

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ**

**Çeşitli Gıda Kozmetik ve Çevre Örneklerindeki Bazı Ağır
Metallerin Florometrik Yöntemle Tayini**

FYL-2014-5544

Yüksek Lisans Tez Projesi

SONUÇ RAPORU

**Proje Yürütücüsü:
Doç.Dr.Şerife SAÇMACI
Fen Fakültesi/Kimya Bölümü**

**Araştırmacının Adı Soyadı
Doç.Dr.Şerife SAÇMACI
Fen Fakültesi/Kimya Bölümü**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Doç.Dr. Şerife SAÇMACI

Bu alışma başlangıçta yüksek lisans tezi olarak verilmiştir. Ancak Tez ğrencisi Gülçin Kalkan'ın başka bir şehirden teze gelmesi ve de özellikle ekonomik sebeplerden dolayı tezi bırakmıştır. Bu nedenle tüm deneysel çalışmalar bizzat tarafımdan yapılmıştır.

Doç.Dr.şerife SAÇMACI

04.01.2016

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FYL-2014-5541) teşekkür ederim.

Doç.Dr.Şerife SAÇMACI

Kayseri, Ocak 2016

“ÇEŞİTLİ GIDA KOZMETİK VE ÇEVRE ÖRNEKLERİNDEKİ BAZI AĞIR METALLERİN FLOROMETRİK YÖNTEMLE TAYİNİ”

Doç.Dr.Şerife SAÇMACI

**Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2016
Danışman: Doç. Dr. Şerife SAÇMACI**

ÖZET

Gümüş; günlük hayatımızda hemen her alanda kullanılmaya başlanan bir metaldir. Gümüş iyonunun ise daha önceki çalışmalar ile toksik etkilere sahip olduğu bilindiği için, bu çalışma da gıda ve çevre örneklerindeki Ag(I) iyonunun ultra-eser düzeyde tespiti amaçlanmıştır.

Ag(I)'ün gıda ve çevre örneklerindeki analizleri biyolojik sistemlerdeki toksitesi ve gerekliliği sebebi ile önemlidir. Bu nedenle öncelikle Ag(I) iyonunun tayininde kullanılmak üzere spesifik yeni bir ligand [2-((E)-{[3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron (DKES) bileşiği ilk defa sentezlenerek FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve elementel analiz ile karakterizasyonu yapıldı.

DKES bileşiği güçlü floresans özellik gösteren bir ligandır. Bu ligandın floresans özelliklerinden faydalanarak Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarı'nda yapılan bir florometre kullanılarak bazı gerçek örneklerdeki Gümüş'ün miktarının tayini için bir yöntem geliştirildi.

Geliştirilen yöntemin optimizasyonu için; örnek pH ve asitliği, DKES miktarının etkisi, Ag(I) miktarı, sıcaklık, Ag(I)-DKES kompleks oluşumu için bekleme süresi, yüzey aktif madde etkisi gibi değişkenlerin optimizasyonu yapılarak, optimum şartlar altında çeşitli gıda ve çevre örneklerinde bulunan ultra-eser miktardaki Ag(I)'ün tayini gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen metodun doğruluğu standart referans maddeleri ve analit ilavesi ile test edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gümüş, floresans, florometre, direkt tayin, ultra-eser, moleküler lüminesans.

**“DETERMINATION OF SOME HEAVY METALS IN A VARIETY OF FOODS
WITH FLOUROMETRIC METHOD COSMETICS AND
ENVIRONMENT EXAMPLE”**

Assoc. Prof. Şerife SAÇMACI

**Erciyes University, Faculty of Sciences
Department of Chemistry**

ABSTRACT

Silver; our daily life is a metal being used in almost every field. If the silver ion is known to have toxic effects with previous studies, this study also in food and environmental samples Ag (I) ion is intended to detect the ultra-trace levels.

Ag (I) 's analysis in food and environmental samples with significant toxicity and is in biological systems because of necessity. Therefore, first, Ag (I) specific new ligands for use in the determination of ions [2 - ((E) - {[3 ', 6'-bis (diethylamino) -3-oxospiro [isindoline-1,9'-xanthene] - 2 (3H) -yl] imino} methyl) cyclopenta-2,4-dien-1-yl] (cyclopenta-2,4-dien-1-yl) -iro the (DKES) compound is first synthesized FTIR, ¹H-NMR ¹³C-NMR characterization was performed by elemental analysis.

DKES compound is a ligand showing strong fluorescence. This ligand fluorescence properties benefiting from Erciyes University Department of Chemistry, Faculty of Science a method for the determination of the amount of silver in some real samples using a fluorometer made in Instrumental Analysis Laboratory was developed.

Improved methods for optimization; Examples of pH and acidity, the influence amount of DKES, Ag (I) content, temperature, Ag (I) waiting time for -DKES complex formation, making optimization of variables such as the effects of surfactant, available in a variety of food and environmental samples under optimum conditions of ultra-trace amount of Ag (I), the assay was performed. The accuracy of the developed method was tested using a standard reference material and analyte addition.

Keywords: Silver, fluorescence, fluorometer, ultra-trace molecular luminescence, determination of direct

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	iii
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR	v
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	viii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

MOLEKÜLER LÜMİNESANS SPEKTROSKOPİSİ

1.1. Lüminesans Nedir ?	3
1.2. Floresans ve Fosforesans	4
1.2.1. Singlet/Triplet Uyarılmış Haller	5
1.2.2. Absorpsiyon ve Emisyon Hızları.....	6
1.3. Sönüm İşlemleri.....	7
1.3.1. Titreşimsel Durulma	7
1.3.2. İç Dönüşüm	7
1.3.3. Dış Dönüşüm	8
1.3.4. Sistemler Arası Geçiş	8
1.3.5. Fosforesans.....	9
1.4. Floresans ve Fosforesansı Etkileyen Değişkenler.....	9
1.4.1. Kuantum Verimi.....	9
1.4.2. Floresansta Geçiş Tipleri	10
1.4.3. Moleküler Yapının Floresans Şiddetine Etkisi	10

1.4.4. Yapısal Rijitliğin Floresans Şiddetine Etkisi	12
1.4.5. Sıcaklık ve Çözücünün Floresans Şiddetine Etkisi	12
1.4.6. pH'nın Floresans Şiddetine Etkisi	12
1.4.7. Çözünmüş Oksijenin Floresans Şiddetine Etkisi.....	13
1.4.8. Derişimin Floresans Şiddetine Etkisi.....	13
1.4.9. Emisyon ve Uyarma Spektrumları	14
1.5. Floresans Ölçüm Cihazları.....	15
1.5.1. Kaynaklar.....	16
1.5.2. Monokromatör ve Filtreler.....	16
1.5.3. Dedektörler	17
1.5.4. Hücre Bölmeleri ve Hücreler.....	17
1.6. Cihaz Tasarımları	17
1.6.1. Florometreler	17
1.6.2. Spektrofluorometreler.....	18
1.6.3. Serili Dedektörlere Dayanan Spektrofluorometreler.....	19
1.6.4. Fiber Optik Floresans Algılayıcılar	19
1.6.5. Fosforimetreler	19
1.7. Cihazın Ayarlanması	20
1.8. Uygulamalar ve Fotoluminesans Metodları	20
1.8.1. Anorganik Türlerin Florometrik Tayinleri	20
1.8.2. Organik Türlerin Florometrik Tayinleri	21
1.8.3. Fosforimetrik Metodlar	21
1.9. Kemilüminesans	21
1.9.1. Kemilüminesansin Ölçülmesi	22
1.9.2. Kemilüminesansin Analitik Uygulamaları.....	22
1.9.2.1. Gazların Analizi.....	22
1.9.2.2. Sıvı Fazda İnorganik Türlerin Analizi	23
1.9.2.3. Organik Türlerin Analizi.....	23

2. BÖLÜM

DOĞRUDAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.1. Analiz teknikleri.....	25
2.1.1. X-Işını Floresans Spektroskopisi (XRF).....	25
2.1.1.1. XRF çalışma prensibi	26
2.1.1.2. Uygulama Alanları.....	26
2.1.2. Ark ve Kıvılcım Emisyon Spektroskopisi	26
2.1.2.1. Çalışma İlkesi	26
2.1.2.2. Analitik Uygulamaları.....	27
2.1.3. İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (ICP).....	27
2.1.3.1. Çalışma Prensibi	27
2.1.3.2. Analitik Uygulamaları.....	28
2.1.4. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (GFAAS)	28
2.1.4.1. Çalışma İlkesi	28
2.1.4.2. Analitik Uygulamaları.....	28
2.1.5. Nötron Aktivasyon Analizi	29
2.1.5.1. Çalışma İlkesi	29
2.1.5.2. Nötron Aktivasyonun Uygulaması	29
2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	30
2.1.6.1. Çalışma İlkesi	30
2.1.6.2. Uygulama Alanları.....	30
2.2. Gümüş	30
2.3. Gümüşün Doğada Bulunuşu ve Eldesi	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.4. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.5. Gümüşün Kullanıldığı Alanlar	31
2.6. Gümüşün İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.7. Gümüşün Tayini için Literatürde Yer Alan Çalışmalar	32
2.8. Kimyasal Sensör ve Problar	33
2.8.1. Sensör ve Prob Nedir?	33

3. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

3.1. Deneyde Kullanılan Aletler	35
3.1.1. Floresans Ölçüm Cihazı	35
3.1.2. Mikropipet	35
3.1.3. pH metre.....	36
3.1.4. Tüp.....	36
3.1.5. Süzgeç Kâğıdı.....	36
3.1.6. :[2-((E)-{[3',6'-bis(dietilamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron “DKES” Sentezlenmesi Sırasında Kullanılan Cihazlar	36
3.2. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışı.....	37
3.2.1. :[2-((E)-{[3',6'-bis(dietilamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron Bileşiği	37
3.2.1.1.DKES’in Sentezi ve Reaksiyon Basamakları	37
3.2.1.2. DKES Bileşiğinin Yapısının Doğrulanması.....	39
3.2.2. Ortam Bileşenlerinin Etkisinin İncelenmesinde Kullanılan Çözeltiler	42
3.3. Deneysel Parametrelerin Optimizasyonu	43
3.3.1. pH Etkisi.....	43
3.3.2. DKES Reaktifinin Miktarının Etkisi.....	45
3.3.3. Ag(I) Miktarının Etkisi	46
3.3.4. Kompleks Oluşumu İçin Bekleme Süresinin Etkisi	47
3.3.5. Çalışma Aralığının Belirlenmesi	48
3.3.6. Ortam Matriks Bileşenlerinin Etkisinin İncelenmesi	49
3.3.7. Sıcaklığın Etkisi	50
3.3.8. Yüzey Aktif Maddenin DKES ve Kompleksin Dalga Boyuna Etkisi	51
3.4. Kompleks Stokiyometrisinin Bulunması	53
3.4.1. Florometre İle Sürekli Değişme Metodu	53
3.4.3. UV-VIS Spektrofotometresi İle Sürekli Değişme Metodu.....	54
3.5. FT-IR ile Ag(I)-DKES Kompleksinin İncelenmesi.....	56

3.6. Geliştirilen Yöntemin Gözlenebilme Sınırı.....	57
3.7. Yöntemin Gerçek Örneklerle Uygulaması.....	58
3.8. Yöntemin Doğruluğunun İncelenmesi	58
3.8.1. Standart Referans Madde (SRM) Analizi...Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	

BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ.....Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	

KISALTMALAR VE SİMGELER

Sembol	Anlamı
A	: Absorbans
Ag (I)	: Gümüş iyonu
C	: Derişim
DKES	: [2-((E)-{[3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron
F	: Floresans Şiddeti
GFAAS	: Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon
GSA	: Gözlenebilme Sınırı Altında
ICP	: İndüktif Eşleşmiş Plazma
LD	: Lazer Diyet
LOD	: Gözlenebilme Sınırı
M*	: Uyarılmış molekül
RSD	: Bağlı Standart Sapma
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SEM	: Taramalı Elektron Spektroskopisi
UV-VIS	: Ultraviyole – Görünür Bölge
ν	: Frekans
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XRF	: X-ışını Floresans Spektroskopisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Uyarılmış singlet/triplet haller	5
Şekil 1.2.	Fotoluminesans moleküller için enerji diyagramı (Jabloski Diyagramı)	6
Şekil 1.3	Lüminesans Cihazlarının Blok Diyagramı	15
Şekil 1.4.	Basit Bir Florometre	15
Şekil 1.5.	Tipik Bir Florometre	17
Şekil 1.6.	Tipik Bir Spektrofluorometre	18
Şekil 1.7.	Fosforimetre Düzeneği	19
Şekil 2.1.	Alüminyum Metali Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Şekil 3.1.	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarı'nda yapılan florometre tasarımı	35
Şekil 3.2.	DKES reaktifinin öngörülen açık yapısı	37
Şekil 3.3.	DKES reaktifinin oluşum mekanizması	38
Şekil 3.4.	DKES bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	40
Şekil 3.5.	DKES bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	41
Şekil 3.6.	DKES reaktifinin FT-IR spektrumu	42
Şekil 3.7.	Kompleks oluşumuna pH'nın etkisi	44
Şekil 3.8.	Ag(I)- DKES kompleksinin florometre aletinden alınan farklı ortamlardaki pikleri	45
Şekil 3.9.	DKES miktarı ile Ag(I)- DKES kompleksinin floresans şiddetindeki değişim	46
Şekil 3.10.	DKES miktarının kompleksin floresans şiddetine etkisi Hata! Yer işareti tanımlanman	
Şekil 3.11.	Ag(I) miktarının floresans şiddetine etkisi	47
Şekil 3.12.	Bekleme süresinin floresans şiddetine etkisi	48
Şekil 3.13.	Ag(I)-DKES kompleksi için kalibrasyon doğrusu	49
Şekil 3.14.	Kalibrasyon pik görüntüsü ve dalga boyu	49

Şekil 3.15. Ag(I)- DKES kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi	51
Şekil 3.16. Yüzey aktif maddenin dalga boyuna etkisi	53
Şekil 3.17. Florometre ile kompleks stokiyometrisi.....	54
Şekil 3.18. Florometre ile kompleks stokiyometrisi.	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 3.19. Optimum şartlarda Ag(I)- DKES kompleksinin UV-VIS spektrofotometresinde dalga boyu taraması	55
Şekil 3.20. UV- VIS spektrofotometresi ile kompleks stokiyometrisi	56
Şekil 3.21. UV- VIS spektrofotometresi ile kompleks stokiyometrisi	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 3.22. DKES reaktifinin ve Ag(I)- DKES kompleksinin FT-IR spektrumu	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 3.23. Gözlenebilme sınırı için pikler	58

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Kuantum Verimi Hesaplama Denklemi	9
Tablo 1.2. Etanol İçindeki Benzenin Floresansına Süstitüsyonun Etkisi	11
Tablo 2.1. Ag Karakteristik Özellikleri	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 2.2. Ag bileşikleri ve kullanım alanları	31
Tablo 3.1. DKES Reaktifinin Yüzde Bileşenleri.....	39
Tablo 3.2. Bazı anyon ve katyonların Ag(I) kompleksinin tayinine etkisi.....	50
Tablo 3.3. Yüzey aktif maddenin dalga boylarına etkisi	52
Tablo 3.3. Yüzey aktif maddenin dalga boylarına etkisi	53
Tablo 3.5. Mol oranı metodu uygulanması.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 3.6. Sürekli değişme metodu uygulaması.....	55
Tablo 3.7. Mol oranı metodu uygulaması.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 3.19. INCT-TL-1 Standart Referans Madde Analiz Sonuçları	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 3.20. Gerçek Örneklerle Analit İlavesi.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

GİRİŞ

Bu çalışma da, gümüş iyonunun florometrik yöntem kullanılarak çeşitli çevre ve gıda örneklerinde tayini hedeflenmiştir. Bu nedenle, çeşitli çevre ve gıda örnekleri analize hazır hale getirilerek, herhangi bir ayırma ve zenginleştirme prosedürüne gerek duyulmadan Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarı'nda yapılan florometre ile tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın amaçlarını kısaca özetleyecek olursak;

- 1) Gıda ve çevre örneklerindeki alüminyum elementinin floresans özellik gösteren ve ilk defa sentezlenen [2-((*E*)-{[3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[isindol-1,9'-ksanten]-2(3*H*)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron “DKES” ile birlikte florometre de tayini amaçlanmıştır.
- 2) Gümüş, gıda ve çevre örneklerinde direkt olarak tayini mümkün olmayan bir elementtir. Sentezlenen DKES ligandı ile herhangi bir ayırma-zenginleştirme yöntemine başvurmadan ultra-eser düzeydeki alüminyumun tayini için çalışmalar yapılmıştır.
- 3) Geliştirdiğimiz yöntem ile tekrarlanabilirlik, doğruluk, standart referans madde analizi ve analit ilavesi gibi analitik parametreler incelenerek bu bulgular yöntemimizin gerçek örneklerle uygulanabilirliği hakkında bilgiler vermiştir.

Son yıllarda metaller için yüksek miktarda seçici ve hassas organik floresan problemlerin araştırılması ve tanınması, hem biyolojik hem de çevresel açıdan oldukça önem kazanmıştır. Çok sayıdaki analitik yöntem arasında floresans yüksek hassasiyeti nedeniyle ön plana çıkmaktadır [1].

Floresan bazlı sistemler aktif olarak incelenmiş ve biyolojik analiz için florometrenin özel avantajlarına ilgiyi yoğunlaştırmıştır. Bu tekniğin son derece duyarlı olması ve ölçümlerde sistemlere zarar verilmemesi de çok önemlidir [2].

Florometrik yöntemler; maliyetinin az olması, otomasyona uyarlanabilir olması, çevre kirliliğine sebep olabilecek atıklar meydana getirmemesi, doğrudan ve gerçek zamanlı analizin gerçekleştirilebilir olması, klinik tanılama için sensör olarak kullanılabilmesi nedeni ile de ön plana çıkmaktadır [3].

1. BÖLÜM

MOLEKÜLER LÜMINESANS SPEKTROSKOPİSİ

1.1. Lüminesans Nedir ?

Elektronik olarak uyarılmış türlerin; UV – VIS veya kızılötesi foton emisyonu yayması “lüminesans” olarak adlandırılır. İsim latince “lūmen = ışık” kelimesinden gelmekte ve ilk olarak fizikçi bilim adamları tarafından “lūminescenz” olarak tanımlanmıştır [4].

Ayrıca lüminesans, elektromanyetik ışık yayması nedeni ile ışıldama olarakta bilinir ve diğer elektromanyetik ışık yayan sistemlerden ayırt edici özelliği ise kaynağın ısısında bir değişme meydana gelmeden ışın yaymasıdır. “Soğuk ışık” olarakta bilinen lüminesans bu yönüyle siyah cisim ışımasından ayrılır.

Lüminesans herhangi bir maddenin dış bir uyarıcı kaynaktan aldığı enerjinin, bir bölümünü elektromanyetik ışıınım olarak yaymasıdır [5].

Moleküler lüminesans ise; moleküler düzeyde uyarılan maddelerin elektromanyetik ışıınım yayması ile ilgilenir [6]

Moleküler floresans, fosforesans ve kemilüminesans gibi optik yöntemlerde, analizi yapılacak olan analit moleküllerinin emisyon spektrumları; nicel ve nitel bilgileri gösterecek şekilde uyarılır. Bu yöntemler “moleküler lüminesans” olarak bilinir.

Ultraviyole–görünür (UV-VIS) bölge ışınlarının bir molekül veya çok atomlu iyonlar tarafından absorpsiyonu ile molekülün bağ elektronları veya değerlik elektronları temel düzeyden daha yüksek enerji düzeyli bir orbitale geçer ve “uyarılmış molekül (M^*)” oluşur.



Uyarılmış molekül $10^{-8} - 10^{-9}$ saniye gibi kısa bir süre de tekrar temel hale döner ve bu duruma “durulma” adı verilir. Temel duruma dönüş ışımalı veya ışımasız yolla (floresans veya fosforesans) gerçekleşebilir.



Floresans ve fosforesans, uyarılmanın fotonların absorpsiyonu ile olması bakımından benzerdir. Bu nedenle bu iki olay “fotoluminesans” olarak adlandırılır [7].

1.2. Floresans ve Fosforesans

Floresans olayı, sönüm süresi sıcaklıktan bağımsız olan ve molekül uyarıldığı süre boyunca devam eden ışıma olayıdır. Floresans olayında elektronlar uyarma boyunca bir üst enerji seviyesinde bulunurlar ve bu uyarma kesildikten sonra görünür bölge ışını yayarak tekrar temel seviyeye geçiş yaparlar. Floresans ışımadaki elektronlar temel seviyede ters spinli olarak yerleşmiş olan elektronlar uyarma sırasında singlet konumuna geçerler (örneğin anti paralel) ve uyarma kesildikten sonra tekrar temel duruma geçerler [8].

Seyreltik atomik buharı floresans gösteren en basit sistem olmasına karşın kompleks katı, sıvı ve gaz olan kimyasal sistemlerde de oluşur.

Floresans ve fosforesansı birbirinden ayıran en önemli unsur; floresanstan sorumlu elektronik enerji aktarımının elektronun spininde bir farklılık olmadan oluşmasıdır. Bunun neticesinde ise; floresans hemen sönümlenen ($<10^{-5}$ s) bir lüminesans olup kısa ömürlüdür [9].

Fosforesans emisyonları ile ilişkili elektronun spinindeki bir farklılaşma, ışınlamanın sona ermesinden hemen sonra rahatlıkla belirlenebilir bir süre kadar, çoğunlukla birkaç saniye veya daha uzun bir süre, ışımanın devam etmesine sebep olur [10].

Madde üzerine gönderilen ışınlar, UV-VIS ve IR ışınlarıdır. Bu ışınlar madde tarafından çok kısa bir süre absorplanır ve daha sonra floresans veya fosforesans ışınları olarak etrafa yayılır [6].

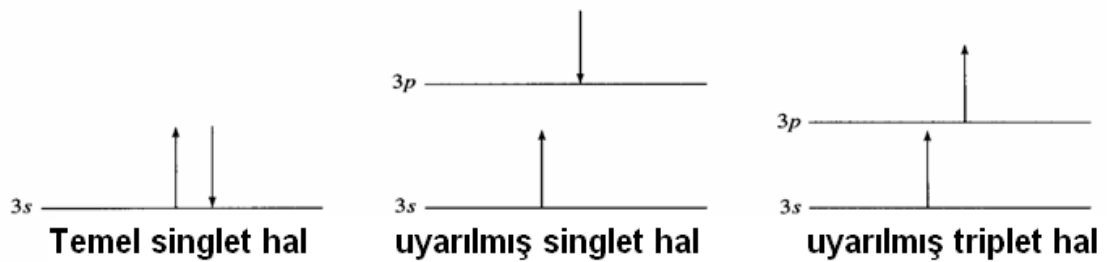
Floresans ve fosforesans olayında yayılan ışığın dalga boyu uyaran ışığın dalga boyundan daha büyüktür. Enerjinin bir kısmının ısı enerjisine dönüştüğü için yayılan ışığın enerjisi daha küçüktür [11].

Soğurulan ışın frekansta herhangi bir değişiklik meydana getirmeden tekrar yayılıyorsa, floresansın bu türüne “rezonans floresansı” adı verilir. Moleküler türlerin birçoğu rezonans floresansı da gösterebilir. Rezonans çizgisinden daha uzun dalga boylarına merkezlenmiş olan moleküler floresans (veya fosforesans) hatlarının bir çoğu, bu uzun dalga boylarına ve düşük enerjilere kayma eğilimi gösterir ve bu eğilim “stokes kayması” olarak adlandırılır [12].

