

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FENOLFTALEİN VE BİS-FENOL A TEMELLİ YENİ SCHIFF BAZLARININ
SENTEZİ VE METAL İYONLARINA KARŞI KOLORİMETRİK VEYA
FLUORİMETRİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS

Hüseyin KÜÇÜKBASMACI

**Kimya Anabilim Dalı
Kimya Programı**

HAZİRAN 2022

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FENOLFTALEİN VE BİS-FENOL A TEMELLİ YENİ SCHIFF BAZLARININ
SENTEZİ VE METAL İYONLARINA KARŞI KOLORİMETRİK VEYA
FLUORİMETRİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hüseyin KÜÇÜKBASMACI
(190821104)**

**Kimya Anabilim Dalı
Kimya Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Duygu AYDIN

HAZİRAN 2022

TEZ ONAYI

Hüseyin KÜÇÜKBASMACI tarafından hazırlanan hazırlanan **"Fenoltalein ve Bis-Fenol A Temelli Yeni Schiff Bazlarının Sentezi ve Metal İyonlarına Karşı Kolorimetrik veya Fluorimetrik Özelliklerinin İncelenmesi"** adlı tez çalışması tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Doç. Dr. Duygu AYDIN

Jüri Üyeleri

İmza:

Doç. Dr. Önder ALICI

Doç. Dr. Duygu AYDIN

Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN

Tez Savunma Tarihi: 30/06/2022

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Ahmet KAYABAŞI
Enstitü Müdürü



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Hüseyin KÜÇÜKBASMACI





ÖNSÖZ

Bu tez, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdağ Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Duygu AYDIN danışmanlığında tamamlanarak, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında her türlü bilgisini, desteğini ve görüşlerini eksik etmeyen saygı değer hocam Doç. Dr. Duygu AYDIN'a

Tezimi okuma ve düzeltme süreçlerinde yardımlarını esirgemeyen tez jurilerim Doç. Dr. Önder ALICI ve Doç. Dr. Fatma Nur ARSLAN'a

Deneysel çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerini gördüğüm Öğr Gör. İbrahim Berk GÜNAY ve çalışma arkadaşım Fatma GÖKTEKİN'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca, eğitim hayatım boyunca benden desteklerini esirgemeyen aileme de teşekkürü borç bilirim.

Bu araştırma Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca kabul edilen 14-YL-20 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Haziran 2022

Hüseyin KÜÇÜKBASMACI



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	1
2. TEORİK BİLGİ	5
2.1 Fenolftalein.....	5
2.1.1 Fenolftalein sentezi	5
2.1.2 Fenolftalein'in kullanım alanları.....	6
2.2 Bisfenol-A (BPA).....	7
2.2.1 Bisfenol-A sentezi.....	7
2.2.2 Bisfenol-A'nın kullanım alanları	8
2.2.3 BPA'nın insan vücudu üzerindeki etkileri	9
2.3 Lüminesans.....	10
2.3.1 Floresansı etkileyen faktörler.....	12
2.4 Floresan Sensörler	14
2.4.1 Foton indüklemeli elektron transferi (PET)	15
2.4.2 Molekül içi yük transferi (ICT).....	16
2.4.3 Floresan rezonans enerji transferi (FRET).....	17
2.4.4 Metal ligand yük transferi, ligand metal yük tranferi	18
2.5 Schiff Bazları.....	19
3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	21
4. MATERYAL VE METOD.....	31
4.1 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler	31
4.2 Sentezler	31
4.2.1 Dialdehit türevli fenolftalein sentezi (PA)	33
4.2.2 Sensör FPAB 'ın sentezi.....	34
4.2.3 Dialdehit türevli Bisfenol A'nın sentezi	35
4.2.4 Sensör BEF 'in sentezi	35
4.3 Spektrofotometrik Çalışmaları	37
4.3.1 Sensörün duyarlılığının incelenmesi	37
4.3.2 Kompleks bağlanma sabiti (Benesi Hildebrand sabiti), etkileşim stokiyometrisi.....	38
4.3.3 Sensörün Tayin Limiti	39
4.3.4 Teorik hesaplamalar	39
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	41
5.1 Sentezlenen Sensör FPAB 'ın Karakterizasyonu.....	41
5.2 Sentezlenen Sensör BEF 'in Karakterizasyonu	42
5.3 Spektroskopik Ölçümler.....	43
5.3.1 Reseptör FPAB 'in katyonlara karşı floresan ve absorpsiyon özellikleri.....	43

5.3.1.1	Tayin limiti (LOD) ve Benesi Hildebrand bağlanma sabiti	47
5.3.1.2	FPAB 'ın cevap süresi	49
5.3.1.3	FPAB 'ın pH çalışması	49
5.3.1.4	Sensörünün seçicilik çalışması	50
5.3.1.5	FPAB -Cu ²⁺ kompleksinin Job's grafiği ve oluşum mekanizması	51
5.3.1.6	FPAB ve FPAB -Cu ²⁺ 'nin teorik hesaplama çalışmaları	53
5.3.1.7	Sensör FPAB 'ın ve FPAB -Cu ²⁺ kompleksinin silikajel plaka üzerindeki uygulanabilirlik çalışması	54
5.3.2	Reseptör BEF 'in katyonlara karşı floresan ve absorpsiyon özellikleri.....	55
5.3.2.1	Tayin limiti (LOD) ve Benesi-Hildebrand bağlanma sabiti.....	58
5.3.2.2	BEF 'in cevap süresi.....	60
5.3.2.3	BEF 'in pH çalışması.....	60
5.3.2.4	Sensörünün seçicilik çalışması	61
5.3.2.5	BEF -Cu ²⁺ kompleksinin Job's grafiği ve oluşum mekanizması.....	62
5.3.2.6	BEF ve BEF -Cu ²⁺ 'nin teorik hesaplama çalışmaları	64
5.3.2.7	Sensör BEF 'in ve BEF -Cu ²⁺ kompleksinin silikajel yüzey üzerindeki uygulanabilirlik çalışması	64
6.	SONUÇLAR	66
	KAYNAKLAR	68
	EKLER	72
	ÖZGEÇMİŞ	82

KISALTMALAR

ACN	: Asetonitril
BA	: Dialdehit türevli bisfenol-A
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EtOH	: Etanol
FRET	: Floresan rezonans enerji transferi
HEPES	: (4-(2-hidroksietil)-1-piperazine etan sulfonik asit)
HOMO	: Yüksek enerjili dolu orbital
ICT	: Molekül içi yük transferi
LUMO	: Düşük enerjili boş orbital
MS	: Kütle spektroskopisi
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
TFA	: Trifloroasetik asit
PA	: Dialdehit türevli fenolftalein
PET	: Foton indüklememli elektron transferi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
WHO	: Dünya sağlık örgütü



SEMBOLLER

A	: Absorbans
I_o	: İyon yokluğunda sensor molekülün floresans şiddetini
I_{max}	: Reseptörün floresans şiddeti
[M]	: Metal iyonunun konsantrasyonu
K	: Bağlanma Sabiti
K	: Floresans titrasyon grafiğinin eğimi
s	: Standart sapma
X	: İyonunun mol kesri



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Bis-fenol A'nın genel özellikleri.....	8
--	---





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Fenolftalein molekülünün sentezinin gösterimi.....	6
Şekil 2.2	: Bisfenol A'nın sentezi.....	7
Şekil 2.3	: The Perrin-Jablonski diagram.	11
Şekil 2.4	: Moleküler enerji seviyeleri arası geçişler.	12
Şekil 2.5	: Fluoresein ve fenolftalein.	13
Şekil 2.6	: Halkalı yapının floresans üzerine etkisi.	13
Şekil 2.7	: Floresans sensör yapısının genel gösterimi.....	14
Şekil 2.8	: (a) PET ve (b) CHEF proseslerinin şematik gösterimi.	15
Şekil 2.9	: Floroforun ICT prosesi boyunca spektral yer değiştirmesinin şematik diyagramı.....	17
Şekil 2.10	: FRET mekanizmasında meydana gelen spektral örtüşme.	18
Şekil 2.11	: Enerji transferi için molekül orbitallerinin şematik gösterimi.	18
Şekil 2.12	: Metal ligand yük transferi ve ligand metal yük transferinin genel gösterimi.....	19
Şekil 2.13	: Schiff bazlarının genel gösterimi.	19
Şekil 2.14	: Schiff bazlarının iki aşamalı oluşum mekanizması.	20
Şekil 3.1	: Fenolftalein tabanlı sensörün Al^{3+} iyonları varlığında oluşturduğu kompleks ve oluşan kompleksin F^- iyonları ile tersinir kazanılması ve hücre çalışması.	22
Şekil 3.2	: (a) Sensör PDM'in yapısal gösterimi, (b) Sensör PDM ve PDM- Al^{3+} komplekslerinin HOMO-LUMO enerji diyagramları, (c) çeşitli metal iyonları varlığında PDM'nin absorbands grafiği ve (d) çeşitli metal iyonları varlığında PDM'nin floresan grafiği.....	23
Şekil 3.3	: Sensörün Zn^{2+} metali ile verdiği kompleksin yapısal gösterimi (a), sensörün, çeşitli metal iyonları varlığında sensörün floresan grafiği (b), sensörün tersinir olarak sistein ile geri kazanım grafiği (c), Filtre kağıdı üzerinde yapılan uygulama fotoğrafı (d), sensörün Zn^{2+} ile kompleksinin insan kolon kanseri hücrelerinde floresan görüntüleme fotoğrafları (f).	24
Şekil 3.4	: Sensör FF2H'nin Al^{3+} metali ile verdiği kompleksin yapısal gösterimi (a), FF2H çeşitli metal iyonları varlığında floresan grafiği (b), sensör FF2H ve belirli ekivalentlerdeki Al^{3+} (0.0-2.0 ekuiv.) ile verdiği kompleksin ^1H -NMR titrasyonu.....	25
Şekil 3.5	: Sentezlenen sensör R1 ve R2' nin kimyasal yapılarının gösterimi (a ve b), çeşitli metal iyonları varlığında R1 ve R2'nin floresan fotoğrafları (c ve d) R1 ve R2'nin optimize yapılarının gösterimi (e).	26
Şekil 3.6	: (a) Sensör BHMP'nin çeşitli metal iyonları varlığında floresan grafiği, (b) sensör BHMP'nin kimyasal yapılarının gösterimi, (c) Sensör BHMP'nin çeşitli metal iyonları varlığında absorbands grafiği, (d) Sensör BHMP'nin Zn^{2+} ile kompleksinin biyolojik uygulaması.	27
Şekil 3.7	: Proben Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları ile olası bağlanma mekanizması.	28
Şekil 3.8	: Bisfenol-A tabanlı floresan probun kimyasal yapısı ve çeşitli ekuivalentlerdeki alüminyum ve siyanür iyonları ile titrasyon grafiği.	28

Şekil 3.9	: Yeni tip fenolftalein-floresin boya türevli sensörün Zn^{2+} ve Hg^{2+} ile verdiği komplekslerin yapısal gösterimleri.	29
Şekil 4.1	: Sensör FPAB 'in sentezi.	32
Şekil 4.2	: Sensör BEF 'in sentezi.	32
Şekil 4.3	: Dialdehit türevli fenolftalein sentezi (PA).	33
Şekil 4.4	: Sensör FPAB 'in sentezi.	34
Şekil 4.5	: Bisfenol-A dialdehit bileşiğinin sentezi.	35
Şekil 4.6	: Sensör BEF 'in sentezi.	35
Şekil 5.1	: Sensör FPAB 'in molekül yapısı.	43
Şekil 5.2	: (A) FPAB 'in farklı katyonlara karşı floresan spektrumu ve (B) FPAB çözeltisinin farklı metal iyonları varlığında ve yokluğunda UV ışığı altında (365 nm) alınan fotoğrafları.	44
Şekil 5.3	: FPAB sensörünün çeşitli katyonlar varlığında absorbans grafiği.	45
Şekil 5.4	: FPAB molekülünün çeşitli ekivalentlerdeki (0-10 ekuivalent) Cu^{2+} varlığında floresanda titrasyon grafiği.	46
Şekil 5.5	: FPAB molekülünün çeşitli ekivalentlerdeki (0-20 equiv.) Cu^{2+} varlığında UV-vis titrasyon grafiği.	47
Şekil 5.6	: Farklı konsantrasyonlardaki Cu^{2+} iyonlarına karşı FPAB molekülündeki floresans grafiği (λ_{ex} : 390 nm).	48
Şekil 5.7	: FPAB - Cu^{2+} (1:2) kompleksine ait Benesi-Hildebrand Grafiği (λ_{em} : 556 nm).	48
Şekil 5.8	: FPAB molekülünün 556 nm'de Cu^{2+} varlığında cevap süresi grafiği (ACN : HEPES (50/50)), (λ_{eks} : 390 nm).	49
Şekil 5.9	: FPAB ve FPAB - Cu^{2+} için pH grafiği.	50
Şekil 5.10	: FPAB 'in 556 nm'de diğer metaller varlığında Cu^{2+} iyonuna floresans cevabı.	51
Şekil 5.11	: FPAB - Cu^{2+} kompleksinin Job's analiz eğrisi.	52
Şekil 5.12	: FPAB - Cu^{2+} için muhtemel oluşum mekanizması.	52
Şekil 5.13	: FPAB - Cu^{2+} sisteminin MALDI TOF-MS spektrumu.	53
Şekil 5.14	: FPAB ve FPAB - Cu^{2+} sisteminin enerji seviyeleri.	54
Şekil 5.15	: Silikajel yüzey üzerinde FPAB ve FPAB + Cu^{2+} 'nin görselleri ayrıca alttaki fotoda ise sensör FPAB ve b) FPAB + Cu^{2+} 'nin çözücü içerisinde ultraviyole ışığı altında alınan görselleri görülmektedir.	55
Şekil 5.16	: Sensör BEF 'in molekül yapısı.	55
Şekil 5.17	: (a) BEF 'in farklı katyonlara karşı floresans spektrumu ve (b) BEF çözeltisinin farklı metal iyonları varlığında ve yokluğunda UV ışığı altında (365 nm) alınan fotoğrafları.	56
Şekil 5.18	: BEF 'in çeşitli metal iyonları varlığında absorbans grafiği.	57
Şekil 5.19	: BEF molekülünün çeşitli ekivalentlerdeki (0-16 equiv.) Cu^{2+} varlığında floresanda titrasyon grafiği.	58
Şekil 5.20	: Farklı konsantrasyonlardaki Cu^{2+} iyonlarına karşı BEF molekülündeki floresans grafiği (λ_{em} : 560 nm).	59
Şekil 5.21	: BEF - Cu^{2+} (1:2) kompleksine ait Benesi-Hildebrand Grafiği (λ_{em} : 560 nm).	59
Şekil 5.22	: BEF molekülünün 560 nm'de Cu^{2+} varlığında cevap süresi grafiği Etanol/HEPES (60/40), (λ_{eks} : 390 nm).	60
Şekil 5.23	: BEF ve BEF - Cu^{2+} için pH grafiği.	61
Şekil 5.24	: BEF 'in 560 nm'de diğer metaller varlığında Cu^{2+} iyonuna floresans cevabı.	62
Şekil 5.25	: BEF - Cu^{2+} kompleksinin Job's analiz eğrisi.	63

Şekil 5.26	: BEF -Cu ²⁺ için muhtemel oluşum mekanizması.	63
Şekil 5.27	: BEF -Cu ²⁺ sisteminin TOF–MS spektrumu.....	63
Şekil 5.28	: BEF ve BEF -Cu ²⁺ sisteminin enerji seviyeleri.....	64
Şekil 5.29	: Silikajel yüzey üzerinde BEF ve BEF +Cu ²⁺ nin görselleri ayrıca alttaki fotoda ise sensör BEF ve BEF + Cu ²⁺ nin çözücü içerisinde ultraviyole ışığı altında alınan görselleri.	65
Şekil A.1	: Fenolftalein dialdehit bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	73
Şekil A.2	: Fenolftalein dialdehit bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	74
Şekil A.3	: Dialdehit türevli Bisfenol-A bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.	75
Şekil A.4	: FPAB 'ın ¹ H-NMR spektrumu.	76
Şekil A.5	: FPAB 'ın ¹³ C-NMR spektrumu.	77
Şekil A.6	: FPAB bileşiğinin FTIR spektrumu.....	78
Şekil A.7	: BEF 'in ¹ H-NMR spektrumu.....	79
Şekil A.8	: BEF 'in ¹³ C-NMR spektrumu.....	80





ÖZET

Yüksek Lisans

FENOLFTALEİN VE BİS-FENOL A TEMELLİ YENİ SCHIFF BAZLARININ SENTEZİ VE METAL İYONLARINA KARŞI KOLORİMETRİK VEYA FLUORİMETRİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Hüseyin KÜÇÜKBASMACI

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Duygu AYDIN

Haziran, 2022, 82 sayfa

Ağır metaller arasında, bakır(II) iyonlarının miktarının takibi, insan sağlığından çevreye ve endüstriye kadar birçok alan için büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, çözeltilerde yüksek doğrulukla Cu^{2+} tanıma için iyi bir şekilde organize edilmiş, hassas ve doğru yöntemler son yıllarda talep görmektedir. Bu tez çalışmasında, fenolftalein ve bisfenol-A bazlı moleküllerin amin içeren bir molekül ile reaksiyonu sonucunda yeni bir fenolftalein ve bisfenol-A bazlı florojenik moleküller sentezlenmiştir. Sentezlenen prob **FPAB** ve **BEF** molekülleri belli konsantrasyonlardaki çeşitli metal iyonlarının (Hg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Sr^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+}) varlığında Cu^{2+} metaline karşı florojenik olarak "sönme" şeklinde cevap vermiştir. Ayrıca yeni bileşiklerin **FPAB** ve **BEF**, Cu^{2+} iyonlarına karşı mükemmel seçicilik/duyarlılık göstermiş ve literatürde yeralan diğer florojenik problemlerden daha hızlı cevap süresi sergilemişlerdir. **FPAB**- Cu^{2+} ve **BEF**- Cu^{2+} kompleksinin bağlanma oranı Job's metodu ile belirlendi ve her iki kompleks için bu oran 0.33 olarak hesaplandı. **FPAB**'ın Cu^{2+} için algılama limiti 84 nM, **BEF**'in Cu^{2+} için algılama limiti ise 36 nM olarak hesaplanmıştır. **FPAB**- Cu^{2+} ve **BEF**- Cu^{2+} komplekslerinin, MALDI-TOF MS vektör olarak DFT hesaplamalar ile yapıları incelendiğinde, bakır (II) iyonlarının, **FPAB** ve **BEF** moleküllerine fenolik hidroksil ve NH gruplarıyla koordinat bağları oluşturduğunu göstermiştir. Bu çalışma, Cu^{2+} metali için hızlı, etkili, düşük maliyetli ve oldukça hassas tespit yapabilecek yeni analitik yöntemler sunmaktadır.

AnahtarKelimeler: Bakır(II), bisfenol-A, fenolftalein, floresans sensor, Schiff bazı



ABSTRACT

Ms Thesis

SYNTHESIS OF NEW SCHIFF BASES BASED ON PHENOLPHTHALEIN AND BISPHENOL-A AND INVESTIGATION OF THEIR COLORIMETRIC AND FLUOROMETRIC PROPERTIES TOWARDS METAL IONS

Huseyin KUCUKBASMACI

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Duygu AYDIN

June, 2022, 82 pages

Among metal ions, accurate tracking of Cu^{2+} is of major significance for several fields from human health to the environment and industry. Hence, well-organized, sensitive, and accurate methods for Cu^{2+} recognition in solutions are in special request. Herein, a novel phenolphthalein-based fluorogenic probe has been constructed by integrating a phenolphthalein-based building block with an amine-containing molecule. The probe was explored as a "switch-off" fluorogenic sensor for Cu^{2+} signaling in the presence of interfering cations (Hg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Sr^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , ve Al^{3+}) in ionic concentrations and also displayed perfect selectivity/sensitivity toward Cu^{2+} and faster equilibrium response time than any other reported fluorogenic probes. The binding ratio of **FPAB**- Cu^{2+} and **BEF**- Cu^{2+} complex was determined by Job method and this ratio was calculated as 0.33 for both complexes. The detection limit of **FPAB** for Cu^{2+} and **BEF** for Cu^{2+} were calculated as 84 nM and 36 nM, respectively. Binding affinity tests, MALDI-TOF MS techniques and theoretically DFT computations demonstrated that Cu^{2+} formed coordinate bonds with phenolic hydroxyl and -NH groups of **FPAB** and **BEF**. The present study offers fast, visible, low-cost and new analytical methods for Cu^{2+} sensing.

