

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**CIVA(II) İYONUNA SEÇİCİ, MERKAPTOPROPİYONİK ASİT İLE
TÜREVLENDİRİLMİŞ KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI YENİ BİR
TURN-ON FLORESAN SENSÖRÜN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Vuslat BASAN

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

HAZİRAN 2024

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**CIVA(II) İYONUNA SEÇİCİ, MERKAPTOPROPİYONİK ASİT İLE
TÜREVLENDİRİLMİŞ KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI YENİ BİR
TURN-ON FLORESAN SENSÖRÜN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Vuslat BASAN
(509211276)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail YILMAZ

HAZİRAN 2024

ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ★ GRADUATE SCHOOL

**DEVELOPMENT OF A NEW-MERCURY (II) ION SELECTIVE,
CHROMENYLLIUM-CYANINE BASED TURN-ON FLUORESCENT SENSOR
DERIVATIVED WITH MERCAPTO PROPIONIC ACID**

M.Sc. THESIS

**Vuslat BASAN
(509211276)**

Department of Chemistry

Chemistry Programme

Thesis Advisor: Prof. Dr. İsmail YILMAZ

JUNE 2024

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509211276 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Vuslat BASAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "CIVA(II) İYONUNA SEÇİCİ, MERKAPTOPROPİYONİK ASİT İLE TÜREVLENDİRİLMİŞ KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI YENİ BİR TURN-ON FLORESAN SENSÖRÜN GELİŞTİRİLMESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. İsmail YILMAZ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Aydın TAVMAN
İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa

Teslim Tarihi : 20 Mayıs 2024
Savunma Tarihi : 13 Haziran 2024





Aileme ve arkadaşlarıma,



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi, birikim ve desteklerini üzerimizden hiç eksik etmeyen, çalışkanlığı ve etik değerlere sınıksız bağlı oluşuyla, öğrencilerinin de rotasını belirleyen ve her zaman yanlarında olan saygıdeğer hocam, Prof. Dr. İsmail YILMAZ'a;

Her anlamda desteklerini ve emeklerini hiç esirgemeyen, bana inanmaktan vazgeçmeyen ve hep yanımda olan çok kıymetli babam Zeynel BASAN ve annem Şükran BASAN'a; ablası olmaktan gurur duyduğum birlikte vakit geçirmekten çok keyif aldığım canım kardeşim Muhammed Enes BASAN'a;

Bana kattığı bilgi birikiminin yanı sıra bir eğitimcinin nasıl olması gerektiğini yaşayarak deneyimleten çok kıymetli kimya öğretmenim Nuray KARATAŞ'a;

Her türlü ihtiyacımda ellerinden gelenin fazlasıyla tüm süreçte yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen ve problemlerimi kendilerinin gibi sahiplenip çözüm sunan çok değerli Yusuf ALÇAY ve Emre ÖZDEMİR'e; gerçek bir aile sıcaklığında çalışmalarımı tamamladığım, emeklerini esirgemeyerek bilgi paylaşımından kaçınmayan çalışma arkadaşlarım Hülya ARIBUĞA, Dila ÇETİN, Utku ERTUĞRAL, Elif YILMAZ, Seçil KIRLANGIÇ ATAŞEN, Mehmet KAPLAN, Muhammed İkbâl GÜNDÜZ'e ve parçası olmaktan onur duyduğum tüm Yılmaz LAB ekibine;

Bu çalışma, İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından TGA-2023-43934 Numaralı Yetkin Alan Araştırma Projesi ile desteklenmiştir. Projeye verdiği destekten ötürü İTÜ BAP Birimine;

Yüksek lisans eğitimim boyunca BİDEB 2210/A kapsamında bursiyeri olduğum Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a;

Bugünkü ben olmamda katkısı olan, hayatıma dokunan ve emeği geçen tüm sevdiklerime sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Haziran 2024

Vuslat BASAN
(Kimyager)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SEMBOLLER	xv
ÇİZELGE LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxiii
SUMMARY	xxvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Kemosensör	5
2.2 Lüminesans	5
2.3 Floresans Spektroskopisi	6
2.3.1 Floresans Spektroskopisi Prensipleri	6
2.3.2 Floresan bileşikler	8
2.3.3 Floresans spektroskopisi prensibi uygulamaları	8
2.4 Rodaminler	9
2.4.1 Rodaminlerin tarihçesi ve bazı türevleri	9
2.4.2 Rodaminlerin elektronik ve spektral özellikleri	10
2.4.3 Rodamin türevlerinin halka açma kapama mekanizması	11
2.5 Siyaninler	12
2.5.1 Siyaninlerin tarihçesi ve bazı türevleri	12
2.5.2 Siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri	14
2.6 Kromenilyum Siyaninler	15
2.6.1 Kromenilyum siyaninlerin tarihçesi ve bazı türevleri	15
2.6.2 Kromenilyum siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri	15
2.6.3 Kromenilyum siyaninlerin ile yapılan bazı kemosensör çalışmaları	18
2.7 Cıva (Hg)	22
2.7.1 Cıva (Hg^{2+}) tespit mekanizmaları ve bazı cıva (Hg^{2+}) kemosensörleri	24
3. DENEYSEL KISIM	27
3.1 Kimyasallar, Materyaller ve Cihazlar	27
3.1.1 Kimyasallar ve materyaller	27
3.1.2 Cihazlar	27
3.2 Merkaptopropiyonik Asit ile Türevlendirilmiş Kromenilyum-Siyanin Tabanlı Floresan Sensörün (NIR8) Sentezi	28
3.2.1 CS ₂ sentezi	28
3.2.2 3-Merkaptopropan hidrazitin sentezi	28
3.2.3 Ligand (NIR8) sentezi	32
3.3 Ölçüm Metodu Optimizasyonu	35
4. SONUÇ VE YORUMLAR	39

4.1 Sensör Bileşimi NIR8'in Karakterizasyonu	39
4.2 NIR8'in spektroskopik özellikleri.....	39
4.3 pH Çalışması	41
4.4 Tepki Süresi.....	41
4.5 Seçicilik ve Girişim	43
4.6 Doğrusal Aralık ve Tespit Limiti	46
4.7 Gerçek Örnek Çalışması.....	50
4.8 Akıllı Telefonla Kalibrasyon Eğrisini Çizme ve Gerçek Örneklerde Hg ²⁺ Katyonunu Tespit Etme	50
4.9 NIR8'in Hg ²⁺ ile reaksiyon mekanizması	56
5. SONUÇ	59
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	67



KISALTMALAR

DCM	: Diklorometan
DMF	: Dimetil formamit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
EtOH	: Etanol
FT-IR	: Fourier-Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopi
HEPES	: 2-[4-(2-hidroksietil)piperazin-1-il]etansülfonik asit
HRMS	: Yüksek Çözünürlüklü Moleküler Spektroskopisi
HOMO	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital
LOD	: Tespit limiti
LUMO	: En Düşük Boş Moleküler Orbital
MeOH	: Metanol
NIR	: Yakın Kızılötesi
NIR8	: Merkaptopropiyonik asit ile türevlendirilmiş kromenilyum-siyanin tabanlı yeni bir turn-on floresan sensör
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
RSD	: Bağlı Standart Sapma
S	: Eğim
SS	: Standart Sapma
UV-Gör	: Ultraviyole Görünür Işık Spektroskopisi
XRD	: X-Işını Kırınım Yöntemi



SEMBOLLER

a.u.	: Atomik birim
°C	: Santigrat derece
dk	: Dakika
g	: Gram
L	: Litre
M	: Molar
mM	: Milimolar
m³	: Metre küp
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir
ppb	: Milyarda bir
s	: Saniye



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

- Çizelge 4.1 :** DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu ortamda . **NIR8** ($2,0 \times 10^{-5}$ M) sensörü kullanılarak, içme, musluk ve göl suyunda değişen miktarlarda Hg²⁺ ile ölçümleri sonucunda geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri a) UV-Gör ve b) floresan; Farklı gerçek su örneklerinde Hg²⁺ tespiti c) UV-Gör ve d) floresan sonuçları..... **51**
- Çizelge 4.1 (devam):** DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu ortamda . **NIR8** ($2,0 \times 10^{-5}$ M) sensörü kullanılarak, içme, musluk ve göl suyunda değişen miktarlarda Hg²⁺ ile ölçümleri sonucunda geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri a) UV-Gör ve b) floresan; Farklı gerçek su örneklerinde Hg²⁺ tespiti c) UV-Gör ve d) floresan sonuçları. **52**
- Çizelge 4.2 :** DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7.4) tamponlu ortamda **NIR8** (2.0×10^{-5} M) sensörü kullanılarak yapılan akıllı telefon ölçümü sonucunda a) musluk, göl ve b) çeşitli içme sularında değişen miktarlarda Hg²⁺ ile geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri..... **54**



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : a) kemosensörlerin, b) kolorimetrik, c) turn-on florometrik genel ve d) turn-off florometrik sensörlerin genel algılama mekanizması.	6
Şekil 2.2 : Perrin-Jablonski diyagramının şematik gösterimi.	7
Şekil 2.3 : Çeşitli florofor grupların kimyasal yapıları.	8
Şekil 2.4 : İlk rodamin türevinin sentez şeması.	9
Şekil 2.5 : Rodaminlerin genel yapısı.	9
Şekil 2.6 : Yaygın olarak bilinen Rodamin B, rodamin 6G ve rodamin 123 moleküllerinin yapıları.	10
Şekil 2.7 : Rodamin 101'in katyonik, anyonik ve lakton formunun denge hali ve rodamin B'nin asidik ile bazik koşullardaki formları.	11
Şekil 2.8 : Rodamin türevinin analit varlığında spirolaktam halka açılması.	12
Şekil 2.9 : İlk sentezlenen siyanin molekülünün konjugasyon yapıları.	12
Şekil 2.10 : a) Siyanin moleküllerinin genel yapısı b) Yaygın siyanin moleküllerinin yapısı.	13
Şekil 2.11 : Bazı siyanin moleküllerinin yapısı.	14
Şekil 2.12 : İlk CS NIR molekülü sentezi şeması. (A) klasik rodamin ve rodamin amid türevlerinin spirosiklizasyonu. (B) merosiyanin boya A'nın yapısı ve floresan emisyon spektrumu (CH ₃ OH içinde). (C) yeni changsha (CS) ve changsha amid türevlerinin spirosiklizasyonu	16
Şekil 2.13 : Klasik rodamin boyaları ile yeni CS NIR boyalarının karşılaştırılması. Üst kısım: Klasik rodamin boyalarının kimyasal yapıları (rodaminler B, 6G, 101). Alt kısım: Yeni tasarlanan CS1-6 NIR boyalarının kimyasal yapıları.	17
Şekil 2.14 : a) Bazı kromenilyum-siyanin türevi bileşiklerini kimyasal yapısı ve bu bileşiklerin b) UV-Gör ve c) floresans spektrumları.	18
Şekil 2.15 : CSME ve Hg ²⁺ arasındaki reaksiyon için önerilen mekanizma.	19
Şekil 2.16 : Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörün Cu ⁺ /Cu ²⁺ oksidasyonunun neden olduğu hipoklorit ile bakır bağlama mekanizmasının önerilen spirosiklik halka açılma reaksiyonu.	20
Şekil 2.17 : Kromenilyum-siyanin tabanlı RHCC sensörün A549 hücrelerinin görüntüleri, RHCC ve Fe ³⁺ 'nin algılama mekanizması, RHCC'nin Fe ³⁺ iyonu ile absorpsiyon spektrumu ve zebra balığının floresans görüntüleri.	21
Şekil 2.18 : Kromenilyum-siyanin tabanlı sensörün titrasyon grafiği, Hg ²⁺ varlığındaki bağlanma mekanizması ve canlı hücre görüntüsü.	21
Şekil 2.19 : Rodamin 6G tabanlı 'turn on' Hg ²⁺ seçici kemosensör.	24
Şekil 2.20 : Hg ²⁺ /EDTA ve UV/Vis ışık uyaranları tarafından indüklenen 10'nun çift kontrollü floresan anahtarlama davranışı.	25
Şekil 2.21 : BODIPY tabanlı ICT mekanizmalı orantısız yöntemli Hg ²⁺ seçici sensör.	26

Şekil 2.22 : EPA kemosensörünün yapısı, Hg^{2+} ile olan reaksiyon sonucu ve Hg^{2+} varlığındaki spektral değişimi.	26
Şekil 3.1 : 3-dietilaminofenol ve ftalik anhidritten başlayan CS ₂ 'nin sentetik mekanizması. a) Toluen b) i. Sikloheksanon, H ₂ SO ₄ ii. HClO ₄ c) Fischer Aldehit, asetik anhidrit.	28
Şekil 3.2 : 3-Merkaptopropan hidrazitin 3-Merkaptopropiyonik asitten başlayan sentetik mekanizması. a) i.MeOH, ii.p-TSOH b) i.MeOH, ii. NH ₂ NH ₂	29
Şekil 3.3 : Metil 3-merkaptopropiyonatin ¹ H-NMR spektrumu.	29
Şekil 3.4 : Metil 3-merkaptopropiyonatin ¹³ C-NMR spektrumu.	30
Şekil 3.5 : Metil 3-merkaptopropiyonatin FT-IR spektrumu.	30
Şekil 3.6 : 3-merkaptopropan hidrazitin ¹ H-NMR spektrumu.	31
Şekil 3.7 : 3-merkaptopropan hidrazitin ¹³ C-NMR spektrumu.	31
Şekil 3.8 : 3-merkaptopropan hidrazitin FT-IR spektrumu.	32
Şekil 3.9 : CS ₂ 'den başlayarak NIR8 sentezi.	33
Şekil 3.10 : NIR8 'in ¹ H-NMR spektrumu.	33
Şekil 3.11 : NIR8 'in ¹³ C-NMR spektrumu.	34
Şekil 3.12 : NIR8 'in FT-IR spektrumu.	34
Şekil 3.13 : NIR8 'in HRMS spektrumu.	35
Şekil 3.14 : DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığında uygun NIR8 konsantrasyonunun belirlenmesi için a) UV-Gör ve b) Floresans ölçümleri.	36
Şekil 3.15 : NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O farklı oranlarının tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığında çözücü-su oranlarının belirlenmesi için a) UV-Gör ve b) Floresans ölçümleri.	36
Şekil 3.16 : NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (1:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığındaki a) UV-Gör ve b) Floresan, DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığındaki c) UV-Gör ve d) Floresan, DMF:H ₂ O (9:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığındaki e) UV-Gör ve f) Floresan ölçümleri.	37
Şekil 3.17 : NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığındaki 600-700 nm aralığında uyarma dalga boyunun belirlenmesi.	38
Şekil 4.1 : NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığında a) UV-Gör ve b) Floresans spektrumları.	40
Şekil 4.2 : NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde farklı pH değerlerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} yokluğunda ve varlığında a) absorbans ve b) floresan yanıtı.	42
Şekil 4.3 : NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu ortamdaki NIR8 ve Hg^{2+} arasındaki reaksiyonun tepki süresini belirlemek için 5,0 ekiv. Hg^{2+} ilavesinden sonraki 5 dakika boyunca alınmış şiddet ölçümleri.	43
Şekil 4.4 : DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide 5,0 ekiv. Hg^{2+} veya diğer metal katyonları varlığında NIR8 'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) a) absorpsiyon değişiklikleri ve b) UV-Gör spektrumları ve renkli çözeltileri; NIR8 çözeltisinin ve metal katyonları eklenmiş NIR8 çözeltisinin c) floresan şiddeti değişiklikleri ve d) floresan spektrumları.	45

Şekil 4.5 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltideki 5,0 eş değer Hg ²⁺ varlığında 5,0 eş değer çeşitli metal katyonları içeren a) absorpsiyon ve b) floresan şiddetlerindeki değişime ait bar grafikleri.	47
Şekil 4.6 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözelti içerisindeki a) artan Hg ²⁺ konsantrasyonuna karşı absorpsiyon spektrumu, b) İki dalga boyunun (725 nm/380 nm) karekök oranının Hg ²⁺ konsantrasyonuna karşı grafiği, c) artan Hg ²⁺ konsantrasyonuna karşı floresan spektrumu ve d) Hg ²⁺ konsantrasyonuna karşı 755 nm'deki floresan şiddeti (λ_{ex} : 670 nm).	49
Şekil 4.7 : Akıllı telefon tabanlı RGB uygulaması kullanılarak elde edilen G/B değerindeki değişime dayanan Hg ²⁺ konsantrasyonu için doğrusal eğri. Kalibrasyon aralığında Hg ²⁺ konsantrasyonu arttıkça DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) kolorimetrik değişimi.	53
Şekil 4.8 : NIR8 - Hg ²⁺ için, DMF:H ₂ O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) Job's grafiği.	56
Şekil 4.9 : NIR8 ile Hg ²⁺ reaksiyonundan elde edilen ürünün HRMS spektrumu... ..	57
Şekil 4.10 : NIR8'in HRMS spektrumu.	58
Şekil 4.11 : NIR8 ile Hg ²⁺ reaksiyonundan elde edilen ürünün IR spektrumu.	58



CIVA (II) İYONUNA SEÇİCİ MERKAPTOPROPİYONİK ASİT İLE TÜREVLENDİRİLMİŞ KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI YENİ BİR TURN-ON FLORESAN SENSÖRÜN GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Hg^{2+} için floresan bazlı sensörler seçicilikleri, hassasiyetleri, biyouyumlulukları ve tıp alanındaki uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmesine rağmen, bazı sensörler zayıf seçicilik ve hassasiyetin yanı sıra girişim, yavaş yanıt, suda düşük çözünürlük ve kısa emisyon dalga boyunda çalışma gibi bazı dezavantajlar göstermektedir. Ayrıca, Hg^{2+} iyonuna karşı seçici olduğu bildirilen sensörlerin çoğu görünür bölgede (400-650 nm) emisyon ve absorpsiyon göstermektedir.

Yakın kızılötesi bölgede çalışan kemosensör platformlarından biri olan kromenilyum-siyanın boyaları, son yıllarda güçlü floresan özellikleriyle dikkat çekmektedir. Yakın kızılötesi bölgede verdiği absorpsiyon ve emisyonundan dolayı, derin doku penetrasyonu, düşük fotohasarı ve ofloresan arka plan gürültüsünden uzak olması nedenleriyle, özellikle hücre içi çalışmalarda hassas analizi mümkün kılar. Kromenilyum siyanin molekülleri birçok yönden rodaminlerden üstündür. Bunlardan biri ve en önemlisi, rodaminler genellikle görünür bölgede (500-600 nm) absorpsiyon ve emisyon gösterirken, kromenilyum siyanin molekülleri NIR (yakın kızılötesi) bölgesinde (>700 nm) hem absorpsiyon hem de emisyon gösterir. Bu nedenle, geleneksel rodamin boyalarına göre daha büyük absorpsiyon uzatma katsayıları, yüksek floresan kuantum verimlilikleri ve yüksek parlaklık gibi üstün özelliklere sahip olabilirler. Bir diğeri, kromenilyum siyanin molekülleri, karboksilik asit tarafından kontrol edilen floresans açma-kapama mekanizmasına sahipken, rodaminlerde benzer bir mekanizma bulunmayabilir. Özetle, kromenilyum siyanin molekülleri, canlı hücrelerde floresan görüntüleme uygulamaları için potansiyel olarak daha uygun olabilirken, rodaminler genellikle diğer uygulamalarda kullanılır. Bu farklar, kromenilyum siyanin moleküllerinin biyolojik görüntüleme alanında rodaminlere göre avantajlı olabileceğini göstermektedir. Rodamin boyalarla benzer spiro-laktam halka açılma ve kapanma mekanizmasına sahip olan kromenilyum-siyanın boyaları türevleri uygun koşullarda halka kapalı formda iken katyon, anyon gibi bir analit varlığında halka yapısı kırılıp tüm molekül boyunca uzun dalga boylu emisyonu sahip olmasını sağlayan konjugasyon artışı meydana gelir. Bu modifikasyon, tüm molekül boyunca uzun dalga boylu emisyonu neden olur. Buna ek olarak, bir analit varlığında, rodamin ve kromenilyum siyanin bazlı sensörlerin halka açma ve kapama mekanizması benzer şekilde çalışmasına rağmen, rodamin boyaları görünür bölgede çalışır ve bu da onları biyolojik uygulama için çok kullanışlı hale getirmez.

Cıva (Hg), ilaç sentezi ve elektronik ürünlerin üretimi, beyazlatıcı kozmetikler ve diş amalgamı dahil olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmasına rağmen, insan sağlığına ve çevreye ciddi zararlar veren toksik bir metaldir. Yeryüzünde doğal olarak bulunmasının yanı sıra, altın madenciliği, petrol rafinerileri, termik enerji üretimi, su arıtma ve atık yakma tesisleri gibi endüstriyel faaliyetler de cıva kirliliğine ve birikimine neden olarak çevre için ciddi bir tehdit oluşturabilir ve toprağa, suya ve biyolojik çeşitliliğe zarar verebilir. Cıvanın toksisitesi maruziyetin şiddetine ve cıva formuna (organik, inorganik ve metalik) bağlı olarak değişebilir. Cıvanın organik formları inorganik cıva tuzlarından çok daha toksiktir çünkü ppm seviyelerinde bile hücre zarına kolayca nüfuz edebilir, kan-beyin bariyerini geçebilir ve güçlü lipid

çözünürlükleri nedeniyle doğrudan olumsuz sonuçlara neden olabilirler. Ancak inorganik cıva kolaylıkla daha zehirli olan organik cıvaya dönüşebilir. İnorganik cıvanın dönüşümü ile oluşan organik cıvanın iyi bilinen bir formu olan metil cıva, 1950'lerde Japonya'da bir su hastalığı salgınına neden olmuştur. Cıva, kaynağı ne olursa olsun tatlı su ve deniz ekosistemlerine girdikçe besin zinciri boyunca birikir ve Hg^{2+} içeren endüstriyel atıklar nedeniyle karasal ekosistemlerdeki mahsuller boyunca birikir. Besin zincirinin en tepesinde yer alan insanlar en çok zarar görmektedir, bu nedenle kontamine olmuş gıdaların tüketimi insan sağlığını ciddi şekilde etkilemektedir, Japonya'daki Minamata hastalığı ve Irak'taki salgın iyi bilinen örneklerdir. ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), ciddi toksisitesi nedeniyle içme suyunda izin verilen maksimum inorganik cıva seviyesini 2 ppb (10 nM) olarak belirlemiştir. Cıva su, toprak ve hava gibi çeşitli yollarla yayılarak biyolojik birikime neden olur ve maruziyeti insanlarda sinir sistemi ve beyin, böbrek hasarı, kanser ve üreme sorunları gibi çeşitli hastalıklara neden olabilir. Hg^{2+} katyonunun yüksek elektrofilik etkisi nedeniyle, fizyolojik süreçlerde hayati rol oynayan merkaptol, amino, karbonil ve karboksil gibi gruplara karşı yüksek bir afinite gösterir ve bu grupları içeren biyoaktif gruplarla kolaylıkla reaksiyona girmektedir. Örneğin, Hg^{2+} katyonunun *in vivo* redoks düzenleme sürecine katılması için genellikle aktif bölge görevi gören merkaptol gruplarıyla güçlü bir şekilde birleşebilir. Dahası, güçlü bir elektrofili olarak, DNA iplikçik kırılmalarına neden olur ve reaktif oksijen salınımını tetikleyerek vücutta bir bozukluğa neden olur. İnsanlara ve çevreye verdiği bu zararlar nedeniyle tespiti büyük önem taşımaktadır.

Cıva analizinde atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), X-ray floresan, indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu yöntemlerin kullanılması için eğitilmiş operatörlere ihtiyaç duyulmakta ve uzun hazırlık prosedürleri gerektirmektedir. Daha da önemlisi bu yöntemler anlık/saha ölçümleri için pratik değildir. Cıva tayini için klasik yöntemlerde karşılaşılan bu eksiklikler yeni geliştirilen kemosenörlerle dayalı spektrofotometrik yöntemlerin geliştirilmesiyle aşılmıştır. Özellikle bu sensörlerin cıvayı seçici, hassas, hızlı şekilde tespit edebilmesi ve anlık/saha ölçümleri için kullanışlı olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, merkaptopropiyonik asit ile türetilen yakın kızılötesi bölgede çalışan kromenilyum-siyanın tabanlı bir kemosenör (**NIR8**) sentezlenmiş ve FT-IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve HRMS yöntemleri ile başarılı bir şekilde karakterize edilmiştir. Hg^{2+} katyonuna karşı yüksek seçiciliğe sahip olan sensörün tespit limiti UV-Gör ve floresan spektroskopisi titrasyon çalışmaları neticesinde, sensörün (**NIR8**) sırasıyla $2,01 \times 10^{-7}$ - $1,29 \times 10^{-4}$ M, $9,81 \times 10^{-5}$ - $1,52 \times 10^{-4}$ M aralığında doğrusallığı elde edilmiş ve Hg^{2+} katyonuna karşı yüksek seçiciliğe sahip olan sensörün tespit limiti bu spektroskopik yöntemler ile sırasıyla $4,93 \times 10^{-8}$ M (9,86 ppb) ve $1,13 \times 10^{-8}$ M (2,26 ppb) olarak bulunmuştur. Ayrıca, akıllı telefonla yapılan titrasyon çalışması için doğrusal aralık $2,92 \times 10^{-5}$ M - $1,16 \times 10^{-4}$ M olarak ölçülmüştür. Çeşme, musluk ve göl suyu gibi gerçek numunelerde cıva tespit analizleri UV-Gör ve floresan spektroskopisi yöntemleriyle birlikte akıllı telefon ile kolorimetrik olarak yapılmıştır. Ayrıca Job's Metodu sonuçlarına göre sensör ile Hg^{2+} arasındaki reaksiyon stokiometrisi 1:1 olarak bulunmuştur. Bağlanma reaksiyonunun analiz sonuçları sayesinde ise sensörün bir kemodozimetre olduğu anlaşılmıştır. Bir sensörün algılama yeteneklerini gösteren gerçek hayat uygulamasına sahip olması mantıklıdır. Bu bağlamda, UV Görünür ve floresan spektroskopik yöntemlerin yanı sıra, **NIR8**'in bir akıllı telefon kullanarak musluk, göl ve içme suyu gibi gerçek su örneklerinde Hg^{2+}

katyonunu yüksek geri kazanım sonuçlarıyla tespit edebilmesi, **NIR8**'in gerçek hayat örneklerinde iyi bir uygulanabilirliğe sahip olduğunun kanıtıdır. Tüm bu özelliklerin, eřitli zorlukların stesinden gelmeye olanak tanıyan tek bir sensrde birleştirilmesi, bu sensörü yetkin kılmaktadır.





DEVELOPMENT OF A NEW – MERCURY (II) ION SELECTIVE, CHROMENYLLIUM-CYANINE BASED TURN-ON FLUORESCENT SENSOR DERIVATIVED WITH MERCAPTO PROPIONIC ACID

SUMMARY

Although fluorescence-based sensors for Hg^{2+} have attracted much attention due to their selectivity, sensitivity, biocompatibility and applications in medicine, some sensors show poor selectivity and sensitivity, as well as some drawbacks such as interference, slow response, low solubility in water and operation at short emission wavelength. Moreover, most of the sensors reported that selective to Hg^{2+} ion show emission and absorption in the visible region (400-650 nm).

Chromenylidium cyanine dyes, which are a platform that have recently gained attention among chemosensors operating in the near-infrared region, have strong fluorescence properties as well as deep tissue penetration due to absorption and emission in the near-infrared region, low photo damage and being away from autofluorescent background noise, especially in intracellular studies. These features of chromenylidium cyanine allow precise analysis. Chromenylidium cyanine molecules are superior to rhodamines in many ways. One of them, and the most important one, is that while rhodamines generally show absorption and emission in the visible region (500-600 nm), chromenylidium cyanine molecules show both absorption and emission in the NIR (near infrared) region (>700 nm). Thus, they may have superior properties over conventional rhodamine dyes, such as larger absorption extension coefficients, high fluorescence quantum efficiencies and high brightness. Another is that molecules have a fluorescence on-off mechanism controlled by carboxylic acid, whereas rhodamines may not have a similar mechanism. In summary, chromenylidium cyanine molecules may potentially be more suitable for fluorescence imaging applications in living cells, while rhodamines are often used in other applications. These differences suggest that chromenylidium cyanine molecules may have an advantage over rhodamines in the field of biological imaging. Having the same spirolactam ring opening and closing mechanism as rhodamine dyes, these chemosensors are in ring-closed form when synthesized. In the presence of an analyte such as a cation or anion, the ring structure is broken and conjugation increase occurs, which ensures long wavelength emission caused by long pi bond conjugation throughout the entire molecule. This modification results in long-wavelength emission across the entire molecule. In addition, in the presence of an analyte, the ring opening and closing mechanism of rhodamine and chromenylidium cyanine-based sensors work similarly, whereas rhodamine dyes operate in the visible region, making them not very useful for biological application.

Although mercury (Hg) is widely used in many fields, including pharmaceutical synthesis and the manufacture of electronic products, whitening cosmetics and dental amalgam, it is a toxic metal that causes serious harm to human health and the environment. In addition to being found naturally on earth, industrial activities such as gold mining, oil refineries, thermal power generation, water treatment and waste incineration plants can also cause mercury pollution and accumulation, posing a serious threat to the environment and harming soil, water and biodiversity. The toxicity of mercury can vary depending on the severity of exposure and the form of mercury (organic, inorganic and metallic). Organic forms of mercury are much more toxic than inorganic mercury salts because, even at ppm levels, they can easily penetrate the cell

membrane, cross the blood-brain barrier and cause direct adverse consequences due to their strong lipid solubility. However, inorganic mercury can easily be converted into the more toxic organic mercury. Methylmercury, a well-known form of organic mercury formed by the transformation of inorganic mercury, was the causative agent in an outbreak of watery disease in Japan in the 1950s. Mercury accumulates along the food chain as it enters freshwater and marine ecosystems regardless of its source and is deposited along crops in terrestrial ecosystems due to industrial wastes containing Hg^{2+} . Humans at the top of the food chain suffer the most, so the consumption of contaminated food seriously affects human health, with Minamata disease in Japan and the outbreak in Iraq being well-known examples. The US Environmental Protection Agency (EPA) sets the maximum allowable level of inorganic mercury in drinking water at 2 ppb (10 nM) due to its serious toxicity. Mercury spreads in various ways such as with water, soil and air, causing bioaccumulation, and its exposure can cause various diseases in humans such as nervous system and brain, kidney damage, cancer and reproductive problems. Due to the high electrophilic effect of the Hg^{2+} cation, it shows a high affinity for groups such as mercapto, amino, carbonyl and carboxyl, which play a vital role in physiological processes, and easily reacts with bioactive groups containing these groups. For example, it can strongly associate with mercapto groups, which often serve as the active site for the Hg^{2+} cation to participate in the redox regulation process in vivo. Moreover, being a strong electrophile, it causes DNA strand breaks and triggers the release of reactive oxygen, resulting in a disorder in the body. Due to these harms to humans and the environment, its detection has great importance.

Methods such as atomic absorption spectroscopy (AAS), X-Ray fluorescence, inductively coupled plasma and mass spectrometry (ICP-MS) are used in mercury analysis. However, using these methods requires trained operators and time-consuming preparation procedures. More importantly, these methods are not practical for on-site measurements. These shortcomings encountered in classical methods for Hg^{2+} ion determination have been overcome with the development of spectrophotometric methods based on newly constructed chemosensors. In particular, these sensors are frequently preferred because they can detect Hg^{2+} ion selectively, sensitively and quickly, and are useful for on-site measurements.

In this study, a chromenylidium-cyanine based chemosensor operating in the near infrared region derived with mercapto propionic acid was synthesized and characterized successfully by FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and HRMS methods. Titration studies of UV-Vis and fluorescence spectroscopy demonstrated that the prob (**NIR8**) works properly in the range $2,01 \times 10^{-7}$ - $1,29 \times 10^{-4}$ M, $9,81 \times 10^{-5}$ - $1,52 \times 10^{-4}$ M, and limit of detection of the prob which has high selectivity towards Hg^{2+} was found with these spectroscopy methods as $4,93 \times 10^{-8}$ M (9.86 ppb) and $1,13 \times 10^{-8}$ M (2.26 ppb), respectively. Moreover, the linear range was measured as $2,92 \times 10^{-5}$ M to $1,16 \times 10^{-4}$ M for the titration study done by smartphone. In real samples such as tap, lake and drinking water, mercury detection analyzes were made colorimetrically with a smartphone, together with UV-Vis and fluorescence spectroscopy methods. In addition, according to Job's Method results, reaction stoichiometry between the prob and Hg^{2+} as 1:1. It is understood that the prop is a chemodosimeter because of the analysis results of the binding reaction. It makes sense for a sensor to have a real-life application demonstrating its detection capabilities. In this context, besides UV-Visible and fluorescence spectroscopic methods, **NIR8**'s ability to detect Hg^{2+} cation in real water samples such as tap, lake and drinking water with high recovery results

using a smartphone is proof that **NIR8** has good applicability in real life examples. It is important that all these features are combined in a single sensor that allows to overcome the various challenges that makes this sensor adequate.