1.2.1. Singlet/Triplet Uyarılmış Haller

Moleküler elektronik halinde; bütün elektron spinlerinin eşleşmiş olduğu durum “singlet hal” olarak bilinir. Singlet hale sahip bir molekül manyetik alana maruz kaldığında elektronik enerji düzeylerinde hiçbir yarıma gözlenmez. Fakat, dublet hali ise; serbest bir radikal için temel haldir. Zira; manyetik alan içinde bulunan sistemde tek elektronun çok az bile olsa farklı enerjilerde etki eden iki yönelmeye sahip olduğu düşünülebilir.

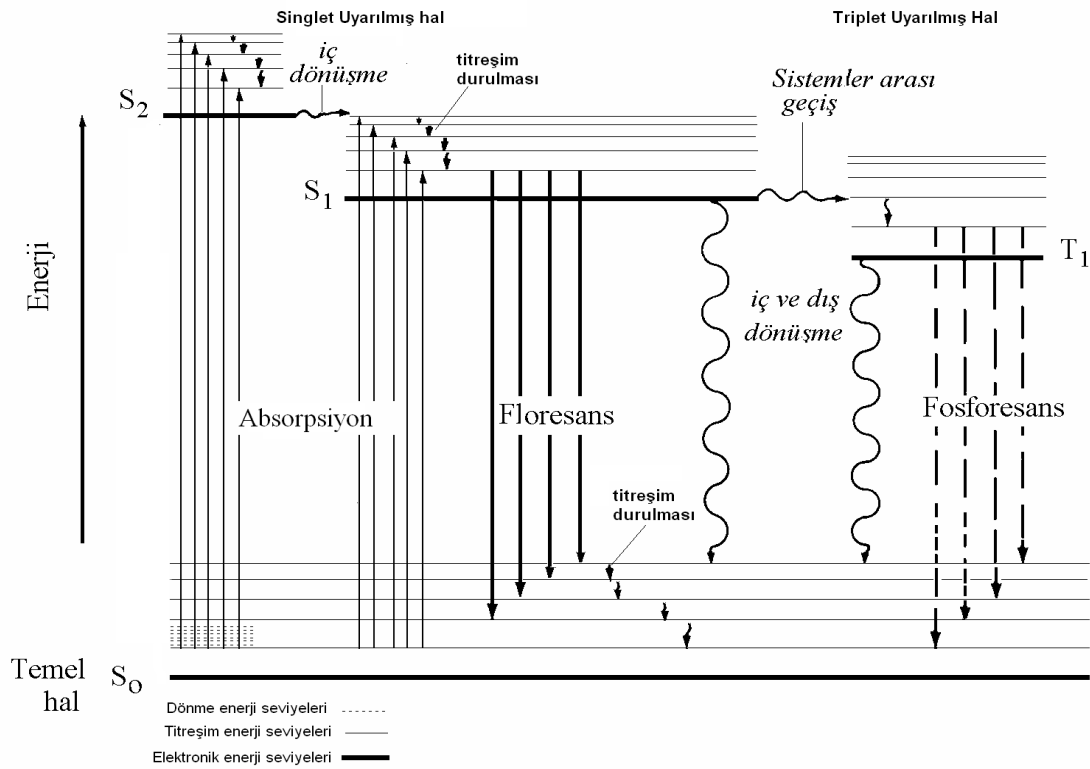
Bir moleküldeki singlet veya triplet hal; molekülün bir çift elektronundan birinin temel halden daha yüksek bir enerji düzeyine uyarılmasıyla meydana gelir. Temel halde bulunan elektron ile uyarılmış olan elektronun spini birbirleri ile eşleşmiş vaziyette ise; “uyarılmış singlet hal”, temel haldeki elektron ile eşleşmemiş durumda ve paralel ise; “uyarılmış triplet hal” meydana gelir [6-7].



Şekil 1.1. Uyarılmış singlet/triplet haller

Uyarılmış singlet hal, uyarılmış triplet halden daha yüksek enerjilidir. Uyarılmış singlet ve triplet haldeki moleküllerin özellikleri birbirlerinden oldukça farklıdır. Elektronun, singlet/singlet geçişi, singlet/triplet geçişine göre daha fazladır. Bunun neticesinde ise; uyarılmış triplet durumun yaklaşık ömrü 10^{-4} saniyeden birkaç saniyeye kadar sürmektedir. Uyarılmış singlet halin ortalama ömrü $10^{-5} - 10^{-8}$ saniye civarındır [13].

Molekül temel halde ise; ışınla triplet hale uyarılması çok az bir ihtimaldir. Singlet/triplet geçişi neticesinde meydana gelen soğurma piklerinin şiddeti, singlet/singlet geçişine denk olan soğurma pik şiddetlerinden birkaç ondalık mertebesinde daha düşüktür. Uyarılmış singlet durumundaki moleküllerden yalnızca bazıları, uyarılmış triplet hale geçebilirler ve bu durum “fosforesans” ile sonuçlanır. Bu durum “Jabloski Diyagramı” ile anlatılmaktadır;



Şekil 1.2. Fotoluminesans moleküller için enerji diyagramı (Jabloski Diyagramı)

1.2.2. Absorpsiyon ve Emisyon Hızları

Bir ışının soğurulma hızı çok yüksek olduğu halde, floresans emisyonu hızı daha yavaştır. Uyarılma işlemine karşılık gelen soğurulma pikinin molar absorptivitesi ve uyarılmış halin ömrü birbirleri ile ters orantılıdır. Bu sebepten dolayı; molar absorptivite katsayısı $10^3 - 10^5$ aralığında olanların uyarılmış hallerinin ömrü $10^{-7} - 10^{-9}$ saniyedir. Zayıf soğurucu sistemlerde geçiş olasılığı düşük olabilir, böyle sistemlerde uyarılmış halin ömrü $10^{-6} - 10^{-5}$ saniye kadar daha uzun olabilir.

Singlet/singlet geçişinde ortalama hız, buna karşılık gelebilecek triplet/singlet geçişinin ortalama hızından daha fazladır. Bu nedenle fosforesans emisyonu $10^{-4} - 10$ saniye veya daha fazla süre gerektirebilir [14].

1.3. Sönüm İşlemleri

Uyarılmış haldeki molekülün temel haline dönüşü aniden değil birkaç aşama da meydana gelir. Bu aşamalardan iki tanesi ışın emisyonu (floresans veya fosforesans) içerirken diğer bir sönüm işlemi de ışınmasız yolla gerçekleşen durumdur [15].

1.3.1. Titreşimsel Durulma

Molekül elektronik uyarılma esnasında birçok titreşim düzeyinden rastgele birine uyarılabilir. Uyarılmış olan türlerin molekülleri ile çözücü molekülleri arasındaki çarpışmalar sonucunda çözelti içerisinde, yüksek titreşim enerjisinin hemen kaybedilmesi ile bir enerji aktarımı ve çözücü sıcaklığında az miktarda artış gözlenir. Titreşim enerji düzeyleri dikkate alındığında uyarılmış bir molekülün ortalama ömrü 10^{-12} s veya daha kısa olmakla birlikte, bu süre elektronik olarak uyarılmış bir halin ortalama ömründen oldukça kısadır. Bu nedenle de durulma işlemi oldukça etkilidir. Sonuçta, çözeltideki floresans daima uyarılmış bir elektronik durumun en düşük titreşim düzeyinden bir geçiş ile alakalıdır. Aynı zamanda, elektron, ilk durumdaki titreşim düzeylerinden rastgele birine dönüş yapabileceğinden dolayı, birbirine yakın birçok pik oluşur ve daha fazla titreşimsel durulma ile elektron, süratle temel elektronik durumun en düşük titreşim düzeyine döner [12,13].

Bir elektronik geçiş dikkate alındığında, floresans bandının soğurma bandından daha uzun dalga boylarına veya daha düşük frekanslara kayması (stokes kayması), titreşimsel durulmanın bir neticesidir [9,15].

1.3.2. İç Dönüşüm

Bir molekül uyarılmış halden daha düşük bir elektronik enerji seviyesine dönerken ışın yaymadan geçiyorsa bu molekül iç olaylar iç dönüşüm terimi ile ifade edilir. Bu olaylar henüz tam olarak tanımlanamamış olsa bile, bağıl olarak floresans gösteren bileşiklerin sayılarının düşük olması iç dönüşümün floresansı etkilediğini gösterir [6].

İki elektronik enerji düzeyi arasında bulunan titreşim düzeyleri birbirlerine bir örtüşme gösterecek kadar yakınsa iç dönüşümün katkısı gözlenir. Şekil 1.2’de gösterilen örtüşmeler için, uyarılmış iki halin potansiyel enerjileri eşittir ve bu eşitlik, net olarak etkili bir geçişe izin vermektedir. Yüksek enerjili uyarılmış bir halden temel hale dönerken, floresans ile enerji kaybına göre, örtüşen titreşim seviyeleri arasındaki iç dönüşüm ihtimali daha fazladır [10].

Ön ayrışma olayının bir sonucu da iç dönüşüme sebep olabilir. Titreşim enerjisinin bir bağı koparmaya sebep olacak kadar büyük olabileceği yüksek enerjili bir elektronik halden, düşük enerji düzeyindeki elektronik halin yüksek enerjili titreşim düzeyine geçer. Elektronik uyarma enerjisinden daha düşük kuvvete sahip bağların, büyük moleküllerdeki kromoforlarda bulunma ihtimali yüksektir. Bu bağların kopması, kromoforun absorpsiyonu ve zayıf bağ ile ilgili titreşim enerjisine, elektronik enerjinin iç dönüşümünün bir sonucu olarak ortaya çıkabilir [16].

1.3.3. Dış Dönüşüm

Uyarılmış bir elektronik halin sönüme uğraması, uyarılmış molekül ve çözücü ya da diğer çözünenler arasındaki etkileşimi aynı zamanda da enerji naklini ihtiva edebilir. Bu duruma “dış dönüşüm” ya da “çarpışma ile sönüm” adı verilir. Çözücünün floresans şiddeti üzerindeki güçlü etkisi ayrıca taneciklerin çarpışmasını azaltan faktörler (yüksek viskozite ve düşük sıcaklık) dış dönüşüm için kanıt niteliği taşımaktadır. Henüz bu olayların ayrıntıları net olarak bilinmemektedir [9,11].

1.3.4. Sistemler Arası Geçiş

Uyarılmış bir elektronun spini ters dönerse, molekülün multiplisitesinde bir farklılık meydana gelir. Bu olaya “sistemler arası geçiş” adı verilir. Eğer, bu iki halin titreşim düzeyleri birbirleri ile örtüşürse bu geçişin ihtimalini arttırır. Şekil 1.2’de görüldüğü üzere bu singlet/triplet geçişi sistemler arası geçiştir. Yüksek triplet titreşim düzeylerinden biri ile en düşük singlet enerji düzeyinin birbiri ile örtüşmesi neticesinde spin değişmesi ihtimali vardır [17].

Ağır atom (I_2 , Br_2 ...vs.) ihtiva eden moleküllerde sistemler arası geçiş ihtimali yüksektir. İyot, brom vs. gibi ağır atomların bulunması halinde, spin/orbital etkileşimleri artar bu durumda spinde bir değişim olmasını seçenek haline

dönüştürebilir. Aynı zamanda, paramanyetik türler çözeltide mevcut ise (çözünmüş oksijen gibi) floresansı azaltırken sistemler arası geçişi artırır [14].

1.3.5. Fosforesans

Fosforesans yolu ile de uyarılmış elektronik hal enerji kaybedebilir. Sistemler arası geçişin ardından triplet durumda, fosforesans yolu ile veya iç dönüşüm ya da dış dönüşüm ile bir miktar sönüm gerçekleşebilir. Bir singlet/singlet dönüşümü bir triplet/singlet geçişine göre daha fazla gerçekleşebilir. Fosforesansta triplet/singlet geçişi olduğu için, uyarılmış triplet halin ortalama ömrü, emisyonu göre 10^{-4} s'den 10 s'ye veya daha uzun sürelerde olabilir [8].

İç ve dış dönüşüm, fosforesans ile yarış halindedir. Bu tür emisyon, katı yüzeyde soğurulan moleküllerde, sıcaklığın düşük olduğu veya viskozitenin çok yüksek olduğu ortamlarda görülebilir [18].

1.4. Floresans ve Fosforesansı Etkileyen Değişkenler

Lüminesans olayının olup olmayacağı hususunda maddenin kimyasal çevresi ve moleküler yapısı oldukça önem arz etmektedir.

1.4.1. Kuantum Verimi

Floresans veya fosforesans için lüminesans yapan moleküllerin sayısının toplam uyarılmış molekül sayısına oranı kuantum verimi veya kuantum verimi oranı (Φ) olarak tanımlanır. Floresin gibi floresans şiddeti yüksek moleküllerde bazı koşullar altında kuantum verimi bire yaklaşır. Şiddetli floresans yapmayan moleküllerin kuantum verimleri sıfıra yakındır [19,20]

Tablo 1.1. Kuantum Verimi Hesaplama Denklemi

$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_s + k_{dd} + k_{id} + k_{oa} + k_a}$	k_f	Floresans bağıl hız sabiti
	k_s	Sistemler arası geçiş bağıl hız sabiti
	k_{dd}	Dış dönüşüm bağıl hız sabiti
	k_{id}	İç dönüşüm bağıl hız sabiti
	k_{oa}	Ön ayrışma bağıl hız sabiti
	k_a	Ayrışma bağıl hız sabiti

Floresansta, kuantum verimi genellikle floresans yapan organometalik bileşiklerde, metal iyonunun yarıçapının artışı ile artmıştır. Bu durum metal iyonunun organik bileşiğe bağlı olduğunu da ispatlamıştır [21].

1.4.2. Floresansta Geçiş Tipleri

Floresans (veya fosforesans) ışını elde etmek için kullanılan ışınların dalga boyları genel olarak; 250 nm'den daha büyük olmalıdır. 250 nm'den daha küçük ışınların soğurulmasında floresans nadiren gözlenir. 250 nm'nin altındaki ışımlar önayırışma ve ayrışma ile uyarılmış durumdaki molekülün sönümüne neden olacak kadar enerjilidir.

$\alpha^* \rightarrow \alpha$ geçişi yüksek enerjili olduğu için floresans seyrek gözlenir bunun yerine floresans emisyonu daha düşük enerjili olan $\pi^* \rightarrow \pi$ veya $\pi^* \rightarrow n$ geçişlerinde gözlemlenir [6,7].

Genellikle, birinci uyarılmış halin en düşük titreşim düzeyinden, temel durumun elektronik titreşim düzeyinden rastgele bir düzeye geçişte gözlenen olay floresanstır.

Floresans, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi yapan moleküller de, $n \rightarrow \pi^*$ geçişi yapan moleküllere göre daha fazla olarak gözlemlenir. Bu durum aynı zamanda, $\pi^* \rightarrow \pi$ geçişinin kuantum veriminin yüksek olduğunu da göstermektedir. Bu tür geçişlerde floresans ile yarış halinde olan sönüm olayları daha az meydana gelebilmektedir. Çünkü, singlet/triplet haller arasındaki enerji farkı daha büyüktür, yani π^* uyarılmış halinin elektronlarının eşleşmesini bozmak daha çok enerji gerektirir [5,14]

1.4.3. Moleküler Yapının Floresans Şiddetine Etkisi

Aromatik fonksiyonel grupları ihtiva eden bileşikler en güçlü floresans yapan türlerdir. Sebebi ise düşük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişine sahip olmalarıdır. Halka sayısı ve kondensasyon derecesi kuantum verimi etkiler ve çoğunlukla da arttırır. Sayıları az olsa bile floresans özellik gösteren bir diğer grup ise; alifatik ve alisiklik karbonil grupları ve konjuge çift bağ ihtiva eden yapılardır. Süstitüe olmamış aromatik hidrokarbonlardan pek çoğu çözelti içerisinde floresans gösterebilir.

Azotlu heterosiklik bileşikler de, hızlıca triplet haline dönüşen en düşük enerjili elektronik geçişin $n \rightarrow \pi^*$ sistemi ile alakalı olduğu düşünülür. Bir heterosiklik çekirdek meydana getirmek için benzen halkalarının bir araya gelmesi soğurma pikinin molar

absorptivitesinin artmasına neden olmaktadır. Bu yapıların uyarılmış hallerinin ömürleri daha kısadır [13].

Benzen halkasındaki süstitüsyon soğurma maksimumunun dalga boyunda kaymaya ve buna karşılık olan floresans piklerinde farklılıklara yol açar. Bu etkilerin bazıları Tablo 1.2’de benzen türevleri için verilmiş olup süstitüsyon genellikle floresans verimine etki gösterir. Halojen süstitüsyonunun etkisinde ise; floresan şiddetinin azalmasının nedeni, halojenin atom numarası arttıkça triplet duruma geçen ve sistemler arası geçiş ihtimalini arttıran ağır atom etkisinin yol açtığı kabul edilmektedir. Ön ayrışma, iyodobenzen ve nitro türevlerinde önemli olduğu düşünülür, bu bileşikler, iç dönüşümden sonra uyarma enerjisini soğurabilen hemen kopabilen bağlara sahiptir.

Karboksilik asit veya karbonil grubunun süstitüsyonu aromatik halkanın çoğunlukla floresansını sönmeler. Bu bileşiklerde, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişinin enerjisi, $n \rightarrow \pi^*$ geçişine göre daha fazladır, $n \rightarrow \pi^*$ geçişi sistemin floresansının kuantum verimini normal olarak düşürür [11,12].

Tablo 1.2. Etanol İçindeki Benzenin Floresansına Süstitüsyonun Etkisi

Bileşik	Formül	Floresans Dalga Boyu, nm	Floresansın Bağıl Şiddeti
Benzen	C_6H_6	270-310	10
Toluen	$C_6H_5CH_3$	270-320	17
Propilbenzen	$C_6H_5C_3H_7$	270-320	17
Florobenzen	C_6H_5F	270-320	10
Klorobenzen	C_6H_5Cl	275-345	7
Bromobenzen	C_6H_5Br	290-380	5
İyodobenzen	C_6H_5I	-	0
Fenol	C_6H_5OH	285-365	18
Fenolat İyonu	$C_6H_5O^-$	310-400	10
Anisol	$C_6H_5OCH_3$	285-345	20
Anilin	$C_6H_5NH_2$	310-405	20
Anilinyum İyonu	$C_6H_5NH_3^+$	-	0
Benzoik Asit	C_6H_5COOH	310-390	3
Benzonitril	C_6H_5CN	280-360	20
Nitrobenzen	$C_6H_5NO_2$	-	0

1.4.4. Yapısal Rijitliğin Floresans Şiddetine Etkisi

Kimyasal rijitlik; moleküllerin dönme ve ötelenme tesirlerine direnme derecesi olarak ifade edilebilir. Ampirik olarak rijit yapıda bulunan moleküllerde floresansın fazla olduğu gösterilmiştir. Şelat yapıcı olarak kullanılan bazı organik maddelerin bir metal iyonu ile kompleks yaptıktan sonra floresans şiddetindeki artıştan kimyasal rijitliğin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Rijit olmayan moleküller de; iç dönüşüm hızının artışı ve bundan dolayı ışımasız sönümünde artmasına neden olmaktadır. Molekül rijit değilse; molekülün bir bölümü, diğer bölümüne göre daha düşük frekanslarda titreşim yapabilir, bu durum enerji kaybına neden olur [14,15].

1.4.5. Sıcaklık ve Çözücünün Floresans Şiddetine Etkisi

Yüksek sıcaklıklarda moleküllerin kinetik enerjileri artar ve moleküllerin çarpışma frekanslarında da artış gözlenir. Çarpışma frekansının artması dış dönüşüm ihtimalini arttıracak için ışımasız sönüm olasılığı yükselir. Bu durumda sıcaklığın artması floresansta kuantum verimini azaltıcı bir etki gösterir.

Aynı şekilde çözücü viskozitesi arttıkça çarpışma frekansının artması dış dönüşüm ihtimalini yükselttiği için floresansın kuantum verimini düşürmektedir.

Bir moleküldeki floresans şiddeti, ağır atom mevcudiyetinde ya da yapısında ağır atom ihtiva eden çözücüler mevcudiyetinde, azalma gösterir. Bu durum orbital spin etkileşimi ile triplet oluşum hızının artması ile açıklanabilir [5].

1.4.6. pH'nın Floresans Şiddetine Etkisi

Bir aromatik bileşiğin iyonlaşmamış ve iyonlaşmış durumları için; dalga boyu ve emisyon şiddeti birbirlerinden farklıdır. Asidik veya bazik sübstitüentleri ihtiva eden aromatik bileşiğin floresans şiddeti çoğunlukla pH ile değişir. Fenol ve anilin için bu etkiyi belirten veriler Tablo 1.2'de verilmiştir. Bu tür bileşiklerin emisyonlarındaki farklılaşmalar moleküllerin, asidik ve bazik formları, alakalı rezonans türlerinin farklılığından meydana gelir. Rezonans formları fazla olan bileşiklerde daha kararlı birinci uyarılmış hal vardır ki bu durumda ultraviyole bölge de floresans olmasını sağlar.

Ayrıca, asit/baz titrasyonlarında dönüm noktası belirlenmesinde pH'nın bir fonksiyonu olarak bazı bileşiklerin floresansından da faydalanabilir. Herkesçe bilindiği üzere asidik ya da bazik iyonlaşma sabitleri uyarılma ile değişir. Bu değişimler çok büyük değerlerdir. Sonuç olarak, floresans ölçümüne dayalı analitik yöntemlerde iyi bir pH denetiminin olması gerektiği belirtilir [5,6,7].

1.4.7. Çözünmüş Oksijenin Floresans Şiddetine Etkisi

Moleküler oksijenin paramanyetik özellikleri nedeni ile floresans şiddetinde azalma meydana gelir ve uyarılmış molekülün sistemler arası geçiş ile triplet duruma geçiş ihtimalinin artması ile beraber ışımasız yolla (fosforesans ile) sönümü meydana getirir. Ayrıca bu durum, floresans gösteren türlerin fotokimyasal prosesler ile yükseltgenmesinin neticesi olabilir. Yani, bir çözeltideki çözünmüş oksijenin ve diğer paramanyetik türlerin varlığı genellikle, floresansı azaltır [15]

1.4.8. Derişimin Floresans Şiddetine Etkisi

Floresans şiddeti (F), sistemce soğurulan uyarıcı demetin ışın şiddeti ile orantılıdır. Gelen ışın ile analit molekülü tarafından soğurulan ışın arasındaki oran; Lambert-Beer Yasası ile tanımlanır [21];

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C = -\log(I/I_0) \quad (\text{Lambert-Beer Yasası}) \quad (1-3)$$

(1-3) denkleminde eşitliğin logaritması alınır her iki tarafta 1'den çıkarılırsa;

$$1 - I/I_0 = 1 - e^{-\epsilon \cdot b \cdot C} \quad (1-4)$$

$$I_0 - I = I_0 (1 - e^{-\epsilon \cdot b \cdot C}) \quad (1-5)$$

$I_0 - I$ = Soğurulan ışın olduğuna göre bu da floresans yoğunluğu F olduğuna göre, denklem;

$$F = (I_0 - I) \cdot \phi \quad (\phi = \text{kuantum verimi}) \quad (1-6)$$

Yukarıdaki son iki eşitlik göz önüne alınırsa floresans yoğunluğu için,

$$F = I_0 \cdot (1 - e^{-\epsilon \cdot b \cdot C}) \cdot \phi \quad (1-7)$$

Seyreltik çözeltilerde $\epsilon b C$ küçük olacaktır. Yukarıdaki eşitliğin seri açılımı, yaklaşık olarak denklem (1-8)'e denk olur;

$$F = (2,303 \cdot \epsilon \cdot b \cdot I_0 \cdot \Phi) \cdot C \quad (1-8)$$

Eşitlikte $2,303 \epsilon b I_0 \Phi$ değerleri sabittir cihaza ve analizi yapılacak maddeye özgüdür ve K bu sabiti temsil etmek üzere eşitlik; (1-9) halini alır.

$$F = K \cdot C \quad (1-9)$$

Maddenin yaydığı floresans ışın şiddeti, seyreltik numunenin konsantrasyonu ile orantılıdır. Işın yayan molekülün derişimine karşı floresans şiddetinin grafiği seyreltik çözeltilerde doğrusaldır [3].

