordinasyon bileşikleri, sayılarının fazlalığı, yapıları, renkleri, manyetik özellikleri, kimyasal tepkimeleri ve canlı organizmadaki etkinliği nedeniyle anorganik ve analitik kimyada geniş bir araştırma sahasına sahiptir. Ayrıca, çeşitli metal komplekslerinin biyolojik sistemlerde etkinliğinin belirlenmesi amacıyla, biyoanorganik ve biyokimya bilim dalları da bu bileşikler ile yakından ilgilenmektedir. Biyolojik sistemlerdeki koordinasyon bileşiklerine hemoglobin,

klorofil ve B vitamini örnek verilebilir. Bu yapılarda metal, pirrol halka sistemine bağlanarak kompleks bir yapı meydana getirir. Bunların dışında koordinasyon bileşikleri gıda maddelerinde, tekstil, boyar madde ve polimer teknolojisinde, ilaç sanayiinde, tıpta, biyolojik olayların açıklanmasında, tarım alanında, roket yakıtı hazırlanmasında ve bunlardan başka daha birçok alanda bu bileşiklerden yararlanılmaktadır(4, 5, 6, 7, 8). Organik bileşiklerin eser element analizlerinde kullanılmasının yaygınlaşmasının ana sebebi, kompleks biliminin gelişmesi, spektrofotometrelerin mikroişlemcilerle donatılması ve spektrofotometrik metotların hızlı bir şekilde gelişmesiyle birlikte yürümektedir

Günümüzde analitik kimya dalında yapılan araştırmaların çoğu eser element tayininden ziyade yukarıda belirtilen özelliklere sahip analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulanması ile ilgilidir. Herhangi bir ortamdaki eser veya ultra eser durumundaki elementlerin tayininde genellikle spektroskopik aletler kullanılmaktadır. Bugün eser element analizlerinde kullanılmak üzere geliştirilen spektrofotometrik tekniklerin birçoğunda aynı anda birden fazla elementin tayini mümkündür.

Bu çalışmada; laboratuvarımızda daha önce sentezlenmiş olan, 2,4- disüstitüe tiyazol türevi Schiff bazından iki farklı ligand kullanılarak önce spektrofotometrik yöntemle Cu(II) ve Ni(II) tayinleri için optimal şartlar belirlendi, daha sonra belirlenen optimal şartlar kullanılarak biyolojik sıvılarda Cu(II) ve Ni(II) tayinleri yapıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Koordinasyon Bileşikleri

Koordinasyon bileşikleri, merkezde bir metal atom veya iyonu ile buna bağlı değişik sayıda yüklü veya yüksüz gruplardan meydana gelen bileşiklerdir. Metal iyonuna bağlanan ve yapısında ortaklanmamış elektron çifti ihtiva eden yüklü veya yüksüz gruplara ligand denir. Koordinasyon bileşiklerinde, ligandlar merkez atomuna donör atom denilen atomlar ile bağlanırlar. Metal atomuna bağlanacak tek bir donör atom taşıyan ligandlara monodentat (tek dişli), iki donör atom taşıyan ligandlara bidentat (iki dişli), üç, dört, beş ve daha fazla sayıda donör atom taşıyan ligandlara ise polidentat (çok dişli) ligand denir.

Metalin iki ya da daha fazla donör atoma sahip ligandlarla reaksiyonu sonucunda bir veya birden çok halkalı bileşikler oluşur. Bu reaksiyon sonucunda oluşan koordinasyon bileşiklerine şelat bileşikler denir. Şelat etkisi arttıkça, metal liganda daha kuvvetli tutunur ve kompleksin kararlılığı artar. Elektron alan metalin, elektron veren ligandla arasındaki elektron çiftinin oluşturduğu bağ koordine kovalent bağ olup, polar kovalent özellik gösterir. Buradan da anlaşılacağı gibi kompleks oluşum reaksiyonları bir Lewis asit-baz reaksiyonudur.

Kompleksler ve şelatlar genellikle bütün metaller tarafından oluşturulabilirler fakat, genellikle geçiş metalleri ile oluşturulurlar. Geçiş metalleri periyotlar çizelgesinin d ve f bloku olarak adlandırılan bölgelerinde bulunurlar. Bu metallerin sık rastlanan yükseltgenme basamakları bazı karakteristik özellikleri yönünden temel grup elementlerinden ayrılırlar. Her geçiş metali çoğunlukla birden fazla farklı yükseltgenme basamağında bulunabilir ve bileşikler genellikle renklidir. Metal iyonları değişik molekül veya iyonlarla kompleks bileşikler veya iyonlar oluşturabilir. Metalin kendisi veya bileşikler çoğunlukla katalitik etki gösterir.

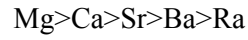
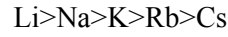
Geçiş metallerinin sahip olabilecekleri yükseltgenme basamaklarının çok çeşitli olması, d ve f orbitallerindeki elektronları verebilmelerinden ileri gelmektedir. Geçiş metallerinin hidratlaşmış iyonları d orbitallerindeki elektronik geçişlerden dolayı genellikle renklidir. Elektronik geçişleri ile ilgili enerjinin ışık spektrumunun görünür bölgesine rastlaması halinde bileşikler renkli görülür. Renksiz görünmesi durumu ise yarı dolu orbital olmadığını gösterir (9).

Elektronların orbitallere dağılımı maddenin manyetik özelliğini belirler. Orbitallerinde çiftleşmemiş elektronları bulunan maddeler paramanyetik, bütün elektronları orbitallerde çiftleşmiş olarak bulunan maddeler ise diyamanyetik özellik gösterirler. Paramanyetik maddeler manyetik kuvvet çizgilerini çekerken diyamanyetik maddeler iter. Bir geçiş metal bileşiğinin manyetik özelliğinin bilinmesi, maddenin yapısı hakkında bilgi verir (10).

Komplekslerin kararlılığı metal ve ligandların yapısına bağlıdır. Koordinasyon bileşiklerinin kararlılığını etkileyen metalin yapısı ile ilgili faktörler;

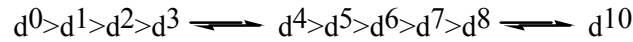
- Metal iyonunun büyüklüğü
- İyonun yükü
- İyonlaşma gerilimi

Çeşitli ligandlarla oluşan komplekslerin kararlılığı iyonlaşma geriliminin büyümesi ile artar. +1 ve +2 yüklü iyonlar için;



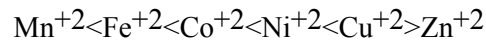
sırası geçerlidir. Metal yükünün komplekslerin kararlılığı üzerine etkisi iyon yarıçapının kararlılığa etkisinden daha belirgindir (11).

Komplekslerin kararlılığı sadece yük-yarıçap ilişkisine bağlı olmayıp aynı zamanda kristal alan kararlılık enerjisine de bağlıdır. +2 ve +3 yüklü metallerin meydana getirdiği komplekslerin kararlılığı için aşağıdaki sıra geçerlidir;



Elementlerin yapısına bağlı olan koordinasyon kimyası genellikle metalin değerliği ile doğru orantılı olarak değişmektedir; metal değerliği ne kadar büyükse koordinasyon sayısı da o kadar büyüktür. Dört veya altı koordinasyon sayısına sahip metallerin kompleks bileşikleri en kararlı ve en çok incelenenleridir (12).

Birinci sıra geçiş metalleriyle ilgili araştırmalar, iki değerlikli metal iyonu komplekslerinin kararlılıkları için bu sıralamanın;



şeklinde olduğunu göstermektedir. Bu seri Irwing-Williams serisi olarak da bilinir (13).

Ligand yapısının kompleks kararlılığı üzerine etkileri şu şekilde sıralanabilir:

- Ligandın bazikliği
- Ligandın taşıdığı donör atom sayısı
- Ligand başına düşen metal şelat halka sayısı
- Şelat halkalarının büyüklüğü
- Ligandın yapısındaki sterik etkiler

-Rezonans etkiler

Koordinasyon bileşiklerinin oluşum mekanizmalarını, yapılarını ve kararlılıklarını aydınlatmak için spektroskopik, potansiyometrik, analitik, kinetik ve temel metotlar kullanılmaktadır. Elde edilen güvenilir kalitatif sonuçlar koordinasyon kimyacılarına yeni sentez ve uygulama alanlarının yolunu açmıştır.

2.1.1 Koordinasyon Bileşiklerinin Önemi

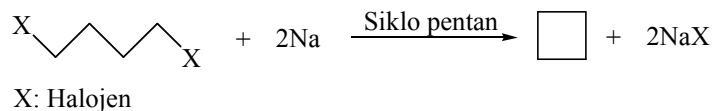
Koordinasyon bileşiklerinin biyolojik sistemlerdeki önemi gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle çeşitli metal komplekslerinin canlı organizmadaki etkinliğinin tespit edilmesi bu bileşiklere olan ilgiyi artırmaktadır. Vücutta biriken zararlı maddelerin atılmasında, kanser tedavisinde koordinasyon bileşiklerinden faydalanılır. Bilindiği gibi hemoglobinin oksijen taşımadaki rolü ve klorofilin yeşil bitkilerin oksijen üretmesindeki fonksiyonları hayati derecede önemlidir. Bu yapılarda metal, pirrol halka sistemine bağlanarak kompleks bir yapı oluşturmuştur. Miyogloblin, ftalosiyanın ve vitamin B₁₂ de benzer öneme sahip koordinasyon bileşikleridir. Biyolojik mekanizmalarda önemli rol oynayan B₁₂ vitamini ve B₁₂ koenzimlerinin yapısını açıklamakta, model bileşik olarak, kobalt atomu ile dimetilglioksim bileşiği kullanılmıştır (14, 15). Donör atomlara sahip moleküllerin geçiş metalleri ile meydana getirdikleri komplekslerin boyar madde ve ilaç kimyası gibi pek çok alanlarda kullanılması, bu bileşiklerin önemini daha da artırmaktadır (16).

2.2 Siklobütan ve Türevleri

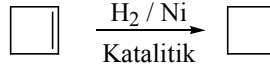
C₄H₈ kapalı formülüne sahip alisiklik bir bileşik olan siklobütan, apolar olduğu için molekülleri arasında Van der Waals etkileşimleri mevcuttur. Oda sıcaklığında gaz halde bulunan siklobütan bileşiği suda çözünmez. K.n.: 12 °C, e.n.: -80 °C (17).

2.2.1 Siklobütan Sentezi

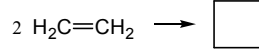
i) Siklobütan eldesi için en uygun yol 1,4-dihalobütan'la yapılan Wurtz yöntemidir. Bu yöntemle siklobütan türevlerini de elde etmek mümkündür. Bu yöntemde verim düşüktür; fakat seyreltik hekzan veya pentanlı çözeltiler kullanılarak verim artırılabilir (18).



ii) Siklobütan sentezi için diğer bir yöntem ise siklobütenin katalitik hidrojenlenmesidir.



iii) Diels-Alder tipi bir reaksiyonla da siklobütan halkası elde edilebilir (17).



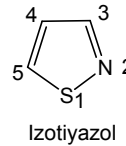
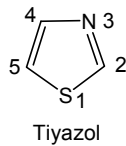
iv) Ayrıca homoallilklormetil oksiranların Lewis asitleri ile etkileştirilmeleri sonucu 1,1,3-trisüstitüe siklobütanlar sentezlenebilir (19).

2.2.2 Siklobütan ve Türevlerinin Önemi

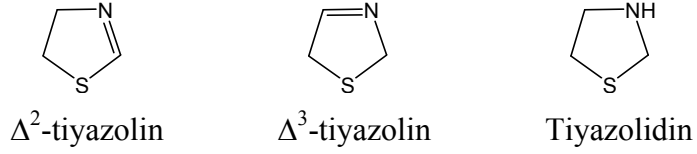
Siklobütan türevleri bir çok alanda kullanılmaktadır. Özellikle tıp alanında bir kısım hastalıklara karşı ilaçların üretimi bunların başında gelmektedir (20,21,22). 3-süstitüe siklobütan karboksilik asit türevleri antiinflamator ve antidepresant aktiviteler göstermektedir. Örneğin; fenilsiklobütan karboksilik asit esteri, prostaglandinlerin çıkış maddelerinden biridir (23). Yapısında siklobütan halkası bulunduran naftalin ve türevleri bileşikler biyolojik aktif bileşiklerdir. Bazı polimerlerin yapısında bulunan siklobütan halkası, bulunduğu polimere çok farklı özellikler kazandırmaktadır. Örneğin, bu tür polimerler bir yandan sıvı kristal özelliğe sahip olurken öte yandan fotodegradasyona uygun biopolimerler sınıfını oluşturmaktadır (21). Bu tür polimerler ise çevre açısından çok aranan türden polimerlerdir.

2.3 Tiyazoller

Tiyazol, 1,3-azollerden biridir. Piridin kokusunda k.n.: 117°C olan bir sıvıdır. Molekülü oldukça kararlı, bazlığı çok zayıf olan doğal bir halkadır. Beşli halkada bir kükürt ve bir azot atomu 1,3 yerlerinde içeren bileşik tiyazol , 1,2 yerlerinde içeren bileşik ise izotiyazol adını alır.



Aromatik karakterdeki bu bileşiklerin elektronik yapıları sp^2 hibridize oksijen atomu yerine sp^2 bihidrize kükürt atomu alınmak üzere oksazol ve izoksazol halkalarının elektronik yapısı ile aynıdır. Tiyazol ve izotiyazoldeki azot atomu bir ortaklanmamış elektron çifti içerir. Dihidrotiyazollere tiyazolinler ve tetrahidrotiyazollere ise tiyazolidinler adı verilir.



2.3.1 Tiyazollerin Reaksiyonları

Tiyazol, kimyasal reaksiyonlara karşı çok ilgisiz bir bileşiktir. Nitrolama ve sülfolama reaksiyonlarını bilinen koşullarda vermez, dumanlı sülfürik asitle ancak 350 °C'ta sülfolanabilir. Brom ile 300 °C gibi yüksek bir sıcaklıkta ancak düşük verimle 2-bromtiyazol verir. Alkil tiyazoller biraz daha ılıman şartlarda reaksiyon verebilirler. Tiyazol (pK_a : 2.5), imidazol (pK_a : 7.1) ve piridinden (pK_a : 5.2) çok daha zayıf bazik özellik gösteren bir bileşiktir. Ancak tiyazolün bazikliği oksazolden (pK_a : 0.8) biraz daha kuvvetlidir.

i) Alkillenmesi : Tiyazol alkil iyodür ile N-metiltiyazolonyum iyodür verir. Tiyazol alkil iyodür ile N-metiltiyazolonyum iyodür verir.

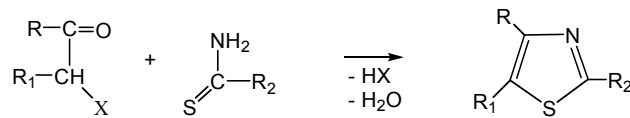
ii) Yükseltgenmesi : Zayıf ve orta yüksetgenler etkilemez; güçlü yüksetgenlerle halka parçalanır.

iii) İndirgenmesi : Kimyasal indirgenler etkilemez, katalitik hidrojenleme ile halka parçalanır. Tiyazol halkasının indirgenmiş şekilleri tiyazolin ve tiyazolidindir. Tiyazolin ve tiyazolidin türevleri halk oluşturma senteziyle elde edilebilirler.

2.3.2 Tiyazollerin Sentezi

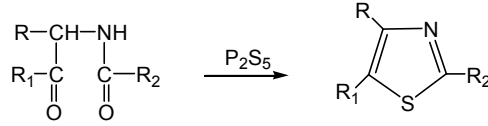
α -Halojenokarbonil Bileşiklerinden

α -Halojenokarbonil bileşiklerinin bir tiyoamid ile reaksiyonundan tiyazoller elde edilir.



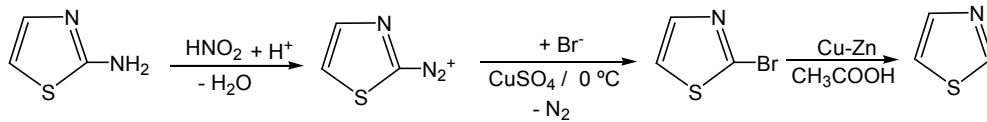
α -Açilketonlardan

α -açilketonların P_2S_5 ile muamele edilmesinden bir halka kapanması sonucu tiyazoller oluşur.



Aminotiyazolden Tiyazol Elde Edilmesi

Tiyazol en iyi olarak 2-aminotiyazol'ün diazolandırılması üzerinde oluşan 2-bromotiyazolün indirgenmesinden elde edilir.



2.3.3 Tiyazollerin Önemi

Tiyazol ve türevleri bir çok alanda kullanılan kimyasal madde gruplarından biridir. Bunların önemi daha çok ilaç olarak kullanılmalarından kaynaklanmaktadır. Tiyazol ve türevleri herbisidal, antiinflamator, antimikrobiyal ve antibakteriyel aktiviteler gösterir (24, 25, 26, 27, 28). B1 vitamininde ve koenzimkarboksilazda tiyazol halkası mevcuttur (29). Tiyazol grubu ihtiva eden ilaçlardan bazıları; sülfatiyazol, süksinoil sülfatiyazol ve ultraseptil'dir.

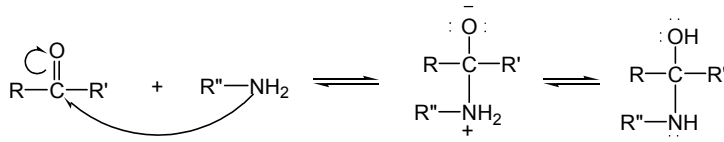
2.4 Schiff Bazları

Genel olarak karbonil bileşiklerinin primer aminlerle kondenzasyonu sonucu yapısında imin grubunu ($\text{C} = \text{N}$) oluşturan azometin bileşikleri, ilk kez 1864'te Schiff tarafından sentezlendiği için o zamandan beri Schiff bazları olarak bilinmektedir (30). Schiff bazları $\text{R} - \text{CH} = \text{NR}'$ genel formülüyle de gösterilebilir. Bu formülde R ve R'alkil veya aril sübstütüentleridir.

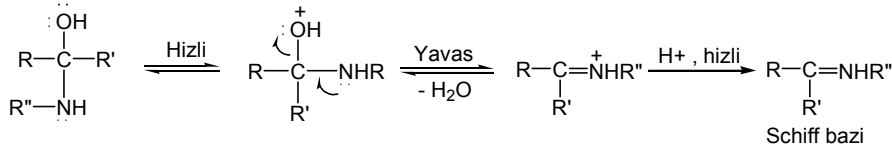
Karbonil bileşikleriyle primer aminlerin reaksiyonundan elde edilen Schiff bazlarının iki ana basamaktan oluştuğu anlaşılmıştır. Birinci basamakta, primer aminle karbonil grubunun

kondenzasyonundan bir karbinolamin ara bileşiği meydana gelir. İkinci basamakta ise bu karbonilamin ara bileşiğinin dehidratasyonu sonunda Schiff bazı oluşur. Bu mekanizma, hidrazonların, semikarbazonların ve oksimlerin oluşum mekanizmalarının benzeridir. Reaksiyon mekanizması aşağıda gösterilmiştir.

I. basamak (katılma)



II. basamak (ayrılma)



Reaksiyon asit katalizörlüğünde gerçekleşmektedir. İmin oluşumu pH'a bağlı bir tepkimedir. Mekanizmaya bakıldığında ilk basamak, protonlanmamış serbest aminin karbonil grubuna katılmasıdır. Şayet çözelti çok asidik olursa, aminin derişimi ihmal edilecek kadar azalır. Böyle olduğunda, normalde hızlı olan katılma basamağı yavaşlar ve tepkime dizisinde hız belirleyen basamak haline gelir. Tepkimedeki ikinci basamak, protonlanmış OH grubunun su olarak ayrılmasıdır. İlk basamğın aksine asit derişiminin artması ikinci basamağın hızını artırır. Çünkü OH kuvvetli bir baz ve zor ayrılabilir bir grup iken OH_2^+ zayıf baz ve kolay ayrılabilir bir grup olup H_2O şeklinde ayrılabilir.

Asitliğin yüksek olması, ikinci basamağın daha hızlı fakat birinci basamağın daha yavaş yürütmesine neden olur. Buna karşılık asitliğin azalmasıyla, birinci basamak daha hızlı, ikinci basamak ise daha yavaş yürür. En uygun pH, bu iki aşırı ucun arasındaki pH' tır (pH ~3-4). Uygun pH'ta tepkimenin toplam hızı en yüksek olur. Bu pH'ta aminin bir kısmı protonlanmıştır fakat nükleofilik katılma tepkimesini başlatabilmek için yeterli miktarda protonlanmamış serbest amin de bulunmaktadır. Aynı zamanda bu pH'ta yeterli hızda ayrılmanın gerçekleşebilmesi için istenen asit vardır.

Schiff bazlarının oluşumunda genel olarak kodenazyon, hidroliz ve aldol kondenzasyonundan sakınmak için orta bazik çözeltilerde (katalizörsüz) pH'tan bağımsız bir reaksiyon gösterir. Nötral ve hafif asidik çözeltilerde ise asit katalizli bir reaksiyon gösterir. Orta derecede asidik çözeltilerde hem hidroliz hem de kondenzasyon asitliğin artmasıyla artar.

Bu nedenle imin bileşiklerinin oluşumunda kuvvetli asitlerden kaçınılmalı, zayıf asitler kullanılmalıdır.

N- alkil veya N- aril süstitüe imin yapısındaki Schiff bazlarının kondenzasyon dengesi sulu veya kısmen sulu çözeltilerde büyük ölçüde hidroliz olmaya yatkındır. Kondenzasyonlar genellikle suyun azeotrop teşkili ile destilasyon yoluyla ortamdan uzaklaştırılabildiği çözücülerde yapılır. α -pozisyonunda bir süstitüent taşımayan aldehitler çoğu zaman aminlerle başarılı kondenzasyon yapamazlar. Çünkü başlangıçta teşekkül etmiş olan iminler daha sonra dimerik veya polimerik kondenzasyona kadar giderler. Tersiyer alkil gruplarına sahip aminlerle alifatik aldehitler başarılı kondenzasyona uğrarlar.

α -pozisyonunda dallanmış bulunan alifatik aldehitler aminlerle iyi bir verimle kondense olurlar. Tersiyer alifatik aldehitler oda sıcaklığında hemen hemen kantitatif miktarlarda imin verirler. Aromatik aldehitler, reaksiyonda teşekkül eden suyun çoğu kez uzaklaştırılması gerekmeksizin bile çok kolay kondenzasyon yapabilirler.

İmin vermek hususunda ketonlar aldehitlerden daha az reaktiftirler. Asit katalizi kullanarak yüksek reaksiyon sıcaklığında ve çok uzun reaksiyon süresinde teşekkül eden suyun uzaklaştırılmasıyla iyi verimle Schiff bazları elde edilebilir. Ketonlardaki sterik engel sistemi bu yapıyı oldukça anreaktif kılar.

Aromatik aminlerin para pozisyonunda elektron çekici süstitüentler taşıması aromatik aldehitlerle reaksiyon hızını düşürür. Aynı şey aromatik aldehitlerle olursa reaksiyon hızı yükselir. Aromatik aldehitler ve ketonlar oldukça kararlı azometin bağı teşkil edebilirler. Azometinler syn ve anti izomerleri halinde teşekkül ederler. Ancak bu izomerler arasındaki enerji farklarının çok düşük olması nedeniyle bunların izolasyonu hemen hemen imkansızdır (31).

2.5 Bakır

2.5.1 Bakırın Biyolojik Önemi

Bakır yer kabuğunda % 0.01 oranında bulunan ve insanlar tarafından kullanılan ilk metallerden biridir. Saf halde veya alaşımları halinde endüstrinin çeşitli kademelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bileşikleri halinde de tarımda mücadele ilacı, tıpta mantar ve bakteri öldürücü olarak tüketilmektedir. (32). Cu^{+2} basit organizmalara karşı çok zehirlidir. Örneğin bakteri ve diğer çürük mikroorganizmalar bir bakır kaptaki suda ölürler. Bakır bileşikleri genellikle yosunların büyümesine engel olurlar. Bundan başka bakır(II) hidroksit bir böcek zehiri olarak ve tohumları korumak için kullanılmaktadır (2).

Bakır, biyolojik sistemde önemli rol oynayan birçok metal iyonundan biridir. Yumuşakçalar ve eklembacaklılar sınıfına ait çoğu hayvanın lenfinden bulunan ve önemli bir solunum proteini olan hemosiyaninin oluşumunda, omurgasız hayvanların hücre solunumunda anahtar role sahiptir. İnsan sağlığı açısından bakıldığında bakır, kan ve alyuvarların oluşumu, dolaşım ve iskelet sisteminin bütünlüğünün, merkezi sinir sisteminin fonksiyon ve yapısının korunması gibi üç fizyolojik fonksiyona sahiptir (33). İnsanlarda eser element halinde bulunan bakır, kanın oksijen taşıyıcı bileşeni olan hemoglobinin oluşumunda katalizör işlevi gördüğünden eksikliği anemiye neden olur (34).

Bakır çoğu sebze, et ve tohumlarda doğal olarak bulunur. Hayati öneme sahip biyolojik işlemlerde esas mekanizmaları düzenlediği için yiyeceklerde bakırın tayini ile ilgili yapılan çalışmalar büyük ilgi görmektedir (35). Su ve bitkilerdeki bakır konsantrasyonunun artışı endüstriyel ve ev atıklarından, maden yıkama sularının atılmasından, çürümeyi önleyici boyalarda temel bileşik olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır (36, 37).

Bakırın aşırısı alındığında ağızda metalik tat, aşırı tükürük ifrazı, mide bulantısı, kusma ve ishal meydana gelir. Yüksek dozda bakır hemoliz, karaciğer nevrozu, mide kanaması, üremi, idrarda protein bulunması, hipertansiyon, taşikardi, kramplara ve koma gibi ciddi sistemik toksik etkilere neden olmaktadır. Aynı zamanda karaciğerde, beyin farklı bölgelerinde, gözün kornea kısmında ve diğer dokularda birikerek Wilson hastalığına neden olmaktadır. Anemi, ilerlemiş depresyon, kemik hastalıkları, saçlarda pigment kaybı, kalp ritminin bozulması, sindirim sistemi hastalıkları gibi klinik hastalıkların büyük kısmının bakır içermeyen beslenme ile ilişkili olduğu kanıtlanmış ve bu hastalıklar bakır tedavisine cevap vermişlerdir (38). Karaciğerde bakır konsantrasyonunun arttığı durumlarda talasemi (Akdeniz anemisi), hemokromatozis, siroz karaciğer atrofisi (zayıflaması), tüberküloz (verem) ve kanser hastalıkları ortaya çıkar (34).

Yetişkin bir insanın (70 kg) metabolik faaliyetlerini düzenli bir şekilde sürdürebilmesi için toplam olarak 80-120 mg bakıra ihtiyacı vardır (39).

Değişik kaynaklar vücuttaki bakır miktarını farklı oranlar içinde vermektedirler. Verilen değerler en düşük olarak 50 mg en yüksek 150 mg dır (ortalama 80- 100 mg). Bu değerlerle demir ve çinkodan sonra vücutta en fazla bulunan mineraldir. Canlı organizmalarda gram başına 1-2 mg bulunur. Konsantrasyonunun fazla organ karaciğer, beyin, böbrek ve kalptir. Ayrıca çinko gibi saçta da bulunur. Kan ve kas konsantrasyonu 1 mg/g dır. Serum değeri değişken olup ancak ortalama miktarı 70- 140 µg/dl dir. Kan ve kaslarda ise 1 µg/g başımadır. Yeni doğan bebeklerin karaciğer, bakır konsantrasyonu 40 µg/g olarak erişkinlerden çok daha yüksektir.

İnsan vücudu günlük bakır ihtiyacını hayvansal ve bitkisel yiyeceklerden karşılamaktadır. En zengin kaynakları, hayvansal yiyeceklerdir, bunlar arasında başta et,

kabuklu deniz ürünleri, balık gelir. Bitkisel kaynaklar ise kuru yemişler, kurubaklagiller ve tahıllardır. Günlük bakır ihtiyacı yetişkin insanlarda vücut ağırlığına göre 2-3 mg/ kg' dır (40).

Bakırın Vücuttaki Fonksiyonları;

1. Enerji Üretimi

Bakır, mitokondride enerji üretiminde kullanılan *stokrom oksidaz* enziminin yapısında bulunur. *Stokrom oksidaz* su ile moleküler oksijen arasındaki reaksiyonu katalizleyerek mitokondride ATP üretmek üzere kullanılan bir elektriksel akım oluşturur.

2. Kollagen Sentezi

Elastin ve kollagenin çapraz bağlarının oluşumuna yardımcı olan bağ dokusu hücrelerinden salındığı tahmin edilen *lisil oksidaz* enzimi için gereklidir. Bu yolla kan damarlarının, kalp dokusunun, kıkırdak ve cildin esnek ve güçlü olması sağlanmış olur. Kollagen, kemiğin organik matriksindeki anahtar unsurdur. Kemiklerin güçlü olması bakıra bağlıdır. Aynı zamanda *lisil oksidaz* enzimi yaraların kolay iyileşmesini de sağlar.

3. Demirin Taşınması

Bakır içeren, plazmadaki ve intestinal sıvıdaki *seruloplazmin*, spesifik oksidaz özelliğe sahip olup, depo demirin karaciğerden transferrin olarak ayrılmasını sağlar. Depo demirin Fe^{+2} 'nin okside olarak transferrine geçişi için Fe^{+3} olması gerekir. Transferrin demirin, kırmızı kan hücresinin oluşumu için, kemik iliğine taşınmasını sağlar. Bakır eksikliğinde karaciğerde demir birikmekte ve dolayısı ile demir taşınımı bozulmaktadır.

4. Antioksidan Aktivite

Bakır içeren enzimlerden biri *superoksit dismutaz (SOD)*'dır. Bu güçlü bir antioksidan olup, bütün hücrelere dağılmış halde bulunur. *Superoksit dismutaz*'ın iki formu bakır içerir. Bunlardan ilki çinko ve bakırı her bir aktif tarafında taşıyan **Cu/ZnSOD**'dur ki bu formu kırmızı kan hücrelerini korur. Diğer *SOD* ise sadece bakır içerir. Bütün *SOD*'lar superoksit anyonlarının peroksitlere dönüşümünü katalize ederler. Sonra bunlar selenyuma bağlı *glutation peroksidaz* yardımıyla suya dönüştürülür (41). İnsanda bakırın başlıca salınım yolu safradır. Bir kısmı da intestinal sekresyonla salınır. Emilemeyen diyet bakırın atılım yolu ise dışkıdır. Safrayla salınan bakır diğer bazı maddelerde görüldüğü gibi, tekrar emilmez ve dışkıyla çıkartılır. Bu işlev aynı zamanda vücut bakır dengesini kontrol eder. Az miktardaki bakır idrarla atılır. Seruloplazminle bileşik yapması vücut dengesi ve atılım için önemlidir. Atılım bloke edildiğinde veya azaldığında seruloplazmin düzeyi yükselmekte, bakır karaciğer ve sinir sisteminde birikmekte ve seruloplazmin sentezi azalmaktadır.

Yetişkin İnsan Vücut Sıvılarında ve Gastrointestinal Sıvılarda Bakır Konsantrasyonları **Tablo 2.1**'de görülmektedir.

Tablo 2.1 Yetişkin İnsan Vücut Sıvılarında ve Gastrointestinal Sıvılarda Bakır Konsantrasyonu (Ortalama Değerler)

	Konsantrasyon (µg/g)	Salınım (µg/gün)
Vücut sıvısı		
Kan plazması	1.05	
Lenf	1.2	
Serebrospinal sıvı	5	
Synovial (eklemler arası sıvı)	0.2- 0.5	
İdrar	0.02- 0.05	30-75
Gastrointestinal sıvı		
Tükürük	0.22	330- 450
Gastrik sıvı	0.39	1000
Safra	4.0	2500
Duodenal sıvılar	0.17	400- 2200

2.5.2 Bakırın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Bakır periyodik tabloda IB grubunun birinci elementi olup gümüş ve altın ile aynı gruptadır. Atom numarası 29 ve mol kütlesi 63.546 olan bir geçiş elementidir (42). Latince adı *cuprum* olup, bu adı Roma döneminde büyük bir bölümü Kıbrıs adasından çıkarıldığı için, Kıbrıs'ın Latince adı olan *Cypria*'dan almıştır. Bakırın ilk bulunuşu ve kullanımının tarihi belli olmayıp, bulunuşu M.Ö. 5000'li yıllara dayanmakta ve o tarihten bu güne kadar çeşitli alanlarda çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Parlak, dövülebilir, korozyona ve çekmeye karşı dayanıklı, ısı ve elektriği iyi ileten kırmızımsı renkte bir metaldir. Altın metali dışında kendine has rengi olan tek metaldir (43). Hidrojenden daha inert olup civa, gümüş, altın, ve platinden aktiftir. Yerkabuğunda 55 ppm ve deniz suyunda 3×10^{-3} mg/L'lik bir konsantrasyonda bulunur (2). Kübik kristal yapılı olması nedeniyle soğuk olarak şekillendirilebilir. Diğer metallere oranla daha fazla bulunması, dövülerek işlenebilmesi ve kolayca alaşım yaparak sert bir maddeye dönüşmesi gibi özellikleriyle kullanımı açısından önem kazanmıştır. Tarih boyunca insanlar tarafından demirden sonra kullanılan ikinci metaldir. Birçok izotopu bulunan bakırın iki izotopu ^{63}Cu ve ^{65}Cu radyoaktif olmayıp, radyoaktif izotoplarının kütle numaraları ise, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 66, 67 ve 68'dir. Elektron dizilişi genellikle alkali metallerinkine (özellikle potasyum) benzemesine karşılık, davranışı alkali metallerinkinden oldukça farklıdır. Çünkü alkali metallerde dış elektronun çekirdek tarafından çekilmesi bakırdan daha güçlüdür.

Bakır oksijensiz asitlerden etkilenmezken oksijenli asitler yükseltgeyici olarak etki ederler. Hidrojenden daha az indirgen olduğu için yükseltgen olmayan seyreltik asitler (sülfürik asit, asetik asit, v.b.) tarafından etkilenmez. Seyreltik yükseltgen nitrik asit, azot oksitli (özellikle NO) dumanlar çıkararak bakır tarafından indirgenir. Ayrıca derişik ve sıcak sülfürik asit de kükürt dioksit (SO_2) çıkararak indirgenir. Havada kalan bakır zamanla korozyona uğrar, yüzeyi bakır pası (jingar) da denen yeşil renkli bazik bakır karbonatla kaplanır ve bakırın yüzeyine yapışır. Bu şekilde bakırın daha fazla korozyona uğramasını önler. Doğada sülfür ve oksit filizleri halinde bulunur (44). Bakır içeren 160'tan fazla mineral bilinmektedir. Başlıca sülfür filizleri *kalkosit* (Cu_2S), *kalkopirit* (CuFeS_2 , pirinç sarısı renginde) *kovellit* (CuS), *bornit* (Cu_5FeS_4 , kızılımsı kahverengi) ve *tetrahedrit* (Cu_3SbS_3 , kurşuni renginde) şeklindedir. Oksit filizler ise *kuprit* (Cu_2O , kırmızı), *melahit* ($[\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2]$, yeşil), *tenorit* (CuO), *azurit* ($[\text{2CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2]$, mavi) ve *turkuaz* ($[\text{CuAl}_6(\text{PO}_4)_4(\text{OH})_8]$ şeklindedir (45). En önemli sülfür minerallerinde, demir ve bakır sülfürleri ile birleşmiş halde bulunur. Bir mineral %6'dan fazla bakır bulunduruyorsa zengin sayılır. **Tablo 2.2**'de bakırın fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir.

Bakır daha çok sülfür bileşiklerinden % 97-99 saflıkta elde edilebilir. Bundan daha saf bakır elektrolizle elde edilir. Filizleri genellikle % 1-2 civarında bakır ihtiva ettiklerinden dolayı bakırın elde edilmesinde filizlerin zenginleştirilmesi metodu uygulanır. Flotasyon ile zenginleştirilmiş sülfürlü cevherlere kavurma işlemi uygulanır (45). Yarım saat kadar hava üflenerek oluşan cüruf alınır ve sonra bu işlemler tekrar edilerek 200-300 tonluk bakır tabakası 60-120 tona inerek blister bakır elde edilir (46). Bakırın elektriksel iletkenliği, safsızlık olarak bulunan metaller varlığı azaldığından elektroliz ile saflaştırılarak iletkenliği artırılır.