1. GİRİŞ

Cıva, ilaç sentezi ve elektronik ürünlerin üretimi, beyazlatıcı kozmetikler ve diş amalgamı da dahil olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmasına rağmen, insan sağlığına ve çevreye ciddi zararları olan toksik bir metaldir [1,2]. Yeryüzünde doğal olarak bulunmasının yanı sıra, altın madenciliği, petrol rafinerileri, klor-alkali endüstrisi [3], termik enerji üretimi, su arıtma ve atık yakma tesisleri gibi endüstriyel faaliyetler, cıva kirliliğinin ve birikiminin ana kaynaklarıdır. Bu da çevre için ciddi bir tehdit oluşturmakta ve doğal olarak bozunmadığı için toprağa, suya ve biyolojik çeşitliliğe zarar vermektedir [4]. Cıva, su, toprak ve hava gibi çeşitli yollarla yayılarak biyolojik birikime neden olur ve maruziyeti insanlarda kanser, sinir ve dolaşım sistemi bozuklukları, beyin ve böbrek hasarı, üreme ve fizyolojik sorunlara neden olabilir [3,5]. Cıvanın toksisitesi maruziyetin şiddetine ve cıvanın formuna (organik, inorganik ve metalik) bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Organik cıva türleri, inorganik cıva tuzlarından çok daha toksiktir çünkü ppm seviyelerinde bile hücre zarına kolayca nüfuz edebilir, kan-beyin bariyerini geçebilir ve güçlü lipid çözünürlüğü nedeniyle doğrudan olumsuz sonuçlara yol açabilir. Ayrıca, inorganik cıva kolayca daha toksik olan organik cıvaya dönüşebilir. Organik cıvanın iyi bilinen bir formu olan ve inorganik cıvanın dönüşümü ile oluşan metilcıva, 1950'lerde Japonya'da patlak veren sulu hastalık salgınında etken olmuştur [1,3,6,7].

Hg^{2+} katyonunun yüksek elektrofilik etkisi nedeniyle, fizyolojik süreçlerde hayati rol oynayan merkaptto, amino, karbonil ve karboksil gibi gruplara karşı yüksek bir afinite gösterir ve bu grupları içeren biyoaktif gruplarla kolaylıkla reaksiyona girmektedir. Örneğin, Hg^{2+} katyonu *in vivo* redoks düzenleme sürecine katılmak için genellikle aktif bölge görevi gören merkaptto grupları ile güçlü bir şekilde birleşebilir. Ayrıca, güçlü elektrofil olması nedeniyle DNA ipliği kırılmalarına neden olur ve reaktif oksijen salgınını tetikler, bu da vücut içerisinde bir bozukluk meydana gelmesine sebep olur [4]. Bu sebeple, çevresel ve biyolojik örneklerde eser miktarda Hg^{2+} katyonunu hassas ve seçici bir şekilde belirlemek için basit, hızlı, düşük maliyetli, gerçek zamanlı ve çevrim içi izleyici analitik yöntemlerinin geliştirilmesi son derece önemlidir.

Cıva, kaynağına bakılmaksızın tatlı su ve deniz ekosistemlerine girmesi ve Hg^{2+} içeren endüstriyel atıklar nedeniyle karasal ekosistemlerde depolanması nedeniyle besin zinciri boyunca birikir. Besin zincirinin en tepesinde yer alan insan en çok zarar görmektedir, bu nedenle kontamine gıdaların tüketilmesi insan sağlığını ciddi şekilde etkilemektedir. Japonya'daki Minamata hastalığı ve Irak'taki salgın iyi bilinen örneklerdir [1]. ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), ciddi toksisitesi nedeniyle içme suyunda izin verilen maksimum inorganik cıva seviyesini 2 ppb (10 nM) olarak öngörmektedir [8].

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) [9], X-ışını floresansı, indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) [10], kızılötesi spektroskopisi (IR) [11], ve voltametri [12] gibi geleneksel yöntemler cıva analizinde kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin kullanımı eğitimli operatörler ve uzun hazırlık prosedürleri gerektirmekte, ayrıca biyolojik örnekler uygulanmasında zorluklar yaşanmaktadır. Daha da önemlisi, bu yöntemler anlık/alan ölçümleri için pratik değildir. Cıva tayini için klasik yöntemlerde karşılaşılan bu eksiklikler, yeni geliştirilen kemosensörlere dayalı spektrofotometrik yöntemler ile aşılmıştır. Özellikle bu sensörler cıvayı seçici, hassas ve hızlı bir şekilde tespit edebildikleri ve anlık/alan ölçümleri için kullanışlı oldukları için sıklıkla tercih edilmektedir [13,14].

Hg^{2+} için floresan tabanlı sensörler seçicilikleri, hassasiyetleri, biyouyumlulukları ve tıp alanındaki uygulamaları nedeniyle yoğun ilgi görmelerine rağmen, bazı sensörler zayıf seçicilik ve hassasiyet göstermesinin yanı sıra, girişim gösterme, yavaş yanıt verme, suda düşük çözünme ve kısa emisyon dalga boyunda çalışma gibi bazı kusurlara sahiptir. Ayrıca, Hg^{2+} iyonuna karşı seçici olduğu bildirilen sensörlerin çoğu görünür bölgede (400-650 nm) emisyon ve absorpsiyon göstermektedir. Kemosensör platformları arasında son zamanlarda dikkat çeken bir platform olan kromenilyum siyanin boyası, güçlü floresan özelliklerinin yanı sıra derin doku penetrasyonuna sahip olması, yakın-kızılötesi bölgede (NIR) (650-900 nm) absorpsiyon ve emisyon göstermesi, fotohasarı az olması ve düşük otofloresan arka plan gürültüsünün olması nedeniyle özellikle hücre içi çalışmalarda hassas analizi mümkün kılmaktadır. Rodamin boyaları ile benzer spirolaktam halka açma ve kapama mekanizmasına sahip olan bu kemosensörler halka kapalı formda iken, katyon veya anyon gibi bir analit varlığında, spirolaktam halka yapısının bozulmasıyla beraber konjugasyon artışı meydana gelir. Bu değişikliklerle beraber tüm molekül boyunca uzun dalga boylu

emisyona sağlar [1]. Ek olarak, bir analit varlığında, rodamin ve kromenilyum siyanin tabanlı sensörlerin halka açma ve kapama mekanizması benzer şekilde çalışırken, rodamin boyalarının görünür bölgede çalışması sebebiyle biyolojik uygulama için pek kullanışlı değildir.

Bu çalışmada, yakın kızılötesi bölgede Hg^{2+} iyonunu seçici ve hassas bir şekilde tespit etmek için yeni bir Hg^{2+} sensörü, **NIR8**, sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Kolorimetrik floresan sensör **NIR8**, Hg^{2+} katyonunu orantısız yöntemle anında tespit edebilmektedir. Hg^{2+} ile reaksiyona girdikten sonra kararlı bir ürüne dönüşen **NIR8**, spektrometrik olarak tutarlı sinyaller vermiştir. Merkaptan grubunun yapıdan ayrılarak, sensör platformunun asit formuna (CS_2) dönüştüğünü gösteren kemodozimetre özelliği, **NIR8** ile Hg^{2+} arasında bir reaksiyon gerçekleştirildikten sonra IR, NMR ve HRMS ile kanıtlanmıştır. Ayrıca, UV-Gör ve floresan spektroskopik yöntemler kullanılarak Hg^{2+} katyonunun tayini hassas, güvenilir bir şekilde ve düşük tespit limiti değerleri (sırasıyla 9,86 ve 2,26 ppb) ile gerçekleştirilmiştir. Bir sensörün tespit yeteneklerini gösteren gerçek hayat uygulamasına sahip olması önemlidir. Bu bağlamda, UV-Gör ve floresan spektroskopik yöntemlerin yanı sıra **NIR8** probunun akıllı telefon kullanılarak musluk, göl ve içme suyu gibi gerçek su örneklerinde Hg^{2+} katyonunu yüksek geri kazanım sonuçlarıyla tayin edebilmesi, **NIR8**'in gerçek hayatta iyi bir uygulanabilirliğe sahip olduğunun kanıtıdır. Bu tez çalışması kapsamında geliştirilen ve üstün sensör yeteneklerine sahip **NIR8** probu kullanılarak literatürde Hg^{2+} tayininde karşılaşılan çeşitli zorlukların üstesinden gelinmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemosensör

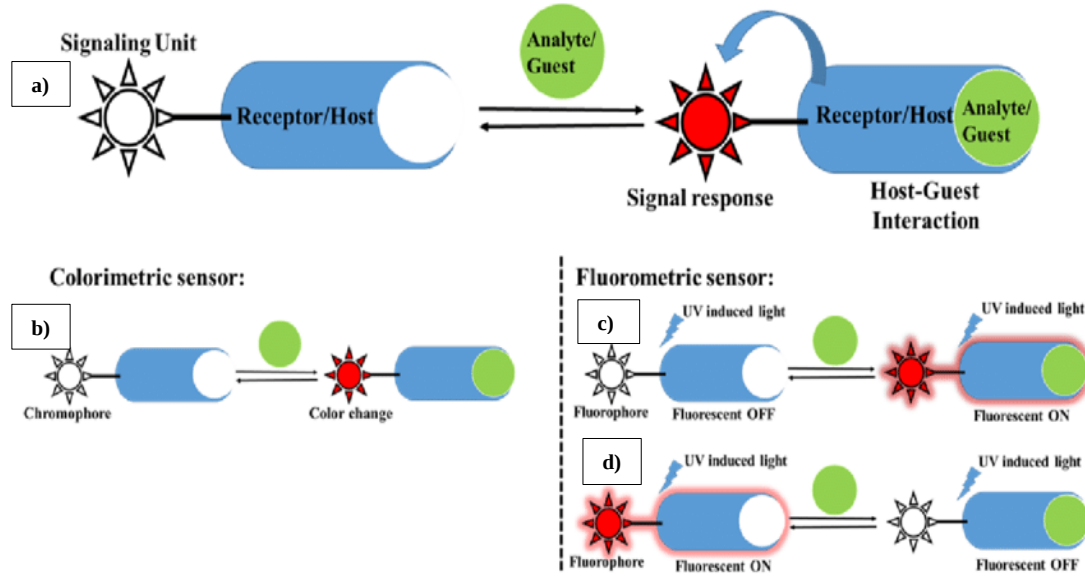
Moleküler sensör veya kemosensörler, tespit edilebilir bir değişiklik veya bir sinyal üreterek bir analitin algılanması için kullanılan organik veya inorganik kompleks moleküler yapılardır. Seçicilik, hassasiyet, geri dönüştürülebilirlik, kararlılık, düşük maliyet ve kolay uygulanabilirlik bir sensörde bulunması gereken özelliklerdendir. Katyonlar, anyonlar, toksik maddeler, patlayıcılar, farmasötik ajanlar, biyolojik maddeler yaygın analitler olup, biyoloji, fizyoloji ve çevre bilimleri gibi birçok farklı alanda yaygın olarak kullanılmaktadır [15].

Şekil 2.1’de, kemosensörlerin genel algılama mekanizması görülmektedir. Başlangıçta analit yokken herhangi bir sinyal üretimi olmazken analit varlığında kemosensörün algılaması sonucuyla sinyalde değişiklik olarak analitin tespitini mümkün kılmaktadır [Şekil 2.1 a)]. Kolorimetrik ve florometrik sensörler olarak iki şekilde de görülebilir. Analit varlığında renk değişimini gözle görebildiğimiz sensörlere kolorimetrik derken [Şekil 2.1 b)], tespit için sinyal ölçümlerini floresans spektrofotometre gibi cihazla yaptığımız sensörlere ise florometrik sensörler denir [Şekil 2.1 c) ve d)]. Bunlar da temelde ikiye ayrılır ve kapalı (turn off) ve açık (turn on) olarak adlandırılmaktadır. Şekil 2.1 c)’de analit yokken sinyal üretimi yoktur, analit varlığında ise sinyal üretimi gerçekleşmiş dolayısıyla algılanabilir hale dönerek turn on olarak çalışmıştır. Şekil 2.1 d)’de ise normalde kendisi sinyal üretebilirken analit varlığında bu sinyal sönmüş ve kapalı hale dönerek turn off olarak çalışmıştır. Böylelikle, kemosensörler sinyalde değişiklikler yaparak analitin tespitini mümkün kılmaktadır [15].

2.2 Lüminesans

Lüminesans, kimyasal bir molekül tarafından belirli bir dalga boyunda ışığın absorpsiyonunu (uyarma dalga boyu) ve daha uzun bir dalga boyunda ışığın emisyonunu (emisyon dalga boyu) içeren bir olgudur. Diğer bir deyişle elektronik

seviyelere uyarılmış fotonların emisyonudur. Çok çeşitli luminesans türleri vardır. Kemilüminesansa, bir kimyasal reaksiyonun sonucu olarak ışık emisyonu gerçekleşir.



Şekil 2.1 : a) kemosensörlerin, b) kolorimetrik, c) turn-on florometrik genel ve d) turn-off florometrik sensörlerin genel algılama mekanizması.

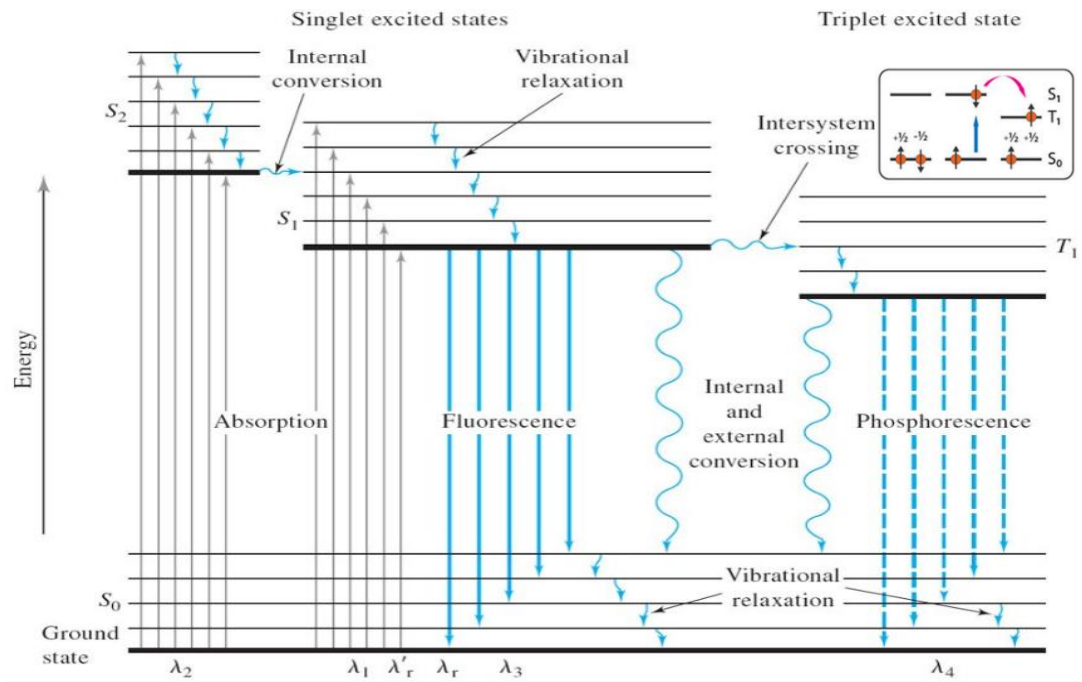
Biyolüminesans, buna örnektir. Canlı bir organizmadaki biyokimyasal reaksiyonların sonucunda gerçekleşen bir kemolüminesans türüdür. Ateş böcekleri, deniz menekşesi bu tür lüminesans yapan canlılardır. Termolüminesanta küçük miktardaki termal enerjiye maruz kalma sonucunda moleküller yüksek enerjili titreşim seviyelerine geçerler ve bu enerjiler yine ışık olarak dışarıya salınabilir. Özetle bir madde ısıtıldığında emilen enerjinin yeniden yayılmasıdır. Elektrokimyasal bir maddeden geçen elektrik akımının bir sonucunda oluşan reaksiyonun sonucunda ise elektrolüminesans gerçekleşir. Fotolüminesans ise moleküllerin fotonlarla etkileştirilerek uyarıldığı spektroskopi türüdür, yani fotonların absorpsiyonunun sonucu olarak gözlenen ışık emisyonudur. Floresans ve fosforesans olmak üzere ikiye ayrılır. En yaygın olarak görülen fotolimesans türü floresanstır ve bu çalışmada da bundan faydalanılmıştır [15].

2.3 Floresans Spektroskopisi

2.3.1 Floresans Spektroskopisi Prensipleri

Diyagram (Şekil 2.2) atomik floresansı değil moleküler floresansı açıklayan bir diyagramdır. Temel halinde, S_0 , HOMO' da (en yüksek dolu moleküler orbital) bulunan molekül önce uyarıcı kaynaktan kazandığı enerjiyi absorplayarak bir üst

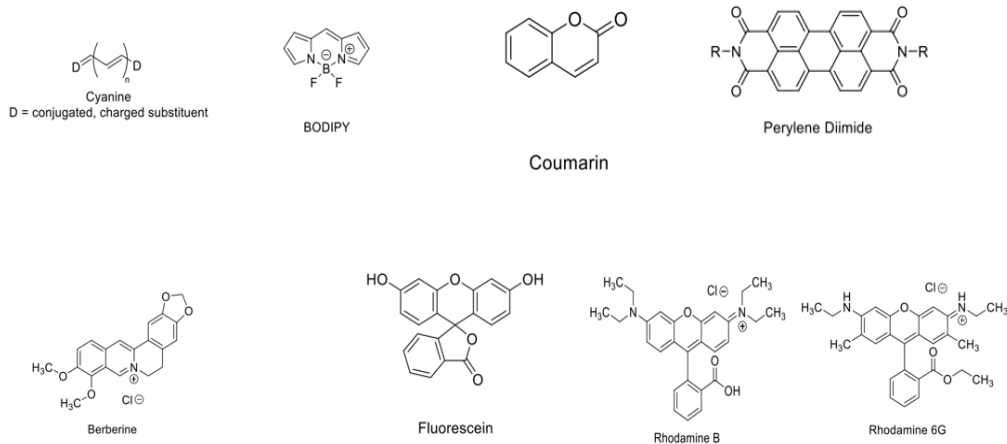
enerji düzeyindeki orbitallere LUMO'ya (en düşük boş moleküler orbital), S_1 ve S_2 , gibi uyarılmış anti bağ orbitallerine geçiş yaparlar. Bu elektronik geçiş esnasında elektronlar spinlerini değıştirmezler. Bu uyarılma haline singlet uyarılma adı verilir. Ancak bazı maddelerde yapısal özellikten dolayı elektron singlet olarak uyarıldıktan sonra spin değıştirerek uyarılmış halde kalabilir. Bu olayda spin değıştirme enerjisini herhangi bir şekilde ortama verirler. Bu hale de triplet uyarılmış hal adı verilir. Normalde singlet uyarılma olmadan triplet uyarılmış hale molekül direkt geçemez, önce singlet uyarılma haline geçer daha sonra spin değıştirme enerjisini ortama bırakarak triplet uyarılmış hale ulaşabilir (T_1). Temel singlet halden triplet hale geçiş elektronun spinindeki değışmeyi de kapsadığı için singlet hale geçişe göre daha az mümkün olmaktadır. Özetle uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa floresans denirken uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa fosforesans denir. Bunların arasında bazı temel farklılıklar vardır. Floresansta uyarıcı kaynaktan gelen etki kesilince lüminesans son bulurken, fosforesansda çok kısa bir süre daha devam eder. Burada uyarılmış elektronun, titreşimsel gevşeme yoluyla orijinal uyarma enerjisinin bir kısmını saçması nedeniyle, yayılan foton daha düşük enerjiye ve dolayısıyla daha uzun dalga boyuna sahip olacaktır. Bu enerji farkı ise, foton yayarak dağılır ve bununla da sinyaller oluşur [15,16].



Şekil 2.2 : Perrin-Jablonski diyagramının şematik gösterimi.

2.3.2 Floresan bileşikler

Floresan bileşiklerinin yapılında bulunan bazı floroforların kimyasal yapıları Şekil 2.3’de görölmektedir. Floroforlar genelde birkaç kombine aromatik grup veya birkaç π bağına sahip düzlemsel veya halkalı moleküller içerirler. Belirli bir dalga boyunda absorpsiyon ve daha uzun bir dalga boyunda ışığı yeniden yayarak emisyon yapan, çalıştıkları dalga boyları, pH, sıcaklık ve çözücüler her biri için farklılık gösteren kimyasal bileşiklerdir.



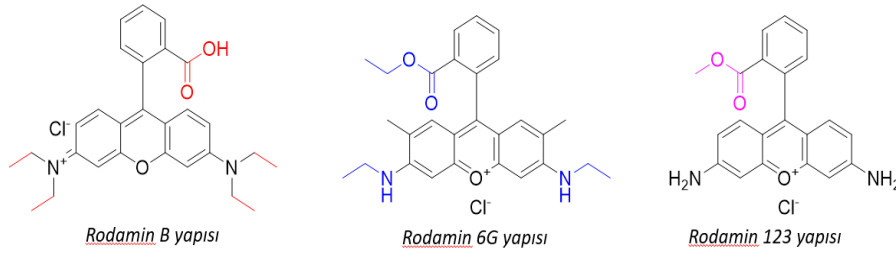
Şekil 2.3 : Çeşitli florofor grupların kimyasal yapıları.

2.3.3 Floresans spektroskopisi prensibi uygulamaları

Floresans spektroskopisi, hassas, hızlı ve seçici analizler yapabilme yeteneği ile geniş bir uygulama yelpazesine sahip olan, bir maddenin uyarılması sonucunda yaydığı floresan ışığının şiddetinin ölçülmesine dayanan bir analiz tekniğidir.

Belirli bir molekülün varlığını tespit etmek, moleküler etkileşimleri incelemek ve molekülün yapısını belirlemek için moleküler tanıma ve analizde; çevresel kirlilik analizinde, biyolojik moleküllerin tespitinde ve hücresel süreçlerin incelenmesi için çevre ve biyolojik uygulamalarda; ilaç etkileşimlerini incelemek ve ilaçların hedef moleküllere bağlanma süreçlerini anlamak için, tıbbi tanıda da kullanılarak belirli hastalıkların teşhisinde ve takibi için ilaç geliştirme tıbbi tanı sürecinde; gıda kalitesinin kontrol edilmesi, gıda güvenliği analizleri ve tarımsal ürünlerin analizi için gıda ve tarım endüstrisinde; ve son olarak, malzeme bilimi ve nanoteknolojide nano ölçekte malzemelerin özelliklerinin ve karakterizasyonunun incelenmesinde kullanılmaktadır [15].

Rodamin B, rodamin 6G, rodamin 123 gibi rodamin türevleri, iskelet yapıdaki fonksiyonel grupların değişikliği sonucunda elde edilmiştir (Şekil 2.6). Rodamin B’de ksantene bağlı benzoik asit ve N,N-dietil amino ve benzen halkasına bağlı kısımda karboksili asit; rodamin 6G ‘de ksantene bağlı metil, etil amino ve benzen halkasına bağlı etil fenil ester; rodamin 123’te ise yine ksantene bağlı amin, ve benzen halkasına bağlı ester grupları bulunmaktadır [19].



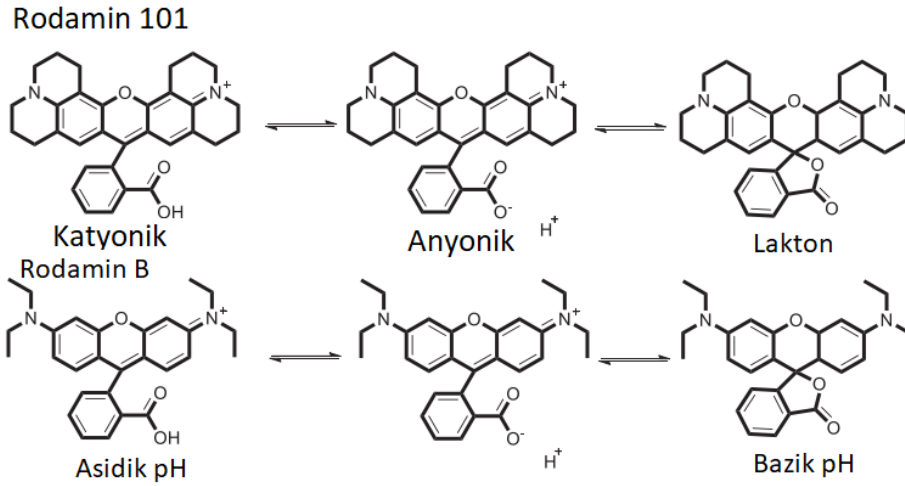
Şekil 2.6 : Yaygın olarak bilinen Rodamin B, rodamin 6G ve rodamin 123 moleküllerinin yapıları.

Rodamin tabanlı boyalar, yüksek fotostabilite, yüksek absorpsiyon katsayısı, yüksek floresan kuantum verimi, geniş floresans spektrumu, uzun uyarma ve emisyon dalga boyları, suda kısmi çözünürlük, basit sentetik prosedürlerle elde edilebilirlik gibi özellikleri nedeniyle geniş bir uygulama yelpazesine sahip olup yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, rodaminler, özellikle tekstil, boya, mürekkep, plastik ve kâğıt endüstrilerinde renklendirme maddesi olarak yaygın olarak kullanılan önemli bileşiklerdir. Sonuç olarak, rodaminler floresan özelliklere sahip organik boyalar veya boyar maddelerdir ve geniş bir endüstriyel ve bilimsel uygulama yelpazesine sahiptirler [20].

2.4.2 Rodaminlerin elektronik ve spektral özellikleri

Rodaminlerin, genellikle pH değişiklikleri veya çözücü ortamındaki değişiklikler gibi çevresel koşullara bağlı olarak, emisyon dalga boylarında kaymalar gözlemlenebilir. Rodamin boyalarının batokromik kayma göstermesine neden olan faktörlerden bir tanesi çözelti pH'ıdır. Asidik koşullarda karboksil grubu protonlanıp rodamin boyası katyonik formda bulunurken, bazik koşullarda ayrışma meydana gelir ve rodamin boyası zwitterionik formda olabilir. Hem katyonik hem de zwitteriyonik formlar aynı kromoforu paylaşırsa da, negatif yük, ksanten kromoforunun merkezi karbon atomu üzerinde indüktif bir etkiye sahip olması nedeniyle, hem absorpsiyon hem de floresans spektrumlarında kırmızıya doğru bir kaymaya neden olabilir. Bir diğer faktör çözücü polaritesidir; genel olarak, daha polar çözücülerde, rodamin molekülleri daha iyi

çözünür, moleküller arasındaki dönüş hızı artar ve moleküller arasındaki etkileşimler değişir. Daha polar çözücülerde, molekülün yapısındaki bazı etkileşimler değişimi spektral özelliklerde değişikliklere neden olabilir. Çözücünün polaritesi azaldığında ise, zwitter iyon formu, π -konjugasyonunun bozulması nedeniyle tersinir olarak renksiz bir lakton formuna dönüşür (Şekil 2.7). Sonuç olarak, ortam polaritesi rodamin boyalarının floresan özelliklerini, emilim ve floresans maksimumlarını, kuantum verimliliğini, floresans ömrünü etkileyebilir ve bu nedenle floresan ölçümlerinde bu faktörün dikkate alınması önemlidir. Rodamin boyalarının batokromik kayma yapmasına etki eden diğer faktörler arasında çözeltinin sıcaklığı, iyonik bileşimi ve çözeltinin viskozitesi gibi özellikler de bulunabilir. Bu etkiler, rodamin boyalarının, çeşitli koşullarda farklı spektral özellikler göstermesini sağlar ve bu da çeşitli uygulamalarda kullanılmalarında önemli bir rol oynar [18–20].

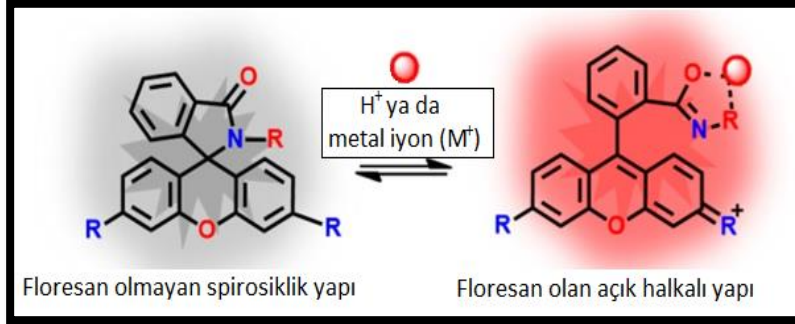


Şekil 2.7 : Rodamin 101’in katyonik, anyonik ve lakton formunun denge hali ve rodamin B’nin asidik ile bazik koşullardaki formları.

2.4.3 Rodamin türevlerinin halka açma kapama mekanizması

Rodamin boyalarının halka açma ve kapanma mekanizması, molekülün yapısındaki belirli grupların kimyasal reaksiyonları sonucunda gerçekleşir. Bu reaksiyonlar genellikle çevresel koşullara (pH, çözücü polaritesi, sıcaklık vb.) duyarlıdır. Bu mekanizma genellikle floresan özelliklerinde değişikliklere neden olur. Rodamin boyalarından türetilen sensörlerin spirohalkaları kapalı bir formdadır. Bu durumda, molekülün floresan özellikleri sınırlıdır ve genelde floresan yaymazlar. Asidik ortamda ya da analit varlığında kompleks veya parçalanma ürünü oluşturarak rodamin moleküllerinin yapısında değişiklik meydana getirir ve spirohalkaların açılmasına

neden olur. Halkanın açılması floresan şiddetinin artmasıyla sonuçlanır. Bu durum, molekülün floresan özelliklerinde belirgin bir değişiklik yaratarak analitlerin tespiti veya görüntülenmesi amaçları için kullanılabilir (Şekil 2.8) [20].

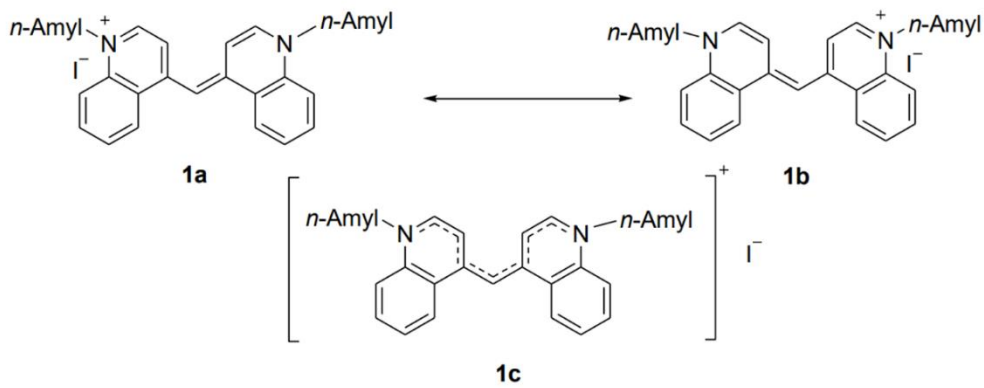


Şekil 2.8 : Rodamin türevinin analit varlığında spirolaktam halka açılması.

2.5 Siyaninler

2.5.1 Siyaninlerin tarihçesi ve bazı türevleri

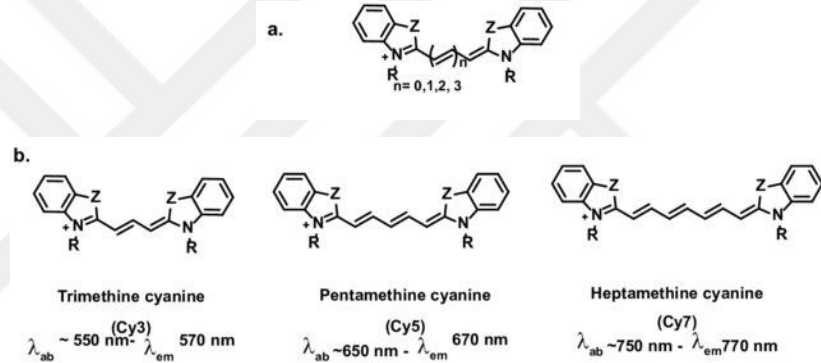
İlk siyanin boyası, 1856 yılında C.H.G Williams tarafından *N*-amil lepidinyum ile *N*-amil kinolinyumun amonyak içinde ısıtılıp oldukça parlak mavi bir çözelti elde edilmesiyle Şekil 2.9'daki gibi sentezlenmiştir [21]. Siyanin boyaların ismi mavi kelimesinden gelmektedir. Latin köklü “cyanos”, mavi anlamına gelen floresan özelliklere sahip olan bir tür boyar maddeyi ifade eden "siyanin" sentetik boyalar arasında yer alır. Tekstil endüstrisi, biyoteknoloji, mühendislik, farmakoloji ve tıp gibi çok çeşitli ve geniş bir alanda çok sayıda kullanımı ve uygulaması vardır [22].



