

Flavokermesik Asitin Asit Sabitlerinin ve Kalay(II), Alüminyum(III) İyonları İle Oluşturduğu Komplekslerin Kararlılık Sabitlerinin Potansiyometrik Yöntemle Tayini

Serap AYAZ SEYHAN, Emre DÖLEN

ÖZET

Sentetik boyarmaddelerin birçoğunun toksik, kanserojen olması ve atıklarının çevre kirliliğine neden olması doğal boyarmaddeleri yeniden gündeme taşımış ve kullanımları; gıda, ilaç, kozmetik ve tekstil boyama endüstrisi alanında ivme kazanmıştır. Doğal boyarmaddeler bitkiler, hayvanlar, likenler ve mantarlardan elde edilen çözünebilir organik bileşiklerdir. *Homeptera* sınıfının *Coccoidea* ailesinden olan böcekler ilaç, yiyecek renklendiricileri, pigment,

boya ve tekstil boyamada kırmızı rengin kaynağı olarak halen kullanılmaktadır. Flavokermesik asit (lakkaik asit D) bu böcek türlerinden elde edilen doğal boyarmaddedir. Bu çalışmada kermes böceğinden elde edilen flavokermesik asitin asit sabitlerinin ve metal iyonları ile oluşturdukları komplekslerin kararlılık sabitlerinin potansiyometrik yöntemle tayini amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Boyarmadde, flavokermesik asit, Kermes böceği, potansiyometri, asit sabiti

Serap AYAZ SEYHAN
Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya ABD Haydarpaşa İstanbul
sayaz@marmara.edu.tr, serapayz@gmail.com

Emre DÖLEN
Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya ABD Haydarpaşa İstanbul
emredolen@gmail.com

Yazı Sorumlusu:

Serap AYAZ SEYHAN
Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya ABD Haydarpaşa İstanbul
Tel: 0 216 414 29 62-1156
Faks: 0 216 345 29 52
E-mail: sayaz@marmara.edu.tr, serapayz@gmail.com

1. GİRİŞ

Renk her zaman dünyada kültürlerin önemli bir unsuru olmuştur. Renklendiriciler hiyerarşik durumu ve önemi belirtmek için sadece bir araç olarak değil aynı zamanda bir bireyi süslemek için de kullanılmıştır (1).

Eski çağlarda özellikle kırmızı renk elde etmek için dünyanın çeşitli bölgelerinde bazı böceklerden yararlanılmıştır. Kırmızı boyarmaddeler içeren pek çok böcek türü arasında önem kazanmış olanlar; Amerikan Koşinil (*Dactylopius coccus* Costa), Polonya Koşinil (*Porphyrophora polonica* L.), Lak Böceği (*Kerria lacca* Kerr, *Tachardia larreae* Kerr), Ararat (Armenian) Kermes (*Porphyrophora hamelii* Brandt) ve Kermes Böceği (*Kermes Vermilio* Planchon)'dir. Tüm böcek kaynaklı boyarmaddelerde bulunan kromoforlar antrakinon türevlerine sahiptir. Flavokermesik asit (lakkaik asit D) (Şekil1) bu böcek türlerinden elde edilen doğal boyarmaddedir (2-4).

Kermesin kullanımı sadece boyamacılıkla sınırlı olmayıp, eski dönemde ilaç olarak da kullanılmıştır (3).

Dioscorides ve Galenos, kurutulup toz haline getirilmiş kermesin sirke ile karıştırılmasından elde edilen çözeltiyi yaraların kapanmasında ve kanamanın durdurulmasında; Plinyus ise, kermesin sulu çözeltisini göz kanlanmasında göz damlası olarak kullanmıştır. Orta çağın başlarında ise Arap ve Faslı doktorlar tarafından yaraların kapanmasında

kullanılmıştır. 9. yüzyılda ünlü Hristiyan Arap doktor Abu Zakariyya Yuhanna ibn Masawayh her derde iyi gelen; elma suyu, gül suyu, şeker, amber, sarısabır, lapilazuli, altın ve misk karışımı içinde kermes ile boyanmış ipek ekstraktından oluşan Confectio Alkermes ilacı ile ünlenmiştir. Bu preparat, tüm Arap ve Batı Hristiyan dünyasında bayılma nöbetleri, zor doğum ve düşük, felç, beyin kanaması, sıtma, çiçek hastalığı, ödem, frengi ve her türlü kalp ve dolaşım problemlerini içeren sayısız durumlar için kullanılmıştır. 13. yüzyılda Montpellier Tıp Okulu, Confectio Alkermes'i geliştirmiş ve Napolyon I dönemine kadar her kraliyet doktorunun deposunun temel bir unsuru olmuştur (2, 4, 5).