Yüksek konsantrasyonlara çıkıldıkça doğrusallıktan negatif yönde sapmalar meydana gelir. Bu durumun iki ana sebebi vardır ki bunlar;

- (i) Kendi kendine sönüm (self-quenching)
- (ii) Kendi kendine absorpsiyon (self-absorpsiyon)'dur.

Kendi kendine sönüm, uyarılmış moleküller arası çarpışmaların derişim ile artması beklenir, bu durum moleküller arası enerji aktarımını kolaylaştırdığı için bir dış dönüşüm meydana gelebilir ve ışımasız enerji aktarımı olur. Bu olay floresans şiddetini düşürür.

Emisyon dalga boyu soğurma piki ile örtüşürse; kendi kendine absorpsiyon oluşur ki emisyon çözeltilerden geçerken floresans şiddeti azalır ve diğer floresans veren türler tarafından yeniden soğurulur [20,21].

1.4.9. Emisyon ve Uyarma Spektrumları

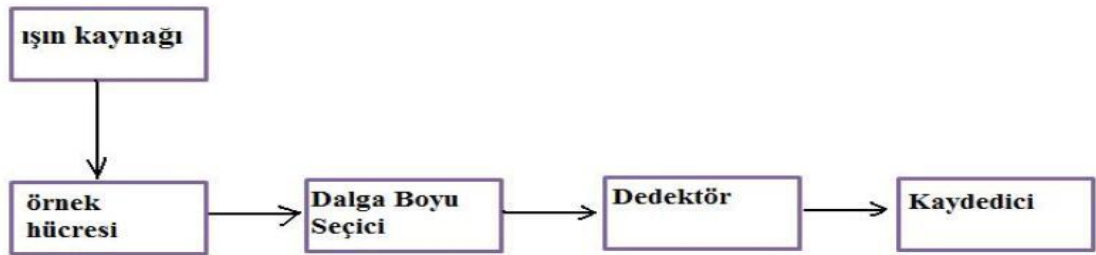
Bir uyarma spektrumu, sabit bir dalga boyunda lüminesans şiddeti ölçülürken uyarma dalga boyunun değiştirilmesi ile bulunur. Bir uyarma spektrumu, uyarılmış durumlar elde etmek için ışının soğurulmasıdır ve bu nedenle aynı koşullarda bulunan bir absorpsiyon spektrumu ile aynıdır. Bu floresans emisyonu üretmek için birinci adımdır. Ayrıca, sabit bir dalga boyundaki uyarılma ile dalga boyunun bir fonksiyonu olarak

floresans ve fosforesans spektrumlarındaki emisyon şiddetleri kaydedilir. Bu emisyon spektrumudur.

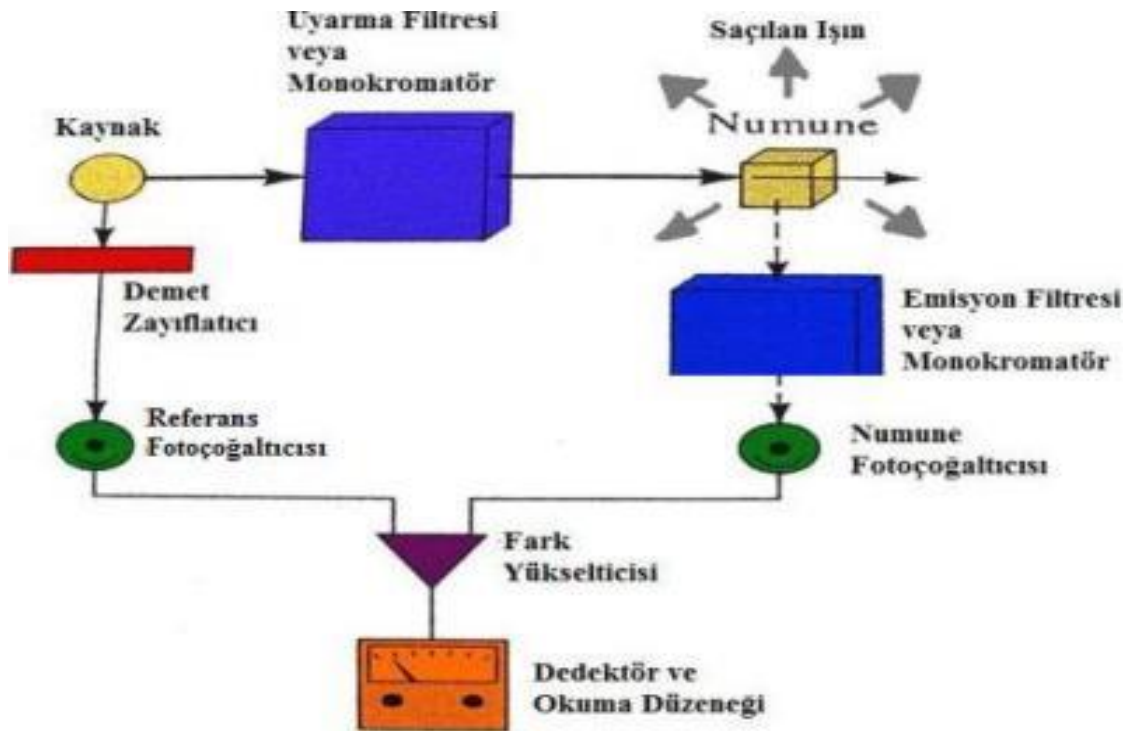
Genellikle uyarma dalga boyları, fotolüminesans dalga boylarından daha kısa dalga boylarında gözlemlenir. Diğer taraftan, floresans bantları, fosforesans bantlarına göre daha kısa dalga boylarında bulunur. Bu durum, uyarılmış triplet durumun kendisine denk gelen singlet halden daha düşük enerjili olması ile açıklanabilir [15]

1.5. Floresans Ölçüm Cihazları

Fotolüminesans ölçümünde kullanılan cihazlardaki birçok bileşen diğer metodlarda kullanılan cihazların bileşenleriyle benzerlik gösterir [5]. Cihazların blok diyagramı;



Şekil 1.3. Lüminesans Cihazlarının Blok Diyagramı



Şekil 1.4. Basit Bir Florometre

1.5.1. Kaynaklar

Uyarma amacıyla absorpsiyon ölçümlerinde kullanılan tungsten veya hidrojen lambalarından daha güçlü bir ışın kaynağına ihtiyaç duyulur. Duyarlılık ve çıkış sinyalinin büyüklüğü kaynağın şiddeti ile doğru orantılıdır [21]

Kullanılan kaynaklar ;

(i) Lambalar

(ii) Lazerler

Lambalar; erimiş slika pencere, düşük basınçlı, civa buhar lambası filtreli florometrelerde en çok kullanılan uyarma kaynağıdır. 254, 302, 313, 546, 578, 691 ve 773 nm’de uyarma floresansı için uygun çizgiler meydana getirerek, uygun soğurma veya girişim filtreleri ile, bu çizgiler diğerlerinden rahatlıkla ayırt edilebilir [23].

Ksenon ark lambası, sürekli ışın kaynağı olarak spektrofiorometrelerde yaygın olarak kullanım alanı bulmaktadır. Ksenon ark lambasının spektrumu yaklaşık olarak 300-1300 nm arasında sürekli, Ksenon ark lambaları, 75-450 W’lık yüksek basınca sahiptir. Bu nedenle, 30 V’de 5-20 A’lık doğru akım üretebilen bir güç kaynağı gereklidir [18].

Lazerler; fotoluminesans uyarma kaynağı olarak kullanım alanı bulan lazerlerin başında “pulsu azot gazı lazeri” ve Nd:YAG lazeri ile pompalanan ayarlanabilir boya lazerleri gelmektedir.

Ticari spektrofiorometrelerde kaynak olarak lambalar tercih edilse de; lazerlerin çok büyük avantajları vardır [22].

1.5.2. Monokromatör ve Filtreler

Oluşan floresans ışınlarının dalga boylarının belirlenmesi ve uyarma demetinin seçilmesi için florometrelerde girişim ve soğurma filtrelerinin her ikisi de kullanılmaktadır. Ticari spektrofiorometrelerde en az bir ya da bazen iki adet optik ağı monokromatör bulunabilir [20].

1.5.3. Dedektörler

Duyarlı floresans cihazlarında fotoçoğaltıcı tüpler en çok kullanılan dedektörlerdir. Tipik lüminesans sinyalinin düşük şiddette olması nedeni ile ölçülebilmeleri için sinyallerin yükseltilmesi gerekir. Spektroflorometreler için diyot-serili ve yük aktarma dedektörleri önerilmektedir. Bunlar hem uyarma hem de emisyon spektrumlarının hızlı kaydına izin verir ve kromatografik ve elektroforezde özellikle faydalıdır [7].

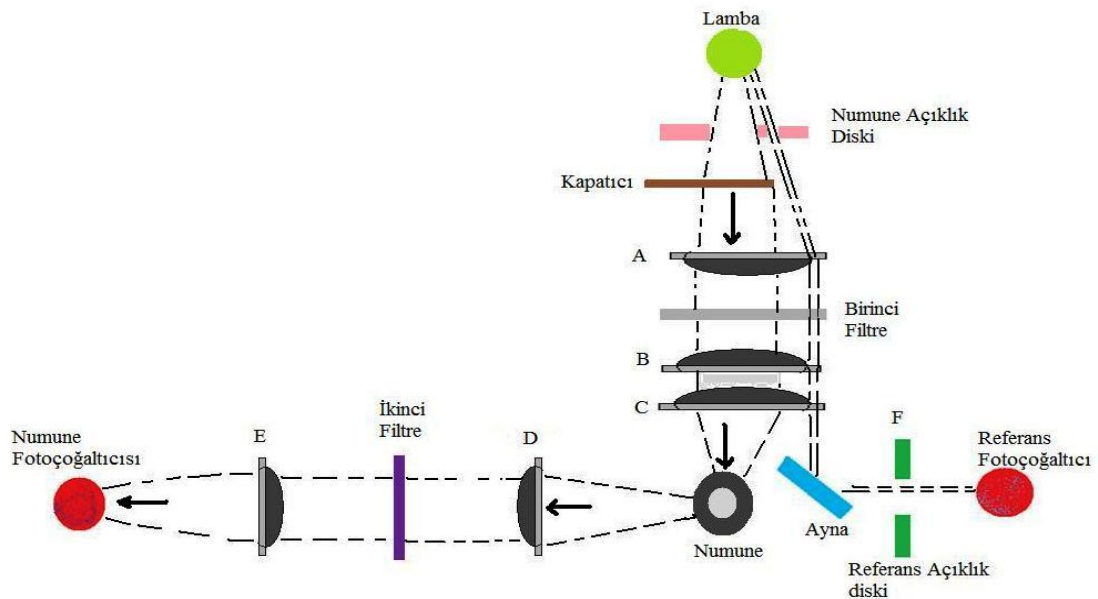
1.5.4. Hücre Bölmeleri ve Hücreler

Floresans şiddeti ölçümleri, silis ya da cam yapılmış hem dikdörtgen hem de silindirik prizma şeklindeki hücreler kullanılmaktadır. Dedektöre gelen saçılmış ışınların miktarını düşürmek için hücre bölmesine baffles'lar konulabilir. Cilt yağları çoğunlukla floresans verdiği için örnek hücrelerine bulaşan parmak izinin engellenmesi, soğurma ölçümlerinden daha fazla önem taşır [10]

1.6. Cihaz Tasarımları

1.6.1. Florometreler

Filtreli florometreler kantitatif floresans analizleri için basit ve ucuzdur. Yayılan ışınların ve uyarma kaynağından gelen ışınların dalga boylarını engelleyebilmek için girişim filtreleri ya da soğurma filtreleri kullanılır [12].



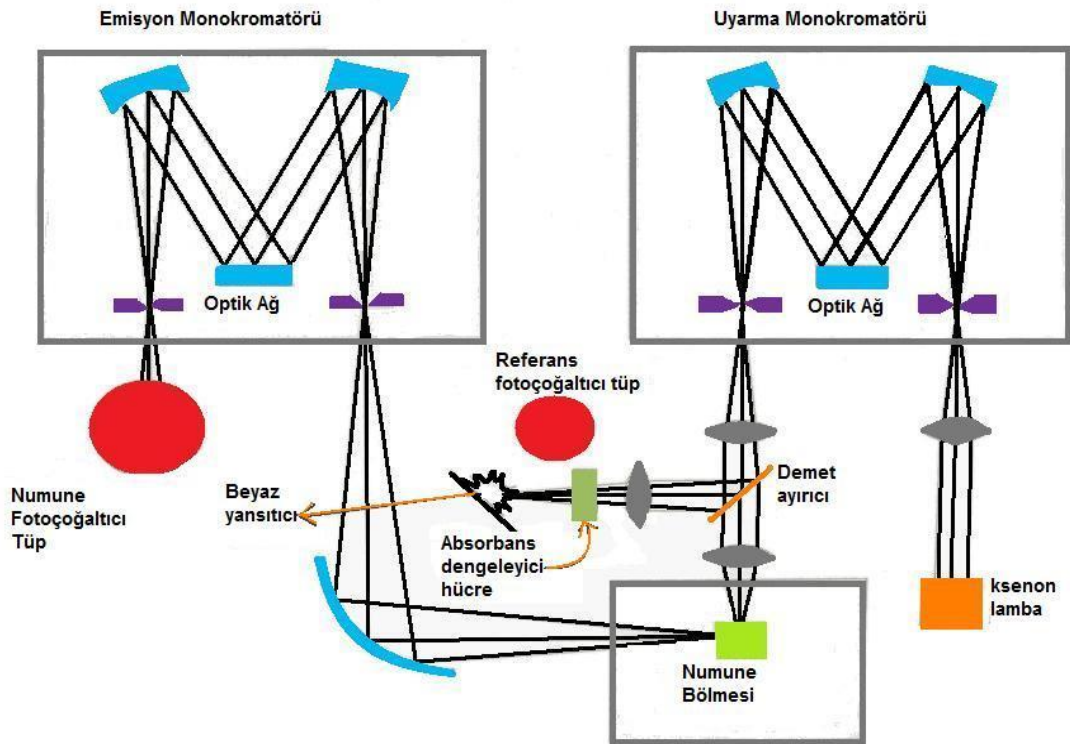
Şekil 1.5. Tipik Bir Florometre

Şekil 1.5'te görülen floresans cihazı için; floresans uyarımında ışın kaynağı olarak bir civa ark lambası ve dedektör olarak bir çift fotoçoğaltıcı tüp kullanılmıştır. Kaynak ışını, numune açıklık diskisi sayesinde bir referans ışın ve bir numune ışını olmak üzere ikiye ayrılır. Referans ışın demetinin şiddeti, numunenin ışın şiddeti ile yaklaşık olarak eşit olsun diye aralık diskisi ile şiddeti azaltılır. Her iki ışın birinci filtreden geçtikten sonra, referans ışını referans fotoçoğaltıcı tüpüne gönderilir. Numune ışını ise, mercekler yardımıyla numuneye odaklanır ve floresans emisyonuna neden olurlar. Yayılan ışın ikinci filtreden geçtikten sonra mercekler yardımıyla numune fotoçoğaltıcı tüpüne gönderilir. Referans ve numune şiddetleri arasındaki fark analitin floresans emisyonu olarak kaydedilir.

Bu şekilde ticari olarak satılan bir çok florometre vardı [15].

1.6.2. Spektroflorometreler

Florometrelerden farklı olarak emisyon ve uyarma monokromatörleri bulunan cihazlardır. Donanımları daha fazladır [19].



Şekil 1.6. Tipik Bir Spektroflorometre

1.6.3. Serili Dedektörlere Dayanan Spektroflorometreler

Diyot-serili ve yük aktarma aletlerinin kullanıldığı ve bir saniyeden daha kısa sürede yani anlık floresans spektrumlarının kaydedilebildiği cihazlar geliştirilmiştir. Aynı anda bileşiğin hem uyarma hem de emisyon spektrumu alınabilir. Bu sistem floresans yapan karmaşık türler için uygundur. Floresans özellik her molekül için ayırt edicidir [10].

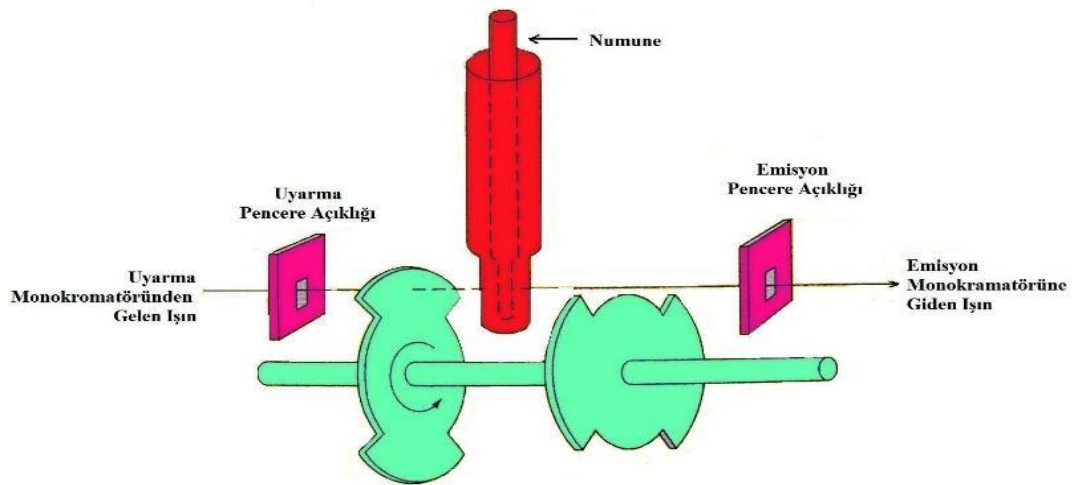
1.6.4. Fiber Optik Floresans Algılayıcılar

Görüntü ve ışın aktarmak için fiber optik teknolojisini kullanan floresans algılayıcılarıdır. Uzak mesafeden lazer kaynaktan gelen ışın optik fiber içerisinde ilerleyerek çözelti içerisinde floresans oluşturur. Oluşan floresans emisyonu aynı optik fiber içerisinde ilerler ve dedektöre gelir. Bu şekilde spektrum elde edilir [21].

1.6.5. Fosforimetreler

Fosforesans şiddetini ölçmek için kullanılan cihazlardır. Bu cihazları florometrelerden ayıran iki parça vardır. Bunlar ilk önce numunenin ışınlanmasını sağlayıp daha sonra belirli bir gecikmenin ardından fosforesans şiddetini ölçecek bir sistemdir. Aynı örnekten meydana gelebilecek uzun ve kısa ömürlü fosforesansı birbirinden ayırt edebilmek için de zaman gecikmesi önemlidir [23].

Sıvı azot sıcaklığında gerçekleştirilen fosforesans ölçümleri için kuvars pencereli bir Dewar Kabı kullanılmaktadır. Yöntem florometre ile aynı mantıktadır.



Şekil 1.7. Fosforimetre Düzeneği

1.7. Cihazın Ayarlanması

Hassasiyetin yüksek olması ile bilinen floresans yöntemleri uygulanırken, cihazların tekrarlanabilir bir duyarlılık düzeyinde olması önemlidir. Bu nedenle, bir cihazın ayarlanması için kararlı bir florofor (floresans yapan madde) standart çözeltileri kullanılır.

Konsantrasyonu yaklaşık 10^{-5} M olan kinin sülfatın bir standart çözeltisi en yaygın kullanılan florofordur. 350 nm’de bulunan ışın ile uyarılır ve 450 nm’de emisyon yapar [16].

1.8. Uygulamalar ve Fotolüminesans Metodları

Daha düşük konsantrasyonlara uygulanabilen floresans ve fosforesans metotları absorbanza dayalı olan spektrofotometrik metotlardan daha duyarlıdır. Yüksek hassasiyet, duyarlılık ve seçicilik fotolüminesansı diğer yöntemlerden ayıran en önemli parametrelerdir [14]

Başka bir açıdan değerlendirildiğinde ise; spektrofotometrik yöntemlerin kesinlikleri ve doğruluğu daha yüksektir. Ayrıca floresans, fosforesansa göre daha kesin sonuçlar vermektedir. Bu nedenle floresansın gelişimi fosforesans oranla daha fazla olmuştur [18].

1.8.1. Anorganik Türlerin Florometrik Tayinleri

Anorganik türler florometrik olarak iki şekilde tayin edilebilirler. Bunlar;

- a) Floresans özellik gösteren bir şelat oluşturularak doğrudan emisyon şiddeti ölçülebilir.
- b) Daha çok anyon analizleri için kullanılsa da tayin edilecek analitin sönümlenme etkisinden faydalanılarak floresansta meydana gelen azalma dikkate alınarak yapılır. Katyon analizi için metal iyonu ile şelat yapan birden fazla elektron verici fonksiyonel grup ihtiva eden yapılardır [11].

1.8.2. Organik Türlerin Florometrik Tayinleri

Florometrinin en çok uygulama alanı bulduğu tayinler organik türler için yapılmaktadır. Gıda, ilaç, doğal ürün, klinik numuneler vs. gibi pek çok alanda başarı ile uygulanmakta ve bu metodun duyarlılığı, hassaslığı ve seçiciliği önemini arttırmıştır [17].

1.8.3. Fosforimetrik Metodlar

Floresans ve fosforesans metodları birbirlerini tamamlamaktadır. Zayıf floresans veren maddeler güçlü fosforesans, güçlü floresans veren maddeler ise zayıf fosforesans gösterirler.

Fosforimetrimin florimetri kadar uygulama alanı bulmamasının asıl nedeni ise; düşük sıcaklıklarda çalışılması gerekliliğidir. Bunun bir neticesi olarakta daha düşük kesinlik göstermektedir [6].

1.9. Kemilüminesans

Bir kimyasal reaksiyon; uyarılmış düzeyden temel düzeye dönerken, ışın yayabilecek veya sahip olduğu enerjiyi daha sonra emisyon yapabilecek başka bir türe aktarırsa ya da elektronik olarak uyarılmış bir tür meydana getirirse “kemilüminesans” oluşur. Bu tür reaksiyonlara daha çok biyolojik sistemlerde rastlandığı için “biyolüminesans” olarakta adlandırılabilir [5].

Biyolüminesans gösteren türlere örnek verirse; deniz menekşesi, ateş böcekleri, çeşitli türlerdeki bakteriler ve deniz analarıdır [7].

Kemilüminesans reaksiyonu kısaca tanımlanmak istenirse;



C^* ; C türünün uyarılmış halidir.

Kemilüminesans sonucu ölçülecek lüminesans spektrumu reaksiyon ürünü olan C'nin spektrumudur.

Yukarıdaki eşitlik kemilüminesans olayını basitçe tanımlamak için kullanılmakta olup, gerçek kemilüminesans sistemleri oldukça karmaşıktır ve hızlı gerçekleşir [14].

1.9.1. Kemilüminesansın Ölçülmesi

Kemilüminesans ölçmeleri için cihaz; analit ile reaktif arasındaki kimyasal reaksiyon ışın kaynağı olması nedeniyle dalga boyu seçicilerin kullanılmasına gerek duyulmadan, sadece uygun bir reaksiyon kabı ve bir fotoçoğaltıcı tüpten ibaret olabilir. Basit, hızlı ve ucuz bir tekniktir [21].

