

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ASPARTAM İÇEREN HAVALANDIRILMIŞ ÇÖZELTİDE
L-ASKORBİK ASİDİN BAKIR(II) ve DEMİR(III)
KATALİZLİ OKSİDASYON KİNETİĞİNİN
İNCELENMESİ**

Kimyager Bilge YILDOĞAN

**FBE Kimya Anabilim Dalı Fizikokimya Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İnci SÖNMEZOĞLU (YTÜ)

İSTANBUL, 2006

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ	i
KISALTMA LİSTESİ	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
ÇİZELGE LİSTESİ	vi
ÖNSÖZ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BÖLÜM.....	3
2.1 Askorbik Asit.....	3
2.1.1 Tarihçesi ve Özellikleri	3
2.1.2 Fizikokimyasal Özellikleri	4
2.1.2.1 Fiziksel Özellikleri ve Molekül Yapısı.....	4
2.1.2.2 Kimyasal Özellikleri.....	5
2.1.3 Farmakolojik Etkisi	8
2.1.4 Doğadaki Besinlerde C Vitamini Oluşumu ve Kararlılığı	10
2.1.5 Antioksidan Özelliği.....	11
2.1.6 Tanınma ve Miktar Tayini Yöntemleri.....	14
2.2 Yapay Tatlandırıcılar	18
2.2.1 Aspartam.....	19
2.2.1.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	19
2.2.1.2 Farmokolojik Etkisi	21
2.2.1.3 Miktar Tayini.....	21
2.2.1.4 Aspartamın asit-baz özellikleri.....	22
2.3 Mor Ötesi (Ultraviyole) Spektroskopisi	23
2.3.1 Lambert-Beer Yasası	25
2.4 Komplekslerin Spektrofotometrik İncelenmesi.....	28
2.4.1 Job veya Devamlı Değişimler Yöntemi	28
2.5 Birinci Dereceden Reaksiyonlar	31
2.6 Daha Önceki Çalışmalar	32
2.6.1 Metal, Ligand ve Polimer Katalizli ve Katalizsiz Askorbik Asit Oksidasyonu	32
2.6.2 Askorbik Asit Tayin Yöntemleri	44
2.6.3 Aspartam Çalışmaları	45
2.6.4 Diğer Antioksidanlar	47
3. DENEYSEL BÖLÜM	48
3.1 Kullanılan Maddeler	48

3.2	Araç ve Gereçler.....	48
3.3	Çözeltiler	50
3.4	Tampon Çözelti(0,01 M Asetat Tamponu (pH =3,2–5,6).....	50
3.5	Yöntem	51
3.5.1	Örnek Hazırlanması ve Kinetik Ölçümler	52
3.5.2	AA saptama prosedürü	52
3.5.3	Cu(II)-aspartam Kompleks Stokiyometrisinin UV Spektrofotometrik İncelenmesi ..	52
4.	SONUÇLAR.....	54
4.1	Kompleks stokiyometrisi.....	54
4.2	Kinetik çalışmalar	54
4.2.1	Teorik yaklaşım	54
4.2.2	Katalizörsüz ve Bakır(II) veya Demir(III) İyon Katalizli Oksidasyon.....	54
4.2.3	Bakır Katalizli Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine pH Etkisi ..	55
4.2.4	Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine Cu(II) Konsantrasyonu Etkisi.....	55
4.2.5	Aspartam varlığında Cu(II) Katalizli Askorbik Asit Oksidasyonu	55
4.2.6	Pepsi Kola Light'da Askorbik Asit Otoksidasyonunun İzlenmesi.....	56
4.2.7	Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine Fe(III) Konsantasyonu Etkisi.....	56
4.2.8	Aspartam Varlığında Geçiş Metal Katalizli AA Oksidasyonunun Genel Özellikleri	57
5.	TARTIŞMA.....	90
	KAYNAKLAR.....	91
	EKLER.....	97
	EK-1 Bakır-asetat ve bakır-aspartam komplekslerinin bağlı bollukları.....	97
	EK-2 Cu(II) iyonları varlığında farklı aspartam konsantrasyonları ve pH'ler için spesifik hız sabitlerinin standart sapma hesapları.....	99
	ÖZGEÇMİŞ.....	110

SİMGE LİSTESİ

a	Çözeltiden geçen ışık demetinin dalga boyuna bağlı bir sabit
A	Absorbans
A ⁻	Askorbat iyonu
A ^{·-}	Askorbat radikali
AH ⁻	Dehidroaskorbik asit
c	Konsantrasyon
E ₀	Standart elektrot potansiyeli
ε	Ekstinksiyon katsayısı
I ₀	Gelen ışın demetinin şiddeti
I	Çözeltiyi terkeden ışının şiddeti
k	Birinci derece reaksiyonun hız sabiti
k _d	Katalizli ve katalizsiz birinci mertebeden hız sabitleri arasındaki fark
K	Spesifik hız sabiti
K _a	Asit dissosiyasyon sabiti
l	Çözeltinin bulunduğu hücrenin kalınlığı
λ _{maks}	Maksimum absorbans dalga boyu
pK	Asit sabiti
pI	İzoelektrik nokta
t	Reaksiyon süresi
T	Transmitans

KISALTMA LİSTESİ

AA, H ₂ A	Askorbik asit
ADI	Acceptable Daily Intake
APM	Aspartam
2,6-DCPIP	2,6-diklorofenol-indofenol
CDTA	1,2sikloheksandiamintetraasetikasit
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant capacity
DHAA	Dehidroaskorbik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTPA	Dietilentriaminpentasetikasit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ESR	Elektron spin rezonans
FDA	Food drug administration
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GC	Gaz kromatografisi
GSH	Glutation
HEDTA	N-hidroksi etilendiamintetraasetikasit
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IR	Infrared
MS	Mössbauer spektroskopisi
nm	Nanometre
NBS	N-bromosüksinimid
Nc	Neocuproine
NMR	Nükleer magnetik rezonans
PVP	Poli-4-vinilpiridin
RS	Raman spektroskopisi
TLC	İnce tabaka kromatografisi
UV	Ultraviyole
UV-VIS	Ultraviyole visible

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	Askorbik asidin molekül şekli	5
Şekil 2.2	Askorbik asit-dehidroaskorbik asit redoks reaksiyonu	6
Şekil 2.3	Askorbik asidin 2,6-diklorofenol-indofenol ile reaksiyonu	15
Şekil 2.4	Aspartamın molekül şekli	20
Şekil 2.5	Aspartamın moleküler yapısı ve pK _a değerleri	22
Şekil 2.6	Bir aminoasidin dipolar yapısı	22
Şekil 2.7	Amino asitlerin asit-baz davranışları	23
Şekil 2.8	Elektromagnetik spektrum	23
Şekil 2.9	Elektronların geçiş düzeyleri	24
Şekil 2.10	UV Spektroskopinin spektrum ve kalibrasyon grafiği	28
Şekil 2.11	Sürekli değişim yöntemiyle elde edilen grafik	29
Şekil 2.12	Birinci dereceden bir reaksiyonda konsantrasyon – zaman grafiği	32
Şekil 2.13	[HA Cu(II)] ⁻ kompleks	38
Şekil 2.14	[HA Cu(II)O ₂] ⁻ kompleks	38
Şekil 3.1	Deney düzeneği	49
Şekil 3.2	Bis(Nc)-bakır(I) kelatı	51
Şekil 4.1	450 nm’de 5,67x10 ⁻⁴ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait spektrum ve absorpsiyon değerleri	59
Şekil 4.2	Aspartam yokluğunda, farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	74
Şekil 4.3	Aspartam (10 ⁻⁴ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	74
Şekil 4.4	Aspartam (5x10 ⁻⁴ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	75
Şekil 4.5	Aspartam (10 ⁻³ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	75
Şekil 4.6	Aspartam (2x10 ⁻³ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	76
Şekil 4.7	Aspartam (4x10 ⁻³ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	76
Şekil 4.8	Aspartam olmadan ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	77
Şekil 4.9	Aspartam (10 ⁻⁴ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	77
Şekil 4.10	Aspartam (5x10 ⁻⁴ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	78
Şekil 4.11	Aspartam (10 ⁻³ M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28)x10 ⁻⁷ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	78

Şekil 4.12	Aspartam (2×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	79
Şekil 4.13	Aspartam (4×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	79
Şekil 4.14	Aspartam yokluğunda ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6’da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	80
Şekil 4.15	Aspartam (10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6’da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	80
Şekil 4.16	Aspartam (5×10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6’da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	81
Şekil 4.17	Aspartam (10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6’da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	81
Şekil 4.18	Aspartam (2×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6’da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	82
Şekil 4.19	Aspartam (4×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6’da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	82
Şekil 4.20	Aspartam yokluğunda ve farklı Fe (III) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	83
Şekil 4.21	Aspartam (10^{-4} M) ve farklı Fe (III) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	83
Şekil 4.22	Aspartam (2×10^{-4} M) ve farklı Fe (III) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	84
Şekil 4.23	Farklı pH değerlerinde askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler	84
Şekil 4.24	Cu(II) ($1,57 \times 10^{-7}$ M) ve kola(A), [kola+aspartam(4×10^{-4} M)](B), [kola+aspartam(10^{-3} M)](C) varlığında, pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	85
Şekil 4.25	Cu(II) ($1,57 \times 10^{-7}$ M) ve kola(A), [kola+aspartam(4×10^{-4} M)](B), [kola+aspartam(10^{-3} M)](C) varlığında, pH 4,5’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	85
Şekil 4.26	Üç farklı pH (3,2, 4,5 ve 5,6) değerinde, 258 nm’de ölçülen absorbanlar ile Cu(II) veya aspartamın mol kesrine karşı çizilen, Job eğrileri	86
Şekil 4.27	Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) $\times 10^{-4}$ M APM], $k_d = \text{pH } 3,2$ ’de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	86
Şekil 4.28	Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) $\times 10^{-4}$ M APM], $k_d = \text{pH } 4,5$ ’de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	87

Şekil 4.29	Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) x 10 ⁻⁴ M APM], k _d = pH 5,6 'da bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	87
Şekil 4.30	Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Fe(III) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) x 10 ⁻⁴ M APM], k _d = pH 4,5 'de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	88
Şekil 4.31	Farklı pH değerlerindeki(3,2, 4,5, 5,6) askorbik asidin Cu(II)-katalizli oksidasyonu için [APM] ile spesifik hız sabitlerinin değişimi	88
Şekil 4.32	Asetat tamponlu çözeltilerde askorbik asit oksidasyonunda hız sabiti ile pH arasındaki grafik [A:0,785, B:1,57, C:3,14, D:4,71, E:6,28) x10 ⁻⁷ M Cu(II)].	89
Şekil 4.33	Asetat tamponlu aspartam (2x10 ⁻³ M)çözeltilerde askorbik asit oksidasyonunda hız sabiti ile pH arasındaki grafik [A:0,785, B:1,57, C:3,14, D:4,71, E:6,28) x10 ⁻⁷ M Cu(II)]	89

Çizelge 2.1	Türkiye’de bulunan ve sıklıkla kullanılan tatlandırıcılardan bir kaçının günlük olarak maksimum kullanım miktarları (kabul edilebilir günlük alımları/maksimum doz)18
Çizelge 2.2	Türkiye’de bulunan ve sıklıkla kullanılan tatlandırıcılardan bir kaçının günlük olarak maksimum kullanım miktarları (kabul edilebilir günlük alımları/vücut ağırlığı).....19
Çizelge 4.1	Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, pH 3,2’de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....60
Çizelge 4.2	Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, pH 4,5’de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....63
Çizelge 4.3	Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, pH 5,6’da $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....66
Çizelge 4.4	Farklı aspartam ve Fe(III) konsantrasyonları varlığında, pH 4,5’de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....69
Çizelge 4.5	Farklı pH değerlerinde $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....70
Çizelge 4.6	Askorbik asit- kola karışımı ve askorbik asit-kola- APM karışımı için $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) konsantrasyonu varlığında, pH 3,2’de askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....71
Çizelge 4.7	Askorbik asit- kola karışımı ve askorbik asit-kola- APM karışımı için $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) konsantrasyonu varlığında, pH 4,5’de askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri.....71
Çizelge 4.8	Job Metodu ile Cu(II)-aspartam kompleksinin pH 3,2, 4,5 ve 5,6’da spektrofotometrik incelenmesi.....72
Çizelge 4.9	Askorbik asidin değişik pH değerlerinde askorbik asidin Cu (II) - aspartam katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri.....73
Çizelge 4.10	Askorbik asidin pH 4,5’de Fe(III)-aspartam katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri.....73

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı büyük titizlik ile yöneten, her zaman ve her konuda bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. İnci SÖNMEZOĞLU ve Doç. Dr. Filiz İMER'e sonsuz minnet ve şükran duygularımı sunarım.

Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.

Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi laboratuvarında bana çalışma olanağı sağlayan ve Kimya Eğitimi Bölüm Başkanı Prof. Dr. Musa Şahin ve Yrd. Doç. Dr. Hasan Kılıç'a teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımın yürütülmesinde bana yol gösteren ve büyük yardımlarını gördüğüm İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim dalı başkanı Prof. Dr. Reşat APAK ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Her zaman ve her konuda bana yardımcı olan Araş. Gör. Fatih ÇAKAR'a teşekkür ederim.

Yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Kerim BEKER, Araş. Gör. Gülşah GÜMRÜKÇÜ ve Yrd. Doç. Dr. İbrahim ERDEN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen ve anlayış gösteren aileme, arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Doğal ya da katılmış C vitamini (Askorbik asit: AA) ve aspartam (APM) gibi sentetik tatlandırıcılar içeren ticari içeceklerde, meyve suyu ve nektarların antioksidan değerlerini korumak çok önemlidir. Cu(II) ve Fe(III) gibi serbest geçiş metal iyonları, askorbat ile redüklendiklerinde, tüketicilerde hücre hasarına sebep olan ve içeceklerin besin kalitesini etkileyen, hidroksi radikalleri üreten, Fenton tipi reaksiyonlar verebilir. APM varlığında AA'nın katalitik oksidasyonu, UV spektral bölgede APM'nin girişimi yüzünden, direkt UV spektrofotometresiyle takip edilemez; bu yüzden çözeltide kalan AA'nın spektrofotometrik tayini, bakır(II)-neocuproine reaktifi ile amonyum asetat tamponlu ortamda 450 nm'deki absorbansın kaydı üzerinden yapılmıştır. AA'nın 25 °C'de ve iyonik şiddet $I=0,1(KNO_3)$ 'de, havalandırılmış ve asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde, katalizsiz ve Cu(II) yada Fe(III) iyon katalizli oksidasyon kinetiği incelenmiştir. Çeşitli pH değerlerinde (3,2 – 5,6) bakır ve demir iyonlarının katalizör olarak kullanıldığı oksidasyonun hız eşitliği, AA'ya bağlı olarak birinci mertebeden bulundu. Verilen bir pH'de, AA oksidasyon hız sabitleri sabit Cu(II) için APM konsantrasyonunun artmasıyla azaldı ve sabit bir APM düzeyinde Cu(II) ya da Fe(III) konsantrasyonunun artmasıyla arttı. AA oksidasyon hızı üzerine aspartam ve bakır veya demir iyon konsantrasyonunun etkisi, monohidrojen askorbat ve metal iyon-aspartam kelat arasında üçlü bir geçiş kompleksini içeren bir mekanizma ile açıklanabilir. Cu(II) yada Fe(III) iyonları ile gözlenen reaksiyon hızları arasındaki farklar aspartamın, asetat tamponuna göre, daha kuvvetli metal-kompleks kabiliyetinden ileri gelir. Serbest sulu Cu^{2+} iyon ve zayıf Cu(II)-asetat kompleks, AA oksidasyonunu stabil Cu(II)-aspartam kompleksine göre daha iyi katalizler. Cu(II) kompleksinin kararlılığı arttırılırsa, elektron transferinin bir aracısı olarak, katalitik aktivitesi azalır. Bu bulgular daha önce ulaşılan sonuçları da desteklemektedir. APM içeceklerde tatlandırıcı olarak kullanılırsa metal katalizli oksidasyonu önleyerek AA değerlerini korumada yardımcı olur.

Anahtar kelimeler: Askorbik asit, katalizli oksidasyon, Cu(II), Fe(III), aspartam.

ABSTRACT

It is very important to preserve the antioxidant values of fruit juices and nectars in commercial beverages that may contain natural or added vitamin C (ascorbic acid: AA) and synthetic sweeteners like aspartame (APM). Free transition metal ions like Cu(II) and Fe(III), when reduced with ascorbate, may give Fenton-type reactions generating hydroxyl radicals that adversely affect the nutritional quality of beverages and cause tissue damage in consumers. Catalytic oxidation of AA in the presence of APM cannot be followed by direct UV spectrophotometry because of the interfering band of APM in the UV spectral region, and therefore, spectrophotometric determination of remaining ascorbic acid in solution was performed with the copper(II)-neocuproine reagent in ammonium acetate-buffered medium via recording of absorbance at 450 nm. The kinetics of uncatalyzed and either Cu(II)- or Fe(III) ion- catalyzed oxidation of AA in aerated and acetate buffered aspartame solutions was studied at 25 °C and ionic strength: I=0.1(KNO₃). The rate equation of oxidation in the presence of cupric and ferric ion as catalyst at various pH levels (3,2 – 5,6) was found to be first order with respect to AA. At a given pH, AA oxidation rate constants decreased with increasing APM concentration for a fixed Cu(II), and increased with increasing Cu(II) or Fe(III) concentration for a fixed APM level. The effects of aspartame and cupric or ferric ion concentration on the oxidation rate of AA suggest a mechanism which may involve the formation of a transition complex between monohydrogen ascorbate and metal ion- aspartame chelates in the form of a ternary complex. The differences in the reaction rates observed with Cu(II) or Fe(III) ions were due to the stronger metal-complexing ability of aspartame compared to that of the buffering acetate. Free aquated Cu²⁺ ion and the weak Cu(II)-acetate complex were shown to catalyze AA oxidation to a greater extent than the relatively stable Cu(II)-aspartame complex. This finding supports the previously reached conclusion that as the stability of a Cu(II) complex increases, its catalytic activity as a mediator of electron-transfer in AA oxidation decreases. Since APM is a widely used sweetener in beverages, it may help to protect their AA values by retarding metal-catalyzed oxidation.

Key words: Ascorbic acid, catalyzed oxidation, Cu(II), Fe(III), aspartame.

1. GİRİŞ

Aspartam (N-L- α -aspartil-L-fenilalanin 1- metil ester) L-fenilalanin ve L-aspartik asitten sentezlenen bir dipeptittir. Yiyecekler, hafif içecekler ve diet ürünlerinde çok kullanılan düşük kalorili bir tatlandırıcıdır (Fatibello-Filho vd.,1999). Tüketime hazır besinlerde aspartam (APM) düzeyi oldukça düşüktür (içeceklerde % 0,045–0,06). APM'nin tatlandırıcı gücü sukrozdan 200 daha kat fazladır (Wafwoyo vd., 1999).

C Vitamini (Askorbik Asit: AA) birçok biyokimyasal reaksiyona katılan, önemli bir suda çözünebilen antioksidan vitamindir (Martel, 1982). Bakır ve demir birçok yiyecek ve ilaçta bulunan önemli besinlerdir (Hsieh ve Hsieh, 2000). Askorbik asit birçok yiyeceğin doğal bileşenidir ve yiyecek ve içeceklere vitamin desteği ve antioksidan olarak eklenir. Birkaç çalışmada, sukroz yada aspartam içeren başka besin bileşenleri varlığında, sulu çözeltide askorbik asitin stabilitesi çalışılmıştır (Lawrence ve Yuan, 1996; Hsieh ve Haris,1987,1993; Birch ve Pepper, 1983). Bakır katalizli ve katalizsiz çözeltide askorbik asit oksidasyonuna aspartamın (%0,06–0,12) etkisi incelenmiş ve sukrozla karşılaştırma yapılmıştır (Hsieh ve Haris, 1991). Aspartam, kimyasal formülüne göre, biyolojik işlemlerde çok önemli metal iyonları için, karboksilat ve amino grupları vasıtasıyla ligand olarak davranabilir. Bakır-aspartam kompleksleri Aihara, Kholeif ve Çakır tarafından çalışılmıştır (Aihara vd., 1992; Kholeif ve Anderegg, 1997; Çakır vd., 2003). Sulu çözeltide, aspartam kinetik olarak, kimyasal bileşiminden beklenildiği gibi, L-aspartik asit ve L-fenilalanin gibi kompleks ajanları içeren değişik ürünlere yavaşça parçalanır (Prudel vd., 1986).

Cu(II) ve Fe(III) gibi az miktardaki geçiş metal iyonları askorbik asit otoksidasyonunda katalizör olarak görev yapar. Moleküler oksijen ile Cu (II) katalizli AA oksidasyonu, yiyecek ve ilaç endüstrisinde biyokimyasal öneminden dolayı, kapsamlı olarak çalışılmıştır (Khan ve Martell, 1967a;1967b; Ogata vd., 1968). Cu(II) komplekslerinin katalitik aktiviteleri, ligandın yapısı ve metal iyonunun koordinasyon geometrisine bağlıdır (Davies, 1992). Cu(II) ve Fe(III)'ün EDTA, CDTA, NTA, sitrat, asetat, tartarat, flalat, bishistidin ve glutatyon gibi ligandlarla kompleks oluşturması katalitik aktiviteyi değiştirir (Khan ve Martel, 1967a;1967b; Şahbaz ve Somer, 1993; İmer vd., 2003; Scarpa vd., 1996; Ohta vd., 2000). Khan ve Martell, AA oksidasyonunda bakır ve demir kelatının kararlılığının katalitik aktiflikle lineer olduğunu göstermiştir (Khan ve Martell, 1967b). Buna rağmen Hsieh ve Harris'in Cu(II) katalizli AA oksidasyonunda aspartamın rolü üzerine bulduğu sonuçlar bu kuralla çelişkilidir (Hsieh ve Haris, 1991). Böylece APM varlığında Cu (II) yada Fe(III) katalizli AA oksidasyonunu çalışmak önemli gözükmetedir. Üstelik bakır yada demir iyonları ve askorbatın bulunduğu

sistemi stabilize etme önemlidir. Askorbik asit, geçiş metal iyonlarının redoks döngüsü için potansiyel bir indirgeyici ajandır ve bu aktivite bazı oksidasyon sistemlerde lipid peroksidasyonunu yönetir (Tribble vd.,1995).

AA ilaçlarda, hafif içeceklerde ve meyve sularında direkt UV-Visible spektrofotometrik metotlarla tayin edilir (Lau O-W vd., 1986; 1987; Harel, 1994), fakat APM varlığında AA'nın katalitik oksidasyonu UV spektral bölgede APM'nin girişimi yüzünden direkt UV spektrofotometresiyle takip edilemez. Bu çalışmanın amacı, AA'nın katalizsiz ve Cu(II) yada Fe(III) katalizli oksidasyonuna aspartamın etkisinin, havalandırılmış ve asetat tamponlu zeltelerde, 25°C'de I=0,1 KNO₃'de, bakır(II)-neocuproine reaktifi ile spektrofotometrik (Güçlü, 2005) olarak incelemektir.

Çeşitli antioksidanlarda (flavonoid, E vitamini, ̢-karoten, ürik asit ve bilirubin içeren) AA miktarını bulmak için de, bakır(II)-neocuproine yöntemi değiştirilerek, toplam antioksidan kapasitesi, CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity), yöntemi ile saptanır (Apak vd., 2004,2005).

2. GENEL BÖLÜM

2.1 Askorbik Asit

2.1.1 Tarihçesi ve Özellikleri

Askorbik asit kimyasal olarak tanınmadan önce hastalıkla ilişkisi bilinmekteydi. Askorbik asit yetersizliğine bağlı skorbüt hastalığını, Hipokrates M.Ö. 450 yıllarında diş etlerinin kangreni, diş kaybı ve askerlerinin ayaklarında şiddetli ağrılar gibi belirtilerle tanımlamıştır. Daha sonra İskoçyalı bir doktor olan James Lind 1753'te skorbüte tutulan gemicileri limon suyuyla iyileştirdiğine dair deneme ve gözlemlerini yayınlamıştır (Baysal,1984).

Askorbik asit üzerinde ilk bilimsel araştırmalar 1907'de Holst ve Frolich tarafından yapılan deneylerle başlamış ve daha sonra araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddelerinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlardır. 1912 yılında C. Funk adlı bir kimyacı skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya koymuş ve bu maddeye “antiskorbutik vitamin” adını vermiş ve bundan sonra Drummond 1920'de antiskorbutik vitamin için “Vitamin C” adını kullanmıştır. Zilva ve çalışma arkadaşları (1918–1929), limondaki askorbik asidi izole ederek, bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini saptamışlardır. Zilva bu çalışmaları esnasında 2,6-diklorofenol-indofenolün, (2,6-DCPIP), C vitamini çözültüsü tarafından indirgenliğini bulmuştur (Othmer,1955).

Zilva çalışmalarını devam ettirirken 1928 yılında “Szent-Györgyi” adlı bir kimyacı askorbik asidi bitki ve hayvanların böbreküstü bezlerinden ayırmış, ancak 1932 yılına kadar devam ettirdiği bu çalışmalar esnasında bu maddenin antiskorbüt vitamin olduğunu anlayamamış ve daha sonra King yayınında bu maddeye heksuronik asit adını vermiştir.

Bundan sonra birçok bağımsız araştırmacı özellikle Tillmans, Vedder, Nelson, Harris ve Von Vragha vitaminin kimliğini saptamışlar ve glikozdan sentezini gerçekleştirmişlerdir (Othmer, 1955).

C vitaminin kimyasal yapısı Hawort ve arkadaşları tarafından 1933'te aydınlatılmıştır, aynı senede Hawort Richest Reichstein tarafından bu vitaminin sentezi yapılarak askorbik asit adı verilmiştir. C vitamini sentezi ve kortizonu buluşları üzerine 1950 yılında kendisine Nobel Tıp ödülü verilmiştir (Ersöz, 2002).

Maymun, kobay ve insan vücutlarında askorbik asit sentezlenemez. Fakat diğer cinsler, örneğin köpek, tavuk ve fare vücutlarında askorbik asit sentezleyebilirler.

Askorbik asit (Vitamin C)'e tarihsel gelişimi sırasında çeşitli isimler verilmiştir (The Merck Index, 1989).

Cevitamik asit

Antiskorbütik vitamin

Heksuronik asit

Skorbü-C

Redoxon

Diğer kimyasal isimleri;

L-askorbik asit

L-3-ketotreohexuronik asit lakton

3-okso-L-gulukofuranolakton (enol şeklinde)

2.1.2 Fizikokimyasal Özellikleri

2.1.2.1 Fiziksel Özellikleri ve Molekül Yapısı

Askorbik asit, çok hafif ve özel bir kokulu ve beyaz bir kimyasal maddedir. Ekşi tatta olup, asit reaksiyonu verir. 189-192⁰C 'de bozunmaya uğrar ve erir.

Askorbik asit molekülünde C-4 ve C-5'de iki asimetric karbon atomu bulunur. Optikçe aktiftir, polarize ışığı sağa çevirir. L-askorbik asit dışında üç tane daha stereoisomer vardır. Bunlar; D-askorbik asit, D-izoaskorbik asit, L-izoaskorbik asittir. Bu üç izomerin antiskorbütik aktiviteleri yoktur.

Çevirme açısı;

Sulu çözeltileri için $[\alpha]_{D}^{25} = +20,5^{\circ} - +21,5^{\circ} (c=1)$

Metanoldeki çözeltileri için $[\alpha]_{D}^{23} = +48^{\circ} (c=1)$ (The Merck Index, 1989)

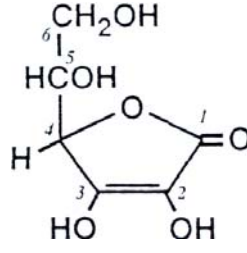
Sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir. Bir gram askorbik asit 3mL suda, 30 mL alkolde, 50 mL mutlak alkolde ve 100 mL gliserinde çözünür. Eter, kloroform, benzen, petrol eteri, yağlar ve yağ çözücülerinde çözünmez.

Askorbik asit bir monosakkarit türevi olup yapıca glikoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzer. Kapalı formül $C_6H_8O_6$ şeklinde olup;

% 40,91 Karbon (C)

% 4,48 Hidrojen (H)

% 54,5 Oksijen (O) içerir.



Şekil 2.1 Askorbik asidin molekül şekli

Şekil 2.1’de molekül şekli gösterilen L-askorbik asit 5 üyeli heterosiklik halka içinde bir endiol grubu bulunan dibazik asittir. Bu yapı asit-baz davranışı sergiler ve ilk olarak 3. hidroksil grubu iyonlaşır. Askorbik asit, konjüge olmuş karbonil ve endiol sistemi üzerinden π elektronlarının delokalizasyonu ile stabilleşir (Davies, 1992).

Lakton halkası genellikle planar kabul edilir. Askorbik asidin kimyasal ve fiziksel özellikleri bu yapıya bağlıdır. Askorbik asidin oksidasyon ürünü olan dehidroaskorbik asit x-ışını analizi ile dimer olarak belirlenmiştir. Elektrokimyasal incelemeler askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin bir redoks çift oluşturduğunu göstermiştir (Packer ve Fuchs, 1997).

2.1.2.2 Kimyasal Özellikleri

L(+) askorbik asit oldukça kuvvetli bir asittir, %1 derişimdeki çözeltisinin pH’ı 2,8, %10’luk çözeltisinin ki yaklaşık 2’dir. Asit niteliği 3. karbondaki enol hidroksilinden ileri gelir.

L(+) askorbik asit karbonat ve bikarbonatlardan karbondioksidi açığa çıkarır, birçok metal katyonları, örneğin sodyum ve kalsiyum iyonları ile nötral, suda çözünen kristalsi monometal tuzları verir ve bu tuzlarda da lakton halkası bozulmamıştır (Keskin,1987).

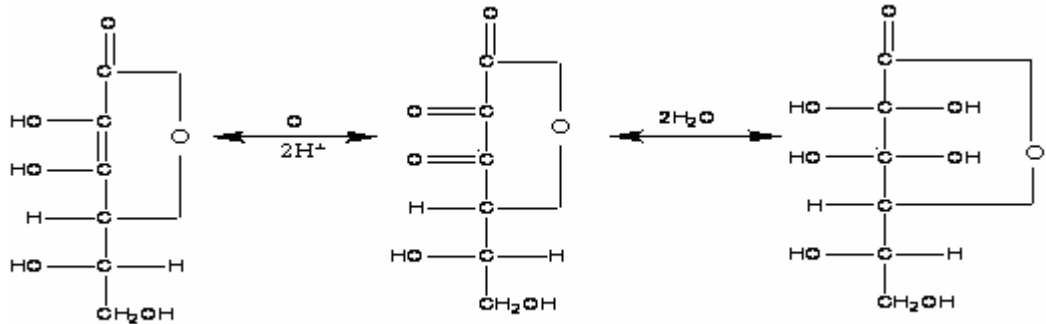
	Kapalı formülü	Molekül ağırlığı
Askorbik asit	$C_6H_8O_6$	176,13 g.mol ⁻¹
Sodyum tuzu	$C_6H_7O_6Na$	198,10 g.mol ⁻¹
Kalsiyum tuzu	$C_{12}H_{14}CaO_{12}.2H_2O$	426,35 g.mol ⁻¹

Sodyum askorbat, $C_6H_7O_6Na$ ve kalsiyum askorbat, $(C_6H_7O_6)_2Ca$, askorbik asit gibi terapitik amaçla kullanılmaktadır. Askorbik asidin diğere önemli bir türevi ise askorbil palmitat, $C_{22}H_{38}O_7$, askorbik asidin 6. karbon atomundaki hidroksil grubunun palmitik asitle esterleşmesi sonucu oluşur. Bu da diğere tuzlarda olduğu gibi askorbik asit yetmezliği durumunda kullanılır.

Askorbik asit güçlü bir indirgendir ve reversibl olarak dehidroaskorbik aside oksitlenir. Biyolojik sistemlerin yükseltgenme–indirgenme reaksiyonlarında da etkilidir. Askorbik asit ile dehidroaskorbik asidin her ikisi de antiskorbutik aktiviteye ve vitaminin diğer fizyolojik etkilerine de sahiptir. Askorbik asidin aerobik oksidasyon hızı pH'ye bağlıdır, pH 5 ila 11,5 arasında maksimum hız gösterir. Alkali çözeltilerde reaksiyon daha hızlı olup, bozunmada daha da etkindir. Anaerobik koşullarda ise bozunma yavaştır. Aerobik veya anaerobik koşullardaki askorbik asidin sulu çözeltisinin, ultraviyole, x veya γ -radyasyon ışınlarına maruz kalması fotokimyasal oksidasyonuna sebep olur (Seib ve Tolbert, 1989; Packer ve Fuchs, 1997).

Sulu çözeltide bulunan askorbik asidin dehidroaskorbik aside oksidasyonu iki elektronlu bir redoks reaksiyonudur. Askorbik asit birinci H^+ iyonunu kaybettiğinde kısmen zayıf asittir, ($pK_1= 4,25$) ve ikinci H^+ iyonunu kaybettiğinde çok zayıf asittir ($pK_2= 11,79$). Bir elektronun verilmesiyle oluşan ara ürün, mineral asitlerle karşılaştırıldığında kuvvetli bir asittir. ($pK_a= -0,45$) Askorbat radikalinin UV spektrumu, pH'ı $-0,3$ ile 11 aralığında ölçüldüğünde bu aralıkta tek ürün olduğu ve bu ürünün çiftleşmemiş elektron yoğunluğunun üç nolü karbonil grubu üzerine yayıldığı belirtilmiştir (Packer ve Fuchs, 1997).

11,2 mg askorbik asit 1,0 mg O_2 ile yükseltgenebilir. Eser miktarda ortamda varolan ağır metaller, askorbik asidin oksidasyonunda katalizör olarak etkili olmaktadır. Askorbik asidin bozunması pH'ye bağlıdır ve maksimum bozunma pH 4'te gerçekleşir. Aynı zamanda bozunma buzlu ortamda, sulu ortama göre daha fazladır (Ottaway, 1993).



L(+)-Askorbik asit

Dehidroaskorbik asit

Hidratlanmış askorbik asit
2,3-dikso-L-gulonik asit

Şekil 2.2 Askorbik asit-dehidroaskorbik asit redoks reaksiyonu

2. ve 3. karbon atomlarındaki endiol grupları oksidasyona uğrar, 2 H atomunu vererek diketo haline dönüşüp dehidroaskorbik aside yükseltgenir ve dehidroaskorbik asit de askorbik aside

indirgenabilir. Buna göre dehidroaskorbik asit ile askorbik asit bir redoks sistemi oluşturur. Dehidroaskorbik asit kolayca askorbik aside çevrildiğinden C vitamini gibi etki eder. Dehidroaskorbik asit alkali çözeltilerde dayanıksız olup lakton halkasının açılmasıyla hidrolize uğrar ve biyolojik olarak etkisiz olan 2,3-diokso-L-gulonik asit oluşur. Vücutta bu tekrar laktona dönüştürülemez, parçalanmasıyla oksalik asit meydana gelir.

Askorbik asidin oksijenle reaksiyonu katalizör yokken yavaştır ve hızı pH'ye bağlıdır. Asidik çözeltilerde yavaş, alkali çözeltilerde daha hızlıdır. Askorbat, sulu çözeltide pH 6,6–9,6 aralığında oksijenle reaksiyona girdiğinde, askorbat radikalinin kararlı hal konsantrasyonu olduğu elektron spin çalışmalarıyla gösterilmiştir. Bazı enzimlerle reaksiyonun inhibe edilmesi bilgilerinden, hidrojen peroksit olduğu belirtilmiştir (Packer ve Fuchs, 1997).

Metal iyonları, askorbik asidin dehidroaskorbik aside veya dehidroaskorbik asidin 2,3-diketogulonik aside ve diğer oksidasyon ürünlerine oksidasyonunu artırır. Burada Cu(II) iyonu çok etkilidir. Askorbik asidin Cu(II) iyonu ile oksidasyonundan oluşan bir ara kompleks spektrofotometrik olarak kanıtlanmıştır. Reaksiyon için askorbik asit, bakır ve oksijen arasında üçlü bir kompleks içeren bir mekanizma önerilmiştir. Askorbik asidin oksidasyon hızı; askorbik aside, moleküler oksijene ve metal iyonuna göre birinci derecedendir. Askorbik asidin geçiş metali ve kompleksleriyle birinci oksidasyon adımı, askorbat radikalini oluşturur. Bu askorbat serbest radikali, diğer metal iyonuyla gerekli stokiometrik karakteri vermek için reaksiyona girebilir. Oksidasyon esnasında geçiş metal iyonu da hızla kendi kendine indirgenir (Packer ve Fuchs, 1997).

Askorbik asidin enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu birçok bozunma ürünü oluşmasına sebep olur. Askorbik asidin bozunma hızı; askorbik asit konsantrasyonu, sıcaklık, pH, ışık ve metal iyonları varlığına bağlıdır. Askorbik asidin sulu çözeltisi ısıtıldığı zaman oluşan başlıca ürünler; dehidroaskorbik asit, 2,3-diketogulonik asit, threonik asit ve oksalik asittir (Packer ve Fuchs, 1997).

Askorbik asit, metal iyonları ve metal kompleksler tarafından oksitlenir ve metal iyonları indirgenir (Seib ve Tolbert, 1989). Örneğin; Cu(II), Cu(I)'e; Fe (III), Fe(II)'e indirgenir. Cr(VI) askorbik asitle; Cr(V), Cr(IV) ve karbona dayanan radikal ürünler verir.

Askorbik asit 2- ve 3- hidroksil gruplarının iki oksijen atomları koordinasyonu ile kompleksler oluşturabilir.

Askorbik asit indirgenebilen birçok metal iyonları ile, örneğin Cu(II) ve Fe(III) gibi, kompleksler oluşturur. Metal ve askorbik asit molekülleri arasındaki bağlar, benzer kelat ligandlarıyla karşılaştırıldığında, beklenilenden daha zayıftır.

Bazı askorbik asit komplekslerinin kristalleri tamamen anaerobik koşullarda elde edilmiş, fakat bu komplekslerin yapıları tam olarak bilinmemektedir.

AA'nın ultraviyole absorpsiyonu pH ve çözücüye bağlıdır. Kuvvetli asit çözeltide askorbik asit, UV ışıkta yaklaşık 245 nm.'de ($\epsilon = 11000$) absorpsiyon gösterir. Bu değer nötral çözeltide 265 nm'ye ($\epsilon = 17000$) kayar ve pH = 14'te yaklaşık 300 nm'dir (Fung ve Luk, 1985).

AA, metanolde 244 nm, etanolde 245 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir.

AA'nın IR spektrumunda (KBr disk ile) 3510, 3405, 3306 cm^{-1} alt bandı; 1755, 1670 cm^{-1} 'de C = O; 110,1025 cm^{-1} 'de C – O – C bandları görülür.

AA'nın oksidoredüksiyon potansiyeli; pH = 5 'te $E_0 = 0,127$ voltur (The Merck Index, 1989).

2.1.3 Farmakolojik Etkisi

Besinlerdeki askorbik asit vücuda alındıktan birkaç saat sonra ince bağırsaktan kana emilir. 100 mg ve daha az vitamin alındığında bunun %80-90'ının emildiği belirtilmiştir. Kandaki düzeyi kısa süre içinde artar, kan dolaşımı ile dokulara taşınır ve fazlası idrar ile dışarı atılır. Gereğinden fazla alınan askorbik asidin fazlası monosakkaritlerde olduğu gibi karbondioksit ve suya okside olur (Baysal, 1984).

Lökositlerin askorbik asit içeriğinin ölçülmesi, bu vitamin eksikliğinin teşhisi ve izlenmesi için test yöntemi olarak kullanılır. Kanda %0,01 kadar askorbik asit bulunur. Fazlasının toksik etkisi yoktur, ancak gastroentestinal sistem şikayetleri olanlarda mide ekşimesi ve benzeri sakıncaları olabilir. C vitamininin büyük bir kısmı askorbik asit şeklinde ve az bir kısmı da oksalata çevrilerek vücuttan atılır. Daha az kısmı ise dehidroaskorbik asit şeklindedir. İhtiyaç fazlası C vitamini alındığında böbreklerden oksalat şeklinde atılırken Ca-oksalat tuzlarının teşekkülüne yol açabilir. Ayrıca bu vitaminin fazla alınması bazı ilaçların ve B₁₂ vitamininin absorpsiyonunu bozabilir (Kayaalp, 1989).