Organik renklendiricilerin kimyasal yapılarının çeşitliliği toksikolojik özelliklerinin oldukça geniş bir spektrumunu da beraberinde getirmektedir (6).

Boyarmaddelerin kronik etkileri, özellikle de azo boyarmaddelerinin, uzun yıllar boyunca çalışılmıştır. Araştırmacılar, çoğunlukla gıda boyalarının (genellikle azo bileşikleri) etkileri üzerinde durmuştur. Azo boyarmaddelerinin indirgenmesinin yol açtığı bazı aromatik aminler mutajenik ve karsinojeniktir. Aromatik aminlerin akut toksik riski karsinojeniktir ve özellikle mesane kanserine neden olmaktadır (7). Toksik boyarmaddelerin çoğu diazo ve katyonik boyarmaddelerin arasında bulunmaktadır ve bu boyarmaddelerin bazıları karsinojenik risklerinden dolayı terk edilmiştir (6).

Azo ve antrakinon boyarmaddeleri, bugün tekstil kumaşlarının boyanmasında kullanılan en önemli iki sınıftır. Bunlar saç boyası, gıda, dövme boya, kağıt, tekstil ve ilaç için renklendirme ajanları olarak çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır (8).

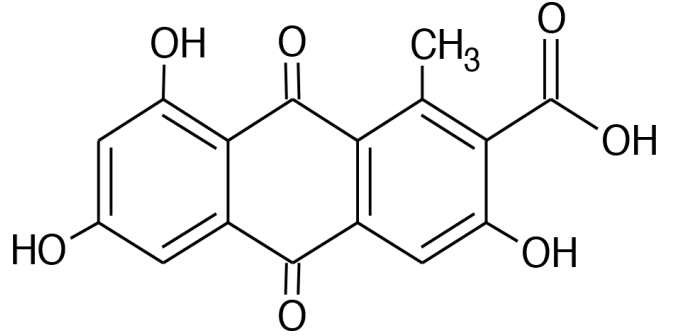
Asit boyarmaddeler ise azo ve antrakinon bileşikleri içermektedir. Asit boyarmaddelerinin kontakt alerjiye neden olduğu ayrıca, cerrahi dikiş malzemelerinde kullanılan asit boyarmaddelerinin alerjik reaksiyonlarına sebep olduğu bildirilmiştir. Gıda, şekerleme, alkolsüz içecekler ve ilaçlar için renklendirme ajanı olarak kullanılan azo boyarmaddeleri, ürtiker ve astım bronşit gibi ani aşırı duyarlılık reaksiyonlarından sorumlu tutulmaktadır (8).

Sentetik boyarmaddelerin birçoğunun toksik, kanserojen olması ve atıklarının çevre kirliliğine neden olması doğal boyarmaddeleri yeniden gündeme taşımış ve kullanımları; gıda, ilaç, kozmetik ve tekstil boyama endüstrisi alanında ivme kazanmıştır (9, 10).

Bazı flavonoid grubu boyarmaddelerin çeşitli metallerle yaptıkları kompleksler potansiyometrik ve spektrofotometrik olarak incelenmiştir (11-14). Ancak kırmızı boyarmadde kaynağı olan kabuklu böceklerden elde edilen antrokinon türevi boyarmaddelerin potansiyometrik olarak asit sabitlerinin ve metallerle yaptıkları komplekslerin kararlılık sabitlerine ilişkin bir kaynak bulunamamıştır.

Bu çalışmada Flavokermesik asitin asit sabitlerinin ve metal iyonları ile oluşturdukları komplekslerin kararlılık sabitlerinin

potansiyometrik olarak tayini amaçlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarının flavokermesik asit boyarmaddesi ile boyanmış tarihi tekstil ve sanat objelerinin mümkün olduğu ölçüde korunmasına ve restorasyonuna, ilaçlar ve gıda maddeleri ile ilgi yapılacak olan çalışmalara yardımcı olacağı düşünülmektedir.



Şekil 1: Flavokermesik asit'in yapısal formülü

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve aletler

Perklorik asit (HClO_4 70-72 %), sodyum perklorat (NaClO_4), sodyum hidroksit (NaOH) (titrisol), 1,4-Dioxan, kalay klorür ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), alüminyum sülfat ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$), $\text{pH}=4.00$ ve $\text{pH}=7.00$ tamponu Merck (Darmstadt, Germany)'den temin edilmiştir. Flavokermesik asit INCO CT 2005 015406 MED-COLOUR-TECH nolu proje kapsamında standart olarak elde edilmiş ve buradan temin edilmiştir. Tüm çözeltiler distile su kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan metal çözeltilerinin konsantrasyonları EDTA ile titre edilerek standardize edilmiştir.