1.9.2. Kemilüminesansın Analitik Uygulamaları

1.9.2.1. Gazların Analizi

Kükürt bileşikler, azot oksitler ve ozon gibi atmosferik kirleticilerin tayinlerinde yüksek duyarlılığa ihtiyaç duyulması nedeni ile gaz bileşiklerinin tayini için kemilüminesans metodları geliştirilmiştir. Bu metodlardan ise en çok azot monooksit tayini için olan reaksiyon kullanılır [12].



Azot oksidin, ozon ile reaksiyonu, azotun daha yüksek oksitlerinin tayini için de uygulanmıştır. Reaksiyon şöyledir;



Örneklerdeki azotun, kantitatif olarak azotmonooksite dönüştüğü şartlarda oksijen atmosferinde ısıtılarak parçalanır; daha sonra oluşan azot monoksit belirlenen metod ile ölçülür [18].

Diğer bir önemli kemilüminesans metodu ise; atmosferik ozonun izlenmesinde kullanılır. Analiz, yüzeyine rodamin-B boyası absorbe edilmiş aktif bir silikajel ile analitin reaksiyonu sonucu ortaya çıkan lüminesansa dayanır. Bu işlem $1 \mu\text{gL}^{-1}$ 'den daha az ozona duyarlıdır, cevap $400 \mu\text{gL}^{-1}$ 'den ozona kadar doğrusaldır.

Diğer önemli bir gaz kemilüminesans metodu, atmosferik kükürt bileşenlerinin analizi için kullanılmaktadır. (H_2S , SO_2 ve merkaptanlar ...vs.) Burada, numune bir hidrojen alevinden bir kükürt dimeri oluşturmak üzere yakılır. Oluşan dimer daha sonra ışık emisyonu ile bozunur [15].



Burada, 384 ve 394 nm'de pikleri olan mavi renkte ışın oluşur. Işının şiddeti uyarılmış kükürt dimerinin derişimi ile orantılıdır. Benzer şekilde, hidrojen alevinde fosfor bileşiklerinin yanması da HPO^* 'dan dolayı 526 nm'de emisyon yapar. 10^4 'lük bir derişim aralığında doğrusal bir çalışma grafiği elde edildiği belirtilmiştir. Bu alev kemilüminesans tekniklerinin her ikisi de, gaz kromatografi kolonlarından çıkan gazda kükürt ve fosfor türlerinin tespiti için kullanılmıştır [20].

1.9.2.2. Sıvı Fazda İnorganik Türlerin Analizi

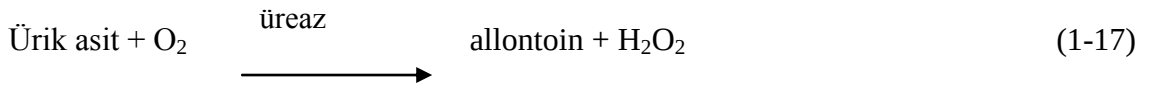
Sıvı fazda yürütülen tayinlerin pek çoğunda, kemilüminesans veren organik maddelerden faydalanılır. Bu reaktifler, oksijenle, hidrojen peroksitle ve diğer bir çok kuvvetli yükseltgen maddelerle kemilüminesans yükseltgenme ürünü vermek üzere reaksiyona girerler. Lüminol bu bileşiklerin en yaygın örneğidir.

Bazı katyonlar lüminesansı azaltır veya arttırır, böyle durumlarda şiddetteki azalma veya artma derişim tayinin yapılmasını sağlar [3].

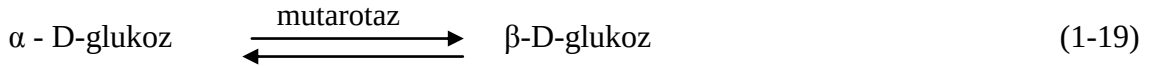
1.9.2.3. Organik Türlerin Analizi

Kemilüminesans reaksiyonlarının seçiciliğini arttırmak ve metodu kemilüminesans reaksiyonlarında doğrudan yer almayan analitlere de uygulayabilmek için, istenen analitin substrat olduğu ve ürünlerden birinin kemilüminesansla tespit edildiği bir enzim reaksiyonundan sonra bir kemilüminesans basamağının yürütülmesi yaygın bir uygulamadır. Bu durum, tutuklanmış enzim içeren kolonlu akış sistemlerinde yaygın olarak kullanılır. Bununla birlikte, son yıllarda optik fiberlere tutturulmuş enzimlerin kullanıldığı biyosensör tasarımlarına önem verilmektedir [19].

Ön tespit basamağında H_2O_2 oluşturan oksidaz enzimleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir çok farklı kemilüminesans sistemlerle sadece H_2O_2 tayin edilemez, bir çok numunede, özellikle sulu çözeltilerinde halihazırda bulunan gerekli yükseltgen (O_2 'de tayin edilebilir. Enzimin kantitatif olarak dönüştüğü düşünülerek, substratlar, H_2O_2 'nin tayin edilebildiği 10-100 nM'a kadar tayin edilebilir. Bu şekilde tayin edilen substratlar, glukoz, kolesterol, kolin, ürik asit, amino asitler, aldehytler ve laktatı kapsar [17].



Bu yaklaşım, analiti tamamen eşdeğer miktardaki kemilüminesans ürününe dönüştürmek için ard arda enzim basamaklarının kullanımı ile genişletilebilir. Bu yolla, glikozdan başka şekerler, glukozidler, kolesterol esterleri, kreatin ve asetilkolin tayin edilmiştir [21].



H_2O_2 tayini için lüminol ve bir peroksidaz katalizörü optimum bir sistem olarak görülmektedir. Kemilüminesans şiddeti yaklaşık 100 ms'de en yüksek olur, çözücü suludur, fakat bazı organik bileşenlerle uyumludur; 10^3 veya 10^4 derişim aralığında doğrusallık gösterir ve bu bölgede gözlenebilme sınırı 0,1 pM'dır [7].

2. BÖLÜM

DOĞRUDAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Geleneksel olarak eser elementlerin tayini, analizi yapılacak olan örneklerin, asitler (veya asit karışımları) ile işlem gördükten sonra uygun bir analitik metod kullanılarak yapılmaktadır. Örneğin çözülmesi işlemi esnasında, analit kayıpları ve/veya numunenin kirlenmesi yönünden risk taşımakta ve ayrıca tehlikeli kimyasalların kullanımını arttırmaktadır. Bu sebep ile doğrudan analiz teknikleri geliştirilmeye çalışılmış ve bu tekniklerin geleneksel prosedürlere göre, daha çok avantaja sahip olduğu belirlenmiştir. Bu avantajlar;

- (i) Gerçek örneklerle uygulanan ön muamele işlemlerinin azaltılması,
- (ii) Örneklerde kirlenmenin azaltılması ve daha kısa sürede analizinin gerçekleştirilmesi,
- (iii) Çözme işlemiyle meydana gelen analit kayıplarının en düşük seviyeye getirilmesi,
- (iv) Tehlikeli ve aşındırıcı reaktiflerin kullanımının azalması,
- (v) Örneklerle uygulanabilirlik yönünden (hem organik hem de inorganik örnekler) geniş bir perspektife sahip olmasıdır [13].

Doğrudan analiz için kullanılan analitik teknikler; X-ışını floresans spektroskopisi (XRF), nötron aktivasyon analizi, taramalı elektron spektroskopisi (SEM) [20].

2.1. Analiz teknikleri

2.1.1. X-Işını Floresans Spektroskopisi (XRF)

XRF; moleküller de elementlerin bileşimlerinin belirlenmesi için yararlanılan en önemli tekniklerden biridir.

2.1.1.1. XRF çalışma prensibi

Atom veya molekül, X ışınları gibi yüksek bir enerji ile uyarılırsa; bu yüksek enerji dış yörüngelerdeki elektronları daha yüksek enerji düzeylerine çıkarır. Uyarılan elektronlar temel enerji seviyelerine geri döndüklerinde kazanmış oldukları fazla enerjiyi X ışınları şeklinde etrafa yayarlar. X ışınları yayımına floresans ışıması adı verilir. Elementlerin verdiği bu ışımların dalga boyu her element için farklı ve ayırt edicidir. (Elementin parmak izidir.) Işımanın dalga boyunun belirlenmesi ile elementin türü (nitel), belirlenen bu ışının şiddetinin ölçülmesi ile de element derişimi (nicel) belirlenebilmektedir [24].

XRF enstrümental aletleri sayesinde çözme işlemine gerek duyulmaz. Bu durum XRF aletlerinin önemini oldukça arttırmaktadır.

Enerji dağılımlı X-ışını floresans (EDXRF) analizörleri (taşınabilir XRF analiz cihazları), hava izleme filtreleri ile toplanan toz numuneleri, kayalar, topraklar veya metal örnekleri dahil olmak üzere çevresel örneklerde, hızlı ve tahribatsız analiz yapmak mümkün ve 25'e kadar elementlerin eşzamanlı analizinin sağlanması bu tekniğin avantajlarından [25].

2.1.1.2. Uygulama Alanları

- ✓ Standart metotlar ile bilinmeyen inorganik materyaller, katı, sıvılar ve tozların nitel ve nicel analizleri,
- ✓ Kayaç ve minerallerin uluslararası standartlara uygun olarak kimyasal analizleri,
- ✓ Maden ve endüstriyel hammaddelerin komple kimyasal analizleri,
- ✓ Çimento, çimento hammaddeleri ve mineralojik katkı malzemeleri analizleri,
- ✓ Katı atıkların kimyasal analizleri yapılmaktadır [26].

2.1.2. Ark ve Kıvılcım Emisyon Spektroskopisi

2.1.2.1. Çalışma İlkesi

Atom, iyon veya moleküller için, analizi yapılacak numunenin atomlaştırılması ve bir üst enerji düzeyine çıkarılmasında genellikle kullanılan metod, iki elektrot arasına

uygulanan elektrik boşalımıdır. Bu metotta; numune elektrotlardan birisinin içine yerleştirilir ve numune olmayan karşıt elektrotla bu elektrotun arasına elektrik boşalımı uygulanır. Elektriksel atomlaşma iyonlaşma ve uyarma proseslerinde ark veya kıvılcım boşalımları kullanılır ve en çok uygulama alanı bulan “doğru akım (dc) arkı”dır [27].

Analiz edilecek numunenin atomlaştırılması ve meydana gelen atomların uyarılarak bir üst enerji seviyesine çıkması amacıyla yararlanılan elektriksel boşalım türlerinden bir diğeri ise; kıvılcım’dır. Yüksek akım yoğunluğu ile 50 Hz’lik frekansa sahip kondansatör boşalımı kıvılcım kaynağı elde edilir. Uygulanan gerilimin ve akım şiddetinin çok yüksek olması sebebi ile 30000 – 40000 °C arasında yüksek sıcaklıklara ulaşılabilir. Bu sıcaklıkta numunedeki elementlerin pek çoğu iyonlaştığı için kıvılcım kaynağının kullanıldığı aletler ile elde edilen spektrumların neredeyse tamamı iyonik hatlardan oluşmaktadır. Sonuçların tekrarlanabilirliği çok yüksek olsa da; kıvılcım kaynağının duyarlılığı, “ark”a oranla daha düşüktür [28].

2.1.2.2. Analitik Uygulamaları

Emisyon spektroskopisinde nitel analiz, elde edilen spektrumdaki şiddetli hatların dalgaboyu değerlerinin, elementlerin bilinen ve karakteristik emisyon dalgaboyu değerleri ile karşılaştırılmasıyla yapılır. Bu amaç doğrultusunda, korelasyon tablolarından yararlanılır veya varlığından şüphelenilen elementlerin spektrumları kaydedilir ve örnekten elde edilen spektrumla karşılaştırılır. Hatların en az üçünün dalgaboyu değerlerinin uyuşması ile şüphelenilen elementin varlığı kanıtlanır. Emisyon spektroskopisi daha çok elementlerin nicel analizinde kullanılır. Emisyon spektroskopisinde duyarlık, absorpsiyon spektroskopisinde olduğu gibi temel enerji düzeyinde oluşturulan atom sayısına bağlıdır [29,30].

2.1.3. İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (ICP)

2.1.3.1. Çalışma Prensibi

Emisyon spektroskopisinde elektrik boşalımına dayanan atomlaştırma ve uyarma kaynakları son yıllarda yerini plazmalara bırakmıştır. En çok kullanılan plazma türü ICP, İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma (Inductively Coupled Plasma) dır. Plazma katyon ve elektron (bu ikisinin net toplam elektrik yükü 0 olmalıdır) içeren elektriksel olarak

iletken olan gaz halindeki iyon akımı olarak tanımlanabilir. Kolay iyonlaştırılabilmesi ve inert olması nedeniyle ICP tekniğindeki plazma argon gazı ile oluşturulur. Çok çeşitli yöntemlerle plazma oluşturmak mümkün olmakla beraber bu yöntemde elektromanyetik olarak argon gazının indüksiyon sarımlarında bir radyo frekans (rf) jeneratörü ile etkileştirilmesiyle elde edilir. ICP cihazları hibrit cihazlar (ICP-OES, ICP-MS) olarak kullanılır [30,31].

2.1.3.2. Analitik Uygulamaları

ICP-emisyon spektroskopisi birçok üstünlüğü olan bir yöntemdir. Elde edilebilen yüksek sıcaklık nedeniyle, çok kararlı bileşikler bile plazma sıcaklığında atomlarına ayrışır. Ayrıca alevin kullanıldığı absorpsiyon ve emisyon spektroskopisi yöntemlerinde, oksijenin yüksek kısmi basıncı nedeniyle toprak alkali elementleri nadir toprak elementleri ve bor, silisyum gibi bozunmayan oksit ve hidroksit radikaller oluşturan elementlerin analizinde duyarlılık düşüktür. Fakat argon gazı ile oluşturulan plazmada bu elementlerin atomlaştırılmasında böyle bir sorun yoktur. ICP-emisyon spektroskopisi yönteminin diğer bir üstünlüğü plazmadaki yüksek elektron yoğunluğudur. Plazmadaki yüksek elektron yoğunluğu analit atomlarının iyonlaşmasını büyük ölçüde engeller. Ayrıca ark, kıvılcım, ve alevli kaynakların aksine plazmada sıcaklığın atomlaşma bölgesinin her yerinde aynıdır [30,31,32].

2.1.4. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (GFAAS)

2.1.4.1. Çalışma İlkesi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS); yüksek sıcaklıkta gaz halinde olan element atomlarının elektromanyetik ışınları soğurması üzerine kurulmuştur. Atomlaştırıcı olarak alev yerine grafit fırın kullanılıyor ise, grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrofotometresi (GFAAS) elde edilir. Alevsiz atomlaştırıcılara elektrotermal atomlaştırıcılar da denir. Elektrotermal atomlaştırıcılar içinde en tanınmış olanı grafit fırınıdır [5,33].

2.1.4.2. Analitik Uygulamaları

GFAAS ile genellikle metalik özellikteki elementlerin tayini yapılır. Bütün element atomları kendilerine ait dalga boyundaki ışını soğurup uyarıldıklarında elektronların

bulunduğu daha yüksek enerji düzeylerine bağlı olarak farklı Őiddetlerde ve dalga boylarında soğurma hatları meydana gelir. Spektroskopik analizlerde çalışılacak dalga boyu belirlenirken en güçlü soğurulmanın olduğu dalga boyu seçilir. Böylece seçilen dalga boyunda düşük konsantrasyonlar da bile absorbands değerleri elde edilebilir. GFAAS’de elementlerin kantitatif tayini için kalibrasyon grafiği ve standart ekleme yöntemleri kullanılır [34,35,36].

2.1.5. Nötron Aktivasyon Analizi

2.1.5.1. Çalışma İlkesi

Aktivasyon analizlerinin temelini, bir örneğin nükleer bir reaktörden gelen ısıl nötronlar ile bombardıman edilmesi sonucunda meydana gelen radyoaktivitenin ölçülmesi, oluşturur. Aktivasyon analiz metodlarının hassasiyetinin diğer metodlara göre, 100 misli yüksek olması nedeniyle büyük önem arz etmekte ve bu metod ile ppm seviyelerindeki derişimlerde tayinler yapılabilmektedir [37].

Nötronların madde ile etkileşimi birkaç Şekilde gerçekleşebilir. Bombardıman sonucu oluşan ürün (veya ürünler) bombardımanı yapan nötronların enerjisine bağlıdır. Kararlı bir izotopun ısıl nötronlarla bombardımanı neticesinde, atom numarası hedef elementten bir birim daha yüksek olan çok fazla uyarılmış bir izotop oluşur. Bu izotop hızla (~10-12 saniye içinde) bir gamma ışını (γ) yayarak kararlı hale gelir [38].

2.1.5.2. Nötron Aktivasyonun Uygulaması

Nötron aktivasyon analizi, pek çok sayıda elemente uygulanabilir. Ek olarak, inert gazlardan dört tanesi ısıl nötronlarla aktif izotoplar haline getirilerek tayini gerçekleştirilir. Ayrıca oksijen, azot, ve itriyum elementleri hızlı nötronlarla aktif edilebilir. Nötron aktivasyonu metodu ile analizi yapılabilen türler ise; metaller, alaşımlar, arkeolojik kalıntılar, yarı iletkenler, biyolojik kaynaklı maddeler, kayalar, mineraller ve su. Aktivasyon analizi uygulamaları, çoğunlukla, eser miktarlardaki elementlerin tayininde kullanılır [39].

2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

2.1.6.1. Çalışma İlkesi

Taramalı elektron mikroskobu(SEM)çalışma şekli yüksek enerjili elektronların çok küçük bir alana odaklaması ile yüzeyin taranması prensibine dayanır. Numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde kullanılır [40,41].

2.1.6.2. Uygulama Alanları

- ✓ Tıp ve adli uygulamalarda
- ✓ Sanayinin değişik kollarında hata analizlerinde
- ✓ Biyolojik bilimlerde
- ✓ Kaplama yüzeylerinin karakterizasyonunda
- ✓ Tüm katı malzemelerin mikro ve nano ölçekte yapılarını tayin etmek ve bu yapıların elementel analizinde
- ✓ Lif kesitlerinin ve iç yapısının incelenmesinde kullanılır.
- ✓ Tekstil sektöründe kullanılan sentetik ve doğal hammaddelerin karakterizasyonu
- ✓ Üretilen kumaşların amaca uygun olup olmadığı
- ✓ Sektöre hizmet eden yan sanayi ürünlerinin (deterjan, boya, yumuşatıcı) ürün üzerindeki etkileri tespit edilebilir.
- ✓ Boya sektöründe pigmentlerin yapısal tayini ve uygulanan yüzeylerin karşılaştırmasında kullanılır [42].

2.2. Gümüş

Gümüş, elementlerin periyodik tablosunda simgesi Ag (Ag sembolü Latince argentum kelimesinden gelir) olan, beyaz, parlak, değerli bir metalik element. Atom numarası 47, atom ağırlığı 107,87 gramdır. Erime noktası 961,9 °C, kaynama noktası 1950 °C ve özgül ağırlığı da 10,5 g/cm³tür. Çoğu bileşiklerinde +1 değerliklidir.

Gümüş çok eski zamanlardan beri bilinmekle birlikte yine de altın ve bakırdan sonra keşfedilmiştir. Altın az olmasına rağmen, dünyanın her yanına yayılması sebebiyle daha önce kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca tabii halde gümüş az olup, çok derinlerde bulunuyordu. Gümüşün MÖ 3100 yıllarında Mısırlılar ve MÖ 2500 yıllarında Çinliler ve Persler tarafından kullanıldığı belirtilmiştir. Yunan tarihinde Atina'daki gümüş madenlerine rastlanır. MÖ 800 yıllarına doğru gümüş, Nil nehri havalisinde para olarak kullanılmaya başlanmıştır. Gümüşü ilk olarak Romalıların işlemeye başladıkları iddia edilmektedir. Endüstri ilerledikçe daha karışık ve saf olmayan gümüş filizleri üzerinde çalışılmaya başlandı. Bugün gümüş büyük bir nisbette bakır, kurşun ve çinko üretimindeki yan ürünlerden elde edilir.

2.5. Gümüşün Kullanıldığı Alanlar

Gümüş elektriği iyi ilettiğinden ve kolayca tel haline getirildiğinden elektrik alanında kullanılır. Süs eşyası yapımında altından sonra en çok başvurulanan metaldir. Bileşikleri yaygın olarak fotoğrafçılıkta (% 30'u) kullanılır. Tıpta diş yapımı kemik kırıklarında bağlama teli olarak, kemik boşluklarını doldurmada, yanık tedavisinde kullanılır. Ancak zehirli bileşikler zehirli olduğundan vücutta birikim yapabilir. Gümüş fulminat güçlü bir patlayıcıdır. Cam yapıştırıcısı olarak da kullanılır. Belli oranda bakırla karışımından oluşan metal kaşık, çatal bıçak, tabak yapımında kullanılır. Ayrıca iyi bir mikrop öldürücü olduğu için Romalılardan beri uzun süre saklanması gerekli su ve besinleri korumada kap kaplaması olarak kullanıldı. Günümüzde uzay teknolojisinde ve su saflaştırma sistemlerinde, elektronik aletlerde ve ilaç endüstrisinde giderek kullanım alanı artmaktadır. **Kimya ve gıda sanayinde;** organik bileşiklerin üretiminde katalizör olarak, kağıt, patlayıcı madde, mineral asit, saf su, buhar, boya maddesi ve boya üretiminde, karbonat ve kükürt üretiminde ayrıca gübre sanayinde, elektrokimyasal sanayinde, petrol rafinerilerinde, gıda, ilaç ve meşrubat sanayinde, atom enerjisi sanayisinde ve ambalaj sanayinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Gümüş Zehirlenmesi (Arjirizm): Zehirlenme ağız ya da cilt yoluyla olabilir. Hastalığın oluşması için, içinde gümüş bileşiği olan maddelerle uzun süre ilişki gereklidir. Bunun sonucu mukoza zarları ve iç organlarda renk değişmesi oluşur. En çok fotoğrafçılıkla uğraşanlarda, kuyumcularda ve gümüş bileşikli ilaçlar kullananlarda

görülür. Belirtileri arasında mide ve karın bölgesinde sancılar, nefes darlığı ve taşikardi vardır. Tedavisi oldukça güçtür.

Bileşikleri:

Gümüşün en çok bilinen bileşikleri şunlardır: Gümüş oksit Ag_2O , gümüş sülfür Ag_2S , gümüş siyanür $AgCN$ ve gümüş nitrat $AgNO_3$ 'dır. Gümüş nitrat tıpta dağlama, siğil tedavisi için kullanılır. Deriyi kararttığı için bu bileşiğe cehennem taşı da denir. Ayrıca gümüş klorür ($AgCl$), gümüş bromür ($AgBr$), gümüş iyodür (AgI) gibi halojenürleri de vardır.

2.7. Gümüşün Tayini için Literatürde Yer Alan Çalışmalar

Jiang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma da; 5-bromosalisilaldehit salicyloylhidrazon sentezi yapılarak, bu organik bileşiğin $Ag(I)$ ile yaptığı kompleksin floresans özellikleri incelenmiştir. Kompleks, asetik asit-asetat tamponu ile pH 5,4'te floresans şiddeti en yüksek olacak şekilde elde edilmiştir. Elde edilen bu kompleks, 370 nm uyarma ve 460 nm emisyon dalga boylarında maksimumuna sahiptir. Yöntemin lineer çalışma aralığı 0- 200 ppb ve gözlenebilme sınırı 1,1 olarak bulunmuştur. Kompleksin mol oranı 1:3 olarak elde edilmiştir. Yöntem meşrubatlarda uygulanmıştır [51].