Askorbik asidin vücutta bazı biyokimyasal işlevleri vardır. Askorbik asidin işlevleri olduğu düşünülen bazı reaksiyonlar aşağıda sıralanmıştır (Ottaway, 1993).

- Hidrojen / elektron transferi – redoks sistemi olarak

- Kollajen sentezinde pirolin ve lizinin hidroksilasyonu
- Karnitin biyosentezi
- L-tirosin ve katekolamin oluşumu metabolizması
- İmmünolojik ve antibakteriyel aktivite
- Demir metabolizması, özellikle demir absorpsiyonu
- Prostaglandin sentezinin modifikasyonu
- Histamin birikiminin önlenmesi
- Serbest radikal zararına karşı koruma

Askorbik asidin bağ dokularından olan kollajen sentezinde görev aldığı bulunmuştur. Askorbik asit eksikliğinde, hücreler arasında kollajen iplikçiklerinin kaybolması, kanamalar ve kemik hasarı ile kendini gösteren skorbüt hastalığı görülür. Yaraların iyileşmesi gecikir, hastalıklara karşı direnç kırılır. Anemi gelişebilir. Skorbüt tedavi edilmediği takdirde ölüme kadar gidebilir (Baysal,1984).

Askorbik asidin kan damarlarının kuvvetlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Vitamin yetersizliğinde kan damarlarının gücü azalmakta ve hafif darbelerde kanamalar görülmektedir.

Enfeksiyonlar vücut doku ve sıvılarındaki askorbik asit miktarını azaltmaktadır. Enfeksiyonlarda beyaz kan hücrelerinde askorbik asit düzeyi düştüğünde bağışıklığın zayıfladığı sanılmaktadır. Normal askorbik asit gereksiniminin karşılanması ile dokulardaki miktarın yeterli düzeyde tutulabildiği rapor edilmiştir. Şiddetli enfeksiyon ve bakteri zehirlenmelerinde askorbik asit miktarının artırılması gerektiği düşünülmektedir (Pauling, 1971).

Askorbik asidin steroid hormonlarının sentezinde de görev aldığı bildirilmiştir. Askorbik asit yetersizliğinde, adrenal bez büyüme göstermektedir. Askorbik asidin epinefrin ile yara ve iltihaplanmaya karşı etkinlik gösteren steroidlerin sentezinde rolü olduğu bildirilmiştir (Baysal, 1984).

Askorbik asit diğer bazı besin öğelerinin vücutta kullanılması için de yardımcıdır. Demir, kalsiyum, B vitaminlerinden tiamin, riboflavin, folik asit, pantotenik asit, A ve E vitaminlerinin vücutta daha elverişli olarak kullanılmalarında etkili olduğu rapor edilmiştir. Bunun yanında askorbik asit alımının, bağırsaklarda asitliği artırarak, B₁₂ vitamininin

emilimini azalttığı da bildirilmiştir. Folik asidin, etkin şekli olan, tetrahidrofolik aside dönüşümü askorbik asidin yardımı ile olmaktadır (Baysal, 1984).

Birleşmiş Milletler, FAO ve WHO teşkilatlarının ortak komisyonunun günlük C vitamini miktar olarak tavsiyeleri şöyledir:

- 12 yaşından küçükler 20 mg
- 12 yaş ve daha büyükler 30 mg
- Hamile kadınlar 50 mg
- Emziren kadınlar 50 mg

2.1.4 Doğadaki Besinlerde C Vitamini Oluşumu ve Kararlılığı

Askorbik asidin ilk olarak yiyecekte kullanılması önce bira için olmuştur, daha sonra ette koruyucu olarak kullanılmıştır. 1950'li yılların sonlarına yaklaşırken ekmek üretimi için kullanılan unlarda, hafif içkilerde ve şaraplarda kullanılmıştır. Ayrıca, özellikle meşrubatlarda antioksidan özelliğinden yararlanarak koruyucu olarak kullanılmıştır.

Besinlerde L-askorbik asit kolayca dehidro-L-askorbik aside yükseltgenir ve bu iki yapı besinlerde muhtemelen denge halinde bulunur. Taze gıdalarda indirgenmiş hali daha fazladır, fakat pişirme, işleme ve depolama dehidro şeklinin oranını artırır. C vitamini doğada yaygın olarak bulunur. Sebzelerde, meyvelerde ve hayvanların karaciğer ve böbrek gibi organlarında önemli miktarlarda meydana gelir. Sütte ve diğer et çeşitlerinde çok az miktarda bulunur. Bitkiler, L-askorbik asidi karbonhidratlardan hızlı bir şekilde sentezlerler. Bitkilerde C vitamini miktarı, bitkinin cinsine, olgunluğuna, yetiştiği yere, iklime, depolama ve taşıma koşullarına bağlı olarak değişir. Bol sulu meyveler önemli C vitamini kaynağı olup, en çok frenk üzümü, portakal, limon ve çilekte, bundan sonra diğer tüm meyvelerde bulunursa da elma, ananas, muz, kiraz ve erikte az bulunur. Karpuz C vitaminince fakirdir (Ottaway, 1993).

Askorbik asit yaygın olarak alkolsüz içeceklerde, meyve suyunda, özellikle turunçgil sularında, üretim sırasında meydana gelen kayıpları gidermek için kullanılır.

Yiyecek endüstrisinde kullanılan toplam C vitamininin yaklaşık yarısı sentetik olarak üretilmektedir. Bunun yanında karşılaştırılamayacak kadar küçük olarak vitamin olarak da kullanılır. Yiyeceklerin işlenmesi ya da pişirilmesi sırasında C vitamini kaybı oldukça önemlidir. Sebze ve meyvelerin pişirilmesinden sonra veya sıcak olarak saklanması sırasında da büyük C vitamini kayıpları görülmüştür.

Sebzelerin işlenmesi sırasındaki C vitamini kayıpları uygulanan fiziksel işlemlere, oksijen etkisi altında kalan ürünün yüzey alanına bağlıdır.

2.1.5 Antioksidan Özelliği

Besin bileşenlerinin bir grubu olan vitaminler bekletildikleri zaman kantitatif olarak bozunmaya başlar. Vitamin içeriğindeki azalma aşağıda belirtilen çeşitli faktörlerden etkilenir.

1. Sıcaklık
2. Nem
3. Oksijen
4. Işık
5. pH
6. Oksitleyici ve redükleyici maddeler
7. Metal iyonları ile birlikte bulunması (örneğin demir, bakır)
8. Diğer vitaminlerle birlikteliği
9. Kükürt dioksit gibi diğer besin bileşenleri

Bu faktörlerden ilk dördü en önemlileridir.

Kayıplar, özellikle ısısal işlemler sırasında oluşabilmektedir. Vitaminlerin bozunmasını etkileyen faktörler ya vitaminlerin doğada oluşumu sırasında, ya da besinlere ilave edilen sentetik kaynaklardan meydana gelmektedir.

Vitaminler, besin maddelerinin üretim, depolama ve hazırlanması sırasında çok sayıda fiziksel ve kimyasal etkenlere maruz kalırlar.

C vitamininin dış etkenlere karşı duyarlılığı şöyledir; (Ottaway, 1993)

Isı	Oksijen	Işık	pH		
Kararsız	Kararsız	Kararsız	<7	7	>7
			Kararlı	Kararsız	Kararsız

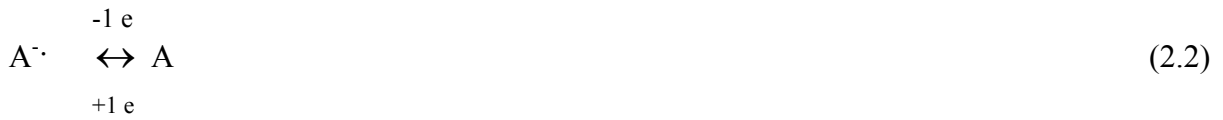
Askorbik asidin özelliklerinden birisi ve en önemlisi de antioksidan olmasıdır. Antioksidan madde aktivasyon enerjisini kabul eder, fakat bu enerjiyi başka moleküllere aktarmazlar. Bu

şekilde bir antioksidan molekülünün araya girmesiyle otokside olabilen maddenin birçok molekülleri yükseltgenmekten kurtulurlar, yani yükseltgenme yavaşlamış olur.

Antioksidanlar yağların otoksidasyonunu yavaşlatan maddelerdir. Antioksidanların kendileri de genellikle yükseltgenebilen maddeler olup, zincirleme reaksiyonu kopartarak bozunurlar. Onun için antioksidanlar yalnız sınırlı bir zaman için yükseltgenebilen maddeyi bu olaydan koruyabilir ve tüm antioksidan molekülleri kaybolunca madde de hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder.

Antioksidanların etki mekanizması hakkında bu zincirleme reaksiyon teorisinden başka “seçimli yükseltgenme” teorisi vardır. Buna göre katılan maddeler, korumak istediği maddeden önce oksijeni tutarak onu bundan koruyabilir.

Askorbik asit ayrıca redoks özelliği olan bir maddedir.



Askorbat indirgen bir reaktif iken onun serbest radikali reaksiyona girmez, askorbik asit ve dehidroaskorbik aside dönüşür.



Askorbik asidin serbest radikallere karşı biyolojik koruma özelliği, radikallerle reaksiyona girmesi ve kendisinin oluşturduğu radikalin kararlı oluşundan kaynaklanmaktadır. Askorbik asit radikallerle çok hızlı bir şekilde reaksiyona girerek kendisi kararlı bir radikal oluşturur ve oluşan radikaller kendi ile reaksiyona girerler. Daha önceki çalışmalar göstermiştir ki, askorbat serbest radikali redoks tepkimeleri sonucunda tek üründür. Çalışmalar sonucunda

askorbatın iyi bir redüktan olduğu ve onun serbest radikallerinin çok kararlı olduğu ve aynı zamanda toksik olmadığı anlaşılmıştır. Bu özelliği de antioksidan olmasını sağlamıştır.

Vitamin C antioksidan fonksiyonu nedeni ile bazı hormonların (adrenalin) oksidatif olarak bozunmalarına engel olur. Vücuttaki kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan veya dışarıdan sigara, alkol veya kirli hava vs. ile alınan zararlı maddeleri (serbest radikalleri) nötralize eder (etkisiz hale getirir). Besinlerin üretimindeki değişik ve yapay işlemler nedeniyle de vücuda serbest radikal alımı artmakta ve bunların reaksiyonu sonucu oluşan toksik (zehirli ve zararlı) maddeler vücutta birikir hale gelmektedir. Vücudumuzda biriken toksinleri atmak ve onların zararlı etkilerinden kurtulmak için antioksidan besinlerin alımını arttırmak gerekir. Böylece serbest radikallerin meydana getirdiği hücre tahribatı engellenmiş olur.

Serbest radikaller vücuttaki hücrelere saldırır ve tahrip eder. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşur ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar.

Serbest radikaller, hücre duvarındaki yağlardan birine saldırdığında yağ molekülleri değişime uğrar. Hücre zarının yapısı ve fonksiyonları zarara uğrar, hücre zarı gıdaların, oksijenin ve suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz, harcanan ürünlerin atılmasını düzenleyemez.

Serbest radikallerin dokulardaki zararının, damar sertliği ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni olduğu düşünülmektedir.

Serbest radikaller aynı zamanda hücrelerin genetik kodunu içinde taşıyan, hücrenin üretimini ve büyümesini sağlayan DNA'ya da etki eder. Hücrelerin genetik kodu değiştiğinde ölebilirler. Çünkü ona hücreden gelen mesajı uzun süreli olarak okuyamazlar. Aşırı hücre bölünmesine ve kansere sebep olabilirler.

Askorbik asit kanseri önlemek için kullanıldığı gibi bu hastalığa yakalanmış hastalar için de tavsiye edilmektedir. 1930'lu yıllarda askorbik asidin bulunması ile bir çok klinik çalışmalar ve deneyler kanserle arasındaki bağlantıyı kurmuştur. Askorbik asidin kanser tedavisinde alım miktarı için birçok tartışmalar olmuştur.

Kanser ve günlük terapiler ciddi biyokimyasal zararlar, kanserli vücuttaki askorbik asidi yok etmektedir. Kemoterapi esnasında hasta birçok toksik maddelerle karşı karşıyadır. Kanser hastası olan kişilerde günlük 4 g askorbik asidin olumlu etkisi görülmüştür.

1969 yılında, akciğer kanserine sebep olan sigara ve diğer etkenlerin günlük olarak alınan 1,5 g askorbik asit sayesinde önlenemediği ileri sürülmüştür.

Askorbik asitin, korunmuş etlerde ve bazı içme sularında bulunan, kansere sebep olan N-nitrozo bileşiklerinin oluşumunu önlediği bulunmuştur.

Ayrıca kesildikten sonra hava etkisine bırakılan meyve ve sebzelerin normal renklerini bir süre için korumaları bu vitaminin antioksidan etkisinden ileri gelmektedir. C vitamininin bu özelliğinden faydalanılarak birçok maddenin bozunması önlenmiştir (Ersöz, 2002).

2.1.6 Tanınma ve Miktar Tayini Yöntemleri

C vitamini basit ve karmaşık şekillerde prensip olarak aynı yöntemlerle tanınır. Belirlemede oksidoredüksiyon yöntemi veya karakteristik renklendirilmiş türevlerden yararlanır. Kimyasal reaksiyonlar bütün endiol gruplarını kapsadığından askorbik aside özgü olmayıp çoğunlukla karbonil endiollerinin analizinde de uygulanır.

Askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin yiyeceklerdeki ve biyolojik maddelerdeki tayininde avantajları-dezavantajları olan, değişik konsantrasyon düzeylerinde uygulanan, birçok yöntemi bulunmaktadır.

Askorbik asit içeren meyve sularının, sebzelerin, hayvansal ürünlerin çok kullanılması nedeni ile değişik analitik teknikler askorbik asit tayini için geliştirilmiştir. Bunlar; titrasyon, spektrofotometri (renkli reaktif ilave edilmiş veya edilmemiş), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC), çeşitli elektroanalitik teknikler, enzimatik yöntemler ve birkaç tekniğin bir arada kullanıldığı yöntemlerdir (Fung ve Luk, 1985).

Yöntemler dehidroaskorbik asit, hidroaskorbik asit ya da toplam askorbik asit miktarlarının ölçümlerine dayanmaktadır. Analitik tayin yöntemleri vitaminin oksidasyon – redüksiyon özelliğine dayanmaktadır. Burada ya askorbik asidin kendisi ya da askorbik asidin yükseltgenmiş şekli olan dehidroaskorbik asit miktarı saptanır.

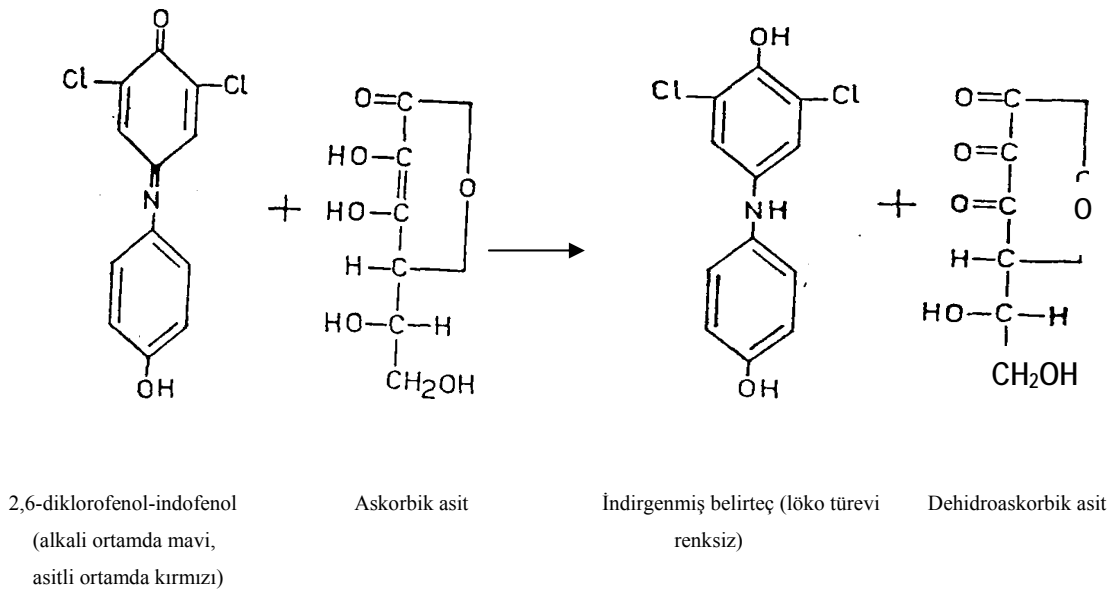
Askorbik asit tayini için düzenlenmiş kimyasal yöntemlerden biri titrasyondur. Titrasyon için kullanılan çeşitli reaktifler bulunmaktadır. Oksidometrik titrasyon da, en çok uygulanan indirgenme özelliğine dayanan 2,6-diklorofenol-indofenol çözeltisidir. Diğeri, 2,4 dinitrofenilhidrazin ile kolorimetrik yöntemdir. Bu kolorimetrik yöntemde, askorbik asit dehidroaskorbik aside oksitlendikten sonra, dehidroaskorbik asit 2,4-dinitrofenilhidrazin ile bir hidrazon türevi oluşturur. Bu türev daha sonra, kolorimetrik olarak ölçülür. Diğeri, 2,2 – dipiridil kolorimetrik yöntemdir. Bu yöntemin temeli, AA'nın Fe(III)'ü, Fe(II)'e indirgemesidir. Burada, Fe(II) ürünleri, 2,2' dipiridil ile bir kompleks oluşturur ve bu kompleks kolorimetrik olarak ölçülür (Packer ve Fuchs, 1997).

Besinlerde ve meyve sularında ilk kez tayini 2,6-diklorofenol-indofenol ile titrimetrik olarak yapılmıştır. Yöntemin ilkesi, bir redoks indikatörü olan 2,6-DCPIP'nin indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Malclver, 1998). 2,6-DCPIP nötral ve alkali çözeltide mavi, asit çözeltide kırmızı, indirgenmiş şekli renksizdir. Askorbik asit, ayarlanmış bir 2,6-DCPIP çözeltisi ile asitli ortamda doğrudan doğruya titre edilir. Bu boyar madde aynı zamanda belirteç görevi görür. Bu reaksiyon sırasında 2,6-DCPIP, renksiz löko türevine indirgenir; askorbik asit de dehidroaskorbik aside dönüşür. Bitiş noktasında indirgenmemiş boyar madde fazlası asitli çözeltide gül pembe renk verir.

Yöntem bugün için standart analiz yöntemi olmakla beraber bazı güçlüklerle karşılaşılır. Bu güçlükler, renkli örneklerdeki indikatör renginin dönüm noktasında kolay tespit edilememesi ve bazı örneklerde tayini etkileyen başka yükseltgen maddelerin bulunmasıdır. Ancak bu gibi durumlarda gerekli önlemler alınabilmektedir.

Ayrıca, 2,6-DCPIP'nin askorbik asitle verdiği pembe renkli kompleksin görünür bölgede, 520-540 nm'deki, absorbansının kolorimetrik ölçümünden yararlanılarak miktar tayini yapılmaktadır.

2,6-DCPIP'nin askorbik asit ile reaksiyonu aşağıda görülmektedir (Haddad, 1977).



Şekil 2.3 Askorbik asidin 2,6-diklorofenol-indofenol ile reaksiyonu

Askorbik asidin titrimetrik tayininde kullanılan diğer bir reaktif olan N-bromosüksinimid ile titrasyonu sırasında askorbik asit, dehidroaskorbik aside yükseltgenir; yöntem NBS'in fazlasının, ortamda bulunan potasyum iyodürden açığa çıkan iyodun nişasta ile mavi renk vermesine dayanır (Haddad, 1977).

Florimetrik yöntem askorbik asidin floresans kompleks oluşumuyla tayinine dayanan spesifik bir yöntemdir. Askorbik asit kompleksinin floresansı spektroflorimetrik olarak ölçülür (Packer ve Fuchs, 1997).

Toplam C vitamini yani askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin birlikte belirlenmesi için geliştirilmiş standart analiz yöntemine göre (Malclver, 1998), önce askorbik asit uygun bir oksidasyon reaktifi ile dehidroaskorbik aside (DHAA) dönüştürülür. Bu yöntem, o-fenilendiaminin DHAA'daki cis hidroksil gruplarıyla birleşerek floresan kinoksalin türevi oluşturmasına dayanır. Örnekler metafosforik-asetik asit çözeltisiyle ekstrakte edilir, aktif kömür (NORİT) kullanılır ve askorbik asit dehidroaskorbik aside yükseltgenir, daha sonra o-fenilendiamin katılarak renkli çözeltilerinin florimetrik ölçümü yapılır. Aynı anda aynı şekilde hazırlanan standartlarla karşılaştırılarak C vitamini miktarı belirlenir.

Elektroanalitik tekniklerden polarografik yöntem askorbik asit tayininde kullanılmaktadır. Askorbik asit, asidik ortamda ($\text{pH} = 2,5 - 6,0$) yarıdalga potansiyel aralığı $+170$ ile $+20$ mV arasında değişen sitrat tamponunda iyi tanımlanan anodik akım verir. Bu anodik akımın dalga yüksekliğinden konsantrasyonu bulunur (Şahbaz ve Somer, 1992). Kolorimetric ve titrimetric yöntemlere göre, polarografide örnek hazırlama oldukça basit olup, hazırlama ve ölçüm esnasında vitaminin oksidasyonu önlenmiş olur ve birkaç mL örnek yeterlidir. Spektrofotometrik ölçümlerdeki istenmeyen etkiler gösteren renkli ve özellikle suspense olmuş maddelerden etkilenmez.

2,6-DCPIP ile titrasyondaki renk değişimleri renkli çözeltilerde ve hızlı otomatik titrasyonlarda kullanılamaz. Böyle durumlarda standart kalomel elektrod ve platin elektrod kullanılarak 2,6-DCPIP çözeltisiyle potansiyometrik otomatik titrasyon yararlıdır. Önce bir baseline potansiyeli (en düşük mV) tayin edilir. DCPIP çözeltisi 30 s aralıklarla katılarak mV değerleriyle çizilen potansiyometrik eğrinin dönüm noktasından bulunan mL sarfiyattan askorbik asit miktarı bulunur (Spaeth vd., 1962).

Askorbik asit ayrıca ince tabaka kromatografisi (TLC) ile ayrıldıktan sonra, tabakaların renklendirilmesi ve bunu takiben renkli lekelerin elüe edildikten sonra kolorimetric olarak kantitatif tayinleri yapılabildiği gibi, doğrudan tabakadaki lekelerin intensitelerinin densitometre ile okunarak da tayinleri yapılabilmektedir (Stahl, 1969).

UV, elektrokimyasal ve florimetrik dedektörlere ilâveten kütle spektrometresi de kullanılır. Kütle spektrometresi kullanılarak reaksiyon türevi kinetiğinden yararlanarak dehidroaskorbik asit ölçülür. Diğer kütle spektrometre metodu ise, izotop oran tekniğidir. Bu metotta, bilinen

bir miktardaki C¹³ örneğe ilâve edilir ve örnekteki askorbik asit miktarı hesaplanır, bu sonuç ve ilâve edilen C¹³ miktarı karşılaştırılır (Packer ve Fuchs, 1997).

Gelişen analiz yöntemleri ve enstrümental analizin yaygın olarak uygulanmaya başlamasıyla günümüzde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC) gibi modern cihazlarla bu vitaminin kalitatif ve kantitatif analizi yapılabilmektedir. Biyolojik sıvı ve dokuların asit içeriğini ölçmek için elektrokimyasal dedektör uygundur. Bu askorbik asit oksidasyon ve redüksiyon özelliğine dayanarak geliştirilmiştir. Kromatografik sistemlerin çoğu askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin olduğu kadar bunların izomer ve türevlerinin de simultane ölçülmesi için dizayn edilmiştir. Dehidroaskorbik asit önce bir indirgeme reaktifi ile askorbik aside indirgenir. Kromatografik ayırma ve elektrokimyasal dedektörlerin seçicilik ve duyarlılığı nedeniyle bu yöntem UV dedektöründen daha büyük seçicilik ve duyarlılık sağlar. UV dedektör, farmasotik preparatlarda askorbik asit tayini için kullanılabilir (Packer ve Fuchs, 1997).

Nelson 1973'te askorbik asidi diğer gıda katkı maddelerinden HPLC ile ayırmayı başarmıştır. Bu yöntemle pek çok çalışma yayınlanmıştır. Yayınlanan bazı çalışmalarda sadece askorbik asit belirlenirken, bazılarında ise askorbik asit ve dehidroaskorbik asit birlikte belirlenebilmektedir. Askorbik asidin güçlü bir UV absorbans bandı iyi bir duyarlılıkla kolayca belirlenebilir, ancak dehidroaskorbik asidin çok zayıf bir UV absorbans bandı olması nedeniyle HPLC uygulanmadan önce askorbik aside indirgenmesi daha uygundur (Ottaway, 1993).

Kromatografik yöntem pahalı araç-gereç gerektirmekte ve kullanılan kişi tarafından büyük dikkat istemektedir. Küçük endüstri laboratuvarlarında günde birkaç tane analiz yapıldığı için tercih edilmemektedir.

Spektrofotometrik yöntem ise, aletsel bir metot olarak endüstri laboratuvarlarında askorbik asidin tayini için tercih edilmektedir. Çeşitli renk veren reaktifler kullanılmaktadır. Bunlar, amonyum molibdat, 2,4 – dinitrofenil – hidrazin, ortofenilendiamin ferrozin. Ortamda başka renkli madde mevcutsa girişim yapabilir ve oluşabilecek girişimleri bertaraf etmek için bir ön işlem gerekebilir. Direkt UV spektrofotometresi askorbik asit tayini için basit ve hızlı bir yöntemdir (Lau vd., 1987).

Aspartam varlığında askorbik asidi tayin etmek için, direkt UV spektrofotometresinden yararlanılamaz. Bir Cu(II)-2,9 dimetil-1,10 fenantrolin(Nc) reaktifi ile amonyum asetatlı ortamda pH 7'de oluşan bis (Nc) - bakır(I) kelatinin absorbansı 450 nm'de ölçülerek askorbik

asidin oksidasyonu izlenebilir. Hemen oluşan bu kelat ve AA için görünür molar absorptivite $1,60 \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak bulunmuş ve $8,0 \times 10^{-6}$ ve $8,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyon aralığında Beer kanununa uyduğu saptanmıştır (Güçlü, 2005).

2.2 Yapay Tatlandırıcılar

Doğal tatlandırıcı molekülleri benzerlerinin, laboratuvarlarda yapay olarak sentezlenmesi ile elde edilen maddelerdir. Yapay tatlandırıcılar lezzet ve tat düzelten, geliştiren gıda maddelerindedir. Kalorice fakir gıda ürünlerinin hazırlanmasında tat verici olarak kullanılırlar. Özellikle şeker hastalarının kullandığı ve rejim programlarında uygulanan yiyecek ve içeceklerde sakkarozun yerine kullanılırlar.

Yapay tatlandırıcıların satışına önceleri sadece eczanelerde izin verilmiştir. Son yıllarda “hafifletilmiş” ve “light” diye adlandırılan besinlerin hazırlanmasında kullanmaya başlanmıştır. Yapay tatlandırıcı olarak yaygın olarak kullanılan en eski madde sakkarindir. Daha sonra ise siklamatlar kullanılmaya başlanmıştır. Araştırmalar sonucunda bu maddelerin kansorejen olduğu bulunmuştur. Bu nedenle bu maddelerin kullanımına ancak özel izinle ve belirli miktarlarda izin verilmiştir ve yeni bir madde arayışı başlamıştır (Alperdem, 1979).

Günümüzde diyabet ve şişmanlık gibi enerji alımının kısıtlanması gereken durumlarda kullanılan çeşitli tatlandırıcılar vardır.

1. Besin değeri olan, enerji içeren tatlandırıcılar: Sukroz, glikoz, fruktoz, mısır şurubu, maltoz, maltodekstrin, dekstroz, bal, şeker alkoller (sorbitol, mannitol, ksilitol, maltitol, eritritol, laktitol, isomalt), diğer şeker alkollerinden hidrojene edilmiş nişasta hidrolizatı.

2. Besin değeri olmayan, enerji içermeyen tatlandırıcılar: Sakkarin, aspartam, asesulfam potasyum (asesulfam-K), siklamat, alitam, sukraloz.

Çizelge 2.1 Türkiye’de bulunan ve sıklıkla kullanılan tatlandırıcılardan bir kaçının günlük olarak maksimum kullanım miktarları (kabul edilebilir günlük alımları/ maksimum doz)

Tatlandırıcının Türü	Maksimum Doz (mg / kg / gün)
Sakkarin	2,5
Aspartam	40
Asesulfam-K	15
Siklamat	11

Çizelge 2.2 Türkiye’de bulunan ve sıklıkla kullanılan tatlandırıcılardan bir kaçının günlük olarak maksimum kullanım miktarları (kabul edilebilir günlük alımları/vücut ağırlığı)

Tatlandırıcının Adı	Her 1 kg vücut ağırlığı için tüketilebilecek tablet sayısı
Sanpa, Nutra-Tat, Aspartil (yalnızca aspartam içerenler)	2 tablet/kg
Canderel ve Diyet Tat (yalnızca aspartam içerenler)	2.22 tablet/kg
Sakkarin 20 (yalnızca sakkarin)	0.125 tablet/kg
Dulcaryl ¼ doz (sakkarin ve siklamat içeren)	0.352 tablet/kg
Tadalın (sakkarin ve siklamat içeren)	0.275 tablet/kg

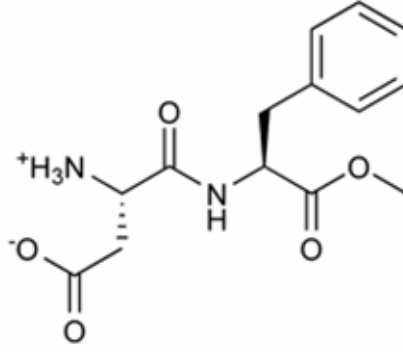
2.2.1 Aspartam

Uzun bir süre önce sentez edilmesine rağmen aspartamın tat verici özelliği 1965 yılında Schlatter tarafından tesadüfen anlaşılmıştır. 1971 yılında Gıda ve İlaç Birliğine (Food and Drug Administration-FDA) güvenilirliği konusunda yeterli verilerle başvuruda bulunulmuştur. FDA tarafından kuru gıdalarda 1981’de, karbonatlı alkolsüz içeceklerde 1983’de kullanılabilmesi için onay verilmiştir. FDA’ya göre günlük müsaade edilen alım miktarı (Acceptable Daily Intake- ADI) 50 mg/kg (vücut ağırlığı)’dır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ise ADI değerini 40 mg/kg (vücut ağırlığı) olarak sınırlandırmıştır. Minimum letal doz (LD₅₀) kemiricilerde >5000 mg/kg olarak bildirilmiştir. Dipeptitler üzerine yapılan sistematik çalışmalar sonucunda, bu madde sınıfında çok sayıda tat verici madde olduğu bulunmuştur (Enders vd., 1982).

Bir dipeptit olan aspartam, meşrubatlarda ve çeşitli yiyeceklerde düşük kalorili yapay tatlandırıcı olarak kullanılması uygun görülen bir yapay tatlandırıcıdır ve başta ABD ve diğer birçok ülkede düşük kalorili meşrubat ve çeşitli yiyeceklerde sakkarin ve siklamat yerine kısmen aspartam kullanılmaktadır.

2.2.1.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Aspartam, L-aspartik asit ve L-fenilalanin olmak üzere iki aminoasitten oluşmuş bir aspartilfenilalanin metil esteridir, fenilalanin (ağırlığın %50’si), aspartat (ağırlığın %40’ı) ve metanol (ağırlığının %10’u)’den meydana gelmiştir.



Şekil 2.4 Aspartamın molekül şekli

Kimyasal formül: $C_{14}H_{18}N_2O_5$

Molekül ağırlığı: 294,30 g/mol

Erime noktası: 246 – 247 °C

Bağıl Tatlılık: Aspartamın tat özelliği iyi olarak tanımlanır. Birçok durumda siklamattan ve her zaman sakkarinden daha iyidir. Beyaz ve kokusuz kristal toz şeklindeki APM, tatlı lezzetiyle bugün dünyada yaygın kullanılan ticari bir sentetik tatlandırıcıdır. Sukrozdan 180–200 kez daha tatlı olması ve aynı tatlılığı kalori içeriğinin sadece %5'i ile sağlaması aspartamı daha üstün ve popüler hale getirmiştir. Hazır besinlerde aspartam oranı oldukça düşük (% 0,045–0,06)tür ve sonradan fark edilen istenmeyen tat (acı, metalik) taşımaz.

Çözünürlük ve stabilite: Aspartamın sudaki çözünürlüğü, sıcaklığa ve pH değerine bağlıdır. pH 5,2 sudaki çözünürlüğünün en az olduğu noktadır. Bu değer yaklaşık 1 g/100 ml'dir. Oda sıcaklığında ve pH 7'de çözünürlük yaklaşık %1'dir. Aspartamın relatif zayıf çözünürlüğü molekülün kısmi hidrofobik yapısından kaynaklanmaktadır. Bu hidrofobik kısım fenilalanin halkasının katkısıyla ortaya çıkar ve aspartamın tatlandırıcılık özelliği için gereklidir. pH değerinin düşmesiyle çözünürlük artar. pH 2,2'de maksimum değere (%1,8) ulaşır. Artan sıcaklık ile de çözünürlük artar. Pek çok organik çözücüde aspartamın çözünürlüğü sudakinden daha azdır. Kristalize halde tamamen dayanıklı olan aspartam, sulu ortamda zaman, sıcaklık ve pH değerine bağlı olarak çözünür. Uzun süre pişirme sırasında tatlılığını kaybeder. Nispeten dayanıklı sayılan APM, sıcaklık yükselmesi, pH aşırılıkları ve/veya nem miktarına bağlı olarak 2 farklı izomeri olan α ve β APM ile siklo-APM ve metanole bozunur. Siklo-APM ise, aspartamın diketopiperazini olarak anılır. Aspartamın bozunması basit birinci mertebe kinetiği izler ve bozunma ürünleri tatlı değildir. Sulu çözeltilerinde aspartam, ortam bazikse, 3,6-diokso–5-metil–2-piperazinatik asite dönüşür. Ortam asidik ise, L-fenilalanin–1-metilester, L-aspartik asit ve L-fenilalanin maddelerine ve yapı izomeri β -APM'ye dönüşür (Menexia vd., 1991). Sulu çözeltilerin en stabil olduğu pH değeri yaklaşık 4,3'tür Aspartamın

stabilitesi pH 4–5 aralığında sitrat-fosfat tampon çözeltilerde en yüksektir, pH'nin artırılıp yada azaltılmasıyla kararlılık azalır. Aspartamın optimum kararlılığı fosfat tamponlu ortamda pH 4–5 aralığında sağlanır. Yapay bir şurup kullanılarak yapılan çalışmada aspartamın en stabil olduğu aralık pH 4-5'dir, daha asidik ve nötral durumlarda aspartamın stabilitesi azalmaktadır (Bell ve Labuza, 1991).

Hidroliz olmaya çok yatkın olduğundan dolayı sulu gıdalarda zamanla tat değeri kaybolacağından, aspartamın kullanıldığı yiyecek ve içeceklerin kısıtlı raf ömrü vardır.

2.2.1.2 Farmokolojik Etkisi

Aspartam insan vücudunda diğer dipeptitler gibi metabolize edilir. Genelde kullanılan dozlarda aminoasit dengesizlikleri ortaya çıkmaz ve oluşan az miktardaki metanol kütlesinin zararlı etkileri yoktur, fakat fenilketonüri hastaları için aspartam kullanımı uygun değildir.

Klinik çalışmalar aspartamın fazla miktarda kullanımının baş ağrısı, migren ve hafıza kaybı gibi sağlık problemlerine neden olduğunu gösterir. Biyolojik sistemlerde bulunması gereken ve yiyeceklerde bulunan metal iyonları (Cu, Ni, Zn,) için aspartam amino ve karboksilat gruplarıyla bir ligand olarak görev yapar.

Şeker hastalarının kullandığı birçok diabetik yiyecek ve içeceklerde aspartamın kullanımı uygundur. Bu maddeler günümüzde birçok diyet programlarında kullanılmaktadır, ama bu maddelerin günlük kullanım miktarlarının kısıtlı olduğunu unutmamak gerekir.

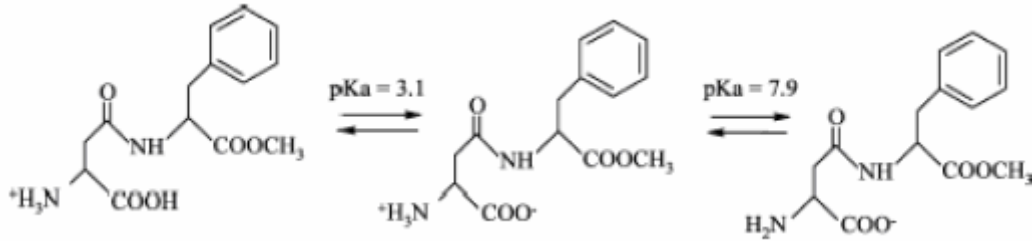
Aspartam absorpsiyonu sırasında amid ve ester hidrolizini takiben hızla ve tamamen içerdiği aminoasitlere (aspartik asit ve fenilalanin) ve metanole metabolize olur. Ya bağırsakta fenilalanin, aspartat ve metanole hidrolize olur, bu bileşikler buradan absorblanır, ya da alternatif olarak peptid transport mekanizmasıyla mukoza hücrelerinde doğrudan absorblanır. Tek doz aspartam çalışmalarında aspartamın biriktiğini gösteren bir kanıt bulunamamıştır, hızlı bir metabolizması vardır.

2.2.1.3 Miktar Tayini

Aspartam miktar tayini için yapılan çalışmalarda en çok HPLC yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca görünür alan spektrofotometrik ve ince tabaka kromatografik yöntemlerle de çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. USP XXII(1990)'da aspartam miktar tayini için titrimetrik yöntem verilmektedir. Bu yöntemde göre aspartam miktarı, perklorat asidin susuz asetik asitteki 0,1 N çözeltisiyle susuz ortamda violet TS indikatörü kullanılarak tayin edilmektedir.

2.2.1.4 Aspartamın asit-baz özellikleri

Aspartam, kimyasal formülünden anlaşılacağı gibi (Şekil 2.5), biyolojik işlemlerde çok önemli metal iyonları için, karboksilat ve amino grupları vasıtasıyla ligand olarak davranabilir.



Şekil 2.5 Aspartamın moleküler yapısı ve pK_a değerleri

Çözeltide bir amino asit molekülü üzerinde net yükün sıfır olduğu pH değeri izoelektrik nokta (pI) olarak adlandırılır.

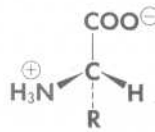
$$pI = (pK_{a1} + pK_{a2}) / 2 \quad (2.6)$$

$$\text{Aspartam için } pK_{a1} = 3,1 \text{ ve } pK_{a2} = 7,9 \quad (2.7)$$

$$\text{Aspartam için } pI = 5,5 \quad (2.8)$$

Bir standart amino asit, kendisi için karakteristik olan izoelektrik nokta değerine eşit pH ortamında net elektrik yükü taşımaz. Bu nedenle bir elektrik alanında hareketsiz kalır.

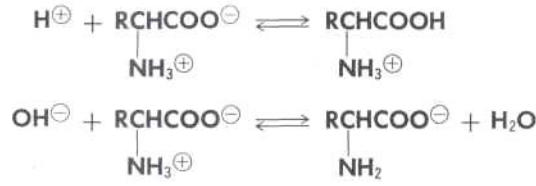
Aminositlerde karboksilik asit ve amin fonksiyonel grupları bulunur. Bunlardan biri asidik, diğeri baziktir. Biri amino grup ve bir karbonil gruplu aminoasitlerde dipolar (iki kutuplu) iyon yapısı daha iyi görülür.



Şekil 2.6 Bir aminoasidin dipolar yapısı

Amino grup bir amonyum grubu, karboksil grubu da bir karboksilat iyonu olarak gösterilir. Bunlar relatif olarak organik çözücülerde düşük çözünürlüklere sahiptir. Görüleceği gibi dipolar yapı çeşitli pH değerlerinde aminoasitlerin elektriksel özellikleri ile de mevcuttur.