Potansiyometrik titrasyonlar sırasında pH ölçümleri, sıcaklık probu içeren otomatik titratör (Radiometer TitraLab 80) ve cam elektrot (Radiometer PHC3001-8) yardımıyla yapılmıştır. Elektrot sistemi 25°C 'de $\text{pH}=4.00$ ve $\text{pH}=7.00$ tamponları kullanılarak her çalışma öncesi kalibrasyonu yapılmıştır. Bilgisayar hesaplamaları ölçüm verileri üzerinden yapılmıştır.

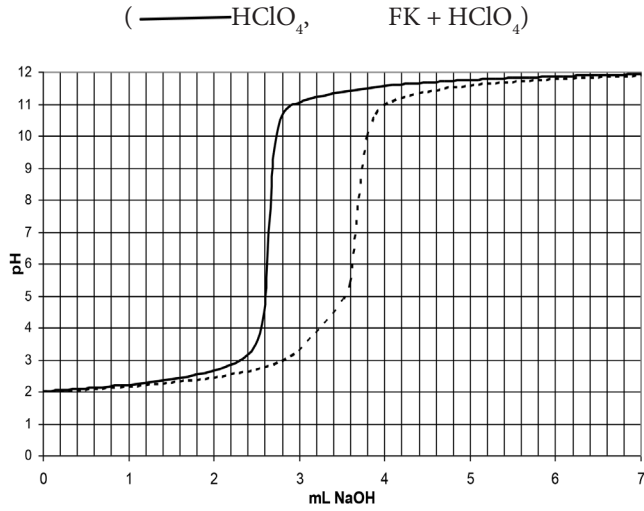
2.2. Potansiyometrik Yöntem

Gerek protonlanma sabitlerinin tayininde gerekse metal komplekslerinin incelenmesinde 0.1000 N NaClO_4 kullanılarak ortamın iyonik kuvveti $I=0.11$ 'de sabit tutulup çalışmalar % 20'lik dioksan ortamında 25°C 'de gerçekleştirilmiştir.

2.2.1. Protonlanma Sabitinin Tayini

Flavokermesik asit'in (FK) protonlanma sabitlerinin bulunması için Irwing ve Rossotti tarafından verilen yöntem uyarınca (15,16), HClO_4 ve $\text{FK} + \text{HClO}_4$ içeren çözeltiler 0.1000 N NaOH çözeltisiyle potansiyometrik olarak titre edilmiştir

(Şekil 2). Ortalama \bar{n}_A değerleri elde edilen titrasyon eğrilerinden hesaplanmıştır. Hesaplama için aşağıdaki denklem kullanılmıştır;

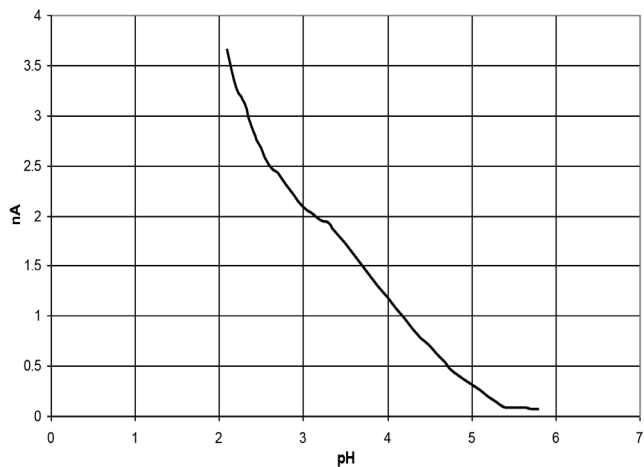


Şekil 2: Flavokermesik asit ve HClO₄'ün potansiyometrik titrasyon eğrisi

$$\bar{n}_A = y_+ [(V_1 - V_2)(N + E^0)] / [(V^0 + V_1)T_L^0]$$

Burada; V⁰ (başlangıç hacmi)=25mL, N (bazın normalitesi)=0.1000 N, T_L⁰ (ligand konsantrasyonu)=0.001 M, E⁰ (HClO₄ konsantrasyonu)=0.0106 M, y (verilen proton sayısı)=4.