Keywords: Copper (II), bis-phenol A, fluorescent sensor, phenolphthalein, schiff bases.



1. GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

Günümüzde teknoloji hızlı bir şekilde ilerlemekte ve gelişen teknoloji ile birlikte bazı hastalıkların insanlarda görülme oranı artmaktadır. Genel olarak hastalıkların yayılması ve çoğalması bazı ağır metallerin günümüzde aşırı derecede sanayide kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Endüstriyel atıklardan kaynaklanan kirliliklerin başında su kirliliği, insan vücuduna doğrudan veya dolaylı olarak dahil olabilen tehlikeli ağır metal iyonlarını içermektedir (Cutrovo ve diğerleri, 2014). Ağır metallerin insanoğlunun günlük yaşamda yaygın olarak kullandığı gıda ambalajları, plastik malzemeler, pişirme kapları, deodorantlar ve ağartılmış un gibi malzemelerin içerisinde bol miktarda bulunduğu bilinmektedir. Ağır metallerin çevrenin yanı sıra yeraltı sularının kirliliğinde, gıdalarda ve özellikle canlı organizmalar üzerinde toksik etkilere yol açtığı yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Ayrıca, insanların ve çevrenin, bu toksik metallere maruz kalması, böbrek yetmezliği, akciğer fonksiyon bozukluğu, hipertansiyon, mide ülseri, kardiyovasküler ve nörolojik bozukluklar gibi hastalıkların kolay şekilde ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Srivastava, 2009).

Ağır metallerinden bakır(II) (Cu^{2+}) iyonu, temel geçiş metal iyonları arasında demir (III) Fe^{3+} ve çinko(II) Zn^{2+} 'dan sonra insan vücudunda en fazla miktarda bulunan üçüncü elementtir. Ağır metaller arasında bakır, çevrede, toprakta, suda ve havada doğal olarak bulunur ve insanlar, hayvanlar ve bitkiler gibi tüm canlı türleri için temel besin olarak gerekli olan bir elementtir. İnsan vücudunda, bakıra bağımlı enzimler, mitokondriyal elektron taşınması ve melamin üretimi gibi oldukça önemli olan süreçlerde yer almaktadır. Bakır; içme suyu, hava yolu ile soluma, bakır malzemeler/bakır içeren yiyecekler ve bileşiklerle cilt teması yoluyla insan vücuduna karışabilir. Ayrıca bakır, tüm vücut dokularında ve sıvılarında normal bir bileşendir. Süperoksit dismutaz, tirozinaz ve sitokrom-C oksidaz gibi çeşitli metalloenzimlerin katalitik bir kofaktörü olarak hizmet etmektedir. Bakır, içme suyu, hava ve bakıra maruz kalan yiyeceklerin tüketimi ve teması yoluyla insana vücuduna karışabilir. Bakır iyonlarının insanoğlu için faydalarının yanı sıra hücresel ihtiyacı aşan aşırı

bakır alımı zararlı etki göstererek burun, boğaz, mide bulantısı, kusma ve ishale neden olmaktadır. Serbest bakır, hem akut hem de kronik olarak sudaki yaşam için potansiyel olarak tehlikelidir. Bakır, serbest radikaller yoluyla lipid peroksidasyonuna ve hücrelerin parçalanmasına neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile sonuçlanan kimyasal reaksiyonlara katılan redoks yapısına katkı sağlamaktadır. Yüksek bakır dozları bebeklerde organ hasarına neden olabilir. Ayrıca, yüksek miktarda bakır alımı hücresel homeostazın bozulmasına yol açarak oksidatif strese, Menkes, Wilson, Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıklara sebep olabilmektedir. Bu hastalıkları engellemek için hücre ve hücre içi bakır miktarı belli bir oranda tutulması gerekmektedir. Dünya sağlık örgütü (WHO) verilerine göre ortalama kanda bulunması gereken bakır konsantrasyonu 15.7–23.6 mM aralığında olmalıdır (Srivastava, 2009).

Çevresel ve biyolojik açıdan önemli ağır metallerin tespit edilmesi teknoloji, sağlık ve çevrenin korunması bakımından büyük önem kazanmıştır. Günümüzde kirlilik tespitlerinin; anlık olarak takibi, şüphelenilen bölgede numune almaya gerek kalmadan ölçümünün sahada yapılabilmesi ve kirlenmiş alanlarda daha erken önlem alınabilmesi oldukça önem kazanmıştır. Ağır metallerden kaynaklanan kirlilik tespitinde kullanılan metodlar büyük önem kazanmış ve son yıllarda bilim insanlarının dikkatini çekmiştir. Özellikle florometrik ve klorometrik yöntemlerle numune analizi hızlı, basit, gerçek zamanlı ve düşük maliyetli analiz olduğundan dolayı, çalışmalarda sıklıkla kullanılmaları artmıştır.

Bu çalışmada metal iyonlarının florimetrik ve kolorimetrik olarak tayinlerine yönelik fenolflanein ve bisfenol-A türevli iki yeni floresan florofor (**FPAB** ve **BEF**) geliştirilmiştir. Çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada tasarımı planlanan sensörler sentezlenmiş ve karakterizasyonları ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR gibi metodlar kullanılarak yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında, sentezlenen sensörlerin metal analizinde kullanılıp kullanılamayacakları spektroskopik yöntemler ile belirlenmiştir. Bunun için, sentezlenen bileşiklerin metaller ile olan etkileşimleri üzerine sinyallere pH'ın etkisi, çalışma aralığı, tayin limiti, cevap süresi, çözücü etkisi ve diğer iyonlara karşı seçiciliği gibi karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca teorik hesap işlemi gerçekleştirilmiş ve **FPAB**, **BEF** ile **FPAB-Cu²⁺** ve **BEF-Cu²⁺**'in geometrik optimize yapıları ve HOMO, LUMO orbitalleriyle enerji değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen araştırma sonuçları çevre ve insan sağlığı

açısından toksik olan Cu^{2+} metalini, geliştirilen floresan sensörler (**FPAB** ve **BEF**) ile tayin edilebilecektir.





2. TEORİK BİLGİ

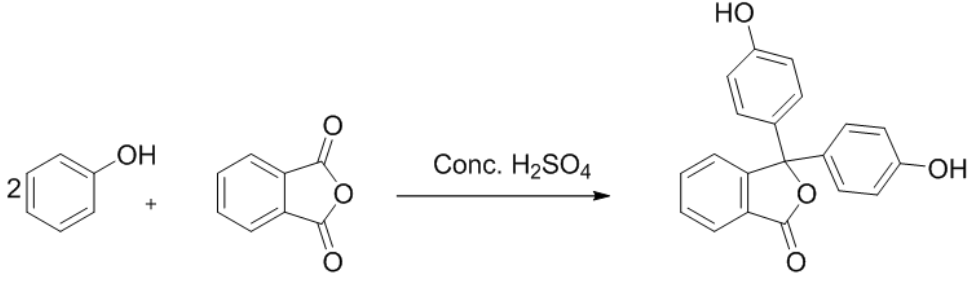
2.1 Fenolftalein

Fenolftalein, $C_{20}H_{14}O_4$ formülüne sahip kimyasal bir bileşiktir ve ilk olarak 1891 yılında 1871Adolf vonBaeyertarafından sentezlenmiştir. "HIn", "HPh", "phph" gibi birçok kısaltması olmasına rağmen sıklıkla "Ph" olarak kullanılmaktadır. Fenolftalein, ftalein boyaları olarak bilinen boya sınıfı içerisinde yer almaktadır. Renk değişim özelliği oldukça bilinen bir malzeme olan fenolftalein asidik ve bazik çözeltilerde farklı renklere dönüşmektedir. Bu nedenle genellikle asit-baz titrasyonlarında bir gösterge olarak kullanılır. Fenolftalein, çözelti pH'ına bağlı olarak asidik çözeltilerde renksiz, bazik çözeltilerde pembe olarak renk değişimi göstermektedir. Bunun nedeni bazik ortamdaki fenolftalein molekülünün yapısal değişimidir (Tamura ve diğerleri, 1996).

Fenolftalein tüm bu özelliklerinin yanında mevcut bir endüstriyel üründür ve analitik kimyada bir asit-baz indikatörü olarak kullanılmaktadır. Fenol ve ftalik anhidrit reaksiyonu ile elde edilmektedir. Fenolftaleinin kanserojen etkilerinden dolayı tıbbi uygulamalarda kullanılmamaktadır.

2.1.1 Fenolftalein sentezi

Fenolftalein'in sentezi şekil 2.1'de gösterildiği gibi 1 mol ftalik anhidritin ile iki eşdeğer mol fenol ile sıcak sülfürik asit katalizörlüğündekondensasyon reaksiyonu ilegerçekleşmektedir. Kondensasyon reaksiyonu sonucunda, erime noktası 250 °C ve soluk sarı renkli olarak katı halde fenolftalein elde edilmektedir (Harry, ve diğerleri, 1950)



Şekil 2.1: Fenolftalein molekülünün sentezinin gösterimi.

Fenolftalein su içerisindeki çözünürlüğü oldukça düşük olan bir bileşiktir. Fakat, alkoldeki çözünürlüğü oldukça iyidir ve deneylerde genel olarak alkoldeki çözeltisi kullanılmaktadır. Fenolftalein, çözelti halinde iken H^+ iyonlarını kaybedebilen zayıf bir asittir. İyonize edilmemiş fenolftalein molekülü renksizdir ve çift protonlu fenolftalein iyonu fuşya renktedir. Yüksek pH ortamlarında fenolftalein molekülünde proton kaybı yavaş olarak meydana gelir ve renksiz bir forma dönüşmektedir. Konsantre sülfürik asit çözelti ortamındaki fenolftalein, sülfonasyon nedeniyle turuncu kırmızı renge dönüşmektedir. Ayrıca fenolftalein, nötral pH ortamlarında renksizdir (Horace ve diğerleri, 1938).

2.1.2 Fenolftalein'in kullanım alanları

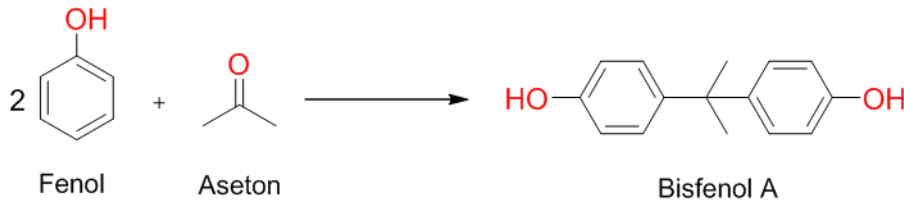
Fenolftalein genel olarak asit-baz titrasyonlarında indikatör amaçlı kullanılmaktadır. Bu kullanım alanı dışında metil kırmızısı ve bromotimol mavisi ile birlikte evrensel göstergenin bir bileşeni olarak kullanılmaktadır. Fenolftalein oyuncaklarda, örneğin "Hollywood Saçı" barbie saçında kaybolan mürekkeplerin bir bileşeni veya kaybolan boya olarak kullanılır. Fenolftalein sağlık sektöründe kabızlık tedavisinde güvenli ve etkili bir müshil olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Oral uygulamadan sonra, fenolftalein ince bağırsakta emilir ve karaciğerde fenolftalein glukuronide konjuge olur ve burada dekonjuge olduğu kolona geçer ve aktif bileşik olan fenolftalein salınır. Ayrıca fenolftalein bazı ilaçlar, böbrek fonksiyonunun belirlenmesine yardımcı olmak için böbrek kan akışının değerlendirilmesinde de kullanılır. Bu nedenle, fenolftaleinin bir teşhis maddesi olarak kullanım alanı olduğu da söylenebilir (Horace, ve diğerleri, 1938).

2.2 Bisfenol-A (BPA)

Rus kimyager A. P. Dianin tarafından ilk olarak 1891 yılında sentezi gerçekleştirilen Bisfenol A endüstriyel kimyasallar içerisinde fazla miktarda kullanılanlar kimyasallar arasındadır. Bisfenol-A kemirgenlerde yapay östrojen olarak tasarlanmış, fakat yapısındaki dietilstilbesterolün etkili bir molekül olduğu tespit edilince bu amaç için kullanımından vazgeçilmiştir. Sonraki yıllarda, BPA çapraz bağlayıcı özelliğinden dolayı polikarbonat olarak yapıştırıcı kimyasal reçinelerde ve plastiklerde kullanılmaya başlanmıştır. Gerçekleştirilen analiz ve araştırmalar neticesinde toprakta, havada, sütte, tükürükte suda, insan vücudu ve serumunda, ayrıca idrarda nano-molar konsantrasyonlarda BPA bulunmuştur. Kemirgenlerin embriyosunun gelişimini büyük ölçüde tamamladığı, bütün organlarının oluşumlarının gerçekleştiği, üçüncü aydan doğuma kadarki dönemde ve doğum sırasında veya doğumdan hemen sonraki perinatal dönemde BPA'ya maruz kalmaları durumunda, hormonlarla ilişkili olarak örneğin çeşitli (yumurtalık ve meme kanseri) gibi kanserlerin görülebileceği yapılan araştırmalar neticesinde anlaşılmıştır.

2.2.1 Bisfenol-A sentezi

Bisfenol-A (BPA) kapalı formülü $(CH_3)_2C(C_6H_4OH)_2$ olan ve bilimsel olarak 2-bis(4-hidroksifenil) propan olarak isimlendirilir. BPA'nın sentezi Şekil 2.2'de gösterildiği gibi 1 mol asetonile 2 mol fenol moleküllerinin (düşük pH) kondensasyon reaksiyonu ile gerçekleştirilmektedir (Prokop ve diğerleri, 2004). Bu reaksiyon sonucunda %99-99.8 saflık aralığında beyaz renkli ve katı olarak BPA elde edilebilmektedir (Prokop ve diğerleri, 2004). BPA, küresel olarak yüksek miktarlarda sentezlenen önemli kimyasallardan biridir ve sentezlenmesi için aşırı derecede talep vardır (Johnson ve Harvey, 2002).



Şekil 2.2 : Bisfenol A'nın sentezi.

Literatürde yeralan bilgilere göre, bis-fenol A'nın, oda sıcaklığındaki yoğunluğu 1.1-1.2 gL⁻¹'dir ve genel olarak BPA'nın etanol, aseton ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi organik çözücülerde oldukça iyi çözünmektedir (Tsai, 2006). Organik çözücülerin yanında BPA'nın sudaki çözünürlüğü 120 mgL⁻¹'dir (Johnson ve Harvey, 2002). Çizelge 1'de BPA'nın genel özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.1 : Bis-fenol A'nın genel özellikleri.

Genel adı	Bisfenol A
IUPAC adlandırması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Yapısal formülü	(CH ₃) ₂ -C-(C ₆ H ₄ -OH) ₂
Moleküler ağırlığı	228.9
Erime sıcaklığı	153-156°C
Kaynama sıcaklığı	220°C
Alevlenme sıcaklığı	270°C
Uçuculuğu	193°C (1 atm basınçta)
Log Kow	3.32
Log Pow	3.32
Sudaki çözünürlüğü	(25°C) 120 mgL ⁻¹

2.2.2 Bisfenol-A'nın kullanım alanları

Günlük yaşamda fazla miktarda kullanım alanı bulunan BPA, çeşitli gıda depolama ve paketlenme malzemelerinde, biberonlarda, plastik şişe ve teneke kutu gibi malzemelerin üretilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu kullanımlarının dışında BPA, polikarbonat ve epoksi reçinelerin sentezinde monomer olarak kullanılır. BPA, her yerde bulunan, iyi bilinen bir gıda ambalajıdır. Gıda ile temas eden malzemelerin yanı sıra, banknotlar, termal baskı kağıtları, kompakt diskler, yapıştırıcılar ve toz boyalar gibi birçok uygulama alanı da bulunmaktadır. Ayrıca BPA; termal olarak basılmış kağıtlar, yapıştırıcılar, tıbbi cihazlar, toz boyalar ve güneş gözlüğü gibi diğer günlük nesnelerde de kullanılmaktadır. BPA, literatürde toksik etkisi bilinen güçlü bir endokrin bozucu bileşiktir. BPA'nın yapısında fenol gruplarının yeralmasından dolayı endokrin hormonlara, yani estradiol ve dietilstilbestrol'e benzemektedir. BPA'nın östrojen reseptörlerine bağlanma eğilimi vardır. BPA'nın insane vücudunda düşük miktarlarda bulunması dahi (0.23 ng/L) insane sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Zhang ve diğerleri, 2017).

Yetişkinlerin idrarındaki gelişmiş BPA seviyeleri, erkeklerde cinsel işlev bozukluğuna neden olmaktadır. BPA'nın günümüzde yaygın hastalıklardan olan kardiyovasküler hastalıklara, obeziteye, kansere, astıma, bağışıklık bozukluklarına, davranış ve gelişim sorunlara neden olduğu yapılan araştırmalar sonucunda anlaşılmıştır (Beydoun ve diğerleri, 2016). BPA insan sağlığına zarar verdiği gibi hayvanlara da zarar vermektedir (Rubin ve Soto, 2009; Erickson, 2010). BPA'nın zararlı etkilerini izlemek ve kontrol etmek hayati önem taşımaktadır. Bu nedenle dünya çapında bazı kurumlar ve sağlık ile ilgili bölümlerde BPA'nın neden olduğu hastalıkları ve toksik etkisini analiz etmek için bir dizi analitik yöntemler geliştirilmiştir (Michałowicz, 2014).

Fakat bilindiği üzere analitik yöntemlerin çoğu hızlı ve kolaylıkla uygulanan uygulamalar değildir. Çoğu analitik yöntem zaman alıcı ve ön bir hazırlığa gerek duyan işlemlerdir. Analitik yöntemler arasında yer alan kromatografi ve kütle spektroskopisi gibi yöntemler analiz ücreti ve cihaz temini bakımından sermaye yatırımı gerektiren yöntemlerdir. Ayrıca bu tip yöntemler yüksek işletme maliyetleri, analiz için kalifiye personel gerektirmektedir. Bu nedenle birçok araştırma grubu hızlı, hassas çözümler için yenilikçi yöntemler geliştirmeye odaklanmıştır.

2.2.3 BPA'nın insan vücudu üzerindeki etkileri

Yapılan bir çalışmada meme kanseri olan Koreli kadınlarla aynı yaş grubundaki kontrol grubu arasında idrarda BPA derişimleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunda ortalama serum BPA derişimleri kanserli kadınlarınkinden daha düşük çıkmıştır. Fakat BPA'nın kısa yarılanma ömrü nedeniyle, kanser olduktan sonra anlık BPA derişimleri yıllar boyunca BPA'ya maruz kalmanın kanserle olan bağlantısını ispatlamaya yeterli olmaz. BPA'nın endokrin bozucu olması nedeniyle bazı çalışmalarda BPA'ya maruz kalan erkeklerde üreme sistemindeki etkileri araştırılmıştır (Zhang ve diğerleri, 2017). Bazı epidemiyolojik çalışmalar (hastalıkların toplumda görülme sıklığı ve dağılımının incelenmesi) idrardaki BPA derişimi ile serumdaki üreme hormonlarının derişimi arasında bağlantı olduğunu gösterse de tutarsız durumlar da vardır. İki çalışmada meslekleri sebebiyle yüksek miktarda BPA'ya maruz kalan Çinli erkeklerde idrardaki BPA derişimiyle bağlantılı olarak cinsel aktivitede azalma gözlenmiştir. Diğer bir çalışmada IVF (in vitro fertilizasyon, tüp bebek sahibi olmak için yapılan işlem) geçiren kadınlarda idrar

BPA derişimlerinin serumda östrojen derişimi ve yumurta sayısında azalma ile bağlantılı olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgular BPA'nın etkisini gösterse de, mevcut çalışmalar normalin çok üzerinde BPA derişimlerine maruz kalan kişilerle yapıldığından klinik olarak belirsizdir (Wenzel ve diğeri, 2003).