Kindy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma; ((2-hidroksinaftalin-1-il))metilen) asetilhidrazit (HNMA) sentezi yapılarak $Ag(I)$ ile kompleksleşmesi sağlanmış ve bu kompleksin floresans özellikleri incelenmiştir. Kompleks tris tamponu ile pH 6,0 da elde edilmiştir. Uyarma dalga boyu 385 nm ve emisyon dalga boyu 450 nm'dir. Yöntemin dinamik aralığı 50-800 ppb ve gözlenebilme sınırı 9,2 ppb olarak bulunmuştur. Ayrıca 200 ppb $Ag(I)$ için yüzde bağıl standart sapma % 2,5'tir [44].

Park ve arkadaşı tarafından yapılan çalışma, kromotropic asit'in asetik asit-sodyum asetat tamponu ile pH 4'te $Ag(I)$ ile kompleks oluşturularak floresans şiddetini ölçülmesidir. Kompleksin uyarma dalga boyu 346 nm ve emisyon dalga boyu 370 nm'dir. Yöntemin lineer çalışma aralığı 2 – 100 ppb ve gözlenebilme sınırı 1 ppb'dir. Yöntemin bağıl standart sapması %1,5 olarak bulunmuştur. Yöntem musluk suları, ırmak ve deniz sularına uygulanmıştır [52].

Reyes ve arkadaşları katı yüzeyli floresan bazlı bir algılama sistemi geliştirerek içme sularındaki Ag(I) miktarını on-line olarak belirlemişlerdir. Sürekli akış sistemine yüzeyi kromotropic asit ile sıvanmış floresan tabanlı algılama cihazı su örneklerindeki Ag(I) on-line olarak belirlemiştir. pH 4,1'de kromotropic asit ve Al(I) arasında oluşan kompleksin, uyarılma dalga boyu 361 nm ve emisyon dalga boyu 390 nm'dir. Sistemin algılama aralığı 10-500 µg ve gözlenebilme sınırı 2,6 ppb ayrıca sistemin bağıl standart sapması % 2,2 olarak bulunmuş [53].

Ichiba ve arkadaşları 6-kloro-N'-(2-hidroksibenziliden)piridazin-3-karbohidrazid (CPCH) bileşiğini sentezlemişler ve pH 3'te Ag(I) ile kompleks yapmışlardır. Elde edilen kompleksin uyarılma dalga boyu 394 nm ve emisyon dalga boyu 490 nm olarak bulunmuş. Lineer çalışma aralığı 0-100 ppb ve algılama sınırı 200 ppb'dir. Kompleksin mol oranı 1:3'tür [54].

2.8. Kimyasal Sensör ve Problar

2.8.1. Sensör ve Prob Nedir?

Sensör; otomatik kontrol sistemleri için duyu organı niteliği taşıyan, kimyasal ve fiziksel büyüklükleri elektrik sinyaline çevirerek algılanmasını sağlayan düzeneklerin genel ismidir [56].

Prob ise; kimyasal süreçlerde yalnızca analite duyarlı olan ve sensörlerin ana kısmını meydana getiren bölümdür. Örneğin; pH metre bir sensördür fakat pH metrenin çözelti içerisine daldırılan cam elektrot kısmı bir probtur. Çözeltinin pH derecesini algılayan prob iken, bu derecenin elektrik sinyaline dönüşmesi ile sensör meydana gelir.

Bir floresan sensör ise; floresansı okuyabilecek bir sistem ve bir metal iyonundan meydana gelmektedir [57].

Floresans sensörler çok farklı tipte geliştirilmiştir ve her biri farklı deney yöntemleri için spesifik olan floresans ölçme sistemlerinin dört temel gereksinimleri vardır;

- ✓ Uyarıcı bir ışık kaynağı (ksenon ark ve cıva buharı, lazerler, fotodiyotlar... vs.
- ✓ Bir Fluorofor (Floresans yapabilen bir ligand)

- ✓ Filtreler (spesifik dalga uzunluklarını izole etmek için kullanılabilir)
- ✓ Genellikle bir elektronik sinyal çıkışı kaydeden bir dedektör [58,59].

Bu tez ile geliştirilen yöntem de; Ag(I) için spesifik bir prob geliştirilmiştir. Tez çalışmasında sentezlenen ligand yalnızca Ag(I) için duyarlıdır.

3. BÖLÜM

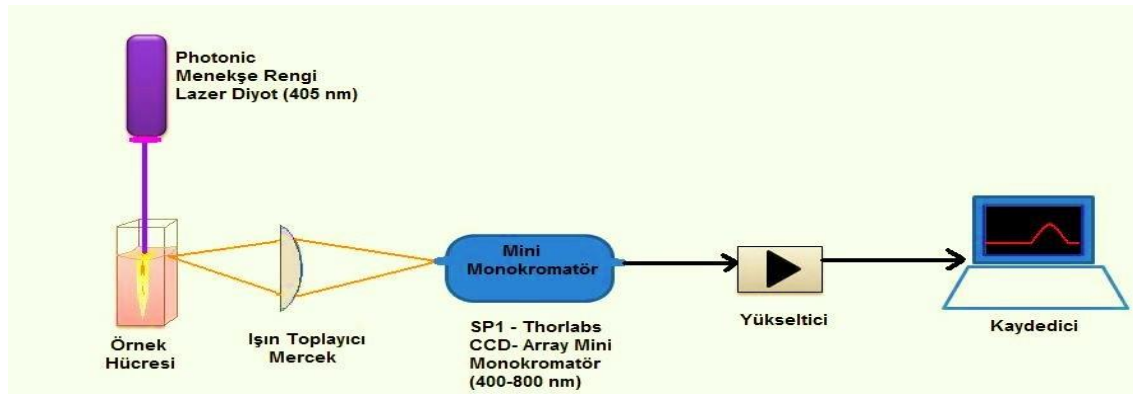
MATERYAL VE METOT

3.1. Deneyde Kullanılan Aletler

3.1.1. Floresans Ölçüm Cihazı

Floresans ölçümleri Photonic marka menekşe lazer diyot ile donatılmış Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarı'nda yapılan florometre ile gerçekleştirilmiştir. Enstrümental parametreler Thorlabs Yazılımı tarafından üretilen SPECTRA adlı bilgisayar programı ile kontrol edilmiştir. Cihaz 405 nm dalga boyunda uyarma yapıp, 590,4 nm dalga boyunda emisyon kaydetmiştir.

Floresans spektrumları 1 cm'lik kuvars hücresi kullanılarak 400-800 nm dalga boyu aralığında çalışan fiber optik girişli SP1 – Thorlabs CCD – Array mini monokromatör ile okunup, sinyal yükseltildikten sonra bilgisayar üzerine kaydedilmiştir. 350-750 nm dalga boyu aralığına sahip fotovoltaiik dedektör, ışın sinyalini elektirik sinyaline çevirmek için kullanılmıştır.



Şekil 3.8. Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarı'nda yapılan florometre tasarımı

3.1.2. Mikropipet

Hamilton marka 20-200, 100-1000 ve 1000-10000 μL 'lik mikro pipet örnek alımları ve çözelti hazırlamak için kullanıldı.

3.1.3. pH metre

Çözeltilerin pH ölçümleri için Nel Elektronik marka pH900 model dijital pH metre kullanıldı.

3.1.4. Tüp

Deneyde Isolab marka 15 ve 50 mL'lik polipropilen deney tüpleri kullanıldı.

3.1.5. Süzgeç Kâğıdı

Katı örneklerin hazırlanmasında süzme işlemlerinde Isolab marka mavi band süzgeç kâğıdı kullanıldı.

3.1.6. [2-((E)-{[3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron “DKES” Sentezlenmesi Sırasında Kullanılan Cihazlar

DKES sentezlenmesi sırasında kullanılan araç ve cihazlar aşağıdaki sıralamada görülmektedir. Bunlardan gerektiği yerlerde yararlanılmıştır.

- ✓ LECO-932 marka CHNS-O model elementel analiz cihazı
- ✓ Perkin Elmer marka Spectrum One model FT-IR spektrometresi,
- ✓ Isıtıcılı manyetik karıştırıcı,
- ✓ Heildoph marka dönel buharlaştırıcı (evaporatör)
- ✓ Bruker Avance 400 MHz NMR cihazı,
- ✓ Electrothermal 9200 marka erime noktası cihazı,
- ✓ Nüve marka FN-500 model etüv (300°C),
- ✓ Camag marka ince tabaka kromatogram lambası (254/366 nm),
- ✓ DC Alufolien Kiesegel 60 F 254 Merck TLC levhaları.

Elementel ve IR analizleri, Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde, NMR analizleri, Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışı

Kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta (Merck, Germany, Darmstadt) olup, çözeltileri hazırlamak için distile su kullanılmıştır.

Ayrıca DKES sentezinde kullanılan başlıca kimyasal maddeler, Merck, Aldrich, Fluka ve Sigma gibi firmalardan ithal edilen özel reaktifler olup, analitik saflıktadır.

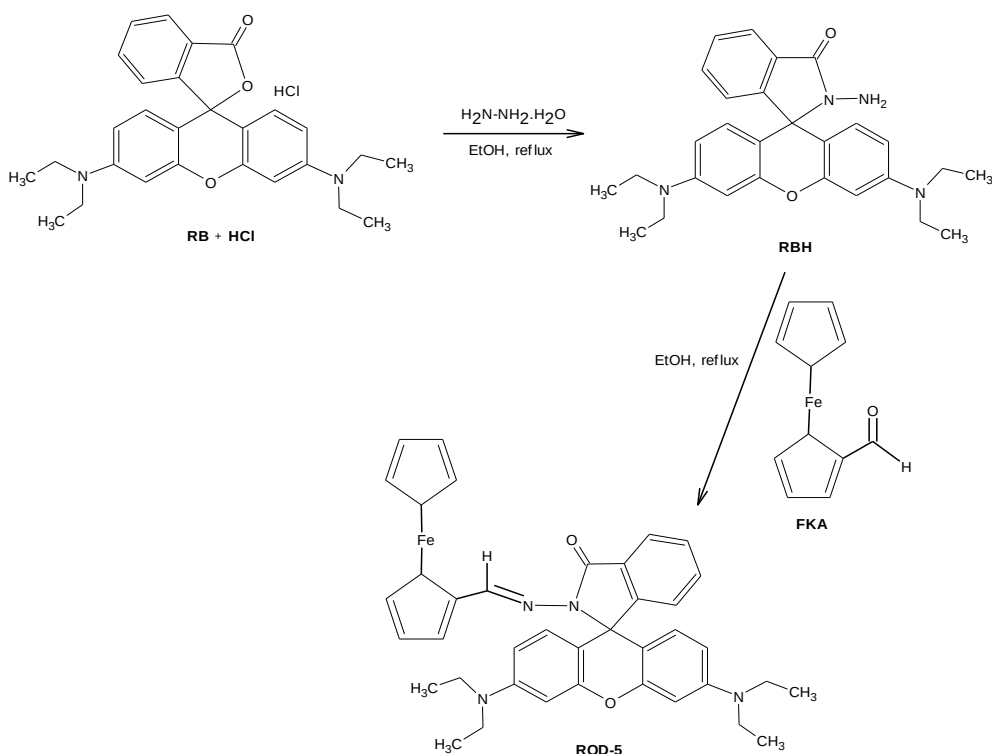
1000 mg L⁻¹'lik Ag (Merck, Germany, Darmstadt) standardından, 3 mg L⁻¹ ve 5 µg L⁻¹ ara stoklar hazırlandı. Deneyde çözünürleştirme işlemlerinde derişik nitrik asit ve hidrojen peroksit kullanıldı. Örnek içindeki Ag(I) iyonunun florometre ile tayini uygun tampon ortamında doğrudan gerçekleştirildi. Çalışma da kullanılan örnekler Kayseri'de bulunan yerel marketlerden temin edilmiştir.

3.2.1. [2-((E)-{[3',6'-bis(dietilamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron

Deneyisel çalışmalar için, 0,1 g [2-((E)-{[3',6'-bis(dietilamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron "DKES" tartıldı ve bir miktar etanol ile çözülerek 100 mL'ye tamamlandı (% 0,1'lik). Tüm deneyisel aşamalarda DKES çözeltisi günlük olarak hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiden 3 mL (%0,1'lik, 3,0 mg) alınarak tayinde kullanıldı. DKES reaktifinin öngörülen açık yapısı aşağıda Şekil 3.1'de görölmektedir.

Şekil 3.9. DKES reaktifinin öngörülen açık yapısı

3.2.1.1. DKES'in Sentezi ve Reaksiyon Basamakları



Şekil 3.10. DKES reaktifinin oluşum mekanizması

2-amino-3',6'-bis(diethylamino)-4a',9a'-dihidrospiro[isoindol-1,9'-ksanten]3-on

Başlangıç Bileşiğinin (RBH) Sentezi:

100 mL'lik bir balonda Rodamin B (hidroklorür tuzu, 1.20 g, 2.5 mmol) 30 mL etil alkol içinde çözüldü. Üzerine 2.0 mL (aşırı) hidrazin hidrat (% 85) damla damla ilave edildi ve oda koşullarında 1-2 saat karıştırıldı. Daha sonra ısıtıcılı-manyetik bir karıştırıcıda balona geri soğutucu takılarak 2 saat reflux edildi. Karışım soğumaya bırakıldı ve döner buharlaştırıcıda çözücü uzaklaştırıldı. Elde edilen yağimsı ürüne 1 M HCl (50 mL) eklendi ve 1 M NaOH (55 mL) yavaş yavaş pH 9-10'a ulaşınca kadar ilave edildi. Saf su ile yıkandıktan sonra desikatörde P₂O₅ üzerinde kurutuldu.

[2-((E)-{[3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[isoindol-1,9'-ksanten]-2(3H)-yl]imino}metil) siklopenta-2,4-dien-1-il](siklopenta-2,4-dien-1-il)-iron Ligandının (DKES) Sentezi:

(0.48 g, 1 mmol) **RBH** 25 mL etanol içinde 100 mL'lik bir balonda çözüldü ve üzerine (0.21 g, 1 mmol) ferrocen karboksi aldehit (**FKA**) ilave edildi. Karışım ısıtıcılı-manyetik karıştırıcı üzerinde bir geri soğutucu takılarak 48 saat reflux edildi. Süre

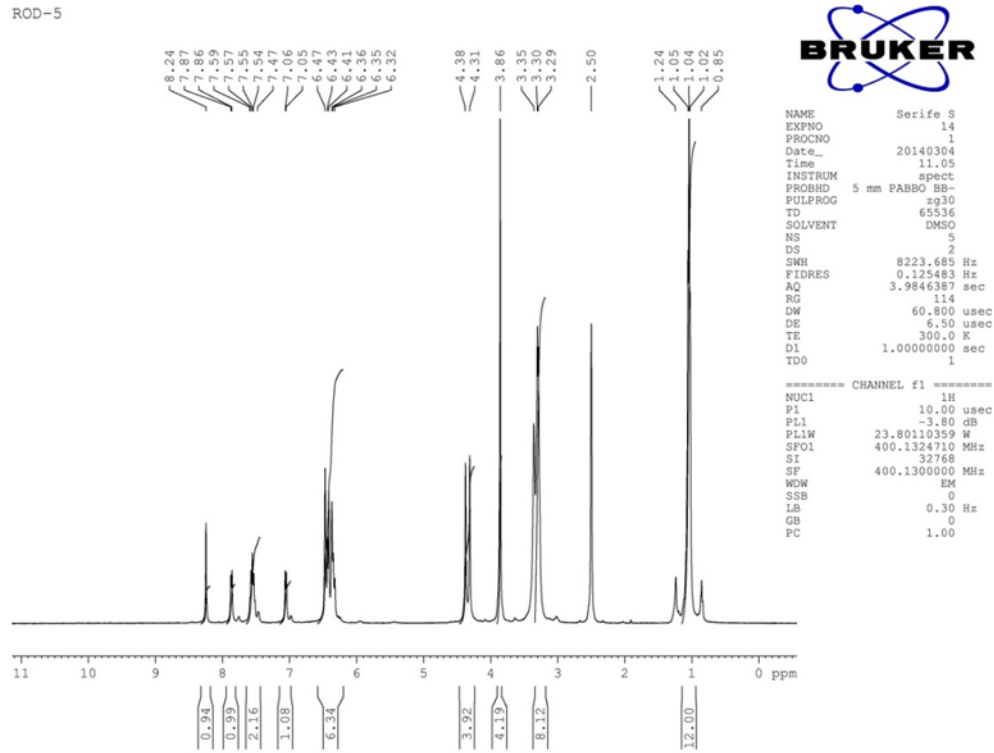
sonunda soğumaya bırakıldı ve bir döner buharlaştırıcı da çözücü atıldı. Elde edilen yağımsı ürün eter ortamına alınarak bir gece karıştırıldı. Çöken mor renkli katı ürün süzülerek kolon kromatografi tekniği (silikajel 100-200 mesh, elüent karışımı etil asetat/hekzan 4:1) ile saflaştırıldı.

- E.N.= 241-242 °C,
- Verim: % 65,
- Molekül Formülü: $C_{39}H_{40}FeN_4O_2$,
- Molekül Ağırlığı : 589 g/mol
-

Tablo 3.3. DKES Reaktifinin Yüzde Bileşenleri

Bileşen % :	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>N</u>
Hesaplanan:	71.78	6.18	8.59
Bulunan :	71.50	6.25	8.35

3.2.1.2. DKES Bileşiğinin Yapısının Doğrulanması



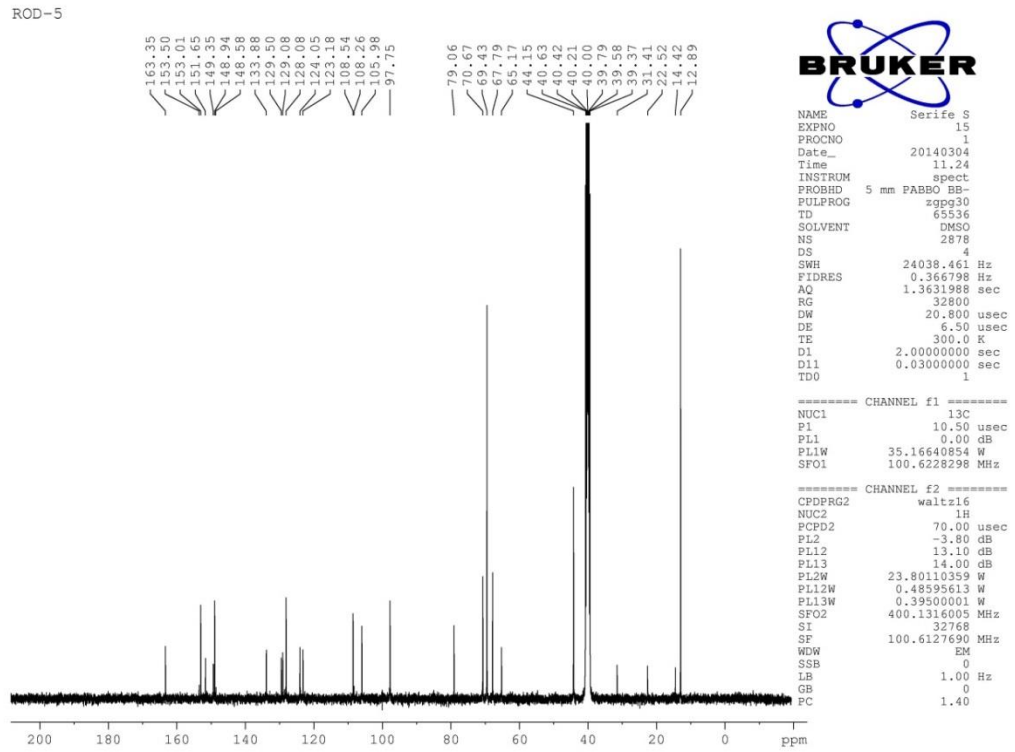
Şekil 3.11. DKES bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu

Şekil 3.4’de DKES ligandının ^1H -NMR spektrumu 400 MHz’de, DMSO’da alınan spektrumu verilmiştir. Spektrumdaki pikler çeşitli NMR tabloları ve ACD-Labs paket programı yardımıyla yorumlanmıştır.

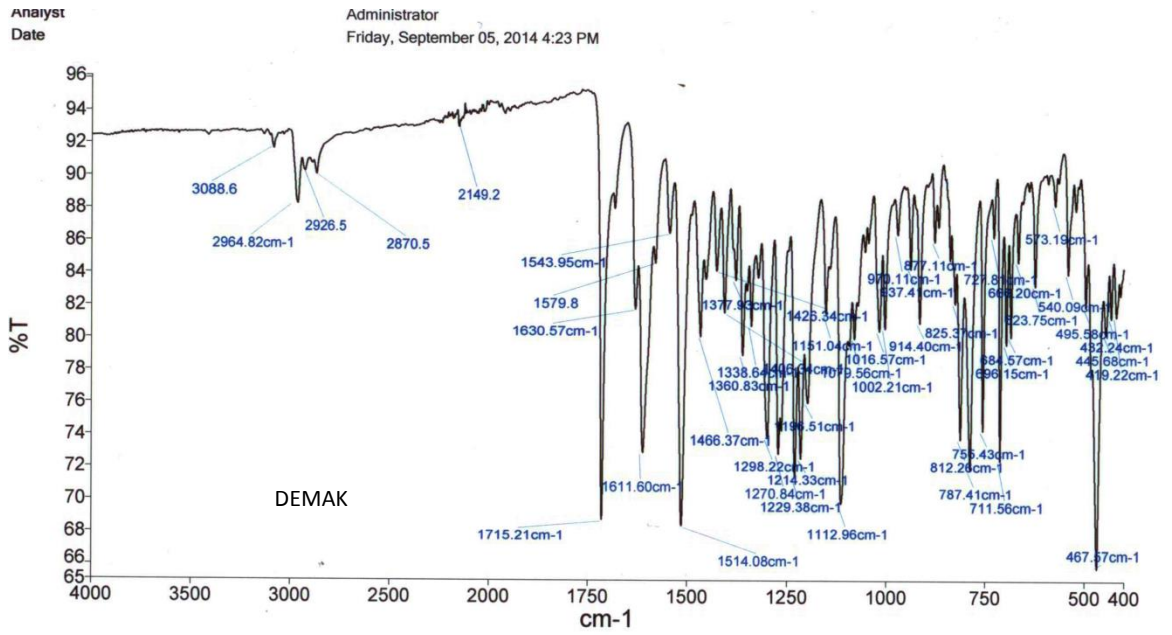
$\delta = 1.05, 1.04, 1.02$ ppm’deki triplet pik grubu azot atomundaki metilen karbonuna bağlı metil grupları protonlarını ($-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, 12H), $\delta = 2.50$ ppm’de gözlenen pik çözücü olarak kullanılan DMSO’nun su pikini, $\delta = 3.35, 3.30, 3.29, 3.28$ ppm’deki kuartet pik azota bağlı metilen ($-\text{N}-\text{CH}_2$, 8H) protonlarını, $\delta = 4.38, 4.31, 3.86$ ppm’deki pikler ferrocen iskelet yapısındaki protonları (Fer-H, 8H), $\delta = 7.87-6.32$ ppm’deki multipler pik grubu aromatik protonları (Ar-H, 10H), $\delta = 8.24$ ppm’de gözlenen pik ise molekülde imin grubunun bağlı protonunun ($-\text{N}=\text{C}-\text{H}$, 1H) vermiş olduğu sinyale aittir. Ayrıca, spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları, yukarıdaki yorum ve elementel analiz ile uyum içerisindedir.