Bakır, bileşiklerinde +1 ve +2 değerliklerde bulunur (47). Özel durumlarda +3 değerlikli bileşikler oluşturabilir. Fakat sulu çözeltilerinde bu değerini yalnızca birkaç saniye koruyabilir. +1 değerlikli bakır iyonu (Cu^{1+}), kendi kendini yükseltgeyip indirgediğinden sulu ortamda serbest halde bulunamaz. Disproporsiyonasyon denilen bu reaksiyonda bir yandan Cu^{2+} iyonu diğer yandan da metalik bakır meydana gelir (42).

Tablo 2.2 Bakırın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Sembolü	Cu
Atom numarası	29
Atom kütlesi	63.546
Atom yarıçapı	1.28 Å (Angström, 10 ⁻⁸)
Kristal şekli	Kübik
Birinci iyonlaşma potansiyeli	7.6 eV
Elektron dağılımı	[2, 8, 18] s ¹
Elektronegatifliği	1.9eV
Yoğunluğu (20 °C’de)	8.93 g/cm ³
Özgül ısı	0.0919 cal/g°C
Özgül direnci	1.682 mikroohm.cm 20 °C
Değerlikleri	+1 ve +2, nadiren +3
İzotopları	58-68 arası
Kararlı izotopları	63 ve 65
Doğal bakır	⁶³ Cu: %69.1, ⁶⁵ Cu: %30.9
Erime sıcaklığı	1083.4 °C
Kaynama sıcaklığı	~ 2595 °C
Isı iletkenliği	0.934 W/mK(metre kelvinde watt)
Sertliği	3.0 Mohs ölçeği

Bakır(I) bileşiklerinin tümü diamagnetiktir ve birkaçı dışında hepsi renksizdir. Sanayi açısından en önemli +1 değerlikli bakır bileşikleri bakır(I) oksit (Cu₂O), bakır(I) klorür (Cu₂Cl₂) ve bakır sülfürdür (Cu₂S). Kırmızı yada kırmızımsı kahve renkli toz yada kristaller halindeki bakır(I) oksit, doğada kuprit minerali olarak bulunur. Saf bakır(I) oksit suda çözünmez, fakat NH₃ ve HCl’de kompleks iyon oluşturarak çözünür.

Bakır(I) klorür doğada nantokit minerali halinde bulunur. Kuru havada kararlı iken nemli havada yükseltgenerek yeşilimsi renkte Cu(OH)Cl’e, ışık etkisiyle de bakır(II) klorüre dönüşür. Suda çözünmez, ama derişik HCl ve NH₃’de yine kompleks iyon oluşturarak çözünür. Amonyaklı CuCl çözeltisinden asetilen geçirilirse kırmızı bakır(I) asetilenür çöker, bu bileşik ise patlayıcı özelliğindedir. Hidratlaşmış bakır(I) tuzlarının çoğu ve bakır(II) tuz çözeltileri [Cu(H₂O)₄]²⁺ iyonundan dolayı mavimsi yeşil renklidir. Bakır(I) sülfür doğada kalkozit minerali olarak, siyah toz yada topraklar halinde bulunur. Suda çözünmez, NH₃ ve HNO₃’de çözünür.

Başlıca bakır(II) bileşikleri; bakır(II) oksit (CuO), bakır(II) klorür (CuCl₂) ve bakır sülfattır (CuSO₄). Bakır(II) oksit doğada tenorit ve paramelakonit mineralleri halinde bulunan siyah bir tozdur. Sanayide bakır oksit cevherleri karışımının fırında 1030 °C’nin altında kavrulması ile elde edilir. Saf haldeki bileşik asitlerde ve alkali siyanürlerde çözünebilir.

Bakır(II) klorür sarımsı ile kahverengi arası renkte bir toz olup, havanın nemi ile yeşilimsi mavi renkli hidratına ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dönüşür. Bu bileşik 100°C 'ye kadar ısıtılarak susuz bakır(II) klorür elde edilir. Bakır(I) klorür gibi bakır(II) klorür de hidrokarbonların klorlanması gibi bazı organik reaksiyonlarda katalizör olarak kullanılır. Ayrıca kereste ve ağaç eşyayı korumak için, kumaşların boyanması ve basma işleminde mordan olarak, mikrop öldürücü, yem katkı maddesi ve camlara renk verici olarak kullanılır.

Bakır sülfat, sülfirik asidin bakır(II) oksitle reaksiyonundan elde edilen bir tuzdur ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). bakır sülfata piyasada göz taşı veya mavi vitriyol da denir (48, 49). Bu tuz 150°C 'ye kadar ısıtılarak susuz bakır sülfat elde edilir. Daha çok tarım alanında, böcek ve mikrop öldürücü olarak kullanılır. Tıpta ise deri üstünde uygulanan mantar, bakteri öldürücü ve doku büzücü olarak kullanılmaktadır (2). Elektrokimyada pillerde ve elektrolitik kaplama banyolarında elektrolitik olarak da kullanılmaktadır. Bakır(II) karbonat [$\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$] ise bakır sülfat çözeltisine sodyum karbonat ilavesinden sonra karışımın süzülüp kurutulmasından elde edilir (50).

Bakır(II) bileşikleri spesifik bir renge sahiptir. Bu renk sıvı veya katı içindeki Cu(I) ve Cu(II) miktarını belirlemek için Spektrofotometrik olarak bir tayin imkanı sağlar. Bu renk yük-aktarım geçişi, d-d geçişi ve ligandiçi-orbital geçişleri olmak üzere üç ana ihtimalden birinden sağlanmaktadır.

Bakır(II) komplekslerinin çoğu d-d geçişi yüzünden mavi veya yeşil bir renge sahiptir. Bakır(II) 600-900 nm bölgesinde spesifik bir absorpsiyon bandına sahiptir. Bakır(I) komplekslerinin sulu çözeltilerinde kararlı olmaması yüzünden bu şekli hakkında daha az bilgi vardır. Sulu çözeltide bakır(I) bileşiklerinin kararsızlığı özellikle daha büyük kafes yapıda ve solvasyon enerjileri yüzünden ve ayrıca bakır(II) bileşiklerinin bakır(I)'e göre oluşum sabitlerinin daha yüksek olmasındandır. İyonik Cu(I) bileşikleri Cu(II)'ye yükseltgenmek için hazırdır ve bu durumda çok daha kararlıdır. Cu(III) oksidasyonu mümkündür fakat daha zordur. Az sayıda Cu(III) kompleksleri bilinmektedir (51).

2.6 Nikel

2.6.1 Nikelin Biyolojik Önemi

Nikel tabiatta doğal olarak bulunan bir elementtir. Bu metal 250 yıl öncesine kadar çok az tanınan bir kimyasal element olmakla birlikte, demir ve kobaltın çeşitli alaşımlarında yaklaşık 3000 yıldan beri kullanılmaktadır. Aynı bir element olarak ilk defa 1803 yılında Rusça kimya ders kitabında tanımlanmıştır (52). Nikel ve diğer VIII: grup elementleri D. I. Mendeleyev'in periyodik yasasının oluşturulması ve geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Nikel elementinin tanınması kimyasal alanda önemli olan bilimsel buluşlardandır. Bu elementin özellikleriyle ilgili yapılan çalışmalar, kimya ve teknolojiadaki gelişmeleri etkilemektedir.

Nikel havada, suda, toprakta, yer kabuğunda ve göktaşlarında bulunan bir metaldir. Yer kabuğunda yaklaşık olarak % 0.008 oranında bulunmaktadır. İşlenebilir topraklarda 3-1000 mg Ni(II)/kg arasında, doğadaki sularda 2-10 µg/L (taze su) ve 0.2-0.7 µg/L (denizde) seviyelerinde bulunmaktadır. Atmosferik nikel konsantrasyonu çok küçük bir aralıkta (<0.1-3 ng/m³)'dır.

Nikel endüstrisindeki gelişme, nikelin bir element olarak tanınmasından yaklaşık 100 yıl sonra başlamıştır. Ultra bazik kayalarda veya mağmanın birinci kristalizasyon basamağındaki ürünlerde yüksek konsantrasyonda nikel rastlanması, maden yataklarının bulunması için başlangıç noktası olmuştur.

Nikel gümüş rengine doğada silikat, sülfat ya da arsenit cevherleriyle birlikte bulunmaktadır. Nikel bileşiklerinin her bir formu farklı fiziksel özellikler göstermektedir. Suda çözünen nikel tuzları klorit, sülfat ve nitrat tuzlarıdır. Nikel karbonil bileşikler oldukça kararsız olduklarından hızlı bir şekilde bozunurlar ve doğada bulunmazlar (53). Nikel, diğer geçiş metalleriyle kıyaslandığında daha az toksik özelliğe sahip bir elementtir (54). Yaygın kullanımından dolayı nikel, US EPA (US Environmental Protection Agency) tarafından 13 öncelikli kirlenici metalden biri olarak sınıflandırılmıştır (55).

Nikelin organizmada 10 mg kadar bulunduğu sanılmaktadır. Dağılımın yüksek olduğu yerler deri ve kemiktir özellikle kemik iliğidir. Bununla beraber diyetle alımından en fazla etkilenen karaciğer ve kaslardır. Plazmada nikel konsantrasyonu 1.1-1.6 µg/L'dir. Diyetle alımda emilim ancak %3 civarındadır, dolayısıyla en büyük atılım dışkıyla olur, ancak esas kayıp %60 ile idrar yoluyla olur. Bir miktar da terle atılır. Hamilelikte emilim azaldığından, hamilelerin serum düzeylerinin düşük olduğu rapor edilmiştir. Emilim alınan doza paralel olup mekanizması demir ve kobalta benzer. Nikel yetersizliği demir emilimini azaltırken, demir yetersizliği de nikelin emilimini etkiler.

In vitro çalışmalarında TPP, PP, porfirin, protein ve peptitlere mineralin aflinitesi olduğu ve RNA, DNA ile bağlandığı gösterilmiştir. Nikel yetersizliğinde, karaciğer *dehidrogenaz (DH)* enzimlerinin azaldığı bilinmektedir. Bunlar *glikoz-6-fosfat DH*, *laktöz DH*, *isositrat*, *malat DH* ve *glutamat DH*'dir. Nikel yetersizliğinin, hepatosit ve mitokondrial yapısı, endoplazmik retikulumu değiştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca *arginaz* ve *deoksiribonükleaz* enzim aktiviteleri de değişmektedir. Bundan dolayı nükleik asit ve membran yapısının devamlılığına yardımcı olduğu belirtilmektedir. Karaciğer lipid içeriğini değiştirmesinden dolayı, lipid metabolizmasında da kısmen yer aldığı sanılmaktadır. Solunumla alınan nikelin bazı formları toksik etki yapar. Bu etki kendini başlıca kalp kası, beyin, akciğer, karaciğer ve böbreklerde gösterir (56). Nikel, yağların hidrojenasyonunda katalizör olarak yiyecek endüstrisinde, korozyona karşı dirençli olması nedeniyle kaplamacılıkta ve demir, bakır, alüminyum, krom, çinko ile birlikte alaşım imalatında sıklıkla kullanılır (57). Günümüzde nikel ve çeşitli nikel esaslı alaşımların pratikte geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Bazı nikel alaşımları korozyon ve yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklıdır. Sağlamlık ve dayanıklılık veren bu alaşımlar, taşıt, makine prosesleri, silah, paslanmaz çelik, elektriksel araç-gereçler, ev aletleri ve madeni para yapımında kullanılır. Nikel bileşikleri renk maddesi olarak ve bataryalarda da kullanılır (58).

Solunumla alınan nikel ve nikel bileşiklerinin akciğer kanseri, astım, akut zatürre gibi ciddi solunum yolu hastalıklarına yol açtığı bilinmektedir (59). Ayrıca nikel-ekzama olarak bilinen bir cilt hastalığına da neden olmaktadır (60). Nikel ile kaplanmış kaplarda asitli yiyecekler pişirildiğinde, pişirme süresince nikelin, pişirilen yiyeceklere geçtiği ve insan vücudunda zamanla akciğer, barsak, deri gibi dokularda biriktiği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra nikel rafinerilerinde çalışan işçiler üzerinde yapılan çalışmada, solunum sisteminde tümör oluşumu ve kansere yakalanma oranının yüksekliği dikkate alınması gereken bir konudur (59). Nikelin toksik özelliği, bazı temel metabolik işlemler için gerekli olması, endüstriyel ve diğer atık maddelerdeki varlığı nikel tayinine duyulan ilgiyi gittikçe artırmaktadır (61). Bu nedenle çevresel ve biyolojik örneklerde nikel tayini için duyarlı, basit ve güvenilir metotların geliştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir.

2.6.2 Nikelin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Nikel, kobalt ve demir periyodik tabloda VIII. Gruba ait elementlerdir ve benzer elektronik yapıya sahiptirler. Çokluk bakımından yerkağının yirmi dördüncü elementidir. Yerkağın meydana getiren maddeler içinde %0.016 kadardır. Nikelin en önemli kaynağı, kükürt ihtiva eden cevherlerdir. Başlıca mineralleri *millerit* (NiS), *pendlandit* (Fe, Ni)S, nikolit

(NiAs), *kloantit* (NiAs₂), *maşarıt* (Ni₁₁As₈), *annabergit* [Ni₃ (AsO₄)₂ 8H₂O], *garnierit* [(Ni, Mg)₃ Si₂O₅ (OH)₄], *gersdorfit* (NiAsS), *ulmanit* (NiSbS)'dir.

Nikel adi şartlarda kuvvetli asitlerle reaksiyona girer Bu reaksiyonda tuz ve hidrojen meydana gelir. Nikelin tuzları çok hafif asidiktir. Kübik yüzey merkezli kristal yapıya sahip olduğu için soğukta şekillendirilebilir. Soğuk işlemle, sertlik ve mukavemette artış sağlanır. Atmosferik etkiyle yüzeyinde bir oksit tabakası meydana gelir ve bu film halindeki oksit tabakası, oksitlenmenin ilerlemesini önler. Normal olarak nikel birçok asidin, tuzların, alkalinin, yaş ve kuru gazların çürütücü, aşındırıcı etkisine karşı dayanıklıdır. 600-800 °C'ye kadar ısıtıldığında bu özelliğini korur. Bu yüzden nikel pratikte korozyon önleyici materyal olarak, kimyanın pek çok alanında ve petrol endüstrisinde ise katalizör olarak kullanılır.

Nikel daha çok sülfür filizlerinden ve silikathlı filizlerden elde edilir. Flotasyon ile zenginleştirilmiş sülfürlü cevherlere kavurma işlemi uygulanarak ortamdan kükürt uzaklaştırılır. Çeşitli işlemlerden geçirilip zenginleştirilen ve nikel oksit halinde elde edilen madde indirgenerek, metal halinde elde edilir. Silikat filizlerine ise kalsiyumsülfat ve kireç taşı katılarak bu karışımın kok ile eritilmesinden nikel sülfür elde edilir ki bu da kavrularak oksit haline dönüştürülür. Oksitte kok ile indirgenerek nikel elde edilir.

Nikel kimyasal bileşiklerinde daha çok +2 değerliklidir. İstisnai olarak 0, +1, +3 ve +4 değerliklidir. Daha yüksek değerliklerdeki bileşikleri bulunamamıştır. Bunlardan en yaygın değeri +2'dir. Nikel(0) bileşikler nikel tetrakarbonildir (Ni(CO)₄). Ticari önemi bulunan bu bileşik bilhassa asetilen ve alkollerden akrilatların sentezinde karbonmonoksit taşıyıcısı olarak kullanılır. nikel tetrakarbonil renksiz ve uçucu bir sıvıdır. Toz halindeki metalik nikelin CO ile tepkimeye girmesiyle teşekkül eder. Nikelin +2 değerlikli bileşikler, nikel klorür (NiCl₂), nikel bromür (NiBr₂), nikel nitrat (Ni(NO₃)₂), nikel oksit (NiO), nikel hidroksit (Ni(OH)₂) ve nikel sülfattır (NiSO₄). Nikel klorür, en çok hekza hidrat halinde bulunur. 140 °C'nin üzerinde susuz hale alır ki bu da sarı hekzagonal kristaller halindedir. Nikel metaliyle HCl'in reaksiyonundan elde edilir. Nikel yerine, nikel oksit, hidroksit veya karbonat da kullanılabilir. Bu tuz en çok galvanoplastide ve katalizör nikel elde edilmesinde kullanılır. Nikel bromür en çok tri hidrat halinde bulunur. 200 °C'de susuz hale geçer. Nikel nitrat ticarete zümrüt yeşili renginde olan hekza hidrat halinde bulunur. Nikel oksit, nikel hidroksitin, bazik karbonatların, nitratın ve diğer tuzların havada ısıtılması ile elde edilir. Alaşımların yapılmasında, seramik sanayiinde renk verici olarak kullanılır. Nikel hidroksit, nikel tuzu çözeltilerinin alkali hidroksitle muamelesinden elde edilir. Nikel sülfat, ticari olarak hekzahidrat bileşiği halinde satılır. Nikelin sülfirik asitle reaksiyonundan elde edilir. Galvanoplastide kullanılan en ucuz nikel tuzudur. Nikelin +1 değeriindeki bileşiklerine nikel(I) siyanür (NiCN), +3 değeriindeki bileşiklerine

nikel(III) oksit (Ni_2O_3), ve +4 değerliğindeki bileşiklerine de baryum nikel (IV) oksit (BaNiO_3) örnek olarak verilebilir.

Nikelin çeşitli durumlarda dayanıklı olan ve yapay izotopları vardır. Nikelin radyoaktif izotoplarının yarı ömürleri 2.654 saat (^{65}Ni) ile 7.5×10^4 yıl (^{59}Ni) aralığındadır. Nikelin yapay izotoplarının radyoaktiviteleri kimyasal tepkimelerin mekanizmaları ile ilgili çalışmalarda oldukça önemlidir. Özellikle ^{65}Ni izotopik yer değiştirme reaksiyonlarında kullanılır.

Nikelin fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri atomik yapısına bağlıdır. Bu özellikler nikelin periyodik tablodaki konumundan yararlanılarak tahmin edilebilir. Nikelin özelliklerindeki ve diğer elementlerle etkileşimindeki farklılıklar atomda bulunan tam dolmamış 3d-elektron kabuğuyla ilgilidir. Nikel iyonu kromoforik özelliğe sahiptir ve pek çok reaktifle renkli reaksiyonlar verir.

Nikelin atomları arasındaki kuvvetli bağlar, bu metalin diğerlerine göre düşük buhar basıncı yapmasına neden olur. Bu nedenle hem erime hem de kaynama noktası yüksektir ve mekaniksel olarak yüksek dayanıklılıktadır.

Metallerin özellikleri pek çok faktöre bağlıdır. Saflık derecesi en önemli faktörlerden biridir. Saflık derecesi % 99.99 olan nikelin bazı fiziksel özellikleri **Tablo 2.3**'de verilmiştir.

Tablo 2.3 Nikelin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Sembolü	Ni
Atom numarası	28
Atom kütlesi	58.69
Atom yarıçapı	2.49 Å (Angström, 10^{-8})
Kristal şekli	Yüzey merkezli kübik
Elektron dağılımı	[2, 8, 16] s^2
Elektrot potansiyeli	0.231 V
Erime sıcaklığı	1455 °C
Değerlikleri	+2 nadiren +1, +3, +4
İzotopları	60, 61, 62 ve 64
Özgül ısı	0.1095 cal/g°C
Kaynama sıcaklığı	3080 °C
Buharlaşma özgül ısı	1450 cal/g°C
Yoğunluk	8.907 g/cm ³
Elektriksel öz direnç	6.84 mikroohm-cm 20 °C
Özgül ısı iletkenlik	$1.428 \cdot 10^{-4}$ cal/cm.sn
Magnetik özellik	360 °C
Sıkışabilirlik	5.40 kg/cm.10 ⁷
Yenilenme modülü	22.000 kg/mm ²
Sertlik	4.0 Mohs ölçeği
Elementsel dayanıklılık	28-30 kg/mm ²
Soğuk işlenebilirlik	iyi

2.7 Bakır ve Nikelin Spektrofotometrik Tayini İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Spektrofotometrik metotlar, uygun bir reaktifle oluşan renkli komplekslerin ultraviyole/görünür ışınları absorplayabilme prensibine dayanır. Nikel ve bakır tayini için uygun bir reaktifle oluşturulan renkli nikel ve bakır komplekslerinden yararlanılarak birçok spektrofotometrik metot geliştirilmiştir.

Bazı standart içme sularında ve toprak örneklerindeki nikel yeni bir azokaliksaren olan, 5,17-bis(kinolin-8-azo)-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren ile sulu ortamda, pH= 10.7’de kompleksleştirilerek 580 nm’de stokiyometrik olarak tayin edilmiştir. Bu yöntemle kompleksin molar absorblama katsayısı (ϵ) $1.28 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ve nikel için tayin sınırı $1.4 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ olarak belirlenmiştir (62).

Ramachandraiah ve arkadaşları N-etil-3-karbazolkarboksialdehit-3-tiyosemikarbazon (ECCT) ligandını kullanarak çevre ve alaşım örneklerindeki nikeli spektrofotometrik olarak tayin etmişlerdir. pH=6’da oluşturulan ve ekstraksiyon ile *n*-bütanol fazına alınmış ECCT-Ni kompleksinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 400 nm olduğu gözlenmiştir. Bunun yanı sıra kompleksin lineer çalışma aralığının $1.2\text{-}5.6 \mu\text{g/mL}$, molar soğurma katsayısının (ϵ) $1.114 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, Sandell duyarlılığının $5.29 \times 10^{-3} \mu\text{g cm}^{-2}$ olduğu bulunmuştur (63).

Ghaedi ise α -benzil dioksim (BDO) ligandı ile toprak, sebze, çikolata ve su örneklerindeki nikel tayinini anyonik bir yüzey aktif madde olan sodyum dodesilsülfatın (SDS) kullanıldığı bir ortamda gerçekleştirmiştir. BDO ile nikelin oluşturduğu kompleksin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunun 560 nm olduğu, pH’ın 12 olduğu ortamda kompleksin stokiyometrisinin SDS:Ni(II):BDO 1:1:2, lineer çalışma aralığının $0.1\text{-}25 \mu\text{g mL}^{-1}$, tayin sınırının 0.12 ng mL^{-1} , molar soğurma katsayısının ise $68.600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar AAS sonuçları ile karşılaştırılarak %99 uyumlu olduğu bulunmuştur (64).

Fakhari ve arkadaşları, yeni bir Schiff bazı olan, N,N’-bis(3-metilsalisiliden)-orto-fenil diamin (MSOPD) ligandını sentezleyip karakterize etmiş ve bu ligandı bazı yiyecek örneklerinde (çay, şeker, pirinç unu nişasta vs.) spektrofotometrik nikel tayini için kullanmışlardır. 430 nm’de yapılan çalışmada MSOPD ligandının, pH=8’de oda sıcaklığında nikel ile verdiği kompleksin stokiyometrisinin 1:1, molar absorpsiyon katsayısının $9.5 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olduğu tespit edilmiştir. Optimize edilen şartlarda nikelin tayin limiti $1.36 \times 10^{-8} \text{ M}$ olarak bulunmuştur (65).

Zhao ve arkadaşları kendilerinin sentezlemiş olduğu benzotiyazoldiazoamino azobenzen (BTDAB) reaktifini alüminyum alaşımlarda, spektrofotometrik nikel tayini için kullanmışlardır. Bu metotta Ni^{+2} , benzotiyazoldiazoaminoazobenzen ile kompleksleştirildikten sonra boraks

tamponu ile sağlanan pH=9.4'de 550 nm'de, oluşan kırmızı renkli kompleks çözeltisinin absorpsiyonu ölçülmektedir. Bu şartlarda Ni^{+2} tayininin duyarlılığını artırmak ve oluşan renkli kompleksin yüksek absorbans vermesini sağlamak amacıyla ortama noniyonik bir yüzey aktif madde olan p-oktilpolietilenglikol fenileter (OP) ilave edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon grafiğinde 0-7 $\mu\text{g}/25\text{mL}$ aralığında tayinin lineer bölgede olduğu ve molar soğurum katsayısının $1.96 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olduğu bulunmuştur (66).

Zhao ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışma yine alüminyum alaşım ve kanalizasyon sediment örneklerinde bulunan nikel ve kobaltın tayinidir. Spektrofotometrik reaktif olarak Zhao ve arkadaşları tarafından sentezlenmiş bir başka azo bileşiği olan 5-(6-metoksi-2-benzotiyazol-azo)-8-aminokinolinin (MBTAQ) kullanıldığı metotta nikel ve kobalt birlikte tayin edilmiştir. Yüzey aktif madde olarak setiltrimetilamonyum bromürün (CTAB) kullanıldığı ortamda pH=9.4'te Co-MBTAQ, pH=10'da Ni-MBTAQ kompleksleri oluşturulmuş ve oluşan komplekslerin absorbansları sırasıyla 650, 623 nm'de ölçülmüştür. Bu yöntemle kobalt için tayin sınırının 0.00050 $\mu\text{g/mL}$, nikel için 0.00045 $\mu\text{g/mL}$ olduğu bulunmuştur. Komplekslerin molar absorplama katsayıları 1.15×10^5 (Co), 1.28×10^5 (Ni) $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (67).

Ohshita ve arkadaşları kendilerinin sentezlediği 1-(2-Piridilazo)-2-naftol-6-sülfonik asit (PAN-6S) ligandıyla nikel iyonlarını tayin etmişlerdir. Oluşturulan Ni- PAN-6S kompleksi kloroform fazına ekstrakte edilmiş ve 570 nm'de maksimum absorbans verdiği gözlenmiştir. Ni(II)'nin 1-10 μg aralığındaki miktarları tayin edilebilmiştir. Molar absorplama katsayısı $5.6 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 'dir (68)

Bir başka çalışmada Fan ve arkadaşları yeni bir tiyazolazo bileşiği olan 2-[2-(5-metilbenzotiyazol)azo]-5-dimetilaminobenzoik asit (5-Me-BTAMB) ligandını sentezlemiş ve mikromiktardaki nikel iyonu ile verdiği renkli kompleksin oluşumu için gerekli optimum şartları araştırmışlardır. 5-Me-BTAMB nikel ile 640 nm'de sodyum dodesil sülfat varlığında 2:1 oranında mavi renkli kararlı bir kompleks vermektedir. Oluşan kompleksin molar absorplama katsayısı $1.32 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, lineer çalışma aralığı ise 0-10 /25mL olarak bulunmuştur. Geliştirilen metot, alüminyum alaşımlarda iz miktarda bulunan nikelin tayini için uygulanmış ve memnun edici sonuçlara ulaşılmıştır (69).

Reddy ve arkadaşları yağ ve çekirdek örneklerindeki Ni(II) ve Cu(II)'ı 1-fenil-1,2-propandion-2-oksim-tiyosemikarbazon (PPDOT) bileşiği ile şelatlayarak spektrofotometrik metotla ikili olarak tayin etmişlerdir. pH'nın 4.5 olduğu sulu ortamda (NaOAc-AcOH tamponunda) Ni-PPDOT kompleksi 395 nm'de, Cu-PPDOT kompleksi ise 465 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Komplekslerin stokiometrisini belirlemek için mol oranı ve Job yöntemi uygulanmıştır. Her iki yöntemle komplekslerin stokiometrilere 1:2 olarak

bulunmuştur. Bu metotla nikel için lineer çalışma aralığı 0.42-3.76 µg/mL, bakır için 0.38-7.63 µg/mL'tir. Molar absorplama katsayıları 1.01×10^4 (Ni), 5.56×10^3 (Cu) $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, Sandell duyarlılığı 0.0050 (Ni), 0.0110 (Cu) µg cm^{-2} olarak bulunmuştur (70).

Kumar ve arkadaşları alaşım ve bitki yapraklarında nikelin spektroskopik kantitatif tayinini, salisilaldehit asetoasetik asit hidrazon (SAAH) ligandını kullanarak gerçekleştirmişlerdir. SAAH ligandının Ni(II) ile oluşturduğu 1:1 oranındaki sarı renkli kompleks pH=6'da 405 nm'de maksimum absorpsiyon piki vermektedir. Tayin limiti 1.752 ng/mL, molar absorplama katsayısı 3.025×10^5 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (71).

Tablo 2.4 Nikel tayini için çeşitli reaktiflerin bağıl duyarlılıkları

Reaktif	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	pH	Dinamik Aralık (ppm)	Kaynak
Dimetilgliksim	445	1.5×10^4	1.16		72
<i>p</i> -Asetilarsenazo	640	6.03×10^4	6	0-0.8	73
2-[2-(6-metilbenzotiyazolil)azo]- 5-(N-etil-N-sülfometil)aminobenzoik asit	620	8.22×10^4	5.6	0-0.6	69
2-(2-kinoliaz)-5-dietilaminoanilin	590	1.38×10^5	6	0.01-0.4	74
4-Benzil-1-piperazingliksim	267	2.25×10^4	6-9	0.1-5.0	75
Salisilaldehit-3-oksobütanoilhidrazon	405	3.025×10^5	6	11.7-117.4	76
<i>o</i> -karboksilbenzendiazo-aminoazobenzen	540	3.3×10^5	10	0.24 ve üzeri	77
Dibromo- <i>p</i> -metil-karboksiaz	625	1.038×10^4	-	0.01-0.79	78
1-(2-piridilazo)-2-naftol	568	-	3-10	0.8 ve üzeri	79
Biasetil bis(4-fenil)-3-tiyosemikarbazon	460	0.228×10^4	2.5	0.2-2.0	80
Ftalimidditiyosemikarbazon	440	1.13×10^4	10	0.11-3.21	81
Salisilaldehit tiyosemikarbazon	370	0.98×10^4	6.5-7	0.4-4	82
2,4-Dihidroksi asetofenon tiyosemikarbazon	385	0.82×10^4	7-8	1.0-8.0	83
7-Metil-2-kloro kinolin-3-karbaldehit tiyosemikarbazon	410	0.01673×10^4	6	4.0	84
2-Hidroksi-4-izopropoksi asetofenon tiyosemikarbazon	400	0.084×10^4	9	1.2-5.6	85

Winkler ve arkadaşı Arenhövel-Pacula, 9-fenil-2,3,7-trihidroksi-6-florür (PF) ligandını kullanarak kan serumunda 595 nm'de ve pH=9.7'de ($\epsilon=9.67 \times 10^5$ $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) 0.04-0.4 µg/mL aralığında Cu(II) tayini yapmışlardır. Oluşturulan Cu:PF kompleksinin absorpsiyon şiddetini ve tayinin duyarlılığını artırmak için ortama setilpiridinyum klorür (CP) ve Triton X-100 gibi yüzey aktif maddeler ilave edilerek Cu(II)-PF-CP-Triton X-100 kompleksini oluşturmuşlardır. Metodun tayin limiti 0.028 µg/mL'dir (86).

Peterson ve arkadaşları 1955 yılında Bissikloheksanonoksalidihidrazon ligandını kullanarak serumda spektrofotometrik bakır tayini yapmışlardır. pH 7-9 aralığında oluşan mavi renkli Bissikloheksanonoksalidihidrazon-Cu(II) kompleksi 600 nm’de maksimum absorbans vermekte ve molar absorplama katsayısı $16000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ’dir. Metodun tayin limiti 0.03 µg/mL ’dir (87).

Thakur ve Deb, 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) ve N,N’-difenilbenzamid (DPBA) ligandlarını Triton X-100 varlığında birlikte kullanarak toprak ve havadaki toz partiküllerinde Cu(II) tayini için yeni bir metot geliştirmişlerdir. Kırmızı renkli Cu(II)-PAN-(TX-100)-DPBA kompleksi pH 7.8-9.4 aralığında kloroform fazına alarak 520 nm’de maksimum absorbans vermektedir. Metodun tayin limiti 2 ng/mL ’dir. Elde edilen değerler AAS sonuçları ile karşılaştırılarak bakır tayini için yöntemin hassas, duyarlılığının oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (88).

Dalman ve arkadaşları 3-{2-[2-(2-hidroksiimino-1-metil-propilidenamino)-etilamino]-etil-imino}-bütan-2-on oksim (H_2mdo) bileşiğini ilaçlarda ve biyolojik örneklerde spektroskopik Cu(II) tayini için kullanmışlardır. pH 9’da Cu(II) ile H_2mdo ’nun kompleksi oluşturulmuş ve oluşan kompleksin absorbansı 570 nm’de ölçülmüştür. Lineer çalışma aralığının $0.2\text{-}225 \text{ ppm}$ ve molar absorplama katsayısının $0.16 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olduğu bulunmuştur (89).

Sarma ve arkadaşları bakır ile piridoksal-4-fenil-3-tiyosemikarbazon (PPT) reaktifinin reaksiyonunu çalışmış, sebze ve ilaç örneklerinde bakır tayinine bunu uygulamıştır. Bu reaksiyon sonucunda oluşan kahve renkli kompleks *n*-bütanol ile organik faza ekstrakte edilmiş ve organik fazdaki kompleksin molar absorplama katsayısı $2.16 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, Sandell’s sabiti $2.94 \times 10^{-3} \text{ µg cm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Metodun tayin aralığı $0.2\text{-}5 \text{ mg/L}$ ’dir. Maksimum absorbansı 440 nm, optimum ortam pH 3-5.5 olarak tespit edilmiştir. İnterferans etki gösteren Fe(II) ve Fe(III) iyonları %0.2’lik NaF çözeltisi ile, Co(II), Ni(II), Zn(II), Cd(II) iyonları ise %0.2’lik sitrat çözeltisiyle maskelenmiştir. Elde edilen sonuçlar AAS sonuçlarıyla kıyaslandığında kullanılan reaktifin seçiciliğinin bakır tayini oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (33).

Pinto ve arkadaşları su örneklerinde, direk bakır tayini için önderiştirme basamağı gerektirmeyen yeni bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Bu amaçla kromojenik bir reaktif olan ve bakırla alkali ortamda sarı renkli bir kompleks oluşturan di-2-piridil keton benzoilhidrazon (dPKBH) bileşiğini kullanmışlardır. pH 8’de oluşan kompleks bileşiğinin stokiyometrisi 1:2 (Cu:dPKBH) olup, 370 nm’de maksimum absorbans vermektedir. Metodun tayin limitinin 2.5 µg/L olduğu ve daha önceden rapor edilmiş direkt metotlardan daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (90).

Karaböcek ve arkadaşları 3-3'-(1,3-propandiildiimin)bis-[3-metil-2-bütanon]dioksim (PnAO) ligandını kullanarak çevre örneklerinde ve yiyeceklerde, Cu(II) tayini yapmışlardır. Kullanılan ligand ile bakır iyonunun oluşturduğu kompleksin pH 4-10 aralığında 525 nm'de maksimum absorbans verdiği gözlenmiştir. Ligandın Cu(II) ile sulu ortamda oldukça kararlı kompleks (1:1) vermesi ve diğer geçiş metalleri ile 525 nm'den farklı dalga boylarında maksimum absorbans vermesi bakır tayinine diğer iyonların interferans etkisini ortadan kaldırmaktadır. Ligand ve bakır kompleksinin suda çözünüyor olmasının, bakırın direkt tayinini kolaylaştırdığını ve 0.5-350 mg/mL aralığında Cu tayin edilebildiğini belirtmişlerdir (91).

Barreto ve arkadaşları metalik alaşımlarda Cu(II) tayinini gerçekleştirmek üzere, 4,5-dimerkapto-1,3-ditiyol-2-tiyonat (DMIT) ile bakırın oluşturduğu komplekse dayanan yeni ve duyarlı bir metot geliştirmişlerdir. Metil izobütil keton (MIK) çözücüsünde DMIT ligandının çözeltisi hazırlanmış ve bu çözelti ile sulu ortamda bulunan Cu(II) organik faza ekstrakte edilmiştir. Organik fazdaki DMIT-Cu(II) kompleksinin 430 nm'de maksimum absorbans verdiği ($\epsilon=9.06 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), lineer çalışma aralığının 5.58×10^{-6} ile $1.67 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ olduğu belirtilmiştir. Tayin edilen en düşük bakır konsantrasyonu 64 $\mu\text{g/L}$ 'dir (92).

