

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**DEMİR(III) İYONUNA HASSAS, TİYOFEN İLE MODİFİYE EDİLMİŞ
RODAMİN TABANLI YENİ TİP SENSÖRÜN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya ARIBUĞA

Kimya Bölümü

Kimya Programı

OCAK 2022

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**DEMİR(III) İYONUNA HASSAS, TİYOFEN İLE MODİFİYE EDİLMİŞ
RODAMİN TABANLI YENİ TİP SENSÖRÜN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hülya ARIBUĞA
(509181315)**

Kimya Bölümü

Kimya Programı

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İsmail YILMAZ

OCAK 2022

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509181315 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Hülya ARIBUĞA, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “DEMİR(III) İYONUNA HASSAS, TİYOFEN İLE MODİFİYE EDİLMİŞ RODAMİN TABANLI YENİ TİP SENSÖRÜN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI” 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 : 14.01.2022
Savunma Tarihi : 24.01.2022





Aileme ve arkadaşlarıma,



ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimime başladığım ilk günden beri çalışma disiplini ve bilimsel bakış açısı ile örnek aldığım, her zaman değerli bilgilerini bizimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp faydalı olabilmek adına büyük bir ilgi ve sabırla çabalayan, bilgi ve tecrübesiyle bizi her zaman çok daha iyi başarılarla imza atabilmemiz için cesaretlendiren, her türlü desteği ile yanımızda olan çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. İsmail YILMAZ'a,

Beni bu günlere sonsuz destekleriyle ve yaşadığımız her zorlukta biz çocuklarının iyiliğini ön plana koyarak getiren; azimleri, çalışkanlıkları ve cesaretleri ile yolumu aydınlatan ve eğitim hayatımda çok büyük emekleri olan başta biricik annem Zübeyde ARIBUĞA ve babam Muharrem ARIBUĞA olmak üzere abilerim Şenol ARIBUĞA, Erol ARIBUĞA, Ertuğrul ARIBUĞA ve ablalarım Tuba GÖKÇEN, Kübra ARIBUĞA ve bana daha küçük yaştayken halalık ve teyzelik duygularını yaşatan sevgili yeğenlerime, kısacası bu hayattaki en büyük şansım olan aileme sonsuz teşekkürler.

Laboratuvar derslerimde öğrencileri olarak tanışıp daha sonra birlikte çalışma fırsatını bulduğum, benimle öz kardeşleri gibi ilgilenen, hayatın her alanında desteğime koşan manevi abilerim Araş. Gör. Yusuf ALÇAY ve Araş. Gör. Özgür YAVUZ'a, ve uyum içerisinde çalışmanın nasıl bir his olduğunu her gün yaşayarak gözlemlediğim, birlikte çalışmaktan keyif duyduğum çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. Mustafa Semih YILDIRIM, Emre ÖZDEMİR, Dila ÇETİN, Dr.Öğr.Üyesi Seçil KIRLANGIÇ ATAŞEN, Mehmet KAPLAN ve tüm Yılmaz LAB grubuna,

Lisans eğitimimde tanıştığımızdan günden beri benden desteğini esirgemeyen, her konuda yardımına koşan ve pes etmememi sağlayıp başarının peşinden koşmam yönünde beni her zaman cesaretlendiren çok kıymetli arkadaşım Utku ERTUĞRAL'a,

Hayatım boyunca yollarımızın kesiştiği ve bugün olduğum kişi olmamda emeği olan tüm dostlarıma sonsuz teşekkürler.

Proje kapsamında çalışmalarımı destekleyen İTÜ BAP Birimi'ne (Proje no: TGA-2021-42788) teşekkürler.

Ocak 2022

Hülya ARIBUĞA
(Kimyager)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Rodaminler	3
2.1.1 Fotokimyasal özellikleri	4
2.1.2 Rodaminlerin elektronik yapısı ve spektral özellikleri	4
2.1.3 Rodaminlerin sentez yöntemleri	5
2.2 Rodamin B	6
2.3 Floresans Spektroskopisine Genel Bakış	6
Floresan Spektroskopisinin Uygulamaları	7
2.4 Floresan Kemosensörler	8
Kemosensör Olarak Rodaminler	8
2.5 Demir(III) sensörleri	10
Rodamin tabanlı demir(III) sensörleri	13
3. DENEYSEL BÖLÜM	17
3.1 Kimyasallar Ve Cihazlar	17
3.1.1 Kimyasallar	17
3.1.2 Cihazlar	17
3.2 Tiyoferen Modifiyeli ve Rodamin Tabanlı Sensörün (MSB) Sentezi	18
3.2.1 Rodamin B hidrazit sentezi	18
3.2.2 Ligand (MSB) sentezi	18
3.3 Tek Kristal X-Işını Kırınımı Yöntemi	19
3.4 Spektrofotometrik Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlama Çalışmaları	23
3.4.1 Spektrofotometrik ölçüm yöntemleri	23
3.4.2 MSB sensör bileşiminin farklı pH ortamlarındaki spektral davranışı	23
3.4.3 MSB molekülüne ait metal bağlanma çalışması ve Fe ³⁺ seçiciliği	24
3.5 Ligand-Fe ³⁺ Bağlanmasının Spektrofotometrik ve Spektrofluorometrik Titrasyon Çalışmaları	26
3.5.1 Spektrofotometrik titrasyon çalışması	26
3.5.2 Spektrofluorometrik titrasyon çalışması	27
3.6 MSB Molekülü İle Fe ³⁺ Tayininin Diğer Metal Katyonları Tarafından Girişimi Çalışması	27
3.6.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması	27
3.6.2 Spektrofluorometrik yöntemle girişim çalışması	28
3.7 MSB-Fe ³⁺ Sensörünün Tespit Limitinin (LOD) ve K _a Sabitinin Belirlenmesi	29

3.8 MSB Sensörünün Fe^{3+} 'e Karşı Tepki Süresinin Spektroflorometrik Yöntemle Belirlenmesi.....	30
3.9 MSB- Fe^{3+} Bağlanmasının Tersinirliğinin Spektroflorometrik Yöntemle İncelenmesi.....	30
4. SONUÇ VE YORUMLAR	33
4.1 Sensör Bileşiği MSB'nin Sentezi	34
4.1.1 Rodamin B hidrazit sentezi	34
4.1.2 Sensör molekülü MSB'nin sentezi.....	35
4.2 MSB Sensör Bileşiğinin Spektral Özellikleri Ve Fe^{3+} İyonuna Karşı Tepki Mekanizması.....	38
4.3 MSB Sensör Bileşiğinin Spektrofotometrik Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlanma Çalışmaları	39
4.3.1 Spektrofotometrik yöntemle katyon bağlanması çalışması.....	39
4.3.2 Spektroflorometrik yöntemle katyon bağlanma çalışması	39
4.3.3 MSB- Fe^{3+} bağlanmasının çözeltide neden olduğu renk değişimi	40
4.3.4 Fe^{3+} seçiciliği ve tepki mekanizması.....	40
4.3.5 MSB- Fe^{3+} etkileşiminin spektrofotometrik titrasyon çalışması.....	43
4.3.6 MSB- Fe^{3+} etkileşiminin spektroflorometrik titrasyon çalışması	44
4.3.7 Tespit limiti ve K_a bağlanma sabitinin belirlenmesi	45
4.3.8 MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} tayinindeki tepki süresinin spektroflorometrik yöntemle belirlenmesi	46
4.3.9 MSB sensör bileşiği ile Fe^{3+} tayininin diğer metal katyonları tarafından girişimi çalışması.....	47
4.3.9.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması	47
4.3.9.2 Spektroflorometrik yöntemle girişim çalışması	48
4.3.10 MSB- Fe^{3+} bağlanmasının tersinirliğinin spektroflorometrik yöntemle incelenmesi.....	49
4.4 Sensör bileşiğinin, spektroskopik yöntem ile Fe^{3+} tayini yapan rodamin tabanlı diğer sensörler ile analitik parametrelerinin kıyaslanması	50
4.5 Sensör MSB'nin Pratik Uygulamaları.....	50
4.5.1 İçme suyu örneklerinde Fe^{3+} tayini	50
4.5.2 Kâğıt testi ile Fe^{3+} tayini	52
4.6 Sonuç ve Tartışma	54
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMALAR

FT-IR	: Fourier-Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopi
UV-Gör	: Ultraviyole Görünür Işık Spektroskopisi
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
DCM	: Diklorometan
RSD	: Bağlı Standart Sapma
HOMO	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital
LUMO	: En Düşük Boş Moleküler Orbital
MALDI-TOF	: Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
LOD	: Tespit limiti
XRD	: X-Işını Kırınım Yöntemi
MSB	: (E)-5-(((3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[izoindolin-1,9'-ksanten]-2-il)imino)metil)tiyofen-2-karbaldehit



SEMBOLLER

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



ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfalar
Çizelge 3.1 : MSB molekülü için kristalografik ve yapısal veriler.	21
Çizelge 3.2 : MSB molekülüne ait hidrojen bağı geometrileri.	21
Çizelge 3.3 : MSB molekülü için seçilen bağ uzunlukları (Å).	22
Çizelge 3.4 : MSB molekülü için bağ açıları (°).	22
Çizelge 3.5 : MSB molekülü için burulma açıları (°).	22
Çizelge 4.1 : Fe ³⁺ tayini yapan literatürdeki mevcut sensörlerin ve bu çalışmada geliştirilen sensör bileşiğinin analitik parametreleri.	51
Çizelge 4.2 : Fe ³⁺ analizinin içme sularında yapılan gerçek örnek çalışmasının sonuçları ve geri kazanım oranları (a: Floresan yöntemi ile yapılan analiz sonuçları, b: UV-Gör yöntemi ile yapılan analiz sonuçları).	53



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : İlk rodamin türevinin sentez şeması.....	3
Şekil 2.2 : Rodamin genel yapısı.....	3
Şekil 2.3 : Başlıca rodamin türevleri.	4
Şekil 2.4 : Rodamin 101 ve Rodamin B'nin asidik ve bazik pH ortamlarındaki moleküler yapıları.	5
Şekil 2.5 : Woodroffe ve ekibinin geliştirdiği halojenlenmiş floresinden nükleofilik yer değiştirme ile rodamin eldesi yöntemi.	5
Şekil 2.6 : Menchen ve Fung ekibinin geliştirdiği trimelitik anhidrit ve m-aminofenol ile rodamin eldesi.	6
Şekil 2.7 : Rodamin B bileşiği.....	6
Şekil 2.8 : Perrin-Jablonski diyagramının şematik gösterimi.....	7
Şekil 2.9 : Rodamin türevinin spiro-laktam halka açılmasını gösteren şema.	9
Şekil 2.10 : Czarnik ve ekibinin 1997'de geliştirdiği rodamin B hidrazit ile bakır(II) iyonunun ilişkisini gösteren mekanizma.....	9
Şekil 2.11 : Kwon ve ekibinin geliştirdiği floresan kemosensörün Pb^{2+} ile reaksiyonunu gösteren mekanizma.	10
Şekil 2.12 : Wang ve ekibinin geliştirdiği HSO_3^- sensörü 10	10
Şekil 2.13 : Chung ve ekibinin geliştirdiği Fe^{3+} sensörü..... 11	11
Şekil 2.14 : Sensör bileşiği ve Fe^{3+} ile muamele edilen HeLa hücrelerinin floresan görüntüleri..... 11	11
Şekil 2.15 : Li ve ekibinin tasarladığı sensör ve Fe^{3+} arasındaki öngörülen bağlanma.. 11	11
Şekil 2.16 : Sui ve ekibinin tasarladığı BODIPY modifiyeli Fe^{3+} sensörü. 12	12
Şekil 2.17 : Yuan ve ekibinin geliştirdiği kinazolin tabanlı Fe^{3+} sensörü..... 12	12
Şekil 2.18 : Yuan ve ekibinin geliştirdiği sensörün spektral davranışı. 12	12
Şekil 2.19 : Song ve ekibinin geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü..... 13	13
Şekil 2.20 : Kang ve ekibinin tasarladığı rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü. 13	13
Şekil 2.21 : Chen ve Fang tarafından geliştirilen rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü..... 14	14
Şekil 2.22 : Chen ve ekibinin geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü..... 14	14
Şekil 2.23 : Kan ve ekibinin geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü..... 15	15
Şekil 2.24 : Song ve ekibinin geliştirdiği Fe^{3+} sensörü. 15	15
Şekil 2.25 : Liu ve Qian'ın geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü..... 15	15
Şekil 3.1 : MSB sensör bileşiğinin sentez şeması. 18	18
Şekil 3.2 : Rodamin B hidrazitin sentez şeması. 18	18
Şekil 3.3 : Ligand (MSB) sentezi. 19	19
Şekil 3.4 : MSB'nin termal elipsoidlerini atom numaralandırmasıyla gösteren moleküler çizim (Hidrojen atomları netlik için çıkartılmıştır)..... 20	20
Şekil 3.5 : Karbonil ve alkil birimleri arasındaki hidrojen bağı yoluyla dimer oluşumunu gösteren moleküler çizim. 20	20
Şekil 3.6 : Sensör MSB'nin (siyah çizgi) ve MSB+ Fe^{3+} çözeltisinin (kırmızı çizgi) çeşitli pH değerlerinde 580 nm'de sahip olduğu floresan şiddetleri. Uyarma dalga boyu=510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5nm/5nm. İç resim:	

Spirolaktam halka açma işleminden önce (renksiz) ve sonraki (pembe) çözelti renkleri.	24
Şekil 3.7 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda gösterdiği spektral davranış.	25
Şekil 3.8 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının ($5,0 \times 10^{-5}$ ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda ligandın spektrofotometrik spektrumu. Uyarma dalga boyu: 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları 5 nm /5 nm.....	25
Şekil 3.9 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) artan Fe^{3+} konsantrasyonlarıyla yapılan titrasyonunun UV-Gör spektrumu.....	26
Şekil 3.10 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) artan Fe^{3+} konsantrasyonlarıyla yapılan titrasyonunun floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm /5 nm.....	27
Şekil 3.11 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine Fe^{3+} eklenmesi sonucunda gösterdiği UV-Gör spektrumu.	28
Şekil 3.12 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine Fe^{3+} eklenmesi sonucunda gösterdiği floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm/ 5 nm.	29
Şekil 3.13 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandına (0,05 mM) Fe^{3+} (5 eşdeğer) ilavesi sonucunda zamana bağlı olarak alınan floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm/ 5 nm.	30
Şekil 3.14 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) Fe^{3+} (2 eşdeğer) ve Na_2EDTA (2 eşdeğer) ilaveleri sonucunda elde edilen floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm/ 5 nm.....	31
Şekil 4.1 : Rodamin B hidrazit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (d-Kloroform).....	34
Şekil 4.2 : Rodamin B hidrazit bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (d-Kloroform).	35
Şekil 4.3 : MSB bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (d-Kloroform).	36
Şekil 4.4 : MSB sensör bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (d-Kloroform).	36
Şekil 4.5 : MSB sensör bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	37
Şekil 4.6 : MSB sensör bileşiğinin MALDI-TOF spektrumu.....	37
Şekil 4.7 : 0,05 mM MSB'nin UV-Gör spektrumu (etanol içerisinde).	38
Şekil 4.8 : 0,05 mM MSB'nin floresan spektrumu (etanol içinde, uyarma dalga boyu:510 nm, uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm/5nm).	38
Şekil 4.9 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolde 0,05 mM) Fe^{3+} ve diğer metal iyonlarının (0,25 mM) ilavesi sonucunda UV-Gör tepkisi (Bar grafiği verileri 559 nm'ye aittir).....	39
Şekil 4.10 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolde 0,05 mM) Fe^{3+} ve diğer metal iyonlarının (0,25 mM) ilavesi sonucunda floresan spektrumu ve bar grafiği (Bar grafiği verileri 580 nm'ye aittir). Uyarma dalga boyu:510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm/5nm.	40
Şekil 4.11 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğine (etanolde 0,05 mM) Fe^{3+} , Na^+ , K^+ , Li^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , ve Fe^{2+} iyonlarının (0,25 mM) ilavesi sonucunda görünür ışık altında çözeltilerin sahip olduğu renkler.	40
Şekil 4.12 : 39:1 etanol/su ortamında MSB – Fe^{3+} 'ün Job grafiği.	41
Şekil 4.13 : MSB- Fe^{3+} kompleksinin MALDI-TOF MS spektrumu (Matriks: DHB)...41	
Şekil 4.14 : MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} eklendikten sonraki FT-IR spektrumu.	42

Şekil 4.15 : MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} ilave edilmeden önce ve 1 eşdeğer Fe^{3+} ilave edildikten sonraki $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (d-DMSO).....	43
Şekil 4.16 : MSB ile Fe^{3+} arasındaki ön görülen bağlanma.	43
Şekil 4.17 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolde 0,05 mM) Fe^{3+} ile titrasyonu sonucunda elde edilen UV-Gör noktasal verileri (Noktasal veriler 559 nm'ye aittir).	44
Şekil 4.18 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolde 0,05 mM) Fe^{3+} ile titrasyonu sonucunda elde edilen floresana ait noktasal veriler (Noktasal veriler 580 nm'ye aittir). Uyarma dalga boyu: 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm. Siyah noktalar konsantrasyonlara karşılık gelen floresan şiddetlerini ve kırmızı çizgiler hata oranlarını simgelemektedir.	45
Şekil 4.19 : K_a bağlanma sabitinin Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak hesaplanması.	46
Şekil 4.20 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğine (etanolde 0,05 mM) Fe^{3+} ilave edildikten sonraki floresana ait noktasal veriler (Noktasal veriler 580 nm'ye aittir). Uyarma dalga boyu: 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm.	47
Şekil 4.21 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin diğer metal iyonları varlığında Fe^{3+} ilavesine vermiş olduğu UV-Gör tepkisi (Bar grafikleri 559 nm'ye ait absorbans değerlerini simgelemektedir).	48
Şekil 4.22 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine Fe^{3+} eklenmesi sonucunda gösterdiği floresan tepkisi. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm.	49
Şekil 4.23 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) Fe^{3+} (2 eşdeğer) ve Na_2EDTA (2 eşdeğer) ilaveleri sonucunda elde edilen floresan tepkisi. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm. Noktasal veriler 580 nm'ye ait floresan şiddetlerini temsil etmektedir.	50
Şekil 4.24 : MSB emdirilmiş test kağıtlarının artan miktarlarda Fe^{3+} çözeltilerine daldırıldıktan sonraki renk değişimi.	53



DEMİR(III) İYONUNA HASSAS, TİYOFEN İLE MODİFİYE EDİLMİŞ RODAMİN TABANLI YENİ TİP SENSÖRÜN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI

ÖZET

Rodamin bileşiği, ilk olarak 1905 yılında m-aminofenol ve ftalik anhidritin Lewis asidi varlığında gerçekleşen reaksiyonu sonucunda sentezlenmiş ve o günden beri pek çok alanda kullanılmıştır.

Ksanten grubunun bir üyesi olan rodamın moleküllerinin ksanten gruplarında ve ksantene bağlı benzenin üzerinde bulunan süstitüsyonlara göre farklı türevleri bulunmaktadır. Kompleksleşme reaksiyonları benzene bağlı fonksiyonel gruplardaki heteroatomlar üzerinden gerçekleşmektedir.

Rodamin bileşiklerinin fotofiziksel ve fotokimyasal açıdan avantajlı özelliklere sahip olması, son yıllarda yapılan araştırmalara konu olmalarında önemli bir faktördür. Bu özelliklere yüksek floresan kuantum verimi, yüksek absorpsiyon katsayısı, uzun uyarma ve emisyon dalga boyları ve büyük sönümlleme katsayısı örnek olarak verilebilir. Molekül üzerindeki spirolaktam halkası, ortamın pH değerine bağlı olarak ya da analit ilavesi ile açılarak, görünür bölgede şiddetli bir ışımaya yapmasına neden olmaktadır. Ayrıca spirolaktam halkasının kolayca açılıp kapanabilmesi, tekrar kullanılabilirlik özelliğine sahip olduklarını göstermektedir.

İnsan vücudunda en bol bulunan geçiş metali olan demir, enzimatik reaksiyonlar, DNA ve RNA sentezleri, kas kasılması, vücut ısısının düzenlenmesi, kanda oksijenin taşınması, kalp, böbrek, pankreas gibi organların işlevlerinin düzenlenmesi gibi hayati metabolik işlemlerde yer alır. Ayrıca dünya üzerinde doğrudan veya dolaylı yollarla demir ve türevleri ile çevrilmiş durumdayız ve bu türevler ekosistemdeki yaşamın uygun şekilde sürdürülmesinde büyük etkiye sahiptir. Demir; su yoluyla, gıdalardan veya çevresel kaynaklardan vücuda alınabilir ve vücuttaki miktarının fazla ya da eksik olması durumunda Alzheimer, Parkinson, kansızlık ve organların işlevlerinin bozulması gibi hayati hastalıklara neden olmaktadır. Bu nedenle endüstriyel, çevresel ve biyolojik numunelerde demir iyonlarının ölçümü için hem hassas ve seçici hem de hızlı tepki süresine sahip bir sensör tasarlamak önem arz etmektedir. Günümüze dek, AAS ve ICP-MS gibi analitik yöntemler Fe^{3+} tayini için kullanılmıştır, fakat bu yöntemler pahalı ekipman ve karmaşık numune hazırlama aşamaları gerektirdiğinden bu yöntemler yerine hem kolorimetrik hem de florometrik ölçüm sağlayabilen, kullanımı kolay ve gerçek zamanlı analiz gerçekleştiren kemosensörler son yıllarda büyük ilgi görmektedir.

Buna bağlı olarak, bu tez çalışması kapsamında hem UV-Gör hem floresan yöntemiyle Fe^{3+} analizi yapabilen, tiyofen ile modifiye edilmiş, rodamın B tabanlı yeni bir sensör başarıyla sentezlenmiştir. Sentezlenen sensör bileşiğinin karakterizasyonu NMR, IR, MALDI-TOF ve X-Işını Kristallografisi gibi yöntemlerle gerçekleştirilerek yapısı

aydınlatıldıktan sonra pH 7 tamponlu etanol/su çözücü ortamında Fe^{3+} analizi yapılmıştır. Spirolaktam halkasının kapalı formunda floresan aktif olmayan ve renksiz bir çözeltiye sahip olan sensör bileşiğinin Fe^{3+} iyonu varlığında 580 nm’de şiddetli bir floresan emisyonu ve UV-Gör spektrumunda 559 nm’de yeni bir band oluşumu görülmesinin yanında çözeltinin rengi de pembemsi kırmızıya dönmüştür. Fe^{3+} iyonuna karşı seçici olduğu görüldükten sonra sensöre ppm mertebesinde Fe^{3+} ilaveleri yapılarak titrasyon çalışması yapılmış ve hassasiyeti incelenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda UV-Gör yöntemi için tespit limiti $5,99 \times 10^{-8}$ M ve çalışma aralıkları 33,3-55,0 μM olarak belirlenmiştir. Florometrik yöntem sonucunda ise tespit limiti $4,85 \times 10^{-9}$ M ve çalışma aralığı 25,3-50,7 μM olarak belirlenmiştir. Bağlanma sabiti (K_a) değeri ise UV-Gör titrasyon verilerinden hesaplanarak $1,89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Sensör bileşiğinin Fe^{3+} ’ü tayin etme süresi ise florometrik olarak incelenmiş olup 4 dakika gibi kısa bir süre olduğu belirlenmiştir. Daha sonra sensör ile Fe^{3+} analizi yapılmasının diğer metal iyonları tarafından girişime uğrayıp uğramadığı incelenmiş ve çinko hariç hiçbir metalin belirgin bir girişim göstermediği görülmüştür. Ayrıca, Fe^{3+} varlığında alınan spektral tepkinin Na_2EDTA ilavesiyle tersine çevrilebildiği ve Fe^{3+} ilavesi ile tekrar tepki alınabildiği görülmüş olup sensörün tersinir bir şekilde tayin sağlayabildiği belirlenmiştir. Buna ek olarak, içme suyu örneklerinde Fe^{3+} tespiti için yüksek geri kazanım oranına sahip bir sensör olduğu UV-Gör ve florometrik çalışmalar ile gösterilmiştir. Son olarak sensörün bir diğer pratik uygulaması olarak kâğıt testi çalışmaları yapılmış ve böylece sensör çözeltisine bağlı kalmadan sensörle yüklenmiş kâğıt şeritleri ile gerçek zamanlı Fe^{3+} analizi yapılabileceği görülmüştür. Böylece rodamin B tabanlı, UV-Gör ve floresan olmak üzere çift kanallı analiz gerçekleştiren seçici ve hassas bir Fe^{3+} sensörü literatüre kazandırılmıştır.

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND APPLICATIONS OF THE IRON(III) ION SENSITIVE, THIOPHENE MODIFIED RHODAMINE-BASED NEW TYPE OF SENSOR

SUMMARY

Rhodamine compound was first synthesized in 1905 as a result of the reaction of m-aminophenol and phthalic anhydride in the presence of Lewis acid and has been used in many fields since then.

Rhodamine molecules, which are members of the xanthene group, have different derivatives according to the substitutions on the xanthene groups and on the benzene bound to xanthene. The most commonly used rhodamine derivatives are rhodamine b, rhodamine 6g and rhodamine 123. The difference between these structures is the presence of different functional groups in the xanthene group and the benzene ring attached to the xanthene. Complexation reactions take place over heteroatoms in functional groups attached to benzene.

Photoluminescence is the process by which an atom or molecule absorbs light of a particular wavelength (excitation) and emits a light of a different, longer wavelength. It can be divided into two categories according to the nature of the excited photoluminescence, fluorescent and phosphorescent. Absorption is the process by which an electron is excited from a lower energy state to its higher energy state. After absorption of light of a certain wavelength, the molecules transition to their excited states. After excitation, the molecule undergoes a rapid relaxation called internal conversion to the lowest vibrational level of the excited electronic state, producing radiational emission in the form of fluorescence. Fluorescent emission occurs when the electron in the fluorophore molecule transitions from a single electronic excited state to an allowable vibrational level at the ground state level.

A device that detects changes in the environment and responds to this change is called a sensor. These changes can be light, heat, motion or any other environmental information. Chemosensors are molecules that detect the analyte or molecule of interest and produce a detectable response. As a mechanism, chemosensors bind to a given analyte with high selectivity. Due to this binding, some changes occur in the absorption, fluorescence spectra or redox potentials of the system. Chemosensors are powerful tools for monitoring metal ions *in vivo* and *in vitro* due to their high selectivity and sensitivity, simple preparation steps, low cost, real-time monitoring capabilities, and short response times. One of the most widely used fluorescent chemosensors is rhodamines.

The fact that rhodamine compounds have photophysical and photochemical advantageous properties as an important factor for them to be the subject of research in recent years. Examples of these properties are high fluorescence quantum efficiency, high absorption coefficient, long excitation and emission wavelengths, and large extinction coefficient. The spirolactam ring on the molecule opens with the pH of the environment or with the addition of the analyte, causing it to glow intensely in the visible region. In addition, the ability of the spirolactam ring to be easily reclosable shows that they are suitable

molecules for studies where reusability is desired. Due to their high photophysical properties, rhodamines are used in areas such as laser dye, pigment, fluorescent standard in quantum yield calculations, imaging of a single molecule, imaging in living cells and chemical sensors.