Şekil 3.5’te DKES bileşiğinin DMSO’da çözülerek alınan ^{13}C -NMR spektrumuna göre molekülde bulunan karbon atomlarının kimyasal kayma değeri aşağıdaki gibi yorumlanmıştır:

$\delta = 12.89$ ve 14.42 ppm'deki pikler moleküldeki azot atomundaki metilene bağlı $-\text{CH}_3$ karbonlarını, $\delta = 44.15$ ppm'deki pik azot atomuna bağlı $-\text{CH}_2$ karbonunu, 69.43 ppm'deki pik ksanten molekülünü diğer moleküle bağlayan köprü karbon atomunu, 79.06 ppm'deki pik ksanten molekülündeki oksijen atomu yönündeki fenil halkalarındaki (C-H) karbonu, 163.35 ppm'deki pik karbonil karbonunu, 153.50 - 105.98 ppm aralığındaki pikler moleküldeki aromatik karbonları ve (N=C-H)'deki karbon atomlarını temsil etmektedir. Ayrıca, spektrumdaki 40.42 – 39.37 ppm civarında görülen pikler ise çözücü olan DMSO'ya ait sinyallerdir.



Şekil 3.12. DKES bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.13. DKES reaktifinin FT-IR spektrumu

Şekil 3.6’da IR spektrumunda; 3086-2870 cm⁻¹ arasındaki pikler aromatik ve alifatik C–H gerilme titreşimlerine aittir. 1715 cm⁻¹’deki keskin absorpsiyon bandı moleküldeki karbonil grubu gerilme titreşimini temsil eder. 1630-1611 cm⁻¹’deki pik (C=C) ve 1514 cm⁻¹’deki pik ise (C=N) gerilme titreşimlerini gösterir.

3.2.2. Ortam Bileşenlerinin Etkisinin İncelenmesinde Kullanılan Çözeltiler

Fe(III): Fe(NO₃)₃·9H₂O’tan 5-25 mg L⁻¹ aralığını içerecek şekilde stok Fe(III) çözeltisi hazırlanmıştır.

Fe(II): FeSO₄·7H₂O’dan 5-10 mg L⁻¹ aralığını içerecek Fe(II) çözeltisi hazırlandı.

Cu(II): Cu(NO₃)₂·H₂O’dan 5-25 mg L⁻¹ aralığını içerecek şekilde stok Cu(II) çözeltisi hazırlanmıştır.

Mn(II): Mn(NO₃)₂·4H₂O’dan 5-25 mg L⁻¹ içerecek şekilde stok Mn(II) çözeltisi hazırlanmıştır.

Na⁺: NaNO₃’tan 50-7500 mg L⁻¹ Na⁺ içerecek şekilde stok çözeltisi hazırlanmıştır.

K^+ : KNO_3 'ten $50-2500 \text{ mg L}^{-1} K^+$ içerecek şekilde stok çözeltisi hazırlanmıştır.

$Ca(II)$: $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 'den $50-7500 \text{ mg L}^{-1} Ca(II)$ içerecek şekilde stok çözeltisi hazırlanmıştır.

$Mg(II)$: $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 'den $50-5000 \text{ mg L}^{-1} Mg(II)$ içerecek şekilde stok çözeltisi hazırlanmıştır.

$Zn(II)$: $Zn(NO_3)_2$ 'den $10-50 \text{ mg L}^{-1} Zn(II)$ içerecek şekilde stok çözeltisi hazırlanmıştır.

CO_3^{2-} : Na_2CO_3 'den $100-1000 \text{ mg L}^{-1}$ olacak şekilde stok sodyum karbonat çözeltisi hazırlanmıştır.

SO_4^{2-} : Na_2SO_4 'den $50-500 \text{ mg L}^{-1}$ olacak şekilde stok sodyum sülfat çözeltisi hazırlanmıştır.

PO_4^{3-} : $K_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 'den $10-25 \text{ mg L}^{-1}$ olacak şekilde stok potasyum hidrojen fosfat çözeltisi hazırlanmıştır.

Cl^- : $NaCl$ 'den $100-1000 \text{ mg L}^{-1}$ olacak şekilde stok sodyum klorür çözeltisi hazırlanmıştır.

F^- : NaF 'den $5-25 \text{ mg L}^{-1}$ olacak şekilde stok sodyum florür çözeltisi hazırlanmıştır.

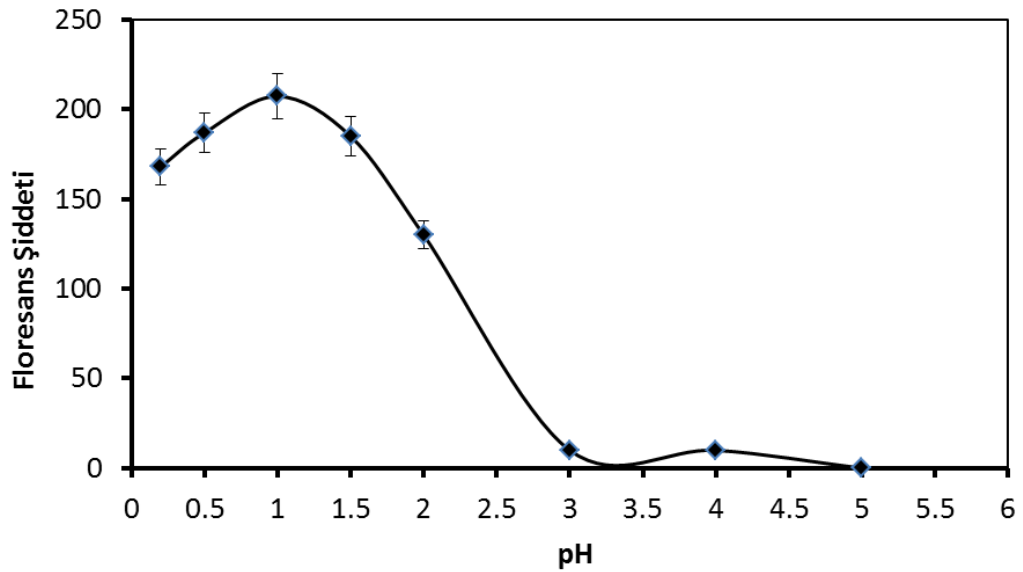
3.3. Deneysel Parametrelerin Optimizasyonu

3.3.1. pH Etkisi

$Ag(I)$ ile DKES reaktifi arasındaki kompleksin hangi pH değerinde daha kararlı ve optimum olduğunu anlamak için çeşitli pH değerlerinde çözeltiler hazırlandı.

pH 0,5, 1, 1,5, 2 için 1 M HCl/KCl tampon çözeltisi, pH 3, 4, 5 için 1 M $CH_3COOH/NaCH_3COO$ tampon çözeltisi kullanıldı.

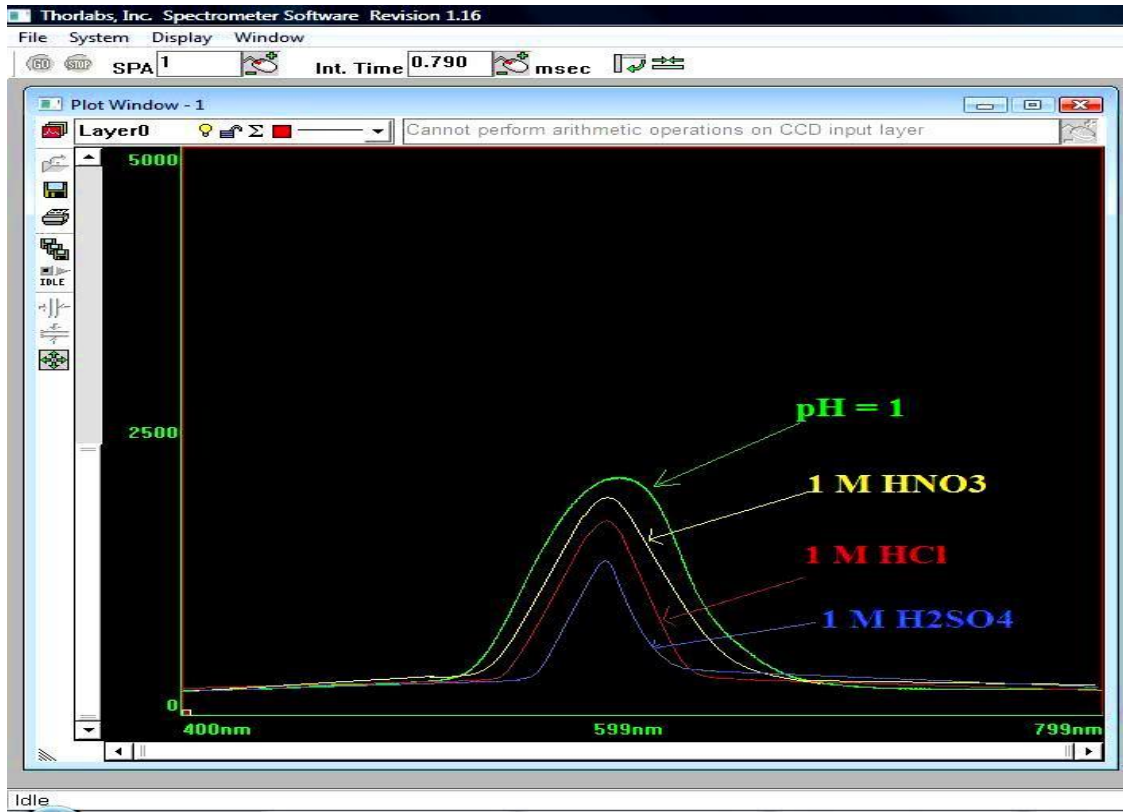
$400 \mu\text{g L}^{-1} Ag(I)$ derişimi ve %0,1'lik 3,0 mg DKES reaktifi ve 1 M 1,5 mL tampon çözeltiler sırası ile eklendikten sonra son hacim 5 mL olacak şekilde 3 paralel çalışma yapıldı. $Ag(I)$ - DKES kompleksinin bu pH değerlerinde floresans şiddeti (F) ölçülerek grafiğe geçirildi.



Şekil 3.14. Kompleks oluşumuna pH'nın etkisi (n=3)

Şekil 3.7.'de Ag(I) ile DKES reaktifi arasındaki kompleksin çalışma pH aralığının 0,5-1,5'da optimum iken daha sonra azalmaya başladığı görülmektedir. Floresans şiddetindeki bu düşüş Ag(I)- DKES kompleksinin yüksek pH değerlerinde bozulması olarak açıklanabilir. En yüksek floresans şiddeti ise pH 1'de elde edildi. Optimum olması nedeni ile çalışma pH olarak 1 seçildi.

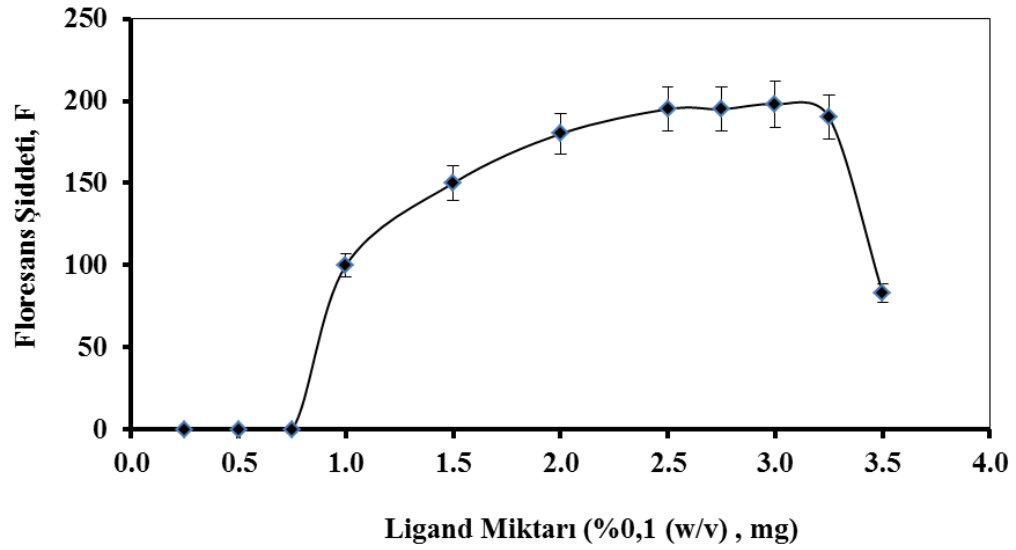
Ortam etkisini incelemek için, Al(I)- DKES kompleksi 0,1–5 M HNO₃, 0,1-5 M HCl ve 0,1-5 M H₂SO₄ ortamları içerisinde de oluşturulmaya çalışıldı fakat asidik ortamlarda kompleks formunun parçalanarak bozulduğu düşünüldüğü için floresans şiddeti sağlıklı olarak ölçülemedi. Yüksek pH değerlerinde ise çözelti ortamı bulanarak çökelek meydana geldi. Ag(I)-DEMAK kompleksi yüksek pH değerlerinde bozularak ortamda serbest kalan Ag(I) iyonunun, tampon çözeltiden kaynaklı Cl⁻ iyonları ile AgCl oluşturularak çöktüğü düşünülmektedir.



Şekil 3.15. Ag(I)-DKES kompleksinin florometre aletinden alınan farklı ortamlardaki pikleri

3.3.2. DKES Reaktifinin Miktarının Etkisi

Bu deneyde oluşan Ag(I)-DKES kompleksinin floresans şiddetinin eklenen DKES miktarı ile nasıl değiştiğini incelenmek için 0-3,5 mg aralığında değişen miktarlarda reaktif eklenerek çalışma yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıda Şekil 3.9’de grafik olarak verilmiştir.



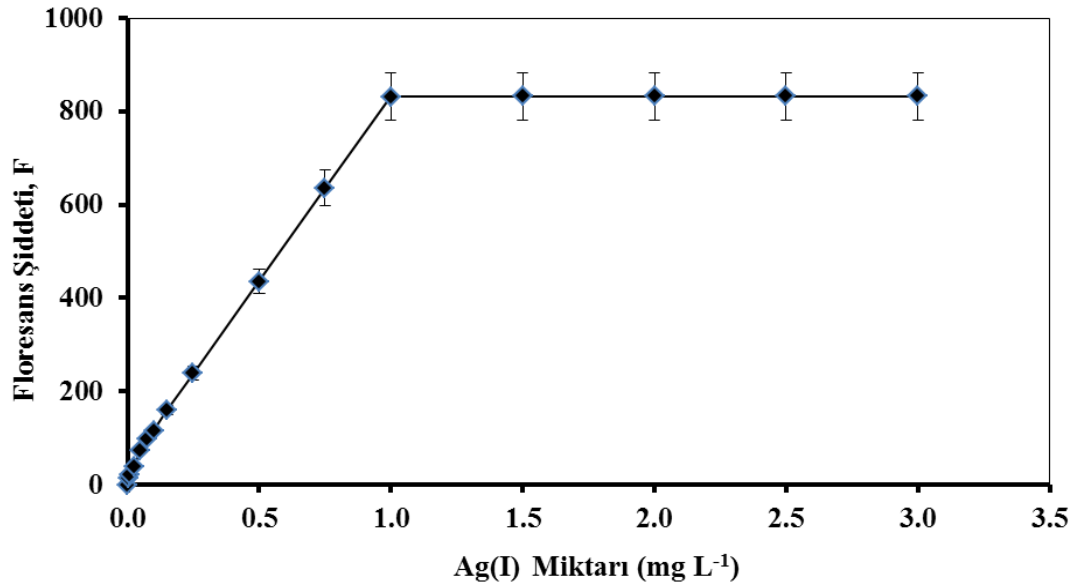
Şekil 3.16. DKES miktarı ile Ag(I)-DKES kompleksinin floresans şiddetindeki değişim (n = 4)

Şekilden de görüleceği üzere, Ag(I)-DKES kompleksi için en yüksek floresans şiddeti 2,0 mg'da göstermiştir. Bu nedenle optimum DKES reaktifi olarak 2,5 mg belirlenmiştir.

DKES reaktif miktarı 2,0 mg'dan düşük olduğunda kompleksleşme tamamlanmadığı için floresans şiddeti yeterince iyi gözlenemedi. Diğer taraftan DKES reaktif miktarı 3,25 mg'dan fazla olduğunda ise derişimin floresans şiddetine etkisi nedeniyle kompleksin floresansının sönümlendiği gözlemlendi.

3.3.3. Ag(I) Miktarının Etkisi

Elde edilen Ag(I)-DKES kompleksine Ag(I) miktarının etkisini incelemek amacı ile 1 ng L⁻¹ ile 3 mg L⁻¹ arasında değişen miktarlarda Ag(I) çözeltileri hazırlanarak optimum şartlarda çalışmalar yapıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.11'de verilmiştir.

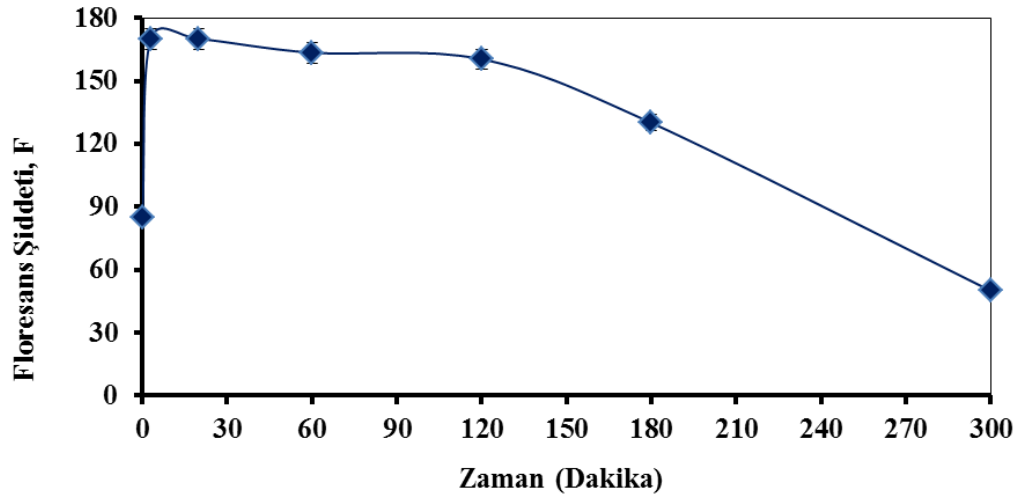


Şekil 3.17. Ag(I) miktarının floresans şiddetine etkisi (n=4)

Grafikten de anlaşılacağı üzere; son hacim de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Ag(I) ilavesinden sonraki eklemelerde floresans şiddeti sabit kaldı ve böylece çalışma aralığı $0-1,5 \text{ mg L}^{-1}$ olarak belirlendi. Çalışma aralığından fazla bulunan Ag(I) miktarının etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

3.3.4. Kompleks Oluşumu İçin Bekleme Süresinin Etkisi

1 M $1,5 \text{ mL}$ KCl/Cl kullanılarak hazırlanan pH 1 tampon çözelti ortamına $400 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ Ag(I) ve $2,0 \text{ mg}$ DKES reaktifi ilave edildikten sonra oluşan kompleksin floresans şiddetinin bekleme süresi ile nasıl değiştiğini anlamak için $0-300$ dakika arasında floresans şiddeti ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.12’de verilmiştir.

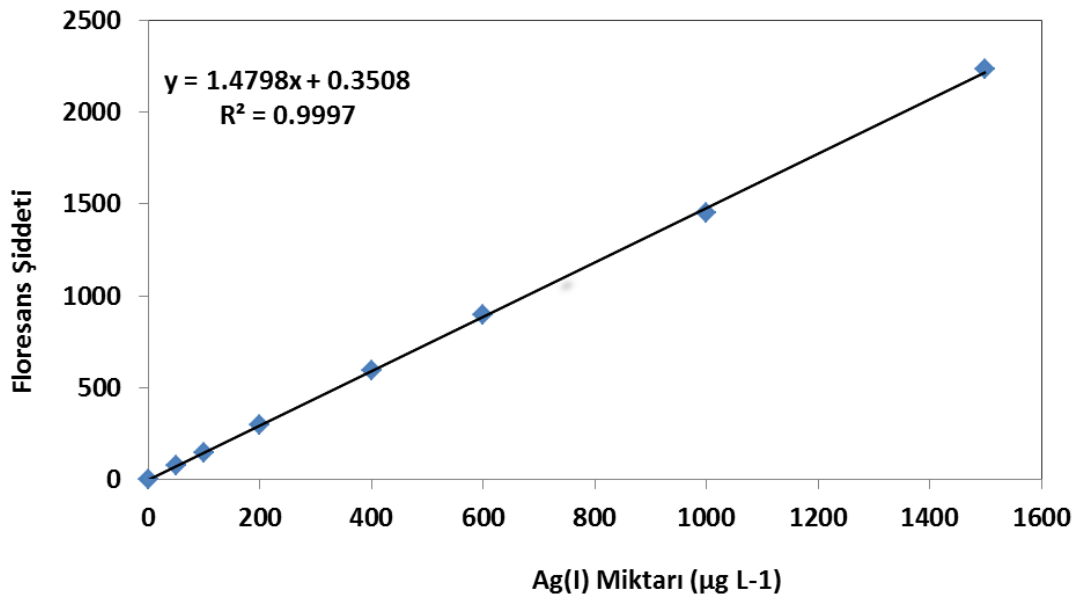


Şekil 3.18. Bekleme süresinin floresans şiddetine etkisi (n=4)

Yapılan çalışmada Ag(I)-DKES kompleksi oluşturulduktan 3 dakika sonra floresans ölçümlerinin yapılabileceği görüldü. Ag(I)-DKES kompleksi oluşturulduktan yaklaşık 120 dakika sonra floresans şiddetindeki azalma kompleksin yapısının bozulması olarak açıklanabilir.

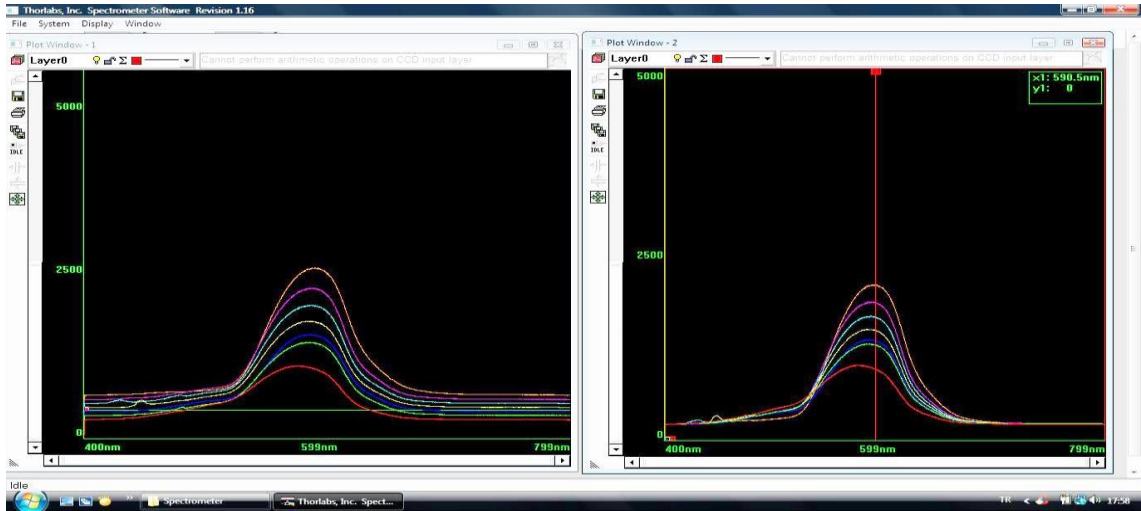
3.3.5. Çalışma Aralığının Belirlenmesi

Elde edilen Ag(I)-DKES kompleksinin çalışma aralığının belirlenmesi amacı ile optimum şartlar altında $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ile $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ arasında çeşitli örnek çözeltiler hazırlanarak floresans şiddetleri okundu. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.13’de verilmiştir.



