

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASKORBİK ASİTİN METAL İYONU
KATALİZLİ ve ÇEŞİTLİ ORTAMLARDA
OKSİDASYON KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ

Y.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Kimya Öğretmeni Nihal ERSÖZ

F.B.E. Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programında
Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Savunma tarihi : 19.09.2002

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Filiz İMER (Y.T.Ü.) *Pimer*

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Göksel AKGİN *AKGİN* (Y.T.Ü.)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Bilen Demirel (İTÜ) *Demirel*

İSTANBUL, 2002

128669

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
SİMGE LİSTESİ.....	iii
KISALTMA LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BÖLÜM.....	2
2.1. Tarihçesi.....	2
2.2. Fizikokimyasal Özellikleri.....	4
2.2.1. Fiziksel Özellikleri.....	4
2.2.2. Kimyasal Özellikleri.....	4
2.3. Farmakolojik Özellikleri.....	8
2.4. Doğadaki Besinlerde C Vitamini Oluşumu ve Kararlılığı.....	10
2.5. Kullanım Alanları ve Antioksidan Özelliği.....	13
2.6. Tanınma ve Miktar Tayini Yöntemleri.....	17
2.6.1. Mor Ötesi (Ultraviyole) Spektroskopisi.....	21
2.6.1.1. Lambert-Beer Yasası.....	22
2.7. Birinci Dereceden Reaksiyonlar.....	23
2.8. Kararlılığı, Oksidasyonu ile Daha Önce Yapılan Çalışmalar.....	25
3.DENEYSEL BÖLÜM.....	30
3.1. Kullanılan Malzemeler.....	30
3.2. Araç ve Gereçler.....	31
3.3. Çözeltiler.....	32
3.4. Tampon Çözeltiler (pH=3,3-6,0).....	32
3.4.1. Asetat Tamponları (0,5 M).....	32
3.4.2. Sitrata Tamponları (0,5 M).....	33
3.5. Yöntem.....	33
3.5.1. Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması.....	33
3.5.2. Örneklerin Hazırlanması.....	33
3.5.2. Kinetik Ölçümler.....	34
3.5.3. Kinetik Ölçümler.....	35
4.SONUÇLAR.....	35
4.1. Spektral Ölçümler.....	35
4.2. Teorik Yaklaşım.....	35
4.3. Spontane ve Cu (II) İyon Katalizli Oksidasyon.....	38
4.4. H ₂ A'nın Reaksiyon Hızı Üzerine pH'ın Etkisi.....	38
4.5. Cu(II)İyonu Konsantrasyonunun Etkisi.....	58

5.SONUÇLAR VE TARTIŞMA	64
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	67



SİMGE LİSTESİ

$A^{\cdot-}$	Askorbat radikali
c	Konsantrasyon
E_0	Standart elektrot potansiyeli
ϵ	Ekstinksiyon katsayısı
k	Birinci derece hız sabiti
K_{sp}	Spesifik hız sabiti
λ_{maks}	Maksimum absorbans dalga boyu
pK	Asit sabiti



KISALTMA LİSTESİ

DHAA	Dehidroaskorbik asit
2,6-DPİP	2,6-diklorofenol indofenol
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
GC	Gaz kromatografisi
H ₂ A	Askorbik asit
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
NBS	N-bromo süksinimid
nm	Nanometre
TLC	İnce tabaka kromatografisi
UV	Ultraviyole



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Askorbik asidin molekül şekli..... 5
Şekil 2.2	Askorbik asit-dehidroaskorbik asit redoks reaksiyonu..... 6
Şekil 2.3	Besinlerin vitamin içeriğini etkileyen etkenler..... 14
Şekil 2.4	Askorbik asidin 2,6 – diklorofenolindifenol ile reaksiyonu..... 18
Şekil 2.5	Askorbik asidin N – bromosüksinimid (NBS) ile reaksiyonu..... 19
Şekil 2.6	Birinci mertebeden reaksiyonlarda $\log [A] = f(t)$ değişimi yardımıyla k hız sabiti büyüklüğünün belirlenmesi..... 24
Şekil 2.7	$[HA Cu(II)]^-$ kompleks..... 26
Şekil 2.8.	$[HA Cu(II)O_2]^-$ kompleks..... 27
Şekil 2.9	Askorbik asidin metal iyonu katalizli otoksidasyonu..... 29
Şekil 4.1	Askorbik asidin sitrat ve asetat tampon çözeltilerinde çalışılan pH değerleri için λ_{maks} ve absorbands değerlerindeki değişimler..... 33
Şekil 4.2	$2,835 \times 10^{-5} M$ ve $5,675 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 41
Şekil 4.3	$8,505 \times 10^{-5} M$ ve $11,35 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 42
Şekil 4.4	$2,835 \times 10^{-5} M$ ve $5,675 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=4,5 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 45
Şekil 4.5	$8,505 \times 10^{-5} M$ ve $11,35 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=4,5 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 46
Şekil 4.6	$11,35 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=6,0 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 47
Şekil 4.7	$5,675 \times 10^{-5} M$ ve $8,505 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda K-sitrat tamponu pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 49
Şekil 4.8	$11,35 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda K-sitrat tamponu ve pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 50
Şekil 4.9	$5,675 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda K-sitrat tamponu pH=4,5 ve pH=6,0 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 52
Şekil 4.10	$5,675 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda $Na_2HPO_4^-$ sitrik asit tamponu pH=3,3 ve 4,5 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 54
Şekil 4.11	$5,675 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda $Na_2HPO_4^-$ sitrik asit tamponu pH=6,0 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler..... 55
Şekil 4.12	Asetat tamponu için askorbik asidin oksidasyonunda Cu(II) varlığında katalitik etki..... 61

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Askorbik asidin vücuttaki önemli bazı biyokimyasal işlevleri..... 8
Çizelge 2.2	Bazı yiyeceklerin C vitamini içeriği..... 12
Çizelge 4.1	Değişik pH değerlerinde askorbik asidin asetat (a) ve K-sitrat (b) tamponlarındaki absorbanları..... 37
Çizelge 4.2	Asetat tamponu, pH=3,3 $2,835 \times 10^{-5}$, $5,675 \times 10^{-5}$ ve $8,505 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 39
Çizelge 4.3	Asetat tamponu, pH=3,3 $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 40
Çizelge 4.4	Asetat tamponu, pH=4,5 $2,835 \times 10^{-5}$, $5,675 \times 10^{-5}$ askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 43
Çizelge 4.5	Asetat tamponu, pH=4,5 $8,505 \times 10^{-5}$, $11,35 \times 10^{-5}$ askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 44
Çizelge 4.6	Asetat tamponu, pH=6,0 $2,835 \times 10^{-5}$, $5,675 \times 10^{-5}$ ve $8,505 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 47
Çizelge 4.7	Asetat tamponu, pH=6,0 $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 47
Çizelge 4.8	K-Sitrat tamponu, pH=3,3 $5,675 \times 10^{-5}$ M, $8,505 \times 10^{-5}$ ve $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 48
Çizelge 4.9	K-Sitrat tamponu, pH=4,5 $5,675 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri.... 51
Çizelge 4.10	K-Sitrat tamponu, pH=6,0 $5,675 \times 10^{-5}$ M, askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 51
Çizelge 4.11	Na_2HPO_4 -Sitrik asit tamponu, pH=3,3 ;4,5 ve 6,0 'da $5,675 \times 10^{-5}$ M, askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri..... 53
Çizelge 4.12	Asetat tamponunda değişik konsantrasyonlardaki H_2A çözeltileri için farklı pH ve Cu^{2+} konsantrasyonlarındaki reaksiyon hız sabitleri..... 56
Çizelge 4.13	Sitrat tamponlarında değişik konsantrasyonlardaki H_2A çözeltileri için farklı pH ve Cu^{2+} konsantrasyonlarındaki hız sabitleri..... 59
Çizelge 4.14	Askorbik asidin Cu(II)-iyon-katalizli oksidasyonunun asetat ve sitrat tamponlarında bulunan spesifik hız sabitleri (K_{sp})..... 62

ÖNSÖZ

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

Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu'na ve Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve yardımcılara, Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi laboratuvarında bana çalışma olanağı sağlayan Sayın Dekan Prof. Dr. Mustafa BERKEM'e ve Kimya Eğitimi Bölüm Başkanı Prof. Dr. Musa ŞAHİN hocama teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımın yürütülmesinde bana yol gösteren ve büyük yardımlarını gördüğüm hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan KILIÇ'a teşekkür ederim.



ÖZET

Askorbik asit, C vitamini (H_2A) canlıların metabolizması için gerekli bir besin elementidir, yiyecek ve içeceklerde antioksidan görevi görür. Kararlılığı bu ürünlerin bileşimine ve oksijen içeriğine bağlı olarak geniş ölçüde değişir. $Cu(II)$ -iyonları varlığındaki H_2A stabilitesi besin ve farmasotik endüstrisindeki pratik uygulamalarda önemlidir.

Askorbik asidin $Cu(II)$ -iyonu ($1,57; 3,14; 7,85$ ve $15,7 \times 10^{-7}$ M) katalizli, hava oksijeni ile oksidasyonu tamponlanmış çözeltilerde ve $22^\circ C$ 'de incelenmiştir.

Asetat ve sitrat tamponları için, pH aralığı 3,3 ile 6,0 ve H_2A konsantrasyonu aralığı $2,835 \times 10^{-5}$ ile $11,350 \times 10^{-5}$ M 'da çalışılmıştır.

H_2A konsantrasyonları doğrudan ultraviyole spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Ortamın asitliğine bağlı olarak absorbanlar 248-266 nm arasında ölçülmüştür.

Birinci derece mekanizmayı izleyen reaksiyon hızları şöyle ifade edilebilir;

$$d[H_2A]/dt = k [H_2A]$$

burada $[H_2A]$, askorbik asit konsantrasyonu, t zaman ve k birinci derecede hız sabitidir. k değerleri eğimden lineer regresyonla hesaplanmıştır. Reaksiyon hızları pH ve $Cu(II)$ iyonunun konsantrasyonu ile artmıştır. K, spesifik hız sabitleri hesaplanmıştır. Askorbik asidin $Cu(II)$ iyon katalizli oksidasyonu için spesifik hız sabitleri sitrat tamponlarında asetat tamponuna göre daha düşük bulunmuştur. Reaksiyon hızlarında, değişik koşullarda gözlenen farklar $Cu(II)$ iyonunun tamponun organik asitleriyle farklı kompleks yapma yeteneklerine atfedilir.*

Anahtar Kelimeler: Kinetik, askorbik asit, $Cu(II)$ iyon katalizli oksidasyon, asetat tampon, sitrat tampon

* Bu çalışma Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
(Proje No: 92-B-01-02-01)

ABSTRACT

Ascorbic acid, vitamin C or (H_2A), is widely required in the metabolism of living beings. In food and beverages it fulfills the function of antioxidant agent. Its stability in these products varies widely according to the composition and oxygen content. Ascorbic acid stability in presence of Cu(II)-ions provides an important basis for practical applications in food and pharmaceutical industries.

The kinetics of Cu(II) ion-catalyzed ($1,57; 3,14; 7,85$ and $15,7 \times 10^{-7}$ M) oxidation of H_2A by air oxygen has been investigated in buffered solution at $22^\circ C$.

The study was carried out for acetate and citrate buffers in the pH range from 3,3 to 6,0 and with H_2A concentration range from $2,835 \times 10^{-5}$ and $11,350 \times 10^{-5}$ M. H_2A was analyzed using direct ultraviolet spectrophotometry. The absorbance measurements were made at 248-266 nm depending on the acidity of medium.

The reaction followed first-order mechanism and the rate can be expressed as;

$$d[H_2A]/dt = k [H_2A]$$

where H_2A is the concentration of ascorbic acid, t is the time and k is the first-order rate constant. k values were calculated by linear regression analysis. Reaction rates increased with pH and Cu(II)-ion concentrations. Specific rate constants, K , were calculated. Specific rate constants of Cu(II) ion-catalyzed oxidation of ascorbic acid in citrate buffers were lower than that in acetate buffers. The differences observed in the reaction rates at various conditions are due to the difference complexing ability of Cu(II)-ion with organic acids in buffers. *

Keywords: Ascorbic acid, kinetics, Cu(II)-ion catalyzed, acetate buffer, citrate buffer.

* This work was supported by Yıldız Technical University Research Fund.
(Nr: 92-B-01-02-01)

1. GİRİŞ

L-askorbik asit veya C vitamini (H_2A) sulu çözeltilerde kuvvetli bir indirgeme etkisi gösterir. Son yıllarda indirgeyici titrant olarak kullanılmıştır. H_2A çözeltileri alkali ortamlarda hızla bozunur ve asidik bölge incelemeler için tercih edilir. Biyolojik olarak L-askorbik asit skorbüt etkisini yok etmek için kullanılır. Besin endüstrisinde antioksidan etki sağlar. L-askorbik asidin yapısı, 3-keto-D-glofuranolakton'un enolüne karşılıktır. Yani bir endiol grubu ile lakton yapısına sahiptir.

L-askorbik asidin oksidasyonu L-dehidro askorbik 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)

Bakır ve demir H_2A 'nın oksidasyonunda $Fe(III)$ ve $Cu(II)$ iyonları, $Fe(II)$ ve $Cu(I)$ şekillerine indirgenen çok etkin iki geçiş metalidir. $Cu(II)$ iyonu çözeltilerdeki bir çok kimyasal reaksiyondan güçlü bir katalizördür. Bakır (II) iyonu çeşitli organik ligandlarla kompleksler oluşturur. Ligandların ve bakır (II) iyonlarının konsantrasyonu ve ligandın yapısına bağlı olarak kompleks oluşum derecesi %100'den 0'a kadar değişir.

L-askorbik asidin metal iyonlarıyla etkileşmesi canlı hücrelerde önemli rol oynar. H_2A moleküler oksijenle oksidasyonu, geçiş metal iyonlarını katalizör ve H_2A 'nın geçiş metal komplekslerini ara ürün veren karmaşık bir işlemdir. (Ünleröglü, 2001)

Bakır katalizli reaksiyonlar besin kimyasında önemlidir.

Bu çalışmanın amaçları; askorbik asidin oksidasyonu üzerine askorbik asit ve bakır konsantrasyonu, pH 'ın etkisini havalandırılmış sulu çözeltilerde incelemek ve askorbik asidin kararlılığı üzerinde sitrat ve asetat tamponlarının kimyasal etkilerini tanımlamaktır.

2. GENEL BÖLÜM

2.1 Tarihçesi

Askorbik asit kimyasal olarak tanınmadan önce hastalıklarla ilişkisi bilinmekteydi. Askorbik asidin yetersizliğine bağlı skorbüt hastalığını Hipokrates M.Ö. 450 yıllarında diş etlerinin kangreni, diş kaybı ve askerlerin ayaklarında şiddetli ağrılar gibi belirtilerle tanımlanmıştır. Kramer 1720’de skorbütün besinlerde bulunan bir maddenin eksikliği sonucu oluştuğunu bildirmiştir. 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 bir çok besin maddelerinin, özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici (antiskorbütik) etkileri olduğunu saptamışlardır.

Vitamin kelimesi sıhate sebep olan amin manasında olup ilk defa 1912 yılında C. Funk adlı bir kimyacı tarafından “antiskorbütik vitamin” şeklinde kullanılmıştır. Daha sonra Drummond 1920’de antiskorbütik vitamin için “Vitamin C” adını kullanmıştır. Zilva ve çalışma arkadaşları (1918-29) limondan antiskorbütik faktörü yoğunlaştırma üzerinde çalışmışlar ve hemen hemen saf askorbik asit bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenerek izole edilmiştir. Zilva bu çalışmaları esnasında 2,6-diklorofenol indofenolün (2,6-DPIP) vitamin çözeltisi tarafından indirgenliğini bulmuştur. (Othmer, 1955)

Askorbik asit 1928-1932 yıllarında “Szent-Gyorgy” tarafından böbreküstü bezlerinden ve yeşil biber, lahana gibi bitkilerden çıkarılmıştır. Buna da “heksuronik asit” adı verilmiştir. Daha sonra hemen hemen bütün bitkilerde ve hayvansal organlarda varlığı saptanmıştır.

Maymun, kobay ve insan vücutlarında askorbik asit sentezlenemez. Fakat diğer cinsler, örneğin köpek, tavuk ve fareler vücutlarında askorbik asit sentez edebilirler. (Keskin, 1987)

Szent-Gyorgy bu maddenin antiskorbüt vitamini olduğunu anlayamamıştır. King “heksuronik asit” ile aynı olduğunu kabul ettikleri kristal maddenin limon suyundan izolasyonunu bildirmiştir. (Dyke, 1965)

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

Vitamin C 'nin kimyasal yapısı Haworth ve arkadaşları tarafından 1933'te aydınlatılmıştır, aynı senede Haworth Richest Reichstein tarafından bu vitaminin sentezi yapılarak askorbik asit adı verilmiştir. (Aras vd., 1976)

Askorbik asit ve Vitamin C, L-ksiloaskorbik asidin günümüzde yaygın olarak kullanılan iki ismidir. Bununla beraber tarihsel gelişimi sırasında aşağıdaki isimler verilmiştir;

Cevitamik asit

Antiskorbütik vitamin

Heksuronik asit

Skorbütamin

Redoxon

Diğer kimyasal isimleri;

L-askorbik asit

3-oxo-L-glukofuranolaktonel (enol şekli)

L-3-ketotreohexuronik asit lakton 'dur. (Merck Index, 1989)

2.2 Fizikokimyasal Özellikleri

2.2.1 Fiziksel Özellikleri

Askorbik asit monoklinik sistemde iğneler şeklinde kristallenen renksiz bir madde olup 190-192 °C 'de bozunarak erir. Çok hafif özel bir kokusu vardır. Ekşi tatta olup, asit reaksiyonu verir. Kuru halde havada dayanıklı olup, sulu çözeltileri kolayca oksijen ve ışık varlığında bozunur. Bu bozunma pH'a bağlı olup, yüksek pH'larda bozunma daha da hızlıdır. Reaksiyon bakır ve demir varlığında hızlanır.

Askorbik asidin dört ve beşinci karbonları asimetric olduğundan optikçe aktif olan bir maddedir.