Wróbel ve arkadaşları iyi bilinen ayırma/önderiştirme işlemlerinin analitik hata riskini artırdığını ve bu hata kaynaklarının iç standart metodu kullanılarak kontrol edilebileceğini, bu metot spektrofotometriye uygulandığında, hem seyreltme hem de önderiştirme işlemlerinde ileri analitik performans elde edildiğini belirtmektedirler. Yaptıkları çalışmada batokuproin disülfonat bileşiğini kullanarak serumda spektrofotometrik bakır tayinini gerçekleştirmişler ve bromfenol mavisini iç standart olarak kullanmışlardır. Bakır kompleksi 477 nm'de, iç standart ise 602 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Serum analizlerinde, kloroform fazına ekstraksiyondan sonra bakır organik fazdan direkt olarak tayin edilmiş, lineer çalışma aralığı 0-40 $\mu\text{g/L}$, tayin limiti 0.4 $\mu\text{g/L}$ olarak tespit edilmiştir. Tayinin analitik performansı, iç standarsız yapılan tayin sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve oldukça başarılı bulunmuştur (93).

Chaisuksant ve arkadaşları kromojenik bir reaktif olan Naftazarin (5,8-dihidroksi-1,4-naftokinon;Naph) ligandını kullanarak alaşımlarda bakır tayini için yeni bir metot geliştirmişlerdir. Cu-Naph kompleksi, surfaktant sodyum dodesil sülfat (SDS) varlığında, (pH 5.5-8) 330 nm'de maksimum absorbans vermekte, molar absorplama katsayısı ise $1.84 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 'dir. Metodun tayin limiti 0.9 ppm olarak bulunmuştur (94).

2.8 Bakır ve Nikel İçin Uygulanan Analiz Yöntemleri

Bakır ve nikelin endüstride ve tarımda geniş ölçüde tüketilmesi sonucunda ortaya çıkan atıklar, çevreye yayılarak suların ve gıdaların kirlenmesine yol açmaktadır. Bundan dolayı insanların kullandığı çeşitli materyallerde, gıda ve çevresel örneklerde ve klinik çalışmalarda bakır ve nikel tayini önemli bir yer tutmaktadır. Toksik etkilerinden dolayı tayin işlemlerinin çabuk ve pratik olması gereklidir.

Bu amaçla en çok kullanılan metotlar; Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi (AAS) (Tayin Limiti: $1-3 \mu\text{g L}^{-1}$) (115, 116), Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (Tayin Limiti: $0.04-0.7 \mu\text{g L}^{-1}$) (117), ICP-Atomik Emissiyon Spektroskopisi (Tayin Limiti: $2 \mu\text{g L}^{-1}$) (118), ICP-Kütle Spektroskopisi (Tayin Limiti: $0.1-0.5 \mu\text{g L}^{-1}$) (119), Diferansiyel Puls Anodik Sıyırma Voltametrisi (Tayin Limiti: $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (120), Likit Kromatografi (121), Spektrofotometrik (kolorimetrik) metotlardır (122, 123, 124).

Tablo 2.5 Bakır tayini için çeşitli reaktiflerin bağıl duyarlılıkları

Reaktif	$\lambda_{\max}$ (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Dinamik Aralık (ppm)	Kaynak
Ditiyokarbamat	445	0.13×10^5	0.0544±0.0017 (DL)	95
2,6-Diklorfenolindo-fenol	562	-	5-300	96
2-(5-brom-2-piridilazo)-5-dietil-aminofenol	545	0.87×10^5	0-0.5 (BL)	97
5-(5-kloropiridilazo-2,4)diamin	540	0.51×10^5	1.0 (DL)	98
N-N'-bis(piridilmetilen)-etilendiamin	740	0.06×10^5	1-10 (BL)	99
1-(2-klorofenil)-3-hidroksi-3-metilazen	415	0.01×10^5	3.2-25.4	100
<i>p</i> -Anisilaldehittiyosemikarbazon	402	0.06×10^5	0.1-1.0	101
2,4-Dihidroksiasetofenon-tiyosemikarbazon	360	0.14×10^5	1.0-10	102
Difenilkarbazon	540	0.63×10^5	0.05-1.4	103
Biasetil-2-piridilhidrazon-etilosemikarbazon	520	0.56×10^5	-	104
3-tiyobenzoil-1- <i>p</i> -tolitiyokarbamat	420	0.1×10^5	0.5-4.5	105
1,5-bis(di-2-piridilmetilen)-tiyokarbonhidrazit	420	0.42×10^5	0.1-1.3	106
1-(2-piridilazo)-2-naftol	595	-	0.5-3.6	107
Piridilazo boya	532	0.47×10^5	-	108
N-N'-difenilbenzamidin	520	1.14×10^5	0.05-5.0	109
Fenantrakinon monotiyosemikarbazon	540	0.116×10^5	2.5-3.5	110
Kinolin-2-aldehit tiyosemikarbazon	430	0.13×10^5	0.5-25.0	111
Salisilaldehit tiyosemikarbazon	375	0.092×10^5	0.5-6.0	112
Benzilditiyosemikarbazon	380	0.16347×10^5	0.5-4.0	113
Bromosulfonazo III	616.8	3.3×10^5	0-1.024	114

2.9 Eser Elementler İçin Zenginleştirme Teknikleri

Analiz edilecek eser element konsantrasyonlarının, kullanılacak enstrümental tekniğin tayin sınırlarında veya bu sınırların altında olması, bu tayin tekniklerinin direkt uygulanmalarına engel olmaktadır. Örnek matrisinin durumu ve tayin sınırları dikkate alınarak direkt enstrümental analizler yanında, potansiyel bozucuları uzaklaştırmak ve ilgili elementleri deriştirmek için çeşitli zenginleştirme teknikleri kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmaların amaçlarından biri aynı anda birçok metalin tayini için bir zenginleştirme metodu geliştirmektir. İdeal zenginleştirme metodunda, zenginleştirme faktörü yüksek olmalı ve bozucu iyonların etkisi giderilmelidir (125). Analizlerde analitik sonuçların kesinliği ve doğruluğunun yeterli olması için, ilgilenilen eser bileşenlerin kayıplarını en aza indirmek gerekir. Örnek toplanmasından tayin basamağına kadar bütün analitik prosesler süresince kayıplar ve diğer kaynaklardan gelebilecek kirliliklerin minimum seviyeye indirilmesi için büyük özen gösterilmelidir. Kullanılacak metot basit, en az adım gerektiren reaktif ve cam malzeme kullanımı içermelidir (126). Cam malzemelerin az kullanımı, bulaşma ve adsorplanarak kaybolmayı en aza indirecektir.

Ayrıca, örnekle birlikte bulunan inorganik ve organik maddelerden kaynaklanan girişimler analitik sonuçlarda hataya neden olabilir. Bu hatalar genellikle 1 ppm'in altındaki konsantrasyon seviyelerinde çok daha etkili olup anlamsız verilerin elde edilmesine neden olmaktadır.

En yaygın ve güncel zenginleştirme teknikleri, buharlaştırma, çöktürme, seçici çözme, flotasyon(yüzdürme), ekstraksiyon, elektrokimyasal çöktürme, adsorpsiyon

2.9.1 Buharlaştırma İle Zenginleştirme

Genellikle ya eser elementler buharlaştırılır, matriks buharlaştırılmaz veya matriks buharlaştırılır eser element buharlaştırılmaz. Bu amaçla analiz edilecek çözeltinin fizikokimyasal özelliklerinden yararlanılır. Çözeltideki uçucu bileşenler; destilasyon, buharlaştırma, gaz faza alma veya süblimleşme işlemi ile ayrılabilir.

Eser elementlerin buharlaştırılmasında genellikle kimyasal reaksiyonlar, ısıtma ve gaz kabarcıklarının yardımı ile örnek çözeltisindeki eser elementler buharlaştırılarak matriks elementleri çözeltide bırakılır. Örneğin çözünürleştirilmesi ve zenginleştirme prosesleri genellikle birleştirilir. Buharlaşan bileşikler ya uygun bir çözeltide absorplanır veya soğuk bir yüzeyde yoğunlaştırılır. Çözeltiden matriksin buharlaştırılması için örnek çözeltisi basit olarak

bir beher, kapsül veya krozede çözücü ve matriks elementlerinin uçması için ısıtılır (eser elementler kalıntıda bırakılır).

Eser elementlerin buharlaştırılmasında aşağıdaki nedenlerden dolayı kayıplar olabilir;

a) Bazı elementler elementel veya bileşikleri halinde zenginleştirme sırasında buharlaşıp kaybolabilirler. Bazıları ise buharlaşmanın yapıldığı cam yüzeye adsorbe olurlar.

b) Eğer örneğin toplam çözünmüş katı içeriği (TCK) yüksekse, bu buharlaştırma sonucu zenginleşerek tolere edilemeyecek seviyeye çıkar. Hatta bazen bazı bileşiklerin çözünürlükleri aşılarak çökelek oluşumu şeklinde kaybolmaları söz konusu olabilir.

c) İşlem yavaştır. Zenginleştirme faktörüne bağlı olarak saatler hatta günler alabilir. Bu sırada laboratuvar ortamında her zaman kirlenme riski vardır.

d) Buharlaşma sırasında kabın dibinde oluşan geniş yüzeyli tortunun (kireç vb.) tayin elementini adsorplama riski büyüktür.

2.9.2 Çöktürme İle Zenginleştirme

Bu teknik çok eskiden beri kullanılmasına rağmen inorganik eser analizlerde zenginleştirme tekniği olarak hala kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte kendisi mevcut şartlarda katı faz oluşturmayan tayin elementleri bir başka çökelek üzerine çökeltme ile toplanır ve bu çökelek daha sonra çok daha küçük miktarlarda çözücüde çözülerek hem zenginleştirme hem de ana matriksten ayırma sağlanabilir. Bu teknik, çökeleğin doğrudan analiz edilebildiği Atomik Emisyon Spektrometresi (AES) ve X-Işınları Floresans Spektrometresi (XRFS)'de çok kullanılmıştır. Çöktürme için kuvvetli ve zayıf asit tuzları, serbest asitler ve şelat yapıcı organik maddeler kullanılır (127). Çözünürlük kayıpları önemli olmadığı zaman bile, çöktürmeyle bir eser elementin kantitatif ayrılması ve zenginleştirilmesinde bir çok problem söz konusudur. Çöktürme genellikle yavaş ve zahmetlidir. Aşırı doymuşluk sık sık çökelek oluşumunu geciktirir ve kollidal olarak dağılmış parçacıkların pıhtılaşması (topaklaşması) genellikle güçtür. Ayrıca katının önemli bir kısmının süzme ve aktarma sırasında kaybolma olasılığı da vardır. Bu güçlükleri azaltmak için, reaktif ile bir çökelek oluşturacak bazı başka iyonlar da genellikle çözeltiye ilave edilir. İlave edilen iyondan oluşan çökelek, toplayıcı diye adlandırılır ve çözeltide bulunan ve çöktürülmek istenen eser miktardaki türü taşır. Bazı toplayıcılar çözünürlüklerinin benzerliğinin bir sonucu olarak eser bileşenle birlikte çökebilir. Bu sırada eser bileşen, ya toplayıcının oluşturduğu çökelek yüzeyinde adsorplanır veya karışık kristal oluşur. Toplayıcı, eser bileşenin tayini için seçilen metodun ölçüm basamağında interferans etki yapabilmektedir. Ayrıca ortama çok büyük miktarda yabancı madde ilave edilmesi gerektiğinden, çok yüksek saflıkta bileşikler kullanılsa bile reaktiflerden gelebilecek kirlenme

de önemli bir problemdir. Ortama ilave edilen maddelerin meydana getirebileceği girişimleri önlemek için, birçok birlikte çöktürme işleminin ardından bir ekstraksiyon (veya iyon değiştirme) gerekebilir.

2.9.3 Seçici Çözme

Bir sıvı veya katı örnekteki belirli eser elementler veya matriks seçici olarak uygun bir çözücüde çözülür. Örnek katı olduğu durumlarda bu tekniğe katı-sıvı ekstraksiyonu da denir.

a) Matriksin Seçici Çözülmesi

Bu teknik, çelik ve demir içermeyen metaller ve alaşımlar üzerindeki yüzey filmleri veya iç kısımlarında bulunan çeşitli metallerin oksit, karpit ve nitritlerinin zenginleştirilmesinde çok kullanılır.

Basit olarak örnek matrisi çözen, fakat oksit, karpit veya nitritleri çözmeyen uygun inorganik veya organik çözücüde çözülür. Çözme işlemi geri soğutucu takılmış bir balonda, ısıtma, karıştırma ve ultrasonik radyasyon ile yapılır. Çözmeden sonra çözünmeyen artık madde süzülerek çözeltiden ayrılır. Daha sonra optik ve elektron mikroskopisi gözlemleri yapılır veya x-ray difraksiyonu veya elementel analizler uygulanır. Bu teknik eğer atıkların eksik toplanması ve seçilen bileşenlerin kısmi çözülmesine eşdeğer olarak meydana gelen kayıpları önlemek için dikkat edilirse, $\mu\text{g/g}$ seviyesindeki bileşenler için uygulanabilir.

b) Eser Elementlerin Seçici Çözülmesi

Bu teknikte, belirlenen eser bileşenleri çözen fakat matriksi çözmeyen bir çözücü seçilir. Çözücü ile örnekte seçilen eser bileşenler birbiriyle temas ettirilir. Bu açıdan katı örneklerin yüzeyindeki eser kirliliklerin seçici çözülmesi çok kolaydır. Bazen katılar, matriksin çözünürlüğünün azalması için yüksek sıcaklıklarda ısıtılır ve diğer bileşenlerine dönüştürülürler. Daha sonra eser elementler matriksin küçük miktarı ile beraber ultrasonik radyasyon altında suda çözülürler. Çözme işlemi için su dışında organik çözücüler, mineral asitleri veya bu çözücülerin karışımları kullanılabilir. $\mu\text{g/g}$ 'dan daha düşük veya ng/g seviyesindeki safsızlıklar için bu teknikte zenginleştirme faktörü 10^2 - 10^4 arasında ve geri kazanma oranı %95'ten daha büyük gözlenir (128).

2.9.4 Flotasyon

Flotasyon işleminde, bir sulu çözeltide dağılmış katı yada sıvı parçacıklar, çökelekler, kolloidler ve çözünmüş maddelerin aşağıdan yukarıya doğru çıkan gaz kabarcıkları yardımıyla sulu fazın yüzeyine taşınmaları sağlanır. Burada gaz kabarcıkları ile hidrofobik katı yüzey temas halinde iken bunları ayıran su tabakası kararsızlaşır ve kabarcık partikül yüzeyine yapışır. Kap yüzeyinde biriken zenginleşmiş analit alınarak analiz edilir. Hidrofobik maddeler kabarcık yüzeyine iyi yapışarak taşındıklarından, zenginleştirilen madde hidrofobik karakterli olmalıdır. Bu yöntem hidrofilik maddelere uygulanacaksa uygun bir yüzey aktif madde ile hidrofobik özellik kazandırılır (129,130).

Cevher örneklerinde elementlerin zenginleştirilmesinde flotasyon sıkça kullanılır. Burada ham örnek toz edilip suda süspansiyon oluşturulur. Süspansiyon iyonik olmayan yüzey aktif madde ile muamele edilip ortama gaz kabarcığı gönderilir. Kap yüzeyine toplanan kabarcıklar eser elementi sürükleyerek zenginleştirir (131).

2.9.5 Adsorpsiyon

Atom, iyon yada moleküllerin bir katı yüzeyinde tutunmasına (birikmesine) adsorpsiyon, tutulan katı taneciklerinin yüzeyden ayrılmasına desorpsiyon adı verilir.

Gazların, buharların ya da çözünmüş maddelerin bir faz yüzeyinde değil de özümленerek o fazın içinde tutulmasına ise absorpsiyon denir. Her iki olay yani, adsorpsiyon ve absorpsiyon birlikte oluyor ve ayırt edilemiyorsa bu olaya da sorpsiyon denir.

Adsorpsiyon, sabit sıcaklık ve sabit basınçta kendiliğinden olduğundan dolayı adsorpsiyon sırasındaki serbest entalpi değişimi yani adsorpsiyon serbest entalpisi (ΔG) daima eksi işaretlidir. Diğer taraftan gaz yada sıvı ortamında daha düzensiz olan tanecikler katı yüzeyinde tutunarak daha düzenli hale geldiğinden adsorpsiyon sırasındaki entropi değişimi yani, adsorpsiyon entropisi (ΔS) de daima eksi işaretlidir. Adsorpsiyon serbest entalpisi ve adsorpsiyon entropisinin daima eksi işaretli olması;

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S$$

eşitliği uyarınca adsorpsiyon sırasındaki entalpi değişiminin yani adsorpsiyon entalpisinin (ΔH) daima eksi işaretli olmasını gerektirmektedir. Adsorpsiyon ısısı da denilen adsorpsiyon entalpisinin eksi işaretli olması, adsorpsiyon olayının daima ısı veren yani ekzotermik olduğunu göstermektedir. Adsorpsiyon ısısı katı yüzeyindeki doymamış kuvvetlerle adsorplanan

tanecikler arasındaki etkileşmelerin bir göstergesidir. Bağ kuvveti arttıkça adsorplananın bir molü başına çıkan ısı artar.

Adsorpsiyon, fiziksel ve kimyasal olmak üzere ikiye ayrılır. Fiziksel adsorpsiyonda madde yüzeye Van der Waals kuvvetleri, Dipol-Dipol etkileşimi, π -bağları etkileşimi ve Hidrojen bağı oluşumu mekanizmaları ile tutunurlar. Bazen adsorplayıcı yüzeydeki gözeneklerden mekanik bir süzölmeye de uğrayabilir. Kimyasal adsorpsiyonda kimyasal bir bağlanma söz konusudur. Bu durum tersinir bir kimyasal reaksiyon gibi düşünülebilir. Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonun çeşitli kriterlere göre birbiri ile karşılaştırılması **Tablo 2.6**'da verilmiştir.

Adsorpsiyonda tanecik boyutu, yapısındaki kapiler gözeneklerin çapı ve hacmi, adsorplanan maddelerin elektriksel yükleri, polariteleri, iyon veya molekül yapıları ve içinde bulundukları çözücü önemlidir.

Tablo 2.6 Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon arasındaki temel karşılaştırma kriterleri

Karşılaştırma kriteri	Fiziksel Adsorpsiyon	Kimyasal Adsorpsiyon
Adsorplayıcı, adsorplanan ilişkisine bağlılık	Adsorplananın kritik sıcaklığı altında herhangi bir ilişkisi arasında cereyan eder.	Adsorplayıcı ile adsorplanan arasında özel bir kimyasal ilgi gerektirir ve her ikili arasında cereyan etmez.
Sıcaklığa bağlılık	Düşük sıcaklıklarda cereyan eder ve sıcaklık yükseldikçe azalır.	Yüksek sıcaklıklarda cereyan eder ve sıcaklık yükseldikçe artar.
Etkin olan kuvvetler	Van der Waals kuvvetleri	Kimyasal bağ kuvvetleri
Adsorpsiyon ısısı	Adsorplama ısısı mertebesindedir (5-10 kcal/mol)	Kimyasal tepkime ısısı mertebesinde olup, yüksektir (10-100 kcal/mol)
Olayın hızı ve aktiflenme enerjisi	Çok hızlı olup, sıfıra yakın bir aktiflenme enerjisi eşliğinde yürür.	Kemisorpsiyon hızını aktiflenme enerjisinin büyüklüğü belirler.
Yüzey örtünmesi	Tek tabakalı veya çok tabakalı adsorpsiyon olabilir.	En fazla tek tabaka kaplanması olabilir.
Tersinirlik	Adsorpsiyon dengesi tersinirdir ve fizisorplanmış bir gaz, sıcaklığın yükseltip basıncın düşürülmesiyle kolayca ve tümüyle desorplanabilir.	Çoğu kez tersinmezdir, desorpsiyonu çok zordur ve desorpsiyon için çok zorlanırsa beklenmedik başka reaksiyonlara yol açabilir.

2.9.6 Elektrokimyasal Yöntemler

Bu yöntemde zenginleştirilmek istenen element çözeltisine bir elektrot (genelde Pt) daldırılır ve uygun sabit bir potansiyel belirli bir süre uygulanarak element elektrot yüzeyinde toplanır. Toplanan element, uygun bir analitik metotla tayin edilir. Bu teknikle çok düşük konsantrasyonlardaki (μg veya daha düşük) çözeltilerden iyonların nicel olarak ayrılması mümkündür. Ayrıca bu yöntemin çok seçici olması değişik ortamlarda istenen iyonun kolayca ayrılmasını sağlar. İndirgenme potansiyelleri birbirine çok yakın elementler durumunda uygun maskeleyici ajan kullanılır. Tayin sınırı 10^{-6} - 10^{-11} M konsantrasyon aralığındadır. Analiz yöntemi Faraday'ın elektroliz kanununa dayanır ve toplanan madde miktarı aşağıdaki formülle verilir (130).

$$m = \frac{E I t}{F}$$

Burada, m; çözeltiliye geçen veya çözeltiliden biriktirilen iyonların gram olarak kütlesi, E; elementin eşdeğer kütlesi, I; uygulanan akım şiddeti (Amper), t; akımın uygulandığı süre (saniye) ve F; Faraday (96487 kulon /eşdeğer gram) dır.

Bunlardan başka, esas elektrik akımı ile element iyonlarının taşınımına dayanan sementasyon, civa kullanılarak biriktirme, elektrolitik çözünme, elektro diyaliz, elektroosmoz, elektroforez ve elektrodifüzyon yöntemleri ile eser elementler zenginleştirilebilir (126).

2.9.7 Sıvı- Sıvı Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, birbiri ile karışmayan iki çözücü arasında çözünenin dağılarak faz oluşturma esasına dayanır. Genellikle fazlardan biri sulu diğeri organik fazdır. Sulu çözeltide şelatlanmış metaller organik bir çözücü (Eter, MIBK, CCl_4 , kloroform vb.) içerisine alınır. Bu işlem inorganik eser analizlerde çok sık kullanılır.

Başarılı bir ekstraksiyon için hedef zenginleştirilecek elementin, sulu fazda az çözünen, organik fazda çok çözünen kararlı bir kompleksini oluşturmaktır. Organik fazın sudaki çözünürlüğü sınırlı olmalıdır.

En önemli avantajı istenmeyen matriksin ekstrakte edilmemesi ve dolayısıyla tayin elementinden ayrılacak girişim yapmasının önlenmesidir. Ekstraksiyon hızlıdır, yüksek zenginleştirme verimleri elde edilebilir ve birçok element aynı anda ekstrakte edilebilir veya seçici ayırma yapılabilir.

Bu yöntemin dezavantajları ekstraksiyon için kullanılan birçok organik çözücünün toksik, yanıcı ve uçucu olmasıdır. Bu amaçla özellikle klorür içeren (kloroform, dikloreten vb.) çözücülerin kullanımı çevre ve insan sağlığını tehdit etmektedir (132). Özellikle ekstraktaki metal konsantrasyonunun, organik çözücünün kolayca buharlaşması sebebiyle zamanla değişebileceğinden buna dikkat edilmelidir. Bu bakımdan işlem çabuk yapılmalıdır.

Bu yöntemde, iki sıvı faz arasındaki tek bir kimyasal türün dağılımı durumunda dağılma sabiti P, organik fazdaki çözünenin konsantrasyonunun bu faz ile dengede olan sulu fazdaki çözünenin konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanır.

$$P = \frac{(\text{Çözünen})_{\text{org}}}{(\text{Çözünen})_{\text{sul}}}$$

şeklinde verilir.

Genellikle her iki fazda da çözünen olarak bir elementin birkaç türü bulunur. Bu dağılma oranı D, organik fazdaki elementin toplam konsantrasyonunun bununla dengede olan sulu fazdakine oranı olarak tanımlanır.

$$D = \frac{(\text{Toplam çözünen})_{\text{org}}}{(\text{Toplam çözünen})_{\text{sul}}}$$

şeklinde verilir.

Eser elementler ekstrakte edildiğinde eser elementin daha büyük dağılma oranı matriksin daha küçük dağılma oranı istenir. Böylece eser verimi daha büyük olan zenginleştirme faktörü gözlenir. Matriks ekstraksiyon ile uzaklaştırıldığında, yararlı bir zenginleştirme için bunun tersi gereklidir.

Bir elementin dağılma oranı, iki fazdaki çözünme, polimerleşme, ayrışma, iyonların birleşmesi, ve şelat oluşumu içeren kimyasal reaksiyonlara büyük oranda bağlıdır. Bu nedenle ekstraksiyon reaktiflerinin ve konsantrasyonlarının, organik çözücülerin, pH veya fazın asitliğinin, maskeleyici reaktiflerin ve tuz giderici reaktiflerin uygun seçimi önemlidir.

a) Kesikli Ekstraksiyon

Genellikle sulu bir örnek çözeltisi ve organik bir çözücü ayırma hunisinde el veya mekanik çalkalayıcı ile tam olarak karıştırılır. Denge kurulduktan sonra iki faz ayrılmaya bırakılır ve alttaki faz akıtılır. Örnek çözeltisinin ve organik çözücünün küçük hacimleri ile

ekstraksiyonlar cam damlalıklı santrifüj tüpü gibi küçük kaplarda yapılır. Kesikli ekstraksiyon taze çözücünün iki veya daha fazla kısımları ile tekrarlanmalıdır. Organik fazlar birleştirilmelidir.

Bazen şiddetli çalkalama ile iki fazın ayrılması zorlaştırılır ve emülsiyon oluşmasından dolayı yararlı değildir. Fazlar ayrıldıktan sonra organik çözücü ile birlikte bulunan su damlacıklarının küçük miktarları kuru filtre kağıdı, teflon bir membran filtresi, süzülme, susuz Na_2SO_4 ilavesi veya santrifüjleme ile uzaklaştırılır. Ayırma hunisinin duvarlarında adsorplanan eser elementlerin kaybolmamasına dikkat edilmelidir. Bu adsorpsiyon olayı katı parçacıkları veya sıvı-sıvı ara yüzeylerinde de olabilir.

b) Sürekli Ekstraksiyon

Kesikli ekstraksiyona imkan vermeyecek kadar dağılma oranının küçük olması durumunda bu teknik yararlıdır. Çözücünün tekrar tekrar sirküle olduğu çeşitli ekstraktörlerin kullanılmasıyla yeterli büyüklükte dağılma oranı sağlanabilir.

2.10 Ultraviyole/Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopisi

Ultraviyole/görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi kimyacıların kantitatif analizlerde en çok faydalandıkları tekniklerden birisidir. Günümüze kadar dünyanın her yöresinde kimya ve klinik laboratuvarlarında en çok kullanılan metottur.

2.10.1 Ultraviyole ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomların birbirine yeterince yaklaşması sonucu moleküller oluşurken, enerjileri birbirine eşit veya yakın olan benzer atomik orbitallerin örtüşmesi ile moleküler orbitaller ortaya çıkar. Moleküldeki elektronlar da bu moleküler orbitallere Hund kurallarına göre yerleşir. Diatomik bir molekülde, her bir atoma ait bir çift orbitalden bir çift moleküler orbital oluşur. Bunlardan birisi, enerjisi atom orbitallerinin enerjisinden daha az olan, dolayısıyla molekülü oluşturduğu atomlardan daha kararlı kılan “moleküler bağ orbitali” diğeri ise, enerjisi atomik orbitallerden daha fazla olan “moleküler karşı bağ orbitalidir”. Moleküler orbitaller σ ve π sembolleri ile gösterilir ve karşı bağ orbitalini belirtirken, sembollerin üzerine bir yıldız konur. σ orbitalinin başka bir σ orbitali ile örtüşmesinden σ ve σ^* moleküler orbitalleri oluşur. İki p_x orbitalinin örtüşmesi ile de başka bir çift σ ve σ^* orbitali oluşurken p_y ve p_z orbitallerinin kendi türleri ile örtüşmesi sonucu π ve π^* sembolleri ile gösterilen moleküler orbitaller ortaya çıkar. Moleküllerde ayrıca bağlanmaya katılmayan serbest elektronların yerleştiği orbitallere n orbitali

adı verilir. n orbitali bağ orbitali olmadığı için, enerjisi bağ orbitallerinin enerjisinden büyüktür ve buna ait bir karşı bağ orbitali yoktur.

İkiden fazla atomu olan moleküllerde birçok σ , π ve n orbitalleri vardır. Bu orbitallerde bulunan elektronlar, uygun enerjili fotonları absorplayarak σ^* ve π^* orbitallerine geçerler. Çift bağ içeren alifatik bileşikler ile aromatik bileşiklerde en düşük enerjili geçiş $\pi \rightarrow \pi^*$ geçiştir ve bu geçişin enerjisi sistemde konjugasyon arttıkça daha uzun dalgalıboylarına kayar. Heteroatom içeren bileşiklerde ise en uzun dalgalıboylarında gözlenen geçişler $n \rightarrow \pi^*$ türü geçişlerdir. Bu geçişlerin şiddeti $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine oranla daha azdır. $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerine moleküldeki konjugasyonun artmasının etkisi de daha azdır çünkü n orbitalinin enerjisi konjugasyon ile değişmez. Çözücünün apolar bir türden polar bir türe değiştirilmesi ile $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerinin dalgalıboyu daha küçük değerlere kayar. n elektronlarının enerjisinin polar bir çözücü ile etkileşmesi sonucu azalmasına olan etkiye maviye kayma adı verilir. Apolar bir çözücünün yerine polar bir çözücü kullanıldığında π orbitaline göre daha polar olan π^* orbitalinin enerjisi de, n orbitalinde olduğu kadar olmasa bile, azalır ve bu nedenle $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi için daha büyük dalgalıboyu yani daha düşük enerjili fotonlar gerekir.

Bir molekülün absorpsiyon bandının daha uzun dalgalıboylarına kaymasına kırmızıya kayma veya batokromotik etki, daha kısa dalgalıboylarına kaymasına maviye kayma veya hipsokromik etki adı verilir. Absorpsiyon bandının şiddetinin azalması hipokromik etki, artması ise hiperkromik etki olarak tanımlanır. Bir bileşiğin absorplayabileceği bir foton ile etkileşmesi sonucu absorpsiyon olayının mutlaka gerçekleşmesi gerekmez. Bazı geçişlerin olasılığı küçük olduğundan bunlara ait bantların şiddeti de azdır. Örneğin ketonlardaki 300 nm civarındaki $n \rightarrow \pi^*$ bandı ile benzenin 250 nm yakınlarındaki bandının şiddeti çok azdır. Bir bandın absorpsiyon şiddeti, o bandın dalgalıboyu maksimumundaki ϵ değeri ile belirlenir. Molar absorpsiyon katsayısının değeri söz konusu geçişin olasılığı arttıkça artar.

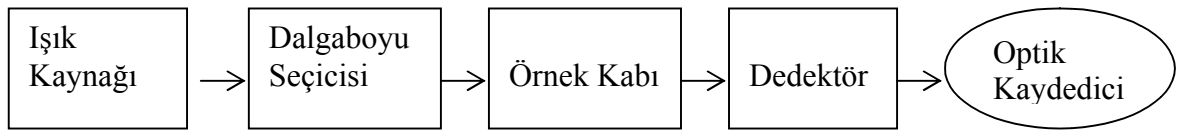
Organik moleküllerde $>C-C<$ türü kromoforlarda $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi, $>C=O$ türü kromoforlarda $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri, $>C=C<$ türü kromoforlarda yine $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi, $-N<$, $-O-$ ve $-S-$ türü kromoforlarda ise $n \rightarrow \sigma^*$ geçişi söz konusudur.

Moleküllerde UV ve görünür bölgede ışığın absorpsiyonu ile bir elektron daha yüksek enerjili bir orbitale geçtiği için bu bölgedeki spektroskopi dalına elektronik spektroskopi de denilir. Elektronik geçiş ile birlikte ayrıca titreşim ve dönme enerji düzeyleri arasındaki geçişlerde olduğundan, moleküllerde absorpsiyon hattı yerine absorpsiyon bantları gözlenir. Herhangi bir molekülde, belli bir dalgalıboyu aralığındaki ışığın absorpsiyonundan sorumlu olan fonksiyonel gruba kromofor grup, ışığı absorplamadığı halde kromofor grupların absorpladıkları ışığın dalgalıboyunu daha büyük değerlere kaydıran ve absorpsiyon katsayısını arttıran gruplara ise, okzokrom grup adı verilir. Aslında okzokrom grup olarak adlandırılan gruplar, ışığı

absorplayan kromofor grubun elektron yoğunluğunu derġiřtirdiklerinden, bunların ışıġı kromofor grup ile birlikte absorpladıkları düşünölmelidir.

2.10.2 UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Maddenin ışıġı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneġe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometre düzeneġi **şekil 2.1**'de göröldüġü gibi başlıca, ışıġ kaynaġı, dalgaboyu seçicisi, örnek kabı ve dedektörden oluşur. Dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal, bir kaydedici veya galvanometre ile ölçölür.



şekil 2.1 Bir Spektrofotometrenin Temel Bileşenleri

Ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrelerde ışıġı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışıġ bölücöleri, ve giriş ve çıkış aralıkları vardır. Örnek ise, kullanılan dalgaboyu bölgesinde ışıġı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışıġ yoluna yerleştirilir.

2.10.2.1 Işıġ Kaynakları

UV ve görünür bölgede D₂, W, H₂ ve Xe gibi sürekli ışıġ kaynakları kullanılır. Ultraviyole bölgede en çok kullanılan lambalar, hidrojen ve döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. Bu lambalar, 180 nm ile 380 nm arasında ışıġ yayar. UV ve görünür bölgenin tümünde (150 nm-720 nm) kullanılabilecek bir başka şiddetli ve sürekli ışıġ kaynaġı, Xe ark lambasıdır.

2.10.2.2 Dedektörler

Maddenin ışıġı absorplayıp absorplamadıġını anlamak için, ışıġ kaynaġından gelen ışıġın şiddetinin ölçölmesi amacıyla kullanılan bileşene dedektör adı verilir. UV ve görünür bölgede kullanılabilen üç tür dedektör vardır. Fotovoltaik dedektörlerde ışıġ absorpsiyonu ile iletkenlik bandına çıkarılan elektronlar, ışıġ şiddeti ile orantılı bir elektrik akımı oluşturur.

Fototüp adını alan ikinci tür dedektörler de ise alkali metal oksit filmlerden yapılmış fotokatotlar üzerine düşen fotonlar bu yüzeyden elektron koparır ve elektronlar bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir. Fotoçoğaltıcı tüp olarak adlandırılan üçüncü tip dedektörlerde ise, fotokatot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar dinot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dinoda çarpan her bir elektron, dinot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir.

2.10.2.3 Monokromatörler

Absorbansın ölçülmesi sırasında, ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalga boyunda ışık seçilerek örneğe gönderilir. Polikromatik ışıktan monokromatik ışık elde edilmesini gerçekleştiren düzeneğe monokromatör adı verilir. UV ve görünür bölgede, monokromatör olarak prizmalar kullanılır.

2.10.3 Tek Işınlı Spektrofotometreler

Tek ışınlı Spektrofotometreler biraz ucuz, basit, taşınabilir ve kantitatif (nicel) analiz için ideal bir cihazdır. Bu tür bir cihazla spektrum taraması yapmak hem kaynağın şiddeti hem de dedektör tepkisi dalga boyuyla değiştiğinden dolayı mümkün değildir. Doğru değerler elde edebilmek için her defasında cihaz referans (kör) ile sıfırlanmalıdır. Çünkü böyle bir ölçüm tek dala boylu soğurum (absorbans) ölçümüdür.

2.10.4 Çift Işınlı Spektrofotometreler

Bu tür cihazlar tek ışınlı cihazlardan kaynaklanan problemleri elimine etmek için geliştirildi. Bundan dolayı diğerine göre biraz daha karmaşık ve pahalı cihazlardır. Bu tür cihazlar genellikle kolayca taşınabilir yapıda değildirler fakat spektrum taraması veya tek dalga boyunda ölçüm yapabilirler. Kaynaktan gelen ışın dönen ayna veya diğer bir deyişle Chopper ile ikiye bölünür. Bu ışınlardan biri numuneden diğeri ise referans hücreden geçer. Dedektör dönüşümlü olarak bir numuneden bir referanstan gelen ışınları görür ve I 'nın I_0 'a oranını verir. Böylelikle referans düzeltilmesi otomatik olarak yapılmış olur.