Şekil 3.19. Ag(I)-DKES kompleksi için kalibrasyon doğrusu ($n = 4$)

Yukarıdaki kalibrasyon doğrusu denklemi $y = 1,4798 C + 0,3508$ olarak bulundu. $r = 0,9998$ ve $r^2 = 0,9997$ olarak bulundu. Burada r , korelasyon katsayısı ve r^2 tayin katsayısıdır. y = floresans şiddeti ve C = Ag(I) için konsantrasyondur.



Şekil 3.20. Kalibrasyon pik görüntüsü ve dalga boyu

Kalibrasyon çalışması sırasında elde edilen pikler Şekil 3.14’de görülmektedir. Ag(I)-DKES kompleksinde Ag(I) derişimi arttıkça floresans şiddetinde artış gözlenmektedir. Bu durum Ag(I)-DKES kompleksinin floresans şiddetinin Ag(I) miktarına bağlı olduğunu göstermektedir. Soldaki şekil Ag(I)-DKES kompleksinin 3 boyutlu floresanın pik görüntüsü ve sağdaki şekil ise Ag(I)-DKES kompleksinin floresansının dalga boyu görülmektedir.

3.3.6. Ortam Matriks Bileşenlerinin Etkisinin İncelenmesi

Ortam matriks bileşenlerinin incelenmesi için Na^+ , K^+ , Ca(II) , Mg(II) , Fe(III) , Fe(II) , Mn(II) , Co(II) , Cd(II) , Pb(II) , Cr(III) , Au(II) , Pt(II) , Pd(II) , Ni(II) , Cu(II) , Zn(II) , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , F^- , Cl^- , CO_3^{2-} , CH_3COO^- ve glukoz’un çeşitli derişimlerinin Ag(I)-DKES kompleksinin floresans sinyali üzerine etki edip etmediği araştırıldı. Bunun için matriks iyonlarını artan derişimlerde ortama ekleyerek floresans şiddetleri ölçüldü. Ortama 1 M 1,5 mL HCl/KCl tamponundan eklenip pH 1’e ayarlandı ve $400 \mu\text{g L}^{-1}$ Ag(I) ve 2,0 mg DKES ortama eklendikten sonra son hacim 5 mL olacak şekilde tamamlandı. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri halinde Tablo 3.2’de verilmiştir.

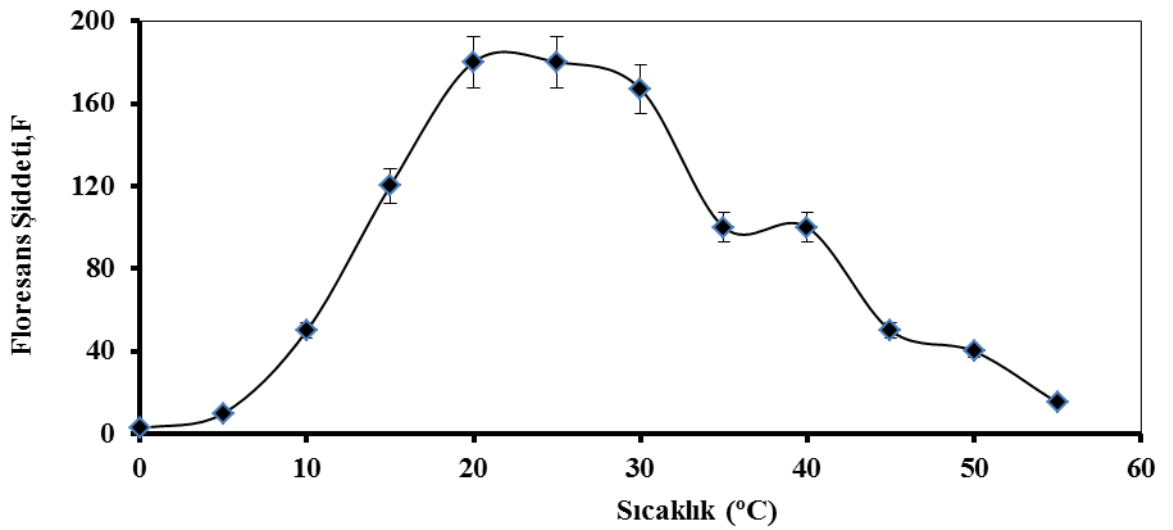
Sonuçlar örnek ortamlarında bulunabilecek farklı derişimlerdeki anyon ve katyonlara aittir. Elde edilen geri kazanma değerlerinin kantitatif olduğu, maksimum tuz derişimleri tolere edilebilir matriks iyon derişimleridir.

Tablo 3.4. Bazı anyon ve katyonların Ag(I) kompleksinin tayinine etkisi

İyon	İyonun Tuzu	Konsantrasyon (mg L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
Na ⁺	NaNO ₃	5000	95 ± 2
K ⁺	KNO ₃	2500	96 ± 2
Ca ²⁺	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	7500	96 ± 2
Mg ²⁺	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	2500	98 ± 2
Zn(II)	Zn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	10	95 ± 2
Fe(III)	Fe(NO ₃) ₃ .6H ₂ O	5	95 ± 2
Fe(II)	FeSO ₄ .7H ₂ O	5	97 ± 2
Cu(II)	Cu(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	10	98 ± 2
Mn(II)	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	5	96 ± 3
Ni(II)	Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	10	95 ± 2
Co(II)	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	5	96 ± 2
Pb(II)	Pb(NO ₃) ₂	5	96 ± 2
Pt(II)	Pt(NO ₃) ₂	5	98 ± 2
Pd(II)	Pd(NO ₃) ₂ .2H ₂ O	5	96 ± 2
Au(III)	Au(NO ₃) ₃	5	95 ± 3
Cr(III)	Cr(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	5	97 ± 2
Cd(II)	Cd(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	5	98 ± 2
F ⁻	NaF	25	95 ± 2
Cl ⁻	NaCl	1000	96 ± 2
CO ₃ ²⁻	Na ₂ CO ₃	1000	95 ± 2
PO ₄ ³⁻	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	25	97 ± 3
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	500	98 ± 2
NO ₃ ⁻	NaNO ₃	7500	95 ± 2

3.3.7. Sıcaklığın Etkisi

pH 1 (1 M 1,5 mL KCl/HCl tampon ortamında) $400 \mu\text{g L}^{-1}$ Ag(I) ve 2,0 mg DKES (%0,1'lik, 2 mL) eklenerek oluşturulan Ag(I)-DKES kompleksinin floresans şiddetinin sıcaklık ile nasıl değiştiğini incelemek için farklı sıcaklıklarda Ag(I)-DKES kompleksinin floresans şiddeti ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.15'de verilmiştir. Ölçümler 0-55 °C'de gerçekleştirildi.



Şekil 3.21. Ag(I)-DKES kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi ($n = 4$)

Yaklaşık 15 °C'nin altındaki sıcaklıklarda kompleks oluşmadığı için floresans şiddeti gözlenememiş olabilir fakat 15 °C'den sonra sıcaklık arttıkça kompleks oluşmaya başlıyor yaklaşık 25 °C ile 45 °C arasında floresans şiddeti sabit kalıyor. 45 °C'nin üzerine çıkıldığında kompleksin sıcaklık artışı ile floresans şiddetinde düşüş gözlemlendi. Bu durum kompleks yapısının sıcaklık ile bozunması olarak açıklanabilir.

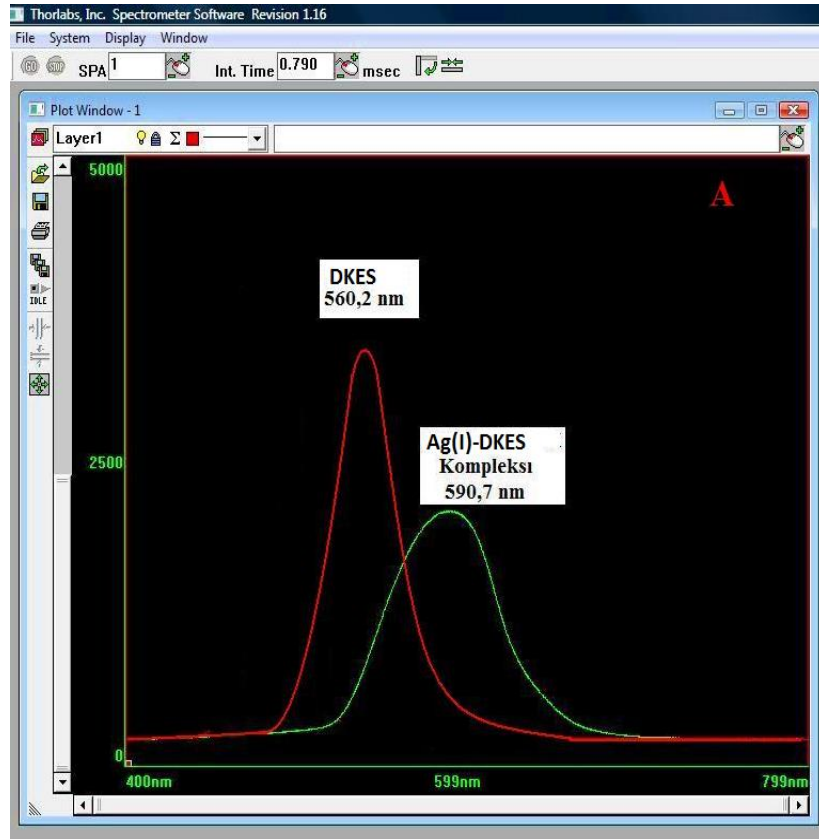
3.3.8. Yüzey Aktif Maddenin DKES ve Kompleksin Dalga Boyuna Etkisi

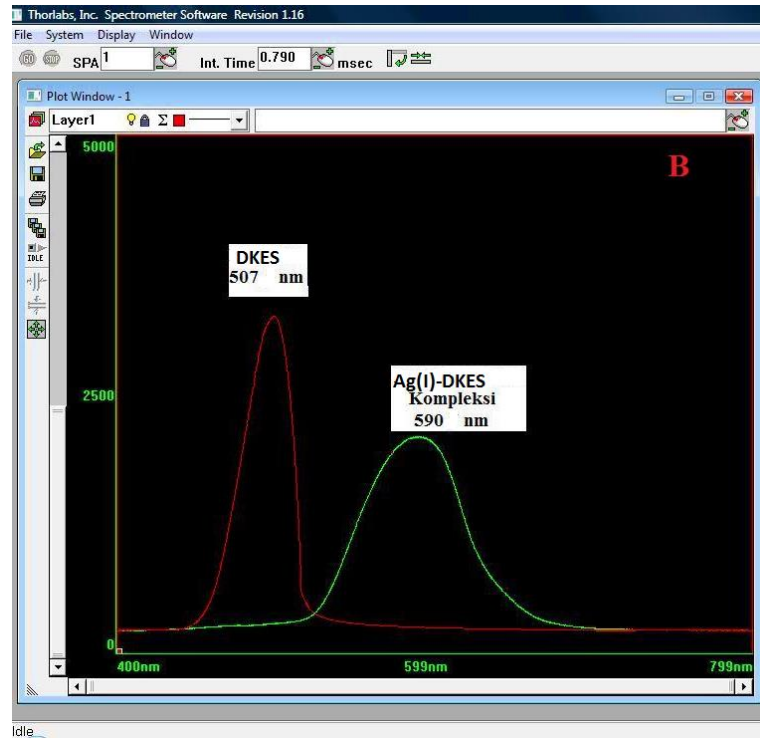
Elde edilen Ag(I)-DKES kompleksi ile DKES reaktifinin gösterdiği floresansın dalga boylarındaki çakışmayı engelleyebilmek için pH 1'de (1 M 1,5 mL KCl/HCl tampon ortamı) $400 \mu\text{g L}^{-1}$ ve % 0,1'lik 2,0 mg DKES reaktifi ile oluşturulan Ag(I)-DKES kompleksi üzerine yüzey aktif madde olan % 0,25'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisinden 0-1 mL arasında eklendi. Son hacim 5 mL'ye tamamlandı. Sonuçlar Tablo 3.3'de görüldüğü gibidir;

Tablo 3.5. Yüzey aktif maddenin dalga boylarına etkisi (n=4)

DKES		Ag(I)-DKES Kompleksi	
% 0,25'lik SDS (mL)	λ (nm)	% 0,25'lik SDS (mL)	λ (nm)
0	560	0	590
0,05	535	0,05	590
0,10	520	0,10	590
0,25	510	0,25	590
0,50	507	0,50	590
0,75	507	0,75	590
1,00	507	1,00	590

Tablo 3.3'den anlaşılabacağı üzere; 0,50 mL % 0,25'lik SDS ilave edildiğinde Ag(I)-DKES kompleksinin dalga boyu değişmezken, yalnızca DKES'a ilave edilen SDS sonrasında DKES'ın dalga boyunun daha düşük dalga boyuna kaydığı görülmektedir. Bu durum Ag(I)- DKES kompleksinin floresansının, DKES'ın floresansından kolaylıkla ayırt edebilme imkanı sağlanmıştır.





Şekil 3.22. Yüzey aktif maddenin dalga boyuna etkisi (n=5)
(A.SDS Eklenmeden Önceki Dalga Boyları, B. SDS Eklendikten Sonraki Dalga Boyları)

3.4. Kompleks Stokiyometrisinin Bulunması

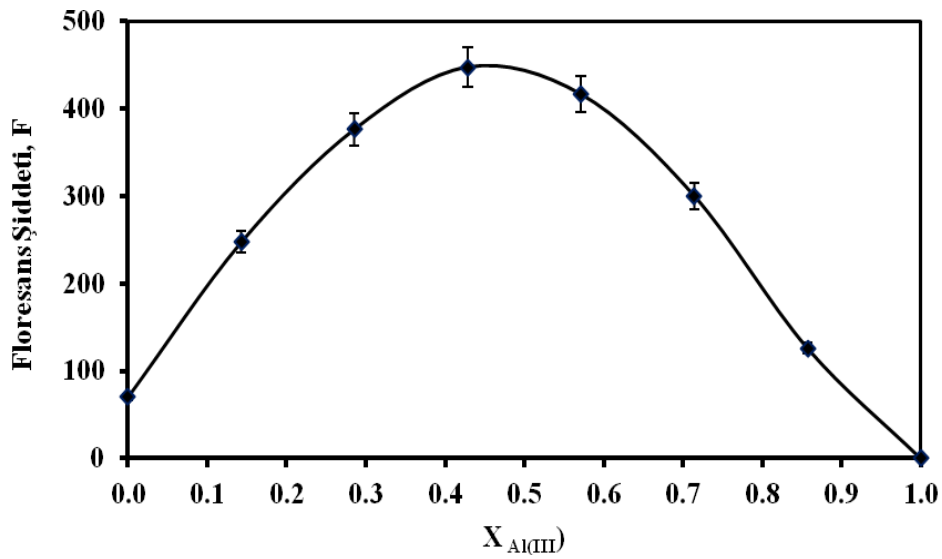
3.4.1. Florometre ile Sürekli Değişme Metodu

Sürekli değişmeler metodu kullanılarak (Job yöntemi) Ag(I)-DKES kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi için optimize edilen şartlarda $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ Ag(I) çözeltisi, % 0,1'lik DKES reaktifi ve 1 M HCl/KCl tampon çözeltisi ve % 25'lik SDS kullanılarak optimum şartlarda örnek çözeltiler hazırlandı. 590 nm dalga boyunda floresans şiddetleri okundu. Örnek çözeltilere eklenen miktarlar Tablo 3.4'de verilmiştir. Ölçülen floresans şiddetleri, Ag(I)'ün mol kesrine karşı grafiğe geçirildi.

Tablo 3.6. Yüzey aktif maddenin dalga boylarına etkisi (n=4)

$V_{\text{Al(III)}}, \text{ mL}$	$V_{\text{DEMAK}}, \text{ mL}$	pH 1 Tamponu, mL	$V_{\text{SDS}}, \text{ mL}$	$V_{\text{son}}, \text{ mL}$	F
0,0	3,5	1,5	0,005	5,0	70
0,5	3,0	1,5	0,005	5,0	247

1,0	2,5	1,5	0,005	5,0	376
1,5	2,0	1,5	0,005	5,0	447
2,0	1,5	1,5	0,005	5,0	416
2,5	1,0	1,5	0,005	5,0	300
3,0	0,5	1,5	0,005	5,0	126
3,5	0,0	1,5	0,005	5,0	0



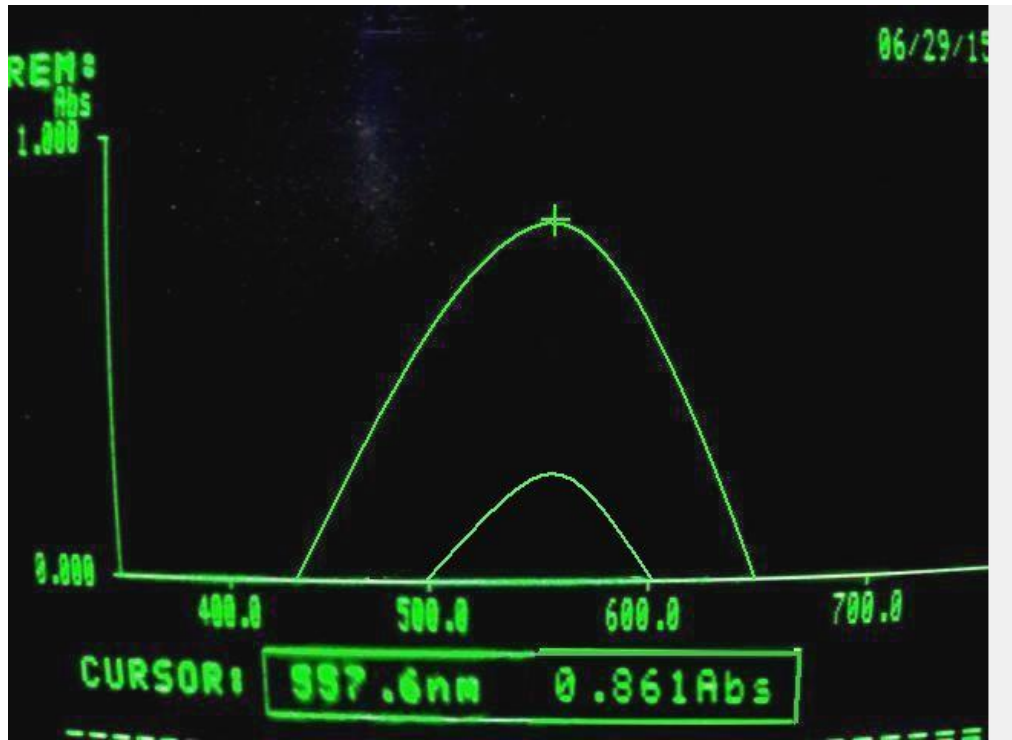
Şekil 3.23. Florometre ile kompleks stokiyometrisi (n=3)

Grafikte eğrilerin doğrusal kısımları kesişinceye kadar uzatıldığında kesişim noktasındaki mol kesri kompleksin formülünü verir. Çünkü bu noktalar hem Ag(I) hem de DKES için en uygun bağıl derişimlerdir. $X_{Al(III)} = 0,5$ bulundu.

Ag(I) - DKES kompleksi 1:1 oranında olup, formülü ML'dir.

3.4.3. UV-VIS Spektrofotometresi ile Sürekli Değişme Metodu

Sürekli değişmeler metodu (Job yöntemi) ile tayin için aynı derişimde Ag(I) ve DKES çözeltileri hazırlandı. 0,2 mg L⁻¹Ag(I) çözeltisi, % 0,01'lik DKES reaktifi ve 1 M HCl/KCl tampon çözeltisi ve % 25'lik SDS kullanılarak optimum şartlarda örnek çözeltiler hazırlandı. 557 nm dalga boyunda absorbans şiddetleri okundu. Ölçülen absorbans şiddetleri, alüminyumun mol kesrine karşı grafiğe geçirildi. Örnek çözeltilere eklenen miktarlar Tablo 3.6'da verilmiştir.

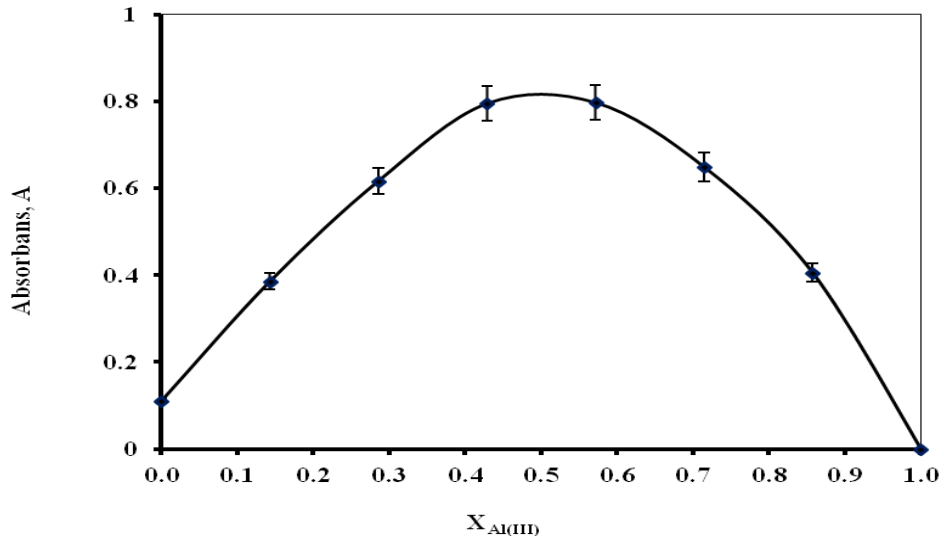


Şekil 3.24. Optimum şartlarda Ag(I)- DKES kompleksinin UV-VIS spektrofotometresinde dalga boyu taraması

Optimum şartlar uygulandığında Ag(I)-DKES kompleksinin en şiddetli absorbands gösterdiği dalga boyu UV-VIS Spektrofotometresinde 557 nm olarak bulundu. Bu nedenle absorbands ölçümleri alınırken bu dalga boyunda ölçümler yapıldı.

Tablo 3.7. Sürekli değişme metodu uygulaması

$V_{Al(III)}$, mL	V_{DEMAK} , mL	pH 1 Tamponu, mL	V_{SDS} , mL	V_{son} , mL	Absorbans
0,0	3,5	1,5	0,005	5,0	0.111
0,5	3,0	1,5	0,005	5,0	0.386
1,0	2,5	1,5	0,005	5,0	0.610
1,5	2,0	1,5	0,005	5,0	0.795
2,0	1,5	1,5	0,005	5,0	0.797
2,5	1,0	1,5	0,005	5,0	0.649
3,0	0,5	1,5	0,005	5,0	0.406
3,5	0,0	1,5	0,005	5,0	0



Şekil 3.25. UV- VIS spektrofotometresi ile kompleks stokiometrisi (n = 3)

Grafikteki eğrilerin doğrusal kısımları kesiştiğinde kesişim noktasındaki mol kesri kompleksin formülünü verir. Çünkü bu noktalar hem Ag(I) hem de DKES için en uygun bağıl derişimlerdir. $X_{Ag(I)} = 0,5$ bulundu.

Ag(I) - DKES kompleksi 1:1 oranında olup, formülü ML'dir.

Kompleks stokiometrisi için yapılan 2 farklı deneysel çalışma ve 2 farklı cihazdan alınan sonuçlar doğrultusunda Ag(I)-DKES kompleksi 1:1 oranında ve molekül formülü ML şeklindedir.