Şekil 2.9 : İlk sentezlenen siyanin molekülünün konjugasyon yapıları.

Siyanin boyalarının (aynı zamanda polimetin siyanin boyaları olarak da adlandırılır), genel moleküler yapısı, tek karbon atomlarından oluşan konjuge bir zincirle ayrılan iki

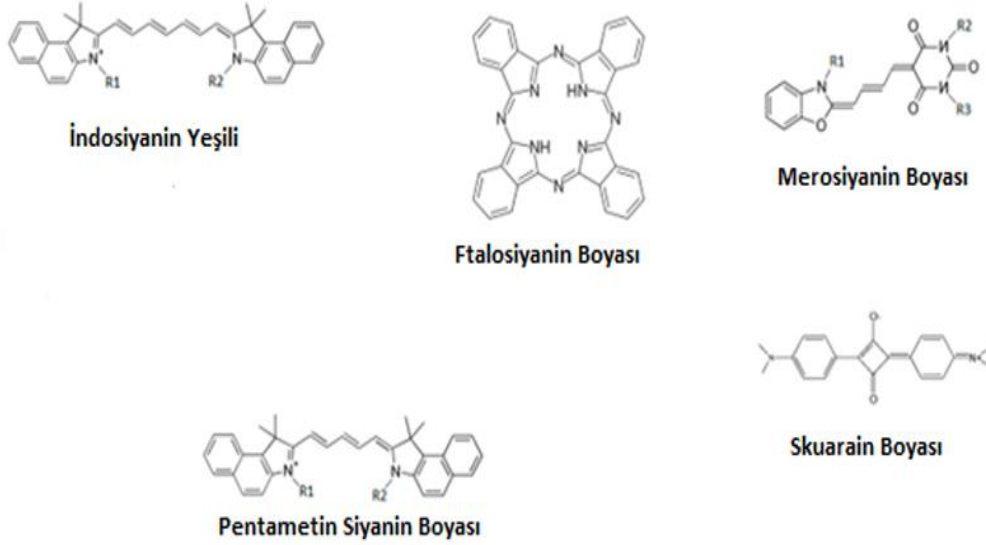
azot heterosiklik halkaya sahip olacak şekildedir [Şekil 2.10. a)]. Moleküllerin kimyasal yapıları, özellikle konjuge zincirdeki karbon atomlarının sayısı, siyaninin adını belirler. Zincirdeki karbon atomu sayısına göre siyaninler monometin (Cy1), trimetin (Cy3), pentametin (Cy5) ve heptametin (Cy7) siyaninler olarak adlandırılır [23,24] [Şekil 2.10 b)]. Ayrıca siyanin boyalarının optik özellikleri öncelikle çoklu zincirdeki vinilen gruplarının sayısına bağlıdır. Sensörün bir vinilen (CH=CH) kısmı kadar uzatılması, maksimum absorpsiyon ve emisyonunda 100 nm'lik bir kaymaya yol açar. Monometin ve trimetin siyaninler (Cy3) genellikle görünür bölgede absorpsiyon gösterirlerken kromoforun bir vinilen parça kadar uzatılmasıyla pentametin (Cy5) türevleri yakın kızılötesi bölgeye (>700 nm) ulaşabilir ve heptametin siyaninler (Cy7) 1000 nm'nin ötesinde emisyon gösterebilirler [25].



Şekil 2.10 : a) Siyanin moleküllerinin genel yapısı b) Yaygın siyanin moleküllerinin yapısı.

Siyanin boyalar 600-700 nm dalgaboyu arası yakın kızılötesi bölgede güçlü floresan emisyonuna sahip olmakla beraber floresans rezonans enerji transfer (FRET) [26], floresans *in situ* hibridizasyonu (FISH) [24], ışıkla indüklenen elektron transferi (PET) [27] ve orantısal yakın kızılötesi floresan [28] gibi sistemlerde yaygınca kullanılır. Bu boyaların yapısı, iki uçtaki heterosiklik/aromatik alt birimlerin bir polimetin köprü ile birleşmesiyle oluşur. Bu köprü, pozitif yüklü azot ile nötr yüklü azot arasında bir bağlayıcı olarak görev alır ve pozitif yükün rezonansla dağılmasına izin vererek çözeltisinin ve kristalinin kuvvetli renklere sahip olmasını sağlar. Polimetin zinciri ya da azot atomu üzerinden türevlendirilebilen siyaninler, farklı renklere ve farklı özelliklere sahip olurlar. Polimetin köprü uzunluğunun ve kullanılan özel heterosiklik bileşenlerin çeşitliliği, siyanin boyalarının emisyon ve floresans özelliklerini ayarlamak için kullanılır. Şekil 2.11’de bazı siyanin türevleri verilmiştir. Siyaninler,

çeşitli uygulamalarda kullanılan çok yönlü bileşiklerdir ve biyolojik görüntüleme, sensörler ve optik materyaller gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [23].



Şekil 2.11 : Bazı siyanin moleküllerinin yapısı.

2.5.2 Siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri

Siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri, molekülün konjugasyon yapısından kaynaklanan özelliklerdir. Siyanin moleküllerinde konjugasyon, polimetin yapısının varlığından kaynaklanır. Bu polimetin bağlayıcı, molekül içinde elektron delokalizasyonu ile çift bağlar arasında alternatif tek ve çift bağlar oluşturarak konjugasyonu sağlar. Bu delokalizasyon, molekülün uzun bir konjuge sistem oluşturmasına ve dolayısıyla geniş bir absorpsiyon ve emisyon spektrumuna sahip olmasına olanak tanır. Böylece farklı dalga boylarında çalışabilme ve çeşitli uygulamalarda kullanılabilme esnekliği sağlar. Bazı siyanin türevleri, yakın kızılötesi (NIR) bölgede (600-750 nm) emisyon yapabilir. Bu özellikleri, biyolojik görüntüleme gibi derin dokuların penetrasyonunu sağlayan uygulamalarda kullanılmalarını sağlar. Bunun yanında, siyaninler, genellikle yüksek absorpsiyon katsayısı ve yüksek floresans verimine sahiptirler. Düşük konsantrasyonlarda bile güçlü floresans sinyalleri üreterek yüksek hassasiyetle algılama yapabilirler. İyi fotokararlılığının olması ve düşük floresans arka planı gibi diğer özellikleri sayesinde de siyaninlerin

biyolojik görüntüleme ve sensör uygulamaları gibi alanlarda kullanımı oldukça yaygındır [23,29].

2.6 Kromenilyum Siyaninler

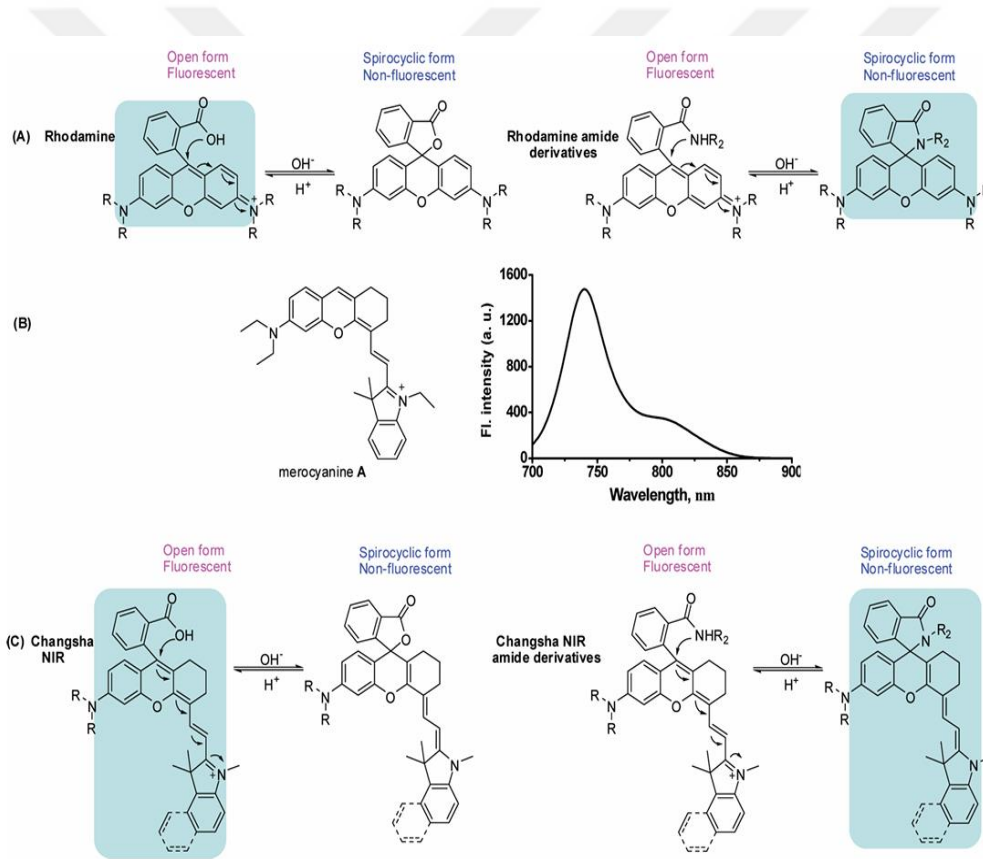
2.6.1 Kromenilyum siyaninlerin tarihçesi ve bazı türevleri

Changsha (CS) boyası adı verilen ve karboksilik asit fonksiyonel grubuna sahip kromenilyum-siyanin boyaları ilk olarak 2012 yılında Yuan ve ekibi tarafından, rodaminlerin halka açma kapama mekanizmasına sahip olup aynı zamanda daha uzun dalga boyunda absorpsiyon ve emisyon yaparak canlı hücreler içerisinde daha az zararlı çalışmayı hedeflemeleri ile sentezlenmiştir [30]. CS molekülleri, merosiyanin A birimini ve benzoik asidi birleştirerek oluşturulan yeni bir tür NIR fonksiyonel boyalardır. Merosiyanin A birimi istenilen NIR optik özellikleri gösterebilirken, karboksilik asit fonksiyonel grubunun spirohalkalaşma yoluyla floresans açma-kapama işlevi görebileceği hipotezi üzerine sentezlenmiştir (Şekil 2.12). Yeni sentezlenen CS molekülleri rodaminlerden birçok anlamda üstündür. Bunlardan en önemlisi, rodaminler genellikle görünür bölgede (500-600 nm) absorpsiyon ve emisyon gösterirken, CS molekülleri NIR (yakın kızılötesi) (>700 nm) bölgede hem absorpsiyon hem de emisyon gösterirler (Şekil 2.13). Böylelikle, geleneksel rodamin boyalarına göre daha büyük emilim katsayıları, yüksek floresan kuantum verimlilikleri ve yüksek parlaklık gibi üstün özelliklere sahip olabilir. Bir diğeri, CS molekülleri, karboksilik asit tarafından kontrol edilen floresans açma-kapama mekanizmasına sahipken, rodaminlerde benzer bir mekanizma bulunmayabilir. Özetle, CS molekülleri, canlı hücrelerde floresan görüntüleme uygulamaları için potansiyel olarak daha uygun olabilirken, rodaminler genellikle diğer uygulamalarda kullanılır. Bu farklar, CS moleküllerinin biyolojik görüntüleme alanında rodaminlere göre avantajlı olabileceğini göstermektedir.

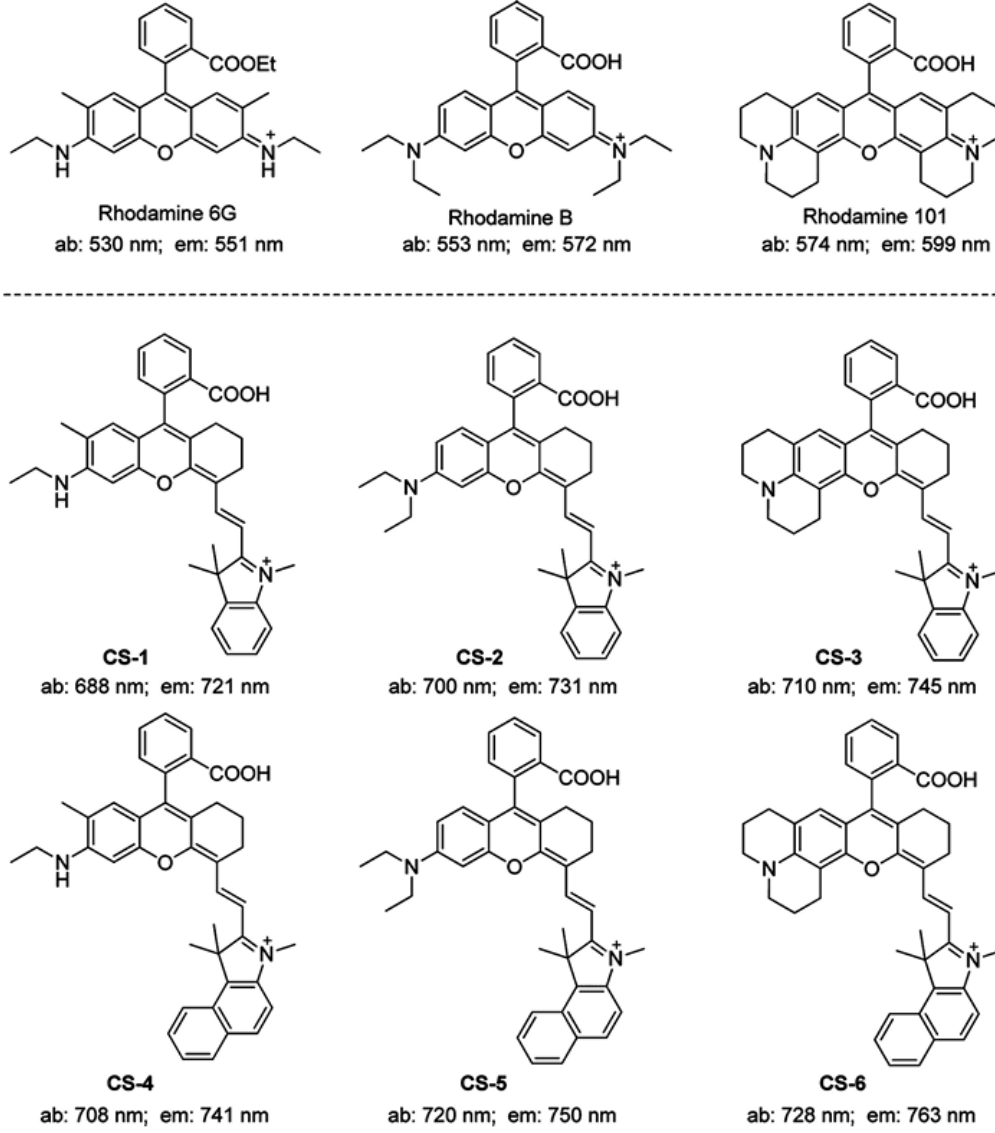
2.6.2 Kromenilyum siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri

Kromenilyum siyaninlerin, floresan yoğunluğu ve emisyon dalga boyu, konformasyonel değişiklikler ve yerine konulan gruplar aracılığıyla kolayca ayarlanabilir olması, uzun süreli inkübasyon sonrasında fizyolojik koşullarda kararlılık göstermeleri, yüksek kuantum verimliliği sunmaları, yüksek parlaklıkla canlı görüntüleme uygulamalarında kullanılabilir olmaları, canlı görüntüleme sistemlerinde

yaygın olarak kullanılan uyarılma dalga boylarıyla uyumlu olmaları gibi üstün avantajları bu boyaların diğer NIR boyalara göre daha üstün olmalarını sağlar ve biyolojik görüntüleme uygulamalarında etkili bir platform olarak tercih edilir [31–33]. Kromenilyum siyaninler, NIR bölgesinde çalıştıkları için minimal fototoksisiteye sahiptirler ve bu canlı hücrelerde kullanıldığında hücrelere zarar verme olasılığını azaltır. Derin doku nüfuzu yapabiliyor olmaları, derin canlı hücrelerin iç yapısını incelemek için daha derin bölgelere ulaşmayı sağlar. Düşük otofloresan arka plan ışması sayesinde hücre içi sinyallerin daha net ve doğru bir şekilde görüntülenmesini, optik özelliklerin ayarlanabilirliğiyle de canlı hücre uygulamalarına uygun hale getirilmelerini sağlar.



Şekil 2.12 : İlk CS NIR molekülü sentezi şeması. (A) klasik rodamin ve rodamin amid türevlerinin spirosiklizasyonu. (B) merosiyanin boya A'nın yapısı ve floresan emisyon spektrumu (CH_3OH içinde). (C) yeni changsha (CS) ve changsha amid türevlerinin spirosiklizasyonu.

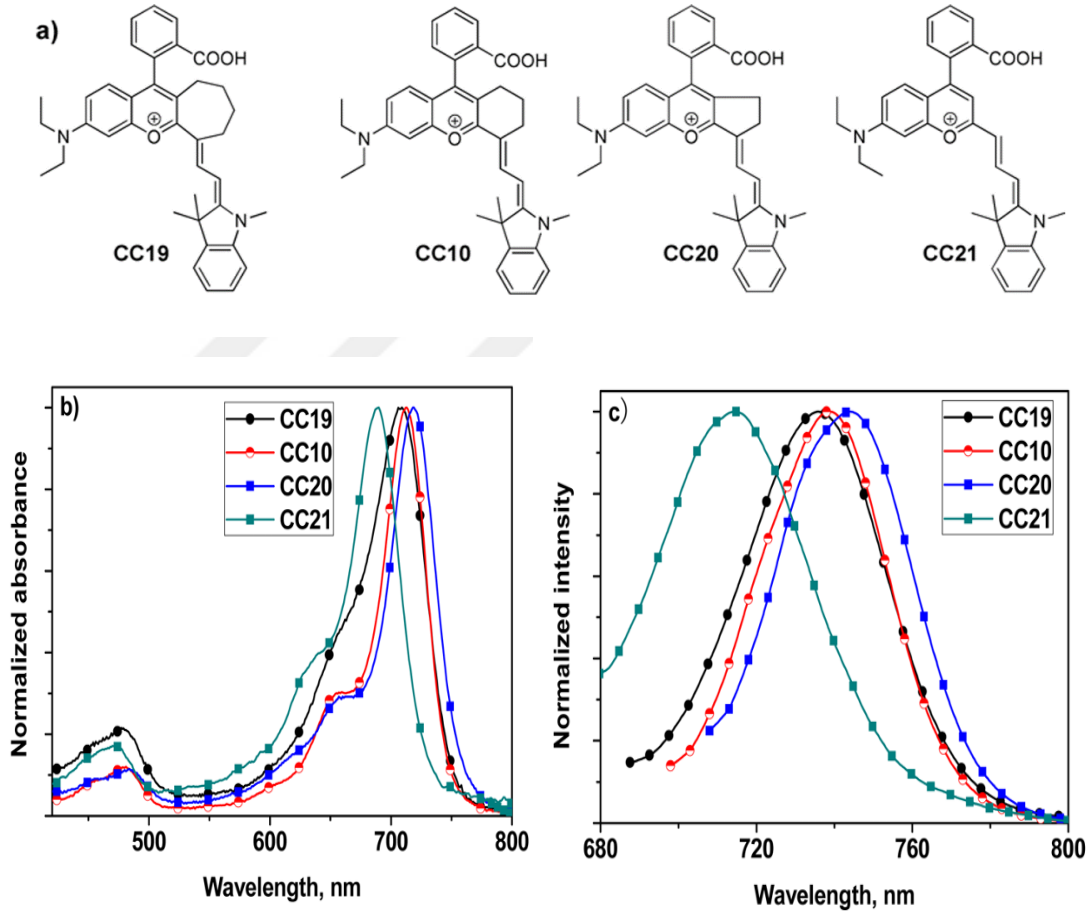


Şekil 2.13 : Klasik rodamin boyaları ile yeni CS NIR boyalarının karşılaştırılması.
Üst kısım: Klasik rodamin boyalarının kimyasal yapıları (rodaminler B, 6G, 101).
Alt kısım: Yeni tasarlanan CS1-6 NIR boyalarının kimyasal yapıları.

Kromenilyum siyaninlerin yapısındaki halka pH 1 ve 2 dışında pH 12 ye kadar kapalı olup biyolojik pH (pH 7,4) değerinde bir sinyale sahip olmadığından biyolojik sistemlerde çalışılması için idealdir [30].

Kromenilyum siyaninlerin, orantısal olarak çalışan floresan proplara dönüştürülebilirler. Orantısal proplar, belirli bir hedef molekülün varlığına bağlı olarak iki veya daha fazla floresan sinyal arasındaki oransal değişiklikleri kullanarak analiz yaparlar. Bu sayede, sinyaller arasındaki oransal değişiklikler hedef molekülün varlığını veya konsantrasyonunu belirlemek için kullanılabilir [31]. Kromenilyum-

siyanin moleküllerinin, spirolaktam halkası açıkken yaklaşık 700 nm’de geniş bir absorbans ve floresan şiddetine sahip olmalarının sebebi moleküldeki konjugasyonun diğer rodamin bileşiklerine oranla daha geniş bir alana yayılmasıdır. Konjugasyon kesildiğinde ise 700 nm civarındaki sinyaller kaybolmaktadır. Ayrıca kromenilyum-siyanin tabanlı moleküllerde UV-Gör spektrumlarında yaklaşık 375 nm’de bir elektron geçiş bandı görülmektedir, bu bandın şiddeti analit miktarı ile genellikle azalırken, halka açılması kaynaklı 700 nm’lerde oluşan bandın şiddeti ise artmaktadır. Bu da kromenilyum-siyanin moleküllerinde 375 ve 700 nm’deki bantları arasında orantısal analizi mümkün kılmaktadır. Bazı kromenilyum-siyanin tabanlı örnek moleküller ve spektral özellikleri özet olarak Şekil 2.14’te sunulmuştur.



Şekil 2.14 : a) Bazı kromenilyum-siyanin türevi bileşiklerini kimyasal yapısı ve bu bileşiklerin b) UV-Gör ve c) floresans spektrumları.

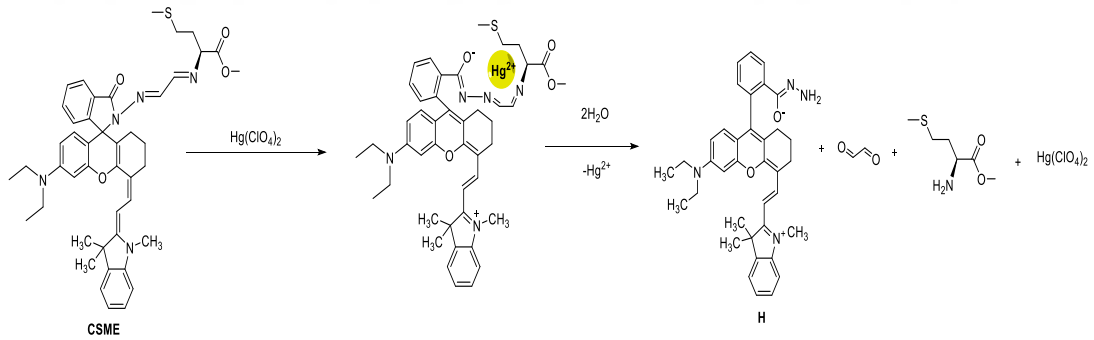
2.6.3 Kromenilyum siyaninlerin ile yapılan bazı kemosensör çalışmaları

Spektrofotometrik, kolorimetrik, orantısal ve halka açma-kapama mekanizmasına dayanan, çevrede ve canlı hücrede tehlikeli Hg^{2+} analizi için karşılaşılan kritik eksikliğe etkili bir çözüm sağlamayı hedefleyen, metiyonin biyomolekülü ile

türevlendirilmiş kromenilyum siyanin platformuna dayanan yeni bir yakın kızılötesi (NIR) florofor sensörü (CSME) Yılmaz ve ekibi tarafından sentezlenmiştir. CSME yapısı ve Hg^{2+} iyonu ile etkileşimi NMR, FTIR, MS, UV-Gör ve floresan yöntemlerinin yanı sıra yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) hesaplamaları ile aydınlatılmış ve spiroolaktam halkasına sahip analit yokluğunda floresan aktif olmayan CSME, rakip iyonları içeren sulu çözeltide sadece Hg^{2+} ile etkileşime girerek NIR bölgesinde spektral ve kolorimetrik değişiklikler sergileyen amit formu floresan aktif bir türe dönüşmüştür.

90 saniye içinde yanıt veren prob, UV-Gör ve floresan tekniklerine dayanan, geniş doğrusal aralıklara sahiptir (UV-Gör için: $6,29 \times 10^{-8}$ - $1,86 \times 10^{-4}$ M; floresan için: $9,49 \times 10^{-9}$ - $1,13 \times 10^{-5}$ M) ve ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) kuruluşu tarafından öngörülen değerden daha düşük bir tespit sınırı (LOD) değerine (floresan için: $4,93 \times 10^{-9}$ M, 0,99 ng/mL) sahiptir.

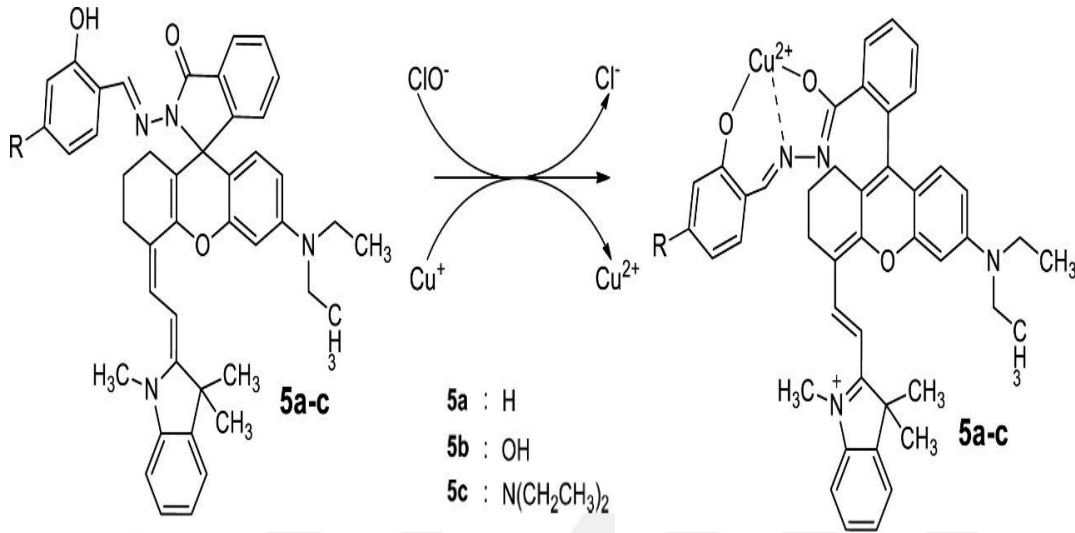
Hg^{2+} analizi içme ve musluk sularında düşük bağıl standart sapma (RSD) değerleri ve yüksek geri kazanım ile gerçekleştirilmiştir ve gerçek örneklerde ve 3T3 hücrelerinde kolorimetrik Hg^{2+} algılama için akıllı telefon ve canlı hücre uygulamaları başarıyla tamamlanmıştır (Şekil 2.15) [7].



Şekil 2.15 : CSME ve Hg^{2+} arasındaki reaksiyon için önerilen mekanizma.

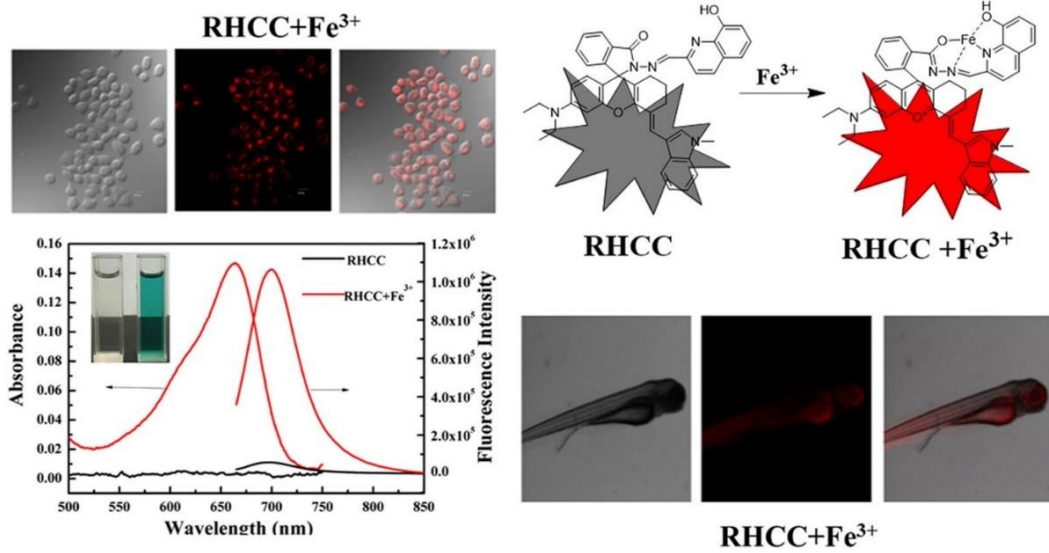
Başka bir çalışmada, Karaoğlu ve ekibi tarafından kromenilyum-siyanin Schiff bazı türevlerinin (5a-c) optik özelliklerindeki değişikliğe dayanarak, Cu^{2+} ve OCl^- iyonlarını sulu örneklerde yakın IR'de (NIR) izlemek için ilk kez bir dizi kolorimetrik ikili sensör tasarlanmış, sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Sensörlerin Cu^{2+} ve OCl^- iyonlarına karşı kolorimetrik tepkileri, pH 7,2'de bir dizi rekabetçi anyon ve katyon içindeki sulu numuneler için değerlendirilmiştir. Sensörler, Cu^{2+} katyonunu Cu^{2+} destekli spirohalka açılma reaksiyonu yoluyla seçici olarak tespit ederken, OCl^- tanıma sırasındaki fotofiziksel değişiklik, analiz ortamındaki Cu^+ ve hipoklorit

iyonları arasındaki reaksiyondan üretilen Cu^{2+} iyonunun koordinasyonu yoluyla spirohalka açılma reaksiyonundan kaynaklanmaktadır. İkili sensörlerin (5a-c) tespit limitleri Cu^{2+} için $3,30 \times 10^{-8}$ M, $1,93 \times 10^{-8}$ M ve $2,36 \times 10^{-8}$ ve OCl^- için $2,83 \times 10^{-8}$ M, $2,10 \times 10^{-8}$ M ve $2,60 \times 10^{-8}$ M tayin limiti değerleri göz önünde bulundurulduğunda oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 2.16) [34].



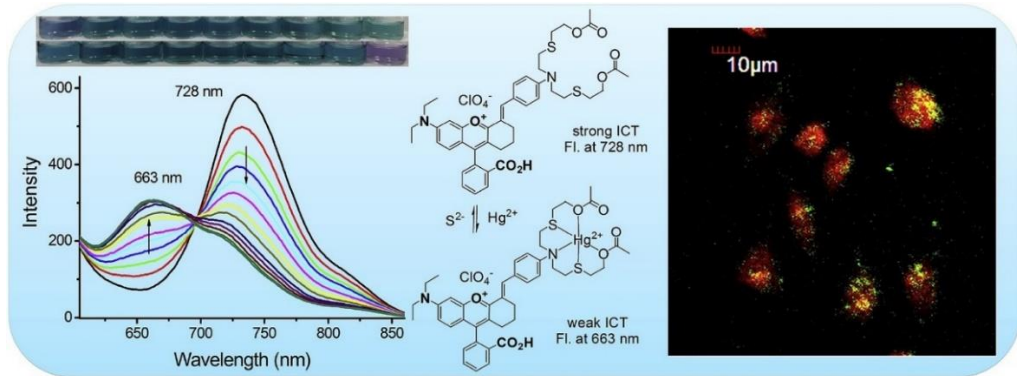
Şekil 2.16 : Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörün $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ oksidasyonunun neden olduğu hipoklorit ile bakır bağlama mekanizmasının önerilen spirociklik halka açılma reaksiyonu.