Çevirme açısı;

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

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

İki değerli bir asit olan askorbik asidin asit sabitleri;

$pK_1 = 4,10$

$pK_2 = 11,79$ 'dur. (Weast, 1982)

Sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir. Bir gram askorbik asit 3 mL suda, 30 mL alkolde, 50 mL mutlak alkolde ve 100 mL gliserinde çözünür. Eter, kloroform, benzen, petrol eteri, yağlar ve yağ çözücülerinde çözünmez. (The Merck Index, 1989)

2.2.2. Kimyasal Özellikleri

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

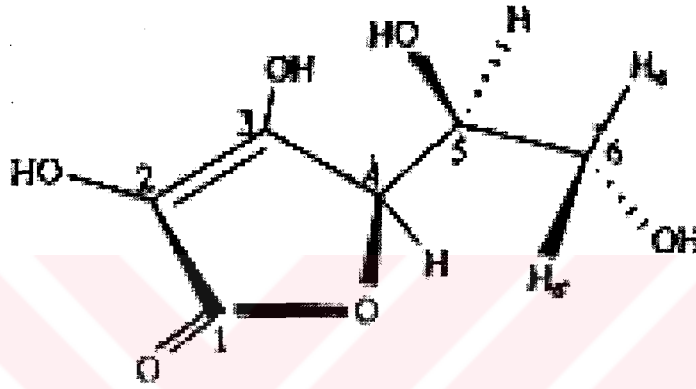
% 40,91 Karbon (C)

% 4,48 Hidrojen (H)

% 54,5 Oksijen (O) içerir (Lewin, 1970)

Askorbik asidin 4. ve 5. karbonları asimetrik olduklarından, dört stereoizomeri vardır: D- ve L- askorbik asit ve D- ve L- araboaskorbik asit. Bunlardan en yüksek vitamin etkisine sahip olan L- askorbik asittir, D-izoaskorbik asit (eritorbik asit veya D-araboaskorbik asit) L-askorbik asidin ancak % 5 antiskorbütik etkisine sahiptir. L-araboaskorbik asit ve D-askorbik asidin vitamin etkileri yoktur. (Keskin, 1981)

X-ışını difraksiyonu incelenmesi L-askorbik asit molekül şeklinin aşağıda şekil 2.1'deki gibi olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.1 Askorbik asidin molekül şekli (Davies, 1992)

Bu yapı asit-baz gibi davranıp 3. hidroksil iyonu ilk olarak iyonlaşır. (Davies, 1992)

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

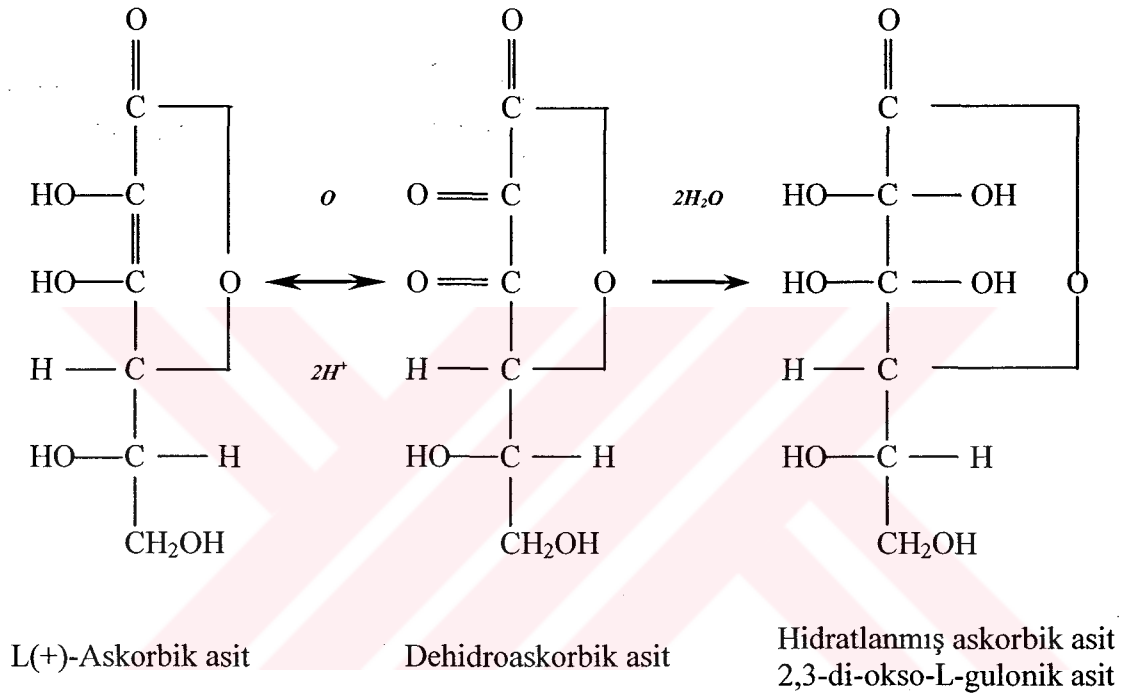
L(+)-askorbik asit karbonat ve bikarbonatlardan karbon dioksidi açığa çıkarır, bir çok metal kationları, örneğin sodyum ve kalsiyum iyonları ile nötral, suda çözünen kristalsi monometal tuzları verir ve bu tuzlarda da lakton halkası bozulmamıştır. (Keskin, 1981)

	Kapalı Formülü	Molekül Ağırlığı
Askorbik asit	$C_6H_8O_6$	$176,13 \text{ g.mol}^{-1}$
Sodyum tuzu	$C_6H_7O_6Na$	$198,10 \text{ g.mol}^{-1}$
Kalsiyum tuzu	$C_{12}H_{14}CaO_{12}.2H_2O$	$426,35 \text{ g.mol}^{-1}$

Sodyum askorbat, $C_6H_7O_6Na$ ve kalsiyum askorbat, $(C_6H_7O_6)_2Ca$, askorbik asit gibi terapötik amaçla kullanılmaktadır. Askorbik asidin diğer 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 diğer tuzlarda olduğu gibi askorbik asit yetmezliği durumunda kullanılır.

Askorbik asidin önemli özelliklerinden birisi de çok kuvvetli indirgen olmasıdır. Fehling çözeltisini, amonyaklı $AgNO_3$ çözeltisi ve diğer bazı oksidasyon maddelerini kolayca indirger, bu arada kendisi de dehidroaskorbik aside yükseltgenir.



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 indirgenebilir. 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 laktone dönüştürülemez, parçalanmasıyla oksalik asit meydana gelir.

11,2 mg askorbik asit 1,0 mg O_2 ile yükseltgenebilir. Eser miktarda ortamda varolan ağır metaller, askorbik asidin bozunmasında, oksidasyonunda katalizör olarak etkili olmaktadır.

Askorbik asidin bozunması pH'ye bağılıdır ve maksimum bozunma pH 4'te yüksektir. Aynı zamanda bozunma buzlu ortamda, sulu ortama göre daha fazladır. (Ottaway, 1993)



ABSORPSİYON ALANI

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. (Lewin, 1970; Clarke, 1975)

Metanolde 244 nm, etanolde 245 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir.

IR spektrumu (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. (Clarke, 1975)

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

2.3 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 artmaktadır kan dolaşımı ile dokulara taşınır ve fazlası idrar ile dışarı atılır. Gereğinden fazla alınan askorbik asidin fazlası monosakkaritlerde olduğu gibi karbon dioksit 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. Vücuttan atılan vitaminin büyük bir kısmı askorbik asit şeklinde, az bir kısmı ise oksalata çevrilerek 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 çizelge 2.1 'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Askorbik asidin vücuttaki önemli bazı biyokimyasal işlevleri (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 ortaya konulmuştur. (Baysal, 1984)

Askorbik asidin kan damarlarının kuvvetli olmasında da görev yaptığı sanılmaktadır. Vitamin yetersizliğinde kan damarları zayıflamakta ve ufak darbelerle 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, 1970; 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 aşırı askorbik asit alımının bağırsaklarda asiditeyi artırarak B₁₂ vitamininin

emilimini azalttığı da bildirilmiştir. (Hogenkamp, 1980) Askorbik asidin bu alandaki görevi oksidasyon redüksiyon olaylarındaki etkinliğindedir. 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

Askorbik asit eksikliğinde, hücreler arasında kollajen iplikçiklerinin kaybolması, kanamalar ve kemik hasarı ile kendini gösteren skorbut hastalığı görülür. Süt çocuklarında görülen skorbutte Möller Barlow hastalığı denir. Kapillar damar hücrelerindeki değişiklikler kolayca çatlamalara sebep olarak deri, kas, dişeti gibi mekanik hasara veya gerilime açık olan yerlerde kolayca kanamalar oluşur. Yaraların iyileşmesi gecikir, hastalıklara karşı direnç kırılır. Anemi gelişebilir. Skorbut tedavi edilmediği takdirde ölüme kadar gidebilir. (Koyuncuoğlu, 1975)

2.4 Doğadaki Besinlerde C Vitamini Oluşumu ve Kararlılığı

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 vitamin 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 sentezler. Bitkilerdeki C vitamini miktarı, bitkinin cinsine, olgunluğuna, yetiştiği yere, iklime, depolama ve taşıma koşullarına bağlı olarak değişir. Bol sulu meyveler önemli C vitamini kaynağımız 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.

Güneş ışığı ya da floresan ışık C vitamininin kararlılığı üzerinde etkilidir. Işık etkisi altında kalan şişelenmiş portakal suyunun üç ay içinde %35 C vitamini kaybettiği bulunmuştur.

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.

Sebzelerin kesilmesi C vitamini kayıplarını arttıracaktır. Lahananın solmasıyla %20'den fazla C vitamini kaybı olurken, bu kayıp kurutulmasıyla %30'a çıkmaktadır. (Ottaway, 1993)

Bazı yiyeceklerin C vitamini içerikleri çizelge 2.2'de verilmiştir. (Velicangil, 1976; Ottaway, 1993)



Çizelge 2.2 Bazı yiyeceklerin C vitamini içeriği (mg / 100 g) (Ottaway, 1993; Velicangil, 1976)

<u>Yiyecek</u>	<u>C Vitamini</u>	<u>Yiyecek</u>	<u>C Vitamini</u>
Tam yağlı pastörize süt	0,8 – 1	Mısır	6 – 12
Yarım yağlı pastörize süt	0,8 – 1	Domates	17 – 33
Yağsız pastörize süt	0,8 – 1	Su teresi	62 – 101
Böbrek	7 – 14	Tatlı patates	4
Karaciğer	10 – 23	Elma	5 – 30
Patates (taze)	16	Muz	10 – 19
Patates (yeni filizlenmiş)	21	Kiraz	5 – 18
Patates (3 ay bekletilmiş)	9	Greyfurt	35 – 45
Patates (9 ay bekletilmiş)	7	Kavun	5 – 34
Kuşkonmaz	12 – 15	Portakal	40 – 60
Baklagiller	32 – 41	Şeftali	7 – 14
Taze fasulye	12 – 32	Ananas	17 – 40
Brokoli	87 – 150	Böğürtlen	14 – 35
Lahana	21 – 60	Kuşburnu	1000
Havuç	5 – 10	Çilek	40 – 90
Kıvırcık salata	110	Mandalina	30
Taze maydanoz	114 – 190	Limon	50
Yeşil biber	120 – 200	Armut	4

2.5 Kullanım Alanları ve Antioksidan Özelliği

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

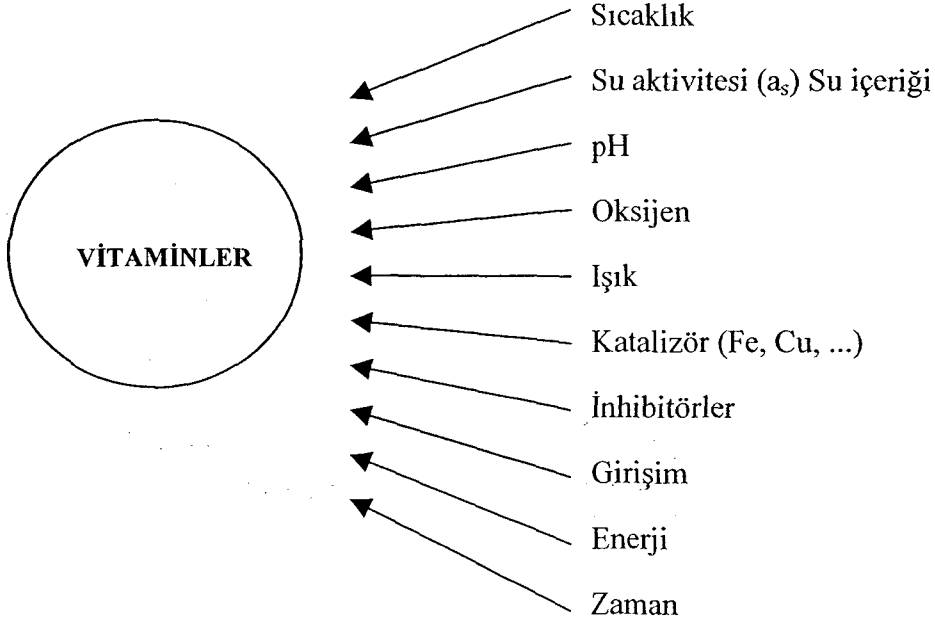
1. Sıcaklık
2. Nem
3. Oksijen
4. Işık
5. pH
6. Oksitleyici ve redükleyici maddeler
7. Metal iyonları ile birlikte bulunması (örneğin demir, bakır)
8. Diğer vitaminlerle birlikteliđi
9. Kükürt dioksit gibi diğer besin bileşenleri

Bu faktörlerden ilk dördü en önemlileridir. Vitaminlerin kararlılığı diğer besin bileşenleri ve katkı maddelerinin vitaminle olan reaksiyonundan da etkilenir.

Vitamin kayıpları doğal olarak sebze ve meyvelerde depolama sırasında görölmektedir. Örneğin, patateslerdeki C vitamini kaybı depolamadan dokuz ay sonra bakıldığı zaman %66 azalmanın olduğu görölmüştür.

Kayıplar, besin ve katkılarının hazırlanmasındaki işlemler, özellikle ısısız 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.



Şekil 2.3 Besinlerin vitamin içeriğini etkileyen etkenler (Ottaway, 1993)

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 bir çok molekülleri yükseltgenmekten kurtulurlar, yani yükseltgenme yavaşlamış olur.

Antioksidanların kendileri de genellikle yükseltgenebilen maddeler olup, zincirleme reaksiyonu koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek 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.

Meyve sularına katılan izoaskorbik asidin bu şekilde askorbik asidi koruduğu sanılmakta olup, bunun hepsi yükseltgeninceye kadar hiçbir askorbik asit yükseltgenmez. (Keskin, 1987) Askorbik asidin biyolojik koruma özelliği, antioksidan özelliğinden ileri gelmektedir.

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 radikalın 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. (Martell, 1989)

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. (Floyd, 1990; Mc Cord, 1985)

Serbest radikaller aynı zamanda hücrelerin genetik kodunu içinde taşıyan; hücrenin üretimini ve büyümesini sağlayan DNA'ya da etki eder. Hücrelerin genetik kodu değiştiğinde ölabilirler. Çünkü ona hücreden gelen mesajı uzun süreli olarak okuyamazlar. Aşırı hücre bölünmesine neden olabilirler. Kanserle sebep olabilir. (Floyd, 1990)

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 alınım 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. (Martell, 1989)

Askorbik asit, korunmuş etlerde ve bazı içme sularında bulunan kansere sebep olan maddeler N-nitroso bileşiklerinin oluşumunu önlediği bulunmuştur. (Stone, 1972)

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. Çabuk soğutulmuş meyveler erime sırasında doğal renk ve kokularını yitirirler. Bunlara dondurmadan önce saf askorbik asit katmakla bu sakıncaları önlenmektedir. Oksijen hoş gitmeyen değişiklikleri yapmadan önce askorbik asit tarafından tutulur. Bu şekilde

dondurulmuş şeftali, kayısı, elma, üzüm, muz gibi meyvelerde 20 yıldan beri askorbik asit antioksidan olarak kullanılmaktadır. (Keskin, 1981)

2.6 Tanınma ve Miktar Tayini Yöntemleri

Askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin yiyeceklerdeki ve biyolojik maddelerdeki tayininde avantajları, dezavantajları olan, değişik konsantrasyon düzeylerinde uygulanan birçok yöntemler 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)

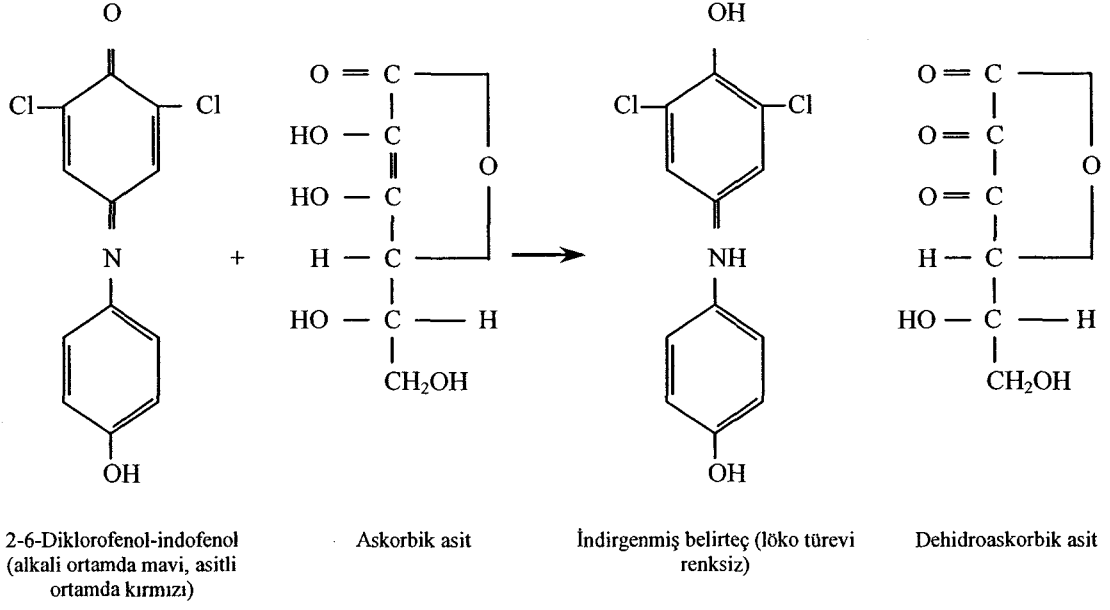
Yöntemler dehidroaskorbik asit, hidroaskorbik asit ya da toplam askorbik asit miktarlarının ölçümlerine dayanmaktadır. Analitik tayin yöntemleri vitaminin oksidasyon – redüksiyon özelliğine dayanmaktadır. Burada ya askorbik asidin kendisi ya da askorbik asidin yükseltgenmiş şekli olan dehidroaskorbik 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, N – bromo süksinimid (NBS), ve iyot çözeltisidir. Diğer diazolanmış 2 nitroanilin ve 2,4 dinitrofenilhidrazin ile kolorimetrik yöntemdir.

Besinlerde ve meyve sularında askorbik asidin ilk kez tayinleri 2,6 – diklorofenolindofenol ile titrimetrik olarak yapılmıştır. Yöntemin ilkesi, bir redoks indikatörü olan 2,6 – DPİP'nin indirgenmesi esasına dayanmaktadır. (Maclver, 1998)

2,6 – DPİP nötral ve alkali çözeltide mavi, asit çözeltide kırmızı, indirgenmiş şekli renksizdir. Askorbik asit, ayarlanmış bir 2,6 – DPİP çözeltisi ile asitli ortamda doğrudan doğruya titre edilir. Bu boyar madde aynı zamanda belirteç görevini görür. Bu reaksiyon sırasında 2,6 – DPİP renksiz löko türevine indirgenir, askorbik asit de dehidroaskorbik aside dönüşür. Bitiş noktasında indirgenmemiş boyar madde fazlası asitli çözeltide gül pembe renk verir.