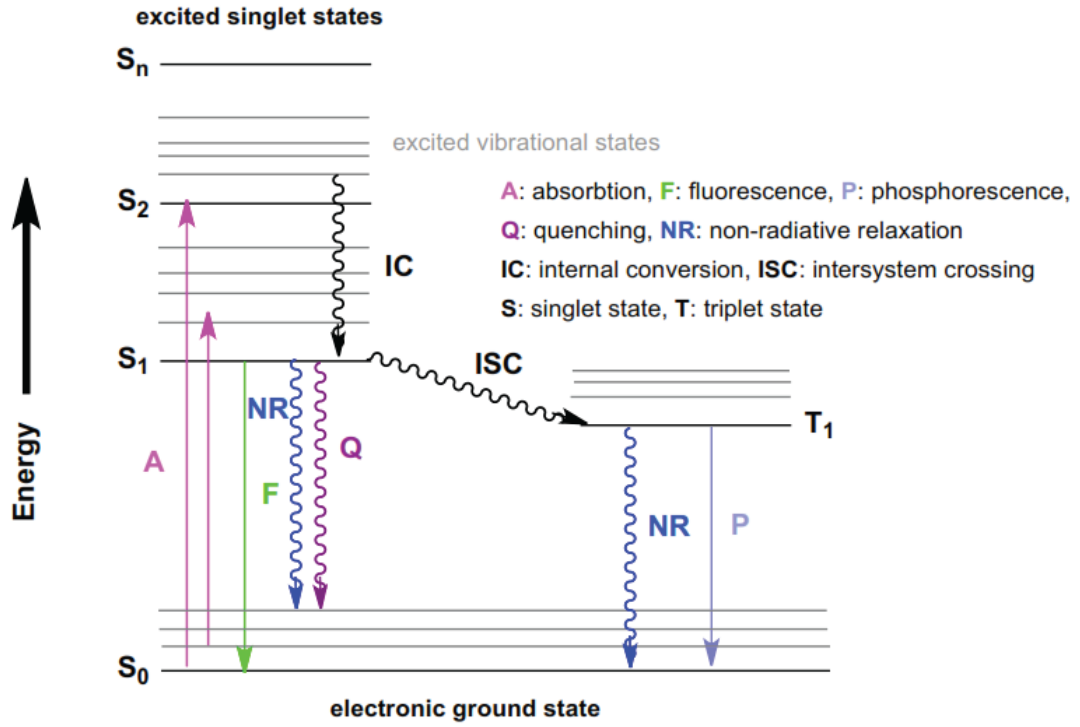
2.3 Lüminesans

Eilhardt Wiedemann tarafından 1888 yılında latince ışık anlamına gelen lumen kelimesinden türetilen lüminesans sözcüğü, herhangi bir atomun veya bir moleküldenışığın yayılma prosesidir (Drummen, 2012). Bu proseste, ışık yayılımı esnasında maddede elektronik olarak uyarılma meydana meydana gelmesine sebep olur ve madde temel enerji halinden uyarılmış hale geçer. Temel duruma dönüşe kadar madde uyarılmış halde yaklaşık olarak 10^{-9} saniye kadar kalmaktadır. Eğer maddenin uyarılması radyasyon ile yapılmış ise molekül enerjisini bulunduğu ortama radyasyon olarak yayar ve bu olay fotolüminesans ya da lüminesans olarak adlandırılır.

Lüminesans bileşikler:

- Anorganik bileşikler: Uranilyonu, kristaller (ZnS, CdS, ZnSe, CdSe, GaS, GaP) ve lantanit iyonları,
- Organik bileşikler: Rodaminler, amino asitler (trozin, triptofan, fenilalanin), aromatik hidrokarbonlar (piren, antresen, naftalen, vb.), floresin, kumarinler, vb.
- Organometalik bileşikler: Lantanit iyonu ve rutenyum ile olan kompleksler, ve oxim gibi şelatlayıcı özelliğe sahip malzemelerle olan kompleksler

Lüminesans, uyarılmanın doğasına bağlı olarak floresan ve fosforesans olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Perrin-Jablonski diyagramında, fotolüminesans ve moleküler enerji arasındaki ilişki oldukça iyi açıklayan bir diyagramdır (Lakowicz, 2006; Valeur, 2001; Wainwright, 2009). Bu diyagramda ilk geçiş, belirli bir enerjiye sahip bir fotonun absorpsiyonudur. Absorpsiyon, bir elektronun daha düşük bir enerji durumundan daha yüksek bir enerji seviyesine uyarıldığı süreçtir. Belirli bir dalga boyundaki ışığın absorpsiyonundan sonra, moleküller S1 ve S2 gibi uyarılmış yüksek enerjili hallerine geçiş yaparlar. Absorbe edilen enerji bir floresan veya fosforesans mekanizması yoluyla ışığın yayılması ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.

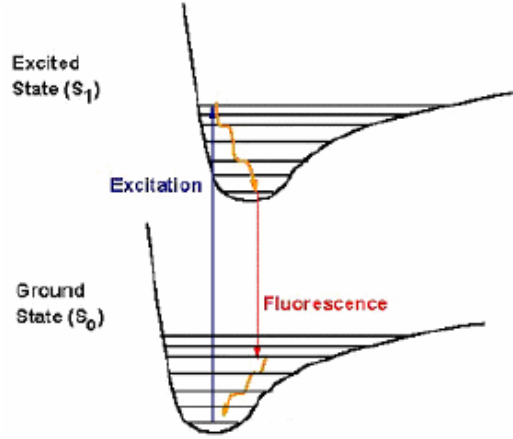


Şekil 2.3 : The Perrin-Jablonski diagram.

Bir molekülün S_1 seviyesine uyarılması çoğunlukla bir elektronun en yüksek dolu moleküler orbitalden (HOMO) en düşük boş moleküler orbitale (LUMO) hızlıca geçişine neden olur. Uyarma işleminden sonra molekül daha sonra hızlı bir gevşemeye uğrar ve bu duruma içsel dönüşüm denir. Bu durumda molekül, S_1 ve floresan şeklinde ışımsal emisyon üretir. Bu işlem bir spin için izin verilen bir işlemdir. Çünkü uyarılmış electron temel haldeki elektronla zıt spine sahiptir. Bununla birlikte, S_1 durumundaki uyarılmış elektron, sistemler arası triplet duruma geçişe maruz kalabilir.

Floresansın ilk kaydedilen gözlemi İspanyol doktor ve botanikçi Nicolas Monardes tarafından 1565'te yapılmıştır. Nicolas, özel ahşaptan (Ligirium nephiticem) yapılmış bir fincandaki suda parlayan garip bir mavi renk fark etmiştir. 17. yüzyılda Robert Boyle ve Issac Newton, floresan teorisini büyük ölçüde tanımlamışlardır. 1845 yılında John Herschel, güneş ışığı altında aydınlatma ile kinin sülfat çözeltisi için ilk floresan emisyon spektrumunu elde etmiştir. Yoğun çalışmalar neticesinde George Stokes 19. yüzyılın sonlarında floresan teorisini anlamayı başarmış ve Stokes iki ayrı renkli filtre ile floresan gözlemlene tekniğini bulmuştur. Stokes ayrıca bu absorpsiyondan daha uzun dalga boylarında gerçekleşen ve 'Stoke Kayması' adını taşıyan emisyonu da araştırmıştır (Stokes, 1852). Reseptörün uyarma enerjisinden

daha düşük bir enerji ile yayılım vermesi durumuna Stokes kayması denilmektedir ve bu yayılım spektrumunun absorbans spektrumuna oranla daha düşük enerjiye (yüksek dalga boyuna) kayması şeklinde spektrum üzerinde kolayca gözlenmektedir.



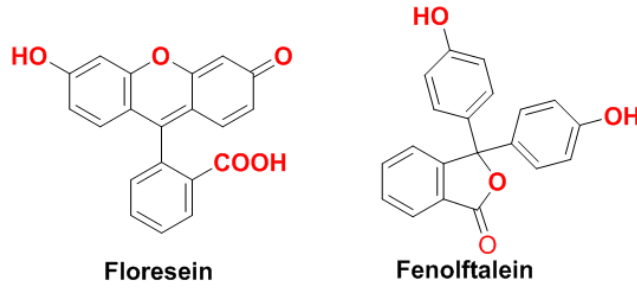
Şekil 2.4 : Moleküler enerji seviyeleri arası geçişler.

2.3.1 Floresansı etkileyen faktörler

Kimyasal yapı ve çevresel faktörler, bir molekülün floresans özelliğe sahip olup olmamasını etkilemektedir (Wayne, 1988). Floresans özelliğe sahip olan bir molekül çeşitli çevresel faktörlerden (pH, moleküler katılık, basınç, polarite, viskozite, çözücü, iyonlar, yapısal faktörler, sıcaklık ve elektrik potansiyeli) etkilenmesinin ardından bu molekülün floresan ışığının şiddetinde farklılık görülebilir (Türker, 2006). Bir molekülün floresans kuantum verimini etkileyen çevresel faktörler aşağıda başlıklar halinde anlatılmaktadır.

Sıcaklık: Sıcaklıkta meydana gelen artış moleküllerin hareketlerinde veya çarpışmalarında artışa yol açmaktadır. Floresans ışığının şiddetinde ise azalmaya sebep olmaktadır (Rendell, 1987).

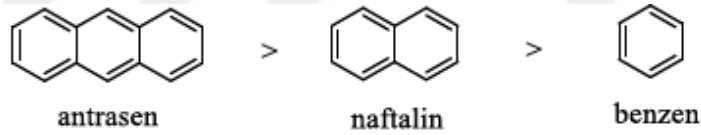
Moleküler Katılık: Moleküllerin hareketlerini kısıtlayan özelliklerden biride moleküler katılıktır. Örneğin, benzer yapıda olan fenolftalein ve fluoreseyin molekülleri incelendiğinde moleküler katılık göstermeyen fenolftalein, moleküler katılık gösteren fluoreseyin gibi çözelti ortamında kuvvetli floresans göstermemektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 : Fluoresein ve fenolftalein.

Çözücü Etkisi: Floresans emisyonu için çözücünün etkisi oldukça fazladır. Örneğin, spinorbital eşleşme ihtimalinin artması, çözücüler (ağır atom içeren) içerisinde, floresansdaki yoğunluk azalması gözlemlenebilir. Bu durum floresans şiddetinde yükselme şeklinde sonuçlanmaktadır. Reseptör ve çözücü arasında oluşan hidrojen bağlarının, floresans emisyonu üzerinde stabilizasyonu veya destabilizasyonu da dikkate değer derecede önemlidir. Bilindiği üzere organik bileşikler uyarılma esnasında oldukça polarlaşırlar ve böylece optik molekül ile moleküler sistemdeki etkileşim arttıkça, enerji kaybı gözlemlenmektedir (Homocianu, 2011).

Halkalaşma: Molekülün halkalı yapıda olması elektronik geçişleri artıracağından floresans özelliğide artırmaktadır.



Şekil 2.6 : Halkalı yapının floresans üzerine etkisi.

Elektronik Geçişler: Bir molekülde elektronik geçiş olasılığı ne kadar yüksek ise floresans özelliğine sahip olma ihtimalide doğru orantılı olarak yükselmektedir. Özellikle, moleküldeki $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi floresansın artmasına neden olan geçişlerdir.

2.4 Floresan Sensörler

Tüm canlılar yaşadıkları ortamdaki değişimleri (sıcaklık vb) içgüdüsel olarak hızlıca algılayıp yaşamlarını sürdürebilmek için değişimlere uymaya çalışırlar. Bu algılama mekanizmasına basitçe sensör denilmektedir. Kısaca, analizini yapmak istediğimiz madde ile bir araya geldiğinde değişiklik gösteren (renk gibi) moleküllere sensör denilmektedir. Sensörler, basitçe tanımlamak gerekirse maddenin enerjiyle etkileşimini ölçmeye yarayan analizcilerdir. Tsien ve diğerleri (1980) kromofor gruba sahip bazı boyar madde özelliği gösteren ve hoş kokulu maddelerin kalsiyum iyonu ile kararlı kompleksler oluşturduğunu anlamaları ile floresan sensörler keşfedilmiştir (Tsien, 1980). Günümüzde tasarlanan kimyasal sensörler, hedef molekülü spesifik olarak tanımakta ve bu yüzden kolay anlaşılabilen ve elde edilebilen sinyal mekanizmasından oluşmaktadır. Genel olarak sensörler; kolorimetrik ve floresansensörler diye iki ana kategoriye ayrılmaktadırlar. Sensör stratejileri UV-Vis ve floresans gibi spektrofotometrik tekniklerle ölçülmektedir. Floresans sensörler yapılarında iyonofor ve florofor diye isimlendirilen iki gruba sahiptirler (Şekil 2.7).



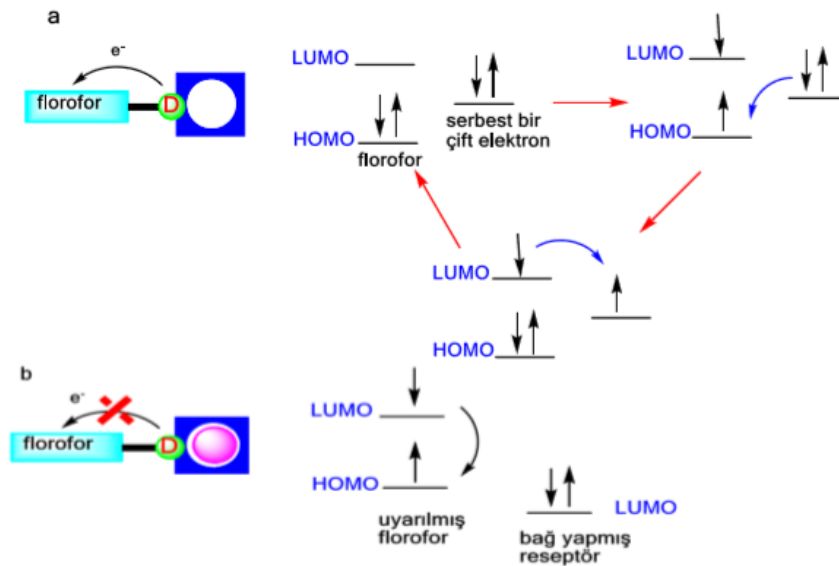
Şekil 2.7 : Floresans sensör yapısının genel gösterimi.

Sensörün florofor kısmı floresans ile emisyonu sağlamakta, sensörün iyonofor bölgesi ise sübstrat ile seçimli olarak etkileşen bölgeyi ifade etmektedir. Floresan sensörlerde yaygın olarak gözlemlenen etkileşim mekanizmalarından bazıları şöyledir;

- Foton indüklemeli elektron transferi (PET)
- Moleküliçiyüktransferi (ICT)
- Floresansrezonanasenerjitransferi (FRET)
- Metal ligand yüktransferi, ligand metal yüktransferi şeklindedir (Kim ve ark., 2007).

2.4.1 Foton indüklemeli elektron transferi (PET)

Floresan sensör mekanizmaları arasında Foton indüklemeli elektron transferi en yaygın kullanılan mekanizmalardan biridir. Tipik bir PET sistemi, elektron donörünü içeren reseptör grubu, spacer (aralayıcı) yoluyla bir florofora eklenerek oluşturulur. En basit haliyle elektronun hareketi PET mekanizması olarak adlandırılabilir. Basitçe PET prosesinde, ışının absorpsiyonu ile molekül içerisindeki elektron, en yüksek dolu molekül orbitalinden (HOMO) en düşük boş molekül orbitaline (LUMO) uyarılmaktadır. Eğer moleküldeki emisyon etkili bir şekilde gerçekleşirse bu moleküle fluorofor denir. Elektron donörünün bulunduğu reseptör grubunun sahip olduğu elektron çiftinin yer aldığı orbital, fluoroforun HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasında yer alıyor ise fluoroforun HOMO'sunda yer alan boşluğa reseptörden bir elektron aktarılır. Elektron aktarılmasının ardından floresanda “sönümlleme” ya da floresan şiddetinde gözle görülebilir azalış meydana gelir (Şekil 2.8 a). Kısaca, floresans sönümlmelerinin sebebi PET transferidir denilebilir (Kim ve diğerleri, 2007). Bu mekanizma çoğu organik molekülde gerçekleşen fotokimyasal reaksiyonlardan sorumludur. PET prosesi güneşten yayılan UV ışınlarının enerjisinin transferi için fotosentez olayında ve suni sistemlerde dikkate değer etkiye sahiptir (Lindstrom ve Zhu, 2006).

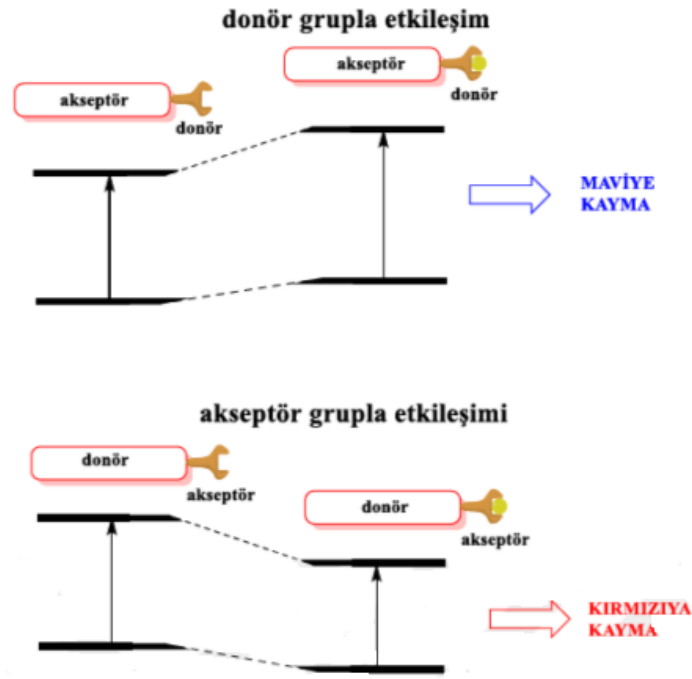


Şekil 2.8 : (a) PET ve (b) CHEF proseslerinin şematik gösterimi.

Reseptörün sahip olduğu elektron çiftinin enerji seviyesi düştüğünde ise fluoroforun HOMO'suna elektron geçişi gerçekleşemez. Böyle bir durumda, boş orbital fluoroforun LUMO'sundan elektron sağlamak ve sönmüleme durumunda olan floresans şiddetinin artmasına neden olmaktadır (Şekil 2. 8 b). Örnek olarak fluorofor ile metal iyonu arasındaki kompleksleşme neticesinde PET prosesi gerçekleşmez bu olayla orantılı olarak floresans şiddetinde artış gözlenmez. Gerçekleşen bu yeni proses ise şelatlama-desenli floresans (CHEF) ismi ile tanımlanabilir (Valeur ve Leray, 2000).

2.4.2 Molekül içi yük transferi (ICT)

PET prosesinden sonra floresan sensör mekanizmaları içerisinde en çok yer alan proses molekül içi yük transferidir (ICT). Bu tür floresanssensörler, elektron çekici gruba sahip fluorofor grubu ve fluoroforakonjuge olarak bağlı elektron salıcı (amino grubu gibi) grupları aynı elektronik sistem içerisinde yer almaktadır ve bu yönüyle PET prosesinden farklılık göstermektedir. Ayrıca ICT sensör mekanizmasında, elektron verici özelliği bulunan fluorofor ve buna konjuge yapıda olan ve yük transferi $C\equiv C$ ve $C=C$ gibi birbirine bağlayan konjuge yapılar üzerinden gerçekleşmektedir (Lakowicz, 2013). Elektron çekici grupları içeren reseptörlerdende oluşabilmektedir. Bu yöntem ratiometrik (oran değişimi olan) metal iyonu problemlerinin geliştirilip tasarlanmasında verimli bir metod sağlar (Şekil 2.9).