Gu ve ekibi tarafından sulu çözeltilerdeki diğer metallerle kıyasla Fe^{3+} için yüksek seçicilik gösteren diğer bir yeni yakın kızılötesi floresan sensör RHCC tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Tespit limiti $1,2 \times 10^{-7}$ M ve kompleksleşme kararlılık sabiti $5,807 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 'dir. RHCC ile Fe^{3+} katyonunun bağlanma oranı MS, FTIR ve Job's grafiği ile 1:1 olarak tespit edilmiştir. RHCC'nin HOMO ve LUMO arasındaki enerji boşluğu 3,22 eV iken, RHCC- Fe^{3+} kompleksi 0,95 eV olması, RHCC ve Fe^{3+} sensörünün bağlanmasının RHCC- Fe^{3+} kompleksinin enerji boşluğunu düşürdüğü ve onu daha kararlı hale getirdiği anlamına gelmektedir. Dahası, canlı hücrelerde ve zebra balığı çalışmalarında, RHCC sensörünün önemli bir sitotoksik etkisinin olmaması, biyolojik sistemde Fe^{3+} katyonunu izleyebileceğini göstermektedir (Şekil 2.17) [35].



Şekil 2.17 : Kromenilyum-siyanin tabanlı RHCC sensörün A549 hücrelerinin görüntüleri, RHCC ve Fe^{3+} 'nin algılama mekanizması, RHCC'nin Fe^{3+} iyonu ile absorpsiyon spektrumu ve zebra balığının floresans görüntüler.

Yapılan bir başka çalışmada, sulu ortamda Hg^{2+} iyonlarının tespiti için NS_2O_2 şelat ünitesine sahip kromenilyum-siyanin florofofor tabanlı bir orantısal yakın kızılötesi (NIR) floresan sensörü L, Jiao ve ekibi tarafından sentezlenmiştir. Sensör L, Hg^{2+} iyonları için yüksek seçicilik göstermekte ve Hg^{2+} kaynaklı molekül içi yük transferi (ICT) mekanizması aracılığıyla 663 nm'de hemen artan ve 728 nm'de eş zamanlı olarak azalan floresan yoğunluğu ile Hg^{2+} iyonlarının gerçek zamanlı olarak hem “çıplak gözle” hem de orantısal tespitine yol açmaktadır. Aynı zamanda sensör, 9,59 nM tespit limiti ile ppb aralığındaki bir konsantrasyonda Hg^{2+} 'ye karşı yüksek bir hassasiyet sergilemektedir. Ayrıca sensör hücre geçirgen ve düşük toksikliği sebebi ile canlı hücrelerde Hg^{2+} iyonlarının eş odaklı lazer taramalı floresan mikroskobu ile orantısal görsel izlenmesi için kullanılabilir (Şekil 2. 18) [36].



Şekil 2.18 : Kromenilyum-siyanin tabanlı sensörün titrasyon grafiği, Hg^{2+} varlığındaki bağlanma mekanizması ve canlı hücre görüntüsü.

2.7 Cıva (Hg)

Cıva, doğal kaynaklar ve insan faaliyetleri (örneğin, madencilik, sanayi, tarım, enerji üretimi) yoluyla çevreye salınabilen, insan sağlığı ve çevre için ciddi bir tehlike oluşturan bir toksik metaldir. Cıva, düşük konsantrasyonlarda bile insan sağlığı üzerinde zararlı etkilere sahip olabilen toksik bir ağır metal olduğundan, insan vücudundaki minimum cıva seviyesi ideal olarak sıfırdır. Ancak çevresel maruziyet, diyet alımı ve diğer kaynaklara bağlı olarak insan vücudunda eser miktarda cıva bulunabileceğini unutmamak önemlidir. Dünya sağlık örgütü (WHO), insanlarda cıva maruziyetine ilişkin kılavuzlar ve referans seviyeleri oluşturmuştur. İçme suyundaki cıva için WHO kılavuz değeri litre başına 1 mikrogramdır ($\mu\text{g/L}$). Ayrıca çeşitli çevresel ortamlarda ve gıda ürünlerinde cıva için izin verilen sınırlar, insan sağlığını korumak amacıyla farklı ülkelerdeki düzenleyici otoriteler tarafından belirlenmektedir.

Cıva çevreye en zararlı ağır metallere biridir ve organik cıva bileşikleri yalnızca beslenme yoluyla %90'a kadar emilir. Cıva kirliliğinin zararları oldukça geniş olmakla birlikte çevre üzerindeki etkileri, sağlıksız toprak ve suya yol açarak bitki ve hayvan yaşamını tehdit etmesi, ekosistemde ve besin zincirinde birikme kabiliyeti nedeniyle küresel kirlenici olarak sınıflandırılmaktadır. Cıva atmosferde uzun mesafeler kat ederek yerel, bölgesel ve ulusal çevreleri etkilemektedir. Cıvanın en ölümcül formu olan metil cıva, organizmaların bağışıklık sistemine, genetik, enzim sistemlerine ve nörolojik sistemine zarar vermektedir.

Cıva, özellikle de uzun süreli maruziyet durumunda, insan sağlığına birçok şekilde zarar verebilir. İnsanlar, cıva ile temas ettiğinde, solunum yoluyla, deri yoluyla veya gıda ve su yoluyla vücuda girebilir. Cıvaya yüksek seviyede maruz kalmak, mikrotübüllerin parçalanmasına, mitokondriyal hasara ve nörotoksik kimyasalların birikmesine yol açarak merkezi sinir sistemi anormallikleri, nöbetler, kardiyomiyopati ve solunum yetmezliği gibi çeşitli rahatsızlıklara, embriyo veya fetal ölümüne sebep olabilir [37]. Bu sonuçlar, cıva kirliliğinin acilen ele alınması ihtiyacını vurgulamaktadır. Etkili iyileştirme stratejileriyle çeşitli endüstriyel ve doğal faaliyetlerden kaynaklanan cıva emisyonlarını düzenlenmelidir. Bu nedenle, cıva maruziyetini en aza indirmeye ve seviyeleri belirlenmiş güvenlik sınırları dahilinde tutmaya yönelik çabalar, insan sağlığının ve çevrenin korunması açısından önemlidir.

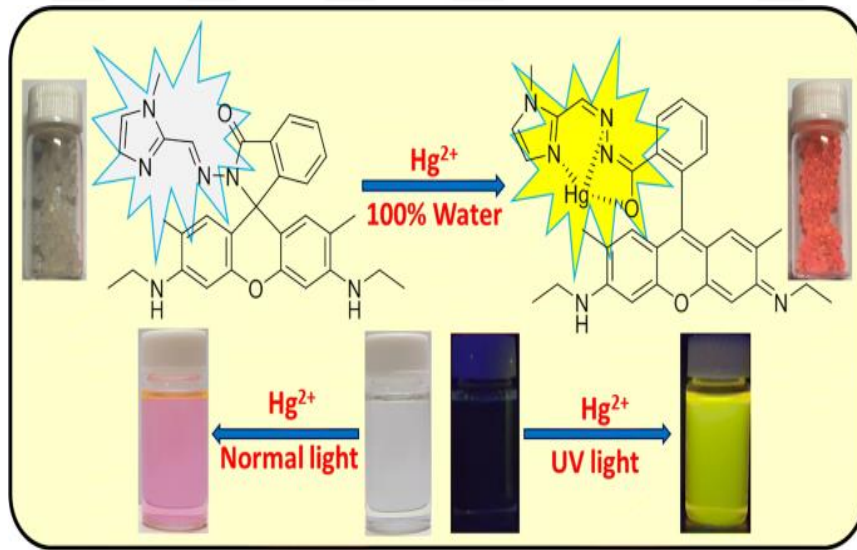
Cıvanın hem doğal hem de antropojenik kaynakları vardır. Cıva yer kabuğunda bulunur ve volkanik patlamalar ve kayaların aşınması gibi jeolojik faaliyetler yoluyla, orman yangınları, biyokütle yanması ve hava koşulları gibi doğal süreçlerle de açığa çıkabilir. Kömür yakıtlı enerji santralleri, çimento üretimi ve atıkların yakılması gibi endüstriyel işlemler, çevreye önemli miktarda cıva salabilir. Zanaatkar ve küçük ölçekli altın madenciliği, cıva emisyonlarının önemli bir diğer kaynağıdır. Cıva termometreler, diş dolguları ve floresan ampuller gibi çeşitli ürünlerde de kullanılmakta olup, uygun şekilde bertaraf edilmediği takdirde cıva kirliliğine yol açabilmektedir. Bunlar dışında, elektronik atıkların uygunsuz şekilde imha edilmesi ve cıva içeren pestisit ve fungusitlerin kullanılması yoluyla da salınabilir ve ayrıca cıva içeren gübreler ve pestisitler toprağı ve suyu kirletebilir. Bu faaliyetler cıvanın atmosfere, toprağı ve suya salınmasına neden olarak çevre kirliliğine katkıda bulunur [38]. Cıva kaynaklarının belirlenmesi, bu kaynaklardan kaynaklanan cıva emisyonlarının azaltılması, cıva kirliliğinin giderilmesi, çevrenin ve insan sağlığının korunması açısından çok önemlidir [38].

Cıva tarihsel olarak farklı endüstrilerdeki çok çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır. Cıvanın temel kullanım alanlarından biri elektrik ve elektrondur. Cıva, iletken olması ve metallerle amalgam oluşturabilme özelliğı nedeniyle elektrik anahtarlarında, rölelerde ve redresörlerde kullanılmaktadır. Ayrıca düşük basınçlı cıva buharlı lambalar, düğme hücreleri, termal sensörler ve diğer elektronik cihazlarda, içinden elektrik akımı geçtiğinde ışık üretmek için floresan lambalarda ve neon tabelalarda aydınlatma amaçlı da kullanılmaktadır. Bir diğer alan kimya endüstrisidir. Cıva, klor-alkali prosesi yoluyla klor ve kostik soda üretiminde ve çeşitli kimyasal bileşiklerin ve katalizörlerin üretiminde de kullanılmaktadır. Tıbbi ve dişçilik uygulamalarında cıva, dişlerin amalgam dolgularında kullanılmaktadır. Benzersiz fiziksel özelliklerinden dolayı belirli türdeki termometrelerde, barometrelerde ve diğer bilimsel cihazlarda, laboratuvar ve bilimsel araçlarda kullanılmaktadır. Sağlık ve çevre kaygıları nedeniyle bu uygulamalardaki kullanımı önemli ölçüde azalmış olsa da tıbbi alet ve cihazlarda da hala kullanılmaktadır. Cıva, zanaatkar ve küçük ölçekli madenciler tarafından, altın ve gümüş gibi metallerin çıkarılmasında amalgam oluşturarak cevherden altın ve gümüş çıkarmak için madencilik alanında da yine yaygın olarak kullanılır. Tarım alanında ise mahsullerdeki mantar hastalıklarını kontrol etmek için cıva içeren fungusitler kullanılmaktadır [39]. Ancak, cıva kullanımı çevre kirliliğı ve insan sağlığı

riskleri taşıdığından, bu alanlarındaki cıva kullanımı ve atıklarının yönetimi büyük önem taşır. Bu nedenle, cıva tespiti büyük önem taşımaktadır.

2.7.1 Cıva (Hg^{2+}) tespit mekanizmaları ve bazı cıva (Hg^{2+}) kemosensörleri

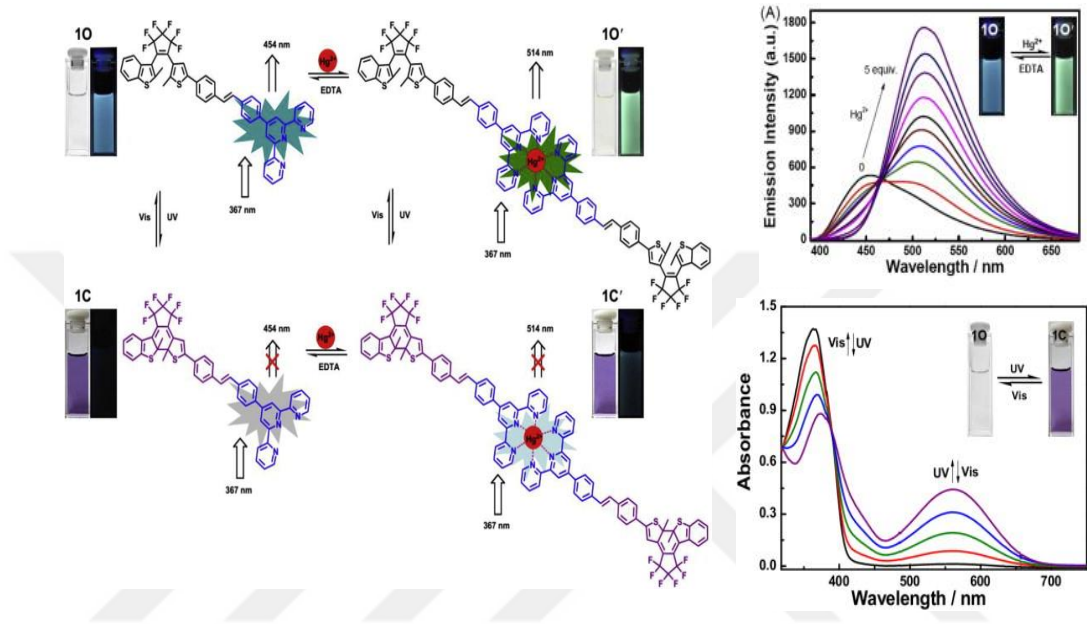
Rao ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada, Hg^{2+} iyonunun seçici tespiti için *N*-metil imidazol yapısı içeren yeni bir rodamin 6G tabanlı floresan ve kolorimetrik kemosensör tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Hg^{2+} iyonunun eklenmesi üzerine halka açılma mekanizmasına dayanan renk değişimi ve floresan tepkisi, reseptörün Hg^{2+} katyonuna karşı seçici ve duyarlı olduğunu ve diğer rekabetçi metal iyonlarıyla gözle görülür bir etkileşime girmediğini göstermesi UV-Gör ve floresans spektral çalışmasının sonuçlarıyla kanıtlanmıştır. Reseptöre Hg^{2+} iyonu eklenmesi, renksizden pembeye doğru hızlı bir renk değişimine neden olmuş ve farklı katyonlar arasında Hg^{2+} katyonuna karşı floresan tepkisinin incelenmiştir. Job's eğrisiyle reseptör ile Hg^{2+} arasındaki stokiyometrik oran 1:1 olarak bulunmuş ve reseptör ile Hg^{2+} arasındaki olası bağlanma modu, ^1H NMR ve kütle spektral çalışmasıyla doğrulanmıştır. Pratik uygulama içinse, elektro-eğirilmiş nanofiber test şeritleri, sulu ortamda Hg^{2+} iyonunu tanımak için başarıyla uygulanmıştır (Şekil 2.19) [40].



Şekil 2.19 : Rodamin 6G tabanlı ‘turn on’ Hg^{2+} seçici kemosensör.

Jing ve ekibi tarafından yapılan farklı bir çalışmada, stilben bağlı terpiridin kromoforuna sahip yeni bir asimetrik diariletlen, Heck reaksiyonuyla sentezlenmiştir. UV/Gör ve Hg^{2+} /EDTA tarafından tetiklendiğinde etkili bir şekilde geri dönüştürülebilir floresans sergilemiştir. Hg^{2+} tarafından indüklenen emisyon piki, 60

nm kadar kırmızıya kaymış ve emisyon şiddeti, 1:2 metal/ligand kompleksinin oluşumu nedeniyle açık maviden parlak yeşile eş zamanlı bir renk değişimiyle birlikte 4 kat artmıştır. Sonuç olarak bildirilenin, Hg^{2+} katyonunun oldukça seçici bir şekilde tanınması için bir floresans kemosenör olarak görev yapabileceği gösterilmiştir (Şekil 2.20) [41].

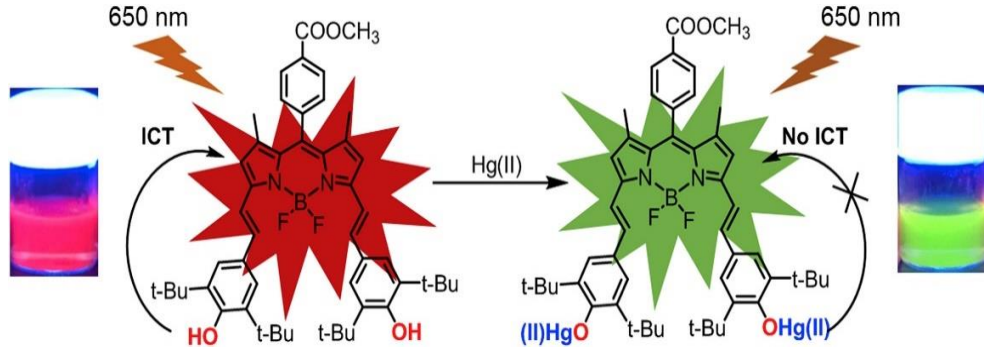


Şekil 2.20 : Hg^{2+} /EDTA ve UV/Vis ışık uyaranları tarafından indüklenen 10'nun çift kontrollü floresan anahtarlama davranışı.

Xue ekibi tarafından yapılan bir diğer çalışmada, yeni distiril türevli BODIPY tabanlı floresan kemosenör 2 ile Hg^{2+} iyonunun analizi rapor edilmiştir. Hg^{2+} iyonu ile titrasyon sırasında absorpsiyon bandında büyük hipsokromik kayma gözlemlenmesiyle beraber çözeltinin renginin yeşilden açık sarıya değişmesine neden olmuştur. Böylelikle, "çıplak gözle" de Hg^{2+} iyonunun tespiti mümkün olmaktadır. Bu arada Hg^{2+} iyonunun eklenmesiyle, sensörün 680 nm civarındaki floresan şiddeti, ICT sürecinin bloke edilmesi nedeniyle sönümlenmiştir. En önemlisi ise kemosenör 2, sulu çözeltilerdeki diğer metal iyonlarına göre Hg^{2+} iyonuna karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet sergilemiştir (Şekil 2.21) [42].

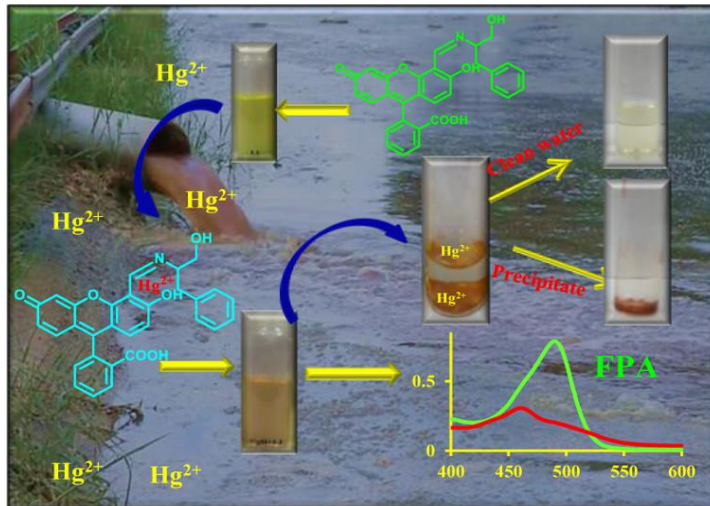
Rathod ve ekibi tarafından yapılan farklı bir çalışmada çevresel açıdan zararsız mekanokimyasal yolla yüksek verimli sentezlenen, fenilalaninol bağlı floresin tabanlı bir Schiff bazı reseptörü (FPA) rapor edilmiştir. Bu yeni sentezlenen floresan sensör,

sulu ortamda ve endüstriyel atık sularda çökelti oluşumu yoluyla cıva iyonlarının (Hg^{2+}) eş zamanlı tespiti ve giderilmesi nedeniyle oldukça ilgi görmüştür.



Şekil 2.21 : BODIPY tabanlı ICT mekanizmalı orantısız yöntemli Hg^{2+} seçici sensör.

Reseptör, kolorimetrik analizde sarıdan pembeye hızlı geçiş yoluyla Hg^{2+} iyonunun seçici olarak algılanmasında ve ayrıca florometrik analizde floresan yoğunluğunun söndürülmesinde bir kemosensör olarak başarılı bir şekilde çalışmıştır. Cıva iyonlarının uzaklaştırılması, süpernatanın indüktif olarak eşleştirilmiş plazma analizi ile doğrulanmıştır. FPA reseptörü için Hg^{2+} iyonlarının tespit limiti, absorpsiyon ve floresans spektroskopik yöntemlerle belirlendiği üzere sırasıyla 1,65 ve 0,34 μM 'dir. Reseptörün Hg^{2+} iyonlarına karşı oluşturduğu kompleks stokiometrisi 1:1 oranında belirlenmiştir. Ayrıca bu sensör, katı, çözelti ve buhar fazlarındaki cıva iyonlarının yerinde tespitini sağlamak için kağıt tabanlı taşınabilir bir cihazda kullanım için pratik bir alternatif olarak sunulmuştur (Şekil 2.22) [43].



Şekil 2.22 : EPA kemosensörünün yapısı, Hg^{2+} ile olan reaksiyon sonucu ve Hg^{2+} varlığındaki spektral değişimi.

3. DENEYSEL KISIM

3.1 Kimyasallar, Materyaller ve Cihazlar

3.1.1 Kimyasallar ve materyaller

Spektrofotometrik çalışmalarda kullanılan, nitrat (Li^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} ve Hg^{2+}), klorür (Zn^{2+}), perklorat (Na^+ , Sr^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+}) tuzları Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiş ve çift distile su ile hazırlanan $5,0 \times 10^{-2}$ M stok çözeltiler halinde herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan kullanılmıştır. 3-Dietilaminofenol, ftalik anhidrit, toluen, sikloheksanon, sülfürik asit (%98), perklorik asit (%70), Fischer aldehit, asetik anhidrit, hidrazin hidrat (%80), benzotriazol-1-iloksitris(dimetilamino)fosfonyum heksaflorofosfat (BOP), 3-merkaptopropiyonik asit, *p*-toluen sülfonik asit, magnezyum sülfat, sodyum bikarbonat, sodyum hidroksit, 2-[4-(2-hidroksietil)piperazin-1-il]etansülfonik asit (HEPES), trietilamin, N,N- dimetil formamid (DMF), heksan, etanol (EtOH), metanol (MeOH), diklorometan (DCM), etilasetat, dietil eter ticari tedarikçilerden alınmıştır. Kromatografik saflaştırmalar Merck Silika 60 (200–400 veya 70–230 ağ) ile tamamlanmış ve TLC (İnce Katman Kromatografisi) için ticari tedarikçilerden temin edilen Merck TLC Silica Gel 60 F254 plakaları kullanılmıştır.

3.1.2 Cihazlar

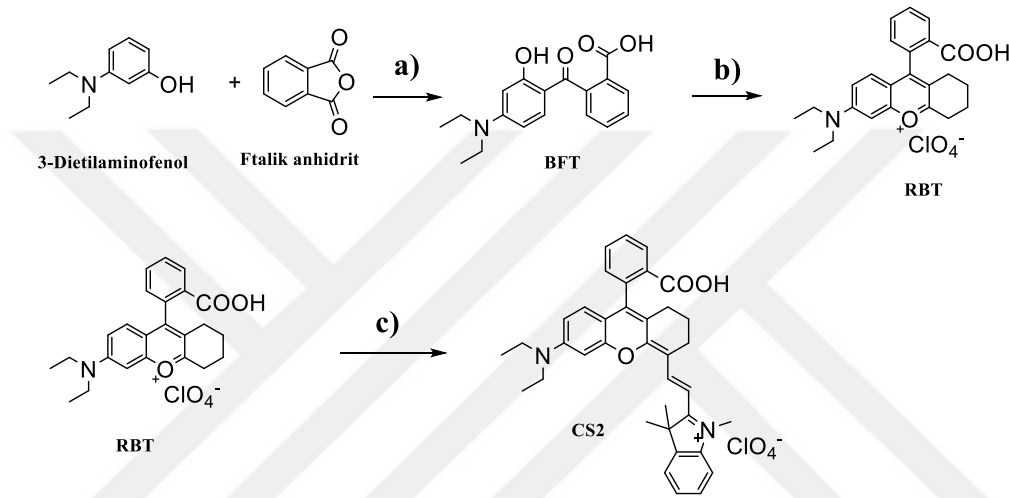
Çalışmanın tamamında kullanılan distile suyun elde edilmesinde GFL 2104 Double Distiller kullanılmış ve pH ölçümleri pH metre (Thermo Scientific Orion 4-Star Benchtop pH/ISE Meters) ile yapılmıştır. Thermo Scientific Q Exactive Plus Orbitrap Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi (LC-HRMS) Sistemi, Yüksek Çözünürlüklü Kütle spektrumunu elde etmek için kullanılmıştır. NMR spektrumları (^1H and ^{13}C), Agilent VNMR 500 MHz NMR spektrometresinden elde edilmiş, FT-IR spektrumları Perkin-Elmer spektrometresi ile kaydedilmiştir. Varian Cary Eclipse florofotometre, uyarılma/emisyon (dalga boyu 670 nm/650 nm) ile floresans spektrumlarından yararlanılmış ve yarıklar sırasıyla 5 nm/10 nm olarak

ayarlanmıştır. UV–gör ölçümleri Agilent 8453 spektrofotometre ile 25 °C'de tamamlanmıştır.

3.2 Merkaptopropiyonik Asit ile Türevlendirilmiş Kromenilyum-Siyanin Tabanlı Floresan Sensörün (NIR8) Sentezi

3.2.1 CS2 sentezi

CS2, Şekil 3.1'de gösterildiği gibi literatüre [44,45] uygun sentez adımları takip edilerek 3-dietilaminofenol ve ftalik anhidritten başlayarak sentezlenmiştir.

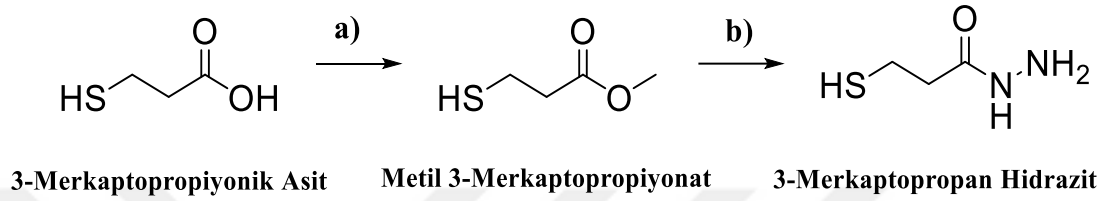


Şekil 3.1 : 3-dietilaminofenol ve ftalik anhidritten başlayan CS2'nin sentetik mekanizması. a) Toluen b) i. Sikloheksanon, H₂SO₄ ii. HClO₄ c) Fischer Aldehit, asetik anhidrit.

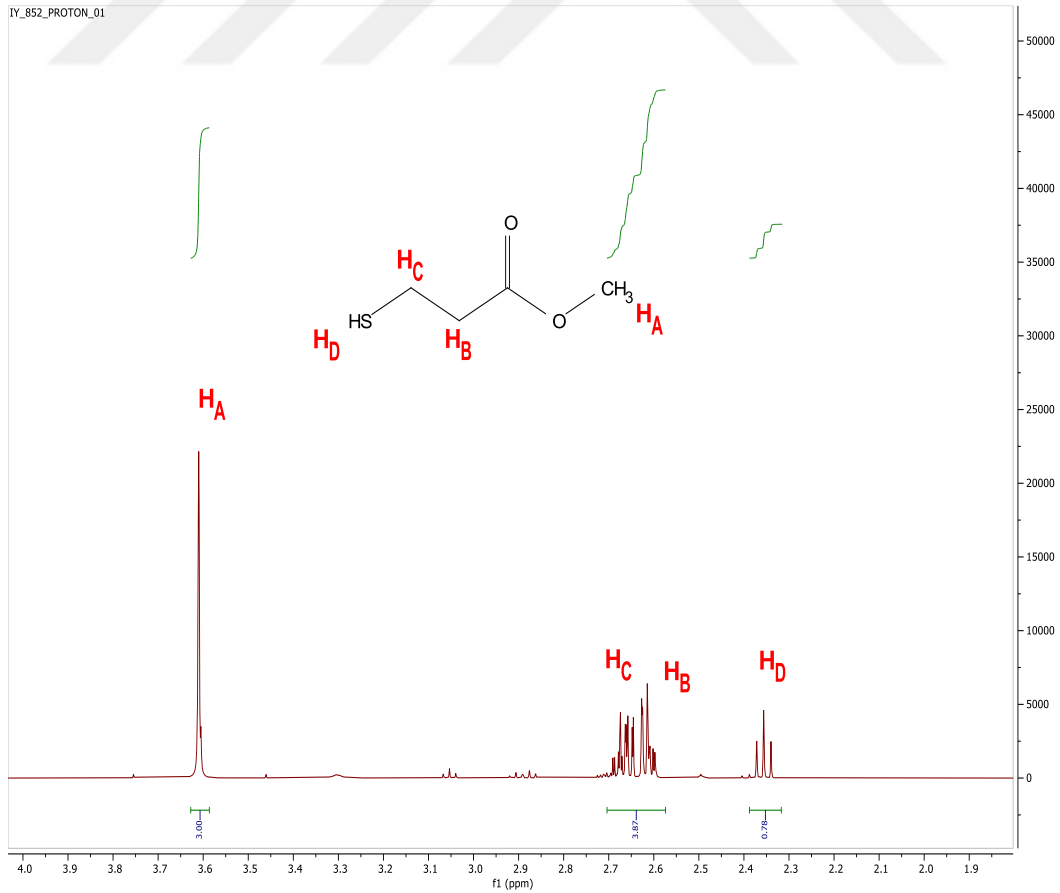
3.2.2 3-Merkaptopropan hidrazitin sentezi

Şekil 3.2, literatüre göre sentezlenen Metil 3-merkaptopropiyonattan [46] 3-merkaptopropan hidrazitin [47] sentetik prosedürünü göstermektedir. 3-Merkaptopropiyonik asit (3,18 g, 0,03 mol) ile p-toluen sülfonik asit (10 mg, katalitik miktar) 100 mL kuru-MeOH içerisinde çözüldü ve 12 saat boyunca geri akış altında 80°C'ye ısıtıldı. MeOH vakumda buharlaştırıldıktan sonra tortu, dietil eter (50 mL) içerisine alındı, doymuş NaHCO₃ (50 mL) ve su (50 mL) ile ekstraksiyon tamamlandı ve MgSO₄ ile kurutuldu. Nihai ürün olan (metil 3-merkaptopropiyonat), dietil eter buharlaştırıldığında berrak bir sıvı olarak elde edildi. Karakterizasyonu NMR (Şekil 3.3 ve 3.4) ve IR (Şekil 3.5) ile tamamlandı. Daha sonra metil 3-merkaptopropiyonat (10 g, 83 mmol), mono-hidrazin hidrat 7,5 mL (200 mmol, 2,4 ekiv.) ve 30 mL kuru-MeOH karıştırılarak gece boyunca oda sıcaklığında reaksiyon devam ettirildi. MeOH'nin buharlaştırılmasından sonra, kalıntı dietileter:metanol (8:2 v/v) karışımı

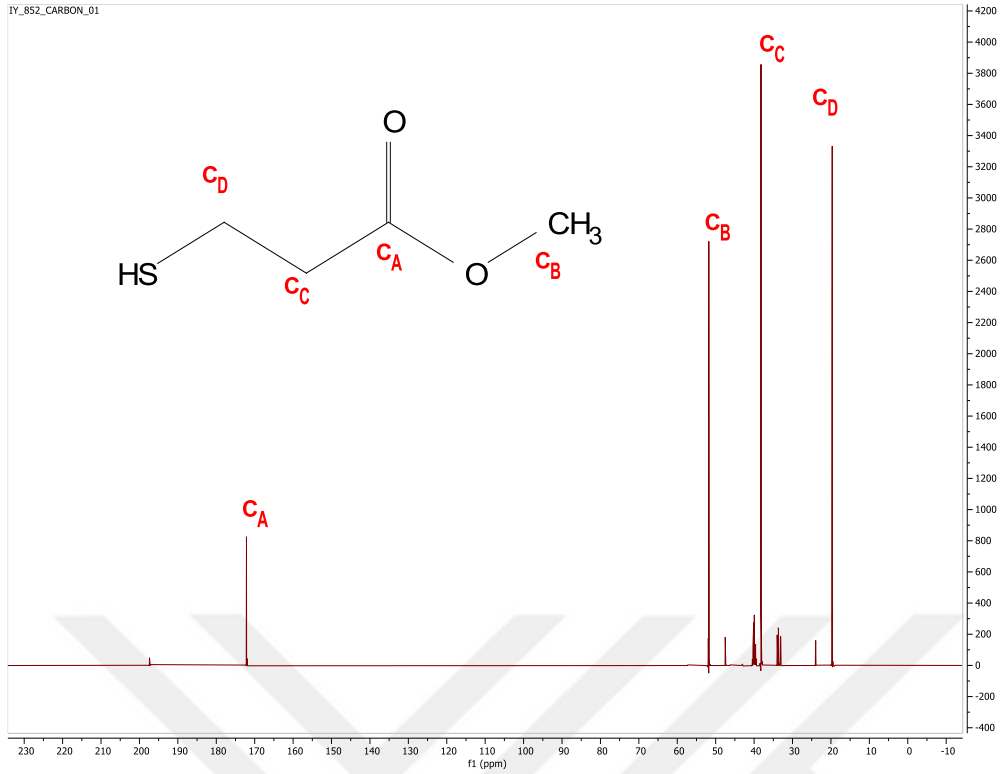
içinde flaş kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-Merkaptopropan hidrazit bileşiği renksiz yağ olarak başarıyla elde edildi (Şekil 3.2). Karakterizasyonu NMR (Şekil 3.6 ve 3.7) ve IR (Şekil 3.8) ile tamamlandı. Verim: %40. $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1}) = 3322, 3289, 3183, 1667, 1626, 1532, 1427, 1280, 1109, 1045, 860$. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,12 (s, 1H), 3,99 (d, 2H), 3,14 (s, 1H), 2,62 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,31 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170.79 (d, $J = 1.7$ Hz), 37.86, 20.37.