Aminoasitler amfoteriktir. Bir asit gibi davranır ve kuvvetli bir baza bir proton verir yada baz gibi davranır ve bir asitten bir proton alır. Bu davranışlar bir amino ve bir karboksil gruplu bir aminoasit için aşağıdaki denklemle ifade edilir.



Şekil 2.7 Amino asitlerin asit-baz davranışları

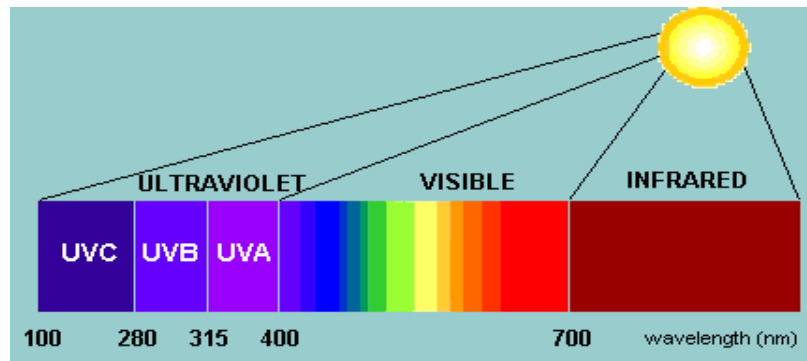
2.3 Mor Ötesi (Ultraviyole) Spektroskopisi

Elektromagnetik spektrumdaki ışınların madde ile etkileşmesinin incelenmesine spektroskopi denir. Elektromagnetik ışınla madde arasındaki farklı etkileşmelere dayanılarak geliştirilen spektroskopilerden bazılarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

Kızılötesi spektroskopisi (IR), Mor ötesi ve Görünür bölge spektroskopisi (UV-VIS), Raman spektroskopisi (RS), Mössbauer spektroskopisi (MS), nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (NMR), elektron spin rezonans spektroskopisi (ESR),...

Spektroskopinin temelleri 1665–1666 yıllarında ışığı bir prizmadan geçirerek kırmızıdan mora doğru yedi renge ayıran Newton tarafından atılmıştır. (Şekil 2.8) Einsteın ışınların birer kütsüz parçacık olan fotonlar şeklinde yayıldığı ileri sürmüştür. Isıtılarak yada ışınlanarak yani fotonlarla bombardıman edilerek uyarılan bir maddenin yaydığı ışınların analiz edilmesinden **yayma (emission)** spektrumu, madde üzerine sürekli gönderilen ışınlardan maddeyi geçebilenlerin analiz edilmesinden ise **soğurma (absorption)** spektrumu elde edilmektedir. Buna göre bir maddenin yayma spektrumundaki beyaz görünen çizgiler soğurma spektrumunda siyah görünür.

Mor ötesi ışınla, dalga boyu 10–400 nm olan ışınla ve elektromagnetik spektrumda x-ışınları ile görünür bölge arasında bulunur. 10–200 nm bölgesinde uzak mor ötesi, 200–400 nm mor ötesi veya yakın mor ötesi, 400–800 nm bölgesi görünür bölgedir. Mor ötesi ve görünür bölge spektroskopisi elektronik spektroskopi olarak adlandırılır.

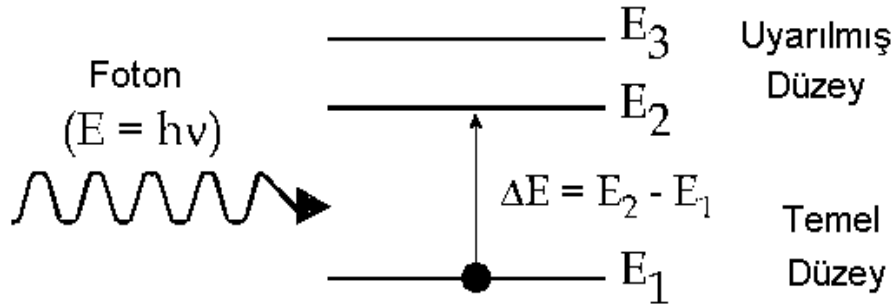


Şekil 2.8 Elektromagnetik spektrum

Bütün organik bileşikler mor ötesi ışınmasını soğururlar, bununla beraber bir kısmı çok kısa dalga boylarında ışınma yaptıklarından sadece 200 nm'den yukarı soğurma yapan organik bileşiklerin mor ötesi analizinin pratik değeri vardır.

Elektronik spektroskopi, organik molekülde konjugasyonun derecesi ve aromatiklik hakkında bilgi verir. Mor ötesi analizi ile konjuge dienler, izole dienlerden ayrıldığı gibi çift bağların sayısı da bulunabilir. α,β - konjuge karbonil bileşikleri, α,γ - konjuge karbonil bileşiklerinden ayrılabilir. Çok halkalı bileşiklerde aromatik konjugasyonun derecesi de yine mor ötesi analizlerle anlaşılabilir.

Mor ötesi spektroskopisinden elde edilen bilgi, organik yapı hakkında kırmızı ötesi ve NMR spektroskopisinden elde edilen bilgi kadar belirtici ve güvenilir olmakla beraber tamamlayıcıdır.



Şekil 2.9 Elektronların geçiş düzeyleri

Bir molekül tarafından mor ötesi ışınmanın soğurulması, elektronik uyarıya yol açar ve bir elektron düşük enerjili bir elektronik düzeyden (E_1) daha yüksek enerjili bir düzeye (E_2) geçer. En olası uyarı, yani temel düzeyden uyarılmış düzeye geçiş, basitçe en düşük enerjili boş bir molekül yörüngesinden en yüksek enerji dolu bir molekül yörüngesine geçişe karşılık gelir. Fakat her bir elektronik düzeye titreşme düzeyleri ve her bir titreşme düzeyine dönme düzeyleri karşılık geldiğinden, elektronik uyarıya dönme ve titreşim uyarılarına da yol açar ve sonuçta ince bir mor ötesi soğurma çizgisi yerine geniş bir mor ötesi soğurma bandı elde edilir.

Soğurma bandının yeri, özellikle soğurmanın en yüksek değerine karşılık gelen dalga boyu ve soğurmanın şiddeti, soğurmaya yol açan elektronik geçişin türü hakkında bilgi verir.

Ultraviyole spektroskopisinden çeşitli yönlerden yararlanır. Bunlar başlıca şunlardır:

- Kalitatif analizde
- Kantitatif analizde

- Titrasyonda
- Molekül ağırlığı tayininde
- Yük aktarma kompleksi teşekkülünde
- Asit ve bazlık sabitleri tayininde
- Kompleks stokiyometrisinin ve sabitinin bulunmasında

Spektrofotometrik ve fotometrik yöntemlerin önemli özellikleri şu hususları içerir:

- Hem organik, hem de inorganik sistemlere yaygın uygulanabilirlik
- 10^{-4} M'dan 10^{-5} M'a kadar değişen tipik duyarlılık değerleri
- Orta derecede seçicilik
- İyi bir doğruluk
- Veri toplama kolaylığı ve elverişliliği

Mor ötesi spektrometresinde ışın kaynağı olarak mor ötesi veya görünür bölge için sırasıyla hidrojen veya döteryum lambası (185–390 nm) ve tungsten lambası (350–800 nm) kullanılır. Monokromatör olarak bir prizma veya kırınım ızgarası kullanılır. Görünür bölge için cam prizma yeterlidir, fakat mor ötesi için kuvars (silika) gereklidir. Doğal kuvars 210 nm'nin altında soğurgan olduğu halde, bunun yerine kullanılan saf sentetik erimiş kuvars 185 nm'nin altında soğurgandır. Mor ötesi bölgede dedektör olarak fotoelektrik tüp veya fotoçoğaltıcı tüp kullanılır. Birincisinde, havası boşaltılmış bir kabın kuvars penceresinden giren mor ötesi ışın toprak alkali metal oksit ile kaplanmış bir katot üzerine düşer ve fırlayan elektronlar anot olarak kullanılan bir metal tele akarak bir elektrik akımı oluştururlar (fotoelektrik olay), ikincisinde ise akımın şiddeti arttırılır.

2.3.1 Lambert-Beer Yasası

İki temel absorpsiyon kanunu vardır.

Lambert Kanunu: Bu kanun ilk defa 1729'da Bouger tarafından ortaya atılmış olmasına karşın, 1768'de onu yeniden ifade eden Lambert'in adıyla anılmaktadır. Bu kanuna göre bir çözeltiden geçen monokromatik bir ışık demetinin şiddeti, ışının çözelti içinde aldığı yola bağlı olarak logaritmik, üstel veya geometrik olarak azalır.

Logaritmik olarak,

$$I = I_0 \cdot e^{-b \cdot l} \quad \text{veya} \quad (2.9)$$

$$I = I_0 \cdot 10^{-a \cdot l} \quad \left(a = \frac{b}{2,303} \right) \quad (2.10)$$

şeklinde gösterilir.

I_0 = Gelen ışın demetinin şiddeti

I = Çözeltiyi terkeden ışının şiddeti

l = Çözeltinin konduğu hücrenin kalınlığı

a = Çözeltiden geçen ışık demetinin dalga boyuna bağlı bir sabit

Beer Kanunu: Beer'a göre (1852) aynı derinlikte yada aynı kalınlıkta bir çözeltiden geçen ve çözelti tarafından absorplanan monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözeltinin konsantrasyonuyla logaritmik, üstel veya geometrik olarak azalır.

Logaritmik olarak,

$$I = I_0 \cdot e^{-b \cdot c} \quad \text{veya} \quad (2.11)$$

$$I = I_0 \cdot 10^{-a \cdot c} \quad \left(a = \frac{b}{2,303} \right) \quad (2.12)$$

şeklinde gösterilir.

I_0 = Gelen ışın demetinin şiddeti

I = Çözeltiyi terkeden ışının şiddeti

a = Çözeltinin türüne ve monokromatik ışının dalga boyuna bağlı bir sabit

c = Çözeltinin konsantrasyonu

Çözeltiyi terkeden ışının şiddetini biri konsantrasyon, diğeri ışının çözelti içinde katettiği yola bağlayan bu iki kanun birleştirilerek Lambert-Beer olarak adlandırılan şu temel bağıntı elde edilir.

$$I = I_0 \cdot 10^{-a \cdot l \cdot c} \quad (2.13)$$

I_0 = Gelen ışın demetinin şiddeti

I = Çözeltiyi terkeden ışının şiddeti

l = Çözeltinin konduğu hücrenin kalınlığı

a = Çözeltinin absorptivitesi

c= Konsantrasyon

Eşitlik düzenlenip eksi logaritması alınırsa,

$$\log \frac{I_0}{I} = a.l.c = A \quad (2.14)$$

eşitliği elde edilir.

A= Absorbans

(2.14) eşitliğinden anlaşılacağı gibi a sabiti, çözelti konsantrasyonu ve hücre kalınlığının birimine göre değişir. Konsantrasyon molarite, hücre kalınlığı cm olarak alındığında a yerine ϵ kullanılır ve bu **molar absorpsiyon katsayısı** veya **molar absorbtivite** olarak adlandırılır. Birimi de $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 'dir.

$$A = \epsilon.l.c \quad (2.15)$$

ϵ çözültideki maddenin bir özelliği, a ise herhangi bir örneğin özelliğidir. Dolayısıyla absorbans örneğin konsantrasyonu ve ölçümün yapıldığı kabın ışın yoluyla değişir, ϵ ise belli bir dalga boyunda örnekteki belirli bir madde için konsantrasyon ve ölçüm yapılan kabın ışın yoluna bağlı olmaksızın sabittir.

Optik yöntemlerde kullanılan diğer bir kavram transmitans (geçirgenlik)tır. Bir ışın demetinin çözültiden geçen kısmının, çözücüden geçen kısmına oranına denir ve T ile gösterilir.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2.16)$$

Dolayısıyla absorbans ile transmitans arasında,

$$\log T = \log \frac{I}{I_0} = -\log \frac{I_0}{I} \quad (2.17)$$

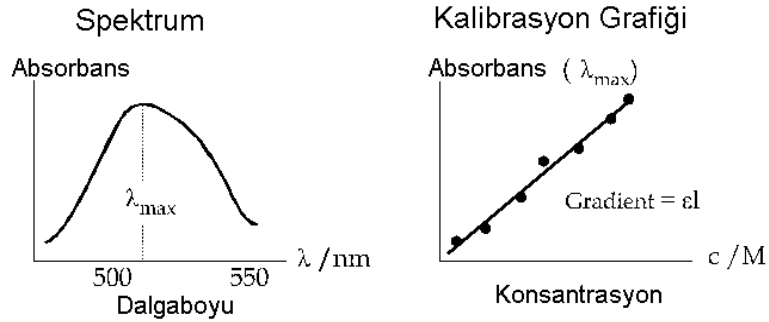
$$A = -\log T \quad (2.18)$$

bağıntısı vardır.

Lambert – Beer yasası, pek çok madde için geniş bir derişim aralığında geçerlidir. Mor ötesi spektroskopisi ile kantitatif analiz yaparken, derişimi bilinmeyen maddenin şüpheli derişim aralığında hazırlanan, derişimi bilinen çözülteleri için çizilen Absorbans – Konsantrasyon (çalışma veya kalibrasyon) eğrisi dar bir derişim aralığında genellikle doğrusaldır (Erdik, 1993; Skoog vd., 1998).

Nicel ölçümler Lambert-Beer yasası ile absorptans x konsantrasyon kalibrasyon grafiğinin kullanımını içerdiğinden doğrusal bir grafik elde edilmelidir.

ϵ maddeden maddeye değiştiği gibi aynı bir madde için dalga boyuyla da değişir. Bu nedenle ϵ absorpsiyonun en yüksek olduğu dalga boyunda (λ_{\max}) hesaplanır. En yüksek tepe noktası molar absorptivitenin en yüksek olduğu değeri gösterir ve dolayısıyla bu değer de analizin duyarlılığının bir göstergesidir. (Şekil 2.10)



Şekil 2.10 UV Spektroskopinin spektrum ve kalibrasyon grafiği

2.4 Komplekslerin Spektrofotometrik İncelenmesi

Spektrofotometrik ölçümlerle, ışığı absorplayan bir geçiş metali iyonu kompleksindeki, metal iyonu/ ligand oranı, yani kompleksin stokiyometrisi belirlenebilir. Kompleks stokiyometrisini bulmak için başlıca üç yöntem uygulanır. Bunlar;

- Mol oranı yöntemi
- Eğim yöntemi
- Job veya devamlı değişimler yöntemi

2.4.1 Job veya Devamlı Değişimler Yöntemi

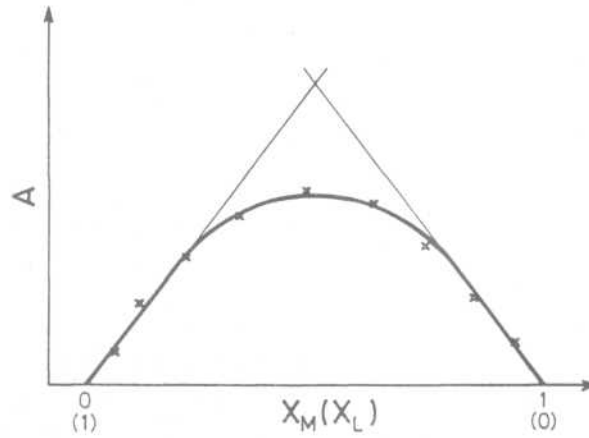
M (metal iyonu) ve L (Ligand)'den meydana gelen bileşik için iyi bir çözücü ve iyi bir absorpsiyon maksimumu bulunabilirse, bu ML_n kompleksinin molar bileşim oranı saptanabilir. Yöntem, Job tarafından geliştirildiğinden çoğu kez Job yöntemi adını alır. Bunun için L ve M'den meydana gelen maddenin bir spektrumu alınır ve bu spektrumun en şiddetli absorpsiyonunun λ dalga boyu tesbit edilir. Cihaz bu dalga boyuna ayarlanır. M ve L'nin aynı konsantrasyonda birer çözeltilisi hazırlanır ve şu çözeltilerin absorptansları ölçülür.

10 mL M + 0 mL L

9 mL M + 1 mL L

8 mL M + 2 mL L

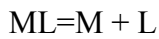
7 mL M + 3 mL L
 6 mL M + 4 mL L
 5 mL M + 5 mL L
 4 mL M + 6 mL L
 3 mL M + 7 mL L
 2 mL M + 8 mL L
 1 mL M + 9 mL L
 0 mL M + 10 mL L



Şekil 2.11 Sürekli değişim yöntemiyle elde edilen grafik

Bu absorbans değerleri, metal iyonunun veya ligandın mol kesrine, X , karşı grafiğe geçirilir. Elde edilen eğrilerin yükselen ve alçalan kısımlarının uzatılmasıyla oluşturulan iki doğru parçası kesiştirilir. Kesim noktasına karşı gelen mol kesirlerinin oranı, X_M/X_L , kompleksin formülünde bulunan metal iyonu / ligand oranını verir. Bu değer 0,5 ise ML , 0,33 ise ML_2 , 0,25 ise ML_3 , 0,20 ise ML_4 kompleksi söz konusudur.

Elde edilen grafikte, özellikle stokiyometrik orana yakın olan yerlerde gözlenen doğrusallıktan sapmalar,



kompleks dengesinde, bir miktar kompleksin bozunmasından ve ışığı absorplamayan M ve L türlerinin oluşmasından meydana gelmektedir.

Bu tip çalışmalardan iyi sonuç alabilmek için kompleksin Beer kanununa uyması gerekir.

Eğrinin tepe noktasının yuvarlaklığı kompleksin dissosiyasyon olmasını, sivri olmasıysa kompleksin dayanıklılığını gösterir. İdeal halde eğri bir üçgendir.

Asetat tamponlu aspartam çözeltilerde askorbik asidin Cu(II) katalizli oksidasyonunu incelerken, ortamdaki bakırın asetat ve aspartam ligandları ile kompleks oluşturup oluşturmayacağı göz önünde tutulmalıdır.

Çalışılan Cu(II) iyon ve tampon (asetat) konsantrasyon aralığı için, serbest Cu(II) iyonlarının toplam Cu(II) iyonlarına oranının 1/1,22 olduğu Cu-asetat sisteminde serbest Cu(II) konsantrasyonu önemli olabilir. Aspartam sisteminde, kararlı kompleks oluşumunun aşırı olduğu(en az 100 kez fazla) çözeltilerde, serbest Cu(II) konsantrasyonu önemsiz seviyededir. Farklı aspartam konsantrasyonlarındaki Cu(II)-aspartam sistemlerde, serbest Cu(II) konsantrasyonu aşağıdaki hesaplamalara göre ihmal edilebilir ki burada aspartam ligandı Cu(II) ile stabil bir kompleks oluşturmaktadır (Bakır-asetat ve bakır-aspartam komplekslerinin oluşum yüzdeleri EK:1’de topluca verilmiştir).

$$\text{Aspartam için: } \text{Log } \beta_1 = 6,097, \text{ Log } \beta_2 = 10,84 \quad (2.19)$$

$$[M]_t = [M] + [ML] + [ML_2] + \dots + [ML_n] \quad (2.20)$$

$$[L]_t = [L] + [ML] + 2 [ML_2] + 3 [ML_3] + \dots \quad (2.21)$$

$$[M]_t = [M] + \beta_1 [M] [L] + \beta_2 [M] [L]^2 \quad (2.22)$$

$$[M]_t = [M] \{ 1 + \beta_1 [L] + \beta_2 [L]^2 \} \quad (2.23)$$

$$\frac{1}{1 + \beta_1 [L] + \beta_2 [L]^2} = \frac{[M]}{[M]_t}, \quad L \text{ Aspartam } (0,004 \text{ M}), M = \text{Cu}^{2+} (6,28 \times 10^{-7} \text{ M}) \quad (2.24)$$

$$\alpha_{\text{Cu}^{2+}} = \frac{[\text{Cu}^{2+}]}{[\text{Cu}]_t} = \frac{1}{1 + \beta_1 [APM] + \beta_2 [APM]^2} = \frac{1}{1 + 10^{6,097} [0,004] + 10^{10,84} [0,004]^2} \quad (2.25)$$

$$\alpha_{\text{Cu}^{2+}} = \frac{[\text{Cu}^{2+}]}{6,28 \times 10^{-7}} = \frac{1}{0,111235 \times 10^7} \quad (2.26)$$

$$[\text{Cu}]_t = 6,28 \times 10^{-7} \text{ M}, [\text{APM}]_t = 0,004 \text{ M} \quad (2.27)$$

$$[\text{APM}]_t = [\text{APM}] + [\text{Cu APM}] + [\text{Cu APM}_2] + \dots \quad (2.28)$$

$$\alpha_{\text{Cu}^{2+}} = 8,99 \times 10^{-7} \quad (2.29)$$

$$[\text{Cu}^{2+}] = \alpha_{\text{Cu}^{2+}} [\text{Cu}]_t = 8,99 \times 10^{-7} \times 6,28 \times 10^{-7} = 5,64 \times 10^{-13} \text{ M} \quad (2.30)$$

$$[Cu]_t \leq \frac{1}{100}[APM] \quad (2.31)$$

$$\text{Asetat için: } \text{Log } \beta_1 = 2,16, \text{ Log } \beta_2 = 3,20 \quad (2.32)$$

$$[Cu]_t = 6,28 \times 10^{-7} \text{ M}, \quad [As]_t = 0,0015 \text{ M} \quad (2.33)$$

$$\alpha_{Cu^{2+}} = \frac{[Cu^{2+}]}{[Cu]_t} = \frac{[Cu^{2+}]}{6,28 \times 10^{-7}} = \frac{1}{1 + 10^{2,16}(0,0015) + 10^{3,20}(0,0015)^2} = \frac{1}{1,22} \quad (2.34)$$

$$\alpha_{Cu^{2+}} = 0,8197 \quad (2.35)$$

$$[Cu^{2+}] = \alpha_{Cu^{2+}} [Cu]_t = 6,28 \times 10^{-7} \times 0,8197 = 5,148 \times 10^{-7} \text{ M} \quad (2.36)$$

2.5 Birinci Dereceden Reaksiyonlar

$$A \rightarrow \text{Bir veya birkaç ürün} \quad (2.37)$$

Tek moleküllü olan bu reaksiyonun herhangi bir t anındaki hızı, A'nın bu andaki konsantrasyonu ile orantılıdır. Birinci mertebeden bir reaksiyonun hız sabiti, k, başlangıç konsantrasyonu A_0 ve herhangi bir t anındaki konsantrasyonu da A ile gösterirsek birinci derece reaksiyon hızı aşağıdaki gibi yazılır:

$$\text{Reaksiyon Hızı} = -d[A]/dt = k.[A] \quad (2.38)$$

Düzenlenip integre edilirse;

$$\int d[A]/[A] = \int -k.dt \quad (2.39)$$

$$\ln[A] = -k.t + \text{sabit} \quad (2.40)$$

t=0 iken $[A] = [A]_0$ olduğundan $\text{sabit} = \ln [A]_0$ olur ve

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{[A]_0}{[A]} = \frac{2,303}{t} \log \frac{[A]_0}{[A]} \quad (2.41)$$

$$\log [A] = \log [A]_0 - \frac{k.t}{2,303} \quad (2.42)$$

Doğrunun eğimi $-k / 2,303$ değerini, $t=0$ 'a karşılık olan ordinat da $\log [A]_0$ verir. Buna göre bir doğrunun elde edilmesi reaksiyonun birinci mertebeden olduğunun bir kanıtıdır ve eğimden hız sabiti bulunur.

k 'nın birimi

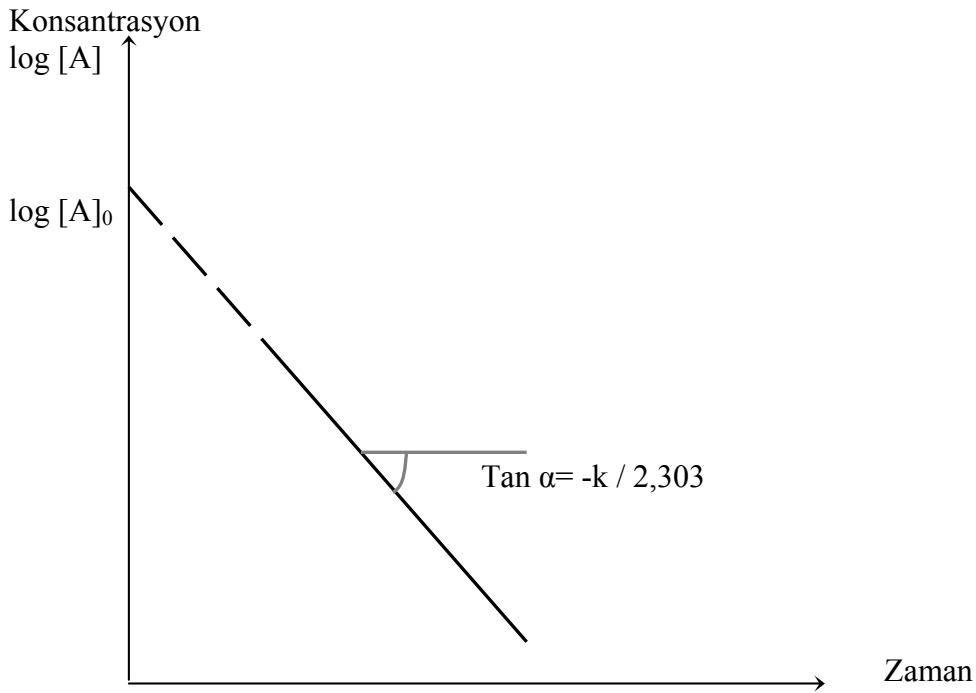
(2.42)'de birimler yerine yazılırsa;

$$\text{mol.L}^{-1}/\text{zaman} = k.(\text{mol.L}^{-1})$$

$$k = (\text{mol.L}^{-1})/\text{zaman}(\text{mol.L}^{-1})$$

$$k = 1/\text{zaman} = \text{zaman}^{-1}$$

k sabitinin nümerik değeri kütle ve konsantrasyona bağlı olmayıp sadece zaman birimini fonksiyonudur.



Şekil 2.12 Birinci dereceden bir reaksiyonda konsantrasyon – zaman grafiği

2.6 Daha Önceki Çalışmalar

2.6.1 Metal, Ligand ve Polimer Katalizli ve Katalizsiz Askorbik Asit Oksidasyonu

Fe(III) ve askorbik asidin etkileşimi saf suda, saf metanolde ve bu solventlerin karışımlarında pH'nin fonksiyonu olarak çalışılmıştır. Mössbauer verilerine göre, Fe(III) suda düşük pH'da Fe(II)'ye indirgenmiştir. Reaksiyonu izlemek için durdurulmuş akış spektrofometresi (stopped flow spectrophotometry) kullanılmıştır ve düşük pH değerlerinde demirin mavi ara ürünlerinin oluştuğu gözlenmiştir. Sulu çözeltilerde demir ve askorbat arasındaki

reaksiyonunun kompleksleşme miktarı bulunmuştur. Demir(III) ve askorbat arasındaki kompleksleşme sabiti verilmiştir (**Silver ve Wilson, 1986**).

Canlı olmayan sistemlerde askorbik asit otoksidasyonunu korumak ve rejenere askorbik asit içinde dehidroaskorbik asit ile reaksiyonunu sağlamak için askorbik asit ve dehidroaskorbik asit ile GSH (glutation) 'nin etkileşimi çalışılmıştır. 37°C'de bekletilen ve tamponlanmış (pH 7,4) 1,0 mM askorbik asit çözeltisi oksijen varlığında hızlı bir askorbik asit kaybına uğramıştır. Bu çözeltiliye ilave edilen GSH, askorbik asit oksidasyonunu azaltmıştır. Askorbik asit otoksidasyonuna karşı maksimum koruma 0,1 mM GSH ile sağlanmıştır. Askorbik asit otoksidasyon hızını 0,01 mM bakır iyonları hızlandırmıştır. Diğer deneylerde de çizilen GSH standart eğrileri baz alınarak GSH'nin bakır iyonlarıyla kompleksleşmesinde çözeltideki azalan GSH miktarları bulunmuştur. Bu sonuçlara göre GSH'nin inhibitör etkisi askorbik asit otoksidasyonunda katalizör olarak görev yapan Cu iyonları ile GSH'nin kompleks oluşturmasından kaynaklanmıştır. 37°C'de askorbik asit otoksidasyonunda 10 mM'a kadar GSH ilavesi yapılırsa askorbik asidin rejenerasyonun yürümediği gözlenmiştir. Dehidroaskorbik asidin hızlı hidrolizi yüzünden, AA oksidasyonu ile oluşan dehidroaskorbik asit ile GSH arasındaki direkt reaksiyon saptanamamıştır. Şartlar değiştirilirse, düşük sıcaklık gibi, dehidroaskorbik asidin kararlılığı artmış ve askorbik asidi oluşturmak üzere GSH ile dehidroaskorbik arasındaki direkt reaksiyon bulunmuştur (**Winkler, 1987**).

Askorbik asidin (AA) moleküler oksijen ile Cu^{2+} 'nin polinükleer kompleksi poli-4-vinilpiridin (PVP) katalizli oksidasyon mekanizması çalışılmıştır. AA'nın Cu(II) PVP ile reaksiyonunda yarılanma süresi anaerobik koşullarda $[\text{Cu}^{2+}]$ 'den bağımsızdır. pH 3,5'da

$$t_{0,5}(\text{dak})=0,8+5 \times 10^{-4} [\text{AA}] \quad (2.43)$$

Bakır-askorbat ara ürünü oluşmuştur ($K_c \approx 10^4 \text{ M}^{-1}$). Askorbik asit serbest radikalleri, ESR tekniğiyle kombine edilmiş olan akış tekniğiyle saptanmıştır. Radikallerin küçük kararlı hal konsantrasyonlarında, makromolekül kompleks içinde bozulduğu görülmüştür. PVPCu(II)AH^- üçlü kompleks dissosiyasyonu için hız sabiti $\approx 0,4 \text{ dak}^{-1}$ bulunmuştur. Cu(I)PVP ile oksijen arasındaki reaksiyon sonucu makromolekül dışında O_2^- oluşmadığı görülmüştür. Bu reaksiyonun hız sabiti $(1,3 \pm 0,15) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Katalitik reaksiyonun siklik mekanizmasında bakır iyonlarının redoks durumlarında değişme olduğu görülmüştür. pH 3,5' toplam bakır iyonları Cu(I)PVP kompleksi şeklinde bulunmaktadır. Bu koşullarda AA oksidasyon hızı, O_2 ile Cu(I)PVP reaksiyon hızı ile sınırlanmıştır. pH 4,5' da tüm reaksiyon hızı Cu(II)PVP ile AH^- 'nin etkileşim hızıyla kontrol edilmiştir (**Skurlatov vd., 1979**).

Askorbik asidin dehidroaskorbikaside hidrojen peroksit ile etilendiamintetraasetoruthenat(III) katalizli oksidasyon kinetiği, pH 1,50–2,50 aralığında 30 °C’de iyonik şiddet 0,1 M (KNO₃)’da çalışılmıştır. Reaksiyon, Ru(III)-EDTA ve askorbik asit konsantrasyonuna bağlı olarak birinci mertebeden ve hidrojen iyon konsantrasyonunun tersine bağlı olarak birinci mertebeden olduğu ve bu pH aralığında hidrojen peroksit konsantrasyonundan bağımsız olduğu bulunmuştur. Askorbat anyonunun katalizör ile kinetik bir ara ürün olduğu bir mekanizma önerilmiştir (**Khan ve Shukla, 1987**).

L-askorbik asidin tris(oksalato)kobaltat(III), [Co(C₂O₄)₃]³⁻ ve tris-(1,10-fenantrolin)demir(III) [Fe(fenil)₃]³⁺ ile oksidasyon kinetiği sulu çözeltilerde değişik koşullarda incelenmiştir. pH 0,3–4,7 aralığında reaksiyon mekanizması deneysel sonuçlarla uyum göstermiştir:



X= tris(oksalato)kobaltat(III) ve tris-(1,10-fenantrolin)demir(III) n= 3- ve 3+ ; H₂A ve HA⁻ askorbat anyonunun protonlanmış türleridir. Hız sabitleri k₁ ve k₂, asit dissosiyasyon sabiti Ka 25 °C’de 0,1–1, mol dm⁻³ iyonik şiddette saptanmıştır. Sonuçlar, dış elektron transfer reaksiyonu için, Marcus teorisine göre tartışılmıştır. H₂A[•] ve H₂A türlerinin molekül orbital enerjileri ve H₂A⁺ ve H₂A ile HA[•] ve HA⁻ arasındaki toplam elektronik farklar CNDO/2 MO kullanılarak hesaplanmış ve Marcus teorisinin kinetik verilere uygulanmasıyla hesaplanan redoks potansiyellerinin karşılaştırması yapılmıştır (**Kimura vd., 1982**).

Fe(III)- aminoasit kompleksleri pH’a bağlı olarak polarografik olarak çalışılmış ve ESR spektroskopisi aracılığıyla yorumlanmıştır. Biri asidik pH’da ESR’de saptanan düşük molekül ağırlıklı, diğeri bazik pH’de ESR’de saptanamamış yüksek molekül ağırlıklı, iki kompleksin olduğu görülmüştür. Fe (III)’ün yarı dalga potansiyeli aminoasit ligandları tarafından düşürülmüştür. Fe(III)-aminoasit komplekslerinin C vitamini ile redoks etkileşimi sonucunda askorbil radikal konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Askorbik asidin Fe(III) ile pH 7’de oluşturduğu kompleksin polarografik yarı dalga potansiyeli -0,55 V vs. S.C.E’dir (**Naturforsch, 1984**).

Aspartamın, 30°C’de açık sistemde ve 33 °C’de oksijen çekiş borusu olan kapalı bir sistemde askorbik asit oksidasyonunu geciktirmesi ölçülmüştür. %0,06 ve %0,12’lik aspartam ile %10

ve %20'lik sukroz arasında 30 °C'de Cu katalizli ve katalizsiz çözeltilerde karşılaştırmalar yapılmıştır. Aspartam çözeltisinde bakır aktivitesi, bakır iyon seçici elektrot kullanılarak ölçülmüştür. Test edilen bütün çözeltilerde aspartamın askorbik asit oksidasyon hızını artırdığı görülmüştür. Bakır varlığında askorbik asit oksidasyon hızı, çözeltide aspartam-Cu kompleks kapasitesi göstermesine rağmen, aspartam çözeltisinde sukroz çözeltisinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (**Hsieh ve Haris, 1991**).

Demir ve bakır katalizli askorbat oksidasyonuna oksidan, pH ve ligandların etkisi incelenmiştir. Katalizör-substrat kompleks oluşumuna pH etki ederken, oksidan bu kompleksin bozunmasına etki etmiştir. Bakır iyonu katalizör, ligandlar inhibitör olarak kullanılmıştır. Diğer yandan demir iyon katalizörleri ile nötral pH'de aminopolikarboksilik ligandlar için, daha stabil demir kompleksleri oluşmuştur. Ligand veya pH değişimleri, azalan hızlar aktivitelerinin (örneğin peroksidaz aktivite ile yarışan katalaz aktivitesi) değişimine neden olmuştur. Üçlü bir kompleks (katalizör-substrat-oksidan) oluşmuştur (**Skov ve Vonderschmitt,1975**).

Yiyeceklerde ve sindirim sisteminde Fe(III) ve askorbik asit reaksiyonunun etkisi incelenmiştir. Bir model sisteminde Fe(III)'ün AA ile redüksiyonunun kinetiği pH 5 ve 6'da 25 °C'de incelenmiştir. Sonuçlara göre Fe(III)'ün AA ile reaksiyonu AA'ya bağlı olarak sıfırıncı mertebe olarak bulunmuştur. pH 5 veya 6'da Fe(III)'e göre reaksiyon mertebesi basit kinetik model ile gösterilemez. Bununla birlikte redüksiyonun büyük kısmında, %80, stokiyometrik olarak;

$$-d[\text{Fe(III)}]/dt=k[\text{Fe(III)}] \quad (2.48)$$

eşitliği gösterilmiştir. k hız sabiti ve [Fe(III)] toplam demir konsantrasyonudur. pH 6'da Fe(III) çözeltisinin eskimesi redüksiyon hızını yavaşlatmıştır, fakat pH 5'de yavaşlatmamıştır (**Hsieh, 2000**).

Fe(II) reaksiyonları üzerine Mössbauer ve elektronik absorbanans spektroskopik çalışmaları: AA moleküler oksijen ile sulu çözelti ve metanollü çözeltilerde bildirilmiştir. Her iki spektroskopik teknik de başlangıç karışımında Fe(II) /askorbat oluşmadığını göstermiştir. pH 6-7'de moleküler oksijen ile Fe(II) /askorbat çözeltisi karışımı Mössbauer spektrumunda yüksek spinli demir (III) gözlenmiştir. Yarılanma ömürleri solvente bağlı renklendirilmiş ara ürünler durdurulmuş akış spektrofometresinde (stopped flow spectrophotometry) görünmüştür. Bu renkli ara ürünler Fe(III)-askorbat kompleksleri olarak saptanmıştır. Fe(II)

ve oksijen arasındaki başlangıç reaksiyonunun stokiyometrisi $2\text{Fe(II)} : \text{O}_2$ olarak durdurulmuş akış (stopped flow) metoduyla bulunmuştur (**Silver ve Wilson, 1988**).

Askorbik asidin Cu(II) ve Fe(III) iyon katalizli ve katalizsiz oksidasyon kinetiği 25 ve $0,4$ °C' de ölçülmüştür. Askorbik asidin katalizsiz oksidasyon hızının % 20 ve daha yüksek konsantrasyonlarda moleküler oksijen ile orantılı olduğu bulunmuştur. pH 2- 5,55 aralığında askorbik asidin sadece monoionik türleri mevcuttur ve bu türler moleküler oksijen ile reaksiyona girmiştir. Askorbat anyonunun kendiliğinden oksidasyonunda moleküler oksijenin direkt yer alacağı bir mekanizma önerilmiştir. Demir ve bakır iyon katalizli oksidasyon hızı moleküler oksijen konsantrasyonuna bağlı olarak birinci mertebeden bulunmuştur. İyon katalizli oksidasyon için metal-askorbat kompleksine bağlanan moleküler oksijen içeren bir reaksiyon yolu önerilmiştir. Askorbat anyonunun oksidasyonuna bakır iyonunun katalitik aktivitesinin demir iyonunkinden daha fazla olduğu bulunmuştur. Nötral türlerin oksidasyonunda demir iyonlarının bakır iyonlarından daha iyi bir katalizör olduğu bulunmuştur. Askorbik asidin monoionik ve nötral türleri üzerine bu iki metal iyonunun katalitik aktivitesindeki farklılık, askorbik asidin iki türü ile kompleks oluşturmadaki farkı göz önüne alınarak açıklanmıştır (**Khan ve Martell, 1967a**).

Bakır ve demir kelat bileşiklerinin katalizör olarak kullanılarak askorbik asit oksidasyon kinetiği 25 ve $0,4$ °C' de gerçekleştirilmiştir. $2,25$ – $3,45$ pH aralığında metal kelat bileşiklerinin hidrolizlenmiş ve polimerik biçimlerinin katalitik katkısının önemsiz olduğu bulunmuştur. Bakır kelatlarının katalitik aktivitesinin iminodiasetobakır(II)>2-hidroksi etiliminodiasetobakır(II) > etilendiamintetraasetobakır(II), demir kelatların aktivitesinin ise 2-hidroksietiliminodiasetodemir(III)>nitriloasetodemir(III)>2hidroksietilendiamintriasetodemir(III)> sikloheksandiamintetraasetoferrat(III)> dietilentriamin-pentaasetoferrat(III) şeklinde azaldığı bulunmuştur. Bakır ve demir kelatlarının katalitik aktivitesi oksijen konsantrasyonundan bağımsızdır. Metal-kelat bileşiklerinin stabilitesi ile onların katalitik aktiviteleri arasında lineer bir ilişki bulunmuştur. Reaksiyon enerjileri temel alınarak değişik metal-kelat bileşiklerinin reaktiviteleri arasındaki farklar açıklanmıştır (**Khan ve Martell,1967b**).