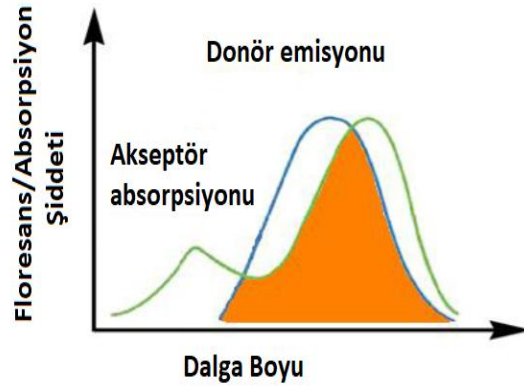


Şekil 2.9 : Floroforun ICT prosesi boyunca spectral yer değiştirmesinin şematik diyagramı.

Dipol momentteki son değişiklik, elektron olarak bu floroforun mikro çevresine bağlıdır ve stokes kaymasına sebep olur. Elektron verici grup (ligand) ile anyonun koordinasyonu floroforun floresans özelliklerinin değişmesine neden olur. Çünkü kompleks oluşturan anyon molekül içi elektron transferinin etkinliğini değiştirir (Valeur, 1994). Fonksiyonel grup olarak elektron salıcı bir grup anyonla etkileşime girdiği zaman bu grubun elektron verme özelliği azalarak absorpsiyon spektrumunda maviye doğru bir kayma gerçekleşir. ICT'nin gerçekleştiği moleküllerde floresansda sönmüleme gözlemlenmesi ile karşılaşma ihtimali düşüktür. PET ve ICT mekanizmaları bu yönleriyle spektroskopik olarak birbirinden farklıdır. ICT prosesinde bir molekülün uyarılması uyarılma enerjisi molekülün yük transfer (CT, Charge Transfer) mertebesine aktarılması ile sonuçlanır. Bu olay sonucunda bileşiklerin absorpsiyon ve emisyon spektrumlarında Stokes kayması diye isimlendirilen kaymaya meydana gelmektedir. (Lakowicz, 2013).

2.4.3 Floresan rezonans enerji transferi (FRET)

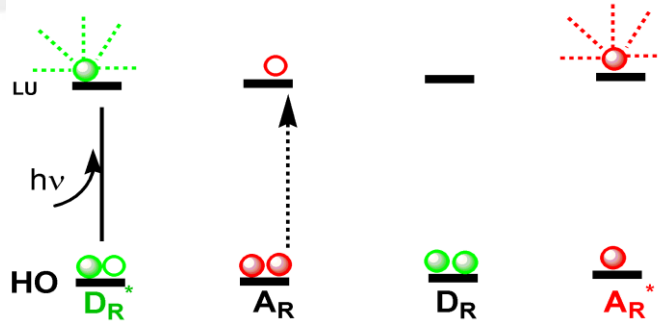
FRET uyarılmış haldeki donör grubun enerjisinin, floforun temel haldeki akseptörüne aktarımı sonucu gerçekleşen bir prosesdir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 : FRET mekanizmasında meydana gelen spectral örtüşme.

FRET mekanizma iki florofor varlığında ve temel haldeki donörün floresans emisyon spektrumu ile uyarılmış haldeki akseptörün absorpsiyon spektrumunun örtüşmesiyle ve donör-akseptör arasındaki mesafeye (Förster mesafesi) dayalı gerçekleşen bir proses'tir (Miyawaki, 2011; Lakowicz, 2013).

Donör moleküller daha kısa dalga boyunda ışık yayarken, akseptörün absorpsiyon spektrumu ile iç içe girerler. FRET mekanizmasının oluşması donör ve akseptör grubu arasındaki dipol-dipol etkileşime bağlı olarak gerçekleşmektedir.

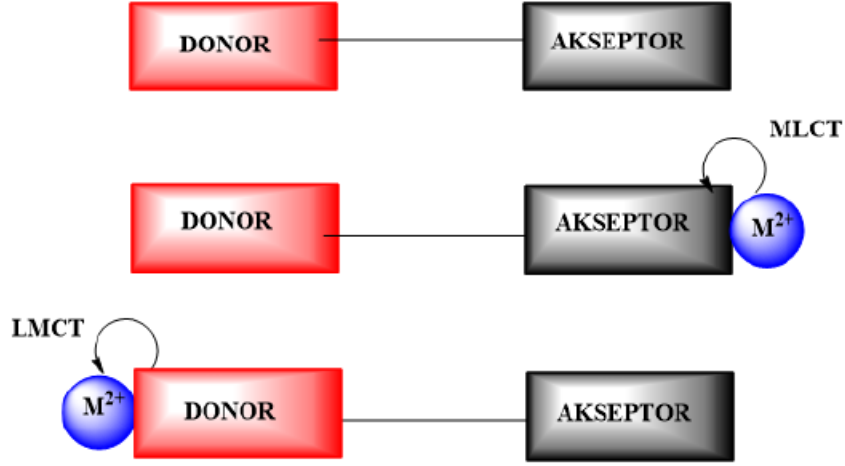


Şekil 2.11 : Enerji transferi için molekül orbitallerinin şematik gösterimi.

2.4.4 Metal ligand yük transferi, ligand metal yük transferi

Bir kromoforun uyarılmış halden temel hale geçişindeki değişimlerin nedenini araştırmak bu kromoforun proses sürecini ve hangi prosese maruz kaldığını anlamak açısından oldukça önemlidir. Floresan sensör prosesleri arasında yer alan bir proseste metalden liganda veya liganddan metale yük aktarım geçişleridir. Bu aktarım enerji ve elektron transferinin metalin d-orbitalinden uyarılmış haldeki florofora geçişiyle veya floroforun sahip olduğu floresans emisyonunun, metal ile

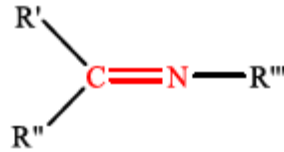
florofofor etkileşimi sonucu meydana gelmesiyle gerçekleşmektedir. Bu süreç sonunda florofoforun floresanda sönmüleme işlemi gerçekleşmektedir.



Şekil 2.12 : Metal ligant yük transferi ve ligand metal yük transferinin genel gösterimi.

2.5 Schiff Bazları

Schiff bazları (CH=N-) diğer adıyla iminler floresan sensör moleküllerinde yaygın olarak kullanılan yapılardır (Şekil 2.13). 1860 yılında kimyacı Hugo Schiff tarafından ilk olarak sentezlenen Schiff bazları, primer aminlerin ketonlar veya aldehitler ile kondensasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünlerdir (Schiff, 1869).



Şekil 2.13 : Schiff bazlarının genel gösterimi.

İlk olarak 1930 yılında Pfeiffer ve arkadaşları tarafından ligand olarak kullanılan Schiff bazları günümüzde de floresan sensör bileşiklerinde yaygın kullanım alanına sahiptir. Schiff bazları iki aşamalı olarak üretilir.

Birinci aşamada; primer aminin kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna eklenmesi ve bu ekleme neticesinde proton kaybeden azot atomunun oksijen atomunu protonlaması ile hidroksil oluşması aşamasıdır.

İlk aşamada:

$$R-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-R' + R''-NH_2 \rightleftharpoons R-\overset{\ominus}{\underset{|}{O}}-C(R')-\overset{\oplus}{\underset{|}{N}}(H)(R'') \rightleftharpoons R-\overset{\cdot\cdot}{\underset{|}{OH}}-C(R')-\overset{\oplus}{\underset{|}{N}}(H)(R'')$$

İkinci aşamada:

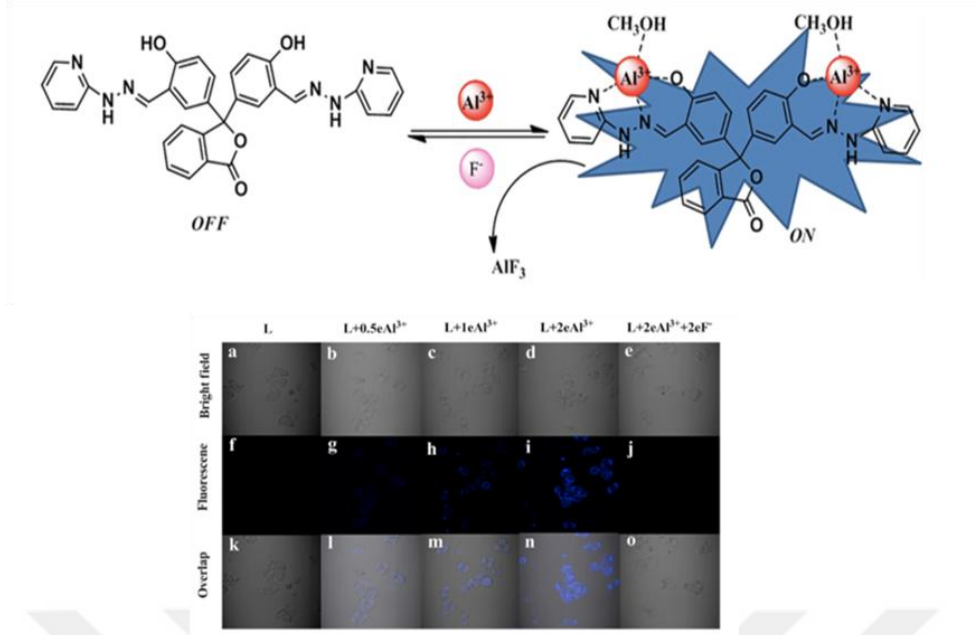
$$R-\overset{\cdot\cdot}{\underset{|}{OH}}-C(R')-\overset{\oplus}{\underset{|}{N}}(H)(R'') \xrightarrow{H^+} R-\overset{\oplus}{\underset{|}{OH_2}}-C(R')-\overset{\cdot\cdot}{\underset{|}{N}}(H)(R'') \xrightarrow{-H_2O} R-\overset{\oplus}{\underset{|}{C}}(R')=NHR'' \rightleftharpoons R-\overset{\color{red}\cdot\cdot}{\underset{|}{C}}=\overset{\color{red}\oplus}{\underset{|}{N}}-R$$

Schiff bazlarının uygulama alanı oldukça geniştir. Özellikle biyolojik açıdan geniş kullanım alanlarına sahip olmaları nedeniyle organik bileşiklerin kullanım açısından çok önemli bir sınıfta yer almaktadırlar. Schiff bazları birçok alanda kullanılabilir ve kullanım alanlarına örnek olarak proteinler, enzimatik aldolizasyon, görsel proteinler, ve dekarboksilasyon reaksiyonları verilebilir. Bunların yanında bazı Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin antiviral, anti tümör ve antibiyotik aktiviteleri vardır ve bu bazlar bu aktivite nedeniyle biyolojik öneme sahiptirler (Lakowicz et al. 2019). Günümüzde kolorimetrik veya fluorimetrik özelliği sahip olan Schiff bazlarının tasarımı sentezi ile ilgili araştırmaların önemi daha da artmıştır (Aydın, 2020; Erdemir ve diğerleri, 2017).

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

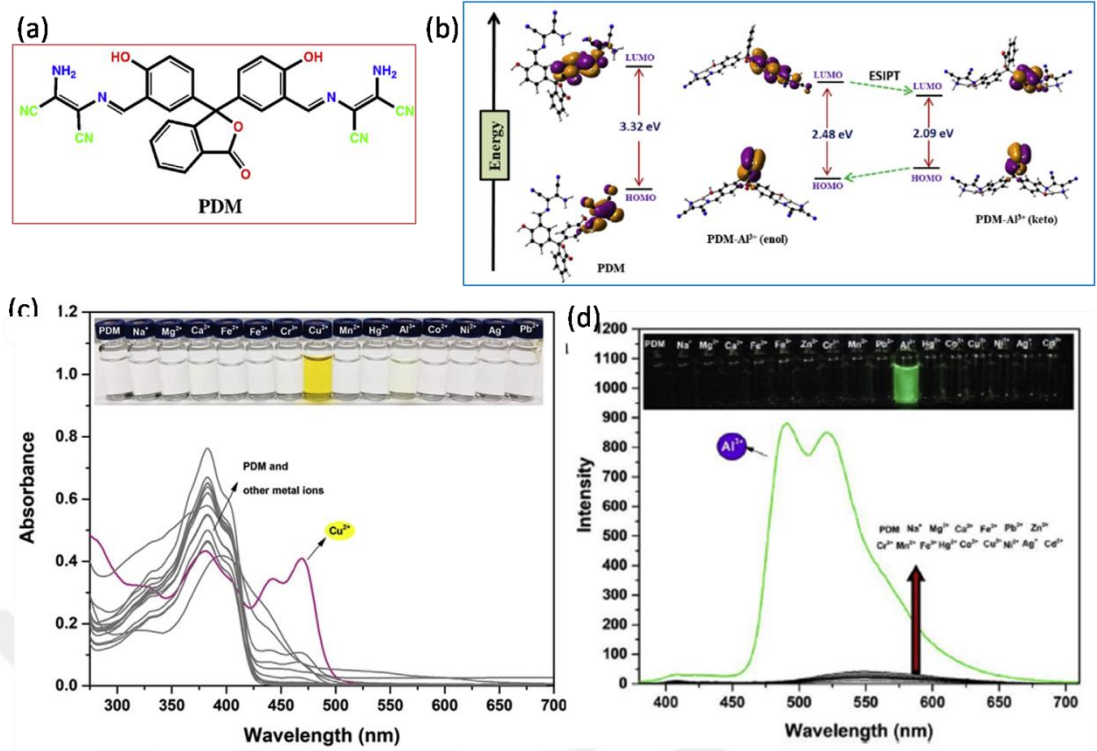
Sunulan tez çalışması ile ilgili gerekli kaynak araştırması yapılmış ve bulunan floresan sensör çalışmaları ilgili literatürler özet şeklinde aşağıda verilmiştir. Fakat, fenolftalein ve Bisfenol-A tabanlı florimetrik ve kolorimetrik sensör çalışmalarının düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, sunulan tez çalışması fenolftalein ve Bisfenol-A içeren Schiff bazı türevleri ile ilgili çalışmalara öncülük edecektir.

Xiang-yu Kong ve diğerlerinin (2019) yapmış oldukları çalışmada, fenolftalein temelli floresan bileşik sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşiğin floresan çalışmalarını sulu ortamda gerçekleştirmişler ve yapılan ölçümler sonucunda katyonlardan sadece Al^{3+} ya karşı floresanda "yanma" şeklinde özellik gösterdiğini ispatlamışlardır (Şekil 3.1). Ayrıca çalışmanın devamında bileşiğin Al^{3+} kompleksi üzerine anyonların ilavesi ile floresan davranışları incelenmiş ve sadece F^{-} anyonunun ilavesi sonucu floresan şiddetinde sönme durumunun gerçekleştiğini ispatlamışlardır. Çalışmanın ikinci kısmında ise bu bileşiğin canlı hücreler üzerindeki çalışmaları gerçekleştirilmiş ve floresan görüntülemeleri yapılmıştır (Xiangyu ve diğerleri, 2019).



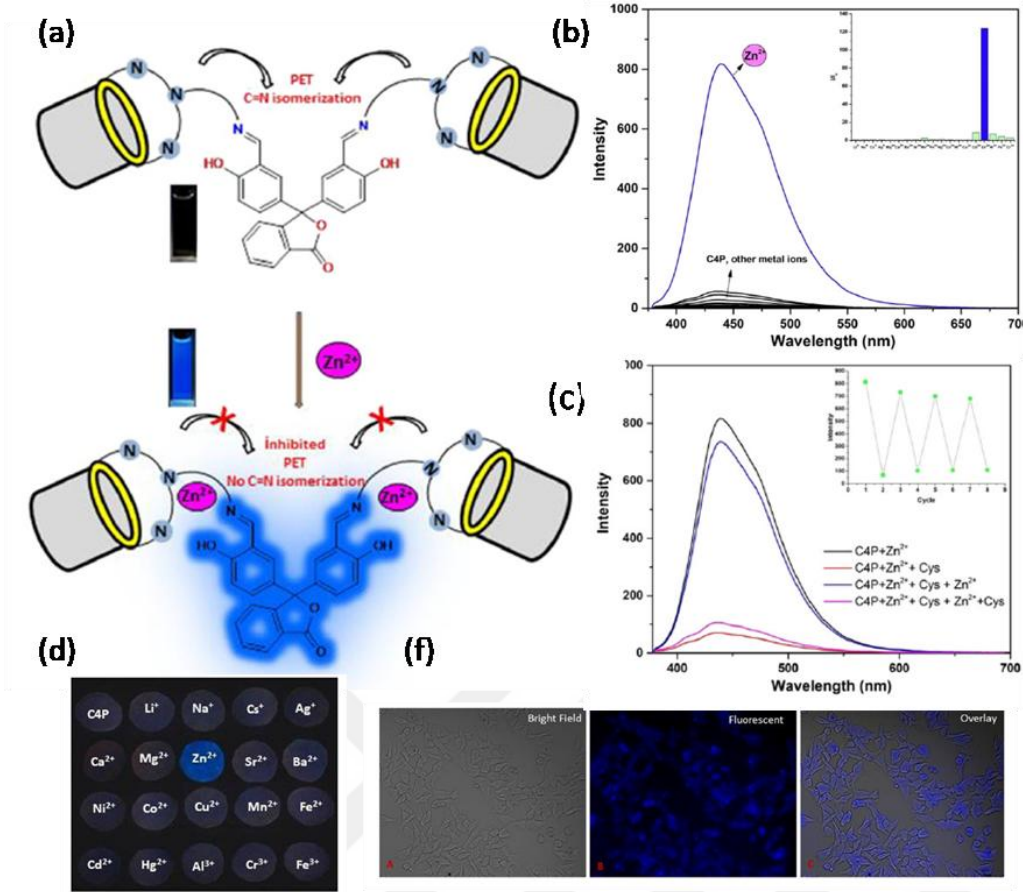
Şekil 3.1 : Fenolftalein tabanlı sensörün Al^{3+} iyonları varlığında oluşturduğu kompleks ve oluşan kompleksin F^- iyonları ile tersinir kazanılması ve hücre çalışması.

Erdemir ve Malkondu 2019 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada fenolftalein temelli yeni bir floresans sensör sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşiğin katyonlar üzerinde yaptıkları araştırmalar neticesinde, sensörün UV-Vis ve floresans çalışmalarında sadece Cu^{2+} katyonuna karşı kolorimetrik bir davranış sergilediğini tespit etmişler ve floresans çalışmalarında ise sadece Al^{3+} katyonuna karşı "yanma" şeklinde tepki verdiğini göstermişlerdir (Şekil 3.2a, c ve d). Çalışmanın devamında ise hem sentezlenen bileşiğin hemde oluşturulan Al^{3+} kompleksinin teorik hesabı yapılmıştır (Şekil 3.2b).