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



Şekil 2.4 Askorbik asidin 2,6 – diklorofenolindofenol ile reaksiyonu

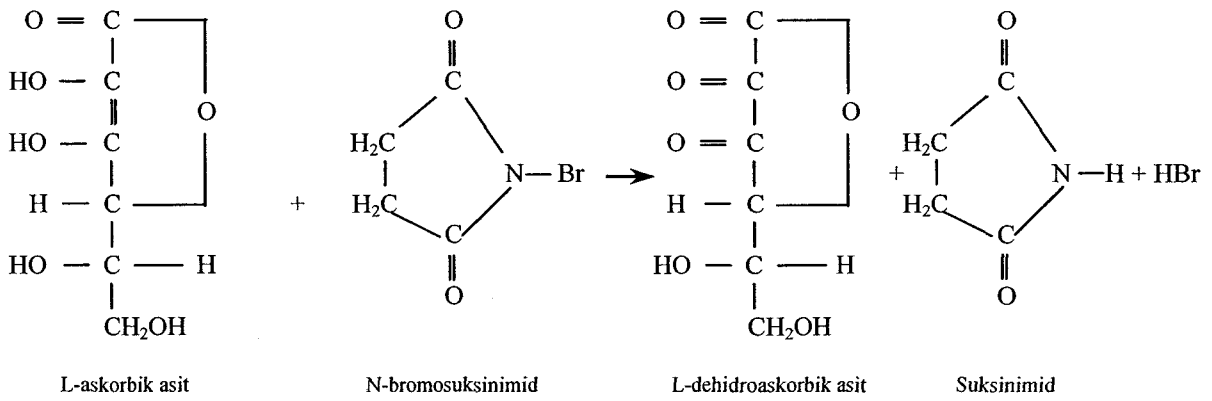
Yöntem bugün için de geçerliliğini korumakla beraber, bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu güçlükler, renkli örneklerdeki indikatör renginin dönüm noktasının kolay tesbit edilememesi ve bazı örneklerde tayini etkileyen başka yükseltgen maddelerin bulunmasıdır. Ancak bu gibi durumlarda gerekli önlemler alınabilmektedir.

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

Askorbik asidin titrimetrik tayininde kullanılan diğer bir reaktif de N – Bromosüksinimid (NBS)'dir. (Haddad, 1977)

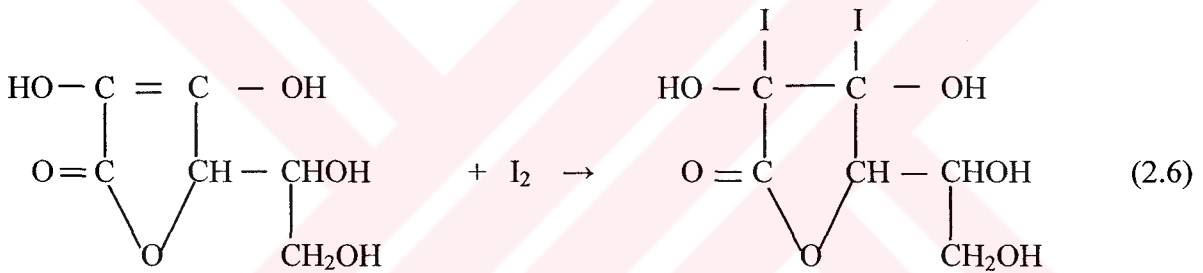
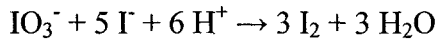
Yöntemin ilkesi oksalik asitle ekstre edilmiş askorbik asit içeren örneklerin asetik asitli ortamda NBS ile titrasyonu sırasında askorbik asitin dehidroaskorbik aside yükseltgenmesi ve bu arada NBS'nin fazlasının ortamda bulunan potasyum iyodürden açığa çıkardığı iyodürün nişasta ile renk vermesine dayanır.

Askorbik asit NBS ile şu şekilde reaksiyon verir:



Şekil 2.5 Askorbik asidin N – bromosüksinimid (NBS) ile reaksiyonu

C vitamini iyodatla da tayin edilebilir. (Gündüz, 1990) Bu tayinlere temel reaksiyonlar aşağıda verilmiştir.



İyot çözeltisinin fazlası nişasta indikatörü yardımıyla tiosulfat çözeltisiyle geri titre edilir. Bağlanan iyot miktarından C vitamini hesaplanır.

Florimetrik yöntem 1965 yılında, Deutsch ve Weeks tarafından toplam C vitamini yani askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin birlikte belirlenmesi için geliştirilmiş, spesifik bir yöntemdir. Daha sonra Chung ve Ingle (1991) tarafından aşağıda anlatılan biçimde modifiye edilen yöntem standart analiz yöntemi olarak kabul edilmiştir. (Maclver, 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, polografik yöntem askorbik asit tayininde kullanılmaktadır. Polografik analiz yöntemi, iki elektrodan birinin (referans elektrot) potansiyelini sabit tutup elektroliz voltajını değiştirerek öteki elektrodun (indikatör elektrot) polarizasyon eğrisini çizmek esasına dayanır. Akım voltaj eğrisinden difüzyon polyesinin yüksekliğinden iyonun konsantrasyonu, yarım dalga potansiyelinden de iyonun türü tayin edilir. (Berkem, 1993)

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. Spektrofotometric ölçümlerdeki istenmeyen etkiler gösteren renkli ve özellikle suspense olmuş maddelerden etkilenmez.

2,6 - DPİP ile titrasyondaki renk değişimleri renkli çözeltilerde ve hızlı otomatik titrasyonlarda kullanılamaz. Böyle durumlarda standart kalomel elektrod ve platin elektrod kullanılarak 2,6 - DPİP çözeltisiyle potansiyometric otomatik titrasyon yararlıdır. Önce bir baseline potansiyeli (en düşük mV) tayin edilir. DPİP çözeltisi 30 s aralıklarla katılarak mV değerleriyle çizilen potansiyometric 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)

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.

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 belirlenirken, 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)

2.6.1 Mor Ötesi (Ultraviyole) Spektroskopisi

Mor ötesi ışınması, dalga boyu 10 – 400 nm olan ışımadır ve elektromagnetik spektrumda x-ışınları ve görünür bölge arasında bulunur. 10 – 200 nm bölgesine uzak mor ötesi, 200–400 nm bölgesine mor ötesi (veya yakın mor ötesi) denir. 400 – 800 nm arası görünür bölgedir. Mor ötesi ve görünür bölge spektroskopisi elektronik spektroskopi olarak adlandırılır. Uzak mor ötesi bölgesinde hava da soğurma yaptığından (içindeki su, oksijen, azot ve karbondioksitten dolayı) uzak mor ötesi ışınmasının kullanıldığı spektroskopik analizleri vakumda yapmak gerekir; bunun için uzak mor ötesi bölgesine vakum bölgesi de denir. Diğer taraftan 300 nm'nin altında cam da soğurucu olduğundan spektroskopik analiz için kuvars hücreler kullanılır ve 200 – 300 nm bölgesine kuvars bölgesi de denir.

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

Soğurma bandının yeri, özellikle soğurma en yüksek değerine karşılık gelen dalga boyu ve soğurma şiddeti, soğurmaya yol açan elektronik geçişin türü hakkında bilgi verir. (Erdik, 1993)

Absorpsiyon spektroskopisi, kantitatif analiz için elverişli olan en yararlı ve en yaygın kullanılan araçlardan birisidir. Spektrofotometrik ve fotometrik yöntemlerin önemli özellikleri şu hususları içerir:

1. hem organik, hem de inorganik sistemlere yaygın uygulanabilirlik
2. 10^{-4} M'dan 10^{-5} M'a kadar değişen tipik duyarlılık değerleri
3. Orta derecede seçicilik
4. İyi bir doğruluk
5. Veri toplama kolaylığı ve elverişliliği

Bir maddenin absorpsiyon spektrumunu etkileyen başlıca değişkenler çözücünün cinsi, çözelti pH'si, sıcaklık, elektrolit derişimi ve bozucu maddelerin varlığıdır. Bu değişkenlerin etkileri bilinmelidir ve analiz koşulları öyle seçilmelidir ki absorbans bunların büyüklüklerindeki ufak ve kontrol edilmeyen değişimlerden ciddi olarak etkilenmesin. (Skoog vd., 1998)

2.6.1.1 Lambert – Beer Yasası

Işımanın ortam tarafından soğurulan miktarı, soğurucunun miktarına iki denel bağıntı ile bağlıdır.

Beer yasası: Gelen ışımının, homojen soğurucu tarafından soğurulan miktarı, soğurucunun miktarı ile doğru orantılıdır.

Lambert yasası: Gelen ışımının, homojen soğurucu tarafından soğurulan miktarı, ışımının şiddetinden bağımsızdır.

Soğurucu ortamın çözelti olması durumunda, soğurma miktarı, çözeltinin derişimine ve ışıma yolunda çözeltinin kalınlığına bağlıdır, Beer ve Lambert yasaları birleştirilerek ışımının soğurulan miktarı, çözeltinin derişimine ve çözeltide ışıma yolunun uzunluğuna bağlıdır.

$$A = -\log T = \log P_0 / P = \epsilon b c \quad (2.7)$$

P_0 = Gelen ışımının şiddeti

P = Çözeltiden çıkan ışımının şiddeti

A = Soğurganlık, ortamın absorbansı

C = Çözeltinin molar derişimi (mol L^{-1})

b = Çözeltinin konduğu hücrenin kalınlığı (cm)

ϵ = Molar soğuruculuk, molar absorptivite ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

Molar soğuruculuk, ϵ , belli bir bileşik için belli bir dalga boyunda sabittir ve bir soğurma bandında soğurma en yüksek değeri, λ_{maks} 'a karşılık ϵ_{maks} olarak verilir.

Geçirgenlik, T ; fotonlarla ışın absorplayan atom veya moleküller arasındaki etkileşimin sonucu olarak ışının gücü P_0 'dan P 'ye azalır. Ortam tarafından geçirilen ışının oranına geçirgenlik (T) adı verilir.

$$T = P / P_0 \quad (2.8)$$

Geçirgenlik, genellikle % olarak verilir :

$$\% T = (P / P_0) \times \%100 \quad (2.9)$$

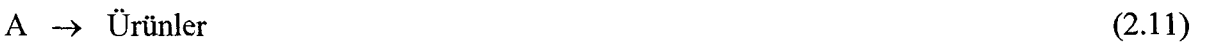
Absorbans A , aşağıdaki denklemlerle verilir :

$$A = -\log_{10}T = \log(P_0 / P) \quad (2.10)$$

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

2.7 Birinci Dereceden Reaksiyonlar

Birinci derece reaksiyon türüne bağımlı kalan reaksiyonların kimyasal yapısı genel olarak;



şekliyle tanımlanabilir. Bu reaksiyon ile ilgili genel diferansiyel denklem hız büyüklüğü v için;

$$v = -d[A] / dt = k[A] \quad (2.12)$$

eşitliği ile yazılabilir. Diferansiyel denklem düzenlenir ve integral işlemi yapılırsa I integral sabiti olmak üzere sırasıyla;

$$- d[A] / [A] = k dt \quad (2.13)$$

$$\int d[A] / [A] = - \int k dt \quad (2.14)$$

$$\ln [A] = - kt + I \quad (2.15)$$

işlemleri gerçekleştirilebilir. $t = 0$ için kt büyüklüğü 0 olacağından $I = \ln [A]_0$ büyüklüğüyle ortaya çıkmaktadır. Bu büyüklük son ifadede yerine yazılırsa

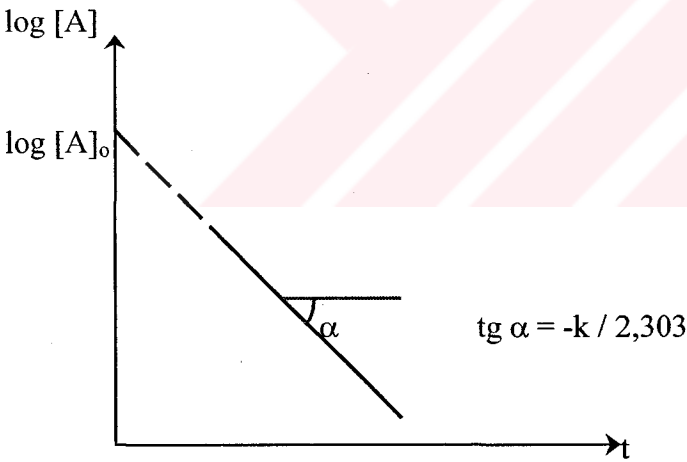
$$\ln [A] = - kt + \ln [A]_0 \quad (2.16)$$

ifadesiyle ya da ondalık logaritma cinsinden yeniden düzenlenirse,

$$\log [A] = - kt / 2,303 + \log [A]_0 \quad (2.17)$$

eşitliğiyle elde edilebilir. Eşitlik, $\log [A] = f(t)$ değişim fonksiyonu doğrusal bir yapı gösterir ki bu doğrunun eğimi $-k / 2,303$ büyüklüğüne eşdeğer olmaktadır.

Bu değişim fonksiyonunun grafiği şekil 2.6'da görülmektedir.



Şekil 2.6 Birinci mertebeden reaksiyonlarda $\log [A] = f(t)$ değişimi yardımıyla k hız sabiti büyüklüğünün belirlenmesi (Cebe, 1995)

A: Reaktanlar

v: Reaksiyon hızı

k: 1. dereceden reaksiyon hız sabiti

t: Reaksiyon süresi

I: İntegral sabiti

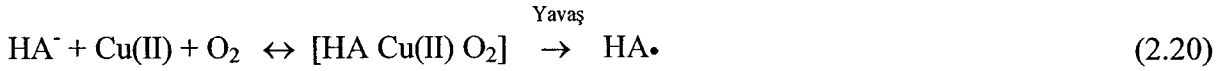
2.8 Kararlılığı, Oksidasyonu ile Daha Önce Yapılan Çalışmalar

Eser miktardaki ağır metal iyonları, askorbik asidin bozunmasında katalizör olarak etki eder. Askorbik asidin farmasötik çözeltilerinin stabilitesi üzerinde yapılan çalışmalar metal iyonlarının etkinlik sırasının $Cu^{2+} > Fe^{2+} > Zn^{2+}$ şeklinde olduğunu göstermiştir. Bir Cu^{2+} -askorbat kompleksi, askorbik asidin bakır (II) iyonları varlığında yükseltgenme ara ürünü olarak belirlenmiştir. Model sistemler üzerinde yapılan diğer bir çalışma, 0,85 ppm gibi düşük bakır iyonu seviyelerinin oksidasyonu katalizlemek için yeterli olduğunu ve reaksiyon hızının yaklaşık olarak bakır konsantrasyonunun karekökü ile orantılı olduğunu göstermiştir. Etilendiamin tetra – asetatın (EDTA) askorbik asidin yükseltgenmesini azaltmada önemli etkisinin olduğu görülmüştür. Bir çeşit siyah frenk üzümü suyundaki C vitamininin yükseltgenmesini engellemek için gerekli uygun EDTA konsantrasyonunun $[Cu + Fe]$ konsantrasyonuna oranı yaklaşık 2,3'tür. Ancak pek çok ülkede EDTA'nın meyve sularına katılmasına izin verilmemektedir. Bir aminoasit olan sistein'in de askorbik asit oksidasyonunu engellemede etkili olduğu bulunmuştur. Cu ve Fe iyonlarının askorbik asitin metal katalizli oksidasyonunda önemli bir rol oynaması nedeniyle, proste kullanılan aletlerin seçimi yiyecek ve içecek ürünlerindeki C vitamini kararlılığı üzerinde etkilidir. Ürünün bronz, pirinç, soğuk işlenmiş çelik veya demir yüzeyler ya da aletlerle teması önlenmeli, yalnızca paslanmaz çelik, alüminyum ya da plastik kullanılmalıdır. (Ottaway, 1993)

Askorbik asidin bakır (II) iyonu katalizli, oksijensiz ortam ve tampon kullanılmadan, 35 °C'de yapılan kinetik çalışmada bakır (II) iyonunun katalitik etkisini şu sıraya göre gözlemlemişlerdir; $CuCl_2 > Cu(NO_3)_2 \sim CuSO_4$. Bu çalışmada iyonik şiddet dikkate alınmamıştır. (Ottaway, 1993)

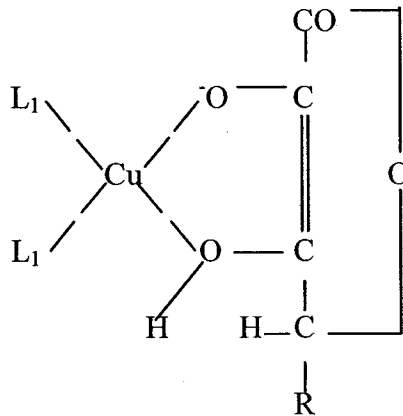
Değişik pH, Cu^{2+} iyonu konsantrasyonu, oksijen basıncı ve sıcaklıklar kullanılarak reaksiyon hızına etkileri incelenmiştir. Monodehidroaskorbat radikalinin ($HA\cdot$) oluşumu için iki basamak ileri sürülmüştür.

Bunlar;

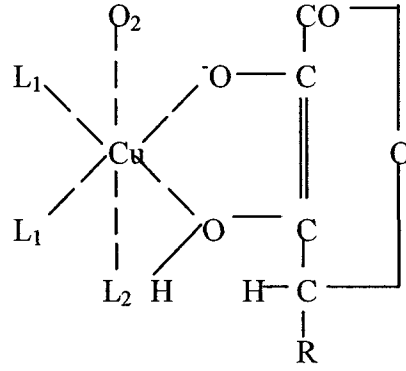


Son ürün olan dehidroaskorbik asit oluşumunda $HA\cdot$ ve $A\cdot^-$ den oluştuğu düşünülmüştür. Son ürünlerden biri olan H_2O_2 de çok hızlı bir şekilde askorbik asitle reaksiyona girip dehidroaskorbik asit oluşturduğu ileri sürülmüştür. (Ogatta vd.,1968) Aynı çalışmada, tamponsuz ortamda askorbik asidin oksidasyon hızını, askorbik asit konsantrasyonuna göre incelemiş ve çözeltilerden oksijen geçirme miktarının, karıştırmanın az olduğu durumda, askorbik asit konsantrasyonuna bağlı olmadığını belirtmiştir. Yeterli miktarda oksijen geçişi karıştırma ile sağlandığı zaman, hızın askorbik asit konsantrasyonuna bağlı olduğunu da söylemiştir. Askorbik asidin bakır iyonu ortamında ve oksijensiz ortamda, elektron askorbat iyonundan $Cu(II)$ 'ye verilmektedir. Aslında bakır (II) iyonu ile divalent askorbat iyonu (A^{2-}) arasında elektron transferi daha kolay olabilir fakat dissosiyasyon sabitlerine bakıldığında zaman $k_1 = 4 \cdot 10^{-5}$ ve $k_2 = 10^{-12}$ 'dir. A^{2-} iyonu konsantrasyonunun $pH = 3$ 'te oldukça küçük olduğu görülmüştür.

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



Şekil 2.7. $[HA Cu(II)]^-$ kompleks (Ogatta, 1968)



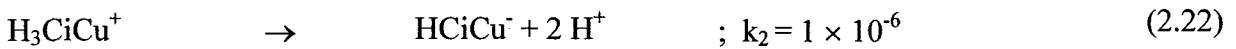
Şekil 2.8. $[HA Cu(II)O_2]^-$ kompleks (Ogatta, 1968)

Alkolsüz içecekler ve meyva sularında (Lau vd.; 1985, 1988) ve farmasotik preparatlarda (Lau vd., 1987) C vitamini tayini için, background absorpsiyonu düzeltilmesi ile bazı problemleri çözüp doğrudan ultraviyole spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir.

İmer vd. (1987) askorbik asidin oda sıcaklığında açıkta bozunmasını ve bozunmaya $CuSO_4$, $Al_2(SO_4)_3$, $SnCl_2$ ve Na_2SO_3 tuzlarının etkisini $pH=4,45$ 'te polarografik olarak incelemişler, Al^{3+} , Sn^{2+} , Na_2SO_3 'in bozunma üzerine önemli etkileri bulunmadığını ve Cu^{2+} 'nin katalitik etkisinin Cu^{2+} konsantrasyonu ile doğrusal arttığını belirtmişlerdir.