Iron, the most abundant transition metal in the human body, is involved in vital metabolic processes such as enzymatic reactions, DNA and RNA synthesis, muscle contraction, regulation of body temperature, transport of oxygen in the blood, and regulation of the functions of organs such as the heart, kidney, and pancreas. In addition, we are surrounded by iron and its derivatives in the world, directly or indirectly, and these derivatives have a great impact on the proper maintenance of life in the ecosystem. Iron; It can be taken into the body through water, food or environmental sources, and in case of excess or deficiency in the body, it causes vital diseases such as Alzheimer's, Parkinson's, anemia and deterioration of the functions of the organs. Therefore, it is necessary to design a sensor that is both sensitive and selective and has a fast response time for the measurement of iron ions in industrial, environmental and biological samples. To date, analytical methods such as atomic absorption spectroscopy, voltammetry, inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) have been used for the determination of Fe^{3+} , but these methods have some disadvantages such as requiring expensive equipment and complex sample preparation steps. Instead of these methods, chemosensors, which can provide both colorimetric and fluorometric measurements, are easy to use and perform real-time analysis, have attracted great interest in recent years.

Accordingly, within the scope of this thesis, a sensor that can analyze Fe^{3+} with both UV-Vis and fluorescence method has been developed. A new rhodamine B-based sensor modified with thiophene has been successfully synthesized. The sensor compound was synthesized by the reaction of rhodamine b hydrazide and 2,5-thiophendicarboxaldehyde in ethanol medium. The characterization of the synthesized sensor compound was performed by methods such as NMR, FT-IR, MALDI-TOF MS and X-Ray Crystallography, and the structure was elucidated. After the molecular structure was determined, Fe^{3+} analysis was performed in pH 7 buffered ethanol/water solvent medium. In the presence of Fe^{3+} ion of the sensor compound, which has a fluorescently inactive and colorless solution in the closed form of the spirolactam ring, a strong fluorescent emission at 580 nm and a new band at 559 nm in the UV-Vis spectrum were observed, and the color of the solution turned pinkish red. After it was seen that it was selective against Fe^{3+} ion, titration study was carried out by adding ppm Fe^{3+} to the sensor and its sensitivity was examined. As a result of these studies, the detection limits for UV-Vis and fluorescent methods were found to be 5.99×10^{-8} M and 4.85×10^{-9} M, respectively, and working linear ranges of 33.3 - 55.0 μM and 25.3 - 50.7 μM . The binding constant K_a value were calculated from the UV-Vis titration data and found to be $1.89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. The time to determine Fe^{3+} of the sensor compound was examined fluorometrically and it was determined to be as short as 4 minutes. Then, it was examined whether the Fe^{3+} analysis with the sensor was interfered with by other metal ions and it was observed that no metal except zinc showed significant interference. In addition, it was observed that the spectral response in the presence of Fe^{3+} could be reversed with the addition of Na_2EDTA and the response could be obtained again with the addition of Fe^{3+} , and it was determined that the sensor was able to detect in a reversible manner. In addition, it has been demonstrated by UV-Vis and fluorometric studies that it is a sensor with a high recovery rate for the detection of Fe^{3+} in drinking water samples. Finally, as another practical application of the sensor, paper test studies have been carried out and it has been seen that real-time Fe^{3+}

analysis can be performed with paper strips loaded with the sensor without being connected to the sensor solution. Thus, a selective and sensitive Fe^{3+} sensor based on rhodamine B, which performs double-channel analysis, including UV-Vis and fluorescence, and also colorimetric analysis has been brought to the literature.





1. GİRİŞ

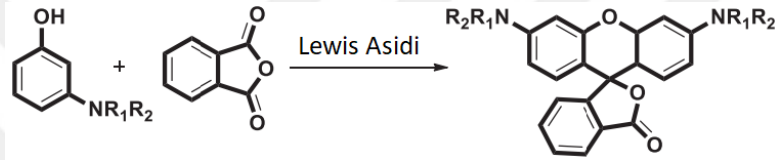
Demir ve türevleri, dünya üzerindeki tüm canlıların ve ekosistemdeki yaşamın uygun şekilde sürdürebilmesinde, doğrudan veya dolaylı olarak büyük bir etkiye sahiptir. İnsan vücudunda en bol bulunan geçiş metali olan demir, DNA ve RNA sentezleri, enzimatik reaksiyonlar, kas kasılması, sinir iletimi ve vücut ısısının düzenlenmesi gibi metabolizma ile ilgili çeşitli işlemlerde hayati öneme sahiptir. Ayrıca, insan vücudunda demirin genellikle bulunduğu yerler, kandaki oksijenin taşınmasında rol oynayan hemproteinler ve hemoglobindir. Günlük hayatımızda demiri gıdalardan, su yoluyla ve ayrıca çevresel kaynaklar gibi birçok şekilde vücuda alırız. Bu nedenle, demir yaygın bir ağır metal olduğundan, konsantrasyonu hem çevre hem de canlı türlerinin sağlığı için çok önemlidir [1,2]. İnsan vücudundaki demir eksikliği veya fazlalığı çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilir [3–5]. Yetersiz miktarda demir olması, kansızlığa, bilişsel anormalliklere ve ayrıca hamilelerde bebeğin ve annenin ölümüne yol açabilir. Öte yandan, vücutta biriken fazla miktarda demir; diyabet, Alzheimer, Parkinson ve Welder hastalıklarına ve karaciğer, kalp, böbrek ve pankreas gibi organların işlevlerinde bozulmaya neden olabilir [6–10]. Ayrıca demir, suda ve toprakta yaygın olarak görülebilen bir elementtir, bu nedenle endüstriyel ve çevresel numunelerde demir iyonlarının ölçümü için uygun tepki süresine sahip hassas ve seçici bir sensör geliştirmek oldukça önemlidir [11–13]. Günümüze dek, Fe^{3+} iyonunu tespit etmek için spektrofotometri, voltametri, ICP-MS (endüktif olarak eşleştirilmiş plazma kütle spektrometrisi), AAS (atomik absorpsiyon spektroskopisi) gibi çeşitli analitik yöntemler kullanılmıştır. Ancak bu tekniklerin pahalı cihazlar, karmaşık numune hazırlama aşamaları ve prosedürü uygulayacak uzman kişiler gerektirmesi gibi bazı dezavantajları vardır [14,15]. Bu yöntemler yerine kolorimetrik ve florometrik ölçüm sağlayan sensörler basit kullanım, daha yüksek duyarlılığa sahip sonuçlar, gerçek zamanlı tespit ve düşük maliyet sağladıkları için büyük ilgi görmektedir [16–18]. Floresan üzerinde güçlü bir sönmüleme etkisine yol açan Fe^{3+} 'nın paramanyetik karakteri, tespitinde bazı zorluklara neden olabilir. Kuvvetli floresana sahip "turn-on" sensörleri, turn-off (sönümlenebilir) sensörlere kıyasla çevre tarafından çok az veya hiç girişim olmadan daha güçlü sinyal

yoğunluğuna sahiptir ve gerçek numunelerde algılama için uygulamaya uygundurlar. Günümüze kadar, Fe^{3+} iyonuna seçici olan sensörlerin geliştirilmesinde rodamin, piren, naftalimid veya BODIPY platformlarına [19–22] sahip birçok floresan molekül kullanılmıştır. Rodamin türevleri, yüksek floresan kuantum verimi, uzun uyarma ve emisyon dalga boyları, büyük söndürme katsayısı ve yüksek fotoağartma eşiği gibi üstün fotofiziksel özelliklere sahip oldukları için eşsiz kolorimetrik ve florometrik kemosensörlerdir [23]. Günümüzde, rodamin moleküllerine dayalı çeşitli sensörlerin Cu^{2+} [24,25], Hg^{2+} [26,27], Cr^{3+} [28,29] ve bazı diğer metal iyonlarını algılamada başarılı olduğu çalışmalar yapılmıştır. Rodamin türevlerinin metal algılama mekanizması, yapıdaki spirolaktam halkasının açılmasına dayanır, moleküldeki bu düzenleme sensör çözeltisinin rengini renksizden pembemsi kırmızıya değiştirir ve UV-Gör ve floresan tepkilerinde güçlü bir artışa neden olur. Fe^{3+} iyonu için seçici olan çeşitli floresan sensörler daha önce yayınlanmıştır [30–38], ancak bunların çoğu daha yüksek bir tespit limiti (LOD), daha uzun yanıt süresi, daha dar doğrusal aralık içerir ve geri dönüşümlü kullanıma sahip değildir. Bu nedenle, Fe^{3+} iyonu için seçici olan yeni bir turn-on sensörün geliştirilmesi, mevcut sensörlerle ilgili kısıtlamaların üstesinden gelmek için gereklidir. Bu çalışmadaki amaç, Fe^{3+} tayini için karşılaşılan kritik eksikliklere çözüm sağlayan yeni bir rodamin tabanlı florometrik ve kolorimetrik sensör geliştirmektir. Tasarladığımız bu sensör pH 7 tamponlu etanol/su çözücü ortamında spektrofotometrik yöntemle $5,99 \times 10^{-8}$ M ve spektroflorometrik yöntemle $4,85 \times 10^{-9}$ M tespit limitine sahip, 4 dakika kadar kısa bir sürede tespit sağlayabilme ve performansında hiçbir azalma olmadan tekrar kullanılabilme özellikleri ile literatürdeki rodamin tabanlı sensörler arasında avantajlarıyla ön plana çıkmaktadır. Ayrıca sensörün içme suyu gibi gerçek örneklerde Fe^{3+} tayinini yüksek geri kazanım oranıyla gerçekleştirebiliyor olması yakın gelecekte gıdalarda ve hatta canlı organizmalarda Fe^{3+} 'ün etkili şekilde tespitinin önünü açmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

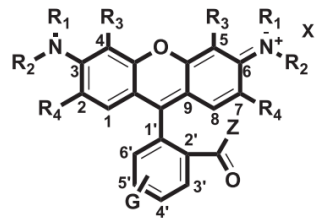
2.1 Rodaminler

Rodaminler, ksanten ailesine ait florofofor bileşiklerdir. İlk olarak 1905'te Noelting ve Dziejowsky tarafından sentezlenmiştir (Şekil 2.1). Bu sentezde m-aminofenol ve ftalik anhidrit ile bir Lewis asidi varlığında gerçekleşen reaksiyon sonucunda rodamin elde edilmiştir [39].



Şekil 2.1 : İlk rodamin türevinin sentez şeması

Rodamin boyar maddeler; yüksek fotokararlılık, yüksek floresan kuantum verimi ve yüksek absorpsiyon katsayıları gibi önemli fotofiziksel özelliklere sahip olduklarından bu spektroskopik özellikleri ile son yıllarda oldukça dikkat çekmektedirler. Rodaminler genellikle, floresan aktif olmayan ve renksiz olan rodamin spirolaktam yapısı spesifik metal iyonlarının varlığında sadece absorpsiyon ve floresan ölçümleriyle değil, aynı zamanda doğrudan görsel algılama sağlayan (kolorimetrik) renkli ve yüksek oranda floresan halkasının açık olduğu amit formuna dönüşür [40]. Fenil halkalarına bağlı olan R₁, R₂, R₃, R₄ ve G gruplarından ve ayrıca eşlenik iyon kısmından (X⁻) modifiye edilerek (genellikle Cl⁻, Br⁻ ve ClO₄⁻) farklı fotokimyasal özelliklere sahip rodaminler tasarlanabilmektedir (Şekil 2.2). Bu fotofiziksel özelliklere örnek olarak farklı emisyon ve absorpsiyon dalga boylarına sahip veya farklı floresan kuantum verimine sahip rodamin türevleri verilebilir.

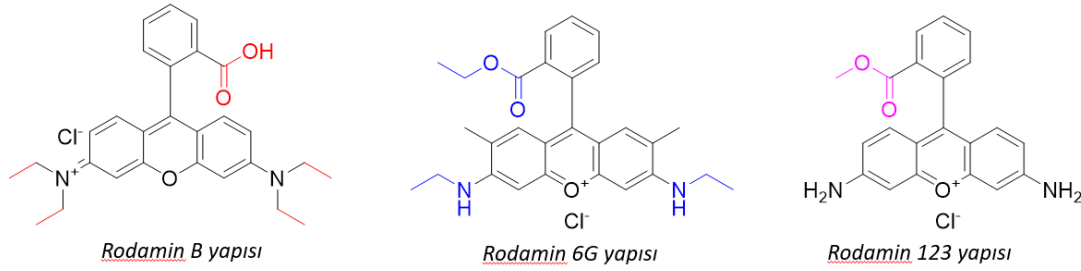


Şekil 2.2 : Rodamin genel yapısı.

Rodamin boyar maddeler, genellikle kağıt ve mürekkepleri boyamak için kullanılırlar. Buna ek olarak sentetik boyalar, lazer boyalar ve biyoloji çalışmalarında floresan standart ve floresan işaretleyici olarak kullanılmaktadır [40].

2.1.1 Fotokimyasal özellikleri

Rodamin bileşiklerinin yapısında ksanten grubu, amino grupları ve karboksilli asit veya ester gibi fonksiyonel gruplar bulunur. Genellikle, floresan emisyon dalga boyu yaklaşık 550-650 nm ve UV-Gör absorpsiyon dalga boyu yaklaşık 540-600 nm arasındadır. Rodamin ailesinde rodamin B, rodamin 6G ve rodamin 123 gibi önemli bileşikler bulunmaktadır. Rodamin B yapısında ksanten grubuna bağlı N,N-diethylamino grubu ve ksanten grubuna bağlı olan benzen halkasında karboksilli asit fonksiyonel grubu bulunur. Rodamin 6G yapısında ksanten grubuna bağlı metil ve N-ethylamino grupları bulunurken ksantene bağlı benzen halkasında ester fonksiyonel grubu bulunur. Rodamin 123 yapısında ise ksanten grubuna bağlı amin grupları ve ksantene bağlı benzen halkasında ester grubu yer almaktadır (Şekil 2.3) [41].

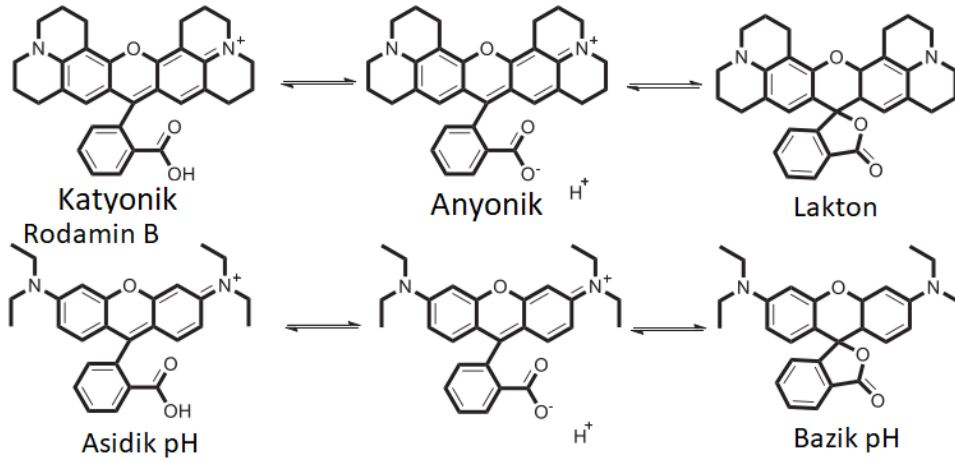


Şekil 2.3 : Başlıca rodamin türevleri.

2.1.2 Rodaminlerin elektronik yapısı ve spektral özellikleri

Rodamin türevlerinde elektron transferi amino grubu ile ksanten grubu arasında olur ve bunun sonucunda emisyonunda batokromik kayma gözlemlenir. Bu özellik rodaminin bulunduğu çözücü ortamının polarite, pH değeri veya viskozite gibi özelliklerine göre değişiklik gösterebilir. Asidik ortamda karboksil grubu proton kazanarak rodamin katyonik forma geçer. Buna karşılık bazik ortamda ise, rodamin ayrışarak bir zwitter iyonla dönüşür. Bu iki form aslında aynı kromofora sahiptir, negatif yük, hem absorpsiyon hem de emisyon dalga boyunda hipokromik bir kaymaya neden olan ksanten kromoforun merkezi karbon atomu üzerinde indüktif etkiye neden olur. Çözücünün polaritesi azaldığında, zwitter iyon formu, π -konjugasyonunun bozulması nedeniyle tersinir olarak renksiz bir lakton formuna (Şekil 2.4) dönüşür [40].

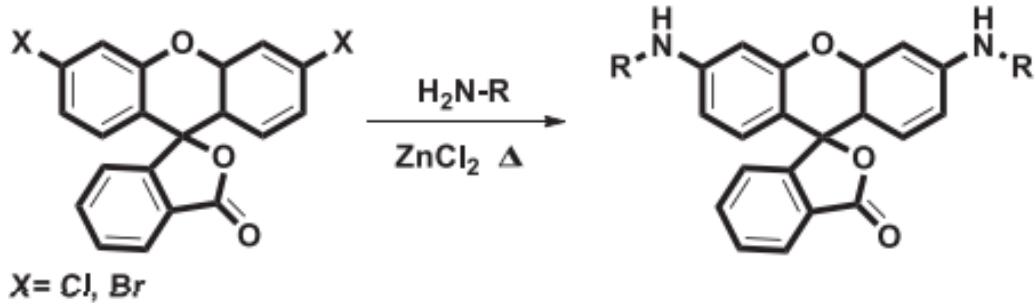
Rodamin 101



Şekil 2.4 : Rodamin 101 ve Rodamin B'nin asidik ve bazik pH ortamlarındaki moleküler yapıları.

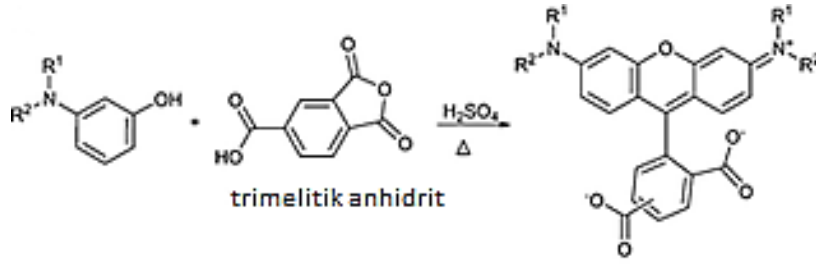
2.1.3 Rodaminlerin sentez yöntemleri

Rodaminler genellikle m-aminofenol ve ftalik anhidrit bileşiklerinin bir asit katalizörlüğünde reaksiyonundan elde edilirler. Buna ek olarak, Woodrooffe ve ekibi 3',6'-diklorofloresin bileşiklerinin $ZnCl_2$ varlığında aminlerle reaksiyonu sonucu rodamin bileşiği sentezlemiştir (Şekil 2.5) [42].



Şekil 2.5 : Woodrooffe ve ekibinin geliştirdiği halojenlenmiş floresinden nükleofilik yer değiştirme ile rodamin eldesi yöntemi.

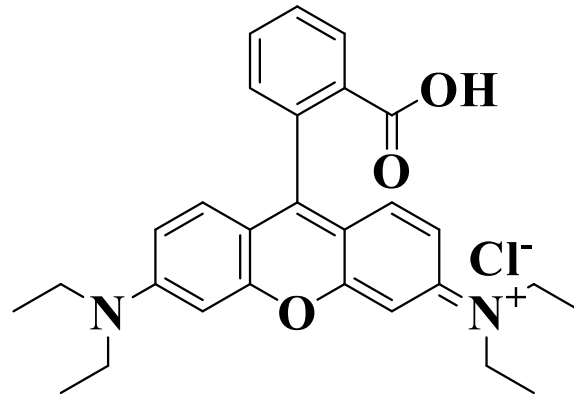
İlk yapılan rodamin sentez yönteminden farklı olarak Menchen ve Fung, m-aminofenolün trimelitik anhidrit ile asidik ortamdaki reaksiyonu ile yeni bir sentez yöntemi geliştirmiştir. (Şekil 2.6) [43].



Şekil 2.6 : Menchen ve Fung ekibinin geliştirdiği trimelitik anhidrit ve m-aminofenol ile rodamin eldesi.

2.2 Rodamin B

IUPAC adı [9-(2-karboksi-fenil)-6-dietilamino-3-ksanteniliden]- dietilamonyum klorürdür. Kapalı formülü $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ olup molekül ağırlığı 479,02 g/mol'dür. Rodamin B bileşiği, şekil 2.7'de görüldüğü üzere, ksanten grubu ve floren alt grubundan olup üç aril halkanın ikisinde dietilamino grubu bir tanesinde ise karboksil grubu bulundurmaktadır. Etanol gibi organik çözücülerde ve suda çözünürlüğü oldukça yüksektir. Toz şeklinde olup suda çözündüğünde kırmızı renk verir [44]. Rodamin B boyar maddelerinin amfoterik özelliği de bulunmaktadır. Günlük hayatta yün, pamuk, lif, mobilya, kozmetik gibi birçok malzemede kullanılan bir boyar maddedir. Bu çalışmada rodamin B bileşiğinden yola çıkılarak sensör tasarımı yapılmıştır.

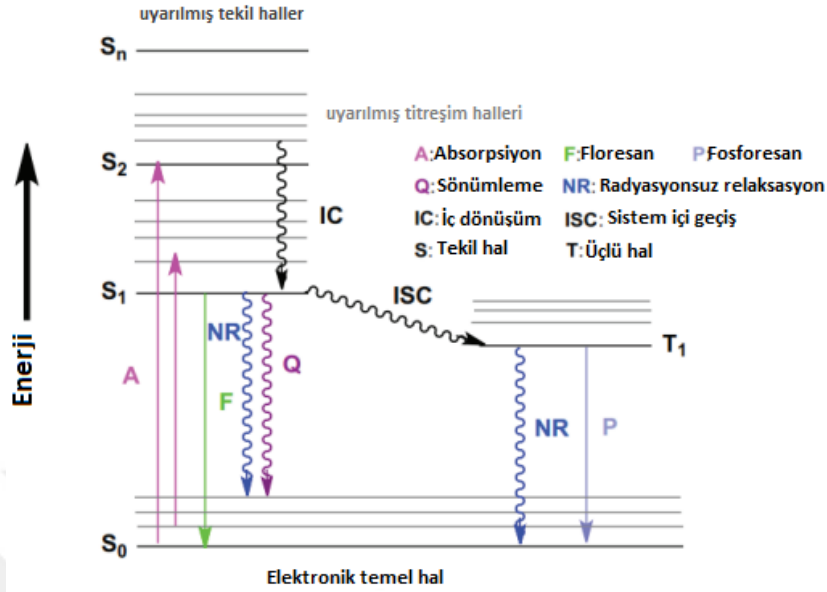


Şekil 2.7 : Rodamin B bileşiği.

2.3 Floresans Spektroskopisine Genel Bakış

Fotoluminesans, bir atomun veya molekülün belirli bir dalga boyundaki bir ışığı emdiği (uyarma) ve farklı, daha uzun bir dalga boyunda bir ışık yaydığı süreçtir. Floresan ve fosforesan olmak üzere, uyarılmış haldeki fotoluminesansın doğasına göre

iki kategoriye ayrılabilir. Perrin-Jablonski diyagramı (Şekil 2.8), fotolüminesans ve moleküler enerji durumları arasındaki ilişkiyi net bir şekilde açıklamaktadır [45].



Şekil 2.8 : Perrin-Jablonski diyagramının şematik gösterimi.

Bu diyagramda ilk geçiş, belirli bir enerjiye sahip fotonun absorbanlanma işlemidir. Absorpsiyon, bir elektronun daha düşük bir enerji halinden daha yüksek enerjili haline uyarıldığı süreçtir. Belirli bir dalga boyundaki ışığın absorpsiyonundan sonra, moleküller S_1 ve S_2 gibi uyarılmış hallerine geçiş yapar. Absorbe edilen enerji, moleküllerin temel durumdan uyarılmış duruma geçmesiyle güçlü bir şekilde ilişkilidir. Bir molekülün S_1 durumuna uyarılması çoğunlukla bir elektronun en yüksek dolu moleküler orbitalden (HOMO) en düşük boş moleküler orbitale (LUMO) geçişine neden olur ve bu geçiş süreci çok hızlı gerçekleşir. Uyarma işleminden sonra molekül hızlı bir şekilde uyarılmış elektronik halin en düşük titreşim seviyesine doğru iç dönüşüm adı verilen hızlı bir gevşemeye uğrar ve floresan şeklinde radyasyonel emisyon üretir. Floresan emisyonu, florofor molekülündeki elektronun tekli elektronik uyarılmış durumdan temel hal seviyesinde izin verilen bir titreşim seviyesine geçiş yapması ile gerçekleşir [45].

Floresan Spektroskopisinin Uygulamaları

Flofor bir molekülün yaydığı ışının maksimum dalga boyu kullanılarak kalitatif ve kantitatif ölçümler yapılabilir. Floresan spektroskopisi bu özelliği ile kimya, endüstri, çevre, eczacılık ve tarım araştırmalarında analiz imkanı sunmaktadır. Floresan spektroskopisi kullanılarak organik, inorganik, organometalik bileşiklerin,

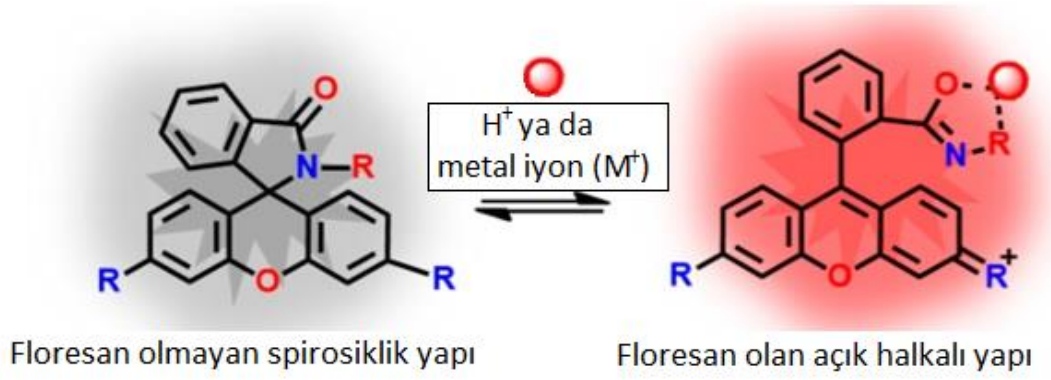
tarım ürünlerinin, ilaçların, karbonhidratların, enzimlerin, lipidlerin, çevre kirliliğine sebep olan zehirli metallerin, ve kan örneklerinin hızlı ve kolay yolla analizi gerçekleştirilebilmektedir [46].