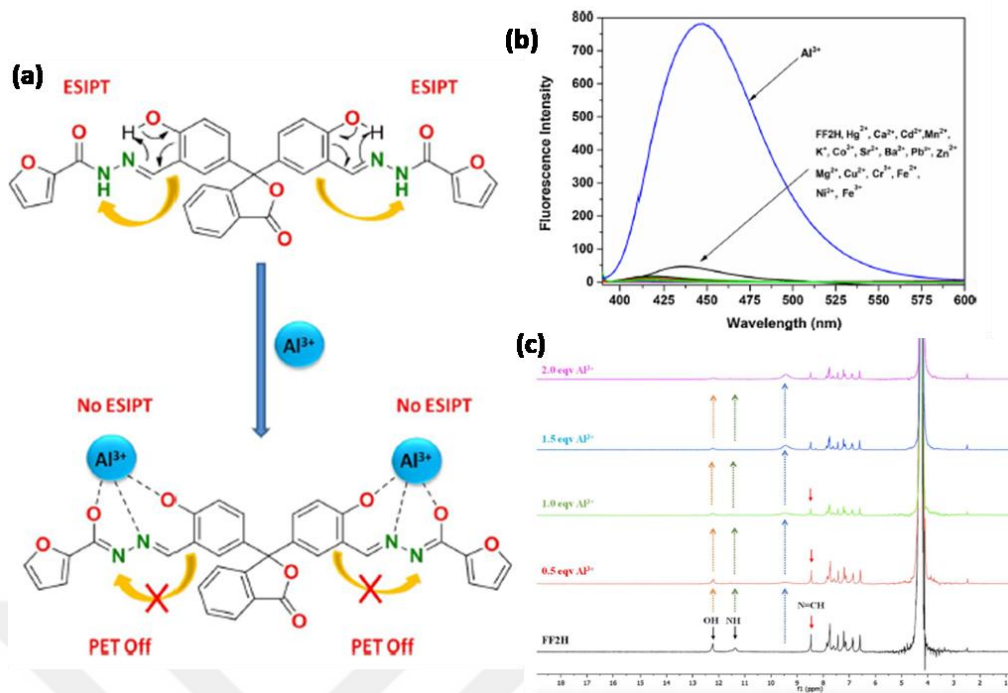
Şekil 3.2 : (a) Sensör PDM'in yapısal gösterimi, (b) Sensör PDM ve PDM-Al³⁺ komplekslerinin HOMO-LUMO enerji diyagramları, (c) çeşitli metal iyonları varlığında PDM'nin absorbans grafiği ve (d) çeşitli metal iyonları varlığında PDM'nin floresan grafiği.

Erdemir ve diğerleri (2019) tarafından yapılan çalışmada sulu ortamda seçici olarak çinko (II) (Zn^{2+}) iyonuna duyarlı olan fenoltalein tabanlı kaliks[4]aren bileşiği floresan sensör olarak geliştirmişlerdir. Sentezlenen prob (C4P), diğer rekabetçi metal iyonlarına göre Zn^{2+} 'ya karşı yüksek seçici ve hassas algılama göstermiştir. Zn^{2+} 'nın bir sulu ortamdaki prob çözeltisi ile etkileşimi, foto-indüklenmiş elektron transferi (PET) işleminin baskılanması ve C=N izomerizasyonunun kısıtlanması nedeniyle 440 nm'de ($\lambda_{ex} = 365$ nm) emisyon yoğunluğunda önemli bir artışla sonuçlandı. Prob'un Zn^{2+} ile bağlanma sabiti (K_a) $4.50 \times 10^{11} M^{-2}$ olarak hesaplanmış ve ayrıca Zn^{2+} için probun tespit limiti 0,108 μM ($10^{-7} M$ seviyesinde) olarak hesaplanmış ve sistein amino asidi ile Zn^{2+} 'nin geri kazanımı başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). Ayrıca, insan kolon kanseri hücrelerinde floresan görüntüleme filtre kağıdında ışık altında görüntüleme çalışmaları sonucunda probun Zn^{2+} 'yi sulu ortam dışında biyolojik ortamlarda da incelemek için büyük bir potansiyele sahip olduğunu gösterdi (Erdemir ve diğerleri, 2019).



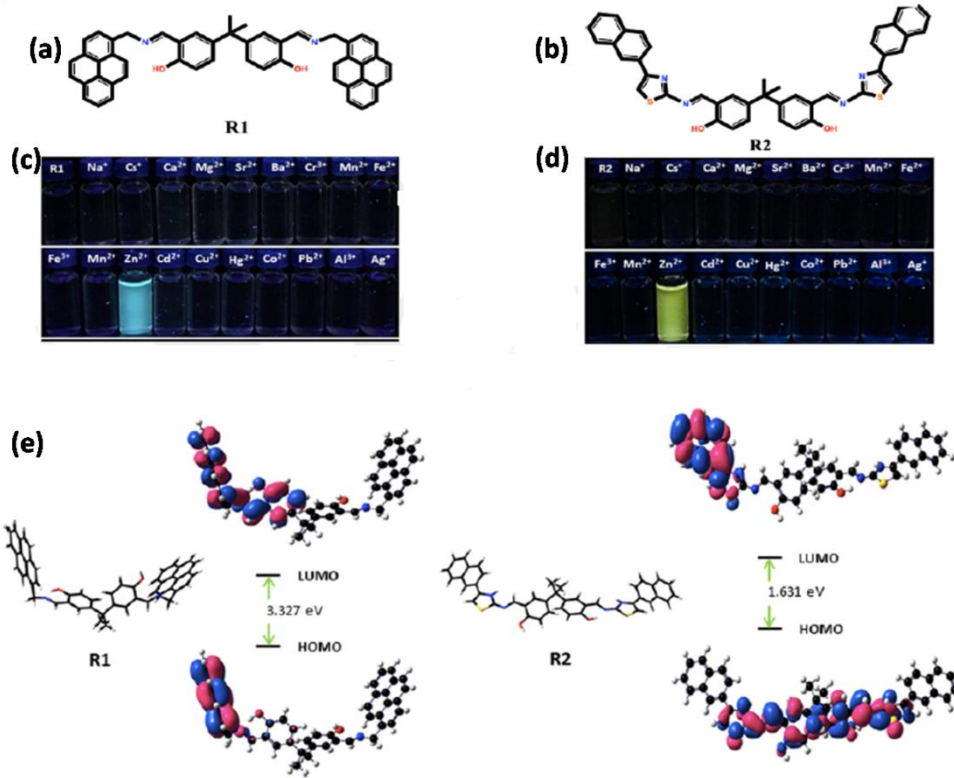
Şekil 3.3 : Sensörün Zn²⁺ metali ile verdiği kompleksin yapısal gösterimi (a), sensörün, çeşitli metal iyonları varlığında sensörün floresan grafiği (b), sensörün tersinir olarak sistein ile geri kazanım grafiği (c), Filtre kağıdı üzerinde yapılan uygulama fotoğrafı(d), sensörün Zn²⁺ ile kompleksinin insane kolon kanseri hücrelerinde floresans görüntüleme fotoğrafları (f).

Alıcı ve Aydın (2021) tarafından yapılan çalışmada yeni bir fenolftaleinden türetilmiş Schiff bazı içeren floresan prob sentezlemişler ve bu probun %50 asetonitril: %50 HEPES ortamında metal duyarlılığını incelemişlerdir. Proben çeşitli metal iyonları arasında sadece Al³⁺, ya karşıduyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Çeşitli ekuivalentlerdeki Al³⁺,nın prob çözeltisine ilave edilmesinin ardından, sonuçlar ¹H-NMR ile analiz edilmiş ve Al³⁺,nın proba hidroksil schiff bazının azot atomundan bağlı olduğu anlamışlardır (Şekil 3.4) (Alıcı ve Aydın, 2021).



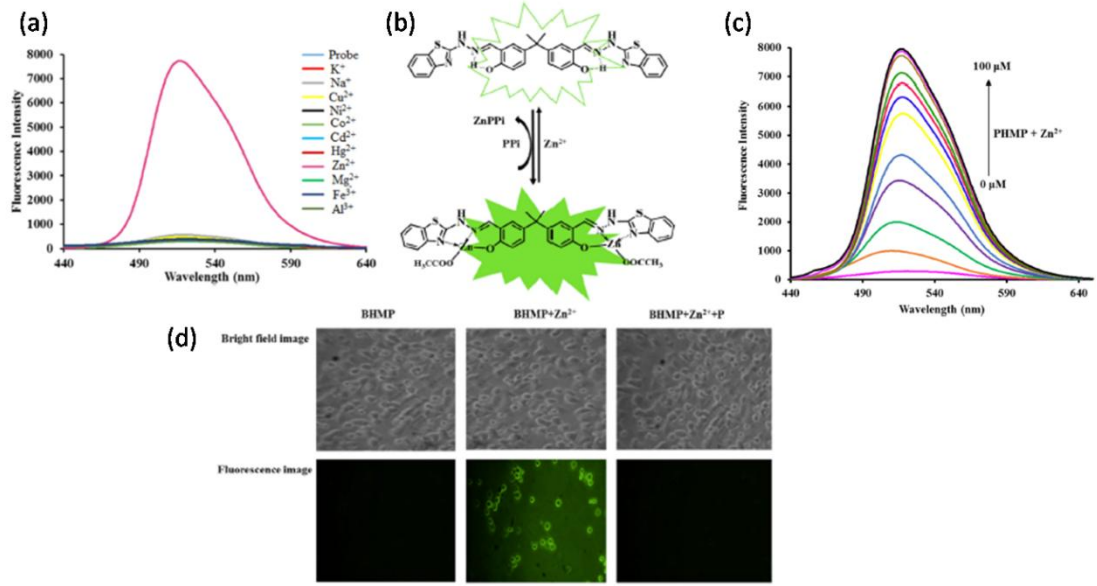
Şekil 3.4 : Sensör FF2H'nin Al³⁺ metali ile verdiği kompleksin yapısal gösterimi (a), FF2H çeşitli metal iyonları varlığında floresan grafiği (b), sensör FF2H ve belirli ekivalentlerdeki Al³⁺ (0.0-2.0 ekuiv.) ile verdiği kompleksin ¹H-NMR titrasyonu.

Tabakçı ve diğerlerinin (2019) yaptığı çalışmada, iki yeni Bisfenol-A türevi (R1 ve R2) bağlı piren ve naftiltiyazol parçaları, kondenzasyon reaksiyonu yoluyla sentezlenmişler ve EtOH/H₂O'da Zn²⁺ iyonunun seçici olarak tanınması için pozitif olarak uygulanmışlardır (Şekil 3.5a, 3.5b, 3.5c, 3.5d). Optik özelliklerini UV-vis ve floresan ölçümleri kullanılarak gözlemişlerdir. R1 ve R2, diğer metal iyonları içerisinde Zn²⁺'ya karşı yüksek seçicilik ve duyarlılık sergilemiştir. Floresan titrasyon analizi, sırasıyla 17.5 nM ve 0.94 µM'de Zn²⁺ için R1 ve R2'nin saptama sınırlarını tespit etmişlerdir. Ayrıca, teorik hesaplama ile R1 ve R2'nin optimize yapıları incelenmiştir (Tabakçı ve diğerleri, 2019) (Şekil 3.5).



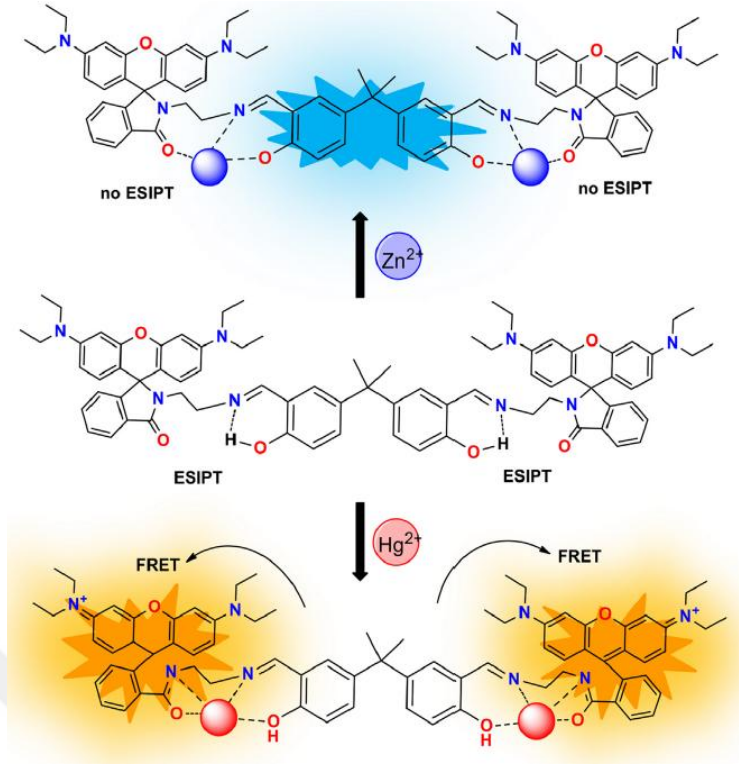
Şekil 3.5 : Sentezlenen sensör R1 ve R2' nin kimyasal yapılarının gösterimi (a ve b), çeşitli metal iyonları varlığında R1 ve R2' nin floresans fotoğrafları (c ve d) R1 ve R2' nin optimize yapılarının gösterimi (e).

Rajasekaran ve diğerleri (2020) tarafından bisfenol-A bazlı floresanda "yanma" şeklinde cevap veren bir kemosensör 4,4'-(propan-2,2-dinil)bis(2-((E)-(2-(benzo[d]tiyazol-2-yl)hidrazinetilidin) metil) fenol) (BHMP) sentezlendi ve florimetrik ve kolorimetrik algılama davranışı çeşitli iyonik türlere karşı test edildi. BHMP probu, çinko iyonlarını diğer metal iyonlarına göre seçici olarak algılamakta ve elde edilen BHMP+Zn²⁺ kompleksi, özellikle diğer anyonlara göre pirofosfat (PPI) anyonunun tanınması için ikincil bir prob görevi gördüğünü anlamışlardır. Spektroskopik çalışmalar, Zn²⁺ iyonları ile bağlantılı olarak BHMP'nin floresan artışının pirofosfat (PPI) anyonlarının varlığında söndürüldüğünü ortaya koymaktadır (Şekil 3.6). Bu seçici algılama davranışının olası bir mekanizması, hem katyonların hem de anyonların tespiti için "SÖNME-YANMA-SÖNME" stratejisi temelinde açıklanmıştır. Ayrıca, kemosensör BHMP'nin biyolojik uygulanabilirliği hücre görüntüleme çalışmaları ile incelenmiştir (Rajasekaran ve diğerleri, 2020).



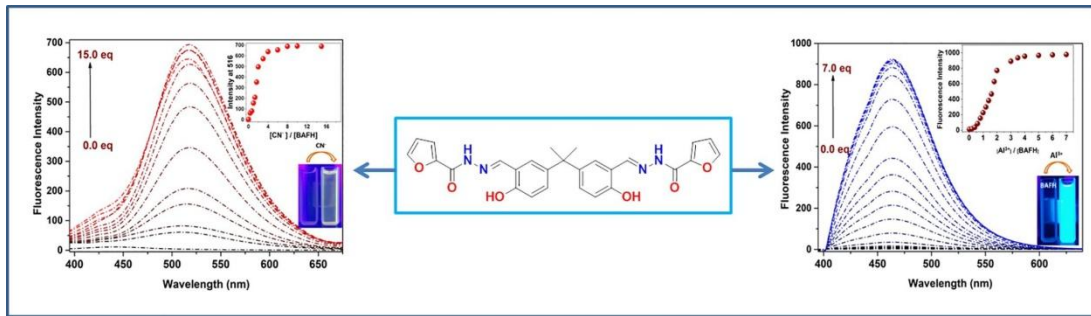
Şekil 3.6 : (a) Sensör BHMP'nin çeşitli metal iyonları varlığında floresan grafiği, (b) sensör BHMP'nin kimyasal yapılarının gösterimi, (c) Sensör BHMP'nin çeşitli metal iyonları varlığında absorbans grafiği, (d) Sensör BHMP'nin Zn²⁺ ile kompleksinin biyolojik uygulaması.

Erdemir ve diğerlerinin (2017) yaptıkları çalışmada Bisfenol-A rodamin bazlı yeni bir prob tasarlanmış ve sentezi gerçekleştirilen prob (BAR), Zn²⁺ ve Hg²⁺ iyonlarına karşı yüksek seçicilik ve hassasiyetle başarıyla sentezlenmiştir. Prob etkin olarak iki farklı mekanizma ile Zn²⁺ ve Hg²⁺ iyonlarına karşı ACN-H₂O (v/v = 8/2) içinde seçicilik göstermiştir (Şekil 3.7).



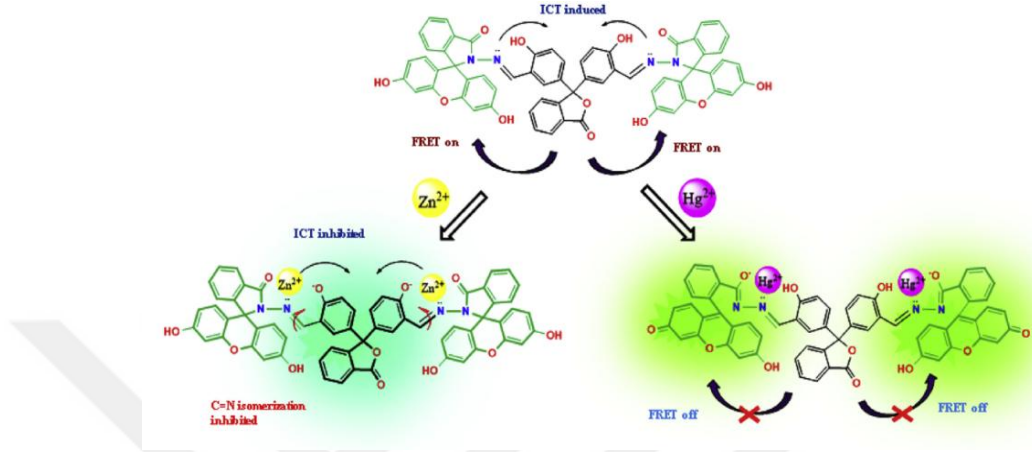
Şekil 3.7 : Probun Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonları ile olası bağlanma mekanizması.

Aydin tarafından 2020 yılında, bağlanma için Bisfenol-A ve 2-furoik hidrazit birimlerine sahip yeni ve seçici bir florojenik prob BAFH, Al^{3+} ve CN^- yi seçici olarak tanımak üzere tasarlanmış ve hazırlanmıştır. BAFH probu, diğer rekabetçi katyonlar ve anyonlara göre Al^{3+} ve CN^- için duyarlılık göstermiştir. BAFH, sırasıyla 2,66 ve 4,81 nm'lik düşük bir algılama değeriyle alüminyum ve siyanürü etkili ve seçici bir şekilde tanıyabildiği gözlemlenmiştir. BAFH'nin seçicilik ve duyarlılık davranışı, rekabetçi anyonlar ve katyonların varlığında elde edilmiş ve ACN:HEPES (%80:%20) ortamında Al^{3+} ve CN^- 'nin tanınması için mükemmel bir özellik sağlar (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 : Bisfenol-A tabanlı floresan probun kimyasal yapısı ve çeşitli ekuivaletlerdeki alüminyum ve siyanür iyonları ile titrasyon grafiği.

Erdemir (2017) tarafından bir fenolftalein-floresein boya türevli yeni bir sensör tasarlandı, sentezlendi ve karakterize edildi. Sentezlenen sensör, Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarına karşı seçici ve duyarlı olarak tanıma gösterdi (Şekil 3.9). Probu Zn^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarına 1:2 stokiyometride (prob:metal) bağlandığı Job's metodu ile hesaplararak tespit edildi.



Şekil 3.9 : Yeni tip fenolftalein-floresein boya türevli sensörün Zn^{2+} ve Hg^{2+} ile verdiği komplekslerin yapısal gösterimleri.