Askorbik asitin, $25\ ^\circ C$ 'de $pH = 2,5 - 6,0$ aralığında $Cu(II)$ iyon katalizli, moleküler oksijen ile reaksiyon kinetiği incelenmiş ve askorbik asit konsantrasyonuna göre bakır iyonu katalizli oksidasyon hızının birinciden olduğunu gözlemlemişlerdir. pH etkisi ve bakır iyonu konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi gözlenmiş ve buna göre bir mekanizma ileri sürülmüştür, geçiş kompleksi oluşumunu içerdiği düşünülmüştür. Bu kompleks monoaskorbat iyonu ile bakır – sitrat kompleksi arasındadır. (Şahbaz ve Somer, 1992)

1953 yılında, Warner ve Weber pH 'a bağlı olarak bakır (II) iyonu ve sitrat arasında üç farklı kompleksin oluşumundan bahsetmişlerdir. bunlar; H_3CiCu^- , $HCiCu^-$ ve $CiCu^{2-}$ 'dir. Katalitik etkileri ise $Cu(II) > H_3CiCu^- > HCiCu^- > CiCu^{2-}$ 'dir. Aşağıdaki reaksiyonlarda kompleks oluşum ve denge sabitlerini belirtmişlerdir.



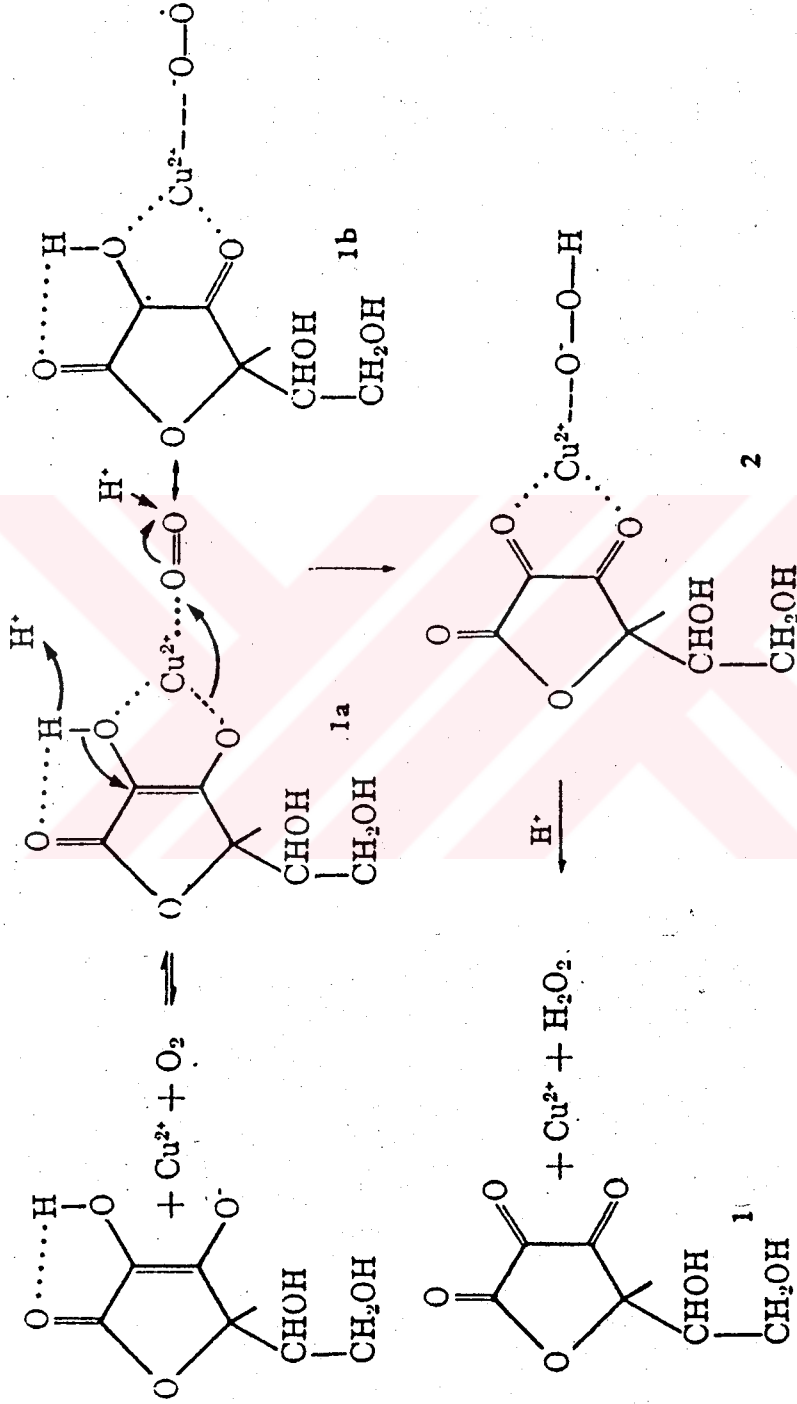
Birinci kararlı kompleksi HCiCu^- oluşur (Kararlılık sabiti 10^7). Bu değer k_1 ve k_2 , bir, iki, üçüncü dissosiyasyon sabitleri kullanılarak hesaplanmıştır ve bu kompleks $3 < \text{pH} < 5$ arasında bulunmaktadır.

CiCu^{2-} en kararlı bir komplekstir. (Kararlılık sabiti $\sim 10^{18}$) Kısmen bütün bakır iyonları $\text{pH}=6$ 'da bu komplekse bağlanmaktadır.

1976 yılında Sing vd., askorbik asit çözeltisinin oksijen ile doyurulduğu zaman reaksiyonun birinci dereceden, oksijenin yetersiz olduğu zaman ise ikinci dereceden olduğunu belirtmişlerdir. 1972 yılında, Blaug ve Hajratwala çalışmalarında oksijen konsantrasyonunu sabit tuttukları zaman, askorbik asit konsantrasyonunu arttırmalarına rağmen oksidasyon hızının artmadığını görmüşler ve yüksek askorbik asit konsantrasyonlarında, oksijenin sınırlayıcı olduğunu belirtmişlerdir. Daha sonra askorbik asit otoksidasyon kinetiğinin çözünmüş oksijen konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlılığı incelenmiştir. (Eison vd., 1982)

Khan ve Martell (1967 a, b) askorbik asitin moleküler oksijen ile oksidasyonunu bakır ve demir iyonu katalizli ve bakır ve demir çelatları katalizli olarak 25 ve 0,4°C 'de incelemişlerdir. Bakır ve demir katalizli oksidasyonun moleküler oksijene göre birinci derece olduğunu, katalizli ve katalizsiz reaksiyonların mekanistik içeriğini tartışmışlardır. Metal çelat bileşiklerinin $\text{pH}=2,25-3,45$ aralığında hidroliz olmuş ve polimer şekillerinin katalitik katkılarının ihmal edilebilir olduğunu bulmuşlardır. Bakır ve demir çelatlarının katalitik aktivitelerinin oksijen konsantrasyonundan bağımsız olduklarını ve metal çelat bileşikleri kararlılığı ile katalitik aktivitelerinin arasında lineer bağıntı olduğunu belirtmişlerdir.

Askorbik asidin metal iyonu katalizli otoksidasyonu için askorbat – metal iyonu – dioksijen ara üçlü kompleksinin oluşumu için şekil 2.9'da 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 hızlıca ayrılır.



Şekil 2.9 Askorbik asidin metal iyonu katalizli oksidasyonu (Martell, 1983)

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Kullanılan Maddeler

Askorbik Asit

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

Asetik Asit

Sodyum Asetat

Sitrik Asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

KOH

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$

KNO_3

KMnO_4

NaCrO_4

Kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta E. Merck Darmstadt firmasının ürünüdür.

KCl (3 mol / L) Metrohm ürünü

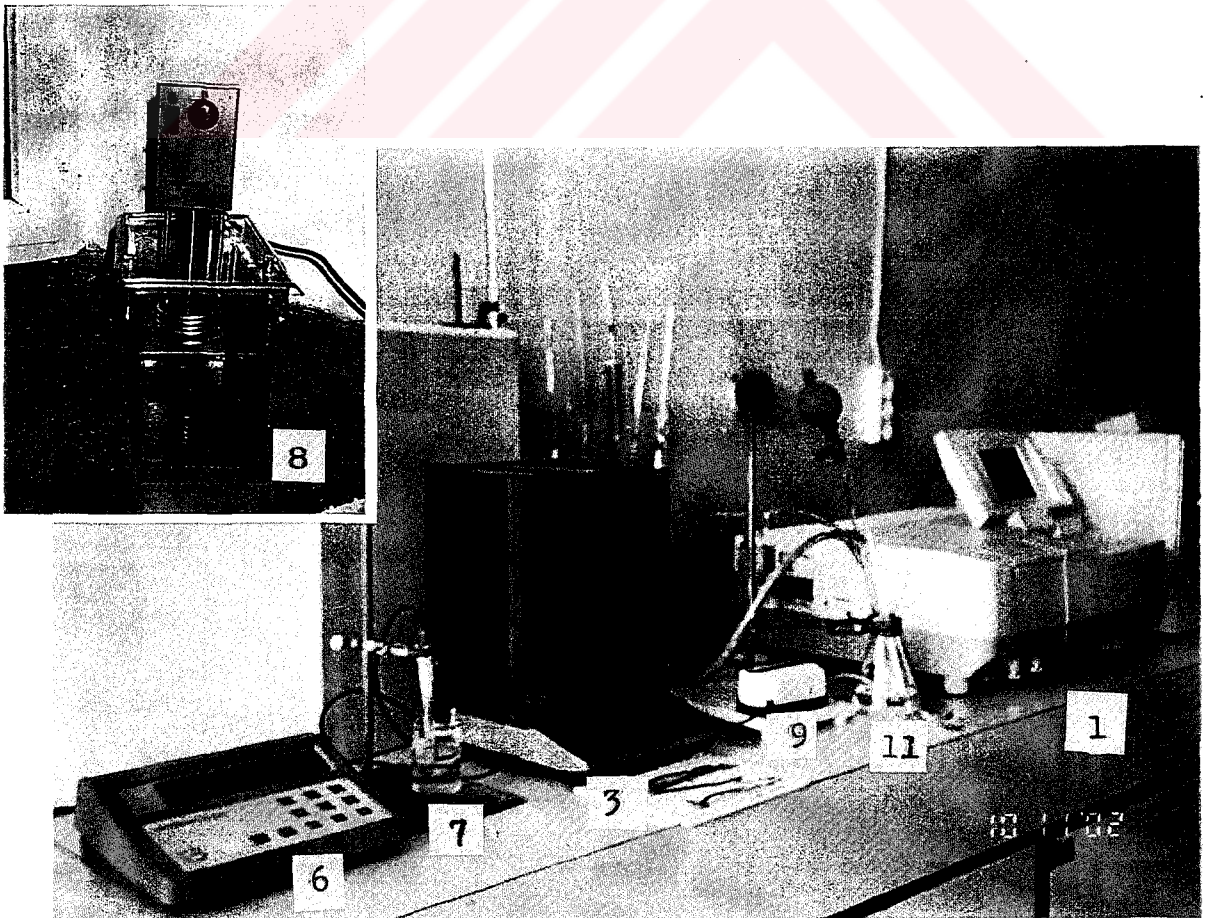
Standart Tampon Çözeltiler:

pH 4,00 Biftalat tamponu Metrohm firması ürünü

pH 7,00 Fosfat tamponu Metrohm firması ürünü

3.2 Araç ve Gereçler

1. Spektrofotometre SHIMADZU UV – 1601 (UV – Visible)
2. 1 cm'lik Kuvartz Küvetler 1.000 cm ışık yolu -10×10×15 mm
3. Analitik Terazı SARTORIUS A 2005 (0,0001 g)
4. Yazıcı EPSON LX – 300 PRINTER
5. Su Arıtma Cihazı FISTREEM – CALYPSO
6. pH – metre SCHOTT CG 841
7. Cam Elektrot SCHOTT – GERATE N2042A
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



3.3 Çözeltiler

Destile Su

Bir destile suyun sodyum hidroksitli permanganat çözeltisi üzerinden ve sonra fosforik asitli sodyum kromat çözeltisi üzerinden destile edilmesi ile üç destile su elde edilmiştir. (Moorhead vd., 1973) Elde edilen su pyrex cam kaplarda depo edilmiş ve çalışmamızda bütün çözeltiler bu üç destile su ile hazırlanmıştır.

Stok Askorbik Asit (1000 µg. mL⁻¹)

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

Çalışılan çözeltiler bu ana stok çözeltiden uygun hacimlerde alınıp, belli konsantrasyonlar elde edilmiştir.

Bakır Nitrat (1 mL = 1 ppm Cu²⁺ ; 1,57 × 10⁻⁴ mol / L)

0,3802 g Cu(NO₃)₂ .3 H₂O tartılıp 100 mL hacimli balon jodede suda çözülmüştür. Çalışılan Cu²⁺ konsantrasyonları buradan gerekli seyreltmeler yapılarak kullanılmıştır.

3.4 Tampon Çözeltiler (pH = 3,3 – 6,0)

3.4.1 Asetat Tamponları (0,5 M)

Aşağıdaki tamponlar kullanılmıştır:

pH 3,3; Litresinde 1,23 g sodyum asetat ve 30 mL glasial asetik asit

pH 4,5; Litresinde 16,41 g sodyum asetat ve 22 mL glasial asetik asit

pH 6,0; Litresinde 39,38 g sodyum asetat ve 1,6 mL glasial asetik asit.

3.4.2 Sitrat Tamponları (0,5 M)

a) K – Sitrat Tampon

0,5 M sitrik asidin pH'si, 0,5 M KOH çözeltisi damla damla ilave edilerek çalışılan pH değerine getirilmiştir.

b) Sitrik Asit – Dibazik Sodyum Fosfat Tampon (Berkem, 1983)

(Mc Ilvaine Tampon Sistem) 0,025 M sitrik asit ve 0,05 M dibazik sodyum fosfattan aşağıdaki şekilde hazırlandı;

pH 3,3; 15 mL sitrik asit ve 5,0 mL Na_2HPO_4

pH 4,5; 11 mL sitrik asit ve 9,0 mL Na_2HPO_4

pH 6,1; 7,5 mL sitrik asit ve 12,5 mL Na_2HPO_4

3.5 Yöntem

3.5.1 Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

Çalışma çözeltileri stok askorbik asit çözeltisinden belirli hacimlerde (0,5 – 2,0mL) alınarak, 40 mL tampon ve 0,1 M KNO_3 içeren 100 mL balon jodelerde hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin absorbanları askorbik asit içermeyen referans çözeltiye karşı ölçülmüştür.

Bu çalışma asetat ve sitrat tamponu için değişik pH'lerde yapılmış ve maksimum dalga boyları ve absorbanları bulunmuştur.

3.5.2 Örneklerin Hazırlanması

0,1 M KNO_3 , 40 mL tampon çözeltisi içeren 100 mL'lik balon jojeye çalışılan konsantrasyonları elde edilecek şekilde Cu^{2+} çözeltisi ve sonra stok askorbik asit çözeltisinden hızla ilave edilip zamanlama başlatıldı.

Örnek çözelti, sıcaklığı 22°C 'de termostatlı banyoda bulunan 250 mL erlenmayere alındı. Reaksiyon süresince çözeltilerden hava oksijeni geçirildi. Belli zaman aralıklarında reaksiyon karışımından ikişer mL'lik çözeltiler alınarak absorbanları ölçüldü. Askorbik asit konsantrasyonundaki değişimler direkt UV spektrofotometrik olarak izlendi.

Bu işlemler, farklı tampon çözeltisi ve pH'de aşağıda belirtilen her bir askorbik asit ve Cu^{2+} konsantrasyonları için tekrarlandı.

Askorbik Asit Konsantrasyonu (M)	Cu(II) İyon Konsantrasyonu (M)
$2,835 \times 10^{-5}$	$1,57 \times 10^{-7}$
$5,675 \times 10^{-5}$	$3,14 \times 10^{-7}$
$8,505 \times 10^{-5}$	$7,85 \times 10^{-7}$
$11,35 \times 10^{-5}$	$15,70 \times 10^{-7}$

3.5.3 Kinetik Ölçümler

Kinetik işlemlerde aktivite katsayılarını sabit tutmak için reaksiyon ortamının iyonik şiddeti $I=0,5$ M olacak şekilde KNO_3 ile ayarlandı. Reaksiyon süresince akış hızı 60 L /saat olan hava 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.

Bütün deneyler 22°C 'de ve sıcaklığı kontrol edilen ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) termostat sistemi ile gerçekleşti.

Deneyler iki kez tekrarlanıp bulunan değerlerin ortalamaları alındı.

4. SONUÇLAR

4.1 Spektral Ölçümler

Askorbik asidin, sitrat ve asetat tamponu çözeltilerinde çalışılan pH değerleri için λ_{maks} değerlerindeki değişimler şekil 4.1'de gösterilmiştir. Burada $8,5 \times 10^{-5}$ M konsantrasyonundaki H_2A için pH 'ya bağlı olarak absorbansların artışı görülmektedir.

Askorbik asidin düşük pH 'daki çözeltisinde dissosiyeye olmamış şeklinin daha fazla bulunması beklenir oysa yüksek pH 'daki çözeltisinde tamamen dissosiyeye olur. H_2A 'nın dissosiyeye olmamış şekli için λ_{maks} 245 nm'de, dissosiyeye olmuş şeklinin λ_{maks} 'ı 265 nm'dedir. (Fung, 1985)

Askorbik asit çözeltilerinin farklı pH 'lardaki asetat (a) ve K-sitrat (b) tamponlarındaki absorbans değerleri çizelge 4.1'de verilmiştir.

4.2 Teorik Yaklaşım

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

Reaksiyon hızı şöyle ifade edilir;

$$\frac{d[H_2A]}{dt} = k[H_2A] \quad (4.1)$$

Burada; $[H_2A]$ = Askorbik asit konsantrasyonu ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

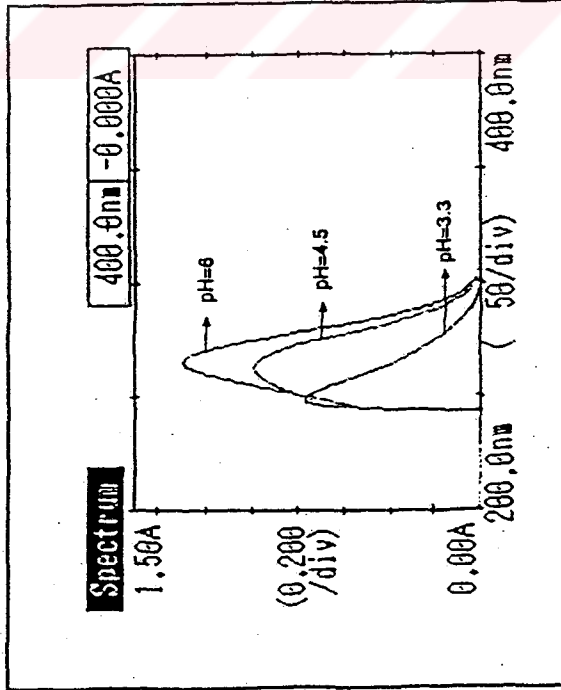
t = Reaksiyon süresi (dak)

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

Askorbik asidin UV ışını absorpladığı dalga boylarında yapılan absorbans ölçümlerinden LogAbs 'nin zamana karşı çizilen grafiği bir doğru verdiğiinden

Eğim; $-k / 2,303$ 'e eşittir.