Moleküler oksijen varlığında ve olmadan askorbik asidin vanadil iyonlarıyla oksidasyon kinetiği 25 ve $0,4$ °C'de gerçekleştirilmiştir. Vanadil iyonu hidroliz dengesi verileri iyonik şiddet $0,10$ M (KNO_3) için bildirilmiştir. $1,75$ – $2,85$ pH aralığında % 99'dan fazla metal iyonunun hidroliz olmadığı bulunmuştur. Moleküler oksijen olmadan vanadil iyonu oksidan

olduğu zaman, askorbik asit oksidasyonu hidrojen iyon konsantrasyonuna bağlı olarak birinci mertebededir.

$$\text{Hız} = k[\text{H}_2\text{A}][\text{VO}^{2+}][\text{H}^+] \quad (2.49)$$

eşitliği geçerlidir. Moleküler oksijen varlığında vanadil iyon katalizli askorbik asit konsantrasyonu birinci mertebededir, hidrojen iyonu ve oksijen konsantrasyonuna bağlıdır.

$$\text{Hız} = k[\text{H}_2\text{A}][\text{VO}^{2+}][\text{H}^+][\text{O}_2] \quad (2.50)$$

eşitliği geçerlidir. Vanadil iyonunun aktivitesinin, demir ve bakır iyonunkinden az olduğu bulunmuştur. Moleküler oksijen varlığında ve yokluğunda vanadil iyon katalizli askorbik asit oksidasyon mekanizması önerilmiştir (**Khan ve Martell,1968a**).

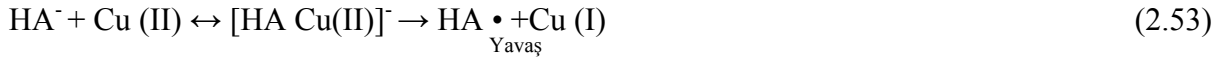
Uranil iyon katalizli askorbik asit oksidasyonu 25 ve 40 °C' de gerçekleştirilmiştir. Potansiyometrik titrasyon verilerinden yararlanarak askorbik asidin 40 °C ve 0,10 M (KNO₃) için dissosiyasyon sabitleri 2,69x10⁻⁴ ve 1,05x10⁻¹², D₂O' da 25 °C'de ve 0,10 M (KNO₃) için dissosiyasyon sabitleri 2,7x10⁻⁵ ve 6,00x10⁻¹³ olarak bulunmuştur. Uranil iyon katalizli askorbik asit oksidasyonu birinci mertebededir ve substrat, katalizör, moleküler oksijen, hidrojen, döteryum iyon konsantrasyonlarına bağlı ve hız eşitliği,

$$k[\text{H}_2\text{A}][\text{UO}^{2+}][\text{H}^+][\text{O}_2] \quad (2.51)$$

şeklindedir. Uranil iyonu katalizör olarak vanadil iyonundan daha az aktiftir. Uranil iyon katalizli oksidasyon için aktivasyon parametreleri bildirilmiştir ve vanadil iyon katalizli ve katalizsiz askorbik asit oksidasyonunda bulunan sonuçlarla karşılaştırılma yapılmıştır. Uranil iyon katalizli reaksiyon için uygun bir mekanizma önerilmiştir (**Khan ve Martell,1969**).

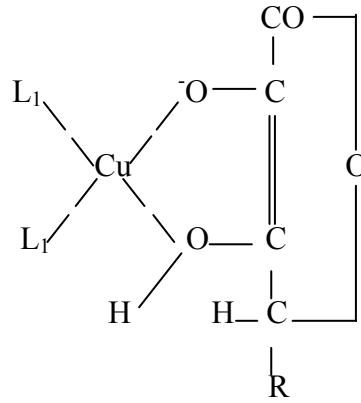
Askorbik asidin oksidasyon kinetiği 25 ve 0,4 °C' de dietilentriaminpentasetikasit (DTPA), 1,2sikloheksandiamintetraasetikasit (CDTA), etilendiamintetraasetikasit (EDTA) ve N-hidroksi etilendiamintetraasetikasit (HEDTA) Fe(III) kelatlarıyla incelenmiştir. 1,8–3,45 pH aralığında hızların azalma sırası, Fe(III)-HEDTA > Fe(III)-EDTA > Fe(III)-CDTA > Fe(III)-DTPA şeklindedir. Oksidasyon hızlarının ve oksidasyon reaksiyonunun aktivasyon parametreleri farklılığı tartışılmıştır (**Khan ve Martell,1968b**).

L-askorbik asidin bakır tuzu katalizli otoksidasyon kinetiği tamponsuz sulu çözeltilerde 35 °C'de çalışılmıştır. Katalitik yetenekleri CuCl₂ > Cu(NO₃)₂ ≈ CuSO₄ sırasındadır. İyonik kuvvet dikkate alınmamıştır. pH, bakır iyon konsantrasyonu ve oksijenin kısmi basıncının değişik sıcaklıklarda reaksiyon hızına olan etkileri bir mekanizmayla verilmiştir. Reaksiyon mekanizması askorbat radikali oluşumu için iki yol önerilmiştir. Bunlar;

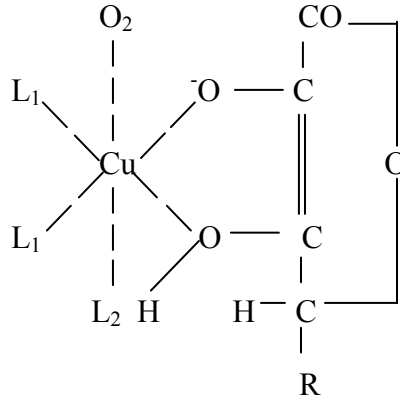


Son ürün dehidroaskorbik asit, $\text{HA} \cdot$ ve $\text{A} \cdot^-$ oluşabilir. Hidrojen peroksit askorbik asitle reaksiyon verir, ayrıca dehidroaskorbik asit verir (**Ogata vd., 1967**).

(HA^-) elektronunu Cu(II) iyonuna vermekte ve şu muhtemel komplekslerin oluştuğunu önermiştir (**Ogata, 1968**).



Şekil 2.13 $[\text{HA Cu(II)}]^-$ kompleks (Ogata, 1968)



Şekil 2.14 $[\text{HA Cu(II)O}_2]^-$ kompleks (Ogata, 1968)

Sulu çözeltide L-askorbik asidin 2,6-diklorofenolindofenol ile oksidasyon kinetiği çalışılmıştır. Reaksiyon hızı, hidrojen askorbat iyonunun iyonlaşmamış L-askorbik asitten az reaktif olduğu için, pH'nin artmasıyla azalmıştır. İki türün oksidasyon hız sabitleri değerlendirilmiştir ve reaksiyon için uygun bir mekanizma önerilmiştir (**Rao vd., 1987**).

Seyreltik sulu asitli ortamda Fe(III) perklorat ile askorbik asidin reaksiyon kinetiği durdurulmuş akış spektrofotometresiyle (stopped-flow spectrophotometry) 16,1°C'de $[\text{Demir(III)}] ((2-7) \times 10^{-3} \text{ M})$, $[\text{Askorbik asit}] (2 \times 10^{-4} \text{ M})$ konsantrasyonundan daha büyük ve $[\text{H}^+] 0,01$ ile $0,15 \text{ M}$ arasında olduğu durumlarda çalışılmıştır. Reaksiyon iki evrelidir, 560

nm'de absorbansın hızlı bir artışından sonra da bir azalma görülmüştür. Önceki çalışmalar temel alınarak hızlı reaksiyonun demir(III)-askorbat kompleksinin oluşumu reaksiyonu olduğu söylenmiştir. Hız sabitinin $[H^+]$ bağıllığı, $Fe(AH)^{2+}$ ve $Fe(AH_2)^{3+}$ türünde iki tane protonlanmış demir (II) türlerinin oluşumunu göstermiştir. Yavaş reaksiyon demir(III)ün redüksiyonunu içermiş ve demir(III) ile engellenmiştir. Hız denklemi, demir(III)- askorbat kompleksi $Fe(OH_2)_6^{3+}$ ile elektron transferine uğrayan ve bunu izleyen askorbat radikalının $Fe(OH_2)_6^{3+}$ ile oksidasyonu ile uyumludur (**Xu ve Jordan, 1990a**).

Askorbik asidin sulu bakır(II) ile oksidasyonu anaerobik koşullarda $[Cu^{2+}]$ $(1-5) \times 10^{-3}$ M ile toplam asit konsantrasyonu 5×10^{-5} M ve $[H^+]$ $(0,50-10) \times 10^{-3}$ M olacak şekilde 1,0 M $NaClO_4/HClO_4$ içinde 25 °C'de çalışılmıştır. Ayrıca $(0,5-7) \times 10^{-3}$ M konsantrasyon aralığında klorür iyonunun etkisi incelenmiştir. Yalancı birinci mertebeden hız sabiti,

$$k = (a+b[Cl^-])[Cu^{2+}]/(K_a + [H^+]) \quad (2.55)$$

$a = (4,0 \pm 0,13) \times 10^{-4} s^{-1}$ ve $b = 0,58 \pm 0,0036 M^{-1} s^{-1}$. Sonuçlar direkt ve klorür katalizli olarak uygun mekanizmalarla açıklanmıştır (**Xu ve Jordan, 1990b**).

Askorbik asidin (AA) aerobik oksidasyonu 25, 62, 75 ve 86 °C'de çalışılmıştır. Askorbik asit 2,6-dikloroindofenol titrasyonu ile ve dehidroaskorbikasit (DHA) o-fenilendiamin kullanılarak eş zamanlı olarak devamlı akış türemesi (continuous-flow derivatization) ile saptanmıştır. DHA ve diketogulonik asit oluşumu için reversibl hız sabitlerinin yalancı birinci mertebeden olduğu saptanmıştır. AA degradasyonu için aktivasyon enerjisi ile AA ve DHA kaybı için irreversibl yalancı birinci mertebeye hız sabitleri bulunmuştur (**Hughes, 1985**).

L-askorbik asidin Cu^{2+} iyonları ile oksidasyon kinetiği değişik pH ve sıcaklıklarda durdurulmuş akış (stopped - flow) tekniğiyle çalışılmıştır. L-askorbik asit ve bakır iyonlarına bağlı olarak reaksiyon birinci mertebededir. Hız azalması,

$$-d(Cu^{2+})/dt = (5,4 + 0,56/10^{-4} + (H^+))(AA)(Cu^{2+}) \quad (2.56)$$

eşitliğiyle verilmektedir. Arrhenius parametreleri, entropiler ve serbest aktivasyon enerjileri diğer metal iyonları ile L-askorbik asidin oksidasyonu ile bulunanlarla karşılaştırılmıştır (**Martinez, 1984**).

L-askorbik asidin oksidasyonu, L-dehidroaskorbik asit verir. Bu reaksiyon çeşitli oksidan reaktifler kullanılarak incelenmiştir; O_2 , Ti^{3+} , Ag^+ , Hg^{2+} , Co^{3+} , Mn^{2+} , $[Fe(CN)_6]^{4+}$, Ni^{2+} ve Fe^{3+} (**Martinez vd., 1984**).

Askorbik asit demir ve bakır iyonlarını indirgeyebilen, oksijen varlığında bir metal redoks siklusunda indüklenen biyolojik redüktanlardan biridir. NaCl askorbik asit oksidasyonunu ve oksijenin geçiş metalleriyle etkileşimini önleyerek $O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 ve HO^{\cdot} oluşturduğu reaksiyonları inhibe eder. Eğer geçiş metali asetat yada ADP gibi zayıf bir ligandla kelat oluşturursa, NaCl oksijen ile geçiş metali arasındaki etkileşimi önler; bununla birlikte eğer metal iyonu sitrat ya da EDTA gibi güçlü bir ligandla kelat oluşturursa NaCl'nin demir oksidasyonuna etkisi zayıftır ya da yoktur. NaCl metal iyonlarının (Fe, Cu) H_2O_2 ile etkileşimini ve hidroksil radikallerinin H_2O_2 oluşumunu engellemez (**Harel, 1994**).

Askorbik asidin otoksidasyon kinetiği pH 6,1'de $\mu=0,08$ olacak şekilde bir tampon model sistemi kullanılarak çalışılmıştır. Çözeltiye oksijen verilmesi reaksiyon şişesini bir karıştırıcı su banyosunda karıştırarak veya oksijen-azot gaz karışımının çözeltiye verilmesiyle gerçekleştirilmiştir. 45 °C'de ikinci mertebe hız sabiti $58,19 \pm 11,92 \text{ dak}^{-1}M^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Gaz karışımında (30°C'de) ikinci mertebe hız sabitleri $20,80 \pm 2,28 \text{ dak}^{-1}M^{-1}$ (55°C'de) $176 \pm 6,93$ aralığında bulunmuştur. Aktivasyon enerjileri değişik koşullarda ölçülmüş ve 9,47-16,43 kcalmol⁻¹ aralığında bulunmuştur (**Eison vd., 1982**).

Glutationun (GSH) L-askorbik asidin(AA) bakır katalizli otoksidasyonunu inhibe ettiği biliniyordu, bu çalışmada AA'nın GSH'nin bakır katalizli otoksidasyonunu engellediği bulunmuştur. Otoksidasyonun karşılıklı inhibisyonu için mekanizma açıklanırken kinetik olarak bu fenomenler incelenmiştir. GSH, Cu^{2+} ile 1:1 kelat oluşturur ve bu suretle AA otoksidasyonunu önler. AA'nın bakır katalizli otoksidasyonu ile hidroksil radikalının oluşumu üzerine GSH etkisi incelenmiştir ve hidroksil radikal oluşumu GSH ile doza bağlı olarak gecikmiştir. Çünkü patolojik koşullarda redoks aktif bakır iyonları ince dokularda serbest kalmıştır. Bakır iyonları, AA ve GSH canlıda beraber bulunabilir; bu durumda GSH, AA otoksidasyonu ile oluşan hidroksil radikallerine inhibitör etkisi yapmıştır (**Ohta vd., 2000**).

Moleküler oksijen ile bis(histidin)bakır(II) (CuL_2^{2+}) katalizli askorbik asit oksidasyon kinetiği 0,1 M fosfat tamponunda pH 7,0' da çalışılmıştır. O_2 , askorbat ve CuL_2^{2+} konsantrasyonu artırarak oksidasyon hızının doyumu gözlenmiştir. ESR ve/veya optik spektroskopiyile bakır iyonunun oksidasyon durumu ve askorbil radikalının konsantrasyonu izlenmiştir. Vakumda veya oksijen varlığında askorbat konsantrasyonu <20 mM olduğu zaman Cu(II)'nin redüksiyonu anlamlı değildir. ESR ile askorbatın CuL_2^{2+} 'ye bağlandığı bulunmuştur ve kararlılık sabiti 20 M^{-1} olarak hesaplanmıştır. Daha önce farklı kişilerce yapılmış çalışmalardaki sonuçlarla uyum sağlamayan bulgular açıklanmıştır. Ara ürün olan askorbil

radikalinin deneysel konsantrasyonu, önerilen mekanizmadan bulunanla tutarlılık göstermiştir **(Scarpa vd., 1996)**.

Peroksodifosfat ve askorbik asit arasındaki reaksiyon asetat tamponuyla reaktifler varlığında, esas olarak Cu^{2+} ve Fe^{3+} eser metal iyon safsızlıklarıyla katalizlenir. Bakır(II)'nin katalitik aktifliği demir(III)'den 10 kat daha fazladır ve aktivitesi öyle spesifik ve hassastır ki karışık bir sistemde Cu^{2+} safsızlık miktarı katalizsiz reaksiyonların başlangıç hızlarından hesaplanabilir. Cu(II) varlığında ve olmadan reaksiyonun karakteristiği aynıdır. Cu katalizli reaksiyon için hız denklemi;

$$\frac{-d[\text{H}_2\text{A}]}{dt} = \frac{[\text{H}_2\text{A}]_T [\text{Cu}^{II}] (k_1 [\text{H}^+] + k_2 K_d^{-1} + k_3 K_d^{-2} / [\text{H}^+])}{(K_d^{-1} + [\text{H}^+])} \quad (2.57)$$

Burada K_d^{-1} ve K_d^{-2} askorbik asidin dissosiyasyon sabiti ve k_1, k_2, k_3 $\text{Cu}^{II} + \text{H}_2\text{A} + \text{HA}^-$, Cu^{II} ve A^{2-} için hız sabitleridir. k_1, k_2, k_3 değerleri 35°C 'de ve $I=1,0 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ 27 ± 2 , $(1,24 \pm 0,10) \times 10^3$ ve $(1,1 \pm 0,08) \times 10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ **(Mishra vd., 1990)**.

Nitrat iyonları varlığında pH 2,0–3,5 aralığında çözülmüş oksijen ile bakır katalizli askorbik asit oksidasyonunun kinetik ve mekanizması tekrar incelenmiştir. Oksijen olmadan hız eşitliği;

$$-d[\text{O}_2]/dt = k' [\text{Cu}^{2+}][\text{HL}^-][\text{O}_2] \quad (2.58)$$

L^{2-} askorbat anyon, bu temel ve termodinamik bulgularla bakır-askorbat dimerlerinin reaktif türler olduğu bir zincir mekanizması önerilmiştir. Bu mekanizma temel elektron reaksiyonları gibi oksijene iki elektron transfer etmiş ve böylece bakır(II) ara ürünleri oluşumunu içermiştir. Bu bakır dimerlerin katalitik aktivitesi oksidaz içeren bakırların oksijene bağlı kısımlarıyla benzerlik göstermiştir **(Jameson ve Blackburn, 1976)**.

Cu(II) iyon katalizli ve katalizsiz askorbik asit oksidasyon kinetiği moleküler oksijenle, sitrik asit ve iyonları varlığında 25°C 'de çalışılmıştır. 2,5–6,0 pH aralığında bakır iyon katalizli oksidasyonunun askorbik aside bağlı olarak birinci mertebeden olduğu bulunmuştur. pH ve bakır iyon konsantrasyonunun reaksiyon hızı üzerine etkisi monoaskorbat iyon ve Cu(II)-sitrat kelat arasında bir geçiş kompleksini içeren mekanizma ileri sürmüştür. Katalitik yeterlilik $\text{Cu(II)} > \text{H}_3\text{CiCu}^+ > \text{HCiCu} > \text{CiCu}^{-2}$ şeklinde azalmıştır. Ayrıca reaksiyon esnasında hidrojen peroksit saptanmıştır **(Şahbaz ve Somer, 1993)**.

Klorür iyonlarının çözülmüş oksijen ile bakır katalizli AA oksidasyonunun kinetik ve mekanizması üzerine etkisi, 2,0-3,5 pH aralığında ve klorür konsantrasyonunun 0,2 mol dm⁻³'e çıktığı konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Tüm aralıkta hız eşitliği,

$$-d[O_2]/dt=k.[O_2] \quad (2.59)$$

Toplam askorbat, toplam bakır ve hidrojen iyon konsantrasyonu sabit olduğu durumda genel bir bağıntı elde edilmiştir.

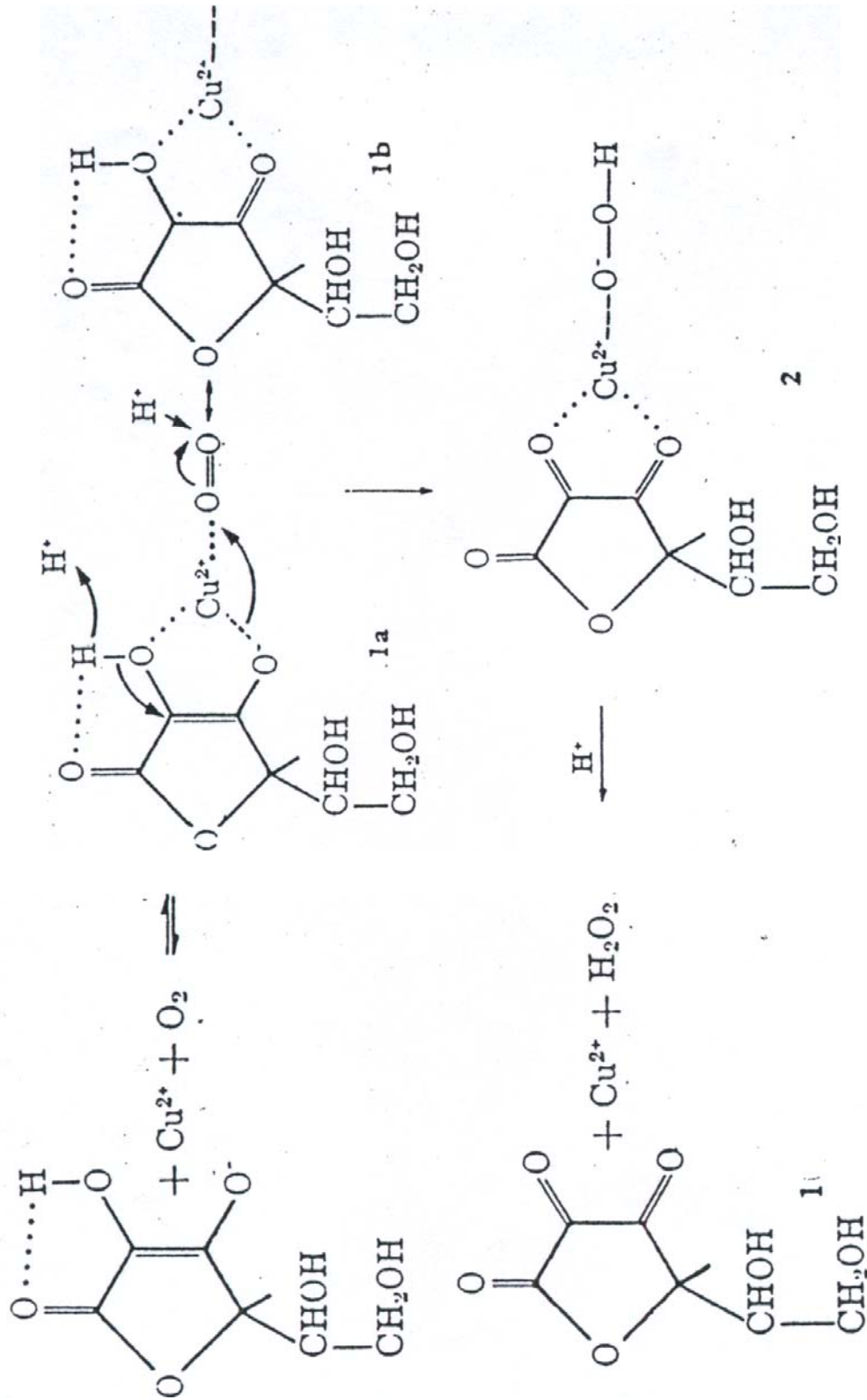
$$k = \frac{A + B[Cl^-]}{C + D[Cl^-] + E[Cl^-]^2} \quad (2.60)$$

A ve B'yi sabitlemek için saf nitratlı ortamda A ve E sabitleri veriler kullanılarak hesaplanmıştır ve bütün sabitlerin pH, toplam bakır ve askorbat konsantrasyonuna bağlı olduğu bulunmuştur (**Jameson ve Blackburn, 1982**).

Askorbik asidin Cu(II) iyonu katalizli oksidasyonunda tamponların rolü incelenmiştir. Çeşitli tamponlarda reaksiyon hızlarındaki farklılıkların Cu(II) iyonu ile değişik tampon tuzları arasındaki kompleks yeteneğinin farklı olmasından ileri geldiğini belirtmişlerdir. Asetat tamponunda spesifik hız sabitlerinin pH 3,2 – 6,0 arasında pH ile ne şekilde arttığını göstermişlerdir (**İmer vd, 2003**).

25–40 °C sıcaklık aralığında L-askorbik asit ve diklorotetraaqua-ruthenyum(III) etkileşimi ile ara ruthenyum(III) askorbat (1) kompleksi oluşumu bildirilmiştir. 1'in oluşum kinetiği ve mekanizması $[Ru^{3+}Cl_2(H_2O)_4]^+$, [askorbik asit], pH, iyonik kuvvet ve sıcaklığın fonksiyonu olarak incelenmiştir. 1'in oluşum hızının birinci merteye olduğu bulunmuştur. Hız hidrojen iyon konsantrasyonuna bağlıdır. İyonik kuvvet, çözeltilerde monoanyonik ve katyonik türlerin 1'i oluşturduğunu göstermiştir. 1'in bozunması yavaşça dehidroaskorbik asit ve $[Ru^{2+}Cl_2(H_2O)_4]$ verir. Kinetik veri, hız karşılaştırılması ve denge sabitleri aktivasyon ve termodinamik parametrelerle birlikte verilmiştir (**Khan ve Shukla, 1991**).

Askorbik asidin metal iyonu katalizli oksidasyonu için askorbat – metal iyonu – dioksijen ara üçlü kompleksinin oluşumu için Şekil 2.15'de gösterilen mekanizmayı önermişlerdir. Bu incelemede ara dioksijen kompleksinde metal iyonu ile dioksijen arasındaki bağlanma çok zayıf olduğundan 1a ve 1b'deki rezonans şekli ile gösterilebileceği belirtilmiştir. Hız tayin eden elektron aktarma basamağı “2” ile gösterilmiştir. Bu Cu(II) kompleksi zayıfça koordine edilmiş dehidroaskorbik asit ve çok kuvvetli koordine edilmiş hidroperoksit içermektedir. Bu kompleks, serbest metal iyonu, hidrojen peroksit ve oksidasyon ürününe hızlı olarak ayrılır (**Seib ve Tolbert, 1989**).



Şekil 2.15 Askorbik asidin metal iyonu katalizli oksidasyonu (Seib ve Tolbert, 1989)

Askorbik asidin Mn^{3+} ile sulu asidik perklorat ortamında oksidasyonunun kinetik ve mekanizması durdurulmuş akış spektrofotometresiyle (stopped flow spectrophotometry) çalışılmıştır. Oluşumun hız eşitliği,

$$-1/2 d[Mn^{3+}]/dt=(k_a + k_b[H^+]^{-1})[Mn^{3+}][AA] \quad (2.61)$$

Reaksiyonda $Mn^{3+}(aq)$ ve $[Mn(OH)]^{2+}(aq)$ ile askorbik asitin disosiyat olmuş türleri bulunmaktadır. Benzendioller içeren benzer reaksiyonlarla karşılaştırma askorbik asit redüksiyon potansiyelleri ve oksidasyon mekanizması üzerine bazı sonuçlar ileri sürmüştür **(Pelizzetti vd., 1978)**.

L-askorbik asidin diaquatetraamin kobalt(III) ile oksidasyon kinetiği pH, askorbik asit konsantrasyonu, iyonik şiddet ve sıcaklığın fonksiyonu olarak durdurulmuş akış tekniğiyle(stopped-flow) çalışılmıştır. Prosesin hızı, her iki redoks çiftine bağlı olarak birinci mertebededir. Askorbat anyonunun oksidasyon hızı 25 °C’de,

$$k=(3,42\pm 0,15)\times 10^{-2} M^{-1}s^{-1}, \Delta H^\ddagger=81\pm 6 kJmol^{-1}, S^\ddagger=1\pm 20 JK^{-1} mol^{-1}$$

olarak hesaplanmıştır. Elektron transfer için Fuoss’un ve Marcus-Sutin karşılıklı etkileşimi bu redoks işlemi için iyon çifti oluşum sabitini, elektron transfer için hız sabiti ve $Co(NH_3)_4(H_2O)_4^{2+/3+}$ çifti için değiş tokuşlu hız sabiti hesaplamak için kullanılmıştır **(Martinez vd., 1992)**.

2.6.2 Askorbik Asit Tayin Yöntemleri

Askorbik asidin (AA) dehidroaskorbik aside oksidasyonu bir Cu(II)-2,9 dimetil-1,10 fenantrolin(Nc) reaktifi ile amonyum asetatlı ortamda pH 7’de yapılmış ve oluşan bis(Nc)-bakır(I) kelatının absorptivitesi 450 nm’de ölçülmüştür. Bu kelat hemen oluşmuş ve AA için görünür molar absorptivite $1,60\times 10^4 dm^3mol^{-1}cm^{-1}$ olarak bulunmuştur. $8,0\times 10^{-6}$ ve $8,0\times 10^{-5}$ M konsantrasyon aralığında Beer kanununa uyum sağlanmıştır. 90µg AA için relatif standart sapma %3 olarak hesaplanmıştır. Cu(II)-Nc reaktifi aynı tayin için Fe(III) 1,10 fenantrolin reaktifinden daha yavaştır ve bu nedenle daha seçici bir oksidandır. Sitrat, okzalit ve tartarat gibi zayıf redüktanlar içeren meyve suları için önerilen metot avantajlıdır. Geliştirilen metot C vitamini içeren ticari meyve suları, ilaç ve kırmızı şarapta uygulanmıştır. Analizden önce şarptaki meta-bisülfid pH 3’de bir anyon değiştiriciyle kaldırılmış ve şarapta AA tayini için değişik ekstraktif-spektrofotometrik analizler geliştirilmiştir, böylece şarap antosiyaninleri ve polifenollerinin girişimleri engellenmiştir. Güvenilir bir metot olduğunu kanıtlamak için sonuçlar HPLC ile karşılaştırılmıştır **(Güçlü vd, 2005)**.

UV spektrofotometre kullanarak alkolsüz içki, meyve suları ve likörlerde askorbik asiti saptamak için bir background düzeltmesi metodu geliştirilmiştir. Örnek blank, bakır(II) ile asidin katalitik oksidasyonu ile oluşturulmuştur. Bakır(II)den gelen absorpsiyonu düzeltmek için oksidasyondan sonra EDTA eklenmiş ve standart çözelti, oda sıcaklığında askorbik asit oksidasyonunu katalizlemeyen, bakır(II)-EDTA kompleksleri ile aynı konsantrasyondadır. Gerçek örneklerde askorbik asit oksidasyonu 50 °C'de gerçekleştirilmiştir, çünkü çalışma sırasında örnekte bulunan sitrik asit bakır(II) katalizli askorbik asit oksidasyonunu yavaşlatmıştır. Absorbans ölçümleri 267 nm'de ve pH 6'da gerçekleştirilmiştir. 0–20 µgmL⁻¹ askorbik asit kalibrasyon grafiği lineerdir. Önerilen metot seçicidir ve içindeki birçok bileşeni alkolsüz içecekler, meyve suları ve likörlerde girişim yapmaz (**Lau vd, 1986**).

Alkolsüz içkilerde ve meyve sularında askorbik asidi saptamak için enstrümental metot olarak en çok spektrofotometre kullanılır. UV spektrofotometre hızlı ve basit bir metot olmasına rağmen matris girişimi background absorpsiyonu düzeltilerek çözülebilen bir problem olarak gösterilmiştir. Termal bozulma, katalitik dönüşme, UV ışık bozulması ve baz davranışları gibi background düzelmesi metotları incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Baz davranışı metodu ticari içkilerde karşılaşılan konsantrasyonlar için en iyisidir. Bu nedenle çalışma parametreleri uygun hale getirilmiş ve analiz üzerine etkisi tartışılmıştır (**Fung ve Luk, 1985**).

İlaçlarda askorbik asiti saptamak için basit, hızlı ve kesin bir direkt ultraviyole spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Örnek blank oda sıcaklığında asidin bakır(II) katalizli oksidasyonu ile oluşmuştur. Absorbans ölçümleri 267 nm'de ve pH 6'da yapılmıştır. Metot seçicidir ve genel olarak askorbik asit tabletleri ve multivitamin hazırlamada içinde bulunan diğer maddelerle girişim yapmamıştır. Metot askorbik asidi; C vitamini tabletleri, multivitamin hazırlamada, kalsiyum tabletlerinde saptamak için kullanılmıştır (**Lau vd, 1987**).

2.6.3 Aspartam Çalışmaları

Askorbik asit ve Cu(II) veya Fe(III) iyonları içeren sulu asidik çözeltide aspartamdan benzaldehit üretilmiştir. GC-MS ile benzaldehit tanımlanmıştır. Ortam pH'ı 2,0'ın üzerine çıktığı zaman benzaldehit oluşumu azalmıştır. Desferriokzamin yalnızca Fe(III) katalizli reaksiyonu engellerken, EDTA ve DTPA tamamen benzaldehit oluşumunu engellemiştir. Reaksiyon karışımına H₂O₂ eklenmedikçe, anaerobik koşullarda benzaldehit oluşmaz. H₂O₂ aerobik koşullarda atmosferik oksijenin redüksiyonu ile oluşur. Benzaldehit üretimi askorbik asit konsantrasyonuna bağlıdır. Askorbik asit konsantrasyonu aspartamdan çok fazla ise benzaldehit oluşumu azalmıştır. Reaksiyon karışımına etanol eklenmesi benzaldehit üretimine

çok az yada hiç etki etmemiştir. Serbest hidroksi radikali içermeyen bir mekanizma önerilmiştir (**Lawrence ve Yuan, 1996**).

Nikel(II), kobalt(II), bakır(II) ve manganez ile L-aspartil-L- fenilalanin metilester (aspartam, LH) arasındaki komplekslerin stokiyometri ve kararlılık sabitleri potansiyometrik olarak 25 °C’de ve iyonik şiddet $I=0,1$ olarak saptanmıştır. Nikel (II) ve kobalt (II) aspartam ile reaksiyona girer ve ML , ML_2 ve ML_3 türünde kompleksler verir. Bakır(II) ML ve ML_2 türünde kompleksle oluşturur. Diğer yandan manganez(II) ML türünde kompleksler oluşturur. Irving-Williams düzeni, $Co(II) < Ni(II) < Cu(II)$, ML^+ kompleksleri için uyum göstermiştir (**Aihara vd., 1992**).

Potansiyometrik pH ölçümleri kullanılarak fizyolojik koşullarda su içinde aspartam ve aspartamın hidrojen(I) ve bakır(II) ile degradasyon ürünlerinin denge çalışmaları $I= 0,15$ M (NaCl), 37° C’ de gerçekleştirilmiştir. Bakır(II) ile aspartamın ikili ve üçlü komplekslerinin konsantrasyon kararlılık sabitleri saptanmıştır. Üç ligand ve bakır(II) içeren kuaterner çözeltilerin pH değerleri ölçülmüş, benzer bir model kullanılarak elde edilenlerle karşılaştırılmıştır (**Kholeif ve Anderegg, 1997**).

Bazı metal iyonlar varlığında (Cu(II), Ni(II), Zn(II)) aspartamın voltametrik davranışları incelenmiştir. Aspartam varlığında bakır iyonları iki evrede bir elektron ile sözde reversibl olarak redüklenmiştir, bu arada aspartam (L) konsantrasyonu artmıştır. $Cu(II)L_2$ kompleksi irreversibl olarak tek basamakta iki elektron reaksiyonu ile (-0,322 V) redüklenir. Zn (II)-aspartam kompleksi ($\log \beta = 3,70$) -1,320 V’ daki katodik pik ile tanımlanmıştır. Ni(II)-aspartam kompleksi ($\log \beta = 6,52$) hidrate Ni(II) iyonundan (-1,088 V) daha pozitif potansiyelde (-0,87 V) redüklenmiştir. Ni(II)’nin redüksiyonunda aspartam katalizör olarak görev yapmıştır. Komplekslerin elektronik spektra verilerinden sulu ortamda stokiyometrisi 1:2 (metal-ligand) olarak bulunmuştur. Bu logaritmik değerler Irving-Williams serileriyle (Ni< Cu> Zn) uyum sağlamıştır (**Çakir vd., 2003**).

Potansiyometrik ölçümler kullanarak H(I) ve Cu(II) ile birlikte yeni bir yapay tatlandırıcı olan HL tipi ligand (L^- liganttan proton ayrılmasıyla oluşan şekil) alitam (L- α -aspartil-N-(2,2,4,4-tetrametil-3-thietanil)-D-alaninamid), suda fizyolojik koşullarda $I=0,15$ (NaCl) 37° C’ de gerçekleştirilmiştir. H(I) ve Cu(II) ile alitam komplekslerinin molar konsantrasyon kararlılık sabitleri ve Cu(II)- alitam komplekslerinin pH’ın fonksiyonu olarak dağılım diagramı bulunmuştur. Cu(II)- alitam ile ikili kompleks türleri (CuL^+ , CuL_2) oluşturmuştur. Bu türler deprotonizasyon ile $CuLH_{-1}$, $CuLH_{-2}^-$ ve $CuL_2H_{-1}^-$ türlerine dönüşmüştür. Nötral Cu(II)-alitam kompleksi, CuL_2 , pH 6,5-7,5 aralığında $CuLH_{-1}$ ’dan sonra bulunan en fazla türlerdir.

Alitam ve Cu(II) -alitam çözeltileri için başlangıç kararlılık testleri pH ve kararlılık sabitleri metodu kullanılarak rapor edilmiştir (**Kholeif ve Anderegg, 1999**).

Tatlandırıcılar arasında aspartamı tayin etmek için bir akış enjeksiyon spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Örnek suda çözülmüş ve 250 µL çözelti, $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol}^{-1}$ sodyumborat (pH 9,0) taşıyıcısının içine enjekte edilmiştir. Örnek $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ ile paketlenmiş bir kolon (13 cmx2,0 mm) içinde yüzdürülmüş ve Cu(II) iyonları Cu(II)(aspartam)₂ kompleks oluşumu ile katı faz reaktöründen ayrılmıştır. Karışım % 0,02 (w/w) alizarin kırmızı S içeren borat tampon çözeltisiyle (pH 9,0) karıştırılmıştır ve oluşan Cu(II)-alizarin kırmızı kompleksi spektrofotometrik olarak 550 nm’de ölçülmüştür. Aspartamın 20–80 µgmL⁻¹ konsantrasyon aralığında 2 µgmL⁻¹ alıkonma limiti ile kalibrasyon grafiği lineerdir. 40 µgmL⁻¹ aspartam içeren çözelti için (n=10) relatif standart sapma % 0,2’dir. Saatte 70 ölçüm yapılmıştır. 25 °C’ de 500 enjeksiyon için kolon stabildir. Bu metotla sakkarin, asesulfam-k ve siklamatla etkileşim vermeden 7 ticari şeker arasından aspartam tayin edilebilir (**Fatibello vd., 1999**).

2.6.4 Diğer Antioksidanlar

Antioksidanların kimyasal çeşitliliği bunların sebzelerden ayrılması ve miktar tayinlerini güçleştirmektedir. Bundan dolayı total antioksidan aktivite seviyesini ölçebilecek yeni bir metot gerekmektedir. Bugünkü literatürde, standart kantitatif metotların tıkanması nedeniyle besinlerde uygun hiçbir total antioksidan beslenme indeksi olmadığı görülmektedir. Sonuç olarak bu çalışma kromogenik oksidasyon ajanı olarak bakır(II)-neocuproine [Cu(II)-Nc] kullanılmasıyla C ve E vitaminleri ile diet polifenollere ait uygulanabilir bir antioksidasyon kapasite indeksi metodu geliştirilmiştir. Bu metot, bakır(II) yada bakır iyonlarının polifenollerini redükleme yeteneğini ölçtüğü için, yukarıdaki çalışma grubunca ”cupric reducing antioxidant capacity”, kısaltılmış CUPRAC metot olarak adlandırılmıştır. Bu metot “ferric reducing antioxidant power” kısaltılmış FRAP metoduna avantaj sağlar. Çünkü bakır redoks kimyası, demirinkinin tersine daha hızlı bir kinetiğe sahiptir. Bu metotta antioksidan çözeltisi doğrudan ya da asit hidrolizden sonra, bir CuCl_2 çözeltisi, bir Nc alkollü çözeltisi ve amonyum asetat sulu tampon çözeltisi pH=7 ile karıştırılır. 30 dakika sonra absorbans 450 nm’de ölçülür. Askorbik asit, gallik asit ve quercetin için renk oluşumu hızlı iken, narangin ve narangenin için yavaştır. Bu son bileşikler 50°C’de su banyosunda Cu(II)-Nc reaktifi ilavesinden sonra 20 dakika bekletildikten sonra, oksidasyon reaksiyonunun tamamlanması, için denemiştir (**Apak vd., 2004**).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Kullanılan Maddeler

Askorbik asit

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$

KNO_3

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$\text{CH}_3\text{COONH}_4$

Aspartam

Asetik Asit

Sodyum Asetat

Bu kimyasal maddeler analitik saflıkta E.Merck Darmstadt firmasının ürünüdür.

Neocuproine

Bu kimyasal madde analitik saflıkta Sigma Aldrich firmasının ürünüdür (N1501-5G).