2.11 Lambert- Beer Yasası

Maddenin ışığı soğurma (absorplama) derecesini ölçmek ve bundan yararlanarak derişimi saptamak için, soğurma ile derişim arasındaki ilişki bilinmelidir. Monokromatik (tek dalgaboylu ışım) ve I_0 şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan çözeltideki herhangi bir molekül tarafından absorplandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terkeder. Moleküllerin seçilen dalgaboyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma **Beer- Lambert** eşitliği ile verilir.

$$\log I_0/I = \epsilon bC = A$$

I_0 : Örnek kabına giren ışık şiddeti

I : Örnek kabını terkeden ışık şiddeti

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (L / mol.cm)

b : Örnek kabının kalınlığı (cm)

C : Derişim (mol / L)

A : Absorbans

Örnek kabını terkeden ve kaba giren ışık şiddetleri arasındaki orana geçirgenlik (T) denir.

$$I / I_0 = T = 10^{-\epsilon bc}$$

Absorbans ile geçirgenlik arasında ,

$$A = - \log T = 2 - \log \% T$$

İlişkisi vardır ve $\%T$, yüzde geçirgenlik adını alır.

Çözeltide, uygulanan dalgaboyundaki ışığı absorplayacak birden fazla molekül varsa, A toplamsal olduğundan,

$$A = A_1 + A_2 + \dots = \epsilon_1 bc_1 + \epsilon_2 bc_2 + \dots \text{ eşitliği geçerlidir.}$$

Beer- Lambert eşitliğinin geçerli olması için; uygulanan ışık monokromatik olmalıdır, örnek homojen olmalıdır (absorpsiyonun örneğin her yerinde eşit olması) ve birden fazla bileşen varsa, her bir bileşen diğerlerinin absorpsiyonunu etkilememelidir.

2.11.1 Lambert-Beer Yasasından Sapmalar

Lambert-Beer yasasının çoğunlukla hiçbir istisnasının olmadığı düşünülür. Halbuki bu yasanın bazı sınırlayıcı yanları olduğu görülür ve ona göre önlem alınabilir. Bu yasanın başarısız ve yetersiz kaldığı, doğrusal kalibrasyon grafiklerinin elde edilememesinin üç temel nedeni vardır:

Derişim Etkisi: Yasanın kendisi sınırlayıcıdır; Güvenirliğin kaybolduğu bir konsantrasyon sınırı vardır ve bu limit analitten analite derişim gösterir fakat bu sınır kabaca 0.01 M olarak verilebilir. Bu sınırın nedeni ise yüksek derişimlerde veya elektrolit varlığında birbirlerine komşu moleküllerin elektrostatik etkileşimlerle enerji düzeyleri arasında bozulmalar meydana gelir. Hatırlarsanız bu enerji düzeyleri arasındaki elektronik geçişler molekülün absorpsiyon karakteristiklerini verir. Dolayısıyla bu bozulmalarla analiz dalgaboyunda molekülün absorpsiyonunda artış veya azalış olması beklenebilir. Her iki durumda da absorbans & Konsantrasyon arasında doğrusal olmayan bir bağıntı elde edilecektir. Özellikle doğrusallığın çok düşük derişimlerde bile elde edilemediği büyük organik iyonların analizinde çok dikkatli çalışılmalıdır. Örneğin Metilen mavisi için, derişim 0.000001 M'dan daha az olmadıkça kalibrasyon grafiği doğrusal hale gelmez.

Kimyasal Sapmalar: Eğer analizi yapılan sistem kimyasal olarak derişimlere uğruyorsa analiz başarısız olacaktır. Bu sapma en çok pH derişikliği yapıldığı zaman rastlanmaktadır. Örneğin, dikromat gerçekte diğer iki krom türüyle denge halindedir ve bunların herbirinin kendine has molar soğurum değerleri vardır. pH değerinde oynama yapıldıkça bu üç krom türünün miktarlarında derişme olur ve ilgili dalgaboyundaki absorpsiyonda derişir. Bu türler arasındaki oran seyrelme ile dahi derişecektir. Bu ve diğer pH duyarlı sistemlerde ortamdaki türlerin mikterını dengede tutabilmek için sistem tamponlanmalıdır.

Enstrümental Sapmalar: Lambert-Beer yasası monokromatik ışımaya (tek dalgaboyu) temeline dayanılarak türetilmiştir. Pratik manada monokromatör tarafından seçilen dalgaboyu aralığı ne kadar küçük olursa cihaz o kadar pahalı olur. Bu problemi çözmek için monokromatörden geçen dalgaboylarının molar soğurumlarının birbirine çok benzer olduğu spektrum bölgesinde ölçümlerin yapılması gerekir. Bu maksimum absorpsiyondaki sebeptir. Diğer sebepler ise doğrudan ışık ve kirli, uygun olmayan numune hücreleridir.

2.12 UV Spektroskopisi İle Yapılan Analitik Uygulamalar

Çeşitli kromoforların absorpsiyon bantlarının birbiri ile örtüşmesi ve absorpsiyon bantlarının genellikle oldukça geniş olması nedeni ile, ultraviyole ve görünür bölge spektroskopisi ile nitel analiz pek yapılamaz. Fakat bu yöntem nicel analiz için çok uygundur. Bir maddenin nicel analizinin yapılacağı dalga boyu ve kullanılacak çözücüyü kararlaştırmak için, örneğin absorpsiyon spektrumunu bilmek gerekir.

Tablo 2.7 Bazı maddelerin absorpsiyon pikleri ve molar absorptivite değerleri

Madde	Absorpsiyon Dalga Boyu (nm)	Molar absorptivite (ϵ_{mak})
H ₂ O(b)	167	1480
CH ₃ NH ₂ (b)	215	600
CH ₃ OCH ₃ (b)	184	2520
CH ₃ SCH ₃ (Etanolde)	229	140
(CH ₃) ₃ N(b)	227	900
CH ₃ Cl(b)	173	200
CH ₃ I(b)	258	365
CH ₃ OH(b)	184	150
CH ₂ =CHCH=CH ₂ (b)	217	21000
C ₄ H ₄ O(FURAN) (b)	207	9100

b: Buhar Fazında

Nicel analiz için öncelikle çalışılacak dalgaboyunun ve kullanılacak çözücünün belirlenmesi gerekir. Bunun için belirli bir dalgaboyu aralığında incelenecek örneğin absorpsiyon taraması yapılarak absorbans değerleri dalgaboyuna karşı grafiğe geçirilir. Böylece maddenin absorpsiyon spektrumu çıkarılmış olur. Bu spektrum incelenerek Beer- Lambert eşitliğine uyulan ve maksimum absorbans veren bir dalgaboyu seçilir. Çözeltide analizi yapılacak maddeden başka maddeler de bulunuyorsa bunların ve aynı zamanda çözücünün de absorpsiyon yapmayacağı bir dalgaboyu seçilmelidir. Bu değer saptandıktan sonra analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimleri bilinen bir dizi standart çözelti hazırlanır ve seçilen dalgaboyunda absorbans değerleri ölçülür. Absorbans değerleri, standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir ve böylece bir kalibrasyon doğrusu elde edilir. Bundan sonra, bilinmeyen örneğin absorbans değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşı gelen derişim saptanır.

Diğer bir yöntem de standart ekleme yöntemidir. Bu yöntemde ilk olarak örneğin absorbansı ölçülür ve bu değer grafiğin y-eksenine yerleştirilir. Daha sonra derişimi bilinen ve aynı maddeyi içeren bir çözeltiden belirli hacimlerde örneğe eklenir ve her defasında absorbans

değeri ölçülür. Okunan absorbens değerleri eklenen madde hacmine veya mol sayısına karşı grafiğe geçirilerek y-eksenini kesen bir doğru elde edilir. Bu doğru sola uzatılarak x-eksenini kestiği değer bulunur ve bu değer in işaretinin (-), ters çevrilmesi ile bilinmeyen derişim saptanmış olur.

Absorbans değerlerinin toplamsallığından yararlanarak karışım halinde bulunan ve ışığı absorplayan iki bileşenin de analizleri yapılabilir. Öncelikle yine bileşenlerin absorpsiyon spektrumları incelenerek, birinci bileşenin ışığı çok absorpladığı ve ikinci bileşenin az absorpladığı bir dalgaboyu (λ_1) seçilir. Bu dalgaboyunda her iki bileşen için derişimi bilinen çözeltiler kullanılarak absorbens ölçülür ve Beer- Lambert eşitliğine göre molar absorpsiyon katsayıları $^1\epsilon_{\lambda_1}$ ve $^2\epsilon_{\lambda_1}$ bulunur. Daha sonra ikinci bileşenin ışığı çok absorpladığı ve birinci bileşenin az absorpladığı bir dalgaboyu (λ_2) seçilir ve bu dalgaboyunda da derişimi bilinen çözeltiler kullanılarak her iki bileşen için absorbens değerleri ölçülür ve $^1\epsilon_{\lambda_2}$ ve $^2\epsilon_{\lambda_2}$ bulunur. En son olarak da, C_1 ve C_2 derişimlerinde karışım halinde bulunan örneğin absorbens λ_1 ve λ_2 dalgaboylarında okunarak iki absorbens değeri, A_{λ_1} ve A_{λ_2} bulunur.

Ölçülen bu absorbens değerleri ve hesaplanan ϵ değerlerinden yararlanarak,

$$A_{\lambda_1} = ^1\epsilon_{\lambda_1}bc_1 + ^2\epsilon_{\lambda_1}bc_2$$

$$A_{\lambda_2} = ^1\epsilon_{\lambda_2}bc_1 + ^2\epsilon_{\lambda_2}bc_2$$

Eşitlikleri yardımıyla C_1 ve C_2 hesaplanır.

2.13 Kompleks Stokiyometrisinin Bulunması

2.13.1 Mol Oranı Yöntemi

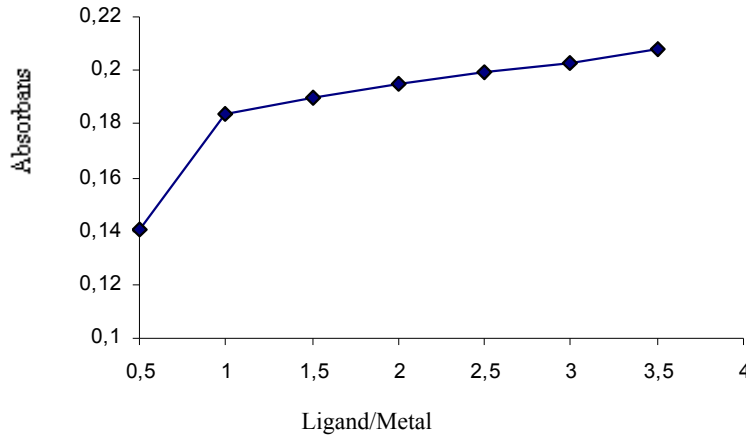
Mol oranı yönteminde, stokiyometrisi bilinmeyen kompleksin katyonunun uygun kontrasyonda bir çözeltisi yapıp spektrumu alınır (spektrofometrik konsantrasyonlar 10^{-3} - 10^{-7} M). Bu katyon, pratik olması nedeniyle M ile gösterilir. Bundan sonra da L ile gösterilen ligandın uygun konsantrasyonda bir çözeltisi hazırlanıp spektrumu alınır. Bu çözeltilerden alınan (örneğin 2 şer ml) çözeltiler karıştırılır ve karışımın spektrumu alınır. Spektrumdan komplekse ait absorpsiyon bandlarından (piklerinden) en şiddetlisinin dalga boyu tespit edilir. Bundan sonra ligandın katyona oranı (L/M) 1, 2, 3,.. olan çözeltiler hazırlanır. Yukarıda sözü edilen dalga boyunda 1 cm kalınlıktaki hücrede sırayla bunların absorbensleri ölçülür ve bu

absorbanslar L/M ye karşı bir grafiğe geçirilir. Elde edilen grafikteki eğrilerden yararlanarak kompleksin stokiyometrisi bulunur.

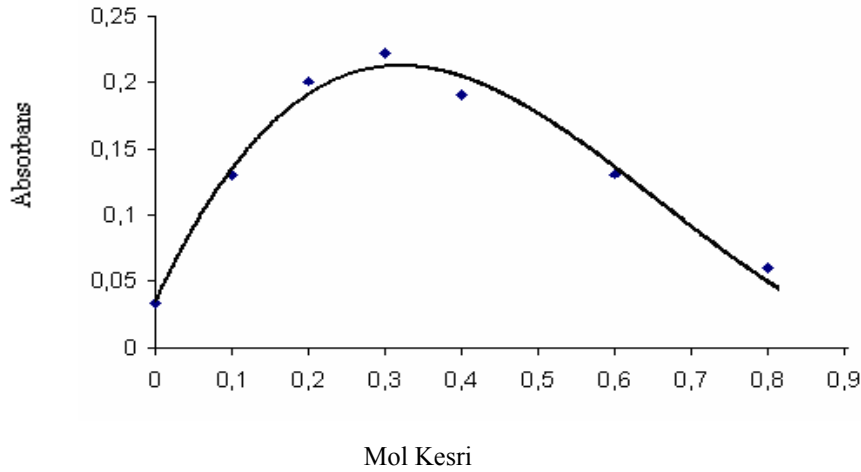
2.13.2 Job veya Devamlı Değişmeler Yöntemi

M ve L den meydana gelen kompleks için iyi bir çözücü ve iyi bir absorpsiyon maksimumu bulunabilirse böyle bir kompleksin kaç M ve kaç L'den meydana geldiği bulunabilir. Yöntem, Job tarafından geliştirildiğinden çoğu kez Job yöntemi adını alır. Bunun için M ve L den meydana gelen kompleksin bir spektrumu alınır ve bu spektrumun en şiddetli absorpsiyonunun dalga boyu (λ max) tespit edilir. M ve L nin aynı konsantrasyonda birer çözeltisi hazırlanıp, birinin hacmi artarken diğerinin hacmi aynı oranda azalacak şekilde bir dizi kompleks çözeltileri hazırlanarak maksimum absorpsiyon dalga boyunda absorbansları ölçülür.

Ölçülen absorbans değerleri, alınan M veya L 'nin hacmine karşı grafiğe geçirilerek elde edilen eğrilere çizilen teğetlerin kesim noktasından hacim eksenine bir dikme inilerek kompleksin stokiyometrisi belirlenir.



Şekil 2.2 Mol oranı yöntemi ile kompleks stokiyometrisinin bulunması



Şekil 2.3 Job veya devamlı değişmeler yöntemi ile kompleks stokiyometrisinin bulunması

2.14 Organik Bileşiklerin Absorpsiyonu

Dalga boyu 180-780 nm aralığına düşen ışınların organik moleküller tarafından absorpsiyonu, bağ oluşumunda doğrudan yer alan (dolayısı ile birden çok atom ile ilişkili olan) veya oksijen, kükürt, azot, halojen gibi atomların değerlik katmanlarında lokalize olmuş elektronlar ile fotonlar arasındaki etkileşmeden ortaya çıkar.

Bir organik molekülün absorpsiyon yapacağı dalga boyu bu moleküldeki çok sayıda elektronun ne kadar sıkı tutunduğuna bağlıdır. C-C, C-H gibi tekli bağlardaki ortaklaşa kullanılan elektronlar öylesine sıkı bağlıdır ki bu elektronların uyarılması için gerekli enerji vakum ultraviyole bölgesinde (180 nm'nin altında) ışınlar gerektirir. Tek bağ elektronlarının uyarılmasına ilişkin spektrumlar analitik amaçlar için pek kullanılmamıştır. Çünkü bu bölgede çalışmak deneysel bakımdan çok zordur. Bu zorluk kuvarsın ve atmosferdeki moleküllerin 180 nm'nin altında absorpsiyon yapmalarından kaynaklanmaktadır.

Organik moleküllerde ikili ve üçlü bağlardaki elektronların uyarılması daha az enerji ister ve bu yüzden doymamış organik moleküller kolayca elde edilebilen faydalı spektrumlar verirler. Ultraviyole/görünür bölgede absorplayan doymamış fonksiyonel gruplara *kromofor* denir. Piklerin konumu ve şiddeti ile ilgili veriler sadece teşhis amaçlı yaklaşık değerlerdir. Gerçekte bu değerler çözücünün cinsinden ve fonksiyonel grubun bağlı olduğu molekülün yapı ayrıntılarından etkilenir. Ayrıca birden çok kromoforun konjuge olması pik maksimumlarını uzun dalga boylarına kaydırır. Son olarak ultraviyole/görünür bölge absorpsiyon piklerinde titreşimlere bağlı bir genişleme olur. Bu da absorpsiyon maksimumunun kesin olarak tayinini zorlaştırır.

2.15 İnorganik Türlerin Absorpsiyonu

Genelde ilk iki sıra geçiş elementlerinin iyonları ve kompleksleri yükseltgenme basamaklarının en az birinde geniş görünür ışın bantları absorplar ve bunun sonucu olarak da renklidirler. Bu iyonlarda absorpsiyon enerjileri katyona bağlanan liganda göre değişen kısmen dolu d orbitalleri arasındaki geçişlerle ilgilidir. Bu d orbitalleri arasındaki enerji farkı (ve elbette ki absorpsiyon piklerinin konumu) elementin periyodik sistemdeki konumuna, yükseltgenme basamağına ve ligandın doğasına bağlıdır.

2.16 Yük-Aktarım Absorpsiyonu

Yük-aktarım absorpsiyonu özellikle kantitatif amaçlar için önemlidir. Çünkü molar absorptiviteyi olağanüstü yüksektir ($\epsilon_{\text{maks}} > 10000$) ve bu durum büyük duyarlılık sağlar. Pek çok inorganik ve organik kompleksler bu tip absorpsiyon gösterdikleri için Yük-aktarım kompleksleri adını alırlar.

Spektrofotometrik metotların başlıca özellikleri aşağıda özetlenmiştir (133, 134).

1. Pek çok sayıda inorganik, organik ve biyokimyasal madde ultraviyole/görünür ışınları absorplar ve bu yüzden doğrudan kantitatif tayinleri mümkündür. Pek çok madde de, kendisi absorplamasa da absorplayıcı türevlere dönüştürülerek tayin edilebilir.

2. Absorpsiyon spektroskopisinin tipik tayin sınırları 10^{-4} M - 10^{-5} M arasındadır. İşlemlerdeki bazı iyileştirmelerle bu sınırların 10^{-6} M'a hatta 10^{-7} M'a indirilmesi de mümkündür.

3. Analitin tek başına absorpsiyon yaptığı bir dalga boyu bulunabilirse ön ayırmalara gerek kalmaz. Ayrıca kimi hallerde başka bir maddenin absorbansı ile analitin absorbansı ile örtüşse bile başka dalga boylarında da ölçme yapılarak bir ayırma işleminden kaçınılabilir.

4. Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrik ölçmelerde konsantrasyonun bağıl hatası %1-%5 arasındadır. Özel önlemler alınarak bu hatalar binde bir kaç mertebesine indirilebilir.

5. Modern cihazlarla, spektrofotometrik ölçmeler kolaylıkla ve hızlı bir şekilde yapılabilir. Ayrıca bu metotlar otomasyona da uygundur.

2.17 Örnek Çözme Teknikleri

AAS ile çözelti halindeki örneklerin absorbens değerleri okunabildiğinden, analizi yapılacak örneklerin çözünürleştirilmesi gerekir. Örneklerin çözünürleştirilmesi sırasında asit veya asit karışımları kullanılır (135).

HNO_3 ile çözünürleştirmede nitrik asit bazı tuzları kolaylıkla çözer. As_2S_3 , Sb_2S_3 , HgS gibi hidroklorik asidin çözemediği sülfürleride çözer. Bu özelliği sülfürü kolaylıkla yükseltgemesinden ileri gelir. Nitrik asit hem protonundan hemde anyonundan dolayı iyi bir çözücüdür. Nitratlar genellikle suda çözünürler ve daha az uçucudurlar. Bu asidin kullanılmasının da bazı dezavantajlar vardır. Analiz süresine nitrik asidin yükseltgeyici etkisi devam eder ve bazı iyonların yükseltgenmesine neden olabilir. Sülfür kükürdünü sülfat kükürdüne yükseltgeyerek bazı sülfatların çökmesine neden olur. Nitrik asit suda çözünmeyen MnO_2 , SnO_2 ve PbO_2 gibi yükseltgenleri çözemez.

H_2SO_4 ile çözünürleştirme, klorür iyonlarının olması istenmediği ve yüksek sıcaklıkların tercih edildiği durumlarda kullanılabilir. Özellikle kurşun, kurşun oksitleri, kurşunlu alaşımlar ve bazı karbonatlar için iyi bir çözücüdür. Çözme işlemi sırasında oluşan sülfat tuzlarının suda çözünmemeleri nedeniyle çok tercih edilmez.

HCl , hidroklorik asit, karbonatlar, fosfatlar, sülfürler gibi suda çözünmeyen tuzları çözdüğü gibi PbO_2 , MnO_2 , Fe_2O_3 , SnO_2 gibi yükseltgenleri de indirgeyerek çözer.

Hidroflorik asit, silikatlar, tantalatlar için iyi bir çözücüdür. Örneklerin çözünürleştirilmesi sırasında asitlerin tek tek kullanımı yerine daha iyi sonuç verdiği için $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, HNO_3/HCl , HF/HClO_4 , $\text{HClO}_4/\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ gibi asit karışımları kullanılır. HF/HClO_4 ile çözünürleştirmede, HF silikatlarda uçucu SiF_4 bileşiğini oluşturur. Dolayısıyla HF/HClO_4 karışımı toprakların çözünürleştirilmesinde etkin bir karışımdır. Yüksek oranda organik madde içeren toprakların, önce $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ karışımı ile muamele edilerek organik maddenin çoğunluğunun uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde, HF ile birlikte olan işlem sırasında şiddetli tepkimeler açacağından, tehlike doğurabilir. Alüminyumla zengin örneklerin bu yöntemle çözünürleştirilmesi, AlF_3 çökme olasılığı nedeniyle tavsiye edilmez. İşlem platin veya teflon krozelerde yapılır.

$\text{HClO}_4/\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ karışımı organik maddelerin çözünürleştirilmesinde oldukça etkin ise de, bazı mineralleri parçalayamaz. Silikatlar, alüminyum ve potasyum, artık olarak kalır. Bu karışımda, en zor çözünen apatit (Ca fosfatlar) minerali bile % 95 oranında çözünürleşir. Kalkerli topraklarla çalışırken CaSO_4 çökme olasılığı nedeniyle az miktarda örneğin alınması önerilir.

HNO₃/HCl (Kral Suyu) ile çözünürleştirme yönteminde toprak örneklerinin büyük bir kısmı çözünürleştirilebilir. Yöntemde dikkat edilmesi gereken en önemli husus, toprağın yeterince öğütölmüş olması ve buharlaştırma işleminin en az 3-4 kez kuruluğa kadar sürdürölmesidir. Kral suyunun çözme kuvveti içinde bol miktarda bulunan klor iyonlarının, eser halde bulunan katyonları kompleks halinde bağlamasından ileri gelir.

2.17.1 Yükseltgeyici Proseslerle Çözme

Kuru çözme ve yaş çözme (açık sistemde çözme ve kapalı sistemde çözme) şeklinde sınıflandırılabilen bu teknikler aşağıda anlatılmıştır.

2.17.1.1 Kuru çözme

Kuru çözmede örneğın organik kısmı yakılır. 450–550 °C deki bir fırında örnek ısıtılarak beyaz kül elde edilir. Kül örnekleri HNO₃, HCl veya HNO₃-H₂O₂ karışımında eğer gerekirse kuruluğa kadar ısıtılır ve seyreltik asit çözeltisiyle karıştırılarak elde edilen berrak çözelti analiz edilir. Bu metod basit olması, örnek miktarında sınırlama probleminin olmaması ve daha az çözöcü kullanılmasına bağılı olarak daha az kirlenme riski gibi avantajlara sahiptir. Bunun yanı sıra külleme süresince bazı metallerin klorürleri, bazılarının ise organometalik bileşikleri halinde buharlaşması gibi dezavantajlara sahiptir. Kayıplar çözünmeyen kalıntılardan ve kap yüzeyinde adsorpsiyondan da kaynaklanabilir.

2.17.1.2 Yaş Çözme

2.11.1.2.1 Açık Sistemde Çözme

Kuru çözmedeki buharlaşma ve adsorpsiyon kayıplarının olmadığı bu yöntemde örnekler geri soğutucu takılmış atmosfere açık bir destilasyon balonuna konur. Çözöcü olarak HNO₃, H₂SO₄, HClO₄, HCl veya bunların karışımları kullanılır. Yaş çözme metodunda sıcaklık genellikle 200 °C' nin altında olduğundan buharlaşma kayıpları As ve Se gibi bazı elementler haricinde yoktur. Ancak kuru çözmeye oranla daha çok çözöcü gerektiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler, örnek sınırlaması ve daha büyük dikkat gösterilmesi gerektiğı gibi dezavantajlar söz konusudur. Derişik çözeltilerinde ve sıcakta iyi bir yükseltgen olan HClO₄' in kullanıldığı çözünürleştirmelerde HClO₄' ün patlayıcı özelliğinden dolayı örneğın kurumasına

müsaade edilmemelidir. En çok kullanılan kaplar pyrex cam, teflon ve platinden yapılmış olanlardır.

HNO_3 , H_2SO_4 karışımlarının kullanıldığı çözünürleştirmede örneğin yapısında bulunan yağlar, proteinler ve heterosiklik azot içeren organik bileşiklerin parçalanması zordur. Bu tür örnekler HNO_3 , H_2SO_4 ile muamele edildiği zaman kararlı sülfö ve nitro türevleri çözme sırasında kompleksler oluşturabilir bu da eser elementlerin tayin edilmesini engeller. HNO_3 ile yapılan çözünürleştirme işlemlerinde asidin en iyi şekilde çözünürleştirmeyi sağlayabilmesi için başlangıçta çözme işlemi mümkün olduğu kadar düşük sıcaklıkta yapılmalı ve HNO_3 ' ün çözünürleştirmenin başında uzaklaşmasına engel olunmalıdır.

HNO_3 , HClO_4 ' ün birlikte kullanıldığı çözünürleştirme işlemlerinde HClO_4 bir kısım organik bileşiklerin daha basit bileşiklere parçalanmasını sağlayarak, bunların HNO_3 tarafından daha kolay oksitlenmelerine yardımcı olur. HClO_4 ' ün yükseltgeme potansiyeli H_2SO_4 ' ten daha büyüktür. Aynı sürede perkloratlar sülfatlardan daha fazla çözünür bu nedenle eser elementlerin kaybı ve az çözünen tuzların oluşma olasılığı daha azdır (136).

2.17.1.2.2 Kapalı Sistemde (Yüksek basınç altında) Mikrodalga ile Çözme

Uçucu olan elementlerin buharlaşma kayıplarını önlemek için teflon bombalarda yaş çözme metodunda kullanılan çözücüler kullanılarak etüvde 100 °C civarındaki sıcaklıklarda örnek çözünürleştirilir. Son zamanlarda bu şekilde hazırlanmış teflon bombalar mikrodalga fırına yerleştirilip daha hızlı bir sürede çözünürleştirme sağlanmaktadır.

Mikrodalga tekniği ile örnek çözünürleştirme, analitik kimyada ilk defa 1975' de Abu Samra ve arkadaşları tarafından, biyolojik örneklerin asitlerle hızlı bir şekilde çözünürleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Mikrodalga, elektromanyetik spektrumda IR ile radyo dalgalarının arasında kalan bölgedir. Örneklerin çözünürleştirilmesinde mikrodalga fırınların kullanılması ile kirlenme, buharlaşmayla element kaybı ve çözünürleştirme zamanı minimize edilmiştir (137).

Klasik ısıtma teknikleri bir kütleyi dıştan içe doğru tabaka-tabaka ısıtırken, mikrodalga tüm kütlenin her yerini aynı anda ısıtır. Mikrodalga ısınması dıştan olduğu gibi içten de olduğundan, enerji moleküler çarpışmadan ziyade polarizasyon yolu ile transfer olur. İç ısınma örneği mekanik olarak uyarır ve numunenin dış tabakasını bozar, böylece asit ile örnek arasında daha iyi bir temas sağlanır. Modern laboratuvarlarda çok sayıda örnek ve çoklu element analizi yapma gereksinimi; zaman kavramını çok önemli hale getirdiğinden mikrodalga fırınlar kullanılarak çözünürleştirme süreleri önemli ölçüde kısaltılmıştır.

Mikrodalga fırınların kullanımı sadece örnek çözünürleştirmeye sınırlı kalmayıp, bunun yanında özellikle örnek çözeltilerinin buharlaştırılmalarında ve türlemesinde, kromogenik reaksiyonlarda, örnek temizlenmesinde, analit adsorpsiyon ve desorpsiyonunda, nemin ölçülmesinde, örnek kurutulmasında, solvent ekstraksiyonunu içeren analitik kimya ve diğer alanlarda da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, birkaç dezavantajı vardır. Bunlar;

- Asit konsantrasyonunun AAS' ye ve diğer spektroskopik aletlere verilecek sınırın çok üstünde olması halinde kuruluğa kadar buharlaştırma veya seyreltme gereği,
- Yüksek basınçtan dolayı patlamalara neden olabilmesi (ancak analitik amaçlı geliştirilen basınç ve sıcaklık kontrollü cihazlarda bu risk yoktur),
- Bağlı olarak daha az örnekle çalışma gereği olarak sıralanabilir.

Klasik yöntemlere göre avantajları:

- Çözünürleştirme süresinin kısa olması.
- Tekrarlanabilirliğinin iyi olması.
- Enerji ve kimyasal madde sarfiyatının minimum olması.
- Uçucu bileşenlerin ortamda tutulması.
- Çözünürleştirme kapları olarak kullanılan teflonların mikrodalga enerjisini absorbe etmemesi (138-140).

2.17.1.3 Fotooksidasyonla Çözme

Organik bileşikler ultraviyole ışınlarıyla etkileşimleri sonucu kısmen veya tamamen bozunmaya uğrayabilirler. Radyasyon kaynağı olarak ışıma yapan civa veya ksenon ark lambasının kullanıldığı bu düzenekte örnek lambanın etrafını saracak şekilde düzenlenmiştir. Biraz civa veya Fe(III) ilavesiyle ışığın absorplanması artırılabilir veya H₂O₂ ilavesiyle de yükseltgenme reaksiyonları hızlandırılabilir. Daha çok içme suyu ve deniz suyundaki organik bileşiklerin bozunmaya uğratılması amacıyla kullanılan bu methodda gerekli süre, örnek ve cihaza bağlı olarak birkaç dakikadan birkaç saate kadar değişebilir (135).

2.17.1.4 Eritişle Çözünürleştirme

Eritişle çözünürleştirmeler, asidik ve bazik eritiş olarak 2 grupta incelenir:

2.17.1.4.1 Asidik Eritiş

Akıtıcı olarak asidik karakterli bisülfat veya piro sülfat gibi bir bileşik kullanılır ve bazik karakterli maddelerin çözünürleştirilmesinde etkindir.

2.17.1.4.2 Bazik Eritiş

Akıtıcı olarak bazik karakterli NaOH, KOH, Na₂CO₃, H₃BO₃ gibi bir bileşik kullanılır ve asidik karakterli maddelerin çözünürleştirilmesinde etkilidir.

Toprak örneklerinin çözünürleştirilmesinde yukarıda sayılan akıtıcı maddeler tek olarak kullanılabileceği gibi ikili veya üçlü karışımları halinde de kullanılabilir. Eğer örnekte silis tayini yapılacaksa en etkili eritiş türlerinden biri Na₂CO₃ eritişidir. Ancak sodyum veya potasyum tayini yapılacaksa, lityum metaborat eritişi en uygundur. Eritişler içinde alkali peroksitlerle yapılanlar en etkili olanıdır. Bununla en zor çözünen krom veya zirkon bileşikleri bile çözünürleştirilebilir.

2.17.1.5 Ekstraksiyon ile Çözme

Kimyasal analizi yapılacak plazma, serum, idrar gibi biyolojik; su, toprak, hava gibi çevresel ve gıda, farmasotik ürünler gibi diğer numuneler, genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karışık bir matris içerirler. Bu nedenle örneğin çözünürleştirilmesi yapılması gereken önemli bir basamaktır. Örnek hazırlamada en önemli yöntemlerden biri ise ekstraksiyon yöntemidir.

Ekstraksiyon endüstride; altın, ilaç, petrol, kozmetik, gıda gibi birçok alanda kullanılan bir ayırma işlemidir. Ekstraksiyon sabit sıcaklık ve basınçta bir maddenin iki fazdaki denge derişimlerinin farklı olmasından yararlanılarak yapılan ayırma işlemidir. Bir saflaştırma değil ayırma yöntemi olarak kullanılır.

Toprakta bulunan bazı yararlı elementler, tuzları halinde kil ve organik maddelere adsorplanmış halde veya çözünmeyen bileşikler halinde bulunurlar. Toprakta bulunan yararlı elementlerin bitkiler tarafından alınan kısmının tayini için çeşitli ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir. Yöntem adsorplanmış iyonların (genellikle katyonların), başka bir iyonla yer değiştirerek çözeltiye alınması temeline dayanmaktadır (135).

2.17.1.5.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamalarının fazla miktarda çözücü harcanması, çok zaman alması ve yüksek maliyetli olması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca bu yöntem, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz oluşması, yeterli saflığa sahip olmayan ekstraktlar elde edilmesi ve çözücülerin yeterince uzaklaştırılamaması gibi istenmeyen durumlara da neden olabilmektedir (141, 142)

2.17.1.5.2 Katı-Sıvı Ekstraksiyonu

1970’li yılların ortalarında bulunan bir çözme yöntemi olan katı-sıvı ekstraksiyonu (solid phase extraction, SPE) metodu ile katı içinde bulunan bir madde bu maddeyi büyük ölçüde çözebilen bir sıvı yardımıyla alınır. Fazlar ayrıldıktan sonra sıvının herhangi bir yoldan uzaklaştırılması ile katı içindeki madde ele geçer. Katı faza ekstrakte edilen, saf sıvıya ekstrakte eden, elde edilen sıvı karışıma ise ekstrakt adı verilir.

Klasik sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında daha hızlı çözen, az çözücüye ihtiyaç duyan, emülsiyon oluşumun şekillenmediği, çok daha ucuz bir tekniktir. Bunun yanında katı faz ekstraksiyonu ile daha temiz ekstrakt ve yüksek geri kazanım oranları elde edilmektedir (143, 144).

3. MATERYAL METOT

3.1 Kullanılan Cihazlar

Sentezlenen ligand ve komplekslerin karakterizasyon aşamasında, IR spektrumları için; Mattson 1000 FT-IR Spectrometer, ¹H NMR spektrumları için; Bruker GmbH Dpx-400 MHz FT-NMR Spectrometer, element analizleri için, LECO CHNSO-932, manyetik süsseptibilite ölçümleri için; Sherwood Scientific Magnetic Susceptibility Balance (Model MK1), erime noktası tayini için; Gallenkamp erime noktası tayin cihazı kullanılmıştır. pH'ın ölçülmesi ve ayarlanması için; Jenway marka pH metre, ligand ve metal komplekslerinin absorpsiyonlarını ölçmek için; Shimadzu UV-1700 marka double beam UV-görünür bölge spektrofotometresi ve kuvartz hücreler, numunelerin çözülmesi için; PREMIER marka 800 W'a kadar ayarlanabilen mikrodalga fırın, biyolojik örneklerde bakır ve nikel analizleri için; ATI-Unicam 929 model atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS), Santrifüj işlemi için; Hettich EBA III marka santrifüj cihazı, tartım için; Precisa marka terazi ve kül fırını kullanıldı.

3.2 Kullanılan Çözücüler

Etil Alkol

Ticari etil alkole 600 °C' ta kurutulmuş kalsiyum oksit ilave edilip 24 saat bekletildikten sonra yine kalsiyum oksit üzerinden iki kere damıtılarak kullanıldı.

Su

Çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su kullanıldı.