2.4 Floresan Kemosensörler

Ortamdaki değişiklikleri algılayan ve bu değişikliğe karşılık yanıt veren cihaza sensör denmektedir. Bu değişiklikler ışık, ısı, hareket veya diğer herhangi bir çevresel bilgi gibi özel girdiler olabilir. Sensörler, bu bilgiler sebebiyle oluşan verileri algırlar. Bu bilgiler bir bilgisayar aracılığıyla çıktı olarak insanlar tarafından okunabilir bilgilere dönüştürülebilirler [47]. Kemosensörler, ilgilenilen analit veya molekülü saptayan ve saptanabilir yanıt üreten moleküllerdir. Mekanizma olarak kemosensörler belirli bir analite yüksek düzeyde seçicilikle bağlanır. Bu bağlanma sebebiyle, sistemin absorpsiyon, floresan spektrumları veya redoks potansiyellerinde bazı değişiklikler meydana gelir. Kemosensörler, yüksek seçicilik ve hassasiyetleri, basit hazırlık aşamaları, düşük maliyetleri, gerçek zamanlı izleme yetenekleri ve kısa tepki süreleri nedeniyle metal iyonlarını *in vivo* ve *in vitro* izlemek için güçlü araçlardır [48]. Kemosensörler, tayin ettikleri analit türüne göre anyon, katyon ve moleküler sensör olarak kullanılabilirler. Bu çalışma katyon tayini gerçekleştiren bir floresan sensörü geliştirilmiştir.

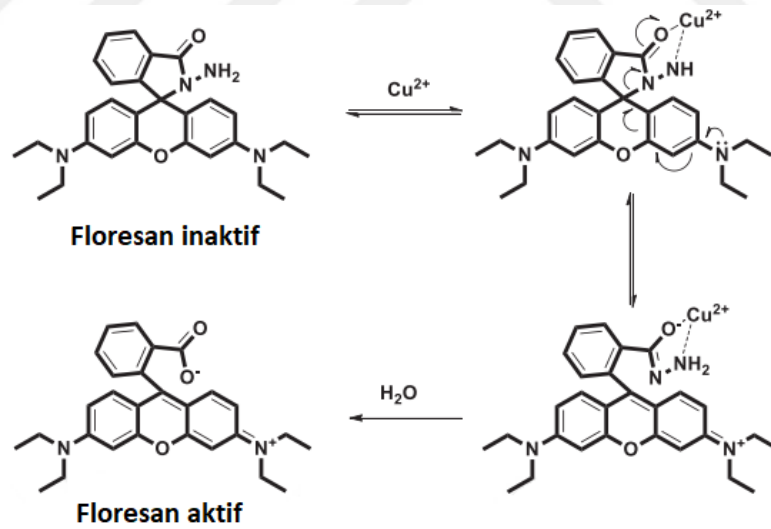
Kemosensör Olarak Rodaminler

Rodaminler, yüksek floresan kuantum verimi, yüksek absorpsiyon katsayıları ve yüksek fotokararlılık gibi önemli fotofiziksel özelliklere sahip iyi bilinen florofor maddelerdir. Yapılarındaki spirosiklik halkanın açılmasıyla oluşan konjugasyon artışı ile turn-on tipte floresan sensörler olarak kullanılmaktadırlar (Şekil 2.9). Rodamin bileşikleri yapısal olarak iki şekilde bulunmaktadır. Halka kapalı hali (spirosiklik) renksiz ve floresan aktif olmayan formudur. Diğer formu ise halka açık formu olan ve güçlü absorpsiyon ve floresan emisyonu sahip yapısıdır. Rodamin, kendine has davranışı sayesinde, sensör kimyası alanında oldukça ilgi çekmektedir [49].



Şekil 2.9 : Rodamin türevinin spirolaktam halka açılmasını gösteren şema.

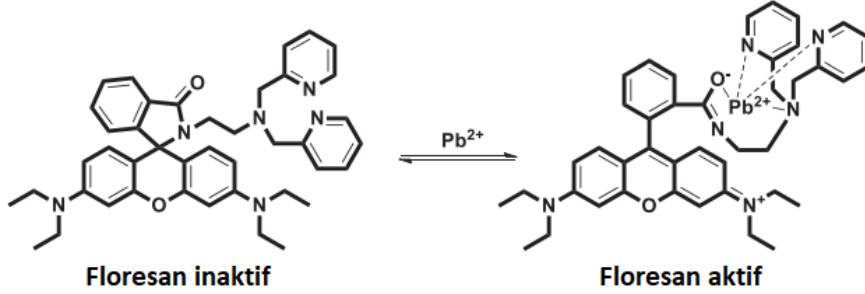
1997 yılında Anthony W. Czarnik, rodamin bileşiğinin kendine has bu özelliğini kullanarak bir sensör geliştirdi. Bu çalışmada bakır(II) iyonuna yüksek seçicilik gösteren Rodamin B hidrazit sensörü kullanıldı. Rodamin B hidrazit, bakır(II) iyonu varlığında spirolaktam halkasını açarak ksanten ve fenil grubu arasındaki konjugasyonu güçlendirdi. Konjugasyon artışı sonucunda yüksek absorpsiyon ve floresan emisyon dalga boylarında sinyal üretildi. Daha sonra hidroliz işleminin ardından rodamin B'nin karboksilat formu oluşturuldu (Şekil 2.10) [50].



Şekil 2.10 : Czarnik ve ekibinin 1997'de geliştirdiği rodamin B hidrazit ile bakır(II) iyonunun ilişkisini gösteren mekanizma.

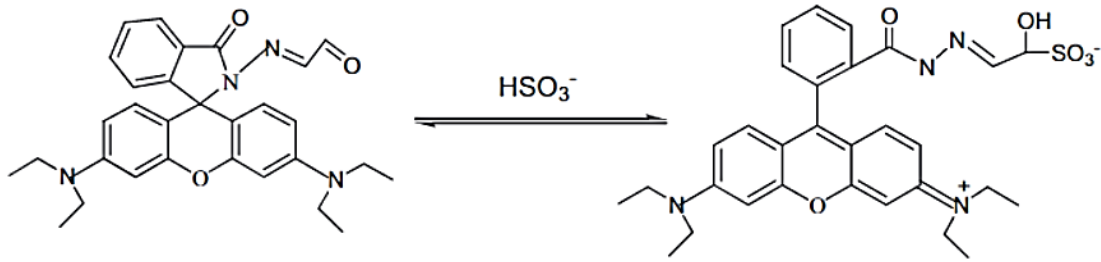
Czarnik'in bu çalışmasından esinlenilerek daha sonraki yıllarda birçok metal iyonuna (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Ag^+ , Au^{3+} , Pd^{2+} , Pb^{2+} , Pt^{2+} vb.), farklı anyonlara, reaktif oksijen bileşiklerine ve tiyol bileşiklerine hassas rodamin türleri geliştirilmiş ve literatürde paylaşılmıştır. Örnek olarak, 2005 yılında Kwon ve ekibi Pb^{2+} iyonuna

hassas bir rodamin B türevi floresan kemosensör geliştirmiştir (Şekil 2.11). Bu çalışmada ligand ve Pb^{2+} arasındaki reaksiyon tersinir bir kompleksleşme reaksiyonudur [51].



Şekil 2.11 : Kwon ve ekibinin geliştirdiği floresan kemosensörün Pb^{2+} ile reaksiyonunu gösteren mekanizma.

Bir başka örnek olarak 2010 yılında Wang ve ekibinin tasarladığı rodamin B türevi sensörü verilebilir (Şekil 2.12). Bu sensörün seçicilik çalışmaları sonucunda, etanol/su çözücü karışımında bisülfid iyonuna yüksek seçicilik gösterdiği tespit edilmiştir [52].

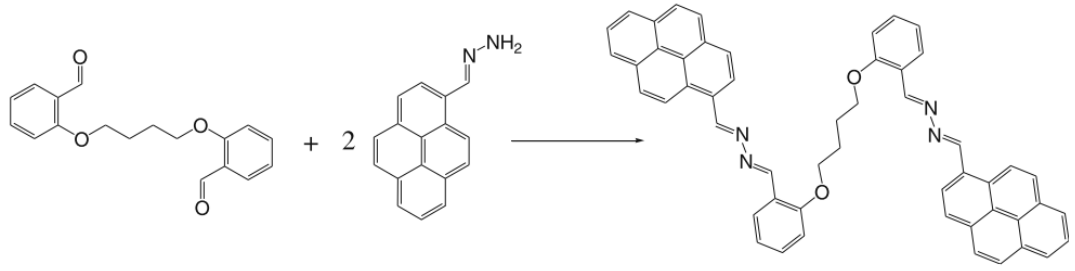


Şekil 2.12 : Wang ve ekibinin geliştirdiği HSO_3^- sensörü

2.5 Demir(III) sensörleri

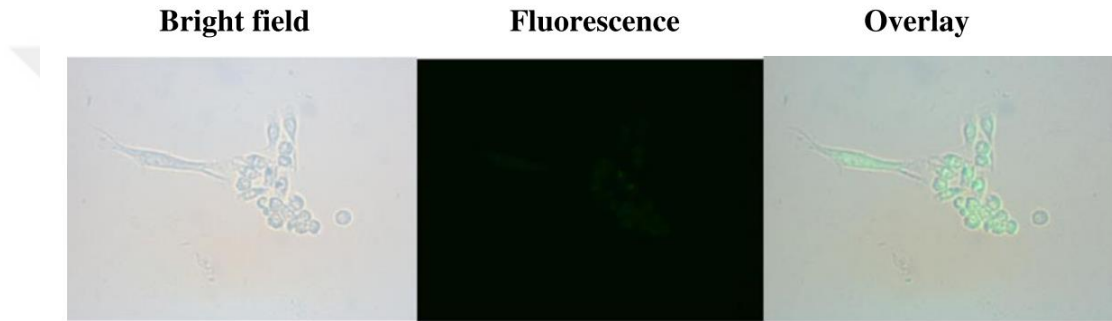
Bugüne dek geliştirilmiş olan Fe^{3+} sensörleri piren, naftalimid, kumarin, BODIPY, kinazolin ve rodamin gibi birçok gruptan yola çıkılarak sentezlenmiştir.

Chung ve ekibi, piren molekülü ile modifiye edilmiş yeni bir floresan sensörü tasarlamış ve sensörün canlı hücre içinde Fe^{3+} tayini için uygulanabilir olduğunu göstermiştir [20]. Sensör bileşiği 1-pirenkarboksaldehit hidrazonun 1,4-bis(2-formilfenoksi)bütan ile reaksiyonu sonucunda sentezlenmiştir (Şekil 2.13).



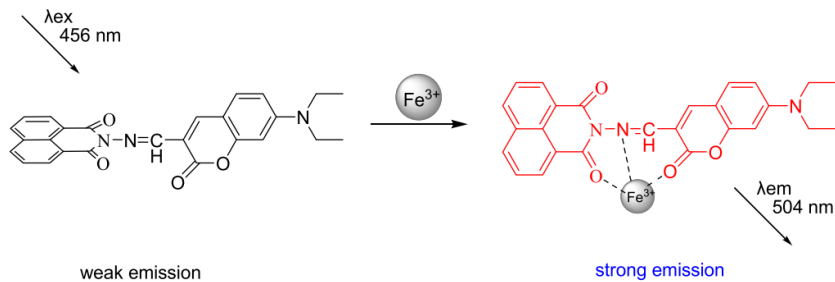
Şekil 2.13 : Chung ve ekibinin geliştirdiği Fe^{3+} sensörü.

Fe^{3+} iyonuna seçici olduğu bildirilen bu sensörün gerçek bir uygulaması olarak HeLa hücrelerinde Fe^{3+} tayini çalışması yapılmıştır. Sensör bileşiği ve Fe^{3+} ile muamele edilen hücrelerin floresan mikroskobunda ışıma yaptığı gözlemlenmiştir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 : Sensör bileşiği ve Fe^{3+} ile muamele edilen HeLa hücrelerinin floresan görüntüleri.

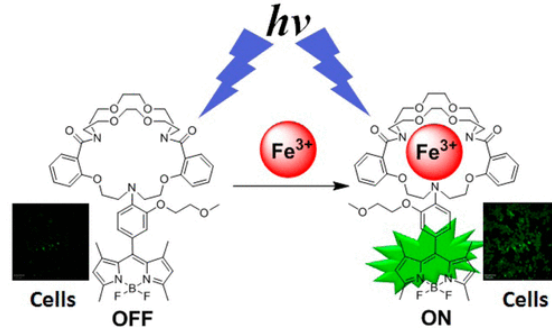
Li ve ekibi, naftalimid ve kumarin tabanlı yeni bir Fe^{3+} sensörü tasarlamıştır [21]. Tasarlanan bu sensör, metal iyonları arasından yalnızca Fe^{3+} iyonuna seçicilik göstermiş olup ligand ve metal arasındaki kompleks oluşumu yapıdaki oksijen-azot-oksijen atomları üzerinden gerçekleşmiştir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15 : Li ve ekibinin tasarladığı sensör ve Fe^{3+} arasındaki öngörülen bağlanma.

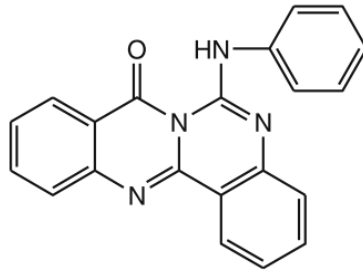
Sui ve ekibi, BODIPY molekülüyle modifiye edilmiş, Fe^{3+} iyonuna hassas yeni bir floresan sensör geliştirmiştir [22]. Bu sensör, sulu çözeltinin floresan emisyon değerinde 23 kat artışa neden olarak Fe^{3+} 'ü tayin etmektedir. Sensörün moleküler

yapısında yer alan BODIPY grubu, Fe^{3+} ilave edildikten sonra aktive edilerek kuvvetli emisyon göstermektedir. Ayrıca sensör, HCT-116 hücrelerinde Fe^{3+} tayinini başarıyla gerçekleştirmiştir (Şekil 2.16).



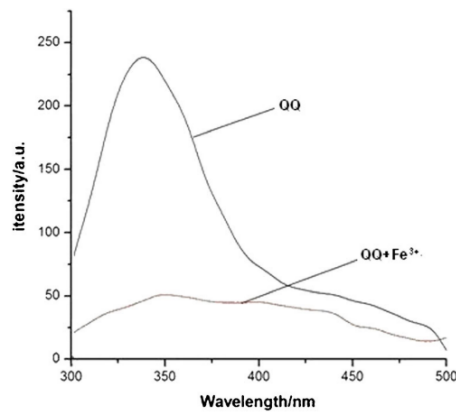
Şekil 2.16 : Sui ve ekibinin tasarladığı BODIPY meodifiyeli Fe^{3+} sensörü.

Yuan ve ekibi ise kinazolin türevi olan bir floresan off-on sensörü tasarlamıştır (Şekil 2.17) [53].



Şekil 2.17 : Yuan ve ekibinin geliştirdiği kinazolin tabanlı Fe^{3+} sensörü

Bu sensör, diğer Fe^{3+} sensörlerinden farklı olarak floresanda sönümlenme gerçekleşmesi üzerine tayin sağlamaktadır (Şekil 2.18).

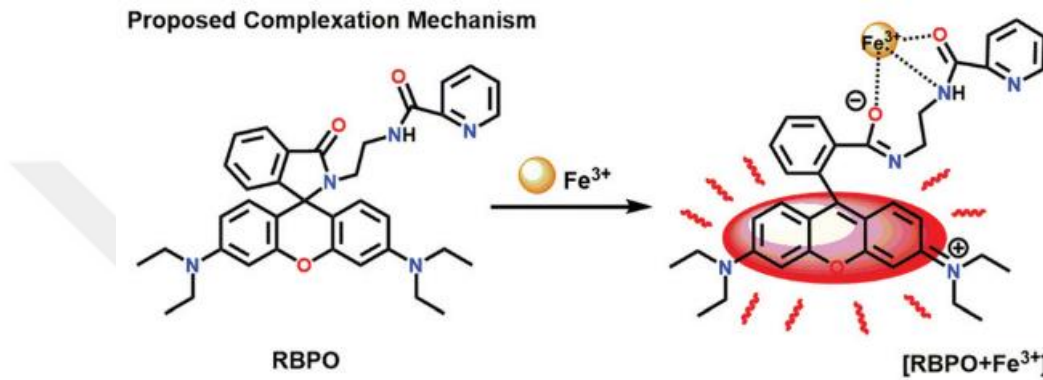


Şekil 2.18 : Yuan ve ekibinin geliştirdiği sensörün spektral davranışı.

Rodamin tabanlı demir(III) sensörleri

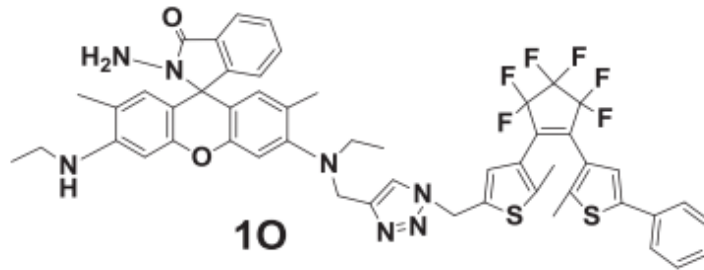
Literatürde Fe^{3+} iyonuna hassas olan rodamin tabanlı birçok floresan sensör yayımlanmıştır.

Bu sensörlere örnek olarak Song ve ekibinin tasarlamış olduğu rodamin tabanlı ve pikolinik asit modifiyeli floresan sensörü verilebilir (Şekil 2.19) [32]. Tasarlanan bu sensörün tespit limiti $0,067 \times 10^{-6}$ M ve çalışma aralığı 0-200 μM olarak tespit edilmiştir. Fe^{3+} tayini için gereken tepki süresinin 20 dakika olduğu raporlanmıştır.



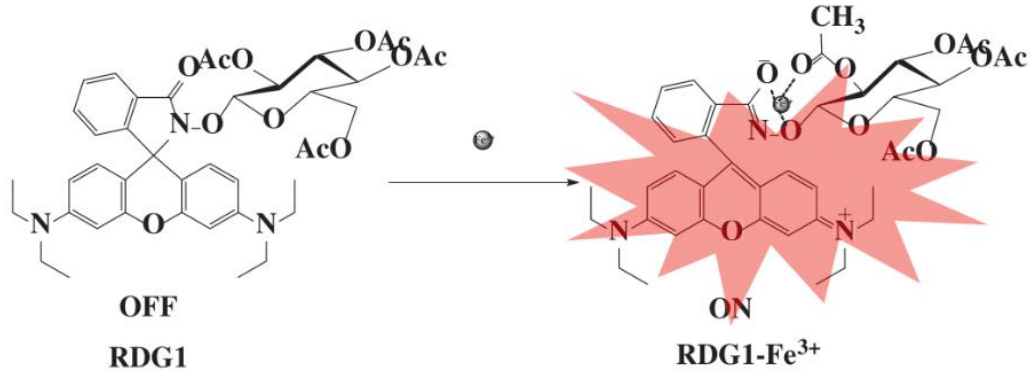
Şekil 2.19 : Song ve ekibinin geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü

Şekil 2.20’da gösterilen molekül, Kang ve ekibi tarafından geliştirilen triazol halkasıyla türevlendirilen rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörünün açık gösterimidir [33]. Sentezlenen bu sensör, $0,77 \times 10^{-9}$ M tespit limitine ve 0-2 μM çalışma aralığına sahiptir. Sensörün tersinir bir şekilde Fe^{3+} ile kompleks oluşturduğu EDTA çözeltisi kullanılarak florometrik yöntemle kanıtlanmıştır.



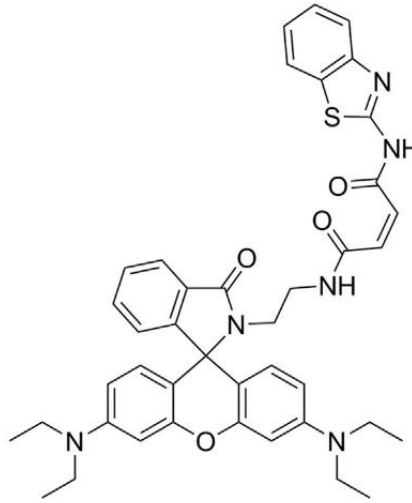
Şekil 2.20 : Kang ve ekibinin tasarladığı rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü.

Chen ve Fang tarafından geliştirilen Fe^{3+} sensörü Şekil 2.21’de gösterilmektedir [34]. Sensör molekülü rodamin B ve glikopiranozun reaksiyonu sonucunda sentezlenmiştir. Tespit limiti $3,46 \times 10^{-6}$ M, çalışma aralığı 2-16 μM ve tepki süresi ise 10 dakika olarak bulunmuştur.



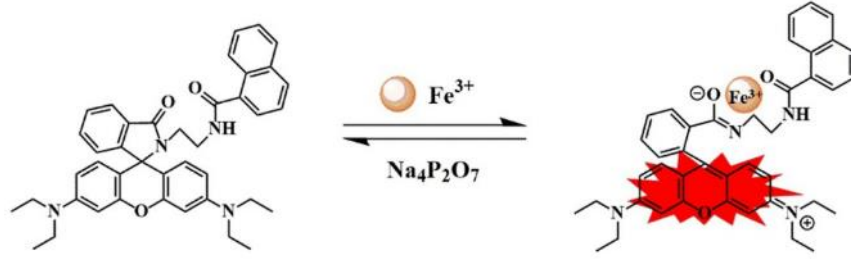
Şekil 2.21 : Chen ve Fang tarafından geliştirilen rodamin tabanlı Fe³⁺ sensörü.

Chen ve ekibi de Fe³⁺ tespiti için rodamin tabanlı yeni bir sensör geliştirmiştir (Şekil 2.22) [37]. Molekülün sentez aşamasında maleik anhidrit ve 2-aminobenzotiazol grupları rodamin B yapısına bağlanmıştır. Elde edilen sensörün tespit limiti $11,6 \times 10^{-9}$ M ve çalışma aralığı 0,8-20 μ M olarak bulunmuştur. Fe³⁺ 'ün tespiti için gereken tepki süresinin ise 69 dakika olduğu raporlanmıştır.



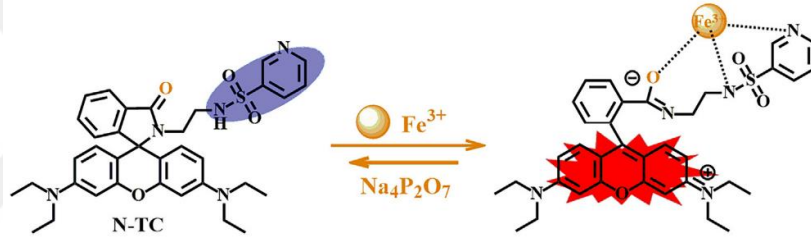
Şekil 2.22 : Chen ve ekibinin geliştirdiği rodamin tabanlı Fe³⁺ sensörü

Bu sensörlere bir diğer örnek ise Kan ve ekibinin tasarladığı, rodamin B tabanlı ve naftol ile türevlendirilmiş olan Fe³⁺ sensörüdür [30]. Sensörün sadece Fe³⁺ iyonuna seçici olduğu ve elde edilen kompleksin Na₄P₂O₇ ilavesi ile tersine döndürülebildiği ve böylece tekrar kullanılabilirlik özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir (Şekil 2.23).



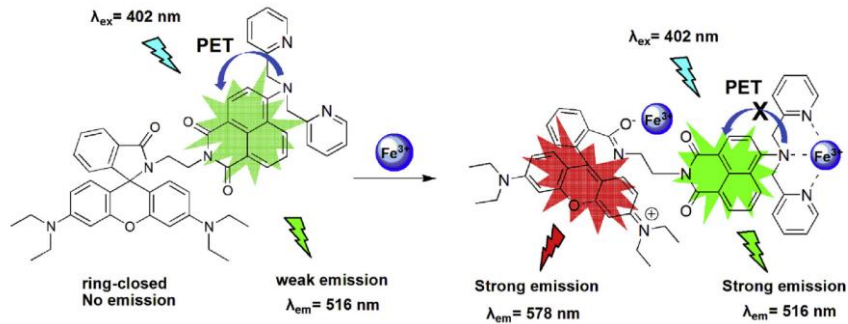
Şekil 2.23 : Kan ve ekibinin geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü

Song ve ekibi de rodamin B bileşiğini piridin-3-sülfonil klorür ile modifiye ederek yapıdaki oksijen-azot-oksijen atomlarından Fe^{3+} 'e bağlanan bir floresan sensör geliştirmiştir (Şekil 2.24) [31]. 60 dakika tepki süresine sahip olan bu sensörün, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ilavesi ile tekrar kullanılabilir olduğu spektroskopik olarak aydınlatılmıştır. Sensörün tespit limiti $0,201 \times 10^{-6} \text{ M}$ ve çalışma aralığı $0\text{-}200 \mu\text{M}$ olarak tespit edilmiştir.



Şekil 2.24 : Song ve ekibinin geliştirdiği Fe^{3+} sensörü.

Fe^{3+} sensörlerine bir diğer örnek ise Liu ve Qian'ın tasarlamış olduğu naftalik anhidrit ve piridin ile türevlendirilmiş rodamin tabanlı floresan sensörüdür [38]. Geliştirilen bu sensörün tespit limiti $5,7 \times 10^{-7} \text{ M}$ ve çalışma aralığı $0\text{-}9 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur. Silika nanoparçacıkları kullanılarak sensörün uygulamaları incelenmiştir (Şekil 2.25).



Şekil 2.25 : Liu ve Qian'ın geliştirdiği rodamin tabanlı Fe^{3+} sensörü.



3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Kimyasallar Ve Cihazlar

3.1.1 Kimyasallar

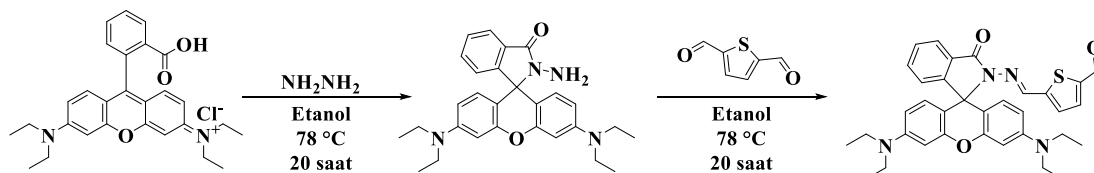
Rodamin B, hidrazin hidrat çözeltisi (%80), 2,5-tiyofendikarboksaldehit, Etilendiamintetraasetik asit disodyum tuzu (Na_2EDTA), sodyum sülfat, hidroklorik asit (%37), sodyum hidroksit, etanol (EtOH), silika jel, ve diklorometan (DCM) ticari kaynaklardan temin edilmiştir. Spektrofotometrik çalışmalarda kullanılan metallerin tamamı (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} ve Fe^{3+}) perklorat tuzları olarak kullanılmış ve bunlar ticari kaynaklardan temin edilerek herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. pH değişimi HCl ve Tris (hidroksimetil) aminometan çözeltileri ile sağlandı. Çalışma boyunca çift distile su kullanılmıştır ve kullanılan organik çözücüler ticari tedarikçilerden temin edilmiştir. Kromatografik saflaştırmalar Merck Silika 60 (200-400 veya 70-230 ağ ile gerçekleştirilmiştir.