Titrasyon eğrilerinden okunan V₁ ve V₂ hacimleri yardımı ile değişik pH değerlerine karşılık gelen \bar{n}_A değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen \bar{n}_A değerleri yardımıyla pH'ın bir fonksiyonu olarak [$\bar{n}_A=f(\text{pH})$] grafiği çizilmiştir (Şekil3). Bulunan protonlanma sabitleri ile bunlara bağlı olarak asit sabitleri değerleri Tablo 1'de verilmiştir



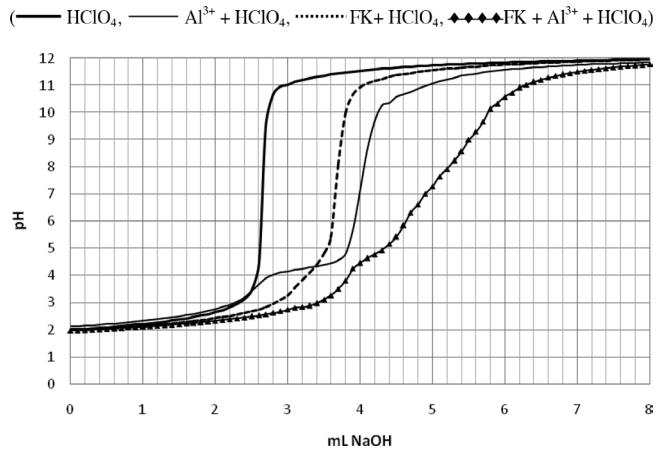
Şekil 3: Flavokermesik asit'in $\bar{n}_A=f(\text{pH})$ eğrisi

Tablo 1: Flavokermesik asit'in protonlama ve asit sabiti değerleri (I=0.11, NaClO₄, 25°C, n=6).

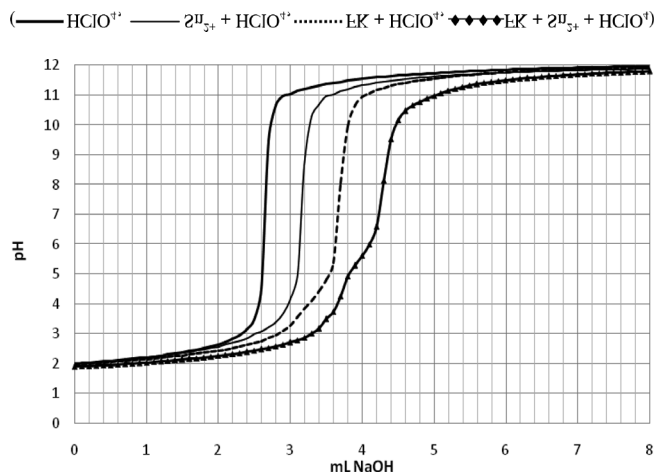
Protonlanma Sabiti	Asit Sabiti	β
$\log K_1=4.74$	$\text{pKa}_1=2.07$	$\beta_1=K_1=5.50 \times 10^4$
$\log K_2=3.72$	$\text{pKa}_2=2.54$	$\beta_2=K_1 \cdot K_2=2.88 \times 10^8$
$\log K_3=2.54$	$\text{pKa}_3=3.72$	$\beta_3=K_1 \cdot K_2 \cdot K_3=1.00 \times 10^{11}$
$\log K_4=2.07$	$\text{pKa}_4=4.74$	$\beta_4=K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \cdot K_4=1.17 \times 10^{13}$

2.2.2. Kararlılık Sabitinin Tayini

Flavokermesik asit'in (FK) metal komplekslerinin kararlılık sabitlerinin tayini için Calvin-Bjerrum ve Irving-rossotti yöntemleri kullanılmıştır (15-18). Metal içeren karışımlar (Metal + FK + HClO₄) 0.1000 N NaOH çözeltisiyle potansiyometrik olarak titre edilmiştir (Şekil 4 ve 5).



Şekil 4: Al³⁺ + Flavokermesik asit için potansiyometrik titrasyon eğrisi



Şekil 5: Sn²⁺ + Flavokermesik asit için potansiyometrik titrasyon eğrisi

Kararlılık sabitlerinin hesaplanması için daha önce bulunmuş \bar{n}_A değerleri yardımıyla \bar{n}_L değerleri, bulunan \bar{n}_L değerleri yardımıyla da bunlara karşılık gelen pL değerleri hesaplanmıştır. \bar{n}_L değerlerinin hesaplanmasında aşağıdaki denklem kullanılmıştır;

$$\bar{n}_L = [(V_3 - V_2) (N + E^0 + T^0_L (y - \bar{n}_A))] / (V^0 + V_2) \cdot \bar{n}_A \cdot T^0_M$$