3.5. FT-IR ile Ag(I)- DKES Kompleksinin İncelenmesi

0,5 mg L⁻¹ Ag(I), 2,0 mg DKES reaktifi (% 0,1, 2 mL) ve pH 1'de (1 M 1,5 mL HCl/KCl) son hacim 5 mL olacak şekilde deney tüpünde hazırlandı. Hazırlanan bu örneğin oda sıcaklığında buharlaşması sağlandı ve kalan katı distile su ile yıkanarak mavi band süzgeç kağıdından süzüldü. Ag(I)-DKES kompleksi oluşturulduktan sonra kompleks katısı FT-IR ile incelendi.

Ag(I)-DKES kompleksine ait spektrum incelendiğinde DKES reaktifinin karbonil grubunda değişim söz konusudur. 1680 cm⁻¹ absorpsiyon bandı karbonil grubunu temsil etmektedir. Ayrıca, alifatik ve aromatik C-H bandlarında değişim ve genişleme (3362-2456 cm⁻¹) söz konusudur.

Kompleks muhtemelen N=C çift bağının açılması ve karbonil grubundaki oksijenin serbest elektron çiftinin Ag(I)'e atak ederek yeni bir halka meydana getirmesi ile oluşmuş olabilir.

3.6. Geliştirilen Yöntemin Gözlenebilme Sınırı

Yöntemin gözlenebilme sınırının tayini için, optimum şartlarda tüm bileşenleri içeren, ancak Ag(I) içermeyen 20 paralel tanık deney yapıldı. Örneklerle 1 M 1,5 mL HCl/KCl tampon çözeltisi ve 2,0 mg (% 0,1'lik, 2 mL) DKES reaktifi ve % 0,25'lik 100 µL SDS eklendi. Çözelti hacimleri 5 mL'ye tamamlandıktan sonra 5 dakika beklenerek optimum şartlara gelmesi sağlandı ve daha sonra floresans şiddetleri ölçüldü.

DKES reaktifinin dalga boyu 507 nm ve Ag(I)-DKES kompleksinin 590 nm olduğundan maksimum floresans şiddetleri 590 nm'de okundu. Gözlenebilme sınırı aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı.

$$GS(LOD) = \frac{3 \times s}{B}$$

$s = 0,8203$ (Kör örneklerin ortalamasının standart sapması),

$B = 0,8127$ (Kalibrasyon doğrusunun eğimi)

$$GS(LOD) = \frac{3 \times 0,8203}{0,8127} = 1,00 \mu\text{g L}^{-1}$$

Tayin Sınırı için aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı.

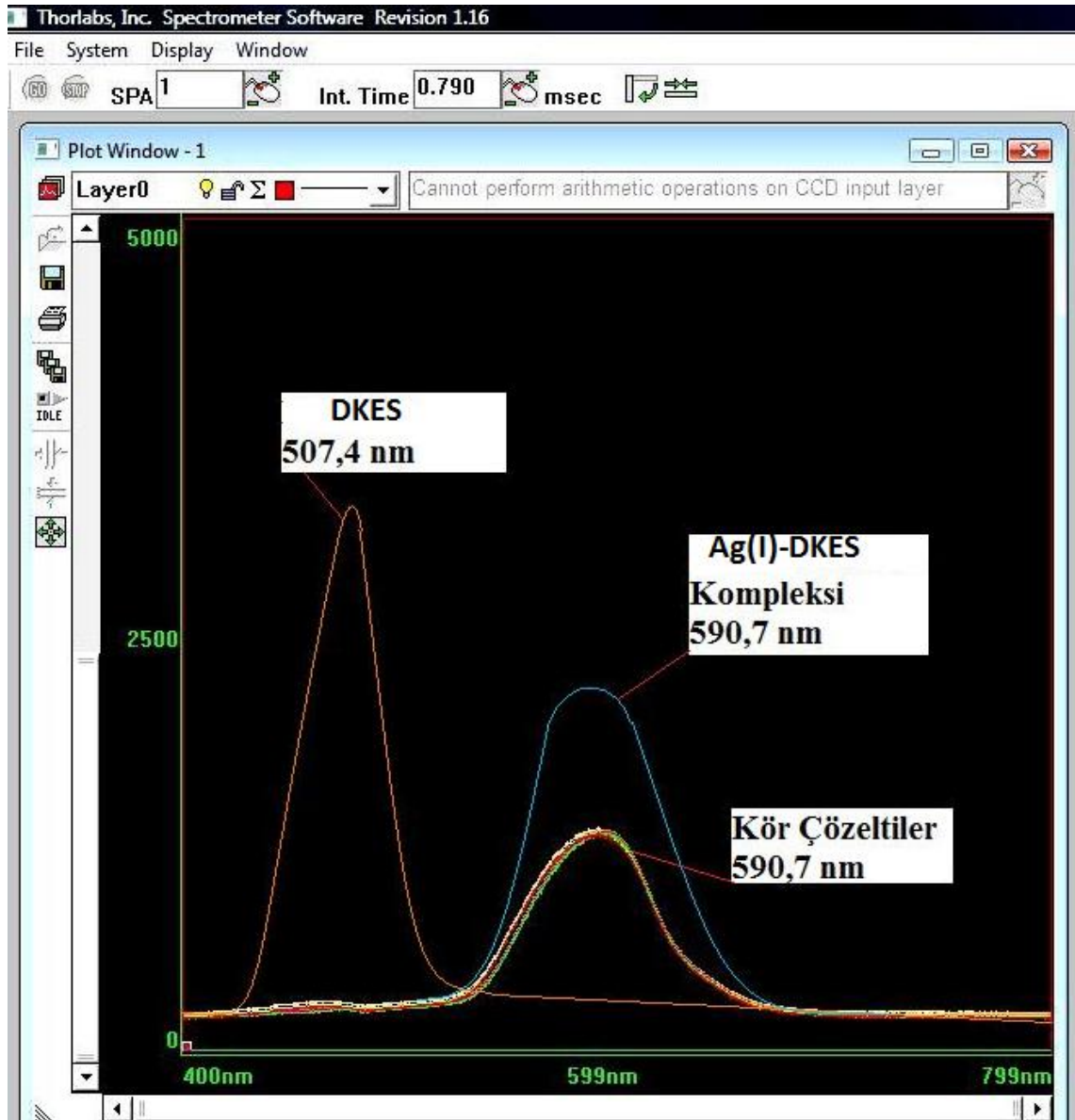
$$TS = GS \times 3,33 = 1,00 \times 3,33 = 3,33 \mu\text{g L}^{-1}$$

% Bağlı Standart Sapma (%RSD) için aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı.

$$\%BSS (RSD) = \frac{s}{\bar{\chi}} \times 100$$

$\bar{\chi} = 980,7$ (Kör örneklerin ortalaması)

$$\%BSS = \frac{0,8203}{980,7} \times 100 = \%0,083 (n=10)$$



Şekil 3.26. Gözlenebilme sınırı için pikler

3.7. Yöntemin Gerçek Örneklerle Uygulaması

Gerçek örneklerin analizi için çeşitli gıda örnekleri alınmış ve örnek hazırlama işlemleri yapılmıştır. Bunun için içme suyu, baraj, ırmak ve deniz suyu olmak üzere farklı su örnekleri kullanıldı. Sonuçlar aşağıdaki gibidir.

Örnek	Eklenen	Bulunan	Geri Kazanım (%)
Maden Sahası Atık su	-	4.6 ± 1.9^a	-

	10	14.6 ± 2.2	99 ± 1
Sarımsaklı dam water	-	5.8 ± 0.4	-
	10	15.8 ± 0.2	100 ± 1
Irmak suyu	-	3.8 ± 0.6	-
	10	13.6 ± 1.8	98 ± 2
Akdağ Madeni	-	7.0 ± 0.1	-
	10	17.1 ± 0.2	101 ± 1
Atık Su	-	3.0 ± 0.1	-
	10	12.9 ± 1.0	99 ± 1
Walnut	-	0.035 ± 0.005	95 ± 1
	0.03	0.062 ± 0.003	97 ± 2
	0.1	0.128 ± 0.006	95 ± 2
Hazelnut	-	0.024 ± 0.003	-
	0.03	0.053 ± 0.001	98 ± 2
	0.06	0.083 ± 0.001	99 ± 1
Nut	-	-	-
	0.03	0.029 ± 0.001	97 ± 3

0.10	0.096 ± 0.005	96 ± 1
------	-------------------	------------

3.8. Yöntemin Doğruluğunun İncelenmesi

3.8.1. Standart Referans Madde (SRM) Analizi

Örnek	Sertifikalı Değer	Bulunan	Geri Kazanım (%)
SLEW-3 estuarine water	0.0030	0.0029 ± 0.001	97 ± 1
CWW-TM-D waste water	0.250	0.244 ± 0.004	98 ± 1

^aOrtalama $\pm$ standart sapma

BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyolojik süreçlerde; metal iyonlarının varlığı önemli bir rol oynamaktadır. Sistem/organizmalarda temel olarak bulunan eser düzeydeki metal iyonlarının; konsantrasyon eşiğini aşması, metal iyonunun kanserojen ve mutajen doğası nedeni ile, insan ve çevre sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek öldürücü toksik etkileri meydana getirebilir. Bu nedenle; biyolojik, çevre kirliliği ve klinik tanı yönlerinden bu metal iyonlarının seçici olarak saptanması gereklidir.

Florometri, iyi bilinen ultra-iz analitik bir tekniktir. Yüksek hassasiyet ve seçicilik, kısa cevap süresi ve gerçek zamanlı analiz avantajları nedeniyle kullanılan metodlardandır.

Florometri ile metal iyonlarının analizleri ise; metal iyonlarının floresans yapabilen ligandlar ile oluşturdukları bazı floresant kompleksler yardımıyla olur. Metal; floresans yapabilen bir madde ile reaksiyona girdirilerek; oluşan yeni ürünün floresans şiddetinin ölçülmesi ile analiz gerçekleştirilir.

Bu çalışma da; ilk olarak floresans yapabilen yeni bir florofor (DKES) geliştirilmiştir. Sentezlenen DKES'in göstermiş olduğu yüksek floresans emisyonundan faydalanılmak sureti ile çeşitli metal iyonları ile kompleks yapılmaya çalışılmış ve DKES'in yalnızca Ag(I) için spesifik olduğu bulunmuştur.

Ag(I)-DKES kompleksinin oluşumu ve floresans şiddetinin en iyi ölçülebildiği optimum deney koşulları belirlenmiştir.

pH, DKES derişimi, sıcaklık, bekleme süresi, ortak iyon etkisi gibi farklı parametreler optimize edilmiştir. Daha sonra, kullanılan metotta ve cihazda ölçülebilecek minimum analit derişimini belirlemek amacı ile gözlenebilme sınırı çalışmaları yapılmıştır.

Kayseri'deki marketlerden temin edilen çeşitli gıda ve çevre örnekleri çözülerek direkt olarak Ag(I) tayini yapılmıştır.

Standart referans madde analizlerinden kantitatif geri kazanımlar elde edilerek yöntemin doğruluğu ispatlanmıştır.

Ek olarak; bu çalışma ile ilk defa sentez edilen DKES; Ag(I) için spesifik bir ligand olarak literatüre kazandırılmış ve çalışma tamamlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Danjou, P. E., Lyskawa, J., Delattre, F., Becuwe, M., Woisel, P., Ruellan, S., Cazier-Dennin, F. (2012). New fluorescent and electropolymerizable N-azacrown carbazole as a selective probe for iron (III) in aqueous media. **Sensors and Actuators B: Chemical**, **171**, 1022-1028
2. Lohani, C. R., & Lee, K. H. (2010). The effect of absorbance of Fe 3+ on the detection of Fe 3+ by fluorescent chemical sensors. **Sensors and Actuators B: chemical**, **143** (2), 649-654.

3. Donegan, J. F., Bergin, F. J., Glynn, T. J., Imbusch, G. F., & Remeika, J. P. (1986). The optical spectroscopy of $\text{LiGa}_5\text{O}_8:\text{Ni}^{2+}$. **Journal of luminescence**, **35** (1), 57-63.
4. Schlotter, P., Schmidt, R., & Schneider, J. (1997). Luminescence conversion of blue light emitting diodes. **Applied Physics A: Materials Science & Processing**, **64** (4), 417-418.
5. Valeur, B., & Berberan-Santos, M. N. (2012). Molecular fluorescence: principles and applications. John Wiley & Sons. 399 s.
6. Harris, D. C., & Bertolucci, M. D. (1978). Symmetry and spectroscopy: an introduction to vibrational and electronic spectroscopy. Courier Corporation, 565s.
7. Lakowicz, J. R. (Ed.). (2013). Principles of fluorescence spectroscopy. Springer Science & Business Media 15 s.
8. Guilbault, G. G. (Ed.). (1990). Practical fluorescence (Vol. 3). CRC Press, 800s.
9. Masters, B. R. (2013). Molecular Fluorescence: Principles and Applications. **Journal of Biomedical Optics**, **18** (3), 9901.
10. Straughan, B. (Ed.). (2012). Spectroscopy: Volume Three. Springer Science & Business Media, 320 s.
11. Bozym, R., Hurst, T. K., Westerberg, N., Stoddard, A., Fierke, C. A., Frederickson, C. J., & Thompson, R. B. (2008). Determination of zinc using carbonic anhydrase-based fluorescence biosensors. **Methods in enzymology**, **450**, 287-309.
12. Lakowicz, J. R. (1991). Topics in Fluorescence Spectroscopy: **Springer Science & Business Media**, **1** (1): 499 s.
13. Wehry, E. L. (1986). Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry. **Analytical chemistry**, **58** (5), 13R-33R.

14. Rettig, W., Strehmel, B., Schrader, S., & Seifert, H. (Eds.). (2012). Applied fluorescence in chemistry, biology and medicine. Springer Science & Business Media, 563 s.
15. DaCosta, R. S., Andersson, H., & Wilson, B. C. (2003). Molecular Fluorescence Excitation–Emission Matrices Relevant to Tissue Spectroscopy. **Photochemistry and photobiology**, **78** (4), 384-392.
16. Richardson, J. H., & Ando, M. E. (1977). Sub-part-per-trillion detection of polycyclic aromatic hydrocarbons by laser induced molecular fluorescence. **Analytical chemistry**, **49** (7), 955-959.
17. Holland, W. R., & Hall, D. G. (1985). Waveguide mode enhancement of molecular fluorescence. **Optics letters**, **10** (8), 414-416.
18. McCranor, B. J., Szmazinski, H., Zeng, H. H., Stoddard, A. K., Hurst, T., Fierke, C. A., Thompson, R. B. (2014). Fluorescence lifetime imaging of physiological free Cu (II) levels in live cells with a Cu (II)-selective carbonic anhydrase-based biosensor. **Metallomics**, **6** (5), 1034-1042.
19. Essawy, A. A., & Attia, M. S. (2013). Novel application of pyronin Y fluorophore as high sensitive optical sensor of glucose in human serum. **Talanta**, **107**:18-24.
20. Oldham, P. B., McCarroll, M. E., McGown, L. B., & Warner, I. M. (2000). Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry. **Analytical chemistry**, **72** (12), 197-210.
21. Soper, S. A., Warner, I. M., & McGown, L. B. (1998). Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry. **Analytical Chemistry**, **70**(12), 477-494.
22. Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T., Settle, F. A., Robinson, K. A., Robinson, J. F., & Chasteen, T. G. (2002). Principios de análisis instrumental. México 2008.
23. Zander, M. (1968). Phosphorimetry: The Application of Phosphorescence to the Analysis of Organic Compounds. Academic Press Inc.

24. Radu, T., & Diamond, D. (2009). Comparison of soil pollution concentrations determined using AAS and portable XRF techniques. **Journal of Hazardous Materials**, **171** (1), 1168-1171.
25. Markey, A. M., C Scott Clark PhD, C. I. H., & Roda, S. (2008). Determination of the feasibility of using a portable X-ray fluorescence (XRF) analyzer in the field for measurement of lead content of sieved soil. **Journal of environmental health**, **70**(7), 24.
26. Jang, M. (2010). Application of portable X-ray fluorescence (pXRF) for heavy metal analysis of soils in crop fields near abandoned mine sites. **Environmental geochemistry and health**, **32** (3), 207-216.
27. Cal-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M., Carlosena, A., Andrade, J. M., López-Mahía, P., Muniategui, S., & Prada, D. (2002). Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, **56** (1):1-51.
28. Moreda-Piñeiro, J., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Fernández-Fernández, E., & Prada-Rodríguez, D. (2002). Direct As, Bi, Ge, Hg and Se (IV) cold vapor/hydride generation from coal fly ash slurry samples and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, **57** (5), 883-895.
29. Moreda-Piñeiro, J., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Fernández-Fernández, E., & Prada-Rodríguez, D. (2002). Determination of As, Bi and Se in acidified slurries of marine sediment, soil and coal samples by hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, **17** (7), 721-726.
30. Campillo, N., López-García, I., Viñas, P., Arnau-Jerez, I., & Hernández-Córdoba, M. (2002). Determination of vanadium, molybdenum and chromium in soils, sediments and sludges by electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, **17** (10), 1429-1433.

31. Winge, R. K., Peterson, V. J., & Fassel, V. A. (1979). Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy: prominent lines. **Applied Spectroscopy**, **33** (3), 206-219.
32. Donohue, S. J., & Aho, D. W. (1992). Determination of P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, B, Cu, and Zn in plant tissue by inductively coupled plasma (ICP) emission spectroscopy. Plant analysis reference procedures for the southern region of the United States. **South Cooper Ser Bull**, **368**:34-37.
33. Jiang, H., Qin, Y., & Hu, B. (2008). Dispersive liquid phase microextraction (DLPME) combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) for determination of trace Co and Ni in environmental water and rice samples. **Talanta**, **74** (5), 1160-1165.
34. Xu, N., Majidi, V., Markesbery, W. R., & Ehmann, W. D. (1991). Brain aluminum in Alzheimer's disease using an improved GFAAS method. **Neurotoxicology**, **13** (4), 735-743.
35. Cindric, I. J., Zeiner, M., & Steffan, I. (2007). Trace elemental characterization of edible oils by ICP–AES and GFAAS. **Microchemical Journal**, **85** (1), 136-139.
36. Ndung'u, K., Hibdon, S., & Flegal, A. R. (2004). Determination of lead in vinegar by ICP-MS and GFAAS: evaluation of different sample preparation procedures. **Talanta**, **64** (1), 258-263.
37. De Soete, D. (1972). Neutron activation analysis, Wiley, 836 s.
38. Guinn, V. P., & Hoste, J. (1980). Neutron activation analysis. **Elemental Analysis of Biological Materials**, 105-140.
39. Bieber, A. M. (1974). Neutron-Activation Analysis. Bulletin of the American Schools of Oriental Research. Supplementary Studies, 141-147.
40. Hayat, M. A. (1974). Principles and techniques of scanning electron microscopy. Biological applications. Volume 1. Van Nostrand Reinhold Company. 233 s.
41. Goldstein, J., Newbury, D. E., Echlin, P., Joy, D. C., Romig Jr, A. D., Lyman, C. E., Lifshin, E. (2012). Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis:

a text for biologists, materials scientists, and geologists. Springer Science & Business Media, 850 s.

42. Yamada, R. S., Armas, A., Goldman, M., & Lin, P. S. (1983). A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. **Journal of Endodontics**, **9** (4), 137-142.
43. Maity, D., & Govindaraju, T. (2011). Naphthaldehyde–Urea/Thiourea Conjugates as Turn- On Fluorescent Probes for Al³⁺ Based on Restricted C= N Isomerization. **European Journal of Inorganic Chemistry**, (36): 5479-5485.
44. Al-Kindy, S. M., Al-Hinai, A., Al-Rasbi, N. K., Suliman, F. E. O., & Al-Lawati, H. J. (2015). Spectrofluorimetric determination of aluminium in water samples using N-((2-hydroxynaphthalen-1-yl) methylene) acetylhydrazide. **Journal of Taibah University for Science**, 9(4):601-609
45. Aluminum Association. (1984). Aluminum: properties and physical metallurgy. J. E. Hatch (Ed.). ASM International, 422 s.
46. Davis, J. R. (1993). Aluminum and aluminum alloys. J. R. Davis (Ed.). ASM international, 778 s.
47. Pickens, J. R. (1981). Aluminium powder metallurgy technology for high-strength applications. **Journal of Materials Science**, **16** (6), 1437-1457.
48. Mondolfo, L. F. (2013). Aluminum alloys: structure and properties. Elsevier, 974 s.
49. MICHAEL, J. K. (2012). Powder-Metallurgy Aluminum Alloys. Aluminum Alloys--Contemporary Research and Applications: Contemporary Research and Applications, 1, 323 s.
50. Pontikakos, I., & Jones, H. (1982). Coarsening of intermetallic particles in rapidly solidified aluminium–transition-metal alloys. **Metal Science**, **16** (1), 27-30.
51. Jiang, C., Tang, B., Wang, R., & Yen, J. (1997). Spectrofluorimetric determination of trace amounts of aluminium with 5-bromo-salicylaldehyde salicyloylhydrazone. **Talanta**, **44** (2), 197-202.
52. Park, C. I., & Cha, K. W. (2000). Spectrofluorimetric method for determination of aluminium with chromotropic acid and its application to water samples. **Talanta**, **51** (4), 769-774.

53. Reyes, J. G., Barrales, P. O., & Díaz, A. M. (2005). Development of a solid surface fluorescence-based sensing system for aluminium monitoring in drinking water. **Talanta**, **65** (5), 1203-1208.
54. Ichiba, H., Yonei, M., Sakamoto, T., Kuwayama, H., Hamada, Y., Yamada, H., Fukushima, T. (2015). Development of a selective fluorescent ligand for aluminum ion having a 6-chloro-pyridazine moiety. **Inorganica Chimica Acta**, **435**: 53-59.
55. Kara, D., Fisher, A., & Hill, S. J. (2008). Flow injection determination of aluminium by spectrofluorimetric detection after complexation with N-o-vanillidine-2-amino-p-cresol: The application to natural waters. **Analytica chimica acta**, **611** (1), 62-67
56. Hisanori, A. N. D. O., Keiko, T. A. W. A., & Tanaka, M. (2009). Fluorescence and metal-ion recognition properties of acetylacetone-based ligands. **Journal of Environmental Sciences**, **21**, S84-S87.
57. James, T. D., Sandanayake, K. R. A., & Shinkai, S. (1994). A Glucose- Selective Molecular Fluorescence Sensor. **Angewandte Chemie International Edition in English**, **33** (21), 2207-2209.
58. Ando, H., Ichihashi, Y., Tawa, K., & Tanaka, M. (2011). XAFS study of the complex of an acetylacetonate-based ligand and copper ion. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, **71** (3-4), 293-296.
59. Mathews, I. I., Rao, S. S., & Nethaji, M. (1992). X-ray crystal structure of a ternary copper (II) vitamin B 6 complex, hydroxo (2, 2'-bipyridyl)(pyridoxinato) copper (II) monohydrate. A rare example of monodentate coordination of copper (II) by the hydroxyl ion. **Polyhedron**, **11** (11), 1397-1401.
60. Erdik, E., Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Gazi Yayınevi, Ankara, 1998.
61. Willard, E.D.H., Merrit, L., Dean, A., Settle, E., Instrumental Methods of Analysis, 6th von Nostrand Comp., Newyork, p.177-216 and 316-372, 1981.

62. Silverstein, R.M., Bassler, A.C., Morrill, T.C., Spectrometric Identification of Organic Compounds, Fourth Edition, John Wiley and Sons, N.Y., p. 95-304, USA, 1981.
63. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Principles of Instrumental Analysis, Bilim Yayıncılık, p. 282, 1997.