3.1.2 Cihazlar

Döner buharlaştırıcı (Heidolph Laborata 4011), manyetik karıştırıcı (Heidolph), hassas terazi (Precisa), UV Spektrofotometre (Agilent 8453), etüv (Heraeus), vakum etüvü (Heraeus Vacutherm), ultrasonik banyo (Wise Clean), kül fırın (SFL), ^1H , ^{13}C -NMR Agilent VNMRS 500 (İTÜ Kimya Bölümü), FT-IR (Perkin–Elmer İTÜ Kimya Bölümü), kristalografik veriler tek kristal X-ışını difraktometresi (Bruker D8 Venture, İTÜ Kimya Bölümü) kullanılarak alındı. Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF-MS) ise BRUKER Microflex LT marka ile ditranol ve 2,5-dihidroksibenzoik asit matrisinde elde edildi. UV-Gör spektrumları Agilent 8453 spektrofotometre ile 1 cm uzunluğundaki kuartz küvet ile oda sıcaklığında elde edilmiştir. Floresan spektrumları ise Varian Cary Eclipse florofotometresi ile 510 nm de uyarılarak ölçülmüştür.

3.2 Tiyofen Modifiyeli ve Rodamin Tabanlı Sensörün (MSB) Sentezi

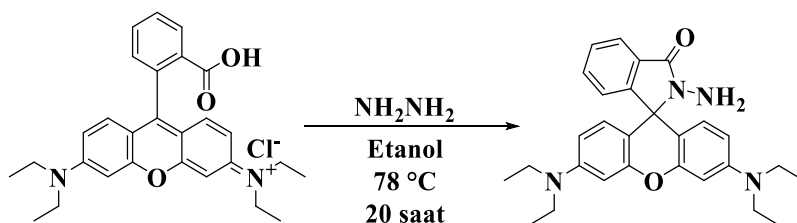
Ligandın (MSB) sentez şeması Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Rodamin B hidrazit literatür prosedürü dikkate alınarak tek adımda sentezlenmiştir [54]. Ligand (MSB), rodamin B hidrazit ile 2,5-tiyofendikarboksaldehit bileşiklerinin etanolde karıştırılıp 78 °C sıcaklıkta tepkime vermeleri sonucunda imin oluşumu üzerinden sentezlenmiştir.



Şekil 3.1 : MSB sensör bileşiğinin sentez şeması.

3.2.1 Rodamin B hidrazit sentezi

Rodamin B, ilgili literatür dikkate alınarak etanol ortamında hidrazin hidrat ilave edilerek 78 °C sıcaklıkta 20 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyon bittikten sonra rodamin B hidrazit kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırıldı. Beyaz renkte köpük halinde ve %95 verimle elde edilen katının karakterizasyonu ¹H ve ¹³C NMR ile yapıldı. Erime noktası: 180 °C. Şekil 3.2 reaksiyon şemasını göstermektedir.

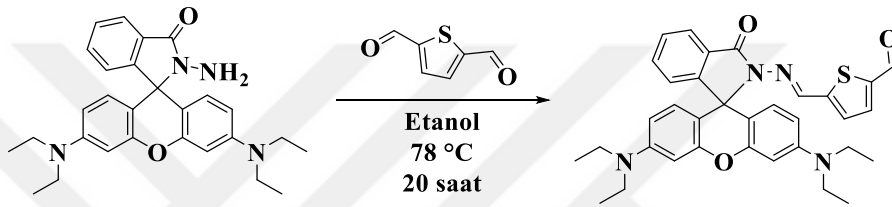


Şekil 3.2 : Rodamin B hidrazitin sentez şeması.

3.2.2 Ligand (MSB) sentezi

Rodamin B hidrazit (0,234 g, 0,512 mmol) 20 mL etanolde çözüldü ve üzerine 9 mL etanol içinde çözülmüş olan 2,5-tiyofendikarboksaldehit (0,359 g, 2,56 mmol) damla damla ilave edildi. 78 °C’ de 20 saat boyunca karıştırıldıktan sonra etanol döner buharlaştırıcıda uçuruldu. Kalıntı, etil asetat/su kullanılarak ekstrakte edildi ve organik faz Na₂SO₄ ile kurutuldu. İstenen ürünü saflaştırmak için, etil asetat/hekzan (1:2, v/v) sistemi ile preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi uygulandı. Plakadan toplanan ürün 1 mL etanol ile yıkandı. Sarı renkte katı olarak elde edilen MSB ’ nin sentez

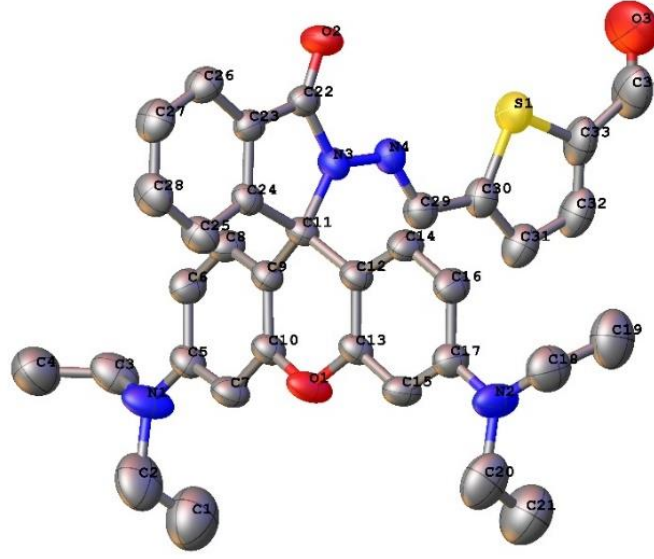
verimi % 39 ve erime noktası 218 °C'dir. Şekil 3.3' te reaksiyon şeması gösterilmiştir. ¹H NMR (500 MHz, Kloroform-*d*) δ 9.83 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 7.98 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 7.20 (s, 0H), 7.21 – 7.16 (m, 1H), 6.47 (dd, *J* = 5.7, 3.1 Hz, 4H), 6.25 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 2H), 3.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 8H), 1.17 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H). ¹³C NMR (126 MHz, Kloroform-*d*) δ 183.36, 183.12, 164.93, 153.62, 150.68, 149.19, 148.97, 143.72, 141.36, 136.03, 135.00, 133.65, 129.89, 128.87, 128.54, 127.92, 124.28, 123.41, 107.79, 106.01, 98.02, 60.40, 44.33, 14.19, 12.61. (M+H)⁺. IR (KBr, cm⁻¹): ν(C=O)_{aldehit} 1724; ν(C=O)_{amid} 1613. MALDI-TOF MS: m/z [M⁺]: hesaplanan (C₃₄H₃₄N₄O₃S), 578,73, bulunan, 578.20.



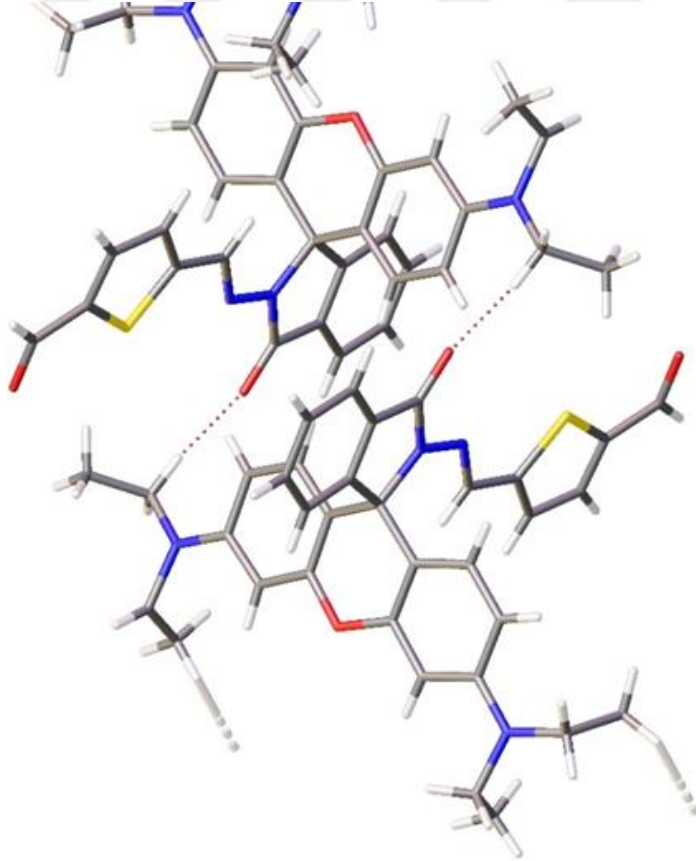
Şekil 3.3 : Ligand (MSB) sentezi.

3.3 Tek Kristal X-Işını Kırınımı Yöntemi

Kristal verileri ve yapısal iyileştirme detayları Çizelge 3.1' de özetlenmiştir. MSB'nin tek kristal yapısı etil asetat çözücü sistemi kullanılarak elde edilmiştir. MSB, her birim hücre 4 molekül (*Z*=4) içeren *P* 1 2/*c* 1 boşluk grubuna sahip monoklinik bir kafes içinde kristalleşir. Şekil 3.4, atom numaralandırmaları ile MSB' nin kristal yapılarını göstermektedir. MSB'nin kristal kafesi, Çizelge 3.2'de ayrıntıları verilen ve Şekil 3.5 'de görülebilen dimerleri oluşturan izoindol birimlerine bağlı amino alkiler ve karboniller arasında meydana gelen olağandışı C-H--O=C hidrojen bağı stabilize eder. Amin birimlerinin karbonil oksijen ve alkil hidrojenleri arasındaki bu tür zayıf etkileşimler daha önce literatürde rapor edilmiştir [55,56]. Seçilen bağ mesafeleri, bağ ve burulma açıları Çizelge 3.3'de tablo halinde verilmiştir. Tüm bağ mesafeleri ve bağ açıları, özellikle erimiş izoindol içeren ksanten içeren benzer kristallerle genellikle uyumludur [57–59]. Ksanten kısmı ve izoindol birimi, 81,67 °'lik bir dihedral açı ile birbirine neredeyse dik iken, tiyofen ve izoindol kısımları, 10,57 °'lik bir dihedral açı ile hemen hemen aynı düzlemedir.



Şekil 3.4 : MSB'nin termal elipsoidlerini atom numaralandırmasıyla gösteren moleküler çizim (Hidrojen atomları netlik için çıkartılmıştır).



Şekil 3.5 : Karbonil ve alkil birimleri arasındaki hidrojen bağı yoluyla dimer oluşumunu gösteren moleküler çizim.

Çizelge 3.1 : MSB molekülü için kristalografik ve yapısal veriler.

MSB	
Ampirik formül	C ₃₄ H ₃₄ N ₄ O ₃ S
Molekül ağırlığı	578.71
T (K)	296(0)
Λ (Å)	0.71073
Kristal sistemi, uzay grubu	Monoklinik, P1 21/c 1
Birim hücre boyutları: (Å, °)	
a	9.167(2)
b	13.688(3)
c	23.558(5)
β	94.25(3)
V (Å ³)	2947.9(11)
Z	4
Absorpsiyon katsayısı (mm ⁻¹)	0.152
D _{calc} (g/ cm ³)	1.304
F(000)	1224
Kristal boyutu (mm)	0.010 x 0.300 x 0.300
Veri toplama için θ aralığı (°)	2.23 to 25.09
Endeks aralığı	-10 ≤ h ≤ 10 -16 ≤ k ≤ 16 -28 ≤ l ≤ 28
Toplanan yansımalar	60969
Bağımsız yansımalar	5207
Bağımsız yansımaların kapsamı (%)	99.4
Veri/parametreler	5207/384
Maksimum ve minimum gerçirgenlik	0.939/0.998
Son R endeksleri [$I \geq 2\sigma(I)$]	R1 = 0.0724 wR2 = 0.1165
R endeksleri (tüm veriler)	R1 = 0.1780 wR2 = 0.1484
F ² üzerinde uyumluluğu	1.049
Pik ve boşluk arasındaki en büyük fark (e Å ⁻³)	0.357 /-0.222

Çizelge 3.2 : MSB molekülüne ait hidrojen bağı geometrileri.

D-H---A	D-H	H---A	D---A	D-H---A
C3-H3A---O2	0,97 Å	2.51 Å	3.31 Å	141.3

Çizelge 3.3 : MSB molekülü için seçilen bağ uzunlukları (Å).

Atom	Atom	Å
N1	C3	1.456(6)
C3	C4	1.462(7)
N1	C5	1.364(5)
C5	C6	1.398(6)
C8	C6	1.373(5)
O1	C10	1.383(5)
O1	C13	1.375(4)
S1	C33	1.707(5)
C22	O2	1.206(5)
N4	N3	1.354(4)
N3	C22	1.400(5)
C11	N3	1.487(5)
C34	O3	1.206(8)
C30	S1	1.698(4)

Çizelge 3.4 : MSB molekülü için bağ açıları (°).

Atom	Atom	Atom	(°)
C33	S1	C30	91.3(2)
C11	N3	C22	114.3(3)
C10	O1	C13	118.4(3)
C7	C5	C6	116.9(4)
C15	C17	C16	116.2(4)
C16	C14	C12	123.0(4)
N3	C22	C23	105.3(3)
C30	C31	C32	111.9(4)

Çizelge 3.5 : MSB molekülü için burulma açıları (°).

Atom	Atom	Atom	Atom	(°)
C13	O1	C10	C7	172.2(3)
C1	C2	N1	C5	-92.2(6)
C4	C3	N1	C5	-112.0(5)
C26	C23	C22	N3	179.9(4)
C30	C29	N4	N3	-177.5(3)

3.4 Spektrofotometrik Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlama Çalışmaları

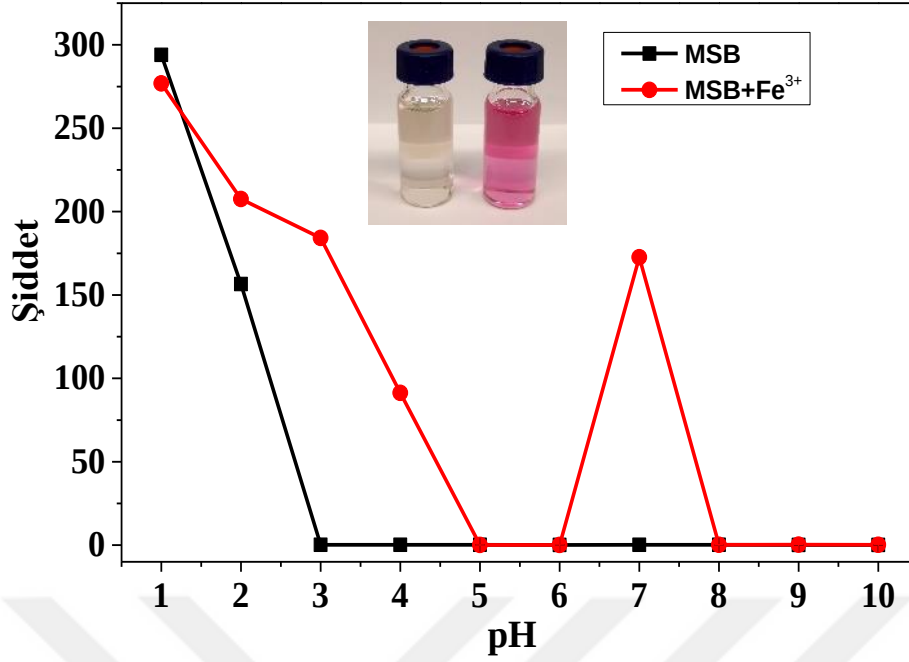
Bu çalışmada, ligand MSB ile metal katyonları arasındaki kompleksleşme incelendi ve ligandın Fe^{3+} iyonu ile oluşturduğu kompleksin özellikleri üzerine inceleme yapıldı.

3.4.1 Spektrofotometrik ölçüm yöntemleri

Perklorat tuzlarından çeşitli metal iyonlarının (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} ve Fe^{3+}) stok çözeltileri (0,05 M) çift distile su kullanılarak hazırlandı. 0,1 mM MSB stok çözeltisi, 1,16 mg MSB, 20 mL etanol içinde çözülerek hazırlandı. Analit seçiciliğini doğru bir şekilde ölçmek için uygun organik çözücü/su oranını bulmak adına birkaç deneme yapıldı ve etanol/su oranı en iyi sonuç veren olarak 39:1 (v/v) şeklinde bulundu. Tüm çözeltilerin pH'ı, HCl ve Tris(hidroksimetil) aminometan çözeltileri ile 7,0'a ayarlandı. UV-Gör ve floresan spektrofotometrik deneyler, uygun miktarda kimyasal reaktif ilave edilerek 3 mL kuvars küvette yapıldı ve ardından çözeltinin floresansı ve absorpsiyonu ölçüldü. Ortalama bir sonuç elde etmek için, her çalışma oda sıcaklığında en az üç kez yapıldı ve bu sonuçların ortalaması esas alındı.

3.4.2 MSB sensör bileşiğinin farklı pH ortamlarındaki spektral davranışı

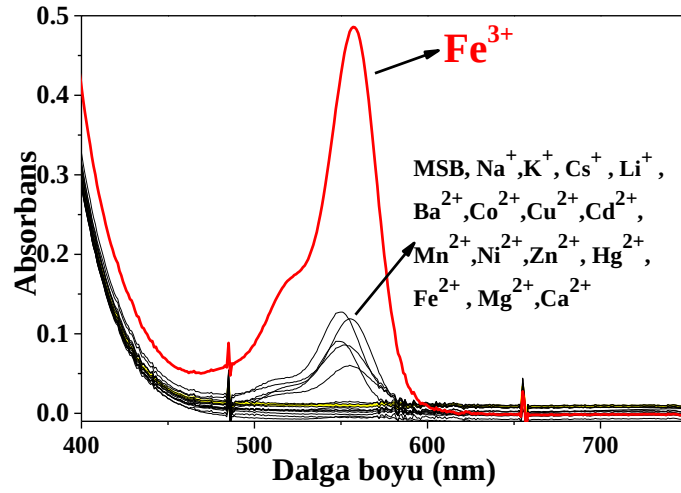
Katyon bağlanma çalışmalarına başlanabilmesi adına öncelikle MSB sensör bileşiğinin farklı pH ortamlarında göstermiş olduğu spektral davranış incelendi. Sensörün yalnızca pH 1 ve 2'de 580 nm'de floresan şiddetine sahip olması bu pH değerlerinde molekülün kuarterner karbonu protonlanarak spirolaktam halkasının açılması sonucunda oluşan konjugasyon artışından kaynaklanmaktadır. pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 'da herhangi bir floresan şiddeti alınamaması bu pH değerlerinde molekülün halka kapalı formda bulunduğunu göstermektedir (Şekil 3.6). Üzerine Fe^{3+} ilave edilen MSB çözeltisi ise pH 1, 2, 3, 4 ve 7'de spirolaktam halkasının açılmasına bağlı olarak 580 nm'de floresan şiddetine sahip olmuştur. Bu durum, pH 7 ortamının metal bağlanma çalışmalarını sürdürmek adına uygun bir pH ortamı olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.6 : Sensör MSB'nin (siyah çizgi) ve MSB+Fe³⁺ çözeltisinin (kırmızı çizgi) çeşitli pH değerlerinde 580 nm'de sahip olduğu floresan şiddetleri. Uyarma dalga boyu=510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5nm/5nm. İç resim: Spirolaktam halka açma işleminden önce (renksiz) ve sonraki (pembe) çözelti renkleri.

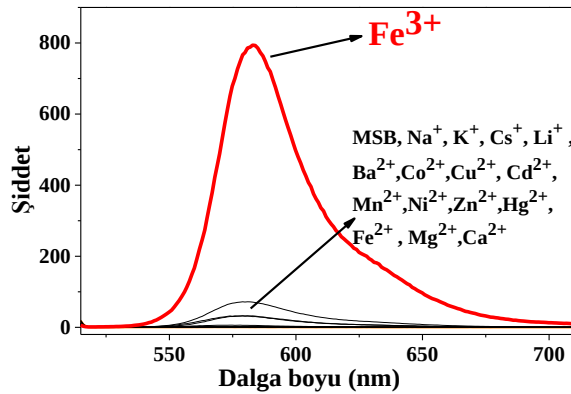
3.4.3 MSB molekülüne ait metal bağlanma çalışması ve Fe³⁺ seçiciliği

Spektrofotometrik çalışmanın yapılacağı UV-Gör ve Floresan küvetlerine etanol ile hazırlanmış olan 0,05 mM MSB çözeltisi ve pH 7 Tris-HCl tampon çözeltisinden eklendi. Küvetlere son olarak, $5,0 \times 10^{-2}$ M metal katyonlarının (Li⁺, Na⁺, Cs⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Ba²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, Fe²⁺ ve Fe³⁺) saf su ile hazırlanmış çözeltilerinden 15 µL eklendi. Çözeltilerin son durumdaki içeriği 39:1 (v/v) etanol/su, pH 7 Tris-HCl idi. Çözeltiler homojen şekilde karıştırıldıktan sonra UV-Gör ve floresan spektrumları alındı. Şekil 3.7 ve Şekil 3.8 metal katyonları varlığında MSB ligandının sırasıyla UV-Gör ve floresan spektral davranışını göstermektedir.



Şekil 3.7 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda gösterdiği spektral davranış.

MSB ligandının metal ilave edilmeyen çözeltisinin UV-Gör spektrumunda belirgin bir band yer almaz iken (spiroolaktam halka yapısının korunmasından kaynaklı olarak) bu durum metal iyonları ilave edildikten sonra da devam etmiştir ve belirgin bir spektral değişiklik olmamıştır. Fakat yalnızca Fe^{3+} iyonu ilavesinden sonra 559 nm’de şiddetli bir band olduğu görülmüştür. Absorpsiyon artışı, rodamin yapısında bulunan spiroolaktam halkasının açılmasıyla molekülün elde ettiği konjugasyon artışından kaynaklanmaktadır. Elde edilen bu sonuçlar, ligandın spektrofotometrik yöntemle Fe^{3+} tayinini başarıyla gerçekleştirebileceğini göstermektedir. (Şekil 3.7)



Şekil 3.8 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının ($5,0 \times 10^{-5}$ ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda ligandın spektrofotometrik spektrumu. Uyarma dalga boyu: 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları 5 nm /5 nm.

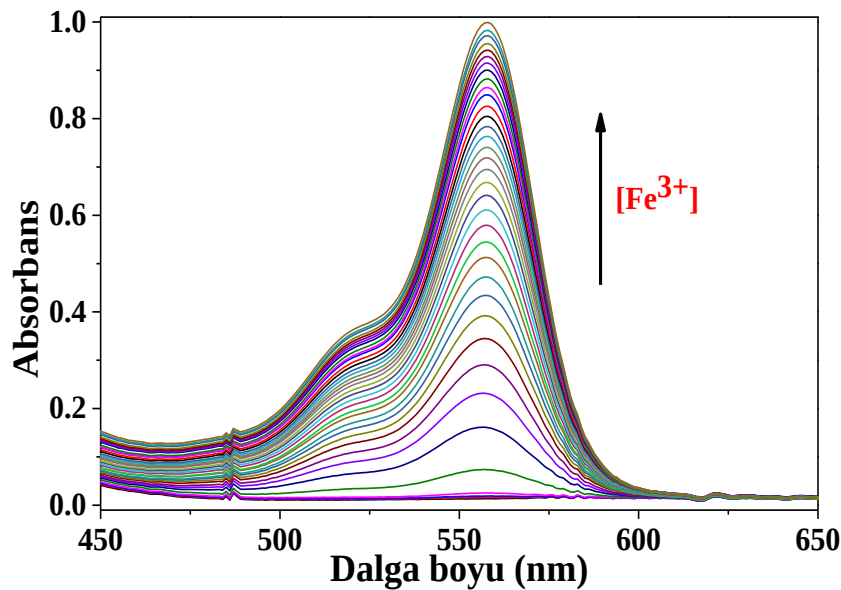
MSB ligandının metal ilave edilmeyen çözeltisinin floresan spektrumu alındığında ise spiroolaktam halkasının kapalı olmasından kaynaklı olarak floresan şiddetine sahip olmadığı görüldü. Metal iyonları ilave edildikten sonra da belirgin bir spektral

değişiklik görülmez iken yalnızca Fe^{3+} iyonu ilavesinden sonra 580 nm’de şiddetli bir sinyal alındı. Floresan şiddetindeki artışın sebebi, rodamin yapısında bulunan spirolaktam halkasının açılmasıyla molekülün konjugasyonun artmasıdır. Elde edilen bu sonuçlar, ligandın spektrofotometrik yöntemle Fe^{3+} tayinini gerçekleştirebileceğini göstermektedir (Şekil 3.8).

3.5 Ligand- Fe^{3+} Bağlanmasının Spektrofotometrik ve Spektrofluorometrik Titrasyon Çalışmaları

3.5.1 Spektrofotometrik titrasyon çalışması

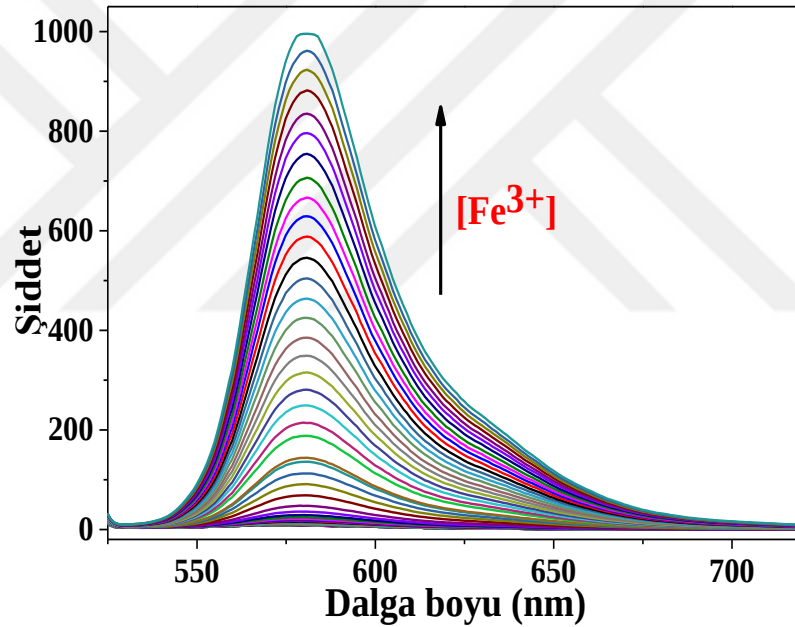
Spektrofotometrik titrasyon çalışmasının yapılacağı UV-Gör küvetine 1,5 mL 0,05 mM MSB (etanol ile hazırlanmış) çözeltisi alındı ve çalışma koşullarının 39:1 (v/v) etanol/su, pH 7 Tris-HCl tampon olacağı şekilde küvete etanol ve tampon çözelti eklendi. Sistem kapalı olacak şekilde muhafaza edildi ve çözeltinin üzerine $5,0 \times 10^{-2}$ M $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ çözeltisinden enjektör yardımıyla eklemeler yapıldı. Her bir eklemenin sonunda çözelti homojen şekilde karıştırılarak UV-Gör spektrumu alındı. Fe^{3+} metal iyonu ile titrasyonu yapılan çözeltiye ait UV-Gör spektrumu Şekil 3.9’de gösterilmektedir. Alınan bu spektral yanıtın sonucunda artan Fe^{3+} konsantrasyonuna bağlı olarak ligandın spirolaktam halka açılmasından kaynaklanan absorbens değerindeki artış net bir şekilde görülmektedir.



Şekil 3.9 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) artan Fe^{3+} konsantrasyonlarıyla yapılan titrasyonunun UV-Gör spektrumu.