Standart Tampon Çözeltiler

pH 4,00 Biftalat tamponu Metrohm firması ürünü

pH 7,00 Fosfat tamponu Metrohm firması ürünü

3.2 Araç ve Gereçler

1. Spektrofotometre AGİLENT 8453 (UV - Visible)

2. 1 cm'lik Kuvartz Küvetler 1.000 cm Işık yolu-

3. Analitik Terazisi SARTORIUS BASIC (0,0001 g)

4. Yazıcı HP DESKJET 3650

5. Su Arıtma Cihazı KATTERMANN D 3165

6. pH-metre METROHM 632

7. Cam elektrot METROHM AG CH-9100

8. Termostat Sistem THERMOMIX 1419 B BRAUN Model

9. Hava Pompası RAMBO EP-3500 Hi – Tec and Stil / Powerful Air Pump

10. Kronometre

11. Reaksiyon Kabı



Şekil 3.1 Deney düzeneği

3.3 Çözeltiler

Askorbik Asit Stok çözeltisi ($1000\mu\text{g. mL}^{-1}$; $5,67 \times 10^{-3}$ M)

Askorbik asitten 100 mg tartılıp 100 mL hacimli balon jodede destile su ile çözülüp, gerekli hacme tamamlanır. Bu çözeltinin 1 mL'si 1 ppm'e karşılık gelmektedir. Askorbik asit stok çözeltisi her gün taze hazırlanarak ışıktan korunmuştur.

Denemelerde çözelti konsantrasyonu; bu ana stok çözeltisinden 10 mL alınıp, seyreltilerek $5,67 \times 10^{-4}$ M olarak çalışılmıştır.

Bakır Nitrat Stok Çözeltisi (1 mL=1 ppm Cu^{2+} ; $1,57 \times 10^{-4}$ M)

0,3802 g $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ tuzundan tartılıp 100 mL hacimli balon jodede suda çözülmüştür. Denemelerde Cu^{2+} konsantrasyonu bu çözeltiden gerekli seyreltmeler yapılarak $0,785 \times 10^{-7}$ - $6,28 \times 10^{-7}$ M olarak çalışılmıştır.

Demir Nitrat Stok Çözeltisi (1 mL=1 ppm Fe^{3+} ; $1,57 \times 10^{-4}$ M)

0,634 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ tuzundan tartılıp 100 mL hacimli balon jodede suda çözülmüştür. Denemelerde Fe^{3+} konsantrasyonu bu çözeltiden gerekli seyreltmeler yapılarak $1,57 \times 10^{-7}$ - $6,28 \times 10^{-7}$ M olarak çalışılmıştır.

Bakır(II)Klorür Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,08524 g CuCl_2 tuzundan tartılıp 50 mL hacimli balon jodede suda çözülmüştür.

Bakır(II)-Neocuproine Stok Çözeltisi ($7,5 \cdot 10^{-3}$ M)

0,039 g neocuproine reaktifinden tartılıp 25 mL hacimli balon jodede % 96'lık etanolde çözülmüştür. Bakır(II)-neocuproine stok çözeltisi her gün taze hazırlanarak ışıktan korunmuştur.

Amonyum Asetat Stok Çözeltisi (1 M)

3,854 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tuzundan tartılıp 50 mL hacimli balon jodede suda çözülmüştür.

Aspartam Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,1471 g Aspartam tuzundan tartılıp 50 mL hacimli balon jodede suda çözülmüştür.

3.4 Tampon Çözelti(0,01 M Asetat Tamponu (pH =3,2–5,6)

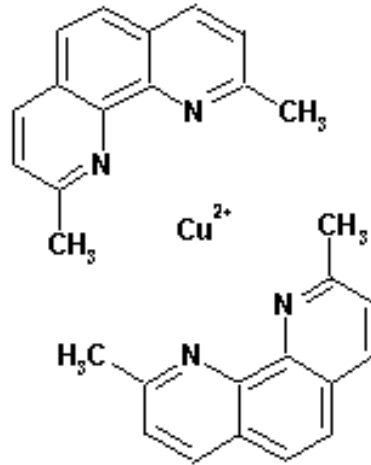
Aşağıdaki tamponlar kullanılmıştır:

pH 3,2; Litresinde 0,0262 g sodyum asetat ve 0,555 mL glacial asetik asit
 pH 4,5; Litresinde 0,3173 g sodyum asetat ve 0,3516 mL glacial asetik asit
 pH 5,6; Litresinde 0,7806 g sodyum asetat ve 0,0275 mL glacial asetik asit

3.5 Yöntem

Neocuproine Sigma Aldrich ve diğer kimyasal maddeler analitik saflıkta E.Merck Darmstadt firmasının ürünüdür. L- askorbik asit saflaştırılmadan ve Cu(II) – Nc reaktifi AA tayini için kullanıldı. Pepsi–Kola Light marketten alındı. Katalizör olarak aspartam, bakır ve demir nitrat ve pH'si 3,2, 4,5, 5,6 olan tampon çözeltiler kullanıldı. Asetat tamponları (0,01 M) HSIEH'e göre hazırlandı (Hsieh ve Haris, 1993). Bütün çözeltiler hazırlanırken ve seyreltilirken deiyonize destile su kullanıldı.

Spektrofotometrik askorbik asit tayin yöntemi; AA'nın bir Cu(II)-2,9 dimetil-1,10 fenantrolin(neocuproine Nc) reaktifi ile pH 7 de amonyum asetatlı ortamda dehidroaskorbik aside oksidasyonuna dayanır, oluşan bis(Nc)-bakır(I) kelatının (Şekil 3.2) absorpsansı 450 nm'de ölçülür (Güçlü vd., 2005).



Şekil 3.2 Bis(Nc)-bakır(I) kelatı

Absorbans, Agilent 8453 UV-Visible spektrofotometre ile kalınlığı 1 cm olan kuvarz küvetlerle ölçüldü. pH ölçümleri kombine bir pH elektrot ile yapıldı. Kinetik işlemlerde aktivite katsayısını sabit tutmak için iyonik şiddet, I=0,1 M olacak şekilde KNO₃ ile, ayarlandı. Bütün deneyler 25 °C' de ve sıcaklığı kontrol edilen (±0,5°C) termostat sistemi içinde gerçekleştirildi.

3.5.1 Örnek Hazırlanması ve Kinetik Ölçümler

Cu(II)-Nc reaktifi ile kinetik AA tayini yapmak için; deney tüpleri içerisine sırasıyla 10^{-2} M'lık CuCl_2 'den 1 mL, $7,5 \times 10^{-3}$ M Nc çözeltisinden 1 mL, 1 M amonyum asetat çözeltisinden 1 mL konuldu ve tüplerin ağızları kapatılarak ölçümler için hazır hale getirildi.

100 mL'lik balonjoje içerisine 0,1 M KNO_3 , 0,0015 M tampon, çalışılacak konsantrasyonu ($0,785 \times 10^{-7}$ - $6,28 \times 10^{-7}$ M) elde edecek şekilde, $1,57 \times 10^{-5}$ M'lık stok bakır veya demir nitrat çözeltisi, çalışılacak konsantrasyonu (10^{-4} - 4×10^{-3} M) elde edecek şekilde, 10^{-2} M'lık aspartam çözeltisi ilave edildi. Sonra karışıma hızla $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit ilave edildikten sonra kronometreye basıldı ve örnek çözeltinin pH'ı ölçüldü. Başlangıçta reaksiyon karışımından 0,6 mL alınıp Cu(II)-Nc li karışımı bulunan tüpe kondu ve üzerine 1,4 mL su ilave edildi, tüp iyice karıştırıldı ve 2 dakika kompleks oluşumu için bekletildi. Küvetler çözeltiyle yıkandıktan sonra 450 nm'de askorbik asit içermeyen blanke karşı absorbans okundu. Örnek çözelti, sıcaklığı 25°C 'de bulunan erlenmayere alındı. Reaksiyon süresince çözeltiden akış hızı 60 L/saat olan hava oksijeni geçirildi. Hava akımı önce bir su dolu yıkama şişesinden geçirilerek su buharıyla doyuruldu. Reaksiyon hızı, oksijenin çözünme hızına göre düşük olduğu için reaksiyon çözeltisinin oksijenle doyurulmuş olduğu kabul edildi. Belli zaman aralıklarında, yaklaşık 10 dakika, reaksiyon karışımından örnekler alınarak absorbansı okundu. Elde ettiğimiz pikler spektrofotometrede üst üste çakıştırıldı. İzlenen her reaksiyon periyodu (60 dak.) sonunda çalışma çözeltisinin pH değerleri yeniden ölçülerek kontrol edildi. Tüm deneyler üç kez tekrarlandı ve sonuçlar ortalama olarak verildi.

3.5.2 AA saptama prosedürü

Bir mL Cu(II) çözeltisi bir deney tübü içine kondu ve sonra 1 mL Nc, son pH'ı 7'ye getirmek için 1 mL amonyum asetat, (2-x) mL su ve x: 0,6 mL AA çözeltisi bu sırayla eklendi. İki dakika sonra 450 nm'de blanke karşı absorbans okundu. APM varlığında ve yokken geçiş metal katalizli AA otoksidasyonu bu yolla izlendi.

3.5.3 Cu(II)-aspartam Kompleks Stokiyometrisinin UV Spektrofotometrik İncelenmesi

Deney tüpleri içerisine 0,1 M KNO_3 kondu, üzerine 1 mL tampon çözelti ilave edildi. Daha sonra $1,0 \times 10^{-3}$ M bakır(II)nitrat ve $1,0 \times 10^{-3}$ M aspartam çözeltisinden 0-10, 1-9,.....9-1, 10-0 mL-mL ilave edildi. Bu karışım 258 nm dalga boyunda bakır içermeyen blanke karşı okundu. Aynı işlem bakır(II)nitrat çözeltisi yerine su konularak yapıлып absorbansı okundu.

Bakır(II)nitrat-aspartam ve su-aspartamly karışımlyarın A_{258} 'deki değerylerinin farkı alındı. Bu fark absorbans değeryleri (Cu-APM kompleksine ait) ile Cu(II) yada APM'nin mol fraksiyonu arasında grafik çizildi. pH 3,2, 4,5, 5,6 için Cu(II)-aspartam komplekslerinin stokiyometrilery Job metodu kullanılarak saptandı.

4. SONUÇLAR

4.1 Kompleks stokiyometrisi

Çizelge 4.8'den yararlanılarak üç değişik pH için çizilen Job eğrileri Şekil 4.26'da gösterildi ve Cu-APM stokiyometrilere 1:1 (mol/mol) bulundu. AA katalitik oksidasyonunda oluşan APM-Cu(II)-OH ara ürününün stokiyometrisi de 1:1'dir (Lawrence ve Yuan, 1996).

4.2 Kinetik çalışmalar

4.2.1 Teorik yaklaşım

Askorbik asidin pKa değerleri 4,1 ve 11,79'dur (Weast, 1982). Askorbik asidin dissosiyasyon olmamış (H_2A) ve monoionik HA^- şekilleri pH 3,2 ile 5,6 aralığındaki çözeltide bulunan başlıca türlerdir. $Cu(NO_3)_2$ ve $Fe(NO_3)_3$ katalizör olarak kullanılmıştır, çünkü bakır inorganik anyonlar arasında nitrat ile daha az stabil kompleks verir. Sülfat ve klorür bakır ile daha stabil kompleksler oluşturur, bunların hepsi de nispeten zayıftır.

H_2A 'nın oldukça fazla miktarda oksijen ile (doygunluk hali) bakır katalizli oksidasyonu birinci derece kinetiğini izler (Khan ve Martell, 1967 a, b; Ogatta vd., 1968).

Reaksiyon hızı şöyle ifade edilir;

$$\frac{d[H_2A]}{dt} = k[H_2A] \quad (450 \text{ nm deki } Cu(II)\text{-Nc absorbansı ile orantılıdır. Şekil 4.1) \quad (4.1)$$

Burada;

$[H_2A]$ = Askorbik asit konsantrasyonu($mol.L^{-1}$)

t = Reaksiyon süresi(dak.)

k= Birinci dereceden hız sabiti(dak^{-1})

Askorbik asidin UV ışını absorpladığı dalga boylarında yapılan absorbans ölçümlerinden Log. Absorbansın zamana karşı çizilen grafiği bir doğru verdiğiinden;

Eğim; $-k/2,303$ e eşittir.

4.2.2 Katalizörsüz ve Bakır(II) veya Demir(III) İyon Katalizli Oksidasyon

Katalizörsüz ve Cu(II) veya Fe(III) iyon katalizli askorbik asit ($5,67 \times 10^{-4}$ M) oksidasyonu $25^\circ C$ 'de ve iyonik şiddet $I=0,1$ M olacak şekilde (0, 0,785, 1,57, 3,14, 4,71, 6,28) $\times 10^{-7}$ M bakır veya demir iyonları varlığında gerçekleştirildi ve neocuproine belirteci kullanılarak spektroskopik AA tayini yapıldı. Oda sıcaklığında çalışılma nedeni; $40^\circ C$ 'de kısmen APM'nin Fenton tipi reaksiyonlarla benzaldehite degrade olması (Lawrence ve Yuan, 1996),

80-90 °C'de aspartamın aspartil-fenil alanin ve diketopiperazine bozulmasıdır (Prudel vd., 1986). Reaksiyon pH 3,2–5,6 aralığında asetat tamponlu veya asetat tamponlu aspartam (10^{-4} - 4×10^{-3} M) çözeltileri varlığında veya aspartam çözeltisi olmadan ortalama 60 dakika boyunca izlendi. İlk bir saatte katalizör (bakır veya demir) olmadan askorbik asidin yalnızca % 1,5'i okside oldu. Birinci derece hız sabitleri lineer regresyon analiz ile bulundu. Askorbik asidin zaman içinde geçiş metal katalizli oksidasyonu, katalizlenmemiş reaksiyon için bir denkleştirme ile değerlendirildi. Verilen bir pH için, bakır veya demir iyonlarının konsantrasyonlarının artmasıyla hızın arttığı gözlemlendi. Asetat tamponunda aspartam çözeltileri varlığında ve yokluğunda askorbik asit oksidasyonu ile ilgili Log Absorbans'a karşı Zaman(dak.) eğrilerinin kinetik verileri Çizelge 4.1-4.5'de ve Şekil 4.2–4.22'de verilmiştir.

4.2.3 Bakır Katalizli Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine pH Etkisi

Aspartamlı (Şekil 4.33) ya da aspartamsız (Şekil 4.32) asetat tamponlu çözeltide bakır katalizli askorbik asit oksidasyonunun reaksiyon hızı, pH'ın 3,2 'den 5,6'ya yükselmesiyle arttı (Çizelge 4.9). Aspartam olmadan asetat tamponlu çözeltide Cu(II) konsantrasyonu arttıkça pH'ın 5,6'ya çıkmasıyla, HA-Cu(II)-asetat geçiş türlerinin oluşumunu sağlayan monohidrojen askorbat (HA^-) miktarının artmasından dolayı, reaksiyon hızı hızla artmıştır (Şekil 4.32). Bununla birlikte APM varlığında hız pH ile artar, fakat etkili değildir (Şekil 4.33). Çünkü oluşan kararlı APM kompleksi üçlü HA-Cu(II)-APM geçiş türlerinin oluşumunu engeller.

4.2.4 Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine Cu(II) Konsantrasyonu Etkisi

Cu(II) iyon varlığında ve yokluğunda birinci mertebeden hız sabitleri arasındaki fark hız karakteristiği olarak alındı (k_d). Asetat tamponlu veya asetat tamponlu aspartam çözeltisi varlığında, değişik pH değerlerinde toplam Cu(II) konsantrasyonuna göre $K[Cu(II)]$ karşılık olan fark hız sabitleri (k_d) değişimi Şekil 4.27, 4.28, 4.29'da verildi. k_d ile Cu(II) konsantrasyonu arasında çizilen grafikten lineer regresyon analiziyle spesifik hız sabitleri, K, bulundu (Çizelge 4.9) Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyon katalizli askorbik asit oksidasyonunun spesifik hız sabitleri, K, pH 4,5 ve 5,6'da asetat tamponlu olanlara göre daha düşük bulundu, fakat pH 3,2'de spesifik hız sabitleri pek değişmedi (Çizelge 4.9).

4.2.5 Aspartam varlığında Cu(II) Katalizli Askorbik Asit Oksidasyonu

Seçilen pH değerlerinde Cu(II) aspartam katalizli reaksiyonlar için spesifik hız sabitleri, K, Çizelge 4.9'da verildi. Tabloda verilen hız sabitleri Şekil 4.27, 4.28, 4.29'daki doğruların

eğimlerinden bulundu. Çizelgeye göre pH 5,6'da APM konsantrasyonunun artmasıyla spesifik hız sabitlerinde, (K), belirgin bir düşme gözlemlendi; pH 3,2'de Cu(II)-APM kompleksleşmesi ihmal edilebilir bir seviyede olduğu için bir azalma gözlemlenemedi.

4.2.6 Pepsi Kola Light'da Askorbik Asit Oksidasyonunun İzlenmesi

Aspartam içeren (0,35 g/kg=1,2x10⁻⁴ M) Pepsi-Kola Light gibi gerçek örneklerde AA'nın oksidasyon kinetiği, Cu(II) -Nc spektrofotometrik metot kullanılarak izlendi. pH 3,2 ve 4,5'da 1,57x10⁻⁷ M Cu(II) konsantrasyonunda, yalnız başına 5,67x10⁻⁴ M askorbik asit ile Light kola ve aspartam içeren 5,67x10⁻⁴ M askorbik asit ile Light Kola çalışıldı. Her iki pH değerinde kola örneğinde bakır katalizli AA oksidasyon hız sabitinde saf sentetik çözeltiye göre 1/5–1/4 azalma görüldü. pH 4,5'de APM konsantrasyonunun artmasıyla hız azalırken, pH 3,2'de zayıf Cu(II)-APM kompleks oluşumundan dolayı hızda değişiklik görülmedi (Çizelge 4.6, 4.7). pH 4,5'da APM konsantrasyonunun artmasıyla hızlardaki azalma sentetik saf çözeltiye oranla kolada daha azdı, çünkü kolanın içinde AA oksidasyonunu engelleyen başka koruyucular (kola konsantresinden ekstrakte edilen flavonoidler gibi) vardı.

4.2.7 Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine Fe(III) Konsantrasyonu Etkisi

Cu(II) iyon katalizli oksidasyonda olduğu gibi, Fe(III) iyon katalizli oksidasyon için de reaksiyona girmeyen askorbik asidin toplam konsantrasyonuna bağlı olarak, reaksiyonun birinci mertebeden olduğu bulundu. Toplam Fe(III) konsantrasyonuna bağlı olarak pH 4,5'da hızda lineer bir değişim gözlemlendi, Fe(III) iyonlarının katalitik etkisi görüldü.

Düşük pH değerlerinde Fe(III) iyonları büyük oranda hidrolize uğrar. Hedstrom tarafından verilen hidroliz sabitleri yardımıyla demir iyon konsantrasyonu hidroliz için düzeltilmedi (Hedstrom, 1953). Hidroliz denklemleri şöyledir:



$$K_{h1} = [\text{Fe}(\text{OH})^{2+}] [\text{H}^+] / [\text{Fe}^{3+}] \quad (4.3)$$



$$K_{h2} = [\text{Fe}(\text{OH})_2^+] [\text{H}^+] / [\text{Fe}(\text{OH})^{2+}] \quad (4.5)$$

Eğer [Fe (III)]_t metal türlerinin toplam konsantrasyonunu gösterirse, hidroliz olmayan demir iyonu, Fe³⁺, konsantrasyonu

$$[Fe^{3+}] = [Fe(III)]_t (1 + K_{h1} / [H^+] + K_{h1} K_{h2} / [H^+]^2)^{-1} \quad (4.6)$$

denklemini yardımıyla hesaplanabilir.

pH 4,5’de toplam demir konsantrasyonuna bağlı olarak 25°C’deki hız sabitlerindeki değişimler Şekil 4.30’da verilmiştir. Spesifik hız sabitleri, K, Şekil 4.30’daki doğrunun eğiminden bulundu (Çizelge 4.10). Genellikle pH 4,5’de Fe(III) katalizli oksidasyonun spesifik hız sabitleri, K, Cu(II) katalizli oksidasyonun spesifik hız sabitlerinden, K, bir derece daha düşüktür. pH≥5’de Fe(III) ile AA redüksiyonu oldukça yavaştır (Hsieh ve Hsieh, 2000). APM varken ve yokken Fe(III) ile daha düşük hız sabitleri bulundu ve pH≥4 olduğu durumlarda kompleksleşme ve Fe(III) hidrolizinin zayıf tersinirliği nedeniyle beklenenin tersine APM konsantrasyonunun artmasıyla spesifik hız sabitlerinin artmasına yol açtı (Çizelge 4.10). Fe(III) ile düşük pH’larda yapılan deneylerde çelişkili sonuçlar elde edildi, çünkü APM’nin pK_{a1} değeri komplekslenmenin olası olmadığı 3,1’dir.

4.2.8 Aspartam Varlığında Geçiş Metal Katalizli AA Oksidasyonunun Genel Özellikleri

Askorbik asidin oksidasyon hızı üzerine pH, bakır ve demir iyon konsantrasyonu ve aspartam konsantrasyonu etkisi şöyle özetlenebilir:

- 1) Cu(II) ve Fe(III) iyon konsantrasyonu arttırıldığında hız da arttı (Şekil 4.2–4.22).
- 2) Aspartam varlığında veya aspartam yokken asetat tamponlu çözeltide bakır katalizli AA oksidasyonun hız sabitleri pH 3,2’ den 5,6’ ya arttırıldığında arttı (Şekil 4.32, 4.33). Aspartam olmadan pH ile hız sabitlerindeki artış daha belirgindir (Şekil 4.32).
- 3) Bakır katalizli oksidasyonda pH 4,5 ve 5,6’ da aspartam konsantrasyonunun artırılmasıyla spesifik hız sabiti, K, azaldı, fakat pH 3,2’ de zayıf Cu(II) –APM kompleks oluşumundan dolayı hızlar değişmedi (Çizelge 4.9).

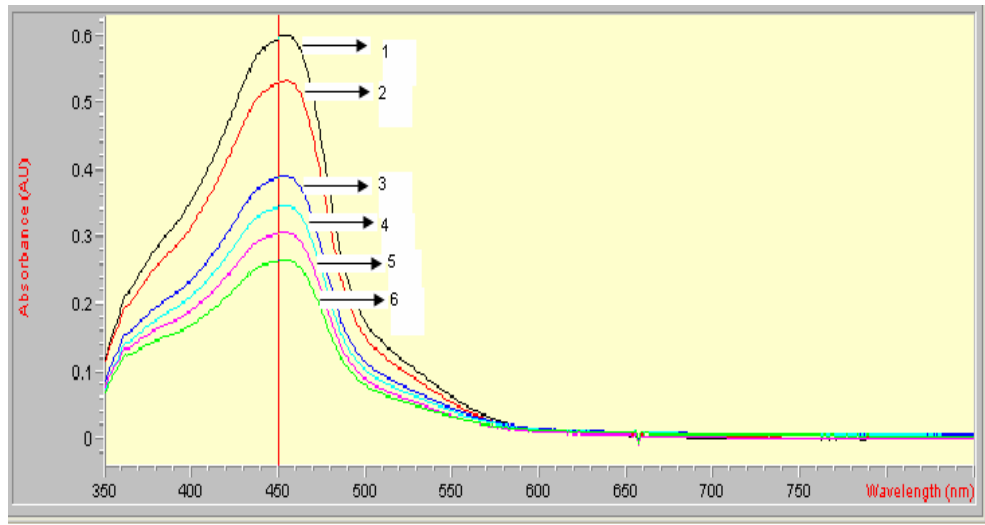
Mono ve bis Cu-asetat kompleksleri için kararlılık sabitleri (Logβ_n) 2,16 ve 3,2’ dir (Inczedy, 1976). Cu(II)- asetat için en yüksek reaksiyon hızı pH 5,6’ da bulundu (Çizelge 4.9). Bununla birlikte, asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde aynı pH aralığında reaksiyon hızları azaldı. Serbest sulu Cu²⁺ iyonu ve zayıf Cu(II)- asetat kompleksleri, kararlı Cu(II)- aspartam komplekslerine göre daha büyük miktarda AA oksidasyonunu katalizler. Cu-aspartam komplekslerinin CuL⁺ ve CuL₂ için kararlılık sabitleri 6,097 ve 10,84’ dür (Kholeif ve Anderegg, 1997).

Cu(II) iyon ve tampon konsantrasyonu aralığı için serbest Cu(II) iyonlarının toplam Cu(II) iyonlarına oranının 1/1,22 olduğu Cu-asetat sisteminde serbest Cu(II) konsantrasyonu önemli olabilir. Aspartam sisteminde kararlı kompleks oluşumunun aşırı olduğu (en az 100 kez fazla) çözeltilerde serbest Cu(II) konsantrasyonu önemsiz seviyededir. Çünkü bakırın büyük bir kısmı aspartam ile sağlam bir kompleks vermiştir (Bakır-asetat ve bakır-aspartam komplekslerinin oluşum yüzdeleri hesaplanmıştır. EK:1).

Bizim bulgularımız genel olarak literatürdekilerle uyum içindedir. Örneğin Khan Martell monohidrojen askorbat (HA^-) üzerinden Cu iyonlarının katalitik aktivitesinin Fe iyonunkinden daha fazla olduğunu, H_2A 'nın nötral türlerinin baskın olduğu asidik pH aralığında katalitik sıranın yukarıdakinden farklı olabileceğini söylemiştir (Khan ve Martell, 1967a). pH 4,4'de Fe(III) katalizli AA oksidasyonunun hız sabitleri $0,2 M H^+$ içeren ortamda gözlenenden çok daha yavaş bir reaksiyon göstermiştir ve Fe(III)-ligand-monohidojenaskorbat içeren üçlü bir geçiş kompleksi, iç kabuk elektron reaksiyonunda önemlidir (Xu ve Jordan, 1990; Bansch vd., 1991). Khan ve Martell, AA oksidasyonunda bakır ve demir kelatların stabilitesinin, onların katalitik aktivitesiyle doğrusal ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (Khan ve Martell, 1967a). Yani metal katalizli oksidasyonun yavaş basamağında $HA-Cu(II)-L$ üçlü kompleksinin dissosiyasyon olduğu ve $Cu(II)L$ 'nin stabilitesi artarken CuL 'nin, HA^- (hidrojen askorbat) ile bir ligand karışımı oluşturma meyili azalır. Hsieh ve Harris'in Cu(II) katalizli AA oksidasyonuna aspartamın rolü üzerine bulduğu sonuçlar önceden bulunanlara ters düşmekteydi. Bakır katalizli sistemde APM'nin varlığında bizim elde ettiğimiz bulgular, Khan Martell'inkilerle uygunluk göstermektedir.

pH'nin bir fonksiyonu olarak oluşan Cu(II) kelatlar ve onların stabiliteeleri, katalitik aktivitelerin değerlendirilmesinde dikkate alınmalıdır. Askorbik asidin Cu(II)- aspartam katalizli oksidasyonu için iki mekanizma önerilmiştir. (1) Serbest Cu(II) iyonu ile dengede olan kelat bileşiğinin bir dissosiyasyon mekanizması ya da (2) Cu(II)-tampon kelatlarının bir elektron transfer olayına direkt katılımı (Martell, 1982). Birinci mekanizmanın kuvvetli metal kelatlar için geçersiz olduğu daha önce gösterilmiştir (Khan ve Martell, 1967 a). İkinci mekanizmaya göre, aspartam ligandı ile bakır kelatı askorbik asit monoanyonu ile üçlü bir geçiş kompleksi oluşturabilir. Bu kompleks yavaş bir reaksiyon ile Cu(I)-aspartam kelat kompleksi ve askorbik asidin radikal ürününe, $[•HA]$, dönüşebilir (Imer vd., 2003). Moleküler oksijen ile son reaksiyondan sorumlu askorbil radikali, (kendiliğinden dehidroaskorbik aside dönüşebilen AA) (Şahbaz ve Somer, 1993), Cu(II)-histidin-AA reaksiyon sisteminde ESR teknikleriyle saptanmıştır (Scarpa vd., 1996). Bakır katalizli AA oksidasyonunda aspartamın

önleyici rolü önemlidir, çünkü besinlerin koruyucu beslenme değerlerinde antioksidanların sinerjik rolleri amaçlardandır. Örneğin glutathionun (GSH) AA'nın Cu(II) katalizli otksidasyonundaki koruyucu rolü 1:1 GSH'ın Cu(I) ile 1:1 kelat oluşumuna bağlanmıştır; dolayısıyla bakıra katalizör olarak ihtiyaç vardır (Ohta vd., 2000). GSH'ın AA ile oksidasyon davranışı, AA ile GSH'ın tiyil radikalinin hızlı bir redüksiyonu ile açıklanabilir ve Cu(II) katalizli oksidasyon esnasında hidroksil radikalinin oluşumu GSH doz- bağımlılığını geciktirir. GSH ve AA'nın canlılardaki birlikte rolü ve hem de tüpte APM ve AA içeren içecekler benzer bir sinerjistik etki gösterebilir. Literatürlerdeki benzer bulgulara göre AA, membran içinde α -tokoferoksil radikallerini hızlıca α -tokoferole redükler, bu esnada AA'nın oksidasyonu askorbat ve sinerjistik etki oluşturan α -tokoferol tarafından inhibe edilir (Niki vd., 1995). AA için benzer çalışma Apak tarafından yapılmıştır. 20 dakika 50° C'de portakal suyundaki flavonoidler varlığında havalandırılmış çözeltide askorbik asit degradasyonu önemsiz olup, kompleks örneklerinde birlikte antioksidanların sinerjistik rolü araştırılmıştır (Yayınlanmamış Veri).



#	Name	Abs<450nm>
1	1 dak.	0.59542
2	3,5 dak	0.52964
3	5,5 dak	0.38795
4	9 dak.	0.34482
5	12 dak.	0.30518
6	15 dak.	0.26411

Şekil 4.1 450 nm'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait örnek spektrum ve absorpsiyon değerleri

Çizelge 4.1 Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, **pH 3,2**'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
0	0,785x10 ⁻⁷	10	0,611	-0,214	5,30x10 ⁻³	0,901
		20	0,554	-0,256		
		30	0,547	-0,262		
		40	0,495	-0,305		
		50	0,498	-0,303		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,662	-0,179	8,75x10 ⁻³	0,957
		10	0,582	-0,235		
		20	0,533	-0,273		
		40	0,483	-0,316		
		50	0,411	-0,386		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,595	-0,225	11,3x10 ⁻³	0,954
		10	0,529	-0,277		
		20	0,471	-0,327		
		30	0,424	-0,373		
		40	0,415	-0,382		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,577	-0,239	19,1x10 ⁻³	0,992
		10	0,523	-0,281		
		20	0,421	-0,376		
		30	0,326	-0,487		
		40	0,284	-0,547		
6,28x10 ⁻⁷	2	0,585	-0,233	26,3x10 ⁻³	0,998	
	10	0,489	-0,311			
	20	0,369	-0,433			
	30	0,274	-0,562			
	40	0,274	-0,562			
10 ⁻⁴	0,785x10 ⁻⁷	3	0,624	-0,205	3,68x10 ⁻³	0,908
		10	0,590	-0,229		
		20	0,572	-0,243		
		40	0,551	-0,259		
		50	0,512	-0,291		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,628	-0,202	6,91x10 ⁻³	0,961
		10	0,601	-0,221		
		20	0,530	-0,276		
		30	0,512	-0,291		
		40	0,468	-0,330		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,612	-0,213	8,29x10 ⁻³	0,985
		10	0,550	-0,260		
		20	0,505	-0,297		
		30	0,477	-0,321		
		50	0,405	-0,393		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,623	-0,205	12,9x10 ⁻³	0,980
		10	0,566	-0,246		
		20	0,503	-0,298		
		30	0,404	-0,394		
		40	0,382	-0,418		
6,28x10 ⁻⁷	2	0,607	-0,217	23,9x10 ⁻³	0,993	
	10	0,489	-0,311			
	20	0,376	-0,425			
	30	0,284	-0,547			
	40	0,234	-0,631			
50	0,194	-0,712				

Çizelge 4.1 (Devam) Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, **pH 3,2**'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
5x10 ⁻⁴	0,785x10 ⁻⁷	2	0,589	-0,230	2,79x10 ⁻³	0,921
		10	0,596	-0,225		
		30	0,552	-0,258		
		45	0,528	-0,277		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,655	-0,184	7,14x10 ⁻³	0,933
		10	0,629	-0,201		
		20	0,618	-0,209		
		30	0,549	-0,260		
		40	0,534	-0,272		
		50	0,459	-0,338		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,631	-0,200	8,98x10 ⁻³	0,990
		10	0,604	-0,219		
		20	0,527	-0,278		
		30	0,495	-0,305		
		40	0,447	-0,350		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,597	-0,224	12,9x10 ⁻³	0,987
		10	0,576	-0,240		
		20	0,507	-0,295		
		30	0,430	-0,367		
		40	0,386	-0,413		
6,28x10 ⁻⁷	2	0,578	-0,238	23,5x10 ⁻³	0,975	
	10	0,483	-0,316			
	20	0,346	-0,461			
	30	0,262	-0,582			
	40	0,224	-0,650			
10 ⁻³	0,785x10 ⁻⁷	10	0,629	-0,201	5,07x10 ⁻³	0,972
		20	0,613	-0,213		
		30	0,580	-0,237		
		45	0,528	-0,277		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,637	-0,196	6,45x10 ⁻³	0,936
		10	0,619	-0,208		
		20	0,604	-0,219		
		30	0,569	-0,245		
		40	0,518	-0,286		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,654	-0,184	9,67x10 ⁻³	0,992
		10	0,581	-0,236		
		20	0,551	-0,259		
		30	0,489	-0,311		
		40	0,445	-0,352		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,616	-0,210	13,1x10 ⁻³	0,994
		10	0,569	-0,245		
		20	0,488	-0,312		
		30	0,413	-0,384		
		40	0,379	-0,421		
	6,28x10 ⁻⁷	2	0,636	-0,197	25,1x10 ⁻³	0,982
10		0,523	-0,281			
20		0,377	-0,424			
30		0,280	-0,553			
40		0,229	-0,640			
		50	0,201	-0,697		

Çizelge 4.1 (Devam) Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, **pH 3,2**'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
2x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁷	2	0,669	-0,175	7,14x10 ⁻³	0,871
		10	0,614	-0,212		
		20	0,570	-0,244		
		30	0,526	-0,279		
		40	0,552	-0,258		
	3,14x10 ⁻⁷	50	0,447	-0,350	9,67x10 ⁻³	0,969
		2	0,622	-0,206		
		10	0,601	-0,221		
		20	0,552	-0,258		
		30	0,522	-0,282		
	4,71x10 ⁻⁷	45	0,427	-0,370	12,2x10 ⁻³	0,992
		2	0,617	-0,210		
		10	0,579	-0,237		
		20	0,506	-0,296		
		30	0,457	-0,340		
	6,28x10 ⁻⁷	45	0,365	-0,438	24,4x10 ⁻³	0,997
		2	0,612	-0,213		
		10	0,487	-0,312		
		20	0,383	-0,417		
		30	0,293	-0,533		
4x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁷	45	0,214	-0,670	7,37x10 ⁻³	0,903
		2	0,968	-0,014		
		10	0,913	-0,040		
		20	0,949	-0,023		
		40	0,733	-0,135		
	3,14x10 ⁻⁷	50	0,693	-0,159	15,6x10 ⁻³	0,986
		2	0,932	-0,031		
		20	0,656	-0,183		
		30	0,595	-0,225		
		40	0,483	-0,316		
	4,71x10 ⁻⁷	50	0,440	-0,357	18,7x10 ⁻³	0,989
		2	0,752	-0,124		
		10	0,661	-0,180		
		20	0,582	-0,235		
		30	0,482	-0,317		
	6,28x10 ⁻⁷	40	0,374	-0,427	23,5x10 ⁻³	0,987
		50	0,311	-0,507		
		2	0,739	-0,131		
		10	0,639	-0,194		
		20	0,536	-0,271		
	6,28x10 ⁻⁷	30	0,414	-0,383		
		45	0,269	-0,570		

Çizelge 4.2 Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, **pH 4,5**'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
0	0,785x10 ⁻⁷	10	0,510	-0,292	9,70x10 ⁻³	0,918
		20	0,427	-0,370		
		30	0,376	-0,425		
		40	0,370	-0,432		
		50	0,338	-0,471		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,635	-0,197	24,2x10 ⁻³	0,993
		10	0,488	-0,312		
		21	0,358	-0,446		
		33	0,302	-0,520		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,568	-0,246	45,6x10 ⁻³	0,999
		10	0,388	-0,411		
		20	0,244	-0,613		
		30	0,159	-0,799		
	4,71x10 ⁻⁷	3	0,494	-0,306	64,0x10 ⁻³	0,953
		10	0,281	-0,551		
		15	0,189	-0,724		
		20	0,134	-0,873		
	6,28x10 ⁻⁷	25	0,129	-0,889	75,7x10 ⁻³	0,943
		1	0,534	-0,272		
		5	0,311	-0,507		
10		0,209	-0,680			
15		0,141	-0,851			
10 ⁻⁴	0,785x10 ⁻⁷	20	0,127	-0,896	9,00x10 ⁻³	0,978
		2	0,557	-0,254		
		12	0,503	-0,298		
		20	0,453	-0,344		
		30	0,408	-0,389		
	1,57x10 ⁻⁷	41	0,388	-0,411	20,7x10 ⁻³	0,950
		50	0,360	-0,444		
		3	0,762	-0,118		
		10	0,652	-0,186		
		20	0,462	-0,335		
	3,14x10 ⁻⁷	30	0,364	-0,439	34,3x10 ⁻³	0,947
		40	0,329	-0,483		
		50	0,297	-0,527		
		2	0,530	-0,276		
		10	0,407	-0,390		
	4,71x10 ⁻⁷	20	0,238	-0,623	42,8x10 ⁻³	0,917
		30	0,179	-0,747		
		40	0,154	-0,812		
		2	0,532	-0,274		
		10	0,326	-0,487		
6,28x10 ⁻⁷	15	0,224	-0,650	61,4x10 ⁻³	0,838	
	20	0,192	-0,717			
	25	0,173	-0,762			
	30	0,164	-0,785			
	2	0,574	-0,241			
	5	0,536	-0,271			
6,28x10 ⁻⁷	10	0,252	-0,599	61,4x10 ⁻³	0,838	
	15	0,170	-0,770			
	20	0,163	-0,788			
	25	0,165	-0,783			

Çizelge 4.2 (Devam) Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, pH 4,5’de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
5x10 ⁻⁴	0,785x10 ⁻⁷	2	0,540	-0,268	7,60x10 ⁻³	0,964
		10	0,502	-0,299		
		20	0,496	-0,305		
		30	0,445	-0,352		
		40	0,395	-0,403		
		50	0,382	-0,418		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,762	-0,118	16,4x10 ⁻³	0,965
		10	0,651	-0,186		
		20	0,503	-0,298		
		30	0,424	-0,373		
		40	0,399	-0,399		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,558	-0,253	25,0x10 ⁻³	0,941
		10	0,429	-0,368		
		20	0,284	-0,547		
		30	0,219	-0,660		
		40	0,192	-0,717		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,604	-0,219	30,9x10 ⁻³	0,912
		10	0,430	-0,367		
		20	0,271	-0,567		
		25	0,226	-0,646		
30		0,220	-0,658			
40		0,198	-0,703			
6,28x10 ⁻⁷	2	0,606	-0,218	51,8x10 ⁻³	0,980	
	5	0,486	-0,313			
	10	0,376	-0,425			
	15	0,270	-0,569			
	20	0,213	-0,672			
10 ⁻³	0,785x10 ⁻⁷	2	0,546	-0,263	5,76x10 ⁻³	0,868
		10	0,549	-0,260		
		20	0,545	-0,264		
		30	0,508	-0,294		
		40	0,444	-0,353		
		50	0,425	-0,372		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,749	-0,126	15,2x10 ⁻³	0,996
		10	0,677	-0,169		
		20	0,590	-0,229		
		30	0,489	-0,311		
		40	0,434	-0,363		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,556	-0,255	23,0x10 ⁻³	0,990
		10	0,465	-0,333		
		20	0,348	-0,458		
		30	0,277	-0,558		
		40	0,218	-0,662		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,649	-0,188	29,0x10 ⁻³	0,963
		10	0,449	-0,348		
		20	0,318	-0,498		
		30	0,250	-0,602		
6,28x10 ⁻⁷	2	0,600	-0,222	44,9x10 ⁻³	0,982	
	5	0,573	-0,242			
	10	0,413	-0,384			
	15	0,320	-0,495			
	20	0,264	-0,578			
25	0,230	-0,638				