4. MATERYAL VE METOD

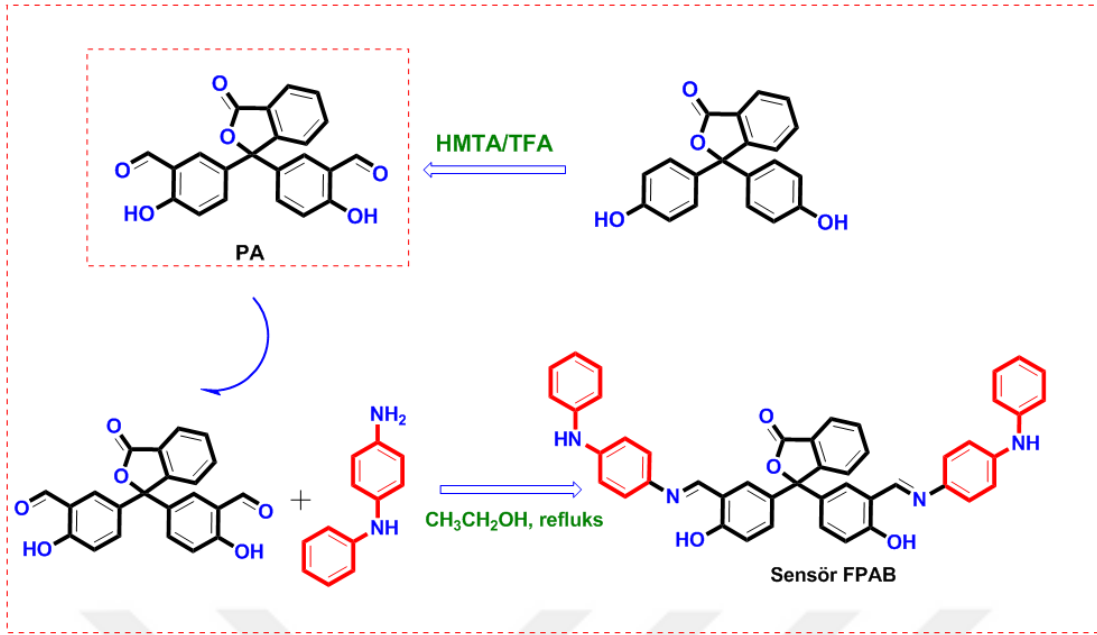
4.1 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

Sentezlenen moleküllerin yapı analizleri NMR spektrumu Bruker 400 MHz spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve alınan spektrumların kimyasal kayma değerleri (δ) ppm birimi türünden ifade edilmiştir. Sentezlenen malzemelerin kütle analizleri Agilent TOF-MS 6230 Spektrometresi ve Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization–Time of Flight kütle spektrometresi (MALDI–TOF MS) (Bruker Microflex™ LT MALDI–TOF MS, Massachusetts, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yer alan pH ölçümleri, masaüstü pH metre (Mettler Toledo, Zaventem, Hollanda) kullanılarak elde edilmiştir. Çalışmada yapılan floresans çalışmaları için Agilent Cary Eclipse Floresans Spektrometre cihazı ve UV-vis spektrumları için ise Shimadzu 1280 spektrofotometresi kullanılmıştır.

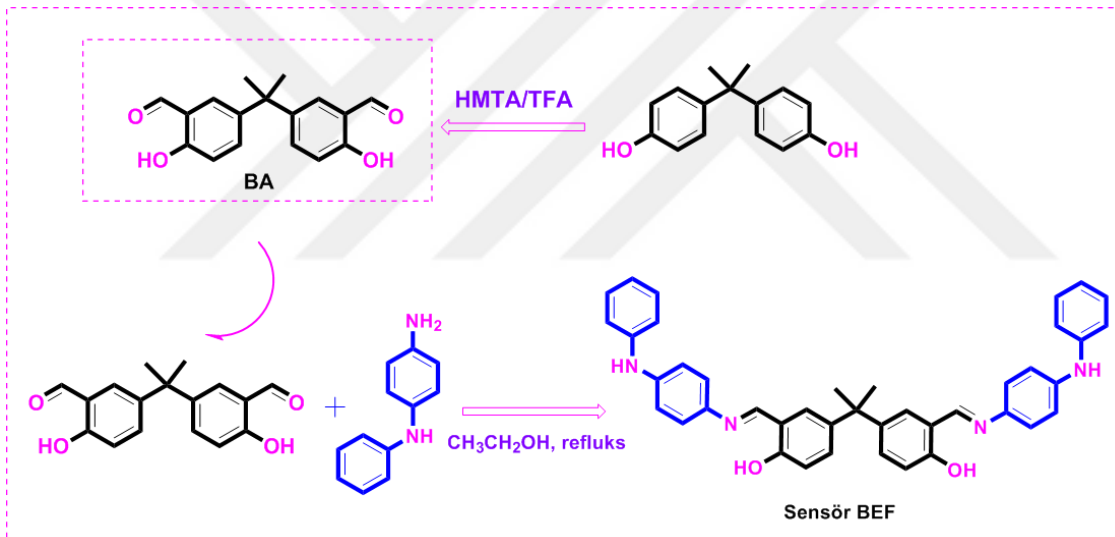
Bu çalışma kapsamında sentez ve floresan faaliyetleri sırasında kullanılan bütün kimyasal madde ve çözücülerin tümü analitik saflıkta ve Merck ve Sigma-Aldrich, firmalarından temin edilmiştir.

4.2 Sentezler

Tez kapsamında sentezlenen tüm moleküllerin yapıları şematik olarak Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Bu çalışmada yer alan bazı sentez bileşikleri literatürdeki metotlara uygun olarak tasarlanarak sentezlenmiştir.

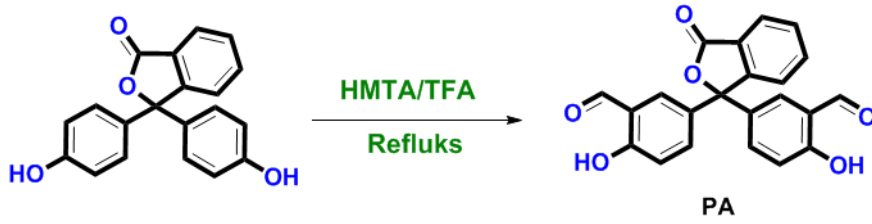


Şekil 4.1 : Sensör FPAB'ın sentezi.



Şekil 4.2 : Sensör BEF'ın sentezi.

4.2.1 Dialdehit türevli fenolftalein sentezi (PA)



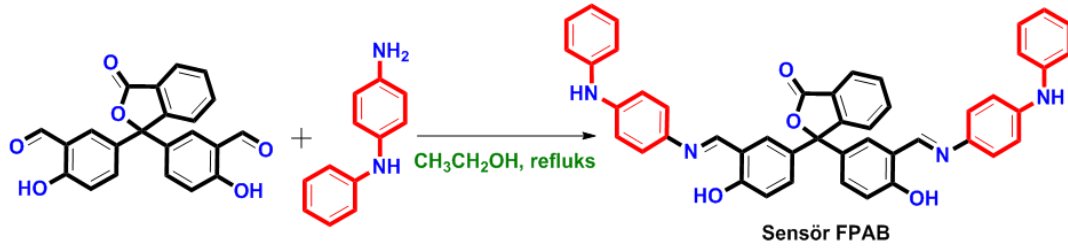
Şekil 4.3 : Dialdehit türevli fenolftalein sentezi (PA).

Dialdehit türevli fenolftalein bileşiğinin sentezi literatüre göre gerçekleştirilmiştir (Alıcı ve Aydın, 2021). Fenolftalein (0.5 g, 1.57 mmol) ve heksametilentetraamin (6.0 mmol, 320 mg), 60 mL trifloroasetik asit (TFA) içerisinde 24 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatıldı. 24 saat sonunda, karışım soğutularak üzerine 100 mL su ilave edildi ve kloroform (3x25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz ayrılarak sodyum sülfat ile kurutulup süzildükten sonra, organik çözücü vakum altında uçuruldu ve beyaz renkli katı elde edildi. Reaksiyon verimi % 84'dür. Anal. Hesaplanan: $C_{22}H_{14}O_6$: C, 70.59; H, 3.77. Bulunan: C, 70.98; H, 3.75.

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.11 (s, 2H, OH), 10.21 (s, 2H, CHO), 7.93 (d, J = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.83 (dd, J = 20.7, 7.4 Hz, 2H, ArH), 7.67 (t, J = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.52 (s, 2H, ArH), 7.43 (d, J = 8.7 Hz, 2H, ArH), 7.03 (d, J = 8.7 Hz, 2H, ArH).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 191.05, 169.12, 161.45, 151.62, 135.74, 135.34 (s), 131.74, 130.57, 126.66, 126.20, 124.71, 122.22, 118.58, 90.58.

4.2.2 Sensör FPAB'ın sentezi



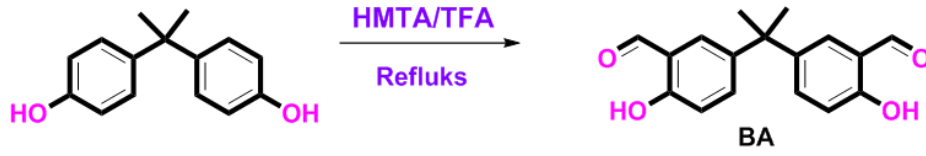
Şekil 4.4 : Sensör FPAB'ın sentezi.

0.5 g (1.34 mmol) fenolftalein di-aldehit bileşiği 10 mL etanol içerisinde çözüldü ve 0.27 mg (1.46 mmol) N-fenilbenzen-1,4-diamine etanol içerisindeki çözeltisi üzerine ilave edildi. Karışım 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak kaynatıldı. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra oda sıcaklığına soğutuldu. Reaksiyon kabında oluşan çökelek süzüldü ve etanol ile yıkanarak vakumlu etüvde kurutuldu. Elde edilen ürünün (**FPAB**) verimi % 82' dir. Anal. Hesaplanan: $C_{46}H_{34}N_4O_4$: C, 78.17; H, 4.85; N, 7.93. Bulunan: C, 78.98; H, 4.75; N, 7.82. **FTIR**: 1752 cm^{-1} ($C=O$), 1671 cm^{-1} ($HC=N$).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13.82 (s, 2H), 8.98 (s, 2H), 8.43 (s, 2H), 7.97 (d, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H), 7.90 (d, $J = 3.0\text{ Hz}$, 2H), 7.71 (m, 1H), 7.62 (d, $J = 2.2\text{ Hz}$, 2H), 7.38 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 4H), 7.32 – 7.21 (m, 6H), 7.14 – 7.07 (m, 8H), 6.98 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 2H), 6.87 (t, $J = 7.3\text{ Hz}$, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 160.87, 159.65, 143.71, 143.12, 139.20, 135.68, 131.65, 131.40, 130.68, 129.73, 126.08, 124.94, 123.17, 120.83, 119.67, 117.90, 117.48, 116.96.

4.2.3 Dialdehit türevli Bisfenol A'nın sentezi



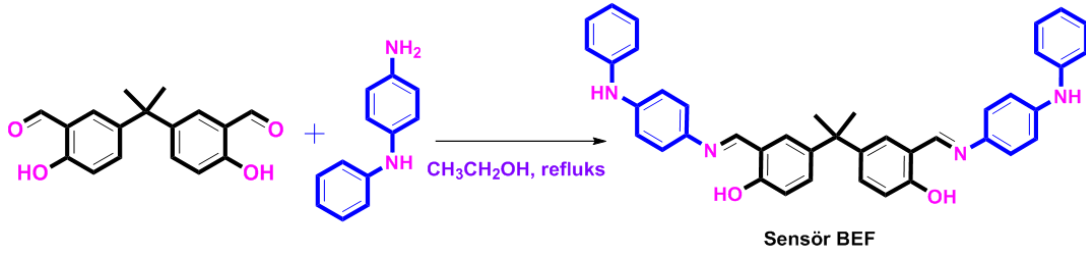
Şekil 4.5 : Bisfenol-A dialdehit bileşiğinin sentezi.

0.5 g (2.19 mmol) bisfenol-A ve 3.68 g (26.28 mmol) HMTA, 60 mL TFA içerisinde 24 saat boyunca geri soğutucu altında karıştırılarak kaynatılır. 24 saat bitiminde, karışım oda sıcaklığına soğutuldu üzerine 100 mL su ilave edildi ve kloroform (3x25 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik fazlar ayrılarak Na₂SO₄ ile kurutuldu. Çöken kısım süzüldü, çözücü vakum altında evaporatörde uçurularak ve sarı renkli yağmsı ürün elde edildi (Aydın, 2020). Anal. Hesaplanan: C₁₇H₁₆O₄: C, 71.82; H, 5.67. Bulunan: C, 70.98; H, 5.75.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.93 (s, 2H), 9.85 (s, 2H), 7.43 (s, 2H), 7.34 (d, 2H, J=8.4 Hz), 6.91 (d, 2H, J=8.6 Hz), 1.70 (s, 6H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 196.59, 159.91, 141.50, 136.04, 130.77, 119.98, 117.62, 41.70, 30.67.

4.2.4 Sensör BEF'in sentezi



Şekil 4.6 : Sensör BEF'in sentezi.

0.5 g (1.76mmol) bisfenol-A di-aldehit bileşiği 10 mL etanol içerisinde çözüldü. 0.35 mg (1.92mmol) N-fenilbenzen-1,4-diamin bileşiği, dialdehit çözeltisi üzerine ilave edildi. Elde edilen karışım 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak kaynatıldı. Sıcak çözelti oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve süzüldü. Elde edilen katı bileşik etanol ile yıkandı ve vakumlu etüvde kurutuldu. Reaksiyonun verimi: %72' dir. C₄₁H₃₆N₄O₂: C, 79.84; H, 5.88; N, 9.08. Bulunan: C, 79.98; H, 5.75; N, 8.82.

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13.36 (s, 2H), 8.93 (s, 2H), 8.41 (s, 2H), 7.37 (d, J = 8.0 Hz, 3H), 7.29 – 7.23 (m, 6H), 7.20 (d, J = 8.6 Hz, 3H), 7.11 (d, J = 7.0 Hz, 8H), 6.86 (d, J = 7.2 Hz, 4H), 2.08 (s, 6H).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 160.28, 158.57, 143.40, 143.25, 141.28, 139.76, 131.58, 129.72, 122.97, 120.68, 119.24, 117.75, 117.13, 116.66, 115.19, 114.04, 31.16.



4.3 Spektrofotometrik Çalışmaları

4.3.1 Sensörün duyarlılığının incelenmesi

Çalışmada sentezlenen **FPAB** ve **BEF** moleküllerinin sensör özelliğini incelemek için ilk olarak DMSO içerisinde 1×10^{-2} M konsantrasyonundaki stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra UV-Vis spektrofotometrede alınan absorpsiyon spektrumları ve floresans spektrofotometrede alınan floresans spektrumları kullanılarak sentezlenen moleküllerin spektrofotometrik ölçümleri gerçekleştirilerek sentezlenen moleküllerin metal iyonlarına karşı duyarlı olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla; Hg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Sr^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} iyonlarının perklorat tuzları kullanılmış ve metal çözeltileri 10^{-2} M derişimde asetonitril (ACN) içerisinde hazırlanmıştır. Sensörlerin bakır iyonlarına karşı duyarlılıklarının tespit edilmesinin ardından, sensörler için çalışmada kullanılacak optimum konsantrasyonlar; yapılan ön denemeler sonucunda **FPAB** için 5×10^{-5} M (50 μM), ve **BEF** için 5×10^{-5} M (50 μM) olarak belirlenmiştir. Floresan spektroskopisinde ön tarama (pre-scan) modülü ile uyarılma dalga boyu her iki sensör içinde 390 nm olarak belirlenmiş (slit: 10 nm) ve prob çözeltileri üzerine belirli oranlarda Cu^{2+} çözeltisi ilave edilmesiyle floresan seçicilik çalışmaları ve titrasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Titrasyon deneylerinden elde edilen veriler kullanılarak, sensörlerin Cu^{2+} iyonları ile çalışma aralıkları, bağlanma sabiti (Benesi Hildebrand sabiti) ve Cu^{2+} iyonlarını tayin limiti (LOD) belirlenmiştir. Ayrıca, sentezlenen sensörlerin uygun çalışma koşullarının tespit edilmesi amacıyla, sensörlerin Cu^{2+} iyonlarına karşı cevap süreleri ve pH ile ilgili araştırmaları gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen moleküllerin herhangi bir metal iyonuna karşı kolorimetrik olarak duyarlı olup olmadığı ise **FPAB** için 5×10^{-5} ve **BEF** için 5×10^{-5} M derişimindeki çözeltilerine çeşitli metal iyonu çözeltileri (Hg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Sr^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+}) ilave edilmesiyle incelenmiştir. Her iki sensör için 390 nm uyarılma dalga boyunda gerçekleştirilen floresans ölçümleri sonucu, sırasıyla **FPAB** için 556 nm ve **BEF** için 560 nm emisyon bandları kaydedilmiştir (slit: 10 nm).

4.3.2 Kompleks bağlanma sabiti (Benesi Hildebrand sabiti), etkileşim stokiyometrisi

Sentezi gerçekleştirilen **FPAB** ve **BEF** moleküllerinin bakır iyonlarına karşı duyarlılığı tespit edilmesinin ardından, **FPAB** ve **BEF** moleküllerinin Cu^{2+} iyonlarına karşı bağlanma sabitleri hesaplanmıştır. Bu hesaplama işlemi için Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılmıştır.

Benesi-Hildebrand eşitliği;

$$1/(I-I_0) = 1/\{K (I_{\max}-I_0) [M]^n \} + 1/[I_{\max}-I_0]; \quad (4.1)$$

şeklindedir ve bu eşitlikte;

I_0 ; iyon yokluğunda sensör molekülünün floresans şiddetini

I ; belirli bir konsantrasyondaki iyon varlığında sensör molekülün floresans şiddetini

$I_{\max}$; sensör molekülünün ortamda bulunan iyonla etkileşim sonucundaki maximum floresans şiddetini

K ; bağlanma sabitini

$[M]$; metal iyonunun konsantrasyonunu

n ise sensör molekülü ve metal iyonu için etkileşim stokiyometrisini ifade etmektedir.

Çalışmada gerçekleştirilen komplekslerin bağlanma sabiti, elde edilen $1/(I-I_0)$ değerlerinin $1/[M]^n$ değerine karşı oluşturulan grafiğin eğiminden hesaplanmıştır.

Ayrıca, bu tez çalışmasında elde edilen komplekslerin oluşum stokiyometrisi Job's plot analizi kullanılarak belirlenmiştir. Bu analiz için,

$$I_{\text{job}} = (1 - X)I_0 - I \quad (\text{Eşitlik: 4.2})$$

denklemini kullanılmıştır. Bu denklemde yer alan I_0 iyon yokluğunda ve I ise iyon varlığında floresans şiddetlerini ayrıca formülde yer alan X simgesi iyonunun mol kesrini ifade etmektedir (Zhan ve diğerleri., 2014).

4.3.3 Sensörün Tayin Limiti

Ayrıca $3s/k$ eşitliği (Eşitlik: 4.3) yardımıyla her bir reseptör molekül-metal iyon çifti için dedeksiyon limiti (LOD) değerleri de hesaplanmıştır. Formülde yer alan s ; standart sapma ve k ; floresanstitrasyon grafiğinin eğimini ifade etmektedir.

4.3.4 Teorik hesaplamalar

Sentezlenen **FPAB** ve **BEF** molekülerinin ve bu sensörlerin bakır iyonları ile oluşturduğu komplekslerin geometrik optimize yapıları, hesaplamalı kimyanın yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) kullanılarak hesaplanmıştır. Sensörlerin optimizasyon yapıları B3LYP ve 6-31G* temel seti kullanılarak elde edilmiş ve böylece tez kapsamında sentezlenen her iki sensör molekülünde sensörlerin olası HOMO ve LUMO enerji değerleri belirlenmiştir.



5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Sentezlenen Sensör FPAB'ın Karakterizasyonu

Bu tez çalışmasında, fenolftalein dialdehit temelli bakır iyonlarına karşı duyarlı yeni bir sensör (schiff bazı) sentezlendi ve sentezlenen sensörün bakır iyonlarını algılamadaki kolorimetrik ve florimetrik tepkileri incelenmiştir. Hedef sensöre (**FPAB**) ulaşmak için ilk olarak başlangıç maddesi olan dialdehit türevli fenolftalein literatüre uygun olarak sentezlendi. Bu amaçla, fenolftalein ve hekzametilentetraamin (HMTA) trifloroasetik asit (TFA) içerisinde reaksiyona sokularak dialdehit türevli fenolftalein'e (**PA**) dönüştürüldü. Sentezlenen dialdehit türevli fenolftalein bileşiğinin kimyasal yapısı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile karakterize edildi. Spektrumların incelenmesi sonucu, aldehit grubuna ait δ 10.21 ppm (^1H -NMR) proton ve 191.05 ppm (^{13}C -NMR) deki karbon sinyalleri dialdehit türevli fenolftalein molekülünün başarılı bir şekilde sentezlendiğini kanıtlamaktadır (Şekil A1 ve Şekil A2).