3.5.2 Spektrofluorometrik titrasyon çalışması

Spektrofluorometrik titrasyon çalışmasının yapılacağı floresan küvetine 1,5 mL $1,0 \times 10^{-4}$ M MSB (etanol ile hazırlanmış) çözeltisi alındı ve çalışma koşullarının 39:1 (v/v) etanol/su, pH 7 Tris-HCl tampon olacağı şekilde küvete etanol ve tampon çözelti ilave edildi. Sistem kapalı olacak şekilde muhafaza edildi ve çözeltinin üzerine $5,0 \times 10^{-2}$ M $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ çözeltisinden enjektör yardımıyla eklemeler yapıldı. Her bir eklemenin sonunda çözelti homojen şekilde karıştırılarak 510 nm’de uyarılarak floresan spektrumu alındı. Fe^{3+} metal iyonu ile titrasyonu yapılan çözeltiye ait floresan spektrumu Şekil 3.10’da gösterilmektedir. Alınan bu spektral yanıtın sonucunda artan Fe^{3+} konsantrasyonuna bağlı olarak ligandın spirolaktam halka açılmasından kaynaklanan floresan şiddetinde de artış olduğu net bir şekilde görülmektedir.



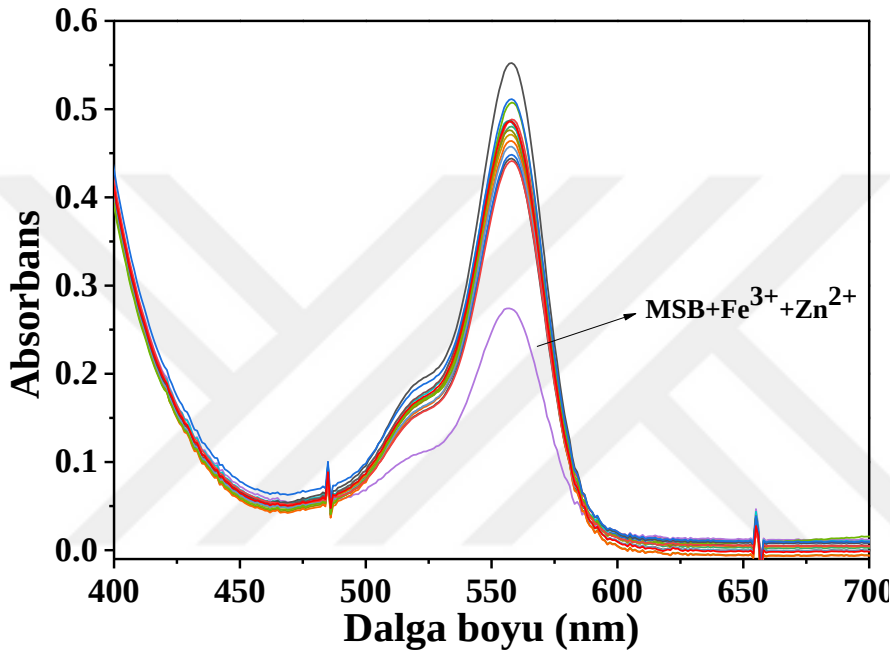
Şekil 3.10 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) artan Fe^{3+} konsantrasyonlarıyla yapılan titrasyonunun floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm /5 nm.

3.6 MSB Molekülü İle Fe^{3+} Tayininin Diğer Metal Katyonları Tarafından Girişimi Çalışması

3.6.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması

39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} ve Fe^{2+} metal iyonları varlığında MSB çözeltisine Fe^{3+} ilave edilmesinin sonucunda elde edilen UV-Gör spektrumu Şekil 3.11’de

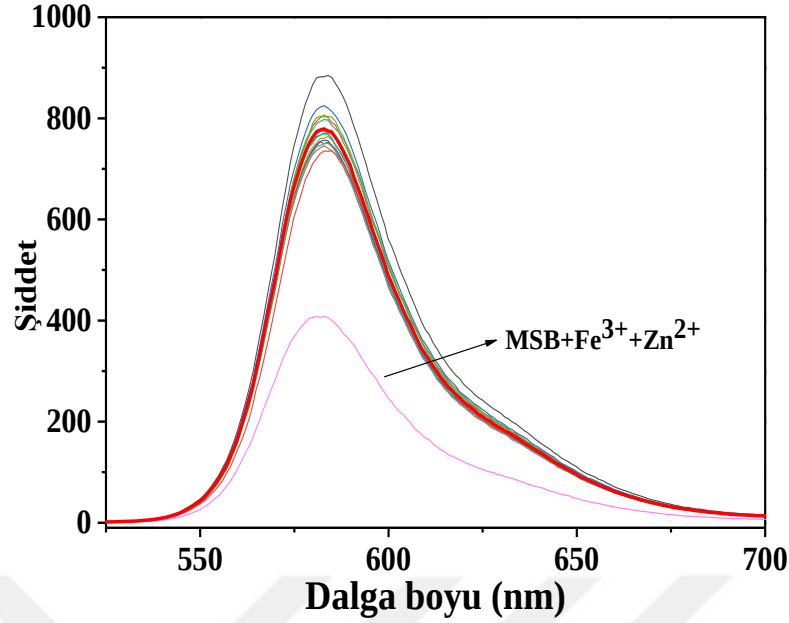
görülmektedir. Ortamda diğer metal iyonları olmasına rağmen UV-Gör spektrumunda 559 nm’de oluşan kuvvetli bandın oluşmaya devam etmesi, sensörün Fe^{3+} iyonunu tayin etmesinin herhangi bir perdelemeye uğramadığını göstermektedir. Yalnızca ortamda Zn^{2+} bulunduğu durumda alınan absorbansın azalmaya uğramasının Zn^{2+} ile Fe^{3+} arasında gerçekleşen perdelemeden kaynaklandığı literatürde yer alan çalışmalarca desteklenmiştir [60,61]. Absorbans değerinde düşme olmasına rağmen sensör bu çözeltide de tayin gerçekleştirebilmektedir.



Şekil 3.11 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine Fe^{3+} eklenmesi sonucunda gösterdiği UV-Gör spektrumu.

3.6.2 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması

39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} ve Fe^{2+} metal iyonları varlığında MSB çözeltisine Fe^{3+} ilave edilmesinin sonucunda elde edilen floresan spektrumu Şekil 3.12’de görülmektedir. Ortamda diğer metal iyonları olmasına rağmen 510 nm’de uyarılan çözeltinin floresan spektrumunda 580 nm’de alınan kuvvetli sinyalin oluşmaya devam etmesi, sensörün Fe^{3+} iyonunu tayin etmesinin herhangi bir perdelemeye uğramadığını göstermektedir. Yalnızca ortamda Zn^{2+} bulunduğu durumda alınan floresan şiddetinin azalmasının Zn^{2+} ile Fe^{3+} arasında gerçekleşen perdelemeden kaynaklandığı literatürde yer alan çalışmalarca desteklenmiştir. Floresan şiddetinde düşme olmasına rağmen sensör bu çözeltide de tayin gerçekleştirebilmektedir.



Şekil 3.12 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine Fe^{3+} eklenmesi sonucunda gösterdiği floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm/ 5 nm.

3.7 MSB- Fe^{3+} Sensörünün Tespit Limitinin (LOD) ve K_a Sabitinin Belirlenmesi

Denklem 3.1'e göre tespit limiti, MSB'nin Fe^{3+} ile titrasyonuna ait kalibrasyon eğrisinin eğimi yardımıyla belirlenmiştir.

Tespit limiti hesaplanmasında kullanılan formül, $\text{LOD} = 3 \times \sigma_{\text{blank}} / k$; burada σ_{blank} , blank sinyallerin 20 paralel ölçümü için standart sapmadır, k (eğim) ise kalibrasyon eğrisinin sahip olduğu eğim değeridir.

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \sigma(\text{blank})}{k} \quad (3.1)$$

MSB- Fe^{3+} arası kompleksleşmenin K_a bağlanma sabitinin bulunmasında Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılmıştır.

$$1/(A-A_0) = 1/(A_{\text{max}}-A_0) K_a C_{\text{Fe}^{3+}} + 1/(A_{\text{max}}-A_0) \quad (3.2)$$

(3.2) 'de yer alan denkleme göre;

$A_0 = \text{Fe}^{3+}$ ilave edilmeden önce ligandın sahip olduğu absorbans değerini,

$A = \text{Liganda ilave edilen her bir } \text{Fe}^{3+} \text{ konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans değerini,}$

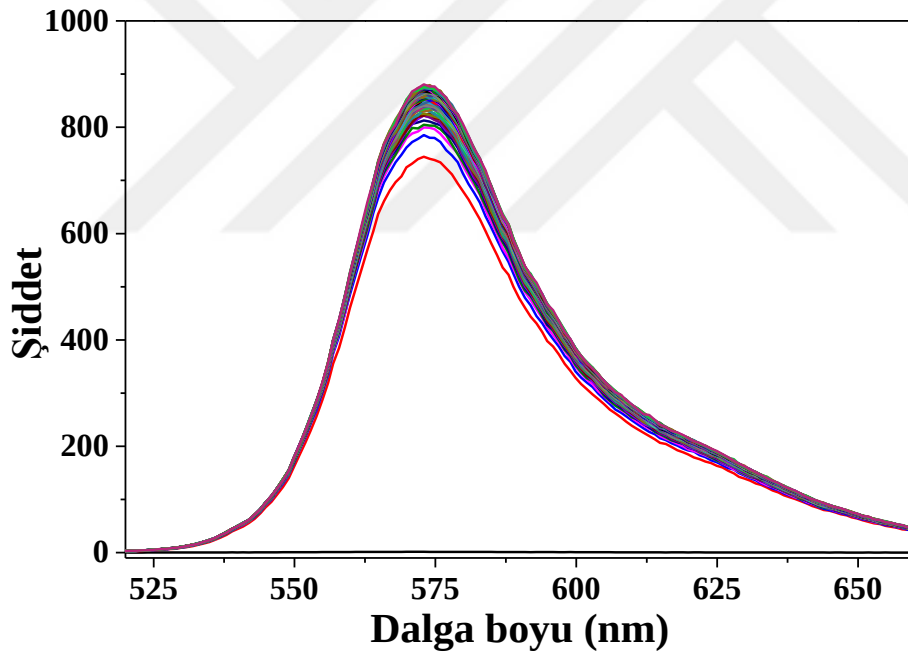
$C_{Fe^{3+}}$ = Çözeltide bulunan Fe^{3+} konsantrasyonunu (mol/L),

K_a = Bağlanma sabitini temsil etmektedir.

Benesi-Hildebrand yöntemiyle K_a sabitinin bulunmasında UV-Gör titrasyonunun verileri kullanılmıştır.

3.8 MSB Sensörünün Fe^{3+} 'e Karşı Tepki Süresinin Spektroflorometrik Yöntemle Belirlenmesi

MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} iyonlarını tayin etmesi için gerekli optimum sürenin belirlenmesi için spektroflorometrik bir çalışma yapıldı. Bu çalışmada 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB (0,05 mM) ligandına 5 eş değer Fe^{3+} ilave edildi ve her 15 saniyede floresan spektrumu kaydedildi. Zamana bağlı olarak floresan spektrumundaki değişimi gösteren grafik Şekil 3.13'de gösterilmiştir.

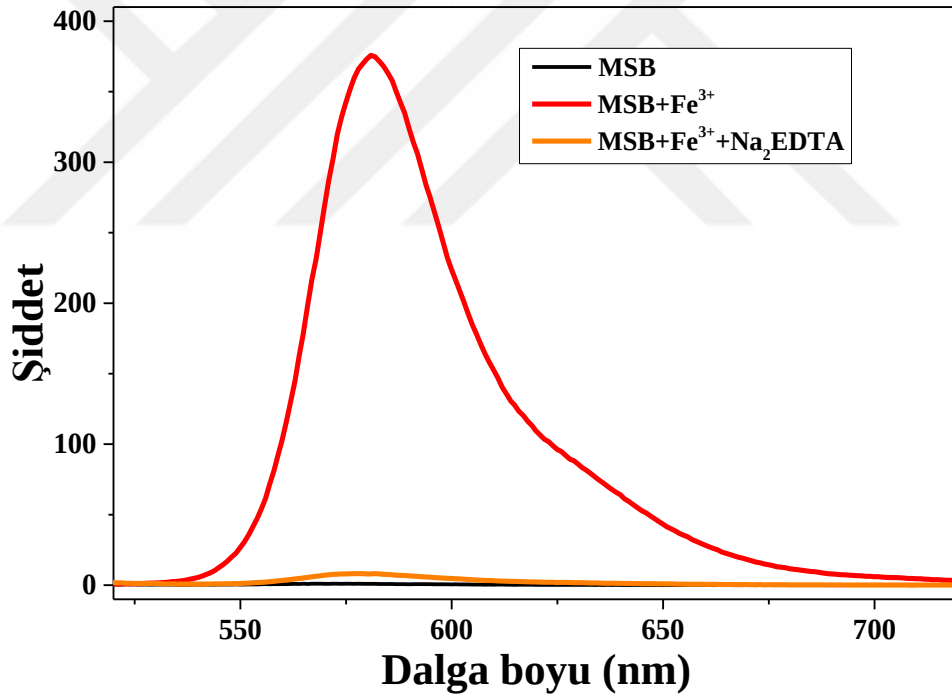


Şekil 3.13 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandına (0,05 mM) Fe^{3+} (5 eşdeğer) ilavesi sonucunda zamana bağlı olarak alınan floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm/ 5 nm.

3.9 MSB- Fe^{3+} Bağlanmasının Tersinirliğinin Spektroflorometrik Yöntemle İncelenmesi

MSB sensör bileşiği ile Fe^{3+} arasında gerçekleşen kompleksleşmenin tersinir olup olmadığı ve aynı zamanda oluşan kompleksin kararlılığı spektroflorometrik yöntem

ile incelendi. Öncelikle 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB (0,05 mM) ligandının floresan spektrumu alınıp ardından bu çözeltiye 2 eşdeğer Fe^{3+} ilavesi yapılarak floresan yanıtı kaydedildi. Liganda Fe^{3+} iyonu ilave edilmesi sonucunda spirolaktam halka açılmasına bağlı olarak floresan şiddetinde 580 nm’de artış gerçekleşmiş ve aynı zamanda çözeltinin rengi renksizden pembeye dönmüştür. $\text{MSB}+\text{Fe}^{3+}$ kompleksinin bulunduğu bu çözeltiye 2 eşdeğer Na_2EDTA ilavesi yapıldığında ise floresan şiddeti tamamen sönümlenmiş ve çözeltinin rengi pembeden renksize geri dönmüştür. Bu durum ortamdaki Fe^{3+} iyonlarının EDTA tarafından tutulmasından kaynaklanmıştır ve böylece Fe^{3+} ile kompleks oluşturamayan MSB bileşiği spirolaktam halkasının kapalı formuna geri dönmüş olup floresan şiddeti başlangıç değerine geri dönmüştür. Sonuç olarak, MSB sensör bileşiği ve Fe^{3+} arasındaki bağlanmanın tersinir olduğu ve oluşan kompleksin kararlı olduğu spektrofotometrik ve kolorimetrik olarak kanıtlanmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) Fe^{3+} (2 eşdeğer) ve Na_2EDTA (2 eşdeğer) ilaveleri sonucunda elde edilen floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm/ 5 nm.



4. SONUÇ VE YORUMLAR

Bu çalışmada, kolorimetrik ve florometrik olmak üzere iki farklı yöntemle tayin sağlayabilen rodamin tabanlı yeni bir sensör geliştirilmiş olup deiyonize su ve ayrıca içme suyu örneklerinde Fe^{3+} iyonu analiz edilmiştir. Sensörün diğer metal iyonları (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} ve Fe^{2+}) arasından yalnızca Fe^{3+} iyonuna karşı seçici olduğu spektrofotometrik, spektroflorometrik ve kolorimetrik yöntemlerle gösterilmiştir.

Demir insan vücudunda en çok bulunan önemli bir geçiş metalidir. Vücutta gerçekleşen birçok hayati mekanizmada önemli bir yere sahiptir ve olması gereken konsantrasyonların altında ya da üstünde bulunması birçok önemli hastalığa yol açmaktadır. Ayrıca tüm ekosistemdeki yaşam döngüsünün aksamadan devam etmesinde rol oynayan bir metaldir. Bu yüzden Fe^{3+} iyonunun hassas, seçici ve aynı zamanda hızlı şekilde tespitini sağlayan sensörlere gerek duyulmaktadır.

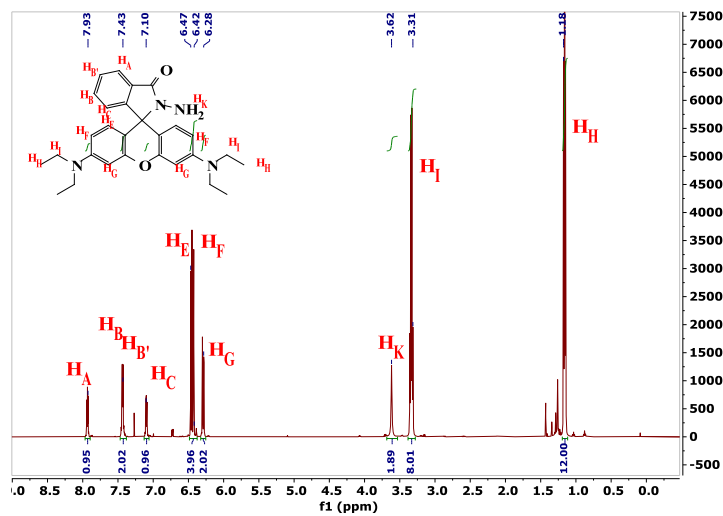
Bu çalışmada tiyofen grubuyla substitüe bir rodamin B bileşiği sentezlenmiştir. Sensör olarak tasarlanan bu molekülün ve ara basamaklardaki moleküllerin karakterizasyonu NMR, FT-IR, MALDI-TOF MS ve X-Işını Kırınımı (Sensör molekülü) yöntemiyle yapılmıştır. Spektrofotometrik ve spektroflorometrik Fe^{3+} titrasyonu çalışmaları ile çok düşük tayin limitlerine ulaşılmıştır. Spektrofotometrik titrasyonda $5,99 \times 10^{-8}$ M tespit limitine ulaşılmış ve 33,3 - 55,0 μM arası Fe^{3+} içeren deiyonize suda $R^2 = 0,996$ olan doğrusal aralık elde edilmiştir. Spektroflorometrik titrasyonda $4,85 \times 10^{-9}$ M tespit limitine ulaşılmış ve 25,3 – 50,7 μM arası Fe^{3+} içeren deiyonize suda $R^2 = 0,995$ olan doğrusal aralık elde edilmiştir. Fe^{3+} ilavesi sonucunda 559 nm’de yeni oluşan absorbans bandı ve 580 nm’de floresan şiddetindeki artış, rodamin yapısındaki spirolaktam halkasının açılması sonucunda molekül üzerindeki konjugasyon artışından kaynaklanmaktadır. Sadece Fe^{3+} iyonuna seçici olan bu sensör molekülü için katyonlar ile girişim çalışması yapılmış olup çinko hariç diğer metaller varlığında ve diğer anyonlar varlığında sensörün tayin kabiliyetini devam ettirdiği görülmüştür. Sensörün tepki süresinin belirlendiği florometrik çalışmalar sonucunda 4 dakika gibi kısa bir süre içinde etkili bir tayin yapılabildiği görülmüştür. Bunun yanında,

Na_2EDTA çözeltisi kullanılarak MSB-Fe^{3+} bağlanmasının tersinir olduğu görülmüş olup tekrar Fe^{3+} ilavesi ile birlikte bağlanmanın yeniden gerçekleştiği florometrik ölçüm sonuçlarıyla desteklenmiştir. MSB ve Fe^{3+} arasındaki bağlanmanın 1:1 (ligand:metal) oranında olduğu Job yöntemi, $^1\text{H-NMR}$ titrasyonu, FT-IR titrasyonu ve MALDI-TOF MS sonuçları ile ortaya konmuştur ve bağlanma sabiti (K_a) Benesi-Hildebrand yöntemi kullanılarak güçlü bağlanmayı destekleyen bir değer olarak $1,89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ bulunmuştur. Buna ek olarak, sensörün pratik uygulaması olarak farklı içme suyu markalarında kirletme yöntemiyle Fe^{3+} tayini yüksek geri kazanım oranıyla gerçekleştirilmiştir. Sensörün bir diğer pratik uygulaması ise kağıt testi ile Fe^{3+} tayinini sağlayabiliyor olmasıdır. Sonuç olarak, bu çalışmada kolorimetrik ve florometrik yolla Fe^{3+} tayinini yüksek miktarlarda girişime uğramadan hassas bir şekilde gerçekleştirmeyi sağlayan bir sensör geliştirilmiş olup sensör uygulamaları incelenmiştir.

4.1 Sensör Bileşiği MSB'nin Sentezi

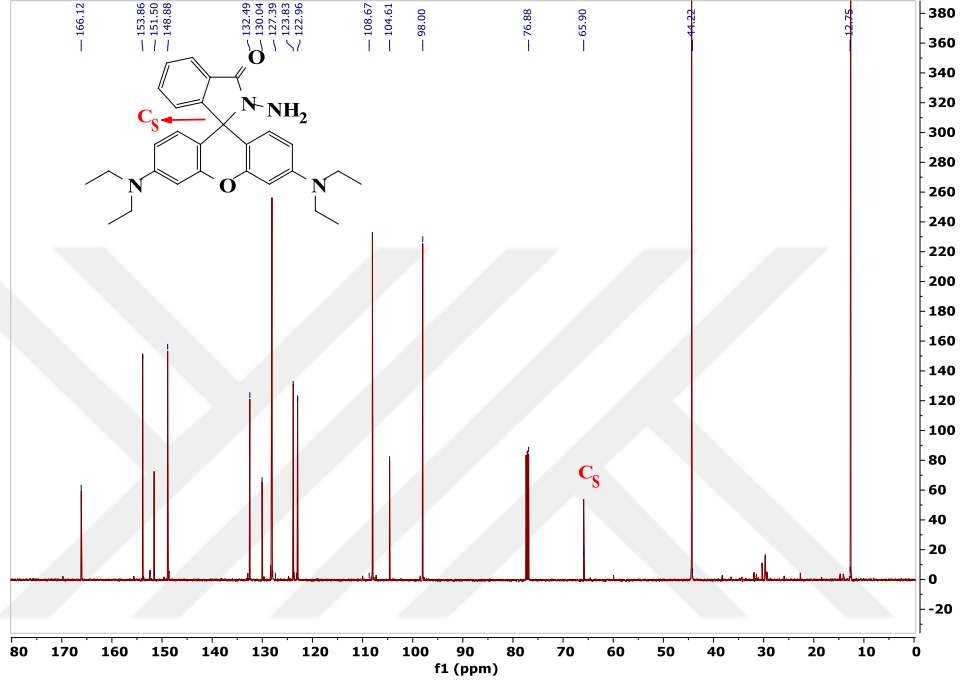
4.1.1 Rodamin B hidrazit sentezi

Rodamin B Hidrazit bileşiği literatürde yer alan sentez yöntemi baz alınarak rodamin B ve hidrazin hidratin etanol ortamında kaynatılması sonucunda (95% verimle) sentezlendi. Rodamin B hidrazitin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunun yer aldığı şekil 4.1'de görüldüğü üzere tüm aromatik bölgelere ait protonların kimyasal kayma değerleri beklenen alanda rezonansa gelmişlerdir. Ayrıca spin yarılmalarının teorik olarak beklenen yarılmalar ile uyum içinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.1 : Rodamin B hidrazit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (d-Kloroform).

Rodamin B hidrazit bileşiğinin ^{13}C -NMR ile analizi de yapılmıştır. Molekülün spirolaktam halkasının kapalı formda olduğunun göstergesi olan 67 ppm'deki kuarterner karbonunun varlığı yapıyı doğrulamıştır. Buna ek olarak bileşikteki tüm karbon sayılarının ve kimyasal kayma değerlerinin yapı ile uyum içinde olduğu görülmüştür. Şekil 4.2 rodamin B hidrazit bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunu göstermektedir.



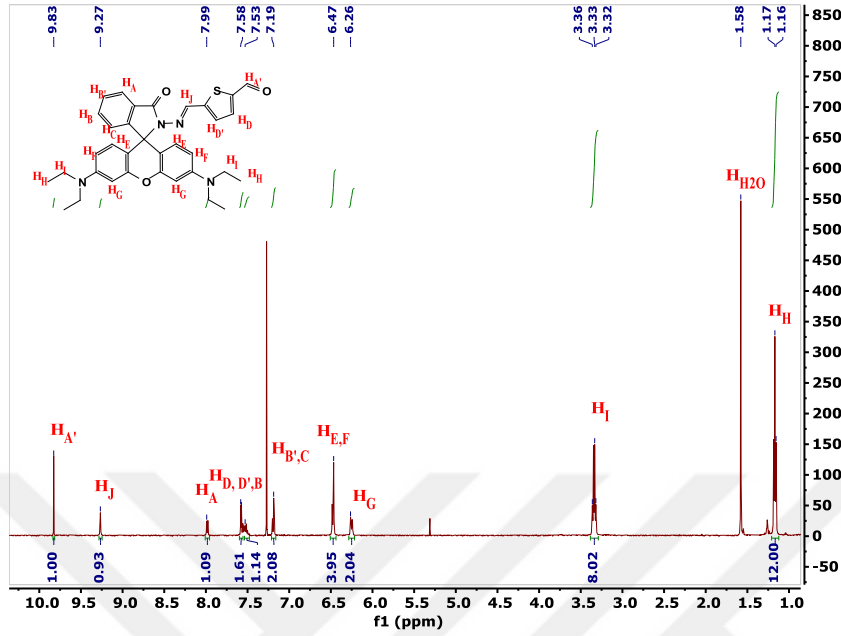
Şekil 4.2 : Rodamin B hidrazit bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (d-Kloroform).

4.1.2 Sensör molekülü MSB'nin sentezi

(E)-5-(((3',6'-bis(diethylamino)-3-oksospiro[izoindolin-1,9'-ksanten]-2-il)imino)metil)tiyofen-2-karbaldehit (**MSB**) bileşiği, rodamin B hidrazitin 2,5-tiyofendikarboksaldehit ile etanol ortamında 20 saat boyunca kaynatılması sonucunda %39 verimle sentezlenmiştir. Etil asetat / hekzan (1:2, h/h) sistemi ile preparatif ince tabaka kromatografisi silika jel üzerinden alındı ve tabakadan kazınan ürün etil asetat ile çözülerek etanolde yıkanarak saflaştırıldı. Karakterizasyon aşamaları ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, FT-IR, MALDI-TOF MS ve X-Işını Kırınımı yöntemleri ile sağlandı ve spektral verilerin sonucunda molekül yapısı aydınlatıldı.