Çizelge 4.2 (Devam) Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, **pH 4,5**'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r ²
2x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁷	3	0,629	-0,201	12,0x10 ⁻³	0,987
		10	0,591	-0,228		
		20	0,517	-0,287		
		30	0,437	-0,360		
		40	0,398	-0,400		
		50	0,368	-0,434		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,601	-0,221	20,0x10 ⁻³	0,996
		10	0,548	-0,261		
		20	0,421	-0,376		
		30	0,351	-0,455		
		50	0,236	-0,627		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,612	-0,213	25,6x10 ⁻³	0,990
		10	0,452	-0,345		
		20	0,365	-0,438		
		30	0,297	-0,527		
		40	0,220	-0,658		
	6,28x10 ⁻⁷	2	0,573	-0,242	33,4x10 ⁻³	0,993
		10	0,447	-0,350		
		20	0,305	-0,516		
		30	0,214	-0,670		
35		0,200	-0,699			
4x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁷	2	0,696	-0,157	7,60x10 ⁻³	0,988
		10	0,663	-0,178		
		20	0,618	-0,209		
		30	0,551	-0,259		
		40	0,532	-0,274		
		50	0,488	-0,312		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,678	-0,169	12,2x10 ⁻³	0,969
		10	0,599	-0,223		
		20	0,581	-0,236		
		30	0,456	-0,341		
		40	0,427	-0,370		
		50	0,379	-0,421		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,705	-0,152	19,1x10 ⁻³	0,986
		10	0,638	-0,195		
		20	0,493	-0,307		
		31	0,385	-0,415		
		40	0,334	-0,476		
		50	0,297	-0,527		
	6,28x10 ⁻⁷	2	0,660	-0,180	23,3x10 ⁻³	0,990
		10	0,561	-0,251		
20		0,464	-0,333			
30		0,331	-0,480			
40		0,267	-0,573			
50		0,228	-0,642			

Çizelge 4.3 Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, pH 5,6'da $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorpsiyon değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
0	0,785x10 ⁻⁷	2	0,578	-0,238	19,4x10 ⁻³	0,980
		8	0,489	-0,311		
		13	0,427	-0,370		
		18	0,413	-0,384		
		35	0,299	-0,524		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,559	-0,253	33,2x10 ⁻³	0,938
		6	0,509	-0,293		
		10	0,396	-0,402		
		15	0,304	-0,517		
		20	0,286	-0,544		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,527	-0,278	92,8x10 ⁻³	0,991
		5	0,393	-0,406		
		10	0,226	-0,646		
		13	0,186	-0,730		
		15	0,161	-0,793		
	4,71x10 ⁻⁷	1,5	0,562	-0,250	174x10 ⁻³	0,966
		3	0,370	-0,432		
		5	0,247	-0,607		
		7	0,181	-0,742		
		9	0,151	-0,821		
6,28x10 ⁻⁷	1,5	0,501	-0,300	212x10 ⁻³	0,993	
	3	0,422	-0,375			
	5	0,252	-0,599			
	7	0,162	-0,790			
	10	0,153	-0,815			
10 ⁻⁴	0,785x10 ⁻⁷	2	0,600	-0,222	17,3x10 ⁻³	0,967
		8	0,581	-0,236		
		15	0,482	-0,317		
		20	0,423	-0,374		
		25	0,408	-0,389		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,677	-0,169	33,4x10 ⁻³	0,933
		5	0,538	-0,269		
		10	0,447	-0,350		
		15	0,361	-0,442		
		20	0,300	-0,523		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,499	-0,302	56,4x10 ⁻³	0,933
		5	0,530	-0,276		
		10	0,328	-0,484		
		13	0,261	-0,583		
		15	0,243	-0,614		
	4,71x10 ⁻⁷	1,5	0,528	-0,277	84,8x10 ⁻³	0,966
		3,5	0,448	-0,349		
		5,5	0,363	-0,440		
		9	0,230	-0,638		
		12	0,214	-0,670		
6,28x10 ⁻⁷	1,5	0,492	-0,308	126x10 ⁻³	0,983	
	3,5	0,446	-0,351			
	5,5	0,341	-0,467			
	7,5	0,237	-0,625			
	9,5	0,185	-0,733			

Çizelge 4.3 (Devam) Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, pH 5,6'da $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
5x10 ⁻⁴	0,785x10 ⁻⁷	2	0,624	-0,205	12,0x10 ⁻³	0,972
		10	0,609	-0,215		
		20	0,517	-0,287		
		30	0,444	-0,353		
		40	0,411	-0,386		
	1,57x10 ⁻⁷	2	0,615	-0,211	21,9x10 ⁻³	0,966
		5	0,582	-0,235		
		10	0,577	-0,239		
		20	0,414	-0,383		
		30	0,342	-0,466		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,618	-0,209	43,1x10 ⁻³	0,998
		5	0,538	-0,269		
		10	0,440	-0,357		
		13	0,376	-0,425		
		15	0,344	-0,463		
	4,71x10 ⁻⁷	20	0,287	-0,542	58,0x10 ⁻³	0,948
		1	0,595	-0,225		
		3,5	0,530	-0,276		
		5,5	0,388	-0,411		
		9	0,345	-0,462		
6,28x10 ⁻⁷	12	0,305	-0,516	76,5x10 ⁻³	0,991	
	15	0,264	-0,578			
	1,5	0,593	-0,227			
	4	0,500	-0,301			
	6	0,416	-0,381			
10 ⁻³	0,785x10 ⁻⁷	8	0,336	-0,474	6,68x10 ⁻³	0,982
		10	0,303	-0,519		
		15	0,216	-0,666		
		2	0,607	-0,217		
	1,57x10 ⁻⁷	20	0,550	-0,260	16,1x10 ⁻³	0,950
		30	0,514	-0,289		
		40	0,467	-0,331		
		2	0,587	-0,231		
		5	0,618	-0,209		
		10	0,566	-0,247		
	3,14x10 ⁻⁷	15	0,512	-0,291	26,3x10 ⁻³	0,989
		20	0,476	-0,322		
		30	0,389	-0,410		
		2	0,612	-0,213		
		12	0,470	-0,328		
	4,71x10 ⁻⁷	15	0,439	-0,358	40,5x10 ⁻³	0,984
		20	0,366	-0,437		
		25	0,343	-0,465		
		1,5	0,630	-0,201		
		4	0,579	-0,237		
6		0,587	-0,231			
6,28x10 ⁻⁷	10	0,417	-0,380	42,6x10 ⁻³	0,981	
	14	0,394	-0,405			
	20	0,296	-0,529			
	1,5	0,538	-0,269			
	4	0,526	-0,279			
	8	0,403	-0,395			
6,28x10 ⁻⁷	12	0,328	-0,484	42,6x10 ⁻³	0,981	
	16	0,292	-0,535			
	22	0,235	-0,629			
	22	0,235	-0,629			

Çizelge 4.3 (Devam) Farklı aspartam ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, **pH 5,6**'da $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r ²
2x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁷	2	0,654	-0,185	9,67x10 ⁻³	0,981
		10	0,595	-0,225		
		15	0,580	-0,237		
		20	0,570	-0,244		
		30	0,500	-0,301		
		40	0,448	-0,349		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,683	-0,166	22,3x10 ⁻³	0,989
		10	0,600	-0,222		
		15	0,514	-0,289		
		25	0,413	-0,384		
	4,71x10 ⁻⁷	1,5	0,667	-0,176	22,8x10 ⁻³	0,935
		6	0,580	-0,237		
		10	0,512	-0,291		
		15	0,450	-0,347		
	6,28x10 ⁻⁷	1,5	0,619	-0,208	32,7x10 ⁻³	0,997
		10	0,486	-0,313		
17		0,372	-0,429			
25		0,291	-0,536			
4x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁷	1,2	0,729	-0,137	7,37x10 ⁻³	0,999
		20	0,627	-0,203		
		30	0,588	-0,231		
		40	0,546	-0,263		
		50	0,508	-0,294		
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,710	-0,149	12,4x10 ⁻³	0,993
		10	0,651	-0,186		
		20	0,578	-0,238		
		30	0,495	-0,305		
		40	0,434	-0,363		
		50	0,402	-0,396		
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,667	-0,176	15,4x10 ⁻³	0,991
		10	0,609	-0,215		
		20	0,513	-0,290		
		30	0,430	-0,367		
		40	0,362	-0,441		
		50	0,333	-0,478		
	6,28x10 ⁻⁷	2	0,713	-0,147	18,4x10 ⁻³	0,985
		10	0,591	-0,228		
		20	0,475	-0,323		
30		0,390	-0,409			
40		0,330	-0,481			
50		0,299	-0,524			

Çizelge 4.4 Farklı aspartam ve Fe(III) konsantrasyonları varlığında, **pH 4,5**'de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Fe ³⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r ²
0	1,57x10 ⁻⁷	2	0,567	-0,246	7,14x10 ⁻³	0,936
		10	0,574	-0,241		
		20	0,542	-0,266		
		30	0,503	-0,298		
		40	0,446	-0,351		
	3,14x10 ⁻⁷	50	0,414	-0,383	8,06x10 ⁻³	0,858
		2	0,567	-0,246		
		10	0,583	-0,234		
		21	0,492	-0,308		
		30	0,501	-0,300		
	4,71x10 ⁻⁷	40	0,398	-0,400	9,90x10 ⁻³	0,959
		50	0,414	-0,383		
		2	0,608	-0,216		
		10	0,519	-0,285		
		20	0,493	-0,307		
	6,28x10 ⁻⁷	30	0,471	-0,327	12,2x10 ⁻³	0,986
		40	0,414	-0,383		
		50	0,357	-0,447		
		2	0,607	-0,217		
		10	0,516	-0,287		
10 ⁻⁴	1,57x10 ⁻⁷	20	0,480	-0,319	3,45x10 ⁻³	0,901
		31	0,411	-0,386		
		45	0,351	-0,455		
		3	0,820	-0,086		
		10	0,787	-0,104		
	3,14x10 ⁻⁷	25	0,776	-0,110	4,83x10 ⁻³	0,888
		35	0,766	-0,116		
		45	0,701	-0,154		
		55	0,681	-0,167		
		3	0,826	-0,083		
	4,71x10 ⁻⁷	10	0,772	-0,112	6,40x10 ⁻³	0,903
		20	0,767	-0,115		
		30	0,764	-0,117		
		40	0,674	-0,171		
		50	0,646	-0,190		
	6,28x10 ⁻⁷	3	0,837	-0,077	8,29x10 ⁻³	0,971
		10	0,749	-0,126		
		30	0,656	-0,183		
		40	0,654	-0,184		
		2	0,700	-0,155		
		10	0,632	-0,199		
		20	0,605	-0,218		
		30	0,548	-0,261		

Çizelge 4.4 (Devam) Farklı aspartam ve Fe(III) konsantrasyonları varlığında, **pH 4,5**' de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

[APM] (M)	[Cu ²⁺] (M)	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r ²
2x10 ⁻⁴	1,57x10 ⁻⁷	2	0,658	-0,182	5,53x10 ⁻³	0,706
		10	0,724	-0,140		
		20	0,616	-0,210		
		30	0,590	-0,229		
		40	0,615	-0,211		
	50	0,501	-0,300			
	3,14x10 ⁻⁷	2	0,635	-0,197	8,75x10 ⁻³	0,933
		10	0,653	-0,185		
		20	0,600	-0,222		
		30	0,551	-0,259		
		40	0,474	-0,324		
	50	0,435	-0,362			
	4,71x10 ⁻⁷	2	0,643	-0,192	10,4x10 ⁻³	0,952
		10	0,671	-0,173		
		20	0,557	-0,254		
30		0,511	-0,292			
40		0,465	-0,333			
50	0,402	-0,396				

Çizelge 4.5 Farklı pH değerlerinde $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

	t _{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r ²
pH 3,2	2	0,636	-0,197	0,92x10 ⁻³	0,805
	10	0,622	-0,206		
	30	0,611	-0,214		
	40	0,610	-0,215		
	50	0,611	-0,214		
pH 4,5	2	0,631	-0,200	1,38x10 ⁻³	0,945
	10	0,623	-0,206		
	20	0,624	-0,205		
	30	0,604	-0,219		
	50	0,597	-0,224		
pH 5,6	60	0,582	-0,235	3,45x10 ⁻³	0,869
	10	0,625	-0,204		
	30	0,597	-0,224		
	50	0,542	-0,266		
	60	0,557	-0,254		
70	0,492	-0,308			

Çizelge 4.6 Askorbik asit- kola karışımı ve askorbik asit-kola- APM karışımı için $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) konsantrasyonu varlığında, **pH 3,2**'de askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

10 ml kola / 100 ml [AA ($5,67 \times 10^{-4}$ M)+ Cu(II) ($1,57 \times 10^{-7}$ M) içeren çözelti]					
[APM] (M)	t_{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r^2
$1,2 \times 10^{-4}$ (100 ml kola içinde bulunan miktar)	2	0,721	-0,142	$6,68 \cdot 10^{-3}$	0,982
	10	0,702	-0,154		
	30	0,62	-0,208		
	45	0,543	-0,265		
$5,1 \times 10^{-4}$ (Toplam = 100 ml kola içinde bulunan+eklenen miktar)	2	0,683	-0,166	$5,99 \cdot 10^{-3}$	0,981
	10	0,670	-0,174		
	20	0,617	-0,210		
	30	0,573	-0,242		
$11,2 \times 10^{-4}$ (Toplam = 100 ml kola içinde bulunan+eklenen miktar)	2	0,697	-0,157	$6,91 \cdot 10^{-3}$	0,993
	10	0,678	-0,169		
	20	0,624	-0,205		
	30	0,579	-0,237		
	45	0,522	-0,282		

Çizelge 4.7 Askorbik asit- kola karışımı ve askorbik asit-kola- APM karışımı için $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) konsantrasyonu varlığında, **pH 4,5**'de askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbans değerlerinin, zamanla değişimi ve hız sabitleri

10 ml kola / 100 ml [AA ($5,67 \times 10^{-4}$ M)+ Cu(II) ($1,57 \times 10^{-7}$ M) içeren çözelti]					
[APM] (M)	t_{zaman} (dak.)	Abs	Log Abs	k (dak. ⁻¹)	r^2
$1,2 \times 10^{-4}$ (100 ml kola içinde bulunan miktar)	2	0,724	-0,140	$20,3 \times 10^{-3}$	0,980
	10	0,643	-0,192		
	20	0,490	-0,310		
	30	0,458	-0,339		
	40	0,323	-0,491		
	50	0,279	-0,554		
$5,1 \times 10^{-4}$ (Toplam = 100 ml kola içinde bulunan+eklenen miktar)	2	0,763	-0,117	$19,1 \times 10^{-3}$	0,982
	10	0,621	-0,207		
	20	0,489	-0,311		
	30	0,402	-0,396		
	40	0,343	-0,465		
$11,2 \times 10^{-4}$ (Toplam = 100 ml kola içinde bulunan+eklenen miktar)	2	0,772	-0,112	$18,2 \times 10^{-3}$	0,963
	10	0,565	-0,248		
	30	0,435	-0,362		
	45	0,333	-0,478		

Çizelge 4.8 Job Metodu ile Cu(II)-aspartam kompleksinin pH 3,2, 4,5 ve 5,6'da spektrofotometrik incelenmesi

	Çözelti No	10^{-3} M Cu^{2+} , mL	10^{-3} M APM, mL	Abs1	Su, mL	10^{-3} M APM, mL	Abs2	Fark Abs (Abs1-Abs2)	X_{Cu}
pH 3,2	0	0	10	0,162	0	10	0,200	-	0
	1	1	9	0,214	1	9	0,168	0,046	0,1
	2	2	8	0,217	2	8	0,166	0,051	0,2
	3	3	7	0,196	3	7	0,136	0,060	0,3
	4	4	6	0,209	4	6	0,114	0,095	0,4
	5	5	5	0,207	5	5	0,087	0,120	0,5
	6	6	4	0,166	6	4	0,070	0,096	0,6
	7	7	3	0,135	7	3	0,082	0,053	0,7
	8	8	2	0,105	8	2	0,038	0,067	0,8
	9	9	1	0,078	9	1	0,014	0,064	0,9
	10	10	0	0,034	10	0	0,002	0,032	1,0
pH 4,5	0	0	10	0,113	0	10	0,183	-	0
	1	1	9	0,268	1	9	0,161	0,107	0,1
	2	2	8	0,324	2	8	0,148	0,176	0,2
	3	3	7	0,331	3	7	0,125	0,206	0,3
	4	4	6	0,338	4	6	0,114	0,224	0,4
	5	5	5	0,333	5	5	0,093	0,240	0,5
	6	6	4	0,306	6	4	0,075	0,231	0,6
	7	7	3	0,270	7	3	0,061	0,209	0,7
	8	8	2	0,207	8	2	0,044	0,163	0,8
	9	9	1	0,146	9	1	0,021	0,125	0,9
	10	10	0	0,054	10	0	0,013	0,041	1,0
pH 5,6	0	0	10	0,176	0	10	0,175	0,001	0
	1	1	9	0,334	1	9	0,143	0,191	0,1
	2	2	8	0,402	2	8	0,141	0,261	0,2
	3	3	7	0,454	3	7	0,117	0,337	0,3
	4	4	6	0,461	4	6	0,093	0,368	0,4
	5	5	5	0,455	5	5	0,076	0,379	0,5
	6	6	4	0,424	6	4	0,065	0,359	0,6
	7	7	3	0,367	7	3	0,046	0,321	0,7
	8	8	2	0,295	8	2	0,034	0,261	0,8
	9	9	1	0,194	9	1	0,013	0,181	0,9
	10	10	0	0,058	10	0	0,001	0,057	1,0

Çizelge 4.9 Askorbik asidin değişik pH değerlerinde Cu (II) -aspartam katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri

[APM]	pH 3,2		pH 4,5		pH 5,6	
	$K \pm S_k$ ($M^{-1}dak^{-1}$)	r^2	$K \pm S_k$ ($M^{-1}dak^{-1}$)	r^2	$K \pm S_k$ ($M^{-1}dak^{-1}$)	r^2
0	$(3,69 \pm 0,11) \times 10^4$	0,997	$(12,0 \pm 0,69) \times 10^4$	0,987	$(37,6 \pm 1,95) \times 10^4$	0,989
10^{-4}	$(3,61 \pm 0,42) \times 10^4$	0,960	$(8,90 \pm 0,49) \times 10^4$	0,988	$(19,1 \pm 0,89) \times 10^4$	0,991
5×10^{-4}	$(3,63 \pm 0,34) \times 10^4$	0,975	$(7,84 \pm 0,32) \times 10^4$	0,995	$(11,6 \pm 0,27) \times 10^4$	0,998
1×10^{-3}	$(3,72 \pm 0,38) \times 10^4$	0,970	$(6,84 \pm 0,35) \times 10^4$	0,998	$(8,29 \pm 0,37) \times 10^4$	0,994
2×10^{-3}	$(3,81 \pm 0,39) \times 10^4$	0,979	$(4,44 \pm 0,12) \times 10^4$	0,998	$(4,79 \pm 0,25) \times 10^4$	0,994
4×10^{-3}	$(3,45 \pm 0,06) \times 10^4$	0,999	$(3,43 \pm 0,13) \times 10^4$	0,996	$(2,30 \pm 0,13) \times 10^4$	0,990

$S_k = K$ değerlerinin standart sapması, $r^2 =$ regresyon katsayısı

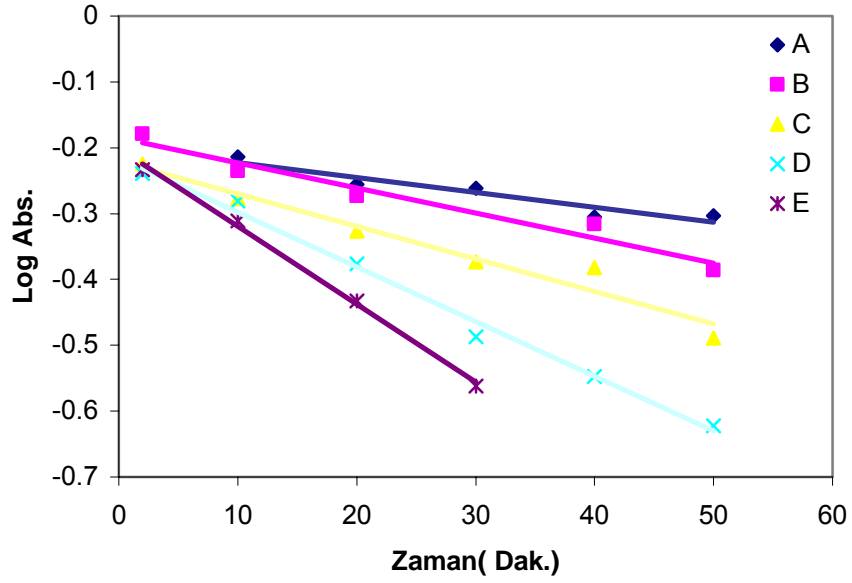
Spesifik hız sabitlerine ait verilen standart sapma değerlerinin hesapları EK-2’de verilmiştir.

Çizelge 4.10 Askorbik asidin pH 4,5’de Fe(III)-aspartam katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri

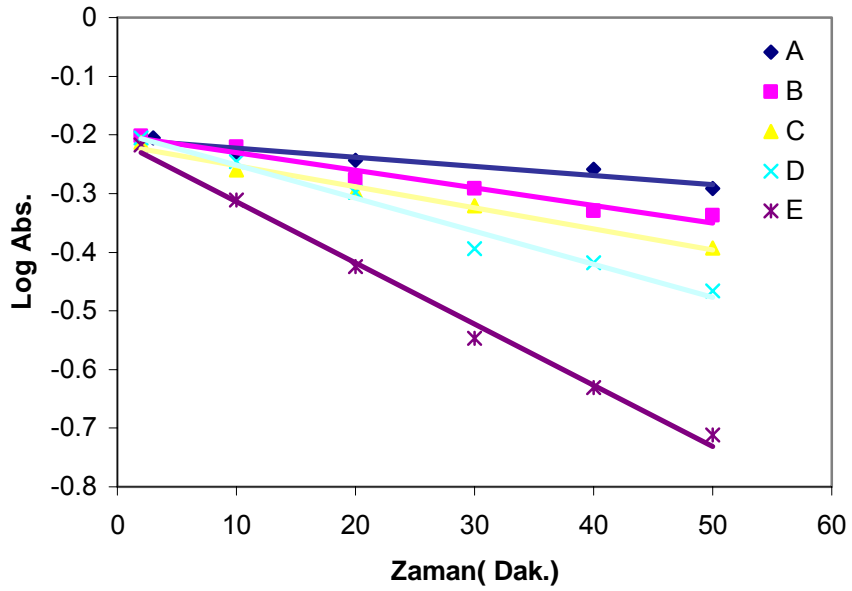
[APM] (M)	pH 4,5	
	$K \pm S_k$ ($M^{-1}dak^{-1}$)	r^2
0	$(1,09 \pm 0,08) \times 10^3$	0,983
10^{-4}	$(1,02 \pm 0,03) \times 10^3$	0,997
2×10^{-4}	$(1,54 \pm 0,13) \times 10^3$	0,985

$S_k = K$ değerlerinin standart sapması, $r^2 =$ regresyon katsayısı

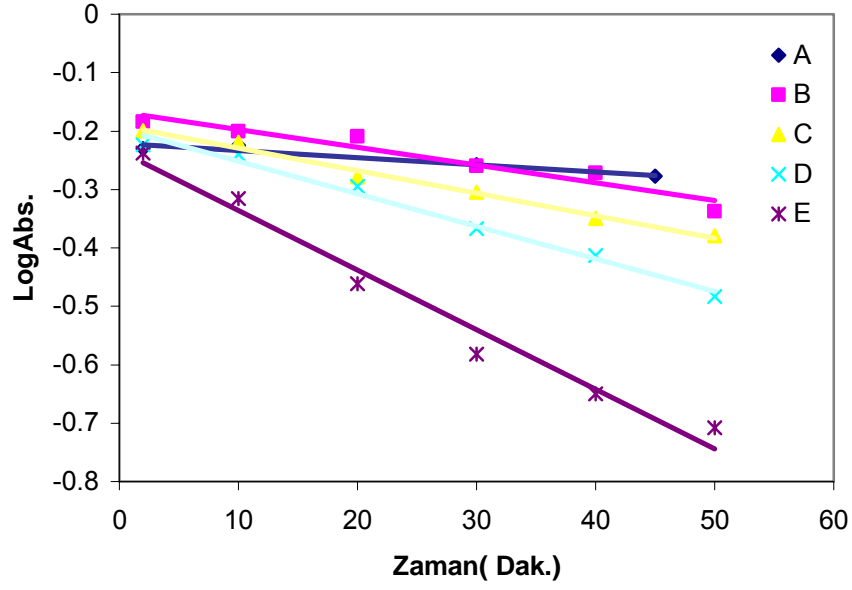
Spesifik hız sabitlerine ait verilen standart sapma değerlerinin hesapları EK-2’de verilmiştir.



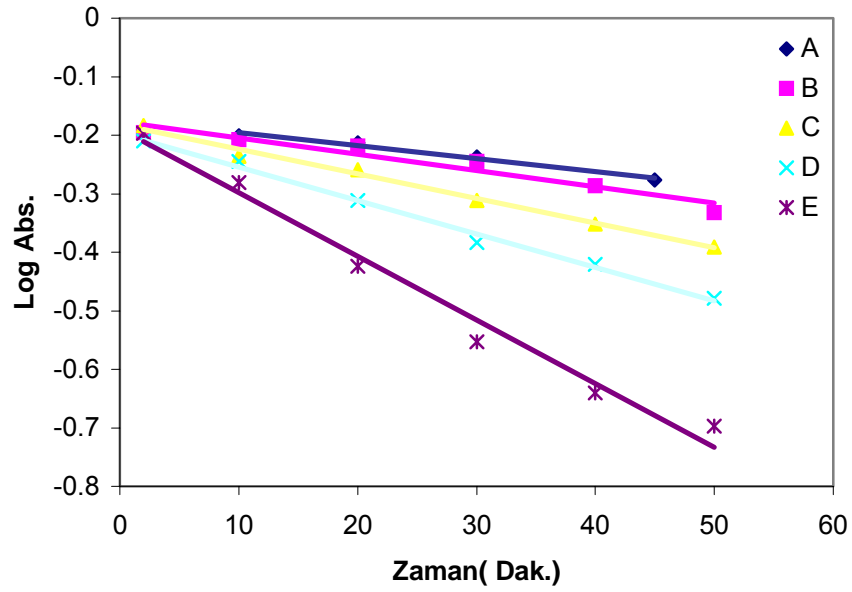
Şekil 4.2 Aspartam yokluğunda, farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



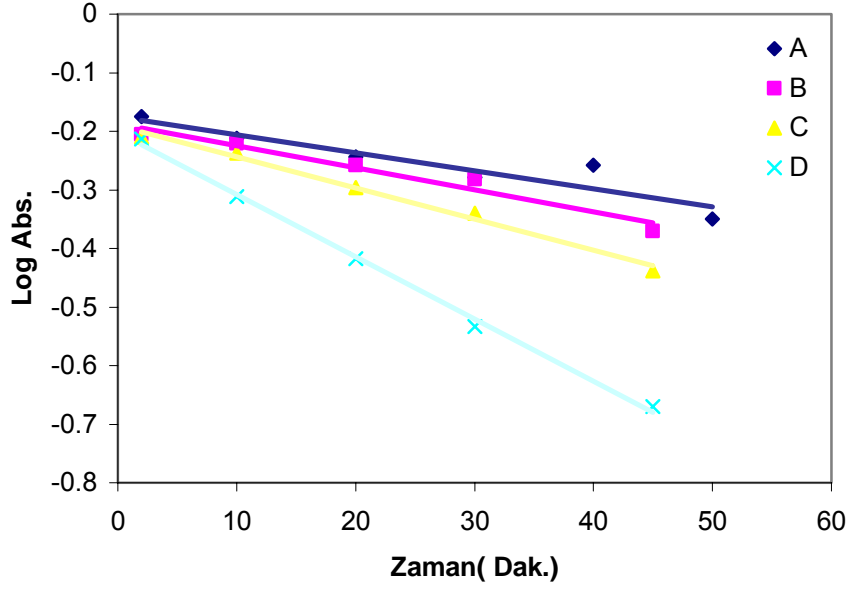
Şekil 4.3 Aspartam (10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 3,2’de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



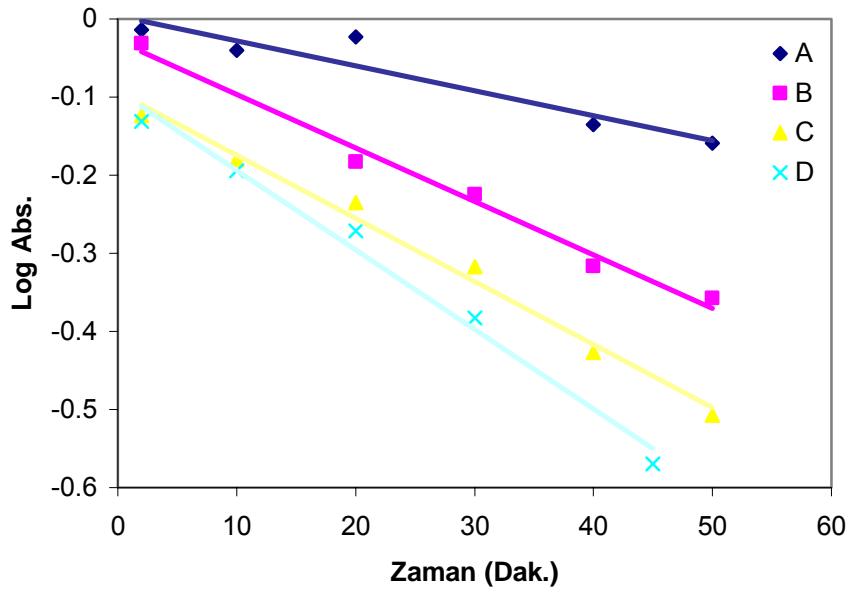
Şekil 4.4 Aspartam (5×10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları[(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 3,2'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



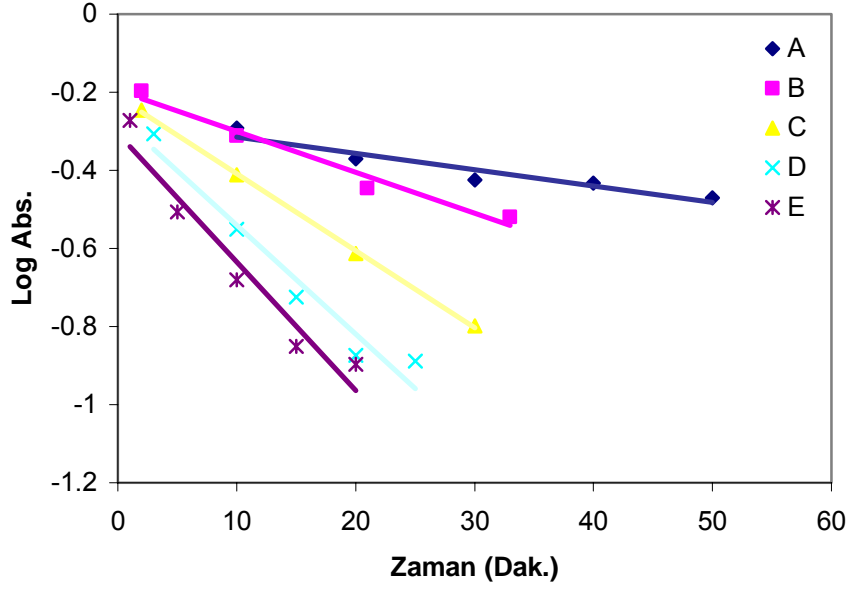
Şekil 4.5 Aspartam (10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları[(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 3,2'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



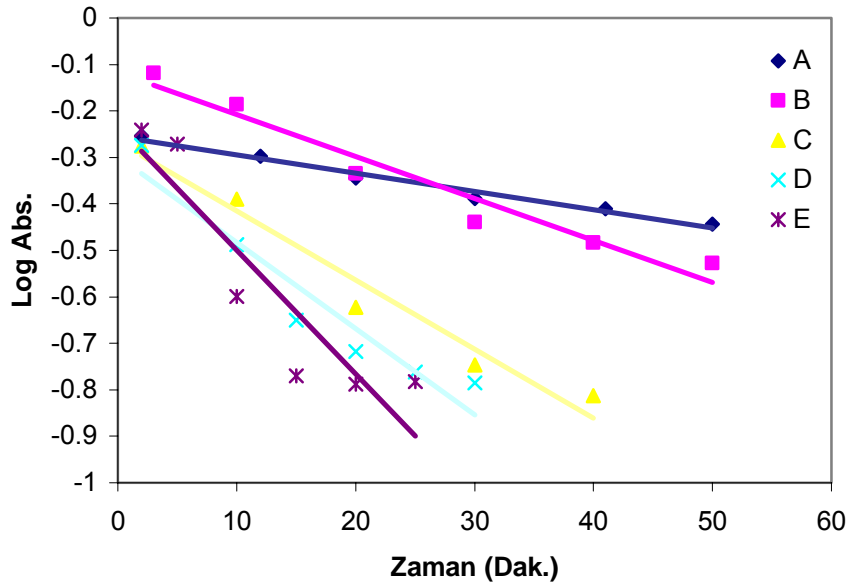
Şekil 4.6 Aspartam (2×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 3,2'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



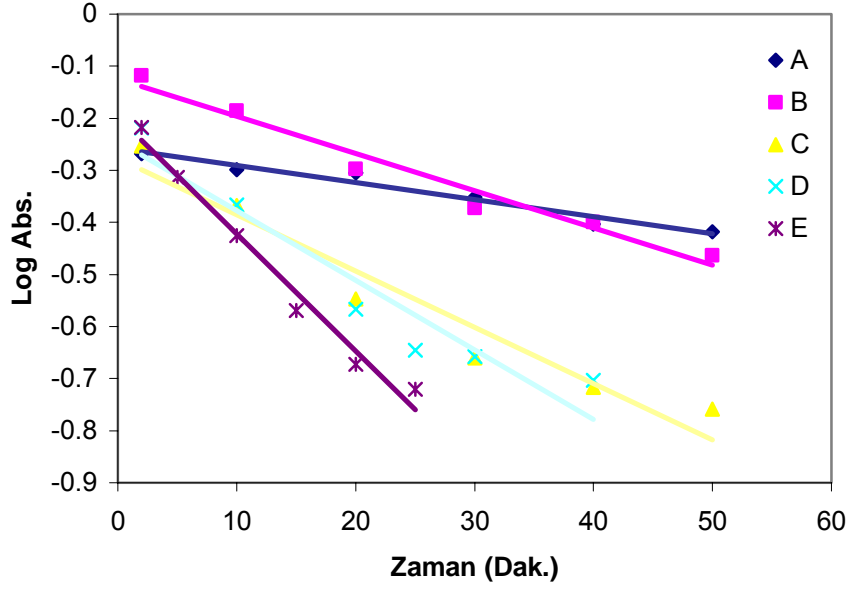
Şekil 4.7 Aspartam (4×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 3,2'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



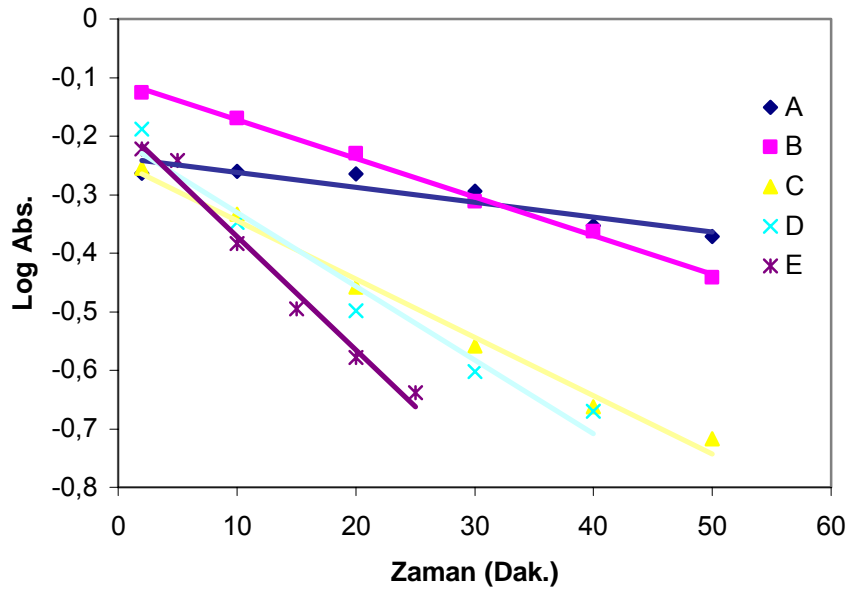
Şekil 4.8 Aspartam olmadan ve farklı Cu (II) miktarları[(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



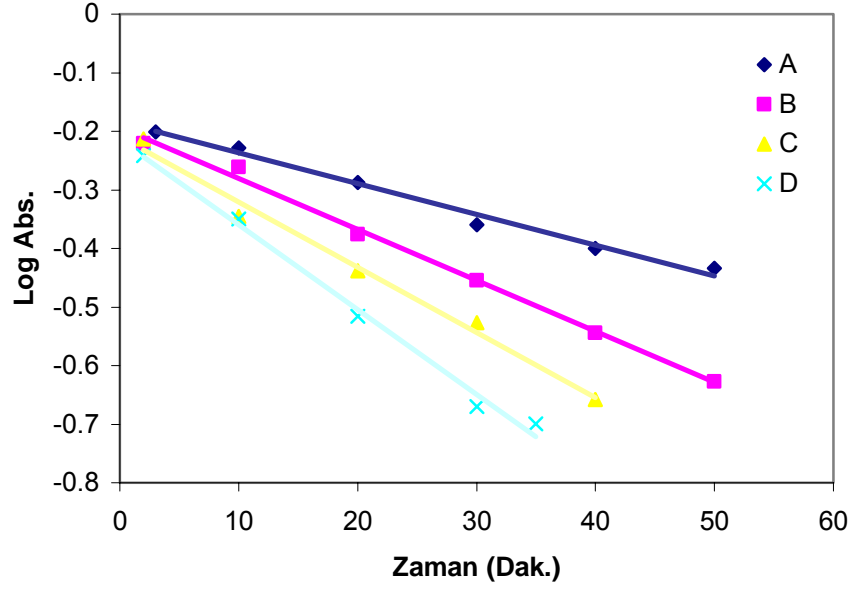
Şekil 4.9 Aspartam (10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları[(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



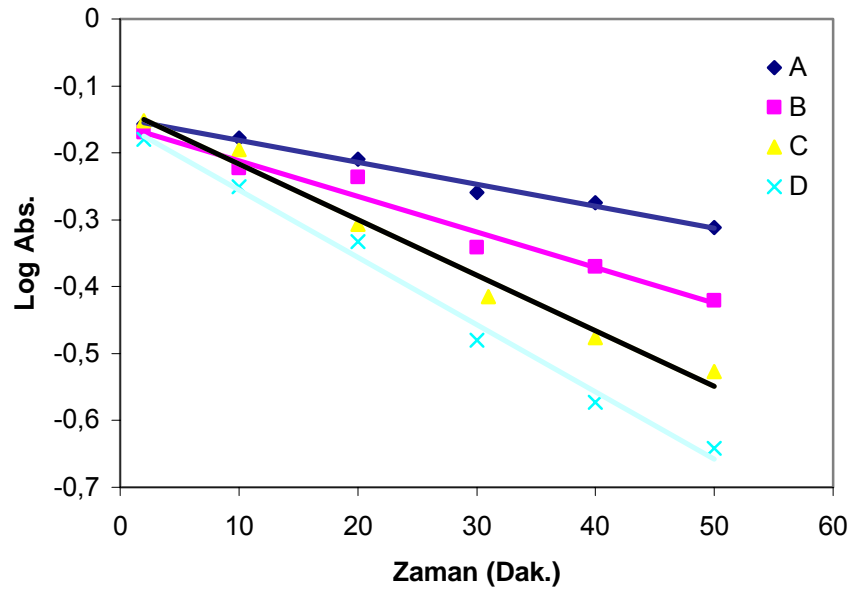
Şekil 4.10 Aspartam (5×10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları[(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