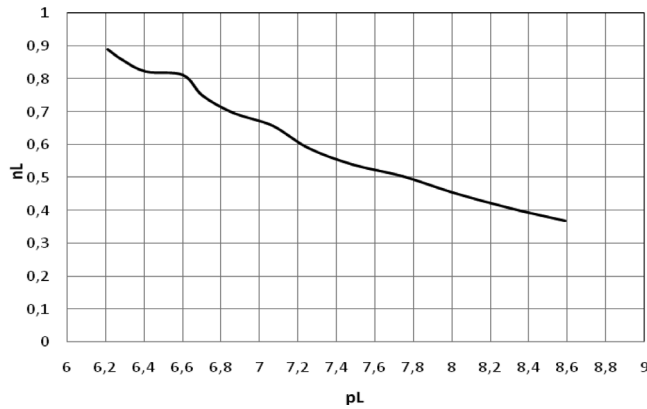
Bu formülde, V^0 (başlangıç hacmi)=25,00mL, N (bazın normalitesi)=0.1000 N, T^0_L (ligand konsantrasyonu)=0.001 M, E^0 (HClO₄ konsantrasyonu)=0.0106 M, y (verilen proton sayısı)=4, T^0_M (toplam metal konsantrasyonu)=0.001 M (Al³⁺ ve Sn²⁺) şeklindedir.

pL değerlerinin hesaplanmasında ise;

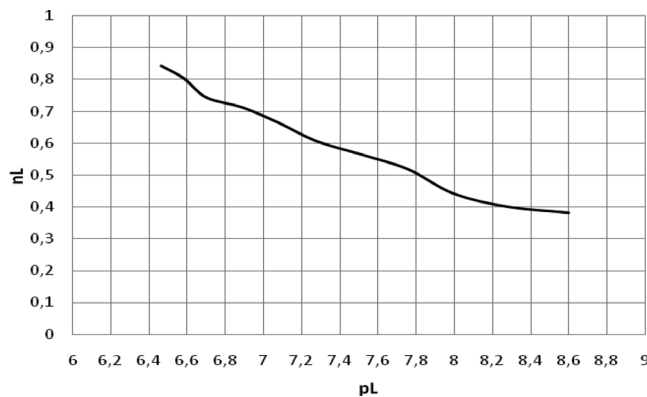
$$pL = \text{Log}(1 + \beta_1[H^+] + \beta_2[H^+]^2 + \beta_3[H^+]^3 + \beta_4[H^+]^4) / T^0_L - \bar{n}_L \cdot T^0_M$$

formülü kullanılmıştır. Burada Tablo1'den alınan β değerleri kullanılarak ($\beta_1 = K_1, \beta_2 = K_1 \cdot K_2, \beta_3 = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3, \beta_4 = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \cdot K_4$) pL değerleri hesaplanmıştır.

Her bir metal için hesaplanan \bar{n}_L ve pL değerleri yardımı ile [$\bar{n}_L = f(pL)$] grafikleri çizilmiştir (Şekil 6 ve 7). $\bar{n}_L = 0,5$ değerlerine karşılık gelen pL değerlerinden kompleksin kararlılık sabiti log K bulunmuştur (Tablo2).



Şekil 6: Al³⁺ - Flavokermesik asit kompleksi için $\bar{n}_L = f(pL)$ eğrisi



Şekil 7: Sn²⁺ - Flavokermesik asit kompleksi için $\bar{n}_L = f(pL)$ eğrisi

Tablo 2: Flavokermesik asit'in metal iyonlarıyla oluşturduğu komplekslerin oluşum sabiti değerleri.

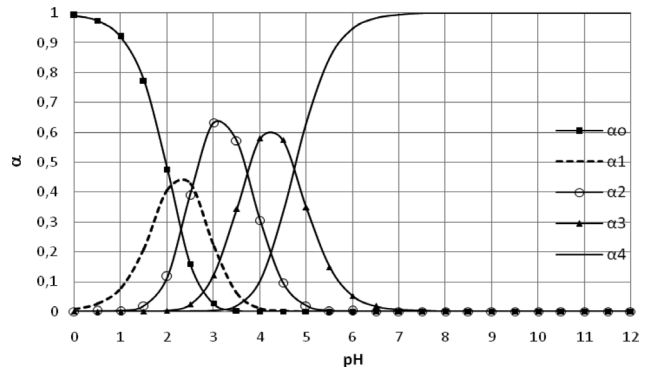
Ligand-Metal Kompleksi	logK ₁	K
FK-alüminyum(III) kompleksi	7.77	5.88x10 ⁷
FK-kalay(II) kompleksi	7.84	6.92x10 ⁷

Koşullu oluşum sabitleri ligand ve metallerin mol fraksiyonlarından (α) hesaplanabilmektedir.