K-Sitrat Tamponu

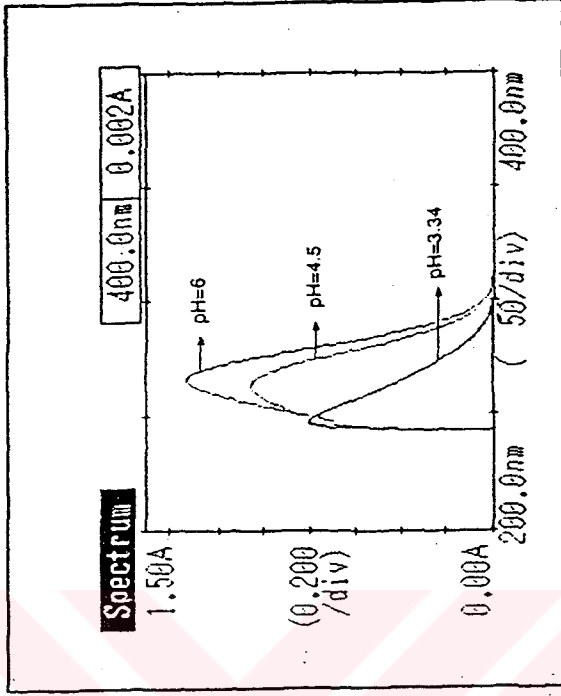


Askorbik asit

 $8.5 \times 10^{-5} \text{ M (1.5 mL)}$

pH=3.3	pH=4.5	pH=6.0
λ_{maks} : 248 nm	264 nm	266 nm
Abs: 0,765	1,009	1,317

Asetat Tamponu



Askorbik asit

 $8.5 \times 10^{-5} \text{ M (1.5 mL)}$

pH=3.3	pH=4.5	pH=6.0
λ_{maks} : 248 nm	264 nm	266 nm
Abs: 0,807	1,090	1,319

Şekil 4.1 Askorbik asidin sitrat ve asetat tampon çözeltilerinde çalışılan pH değerleri için λ_{maks} ve absorpsiyon değerlerindeki değişimler

Çizelge 4.1 Değişik pH değerlerinde askorbik asidin asetat (a) ve K-sitrat (b) tamponlarındaki absorbanları

AA (mL)/M	pH=3,3 Abs (248 nm)	pH=4,5 Abs (264 nm)	pH=6,0 Abs (266 nm)
0,5	0,25	0,381	0,505
$2,835 \times 10^{-5}$			
1	0,525	0,647	0,847
$5,675 \times 10^{-5}$			
1,5	0,765	1,009	1,317
$8,505 \times 10^{-5}$			
2	1,013	1,284	1,707
$11,35 \times 10^{-5}$			

AA (mL)/M	pH=3,3 Abs (248 nm)	pH=4,5 Abs (264 nm)	pH=6,0 Abs (266 nm)
0,5	0,341	0,415	0,504
$2,835 \times 10^{-5}$			
1	0,561	0,757	0,933
$5,675 \times 10^{-5}$			
1,5	0,807	1,068	1,319
$8,505 \times 10^{-5}$			
2	1,048	1,418	1,753
$11,35 \times 10^{-5}$			

(a)

(b)

4.3 Spontane ve Cu(II) İyon Katalizli Oksidasyon

H₂A 'nın ($2,835 \times 10^{-5}$ M – $11,35 \times 10^{-5}$ M) spontane ve Cu²⁺ katalizli oksidasyonunu incelemek için, askorbik asit çözeltileri bakır konsantrasyonları; 0, $1,57 \times 10^{-7}$, $3,14 \times 10^{-7}$, $7,85 \times 10^{-7}$ ve $1,57 \times 10^{-7}$ M alınarak 22°C'de çalışıldı. Reaksiyon ortalama 60 dakika süresince pH aralığı 3,3 – 6.0 arasında asetat ve sitrat tamponlu çözeltilerde izlendi. Absorbansların zamanla değişen değerleri asetat tamponunda çizelge 4.2-7 ve sitrat tamponunda çizelge 4.8-11'de verilmiştir. Deneçilerimizde askorbik asit konsantrasyonu ile orantılı olan absorpsiyon değerlerinin logaritmasının zamanla değişimi daima bir doğru vermektedir. Bu durum birinci derece reaksiyon kinetiğini izlemektedir. Birinci derece hız sabitleri lineer regresyon analizi ile bulunmuştur.

Reaksiyon hızı bakır konsantrasyonu ile artmıştır. Kinetik veriler askorbik asidin asetat tamponu için şekil 4.2-6 , sitrat tamponu için ise şekil 4.7-11'de gösterilmiştir.

Değişik konsantrasyonlardaki H₂A çözeltileri için asetat tamponunda farklı pH ve Cu(II) konsantrasyonlarında bulunan reaksiyon hız sabitleri (k) çizelge 4.12'de görülmektedir.

$5,675 \times 10^{-5}$ M konsantrasyondaki askorbik asit çözeltisinin değişik pH 'lardaki a) K – sitrat tamponu, b) Sitrik asit – Na₂HPO₄ tamponlarındaki oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri çizelge 4.13.a ve 4.13.b 'de görülmektedir.

4.4 H₂A 'nın Reaksiyon Hızı Üzerine pH 'ın Etkisi

Reaksiyon hızı asetat tampon sisteminde ve düşük bakır (II) konsantrasyonlarında çizelge 4.12 'de görüldüğü gibi pH artması ile artmıştır. Yüksek pH 'de (pH = 6,0) ve bakır konsantrasyonu arttığında reaksiyon çok hızlı olduğu için hız sabitleri hesaplanamamıştır.

Sitrat tampon sistemleri için çizelge 4.13 'te görüldüğü üzere, çalışılan H₂A ve Cu(II) iyonu konsantrasyonlarında pH değişmesiyle reaksiyon hızlarında, asetat tamponlu çözeltide olduğu gibi çok farklı değişimler izlenememiştir.

Çizelge 4.2 Asetat tamponu, pH=3,3 $2,835 \times 10^{-5}$, $5,675 \times 10^{-5}$ ve $8,505 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$2,835 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman(dak)	Log (Abs)	Zaman(dak)	Log (Abs)	Zaman(dak)	Log (Abs)	Zaman(dak)	Log (Abs)
3	-0,465	2	-0,492	3	-0,472	3	-0,437
6	-0,492	10	-0,557	10	-0,623	10	-0,607
10,5	-0,514	20	-0,631	15	-0,682	15	-0,709
15	-0,527	30	-0,699	20	-0,724	20	-0,796
20	-0,547	40	-0,767	25	-0,764	25	-0,863
30	-0,571	45	-0,818	30	-0,827		
40	-0,618	50	-0,847	35	-0,854		
50	-0,653	60	-0,935	40	-0,911		
60	-0,688			45	-0,987		
				50	-1,041		

$5,675 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
15	-0,322	2	-0,299	10	-0,428	3	-0,284
25	-0,348	10	-0,369	15	-0,487	10	-0,506
35	-0,388	12	-0,366	20	-0,539	15	-0,616
45	-0,419	21	-0,432	35	-0,573	20	-0,783
55	-0,458	31	-0,504	40	-0,634	25	-0,899
65	-0,482	41	-0,573	45	-0,679		
		51	-0,645	50	-0,742		
		59	-0,707	55	-0,873		
				60	-1,036		

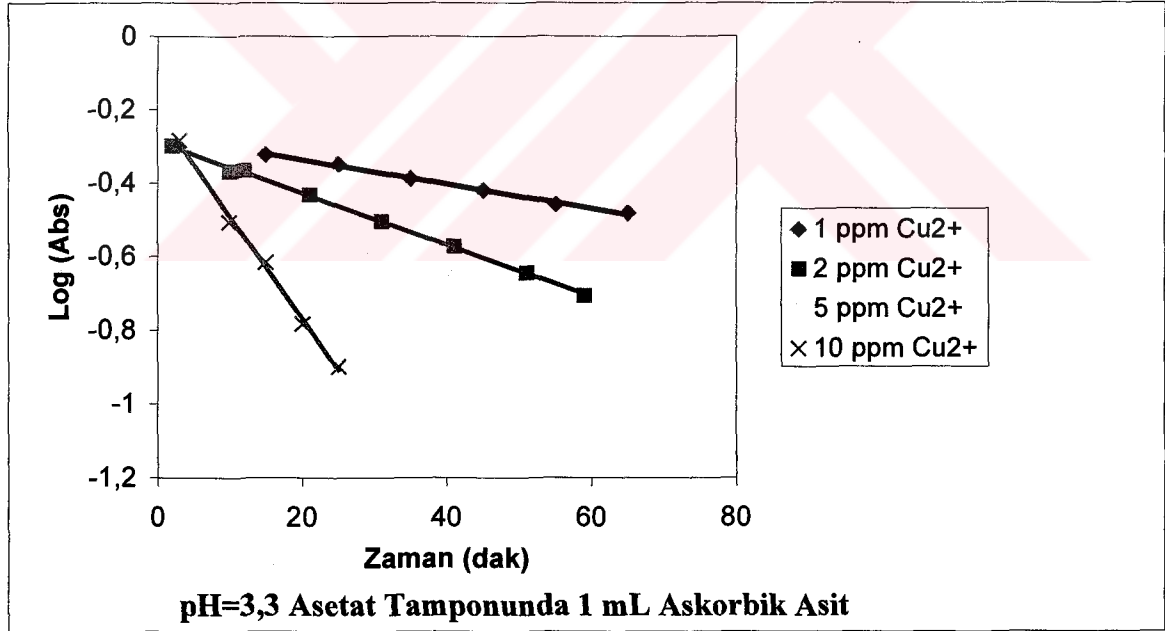
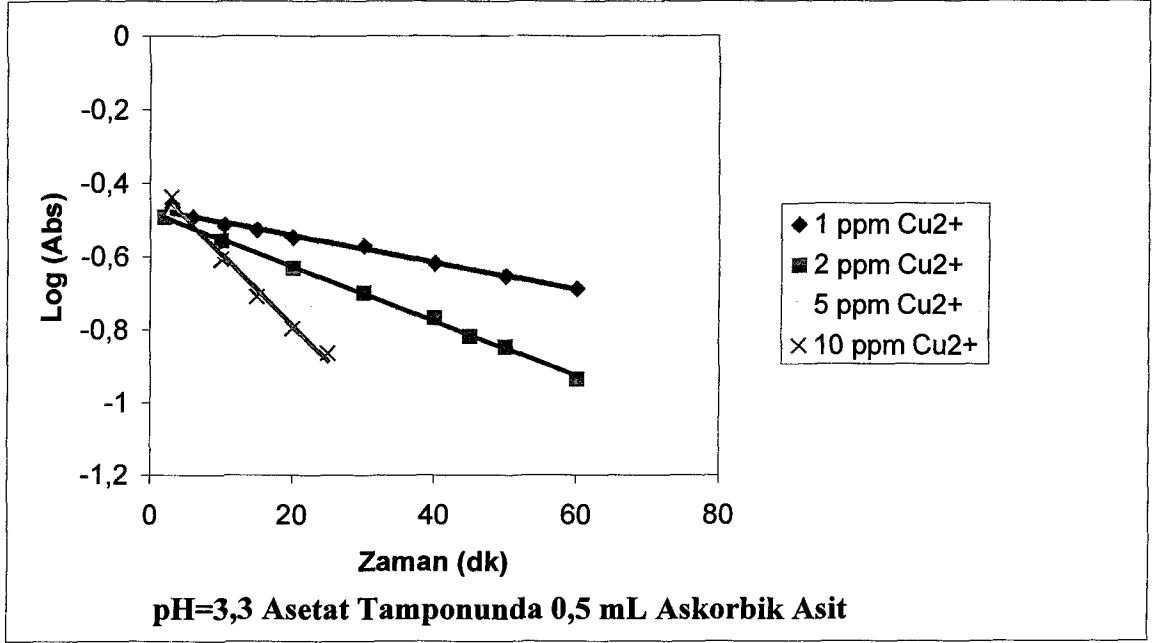
$8,505 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
11	-0,124	13	-0,168	4	-0,117	2	-0,107
21	-0,158	25	-0,215	13	-0,247	10	-0,322
30	-0,195	31	-0,278	21	-0,367	21	-0,673
40	-0,229	40	-0,325	30	-0,553	30	-0,906
50	-0,271	50	-0,411	40	-0,745	40	-0,958
60	-0,309	60	-0,489	50	-0,971		

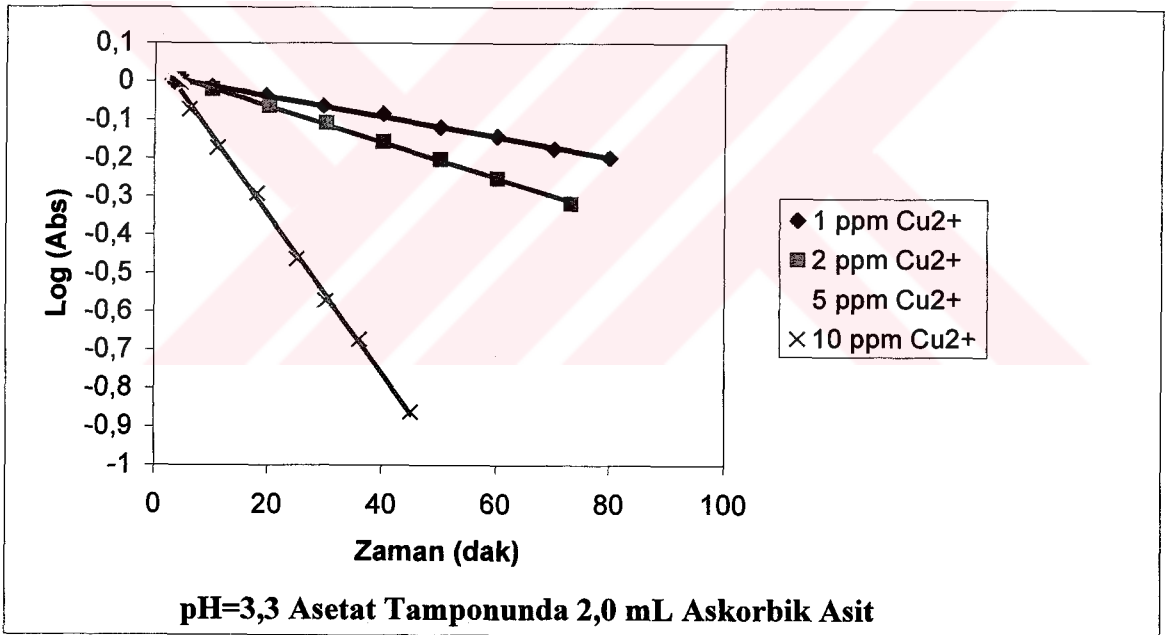
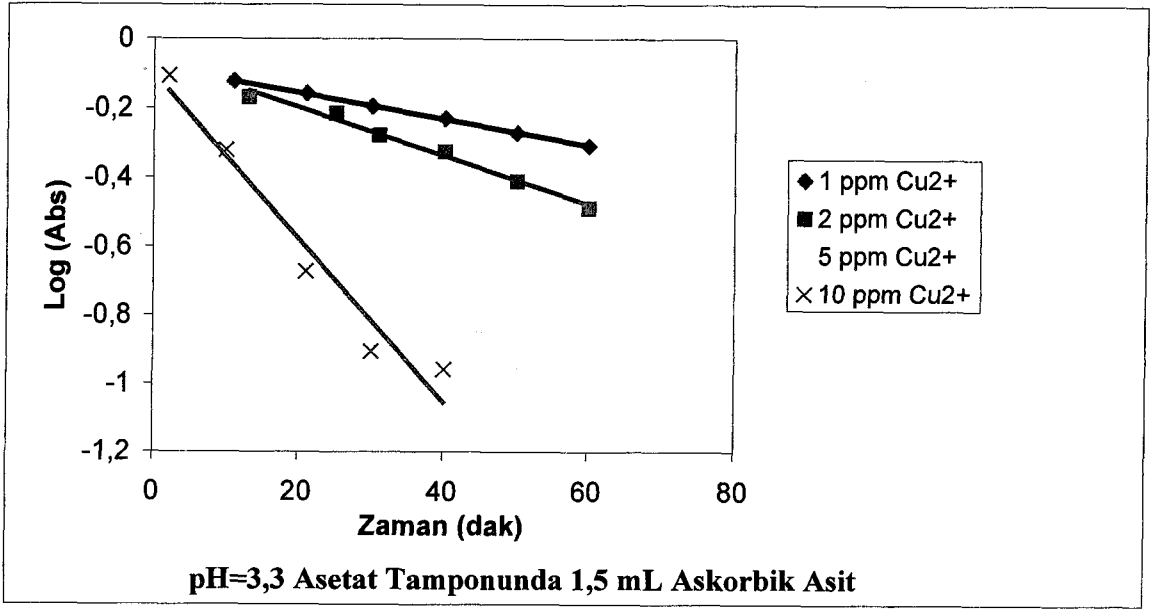
Çizelge 4.3 Asetat tamponu, pH=3,3 $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$11,35 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	0,002	4	0,004	3	0,016	4,5	-0,003
10	-0,014	10	-0,021	10	-0,065	6	-0,073
19,5	-0,037	20	-0,064	20	-0,195	11	-0,173
29,5	-0,065	30	-0,108	30	-0,333	18	-0,292
40	-0,084	40	-0,157	41	-0,475	25	-0,463
50	-0,119	50	-0,203	50	-0,598	30	-0,572
60	-0,143	60	-0,253	60	-0,728	36	-0,672
70	-0,176	73	-0,319			45	-0,861
80	-0,198						



Şekil 4.2 $2,835 \times 10^{-5} M$ ve $5,675 \times 10^{-5} M$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler



Şekil 4.3 $8,505 \times 10^{-5} \text{M}$ ve $11,35 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler

Çizelge 4.4 Asetat tamponu, pH=4,5 $2,835 \times 10^{-5}$, $5,675 \times 10^{-5}$ askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$2,835 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,4341	3	-0,4801	3	-0,4425	3,5	-0,308
11	-0,5528	10	-0,6234	10,5	-0,8297	5,5	-0,4034
21	-0,7099	15	-0,7569	15	-0,9586	10,5	-0,5086
30	-0,8664	20	-0,8927	21	-1,0315	16,5	-0,7605
40	-1,0315	30	-1,0604				
50	-1,2291	40	-1,187				

$5,675 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
2	-0,231	2	-0,217	2	-0,261	2	-0,244
11	-0,383	11	-0,403	10	-0,809	5	-0,455
21	-0,529	20	-0,618	15	-1,002	10	-0,703
30	-0,697	30	-0,886	20	-1,081	15	-0,757
40	-0,893	40	-1,181				
51	-1,125	50	-1,422				
60	-1,309						