3.2.1 Ekstraksiyon İşleminde Kullanılan Çözücüler

Ekstraksiyon işleminde kullanılan çözücülerden, kloroform, n-Hekzan, Ksilen, Toluen, Benzen, Diklormetan, Karbontetraklorür, Oktanol, Dietileter analitik saflıkta olup (%99.5) Merck markadır.

3.2.2 Çözme İşleminde Kullanılan Çözücüler

Nitrik asit (%65, Riedel-de Haen)

Perklorik asit(%65, Carlo Erba)

Hidrojen Peroksit(%35, Riedel-de Haen)

3.3 Kullanılan Çözeltiler

NH₃/NH₄Cl Tampon Çözeltisi

Tampon çözeltisi (pH:9), 94.16 g amonyum klorür (Merk) bir miktar suda çözülerek üzerine 65.2 mL %25'lik amonyak (Merk) ilave edilmesi ve elde edilen çözeltinin saf su ile 1 litreye tamamlanması ile elde edildi.

KH₂PO₄/NaOH (pH:8) Tampon çözeltisi

13.56 g KH₂PO₄ (Merk) alınıp 100 mL'ye saf su ile tamamlandı. 0.1 N NaOH çözeltisinden damla damla ilave edilip pH metre ile ölçüm yapılarak çözeltinin pH'ı, ayarlandı.

H₃BO₃/NaOH (pH:9) Tampon Çözeltisi

0.025 M 50 mL H₃BO₃(Merk) çözeltisine 0.1 M NaOH (Merk) çözeltisinin damla damla ilave edilip pH metre ile ölçüm yapılarak çözeltinin pH'ı, ayarlandı

NaHCO₃/ NaOH (pH:9) Tampon Çözeltisi

0.05 M 50 mL NaHCO₃ (Merk) çözeltisine 0.1M NaOH (Merk)'ten 5 mL ilave edilmesi ve elde edilen çözeltinin saf su ile 100 mL'ye tamamlanması ile elde edildi.

Sodyum Hidroksit Çözeltisi

Merck firmasından temin edilen sodyum hidroksitten deiyonize su kullanılarak 0.1 M'lık NaOH çözeltisi hazırlandı.

Hidroklorik Asit Çözeltisi

Merck firmasından temin edilen %37'lik hidroklorik asitten 0.1 M'lık HCl çözeltisi hazırlandı.

Stok Standart Ni(II) Çözeltisinin Hazırlanması

Ni(II) standardı, 4.0496 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ saf suda çözülerek 1000 mg/L derişiminde 1 L hacminde stok çözeltisi hazırlandı ve metal çözeltisinin konsantrasyonu kompleksometrik EDTA titrasyonu ile belirlendi. Ni(II) iyonlarının EDTA ile titrasyonlarında Müreksit indikatörü kullanıldı (Schwarzenbach, 1969). Uygun seyreltmeler yapılarak istenilen konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı.

Stok Standart Cu(II) Çözeltisinin Hazırlanması

Cu(II) standardı, 2.6840 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ saf suda çözülerek 1000 mg/L derişiminde 1 L hacminde stok çözelti hazırlanmış ve metal çözeltinin konsantrasyonu kompleksometrik EDTA titrasyonu ile belirlendi. Cu(II) iyonunun EDTA ile titrasyonu sırasıyla PAN indikatörü kullanıldı (Schwarzenbach, 1969). Uygun seyreltmeler yapılarak istenilen konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı

L₁ Çözeltisi (5×10^{-4} M)

L₁ çözeltisi, 0.0507 g L₁ ligandı 250 mL mutlak etil alkolde çözülerek hazırlandı.

L₂ Çözeltisi (5×10^{-4} M)

L₂ çözeltisi, 0.0454 g L₂ ligandı 250 mL mutlak etil alkolde çözülerek hazırlandı.

3.3.1 Yüzey Aktif Madde Çözeltilerin Hazırlanması

Kullanılan yüzey aktif maddelerden Triton X-100 (%98, Merk), 1-Setilpiridinyum klorür (%96, Merk), Sodyumdodesilsülfat(%95, Merck), Hekzadesiltrimetilamonyumbromür (%98, Acros), 1-Hekzadesilpiridinyum bromür (%99, Merck), Benzildimetiltetradesilamonyum

klorür (%99, Merck), 0.01M'lık çözeltileri, Tween-20 (Merck), Tween-60(Merck) , Tween-80 (Merck) çözeltilerinin ise %5'lik çözeltileri hazırlandı.

3.4 Yabancı iyon etkisinin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Yabancı iyon etkisinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal maddeler **Tablo 3.1**'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Yabancı iyon etkisinin belirlenmesinde kullanılan iyon ve iyonun hazırlandığı bileşikler.

İyon	Hazırlanan Bileşiği
Fe^{+2}	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}$
Fe^{+3}	$\text{FeCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$
Al^{+3}	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3.9\text{H}_2\text{O}$
Pb^{+2}	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
Co^{+2}	$\text{CoCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$
Hg^{+2}	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$
Cu^{+2}	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2.3\text{H}_2\text{O}$
Cr^{+3}	$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3.9\text{H}_2\text{O}$
Zn^{+2}	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2.6\text{H}_2\text{O}$
Mn^{+2}	$\text{MnCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$
Cd^{+2}	$\text{CdCl}_2.\text{H}_2\text{O}$
Mg^{+2}	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2.6\text{H}_2\text{O}$
Ca^{+2}	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2.4\text{H}_2\text{O}$
Sr^{+2}	$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$
Ni^{+2}	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2.6\text{H}_2\text{O}$
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}.2\text{H}_2\text{O}$
Ba^{+2}	$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$
Cl^-	NaCl
NO_3^-	NaNO_3
SO_4^{-3}	Na_2SO_4
CH_3COO^-	CH_3COONa
$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{-2}$	$\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6.2\text{H}_2\text{O}$
$\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3.5\text{H}_2\text{O}$
I^-	KI
F^-	NaF
$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{-3}$	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7.5.5\text{H}_2\text{O}$
NH_4^+	NH_4Cl
$\text{N}_2\text{H}_2\text{CS}$	$\text{N}_2\text{H}_2\text{CS}$

3.5 Örneklerin Analize Hazırlanması

Kan ve serum gibi biyolojik ve Pharmaton (Lugano-Bioggio, Switzerland), Supradyn (Roche, Türkiye) gibi farmasötik örneklerde Cu(II) ve Ni(II) konsantrasyonlarının tayini için, geliştirilen metodun uygulanabilirliği araştırıldı. Analizi yapılacak örnekler kuru ve yaş yakma metodu uygulanarak çözüldü. Kuru yakma metodu için; farmasötik örneklerden 1 gr numune alınarak 480° C' de 4 saat bekletilerek yakıldı. Oluşan küle 4 mL derişik HNO₃, ve 1 mL derişik H₂O₂ ilave edildi ve karışım kuruluğa kadar buharlaştırıldıktan sonra hacmi 1M HNO₃ ile 10 mL'ye tamamlandı. Yaş yakma işleminde, mikrodalga üniteli kapalı sistem kullanılarak teflon bombada çözme işlemi yapıldı. Örneklerden, 4 g tartılarak teflon bombaya konuldu ve 4 mL HNO₃, 2mL HClO₄ ve 2 mL H₂O₂ ilave edildi. 1 saat bekletilerek teflon bombanın kapağı sıkıcı kapatıldı. Mikro dalga 150 W'ta 5 dakika çalıştırılarak teflon bomba soğutuldu. Daha sonra mikro dalga ünitesi 300 W'ta 5 dakika daha çalıştırıldı. Örneklerin soğuması için teflon bomba 4 saat bekletilerek kapağı açıldı. Elde edilen berrak çözelti behere konularak kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve hacmi 1M HNO₃ ile 5 mL'ye tamamlandı.

Yaş ve kuru yakma metodunda uygulanan işlemler, metal iyonlarını içermeyen kör çözeltisine de uygulandı ve her bir örnekteki bakır ve nikel miktarı mevcut metotla tayin edildi.

3.6 Deneysel Kısım

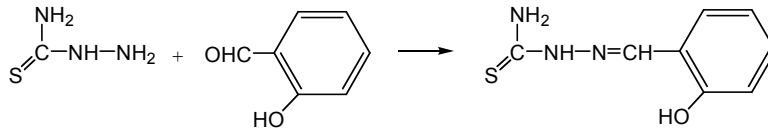
3.6.1 Genel Bilgi

Bu çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiş, birinci aşamada Çukurovalı ve arkadaşları (145, 146) tarafından sentezlenen, protonasyon sabitleri ve kompleks kararlılık sabitleri belirlenmiş 2,4-disüstitüe tiyazol türevi Schiff Bazının iki farklı fonksiyon grubu içeren ligandları kullanılarak (Şekil 1) spektrofotometrik yöntemle Ni(II) ve Cu(II) tayinleri için uygun optimal şartlar belirlenmiştir. Bu amaçla, her bir ligand için, uygun ekstraksiyon ortamı, maksimum dalga boyu, optimum pH, reaktif miktarı, uygun yüzey aktif madde ve zamana bağlı olarak reaksiyon ortamı tespit edilmiştir. Optimal şartların belirlenmesinden sonra, oluşturulan komplekslerin molar absorplama katsayıları, Sandell sabitleri, tayinin güven aralığı ve tayin için bozucu etkisi olabilecek anyon ve katyonlar tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında optimal şartları belirlenmiş bu ligandlar yardımı ile biyolojik ve farmasötik örneklerde Cu(II) ve Ni(II) tayini yapılmıştır.

3.6.2 Schiff Bazlarının Sentezi

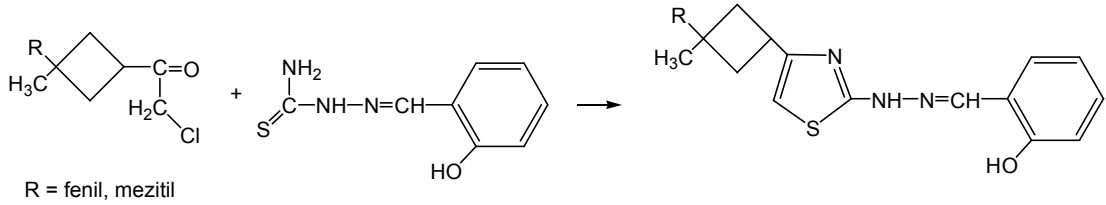
Kullanılan L_1 ve L_2 ligandı aşağıdaki şekilde ve literatüre uygun olarak elde edildi (145, 146). Bu tür Schiff bazlarının sentezi iki basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamakta tiyosemikarbazit ile aromatik aldehitlerin reaksiyonu sonucu tiyosemikarbazon bileşiği, ikinci basamakta ise tiyosemi karbazon bileşiği ile klor-ketonun reaksiyonu sonucu tiyazol halkalı Schiff bazı sentezlenmiştir.

I. basamak



10 mmol tiyosemikarbazitin 50 mL mutlak etanoldeki süspansiyonu üzerine 10 mmol aldehitin 20 mL mutlak etanoldeki çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon 60-70 °C'ta 2-3 saat devam ettirildikten sonra durduruldu. Oluşan çökelek süzülerek bir kaç kez soğuk alkolle yıkandıktan sonra kurutuldu.

II. basamak



10 mmol tiyosemikarbazon bileşiğinin 30 mL mutlak etanoldeki sıcak çözeltisi üzerine 10 mmol klor-ketonun 10 mL mutlak etanoldeki sıcak çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon 50-60 °C'ta IR ile takip edilerek devam ettirildi. Reaksiyon durdurulduktan sonra % 5'lik NH_3 çözeltisi ile nötrleştirildi. Oluşan çökelek süzülerek kurutulduktan sonra etil alkolde kristallendirildi.

3.6.3 Komplekslerin Sentezi

3.6.3.1 Bakır(II) Kompleksinin Sentezi

0.5 mmol ligandın 20 mL mutlak etanoldeki sıcak çözeltisine 0.25 mmol $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'nun 10 mL mutlak etanoldeki sıcak çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 70-80 °C'ta 30-40 dakika karıştırılarak devam ettirildikten sonra durduruldu. Bir gece bekletildikten sonra oluşan çökelek süzülerek önce soğuk etil alkolle sonra su ile yıkandı.

3.6.3.2 Nikel(II) Komplekslerinin Sentezi

0.5 mmol ligandın 20 mL mutlak etanoldeki sıcak çözeltisine 0.25 mmol $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'nun 10 mL mutlak etanoldeki sıcak çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 70-80 °C'ta 30-40 dakika karıştırılarak devam ettirildikten sonra durduruldu. Bir gece bekletildikten sonra oluşan çökelek süzülerek önce soğuk etil alkolle sonra su ile yıkandı.

3.6.4 L_1 Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Cu(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi

L_1 ve L_2 ligandları ile bakır tayini için yapılan optimizasyon çalışmasında bakır komplekslerinin optimal şartları, sulu ortamda da belirlenmiş fakat bu şartlar numunelere uygulandığında çökme gözlemlendiği için kloroform fazı tercih edilmiştir.

3.6.4.1 Çalışılacak Maksimum Absorpsiyon Dalga Boyunun Tespit Edilmesi

Bu işlem için; 5×10^{-4} M L_1 ligandı, 10 µg/mL Cu(II) ve 3 µg/mL L_1 :Cu(II) kompleks çözeltileri hazırlandı. Çalışmada kullanılan 10 µg/mL Cu(II) çözeltisi sulu ortamda, L_1 ligandı ve L_1 :Cu(II) çözeltileri ise kloroform fazına alınarak Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrede 200-700nm arasında tarama yapıldı ve spektrumları alındı.

3.6.4.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

L_1 :Cu(II) kompleksinin sulu ortamdaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle kompleks organik faza ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemi için için n-hekzan, ksilen, toluen, benzen,

diklormetan, karbontetraklorür, oktanol, kloroform, dietileter gibi birçok organik çözücü denendi.

3.6.4.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi

Bu işlem için 3 µg/mL L_1 :Cu(II) kompleks çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan kompleks çözeltisinin pH değeri 0-14 aralığında değiştirilerek, oluşturulan kompleks çözeltileri kloroform fazına alındı ve her pH değeri için 420 nm’de bir absorbans ölçüldü. pH, 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlandı. Elde edilen değerlerden bir pH-absorbans eğrisi çizildi.

3.6.4.4 Kullanılacak Tampon Çözeltisinin Seçimi

L_1 :Cu(II) ve komplekslerinin oluşumu ve absorpsiyonu üzerine tampon çözeltisinin etkisini araştırmak üzere pH’ ı 9 olan KH_2PO_4 / K_2HPO_4 , $NaHCO_3$ / Na_2CO_3 , H_3BO_3 / NaH_2BO_3 ve NH_3 / NH_4Cl tampon çözeltilerinin etkisi incelendi.

3.6.4.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi

L_1 ligandının bakır(II) ile oluşturduğu kompleksin stokiyometrik bileşimi incelendi. Bu işlem için 5×10^{-4} M Cu(II) ve L_1 ligand çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden devamlı değişimler (Job) metoduna göre ana çözeltiler ve bunların kör çözeltileri hazırlandı. Oluşan kompleks kloroform fazına ekstrakte edilerek 420 nm’de kör çözeltilere karşı ana çözeltilerin absorbansı okundu. Bulunan absorbans değerleri Cu(II)’nin mol kesrine karşı grafiğe geçirildi.

3.6.4.6 Ligand Miktarının Etkisi

3 µg/mL Cu^{+2} iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL’lik balon jojeye alındı, 5 mL pH 9 tampon çözeltisi ilave edildi. Üzerine çeşitli hacimlerde ligand (5×10^{-4} M L_1) ilavesi yapıldıktan sonra son hacmi deiyonize su ile 10 mL’ye tamamlanarak, 10 mL kloroform ile ekstraksiyon yapıldı. Hazırlanan her bir çözeltinin absorbansı 420 nm’de okundu. Ortama eklenen ligand hacminden, ligand derişimleri hesaplandı ve değişen ligand derişimlerine karşı ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirildi.

3.6.4.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi

Tayin sınırları içerisinde 3 µg/mL Cu⁺² iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL'lik balon jojeye alındı. Üzerine 3 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₁ ligandı), 5 mL pH 9 tampon çözeltisi ilave edildi. Karışım işaret çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlandı. Kompleks çözeltisi, 10 mL kloroform ile sulu ortamdan organik faza ekstakte edildi. Kompleksin tamamının organik faza alınması için gereken çalkalama süresi optimize edildi.

3.6.4.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması

Bozucu iyonlar ile Cu⁺² iyonlarının ikili karışımlarından, bakırın tayini ve seçiciliği optimum şartlarda araştırıldı. Bunun etkisini incelemek üzere **Tablo 3.1**'de bulunan anyon ve katyonlar kullanıldı. Her defasında 3 mg/L Cu⁺² iyonları olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Ayrıca bozucu iyon etkisi araştırılacak değişik iyon çözeltilerinden, çeşitli hacimlerde ortama eklendi ve tayin yapılacak dalga boyunda engel oluşturup oluşturmadığına bakıldı. Bu işlemler yapılırken ortama ilave edilen maddelerin, bakır(II)- bozucu iyon - ligand- tampon çözeltisi sıralamasında olmasına dikkat edildi. Her defasında absorbans okundu. Başlangıç absorbansından ± 0,04 daha fazla sapmaya neden olan yabancı iyonların derişim aralıkları belirlendi.

3.6.4.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi

L₁:Cu(II) kompleksinin absorpsiyonu üzerine anyonik- sodyum dodesilsülfat, katyonik- setilpridinyum klorür, hegzadesiltrimetilamonyum bromür, hegzadesilpiridinyum bromür, benzildimetiltetradesilamonyum klorür, non-iyonik Triton X-100, Tween-20, Tween-60, Tween-80'in etkisi araştırıldı.

3.6.5 L₁ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Ni(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi

3.6.5.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi

Bu işlem için; 5x10⁻⁴ M L₁ ligandı, 10 µg/mL Ni(II) ve 3 µg/mL L₁:Ni(II) kompleks çözeltileri hazırlandı ve oluşan kompleks 10 ml kloroform ile sulu ortamdan organik faza

ekstrakte edildi. Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrede 200-700nm arasında tarama yapılarak spektrumları alındı.

3.6.5.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

L_1 :Ni(II) kompleksinin sulu ortamdaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle kompleks organik faza ekstrakte edildi. Ekstraksiyonu için n-hekzan, ksilen, toluen, benzen, diklormetan, karbontetraklorür, oktanol, kloroform gibi birçok organik çözücü denendi.

3.6.5.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi

Bu işlem için 3 µg/mL L_1 :Ni(II) kompleks çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan kompleks çözeltisinin pH değeri 0-14 aralığında değiştirilerek, kompleks kloroform fazına alındı ve her pH değeri için 416 nm’de bir absorbens ölçüldü. pH, 1 M HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlandı. Elde edilen değerlerden bir pH-absorbans eğrisi çizildi.

3.6.5.4 Kullanılacak Tampon Çözeltisinin Seçimi

L_1 :Ni(II) ve komplekslerinin oluşumu ve absorpsiyonu üzerine tampon çözeltisinin etkisini araştırmak üzere pH’ ı 9.5 olan KH_2PO_4/ K_2HPO_4 , $NaHCO_3/ Na_2CO_3$, H_3BO_3/ NaH_2BO_3 ve NH_3/ NH_4Cl tampon çözeltilerinin etkisi incelendi.

3.6.5.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi

L_1 ligandının nikel(II) ile oluşturduğu kompleksin stokiyometrik bileşimi incelendi. Bu işlem için 5×10^{-4} M Ni(II) ve L_1 ligand çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden devamlı değişimler (Job) metoduna göre ana çözeltiler ve bunların kör çözeltileri hazırlandı. Oluşan kompleks kloroform fazına ekstrakte edilerek 416 nm’de kör çözeltilere karşı ana çözeltilerin absorbensı okundu. Bulunan absorbens değerleri Ni(II)’nin mol kesrine karşı grafiğe geçirildi.

3.6.5.6 Ligand Miktarının Etkisi

3 µg/mL Ni^{+2} iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL’lik balon jojeye alındı, 4 mL pH 9.5 tampon çözeltisi ilave edildi. Üzerine çeşitli hacimlerde ligand (5×10^{-4} M L_1) ilavesi yapıldıktan sonra son hacmi deiyonize su ile 10 mL’ye tamamlandı. 10 mL kloroform ile ekstraksiyon

yapıldı. Hazırlanan her bir çözeltinin absorpsiyonu 420 nm’de okundu. Ortama eklenen ligand miktarından ligand derişimleri hesaplandı ve değişen ligand derişimlerine karşı ölçülen absorpsiyon değerleri grafiğe geçirildi.

3.6.5.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi

Tayin sınırları içerisinde 3 µg/mL Ni⁺² iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL’lik balon jöjeye alındı. Üzerine 2 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₁ ligandı), 4 mL pH 9.5 tampon çözeltisi ilave edildi. Karışım işaret çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlandı. Kompleks çözeltisi, 10 mL kloroform ile sulu ortamdan organik faza ekstakte edildi. Kompleksin tamamının organik faza alınması için gereken çalkalama süresi optimize edildi.

3.3.5.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması

Bozucu iyonlar ile Ni⁺² iyonlarının ikili karışımlarından, nikelin tayini ve seçiciliği optimum şartlarda araştırıldı. Bunun etkisini incelemek üzere çok çeşitli anyon ve katyonlar kullanıldı. Her defasında 3 mg/L Ni⁺² iyonları olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Ayrıca bozucu iyon etkisi araştırılacak değişik iyon çözeltilerinden, çeşitli hacimlerde ortama eklendi ve tayin yapılacak dalga boyunda engel türetilmediğine bakıldı. Bu işlemler yapılırken ortama ilave edilen maddelerin, nikel(II)- bozucu iyon - ligand- tampon çözeltisi sıralamasında olmasına dikkat edildi. Her defasında absorpsiyon okundu. Başlangıç absorpsiyonundan ± 0,04 daha fazla sapmaya neden olan yabancı iyonların derişim aralıkları belirlendi.

3.6.5.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi

L₁:Ni(II) kompleksinin absorpsiyonu üzerine anyonik- sodyum dodesilsülfat, katyonik-setilpridinyum klorür, hegzadesiltrimetilamonyum bromür, hegzadesilpiridinyum bromür, benzildimetiltetradecilamonyum klorür, non-iyonik Triton X-100, Tween-20, Tween-60, Tween-80’in etkisi araştırıldı.

3.6.6 L₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Cu(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi

3.6.6.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi

Bu işlem için; 5×10^{-4} M L₂ ligandı, 10 µg/mL Cu(II) ve 3 µg/mL L₂:Cu(II) kompleks çözeltileri hazırlandı ve 10 ml kloroform ile kompleks sulu ortamdan organik faza ekstrakte edildi. Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrede 200-700nm arasında tarama yapılarak spektrumları alındı.

3.6.6.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

L₂:Cu(II) kompleksinin sulu ortamdaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle kompleks organik faza ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyonu için n-hekzan, ksilen, toluen, benzen, diklormetan, karbontetraklorür, oktanol, kloroform gibi birçok organik çözücü denendi.

3.6.6.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi

Bu işlem için 3 µg/mL L₂:Cu(II) kompleks çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan kompleks çözeltisinin pH değeri 0-14 aralığında değiştirilerek, kompleks kloroform fazına alındı ve her pH değeri için 422 nm’de bir absorbans ölçüldü. pH, 1 M HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlandı. Elde edilen değerlerden bir pH-absorbans eğrisi çizildi.

3.6.6.4 Kullanılacak Tampon Çözeltisinin Seçimi

L₂:Cu(II) ve komplekslerinin oluşumu ve absorpsiyonu üzerine tampon çözeltisinin etkisini araştırmak üzere pH’ ı 9 olan KH₂PO₄/ NaOH, NaHCO₃/ NaOH, H₃BO₃/ NaOH ve NH₃/ NH₄Cl tampon çözeltilerinin etkisi incelendi

3.6.6.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi

L₂ ligandının bakır(II) ile oluşturduğu kompleksin stokiyometrik bileşimi incelendi. Bu işlem için 5×10^{-4} M Cu(II) ve L₂ ligand çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden devamlı değişimler (Job) metoduna göre ana çözeltiler ve bunların kör çözeltileri hazırlandı. Oluşan

kompleks kloroform fazına ekstrakte edilerek 422 nm’de kör çözeltilere karşı ana çözeltilerin absorpsiyonu okundu. Bulunan absorpsiyon değerleri Cu(II)’nin mol kesrine karşı grafiğe geçirildi.

3.6.6.6 Ligand Miktarının Etkisi

3 µg/mL Cu⁺² iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL’lik balon jöjeye alındı, 2 mL pH 9 tampon çözeltisi ilave edildi. Üzerine çeşitli hacimlerde ligand (5x10⁻⁴ M L₂) ilavesi yapıldıktan sonra son hacmi deiyonize su ile 10 mL’ye tamamlandı. 10 mL kloroform ile ekstraksiyon yapıldı. Hazırlanan her bir çözeltinin absorpsiyonu 420 nm’de okundu. Ortama eklenen ligand miktarından ligand derişimleri hesaplandı ve değışen ligand derişimlerine karşı ölçülen absorpsiyon değerleri grafiğe geçirildi.

3.6.6.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi

Tayin sınırları içerisinde 3 µg/mL Cu⁺² iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL’lik balon jöjeye alındı. Üzerine 2 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₂ ligandı), 2 mL pH 9 tampon çözeltisi ilave edildi. Karışım işaret çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlandı. Kompleks çözeltisi, 10 mL kloroform ile sulu ortamdan organik faza ekstakte edildi. Kompleksin tamamının organik faza alınması için gereken çalkalama süresi optimize edildi.

3.6.6.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması

Bozucu iyonlar ile Cu⁺² iyonlarının ikili karışımlarından, bakırın tayini ve seçiciliği optimum şartlarda araştırıldı. Bunun etkisini incelemek üzere çok çeşitli anyon ve katyonlar kullanıldı. Her defasında 3 mg/L Cu⁺² iyonları olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Ayrıca bozucu iyon etkisi araştırılacak değışik iyon çözeltilerinden, çeşitli hacimlerde ortama eklendi ve tayin yapılacak dalga boyunda engel türetilip türetilmediğine bakıldı. Bu işlemler yapılırken ortama ilave edilen maddelerin, nikel(II)- bozucu iyon - ligand- tampon çözeltisi sıralamasında olmasına dikkat edildi. Her defasında absorpsiyon okundu. Başlangıç absorpsiyonundan ± 0,04 daha fazla sapmaya neden olan yabancı iyonların derişim aralıkları belirlendi.

3.6.6.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi

L₂:Cu(II) kompleksinin absorpsiyonu üzerine anyonik- sodyum dodesilsülfat, katyonik- setilpridinyum klorür, hegzadesiltrimetilamonyum bromür, hegzadesilpiridinyum bromür, benzildimetiltetradesilamonyum klorür, non-iyonik Triton X-100, Tween-20, Tween-60, Tween-80’in etkisi araştırıldı

3.6.7 L₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Ni(II) Tayini İçin Optimal Şartların Belirlenmesi

3.6.7.1 Çalışılacak Maksimum Dalga Boyunun Tespit Edilmesi

Bu işlem için; 5×10^{-4} M L₂ ligandı, 10 µg/mL Ni(II) ve 3 µg/mL Ni(II):L₁ kompleks çözeltileri hazırlandı ve 10 ml kloroform ile kompleks sulu ortamdan organik faza ekstrakte edildi. Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrede 200-700nm arasında tarama yapılarak spektrumları alındı.

3.6.7.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

L₂:Ni(II) kompleksinin sulu ortamdaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle kompleks organik faza ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyonu için n-hekzan, ksilen, tolüen, benzen, diklormetan, karbontetraklorür, oktanol, kloroform gibi birçok organik çözücü denendi.

3.6.7.3 pH Çalışma Aralığının Tespit Edilmesi

Bu işlem için 3 µg/mL L₂:Ni(II) kompleks çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan kompleks çözeltisinin pH değeri 0-14 aralığında değiştirilerek, kompleks kloroform fazına alındı ve her pH değeri için 416 nm’de bir absorbans ölçüldü. pH, 1 M HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlandı. Elde edilen değerlerden bir pH-absorbans eğrisi çizildi.

3.6.7.4 Kullanılacak Tampon Çözeltisinin Seçimi

L₂:Ni(II) ve komplekslerinin oluşumu ve absorpsiyonu üzerine tampon çözeltisinin etkisini araştırmak üzere pH’ ı 9.5 olan KH₂PO₄/ K₂HPO₄, NaHCO₃/ Na₂CO₃, H₃BO₃/ NaH₂BO₃ ve NH₃/ NH₄Cl tampon çözeltilerinin etkisi incelendi.

3.6.7.5 Oluşan Kompleksin Stokiyometrisinin Belirlenmesi

L₂ ligandının nikel(II) ile oluşturduğu kompleksin stokiyometrik bileşimi incelendi. Bu işlem için 5×10^{-4} M Ni(II) ve L₂ ligand çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden devamlı değişimler (Job) metoduna göre ana çözeltiler ve bunların kör çözeltileri hazırlandı. Oluşan kompleks kloroform fazına ekstrakte edilerek 416 nm’de kör çözeltilere karşı ana çözeltilerin absorbansı okundu. Bulunan absorbans değerleri Ni(II)’nin mol kesrine karşı grafiğe geçirildi.

3.6.7.6 Ligand Miktarının Etkisi

3 µg/mL Ni^{+2} iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL'lik balon jojeye alındı, 1.5 mL pH 9 tampon çözeltisi ilave edildi. Üzerine çeşitli hacimlerde ligand (5×10^{-4} M L_2) ilavesi yapıldıktan sonra son hacmi deiyonize su ile 10 mL'ye tamamlandı. 10 mL kloroform ile ekstraksiyon yapıldı. Hazırlanan her bir çözeltinin absorbansı 416 nm'de okundu. Ortama eklenen ligand miktarından ligand derişimleri hesaplandı ve değişen ligand derişimlerine karşı ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirildi.

3.6.7.7 Çalkalama Süresinin Belirlenmesi

Tayin sınırları içerisinde 3 µg/mL Ni^{+2} iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL'lik balon jojeye alındı. Üzerine 2.5 mL kompleksleştirici (5×10^{-4} M L_2 ligandı), 1.5 mL pH 9 tampon çözeltisi ilave edildi. Karışım işaret çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlandı. Kompleks çözeltisi, 10 mL kloroform ile sulu ortamdan organik faza ekstakte edildi. Kompleksin tamamının organik faza alınması için gereken çalkalama süresi optimize edildi.

3.6.7.8 Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması

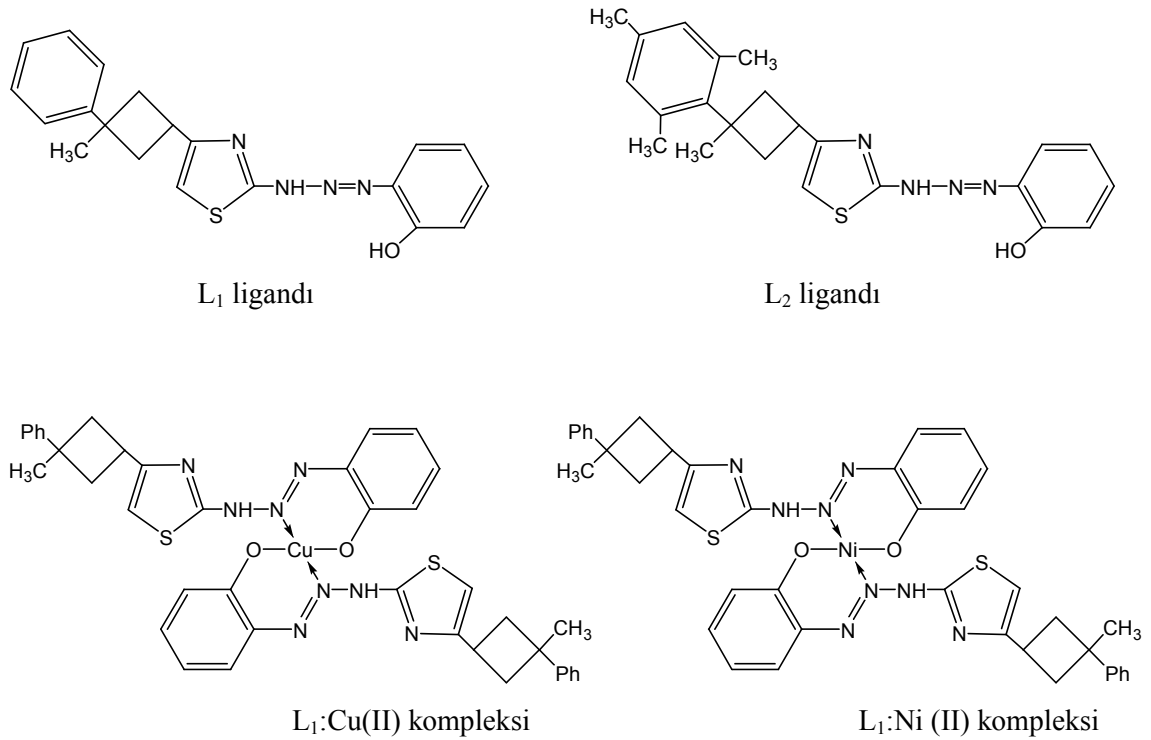
Bozucu iyonlar ile Ni^{+2} iyonlarının ikili karışımlarından, nikelin tayini ve seçiciliği optimum şartlarda araştırıldı. Bunun etkisini incelemek üzere çok çeşitli anyon ve katyonlar kullanıldı. Her defasında 3 mg/L Ni^{+2} iyonları olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Ayrıca bozucu iyon etkisi araştırılacak değişik iyon çözeltilerinden, çeşitli hacimlerde ortama eklendi ve tayin yapılacak dalga boyunda engel türetilip türetilmediğine bakıldı. Bu işlemler yapılırken ortama ilave edilen maddelerin, nikel(II)- bozucu iyon - ligand- tampon çözeltisi sıralamasında olmasına dikkat edildi. Her defasında absorbans okundu. Başlangıç absorbansından $\pm 0,04$ daha fazla sapmaya neden olan yabancı iyonların derişim aralıkları belirlendi.

3.6.7.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi

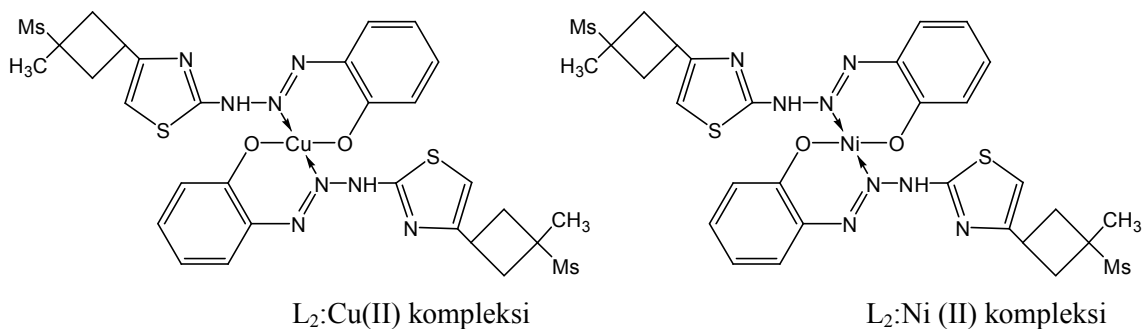
$\text{L}_2\text{:Cu(II)}$ kompleksinin absorpsiyonu üzerine anyonik- sodyum dodesilsülfat, katyonik- setilpridinyum klorür, hekzadesiltrimetilamonyum bromür, hekzadesilpiridinyum bromür, benzildimetiltetradesilamonyum klorür, non-iyonik Triton X-100, Tween-20, Tween-60, Tween-80'in etkisi araştırıldı.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada Çukurovalı ve arkadaşları tarafından sentezlenen (145, 146) Schiff Bazları [4-(1-mezitil-1-metilsiklobütil-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol (L_1) ligandı, 4-(1-fenil-1-metilsiklobütil-3-il)-2-(2-hidroksibenzilidenhidrazino) tiyazol (L_2)] kullanılarak spektrofotometrik yöntemle Ni(II) ve Cu(II) tayinleri için uygun optimal şartlar belirlendi. Kullanılan Schiff Bazlarının, protonasyon sabitleri ve kompleks kararlılık sabitleri belirlenmiş olup, ligandların ve komplekslerinin formülleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’ de verildi. Bu amaçla, her bir ligand için, uygun ekstraksiyon ortamı, maksimum dalga boyu, optimum pH, reaktif miktarı, uygun yüzey aktif madde ve zamana bağlı olarak reaksiyon ortamı tespit edilmiştir. Optimal şartların belirlenmesinden sonra, oluşturulan komplekslerin molar absorplama katsayıları, Sandell sabitleri, tayinin güven aralığı ve tayin için interferans etkisi olabilecek anyon ve katyonlar tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında optimal şartları belirlenmiş bu ligandlar yardımı ile biyolojik ve farmasötik örneklerde Cu(II) ve Ni(II) tayini yapıldı.