Sentezi gerçekleştirilen dialdehit türevli fenolftalein etanol ortamında N-fenilbenzen-1,4-diamin ile reaksiyonundan hedef reseptör **FPAB** elde edildi. Sentezi gerçekleştirilen fenolftalein tabanlı **FPAB** molekülünün yapısı spektroskopik teknikler (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) yardımıyla aydınlatıldı. Sentezlenen **FPAB** molekülüne ait ^1H -NMR spektroskopi analiz sonuçları incelendiğinde δ 10.21 ppm'deki aldehit gruplarının kimyasal kayma değerlerinin kaybolarak aldehit gruplarının imin gruplarına dönüştüğü δ 8.98 ppm'de gözlenen Schiff bazı ($\text{CH}=\text{N}$) piklerinin varlığından açıkça anlaşılmaktadır. Spektrumda var olan diğer proton sinyallerine ait integrasyon değerlerinin **FPAB** molekülünün yapısı ile uyumlu olduğuda anlaşılmaktadır. Ayrıca, ^{13}C -NMR spektrumunda moleküldeki $-\text{C}=\text{N}$ pikinin δ 160.87 ppm'de gözlenmesi, **FT-IR** spektrumunda karbonil grubuna ait 1752 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{O}$ pikinin ve 1671 cm^{-1} 'deki $\text{HC}=\text{N}$ pikinin varlığı sentezin başarılı olarak gerçekleştiğinin diğer kanıtlarındandır (Şekil A4, Şekil A5 ve Şekil A6).

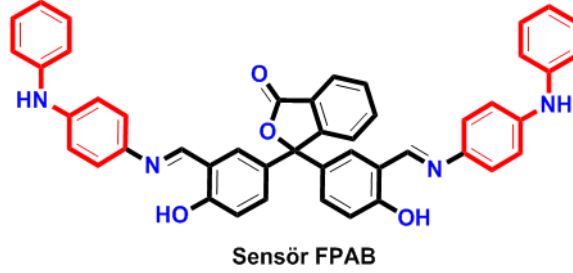
5.2 Sentezlenen Sensör BEF'in Karakterizasyonu

Çalışmada, bisfenol-A dialdehit temelli yeni Schiff bazı sentezi gerçekleştirilmiş ve sensörün çeşitli metal iyonlarına karşı kolorimetrik ve florimetrik tepkileri incelenmiştir. Hedef sensör **BEF**'e ulaşmak için ilk olarak başlangıç maddesi olan dialdehit türevli bisfenol-A bileşiğinin sentezi gerçekleştirildi. Bu amaçla, Bisfenol-A ve hekzametilentetraamin (HMTA) trifloroasetik asit (TFA) içerisinde geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu ve böylece dialdehit türevli Bisfenol-A'ya (BA) dönüştürüldü. Sentezlenen dialdehit türevli bisfenol-A (BA) bileşiğinin kimyasal yapısı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik teknikleri kullanılarak karakterize edildi. Spektrumların incelenmesi sonucu aldehit grubuna ait δ 9.85 ppm (^1H -NMR) ve 196.59 ppm (^{13}C -NMR) deki proton ve karbon sinyalleri bisfenol-A dialdehit molekülünün başarılı bir şekilde sentezlendiğini kanıtlamaktadır.

Sentezi gerçekleştirilen dialdehit türevli bisfenol-A etanol varlığında N-fenilbenzen-1,4-diamin ile reaksiyonu sonucu hedef reseptör **BEF** elde edildi. **BEF** molekülünün kimyasal yapısı spektroskopik teknikler (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) yardımıyla aydınlatıldı. **BEF** molekülüne ait ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopi analiz sonuçları incelendiğinde aldehit gruplarının imin gruplarına dönüştüğü δ 8.93 ppm' de gözlenen Schiff bazı (CH=N) piklerinin varlığından açıkça anlaşılmaktadır. Spektrumda var olan diğer proton sinyallerine ait integrasyon değerlerinin **BEF** molekülünün yapısı ile uyumlu olduğuda anlaşılmaktadır. Ayrıca, ^{13}C -NMR spektrumunda moleküldeki (C=N) pikinin δ 160.28 ppm'de gözlenmesi sentezin başarılı olarak gerçekleştiğinin diğer kanıtlarındandır (Şekil A7 ve A8).

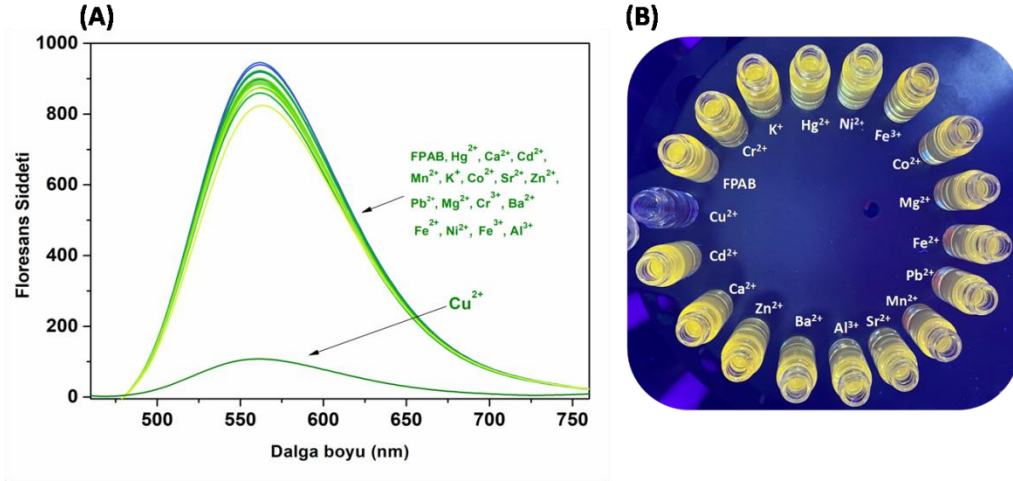
5.3 Spektroskopik Ölçümler

5.3.1 Reseptör FPAB'in katyonlara karşı floresan ve absorpsiyon özellikleri



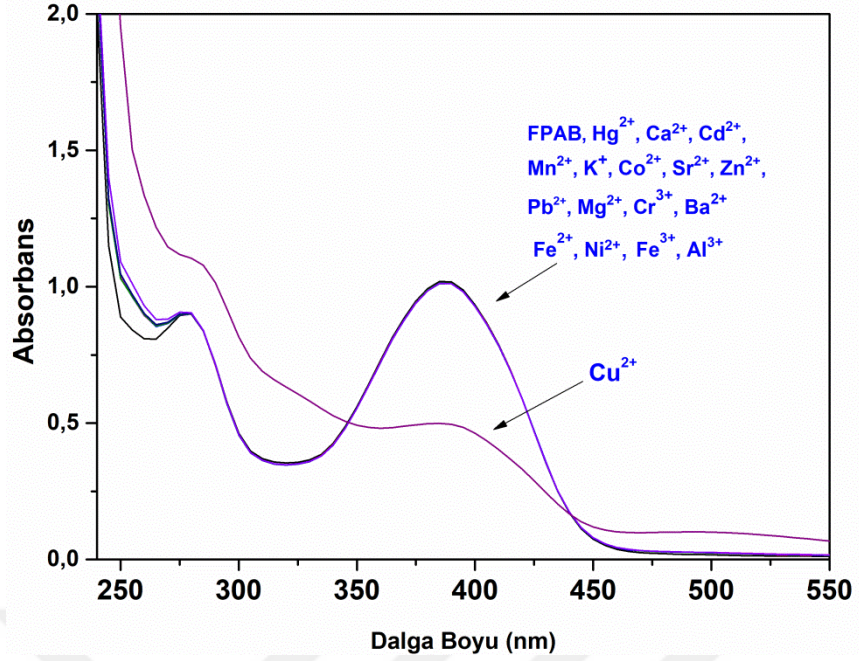
Şekil 5.1 : Sensör **FPAB**'ın molekül yapısı.

Geliştirilen fenolftalein tabanlı **FPAB** molekülünün ACN/HEPES (50/50) ortamında hazırlanan 50.0 μM çözeltisi üzerine çeşitli metal iyonlarının çözeltileri eklenerek sensörün metal iyonlarına karşı duyarlılığı araştırılmıştır. ACN/HEPES (50/50) çözücü ortamındaki **FPAB** (5×10^{-5} M) çözeltisine 10.0 ekivalent çeşitli katyon çözeltileri ilave edilmesinin ardından 390 nm'de uyarılma ile floresans ölçümleri alınmıştır. Şekil 5.2 A'daki grafik incelendiğinde, sensör **FPAB**'ın test edilen katyonlar arasında sadece Cu^{2+} iyonuna karşı florometrik olarak duyarlı olduğunu görülmektedir. Şekil 5.2 A'dan görüldüğü üzere, 556 nm'deki **FPAB** sensörüne ait emisyon bandında sadece Cu^{2+} iyonu varlığında sönümlenme gözlenmiştir. Diğer metal iyonlarının ise sensör **FPAB**'ın emisyon bandında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Şekil 5.2A), ve UV ışığı altında alınan fotoğraflar ile bu durum görselleştirilmiştir (Şekil 5.2B). Katyonlar arasında sadece Cu^{2+} çözeltisi eklendikten sonra meydana gelen floresandaki sönümlenme, bakır(II) iyonlarının ağır metal etkisinden kaynaklanmaktadır (Aydın D, ve ark, 2022). Floresans çalışmalarında optimum emisyon dalga boyu olarak 556 nm kullanılmış ve yapılan analizlerde 556 nm'de bakır iyonlarına karşı yüksek seçicilik ve hassasiyeti elde edilmiştir. Yapılan ölçümler neticesinde sensör **FPAB**, fluorimetrik olarak sadece Cu^{2+} iyonları için seçimli bir sensör olduğu saptanmıştır.



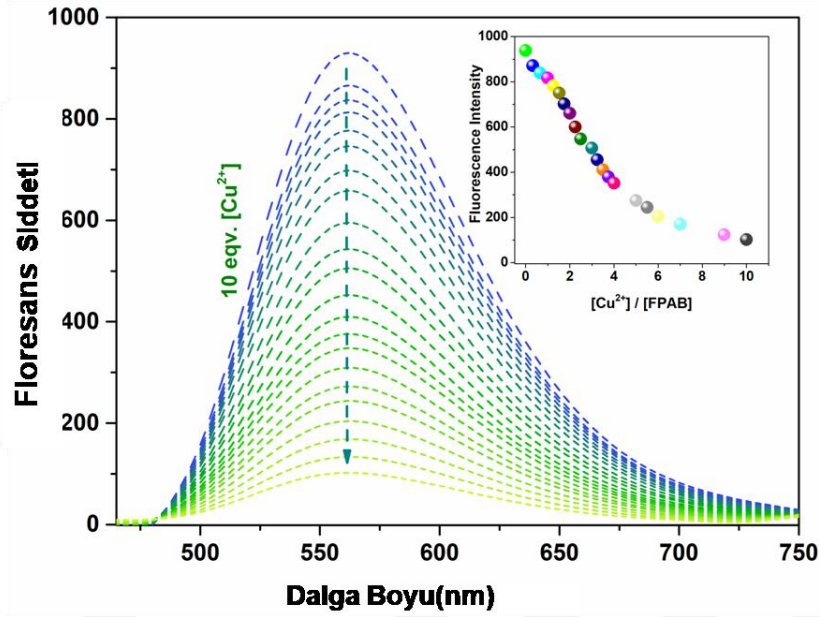
Şekil 5.2 : (A) **FPAB**'ın farklı katyonlara karşı floresan spektrumu ve (B) **FPAB** çözeltisinin farklı metal iyonları varlığında ve yokluğunda UV ışığı altında (365 nm) alınan fotoğrafları.

Floresanda alınan ölçümlere ilave olarak, **FPAB** molekülünün herhangi bir metal iyonuna karşı kolorimetrik olarak duyarlı olup olmadığı da incelenmiştir. Bu inceleme için ilk olarak, ACN/HEPES (50/50) çözücü karışımında hazırlanan **FPAB**'ın 5×10^{-5} M'lık çözeltisi UV-vis spektrofotometresi ile incelenmiştir. **FPAB**'ın UV spektrofotometrisinde 321 ve 383 nm dalga boylarında $n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerinden kaynaklandığını düşündüğümüz iki farklı pikin olduğu gözlemlenmiştir. **FPAB** çözeltisi üzerine farklı metal iyonlarının (10.0 ekivalent) ilave edilmesi sonucu absorbans değerleri ölçülmüştür. Şekil 5.3'te görüldüğü gibi **FPAB** molekülü test edilen metal iyonlarına karşı seçimli kolorimetrik cevabı sadece Cu^{2+} iyonlarına karşı göstermiştir ve bu cevap çözeltinin renginin sarıdan renksiz hale dönüşmesi ile kanıtlanmaktadır. Yani **FPAB**'ın diğer metallerin varlığında absorbans şiddetinde herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir.



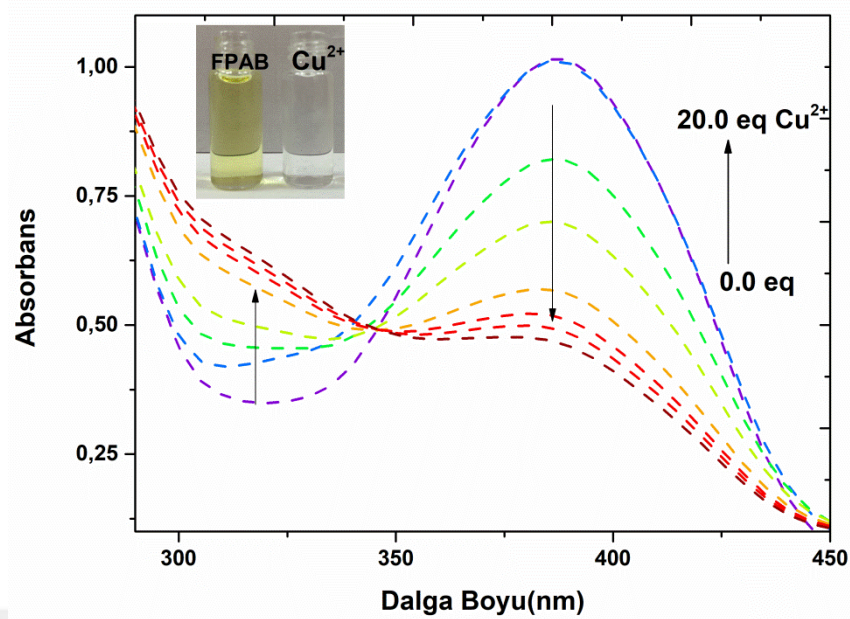
Şekil 5.3 : FPAB sensörünün çeşitli katyonlar varlığında absorbans grafiği.

FPAB molekülünün Cu^{2+} iyonuna karşı seçimli olduğunun tespit edilmesinin ardından, FPAB ve Cu^{2+} iyonu arasındaki etkileşimi daha detaylı incelemek için floresanstitrasyon çalışları yapılmıştır. Bu çalışma 50.0 μM FPAB çözeltisine farklı derişimlerde bakır iyonlarını (0-10.0 ekivalent) içeren çözeltiler eklenerek gerçekleştirilmiştir. Grafikten de görüldüğü gibi FPAB'ın 556 nm'deki dalga boyundaki emisyon şiddetinde Cu^{2+} derişimi arttıkça, emisyon şiddetinde kademeli azalma gözlemlenmiş ve sonrasında emisyon bandının şiddetinde bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 5.4).



Şekil 5.4 : **FPAB** molekülünün çeşitli ekivalentlerdeki (0-10 ekuivalent) Cu^{2+} varlığında floresanda titrasyon grafiği.

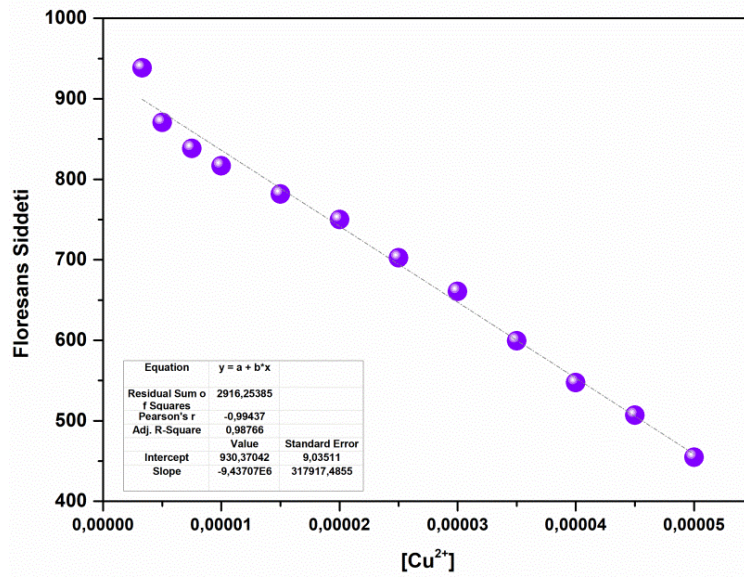
FPAB molekülüne ait elektronik geçişlerin Cu^{2+} iyonu varlığında nasıl değiştiği, **FPAB** çözeltisi üzerine çeşitli konsantrasyonlarda Cu^{2+} eklemesi ile UV spektrofotometresi ile incelenmiştir. **FPAB** molekülünün Cu^{2+} metal iyonuna karşı verdiği cevap incelenmiştir. Şekil 5.5’da görüldüğü gibi sensör **FPAB**’a ait 321 nm’de yer alan absorban pikinin şiddeti, Cu^{2+} iyonu varlığında artmakta fakat 383 nm gözlemlenen pik ise kademeli olarak ilave edilen Cu^{2+} miktarına bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. 383 nm’deki pikteki azalmanın ise 10 ekivalent Cu^{2+} ilavesi ile sabitlendiği gözlemlenmiştir. Gerçekleştirilen titrasyon çalışmaları, tez kapsamında sentezlenen sensör **FPAB**’ın görsel olarak basit bir operasyon ile Cu^{2+} tanıma için kullanılabilme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.5 : FPAB molekülünün çeşitli ekivalentlerdeki (0-20 equiv.) Cu²⁺ varlığında UV-vis titrasyon grafiği.

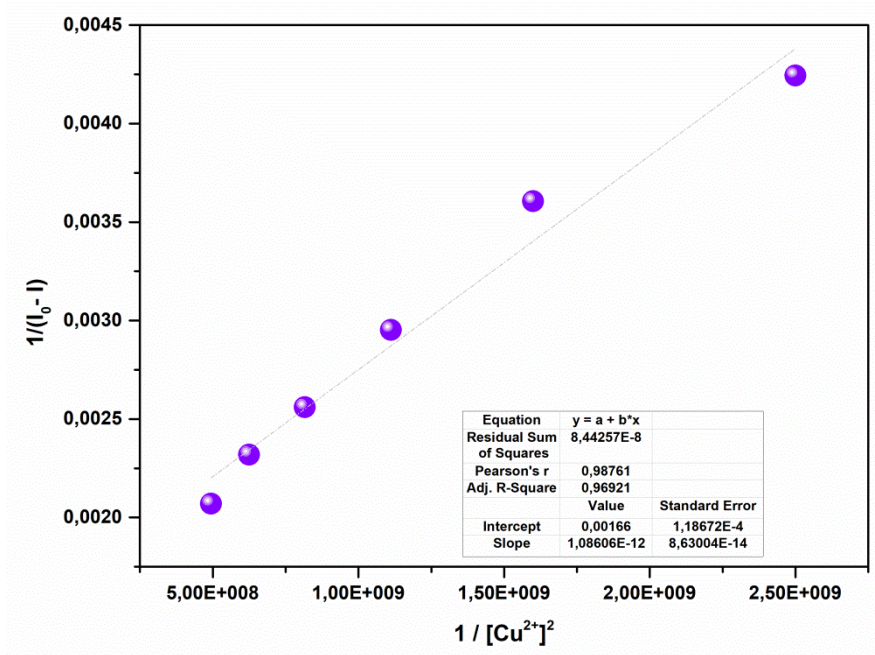
5.3.1.1 Tayin limiti (LOD) ve Benesi Hildebrand bağlanma sabiti

Cu²⁺ iyonlarının çok düşük ekivalentte **FPAB** çözeltisine ilavesi ile başlayan titrasyon çalışmasından elde edilen verilerden faydalanılarak, **FPAB**'ın Cu²⁺ iyonu konsantrasyonuna karşı kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Şekil 5.6'da görüldüğü gibi emisyon şiddeti, artan Cu²⁺ konsantrasyonuna karşı kademeli olarak azalış göstermektedir. LOD hesaplaması için verilen eşitlik 4.3 kullanılmış ve sonuçta **FPAB**'ın Cu²⁺ için algılama limiti 84 nM olarak bulunmuştur. Bu değer dünya sağlık örgütü tarafından belirlenen içme sularındaki Cu²⁺ iyonu konsantrasyon limiti değerinden oldukça düşüktür.