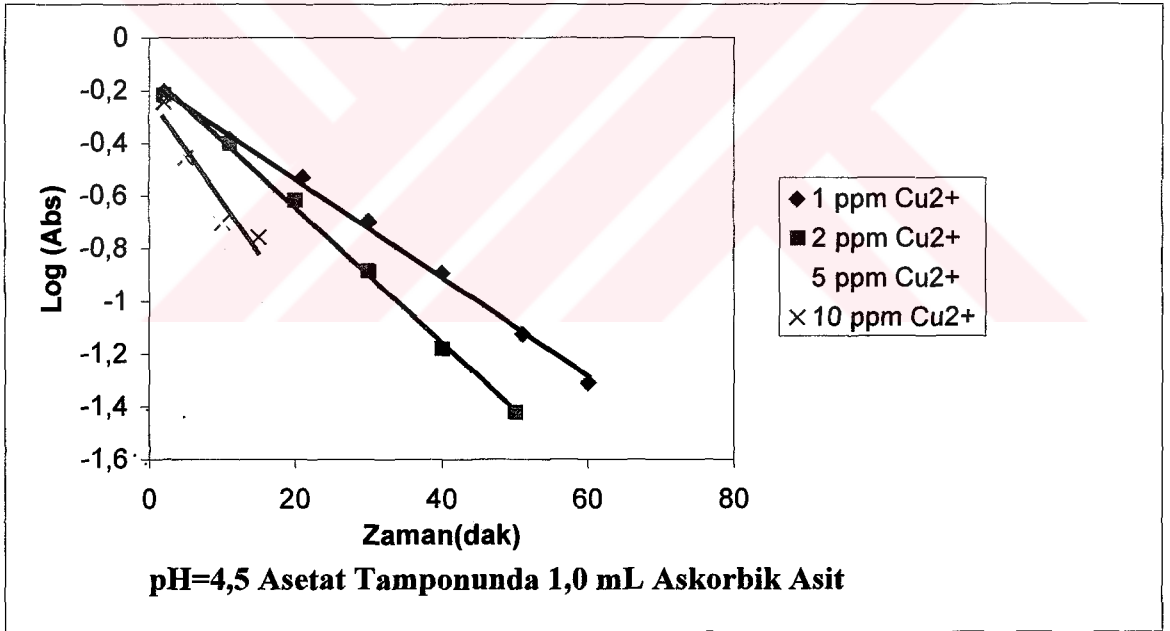
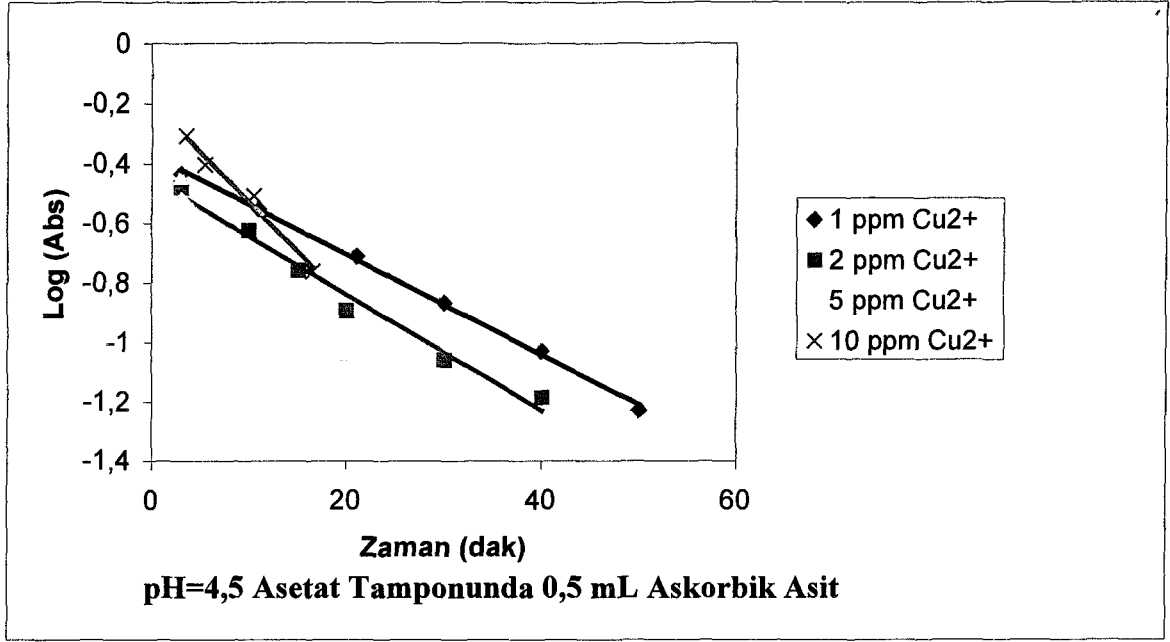
Çizelge 4.5 Asetat tamponu, pH=4,5 $8,505 \times 10^{-5}$, $11,35 \times 10^{-5}$ askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$8,505 \times 10^{-5}$ M H₂A

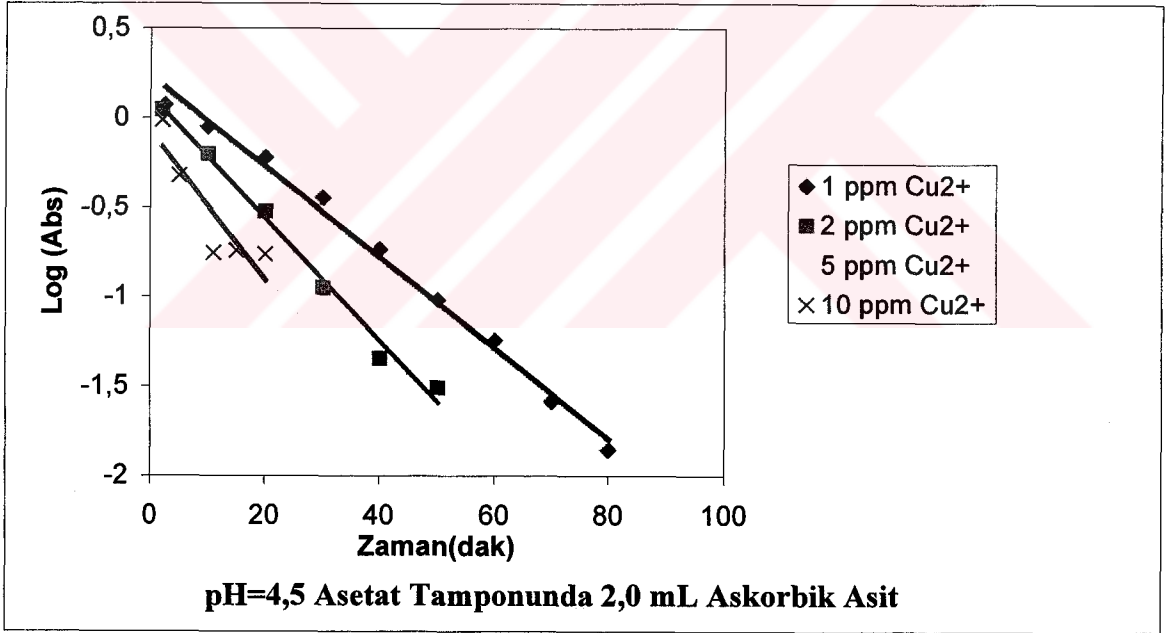
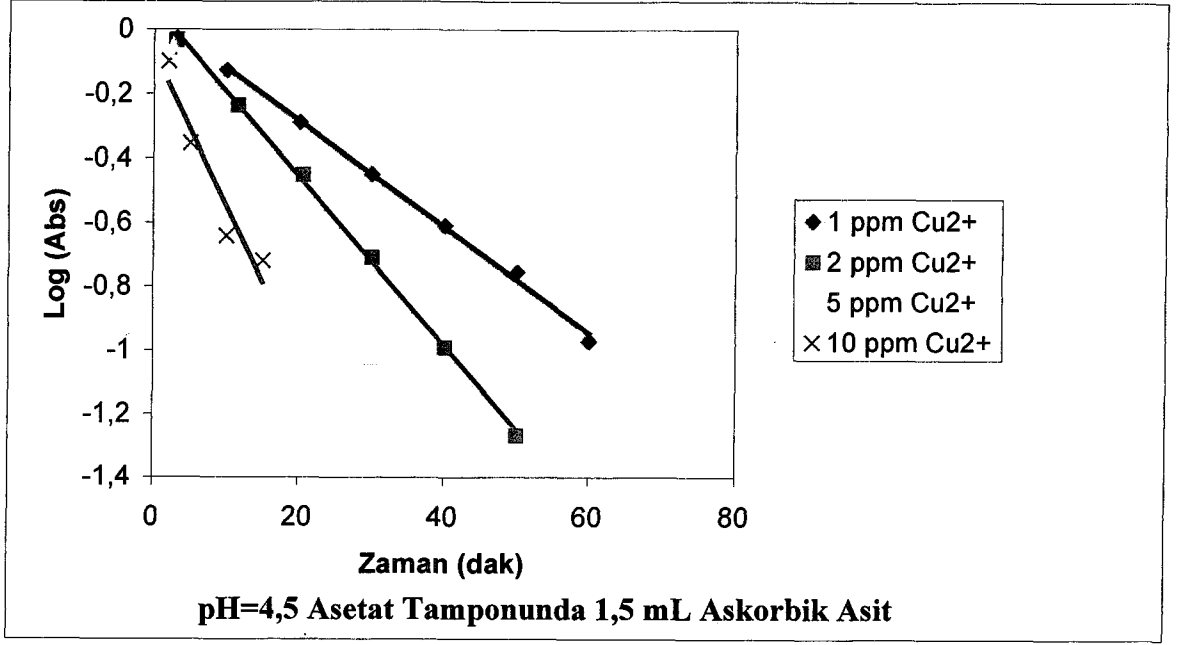
1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
10	-0,127	3	-0,033	2,5	-0,051	2	-0,099
20	-0,288	11,5	-0,235	10	-0,382	5	-0,353
30	-0,449	20,5	-0,451	20	-0,754	10	-0,642
40	-0,609	30	-0,708	30	-1,036	15	-0,719
50	-0,755	40	-0,991				
60	-0,971	50	-1,268				

$11,35 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
2,5	0,073	2	0,046	3	-0,012	2	-0,012
10	-0,051	10	-0,202	10	-0,471	5	-0,322
20	-0,222	20	-0,526	15	-0,669	11	-0,755
30	-0,447	30	-0,951	20	-0,921	15	-0,742
40	-0,737	40	-1,347	25	-1,055	20	-0,764
50	-1,018	50	-1,509				
60	-1,244						
70	-1,585						
80	-1,854						



Şekil 4.4 $2,835 \times 10^{-5} \text{M}$ ve $5,675 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=4,5 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler



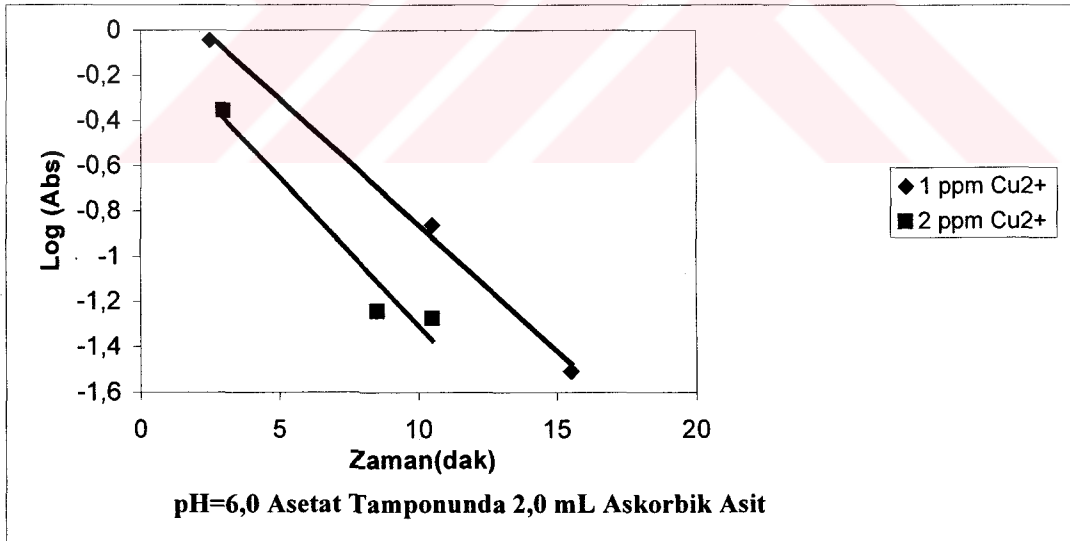
Şekil 4.5 $8,505 \times 10^{-5} \text{M}$ ve $11,35 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=4,5 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler

Çizelge 4.6 Asetat tamponu, pH=6,0 $2,835 \times 10^{-5}$, $5,675 \times 10^{-5}$ ve $8,505 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$2,835 \times 10^{-5}$ M H ₂ A		$5,675 \times 10^{-5}$ M H ₂ A		$8,505 \times 10^{-5}$ M H ₂ A	
1 ppm Cu ²⁺		1 ppm Cu ²⁺		1 ppm Cu ²⁺	
Zaman(dak)	Log (Abs)	Zaman(dak)	Log (Abs)	Zaman(dak)	Log (Abs)
3	-0,489	3,5	-0,239	2,5	-0,237
5,5	-0,714	10	-1,252	7,5	-0,857
10	-1,242	15	-1,585	10	-1,108
15	-1,602			15	-1,639

Çizelge 4.7 Asetat tamponu, pH=6,0 $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$11,35 \times 10^{-5}$ M H ₂ A			
1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺	
Zaman(dak)	Log (Abs)	Zaman(dak)	Log (Abs)
2,5	-0,046	3	-0,354
10,5	-0,863	8,5	-1,244
15,5	-1,509	10,5	-1,275



Şekil 4.6 $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asidin oksidasyonunda asetat tamponu pH=6,0 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler

Çizelge 4.8 K-Sitrat tamponu, pH=3,3 $5,675 \times 10^{-5}$ M, $8,505 \times 10^{-5}$ ve $11,35 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$5,675 \times 10^{-5}$ M H₂A

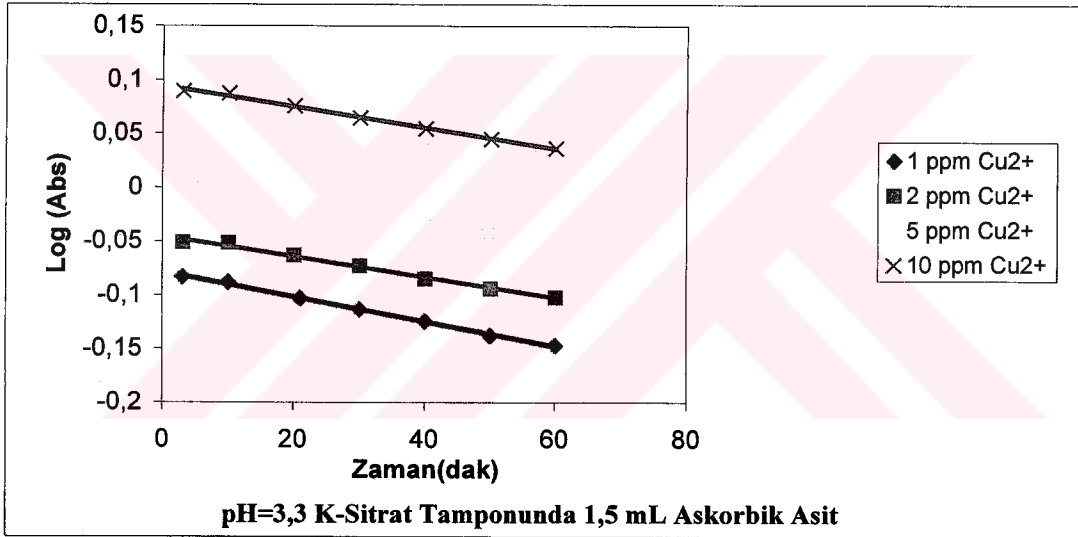
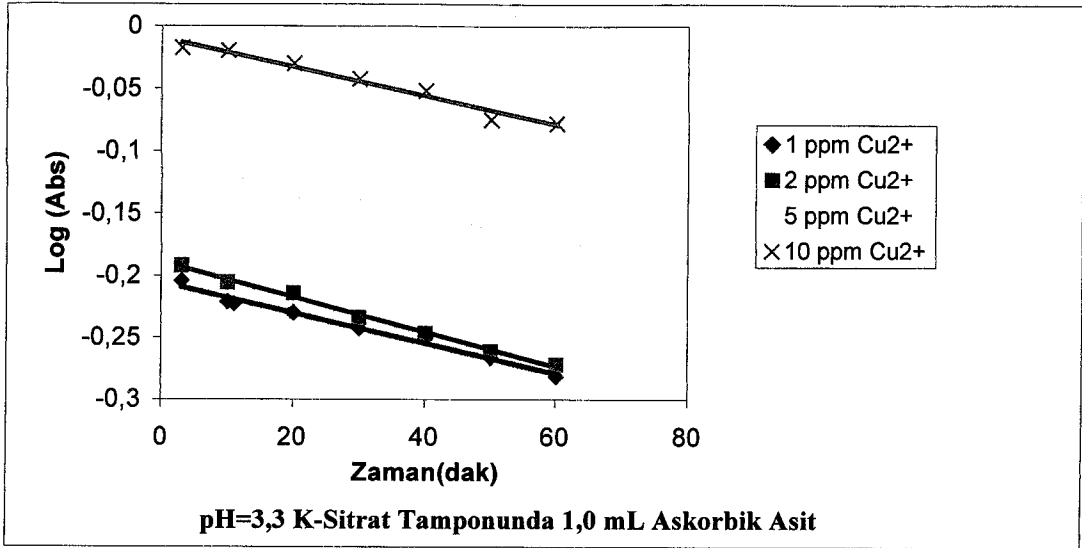
1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,2041	3	-0,1918	3	-0,1129	3	-0,0177
10	-0,2211	10	-0,2055	5	-0,1163	10	-0,0199
11	-0,2225	20	-0,2139	10	-0,1198	20	-0,0301
20	-0,2299	30	-0,2336	20	-0,1319	30	-0,0424
30	-0,2426	40	-0,2464	30	-0,1439	40	-0,0516
40	-0,2503	50	-0,2612	40	-0,1518	50	-0,0747
50	-0,2661	60	-0,2717	50	-0,1675	60	-0,0778
60	-0,2815			60	-0,1726		

$8,505 \times 10^{-5}$ M H₂A

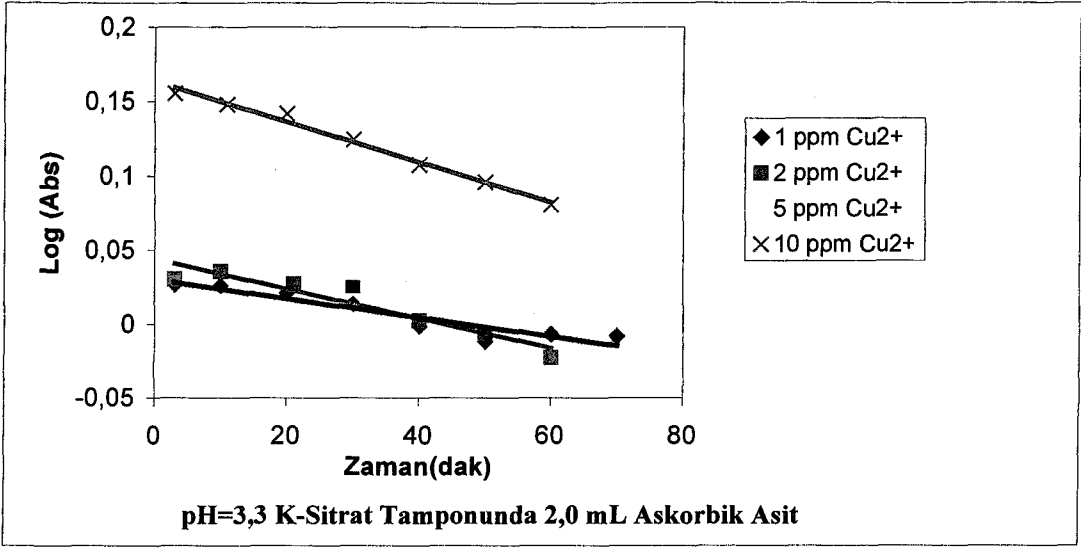
1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,0835	3	-0,0515	3	0,0035	3	0,0892
10	-0,0883	10	-0,0519	11	-0,0004	10	0,0874
21	-0,1034	20	-0,0635	21	-0,0097	20	0,0755
30	-0,1135	30	-0,0731	30	-0,0236	30	0,0645
40	-0,1244	40	-0,0851	40	-0,0311	40	0,0546
50	-0,1379	50	-0,0942	50	-0,0401	50	0,0449
60	-0,1469	60	-0,1023	60	-0,0519	60	0,0362