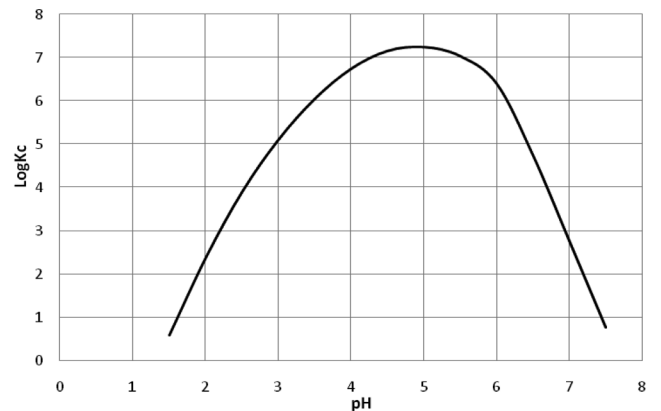
Yüksek pH'larda flavokermesik asit ile kompleks oluşumunu etkileyen farklı tür ligand olarak yalnız OH⁻ iyonu bulunduğu için metalin hidroksi kompleksi oluşturması göz önüne alınarak α_M 'nin hesaplanmasında metalin hidroksi kompleksinin oluşum sabiti kullanılmıştır.

[$\bar{n}_L = f(pL)$] grafiğinden bulunan kompleksin kararlılık sabiti (K) değeri, α_M ve flavokermesik asitin değişik pH'larda türeyen farklı türlerin bağıl bollukları grafiğinden (Şekil 8) kompleks oluşturan tür olan α_4 değerleri yardımı ile $K^2 = K_1 \cdot \alpha_M \cdot \alpha_4$ formülünden koşullu oluşum sabitinin pH'a bağlı olarak değişimi hesaplanmıştır (Tablo 3) ve grafiği çizilmiştir (Şekil 9 ve 10).

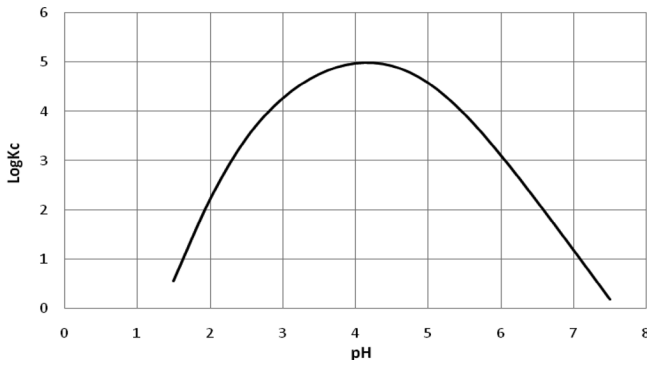
$$(\alpha_0 = H_4A, \alpha_1 = H_3A^-, \alpha_2 = H_2A^{2-}, \alpha_3 = HA^{3-}, \alpha_4 = A^{4-})$$



Şekil 8: Flavokermesik asit'ten türeyen türlerin bağıl bollukları



Şekil 9: Al³⁺ - Flavokermesik asit kompleksi için koşullu oluşum eğrisi



Şekil 10: Sn^{2+} - Flavokermesik asit kompleksi için koşullu oluşum eğrisi

Tablo 3: Flavokermesik asit'in metal iyonlarıyla oluşturduğu komplekslerin koşullu oluşum sabiti değerleri.

Ligand-Metal Kompleksi	logK _c	pH aralığı
FK-alüminyum(III) kompleksi	7.25	4.5-5.5
FK-kalay(II) kompleksi	4.97	3.5-4.5

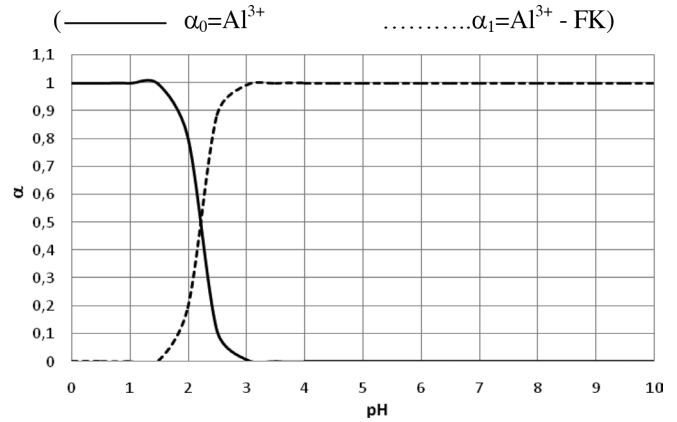
3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmada öncelikle, ligandların protonlanma sabitleri ile bunlara bağlı olarak asit sabitleri Calvin-Bjerrum ve Irving-rossotti yöntemleri kullanılarak hesaplanmıştır. Protonlanma sabitleri ile bunlara bağlı olarak asit sabitleri Tablo 1'de verilmiştir. Aynı yöntem kullanılarak flavokermesik asit'in metallerle oluşturduğu komplekslerin kararlılık sabitlerinin tayini yapılmıştır.