Şekil 4.1 L_1 , L_2 ligandları ile bu ligandların L_1 :Cu(II), L_1 :Ni(II) komplekslerinin molekül formülleri.



Şekil 4.2 L₂:Cu(II), L₂:Ni(II) komplekslerinin molekül formülleri.

4.1 Sentezlenen Schiff Bazları ve Cu(II),Ni(II) Komplekslerinin Karakterizasyonu

Çalışmamızda sentezlenen Schiff Bazlarının ve bunların Cu(II), Ni(II) komplekslerinin karakterizasyonu IR, ¹H NMR, elementel analiz ve manyetik süseptibilite gibi enstrümental metodlar kullanılarak yapıldı. Sentezlenen maddelerin analitik ve fiziksel verileri **Tablo 4.1** 'de karakteristik IR pikleri Tablo 4.2'de ve ligandların ¹H NMR değerleri **Tablo 4.3**'de verilmiştir.

Tablo 4.1 L₁, L₂ Ligandlarının ve Cu(II), Ni(II) komplekslerinin analitik ve fiziksel verileri

Bileşik	M.A. (g.mol ⁻¹)	Renk	E.n. (°C)	Verim (%)	μ _{eff} (B.M.)	Element Analizi, % Hesaplanan(Bulunan)			
						C	H	N	S
Ligand (L ₁)	363.49	Açık sarı	194	64	-	69.39 (69.79)	5.82 (4.82)	11.56 (11.25)	8.82 (9.12)
Ligand (L ₂)	405.57	Açık sarı	225	82	-	71.19 (71.08)	6.71 (6.60)	10.36 (10.40)	7.91 (7.72)
L ₁ :Cu	788.51	Koyu yeşil	269 boz.	85	1.84	63.98 (63.50)	5.11 (5.42)	10.66 (10.85)	8.13 (8.45)
L ₁ :Ni	783.66	Yeşil	310 boz.	88	3.26	64.37 (64.43)	5.15 (4.90)	10.72 (10.44)	8.18 (7.85)
L ₂ :Cu	872.66	Koyu yeşil	237	83	1.89	66.07 (65.07)	6.01 (5.86)	9.63 (9.52)	7.35 (6.74)
L ₂ :Ni	867.82	Açık yeşil	307	88	2.81	66.44 (66.02)	6.04 (5.65)	9.68 (9.58)	7.39 (6.82)

Tablo 4.2 L₁, L₂ Ligandlarının ve Cu(II), Ni(II) komplekslerinin karakteristik IR pikleri (cm⁻¹)

Bileşik	$\nu(\text{OH})^*$	$\nu(\text{C-O})$	$\nu(\text{C=N})$ tiyazol	$\nu(\text{C=N})$ azometin	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C-S-C})$ tiyazol
Ligand (L ₁)	3182	1268	1600	1625	3131	657
Ligand(L ₂)	3285	1187	1625	1651	3131	655
L ₁ :Cu	-	1306	1600	1604	3131	657
L ₁ :Ni	-	1306	1600	1604	3131	657
L ₂ :Cu	-	1191	1625	1576	3131	655
L ₂ :Ni	-	1189	1625	1574	3131	655

- *orto* pozisyonundaki (-OH) grubu

Tablo 4.2'de verilen IR değerleri ve **Tablo 4.1**'de verilen element analiz sonuçları yapıların oluştuğunu desteklemektedir.

Tablo 4.3 L₁, L₂ Ligandlarının ¹H NMR verileri

Fonks. Grup	Kimyasal kayma (δ , p.p.m)	
	L ₁	L ₂
HC=N	8.12 (s, 1H)	8.12 (s, 1H)
>C-H	3.68 (q, 1H)	3.54 (q, 1H)
CH ₃	1.47 (s, 3H)	1.47 (s, 3H)
Ms-CH ₃ <i>orto</i>	2.17 (s, 6H)	-
Ms-CH ₃ <i>para</i>	2.41 (s, 3H)	-
CH ₂	2.56 (d, 4H)	2.4-2.5 (d, 4H)
C-H, <i>tiyazol</i>	6.06 (s, 1H)	6.06 (s, 1H)
-NH	10.02 (s, 1H)	10.0 (s, 1H)
-OH*	10.11 (s, 1H)	10.06 (s, 1H)
Aromatikler	6.9-7.3 (m 6H)	6.9-7.3 (m, 9H)

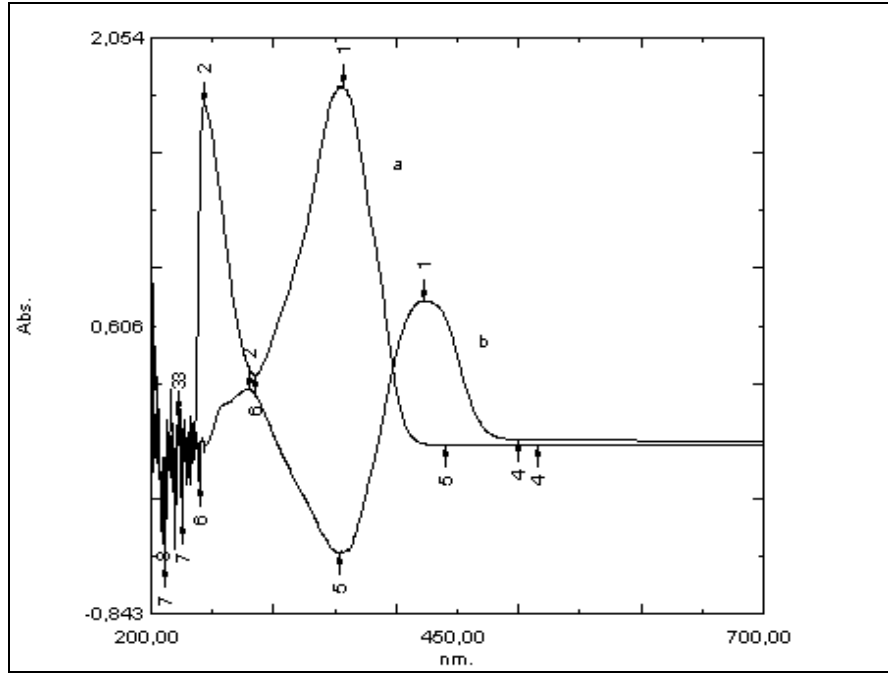
* *orto* pozisyonundaki (-OH) grubu

Tablo 4.3'de verilen ¹H NMR değerlerine bakıldığında, L₁ ve L₂ ligandlarına ait kaymalar sırasıyla 8.12, 8.12 ppm'de C=N'e ait bir protonluk singlet, 6.06, 6.06 ppm'de tiyazol halkasındaki CH'a ait bir protonluk singlet, 10.02, 10.0 ppm'de N-H'a ait bir protonluk singlet, 10.11, 10.6 ppm'de OH'a ait bir protonluk singlet ve 6.9-7.3, 6.9, 7.3 ppm'de aromatlere ait multipler pik değerleri görülmektedir.

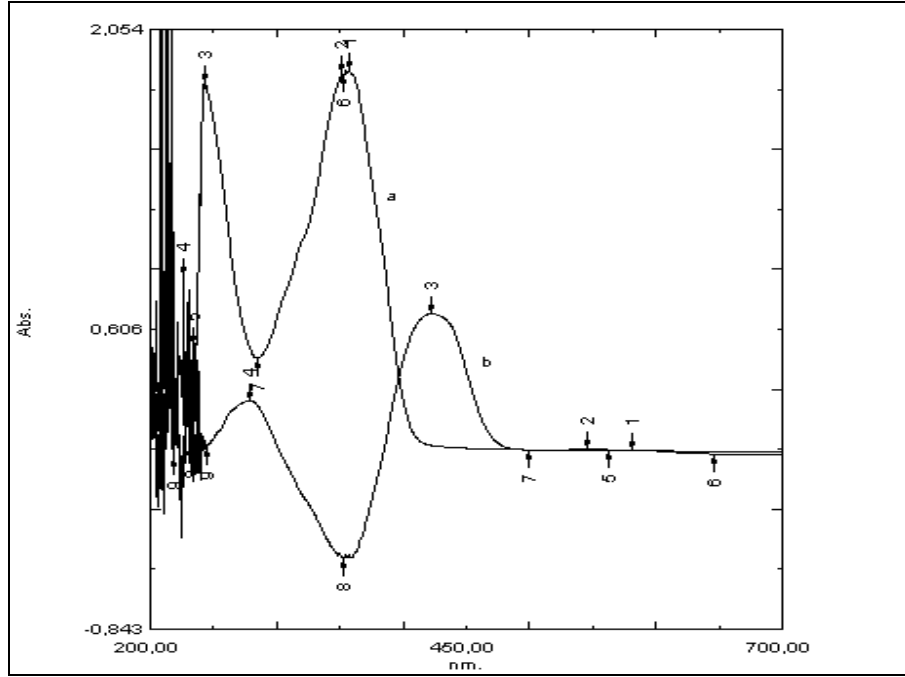
4.2 L₁ ve L₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Cu(II) Tayini İçin Optimal Şartlar

4.2.1 Çalışılan Maksimum Absorpsiyon Dalga Boyu

Bu işlem için; 5×10^{-4} M L₁ ve L₂ ligandları, 3 µg/mL L₁:Cu(II), L₂:Cu(II) kompleks çözeltileri hazırlandı. Çalışmada kullanılan 10 µg/mL Cu(II) çözeltisi sulu ortamda, ligand ve kompleks çözeltileri ise kloroform fazına alınarak Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrede 200-700 nm arasında tarama yapıldı ve spektrumları alındı. **Şekil 4.3**'de ve **Şekil 4.4**'te görüldüğü gibi L₁ ligandı sırasıyla 244 ve 356.5 nm'de, L₂ ligandı 243.5 ve 358 nm'de, L₁:Cu(II):kompleksi 420 nm'de, L₂:Cu(II) kompleksi 422 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir.



Şekil 4.3 5×10^{-4} M L₁ ligandının (a) ve 3 µg/mL L₁:Cu(II) (b) kompleksinin spektrumları



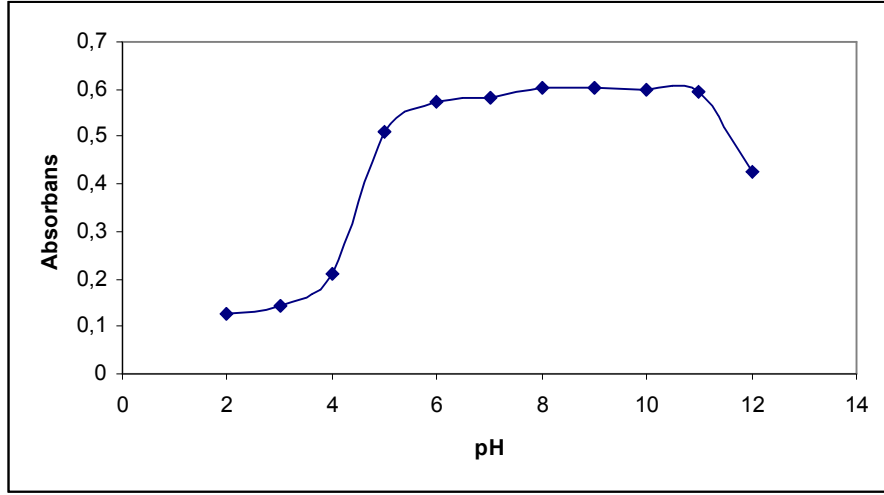
Şekil 4.4 5×10^{-4} M L_2 ligandının (a), ve $3 \mu\text{g/mL}$ $L_2\text{:Cu(II)}$ (b) kompleksinin spektrumları

4.2.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

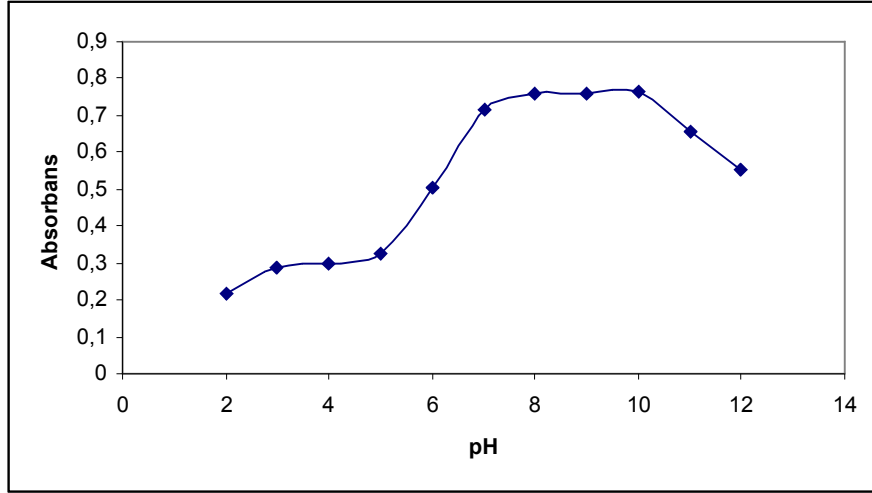
$L_1\text{:Cu(II)}$, $L_2\text{:Cu(II)}$ komplekslerinin sulu ortamdaki çözünürlüklerinin düşük olması sebebiyle kompleksler organik faza ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemi için için n-hekzan, ksilen, toluen, benzen, diklormetan, karbonditetraklorür, oktanol, kloroform ve dietil eter gibi birçok organik çözücü denendi. $L_1\text{:Cu(II)}$ ve $L_2\text{:Cu(II)}$ komplekslerinin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün kloroform olduğu belirlendi.

4.2.3 pH Çalışma Aralığı

Bu işlem için $3 \mu\text{g/mL}$ $L_1\text{:Cu(II)}$ ve $L_2\text{:Cu(II)}$ komplekslerinin çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan kompleks çözeltilerinin pH değeri 0-14 aralığında değiştirilerek, kompleks çözeltileri kloroform fazına alındı ve her pH değeri için 420 nm 'de ve 422 nm 'de bir absorbans ölçüldü. pH, 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlandı. Elde edilen değerlerden bir pH-absorbans eğrisi çizildi. **Şekil 4.5** ve **Şekil 4.6**'te görüldüğü gibi pH 8-10 arasında her iki ligand ile bakır(II) tayininin yapılabileceği tespit edildi.



Şekil 4.5 L_1 :Cu(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi



Şekil 4.6 L_2 :Cu(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi

4.2.4 Kullanılan Tampon Çözeltisinin Seçimi

L_1 :Cu(II), L_2 :Cu(II) komplekslerinin oluşumu ve absorpsiyonu üzerine tampon çözeltisinin etkisini araştırmak üzere pH' ı 9 olan KH_2PO_4 / K_2HPO_4 , $NaHCO_3$ / Na_2CO_3 , H_3BO_3 / NaH_2BO_3 ve NH_3 / NH_4Cl tampon çözeltilerinin etkisi incelendi. Her iki kompleks için en uygun tamponun NH_3 / NH_4Cl olduğu belirlendi ve bütün çalışmalarda bu tampon çözeltiden L_1 :Cu(II) için 5 mL ve L_2 :Cu(II) 2 mL kullanıldı.

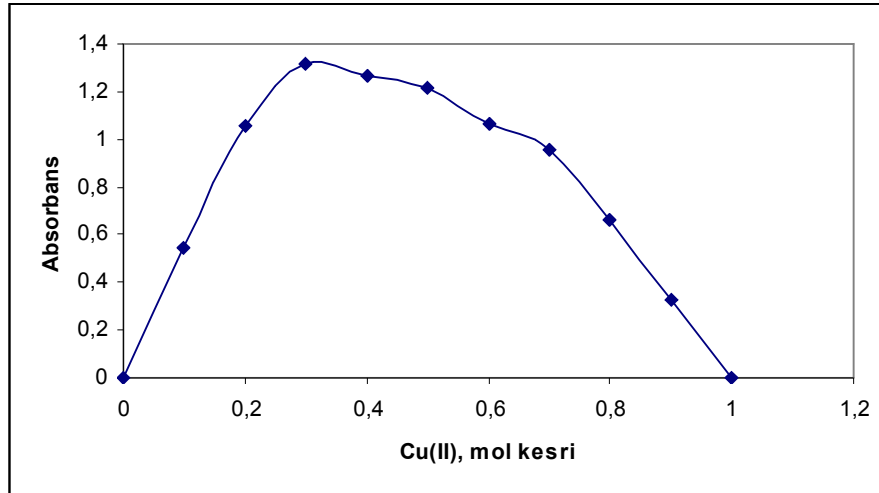
4.2.5 Oluşan Komplekslerin Stokiyometrilere Belirlenmesi

L_1 ve L_2 ligandlarının bakır(II) ile oluşturduğu komplekslerin stokiyometrik bileşimi incelendi. Bu işlem için 5×10^{-4} M Cu(II), L_1 ve L_2 ligand çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden devamlı değişmeler (Job) metoduna göre ana çözeltiler ve bunların kör çözeltileri aşağıda belirtilen oranlarda karıştırılarak hazırlandı. Oluşan kompleksler kloroform fazına ekstrakte edilerek 420 ve 422 nm’de kör çözeltilere karşı ana çözeltilerin absorbansı okundu. Bulunan değerler Cu(II)’nin mol kesrine karşı grafiğe geçirildi. **Şekil 4.7** ve **Şekil 4.8**’de görüldüğü gibi L_1 :Cu(II) ve L_2 :Cu(II) oranının 2:1 olduğu tespit edildi.

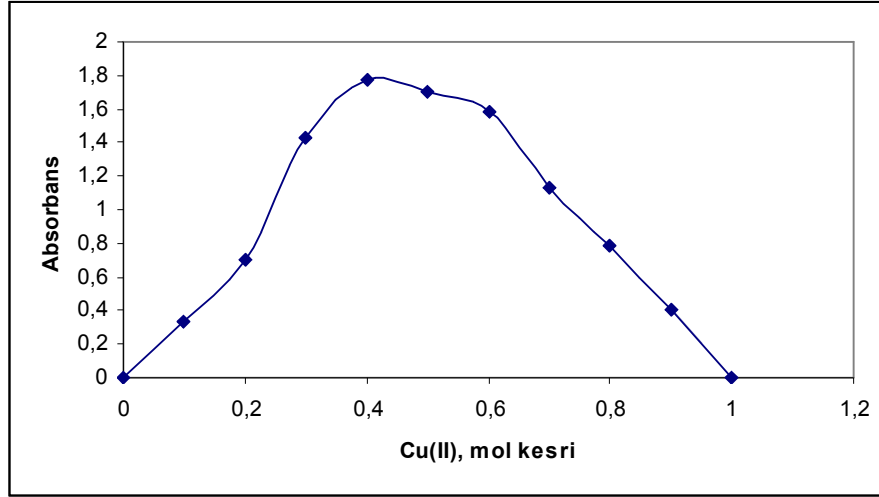
Cu(II)’nin hacmi (mL)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
L_1 ve L_2 ’nin hacmi (mL)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cu(II)’nin mol kesri	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.0

Ayrıca bu çözeltilerin her biri için kör çözeltileri aşağıdaki oranlarda karıştırılarak hazırlanmıştır.

Suyun hacmi (mL)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
L_1 ve L_2 ’nin hacmi (mL)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10



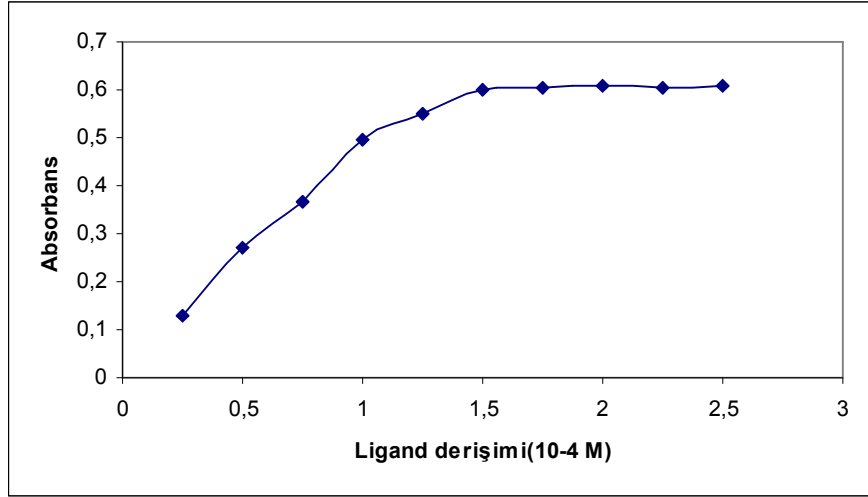
Şekil 4.7 Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre L_1 :Cu(II) kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi



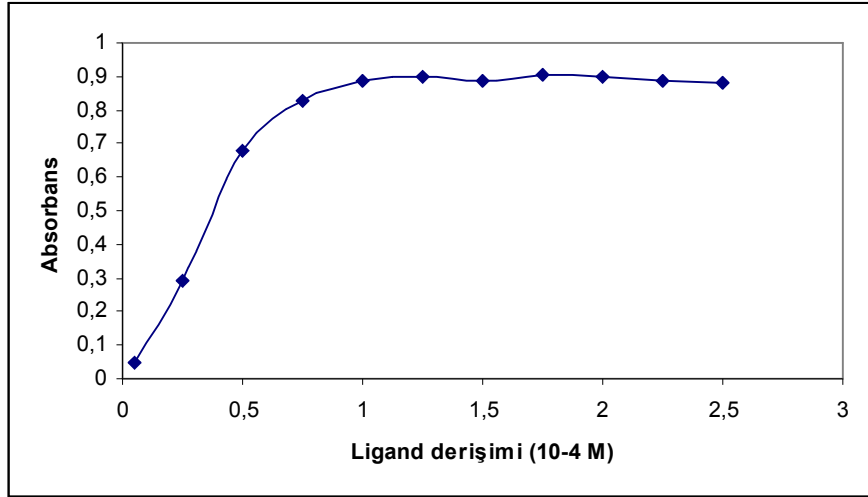
Şekil 4.8. Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre L_2 :Cu(II) kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi

4.2.6 Ligand Miktarının Etkisi

Cu^{+2} iyonlarının miktarı ($3 \mu\text{g/mL}$) sabit tutulup, çeşitli hacimlerde L_1 ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ve L_2 ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ligandından ilaveler yapılarak kompleks çözeltilerinin son hacimleri deiyonize su ile 10 mL 'ye tamamlandı. 10 mL kloroform ile ekstraksiyon yapıldı. Hazırlanan L_1 :Cu(II) ve L_2 :Cu(II) komplekslerinin absorbansı 420 ve 422 nm 'de okundu. Ortama eklenen ligand miktarından ligand derişimleri hesaplandı ve değişen ligand derişimlerine karşı ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Ligand ve metal tam kompleks oluşturduktan sonra ligandın fazlasının kompleks oluşumuna etkisinin olmadığı ve absorbansın belli bir derişimden sonra sabit kaldığı gözlenmiştir. **Şekil 4.9'**de ve **Şekil 4.10'**da görüldüğü gibi L_1 :Cu(II) kompleksi için $1.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ligand (yada $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ligand çözeltisinden 3 mL), L_2 :Cu(II) kompleksi için $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ligand (ya da $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ligand çözeltisinden 2 mL) ilavesinin yeterli olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.9 Ligand (L₁) miktarı- absorbans eğrisi

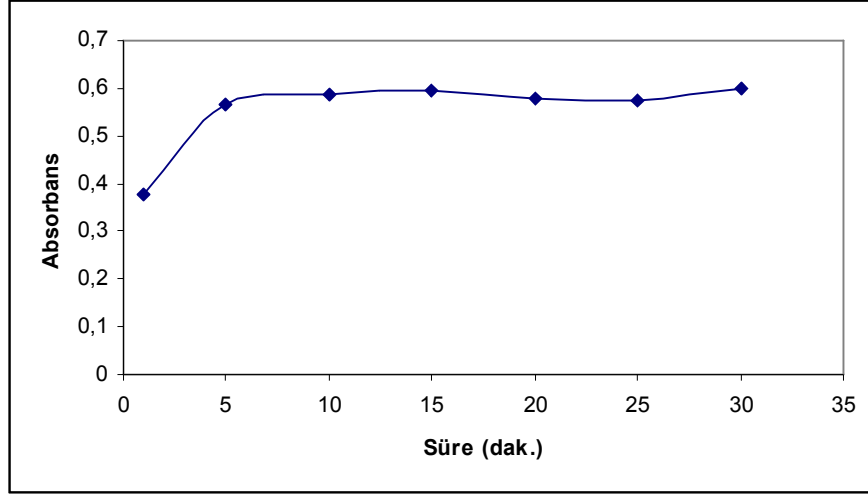


Şekil 4.10 Ligand (L₂) miktarı- absorbans eğrisi

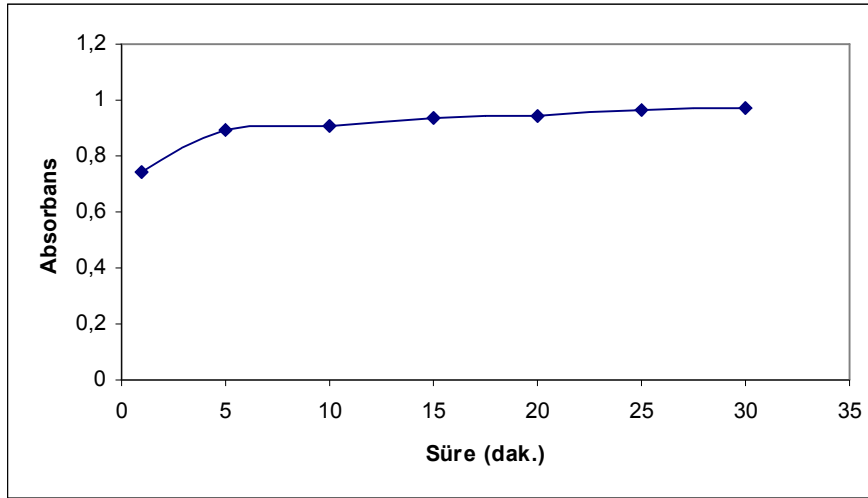
4.2.7 Çalkalama Süresi

Tayin sınırları içerisinde 3 µg/mL Cu⁺² iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL'lik balon jöjelere alındı. L₁:Cu(II) kompleksinin oluşumu için 3 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₁ ligandı), 5 mL pH 9 tampon çözeltisi, L₂:Cu(II) kompleksi için 2 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₁ ligandı) ve 2 mL ilave edildi. Karışımlar işaret çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlandı. Kompleks çözeltileri, 10 mL kloroform ile sulu ortamdan organik faza ekstakte edildi. Kompleksin tamamının organik faza alınması için gereken çalkalama süresi optimize

edildi ve absorbans değerlerinin Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de görüldüğü gibi ilk 5 dakikadan sonra sabit kaldığı tespit edildi (30. dakikadan sonraki veriler şekilde gösterilmedi).



Şekil 4.11 Çalkalama süresi-absorbans eğrisi (L₁:Cu)



Şekil 4.12 Çalkalama süresi-absorbans eğrisi (L₂:Cu)

4.2.8 Yabancı İyon Etkisi

Bozucu iyonlar ile Cu⁺² iyonlarının ikili karışımlarından, bakırın tayini ve seçiciliği optimum şartlarda araştırıldı. Bunun etkisini incelemek üzere Tablo 3.1’de bulunan anyon ve katyonlar kullanıldı. Her defasında 3 mg/L Cu⁺² iyonları olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Ayrıca bozucu iyon etkisi araştırılacak değişik iyon çözeltilerinden, çeşitli hacimlerde ortama eklendi ve tayin yapılacak dalga boyunda engel oluşturup oluşturmadığına bakıldı. Bu işlemler

yapılırken ortama ilave edilen maddelerin, bakır(II)- bozucu iyon - ligand- tampon çözeltisi sıralamasında olmasına dikkat edildi. Her defasında absorbands okundu. Başlangıç absorbandsından $\pm 0,04$ daha fazla sapmaya neden olan yabancı iyonların derişim aralıkları **Tablo 4.4** ve **Tablo 4.5**'de verilmiştir.

Tablo 4.4 L_1 ligandı ile 3 mg/L Cu(II)' nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi

İyon	Hazırlanan Bileşiği	Tolerans sınırı (mg/L)
Ni^{+2}	$Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0.5
Fe^{+2}	$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	3.0
Al^{+3}	$Al(NO_3)_3$	30.0
Co^{+2}	$Co(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	0.2
Pb^{+2}	$Pb(NO_3)_2$	Etkilemiyor
Hg^{+2}	$Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$	3.0
Mn^{+2}	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	15.0
Cr^{+3}	$Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	8.0
Mg^{+2}	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Etkilemiyor
Zn^{+2}	$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	25.0
Ca^{+2}	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	Etkilemiyor
Sr^{+2}	$Sr(NO_3)_2$	Etkilemiyor
Cd^{+2}	$CdSO_4 \cdot 8/3H_2O$	4.0
I^-	KI	1000
NO_3^-	$NaNO_3$	Etkilemiyor
Cl^-	$NaCl$	Etkilemiyor
$SO_4^{=}$	Na_2SO_4	Etkilemiyor
F^-	NaF	Etkilemiyor
Ac^-	$NaAc$	Etkilemiyor
Tiyoüre	$CS(NH_2)_2$	100
Na_2H_2Y	$Na_2H_2Y \cdot 2H_2O$	1.0
$S_2O_3^{-2}$	$Na_2S_2O_3$	12.0

Tablo 4.5 L₂ ligandı ile 3 mg/L Cu(II)'nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi

İyon	Hazırlanan Bileşiği	Tolerans sınırı (mg/L)
Ni ⁺²	Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.2
Fe ⁺²	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ .6H ₂ O	2.0
Al ⁺³	Al(NO ₃) ₃	30.0
Co ⁺²	Co(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	3.0
Pb ⁺²	Pb(NO ₃) ₂	Etkilemiyor
Hg ⁺²	Hg(NO ₃) ₂ .H ₂ O	3.0
Mn ⁺²	MnCl ₂ .4H ₂ O	5.0
Cr ⁺³	Cr(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	30.0
Mg ⁺²	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	Etkilemiyor
Zn ⁺²	Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	10.0
Ca ⁺²	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	Etkilemiyor
Sr ⁺²	Sr(NO ₃) ₂	Etkilemiyor
Cd ⁺²	CdSO ₄ .8/3H ₂ O	1.0
I ⁻	KI	800
NO ₃ ⁻	NaNO ₃	Etkilemiyor
Cl ⁻	NaCl	Etkilemiyor
SO ₄ ⁼	Na ₂ SO ₄	2500
F ⁻	NaF	Etkilemiyor
Ac ⁻	NaAc	10.000
Tiyoüre	CS(NH ₂) ₂	25
Na ₂ H ₂ Y	Na ₂ H ₂ Y.2H ₂ O	2
NH ₄ ⁺	NH ₄ Cl	7000
S ₂ O ₃ ⁻²	Na ₂ S ₂ O ₃	5.0

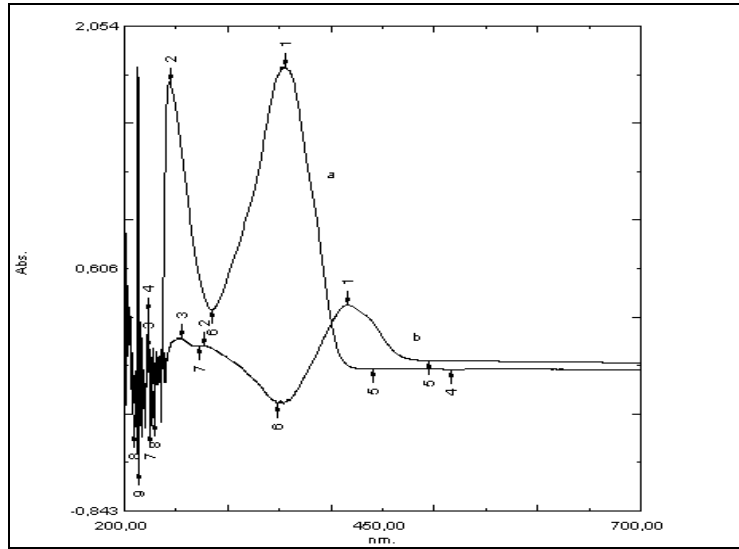
4.2.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi

L₁ ve L₂ ligandlarının Cu(II) komplekslerinin çözünürlüğü ve absorpsiyonu üzerine anyonik- sodyum dodesilsülfat, katyonik- setilpridinyum klorür, hekzadesiltrimetilamonyum bromür, hekzadesilpiridinyum bromür, benzildimetiltetradesilamonyum klorür, non-iyonik Triton X-100, Tween-20, Tween-60, Tween-80'in etkisi araştırıldı. Komplekslerin absorbansı üzerine hiçbir yüzey aktif maddenin etkisinin olmadığı belirlendi.

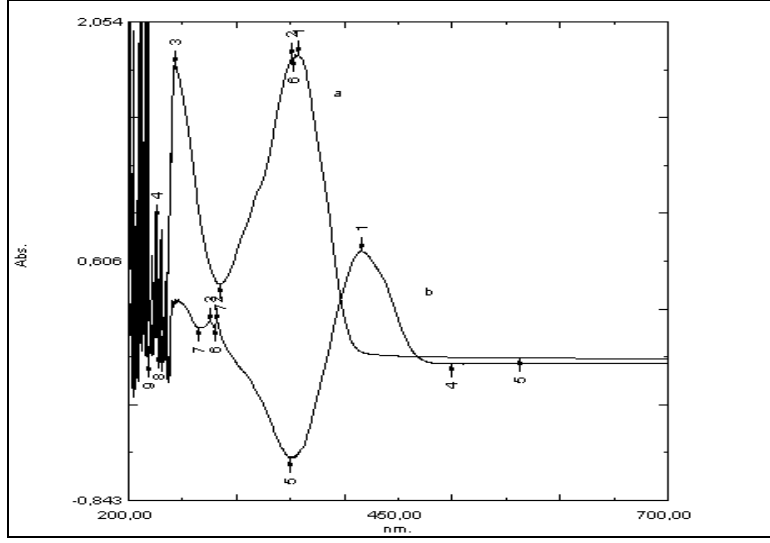
4.3 L₁ ve L₂ Ligandı Kullanılarak Spektrofotometrik Yöntemle Ni(II) Tayini İçin Optimal Şartlar

4.3.1 Çalışılan Maksimum Absorpsiyon Dalga Boyu

5×10^{-4} M L₁ ve L₂ ligandları ve 3 µg/mL L₁:Ni(II), L₂:Ni(II) kompleks çözeltileri hazırlandı. Çalışmada kullanılan 10 µg/mL Cu(II) çözeltisi sulu ortamda, ligand ve kompleks çözeltileri ise kloroform fazına alınarak Ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrede 200-700 nm arasında tarama yapıldı ve spektrumları alındı. Şekil 4.13’de ve Şekil 4.14’te görüldüğü gibi L₁:Ni(II) ve L₂:Ni(II) kompleksinin her ikisinde 416 nm’de maksimum absorpsiyon vermektedir.