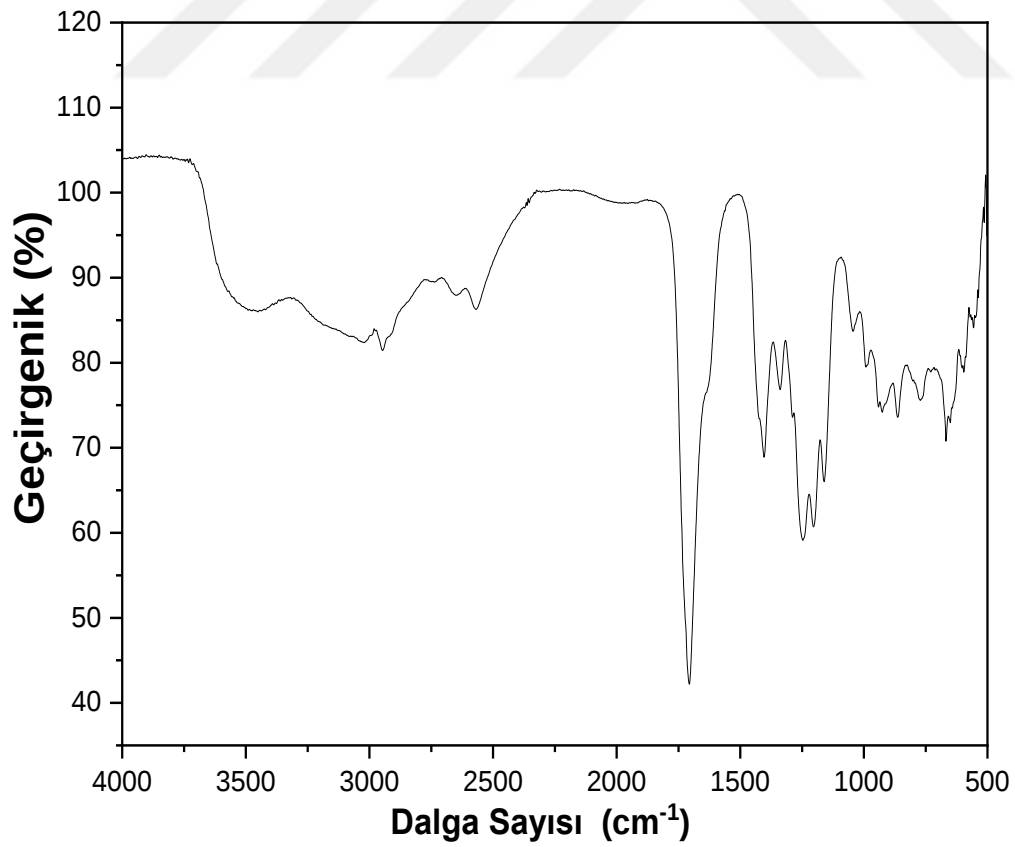
Şekil 3.2 : 3-Merkaptopropan hidrazitin 3-Merkaptopropiyonik asitten başlayan sentetik mekanizması. a) i.MeOH, ii.*p*-TSOH b) i.MeOH, ii. NH_2NH_2 .



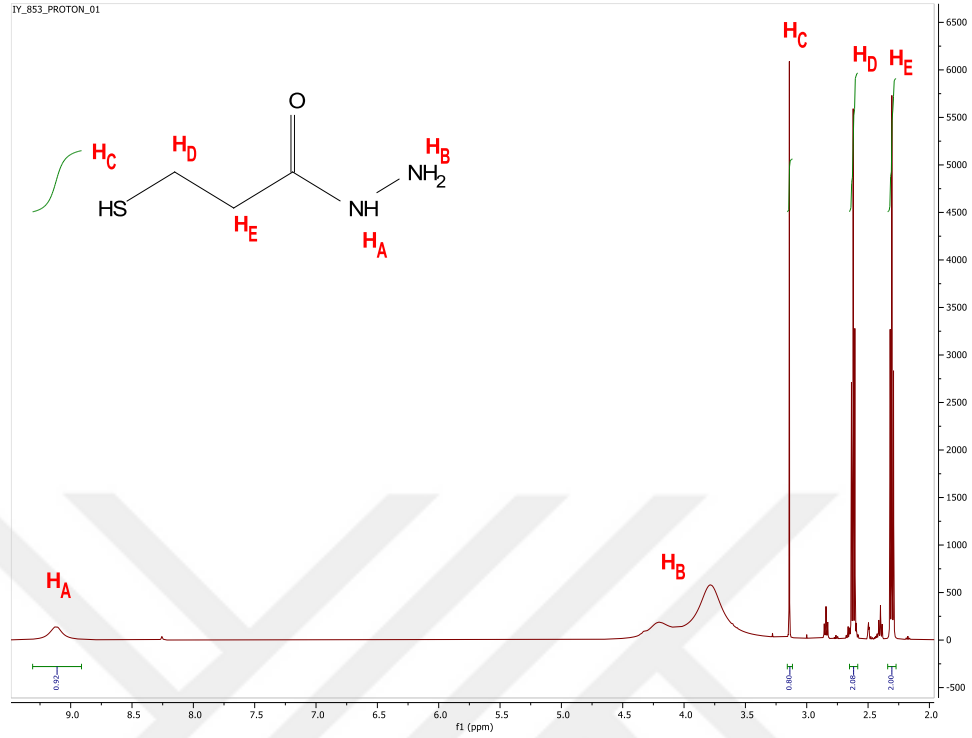
Şekil 3.3 : Metil 3-merkaptopropiyonatın ^1H -NMR spektrumu.



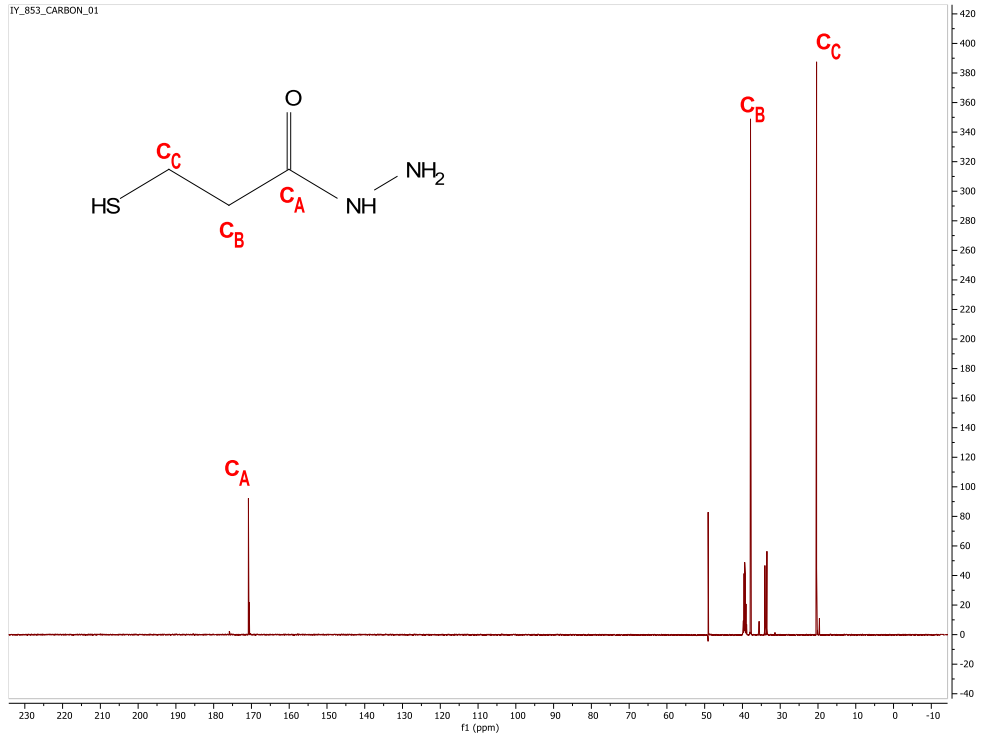
Şekil 3.4 : Metil 3-merkaptopropiyonatin ¹³C-NMR spektrumu.



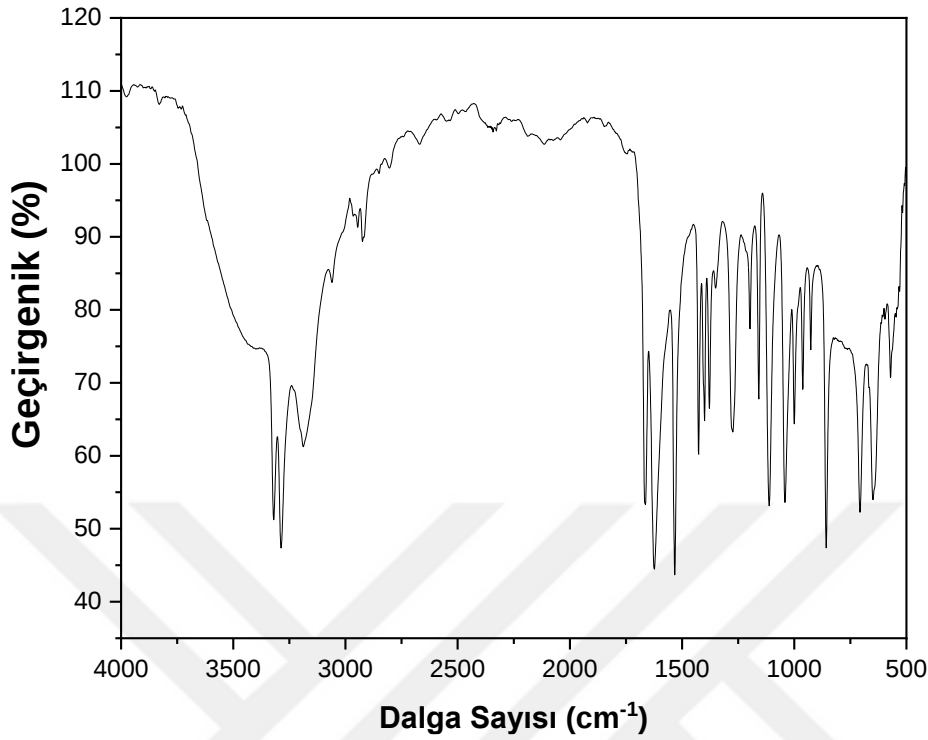
Şekil 3.5 : Metil 3-merkaptopropiyonatin FT-IR spektrumu.



Şekil 3.6 : 3-merkaptopropan hidrazitin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 3.7 : 3-merkaptopropan hidrazitin ^{13}C -NMR spektrumu.

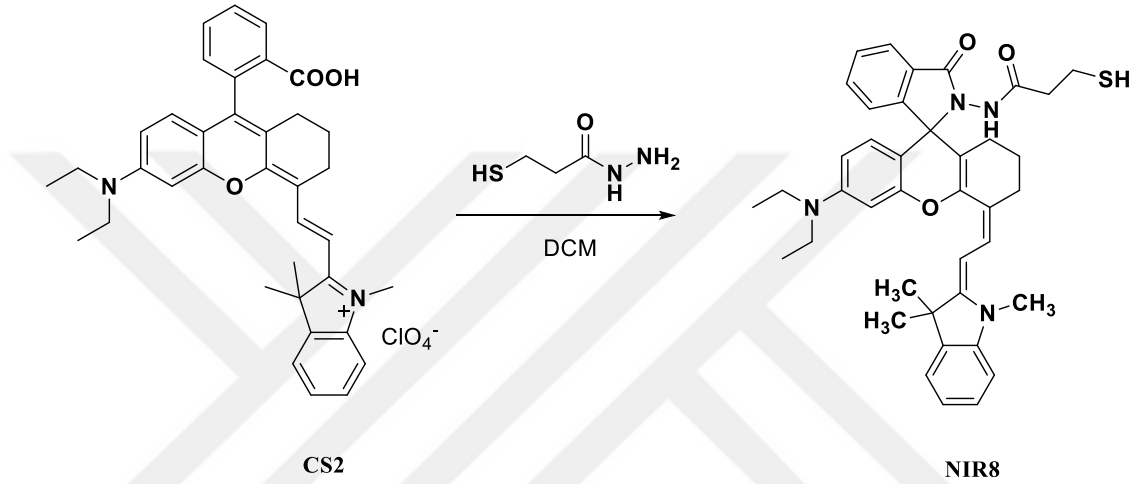


Şekil 3.8 : 3-merkaptopropan hidrazitin FT-IR spektrumu.

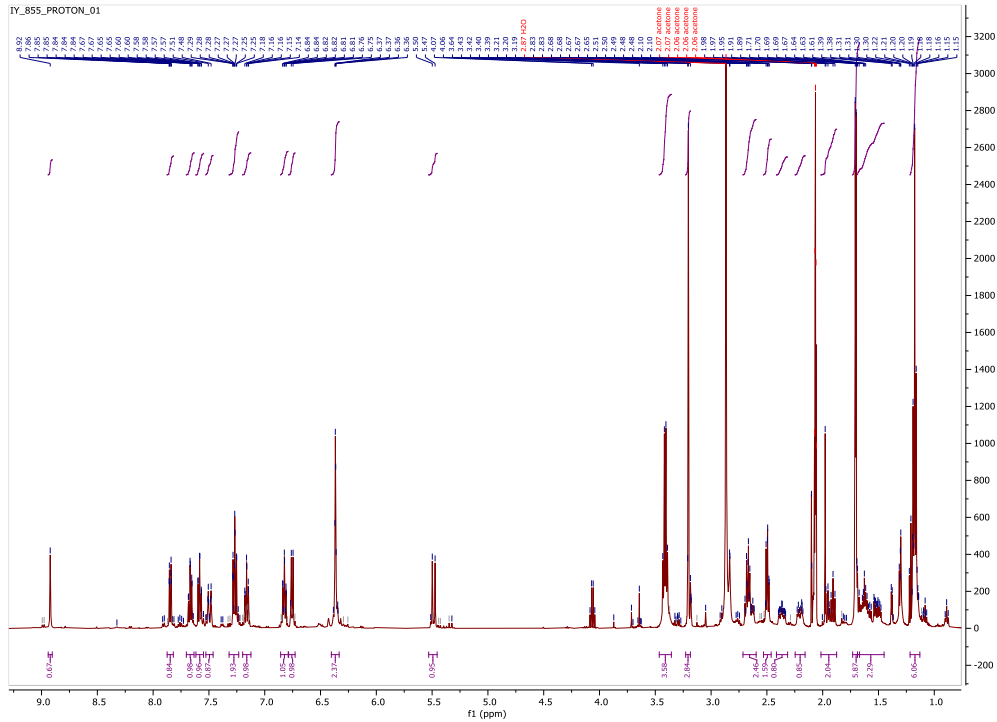
3.2.3 Ligand (NIR8) sentezi

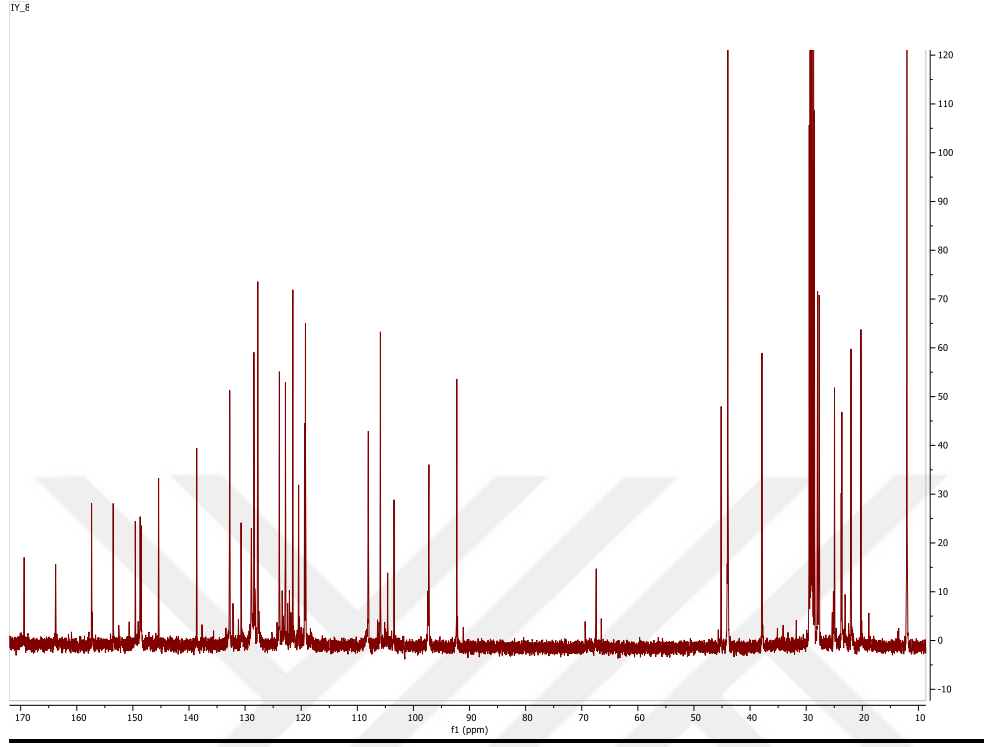
Şekil 3.9, sensör **NIR8**'in sentez şemasını göstermektedir. 8 mL kuru DCM içerisinde çözülen BOP reaktifi (70 mg, 0.158 mmol), 42 μ L trietilamin ve CS₂ (100 mg, 0.179 mmol), yuvarlak dipli şişeye konuldu ve N₂ altında 30 dakika karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına damla damla 3-merkaptopropan hidrazit (183 mg, 1.52 mmol) ilave edildi ve reaksiyon, oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çözücü döner buharlaştırıcıda buharlaştırıldı ve geri kalan madde, etil asetat:hekzan:triethylamin (50/25/1, v/v/v) karışımı kullanılarak silika üzerinde kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırıldı. Verim %45. Reaksiyon şeması Şekil 3.9'da gösterilmektedir. ¹H-NMR (Şekil 3.10), ¹³C-NMR (Şekil 3.11), FT-IR (Şekil 3.12) ve HRMS (Şekil 3.13) yöntemleri ile karakterizasyonu başarılı bir şekilde tamamlandı. $\nu_{\max}/(\text{cm}^{-1}) = 2966, 2935, 2360, 1622, 1550, 1436, 1365, 1247, 1043, 921, 802, 620$; ¹H-NMR (500 MHz, Aseton-d₆) δ 8.92 (s, 1H), 7.85 (dt, J = 7.6, 1.0 Hz, 1H), 7.67 (td, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 7.58 (td, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.53 – 7.46 (m, 1H), 7.32 – 7.23 (m, 2H), 7.16 (td, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.82 (td, J = 7.4, 0.9 Hz, 1H),

6.75 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.37 (t, J = 1.7 Hz, 2H), 5.49 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 3.41 (q, J = 7.1 Hz, 4H), 3.20 (s, 3H), 2.71 – 2.60 (m, 2H), 2.53 – 2.46 (m, 2H), 2.36 (m, J = 15.0, 10.0, 4.7, 2.0 Hz, 1H), 2.25 – 2.16 (m, 1H), 2.02 – 1.87 (m, 2H), 1.70 (d, J = 3.7 Hz, 6H), 1.69 – 1.45 (m, 2H), 1.18 (t, J = 7.0 Hz, 6H); ^{13}C NMR (126 MHz, Aseton- d_6) δ 205.39, 132.74, 128.88, 128.43, 127.73, 123.89, 122.82, 121.48, 119.24, 108.05, 105.89, 97.24, 92.27, 43.96, 37.88, 28.49, 27.96, 27.68, 24.95, 23.63, 22.01, 20.23, 12.08, 12.03; HRMS (m/z): ($\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$) için hesaplanan 660.31340, bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$: 661.31940.

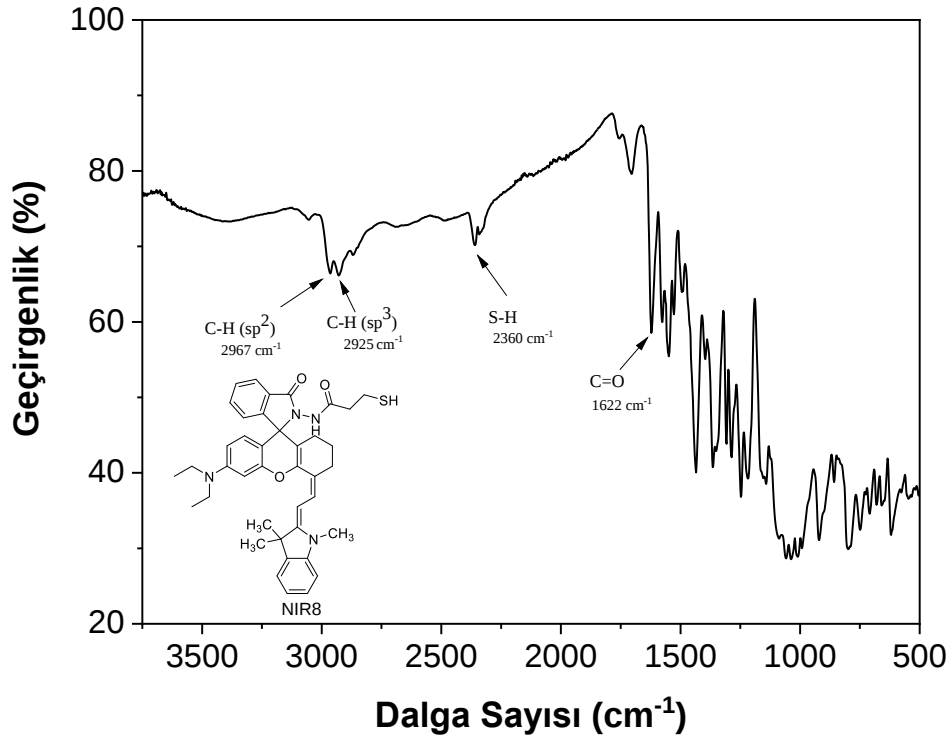


Şekil 3.9 : CS2'den başlayarak NIR8 sentezi.

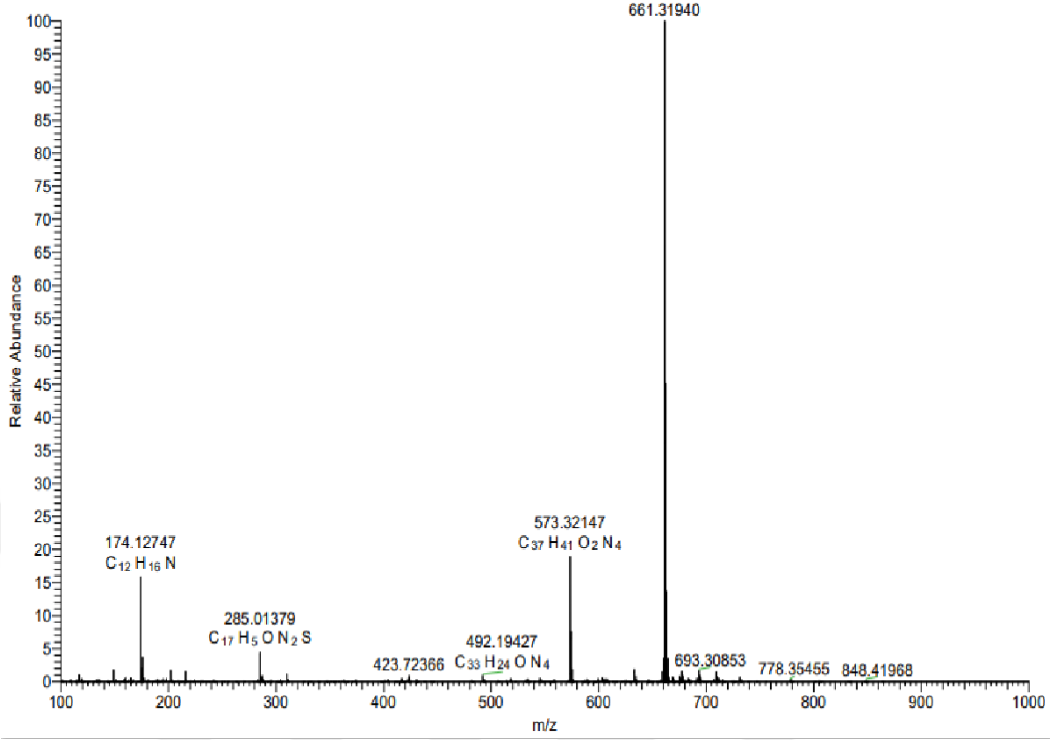




Şekil 3.11 : NIR8'in ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 3.12 : NIR8'in FT-IR spektrumu.



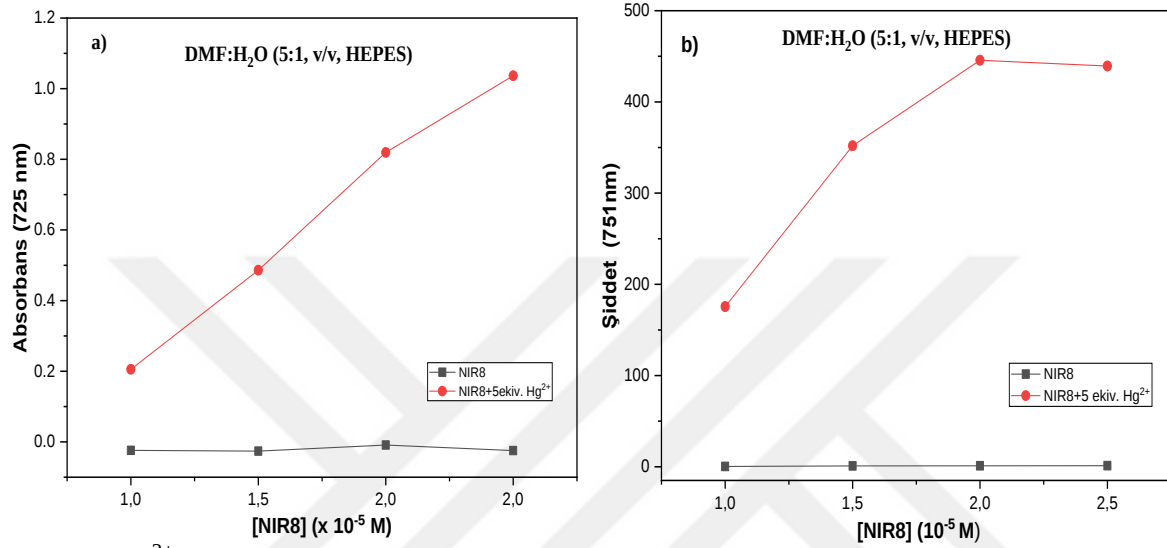
Şekil 3.13 : NIR8'in HRMS spektrumu.

3.3 Ölçüm Metodu Optimizasyonu

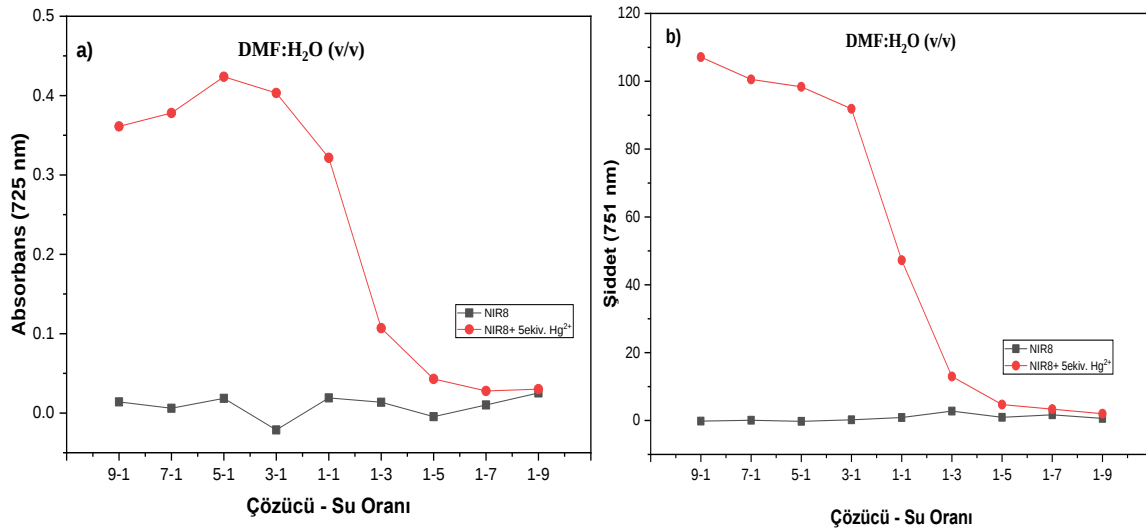
Tuzların, ($5,0 \times 10^{-2}$ M) stok çözeltileri, nitrat (Li^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} and Hg^{2+}), klorür (Zn^{2+}), perklorat (Na^+ , Sr^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+}) tuzları çift distile su ile ve **NIR8** sensörünün stok çözeltisi ($5,0 \times 10^{-4}$ M) ise DMF içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Şekil 3.14'te (a, b) gösterildiği gibi çalışma koşullarını belirlemek amacıyla yapılan optimizasyon çalışması sonucunda sensörün küvetteki konsantrasyonu için $2,0 \times 10^{-5}$ M seçilmiştir. DMF:H₂O (v/v) oranının en iyi koşullarını seçmek için çeşitli denemelerle tamamlanmıştır. Şekil 3.15'te (a, b) görüldüğü gibi, 1:1, 5:1 ve 9:1 oranları daha iyi tepkiler vermektedir. Bazı metaller için bu oranlarla seçicilik çalışmaları yapıldığında sensörün cıva iyonuna karşı seçiciliği açısından en uygun sonuç 5:1 oranında elde edilmiştir (Şekil 3.16). Bu nedenle DMF:H₂O, 5:1 (v/v) olarak seçilmiştir. Ayrıca, uyarılma dalga boyu tespit çalışması yapılarak 670 nm olarak seçilmiştir. Bu dalga boyunda sinyallerde girişim olmadan yüksek şiddet elde edilmiştir. (Şekil 3.17). HEPES çözeltisi ile tüm çözeltilerin pH'ı 7,4'e ayarlanmıştır. Küvetteki HEPES derişimi $5,0 \times 10^{-4}$ M olarak belirlenmiştir. Tüm UV-Gör ve floresan spektrofotometrik ölçümler, 3 mL'lik kuvars

küvette ve oda sıcaklığında üç tekrarlı yapılmıştır. Gerçek numune çalışmaları için, Hg^{2+} kontamine numuneler, $5,0 \times 10^{-2}$ M stok cıva nitrat çözeltisinin musluk, göl ve içme suyu ile $2,5 \times 10^{-3}$ M'ye kadar seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Küvet içerisine eklemeler, seyreltilmiş ve Hg^{2+} kontamine numune solüsyonlarından yapılmıştır.