$11,35 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	0,0269	3	0,0306	3	0,0752	3	0,1553
10	0,0261	10	0,0358	10	0,0629	11	0,1479
20	0,0212	21	0,0273	20	0,0481	20	0,1418
30	0,0137	30	0,0261	30	0,0354	30	0,1245
40	-0,0013	40	0,0026	40	0,0338	40	0,1075
50	-0,0119	50	-0,0066	50	0,0171	50	0,0959
60	-0,0071	60	-0,0227	60	0,0043	60	0,0806
70	-0,0083						



Şekil 4.7 $5,675 \times 10^{-5} \text{M}$ ve $8,505 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda K-sitrat tamponu pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler



Şekil 4.8 $11,35 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda K-sitrat tamponu ve pH=3,3 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler

Çizelge 4.9 K-Sitrat tamponu, pH=4,5 $5,675 \times 10^{-5}$ M askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

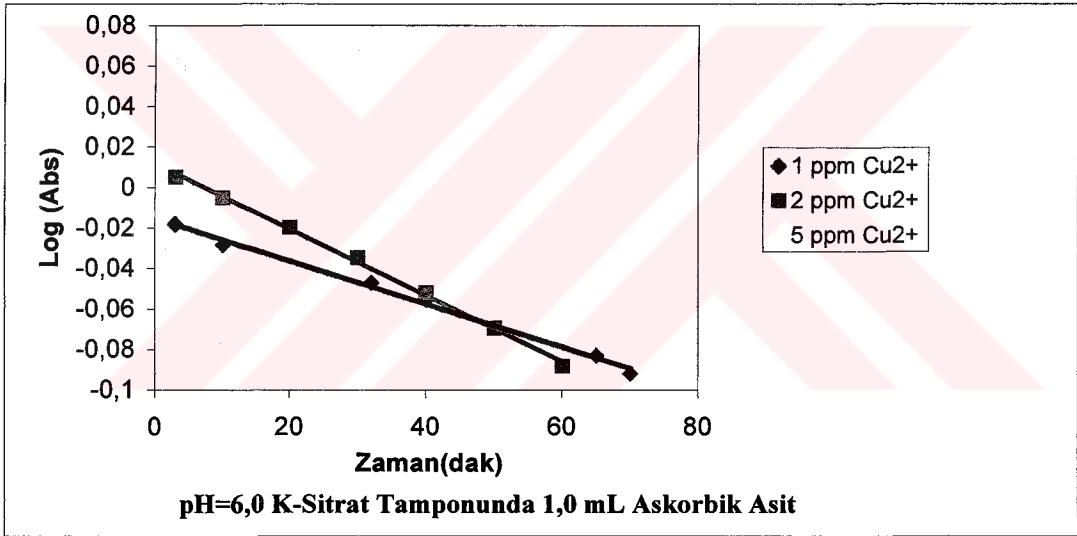
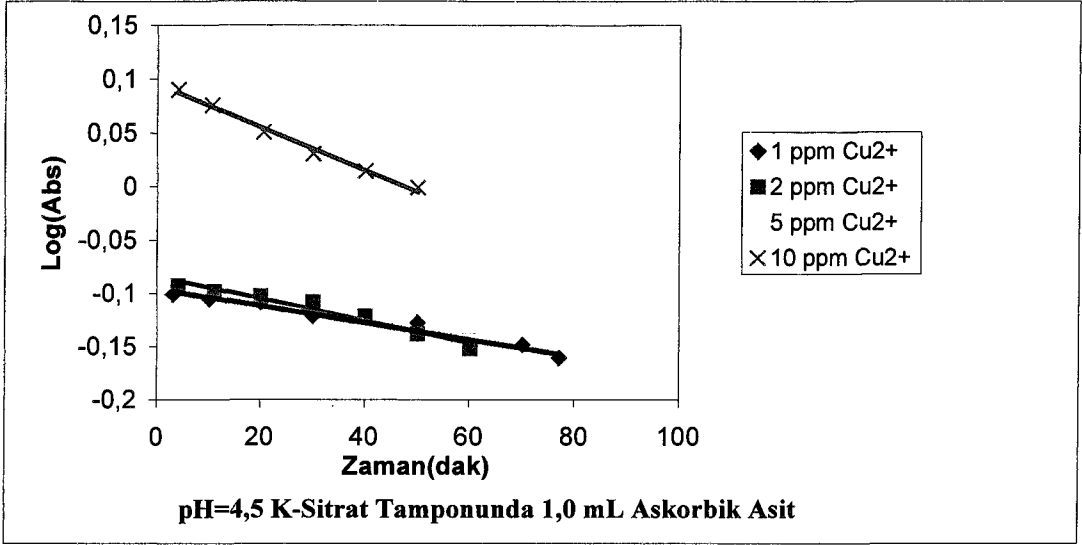
$5,675 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,1007	4	-0,0926	3	-0,0204	4	0,0903
10	-0,1051	11	-0,0979	11,5	-0,0311	10,5	0,0759
20	-0,1085	20	-0,1024	20,5	-0,0376	20,5	0,0508
30	-0,1215	30	-0,1079	30,5	-0,0747	30	0,0302
50	-0,1278	40	-0,1215	40	-0,0894	40	0,0145
60	-0,1493	50	-0,1379	50	-0,1124	50	-0,0009
70	-0,1487	60	-0,1518	60	-0,1331		
77	-0,1605						

Çizelge 4.10 K-Sitrat tamponu, pH=6,0 $5,675 \times 10^{-5}$ M, askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

$5,675 \times 10^{-5}$ M H₂A

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,0182	3	0,0052	3	0,0614
10	-0,0283	10	-0,0052	12,5	0,0422
32	-0,0472	20	-0,0199	20	0,0204
40	-0,0555	30	-0,0348	30	-0,0031
65	-0,0831	40	-0,0521	40	-0,0264
70	-0,0921	50	-0,0696	50	-0,0531
		60	-0,0883	60	-0,0752



Şekil 4.9 $5,675 \times 10^{-5}$ M askorbik asidin oksidasyonunda K-sitrat tamponu pH=4,5 ve pH=6,0 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler

Çizelge 4.11 Na₂HPO₄ -Sitrik asit tamponu, pH=3,3 ;4,5 ve 6,0 'da $5,675 \times 10^{-5}$ M, askorbik asit ve değişik Cu(II) konsantrasyonları için absorbanların zamana göre değişim değerleri

pH=3,3

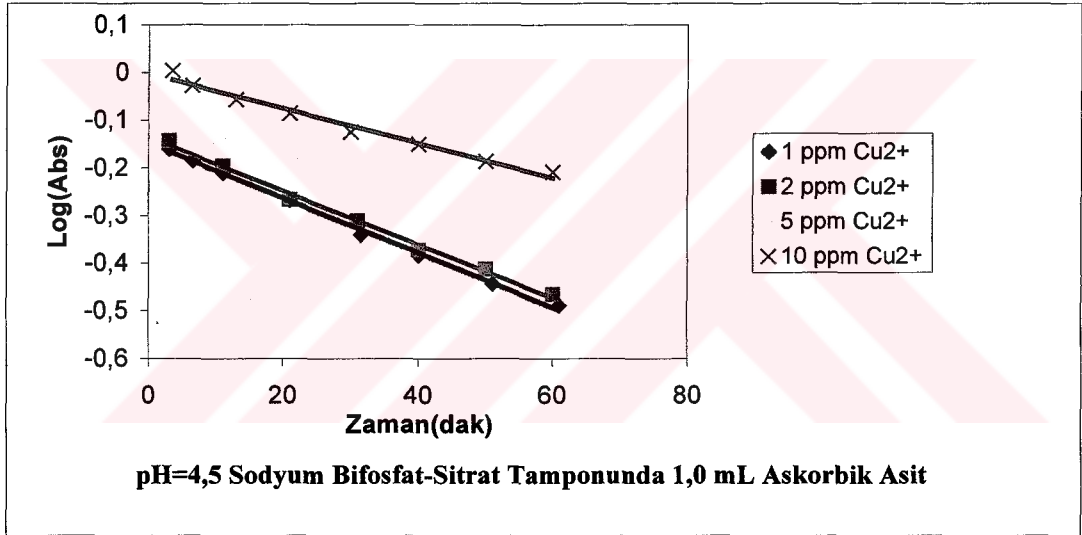
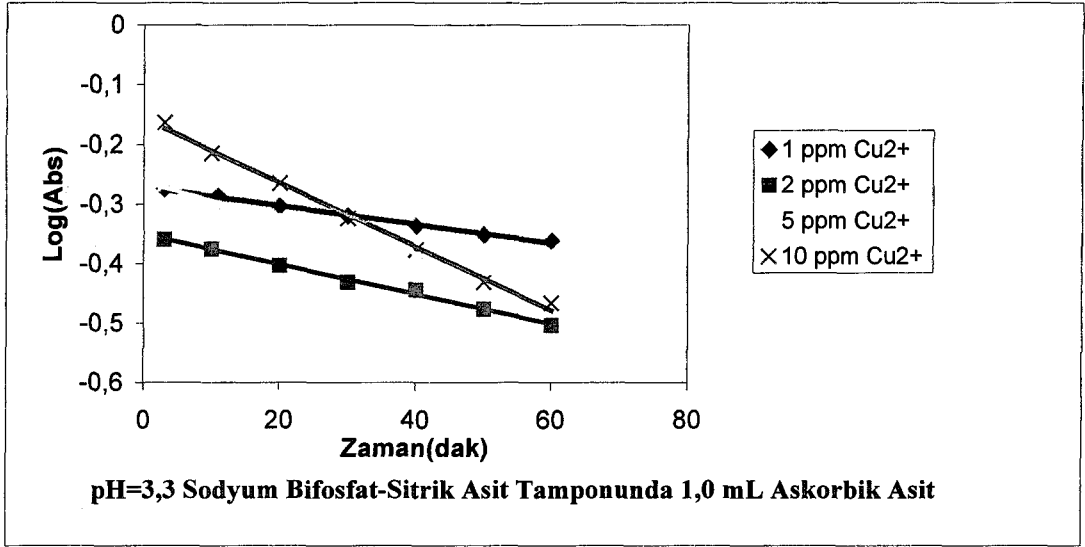
1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,2749	3	-0,3585	3	-0,2661	3	-0,1629
11	-0,2865	10	-0,3746	10	-0,2949	10	-0,2141
20	-0,3036	20	-0,4023	20	-0,3269	20	-0,2644
30	-0,3196	30	-0,4306	30	-0,3545	30	-0,3233
40	-0,3363	40	-0,4437	40	-0,3829	40	-0,3767
50	-0,3516	50	-0,4762	50	-0,4191	50	-0,4306
60	-0,3615	60	-0,5031	60	-0,4329	60	-0,4659

pH=4,5

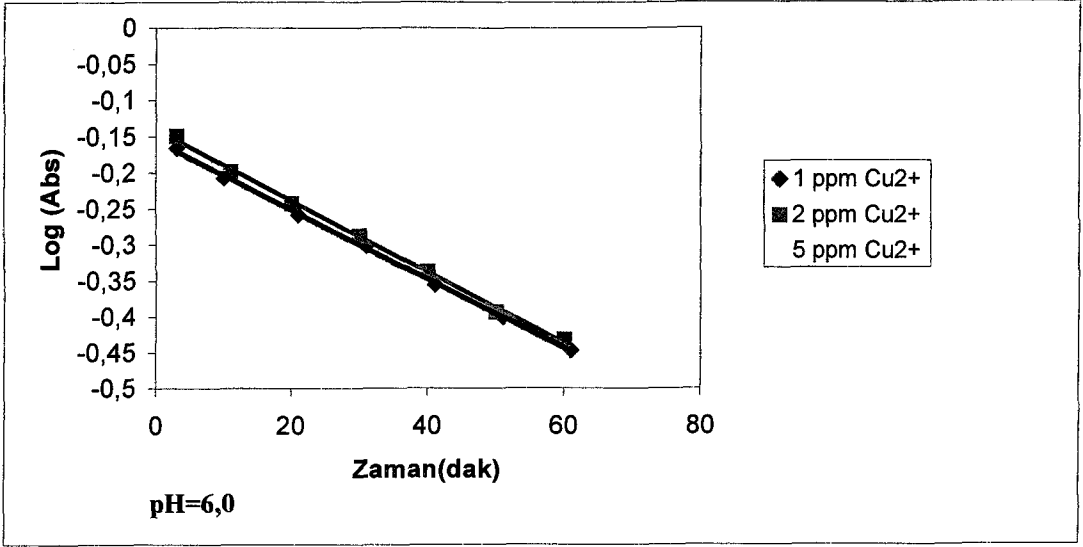
1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺		10 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,1611	3	-0,1432	3	-0,0798	3,5	0,0043
6,5	-0,1851	11	-0,1965	10	-0,1267	6,5	-0,0269
11	-0,2111	21	-0,2668	15	-0,1549	13	-0,0565
21	-0,2684	31	-0,3116	20,5	-0,1851	21	-0,0857
31,5	-0,3401	40	-0,3726	30	-0,2277	30	-0,1249
40	-0,3838	50	-0,4134	40	-0,2765	40	-0,1506
51	-0,4437	60	-0,4659	50	-0,3152	50	-0,1864
61	-0,4894			60	-0,3575	60	-0,2091

pH=6,0

1 ppm Cu ²⁺		2 ppm Cu ²⁺		5 ppm Cu ²⁺	
Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)	Zaman (dak)	Log (Abs)
3	-0,1656	3	-0,1487	3	-0,0661
10	-0,2069	11	-0,1979	10	-0,1129
21	-0,2581	20	-0,2426	20	-0,1726
31	-0,3011	30	-0,2873	30	-0,2255
41	-0,3555	40	-0,3372	40	-0,2708
51	-0,4012	50	-0,3936	50	-0,3054
61	-0,4473	60	-0,4318	60	-0,3565



Şekil 4.10 $5,675 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda Na_2HPO_4 - sitrik asit tamponu pH=3,3 ve 4,5 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler



Şekil 4.11 $5,675 \times 10^{-5} \text{M}$ askorbik asidin oksidasyonunda Na_2HPO_4 - sitrik asit tamponu pH=6,0 için değişik bakır konsantrasyonlarındaki kinetik veriler

Çizelge 4.12 Asetat tamponunda değişik konsantrasyonlardaki H₂A çözeltileri için farklı pH ve Cu²⁺ konsantrasyonlarındaki reaksiyon hız sabitleri

Cu ²⁺ Kons. (M)	2,835×10 ⁻⁵ M H ₂ A			5,675×10 ⁻⁵ M H ₂ A			8,505×10 ⁻⁵ M H ₂ A			11,35×10 ⁻⁵ M H ₂ A		
	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=4,5 k(dak ⁻¹)	pH=6,0 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=4,5 k(dak ⁻¹)	pH=6,0 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=4,5 k(dak ⁻¹)	pH=6,0 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=4,5 k(dak ⁻¹)	pH=6,0 k(dak ⁻¹)
1 ppm 1,57×10 ⁻⁷	8,520×10 ⁻³ r=0,9960	37,53×10 ⁻³ r=0,9978	218,8×10 ⁻³ r=0,9947	7,590×10 ⁻³ r=0,9979	42,83×10 ⁻³ r=0,9981	273,8×10 ⁻³ r=0,9783	8,750×10 ⁻³ r=0,9996	37,99×10 ⁻³ r=0,9985	257,2×10 ⁻³ r=0,9989	5,980×10 ⁻³ r=0,9986	58,26×10 ⁻³ r=0,9961	257,0×10 ⁻³ r=0,9979
2 ppm 3,14×10 ⁻⁷	17,27×10 ⁻³ r=0,9992	44,90×10 ⁻³ r=0,9905	-	16,35×10 ⁻³ r=0,9993	58,95×10 ⁻³ r=0,9987	-	16,12×10 ⁻³ r=0,9931	60,80×10 ⁻³ r=0,9993	-	10,82×10 ⁻³ r=0,9994	78,76×10 ⁻³ r=0,9948	301,9×10 ⁻³ r=0,9735
5 ppm 7,85×10 ⁻⁷	25,33×10 ⁻³ r=0,9909	76,22×10 ⁻³ r=0,9561	-	23,03×10 ⁻³ r=0,9285	107,8×10 ⁻³ r=0,9651	-	42,83×10 ⁻³ r=0,9967	82,80×10 ⁻³ r=0,9549	-	30,39×10 ⁻³ r=0,9999	108,2×10 ⁻³ r=0,9893	-
10 ppm 15,7×10 ⁻⁷	44,67×10 ⁻³ r=0,9933	76,69×10 ⁻³ r=0,9903	-	64,48×10 ⁻³ r=0,9982	91,199×10 ⁻³ r=0,9989	-	54,81×10 ⁻³ r=0,9734	109,6×10 ⁻³ r=0,9581	-	47,90×10 ⁻³ r=0,9987	95,57×10 ⁻³ r=0,8916	-

Çizelge 4.13 Sitrat tamponlarında değişik konsantrasyonlardaki H₂A çözeltileri için farklı pH ve Cu²⁺ konsantrasyonlarındaki hız sabitleri

Cu ²⁺ Kons. (M)	<u>Sitrik Asit + Potasyum Hidroksit (K-Sitrat) Tamponu (a)</u>						<u>Sitrik Asit + Sodyum Bifosfat (Na₂HPO₄-Sitrik Asit) Tamponu (b)</u>					
	5,675×10 ⁻⁵ M H ₂ A			8,505×10 ⁻⁵ M H ₂ A			11,35×10 ⁻⁵ M H ₂ A			5,675×10 ⁻⁵ M H ₂ A		
	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=4,5 k(dak ⁻¹)	pH=6,0 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=3,3 k(dak ⁻¹)	pH=4,5 k(dak ⁻¹)	pH=6,0 k(dak ⁻¹)
1,57×10 ⁻⁷	2,76×10 ⁻³ r=0,9919	1,84×10 ⁻³ r=0,9948	2,53×10 ⁻³ r=0,9973	2,76×10 ⁻³ r=0,9986	1,38×10 ⁻³ r=0,9430	3,68×10 ⁻³ r=0,9975	13,12×10 ⁻³ r=0,9987	11,05×10 ⁻³ r=0,9995				
3,14×10 ⁻⁷	3,22×10 ⁻³ r=0,9970	2,303×10 ⁻³ r=0,9767	3,70×10 ⁻³ r=0,9988	2,30×10 ⁻³ r=0,9948	2,30×10 ⁻³ r=0,9440	5,75×10 ⁻³ r=0,9975	12,89×10 ⁻³ r=0,9971	11,505×10 ⁻³ r=0,9990				
7,85×10 ⁻⁷	2,53×10 ⁻³ r=0,9969	4,84×10 ⁻³ r=0,9902	5,52×10 ⁻³ r=0,9995	2,30×10 ⁻³ r=0,9957	2,76×10 ⁻³ r=0,9893	6,91×10 ⁻³ r=0,9959	11,05×10 ⁻³ r=0,9968	11,505×10 ⁻³ r=0,9958				
15,7×10 ⁻⁷	2,76×10 ⁻³ r=0,99852	4,606×10 ⁻³ r=0,9948	-	2,30×10 ⁻³ r=0,9971	3,22×10 ⁻³ r=0,9943	12,43×10 ⁻³ r=0,9975	8,52×10 ⁻³ r=0,9902	-				

4.5 Cu(II) İyonu Konsantrasyonunun Etkisi

Cu(II) iyonu yokken ve Cu(II) iyonu ilave edilmiş durumlardaki birinci derece hız sabitleri arasındaki fark k_d hız karakteristiği olarak alınır. Şekil 4.12 her pH 'taki (k_d) hız sabitlerinin, Cu(II) konsantrasyonu ile değişimini göstermektedir.