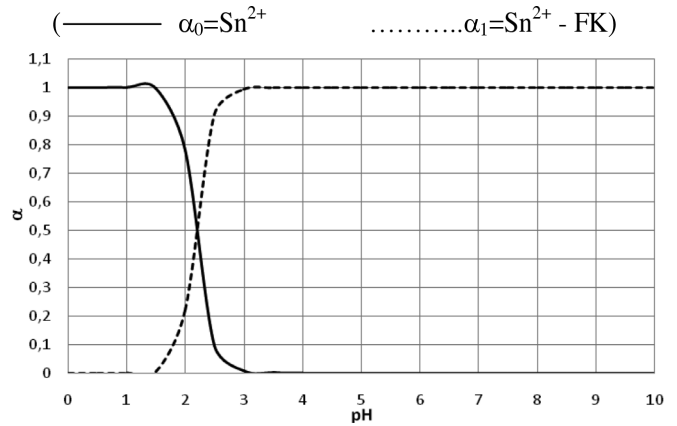
Potansiyometrik titrasyon eğrileri incelendiğinde (FK + HClO_4) titrasyon eğrileri ile (FK + HClO_4 + metal) titrasyon eğrileri arasında belirgin bir biçimde ayrılmanın olduğu yani bir kompleksleşmenin ortaya çıktığını göstermektedir (Şekil 4 ve 5).

Oluşan komplekslerin koşullu oluşum sabitleri pH'a bağlı olarak hesaplanarak bunların pH'a karşı değişimlerinin grafikleri çizilmiştir (Şekil 9 ve 10). Koşullu oluşum sabitlerinin hesaplanması sırasında ortamda bulunan flavokermesik asit ile yarışan tek ligandın OH^- iyonu olduğu varsayılmıştır.

Al^{3+} -FK kompleksinin incelenmesinden, koşullu oluşum sabitinin $\text{pH}=4.5-5.5$ arasında $\log K_c=7.25$ maksimum değere ulaştığı (Şekil 9), Sn^{2+} -FK kompleksinin incelenmesinden koşullu oluşum sabitinin $\text{pH}=3.5-4.5$ arasında $\log K_c=4.97$ maksimum değere ulaştığı (Şekil 10) görülmektedir. Komplekslerin pH'a bağlı bağlı bolluk eğrisi (Şekil 11 ve 12) incelendiğinde ML türünün ortaya çıktığı pH bölgesinin kompleksin koşullu oluşum eğrisi (Şekil 9 ve 10) ile çakıştığı görülmektedir. Fakat kompleksler için denge ortamında bir miktar ikinci tür komplekslerin ve ligandın var olduğu görülmektedir.



Şekil 11: Al^{3+} - Flavokermesik asit kompleksinin pH'a bağlı bolluk eğrisi



Şekil 12: Sn^{2+} - Flavokermesik asit kompleksinin pH'a bağlı bolluk eğrisi

Hesaplanan koşullu oluşum sabitleri, ligand-metal komplekslerinin oluşum sabitlerinden daha düşük bulunmuştur. Deneysel sonuçla hesaplanan koşullu oluşum sabitleri arasındaki sapmaların ortamda ikinci bir ligand olarak bulunan OH^- iyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ligand metal kompleksi oluşturması sırasında, metale en fazla asidik olan yani en kolay H^+ iyonu verdiği gruptan bağlanır. Titrasyon sonuçlarından ligand-metal komplekslerinin 1/1 oranında olduğu sonucu çıkarılır.