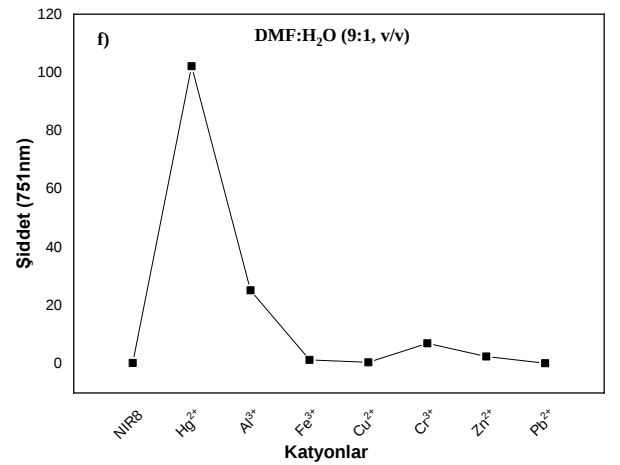
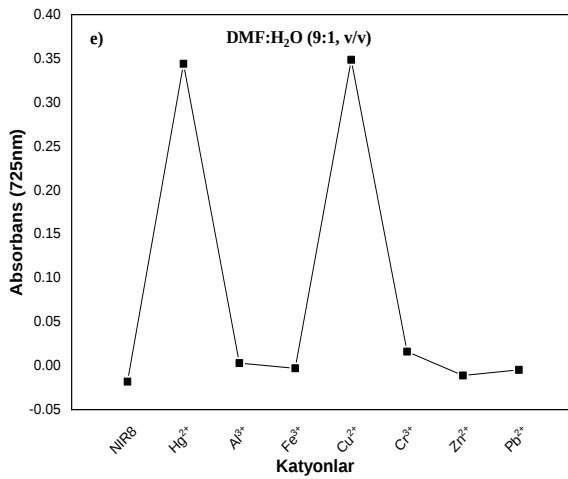
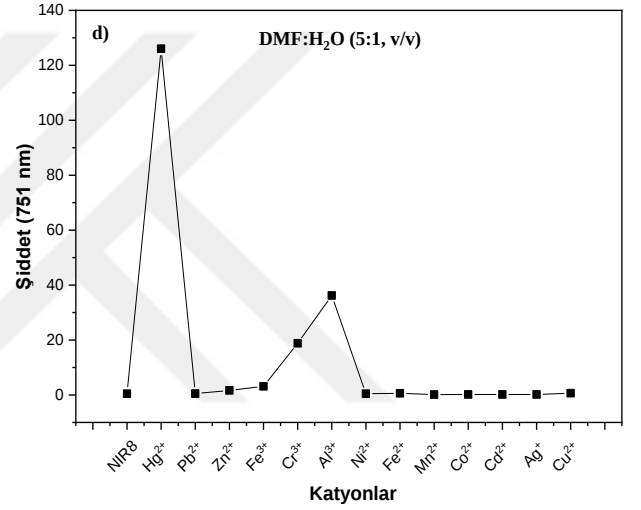
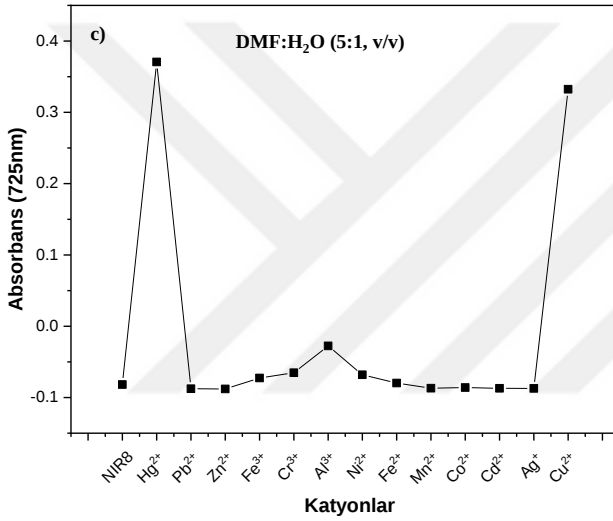
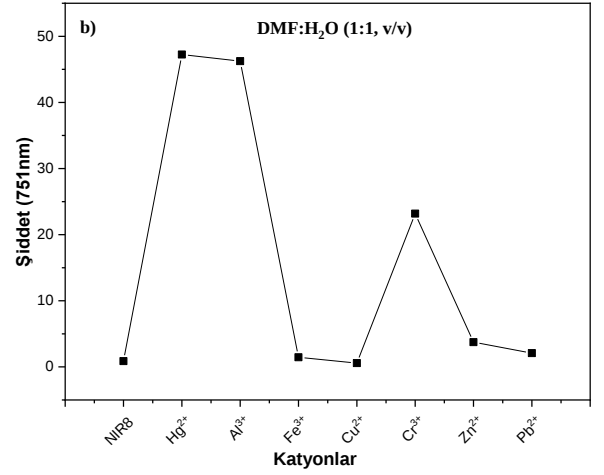
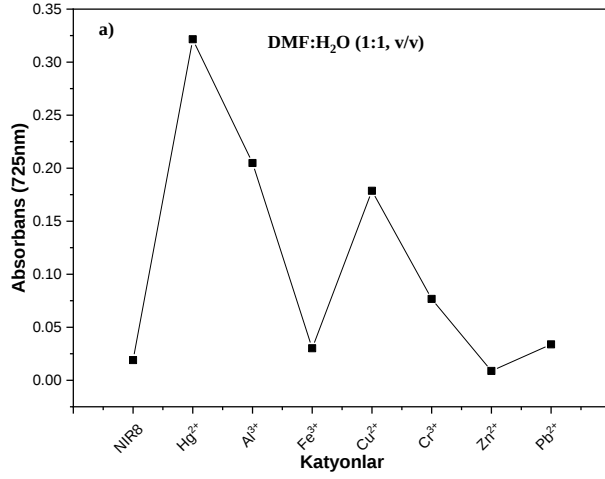
Şekil 3.14 : DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide 5,0 ekiv.



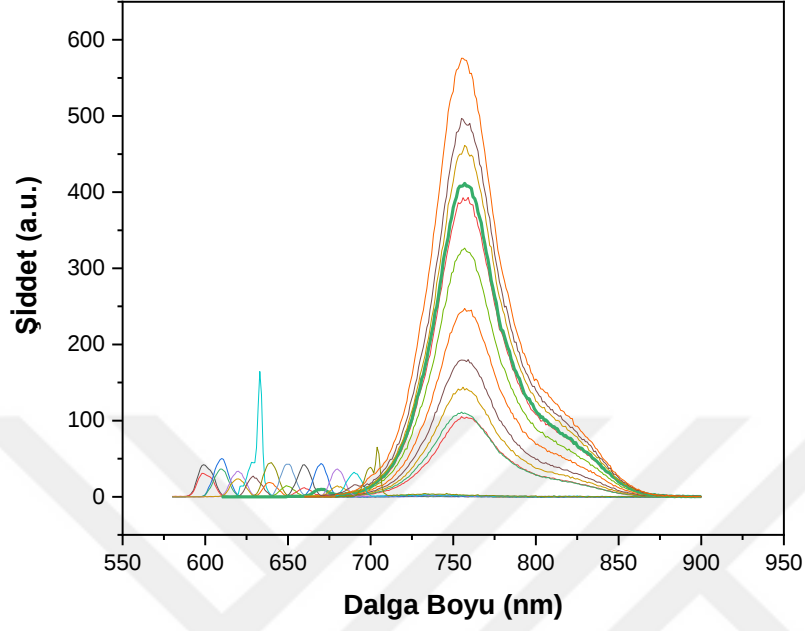
Hg^{2+} varlığında uygun NIR8 konsantrasyonunun belirlenmesi için a) UV-Gör ve b) Floresans ölçümleri.



Şekil 3.15 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O farklı oranlarının tamponlu çözeltisinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığında çözücü-su oranlarının belirlenmesi için a) UV-Gör ve b) Floresans ölçümleri.



Şekil 3.16 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (1:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg²⁺ varlığındaki a) UV-Gör ve b) Floresan, DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg²⁺ varlığındaki c) UV-Gör ve d) Floresan, DMF:H₂O (9:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg²⁺ varlığındaki e) UV-Gör ve f) Floresan ölçümleri.



Şekil 3.17 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde 5,0 ekiv. Hg²⁺ varlığındaki 600-700 nm aralığında uyarma dalga boyunun belirlenmesi.

4. SONUÇ VE YORUMLAR

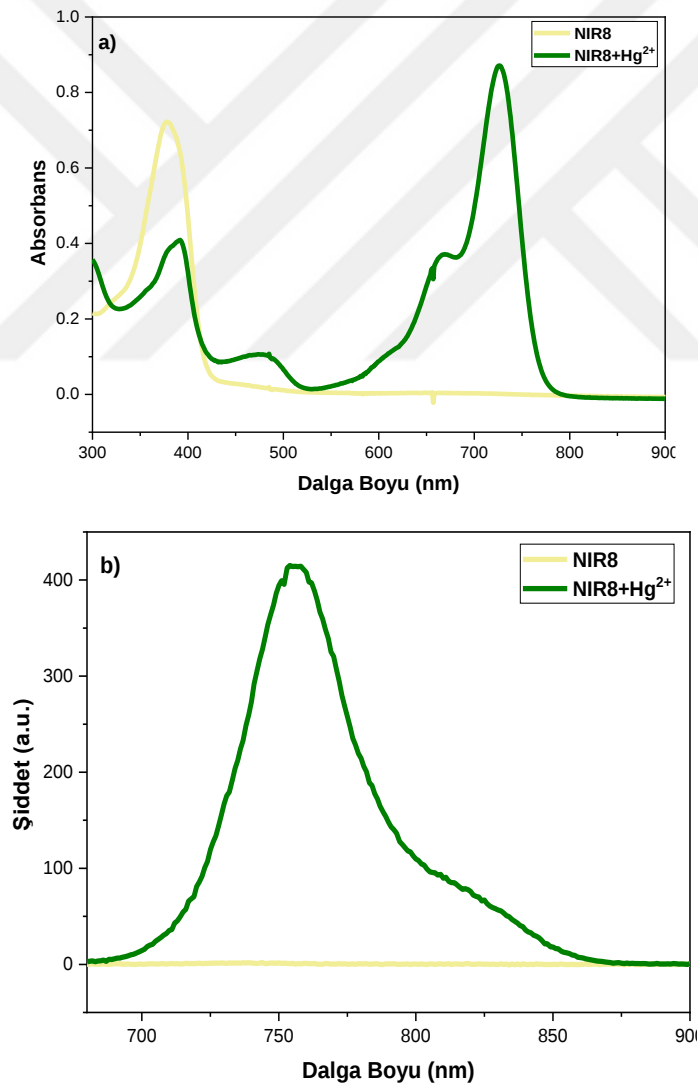
4.1 Sensör Bileşiğı NIR8'in Karakterizasyonu

NIR8 sentezlendikten sonra ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, FTIR ve HRMS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir. ^1H -NMR spektrumunda 9 ila 5,5 ppm arasında 13 aromatik proton piki başarıyla gözlenmiş ve sensörün kromenilyum kısmını Fischer'in indol tarafına bağlayan alken protonuna karşılık gelen 5,49 ppm'deki dublet piki, sensör platformunun başarı ile sentezlendiğini göstermektedir. Fischer tarafında 3-H entegre metil amin protonları ve 6-H entegre metil protonları sırasıyla 3,20 ve 1,70 ppm'de, ayrıca 4-H ve 6-H entegre dietilamin protonları sırasıyla 3,41 ve 1,18 ppm'de görülmüştür. Son olarak merkaptto hidrazit yapısının bağlı olduğu, merkaptto protonlarının 2,02 ila 1,45 ppm arasında olması ile de kanıtlanmıştır. ^{13}C -NMR spektrumunda ise 169, 163 ve 67 ppm'de 2 amit karbonil ve spiroolaktam karbon pikleri gibi sensörün yapısal bütünlüğünü kanıtlayan önemli pikler başarılı bir şekilde görülmüştür. FT-IR spektrumunda sırasıyla 1622 ve 2360 cm^{-1} 'de amit karbonillerine ve tiyollere karşılık gelen bantların varlığı ve HRMS spektrumunda tam kütlesi 660.3134 olan **NIR8**'in 661.3194 olarak görülmesi analiz sırasında fazladan bir protonun bağlandığını göstermektedir. Bütün bu sonuçlar sensörün başarılı bir şekilde sentezlendiğini kanıtlamaktadır.

4.2 NIR8'in spektroskopik özellikleri

Kromenilyum-siyanin boyaları, spiroolaktamın halka açma işlemi olarak adlandırılan, rodamin boyaları ile aynı algılama mekanizmasına sahiptir. Bu açılma mekanizması, molekülde daha fazla konjuge π elektron sistemine sahip olması nedeniyle, rodaminlerden farklı olarak kromenilyum-siyanin boyalarında absorpsiyon ve emisyon yakın kızılötesi bölgede gözlenir. Kromenilyum-siyanin türevi bir floresan sensör olan **NIR8**'in, Şekil 4.1'de gösterildiği gibi yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon veya emisyon sinyali yoktur. Sadece UV-Gör spektrumunda, yüksek enerji bölgesi

olarak kabul edilen 380 nm'de bir absorpsiyon bandı vardır, bu da molekülün π elektron sisteminin engellendiğini gösterir. Ancak, **NIR8** Hg^{2+} ile etkileşime girdiğinde, spirolaktam halkasının açılma süreci devreye girer ve bu tetikleme ile molekül, yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyon sağlayan daha düşük enerjili duruma dönüşür. UV-Gör spektrumunda, spirolaktam halkasının açılmasından sonra 725 nm ve 485 nm'de sinyal artışları ve 380 nm'de sinyal azalması gözlenir. Kısa dalga boyu tarafında 725 nm'de bir omuz bulunan bant, sırasıyla S_0 'dan S_1 'e geçişin 0-0 ve 0-1 titreşim bantlarını gösterir. Ayrıca, 485 nm'deki daha yüksek enerjili bant S_0 'dan S_3 'e geçişi gösterir [48]. UV-Gör spektrumuna ek olarak, spirolaktam halkası açık olduğunda, düşük konjuge π sistemden daha yüksek konjuge olana geçiş nedeniyle floresans spektrometresinde 755 nm'de güçlü bir emisyon artışı gözlenir.



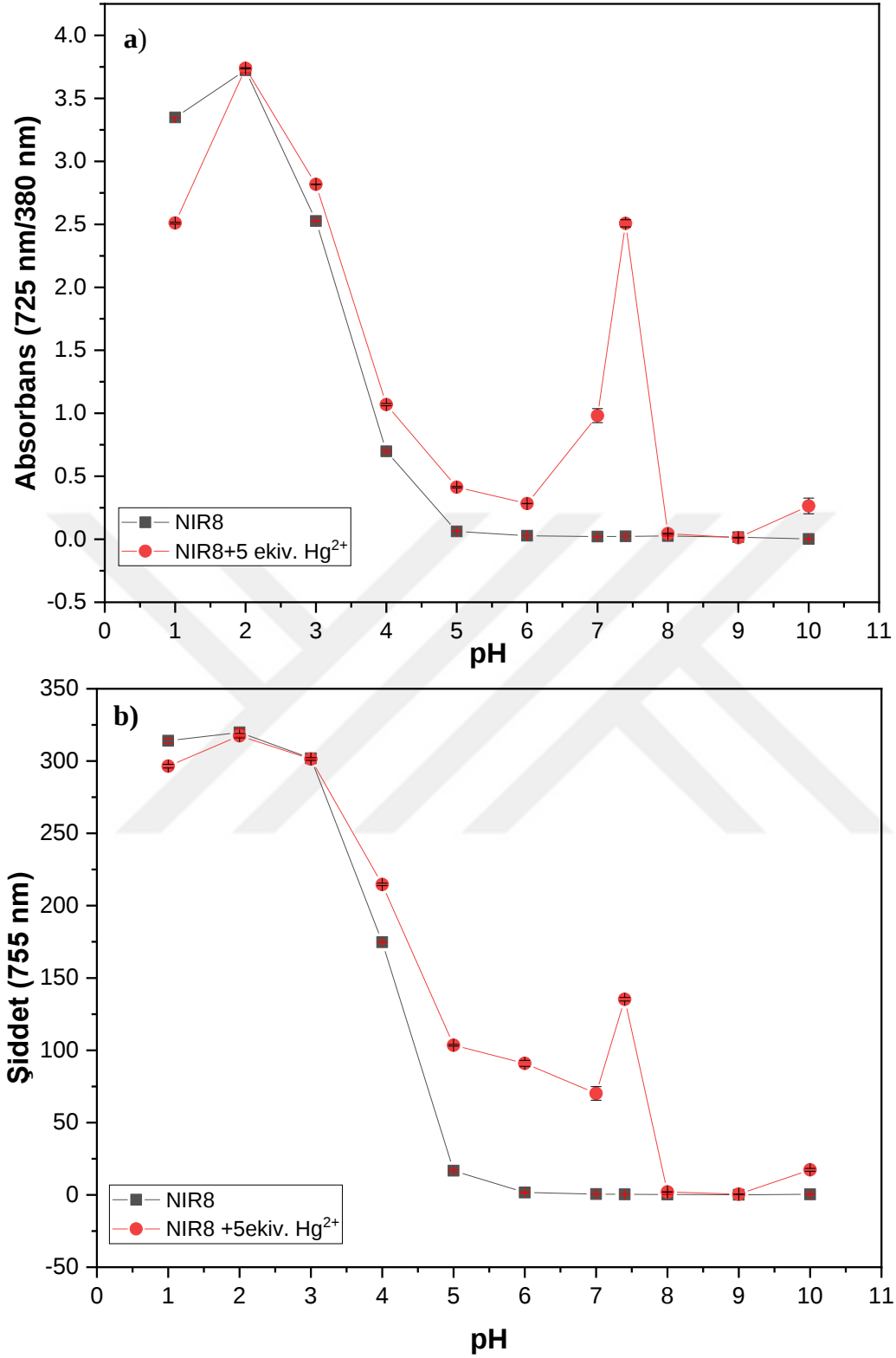
Şekil 4.1 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide 5,0 ekiv. Hg^{2+} varlığında a) UV-Gör ve b) Floresans spektrumları.

4.3 pH Çalışması

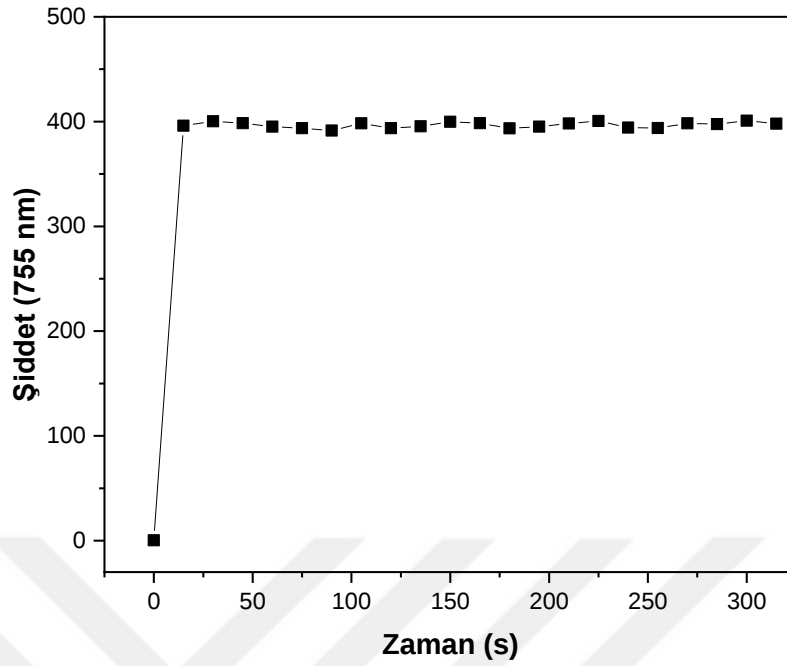
Floresan sensörlerin tepki mekanizmaları, kapalı spirohalka yapısı ile yakın kızılötesi floroforun halka açık formları arasındaki yapısal değişikliklere dayanmaktadır. Bu sensörler, molekül içi konjugasyonu önleyen kapalı amit yapısına sahip spirosiklik yapı nedeniyle analitin yokluğu ve nötr veya bazik pH değerlerinde floresan değildir. Ancak analitin eklenmesiyle veya asidik pH'da halka açılması meydana gelir ve tüm molekül konjugasyona sahip olur. Genişlemiş konjuge yapıya sahip bu molekül yakın kızılötesi dalga boylarında yüksek derecede floresan sergiler. Bu nedenle, farklı pH'larda sensör molekülünün davranışının araştırılması, bir algılama prosesi için uygun pH koşullarının belirlenmesi açısından çok önemlidir [49,50]. Bu çalışmada, DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu içerisindeki ($2,0 \times 10^{-5}$ M) sensörün, 1'den 10'a kadar çeşitli pH değerlerindeki tampon çözeltilerindeki pH bağımlılığı, Hg²⁺ iyonlarının ($1,0 \times 10^{-4}$ M Hg²⁺) varlığında ve yokluğunda incelenmiştir. Sensörün bu çözeltilerdeki absorpsiyon ve emisyon şiddet değişiklikleri kaydedilip değerlendirilmiştir (Şekil 4.2). Kromenilyum siyanin türevlerinde, asidik pH değerlerinde spirosiklik (floresan olmayan) yapıdan ziyade, halka açık (floresan) amid formuna geçiş yaptığı bilinmektedir. Yapılan çalışmada, bu durumun Hg²⁺ eklenmesiyle tetiklenmesi istendiğinden, asidik ortam seçilmemiştir. **NIR8**, Hg²⁺ varlığında pH 7,4'te güçlü absorbans ve floresans yoğunluğu değişimine sahiptir. Dolayısıyla bu değer, sonuçların kayda değer değişimi, spirolaktam halkasındaki açma-kapama mekanizmasının çalışması ve ayrıca hücre ortamı ile uyumlu olması nedeniyle seçilmiştir.

4.4 Tepki Süresi

Floresan sensörler için kısa sürede ve kararlı yanıt vermek çok önemlidir. Bu nedenle $2,0 \times 10^{-5}$ M **NIR8** (DMF:H₂O, 5:1, v/v, HEPES pH 7,4) tamponlu çözeltisine 5 eş değer Hg²⁺ sulu çözeltisi eklenerek bir tepki süresi belirlendi ve yanıtlar, floresans spektrometresi kullanılarak 5 dakika boyunca 15 saniyelik periyotlarla ölçüldü. Sonuçlara göre Şekil 4.3'teki gibi sensörün gerçek zamanlı olarak cevap verdiği ve bu süre boyunca sabit kaldığı görülmektedir. Dolayısıyla **NIR8** sensörünün bu özelliği sensör uygulamalarında mükemmel bir avantaj sağlamaktadır.



Şekil 4.2 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltilerinde farklı pH değerlerinde 5,0 ekiv. Hg^{2+} yokluğunda ve varlığında a) absorbans ve b) floresan yanıtı.

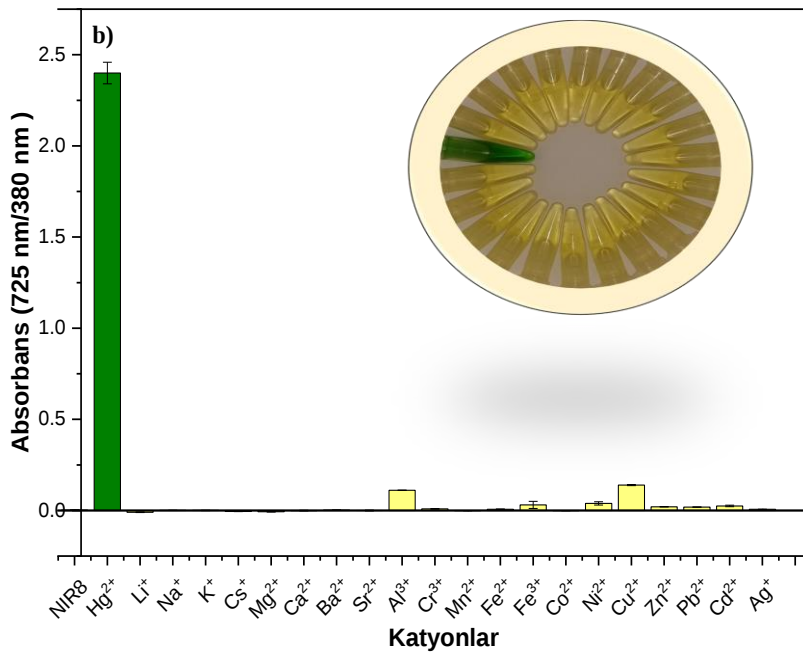
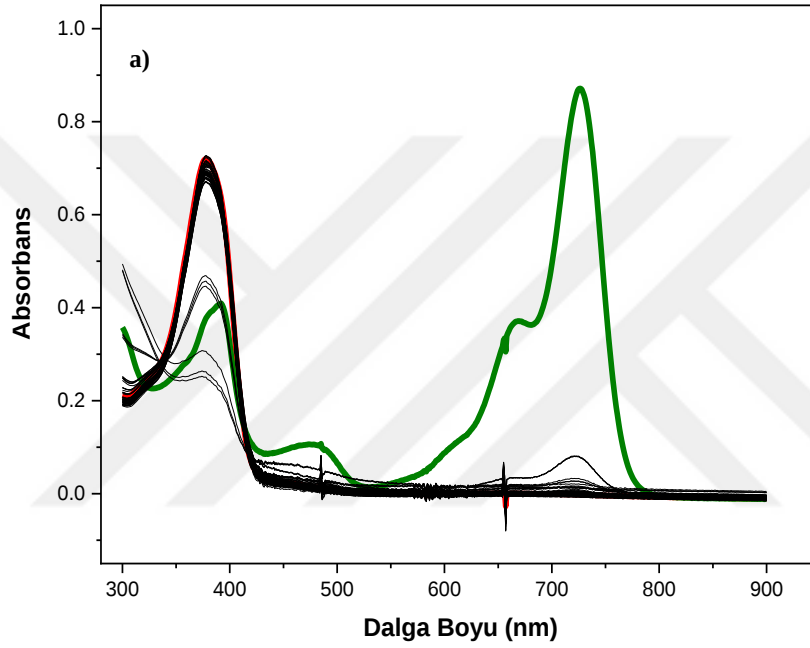


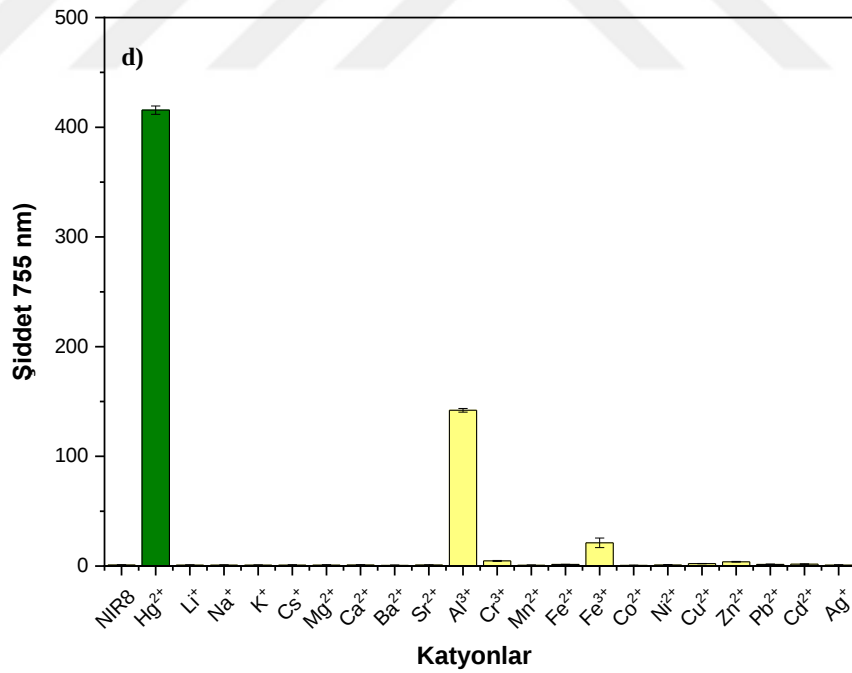
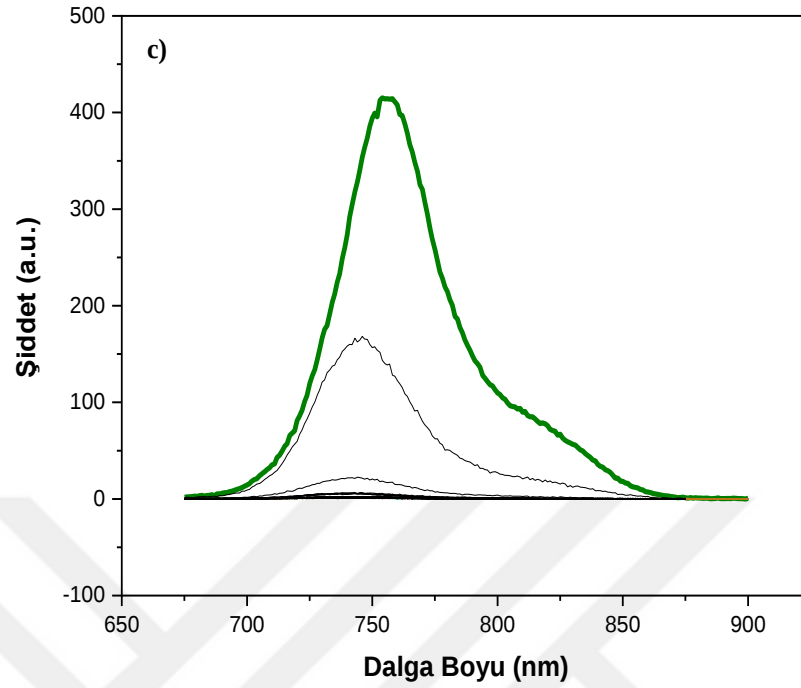
Şekil 4.3 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu ortamdaki NIR8 ve Hg²⁺ arasındaki reaksiyonun tepki süresini belirlemek için 5,0 ekiv. Hg²⁺ ilavesinden sonraki 5 dakika boyunca alınmış şiddet ölçümleri.

4.5 Seçicilik ve Girişim

Kolorimetrik ve florimetrik sensor uygulamalarında geliştirilen probun seçiciliği oldukça kritiktir. Bu kapsamda, NIR8 probunun farklı katyonlara yönelik seçicilik çalışması gerçekleştirilmiştir. UV-Gör ve floresan spektrometrik yöntemler kullanılarak, DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözelti içindeki $2,0 \times 10^{-5}$ M NIR8 çözeltisine belirli katyonlar (Li⁺, K⁺, Cs⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺, Al³⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Ag⁺, Cd²⁺, Pb²⁺ ve Hg²⁺ iyonlarının nitrat tuzlarının, Na⁺, Sr²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ iyonlarının perklorat tuzlarının ve Zn²⁺ iyonunun klorür tuzunun $5,0 \times 10^{-2}$ M çözeltileri) 5 eş değer olarak eklenmiştir. Şekil 4.4'de gösterildiği gibi absorbans (725 nm/380 nm orantısal olarak) ve floresan sinyallerindeki (755 nm'de) değişiklikler kaydedilerek incelenmiştir. NIR8'in Hg²⁺ ile reaksiyonundan sonra absorbans oranının (A_{725}/A_{380}) diğer analitler ile karşılaştırıldığında nispeten yüksek olduğu ve floresans yoğunluğunun belirgin şekilde arttığı görülmüştür. Öte yandan, sensörün diğer katyonlarla absorbansı ve floresan şiddeti değişmemiştir (Cu²⁺ hariç, UV-Gör spektrofotometrisi yapılırken 1 eş değer EDTA ile maskelendi). Bu sonuçlar,

NIR8 sensörünün aynı kategorideki diğer rekabetçi katyonlar arasında Hg^{2+} katyonuna karşı nispeten yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermektedir. Spirolaktam halkasının analitler ile etkileşimi ve halka kapalı ve açık formları arasındaki denge nedeniyle kromenilyum-siyanin boyalarında renk değişiklikleri meydana gelir [31]. DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) çözeltisindeki sensörün rengi, Hg^{2+} varlığında açık sarıdan koyu yeşile değişirken diğer katyonların varlığında herhangi bir renk değişikliği olmamıştır. Böylece bir numunedeki Hg^{2+} iyonunun herhangi bir cihaz kullanmadan çıplak gözle algılanması mümkün olmaktadır.