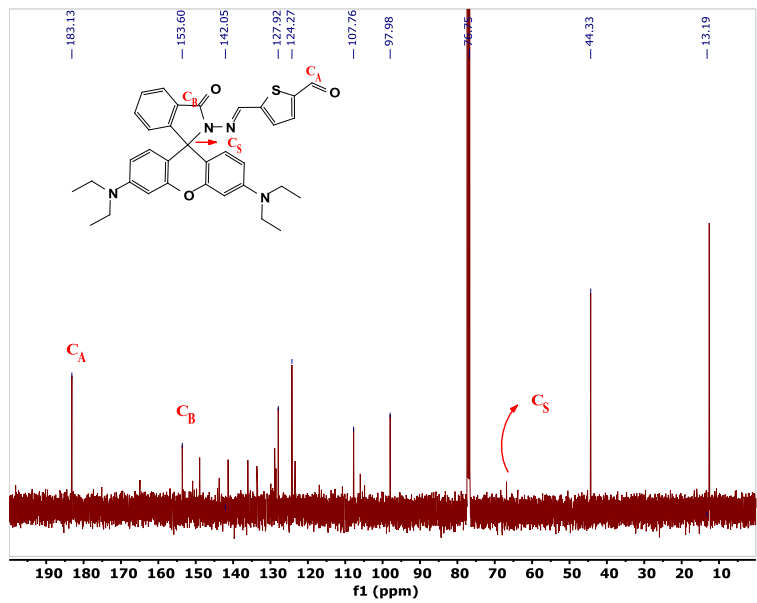
Şekil 4.3'de MSB bileşiğine ait olan ^1H NMR spektrumu görülmektedir. Sensör bileşiğinin yapısının aydınlatılmasında önemli olan bazı proton pikleri olan 9.83 ppm'deki aldehit protonuna ait pik ve 9.27 ppm'deki imin protonuna ait olan pik

spektrumda yer almaktadır. Buna ek olarak spektrumdaki diğer integrasyon ve kimyasal kayma değerleri yapı ile uyumlu çıkmıştır.



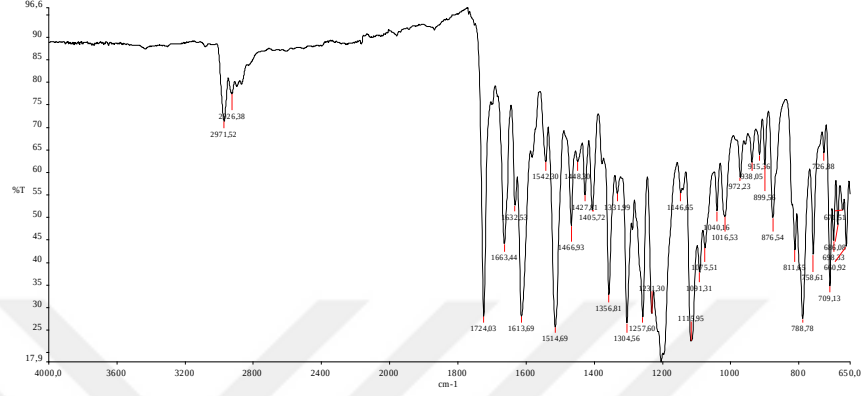
Şekil 4.3 : MSB bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (d-Kloroform).

MSB bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu Şekil 4.4'de gösterilmiştir. 183 ppm'de yer alan aldehit karbonunun piki, 153 ppm'de yer alan amid karbonunun piki ve 67 ppm'de yer alan kuarterner karbonun piki yapının aydınlatılmasında önemli rol oynamaktadır. Spektrumdaki diğer karbon sayıları ve kimyasal kayma değerleri yapı ile uyum içindedir.



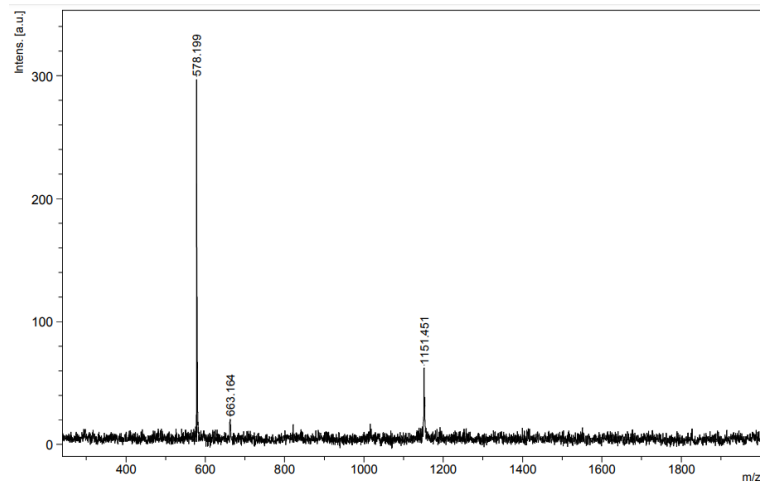
Şekil 4.4 : MSB sensör bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu (d-Kloroform).

MSB bileşiğinin bir diğer karakterizasyonu FT-IR spektroskopisi kullanılarak yapılmıştır. Spektrumda görülen 1724 cm^{-1} ve 1613 cm^{-1} 'de aldehit ve amid karbonillerine ait keskin pikler görülmesi karakteristik olarak yapının aydınlatılmasını sağlamıştır. Buna ek olarak, moleküldeki diğer fonksiyonel gruplarına ait bandlar da yapı ile uyumludur. Şekil 4.5 moleküle ait FT-IR spektrumunu göstermektedir.



Şekil 4.5 : MSB sensör bileşiğinin FT-IR spektrumu.

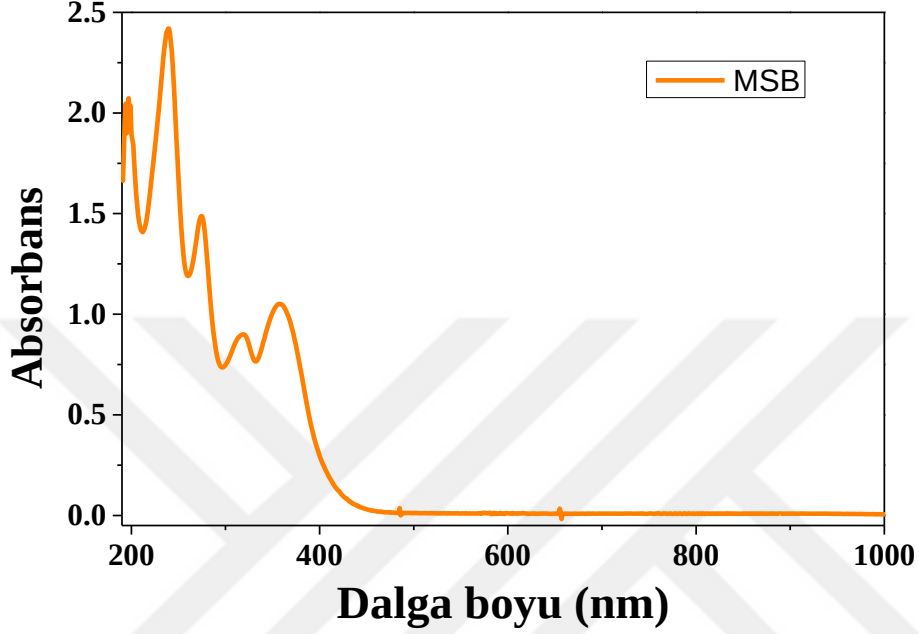
MSB bileşiğe ait diğer karakterizasyon çalışması MALDI-TOF kütle spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşiğe ait M^+ değeri $578,199\text{ m/z}$ olarak spektrumda görülmektedir (Hesaplanan değer: $578,73\text{ m/z}$). 1151 m/z değerine ait pik ise iki MSB bileşiğinin moleküller arası hidrojen bağı oluşturması sonucundaki dimer formunu temsil etmektedir. Moleküller arası gerçekleşen hidrojen bağının varlığı X-Işını Kırınımı yöntemiyle de desteklenmektedir (Şekil 3.5). Şekil 4.6 moleküle ait MALDI-TOF kütle spektrumunu göstermektedir.



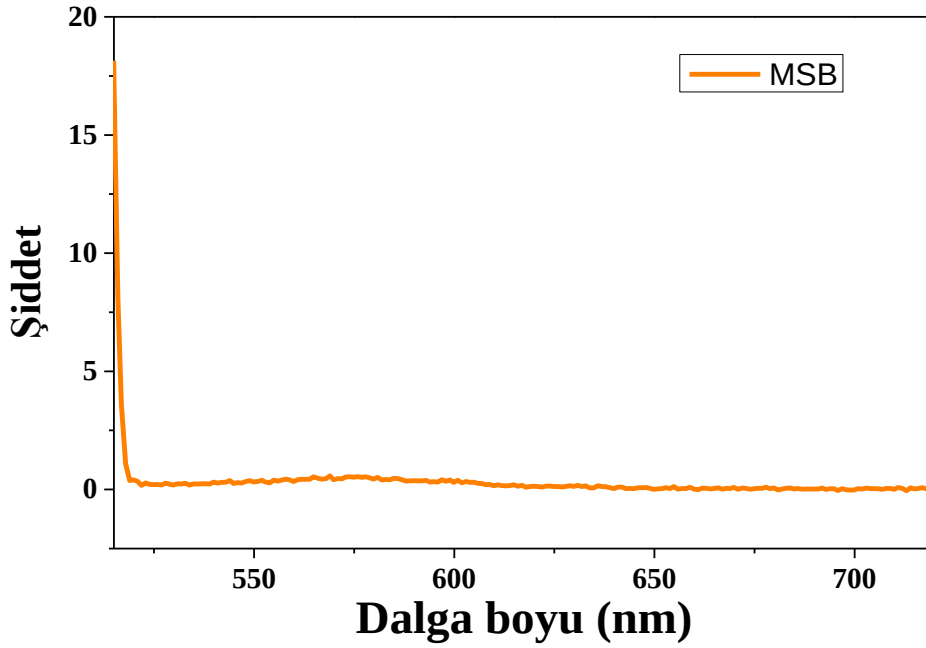
Şekil 4.6 : MSB sensör bileşiğinin MALDI-TOF spektrumu.

4.2 MSB Sensör Bileşiminin Spektral Özellikleri Ve Fe³⁺ İyonuna Karşı Tepki Mekanizması

MSB sensörüne ait UV-Gör ve 510 nm ile uyarılma sonucunda Floresan spektrumları sırasıyla Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7 : 0,05 mM MSB’nin UV-Gör spektrumu (etanol içerisinde).

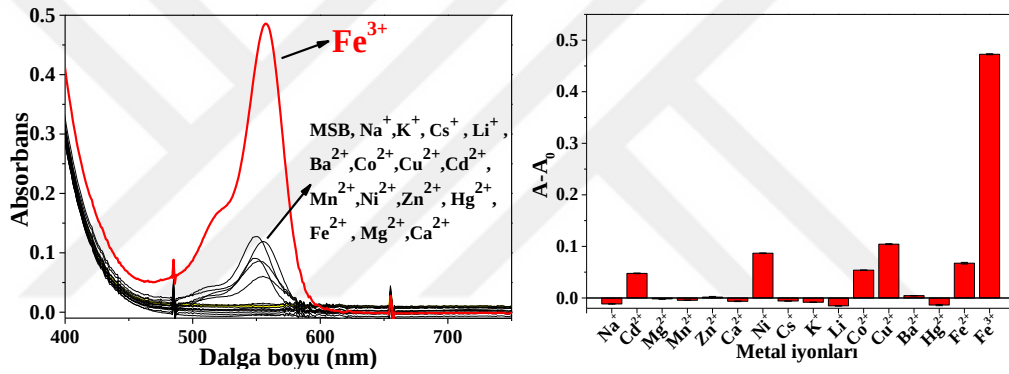


Şekil 4.8 : 0,05 mM MSB’nin floresan spektrumu (etanol içinde, uyarma dalga boyu:510 nm, uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm/5nm).

4.3 MSB Sensör Bileşiğinin Spektrofotometrik Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlanma Çalışmaları

4.3.1 Spektrofotometrik yöntemle katyon bağlanması çalışması

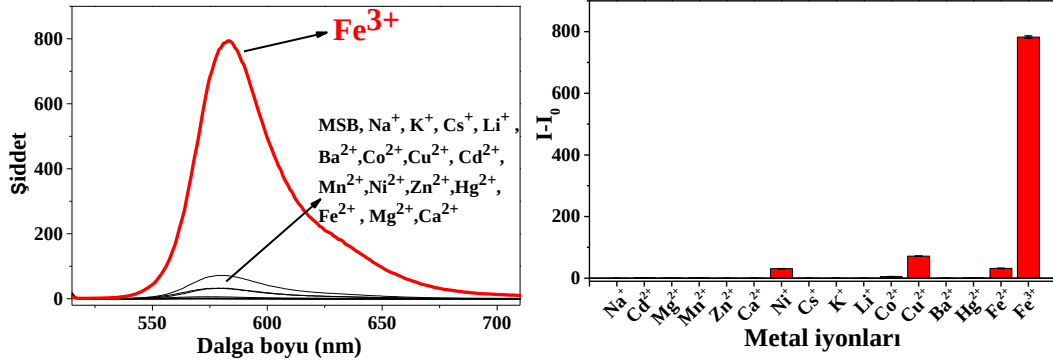
Bu çalışmada, 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında yer alan MSB sensör bileşiğine (0,05 mM) ligandın 5 eşdeğer miktarı olacak şekilde metal iyonlarının sulu çözeltilerinden (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} ve Fe^{3+} , 0,05 M) ilave edildi ve UV-Gör spektrumları kaydedildi. Eklemeler sonucunda MSB bileşiğinin metalsiz çözeltisinin ve diğer metal iyonlarının eklendiği çözeltinin UV-Gör spektrumunda ciddi bir değişiklik söz konusu olmaz iken Fe^{3+} iyonu ilave edilen çözeltinin 559 nm’de güçlü bir absorbansa sahip olduğu görüldü (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolda 0,05 mM) Fe^{3+} ve diğer metal iyonlarının (0,25 mM) ilavesi sonucunda UV-Gör tepkisi (Bar grafiği verileri 559 nm’ye aittir).

4.3.2 Spektrofluorometrik yöntemle katyon bağlanma çalışması

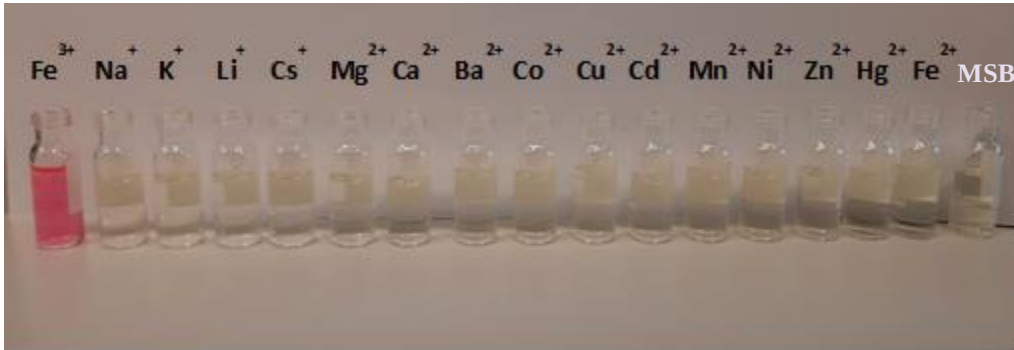
Bu çalışmada, 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında yer alan MSB sensör bileşiğine (0,05 mM) ligandın 5 eşdeğer miktarı olacak şekilde metal iyonlarının sulu çözeltilerinden (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} ve Fe^{3+} , 0,05 M) ilave edildi ve floresan spektrumları kaydedildi. Uyarma dalga boyu 510 nm’ye ayarlandı ve slit aralığı uyarma:5 nm, emisyon:5 nm olacak şekilde ayarlandı. Eklemeler sonucunda MSB bileşiğinin metalsiz çözeltisinin ve diğer metal iyonlarının eklendiği çözeltinin floresan spektrumunda kaydadeğer bir sinyal söz konusu olmaz iken Fe^{3+} iyonu ilave edilen çözeltinin 580 nm’de floresan sinyalinde ciddi bir artışa sahip olduğu görüldü (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolda 0,05 mM) Fe^{3+} ve diğer metal iyonlarının (0,25 mM) ilavesi sonucunda floresan spektrumu ve bar grafiği (Bar grafiği verileri 580 nm'ye aittir). Uyarma dalga boyu:510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm/5nm.

4.3.3 MSB- Fe^{3+} bağlanmasının çözeltide neden olduğu renk değişimi

Şekil 4.11 'de MSB sensör bileşiğinin görünür ışık altında sahip olduğu renk ve metal iyonları ilave edildikten sonra oluşan renkler görülmektedir. Şekilden de görüldüğü üzere, çözelti başlangıçta renksiz iken sadece Fe^{3+} ilavesinden sonra pembe renge dönmüş ve diğer metal iyonları herhangi bir renk değişimine sebep olmamıştır. Çözeltinin bu şekilde bir renk değişikliği yapması, bu çalışmada tasarlanmış olan sensörün çıplak gözle Fe^{3+} tayinini sağlayabildiğini göstermiştir.

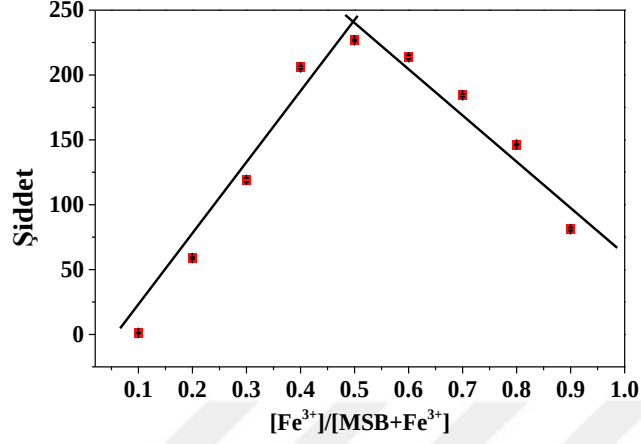


Şekil 4.11 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğine (etanolda 0,05 mM) Fe^{3+} , Na^+ , K^+ , Li^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , ve Fe^{2+} iyonlarının (0,25 mM) ilavesi sonucunda görünür ışık altında çözeltilerin sahip olduğu renkler.

4.3.4 Fe^{3+} seçiciliği ve tepki mekanizması

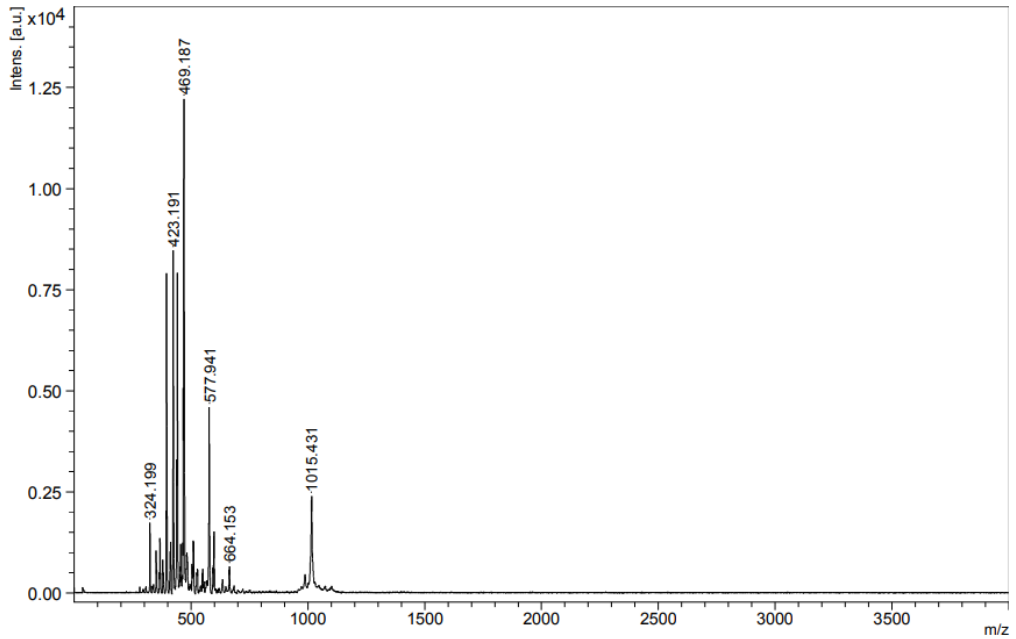
Fe^{3+} ve MSB sensör molekülü arasındaki tepki mekanizmasını bağlanma oranını incelemek adına Job yöntemi, ligand ve kompleksin FT-IR, MALDI-TOF kütle ve ^1H -NMR sonuçları kullanılmıştır. Job yönteminde metal iyonunun mol fraksiyonu 0,0 – 1,0 aralığında değiştirilerek farklı MSB- Fe^{3+} çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin

floresans şiddetleri ölçüldüğünde, maksimum sonucun Fe^{3+} iyonunun 0,5 molar fraksiyonu ile elde edildiği görüldü, bu da prob MSB ile Fe^{3+} iyonu arasındaki 1:1 koordinasyon oranını gösterir (Şekil 4.12).



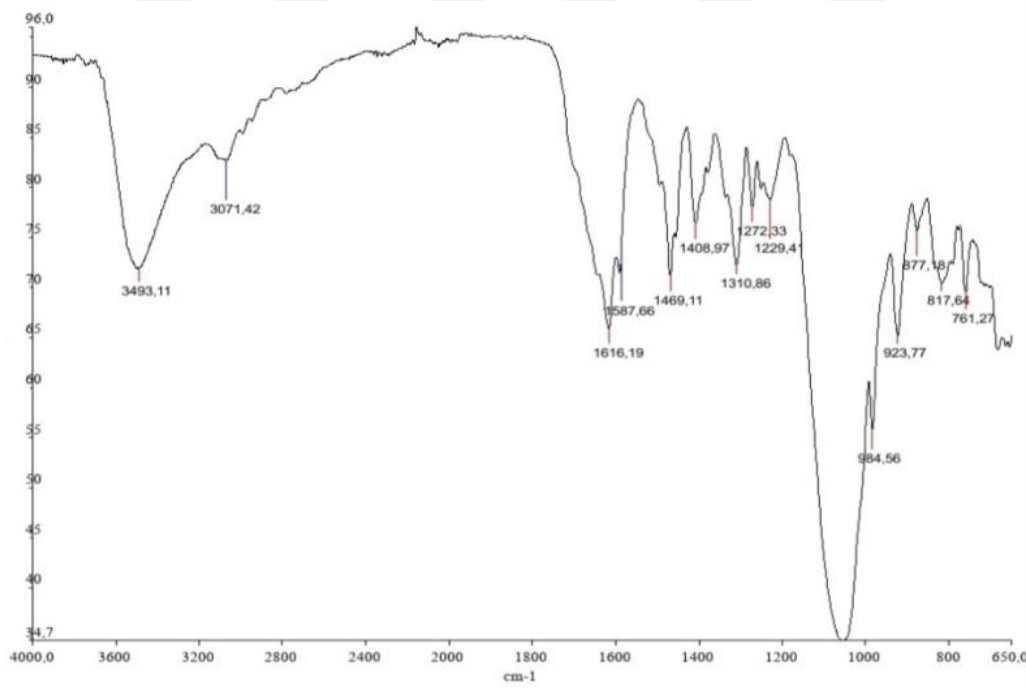
Şekil 4.12 : 39:1 etanol/su ortamında MSB – Fe^{3+} 'ün Job grafiği.

MSB sensör molekülü ile Fe^{3+} 'nin arasında gerçekleşen bağlanma, MALDI-TOF MS kullanılarak doğrulandı (Şekil 4.13). $m/z = 1015,431$ 'de gözlenen pik $[\text{MSB} + \text{Fe}^{3+} + 3\text{ClO}_4^- + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{Na}]^+$ 'ya aittir. $m/z = 578,199$ 'da görülen karakteristik pik, MSB'nin $[\text{M}]^+$ molekül pikine karşılık gelmektedir. Kütle spektrumundan alınan bu sonuçlar sensör ve metal iyonu arasında önerilen bağlanmayı ve stokiyometriyi desteklemektedir.



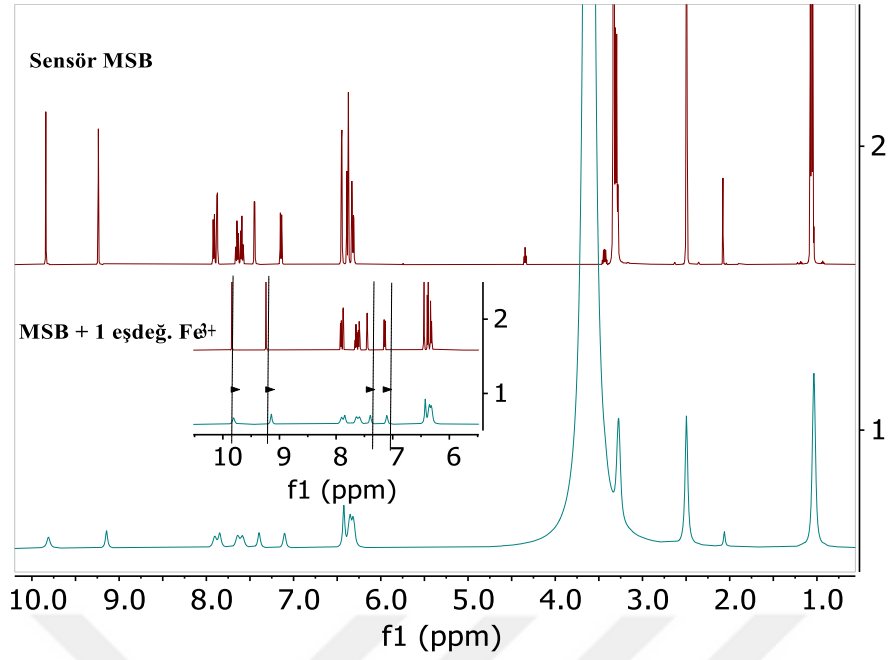
Şekil 4.13 : MSB- Fe^{3+} kompleksinin MALDI-TOF MS spektrumu (Matriks: DHB)

MSB ve Fe^{3+} iyonları arasındaki bağlanma mekanizmasını netleştirmek için, Şekil 4.14'de gösterildiği gibi sensöre Fe^{3+} iyonlarının eklenmesinden önce ve sonra FT-IR analizi yapıldı. MSB'nin FT-IR spektrumu, aldehitin C-H germe bandıyla uyumlu olarak 2976 cm^{-1} 'de bir bant, aldehitin C=O germe bandına atfedilen 1724 cm^{-1} 'de bir bant, 1613 cm^{-1} 'de amidin C=O germe bandı ile uyumlu bir bant, 1514 cm^{-1} 'de C=N germe modu ile eşleşen bir bant sergiledi. $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ sulu çözeltisinin MSB sensör molekülüne eklenmesi, H_2O 'yu gösteren O-H gerilmesi nedeniyle 3493 cm^{-1} 'de bir bant ve perkloratı temsil eden 1075 cm^{-1} 'de bir bant ortaya çıkmasına neden oldu ve kompleksin H_2O ve ClO_4^- ile koordinasyon oluşturduğunu ortaya çıkardı. Aldehitin C=O germe bandı 1724 cm^{-1} 'den 1616 cm^{-1} 'e kaymıştır, amidin C=O germe bandı 1613 cm^{-1} 'den 1469 cm^{-1} 'e kaymıştır. Bu spektral değişiklikler, sensör molekülünde yer alan O-S-O atomlarının Fe^{3+} iyonu ile etkileşime girdiğini göstermektedir.