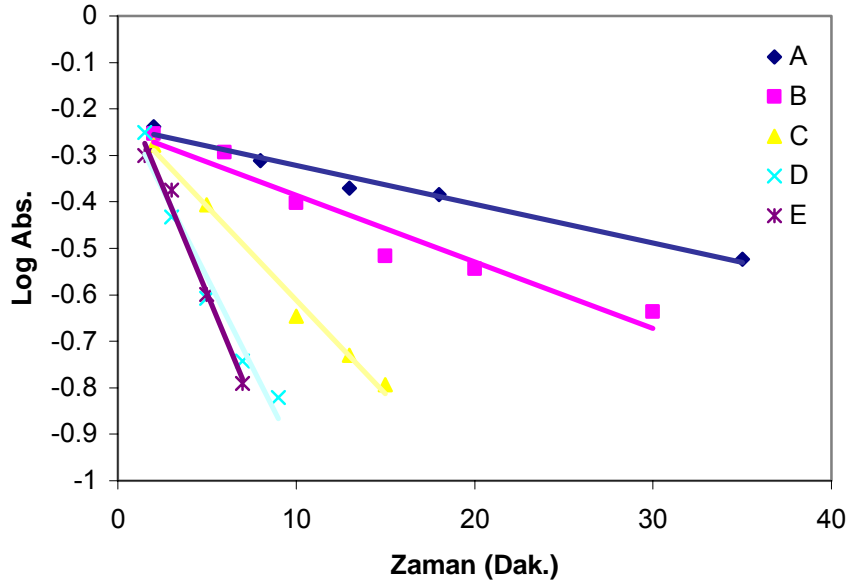
Şekil 4.11 Aspartam (10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları[(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



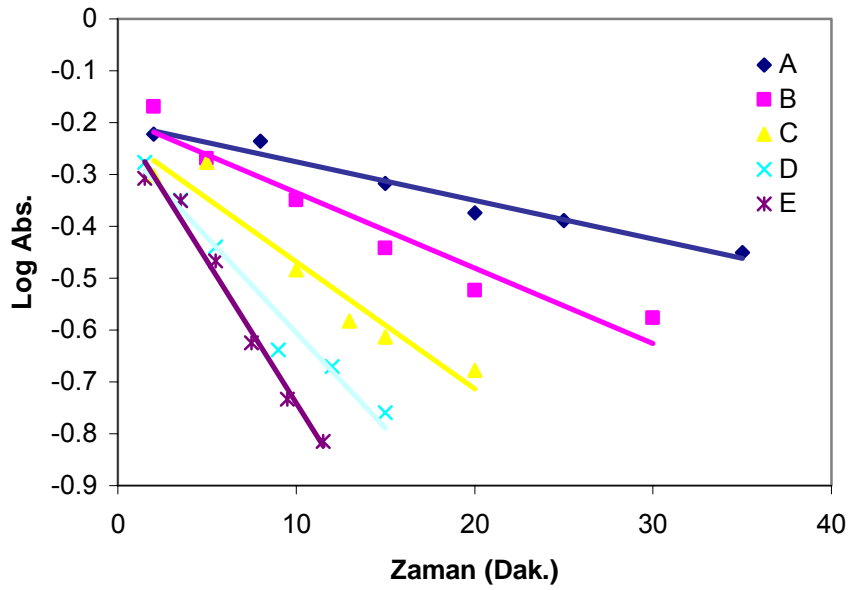
Şekil 4.12 Aspartam (2×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'te askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



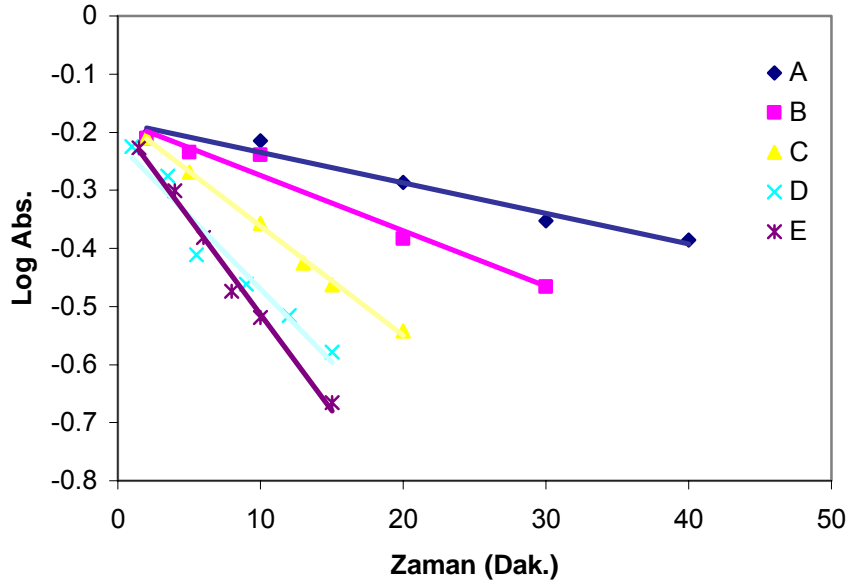
Şekil 4.13 Aspartam (4×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'te askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



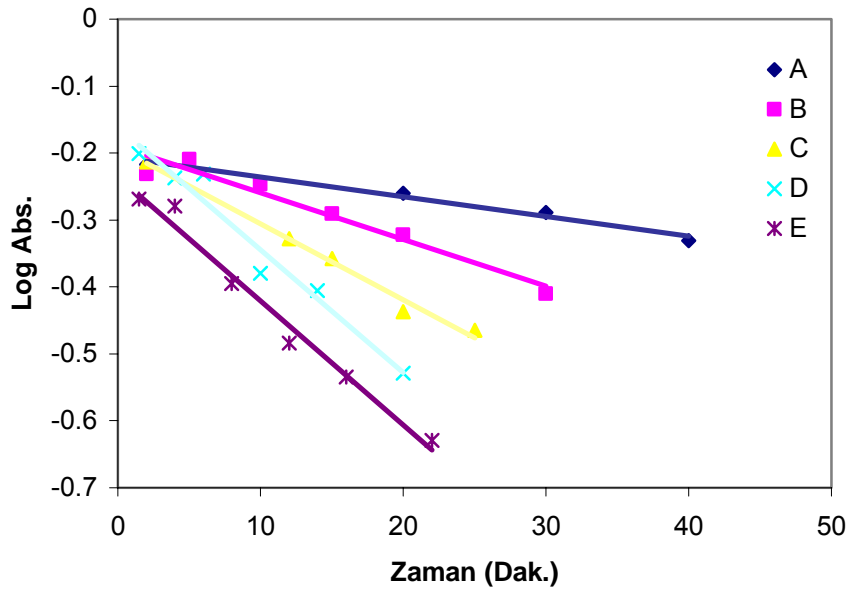
Şekil 4.14 Aspartam yokluğunda ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6'da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



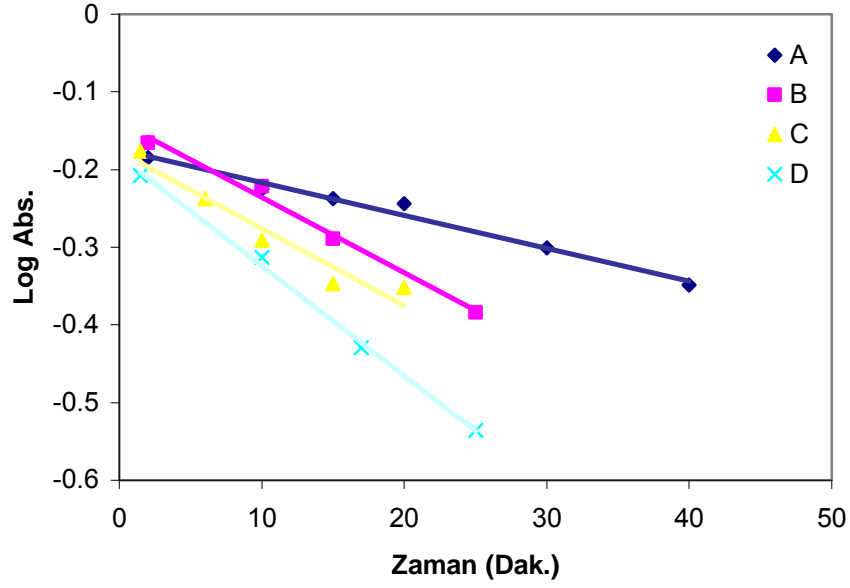
Şekil 4.15 Aspartam (10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6'da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



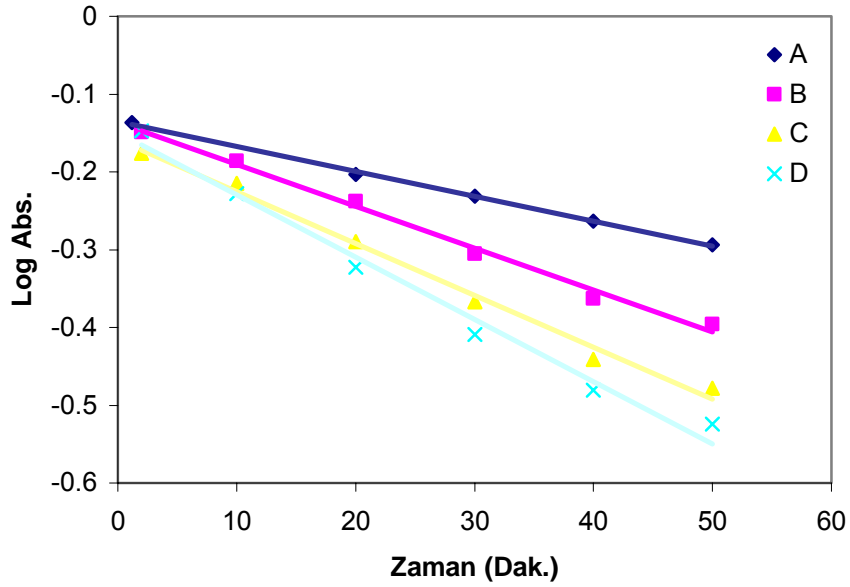
Şekil 4.16 Aspartam (5×10^{-4} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6'da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



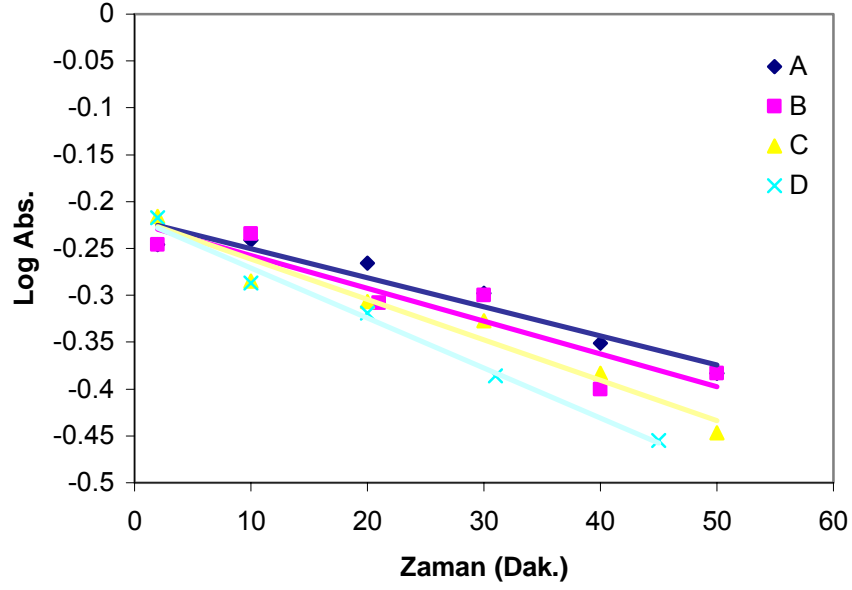
Şekil 4.17 Aspartam (10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 0,785, B:1,57, C:3,14, D: 4,71, E: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6'da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



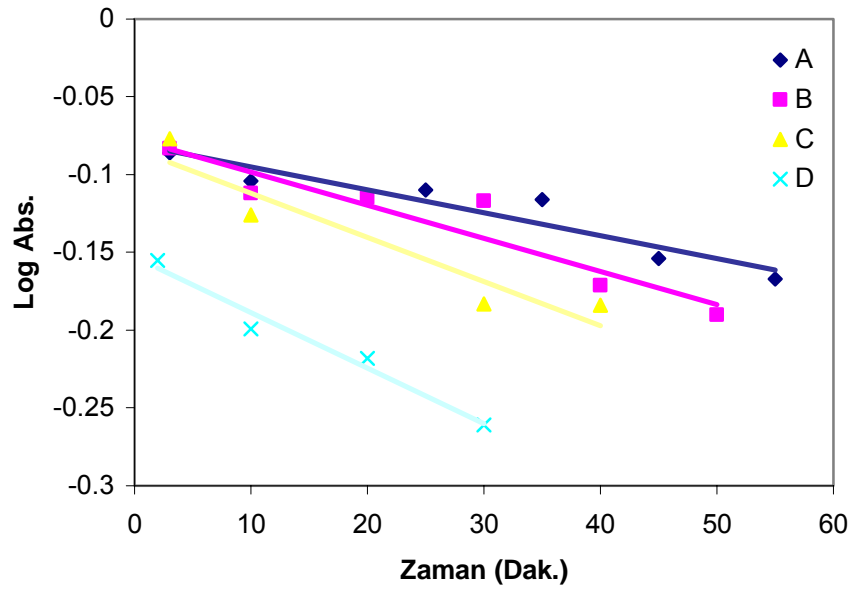
Şekil 4.18 Aspartam (2×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6'da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



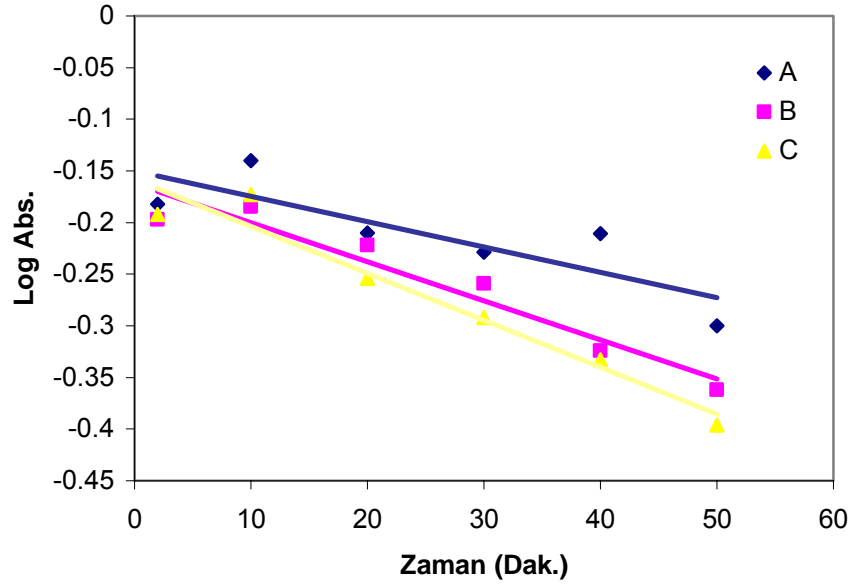
Şekil 4.19 Aspartam (4×10^{-3} M) ve farklı Cu (II) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 5,6'da askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



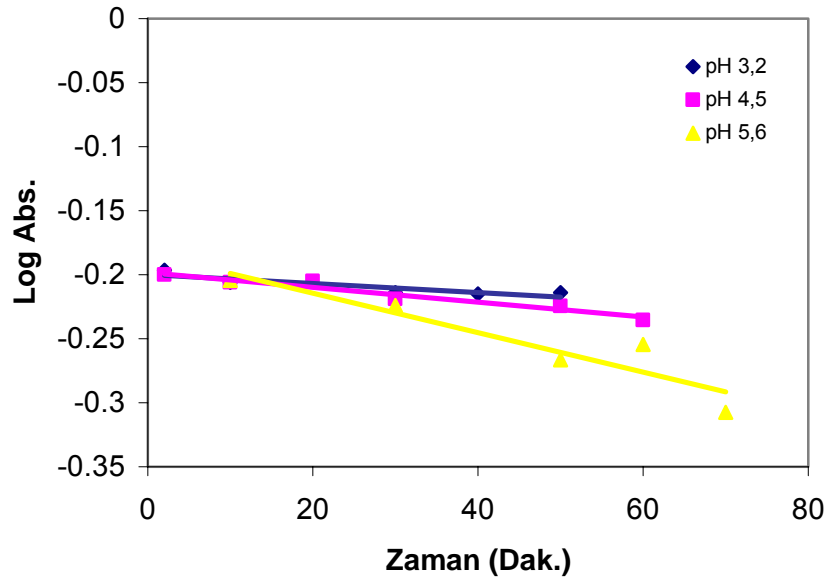
Şekil 4.20 Aspartam yokluğunda ve farklı Fe (III) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



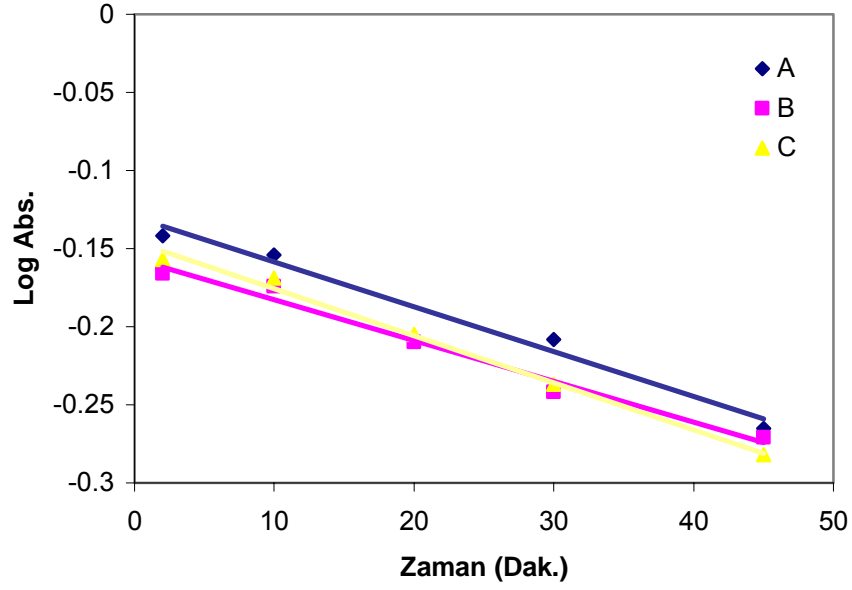
Şekil 4.21 Aspartam (10^{-4} M) ve farklı Fe (III) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



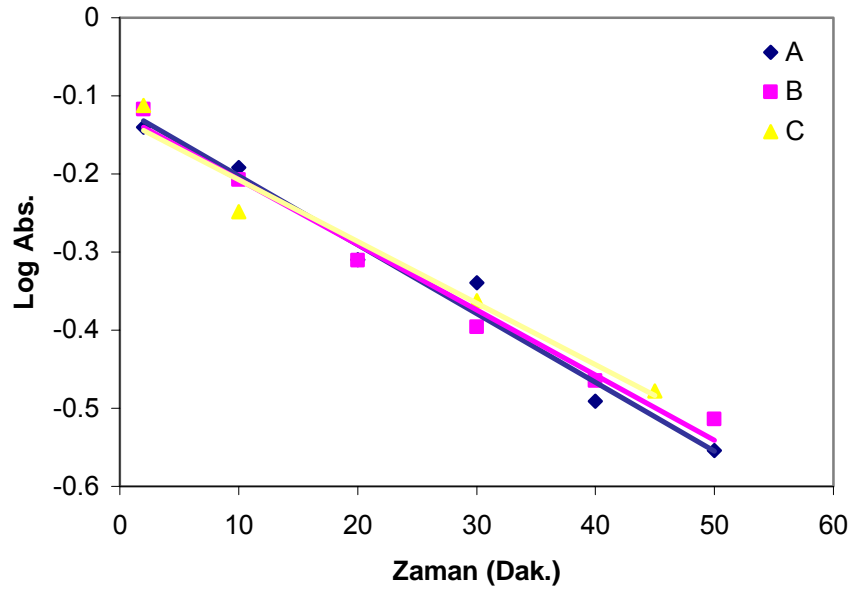
Şekil 4.22 Aspartam (2×10^{-4} M) ve farklı Fe (III) miktarları [(A: 1,57, B:3,14, C: 4,71, D: 6,28) $\times 10^{-7}$ M] varlığında pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



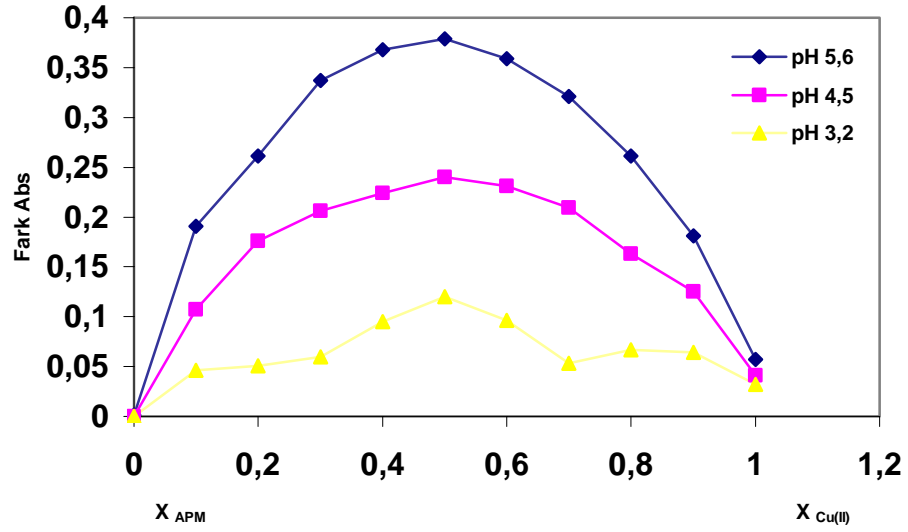
Şekil 4.23 Farklı pH değerlerinde askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



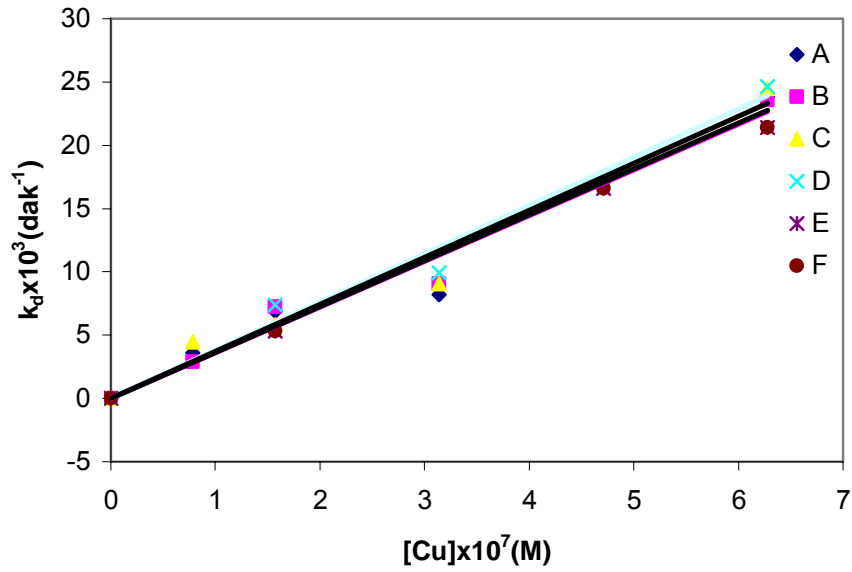
Şekil 4.24 Cu(II) ($1,57 \times 10^{-7}$ M) ve kola(A), [kola+aspartam(4×10^{-4} M)](B), [kola+aspartam(10^{-3} M)](C) varlığında, pH 3,2'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



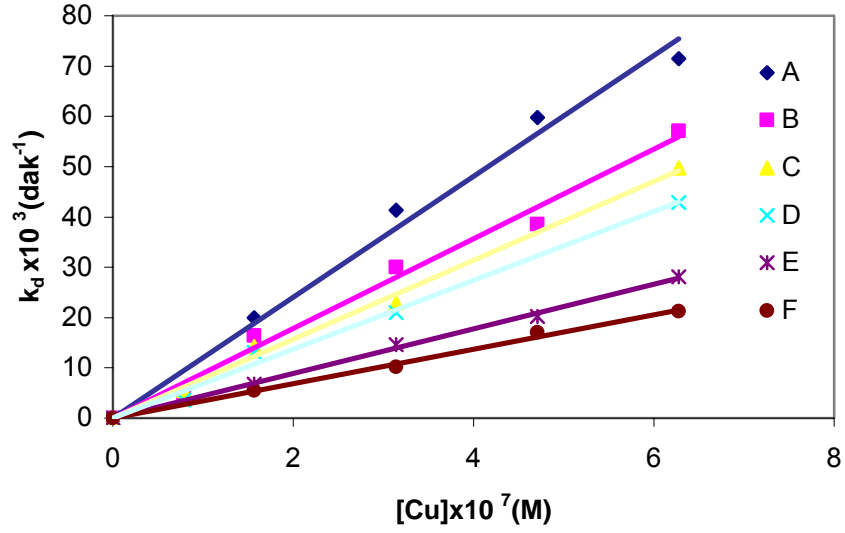
Şekil 4.25 Cu(II) ($1,57 \times 10^{-7}$ M) ve kola(A), [kola+aspartam(4×10^{-4} M)](B), [kola+aspartam(10^{-3} M)](C) varlığında, pH 4,5'de askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



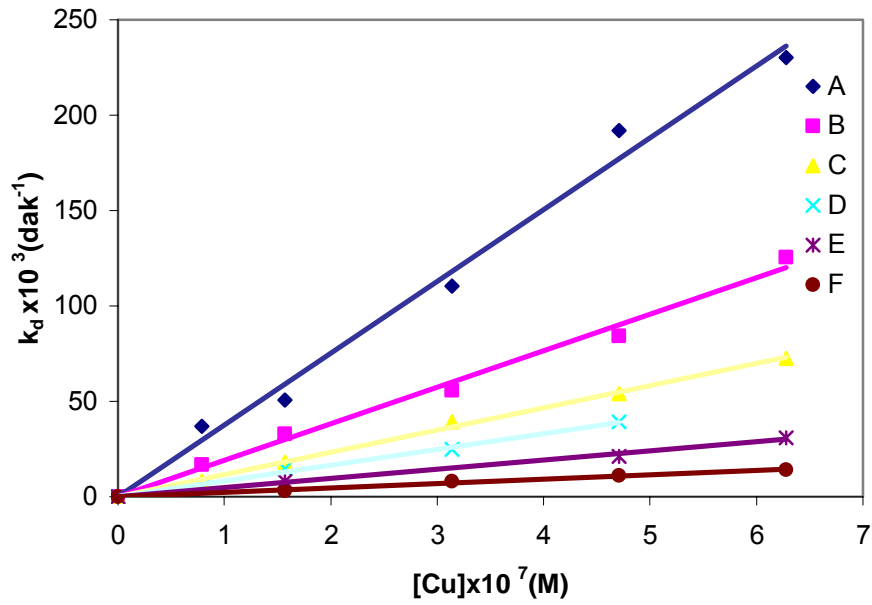
Şekil 4.26 Üç farklı pH (3,2, 4,5 ve 5,6) değerinde, 258 nm’de ölçülen absorpsanlar ile Cu(II) veya aspartamın mol kesrine karşı çizilen, Job eğrileri



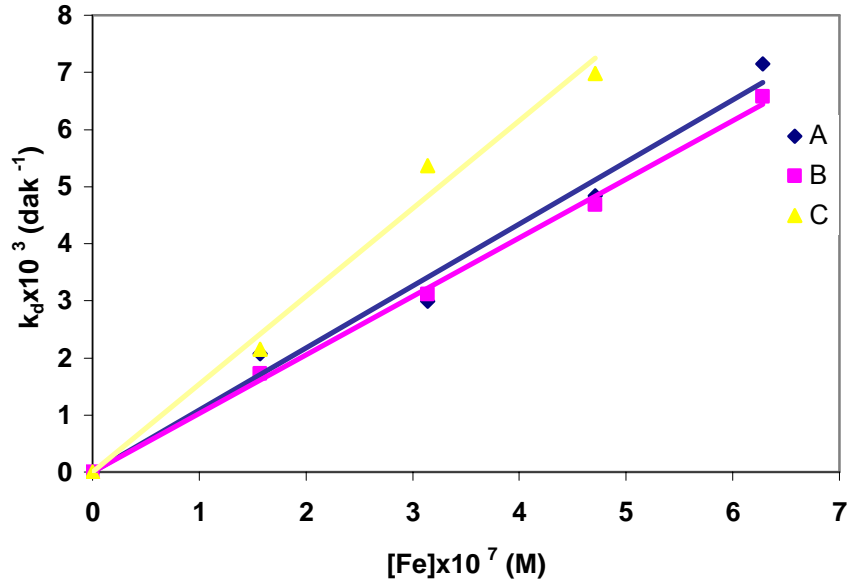
Şekil 4.27 Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) x 10⁻⁴ M APM], k_d= pH 3,2’de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



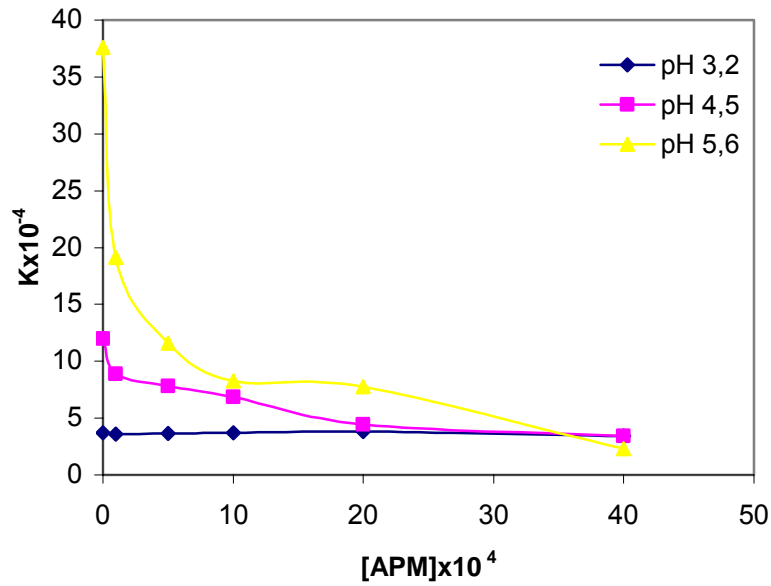
Şekil 4.28 Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) x 10⁻⁴ M APM], k_d= pH 4,5'de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



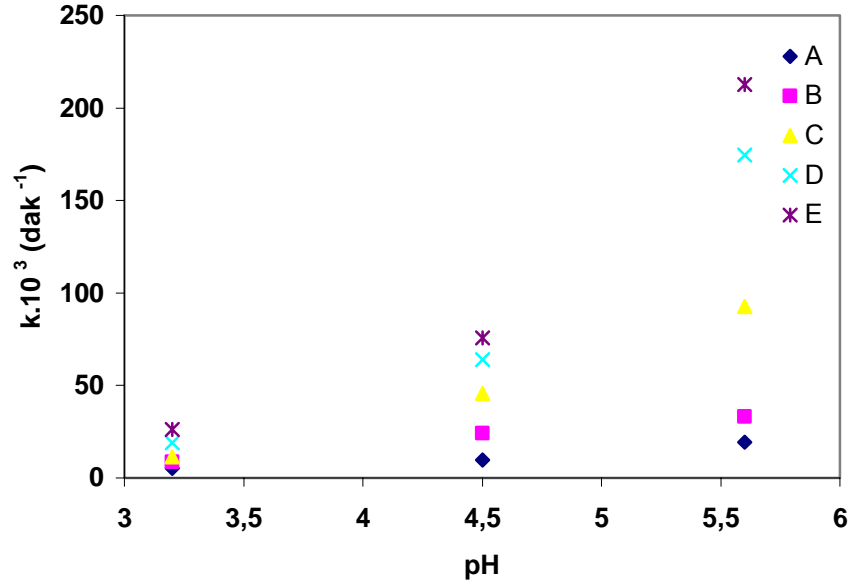
Şekil 4.29 Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) x 10⁻⁴ M APM], k_d= pH 5,6 'da bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



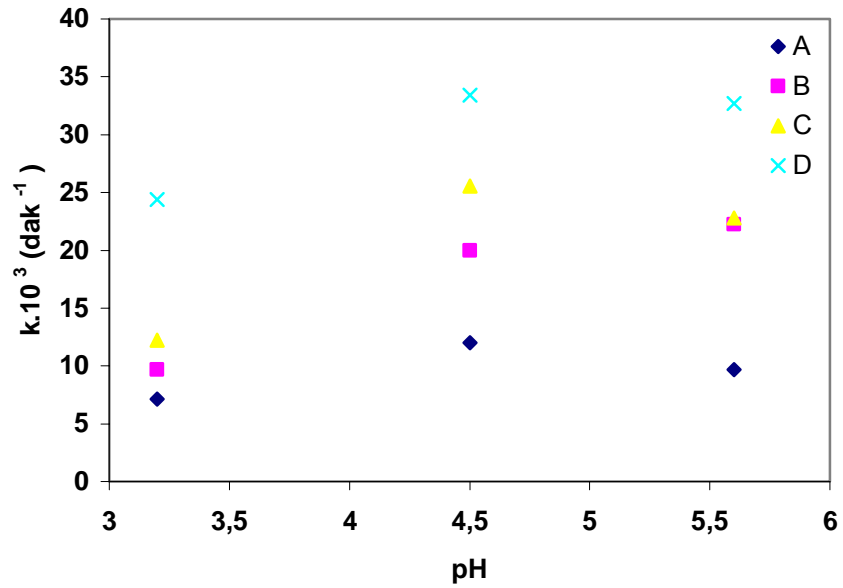
Şekil 4.30 Asetat tamponlu aspartam çözeltilerinde Fe(III) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A:0, B:1, C:5, D:10, E:20, F:40) x 10⁻⁴ M APM], k_d= pH 4,5 'de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



Şekil 4.31 Farklı pH değerlerindeki (3,2, 4,5, 5,6) askorbik asidin Cu(II)-katalizli oksidasyonu için [APM] ile spesifik hız sabitlerinin değişimi



Şekil 4.32 Asetat tamponlu çözeltilerde askorbik asit oksidasyonunda hız sabiti ile pH arasındaki grafik [A:0,785, B:1,57, C:3,14, D:4,71, E:6,28) $\times 10^{-7}$ M Cu(II)]



Şekil 4.33 Asetat tamponlu aspartam (2×10^{-3} M) çözeltilerde askorbik asit oksidasyonunda hız sabiti ile pH arasındaki grafik [A:0,785, B:1,57, C:3,14, D:4,71, E:6,28) $\times 10^{-7}$ M Cu(II)]

5. TARTIŞMA

Değişik pH değerlerinde (3,2–5,6) bakır ve demir iyonlarının katalizör olarak kullanıldığı AA oksidasyonunun hız eşitliği AA'ya bağlı olarak birinci mertebeden bulundu. Verilen bir pH değerinde AA oksidasyon hız sabiti, sabit Cu(II) veya Fe(III) konsantrasyonunda, APM konsantrasyonunun artmasıyla azaldı ve sabit bir APM konsantrasyonunda Cu(II) veya Fe(III) konsantrasyonunun artmasıyla arttı. AA oksidasyon hızını etkileyen parametreler monohidrojen askorbat ve Cu(II) –aspartam kelatları arasında oluşan üçlü bir geçiş kompleksi içeren bir mekanizma ile açıklanabilir. İlgilenilen pH aralığında aspartamın kuvvetli bakır-aspartam kompleks verebilmesinden dolayı, APM çözeltilerinde bakır(II)'nin katalitik aktivitesi demir(III)'ünkinden daha iyidir. Serbest sulu Cu^{2+} iyon ve zayıf Cu(II) asetat kompleksi kararlı Cu(II)-aspartam kompleksine göre, AA oksidasyonunu daha iyi katalizler. Bu sonuçlar Khan ve Martell'in daha önce ulaştığı sonuçları destekler. AA oksidasyonunda Cu(II) kompleksinin kararlılığı arttırılırsa, elektron transferinin bir aracı olarak, katalitik aktivitesi azalır (Khan ve Martell, 1967b). APM içeceklerde tatlandırıcı olarak kullanılırsa metal katalizli oksidasyonu önleyerek AA değerlerini korumada yardımcı olabilir. Ayrıca APM, geçiş metal iyon + AA karışımı çözeltilerini stabilize etmek için yararlıdır (Fenton tipi reaksiyonlar hidroksil radikalleri üreterek yiyeceklerin bozunmasına neden olmaktadır) ve bu suretle yiyecek ve içeceklerin saklanması yardımcı olur. Yiyeceklerde bulunan AA gibi antioksidanlar, Fe(III) ve Cu(II) gibi geçiş metal iyonlarını düşük oksidasyon kademelerine redükleyerek bir ön oksidan olarak davranabilir ve kuvvetli oksitleyici hidroksil radikal üretimini katalizleyebilir (Huang vd.,2005).

KAYNAKLAR

Aihara, M., Tanaka, F., Fujimoto M. ve Takehara K., (1992), “ Speciation Studies of Some Metal Complexes with L-aspartyl-L-phenylalanine methyl-ester by Potentiometry” Anal. Sci., 8: 755-759.

Aihara, M., Tanaka, F., Fujimoto, M.,(1999), “Speciation Studies of Some Metal-complexes with L-aspartyl-L- phenylaanine Methyl-ester by Potentiometry”, Analytica Chimica Acta, 384:167-174.

Alperdem, İ.,(1989), Tübitak Araştırma Enstitüsü Beslenme ve Gıda Teknoloji Ünitesi.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M.ve Karademir, S.E., (2004), “A Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols, Vitamins C and E, Using Their Cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method” , J. Agric. Food Chem., 52: 7970-7981.

Apak, R., Güçlü, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. ve Altun, M., (2005), “Total Antioxidant Capacity Assay of Human Serum Using Copper(II)- Neocuproine as Chromogenic Oxidant: The CUPRAC Method”, Free Radical Res., 39:949-961.

Bansch, B., Martinez, P., Uribe, D.,Zuluaga ,J. ve Van Eldik, R.(1991), “ Is the Oxidation of L-ascorbic Acid by Aquated Iron(III) Ions in Acidic Aqueous Solution Substitution- or Electron-transfer-controlled? A combined Chloride, pH, Temperature, and Pressure Dependence Study”, Inorg. Chem., 30: 4555-4559.

Baysal , A., (1984), Beslenme, Hacettepe Üniversitesi Yayını, A/13, Ankara.

Bell, N.L. ve Labuza, T.P., (1991), “Aspartame Degradation Kinetics as Affected by pH in Intermediate and Low Moisture Food Systems”, Journal of Food Science, 56(1): 17-20.

Birch, G.G. ve Pepper, T.,(1983), “ Protection of Vitamin C by Sugars and Their Hydrogenated Derivatives”, J. Agric. Food Chem., 31:980- 985 .

Çakır, S., Çoşkun, E., Biçer, E. ve Çakır, O.,(2003), “Electrochemical Study of the Complexes of Aspartame with Cu(II), Ni(II) and Zn(II) Ions in the Aqueous Medium”, Carbohydr. Res. , 338: 1217-1222 .

Davies, M. B.,(1992), “ Reactions of L- Ascorbic Acid with Transition Metal Complexes”, Polyhedron, 11: 285-321.

Eison- Perchonok, M.H. ve Downes, (1982), “Kinetics of Ascorbic Acid Autoxidation as a Function of Dissolved Oxygen Concentration and Temperature”, Journal of Food Science, 47: 765–767.

Endres, K., Kirzinger, W., Schmidt, S., (1982), Ullman Encyclopedia der Technischen Chemie, 22: 359.

Erdik, E., (1993), Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Gazi Büro Kitabevi, Ankara.

Ersöz, N., (2002), Askorbik Asidin Metal İyonu Katalizli ve Çeşitli Ortamlarda Oksidasyon Kinetiğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

Fatibello-Filho, O., Marcolino-Junior, L. H. ve Pereira, A.V., (1999), “ Solid-phase Reactor with Copper(II) phosphate for Flow-injection Spectrophotometric Determination of Aspartame in Tabletop Sweeteners” , Anal. Chim. Acta, 384: 167–174.

Fung, Y-S., Luk, S-F., (1985), “Determination of Ascorbic Acid in Soft Drinks and Fruit Juices.Part 1. Background Correction for Direct Ultraviolet Spectrophotometry”, Analyst, 110: 201-204.