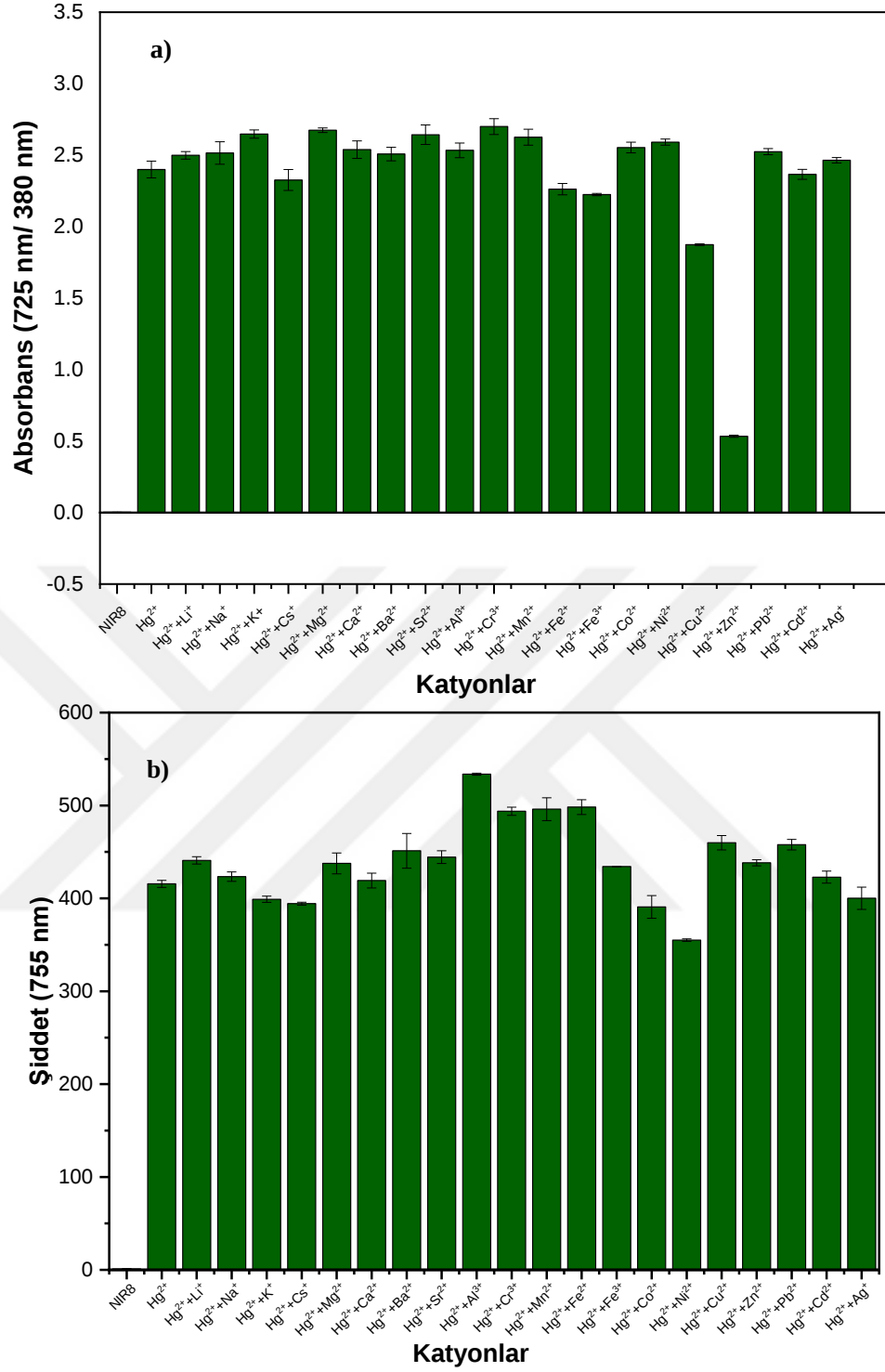


Şekil 4.4 : DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7.4) tamponlu çözeltide 5,0 ekiv. Hg²⁺ veya diğer metal katyonları varlığında **NIR8**'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) a) absorpsiyon değişiklikleri ve b) UV-Gör spektrumları ve renkli çözeltileri; **NIR8** çözeltisinin ve metal katyonları eklenmiş **NIR8** çözeltisinin c) floresan şiddeti değişiklikleri ve d) floresan spektrumları.

NIR8 sensörü için diğer katyonların girişimini daha fazla araştırmak için farklı katyonlara yönelik, UV-Gör ve floresan spektrometrik yöntemlerle, DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) içindeki $2,0 \times 10^{-5}$ M sensöre farklı katyonlar (Li⁺, K⁺, Cs⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺, Al³⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Ag⁺, Cd²⁺, Pb²⁺ ve Hg²⁺ iyonlarının nitrat tuzlarının, Na⁺, Sr²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ iyonlarının perkolarat tuzlarının ve Zn²⁺ iyonunun klorür tuzunun $5,0 \times 10^{-2}$ M çözeltileri) 5 eş değer olarak eklenmiştir (Şekil 4.5). Diğer katyonları içeren çözeltiye Hg²⁺ eklendikten sonra, çeşitli metal iyonları ve Hg²⁺ içeren sensör **NIR8** çözeltilerinin absorpsiyon oranı ve floresan şiddeti, çeşitli metal katyonları içeren sensör çözeltileriyle karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır (küçük bozuklukları ortadan kaldırmak adına, Zn için 0,5 eş değer 3-merkaptopropiyonik asit ve Fe³⁺ için 1 eş değer EDTA maskeleyici maddeleri kullanılmıştır). Dolayısıyla, bu sensör Hg²⁺ katyonuna diğer analitler ile karşılaştırıldığında oldukça güçlü sinyallerle yanıt verdiği görülmüş ve bu sensörün Hg²⁺ tanıma konusunda girişime maruz kalmadan çalıştığını göstermiştir.

4.6 Doğrusal Aralık ve Tespit Limiti

Oran belirleme, farklı absorpsiyon dalga boylarındaki yanıtların oranı hesaplanarak elde edilebilir. Orantısal sensörler, kendi kendini düzeltmeyi sağlama ve çeşitli çevresel faktörlerden kaynaklanan girişimi azaltma açısından avantajlara sahiptir, dolayısıyla orantısal sensörler yüksek duyarlılığa sahiptir [4]. $2,0 \times 10^{-5}$ M **NIR8** tampon çözeltisine (DMF:H₂O, 5:1 v/v, pH 7,4 HEPES) farklı miktarlarda Hg²⁺ ilave edilerek UV-Gör titrasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Hg²⁺ iyon konsantrasyonundaki kademeli artışla beraber, 725 nm'de absorpsiyon bandı artarken 380 nm'deki bandın azaldığı gözlemlenmiştir bu da kantitatif orantısal analiz (A₇₂₅/A₃₈₀) yapılmasına olanak sağlamıştır. Şekil 4.6 a) ve Şekil 4.6 b)'de olduğu gibi $2,01 \times 10^{-7}$ - $1,29 \times 10^{-4}$ M aralığında Hg²⁺ konsantrasyonuna karşı absorpsiyon oranı değerlerinin karekökü çizildiğinde iyi bir doğrusallık ($R^2 = 0,997$) bulunmuştur. LOD değeri, denklem (1) kullanılarak $4,93 \times 10^{-8}$ M olarak hesaplanmıştır; formülde SS kör ölçümlerin (n=20) standart sapması ve S kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir. Hg²⁺ katyonu yokluğunda **NIR8** sensör çözeltisinin floresans emisyonu yoktur. Ancak $2,0 \times 10^{-5}$ M **NIR8** DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltisine kademeli olarak Hg²⁺ ilave edildiğinde 755 nm'deki emisyon kademeli olarak artmıştır.

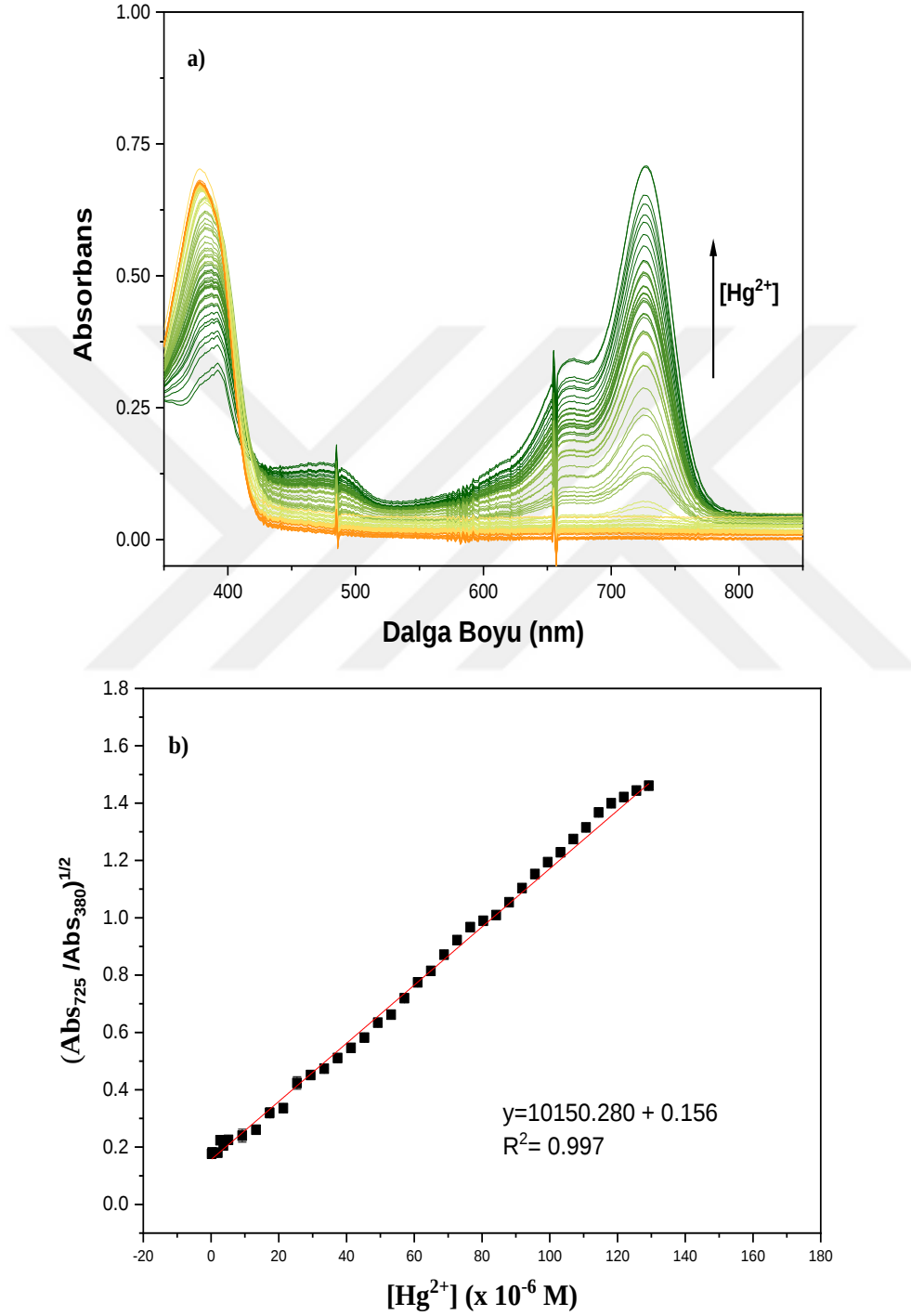


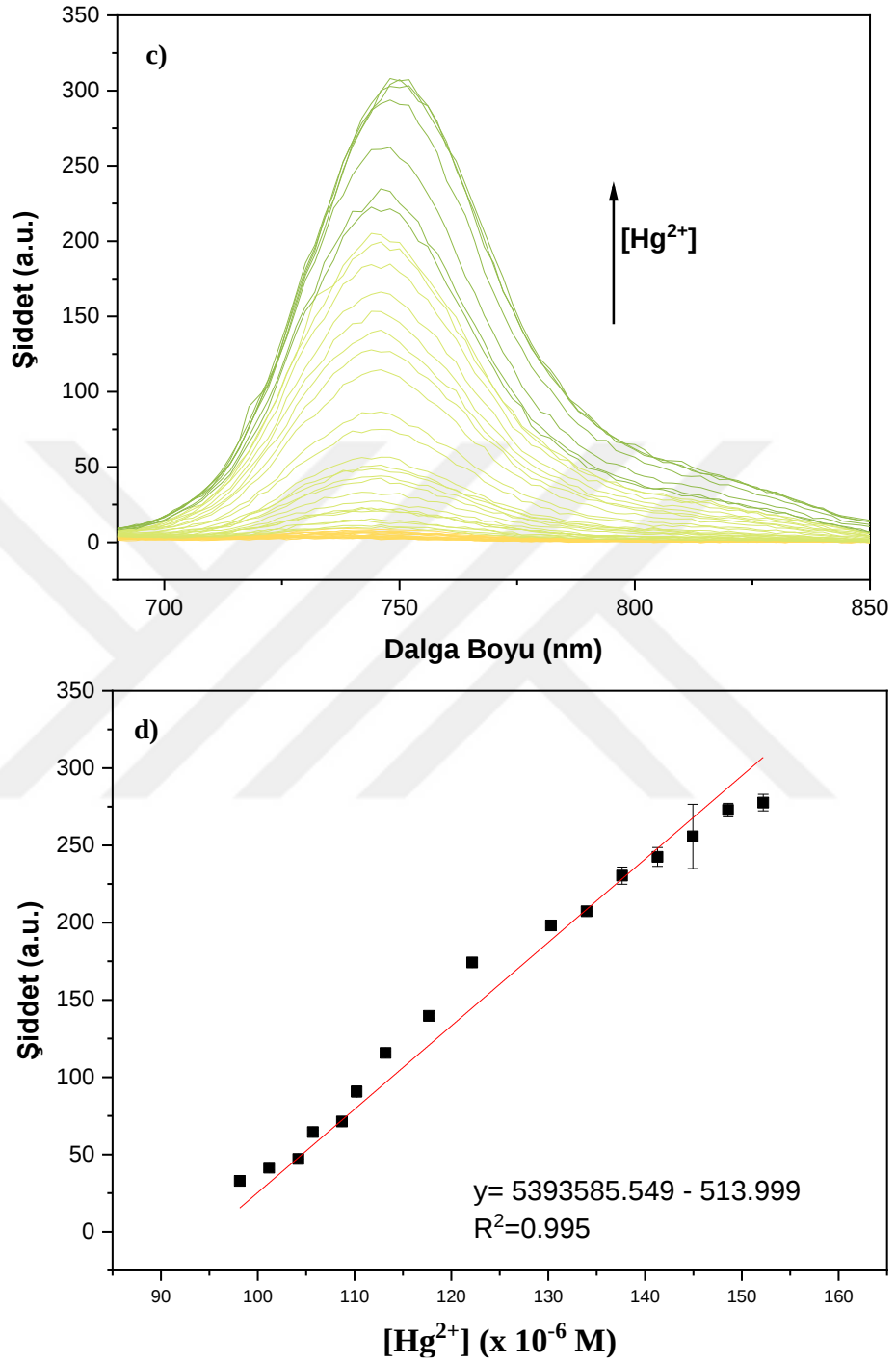
Şekil 4.5 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltideki 5,0 eş değer Hg²⁺ varlığında 5,0 eş değer çeşitli metal katyonları içeren a) absorbans ve b) floresan şiddetlerindeki değişime ait bar grafikleri.

Floresan şiddetinin analit konsantrasyonuna karşı kalibrasyon eğrisi çizildiğinde ise, Şekil 4.6 c) ve Şekil 4.6 d)'de görüldüğü gibi $9,81 \times 10^{-5}$ - $1,52 \times 10^{-4}$ M aralığında iyi bir doğrusallık ($R^2 = 0,995$) görülmüştür. LOD değeri , denklem (1) kullanılarak $1,13 \times 10^{-8}$ M olarak hesaplanmıştır. Bu analizler, **NIR8** sensörünün düşük

konsantrasyonlarda Hg^{2+} iyonunu geniş doğrusal aralıklarda tespit edebildiğini göstermiştir.

$$LOD = \frac{3 \times SS}{s} \quad (1)$$





Şekil 4.6 : NIR8'in ($2,0 \times 10^{-5} \text{ M}$) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözelti içerisindeki a) artan Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı absorpsiyon spektrumu, b) İki dalga boyunun (725 nm/380 nm) karekök oranının Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı grafiği, c) artan Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı floresan spektrumu ve d) Hg^{2+} konsantrasyonuna karşı 755 nm'deki floresan şiddeti (λ_{ex} : 670 nm).

4.7 Gerçek Örnek Çalışması

Sentezlenen yeni sensör **NIR8**, geliştirilen yöntemi doğrulamak için analitle kontamine edilerek musluk, göl ve su numuneleri gibi gerçek örneklerde Hg^{2+} analizi için test edilmiştir. $5,0 \times 10^{-2}$ M Hg^{2+} stok çözeltisi, musluk, göl ve içme suyuyla $2,5 \times 10^{-3}$ M'ye seyreltilmiş, ardından ölçüm yapmak için kirlenmiş gerçek numuneler, $2,0 \times 10^{-5}$ M **NIR8** çözeltisine DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) küçük miktarlarda eklenmiştir. Her bir kirlenmiş gerçek numune için üç tekrarlı ölçüm yapılmış ve bulunan Hg^{2+} iyonunun hesaplanması için kalibrasyon denklemlerinde absorpsiyon ve emisyon sonuçları birlikte kullanılmış ve çizelge 4.1 a) ve çizelge 4.1 b)'de sunulmuştur. Ayrıca aynı uygulamalar 5 farklı marka içme suyu numunesi için de yapılmış olup sonuçlar çizelge 4.1 c) ve çizelge 4.1 d)'de gösterilmiştir. Tablolar incelendiğinde eklenen ve ölçülen değerler arasında iyi bir ilişkinin olduğu barizdir ve bu da yöntemin başarılı olduğunu kanıtlamaktadır. Yüksek geri kazanımlar ve düşük % RSD değerleri, sensörün pratik olarak gerçek numunelerde Hg^{2+} iyonunun doğru tespiti için bir sensör görevi görebileceğini göstermektedir.

4.8 Akıllı Telefonla Kalibrasyon Eğrisini Çizme ve Gerçek Örneklerde Hg^{2+} Katyonunu Tespit Etme

Akıllı telefon uygulamalarındaki son gelişmeler, bunların kolorimetrik kantitatif bir yöntem olarak kullanılmasına olanak tanmakta ve algılama sırasında gözle görülür belirgin renk değişimi sayesinde çeşitli analitlerin hızlı bir şekilde yerinde tespitini sağlamak için RGB (kırmızı/yeşil/mavi) analizi uygulanmaktadır [7,48,51–54]. Bu çalışmada, Google Play Store'da ücretsiz olarak yer alan Color Assist Free mobil uygulaması, farklı Hg^{2+} konsantrasyonlarının varlığında renkli **NIR8** ($2,0 \times 10^{-5}$ M) DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltisinin RGB renk şiddetindeki değişimi elde etmek için kullanılmıştır. Fotoğraflamada kullanılan akıllı telefonun (Redmi Note 10S) laboratuvarında ışığın dalgalanmasından etkilenmemek için kapalı bir kutu içerisinde ve hücreye 10 cm uzaklıkta konumlandırılmıştır. Fotoğraflar telefonun ışığıyla beraber çekilerek, RGB renk değerleri kaydedilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki Hg^{2+} katyonun G/B'nin değişen yoğunluk oranına göre, kalibrasyon eğrisi çizildiğinde, bu eğri iyi bir doğrusallık ($2,92 \times 10^{-5}$ M - $1,16 \times 10^{-4}$ M) ($R^2 = 0,996$) göstermiştir.

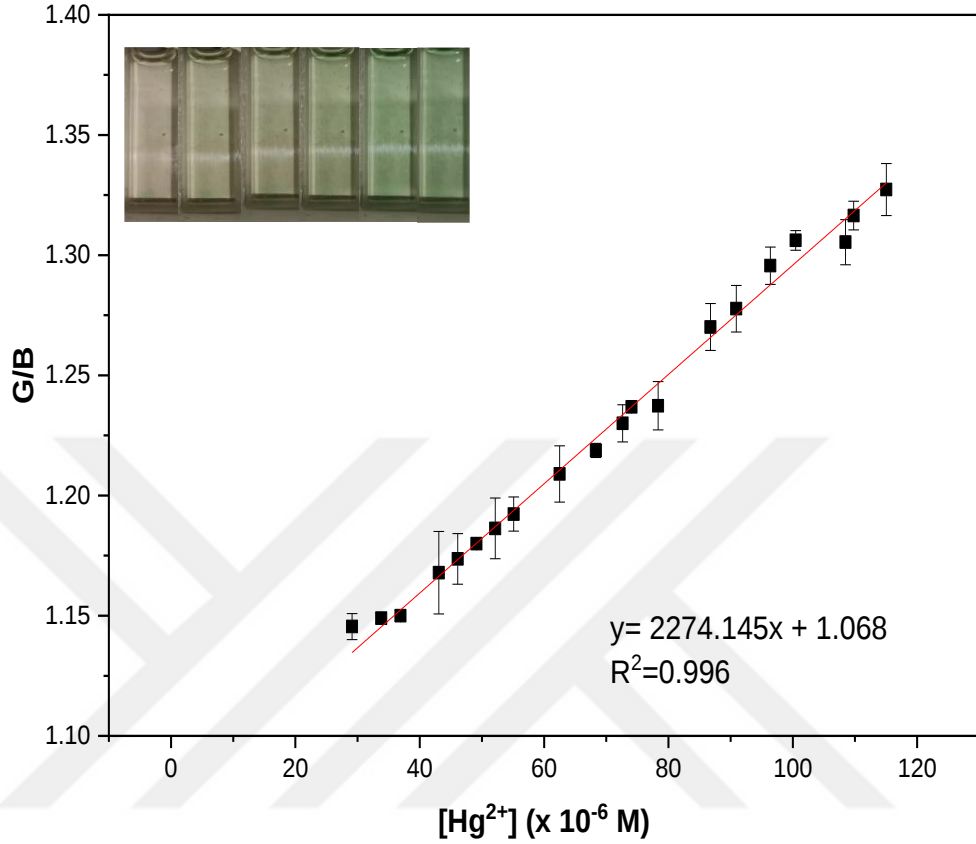
Çizelge 4.1 : DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu ortamda . **NIR8** ($2,0 \times 10^{-5}$ M) sensörü kullanılarak, içme, musluk ve göl suyunda değişen miktarlarda Hg²⁺ ile ölçümleri sonucunda geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri a) UV-Gör ve b) floresan; Farklı gerçek su örneklerinde Hg²⁺ tespiti c) UV-Gör ve d) floresan sonuçları.

a)	Çeşme Suyu			Göl Suyu		İçme Suyu	
	Eklenen [Hg ²⁺]	Bulunan [Hg ²⁺]	Geri Kazanım	Bulunan [Hg ²⁺]	Geri Kazanım	Bulunan [Hg ²⁺]	Geri Kazanım
	(10 ⁻⁵ M)	(10 ⁻⁵ M)	± RSD (%)	(10 ⁻⁵ M)	± RSD (%)	(10 ⁻⁵ M)	± RSD (%)
	3,3	2,7	81,9 ± 2,3	3,0	90,6 ± 0,9	3,5	105,3 ± 1,7
	4,1	4,8	116,8 ± 29,9	3,8	93,0 ± 0,9	4,5	109,8 ± 1,4
	4,9	5,0	101,3 ± 34,3	4,6	93,6 ± 1,6	5,7	117,1 ± 13,6
	5,7	5,4	94,5 ± 15,3	5,6	97,7 ± 0,4	5,5	96,0 ± 11,0
	6,5	6,4	98,1 ± 0,9	5,6	86,5 ± 3,2	6,4	98,9 ± 1,9
	7,3	6,8	93,0 ± 0,3	6,2	85,1 ± 0,9	8,0	109,9 ± 12,7
	8,1	6,9	85,2 ± 2,5	6,6	81,9 ± 0,3	6,7	82,8 ± 11,5
b)	Çeşme Suyu			Göl Suyu		İçme Suyu	
	Eklenen [Hg ²⁺]	Bulunan [Hg ²⁺]	Geri Kazanım	Bulunan [Hg ²⁺]	Geri Kazanım	Bulunan [Hg ²⁺]	Geri Kazanım
	(10 ⁻⁵ M)	(10 ⁻⁵ M)	± RSD (%)	(10 ⁻⁵ M)	± RSD (%)	(10 ⁻⁵ M)	± RSD (%)
	4,9	4,3	87,4 ± 0,6	4,3	87,4 ± 0,2	4,0	82,3 ± 2,3
	5,7	5,4	95,0 ± 1,8	5,0	87,0 ± 0,6	5,1	88,7 ± 1,5
	6,5	6,3	97,7 ± 1,4	5,6	86,4 ± 0,9	5,7	88,1 ± 0,9
	7,3	7,0	96,2 ± 0,6	6,3	87,0 ± 0,6	6,5	89,5 ± 0,6
	8,1	7,7	95,5 ± 1,7	7,6	93,6 ± 0,7	7,2	89,0 ± 0,9

Çizelge 4.1 (devam): DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu ortamda . **NIR8** ($2,0 \times 10^{-5}$ M) sensörü kullanılarak, içme, musluk ve göl suyunda değişen miktarlarda Hg²⁺ ile ölçümleri sonucunda geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri a) UV-Gör ve b) floresan; Farklı gerçek su örneklerinde Hg²⁺ tespiti c) UV-Gör ve d) floresan sonuçları.

c)	Örnek 1			Örnek 2		Örnek 3		Örnek 4		Örnek 5	
Eklenen [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	
4,9	5,7	117,1 ± 13,6	5,3	107,8 ± 0,7	5,4	111,2 ±1,9	4,3	86,8 ± 0,7	4,5	92,3 ± 1,1	
5,7	5,5	96,0 ± 11,0	5,8	101,0 ± 2,0	6,3	109,7 ±1,6	4,7	82,3 ± 0,1	6,2	109,1 ± 0,9	
6,5	6,4	98,9 ± 1,9	6,0	92,6 ± 1,4	6,6	101,3 ± 1,2	5,7	88,3 ± 0,9	7,0	107,2 ± 1,6	
7,3	8,0	109,9 ± 12,7	6,5	89,1 ± 1,4	7,0	96,1 ± 0,8	6,6	90,1 ± 2,3	7,6	105,0 ± 0,9	
8,1	6,7	82,8 ± 11,5	7,1	88,1 ± 0,9	7,5	92,6 ± 1,1	7,6	94,6 ± 3,3	8,3	102,5 ± 1,2	
d)	Örnek 1			Örnek 2		Örnek 3		Örnek 4		Örnek 5	
Eklenen [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	Bulunan [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım± RSD (%)	
4,9	4,0	82,3 ±2,3	5,2	106,7 ± 2,6	5,3	108,7 ± 2,0	5,0	101,5 ± 0,6	4,4	90,2 ± 1,5	
5,7	5,1	88,7 ±1,5	6,0	104,7 ± 1,3	6,0	105,4 ± 0,9	5,9	104,3 ± 3,4	5,3	93,2 ± 2,4	
6,5	5,7	88,1±0,9	6,2	95,4 ± 0,2	6,2	95,7 ± 0,5	6,4	97,8 ± 0,8	5,8	89,8 ± 1,0	
7,3	6,5	89,5±0,6	6,6	90,7 ± 0,9	6,8	92,7 ± 0,4	6,8	94,3 ± 0,6	6,5	89,1 ± 0,3	
8,1	7,1	89,0±0,9	7,5	92,9 ± 1,8	7,4	92,1 ± 1,8	7,3	90,8 ± 1,2	7,4	92,0 ± 0,9	

Böylelikle, bu sistem, Hg^{2+} iyonunun yerinde ölçümü için uygun, taşınabilir, düşük maliyetli ve basitleştirilmiş bir araç olduğunu kanıtlanmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 : Akıllı telefon tabanlı RGB uygulaması kullanılarak elde edilen G/B değerindeki değişime dayanan Hg^{2+} konsantrasyonu için doğrusal eğri. Kalibrasyon aralığında Hg^{2+} konsantrasyonu arttıkça DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide **NIR8**'in ($2,0 \times 10^{-5}$ M) kolorimetrik değişimi.

Akıllı telefon analizi için kalibrasyon eğrisini çizdikten sonra, sensörün gerçek hayattaki örneklerde tutarlı sonuçlar verip vermediğini doğrulamak çok önemlidir. Bu çalışmada musluk suyu, göl suyu ve üç farklı marka içme suyunda Hg^{2+} kantitatif olarak tespit edilmiştir. Çizelge 4. 2 a) ve b)'de gösterilen sonuçlara göre, akıllı telefon kullanılarak **NIR8** ile Hg^{2+} iyonun çeşitli gerçek hayattaki numunelerde yüksek geri kazanım sonuçlarıyla tespit edilebildiği anlaşılmaktadır.

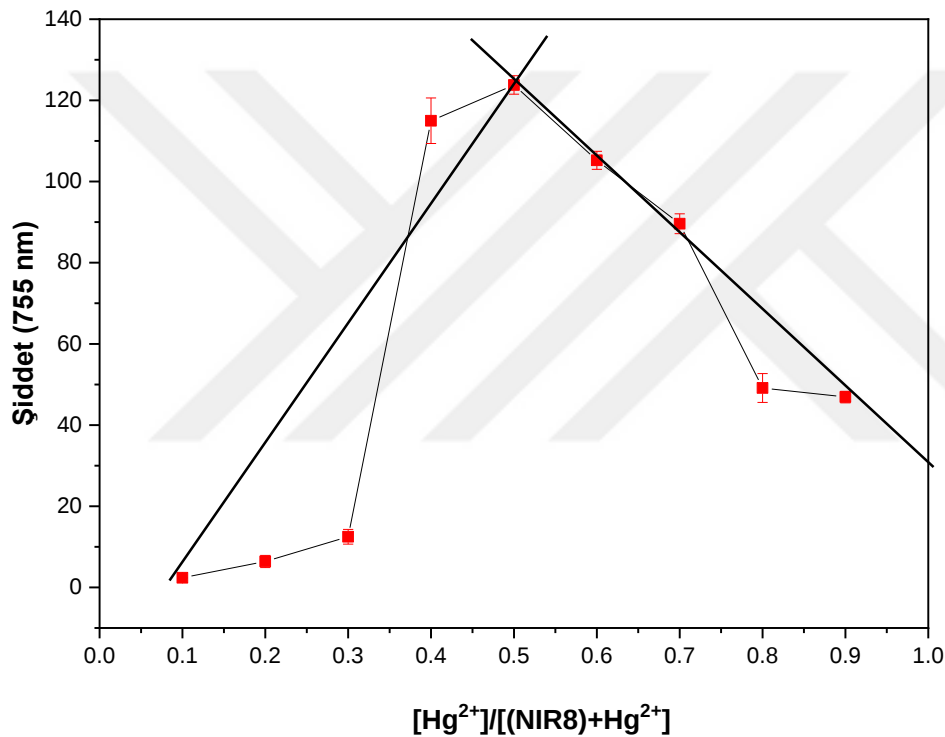
Çizelge 4.2 : DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7.4) tamponlu ortamda **NIR8** (2.0×10^{-5} M) sensörü kullanılarak yapılan akıllı telefon ölçümü sonucunda a) musluk, göl ve b) çeşitli içme sularında değişen miktarlarda Hg²⁺ ile geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri.

a)	Çeşme Suyu			Göl Suyu	
	Eklenen Hg ²⁺ [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Bulunan Hg ²⁺ [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım ± RSD (%)	Bulunan Hg ²⁺ [Hg ²⁺] (10 ⁻⁵ M)	Geri Kazanım ± RSD (%)
	3,3	3,1	92,5 ± 4,4	3,4	103,1 ± 5,0
	4,1	3,8	92,7 ± 2,5	4,2	102,6 ± 2,9
	4,9	4,6	93,6 ± 2,5	5,1	103,6 ± 3,3
	5,8	5,4	93,1 ± 3,2	5,9	102,7 ± 3,7
	6,6	6,1	93,3 ± 3,9	6,8	102,8 ± 3,7
	7,4	6,8	91,9 ± 3,3	7,6	102,5 ± 3,1
	8,2	7,6	92,1 ± 3,6	8,4	102,9 ± 4,1

b)	Örnek 1		Örnek 2		Örnek 3	
Eklenen Hg^{2+} [Hg^{2+}] (10^{-5}M)	Bulunan Hg^{2+} [Hg^{2+}] (10^{-5}M)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%)	Bulunan Hg^{2+} [Hg^{2+}] (10^{-5}M)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%)	Bulunan Hg^{2+} [Hg^{2+}] (10^{-5}M)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%)
3,3	3,4	101,3 $\pm$ 5,1	3,4	101,2 $\pm$ 4,5	3.4	101,0 $\pm$ 4,4
4,1	4,2	101,4 $\pm$ 3,3	4,3	102,8 $\pm$ 2,9	4.24	102,6 $\pm$ 2,9
5,0	5,1	103,4 $\pm$ 2,6	5,1	103,8 $\pm$ 3,0	5.13	103,6 $\pm$ 3,0
5,8	5,8	101,2 $\pm$ 3,4	5,8	101,2 $\pm$ 2,7	5.81	100,6 $\pm$ 3,2
6,6	6,7	101,1 $\pm$ 3,2	6,6	100,5 $\pm$ 3,7	6.75	102,6 $\pm$ 4,2
7,4	7,5	100,8 $\pm$ 2,4	7,6	102,5 $\pm$ 2,8	7.50	101,4 $\pm$ 3,1
8,2	8,2	99,8 $\pm$ 3,7	8,2	100,5 $\pm$ 4,1	8.39	102,3 $\pm$ 4,1

4.9 NIR8'in Hg^{2+} ile reaksiyon mekanizması

Job's yöntemi, **NIR8** ve Hg^{2+} molekülü arasındaki metal-ligand bağlanma oranını incelemek için metal iyonunun mol fraksiyonunu 0,0 – 1,0 aralığında değiştirildiği farklı çözeltiler hazırlayarak gerçekleştirilmiştir. Bu çözeltilerin floresan yoğunlukları (755 nm'de) ölçüldüğünde, maksimum sonucun 0,5 molar Hg^{2+} iyon fraksiyonu ile elde edildiği gözlenmiştir; bu da sensör **NIR8** ile Hg^{2+} arasında 1:1 stokiometrisi olduğunu gösterir (Şekil 4.8).