Şekil 4.13 5×10^{-4} M L₁ ligandının (a) ve 3 µg/mL L₁:Ni(II) (b) kompleksinin spektrumları



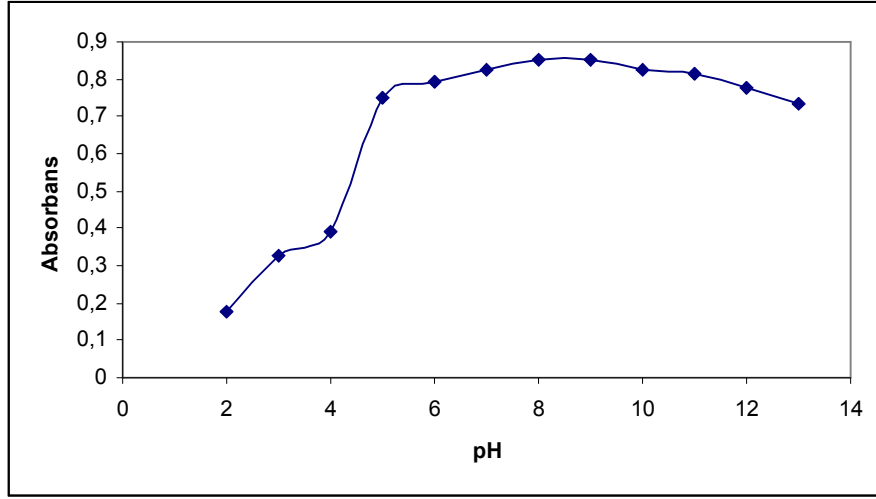
Şekil 4.14 5×10^{-4} M L_2 ligandının (a), ve $3 \mu\text{g/mL}$ $L_2\text{:Ni(II)}$ (b) kompleksinin spektrumları

4.3.2 Uygun Ekstraksiyon Çözücüsünün Seçimi

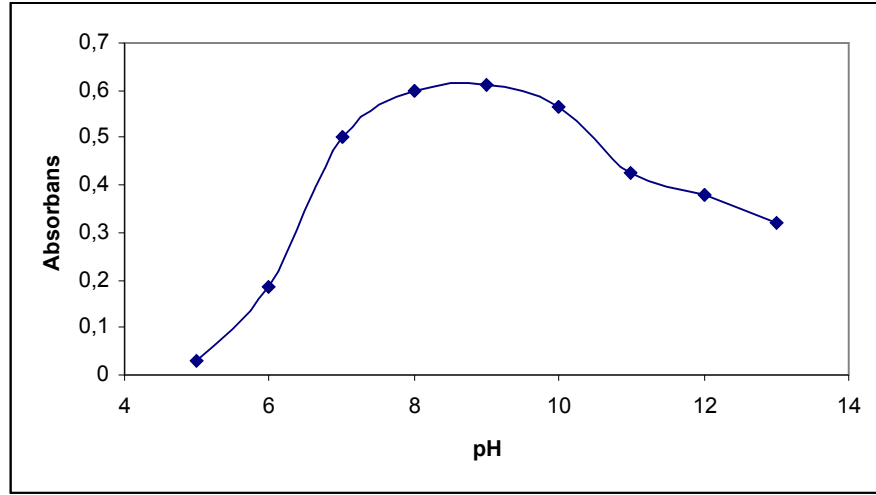
$L_1\text{:Ni(II)}$, $L_2\text{:Ni(II)}$ komplekslerinin sulu ortamdaki çözünürlüklerinin düşük olması sebebiyle kompleksler organik faza ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemi için için n-hekzan, ksilen, toluen, benzen, diklormetan, karbonditetraklorür, oktanol, kloroform ve dietil eter gibi birçok organik çözücü denendi. $L_1\text{:Ni(II)}$ ve $L_2\text{:Ni(II)}$ komplekslerinin ekstraksiyonu için de en uygun çözücünün kloroform olduğu belirlendi.

4.3.3 pH Çalışma Aralığı

Bu işlem için $3 \mu\text{g/mL}$ $L_1\text{:Ni(II)}$ ve $L_2\text{:Ni(II)}$ komplekslerinin çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan kompleks çözeltilerinin pH değeri 0-14 aralığında değiştirilerek, kompleks çözeltileri kloroform fazına alındı ve her pH değeri için 416 nm 'de absorbans ölçüldü. pH, 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlandı. Elde edilen değerlerden bir pH-absorbans eğrisi çizildi. Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'de görüldüğü gibi L_1 ligandı ile pH 9-10, L_2 ligandı ile pH 8-9 arasında nikel(II) tayininin yapılabileceği tespit edildi.



Şekil 4.15 L_1 :Ni(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi



Şekil 4.16 L_2 :Ni(II) kompleksinin pH-absorbans eğrisi

4.3.4 Kullanılan Tampon Çözeltisinin Seçimi

L_1 :Ni(II), L_2 :Ni(II) komplekslerinin oluşumu ve absorpsiyonu üzerine tampon çözeltisinin etkisini araştırmak üzere pH' ı 9.5 ve 9 olan KH_2PO_4 / K_2HPO_4 , $NaHCO_3$ / Na_2CO_3 , H_3BO_3 / NaH_2BO_3 ve NH_3 / NH_4Cl tampon çözeltilerinin etkisi incelendi. Her iki kompleks için en uygun tamponun NH_3 / NH_4Cl olduğu belirlendi. Bütün tayinlerde L_1 :Ni(II) için pH' ı 9.5 olan NH_3 / NH_4Cl tamponundan 4 mL ve L_2 :Ni(II) için pH' ı 9 olan tampon çözeltiden 1.5 mL kullanıldı.

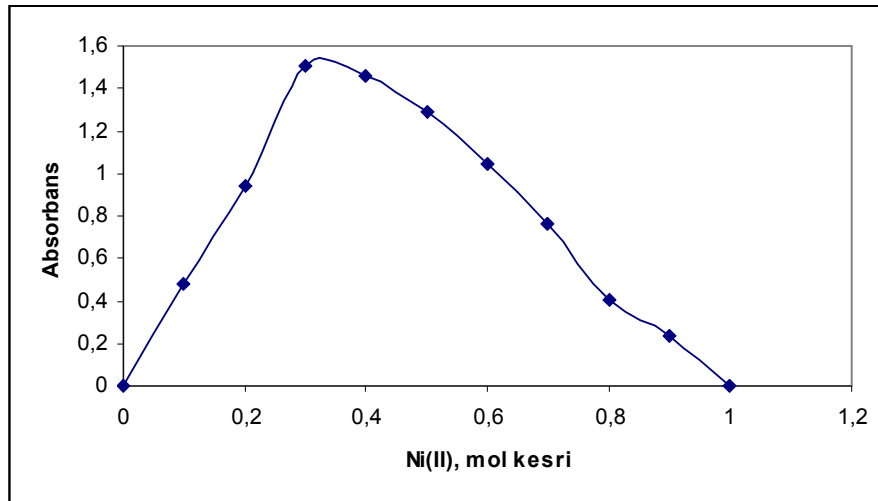
4.3.5 Oluşan Komplekslerin Stokiyometrisinin Belirlenmesi

L_1 ve L_2 ligandlarının nikel(II) ile oluşturduğu komplekslerin stokiyometrik bileşimi incelendi. Bu işlem için 5×10^{-4} M Ni(II), L_1 ve L_2 ligand çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerden devamlı değişmeler (Job) metoduna göre ana çözeltiler ve bunların kör çözeltileri aşağıda belirtilen oranlarda karıştırılarak hazırlandı. Oluşan kompleksler kloroform fazına ekstrakte edilerek 416 nm’de kör çözeltilere karşı ana çözeltilerin absorbansı okundu. Bulunan değerler Ni(II)’nin mol kesrine karşı grafiğe geçirildi. **Şekil 4.17** ve **Şekil 4.18**’de görüldüğü gibi L_1 :Ni(II) ve L_2 :Ni(II) oranının 2:1 olduğu tespit edildi.

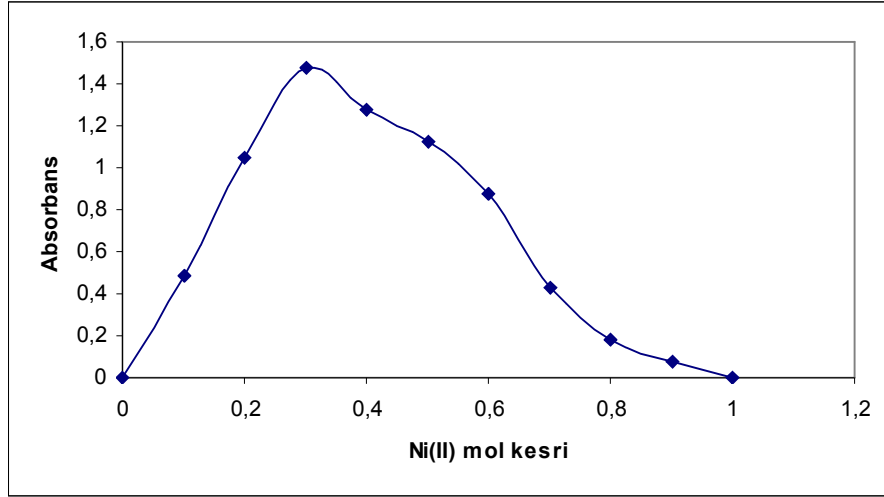
Cu(II)’nin hacmi (mL)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
L_1 ve L_2 ’nin hacmi (mL)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cu(II)’nin mol kesri	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.0

Ayrıca bu çözeltilerin her biri için kör çözeltileri aşağıdaki oranlarda karıştırılarak hazırlanmıştır.

Suyun hacmi (mL)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
L_1 ve L_2 ’nin hacmi (mL)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10



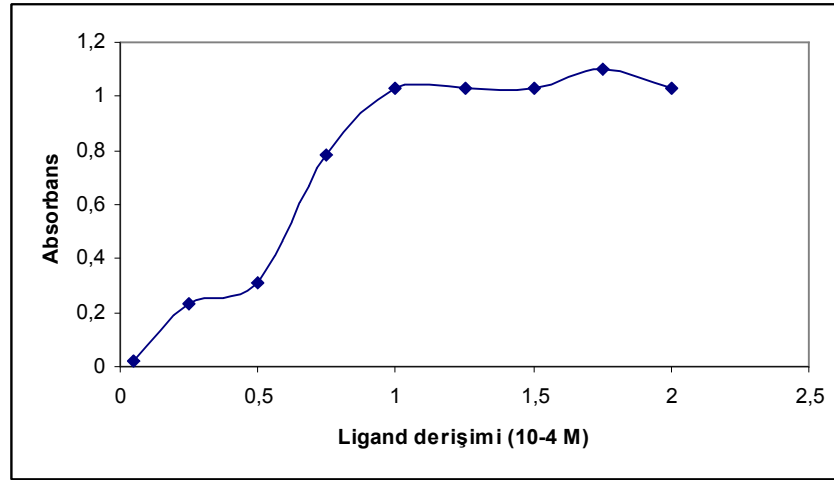
Şekil 4.17 Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre L_1 :Ni(II) kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi



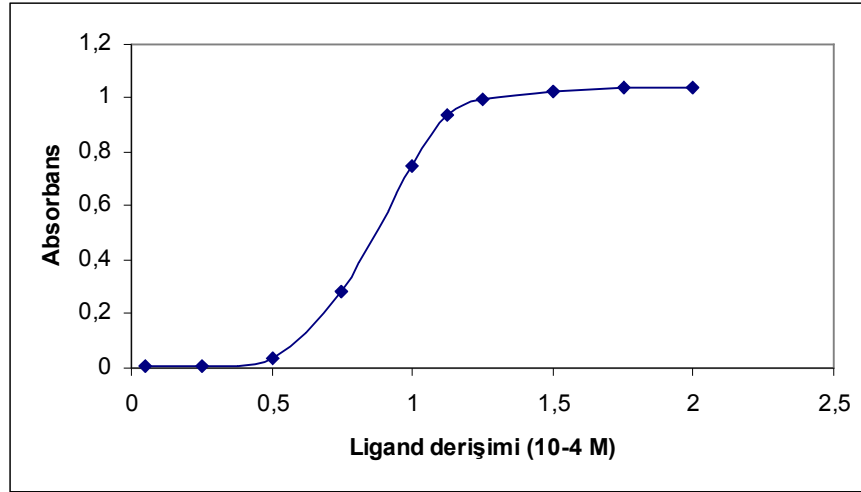
Şekil 4.18 Devamlı değişmeler (Job) metoduna göre $L_2:Ni(II)$ kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi

4.3.6 Ligand Miktarının Etkisi

Ni^{+2} iyonlarının miktarı ($3 \mu g/mL$) sabit tutulup, çeşitli hacimlerde L_1 ($5 \times 10^{-4} M$) ve L_2 ($5 \times 10^{-4} M$) ligandından ilaveler yapılarak kompleks çözeltilerinin son hacimleri deiyonize su ile $10 mL$ 'ye tamamlandı. $10 mL$ kloroform ile ekstraksiyon yapıldı. Hazırlanan $L_1:Ni(II)$ ve $L_2:Ni(II)$ komplekslerinin absorbansı $416 nm$ 'de okundu. Ortama eklenen ligand miktarından ligand derişimleri hesaplandı ve değişen ligand derişimlerine karşı ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Ligand ve metal tam kompleks oluşturduktan sonra ligandın fazlasının kompleks oluşumuna etkisinin olmadığı ve absorbansın belli bir derişimden sonra sabit kaldığı gözlenmiştir. **Şekil 4.19**'de ve **Şekil 4.20**'de görüldüğü gibi $L_1:Ni(II)$ kompleksi için $1 \times 10^{-4} M$ ligand (yada $5 \times 10^{-4} M$ ligand çözeltisinden $2 mL$), $L_2:Ni(II)$ kompleksi için $1.25 \times 10^{-4} M$ ligand (ya da $5 \times 10^{-4} M$ ligand çözeltisinden $2.5 mL$) ilavesinin yeterli olduğu bulunmuştur.



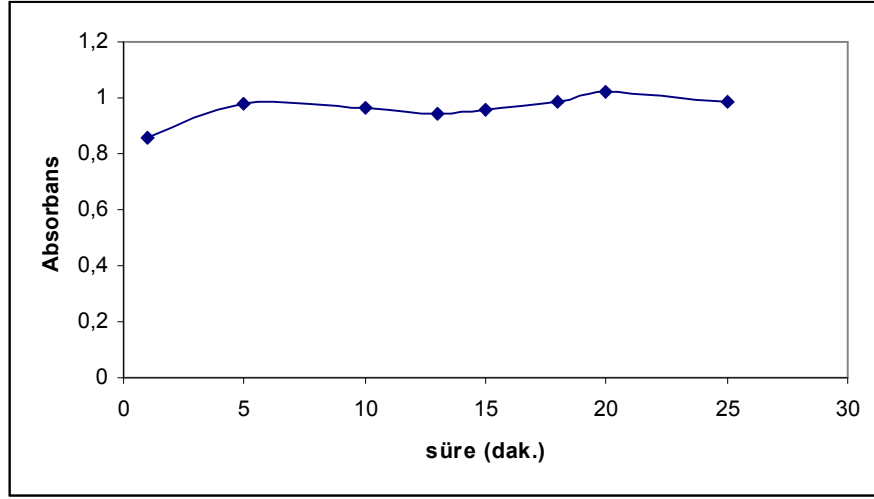
Şekil 4.19 Ligand (L₁) miktarı- absorbens eğrisi



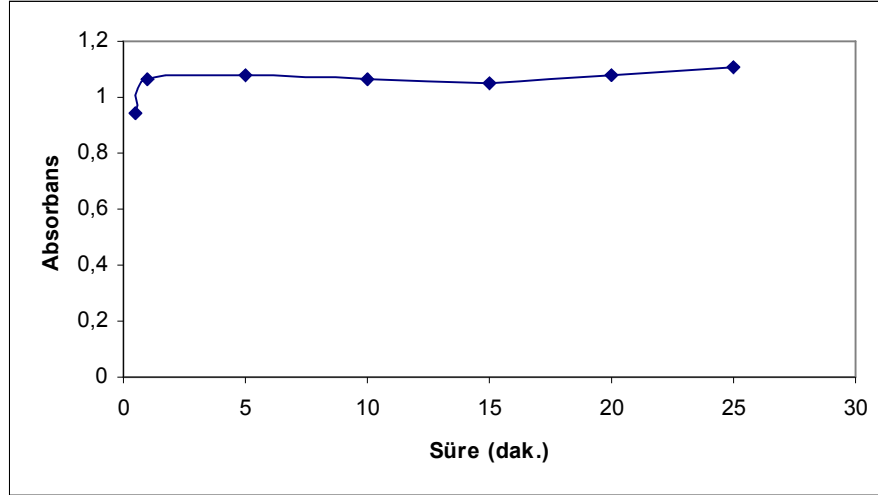
Şekil 4.20 Ligand (L₂) miktarı- absorbens eğrisi

4.3.7 Çalkalama Süresi

Tayin sınırları içerisinde 3 µg/mL Ni⁺² iyonları ihtiva eden çözelti 10 mL'lik balon jojelere alındı. L₁:Ni(II) kompleksinin oluşumu için 2 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₁ ligandı), 4 mL pH 9 tampon çözeltisi, L₂:Cu(II) kompleksi için 2.5 mL kompleksleştirici (5x10⁻⁴ M L₁ ligandı) ve 1.5 mL ilave edildi. Karışımlar işaret çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlandı. Kompleks çözeltileri, 10 mL kloroform ile sulu ortamdan organik faza ekstakte edildi. Kompleksin tamamının organik faza alınması için gereken çalkalama süresi optimize edildi ve absorbens değerlerinin Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de görüldüğü gibi ilk 5 dakikadan sonra sabit kaldığı tespit edildi.



Şekil 4.21 Çalkalama süresi-absorbans eğrisi (L₁:Ni)



Şekil 4.22 Çalkalama süresi-absorbans eğrisi (L₂:Ni)

4.3.8 Yabancı İyon Etkisi

Bozucu iyonlar ile Ni⁺² iyonlarının ikili karışımlarından, bakırın tayini ve seçiciliği optimum şartlarda araştırıldı. Bunun etkisini incelemek üzere **Tablo 3.1**'de bulunan anyon ve katyonlar kullanıldı. Her defasında 3 mg/L Ni⁺² iyonları olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Ayrıca bozucu iyon etkisi araştırılacak değişik iyon çözeltilerinden, çeşitli hacimlerde ortama eklendi ve tayin yapılacak dalga boyunda engel oluşturup oluşturmadığına bakıldı. Bu işlemler yapılırken ortama ilave edilen maddelerin, nikel (II)- bozucu iyon - ligand- tampon çözeltisi sıralamasında olmasına dikkat edildi. Her defasında absorbans okundu. Başlangıç

absorbansından $\pm 0,04$ daha fazla sapmaya neden olan yabancı iyonların derişim aralıkları **Tablo 4.6** ve **Tablo 4.7**'de verilmiştir.

Tablo 4.6 L_1 ligandı ile 3 mg/L Ni(II)'nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi

İyon	Hazırlanan Bileşiğı	Tolerans sınırı (mg/L)
Cu^{+2}	$Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$	0.5
Fe^{+2}	$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	1.0
Al^{+3}	$Al(NO_3)_3$	15.0
Co^{+2}	$Co(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1.0
Pb^{+2}	$Pb(NO_3)_2$	10.0
Hg^{+2}	$Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$	3.0
Mn^{+2}	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.1
Cr^{+3}	$Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	1.0
Mg^{+2}	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	250
Ca^{+2}	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	300
Sr^{+2}	$Sr(NO_3)_2$	Etkilemiyor
Cd^{+2}	$CdSO_4 \cdot 8/3H_2O$	0.5
I^-	KI	500
NO_3^-	$NaNO_3$	Etkilemiyor
Cl^-	NaCl	Etkilemiyor
$SO_4^{=}$	Na_2SO_4	2000
F^-	NaF	2000
Ac^-	NaAc	2000
Na_2H_2Y	$Na_2H_2Y \cdot 2H_2O$	4

4.3.9 Uygun Yüzey Aktif Maddenin Tespit Edilmesi

L_1 ve L_2 ligandlarının Ni(II) komplekslerinin çözünürlüğü ve absorpsiyonu üzerine anyonik- sodyum dodesilsülfat, katyonik- setilpridinyum klorür, heksadesiltrimetilamonyum bromür, heksadesilpiridinyum bromür, benzildimetiltetradesilamonyum klorür, non-iyonik Triton X-100, Tween-20, Tween-60, Tween-80'in etkisi araştırıldı. Komplekslerin absorbansı üzerine hiçbir yüzey aktif maddenin etkisinin olmadığı belirlendi.

Tablo 4.7 L₂ ligandı ile 3 mg/L Ni(II)' nin tayini üzerine yabancı iyon etkisi

İyon	Hazırlanan Bileşiği	Tolerans sınırı (mg/L)
Cu ⁺²	Cu(NO ₃) ₂ .3H ₂ O	0.1
Fe ⁺²	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ .6H ₂ O	0.5
Al ⁺³	Al(NO ₃) ₃	15.0
Co ⁺²	Co(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4.0
Pb ⁺²	Pb(NO ₃) ₂	350.0
Hg ⁺²	Hg(NO ₃) ₂ .H ₂ O	20.0
Mn ⁺²	MnCl ₂ .4H ₂ O	2,5
Zn ⁺²	Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	7.5
Cr ⁺³	Cr(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	0.5
Mg ⁺²	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	250
Ca ⁺²	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	300
Sr ⁺²	Sr(NO ₃) ₂	Etkilemiyor
Cd ⁺²	CdSO ₄ .8/3H ₂ O	20
I ⁻	KI	500
NO ₃ ⁻	NaNO ₃	Etkilemiyor
Cl ⁻	NaCl	Etkilemiyor
SO ₄ ⁼	Na ₂ SO ₄	Etkilemiyor
F ⁻	NaF	Etkilemiyor
Ac ⁻	NaAc	300
S ₂ O ₃ ⁻²	Na ₂ S ₂ O ₃	Etkilemiyor
Tiyüre	NH ₂ CSNH ₂	Etkilemiyor
Na ₂ H ₂ Y	Na ₂ H ₂ Y.2H ₂ O	6

4.4 Spektrofotometrik metodun hassasiyeti

Molar absorpsiyon katsayısı (ϵ), maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda, standart çözeltilerin absorbansları elde edildikten sonra kalibrasyon grafiği oluşturulur. Elde edilen her bir absorbans değeri için belirli konsantrasyonda bir ϵ değeri elde edilir.

Bu değerler,

$$\epsilon = \frac{A}{Cxb} \quad \text{formülüyle elde edilir.}$$

Çalışmada elde edilen Cu(II) ve Ni(II) kompleksleri için ϵ değerlerinin ortalama ve standart sapmaları;

L_1 :Cu(II)

$$\epsilon = 22886,72 \pm 2660,809 \text{ L/mol.cm}$$

L_2 :Cu(II)

$$\epsilon = 22442,51 \pm 1234,598$$

L_1 :Ni(II)

$$\epsilon = 21810,32 \pm 1953,341$$

L_2 :Ni(II)

$$\epsilon = 24785,26 \pm 1504,633$$

Hassas spektrofotometrik metodlarda ϵ değeri $>1 \times 10^4$ L/mol.cm olmalıdır. Elde edilen verilere göre L_1 :Cu(II), L_2 :Cu(II), L_1 :Ni(II) ve L_2 :Ni(II) kompleksleri için ϵ değeri $>1 \times 10^4$ L/mol.cm olduğu için uygulanan metod Ni ve Cu iyonlarının tayini için hassastır.

Spektrofotometrik metodun hassaslığının bir diğer ölçüsü, spesifik absorpsiyon katsayısıdır. Bu değer α ile gösterilir.

$\alpha = \frac{\epsilon}{\text{atom ağırlığı} \times 1000}$ formülü ile bulunur. Bu değer ml/gr.cm olarak belirtilir.

L₁:Cu(II)

$$\alpha = 0,360194 \pm 0,041876$$

L₂:Cu(II)

$$\alpha = 0,353203 \pm 0,01943$$

L₁:Ni(II)

$$\alpha = 0,371492 \pm 0,032061$$

L₂:Ni(II)

$$\alpha = 0,422164 \pm 0,025628$$

Hassasiyetin belirlenmesinde bir diğer ölçü, Sandell sabitidir ve S ile gösterilir. Bu değer birimi $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ olarak belirtilir.

$$S = \frac{10^{-3}}{\alpha}$$

Buna göre;

L₁:Cu(II)

$$S = 0,002806 \pm 0,00028$$

L₂:Cu(II)

$$S = 0,002839 \pm 0,00015$$

L₁:Ni(II)

$$S = 0,002711 \pm 0,000233$$

L₂:Ni(II)

S = 0,002376± 0,000136

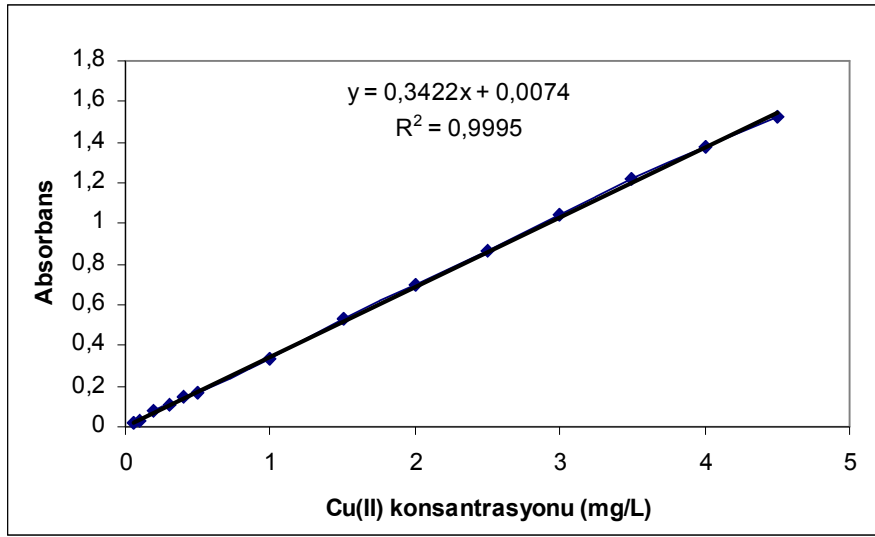
Tablo 4.8 Uygulanan metodla Cu(II) ve Ni(II) tayininde elde edilen hassasiyetlik değerleri
(Ortalama±Standart sapma)

	L ₁ :Cu(II)	L ₂ :Cu(II)	L ₁ :Ni(II)	L ₂ :Ni(II)
ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	22886±2660	22442±1234	21810±1953	24785±1504
α (ml.gr ⁻¹ .cm ⁻¹)	0,3602± 0,0419	0,3532± 0,0194	0,3715± 0,0321	0,4222± 0,0256
S (µg.cm ⁻²)	0,00280± 0,00028	0,00284± 0,00015	0,00271± 0,00023	0,00238± 0,00014

Tablo 4.8' deki hesaplanan değerlere göre uygulanan metodun hassas olduğu görülmüştür. **Tablo 4.9**, **Tablo 4.10**, **Tablo 4.11** ve **Tablo 4.12'** de uygulanan metodla, Cu(II) ve Ni(II) tayininde, kalibrasyon işlemi sırasında elde edilen değerler verilmiştir.

Tablo 4.9 L₁:Cu(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.

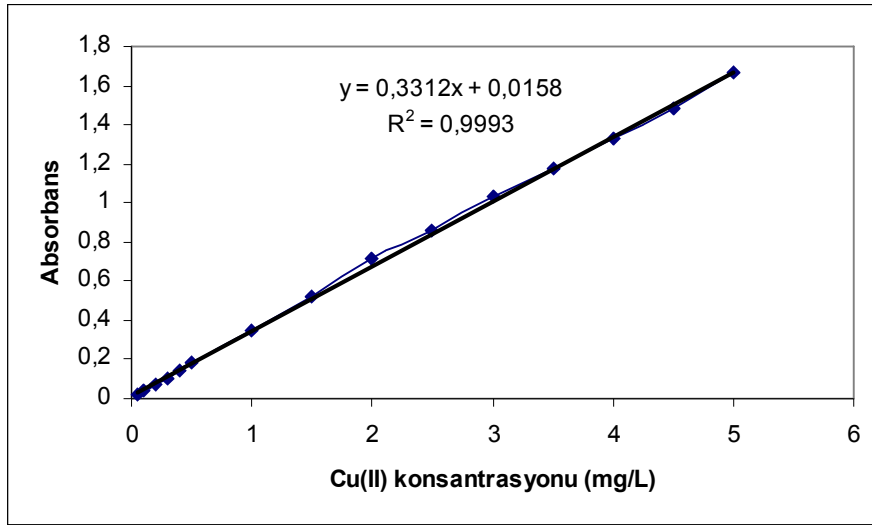
Cu(II) konsantrasyonu					
ppm(mg/L)	M (mol/L)	Absorbans	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	α (ml.gr ⁻¹ .cm ⁻¹)	S
0,05	7,87402E-07	0,024	30480	0,479698	0,002085
0,1	1,5748E-06	0,031	19685	0,309805	0,003228
0,2	3,14961E-06	0,082	26035	0,409742	0,002441
0,3	4,72441E-06	0,113	23918,33	0,376429	0,002657
0,4	6,29921E-06	0,15	23812,5	0,374764	0,002668
0,5	7,87402E-06	0,164	20828	0,327794	0,003051
1	1,5748E-05	0,335	21272,5	0,334789	0,002987
1,5	2,3622E-05	0,531	22479	0,353777	0,002827
2	3,14961E-05	0,702	22288,5	0,350779	0,002851
2,5	3,93701E-05	0,868	22047,2	0,346981	0,002882
3	4,72441E-05	1,044	22098	0,347781	0,002875
3,5	5,51181E-05	1,221	22152,43	0,348638	0,002868
4	6,29921E-05	1,374	21812,25	0,343284	0,002913
4,5	7,08661E-05	1,524	21505,33	0,338453	0,002955



Şekil 4.23 L₁:Cu(II) kompleksine ait kalibrasyon grafiği

Tablo 4.10 L₂:Cu(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.

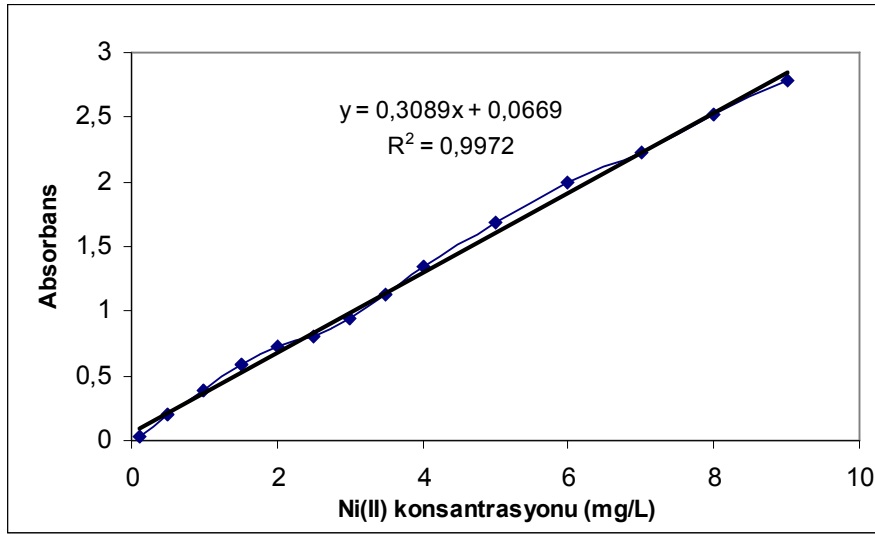
Cu(II) konsantrasyonu					
ppm(mg/L)	M (mol/L)	Absorbans	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	α (ml.gr ⁻¹ .cm ⁻¹)	S
0,05	7,87E-07	0,02	25400	0,399748	0,002502
0,1	1,57E-06	0,038	24130	0,379761	0,002633
0,2	3,15E-06	0,074	23495	0,369767	0,002704
0,3	4,72E-06	0,106	22436,7	0,353111	0,002832
0,4	6,30E-06	0,146	23177,5	0,36477	0,002741
0,5	7,87E-06	0,18	22860	0,359773	0,00278
1	1,57E-05	0,349	22161,5	0,34878	0,002867
1,5	2,36E-05	0,526	22267,3	0,350446	0,002854
2	3,15E-05	0,711	22574,3	0,355276	0,002815
2,5	3,94E-05	0,86	21844	0,343783	0,002909
3	4,72E-05	1,028	21759,3	0,342451	0,00292
3,5	5,51E-05	1,179	21390,4	0,336645	0,00297
4	6,30E-05	1,328	21082	0,331791	0,003014
4,5	7,09E-05	1,483	20926,8	0,329348	0,003036



Şekil 4.24 L₂:Cu(II) kompleksine ait kalibrasyon grafiği

Tablo 4.11 L₁:Ni(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.

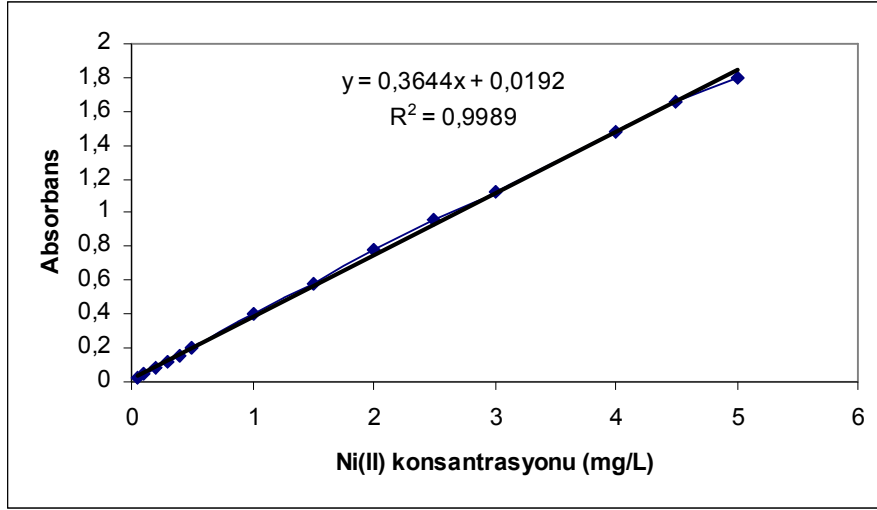
Ni(II) konsantrasyonu		Absorbans	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	α (ml.gr ⁻¹ .cm ⁻¹)	S
ppm(mg/L)	M (mol/L)				
0,1	1,57E-06	0,038	24130	0,411003	0,002433
0,5	7,87E-06	0,194	24638	0,419656	0,002383
1	1,57E-05	0,384	24384	0,41533	0,002408
1,5	2,36E-05	0,589	24934,3	0,424703	0,002355
2	3,15E-05	0,72	22860	0,389371	0,002568
2,5	3,94E-05	0,809	20548,6	0,350002	0,002857
3	4,72E-05	0,941	19917,8	0,339258	0,002948
3,5	5,51E-05	1,126	20428,9	0,347962	0,002874
4	6,30E-05	1,341	21288,4	0,362602	0,002758
5	7,87E-05	1,679	21323,3	0,363197	0,002753
6	9,45E-05	1,988	21039,7	0,358366	0,00279
7	0,00011	2,23	20229,3	0,344563	0,002902
8	0,00013	2,518	19986,6	0,34043	0,002937
9	0,00014	2,783	19635,6	0,334451	0,00299



Şekil 4.25 L₁:Ni(II) kompleksine ait kalibrasyon grafiği

Tablo 4.12 L₂:Ni(II) kompleksinin kalibrasyonundan elde edilen sonuçlar.