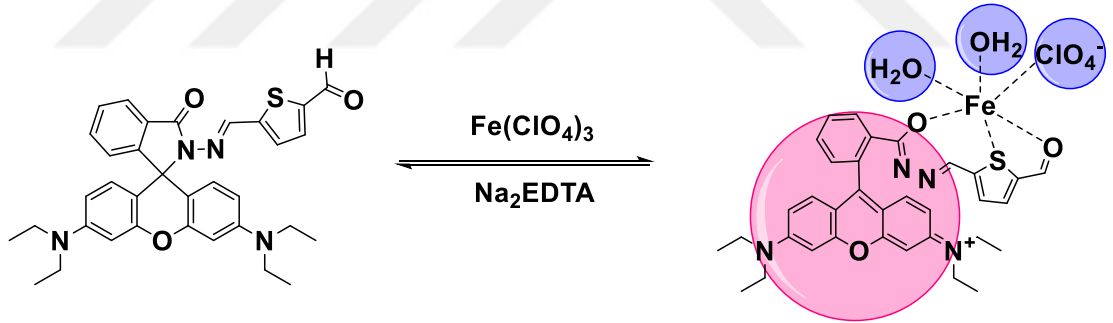
Şekil 4.14 : MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} eklendikten sonraki FT-IR spektrumu.

Bağlanma mekanizmasının incelendiği bir diğer yöntem ^1H -NMR kullanarak titrasyon yapılmasıdır. Şekil 4.15'de görüldüğü gibi aldehit grubundaki proton ve tiyofen grubundaki protonların piklerindeki kaymalar, prob ile metal iyonu arasındaki etkileşimin bu fonksiyonel gruplar üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 4.15 : MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} ilave edilmeden önce ve 1 eşdeğer Fe^{3+} ilave edildikten sonraki ^1H -NMR spektrumu (d-DMSO).

Şekil 4.16’da MSB ile Fe^{3+} arasındaki ön görülen bağlanma mekanizması gösterilmektedir.



Şekil 4.16 : MSB ile Fe^{3+} arasındaki ön görülen bağlanma.

4.3.5 MSB- Fe^{3+} etkileşiminin spektrofotometrik titrasyon çalışması

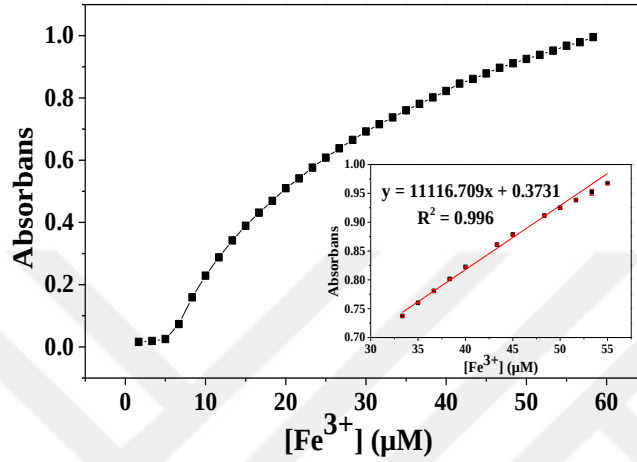
Spektrofotometrik yöntemle Fe^{3+} titrasyonunun gerçekleştirileceği UV-Gör küvetine 1,5 mL 10^{-4} M MSB etanol çözeltisi alındı ve çalışma koşulları 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamı olacak şekilde etanol ve Tris-HCl pH 7 tampon çözeltisi eklendi. Sistem kapalı kalacak şekilde septum ile kapatıldı ve Fe^{3+} sulu çözeltisinden (0,16 – 58,3 μM) enjektör yardımıyla eklemeler yapıldı. Her bir ekleme sonucunda çözelti balık yardımıyla homojen şekilde karıştırıldı ve UV-Gör spektrumu kaydedildi. Çözeltideki Fe^{3+} konsantrasyonunun 33,3-55,0 μM olduğu aralıkta konsantrasyon ve

absorbans arasında iyi bir lineerlik gözlemlenmiştir (Şekil 4.16). Elde edilen lineer eğri için denklem ve R^2 değeri sırasıyla aşağıda verilmiştir:

$$A = 11116,709c + 0,3731$$

$$R^2 = 0,996$$

A: absorbans değerini, c: Fe^{3+} konsantrasyonunu temsil etmektedir.



Şekil 4.17 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolda 0,05 mM) Fe^{3+} ile titrasyonu sonucunda elde edilen UV-Gör noktasal verileri (Noktasal veriler 559 nm'ye aittir).

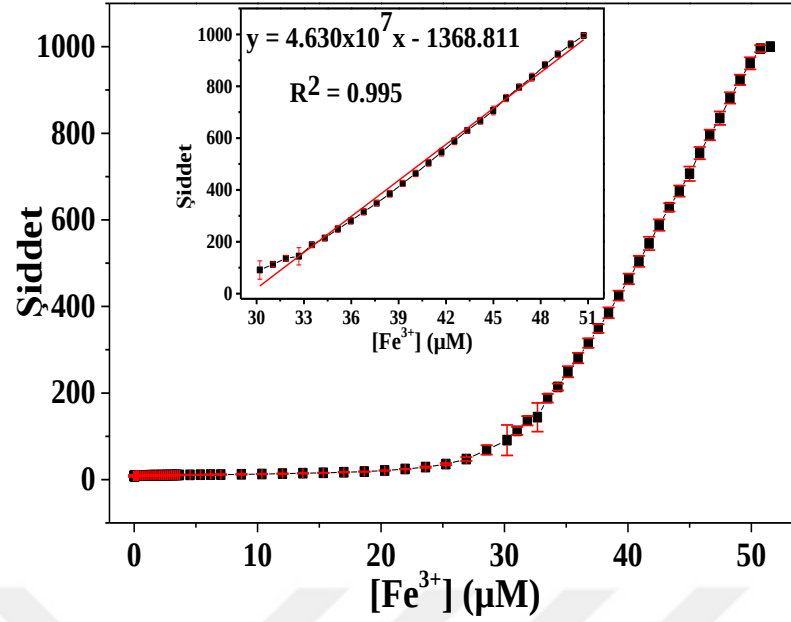
4.3.6 MSB- Fe^{3+} etkileşiminin spektrofotometrik titrasyon çalışması

Spektrofotometrik yöntemle Fe^{3+} titrasyonun gerçekleştirileceği floresan küvetine 1,5 mL 10^{-4} M MSB etanol çözeltisi alındı ve çalışma koşulları 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamı olacak şekilde etanol ve Tris-HCl pH 7 tampon çözeltisi eklendi. Kapalı sistem koşullarının sağlanabilmesi için küvet septum ile kapatıldı ve Fe^{3+} sulu çözeltisinden (0,016 – 50,7 μ M) enjektör yardımıyla eklemeler yapıldı. Her bir ekleme sonucunda çözelti balık yardımıyla homojen şekilde karıştırılarak floresan spektrumu kaydedildi. Uyarma dalga boyu 510 nm'ye ayarlandı ve emisyon dalga boyu 580 nm olarak ölçüldü (Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm). Çözeltideki Fe^{3+} konsantrasyonunun 25,3-50,7 μ M olduğu aralıkta konsantrasyon ve floresan şiddeti arasında iyi bir lineerlik gözlemlenmiştir (Şekil 4.17). Elde edilen lineer eğri için denklem ve R^2 değeri sırasıyla aşağıda verilmiştir:

$$I = 4,630 \times 10^7 c + 1368,811$$

$$R^2 = 0,995$$

I: Floresan şiddetini, c: Fe^{3+} konsantrasyonunu temsil etmektedir.



Şekil 4.18 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin (etanolda 0,05 mM) Fe^{3+} ile titrasyonu sonucunda elde edilen floresana ait noktasal veriler (Noktasal veriler 580 nm'ye aittir). Uyarma dalga boyu: 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm. Siyah noktalar konsantrasyonlara karşılık gelen floresan şiddetlerini ve kırmızı çizgiler hata oranlarını simgelemektedir.

4.3.7 Tespit limiti ve K_a bağlanma sabitinin belirlenmesi

Şekil 4.16 ve 4.17 UV-Gör ve floresan titrasyonlarına ait lineer aralıkları göstermektedir. UV-Gör yöntemi ile yapılan Fe^{3+} titrasyonundan elde edilen eğrinin denklemi $A = 11116,709c + 0,3731$ ve R^2 değeri 0,996. Tespit limiti denklem 3.1'de belirtilen $\text{LOD} = 3 \sigma / k$ formülüyle hesaplanarak $5,99 \times 10^{-8}$ M olarak bulunmuştur. Denkleminde yer alan σ , blank çözeltinin 20 paralel ölçümünün standart sapmasını temsil etmektedir ve bu değer UV-Gör ölçümleri sonucunda 0,000221886 olarak bulunmuş olup eğim değeri ise kalibrasyon eğrisinden elde edilerek 11116,709 bulunmuştur. Tespit limitinin bu derece düşük olması Çizelge 4.1'de analitik performansları karşılaştırılan sensörler arasında öne çıkan bir çalışma olduğunu göstermektedir.

$$\text{Tespit limiti Denklemi: } 11116,709x + 0,3731 \quad (R^2 = 0,996) \quad (4.1)$$

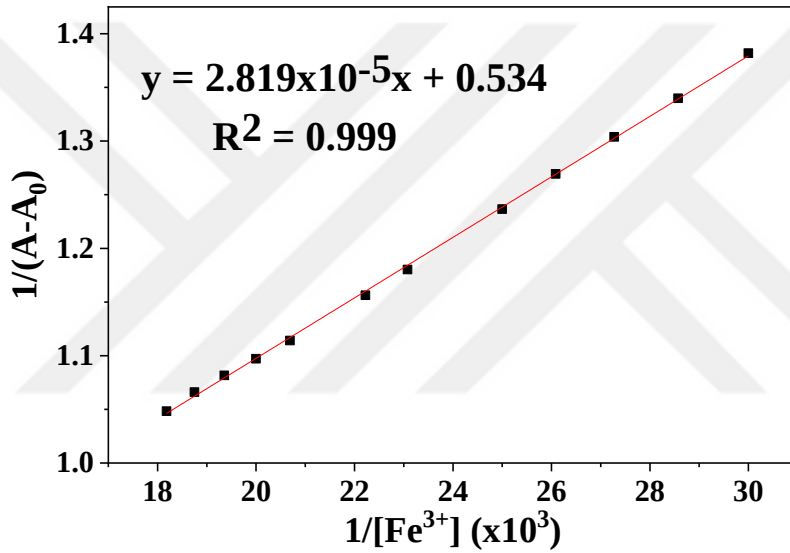
Floresan yöntemi ile yapılan Fe^{3+} titrasyonundan elde edilen eğrinin denklemi $I = 4,630 \times 10^7 x - 1368,811$ ve R^2 değeri 0,995. Tespit limiti denklem 3.1'de belirtilen $\text{LOD} = 3 \sigma / k$ formülüyle hesaplanarak $4,85 \times 10^{-9}$ M olarak bulunmuştur. Denkleminde yer alan σ , blank çözeltinin 20 paralel ölçümünün standart sapmasını temsil etmektedir ve bu değer floresan ölçümleri sonucunda 0,098510017 olarak bulunmuş olup eğim

değeri ise kalibrasyon eğrisinden elde edilerek $4,630 \times 10^7$ bulunmuştur. Tespit limitinin bu derece düşük olması Çizelge 4.1’ de analitik performansları karşılaştırılan sensörler arasında öne çıkan bir çalışma olduğunu göstermektedir.

$$\text{Tayin Limit Denklemi: } 4,630 \times 10^7 x - 1368,811 \quad (R^2 = 0,995) \quad (4.2)$$

Benesi-Hildebrand (Denklem 3.2) eşitliğine göre K_a bağlanma sabiti UV-Gör titrasyon verileriyle (Şekil 4.18) 559 nm’deki değerler kullanılarak $1,89 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu değer, MSB ile Fe^{3+} arasında güçlü bir kompleksleşme olduğunu göstermektedir.

$$1/(A-A_0) = 1/(A_{\max}-A_0) K_a [\text{Fe}^{3+}] + 1/(A_{\max}-A_0) \quad (4.3)$$

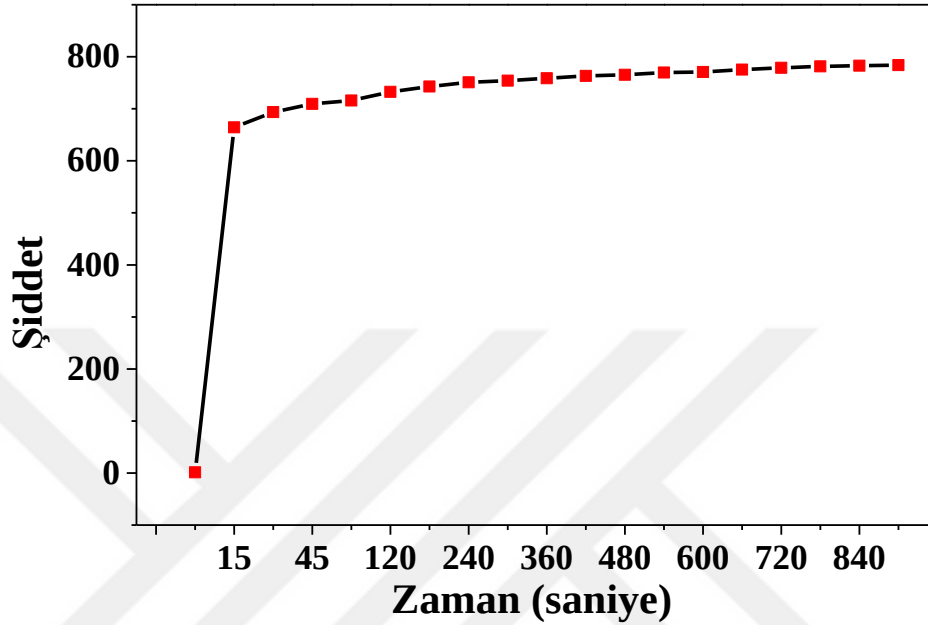


Şekil 4.19 : K_a bağlanma sabitinin Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak hesaplanması.

4.3.8 MSB sensör bileşiğinin Fe^{3+} tayinindeki tepki süresinin spektrofotometrik yöntemle belirlenmesi

Sensörün Fe^{3+} tayinini gerçekleştirmesi için gereken tepki süresi spektrofotometrik yöntemle tespit edildi. Öncelikle çözelti koşulları 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamı olacak şekilde MSB (0,05 mM, etanolde) çözeltisi, etanol ve Tris-HCl tamponu floresan küvetine alındı ve floresan spektrumu kaydedildi. Ardından bu çözeltiye 5 eşdeğer Fe^{3+} eklendikten sonra çözelti homojen şekilde karıştırıldı ve floresan spektrumu 15 saniye aralıklarla kaydedildi. Fe^{3+} eklemeyen önce ve ekledikten sonraki alınan yanıtların 580 nm’deki karşılıkları Şekil 4.19 ‘da gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü üzere başlangıçta floresan şiddetine sahip olmayan sensöre Fe^{3+} eklendikten

sonra spirolaktam halka açılmasına bağlı olarak floresan şiddetinde belirgin bir artış ilk bir dakika içerisinde gerçekleşmiştir. Dördüncü dakikadan sonra artış devam etmeyerek floresan şiddeti sabit kalmaya başlamıştır. Sonuç olarak, MSB sensör bileşiği 4 dakika gibi kısa bir süre içerisinde etkili bir Fe^{3+} tayini sunabilmektedir.



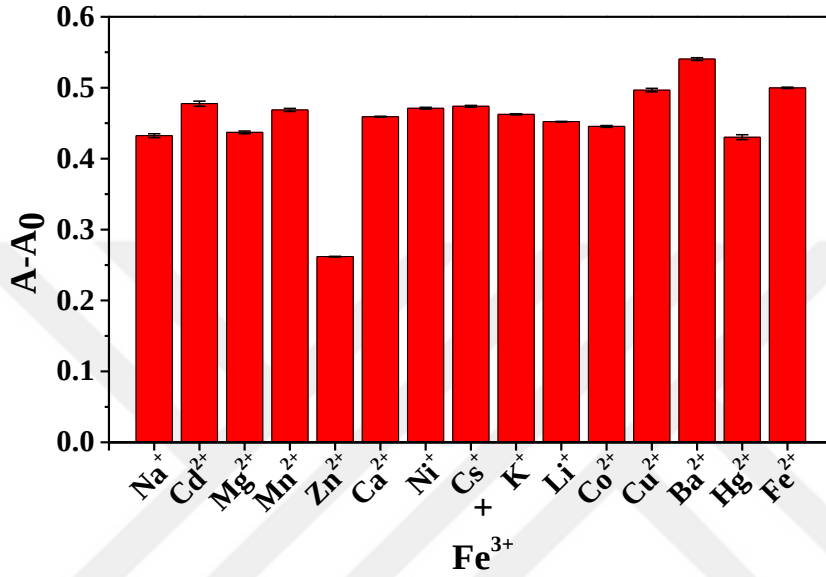
Şekil 4.20 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğine (etanolda 0,05 mM) Fe^{3+} ilave edildikten sonraki floresana ait noktasal veriler (Noktasal veriler 580 nm'ye aittir). Uyarma dalga boyu: 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm.

4.3.9 MSB sensör bileşiği ile Fe^{3+} tayininin diğer metal katyonları tarafından girişimi çalışması

4.3.9.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması

MSB sensör bileşiği kullanılarak Fe^{3+} tayininin diğer metal iyonları tarafından girişimi spektrofotometrik olarak incelendi. Girişim çalışmasının yapılacağı UV-Gör küvetine 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB (etanolda 0,05 mM) sensör bileşiği alınarak üzerine Na^+ , K^+ , Li^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , ve Fe^{2+} iyonlarından ligandın 5 eşdeğer miktarında eklendi. MSB ve metal iyonları bulunan bu çözeltiye ligandın 5 eşdeğeri Fe^{3+} ilave edilerek UV-Gör spektrumu kaydedildi. Fe^{3+} eklemesinden sonra ligand üzerindeki spirolaktam halkasının açılmasına bağlı olarak 559 nm'deki şiddetli absorbans artışı, ortamda diğer metal iyonları olmasına rağmen spektrumda görülmeye devam etmiştir (Şekil 4.20).

Yalnızca Zn^{2+} bulunan çözeltide alınan cevapta bir azalma söz konusu olmuştur ve bu durumun Zn^{2+} ve Fe^{3+} iyonları arasındaki perdelemekten kaynaklı olduğu literatür taramaları sonucunda erişilen kaynaklardan tespit edilmiştir. Bu perdelemeye rağmen ligand Fe^{3+} iyonu ile kompleks oluşturmaya devam ederek belirgin bir absorbands artışına sahip olmaktadır. Sonuç olarak, MSB sensör bileşiği ile Fe^{3+} tayin işlemi diğer metal iyonları tarafından girişime uğramamıştır.

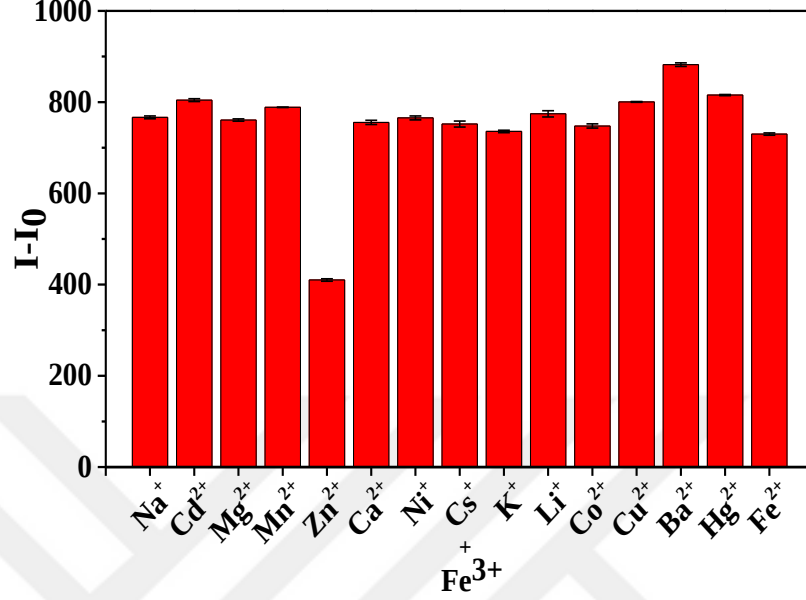


Şekil 4.21 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB sensör bileşiğinin diğer metal iyonları varlığında Fe^{3+} ilavesine vermiş olduğu UV-Gör tepkisi (Bar grafikleri 559 nm'ye ait absorbands değerlerini simgelemektedir).

4.3.9.2 Spektroflorometrik yöntemle girişim çalışması

MSB sensör bileşiği kullanılarak Fe^{3+} tayininin diğer metal iyonları tarafından girişimi florometrik olarak incelendi. Girişim çalışmasının yapılacağı floresan küvetine 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB (etanolde 0,05 mM) sensör bileşiği alınarak üzerine Na^+ , K^+ , Li^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , ve Fe^{2+} iyonlarından ligandın 5 eşdeğer miktarında eklendi. MSB ve metal iyonları bulunan bu çözeltiye ligandın 5 eşdeğeri Fe^{3+} ilave edilerek 510 nm'de uyarılarak floresan spektrumu kaydedildi. Fe^{3+} ilavesinden sonra ligand üzerindeki spirolaktam halkasının açılmasına bağlı olarak 580 nm'deki şiddetli floresan artışı, ortamda diğer metal iyonları olmasına rağmen spektrumda görülmeye devam etmiştir (Şekil 4.21). Yalnızca Zn^{2+} bulunan çözeltide alınan cevapta bir azalma söz konusu olmuştur ve bu durumun Zn^{2+} ve Fe^{3+} iyonları arasındaki perdelemekten kaynaklı olduğu literatür taramaları sonucunda bulunan çalışmalardan tespit edilmiştir. Bu perdelemeye rağmen

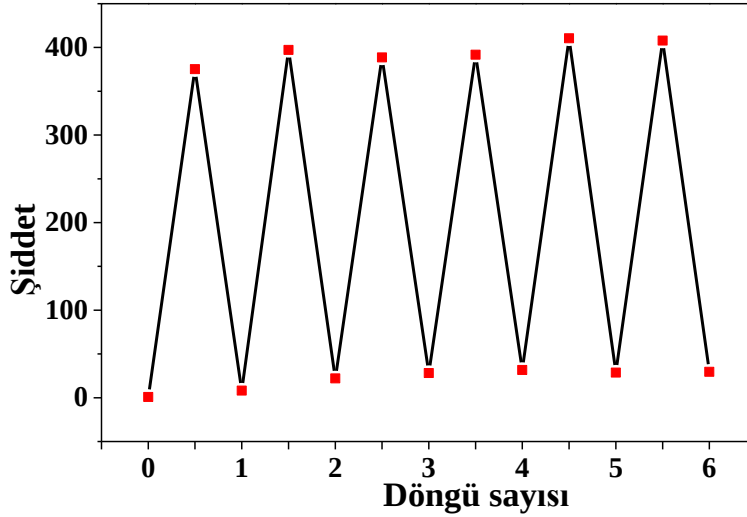
ligand Fe^{3+} iyonuyla kompleks oluşturmaya devam ederek belirgin bir floresan artışına sahip olmaktadır. Sonuç olarak, MSB sensör bileşiği ile Fe^{3+} tayin işlemi diğer metal iyonları tarafından girişime uğramamış olup florometrik tayin imkanına sahiptir.



Şekil 4.22 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine Fe^{3+} eklenmesi sonucunda gösterdiği floresan tepkisi. Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm.

4.3.10 MSB- Fe^{3+} bağlanmasının tersinirliğinin spektrofotometrik yöntemle incelenmesi

MSB sensör bileşiği ile Fe^{3+} arasında gerçekleşen bağlanmanın tersinir olup olmadığı ve aynı zamanda oluşan kompleksin kararlılığı spektrofotometrik olarak incelendi. Öncelikle 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında, MSB (0,05 mM) ligandının floresan spektrumu alınıp ardından bu çözeltiye 2 eşdeğer Fe^{3+} ilavesi yapılarak floresan yanıtı kaydedildi. Liganda Fe^{3+} iyonu ilave edilmesi sonucunda spirolaktam halka açılmasına bağlı olarak floresan şiddetinde 580 nm’de artış gerçekleşmiş ve aynı zamanda çözeltinin rengi renksizden pembeye dönmüştür. MSB+ Fe^{3+} kompleksinin bulunduğu bu çözeltiye 2 eşdeğer Na_2EDTA ilavesi yapıldığında ise floresan şiddeti tamamen sönümlenmiş ve çözeltinin rengi pembeden renksiz geri dönmüştür. Sonuç olarak, MSB sensör bileşiği ve Fe^{3+} arasındaki bağlanmanın tersinir olduğu (Şekil 4.22) ve oluşan kompleksin kararlı olduğu spektrofotometrik ve kolorimetrik olarak kanıtlanmıştır.



Şekil 4.23 : 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB ligandının (0,05 mM) Fe^{3+} (2 eşdeğer) ve Na_2EDTA (2 eşdeğer) ilaveleri sonucunda elde edilen floresan tepkisi.

Uyarma dalga boyu= 510 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm/5nm. Noktasal veriler 580 nm'ye ait floresan şiddetlerini temsil etmektedir.

4.4 Sensör bileşiğinin, spektroskopik yöntem ile Fe^{3+} tayini yapan rodamin tabanlı diğer sensörler ile analitik parametrelerinin kıyaslanması

Farklı solvent ortamlarında Fe^{3+} tayini için geliştirilmiş olan rodamin tabanlı sensörlerin; LOD değerlerini, lineer aralıklarını, cevap sürelerini, bağlanmanın tersinirliğini, girişimleri ve K_a bağlanma sabitlerini gösteren karşılaştırma tablosu Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

4.5 Sensör MSB'nin Pratik Uygulamaları

4.5.1 İçme suyu örneklerinde Fe^{3+} tayini

MSB sensör bileşiğinin çalışma koşullarında Fe^{3+} iyonunu etkili şekilde tespit ettiği görüldükten sonra içme suyu örneklerinde pratik uygulaması yapılmıştır.

Öncelikle hiçbir işlem uygulanmamış içme suyu analiz edildiğinde UV-Gör ve floresan spektrumlarında herhangi bir cevap alınamadı. Bunun sebebi, analiz edilen su örneklerinin içinde bulunan Fe^{3+} miktarının sensörün tespit edebileceği miktardan çok daha az olmasıdır. Bu nedenle kirletme yöntemi ile içme suyu örnekleri Fe^{3+} ile kirletildi. Bu aşamada uygulanan adımlar sırasıyla şu şekildedir: Sensörün çalıştığı lineer aralıktan 36, 42 ve 49 μM olmak üzere 3 farklı konsantrasyon seçildi ve bu konsantrasyonları sağlayacak şekilde iki farklı içme suyu örneği $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ çözeltisi

ile kirletildi. Ardından, aynı çalışma koşullarını sağlayacak şekilde 39:1 etanol/su, pH 7 tampon ortamında MSB (etanolda 0,05 mM) ligandına kirletilmiş su örneklerinden ekleme yapılarak floresan ve UV-Gör spektrumu kaydedildi.