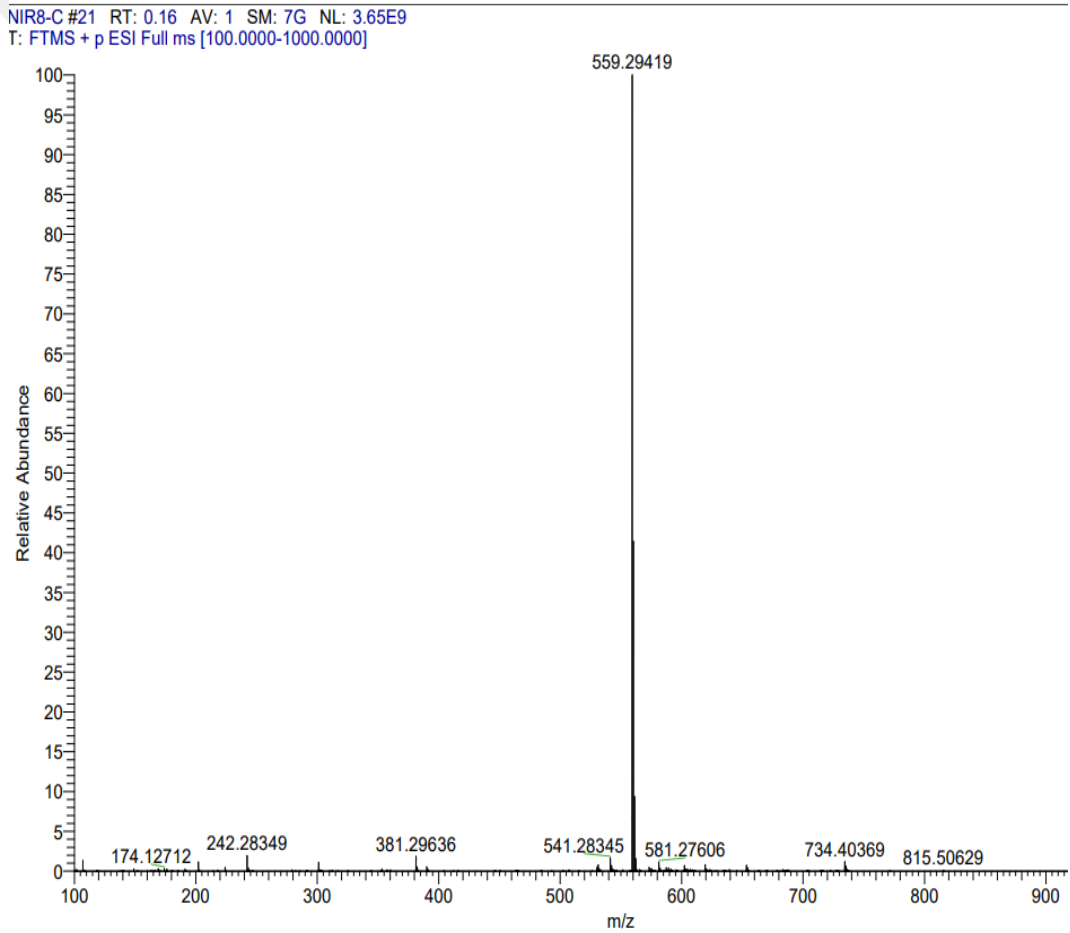


Şekil 4.8 : **NIR8** - Hg^{2+} için, DMF:H₂O (5:1, v/v, HEPES, pH 7,4) tamponlu çözeltide **NIR8**'in (2.0×10^{-5} M) Job's grafiği.

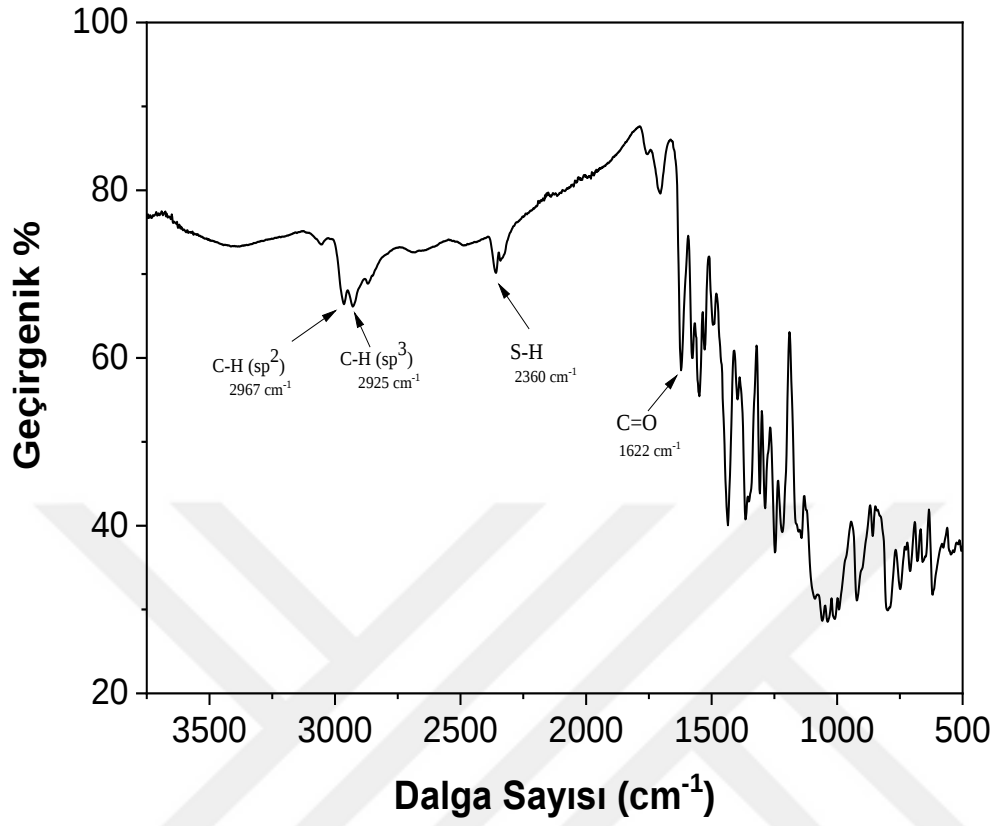
Sensörün bağlanma modunu anlamak için **NIR8** ve Hg^{2+} arasında reaksiyon gerçekleştirildi. 40 mg (0,06 mmol) sensör (**NIR8**) 2 mL asetonda çözöldü ve çözelti 50 mL'lik yuvarlak tabanlı bir balona konuldu. 100 mg (0,3 mmol) $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 1 mL aseton ile karıştırılarak elde edilen süspansiyon, 10 kez seyreltilmiş %65 (v/v) nitrik asit çözeltisinden 1 damla eklenerek çözöldü. Çözelti elde edildikten sonra bu karışım **NIR8** çözeltisine ilave edilerek reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çözöcö vakum altında uzaklaştırıldı ve kalan kalıntı

DCM/EtOH mobil fazı ile kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Saflaştırılan ürün FT-IR ve HRMS spektroskopisi ile analiz edildi.

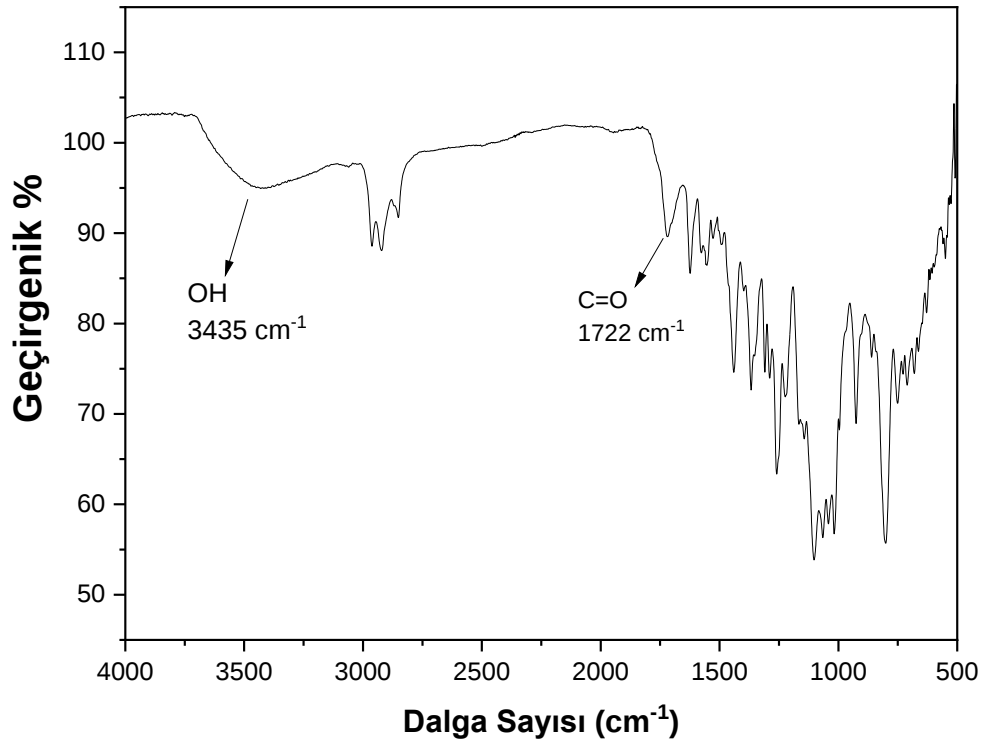
Bu analizlere göre, sensörün kompleks oluşumundan sonra hidroliz olduğu gözlenmiştir ki bu da **NIR8**'in bir Hg^{2+} kemodozimetre olduğu anlamına gelmektedir. **NIR8** (Şekil 3.13.) ve **NIR8**- Hg^{2+} (Şekil 4.9.) HRMS sonuçları karşılaştırıldığında, CS_2 'nin 559.29'daki keskin kütle piki, sensörün CS_2 'ye hidrolize olduğunun işaretlerinden biridir. Diğer bir kanıt ise S-H'ye ait IR bandının (Şekil 4.10.) kaybolması, karbonil pikinin 1622'den (Şekil 4.10.) 1722 cm^{-1} 'e (Şekil 4.11.) kayması ve O-H bağına ait yeni bir bandın oluşmasıdır (Şekil 4.11.). Bu da kompleksin asit form CS_2 'ye hidrolize olduğunu desteklemektedir.



Şekil 4.9 : **NIR8** ile Hg^{2+} reaksiyonundan elde edilen ürünün HRMS spektrumu.



Şekil 4.10 : NIR8'in IR spektrumu.



Şekil 4.11 : NIR8 ile Hg²⁺ reaksiyonundan elde edilen ürünün IR spektrumu.

5. SONUÇ

Doğal kaynaklar ve insan faaliyetleri (örneğin, madencilik, sanayi, tarım, enerji üretimi) yoluyla çevreye salınabilen, insan sağlığına ve çevreye en zararlı ağır metallerden biri olan cıva, ilaç sentezi ve elektronik ürünlerin üretimi, beyazlatıcı kozmetikler ve diş amalgamı da dahil olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Cıva, su, toprak ve hava gibi çeşitli yollarla yayılarak biyolojik birikime neden olur bu da çevre için ciddi bir tehdit oluşturmakta ve doğal olarak bozunmadığı için toprağa, suya ve biyolojik çeşitliliğe zarar vermektedir. Cıva maruziyeti insanlarda kanser, sinir ve dolaşım sistemi bozuklukları, beyin ve böbrek hasarı, üreme ve fizyolojik sorunlara neden olabilir. Cıva, düşük konsantrasyonlarda bile insan sağlığı üzerinde zararlı etkilere sahip olabilen toksik bir ağır metal olduğundan, insan vücudundaki minimum cıva seviyesi ideal olarak sıfırdır. Ancak çevresel maruziyet, diyet alımı ve diğer kaynaklara bağlı olarak insan vücudunda eser miktarda cıva bulunabileceğini unutmamak önemlidir. Dünya sağlık örgütü (WHO), insanlarda cıva maruziyetine ilişkin kılavuzlar ve referans seviyeleri oluşturmuştur. İçme suyundaki cıva için WHO kılavuz değeri litre başına 1 mikrogramdır ($\mu\text{g/L}$) [37]. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), x-ışını floresansı, indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS), kızılötesi spektroskopisi (IR), ve voltametri gibi geleneksel yöntemler cıva analizinde kullanılmalarına rağmen bu yöntemlerin uzun hazırlık prosedürleri olması, kullanımı eğitilmiş operatörler gerektirmesi ve biyolojik örneklerle uygulanmasında zorluklar yaşanması gibi eksiklikleri bulunmaktadır. Daha da önemlisi, bu yöntemler anlık/alan ölçümleri için pratik değildir. Cıva tayini için klasik yöntemlerde karşılaşılan bu eksiklikler, yeni geliştirilen kemosensörlere dayalı spektrofotometrik yöntemler ile aşılmıştır. Özellikle bu sensörler cıvayı seçici, hassas ve hızlı bir şekilde tespit edebildikleri ve anlık/alan ölçümleri için kullanışlı oldukları için sıklıkla tercih edilmektedir [55].

Yakın kızılötesi bölgede (NIR) çalışan rodaminlerin halka açma kapama mekanizmasına sahip olup aynı zamanda daha uzun dalga boyunda absorpsiyon ve emisyon yaparak canlı hücreler içerisinde daha az zararlı çalışan, geleneksel kemosensörlere göre daha büyük emilim katsayıları, yüksek floresan kuantum

verimlilikleri ve yüksek parlaklık gibi üstün özelliklere sahip olan ksanten halkasına sahip kromenilyum-siyanin boyaları yaygın olarak tercih edilmektedir. Fizyolojik koşullarda kararlılık göstermeleri, yüksek kuantum verimliliği sunmaları, yüksek parlaklıkla canlı görüntüleme uygulamalarında kullanılabilir olmaları, canlı görüntüleme sistemlerinde yaygın olarak kullanılan uyarılma dalga boylarıyla uyumlu olmaları gibi üstün avantajları bu boyalarının diğer NIR boyalara göre daha üstün olmalarını sağlar [31].

Bu çalışmada, yakın kızılötesi bölgede çalışan ve FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve HRMS yöntemleri ile başarılı bir şekilde karakterize edilen kromenilyum-siyanin boyası temel alınarak merkaptopropiyonik asit ile türetilen yeni bir seçici ve Hg^{2+} iyonuna duyarlı floresan sensör **NIR8** tasarlanmış ve hazırlanmıştır. Algılama mekanizması, spirolaktam halkasının halka açma ve kapama sisteminin bir sonucu olarak, Hg^{2+} katyonuna bağlanma ile indüklenen sensörün hidrolizi olarak önerilmiştir. Sunulan sensör, UV-Gör ve floresan spektroskopisi için sırasıyla $2,01 \times 10^{-7}$ - $1,29 \times 10^{-4}$ M, $9,81 \times 10^{-5}$ - $1,52 \times 10^{-4}$ M geniş aralıklarında $4,93 \times 10^{-8}$ M (9,86 ppb) ve $1,13 \times 10^{-8}$ M (2,26 ppb) kadar düşük tespit limiti ile hızlı Hg^{2+} tespiti gerçekleştirmektedir. Ayrıca, akıllı telefonla yapılan titrasyon çalışması için doğrusal aralık $2,92 \times 10^{-5}$ M ile $1,16 \times 10^{-4}$ M olarak ölçülmüştür. Bununla birlikte, çıplak gözle tespit edilebilen Hg^{2+} ilavesiyle açık sarıdan yeşile doğru gözle görülür bir renk değişimi gözlemlenmiştir. Gerçek örneklerde UV-Gör ve floresan spektroskopisi yöntemleriyle birlikte akıllı telefonla kolorimetrik olarak cıva tespit analizleri yapılmış ve bu sensör pH 7,4'te Hg^{2+} iyonuna hassas yanıt vermiştir. Bu nedenle biyolojik ve çevresel örneklerde uygulanabildiği görülmüştür. Buna ek olarak, bağlanma modu Job yöntemi ile belirlenmiş olup sensör ve Hg^{2+} arasındaki reaksiyon stokiyometrisi 1:1 olarak ölçülmüştür; bağlanma reaksiyonunun analiz sonuçları sensörün kemodozimetre olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Z.-H. Yuan, Y.-S. Yang, P.-C. Lv, H.-L. Zhu**, Recent Progress in Small-Molecule Fluorescent Probes for Detecting Mercury Ions, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 52 (2022) 250–274. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1797466>.
- [2] **B.-J. Ye, B.-G. Kim, M.-J. Jeon, S.-Y. Kim, H.-C. Kim, T.-W. Jang, H.-J. Chae, W.-J. Choi, M.-N. Ha, Y.-S. Hong**, Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication, *Annals of Occupational and Environmental Medicine* 28 (2016). <https://doi.org/10.1186/s40557-015-0086-8>.
- [3] **Y. Yu, C. Liu, B. Tian, X. Cai, H. Zhu, P. Jia, Z. Li, X. Zhang, W. Sheng, B. Zhu**, A novel highly selective ratiometric fluorescent probe with large emission shift for detecting mercury ions in living cells and zebrafish, *Dyes and Pigments* 177 (2020) 108290. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108290>.
- [4] **Y. Wang, L. Zhang, X. Han, L. Zhang, X. Wang, L. Chen**, Fluorescent probe for mercury ion imaging analysis: Strategies and applications, *Chemical Engineering Journal* 406 (2021) 127166. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127166>.
- [5] Mercury and health, (n.d.). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health> (accessed August 20, 2023).
- [6] **Z. Mermer, O. Yavuz, S.K. Atasen, Y. Alcay, I. Yilmaz**, Architecture of multi-channel and easy-to-make sensors for selective and sensitive Hg^{2+} ion recognition through Hg–C and Hg–N bonds of naphthoquinone-aniline/pyrene union, *Journal of Hazardous Materials* 410 (2021) 124597. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124597>.
- [7] **Y. Alcay, E. Ozdemir, M.S. Yildirim, U. Ertugral, O. Yavuz, H. Aribuga, Y. Ozkilic, N. Şenyurt Tuzun, A.B. Ozdabak Sert, F.N. Kok, I. Yilmaz**, A methionine biomolecule-modified chromenylium-cyanine fluorescent probe for the analysis of Hg^{2+} in the environment and living cells, *Talanta* 259 (2023) 124471. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124471>.
- [8] **V. Bhalla, Roopa, M. Kumar, P.R. Sharma, T. Kaur**, Hg^{2+} induced hydrolysis of pentaquinone based Schiff base: a new chemodosimeter for Hg^{2+} ions in mixed aqueous media, *Dalton Trans.* 42 (2013) 15063–15068. <https://doi.org/10.1039/C3DT51273H>.
- [9] **N. Pourreza, K. Ghanemi**, Determination of mercury in water and fish samples by cold vapor atomic absorption spectrometry after solid phase extraction on agar modified with 2-mercaptobenzimidazole, *Journal of Hazardous Materials* 161 (2009) 982–987. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.043>.
- [10] **B. Passariello, M. Barbaro, S. Quaresima, A. Casciello, A. Marabini**, Determination of Mercury by Inductively Coupled Plasma—Mass

- Spectrometry, *Microchemical Journal* 54 (1996) 348–354.
<https://doi.org/10.1006/mchj.1996.0110>.
- [11] **J. Li, Y. Zhang, W. Cai, X. Shao**, Simultaneous determination of mercury, lead and cadmium ions in water using near-infrared spectroscopy with preconcentration by thiol-functionalized magnesium phyllosilicate clay, *Talanta* 84 (2011) 679–683.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.01.072>.
- [12] **M. Palanna, S. Aralekallu, C. Keshavananda Prabhu, V.A. Sajjan, Mounesh, L.K. Sannegowda**, Nanomolar detection of mercury(II) using electropolymerized phthalocyanine film, *Electrochimica Acta* 367 (2021) 137519. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.137519>.
- [13] **B. Du, Q. Li, K. Huang, Q. Wang, L. Liang**, Mercury ion-selective fluorescent probe based on indazole fused rhodamine and cell imaging application, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 436 (2023) 114419. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2022.114419>.
- [14] **J. Wang, W. Li, L. Long**, Development of a near-infrared fluorescence turn-on probe for imaging Hg^{2+} in living cells and animals, *Sensors and Actuators B: Chemical* 245 (2017) 462–469.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.01.002>.
- [15] **T.L. Mako, J.M. Racicot, M. Levine**, Supramolecular Luminescent Sensors, *Chemistry Review* 119 (2019) 322–477.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00260>.
- [16] **J.R. Lakowicz, B.R. Masters**, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Third Edition, *Journal of Biomedical Optics* 13 (2008) 029901.
<https://doi.org/10.1117/1.2904580>.
- [17] **E. Noeltling, K. Dziewoński**, Zur Kenntniss der Rhodamine, *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft* 38 (1905) 3516–3527.
<https://doi.org/10.1002/cber.190503803186>.
- [18] **M. Beija, C.A. M. Afonso, J.M. G. Martinho**, Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes, *Chemical Society Reviews* 38 (2009) 2410–2433. <https://doi.org/10.1039/B901612K>.
- [19] **X. Chen, T. Pradhan, F. Wang, J.S. Kim, J. Yoon**, Fluorescent Chemosensors Based on Spiroring-Opening of Xanthenes and Related Derivatives, *Chemistry Review* 112 (2012) 1910–1956.
<https://doi.org/10.1021/cr200201z>.
- [20] **S.K. Sahoo, G. Crisponi**, Recent Advances on Iron(III) Selective Fluorescent Probes with Possible Applications in Bioimaging, *Molecules* 24 (2019) 3267. <https://doi.org/10.3390/molecules24183267>.
- [21] **M. Mojzych, M. Henary**, Synthesis of Cyanine Dyes, in: L. Strekowski (Ed.), *Heterocyclic Polymethine Dyes: Synthesis, Properties and Applications*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2008: pp. 1–9.
https://doi.org/10.1007/7081_2008_119.
- [22] **H.A. Shindy**, Fundamentals in the chemistry of cyanine dyes: A review, *Dyes and Pigments* 145 (2017) 505–513.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2017.06.029>.
- [23] **W. Sun, S. Guo, C. Hu, J. Fan, X. Peng**, Recent Development of Chemosensors Based on Cyanine Platforms, *Chemistry Review* 116 (2016) 7768–7817. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00001>.

- [24] **M. Fernández-Suárez, A.Y. Ting**, Fluorescent probes for super-resolution imaging in living cells, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9 (2008) 929–943. <https://doi.org/10.1038/nrm2531>.
- [25] **S. Luo, E. Zhang, Y. Su, T. Cheng, C. Shi**, A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging, *Biomaterials* 32 (2011) 7127–7138. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.024>.
- [26] **Y. Zhang, J. Bi, S. Xia, W. Mazi, S. Wan, L. Mikesell, R.L. Luck, H. Liu**, A Near-Infrared Fluorescent Probe Based on a FRET Rhodamine Donor Linked to a Cyanine Acceptor for Sensitive Detection of Intracellular pH Alternations, *Molecules* 23 (2018) 2679. <https://doi.org/10.3390/molecules23102679>.
- [27] **B. Tang, X. Liu, K. Xu, H. Huang, G. Yang, L. An**, A dual near-infrared pH fluorescent probe and its application in imaging of HepG2 cells, *Chemical Communications* (2007) 3726–3728. <https://doi.org/10.1039/B707173F>.
- [28] **T. Myochin, K. Kiyose, K. Hanaoka, H. Kojima, T. Terai, T. Nagano**, Rational Design of Ratiometric Near-Infrared Fluorescent pH Probes with Various pKa Values, Based on Aminocyanine, *Journal of American Chemical Society* 133 (2011) 3401–3409. <https://doi.org/10.1021/ja1063058>.
- [29] **A.P. Gorka, R.R. Nani, M.J. Schnermann**, Cyanine polyene reactivity: scope and biomedical applications, *Organic and Biomolecular Chemistry* 13 (2015) 7584–7598. <https://doi.org/10.1039/C5OB00788G>.
- [30] **L. Yuan, W. Lin, Y. Yang, H. Chen**, A Unique Class of Near-Infrared Functional Fluorescent Dyes with Carboxylic-Acid-Modulated Fluorescence ON/OFF Switching: Rational Design, Synthesis, Optical Properties, Theoretical Calculations, and Applications for Fluorescence Imaging in Living Animals, *Journal of American Chemical Society* 134 (2012) 1200–1211. <https://doi.org/10.1021/ja209292b>.
- [31] **Y. Wei, D. Cheng, T. Ren, Y. Li, Z. Zeng, L. Yuan**, Design of NIR Chromenylium-Cyanine Fluorophore Library for “Switch-ON” and Ratiometric Detection of Bio-Active Species In Vivo, *Analytical Chemistry* 88 (2016) 1842–1849. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04169>.
- [32] **E. Palacios-Serrato, D. Araiza-Olivera, A. Jiménez-Sánchez**, Fluorescent Probe for Transmembrane Dynamics during Osmotic Effects, *Analytical Chemistry* 92 (2020) 3888–3895. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05390>.
- [33] **E.D. Cosco, B.A. Arús, A.L. Spearman, T.L. Atallah, I. Lim, O.S. Leland, J.R. Caram, T.S. Bischof, O.T. Bruns, E.M. Sletten**, Bright Chromenylium Polymethine Dyes Enable Fast, Four-Color In Vivo Imaging with Shortwave Infrared Detection, *Journal of American Chemical Society* 143 (2021) 6836–6846. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c11599>.
- [34] **K. Karaoglu**, A new chromenylium-cyanine chemosensor for switch-ON near-infrared copper (II) sensing, *Journal of Molecular Structure* 1205 (2020) 127640. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127640>.
- [35] **X. Gu, X. Zhang, Z. Liu, Y. Cheng, F. Ma, Y. Dai, T. Xue, Y. Zheng, Z. Qi**, A novel near-infrared “turn-on” fluorescent probe for selective detection of Fe³⁺ and its application in vitro imaging, *Journal of*

- Luminescence 207 (2019) 613–619.
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2018.12.014>.
- [36] **X. Jiao, C. Liu, S. He, L. Zhao, X. Zeng**, Highly selective and sensitive ratiometric near-infrared fluorescent probe for real-time detection of Hg^{2+} and its bioapplications in live cells, *Dyes and Pigments* 160 (2019) 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.07.040>.
- [37] **D. Veeraswamy, A. Subramanian, D. Mohan, P. Ettiyagounder, P.S. Selvaraj, S.P. Ramasamy, V. Veeramani**, Exploring the origins and cleanup of mercury contamination: a comprehensive review, *Environ Sci Pollut Res* (2023). <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30636-z>.
- [38] **W.C. Li, H.F. Tse**, Health risk and significance of mercury in the environment, *Environmental Science and Pollution Research* 22 (2015) 192–201. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3544-x>.
- [39] **M. Singh, R. Kanaoujiya, Meenakshi, S. Srivastava**, Mercury impact on wildlife: An analysis of the literature, *Materials Today: Proceedings* (2023). <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.05.648>.
- [40] **P.G. Rao, B. Saritha, T. Siva Rao**, Colorimetric and turn-on Fluorescence Chemosensor for Hg^{2+} Ion Detection in Aqueous Media, *Journal of Fluorescence* 29 (2019) 353–360. <https://doi.org/10.1007/s10895-018-02342-4>.
- [41] **S. Jing, C. Zheng, S. Pu, C. Fan, G. Liu**, A highly selective ratiometric fluorescent chemosensor for Hg^{2+} based on a new diarylethene with a stilbene-linked terpyridine unit, *Dyes and Pigments* 107 (2014) 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2014.03.023>.
- [42] **Z. Xue, T. Liu, H. Liu**, Naked-eye chromogenic and fluorogenic chemosensor for mercury (II) ion based on substituted distyryl BODIPY complex, *Dyes and Pigments* 165 (2019) 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.01.061>.
- [43] **R.V. Rathod, S. Bera, P. Maity, D. Mondal**, Mechanochemical Synthesis of a Fluorescein-Based Sensor for the Selective Detection and Removal of Hg^{2+} Ions in Industrial Effluents, *American Chemical Society Omega* 5 (2020) 4982–4990. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03885>.
- [44] **H. He, T. He, Z. Zhang, X. Xu, H. Yang, X. Qian, Y. Yang**, Ring-restricted N-nitrosated rhodamine as a green-light triggered, orange-emission calibrated and fast-releasing nitric oxide donor, *Chinese Chemical Letters* 29 (2018) 1497–1499. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2018.08.019>.
- [45] **J.-Y. Xie, C.-Y. Li, Y.-F. Li, J. Fei, F. Xu, J. Ou-Yang, J. Liu**, Near-Infrared Fluorescent Probe with High Quantum Yield and Its Application in the Selective Detection of Glutathione in Living Cells and Tissues, *Analytical Chemistry* 88 (2016) 9746–9752. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02646>.
- [46] Additive-Free Green Light-Induced Ligation Using BODIPY Triggers - Li - 2020 - *Angewandte Chemie International Edition* - Wiley Online Library, (n.d.). <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201912555> (accessed August 19, 2023).
- [47] **M. von Delius, E.M. Geertsema, D.A. Leigh, D.-T.D. Tang**, Design, Synthesis, and Operation of Small Molecules That Walk along Tracks,

- J. American Chemical Society 132 (2010) 16134–16145.
<https://doi.org/10.1021/ja106486b>.
- [48] **E. Ozdemir, Y. Alcay, O. Yavuz, M.S. Yildirim, H. Aribuga, U. Ertugral, K. Kaya, I. Yilmaz**, Colorimetric and near-infrared spectrophotometric monitoring of bisulfite using glyoxal modified chromenylum-cyanine chemosensor: Smartphone and paper strip applications for on-site food and beverages control, *Talanta* 261 (2023) 124660.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124660>.
- [49] **S. Zhang, T.-H. Chen, H.-M. Lee, J. Bi, A. Ghosh, M. Fang, Z. Qian, F. Xie, J. Ainsley, C. Christov, F.-T. Luo, F. Zhao, H. Liu**, Luminescent Probes for Sensitive Detection of pH Changes in Live Cells through Two Near-Infrared Luminescence Channels, *American Chemical Society Sens.* 2 (2017) 924–931.
<https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00137>.
- [50] **G. K. Vegesna, J. Janjanam, J. Bi, F.-T. Luo, J. Zhang, C. Olds, A. Tiwari, H. Liu**, pH-activatable near-infrared fluorescent probes for detection of lysosomal pH inside living cells, *Journal of Materials Chemistry B* 2 (2014) 4500–4508. <https://doi.org/10.1039/C4TB00475B>.
- [51] **R. Kaushik, R. Sakla, N. Kumar, A. Ghosh, V.D. Ghule, D.A. Jose**, Multianalytes Sensing Probe: Fluorescent Moisture Detection, Smartphone Assisted Colorimetric Phosgene recognition and Colorimetric Discrimination of Cu^{2+} and Fe^{3+} ions, *Sensors and Actuators B: Chemical* 328 (2021) 129026.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.129026>.
- [52] **X. Liu, Z. Chen, R. Gao, C. Kan, J. Xu**, Portable quantitative detection of Fe^{3+} by integrating a smartphone with colorimetric responses of a rhodamine-functionalized polyacrylamide hydrogel chemosensor, *Sensors and Actuators B: Chemical* 340 (2021) 129958.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129958>.
- [53] **Y. Upadhyay, T. Anand, L.T. Babu, P. Paira, A. Kumar SK, R. Kumar, S.K. Sahoo**, Combined use of spectrophotometer and smartphone for the optical detection of Fe^{3+} using a vitamin B6 cofactor conjugated pyrene derivative and its application in live cells imaging, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 361 (2018) 34–40.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.05.002>.
- [54] **H. Aribuga, U. Ertugral, Y. Alcay, O. Yavuz, M.S. Yildirim, E. Ozdemir, K. Kaya, A.B.O. Sert, F.N. Kok, N.Ş. Tuzun, I. Yilmaz**, A new Fe^{3+} -selective, sensitive, and dual-channel turn-on probe based on rhodamine carrying thiophenecarboxaldehyde: Smartphone application and imaging in living cells, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 287 (2023) 122060.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.122060>.
- [55] **T.A. Saleh**, Trends in the sample preparation and analysis of nanomaterials as environmental contaminants, *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 28 (2020) e00101.
<https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00101>.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Vuslat BASAN

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2016 - 2021, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2021 - 2024 İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Kimya Programı

BİLDİRİLER

International Graduate Research Symposium (IGRS'23), 16.05.2023
“Development of a New – Mercury (II) Ion Selective, Chromenilium-Cyanine Based Turn-On Fluorescent Sensor Modified with Mercapto Propionic Acid“