Ni(II) konsantrasyonu		Absorbans	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	α (ml.gr ⁻¹ .cm ⁻¹)	S
ppm(mg/L)	M (mol/L)				
0,05	7,87E-07	0,021	26670	0,454267	0,002201
0,1	1,57E-06	0,045	28575	0,486714	0,002055
0,2	3,15E-06	0,081	25717,5	0,438043	0,002283
0,3	4,72E-06	0,113	23918,3	0,407398	0,002455
0,4	6,30E-06	0,151	23971,3	0,408299	0,002449
0,5	7,87E-06	0,199	25273	0,430472	0,002323
1	1,57E-05	0,4	25400	0,432635	0,002311
1,5	2,36E-05	0,582	24638	0,419656	0,002383
2	3,15E-05	0,785	24923,8	0,424523	0,002356
2,5	3,94E-05	0,962	24434,8	0,416195	0,002403
3	4,72E-05	1,122	23749	0,404514	0,002472
4	6,30E-05	1,48	23495	0,400187	0,002499
4,5	7,09E-05	1,656	23368	0,398024	0,002512
5	7,87E-05	1,8	22860	0,389371	0,002568



Şekil 4.26 $L_2:Ni(II)$ kompleksine ait kalibrasyon grafiği

4. 5 Yöntemin Örneklere uygulanması

Kan ve serum gibi biyolojik ve Pharmaton (Lugano-Bioggio, Switzerland), Supradyn (Roche, Türkiye) gibi farmasötik örneklerde $Cu(II)$ ve $Ni(II)$ konsantrasyonlarının tayini için, geliştirilen metodun uygulanabilirliği araştırıldı. Analizi yapılacak örnekler kuru ve yaş yakma Bölüm 3.5’ de belirtilen metod uygulanarak çözüldü. Elde edilen çözünmüş numunelerde, hem geliştirilen spektrofotometrik metod ile hem de AAS de, Ni ve Cu tayinleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar, Standart Referans Madde (Metals in human serum, Medisafe® Metalle S, Level 1, ME 28341) kullanılarak metodun ve uygulanan yöntemin doğruluğunu belirlendi.

4.5.1 Biyolojik Sıvılarda Cu Tayini

Çözünmüş örneklerden belirli hacimde numuneler alınıp NH_3 ile pH 10 a ayarlandı. Tampon ile pH’ ı 9-10 a getirilen çözeltilere interferans etki gösteren Fe^{+3} ve Al^{+3} iyonlarını maskelemek için % 1 lik 2 ml NaF, Ni^{+2} i maskelemek için %5 lik 2 ml sitrat çözeltisi ilave edildi. Optimize edilen şartlarda ligand ilave edildi. 5 ml kloroform ilave edilerek kloroform fazı ekstrakte edildi ve uygun dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğrunun denklemi kullanılarak, örneklerdeki Cu miktarları belirlendi. Elde edilen değerler Tablo 4.13’de verilmiştir.

L₁:Cu(II)

$$A=0,3422xC+0,0074 \quad R^2=0,9995$$

L₂:Cu(II)

$$A=0,3312xC+0,0158 \quad R^2=0,9993$$

4.5.2 Biyolojik Sıvılarda Ni Tayini

Çözünmüş örneklerden belirli hacimde numuneler alınıp NH₃ ile pH ı ayarlandı. Tampon ile pH' ı 9-10 a getirilen çözeltilere interferans etki gösteren Fe⁺³ ve Al⁺³ iyonlarını maskelemek için % 1 lik 2 ml NaF ilave, Cu' ı maskelemek için %1 lik tiyoüreden 1ml ilave edildi. Optimize edilen şartlarda ligand ilave edildi. 5 ml kloroform ilave edilerek kloforoform fazı ekstrakte edildi ve uygun dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğrunun denklemi kullanılarak, örneklerdeki Ni miktarları belirlendi. Ni miktarları direk metodla tayin edildiğinde, hem spektrofotometrik metodla hemde AAS ile tayinde, okuma limitinin altında değerler elde edildiğinden Ni(II) tayini için, standart ilave metodu uygulandı. Bunun için çözünürleştirilen örneklere 0,0 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm Ni(II) ilave edildi ve Absorbans değerleri okundu, ilave edilen miktara karşılık absorbans değerleri grafiğe geçirildi ve regrasyon doğrusu ve denklemi elde edildi. Doğrunun X eksenini kestiği noktadan numunelerdeki Ni miktarları belirlendi. Elde edilen değerler **Tablo 4.14**'de verilmiştir.

L₁:Ni(II)

$$A=0,3089xC+0,0669 \quad R^2=0,9972$$

L₂:Ni(II)

$$A=0,3644xC+0,0192 \quad R^2=0,9989$$

Tablo 4.13 Biyolojik sıvılarda, geliştirilen spektrofotometrik metod ve AAS kullanılarak Cu miktarları (Ortalama $\pm$ Standart Sapma).

Örnekler	Spektrofotometrik metod		AAS
	L ₁ :Cu(II)	L ₂ :Cu(II)	
Pharmaton (n=4) mg/1 tablet	1,973 $\pm$ 0,036	1,992 $\pm$ 0,008	1,961 $\pm$ 0,122
Supradyn (n=4) mg/1 tablet	1,000 $\pm$ 0,050	1,094 $\pm$ 0,022	0,986 $\pm$ 0,094
Serum (n=6) (mg/L)□	0,817 $\pm$ 0,126	0,962 $\pm$ 0,080	1,022 $\pm$ 0,087
Kan (n=6) (mg/kg)	1,228 $\pm$ 0,391	1,366 $\pm$ 0,065	1,542 $\pm$ 0,218
SRM (n=3) (mg/L)□	1,380 $\pm$ 0,050	1,319 $\pm$ 0,096	1,392 $\pm$ 0,084

Tablo 4.14 Biyolojik sıvılarda, geliştirilen spektrofotometrik metod ve AAS kullanılarak Ni miktarları (Ortalama $\pm$ Standart Sapma).

Örnekler	Spektrofotometrik metod		AAS
	L ₁ :Ni(II)	L ₂ :Ni(II)	
Serum (n=6) (mg/L)	0,0092 $\pm$ 0,0021	0,0085 $\pm$ 0,0037	0,0073 $\pm$ 0,0023
Kan (n=6) (mg/kg)	0,0089 $\pm$ 0,0018	0,0084 $\pm$ 0,0015	0,0095 $\pm$ 0,0018
SRM (n=3) (mg/L)	0,0026 $\pm$ 0,0003	0,0024 $\pm$ 0,0006	0,0025 $\pm$ 0,0004

Elde edilen sonuçlara göre, metodun doğruluğu, Standart Referans Maddeye (Metals in human serum, Medisafe® Metalle S, Level 1, ME 28341) göre belirlendi. SRM de bulunan Cu ve Ni'in standart değerleri (Cu: 1,350 mg/L; Ni: 0,0022 mg/L), geliştirilen metod ile kıyaslandığında bağıl hatalar; Cu tayini için, L₁:Cu ile, % 2,2; L₂:Cu ile %2,3; AAS ile %3,1; Ni tayini için, L₁:Ni ile %18; L₂:Ni ile %9,1; AAS ile %13,6 değerleri elde edilmiştir. Geliştirilen metod biyolojik örneklerle özellikle Cu tayini için güvenilir bir şekilde uygulanabilir.

KAYNAKLAR

1. Abdulla, M., Jagerstad, M., Kolar, K., Norden, A., Schutz, A., Svensson, S., Essential and toxic inorganic elements in prerared meals 24-hour dietary sampling employing the duplicate portion technique. *Trace Elements Analytical Chemistry in Medicine and Biology* 2., Walter de Gruyter, Berlin New York (1983).
2. Theophanides, T., Anastassopoulou, J., *Copper and Carcinogenesis, Critical Reviews in Oncology Hematology*, 42 (2002) 57-64.
3. Bryan, G.W., Heavy Metal Contamination in the Sea, *Marine Pollution*, Academic Press., London, (1976) 185-290.
4. Metzler, D.E., Snell, E. E., Some Transamination Reactions Involving Vitamin B, *J. Am. Chem. Soc.*, 74 (1952.) 979-983.
5. Meffin, P.J., Williams, R.L., Blaschke, R.F., and Rowland, M., Application of Salivary Concentration Data to Pharmacokinetic Studies with Antipyrine, *J. Pharm. Sci.*, 66 (1977) 135.
6. Fay, R.C., and Howie, J.K., Stereochemistry and Stereochemical Rearrangements of 8-Coordinate Tetrakis Chelates .1. Group-4b Beta-Diketonates, *J. Am. Chem. Soc.*, 101 (1979) 1115.
7. Pesavento, M., and Soldi, T., Spectrophotometric Study and Analytical Applications of the Complexes of Copper(II) and Zinc(II) with Some Sulfonated Azo Dyes, *Analyst*, 108 (1983) 1128-1134.
8. Zishen, W., Huxia., W., Zhenhuan, Y., and Changhai, H., 1987. XXV. International Conference on Coordination Chemistry, Book of Abstracts', p. 663.
9. Leibermeister, K., Effect Copper(II) ions on the Antitubercular Activity of Thiacetazone, *Z. Naturforsch, B*, 5(1950) 59.

10. Balaban, A., 2-Piridinkarbaldehittiyosemikarbazon Schiff Bazının Çeşitli Geçiş Metali Komplekslerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması, *Yüksek Lisans Tezi*, G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara (1999).
11. Basalo, F. and Jhonson, R., *The Metal Complex Coordination Chemistry*, W.A. Benjamin, New York-Amsterdam (1964).
12. Köksal, H., Geçiş Metallerinin Naftol Salisil Aldiminlerle Kompleks Bileşiklerinin Sentezi, Yapı ve Spektral Özelliklerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, K.S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş (1996).
13. Purcell, K.F. and Kotz, J.C., Magnetic Isomers of Iron(II)-Bis(Cyanotrihydroborate)Bis(Phenanthroline)Iron-Spin Triplet, *Inorganic Chemistry*, 16 (1977) 1708-1715.
14. Schrauzer, G.N., and Windgassen, R.J., On Hydroxyalkylcobaloximes and Their Mechanism of a Cobamide Dependent Diol Dehdrase, *J. Am. Chem. Soc.*, 89 (1967) 143-147.
15. Tan, N., and Bekaroğlu, Ö., Synthesis of Some Organometallic Compounds of 1,2-Acenaphthylene-Dione Dioxime and Comparison with B-12 Model Compounds, *Synth. React. in Inorg. Met.-Org. Chem.*, 13 (1983) 666-682.
16. Bekaroğlu, Ö., *Koordinasyon kimyası*, İ.Ü. Kimya Fak., İstanbul (1972).
17. Solomons, T.W.G., *Organic Chemisty*, University of South Florida (1984).
18. Ün, R., *Organik Kimya II Ders Notları*, İstanbul (1971).
19. Akhmedov, M.A., Mustafaeva, Z.G., Akhmedov, I.M., and Kostikov, R.R., Formation of Substituted Cyclobutanes During Reaction of 2-(2-methyl-2-propenyl)-3-(chloromethyl)oxirane with Aromatic Hydrocarbons, *Russ. J. Org. Chem.*, 27 (1991) 1434-1440.
20. Dey, K., Schiff Bases and Their Uses, *J. Scient. Ind. Res.*, 33 (1974) 76.
21. Agrawal, Y.K., Correction Factor for Glass Electrode for Aqueous Dioxane, *Talanta*, 20 (1973) 1354.

22. Dhar, D.N., Taploo, C.L., Schiff Bases and Their Applications [J], *J. Scient. Ind. Res.* 41 (1982) 501.
23. Patent, 1975. *İngiliz*, No: 1.517.562
24. Brown, K., Cater, D.P., Cavalla, J.F., Nonsteroidal Antiinflammatory Agents.1. 2,4-Diphenylthiazole-5-Acetic Acid and Related Compounds, *J. Med. Chem.*, 14, (1974) 1177-1181.
25. Islip, P.J., Closier, M.D., and Neville, M.C., Antiparasitic 5-Nitrothiazoles and 5-Nitro-4-Thiazolines .4., *J. Med. Chem.*, 17 (1974) 207-209.
26. Suzuki, N., Tanaka, Y., and Dohmori, R., Synthesis of Anti-Microbial Agents .1. Synthesis and Anti-Microbial Activities of Thiazoloquinoline Derivatives, *Chem. & Pharm. Bull.*, 27 (1979) 1-11.
27. Sawhney, S.N., Arora, S.K., and Singh, J.V., Bansal, O.P., Singh, S.P., Synthesis and Anti-Inflammatory Activity of 2-Amino-6-Benzothiazoleacetic Acids and 2-Alkylamino-6-Benzothiazoleacetic Acids, 4-(2'-Benzothiazolylamino), "4-(4'-Substituted-2-Thiazolylamino) and 4-(4'-Substituted-3'-Alkyl-Delta-4'-Thiazoline-2'-Imino)-Phenylacetic Acids, *Indian J. Chem.*, 16 B, (1978) 605.
28. Froerster, H., Hofer, W., Mues, V., Eue, L. and Schmidt, R.R., *German Patent*, 2 (1980) 822, 155.
29. Beyer, H., *Organic Chemistry*, Verlag Harry Deutsch, Frankfurt / Main und Zurich (1963).
30. Schiff, H., *Annalen der Chemie*, 150 (1869) 193-200.
31. Yılmaz, İ., Bazı Schiff Bazları ile Metal Komplekslerinin Sentezi, Protonasyon ve kararlılık Sabitlerinin Potansiyometrik Metotla Tayini, *Doktora Tezi*, F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ. (2002).
32. Dennis, W.H., *Demirden Gayrı Metaller Metalurjisi*. Çeviren Tulgar, H.E., İTÜ Yayınları, İstanbul (1987).

33. Sarma, L.S., Kumar, J.R., Reddy, K.J., Reddy, A.V., Development of an Extractive Spectrophotometric Method for the Determination of Copper(II) in Leafy Vegetable and Pharmaceutical Samples Using Pyridoxal-4-phenyl-3-thiosemicarbazone, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005) 5492-5498.
34. Berman, E., *Toxic Metals and Their Analysis*, Heyden & Son Ltd., London, Great Britain, 1980.
35. Malkavar, P.L., Shinde, V.M., Ion-pair Extraction and Determination of Copper(II) and zinc(II) in Environmental and Pharmaceutical Samples, *Analyst*, 116 (1991) 1081-1084.
36. Greenwood, N.N., Earnshaw, A., *Chemistry of the Elements*, Pergamon, New York (1984).
37. Scheinberg, I.H., Morell, A.G., Ceruloplasmin, in: Eichhorn, G.L., (Ed.), *Inorganic Biochemistry*, vol. 1, Elsevier, New York (1973).
38. Walravens, P.A., Nutritional Importance of Copper and Zinc in Neonates and Infants, *Clin. Chem.*, 26 (1980) 185-189.
39. Latner, A.L., *Cantarow and Trumper Clinical Biochemistry*, Seventh Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA, (1975).
40. Phipps, D.A., *Metals and Metabolism*, Oxford University Press, London (1976).
41. Blake, S., *Vitamins and Minerals Demystified*, The McGraw-Hill Companies, New York, USA (2008).
42. Charles, E.M., *Chemistry*, Sixth Edition, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA (1987).
43. Brescia, F., Arents, J., Meislich, H. ve Turk, A., *Fundamentals of Chemistry*, Fourth Edition, Academic Press, New York, USA (1980).
44. Sienko, M. J., Plane, R.A., *Chemistry*, Third Edition, Mc-Graw-Hill, Inc., USA (1976).
45. Nebergall, W.H., Schmidt, F.C., Holzzclaw, H.F., *General Chemistry*, Fourth Edition, D.C. Heath and Company, USA (1972).

46. Chopin, G.R., Jaffe, B., Summerlin, L., Jackson, L., *Chemistry*, General Learning Co., USA (1970).
47. Garret, A.B., Haskins, J.F., Sisler, H.H., *Essentials of Chemistry*, Second Edition, Ginn and Company, USA (1959).
48. Moeller, T., Bailar, J.C., Kleinberg, J., Guss, C.O., Castellion, M.E., Metz, C., *Chemistry with Inorganic Qualitative Analysis*, Second Edition, Acedemic Pres, Inc., USA (1984).
49. Brown, T.L., Lemay, H.E., *Chemistry the Central Science*, Third Edition, Prentice-Hall, Inc., USA (1987).
50. Nohut, S., İlaç, Gıda ve Çevresel Örneklerinde Bazı Ligandlar Kullanılarak Spektrofotometrik Bakır Tayini, *Doktora Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon (1998).
51. Cotton F.A., Wilkinson, G., *Advanced Inorganic Chemistry*, John Wiley&Sons, IVth Ed., New York (1980).
52. Sherer, S., Rukovodstvo, K., Prepodavaniyu Po Khimii, *Manual for the teaching of chemistry*, Izlanie Meditsinskoi tipografi (1903).
53. U.S. Environmental Protection Agency. Health Assessment Document for Nickel. EPA/600/8-83/012F., *National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development*, Washington, DC. (1986).
54. Nielsen, G.D., Soderberg,U., Jorgensen, P.J., Templeton, D.M., Rasmussen, S.N., Andersen, K.E., Grandjean, P., Absorption and Retention of Nickel from Drinking Water in Relation to Food Intake and Nickel Sensitivity, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 154 (1999) 67-75.
55. Patnaik, P., *Handbook of Environmental Analysis: Chemical Pollutants in Air, Water, Soil and Solid Wastes*, CRC Pres, Boca Raton, FL (1997).
56. Aksoy, M., *Beslenme Biyokimyası ve İz Elementler*, Ankara (2000).
57. Sharma, B.K., *Environmental Chemistry*, Meerut: Goel Publishing House (1997).

58. Kornikov, I.I., *Nikel and its alloys*, Izdatel'stvo Akademi Nauk SSSR, Moskova (1958).
59. Templeton, D., Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace, *World Health Organization*, Geneva (1990).
60. Kristiansen, J., Christensen, J.M., Henriksen, T., Nielsen, N.H., Menne, T., Determination of Nickel in Fingernails and Forearm Skin (stratum corneum), *Anal. Chim. Acta*, 403 (2000) 265-272.
61. Judith, T.Z., Peter, T., Thomas, T., *Immunotoxicology of Environment Occupational Metals School of Medicine*, New York (1998).
62. Ma, Q., Ma, H., Su, M., Wang, Z., Nie, L., Liang, S., Determination of Nickel by a New Chromogenic Azocalix[4]arene, *Analytica Chimica Acta*, 439 (2001) 73-79.
63. Ramachandraiah C., Kumar, J.R., Reddy K.J., Narayana, S.L., Reddy, A.V., Development of a Highly Sensitive Extractive Spectrophotometric Method for the Determination of Nickel(II) Enviromental Matrices Using N-ethyl-3-carbazolecarboxaldahyde-3-thiosemicarbazone, *Journal of Enviromental Management*, (2007) 1-9.
64. Graedi, M., Selective and Sensitized Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Ni(II) ion Using α -Benzil dioksim in Surfactant Media, *Spectrochimica Acta Part A.*, (2006), 1-7.
65. Fakhari, A.R., Khorrami, A.R., Naeimi, H., Synthesis and Analytical Application of a Novel Tetradentate N₂O₂ Schiff Base as a Chromogenic Reagent for Determination of Nickel in Some Food Samples, *Talanta*, 66 (2005) 813-817.
66. Zhao, S., Xia, X., Kong, X., Liu, T., Highly Sensitive Colour-reaction of Nickel with a New Chromogenic Reagent Benzotiyazoldiazoaminoazobenzen and its Application, *Talanta*, 45 (1997) 13-17.
67. Zhao, S., Xia, X., Hu, Q., Complex Formation of the New Reagent 5-(6-methoxy-2-benzothiazole-azo)-8-aminoquinoline with Cobalt and Nickel for Their Sensitive Spectrophotometric Detection, *Analytica Chimica Acta*, 391 (1999) 365-371.

68. Oshita, K., Wada H., Nakagawa, G., Sulfonated 1-(2-pyridylazo)-2-naphthols and 2-(2-pyridylazo)-1-naphthols as Spectrophotometric Reagent Determination of Nickel, *Analytica Chimica Acta* 140,1 (1982) 291-300.
69. Fan, X.Z., Zhang, G.F., Zhu C.H., Synthesis of 2-[2-(5-methylbenzothiazoly)azo]-5-dimethylaminobenzoic Acid and Its Application to the Spectrophotometric Determination of Nickel, *Analyst*, 123,1 (1998) 109-112
70. Reddy, K.H., Prasad, N.B.L., Reddy, T.S., Analytical Properties of 1-phenyl-1,2-propanedione-2-oxime-thiosemicarbazone: Simultaneous Spectrophotometric Determination of Copper(II) and Nickel(II) in Edible Oils and Seeds, *Talanta*, 59 (2003) 425-433.
71. Kumar, S.K., Rao, P.S., Krishnaiah, L., Jayaraj, B., Chiranjeevi, P., Determination of Nickel in Alloys and Plant Leaves with Salicylaldehyde-3-oxobutanoylhydrazone by Spectrophotometry, *Analytical Sciences*, 20,6 (2004) 951-953.
72. Marczenko, Z., *Spectrophotometric Determination of Elements* , Horwood, Chichester (1976)
73. Zhao, S., Xia, X., Ma, H., Xi, H., Spectrophotometric Determination of Nickel with p-Acetylarsenazo, *Talanta*, 41 (1994) 1353-1356.
74. Hu, Q.F., Yang, G.G., Huang, Z.J., Yin, J.Y., Determination of Nickel with 2-(2-quinolyazo) -5-diethylaminoaniline as a Chromogenic Reagent, *Anal. Sci.*, 19 (2003) 1449.
75. Macit, M., Bati, H., Bati, B., Synthesis of 4-benzyl-1-piperazineglyoxime and Its Use in the Spectrophotometric Determination of Nickel, *Turkish Journal Of Chemistry*, 24 (2000) 81-88.
76. Kumar, S.K., Rao, P.S., Krishnaiah, L., Jayaraj, B., Chiranjeevi, P., Determination of Nickel in Alloys and Plant Leaves with Salicylaldehyde 3-Oxobutanoylhydrazone by Spectrophotometry, *Anal. Sci.*, 20 (2004) 951-953.

77. Li, Z., Pan, J., Tang, J., Novel Sensitive and Selective Method for Spectrophotometric Determination of Cerium(III) In Biological Samples Using 2,6-Dibromo-4-Chlorocarboxyarsenazo, *Anal. Lett.* 35 (2002) 167.
78. Kumar, S.K., Swaroop, L.B., Rao, P.S., Chiranjeevi, P., Spectrophotometric Determination of Nickel Using a New Chromogenic Reagent in Plant Leaves, *Inter. J. Environ. Stud.* 61 (2004) 719.
79. Singh, R.B., Garg, B.S., Singh, R.P., Oximes as Spectrophotometric Reagents, *Talanta*, 26 (1979) 425-444.
80. Asuero, A.G., Spectrophotometric Determination of Nickel with biacetyl bis(4-phenyl)-3-thiosemicarbazone, *Microchem. J.*, 28 (1983) 198-202.
81. Reddy, K.G., Prakash, K.M.M.S., Reddy, K.H., Redy, D.V., Rapid spectrophotometric Determination of Nickel(II) Using Phthalimide Dithiosemicarbazone, *Acta Cienc. Indica (Ser.) Chem.*, 10 (1984) 175-177.
82. Reddy, N.S., Reddy, D.V., Spectrophotometric Determination of Nickel(II) with Salicylaldehyde Thiosemicarbazone, *Acta Cienc. Indica (Ser.) Chem.*, 10 (1984) 65-67.
83. Reddy, A.V., Reddy Y.K., Sequential Extraction and Determination of Copper and Nickel with 2,4-Dihydroxy acetophenone thiosemicarbazone, *Talanta*, 33 (1986) 617-619.
84. Jadhav, V.A., Kulkarni, M.U., 7-Methyl-2-chloroquinoline-3-carbaldehyde thiosemicarbazone as Analytical Reagent for Copper, Cobalt and Nickel(II), *J. Indian Chem Soc.* 69 (1992) 287-288.
85. Desai, V.K., Desai, K.K., 2-Hydroxy-4-isopropoxy Acetophenone Thiosemicarbazone as a Spectrophotometric Reagent for Nickel(II), *Orient J., Chem.*, 12 (1996) 203-205.
86. Winkler, W., Arenhövel-Pacula, A., The Use of Phenylfluorone in the Presence of Cetylpyridinium Chloride and Triton X-100 for the Spectrophotometric Determination of Copper(II) in Blood Serum, *Talanta*, 53 (2000) 277-283.

87. Peterson, R.E., Bollier, M.E., Spectrophotometric Determination of Serum Copper with Bissiklohekzanonoksalidihidrazon, *Analytical Chemistry*, 27 (1955) 1195-1197.
88. Thakur, M., Deb, M.K., The Use of 1-[pyridyl-(2)-azo]-naphthol-(2) in the Presence of TX-100 and N,N'-diphenylbenzamidine for the Spectrophotometric Determination of Copper in Real Samples, *Talanta*, 49 (1999) 561-569.
89. Dalman, Ö., Tüfekçi, M., Nohut, S., Güner, S., Spectrophotometric Determination of Copper in Pharmaceutical and Biological Samples with 3-{2-[2-(2-hydroxyimino-1-methyl-propyllideneamino)-ethylamino]-ethyl-imino}-butan-2-one oxime, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 27 (2002) 183-189.
90. Pinto, J.J., Moreno, C., Garcia-Vargas, M., A Simple and Very Sensitive Spectrophotometric Method for the Direct Determination of Copper Ions, *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 844-848.
91. Karaböcek, S., Nohut, S., Dalman, Ö., Güner, S., A New Spectrophotometric Reagent for Copper: 3,3'-(1,3-propanediyl-diimine)bis-[3-methyl-2-butanone]dioxime, *Analytica Chimica Acta*, 408 (2000) 163-168.
92. Barreto, S.R.G., Nozaki J., Barreto, W.J., Spectrophotometric Determination of Copper in Metallic Alloy Using a Bidithiolene: A Comparative Study, *Microchemical Journal*, 62 (1999) 223-228.
93. Wróbel, K., Wróbel, K., Cruz-Jiménez, G., Angulo-Romero, F., Application of Internal Standard for Micro Extraction-Spectrophotometric Determination of Copper in Serum and in Natural Waters, *Analytica Chimica Acta*, 387 (1999) 217-224.
94. Chaisuksant, R., Palkawong-Na-Ayuthaya, W., Grudpan, K., Spectrophotometric Determination of Copper in Alloys Using Naphthazarin, *Talanta*, 53 (2000) 579-585.
95. Shine, L., Shenquan, L., Chen, A., Spectrophotometric Determination of Trace Copper with a Cu-Diethyldithiocarbamate- β -Cyclodextrin Colour System, *Talanta*, 40 (1993) 1085-1090.

96. Prodrmidis, M.I., Stalikas, C.D., Veltsistas, P.T., Karayannis, M.I., Spectrophotometric Kinetic Determination of Copper(II) Trace Amounts Based on Its Catalytic Effect on the Reaction of the Reduced 2,6-dichlorophenolindophenol and Hydrogen-peroxide, *Talanta*, 41,10 (1994) 1645-1649.
97. Xia, D., Lin, Q., *Fenxi Huaxue*, 13 (1985) 65
98. Zhang, G., Hu, Y., Xu, G., Liu, G., *Fenxi Huaxue*, 13 (1985)124
99. Munoz Leyva, J.A., Salazar Palma, P., N-N'-bis(pyridinylmethylene)ethylenediamine as an Analytical Reagent for Spectrophotometric Determination of Copper, *Microchemical Journal*, 31 (1985) 332.
100. Prohit, D.N., Tyagi, M.P., Shivpuri, S., *Acta Cieno Indi. Chem.*, 10 (1984) 134
101. Thimmaiah, K.N., Sanke Gowda H., Ahmed, S.M., *Indian J. Chem., Sect. A* 22 (1983) 690
102. Reddy, K.H., Reddy, K.G., Prakash, K.M.M.S., Reddy, D.V., *Indian J. Chem., Sect. A* 23 (1984) 535
103. Song, J., Zhang, Y., Yin, B., *Fenxi Shiyanshi* 7 (1988) 27
104. Pillay, V.D., Shinde, V.M., *Indian J. Chem, Sect. A* 34 (1995) 401.
105. Ambhore, D.M., Joshi, A.P., Extraction-Photometric Determination of Iron, Copper and Chromium Using Thioorganic Reagents, *Journal of The Indian Chemical Society*, 68,3 (1991) 175-177.
106. Garcia Rodriga, A.M., Garcia de Torres, F.Z.A., Cano Pavon, J.M., Bosh Ojeda, C., Simultaneous Spectrophotometric Determination of Cadmium, Copper and Zinc, *Talanta*, 40,12(1993) 1861-1866.
107. Gallardo Malgarejo A., Gallardo Cespedes, A., Cano Pavon J.M., *Analyst*, 114 (1989) 109.
108. Baudino, O.M., Gill, B.A., Depedernera, M.M., Spectrometric Study of Piridilazo Reactive in the Determination of Cu(II), *Anales De Quimica*, 88,5-6 (1992) 613-615.

109. Thakur, M., Kanti Dep, M., The Use of 1-[Pyridyl-(2)-Azo]-Naphthol-(2) in the Presence of TX-100 and N,N'-Diphenylbenzamidine for the Spectrophotometric Determination of Copper In Real Samples, *Talanta*, 49 (1999) 561.
110. Khasnis, D.V., Shinde, V.M., Determination of Copper in Steel, brass, Gunmetal, Nickel-Silver and Aluminium Alloy by Extraction with Phenanthraquinone monothiosemicarbazone, *J. Indian Chem. Soc.*, 59,6 (1982) 812-814.
111. Khasnis, D.V., Shinde, V.M., A New Method for Extractive Photometric Determination of Copper and Iron in Alloy Steel, *J. Indian Chem. Soc.*, 61 (1984) 275-277.
112. Tongsen, M., Meng, L., Congde, H., Kuaizhi, L., Zhenghao, L., Daxuesuebao, Z., Spectrophotometric Study on Cu(II) with pyruvaldehyde(N,N'-dibutyl)bis-thiosemicarbazone, *Ziaru Keruebau*, 31 (1999) 70-72.
113. Reddy, B.K., Kumar, J.R., Reddy, K.J., Sarma, L.S., Reddy, A.V., A Rapid and Sensitive Extractive Spectrophotometric Determination of Copper(II) in Pharmaceutical and Environmental Samples Using Benzylidithiosemicarbazone, *Anal. Sci.*, 19 (2003) 423-428.
114. Yuan L., Huo S.H., Ren, X.N, Chen, H., A Novel Spectrophotometric Determination of Copper(II) with bromosulphonazo(III), *Chinese Chemical Letters*, 19 (2008) 92-94.
115. Welz, B., *Atomik Absorption Spectroscopy*, VCH, Amsterdam (1985).
116. Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Standart Methods for the Examination of Water and Waste Water, 19th ed., *American Public Health Assoc*, Washington, DC (1995).
117. Watson, A.E., *Nuclear Active* 30 (1984) 30-31.
118. Dymott T.M., In: Subramaniam G. (ed) *Quality Assurance in Enviromental Monitoring*, VCH, Weinheim, p. 114.
119. McLaren, J.W., In: Jarnis, K.E., Gray, A.L., Houk R.S., (eds.) *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Blackie & Son, Glasgow (1992).

120. Gillain, G., Duyckaerts, G., Disteché, A., Direct and Simultaneous Determination of Zn, Cd, Pb, Cu, Sb and Bi Dissolved in Sea Water By Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry with a Hanging Drop Mercury Electrode, *Anal. Chim. Acta*, 106 (1979) 23.
121. Shijo, Y., Sato, H., Uehara, N., Aratake, S., Simultaneous Determination of Trace Amounts of Copper, Nickel and Vanadium in Sea- Water by High- Performance Liquid Chromatography after Extraction and Back- Extraction, *Analyst*, 121,3 (1996) 325- 328.
122. Standart Methods for Examination of Water and Waster, 19th ed., *American Public Health Association*, Washington, DC (1995).
123. Andres, M.P.S., Marina, M.L., Vera, S., Spectrophotometric Determination of Copper(II), Nickel(II) and Co(II) as Complexes with Sodium Diethyldithiocarbamate in the Anionic Micellar Media of Dodecylsulfate Salts, *Analyst*, 120 (1995) 255.
124. Mori, I., Fujimoto, T., Fujita, Y., Matsuo, T., Selective and Sensitive Spectrophotometric Determination of Copper(II) and Benzoylperoxide with *N*-Ethyl-2-Naphthylamine, *Talanta*, 42 (1995) 77.
125. Sturgeon, R.E., Berman, S.S., Desaulniers, J.A.H., Mykytiuk, A.P., McLaren, J.W., Russell, D.S., Comparison of Methods for the Determination of Trace-Elements in Seawater, *Analytical Chemistry*, 52,11 (1980) 1585-1588.
126. Rao, R.R., Goski, D.G., Chat, A., Determination of Trace-Elements in Acid-Rain by Reversed-Phase Extraction Chromatography and Neutron-Activation, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry-Articles*, 161,1 (1992) 89-99.
127. Akatsuka, K., Nobuyama, N., Atsuya, I., Preconcentration of Submicrogram Cobalt with Naturalwater for Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, *Analytical Sciences*, 5 (1989) 475-479
128. Yaman, M., Simultaneous Enrichment of Cd, Pb, Ni, and Al and Their Determination in Water By STAT-FAAS, *Spectroscopy Letters*, 34 (2001) 763-773.

129. Zolotov, Y.A., Kuzmin, N.M., *Preconcentration of Trace Elements*, Elsevier Science Publishing Co., Amsterdam (1990)
130. Duran, C., Bazı Eser Elementlerin XAD-2000 Reçinesinde Zenginleştirildikten Sonra AAS ile Analizleri, *Doktora Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon (2000).
131. Alfassi, Z.B., Wai, C.M., *Precocentration Techniques for Trace Elements*, CRC Pres Inc., Boca Raton, Florida (1992).
132. Rogers, R.D., Eiteman, M.A., *Aqueous Biphasic Seperations: Biomolecules to Metal Ions*, Plenum Press, New York (1995).
133. Holler, S.W., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Kılıç, E., Köseoğlu, F., 2, Seventh Edition, Saunders College Publishing, New York (1996).
134. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., *Principles of Instrumental Analysis*, Kılıç, E., Köseoğlu, Yılmaz, H., Fifth Edition, Harcourt Brace College Publishers, Floride (1988).
135. Bock, R., *A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*, International Textbook Company, Glasgow (1979).
136. Minczewski J., Chwastowska, J., Dybczyński, R., *Seperation and Preconcentration Methods in Inorganic Trace Analysis*, Ellis Horwood Ltd., Chichester, Publishers, Distributed by John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto (1982).
137. Dolgoplova A., Weiss, D.J., Seltmann, R., Stanley, C., Coles, B., Cheburkin, A.K., Closed-vessel Microwave Digestion Technique for Lichens and Leaves prior to Determination of Trace Elements (Pb, Zn, Cu) and Stable Pb Isotope Ratios, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 84, (2004) 889–899.
138. Richaud R., Lachas, H., Healey, A.E., Reed, G.P., Haines, J., Herod, A.A., Dugwell, D.R., Kandiyoti, R., Trace Element Analysis of Gasification Plant Samples by ICP-MS: Validation by Comparison of Results from Two Laboratories, *Fuel*, 79 (9), (2000) 1077-1087.

139. Eskilsson C.S., Bjorklund E, Analytical-scale Microwave-assisted Extraction, *Journal of Chromatography A*, 902 (1), (2000) 227-250.
140. Wu S.L., ShaoLe, W., XinBang, F., Wittmeier, A., Microwave Digestion of Plant and Grain Reference Materials in Nitric Acid or a Mixture of Nitric Acid and Hydrogen Peroxide for the Determination of Multi-elements by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12 (8), (1997) 797-806.
141. <http://www.forumsci.co.il>
142. Zief M., *Solid Phase Extraction for Sample Preparation*, Phillipsburg: JT Baker (2005).
143. Melek E., Tuzen, M., Soylak, M., Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Cadmium(II) and Lead(II) After Their Solid Phase Extraction as Dibenzylidithiocarbamate Chelates on Dowex Optipore V-493, *Analytica Chimica Acta*, 578 (2), (2006) 213-219.
144. Soylak M, Solid Phase Extraction of Cu(II), Pb(II), Fe(III), Co(II), and Cr(III) on Chelex-100 Column prior to Their Flame Atomic Absorption Spectrometric Determinations, *Analytical Letters*, 37 (6), (2004) 1203-1217
145. Cukurovali, A., Yilmaz, I., Synthesis and Characterization of a New Cyclobutane Substituted Schiff Base Ligand and Its Cd(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) Complexes, *Polish Journal of Chemistry*, 74(1), (2000) 147-151.
146. Cukurovali, A., Yilmaz, I., Özmen, H., Antimicrobial Activity Studies of the Metal Complexes Derived From Cyclobutane Substituted Thiazole Schiff Base Ligands, *Transition Metal Chemistry* , 26(6), (2001) 619-624Bekaroğlu, Ö., Tan, N., *Anorganik Kimya*, Gazi Üniv. Fen Fakültesi Yayınları, Ankara (1988).