Burada $k_d = K_{sp} [Cu(II)]$ 'dir.

Spesifik hız sabitleri (K_{sp}) şekil 4.12'deki doğruların eğimlerinden hesaplanmıştır. Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Askorbik asidin Cu(II) iyonu katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri aynı pH değerleri için sitrat tamponlarında asetat tamponuna göre daha düşüktür. (Çizelge 4.14)

Asetat tamponlu çözeltilerde spesifik hız sabitleri (K_{sp}) pH ile artma göstermiştir. Asetik asidin 25°C'de $pK_a = 4,76$ 'dır. (Weast, 1982) Bakır komplekslerinin kümülatif stabilite sabitleri ($\log \beta_n$), mono ve bis kompleksleri için sırası ile 2,16 ve 3,20'dir. (Inczedy, 1976) En yüksek reaksiyon hızları bakır – asetat ile olan çalışmalarda görülmüştür. (Bkz. Çizelge 4.12)

H_2A 'nın , Cu(II) iyonu katalizli oksidasyonunda spesifik hız sabitleri, sitrat tamponlarında aynı pH değerleri için asetat tamponuna göre daha düşüktür. Asetat tamponlu çözeltiler pH=3,3 ve 4,5'ta spesifik hız sabitleri pH ile bir artış gösterdiği halde sitrat tamponlu çözeltilerde aynı durum gözlenmemiştir. Bu durum oluşan bakır (II) – sitrat komplekslerinin farklı katalitik etkide bulunmasına bağlanabilir.

Sitratlı çözeltilerde başlıca türler; pH=3,5'ta $CuHCl^-$

pH=4,5'ta $CuHCl^-$ ve $CuCl^{2-}$

pH=6,0'da $CuCl^{2-}$ (Şahbaz ve Somer, 1993)

pH yükselirken daha stabil kompleksler oluşmakta ve Cu(II) iyonları ile sitrat anyonları arasında bağlanma daha kuvvetli olmaktadır.

Sonuçta $CuCl^{2-}$ çok kararlı bir çelattır. Sitrik asidin pK_a değerleri sırası ile; $pK_{a1}=3.13$, $pK_{a2}=4.76$, $pK_{a3}=6.40$ 'dır. Kararlılık sabiti ($\log \beta_1$) , HCl^{2-} ile monokompleks için 4,35 ve Cl^{3-} ile monokompleks için 14,2'dir.

Monohidrojen askorbat iyonu ve Cu(II) – tampon çelatı arasında geçiş kompleksi oluşumu düşünülmektedir. Reaksiyon hızlarında gözlenen farklılıklar Cu(II) iyonu ile tampon bileşenleri arasındaki farklı kompleks yapma yeteneğinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Askorbik asidin oksidasyon reaksiyonunun hızı üzerine pH'ın, bakır iyonu konsantrasyonunun, H₂A konsantrasyonunun ve tamponların gözlenen etkileri aşağıdaki gibidir.

- 1- Cu(II) iyonu konsantrasyonu ile hız artmaktadır.
- 2- Asetat tamponunda, hız pH ile artmaktadır. Sitrathlı tamponda çok kesin bir durum gözlenmemektedir.
- 3- H₂A konsantrasyonu değişmesiyle asetat tamponlu çözeltilerde reaksiyon hızında önemli bir değişme olmamaktadır.

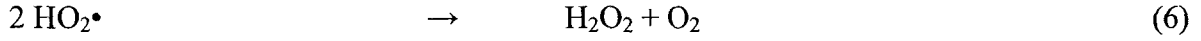
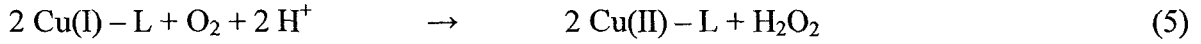
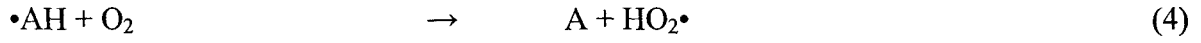
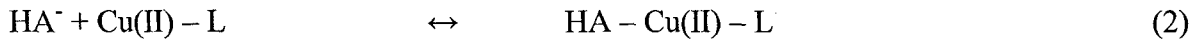
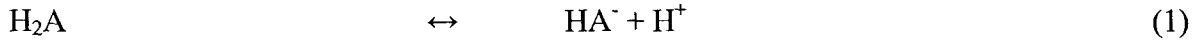
Askorbik asidin bakır iyonu katalizli oksidasyon reaksiyonu ile ilgili daha önceki çalışmada karmaşık etken bakır (II) iyonlarının kompleks oluşturmak için farklı şekilde etkileşen tamponların kullanılmasından ileri geldiği belirtilmiştir. (Joslyn ve Miller, 1949)

Cu(II) iyonları varlığında oksidasyon reaksiyonu başlangıcı bir elektronun HA⁻ 'dan bakır (II) iyonuna geçmesi hipoteziydi. (Khan ve Martell, 1967a, 1967b)

Bunun sonucu olarak reaksiyon hızının Cu(II) ve pH artmasıyla artacağını belirtmiştir. Cu(II) için doğru fakat düşünülen HA⁻ konsantrasyonu arttığı zaman çelişkili olacağını belirtmiştir. Bu noktada pH'ın fonksiyonu olarak oluşan Cu(II) – tampon çelatları ve bunların relatif kararlılıkları dikkate alınmalıdır. Gerçekte H₂A'nın bakır (II) çelat katalizli oksidasyonu için iki mekanizma düşünülmüştür. (Somer ve Şahbaz, 1992)

- (1) Katalitik etki, çelat bileşiği ile dengedeki serbest Cu(II) iyonu ile olabilir, veya
- (2) Cu(II) – tampon çelatları elektron transferine doğrudan katılabilir.

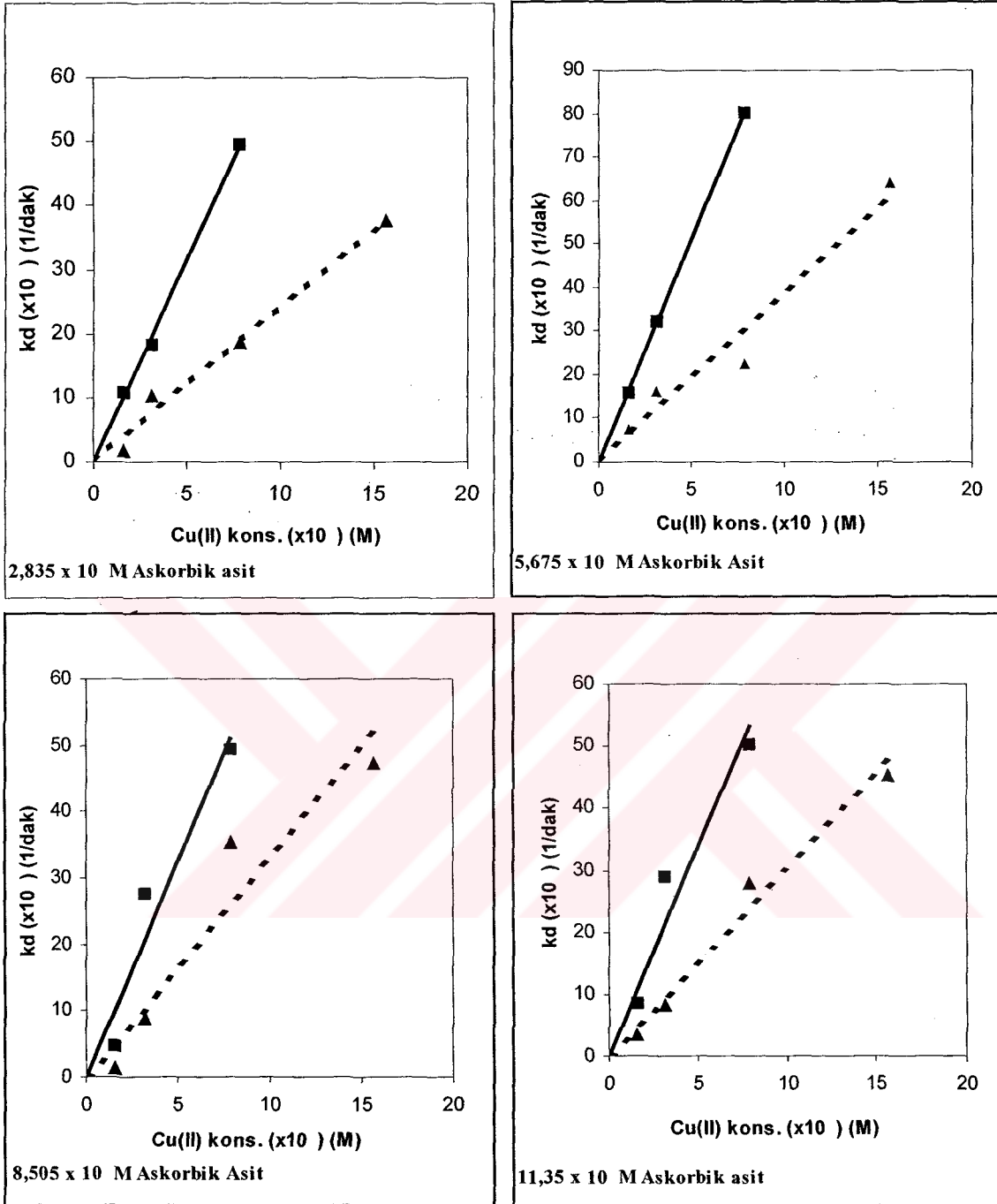
Birinci hipotezdeki mekanizma geçerli ise reaksiyon hızı Cu(II) – tampon ligand kompleksinden disosiyasyon olmuş Cu(II) 'nin bir fonksiyonu olmalı ve Cu(II) – çelat yapısına bağlı olmamalıdır. Gerçekte çalışılan tampon çözeltilerde ikinci mekanizma yani H₂A 'nın oksidasyonunda Cu(II) – çelat türlerinin doğrudan katılımı aşağıdaki reaksiyon adımları ile literatürde verilmiştir. (Somer ve Şahbaz, 1992)



Burada, L: tampondaki ligandı göstermektedir.

Bu mekanizmada, HA^- ve $\text{Cu(II)} - \text{çelat}$ arasında bir geçiş kompleksi oluşur. Askorbattan, metal iyonuna geçiş kompleksi hız tayin eden elektron transferi ile tayin edilir. Hız tayin edilen adımda geçiş kompleksi bakır – çelat ve monodehidro askorbat radikaline ($\bullet\text{AH}$) ayrışır. Bu $\bullet\text{AH}$ radikali ve daha düşük değerlikteki metal çelatının moleküler oksijen ile oksidasyonu müteakip basamaklarda oluşur ve H_2O_2 ve dehidroaskorbik asit (A) ile reaksiyon ürünleri olarak meydana gelir.

İleri sürülen bu mekanizmada, hız HA ve $\text{Cu(II)} - \text{L}$ konsantrasyonlarına bağlı olduğu kadar çalışılan pH aralığında oluşmuş $\text{Cu(II)} - \text{ligandın}$ katalitik aktivitesine de bağlıdır.



Şekil 4.12 Asetat tamponu için askorbik asidin oksidasyonunda Cu(II) varlığında katalitik etki.

[$k_d = \text{Cu(II)}$ varlığında ve Cu(II) bulunmadığı haldeki hız sabitleri arasındaki farklar]

■ : pH=4,5

▲ : pH=3,3

Çizelge 4.14 Askorbik asidin Cu(II)-iyon-katalizli oksidasyonununun asetat ve sitrat tamponlarında bulunan spesifik hız sabitleri (K_{sp})

	Askorbik Asit Kons. (M)	pH	K_{sp} ($M^{-1}.dak^{-1}$) ($\times 10^{-4}$)	R
Asetat Tamponu	$2,835 \times 10^{-5}$	3,3	2,409	0,9910
		4,5	6,273	0,9980
	$5,675 \times 10^{-5}$	3,3	3,883	0,9770
		4,5	10,22	0,9999
	$8,508 \times 10^{-5}$	3,0	3,275	0,9542
		4,5	6,504	0,9564
	$11,35 \times 10^{-5}$	3,0	2,998	0,9889
		4,5	7,724	0,9857
		6,0	31,78	1,0000
	K-Sitrat Tamponu	$5,675 \times 10^{-5}$	4,5	0,492
6,0			0,455	0,9878
Sitrik Asit- Na_2HPO_4 Tamponu	$8,508 \times 10^{-5}$	3,3	0,579	0,9831

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Askorbik asit kararlılığı üzerinde Cu(II) iyonlu çözeltilerinde, çeşitli pH koşullarında, tampon bileşenlerinin kimyasal rolü besin hazırlama, saklama ve formülasyonundaki pratik uygulamalar için önemli bir temel sağlar. Askorbik asidin spontane ve Cu(II) iyonu katalizli oksidasyonu; askorbik asit konsantrasyonu, bakır konsantrasyonu ve pH değiştirilerek hava geçirilen asetat ve sitrat tampon çözeltilerinde incelenmiştir. Spesifik birinci derece hız sabitleri hesaplanmıştır.

Değişik tampon sistemleri de olsa askorbik asit oksidasyonunda Cu(II) – L çelatı aktif rol oynar. Verilerden görüldüğü gibi askorbik asit kararlılığı değişik pH 'larda tampon tipine bağlıdır. Askorbik asidin oksidasyonunu meyve sularında ve alkolsüz içeceklerde stabilizatör olarak kullanılan sitrat tuzları önlemektedir. Sitratlı çözeltilerde spesifik hız sabitleri çizelge 4.14'e göre daha düşüktür. Sitrat ile relatif olarak daha kararlı çelat, elektron transferini sağlayamaz.

KAYNAKLAR

Aras, K., Ersen, G. ve Karahan, S., (1976), Tıbbi Biyokimya Vitaminler, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, 4, Ankara.

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

Berkem, A.R., (1993), İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3764, İstanbul.

Cebe, M., (1995), Fizikokimya II, Uludağ Üniversitesi Yayınları, 11-007-0265, Bursa.

Chung, H.K. ve Ingle, J.D., (1991), "Fluorimetric Kinetic Method for the Determination of Total Ascorbic Acid with O-Phenylenediamine", *Analytica Chimica Acta*, 243: 89-95.

Clarke, E.G.C., (1975), Clarke's Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press, London.

Davies, M.B., (1992), "Reactions of L – Ascorbic Acid with Transition Metal Complexes", *Polyhedron*, 11(3): 285-321.

Davies, M.B., Austin, J. ve Partridge, D.A., (1991), "Vitamin C, its Chemistry and Biochemistry", Royal Society, Cambridge.

Dyke, S.F., (1965), The Chemistry of the Vitamins, Interscience Publ., London.

Eison – Perchonok, M. H. ve Downes, T. W., (1982), "Kinetics of Ascorbic Acid Autoxidation as a Function of Dissolved Oxygen Concentration and Temperature", *J. Food Sci.*, 47: 765-773.

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

Floyd, R., (1990), "Role of Oxygen Free Radicals in Carcinogenesis and Brain", *Ischemia. Faseb J.*, 4: 2587-2597.

Fung, Y.S. ve Luk, S.F., (1985), "Determination of Ascorbic Acid in Soft Drinks and fruit Juices", *Analyst*, 110: 201-204.

Gündüz, K., (1990), Kantitatif Analiz Laboratuvar Kitabı, Bilge Yayıncılık, Ankara.

Haddad, P., (1977), "Vitamin C Content of Commercial Orange Juices", *J. Chem. Education*, 54(3): 192-193.

Hogenkamp, H.P.C., (1980), "The Interaction Between Vitamin B and Vitamin C", *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33(1): 1-3.

Joslyn, M.A. ve Miller, L., (1949), "Effect of Sugars on Oxidation of Ascorbic Acid . I. Kinetics of Auto – oxidation of Ascorbic Acid", *Food Research*, 14: 325-333.

Kaur, C. ve Kapoor, H.C., (2001), "Antioxidants in Fruit and Vegetables – The Millenium's Health", *Int. J. Food Science and Technology*, 36: 703-725.

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., (1967 a), "Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxydation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. I. Cupric and Ferric Ion Catalyzed Oxydation", *Journal of American Chemical Society*, 89: 4176-4185.

Khan, M.M.T. ve Martell, A.E., (1967 b), "Metal Ion and metal Chelate Catalyzed Oxydation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. II. Cupric and ferric Chelate Catalyzed Oxydation", *Journal of American Chemical Society*, 86(26): 7104-7110.

Koyuncuoğlu, H., (1975), *Farmakoloji Dersleri II, Tıp Fakültesi Farmakoloji Kürsüsü, Sermet Matbaası, İstanbul.*

İmer, F., Köseoğlu, A. ve Sefer, T., (1989), "Askorbik Asitin Oksidasyonunun Polarografik Olarak İncelenmesi", *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6, 119 – 129.

Lau, O., Luk, S.F. ve Wong, K.S., (1987), "Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceuticals Using Direct Ultraviolet Spectrophotometry", *Analyst*, 112: 1023-1028.

Lewin, S., (1970), *Vitamin C. Its Molecular Biology and Medical Potential*, Academic Press, San Fransisco.

Maclver, K., (1998), *Association of Official Analytical Chemists, [AOAC], Official Methods of Analysis*, Washington D. C.

Martell, A.E., (1989), *Chelates of Ascorbic Acid. In Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism and Uses: Seib, P. A., Tolbert, B. N., Eds.: Advances in Chemistry Series 200, American Chemical Society: Washington D. C., 153-178.*

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*, 265(6): 1225-1235.

Mc. Cord, J., (1985), "Oxygen Derived Free Radicals in Postischemic Tissue Injury", *N. Eng. J. Med.*, 312: 159-163.

Moorhead, E.D. ve Davis, P.H., (1973), *Analytical Chem.*.....45(13): 199-205.

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.

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

Pauling, L., (1970), "Evolution and Need for Ascorbic Acid", Proc. Natl. Acad. Sci., 67: 1643-1648, A.B.D.

Pauling, L., (1971), Vitamin C and Common Cold, W.H. Freeman and Co., San Fransisco.
Skoog, A. D., Holler, J. F. ve Nieman, T.A., (1998), Principals of Instrumental Analysis, Itarcourd Brace & Company, Florida.

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

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

Stone, I., (1972), The Healing Factor: Vitamin C Against Disease, Grosset&Dunlop, London.

Şahbaz, F. ve Somer, G., (1992), "Determination of Ascorbic Acid in Fruit and Vegetables Using Normal Polarography", Food Chemistry, 44: 141-146.

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

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

Ünleroğlu, C., Mert, Y. ve Zümreoğlu-Karan, B., (2001), "Synthesis and Characterization of Cupper Ascorbate", Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem., 31(9): 1531-1543.

Velicangil, S., (1976), Koruyucu ve Sosyal Tıp, Sermat Matbaası, İstanbul.

Weast, R.C., (1982), CRC Handbook of Chemistry and Physics, Chemical Rubber Cooperation, Florida.

Yıldız, A. ve Genç, Ö., (1993), Enstrümantal Analiz, Hacettepe Üniv. Yayınları, A-64, Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi	15.04.1975	
Doğum Yeri	Edirne	
Lise	1989-1993	Edirne Anadolu Öğretmen Lisesi
Lisans	1994-1999	Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü (İngilizce)
Yüksek Lisans	1999-2002	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı
Çalıştığı Kurumlar		
	1999-2002	Milli Eğitim Bakanlığı, Kısıklı İlköğretim