Çalışmada elde edilen sonuçların son yıllarda önemi gittikçe artmakta olan doğal boyarmaddelerin tekstil, gıda, ilaç ve kozmetik gibi çok çeşitli alanlarda kullanımı ile ilgili yapılacak olan çalışmalara, boyanmış tarihi tekstil ve sanat objelerinin korunmasına ve restorasyonuna büyük ölçüde katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

4. TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SAG-C-DRP-120309-0030 nolu proje ile desteklenmiştir.

The Determination of The Acidity Constants and The Stability Constants of Flavokermesic Acid Complexes with Tin(II) and Aluminium(III) Ions by Potentiometric Method

SUMMARY

Natural dyestuffs has been revived because of the fact that many of the synthetic dyestuffs are carcinogenic, toxic and their waste leads to environmental pollution. Thus, their usage has accelerated in the field of food, medicine, cosmetics and

textile dyeing industry. Natural dyestuffs are soluble organic compounds obtained from plants, animals, lichens and fungi. The insect that have been and are still used today as sources of red textiles dyes, paint, pigment, food and pharmaceutical colorants are all classified in the super family *Coccoidea* of the class *Homoptera*. Flavokermesic acid (laccic acid D) is a natural dyestuff obtained from this insect. In this study, the protonation constants of flavokermesic acid that acquired from kermes insect and the stability constants of complexes with metal ions were determined by potentiometric method.

Keywords: Dyestuff, flavokermesic acid, Kermes insect, potentiometri, acidity constant

KAYNAKLAR

1. Wouters J, Rosario-Chirinos N. Dye analysis of pre-columbian peruvian textiles with high-performance liquid chromatography and diode-array detection. *JAIC* 1992;31: 237-55.
2. Cardon D. Natural dyes sources, tradition, technology and science. Archetype Publications Ltd., London. 2007, pp.607-710.
3. Dölen E. Tekstil tarihi-dünyada ve Türkiyede tekstil teknolojisinin ve sanayiinin tarihsel gelişimi. M.Ü. Teknik Eğitim Fakültesi Yayınları No: 92/1, İstanbul. 1992, pp.457-537.
4. McCallum RI. Section of occupational medicine. *Proc Roy Soc Med* 1977;70: 756-63.
5. Schweppe H, Roosen-Runge H. Carmine-Cochineal carmine and Kermes carmine. In: artists' pigments: a handbook of their history and characteristics, vol:1. Editor: RL Feller, National Gallery of Art, Washington. 1987, pp.255-283.
6. Raisanen R. Anthraquinones from the fungus *dermocybe sanguinea* as textile dyes. University of Helsinki, Doctoral dissertation, Finland. 2002.
7. Van der Zee FP. Anaerobic azo dye reduction. Wageningen University, Doctoral dissertation, The Netherlands. 2002.
8. Ryberg K. Contact allergy to textile dyes - clinical and chemical studies on disperse dyes. Lund University Faculty of Medicine, Doctoral dissertation, Sweden. 2009.
9. Kamel MM, El Zawahry MM, Ahmed NSE, Abdelghaffar F. Ultrasonic dyeing of cationized cotton fabric with natural dye. Part 1: Cationization of cotton using Solfix E. *Ultrason Sonochem* 2009;16: 243-9.
10. Pegg DA, Hulme AN, McNab H, Quye A. Towards the identification of characteristic minor components from textiles dyed with weld (*Reseda luteola* L.) and those dyed with Mexican cochineal (*Dactylopius coccus* Costa). *Microchim Acta* 2008;162: 371-80.
11. Erdogan G, Karadağ R, Dölen E. Potentiometric and spectrophotometric determination of the stability constants of Quercetin complexes with aluminium(III), and iron(II). *Rew Anal Chem* 2005;24: 247-61.
12. Erdogan G, Karadağ R. Quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) complexes with calcium(II) and magnesium(II), its potentiometric and spectrophotometric studies. *Rew Anal Chem* 2005;24: 9-23.
13. Erdogan G, Karadağ R. Potentiometric and spectrophotometric studies of the mixed-ligand complexes of Quercetin and Digallic acid with iron(II) and magnesium(II). *Rew Anal Chem* 2006;25: 257-69.
14. Şahsuvaroğlu A, Ayaz S, Dölen E, Karadağ R. Datisctetin (2',3,5,7-tetrahidroksiflavyon)'in alüminyum(III) ve demir(II) ile oluşturduğu komplekslerin kararlılık sabitlerinin potansiyometrik ve spektrofotometrik olarak tayini. 25. Ulusal Kimya Kongresi 2011.
15. Irving HM, Rossoti HS. The calculation of formation curves of metal complexes from pH titration curves in mixed solvents. *J Chem Soc* 1953;3: 3397-3405.
16. Irving HM, Rossoti HS. The calculation of formation curves of metal complexes from pH titration curves in mixed solvent, *J Chem Soc* 1954;2904-10.
17. Bjerrum J. Metal Ammine formation in aqueous solution. Haase P. and Son, Copenhagen. 1941.
18. Pekin M. 3,3'-Diaminobenzidin'in metal komplekslerinin oluşum koşullarının ve kararlılıklarının potansiyometrik yöntem ile incelenmesi. M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul. 1987.