Güçlü, K., Sözgen, K., Tütem, E., Özyürek, M. ve Apak, R.,(2005), “Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid Using Copper(II)- Neocuproine Reagent in Beverages and Pharmaceuticals”, Talanta, 65 :1226-1232.

Gündüz, T., (1990), İnrümental Analiz, Ankara Üniversitesi Yayınları, Ankara.

Haddad, P., (1977), “Vitamin C Content of Commercial Orange Juices”, J. Chem. Education, 54(3): 192–193.

Harel, S., (1994), “ Oxidation of Ascorbic Acid and Metal Ions as Effected by NaCl.”, J. Agric. Food Chem., 42:2402-2406.

Hedstrom, B.O.A., (1953), “ Studies on the Hydrolysis of Metal Ions. VII. The hydrolysis of the iron(III) ion, Fe³⁺”, Arkiv Kemi, 6: 1–16.

Hsieh, Y. P. ve Haris, N. D., (1987), “Oxidation of Ascorbic Acid in Copper-catalyzed Sucrose Solutions”, J. Food Sci., 52:1384-1386.

Hsieh, Y. P. ve Haris, N. D.,(1991), “ Destructive Effect of Aspartame on Ascorbic Acid in Cu-catalyzed Solutions” , J. Food Sci. , 56: 14–16.

Hsieh, Y.- H. P. ve Haris, N. D., (1993),” Effect of Sucrose on Oxygen Uptake of Ascorbic Acid in a Closed Aqueous System”, J. Agric. Food Chem., 41: 259-262.

Hsieh, Y.,- H. P., Hsieh, Y. P.,(2000), “ Kinetics of Fe(III) Reduction by Ascorbic Acid in Aqueous Solutions” , J. Agric. Food Chem., 48:1569-1573.

Huang, D., Ou,B., Prior, R.L.(2005), “The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays”, J. Agric. Food Chem. , 53: 1841–1856.

Hughes, D.E., (1985), “Irreversible Reaction Kinetics of The Aerobic Oxidation of Ascorbic Acid”, American Chemical Society, 57:555-558.

Imer, F., Sonmezoglu , I. C. ve Kozcaz, M.,(2003), “ The Role of Buffers on the Kinetics of L- Ascorbic Acid Oxidation Catalyzed by Copper (II)”, Ital. J. Food Sci. , 15: 521–529.

Jameson, R.F. ve Blackburn, N.J.,(1976), “Role of Copper Dimers and the Participation of Copper(II) in the Copper Catalysed Autoxidation of Ascorbic Acid. Part II. Kinetics and Mechanism in 0,100 mol dm⁻³ Potassium Nitrate”, Chem. Soc. Dalton Trans, 534–540.

Jameson, R.F. ve Blackburn, N.J.,(1982), “The Copper-Catalysed Oxidation of Ascorbic Acid by Dioxygen. Part 4. The Effect of Chloride Ions on the Kinetics and Mechanism”, Chem. Soc. Dalton Trans, 9–13.

Kayaalp, O. (1989), “Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji”, Feryal Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.

Keskin, H., (1987), Besin Kimyası, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3450, İstanbul.

Khan, M. M. T. ve Martell, A. E.,(1967a), “Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. I. Cupric and Ferric Ion Catalyzed Oxidation”, J. Am. Chem. Soc. , 89: 4176–4185.

Khan, M. M. T. ve Martell, A. E.,(1967b), “Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. II. Cupric and Ferric Chelate Catalyzed oxidation”, J. Am. Chem. Soc. , 89: 7104–7111.

Khan, M. M. T. ve Martell, A. E.,(1968a), “Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. III. Vanadyl Ion Catalyzed Oxidation”, J. Am. Chem. Soc. , 90: 6011–6017.

Khan, M. M. T. ve Martell, A. E.,(1968b), “The kinetics of the Reaction of Iron(III) Chelates of Aminopolycarboxylic Acids with Ascorbic Acid”, J. Am. Chem. Soc. , 90: 3386–3389.

Khan, M. M. T. ve Martell, A. E.,(1969), “Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. III. Uranyl Ion Catalyzed Oxidation”, J. Am. Chem. Soc. , 91: 4668–4672.

Khan, M.M.T. ve Shukla, R.S., (1987), “Ru(III)-EDTA Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Hydrogen Peroxide in Aqueous Solution”, Journal of Molecular Catalysis, 39(2):139-146.

Khan, M.M.T. ve Shukla, R.S., (1991), “Kinetic and Spectroscopic Study of the Formation of an Intermediate Ruthenium(III) Ascorbate Complex in the Oxidation of L-Ascorbic Acid”, Polyhedron,10:2711-2715.

Kholeif, S. ve Anderegg, G.,(1997), “Equilibrium Studies of Aspartame and some of Its Degradation Products with Hydrogen (I) and Copper(II) Under Physiological Conditions Using Potentiometric pH Measurements”, Inorg. Chim. Acta, 257: 225–230.

Kholeif, S., ve Anderegg, G., (1999), “Stability Constant Determinations of Alitame with H(I) and Cu(II) Under Physiological Conditions Using Potentiometric Measurements”, Food Chemistry, 64:397-401.

Kimura, M., Yamamoto, M. ve Yamabe, S., (1982), "Kinetics and Mechanism of the L-ascorbic Acid by Tris(oxalato)cobaltate(II) and Tris (1,10-phenanthroline)(III) Complexes In Aqueous Solution", *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions*, 2: 423-427.

Klefer, H., Sapper, H., Lohmann, W., (1984), "The Influence of Amino Acid Ligands and Vitamin C on the Reduction Potential of Fe(III): Polarographic and Electron Spin Resonance Investigations", *Naturforsch Z*, 39(1-2):102-106.

Lawrence, G. D. ve Yuan, D., (1996), "Benzaldehyde Formation from Aspartame in the Presence of Ascorbic Acid and Transition Metal Catalyst", *J. Agric. Food Chem.*, 44: 3461-3466.

Lau, O-W., Luk S-F. ve Wong K-S. (1986), "Background Correction Method for the Determination of Ascorbic Acid in Soft Drinks, Fruit Juices and Cordials Using Direct Ultraviolet Spectrophotometry", *Analyst*, 111:665-670.

Lurie, Ju., (1978), *Handbook of Analytical Chemistry*, Mir Publ., Eng. Trans., Moscow, USSR, 2nd printing, 294.

Martell, A.E., (1982), Chelates of ascorbic acid .Ch. 7. In "Ascorbic Acid: Its Chemistry and Metabolism and Uses". Seib P.A. and Tolbert B. M. (Ed.). *Advances in Chemistry Series 200* . Am. Chem. Soc. Publishing, Washington, DC ., 153.

Martinez, P., Zuluaga, J. ve Sieiro, C., (1984), "Kinetic Study of the Oxidation of L-Ascorbic Acid by Cupric Ions in Acidic Media", *Z.phys. Chemie, Leipzig*, 265: 1225–1235.

Martinez, P., Zuluaga, J. ve Noheda P., (1992), "Kinetics of the Oxidation of L-Ascorbic Acid by Diaquatetraamminecobalt(III) in Acidic Aqueous Solution. Application of the Fuoss Model and the Marcus-Sutin Cross –Relationship for Electron-Transfer Processes", *Inorganica Chimica Acta*, 195:249–253.

Mishra, D.K., Dhas, T.P.E., Sharma, P.D., Bhargava, A.P. ve Gupta, Y.K., (1990), "Role of Trace Metal Ions. Kinetics and Mechanism of the Copper(II)-Catalysed Oxidation of Ascorbic Acid with Peroxodiphosphate in Acetate Buffers", *Chem. Soc. Dalton Trans*, 1265–1270.

Niki, E., Noguchi, N., Tsuchihashi, H. ve Gotoh, N., "Interaction Among Vitamin C, Vitamin E, and β -carotene", *Am, J. Clin. Nutr.* , 62:1322S-1326S.

Ogata ,Y., Kosugi, Y. ve Morimoto , T.(1968), "Kinetics of the Cupric Salt- catalyzed Autoxidation of L- Ascorbic Acid in Aqueous Solutions", *Tetrahedron*, 24: 4057-4066.

Ohta ,Y., Shiraishi, N., Nishikawa, T. ve Nishikimi. M., "Copper- catalyzed Autoxidations of GSH and L – ascorbic acid: Mutual Inhibition of the Respective Oxidations by Their Coexistence", *Biochim. Biophys. Acta*, 1474:378–382.

Othmer, K. D. F., (1955), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Edited by Raymond, E., Ing-New York, Vol.2, 151.

Ottoway, P.B., (1993), *The Tecnology of Vitamins in Food*, Hardnolls Ltd., Glasgow.

Packer, L. ve Fuchs, J., (1997), Vitamin C in Health and Disease, Marcel Dekker, Inc., New York.

Pauling, L., (1971), Vitamin and Common Cold, W.H. Freeman and Co., San Fransisco.

Pelizzetti, E., Mentasti, E.ve Pramaura,E., (1978), “Kinetics and Mechanism of Oxidation of Ascorbic Acid Manganese(III) in Aqueous Acidic Perchlorate Media”, Journal Chemical Society Dalton Trans., 61-63.

Prudel, M., Davitkova, E., Davidek, J. ve Kminek, M.,(1986), “ Kinetics of Decomposition of Aspartame Hydrochloride (usal) in Aqueous Solutions”, J. Food Sci. , 51: 1393–8.

Rao, T.S., Kale, N.R. ve Dalvi S.P., (1987),“Kinetics and Mechanism of the Reaction of L-ascorbic Acid by 2,6-dichlorophenol-indophenol in Aqueous Solution”, React. Kinet. Catal. Lett., 34:179-184.

Scarpa, M., Vianello, F., Signor, L., Zennaro , L. ve Rigo, A., (1996), “Ascorbate Oxidation Catalyzed by bis (histidine) Copper (II)”, Inorg. Chem., 35: 5201- 5206.

Seib, P.A., Tolbert,B.N., (1989), Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism and Uses: Advances in Chemistry Series 200, American Chemical: Washington D.C.

Silver, J., ve Wilson, M.,(1986), “Studies On the Reactions of Ferric Iron with Ascorbic Acid. A Study of solution Chemistry Using Mössbauer Spectroscopy and Stopped-flow Techniques”, Inorganica Chimica Acta, 125(2): 97–106.

Silver, J., ve Wilson, M.,(1988), “Studies of the Reactions of Iron (II) Ascorbate Mixtures With Molecular Oxygen in Solution”, Inorganica Chimica Acta, 152(4):227-231.

Skoog, A.D., Holler, J.F. ve Nieman, T.A., (1998), Principals of Instrumental Analysis, Itarcourd Brace & Company, Florida.

Skov, K.A. ve Vonderschmitt D.J., (1975) “Kinetics of Iron and Copper Catalysis of Ascorbate Oxidation”, Bioinorganic Chemistry, 4(3):199-213.

Skurlatov, Yu. I., Kovner, V.Ya., Travin, S.O., Kirsh, Yu.E., Purmal, A.P. ve Kabanov, V.A., (1979), “The Mechanizm of Ascorbic Acid by Cu(II)- poly-4-vinylpyridine Complexes”, European Polymer Journal, 15(8):811-815.

Spaeth, E., Baptist, H.V. ve Robert, M., (1962), “Rapid Potentiometric Determination of Ascorbic Acid”, Anal. Chem., 34: 1342.

Stahl, E., (1969), Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, New York.

Şahbaz, F. ve Somer, G.(1993), “The Effect of Citrate Anions on the Kinetics of Cupric Ion-catalysed Oxidation of Ascorbic Acid”, Food Chem. , 47: 345- 349.

The Merck Index, (1989), (11th Ed.), Merck and Co., Inc. Rahway, New York.

Tribble, D.L., Thiel, P.M., Van den Berg, J.J.M. ve Krauss, R.M.,(1995), “ Differing α -Tocopherol Oxidative Lability and Ascorbic Acid Sparing Effects in Buoyant and Dense LDL”, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 15: 2025 -2031.

Wafwoyo, W.,Hansen, P. M. T. ve Chism G. W.,(1999), “Interaction of Aspartame with Selected Hydrocolloids: Solubility of Aspartame” , *Food Hydrocolloids*, 13: 299-302.

Weast, R.C., (1982), *CRC Handbook of Chemistry and Physics* ; 62 nd ed. Chemical Rubber Co. Florida.

Winkler, B.S., (1987), “In Vitro Oxidation of Ascorbic Acid and Its Prevention by GSH”, *Biochimica Et Biophysica Acta*, 925(3): 258-264.

Xu, J. ve Jordan, R.B., (1990b), “ Kinetics and Mechanism of the Reaction of Aqueous Iron(III) with Ascorbic Acid”, *Inorg. Chem.*, 29: 4180-4184.

Xu, J. ve Jordan, R.B., (1990a), “ Kinetics and Mechanism of the Reaction of Aqueous Coper(II) with Ascorbic Acid”, *Inorg. Chem.*, 29: 2933-2936.

Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S.,(1997), *Enstrümantal Analiz Yöntemleri*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Ankara.

EKLER**EK-1 Bakır-asetat ve bakır-aspartam komplekslerinin bağıl bollukları****Cu – Asetat kompleksi için hesaplar:**

$$\alpha = 0,819$$

[Cu _T]	Serbest Cu ²⁺	Fark Kompleşen miktar	% Kompleks
0,785 x 10 ⁻⁷	6,43 x 10 ⁻⁸	0,142 x 10 ⁻⁷	18,10
1,570 x 10 ⁻⁷	1,28 x 10 ⁻⁷	0,29 x 10 ⁻⁷	18,47
3,140 x 10 ⁻⁷	2,57 x 10 ⁻⁷	0,57 x 10 ⁻⁷	18,15
4,710 x 10 ⁻⁷	3,86 x 10 ⁻⁷	0,85 x 10 ⁻⁷	18,05
6,280 x 10 ⁻⁷	5,15 x 10 ⁻⁷	1,13 x 10 ⁻⁷	18,00

Cu – Aspartam kompleksi için hesaplar:

$$10^{-4} \text{ M Aspartam , } \alpha = 1,22 \times 10^{-3}$$

[Cu _T]	Serbest Cu ²⁺	Fark Kompleşen miktar	% Kompleks
0,785 x 10 ⁻⁷	9,6 x 10 ⁻¹¹	7,84 x 10 ⁻⁸	99,87
1,570 x 10 ⁻⁷	1,91 x 10 ⁻¹⁰	1,57 x 10 ⁻⁷	100,00
3,140 x 10 ⁻⁷	3,83 x 10 ⁻¹⁰	3,14 x 10 ⁻⁷	100,00
4,710 x 10 ⁻⁷	5,75 x 10 ⁻¹⁰	4,70 x 10 ⁻⁷	99,79
6,280 x 10 ⁻⁷	7,66 x 10 ⁻¹⁰	6,27 x 10 ⁻⁷	99,84

$$5 \times 10^{-4} \text{ M Aspartam, } \alpha = 5,58 \times 10^{-5}$$

[Cu _T]	Serbest Cu ²⁺	Fark Kompleşen miktar	% Kompleks
0,785 x 10 ⁻⁷	4,38 x 10 ⁻¹²	7,85 x 10 ⁻⁸	100,00
1,570 x 10 ⁻⁷	8,76 x 10 ⁻¹²	1,569 x 10 ⁻⁷	99,94
3,140 x 10 ⁻⁷	1,75 x 10 ⁻¹¹	3,139 x 10 ⁻⁷	99,97
4,710 x 10 ⁻⁷	2,63 x 10 ⁻¹¹	4,709 x 10 ⁻⁷	99,98
6,280 x 10 ⁻⁷	3,50 x 10 ⁻¹¹	6,279 x 10 ⁻⁷	99,98

$$10^{-3} \text{ M Aspartam, } \alpha = 1,42 \times 10^{-5}$$

[Cu _T]	Serbest Cu ²⁺	Fark Kompleşen miktar	% Kompleks
0,785 x 10 ⁻⁷	1,11 x 10 ⁻¹²	7,85 x 10 ⁻⁸	100,00
1,570 x 10 ⁻⁷	2,23 x 10 ⁻¹²	1,57 x 10 ⁻¹²	100,00
3,140 x 10 ⁻⁷	4,46 x 10 ⁻¹²	3,14 x 10 ⁻⁷	100,00
4,710 x 10 ⁻⁷	6,69 x 10 ⁻¹²	4,71 x 10 ⁻⁷	100,00
6,280 x 10 ⁻⁷	8,92 x 10 ⁻¹²	6,28 x 10 ⁻⁷	100,00

2×10^{-3} M Aspartam, $\alpha = 3.58 \times 10^{-6}$

[Cu_T]	Serbest Cu²⁺	Fark Kompleksleşen miktar	% Kompleks
$0,785 \times 10^{-7}$	$2,80 \times 10^{-13}$	$7,85 \times 10^{-8}$	100,00
$1,570 \times 10^{-7}$	$5,62 \times 10^{-13}$	$1,57 \times 10^{-12}$	100,00
$3,140 \times 10^{-7}$	$1,12 \times 10^{-12}$	$3,14 \times 10^{-7}$	100,00
$4,710 \times 10^{-7}$	$1,69 \times 10^{-12}$	$4,71 \times 10^{-7}$	100,00
$6,280 \times 10^{-7}$	$2,25 \times 10^{-12}$	$6,28 \times 10^{-7}$	100,00

4×10^{-3} M Aspartam, $\alpha = 8.99 \times 10^{-7}$

[Cu_T]	Serbest Cu²⁺	Fark Kompleksleşen miktar	% Kompleks
$0,785 \times 10^{-7}$	$7,05 \times 10^{-14}$	$7,85 \times 10^{-8}$	100,00
$1,570 \times 10^{-7}$	$1,41 \times 10^{-13}$	$1,57 \times 10^{-7}$	100,00
$3,140 \times 10^{-7}$	$2,82 \times 10^{-12}$	$3,14 \times 10^{-7}$	100,00
$4,710 \times 10^{-7}$	$4,23 \times 10^{-12}$	$4,71 \times 10^{-7}$	100,00
$6,280 \times 10^{-7}$	$5,64 \times 10^{-12}$	$6,28 \times 10^{-7}$	100,00

EK-2 Cu(II) iyonları varlığında farklı aspartam konsantrasyonları ve pH'ler için spesifik hız sabitlerinin standart sapma hesapları

pH 3,2 APM yok

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-0,00001	3,694	0	-0,00001	0,00001	1E-10	1,136073	5	3	0,378691	0,615379	13,345	2,669	-2,669	7,123561	29,08582	5,393127	0,114104
0,785	2,7715	-0,00001	3,694	2,89979	2,89978	-0,12828	0,016456	1,136073	5	3	0,378691	0,615379	13,345	2,669	-1,884	3,549456	29,08582	5,393127	0,114104
1,57	6,2215	-0,00001	3,694	5,79958	5,79957	0,42193	0,178025	1,136073	5	3	0,378691	0,615379	13,345	2,669	-1,099	1,207801	29,08582	5,393127	0,114104
4,71	16,5815	-0,00001	3,694	17,39874	17,39873	-0,81723	0,667865	1,136073	5	3	0,378691	0,615379	13,345	2,669	2,041	4,165681	29,08582	5,393127	0,114104
6,28	23,7215	-0,00001	3,694	23,19832	23,19831	0,52319	0,273728	1,136073	5	3	0,378691	0,615379	13,345	2,669	3,611	13,03932	29,08582	5,393127	0,114104

pH 3,2 10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-8E-06	3,6115	0	-8E-06	0,000008	6,4E-11	13,33477	5	3	4,444923	2,108299	11,775	2,355	-2,355	5,546025	24,649	4,964776	0,424651
0,785	3,5839	-8E-06	3,6115	2,835028	2,83502	0,74888	0,560822	13,33477	5	3	4,444923	2,108299	11,775	2,355	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,424651
1,57	6,8939	-8E-06	3,6115	5,670055	5,670047	1,223853	1,497816	13,33477	5	3	4,444923	2,108299	11,775	2,355	-0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,424651
3,14	8,1939	-8E-06	3,6115	11,34011	11,3401	-3,1462	9,898587	13,33477	5	3	4,444923	2,108299	11,775	2,355	0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,424651
6,28	23,8539	-8E-06	3,6115	22,68022	22,68021	1,173688	1,377544	13,33477	5	3	4,444923	2,108299	11,775	2,355	3,925	15,40563	24,649	4,964776	0,424651

pH 3,2 5×10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-0,00002	3,6281	0	-0,00002	0,00002	4E-10	8,379595	5	3	2,793198	1,671286	11,775	2,355	-2,355	5,546025	24,649	4,964776	0,336629
0,785	2,8778	-0,00002	3,6281	2,848059	2,848039	0,029762	0,000886	8,379595	5	3	2,793198	1,671286	11,775	2,355	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,336629
1,57	7,2178	-0,00002	3,6281	5,696117	5,696097	1,521703	2,31558	8,379595	5	3	2,793198	1,671286	11,775	2,355	-0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,336629
3,14	9,0578	-0,00002	3,6281	11,39223	11,39221	-2,33441	5,449489	8,379595	5	3	2,793198	1,671286	11,775	2,355	0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,336629
6,28	23,5678	-0,00002	3,6281	22,78447	22,78445	0,783352	0,61364	8,379595	5	3	2,793198	1,671286	11,775	2,355	3,925	15,40563	24,649	4,964776	0,336629

pH 3,2 10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,000008	3,7159	0	0,000008	-8E-06	6,4E-11	10,51201	5	3	3,504003	1,871898	11,775	2,355	-2,355	5,546025	24,649	4,964776	0,377036
0,785	4,4361	0,000008	3,7159	2,916982	2,91699	1,519111	2,307697	10,51201	5	3	3,504003	1,871898	11,775	2,355	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,377036
1,57	5,8161	0,000008	3,7159	5,833963	5,833971	-0,01787	0,000319	10,51201	5	3	3,504003	1,871898	11,775	2,355	-0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,377036
3,14	9,0361	0,000008	3,7159	11,66793	11,66793	-2,63183	6,92655	10,51201	5	3	3,504003	1,871898	11,775	2,355	0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,377036
6,28	24,4661	0,000008	3,7159	23,33585	23,33586	1,13024	1,277442	10,51201	5	3	3,504003	1,871898	11,775	2,355	3,925	15,40563	24,649	4,964776	0,377036

pH 3,2 2×10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0	3,8135	0	0	0	0	6,693029	4	2	3,346515	1,829348	10,99	2,7475	-2,7475	7,548756	21,56788	4,644123	0,393906
1,57	7,37	0	3,8135	5,987195	5,987195	1,382805	1,91215	6,693029	4	2	3,346515	1,829348	10,99	2,7475	-1,1775	1,386506	21,56788	4,644123	0,393906
3,14	9,9	0	3,8135	11,97439	11,97439	-2,07439	4,303094	6,693029	4	2	3,346515	1,829348	10,99	2,7475	0,3925	0,154056	21,56788	4,644123	0,393906
6,28	24,64	0	3,8135	23,94878	23,94878	0,69122	0,477785	6,693029	4	2	3,346515	1,829348	10,99	2,7475	3,5325	12,47856	21,56788	4,644123	0,393906

pH 3,2 4×10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-0,00002	3,4468	0	-0,00002	0,00002	4E-10	0,182857	4	2	0,091429	0,302371	12,56	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,060903
1,57	5,2971	-0,00002	3,4468	5,411476	5,411456	-0,11436	0,013077	0,182857	4	2	0,091429	0,302371	12,56	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,060903
4,71	16,5771	-0,00002	3,4468	16,23443	16,23441	0,342692	0,117438	0,182857	4	2	0,091429	0,302371	12,56	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,060903
6,28	21,4171	-0,00002	3,4468	21,6459	21,64588	-0,22878	0,052342	0,182857	4	2	0,091429	0,302371	12,56	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,060903

pH 4,5 APM yok

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,00005	12,019	0	0,00005	-0,00005	2,5E-09	56,17238	6	4	14,043095	3,747411773	16,485	2,7475	-2,7475	7,548756	29,27069	5,410239	0,692652
0,785	5,486	0,00005	12,019	9,434915	9,434965	-3,94897	15,59432	56,17238	6	4	14,043095	3,747411773	16,485	2,7475	-1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,692652
1,57	19,986	0,00005	12,019	18,86983	18,86988	1,11612	1,245724	56,17238	6	4	14,043095	3,747411773	16,485	2,7475	-1,1775	1,386506	29,27069	5,410239	0,692652
3,14	41,386	0,00005	12,019	37,73966	37,73971	3,64629	13,29543	56,17238	6	4	14,043095	3,747411773	16,485	2,7475	0,3925	0,154056	29,27069	5,410239	0,692652
4,71	59,786	0,00005	12,019	56,60949	56,60954	3,17646	10,0899	56,17238	6	4	14,043095	3,747411773	16,485	2,7475	1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,692652
6,28	71,486	0,00005	12,019	75,47932	75,47937	-3,99337	15,947	56,17238	6	4	14,043095	3,747411773	16,485	2,7475	3,5325	12,47856	29,27069	5,410239	0,692652

pH 4,5 10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-0,00003	8,9044	0	-0,00003	0,00003	9E-10	28,23788	6	4	7,05947	2,656966	16,485	2,7475	-2,7475	7,548756	29,27069	5,410239	0,4911
0,785	4,7077	-0,00003	8,9044	6,989954	6,989924	-2,28222	5,208546	28,23788	6	4	7,05947	2,656966	16,485	2,7475	-1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,4911
1,57	16,4077	-0,00003	8,9044	13,97991	13,97988	2,427822	5,89432	28,23788	6	4	7,05947	2,656966	16,485	2,7475	-1,1775	1,386506	29,27069	5,410239	0,4911
3,14	30,0077	-0,00003	8,9044	27,95982	27,95979	2,047914	4,193952	28,23788	6	4	7,05947	2,656966	16,485	2,7475	0,3925	0,154056	29,27069	5,410239	0,4911
4,71	38,5477	-0,00003	8,9044	41,93972	41,93969	-3,39199	11,50562	28,23788	6	4	7,05947	2,656966	16,485	2,7475	1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,4911
6,28	57,1177	-0,00003	8,9044	55,91963	55,9196	1,198098	1,435439	28,23788	6	4	7,05947	2,656966	16,485	2,7475	3,5325	12,47856	29,27069	5,410239	0,4911

pH 4,5 5×10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,00002	7,8415	0	0,00002	-0,00002	4E-10	7,38091	5	3	2,460303	1,568535	11,775	2,355	-2,355	5,546025	24,649	4,964776	0,315933
0,785	5,4909	0,00002	7,8415	6,155578	6,155598	-0,6647	0,441823	7,38091	5	3	2,460303	1,568535	11,775	2,355	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,315933
1,57	14,2409	0,00002	7,8415	12,31116	12,31118	1,929725	3,723839	7,38091	5	3	2,460303	1,568535	11,775	2,355	-0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,315933
3,14	22,8909	0,00002	7,8415	24,62231	24,62233	-1,73143	2,99785	7,38091	5	3	2,460303	1,568535	11,775	2,355	0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,315933
6,28	49,7109	0,00002	7,8415	49,24462	49,24464	0,46626	0,217398	7,38091	5	3	2,460303	1,568535	11,775	2,355	3,925	15,40563	24,649	4,964776	0,315933

pH 4,5 10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-5E-06	6,8391	0	-5E-06	0,000005	2,5E-11	9,024426	5	3	3,008142	1,7344	11,775	2,355	-2,355	5,546025	24,649	4,964776	0,349341
0,785	3,6226	-5E-06	6,8391	5,368694	5,368689	-1,74609	3,048825	9,024426	5	3	3,008142	1,7344	11,775	2,355	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,349341
1,57	13,1226	-5E-06	6,8391	10,73739	10,73738	2,385218	5,689265	9,024426	5	3	3,008142	1,7344	11,775	2,355	-0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,349341
3,14	20,9526	-5E-06	6,8391	21,47477	21,47477	-0,52217	0,27266	9,024426	5	3	3,008142	1,7344	11,775	2,355	0,785	0,616225	24,649	4,964776	0,349341
6,28	42,8326	-5E-06	6,8391	42,94955	42,94954	-0,11694	0,013676	9,024426	5	3	3,008142	1,7344	11,775	2,355	3,925	15,40563	24,649	4,964776	0,349341

pH 4,5 2×10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0	4,4395	0	0	0	0	1,1109	5	3	0,3703	0,608523	15,7	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,122568
1,57	6,695	0	4,4395	6,970015	6,970015	-0,27502	0,075633	1,1109	5	3	0,3703	0,608523	15,7	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,122568
3,14	14,685	0	4,4395	13,94003	13,94003	0,74497	0,55498	1,1109	5	3	0,3703	0,608523	15,7	3,14	0	0	24,649	4,964776	0,122568
4,71	20,245	0	4,4395	20,91005	20,91005	-0,66504	0,442285	1,1109	5	3	0,3703	0,608523	15,7	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,122568
6,28	28,075	0	4,4395	27,88006	27,88006	0,19494	0,038002	1,1109	5	3	0,3703	0,608523	15,7	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,122568

pH 4,5 4×10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0	3,4318	0	0	0	0	1,32298	5	3	0,440993	0,664073	15,7	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,133757
1,57	5,525	0	3,4318	5,387926	5,387926	0,137074	0,018789	1,32298	5	3	0,440993	0,664073	15,7	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,133757
3,14	10,135	0	3,4318	10,77585	10,77585	-0,64085	0,410691	1,32298	5	3	0,440993	0,664073	15,7	3,14	0	0	24,649	4,964776	0,133757
4,71	17,035	0	3,4318	16,16378	16,16378	0,871222	0,759028	1,32298	5	3	0,440993	0,664073	15,7	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,133757
6,28	21,185	0	3,4318	21,5517	21,5517	-0,3667	0,134472	1,32298	5	3	0,440993	0,664073	15,7	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,133757

pH 5,6 APM yok

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,0002	37,617	0	0,0002	-0,0002	4E-08	444,9137	6	4	111,2284	10,54649	16,485	2,7475	-2,7475	7,548756	29,27069	5,410239	1,949357
0,785	36,881	0,0002	37,617	29,52935	29,52955	7,351455	54,04389	444,9137	6	4	111,2284	10,54649	16,485	2,7475	-1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	1,949357
1,57	50,691	0,0002	37,617	59,05869	59,05889	-8,36789	70,02158	444,9137	6	4	111,2284	10,54649	16,485	2,7475	-1,1775	1,386506	29,27069	5,410239	1,949357
3,14	110,341	0,0002	37,617	118,1174	118,1176	-7,77658	60,4752	444,9137	6	4	111,2284	10,54649	16,485	2,7475	0,3925	0,154056	29,27069	5,410239	1,949357
4,71	192,101	0,0002	37,617	177,1761	177,1763	14,92473	222,7476	444,9137	6	4	111,2284	10,54649	16,485	2,7475	1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	1,949357
6,28	230,101	0,0002	37,617	236,2348	236,235	-6,13396	37,62547	444,9137	6	4	111,2284	10,54649	16,485	2,7475	3,5325	12,47856	29,27069	5,410239	1,949357

pH 5,6 10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-0,00001	19,112	0	-0,00001	0,00001	1E-10	93,6274	6	4	23,40685	4,838063	16,485	2,7475	-2,7475	7,548756	29,27069	5,410239	0,894242
0,785	16,6773	-0,00001	19,112	15,00292	15,00291	1,67439	2,803582	93,6274	6	4	23,40685	4,838063	16,485	2,7475	-1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,894242
1,57	32,7973	-0,00001	19,112	30,00584	30,00583	2,79147	7,792305	93,6274	6	4	23,40685	4,838063	16,485	2,7475	-1,1775	1,386506	29,27069	5,410239	0,894242
3,14	55,8273	-0,00001	19,112	60,01168	60,01167	-4,18437	17,50895	93,6274	6	4	23,40685	4,838063	16,485	2,7475	0,3925	0,154056	29,27069	5,410239	0,894242
4,71	84,1573	-0,00001	19,112	90,01752	90,01751	-5,86021	34,34206	93,6274	6	4	23,40685	4,838063	16,485	2,7475	1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,894242
6,28	125,6073	-0,00001	19,112	120,0234	120,0234	5,58395	31,1805	93,6274	6	4	23,40685	4,838063	16,485	2,7475	3,5325	12,47856	29,27069	5,410239	0,894242

pH 5,6 5×10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,00001	11,649	0	0,00001	-0,00001	1E-10	8,828667	6	4	2,207167	1,485654	16,485	2,7475	-2,7475	7,548756	29,27069	5,410239	0,2746
0,785	8,1002	0,00001	11,649	9,144465	9,144475	-1,04428	1,09051	8,828667	6	4	2,207167	1,485654	16,485	2,7475	-1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,2746
1,57	18,0002	0,00001	11,649	18,28893	18,28894	-0,28874	0,083371	8,828667	6	4	2,207167	1,485654	16,485	2,7475	-1,1775	1,386506	29,27069	5,410239	0,2746
3,14	39,1902	0,00001	11,649	36,57786	36,57787	2,61233	6,824268	8,828667	6	4	2,207167	1,485654	16,485	2,7475	0,3925	0,154056	29,27069	5,410239	0,2746
4,71	54,1602	0,00001	11,649	54,86679	54,8668	-0,7066	0,499284	8,828667	6	4	2,207167	1,485654	16,485	2,7475	1,9625	3,851406	29,27069	5,410239	0,2746
6,28	72,5802	0,00001	11,649	73,15572	73,15573	-0,57553	0,331235	8,828667	6	4	2,207167	1,485654	16,485	2,7475	3,5325	12,47856	29,27069	5,410239	0,2746

pH 5,6 10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-0,00002	8,288	0	-0,00002	0,00002	4E-10	5,718051	5	3	1,906017	1,380586	10,205	2,041	-2,041	4,165681	14,29642	3,781061	0,365132
0,785	5,4298	-0,00002	8,288	6,50608	6,50606	-1,07626	1,158336	5,718051	5	3	1,906017	1,380586	10,205	2,041	-1,256	1,577536	14,29642	3,781061	0,365132
1,57	14,8698	-0,00002	8,288	13,01216	13,01214	1,85766	3,450901	5,718051	5	3	1,906017	1,380586	10,205	2,041	-0,471	0,221841	14,29642	3,781061	0,365132
3,14	24,9998	-0,00002	8,288	26,02432	26,0243	-1,0245	1,0496	5,718051	5	3	1,906017	1,380586	10,205	2,041	1,099	1,207801	14,29642	3,781061	0,365132
4,71	39,2798	-0,00002	8,288	39,03648	39,03646	0,24334	0,059214	5,718051	5	3	1,906017	1,380586	10,205	2,041	2,669	7,123561	14,29642	3,781061	0,365132

pH 5,6 2×10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,000005	4,7884	0	0,000005	-5E-06	2,5E-11	3,177779	4	2	1,58889	1,260512	12,56	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,253891
1,57	7,9943	0,000005	4,7884	7,517788	7,517793	0,476507	0,227059	3,177779	4	2	1,58889	1,260512	12,56	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,253891
4,71	21,1243	0,000005	4,7884	22,55336	22,55337	-1,42907	2,042238	3,177779	4	2	1,58889	1,260512	12,56	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,253891
6,28	31,0243	0,000005	4,7884	30,07115	30,07116	0,953143	0,908482	3,177779	4	2	1,58889	1,260512	12,56	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,253891

pH 5,6 4×10^{-3} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0	2,3019	0	0	0	0	1,29792	5	3	0,43264	0,657754	15,7	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,132484
1,57	2,99	0	2,3019	3,613983	3,613983	-0,62398	0,389355	1,29792	5	3	0,43264	0,657754	15,7	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,132484
3,14	8,06	0	2,3019	7,227966	7,227966	0,832034	0,692281	1,29792	5	3	0,43264	0,657754	15,7	3,14	0	0	24,649	4,964776	0,132484
4,71	11,05	0	2,3019	10,84195	10,84195	0,208051	0,043285	1,29792	5	3	0,43264	0,657754	15,7	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,132484
6,28	14,04	0	2,3019	14,45593	14,45593	-0,41593	0,172999	1,29792	5	3	0,43264	0,657754	15,7	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,132484

EK-2 Fe(III) iyonları varlığında farklı aspartam konsantrasyonları için pH 4,5’de spesifik hız sabitlerinin standart sapma hesapları

pH 4,5 APM yok

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	2E-15	1,086	0	2E-15	-2E-15	4E-30	0,49315	5	3	0,164383	0,405442	15,7	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,081664
1,57	2,075	2E-15	1,086	1,70502	1,70502	0,36998	0,136885	0,49315	5	3	0,164383	0,405442	15,7	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,081664
3,14	2,995	2E-15	1,086	3,41004	3,41004	-0,41504	0,172258	0,49315	5	3	0,164383	0,405442	15,7	3,14	0	0	24,649	4,964776	0,081664
4,71	4,835	2E-15	1,086	5,11506	5,11506	-0,28006	0,078434	0,49315	5	3	0,164383	0,405442	15,7	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,081664
6,28	7,145	2E-15	1,086	6,82008	6,82008	0,32492	0,105573	0,49315	5	3	0,164383	0,405442	15,7	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,081664

pH 4,5 10⁻⁴ M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	-2E-15	1,025	0	-2E-15	2E-15	4E-30	0,066138	5	3	0,022046	0,148479	15,7	3,14	-3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,029906
1,57	1,7305	-2E-15	1,025	1,60925	1,60925	0,12125	0,014702	0,066138	5	3	0,022046	0,148479	15,7	3,14	-1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,029906
3,14	3,1105	-2E-15	1,025	3,2185	3,2185	-0,108	0,011664	0,066138	5	3	0,022046	0,148479	15,7	3,14	0	0	24,649	4,964776	0,029906
4,71	4,6805	-2E-15	1,025	4,82775	4,82775	-0,14725	0,021683	0,066138	5	3	0,022046	0,148479	15,7	3,14	1,57	2,4649	24,649	4,964776	0,029906
6,28	6,5715	-2E-15	1,025	6,437	6,437	0,1345	0,01809	0,066138	5	3	0,022046	0,148479	15,7	3,14	3,14	9,8596	24,649	4,964776	0,029906

pH 4,5 2×10^{-4} M APM

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	0	0,00001	1,5382	0	0,00001	-0,00001	1E-10	0,432017	4	2	0,216009	0,464767	9,42	2,355	-2,355	5,546025	12,3245	3,510627	0,132389
1,57	2,1467	0,00001	1,5382	2,414974	2,414984	-0,26828	0,071976	0,432017	4	2	0,216009	0,464767	9,42	2,355	-0,785	0,616225	12,3245	3,510627	0,132389
3,14	5,3667	0,00001	1,5382	4,829948	4,829958	0,536742	0,288092	0,432017	4	2	0,216009	0,464767	9,42	2,355	0,785	0,616225	12,3245	3,510627	0,132389
4,71	6,9767	0,00001	1,5382	7,244922	7,244932	-0,26823	0,071948	0,432017	4	2	0,216009	0,464767	9,42	2,355	2,355	5,546025	12,3245	3,510627	0,132389

y=bx+a

A= [Cu²⁺]

B= k_d

C= a

D= b

E= b.[Cu²⁺]

F= a+ b.[Cu²⁺]

G= k_d- (a+b. [Cu²⁺])

H= [k_d- (a+b. [Cu²⁺])] ²

I= $\sum [k_d - (a + b \cdot [Cu^{2+}])]^2 = S_{y(x)}$

J= n (çalışılan farklı Cu²⁺ konsantrasyonları sayısı)

K= n-2

L= $\sum [k_d - (a + b \cdot [Cu^{2+}])]$

M= $[\sum k_d - (a + b \cdot [Cu^{2+}])]^2$

N= $\sum [Cu^{2+}]$

O= $(\sum [Cu^{2+}]) / n$

P= $[Cu^{2+}] - (\sum [Cu^{2+}] / n)$

R= $[[Cu^{2+}] - (\sum [Cu^{2+}] / n)]^2$

S= $\sum [[Cu^{2+}] - (\sum [Cu^{2+}] / n)]^2$

T= $[\sum [[Cu^{2+}] - (\sum [Cu^{2+}] / n)]^2]^{1/2}$

U= $\sum [k_d - (a + b \cdot [Cu^{2+}])]^2 / [\sum [[Cu^{2+}] - (\sum [Cu^{2+}] / n)]^2]^{1/2} = S_k$

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi 23.01.1980

Doğum yeri İstanbul

Lise 1994–1998 Ataköy Hasan Polatkan Lisesi

Lisans 2000–2004 İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü

Yüksek Lisans 2004–2006 Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı, Fizikokimya Programı