Çizelge 4.1 : Fe³⁺ tayini yapan literatürdeki mevcut sensörlerin ve bu çalışmada geliştirilen sensör bileşiğinin analitik parametreleri.

Sensör	Çalışma Koşulları	Tespit limiti (μM)	Lineer Aralık (μM)	Tepki Süresi (dk)	Tersinirlik	Girişim	K _a (M ⁻¹)	Referans
MSB	EtOH/H₂O (39:1, v/v, Tris-HCl pH 7)	0,00485	30-51	4	Evet	Zn²⁺	1,89×10⁴	Bu çalışma
RBNC	MeOH/H ₂ O (1:1, v/v, HEPES pH 7,35)	0,157	0-200	50	Evet	Hayır	1,17×10 ⁴	[30]
N-TC	EtOH/H ₂ O (5:5, v/v, Tris-HCl pH 7,4)	0,201	0-200	60	Evet	Hayır	1,15×10 ⁴	[31]
RBPO	EtOH/H ₂ O (3:1, v/v, HEPES pH 7,33)	0,067	0-200	20	-	Hayır	2,70×10 ⁴	[32]
RBPF	EtOH/H ₂ O (3:1, v/v, HEPES pH 7,33)	0,345	0-200	350	-	Hayır	1,97×10 ⁴	[32]
1O	ACN/H ₂ O (1:1, v/v)	0,00077	0-2	-	Evet	Cu ²⁺	2,21×10 ⁴	[33]
RDG1	ACN/H ₂ O (20:1, v/v)	3,46	2-16	10	-	Hayır	-	[34]
RDDFT	ACN/H ₂ O (3:7, v/v, HEPES pH 7,4)	0,02	0-1	-	-	Hayır	3,70×10 ⁶	[35]
1	EtOH	0,212	-	-	Evet	Zn ²⁺	4,57×10 ⁴	[36]
RDBSF	30%ACN/Tris-HCl pH 7,4	0,0116	0,8-20	69	-	Hayır	1,52×10 ⁴	[37]
REPN	EtOH/PBS tampon (1:1, v/v, pH 7,4)	0,57	0-9	-	-	Hg ²⁺	-	[38]

İçme suyu örneği 1 için yapılan gerçek örnek çalışmalarının sonuçları şu şekildedir: Alınan floresan yanıtında 580 nm'ye karşılık gelen floresan şiddeti bulunarak denklem 4.2'de y değerinin yerine yazıldı ve bu denklemden Fe^{3+} konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar 36, 42 ve 49 μM için floresan yöntemiyle sırasıyla 35,9, 40,1, 50,1 μM ve geri kazanım değerleri (%Geri Kazanım $\pm$ standart sapma) $99,77 \pm 0,33$, $96,12 \pm 0,37$ ve $102,10 \pm 0,24$ olarak bulundu. Elde edilen UV-Gör yanıtında ise 559 nm'ye karşılık gelen absorbans değerleri, denklem 4.1' de y değerinin yerine yazılarak denklemden Fe^{3+} konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar 36, 42 ve 49 μM için floresan yöntemiyle sırasıyla 36,3, 43,1, 49,2 μM ve geri kazanım değerleri $101,04 \pm 1,15$, $103,45 \pm 0,42$ ve $100,34 \pm 0,68$ olarak bulundu. İçme suyu örneği 2 için yapılan gerçek örnek çalışmalarının sonuçları şu şekildedir: Alınan floresan yanıtında 580 nm'ye karşılık gelen floresan şiddeti bulunarak denklem 4.2'de y değerinin yerine yazıldı ve bu denklemden Fe^{3+} konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar 36, 42 ve 49 μM için floresan yöntemiyle sırasıyla 35,3, 41,9, 49,6 μM ve geri kazanım değerleri $98,31 \pm 0,42$, $100,46 \pm 0,89$ ve $101,15 \pm 0,04$ olarak bulundu. Elde edilen UV-Gör yanıtında ise 559 nm'ye karşılık gelen absorbans değerleri, denklem 4.1' de y değerinin yerine yazılarak denklemden Fe^{3+} konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar 36, 42 ve 49 μM için floresan yöntemiyle sırasıyla 36,2, 43,2, 48,5 μM ve geri kazanım değerleri $100,80 \pm 1,31$, $103,55 \pm 0,32$ ve $98,98 \pm 0,29$ olarak bulundu. UV-Gör ve floresan yöntemleriyle yapılan gerçek örnek çalışmaları sonucunda geri kazanım değerleri %96,12 ila %103,45 hesaplanmış olup sensörün etkili bir pratik uygulamaya sahip olduğu ortaya konulmuştur.

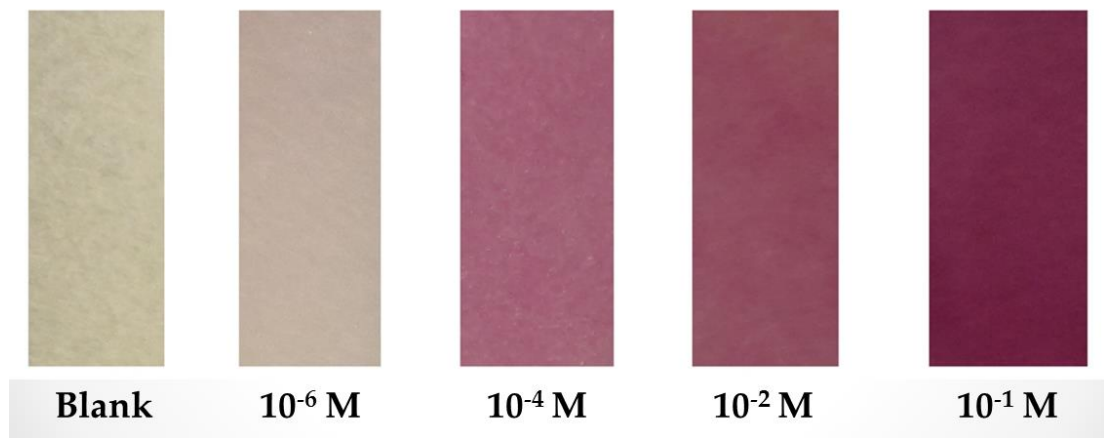
4.5.2 Kâğıt testi ile Fe^{3+} tayini

Kolorimetrik test kağıtları, MSB sensör bileşiğinin işlevsel bir kemosensör olarak pratik uygulanabilirliğini doğrulamak amacıyla filtre kağıdını etanolde hazırlanmış MSB çözeltisine (5 mg/L) batırarak ve 24 saat kurumaya bırakılarak hazırlanmıştır. MSB emdirilmiş olan filtre kağıdı şeritleri, çeşitli konsantrasyonlardaki $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ sulu çözeltisine (10^{-6} – 10^{-1} M) daldırıldı. Şekil 4.23 'de görüldüğü gibi, daldırma işleminden sonra kağıtların renginde önemli değişiklikler meydana geldi ve renksizden pembeye dönerek Fe^{3+} içeriği arttıkça renk derinleşti. Bulgular, test kağıtları kullanarak sulu çözeltide Fe^{3+} iyonunu algılamak için MSB sensör bileşiğinin uygun

Çizelge 4.2 : Fe^{3+} analizinin içme sularında yapılan gerçek örnek çalışmasının sonuçları ve geri kazanım oranları (a: Floresan yöntemi ile yapılan analiz sonuçları, b: UV-Gör yöntemi ile yapılan analiz sonuçları).

Örnek	Analiz	Eklenen (μM)	Bulunan ^a (μM)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%) , n=3)	Bulunan ^b (μM)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%) , n=3)
İçme Suyu Örneği 1	1	36	35,9	$99,77 \pm 0,33$	36,3	$101,04 \pm 1,15$
	2	42	40,1	$96,12 \pm 0,37$	43,1	$103,45 \pm 0,42$
	3	49	50,1	$102,10 \pm 0,24$	49,2	$100,34 \pm 0,68$
İçme Suyu Örneği 2	1	36	35,3	$98,31 \pm 0,42$	36,2	$100,80 \pm 1,31$
	2	42	41,9	$100,46 \pm 0,89$	43,2	$103,55 \pm 0,32$
	3	49	49,6	$101,15 \pm 0,04$	48,5	$98,98 \pm 0,29$

olduğunu ortaya koydu. Bu nedenle bu özellik, kemosensörü hızlı ve yerinde algılama alanında faydalı ön plana çıkarmaktadır.



Şekil 4.24 : MSB emdirilmiş test kağıtlarının artan miktarlarda Fe^{3+} çözeltilerine daldırıldıktan sonraki renk değişimi.

4.6 Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında florometrik ve kolorimetrik yöntemle Fe^{3+} iyonunu hassas ve seçici bir şekilde tayin eden, rodamin tabanlı yeni bir sensör sentezlenmiş, karakterizasyonu; ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, FT-IR, MALDI-TOF kütle analizi ve X-Işını kırınımı yöntemiyle başarıyla tamamlanmıştır. Sensörün Fe^{3+} iyonunu tespit limiti UV-Gör yöntemi için $5,99 \times 10^{-8}$ M ve florometrik yöntem için $4,85 \times 10^{-9}$ M olarak belirlenmiştir. Tayin etme süresi 4 dakika olarak belirlenen bu sensörün Na_2EDTA ile yapılan çalışmalarında tersinir bir şekilde kullanım sağlayabildiği görülmüştür. Sensör, herhangi bir girişime maruz bırakmadan diğer katyonlara göre Fe^{3+} iyonları için seçici olarak floresan ve absorbans artışı gösterdi. Buna ek olarak, Fe^{3+} ilavesi sonucunda çözeltinin renginin renksizden pembeye dönmesiyle çıplak gözle algılama kolaylığı sağlamıştır. Sensör ve Fe^{3+} arasındaki koordinasyon oranı, Job yöntemi ve diğer iyi bilinen spektroskopik yöntemlere göre 1:1 olarak bulundu. Bağlanma sabiti (K_a) UV-Görünür bölge yöntemi ile yapılan titrasyon verileri kullanılarak 1.89×10^4 M^{-1} olarak hesaplandı ve bu değer sensörün Fe^{3+} iyonuna karşı güçlü bir bağlama kapasitesine sahip olduğunu gösterdi. İçme suyu gibi gerçek örnek çalışmalarında yüksek geri kazanım oranıyla tayin sağlaması ve test kâğıtlarıyla kolorimetrik olarak Fe^{3+} tayini yapabilmesi, pratik uygulama açısından başarılı bir sensör olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Wang, R., Jiao, L., Zhou, X., Guo, Z., Bian, H., & Dai, H.** (2021). Highly fluorescent graphene quantum dots from biorefinery waste for tri-channel sensitive detection of Fe^{3+} ions. *Journal of Hazardous Materials*, 412, 125096.
- [2] **Aleem, A. R., Liu, J., Wang, J., Zhao, Y., Wang, Y., Wang, Y., Wang, W., Rehman, F. U., Kipper, M. J., & Tang, J.** (2020). Selective Sensing of Cu^{2+} and Fe^{3+} Ions with Vis-Excitation using Fluorescent Eu^{3+} -Induced Aggregates of Polysaccharides (EIAP) in Mammalian Cells and Aqueous Systems. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 122991.
- [3] **Wang, K. P., Zheng, W. J., Lei, Y., Zhang, S. J., Zhang, Q., Chen, S., & Hu, Z. Q.** (2019). A thiophene-rhodamine dyad as fluorescence probe for ferric ion and its application in living cells imaging. *Journal of Luminescence*, 208, 468–474.
- [4] **Sahoo & Crisponi** (2019). Recent Advances on Iron(III) Selective Fluorescent Probes with Possible Applications in Bioimaging. *Molecules*, 24, 3267.
- [5] **Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R.** (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*, 19, 164–174.
- [6] **Stoltzfus, R. J.** (2003). Iron deficiency: Global prevalence and consequences. *Food and Nutrition Bulletin*, 24, S99–S103.
- [7] **Kohgo, Y., Ikuta, K., Ohtake, T., Torimoto, Y., & Kato, J.** (2008). Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *International Journal of Hematology*, 88, 7–15.
- [8] **Guo, L. E., Liu, X. Y., Wang, H., Chen, Q. L., Wang, G. K., Luo, K., Mi, Q. L., Zhou, Y., & Zhang, J. F.** (2015). Iron(III)-Selective Chelation-Enhanced Fluorescence Sensing for in Vivo Imaging Applications. *Chemistry - An Asian Journal*, 10, 1898–1902.
- [9] **Goldfischer, S., Grotsky, H. W., Chang, C.-H., Berman, E. L., Richert, R. R., Karmarkar, S. D., Roskamp, J. O., & Morecki, R.** (1981). Idiopathic neonatal iron storage involving the liver, pancreas, heart, and endocrine and exocrine glands. *Hepatology*, 1, 58–64.
- [10] **Gahlyan, P., Bawa, R., Jain, H., Dalela, M., Joshi, A., Ramachandran, C. N., Prasad, A. K., Kaur, A., & Kumar, R.** (2019). Isatin-Triazole-Functionalized Rhodamine: A Dual Sensor for Cu^{2+} and Fe^{3+} Ions and Its Application to Cell Imaging. *ChemistrySelect*, 4, 7532–7540.
- [11] **Cheng, Z., Zheng, L., Xu, H., Pang, L., & He, H.** (2019). A rhodamine-based fluorescent probe for Fe^{3+} : Synthesis, theoretical calculation and bioimaging application. *Analytical Methods*, 11, 2565–2570.

- [12] **Saleem, M., Abdullah, R., Ali, A., Park, B. J., Choi, E. H., Hong, I. S., & Lee, K. H.** (2014). Facile synthesis, cytotoxicity and bioimaging of Fe³⁺ selective fluorescent chemosensor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 2045–2051.
- [13] **Aydin, Z., Wei, Y., & Guo, M.** (2012). A highly selective rhodamine based turn-on optical sensor for Fe³⁺. *Inorganic Chemistry Communications*, 20, 93–96.
- [14] **Wu, Z. ying, Xu, Z. yong, Tan, H. ya, Li, X., Yan, J. wu, Dong, C. zhi, & Zhang, L.** (2019). Two novel rhodamine-based fluorescent probes for the rapid and sensitive detection of Fe³⁺: Experimental and DFT calculations. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 213, 167–175.
- [15] **Wang, X. & Li, T.** (2020). A novel “off-on” rhodamine-based colorimetric and fluorescent chemosensor based on hydrolysis driven by aqueous medium for the detection of Fe³⁺. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 229, 117951.
- [16] **Zhang, X., Zhang, L., Liu, S., Zhu, X., Zhou, P., Cheng, X., Zhang, R., Zhang, L., & Chen, L.** (2022). Insight into sulfur dioxide and its derivatives metabolism in living system with visualized evidences via ultra-sensitive fluorescent probe. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127179.
- [17] **Liu, S., Feng, D., Zhang, L., Song, H., Wang, Y., Zhang, X., Zhao, Q., & Chen, L.** (2020). A reaction-based ratiometric fluorescent probe for mercury ion detection in aqueous solution. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 243, 118817.
- [18] **Wang, Y., Wu, H., Wu, W. N., Mao, X. J., Zhao, X. L., Xu, Z. H. Z. Q., Xu, Z. H. Z. Q., & Fan, Y. C.** (2019). Novel rhodamine-based colorimetric and fluorescent sensor for the dual-channel detection of Cu²⁺ and Co²⁺ /trivalent metal ions and its AIRE activities. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 212, 1–9.
- [19] **Liu, S. R. & Wu, S. P.** (2012). New water-soluble highly selective fluorescent chemosensor for Fe (III) ions and its application to living cell imaging. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 171–172, 1110–1116.
- [20] **Chung, P. K., Liu, S. R., Wang, H. F., & Wu, S. P.** (2013). A pyrene-based highly selective turn-on fluorescent chemosensor for iron(III) ions and its application in living cell imaging. *Journal of Fluorescence*, 23, 1139–1145.
- [21] **Li, Z., Zhou, Y., Yin, K., Yu, Z., Li, Y., & Ren, J.** (2014). A new fluorescence “turn-on” type chemosensor for Fe³⁺ based on naphthalimide and coumarin. *Dyes and Pigments*, 105, 7–11.
- [22] **Sui, B., Tang, S., Liu, T., Kim, B., & Belfield, K. D.** (2014). Novel BODIPY-based fluorescence turn-on sensor for Fe³⁺ and its bioimaging application in living cells. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 6, 18408–18412.
- [23] **Luo, A., Wang, H., Wang, Y., Huang, Q., & Zhang, Q.** (2016). A novel colorimetric and turn-on fluorescent chemosensor for iron(III) ion detection and its application to cellular imaging. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 168, 37–44.

- [24] **Huang, L., Wang, X., Xie, G., Xi, P., Li, Z., Xu, M., Wu, Y., Bai, D., & Zeng, Z.** (2010). A new rhodamine-based chemosensor for Cu^{2+} and the study of its behaviour in living cells. *Dalton Transactions*, 39, 7894–7896.
- [25] **Chen, X., Jou, M. J., Lee, H., Kou, S., Lim, J., Nam, S. W., Park, S., Kim, K. M., & Yoon, J.** (2009). New fluorescent and colorimetric chemosensors bearing rhodamine and binaphthyl groups for the detection of Cu^{2+} . *Sensors and Actuators B: Chemical*, 137, 597–602.
- [26] **Ma, Q. J., Zhang, X. B., Zhao, X. H., Jin, Z., Mao, G. J., Shen, G. L., & Yu, R. Q.** (2010). A highly selective fluorescent probe for Hg^{2+} based on a rhodamine-coumarin conjugate. *Analytica Chimica Acta*, 663, 85–90.
- [27] **Mandal, S., Banerjee, A., Lohar, S., Chattopadhyay, A., Sarkar, B., Mukhopadhyay, S. K., Sahana, A., & Das, D.** (2013). Selective sensing of Hg^{2+} using rhodamine–thiophene conjugate: Red light emission and visual detection of intracellular Hg^{2+} at nanomolar level. *Journal of Hazardous Materials*, 261, 198–205.
- [28] **Gupta, V. K., Mergu, N., & Singh, A. K.** (2015). Rhodamine-derived highly sensitive and selective colorimetric and off-on optical chemosensors for Cr^{3+} . *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 220, 420–432.
- [29] **Hu, F., Zheng, B., Wang, D., Liu, M., Du, J., & Xiao, D.** (2013). A novel dual-switch fluorescent probe for Cr(iii) ion based on PET–FRET processes. *Analyst*, 139, 3607–3613.
- [30] **Kan, C., Song, F., Shao, X., Wu, L., Zhang, X., Zhang, Y., & Zhu, J.** (2020). Imaging of living organisms and determination of real water samples using a rhodamine-based Fe(III)-induced fluorescent probe. *Microchemical Journal*, 154,.
- [31] **Song, F., Shao, X., Zhu, J., Bao, X., Du, L., & Kan, C.** (2019). Reversible “turn-off-on” fluorescence response of Fe(III) towards Rhodamine B based probe in vivo and plant tissues. *Tetrahedron Letters*, 60, 1363–1369.
- [32] **Song, F., Yang, C., Liu, H., Gao, Z., Zhu, J., Bao, X., & Kan, C.** (2019). Dual-binding pyridine and rhodamine B conjugate derivatives as fluorescent chemosensors for ferric ions in aqueous media and living cells. *The Analyst*, 144, 3094–3102.
- [33] **Kang, H., Fan, C., Xu, H., Liu, G., & Pu, S.** (2018). A highly selective fluorescence switch for Cu^{2+} and Fe^{3+} based on a new diarylethene with a triazole-linked rhodamine 6G unit. *Tetrahedron*, 74, 4390–4399.
- [34] **Chen, Q. & Fang, Z.** (2018). Two sugar-rhodamine “turn-on” fluorescent probes for the selective detection of Fe^{3+} . *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 193, 226–234.
- [35] **Adhikari, S., Ghosh, A., Ghosh, M., Guria, S., & Das, D.** (2017). Ratiometric sensing of Fe^{3+} through PET-CHEF-FRET processes: Live cell imaging, speciation and DFT studies. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 251, 942–950.
- [36] **Tang, X., Han, J., Wang, Y., Ni, L., Bao, X., Wang, L., & Zhang, W.** (2017). A multifunctional Schiff base as a fluorescence sensor for Fe^{3+} and Zn^{2+} ions, and a colorimetric sensor for Cu^{2+} and applications. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173, 721–726.

- [37] **Chen, H., Bao, X., Shu, H., Zhou, B., Ye, R., & Zhu, J.** (2017). Synthesis and evaluation of a novel rhodamine B-based 'off-on' fluorescent chemosensor for the selective determination of Fe^{3+} ions. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 242, 921–931.
- [38] **Liu, J. & Qian, Y.** (2017). A novel naphthalimide-rhodamine dye: Intramolecular fluorescence resonance energy transfer and ratiometric chemodosimeter for Hg^{2+} and Fe^{3+} . *Dyes and Pigments*, 136, 782–790.
- [39] **Noelting, E. & Dziewoński, K.** (1905). Zur Kenntniss der Rhodamine. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 38, 3516–3527.
- [40] **Beija, M., Afonso, C. A. M., & Martinho, J. M. G.** (2009). Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes. *Chemical Society Reviews*, 38, 2410.
- [41] **Chen, X., Pradhan, T., Wang, F., Kim, J. S., & Yoon, J.** (2012). Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives. *Chemical Reviews*, 112, 1910–1956.
- [42] **Woodroffe, C. C., Lim, M. H., Bu, W., & Lippard, S. J.** (2005). Synthesis of isomerically pure carboxylate- and sulfonate-substituted xanthene fluorophores. *Tetrahedron*, 61, 3097–3105.
- [43] **Menchen, S. M. & Fung, S.** (1988). Ep0272007a2.
- [44] **Prazeres, T. J. V., Fedorov, A., & Martinho, J. M. G.** (2004). Dynamics of Oligonucleotides Adsorbed on Thermosensitive Core–Shell Latex Particles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108, 9032–9041.
- [45] **Lakowicz, J. R.** (n.d.). Principles of Fluorescence Spectroscopy Third Edition.
- [46] **Andersen, C. M. & Mortensen, G.** (2008). Fluorescence spectroscopy: A rapid tool for analyzing dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 720–729.
- [47] **Duke, R. M., Veale, E. B., Pfeffer, F. M., Kruger, P. E., & Gunnlaugsson, T.** (2010). Colorimetric and fluorescent anion sensors: an overview of recent developments in the use of 1,8-naphthalimide-based chemosensors. *Chemical Society Reviews*, 39, 3936.
- [48] **Dumbare, S., Doshi, A., & Ravindran, S.** (2021). Rhodamine B and Rhodamine 6G Based Sensing of Copper Ions in Environmental and Biological Samples: Recent Progress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30, 3445–3455.
- [49] **Kim, H. N., Lee, M. H., Kim, H. J., Kim, J. S., & Yoon, J.** (2008). A new trend in rhodamine-based chemosensors: Application of spirolactam ring-opening to sensing ions. *Chemical Society Reviews*, 37, 1465–1472.
- [50] **Dujols, V., Ford, F., & Czarnik, A. W.** (1997). A long-wavelength fluorescent chemodosimeter selective for Cu(II) ion in water. *Journal of the American Chemical Society*, 119, 7386–7387.
- [51] **Kwon, J. Y., Jang, Y. J., Lee, Y. J., Kim, K. M., Seo, M. S., Nam, W., & Yoon, J.** (2005). A highly selective fluorescent chemosensor for Pb^{2+} . *Journal of the American Chemical Society*, 127, 10107–10111.
- [52] **Yang, X. F., Zhao, M., & Wang, G.** (2011). A rhodamine-based fluorescent

probe selective for bisulfite anion in aqueous ethanol media. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 152, 8–13.

- [53] **Yuan, A., Zheng, C., Zhang, Z., Yang, L., Liu, C., & Wang, H.** (2014). A novel quinazolinone derivative as fluorescence quenching off-on sensor for high selectivity of Fe^{3+} . *Journal of Fluorescence*, 24, 557–561.
- [54] **Zhang, H., Yin, C., Liu, T., Zhang, Y., & Huo, F.** (2017). “Turn-on” fluorescent probe detection of Ca^{2+} ions and applications to bioimaging. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 180, 211–216.
- [55] **Gu, Y., Kar, T., & Scheiner, S.** (1999). Fundamental Properties of the $\text{CH}\cdots\text{O}$ Interaction: Is It a True Hydrogen Bond? *Journal of the American Chemical Society*, 121, 9411–9422.
- [56] **Sarkhel, S. & Desiraju, G. R.** (2004). N-H...O, O-H...O, and C-H...O Hydrogen Bonds in Protein-Ligand Complexes: Strong and Weak Interactions in Molecular Recognition. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 54, 247–259.
- [57] **Karaoglu, K., Kaya, K., & Yilmaz, I.** (2020). New Chromenylium–cyanine based dual channel chemosensors for copper and hypochlorite sensing. *Dyes and Pigments*, 180, 108445.
- [58] **Wang, X., Song, M., & Long, Y.** (2001). Synthesis, Characterization, and Crystal Structure of the Lactone Form of Rhodamine B. *Journal of Solid State Chemistry*, 156, 325–330.
- [59] **Di Paolo, M., Bossi, M. L., Baggio, R., & Suarez, S. A.** (2016). Two rhodamine 6G derivative compounds: a structural and fluorescence single-crystal study. *Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials*, 72, 684–692.
- [60] **Olivares, M., Pizarro, F., Ruz, M., & López de Romaña, D.** (2012). Acute inhibition of iron bioavailability by zinc: studies in humans. *BioMetals*, 25, 657–664.
- [61] **Bjørklund, G., Aaseth, J., Skalny, A. V., Suliburska, J., Skalnaya, M. G., Nikonov, A. A., & Tinkov, A. A.** (2017). Interactions of iron with manganese, zinc, chromium, and selenium as related to prophylaxis and treatment of iron deficiency. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 41, 41–53.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Hülya ARIBUĞA

ÖĞRENİM DURUMU

- **LİSANS** : 2014-2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü,
- **YÜKSEK LİSANS** : 2019-2022, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü,

MESLEKİ DENEYİM

- İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü – Araştırma Görevlisi
24/02/2020 – Devam ediyor
- DEVA Holding A.Ş. – Laboratuvar Stajyeri
11/06/2018 – 16/07/2018
- Organik Kimya San. ve Tic. A.Ş. – AR-GE Laboratuvarı Stajyeri
18/07/2017 – 14/08/2017

YAYINLAR

- **Yildirim, M. S., Alcay, Y., Yavuz, O., Kirlangic Atasen, S., Mermer Z., Aribuga, H., & Yilmaz, I.** 2022. Construction of anthraquinone functional zinc phthalocyanine sensor platform for ultra-trace amount of water determination in tetrahydrofuran and N,N-Dimethylformamide. *Analytica Chimica Acta*, 339531.

BİLDİRİLER

- VIII. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi – 5 Eylül 2021
“Demir(III) İyonuna Seçici, Rodamin Tabanlı Yeni Bir Turn-On Floresan Sensörün Sentezi, Karakterizasyonu Ve Sensör Çalışmaları”