Şekil 5.6 : Farklı konsantrasyonlardaki Cu^{2+} iyonlarına karşı **FPAB** molekülündeki floresans grafiği (λ_{ex} : 390 nm).

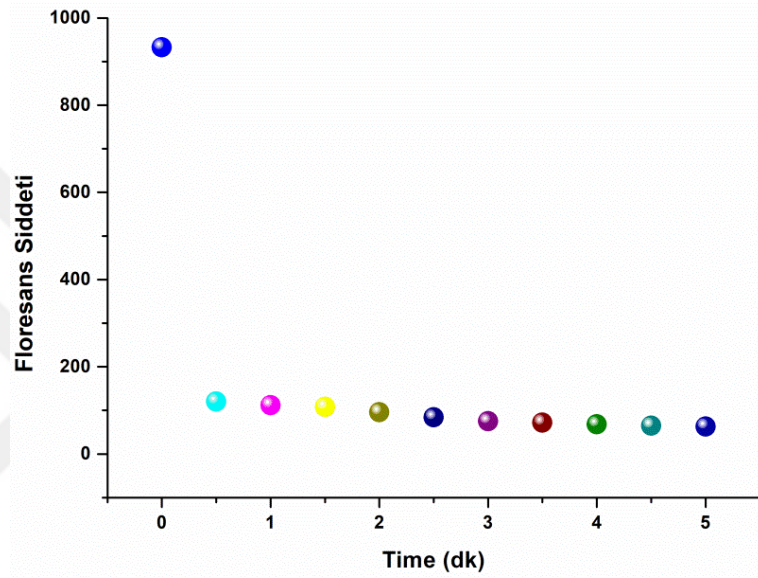
Ayrıca, **FPAB**- Cu^{2+} için bağlanma sabiti eşitlik 4.1'deki formül kullanılarak hesaplanmış ve **FPAB**- Cu^{2+} için bağlanma sabiti $1,534 \times 10^9 \text{ M}^{-2}$ olarak bulunmuştur (Şekil 5.7).



Şekil 5.7 : **FPAB**- Cu^{2+} (1:2) kompleksine ait Benesi-Hildebrand Grafiği (λ_{em} : 556 nm).

5.3.1.2 FPAB'ın cevap süresi

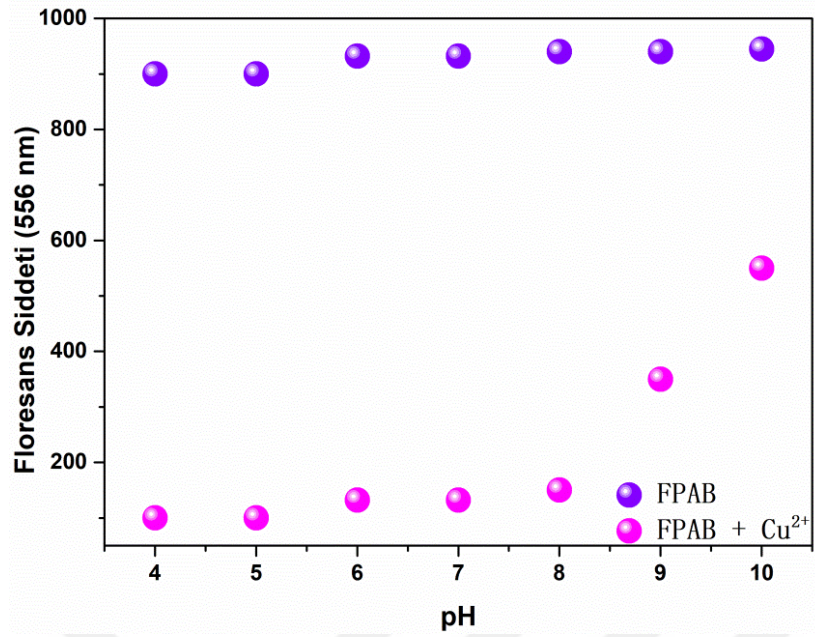
Optik sensör **FPAB**' ın Cu^{2+} iyonları varlığında ve yokluğunda zamana bağlı floresan şiddetindeki değişim, **FPAB** ve **FPAB- Cu^{2+}** sisteminin emisyonundaki değişikliklerin kaydedilmesiyle gerçekleştirilmiştir. **FPAB** yaklaşık 30 saniye gibi kısa bir süre içerisinde Cu^{2+} iyonları ile kararlı bir kompleks oluşturmuş ve bu süreden sonra emisyon şiddetinde herhangi bir değişim gözlemlenmesi oluşan stabil kompleksi kanıtlamaktadır (Şekil 5.8).



Şekil 5.8 : **FPAB** molekülünün 556 nm'de Cu^{2+} varlığında cevap süresi grafiği (ACN : HEPES (50/50)), (eks:390 nm).

5.3.1.3 FPAB'ın pH çalışması

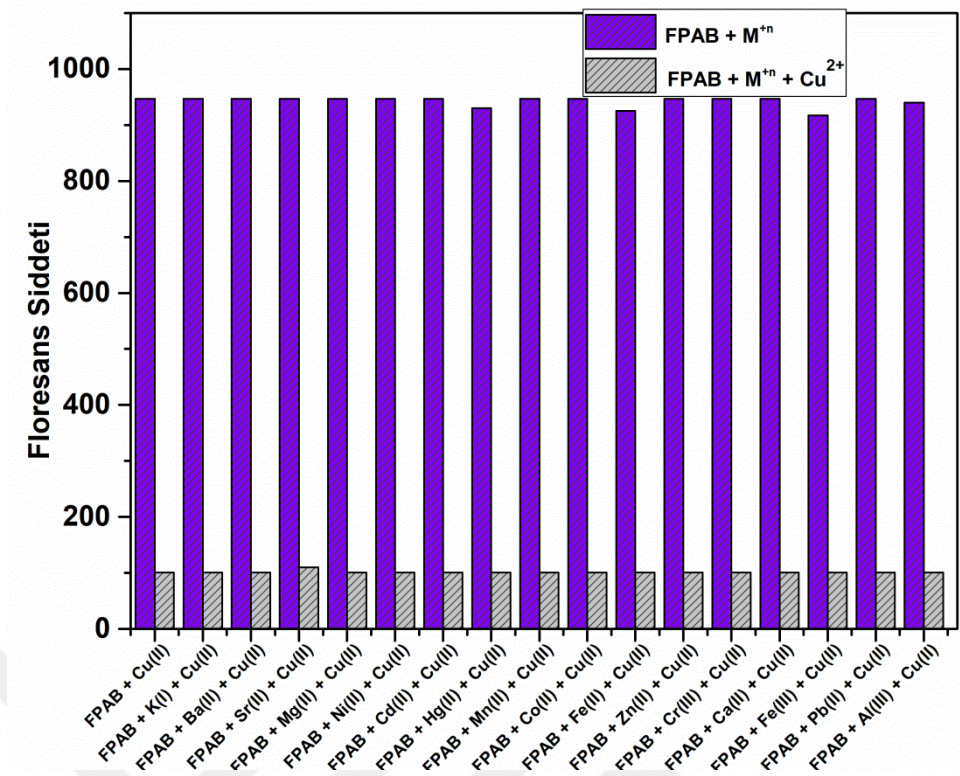
FPAB molekülünün optimum pH değerinin tespiti için Cu^{2+} iyonları varlığında ve yokluğunda pH 4-10 aralığında floresans ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.9'da gösterildiği gibi, 4.0 ila 10.0 pH aralığında **FPAB** için emisyon şiddeti neredeyse sabittir. Fakat, **FPAB- Cu^{2+}** 'nin emisyon yoğunluğu 4 ila 9 arasında düşük olduğu ve sensör **FPAB** için pH 4 ila 9 arası çalışılabilir bir pH aralığıdır. Elde edilen pH çalışması sonucunda, **FPAB** molekülünün fizyolojik sistemlerde Cu^{2+} algılamasında kullanılabilecek umut verici bir optik sensör olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 5.9 : FPAB ve FPAB-Cu²⁺ için pH grafiği.

5.3.1.4 Sensörünün seçicilik çalışması

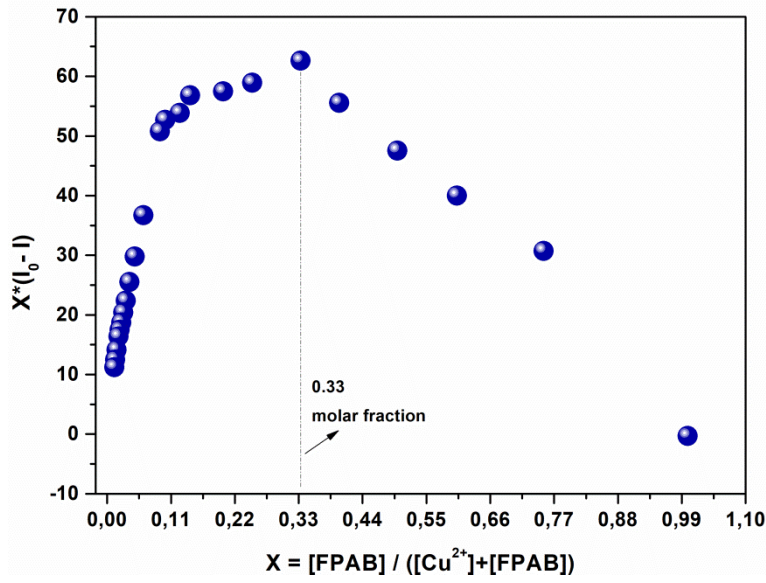
Tez çalışması kapsamında sentezlenen ve florimetrik olarak Cu²⁺ iyonlarına karşı sensör özelliği gösteren **FPAB** molekülünün diğer metal iyonları varlığında Cu²⁺ iyonlarını algılama performansı incelendi. Çeşitli metal iyonları (Cr³⁺, Ni²⁺, Hg²⁺, Mg²⁺, K⁺, Al³⁺, Fe³⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Mn²⁺, Sr²⁺, Zn²⁺, Ba²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, ve Fe²⁺) varlığında **FPAB** molekülünün Cu²⁺ iyonuna karşı sergilediği floresan spectrum alınmıştır (Şekil 5.10). Şekil 5.10'da verilen grafik incelendiğinde, **FPAB** molekülü diğer metal iyonları varlığında Cu²⁺ iyonuna karşı florometrik olarak seçimlilik gösterdiği açıkça görülmektedir.



Şekil 5.10 : FPAB'ın 556 nm'de diğer metaller varlığında Cu²⁺ iyonuna floresans cevabı.

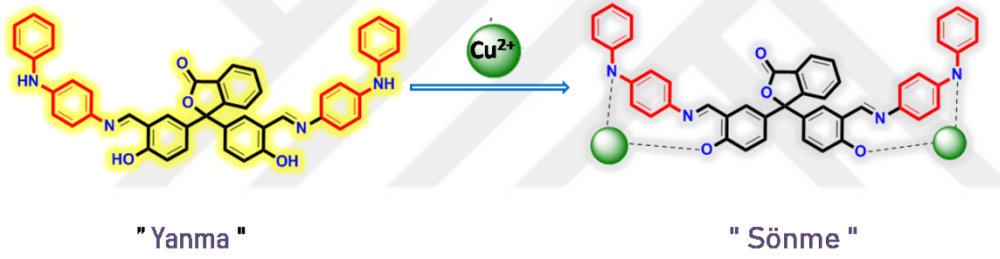
5.3.1.5 FPAB-Cu²⁺ kompleksinin Job's grafiği ve oluşum mekanizması

FPAB-Cu²⁺ kompleksinin bağlanma oranını öğrenmek amacıyla Job's metodu (eşitlik 4.2) kullanıldı. Elde edilen Job's grafiğinin tepe noktası 0.33 olarak bulunmuştur. Elde edilen değer, kompleks stokiometrisinin 1:2 (FPAB:Cu²⁺) olduğunu göstermektedir (Şekil 5.11).



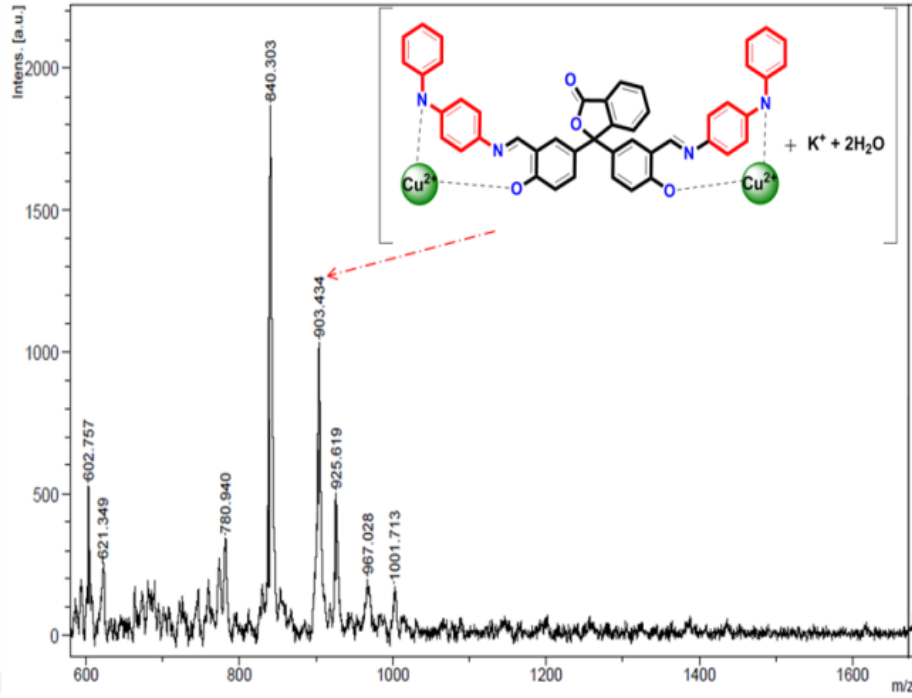
Şekil 5.11 : FPAB-Cu²⁺ kompleksinin Job's analiz eğrisi.

Bu sonuca göre, şekil 5.12'de **FPAB**-Cu²⁺ için muhtemel oluşum mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 5.12 : FPAB-Cu²⁺ için muhtemel oluşum mekanizması.

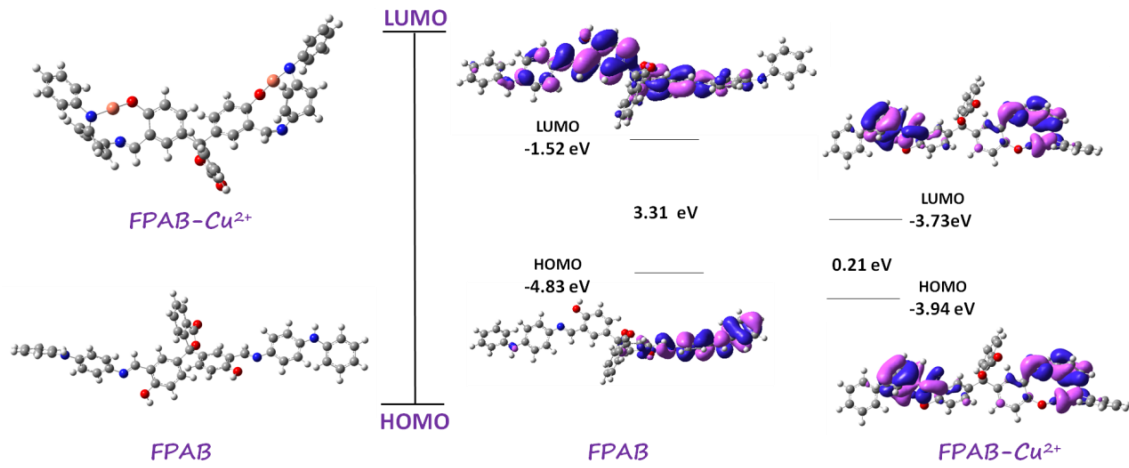
Ayrıca, **FPAB**-Cu²⁺ kompleksi kütle spektroskopisi analizi ile incelendi ve elde edilen veriler Şekil 5.13'de gösterilmiştir. Grafikten görüldüğü gibi, m/z: 903.434 signal piki **FPAB**-Cu²⁺ kompleksinin 1:2 (**FPAB**:Cu²⁺) oluşumunu desteklemektedir.



Şekil 5.13 : **FPAB**- Cu^{2+} sisteminin MALDI TOF-MS spektrumu.

5.3.1.6 **FPAB** ve **FPAB**- Cu^{2+} nin teorik hesaplama çalışmaları

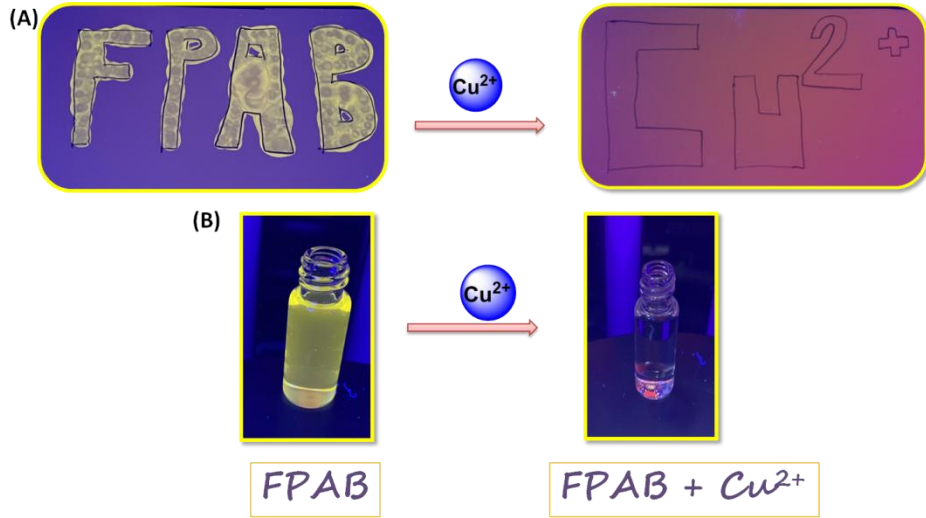
FPAB ve **FPAB**- Cu^{2+} sisteminin minimum enerjili kararlı halleri B3LYP/6-31G(d) fonksiyonu Gaussian 09 seti kullanılarak hesaplanmıştır. **FPAB** ve **FPAB**- Cu^{2+} sistemi için yapılan hesaplamalar gaz fazında gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.14). Hesaplamalar sonucunda **FPAB**'ın yük dağılımı bakır (II) iyonları ile etkileşimden sonra etkilendiği gözlemlenmiştir. **FPAB** bakır (II) iyonları ile etkileşimden sonra HOMO ve LUMO enerji farkı 0.21eV olarak hesaplanmış ve bu değer **FPAB** molekülünün HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasındaki farktan (3.31 eV) daha düşük olarak elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, **FPAB**- Cu^{2+} yapısının **FPAB**'a göre daha kararlı olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.14 : FPAB ve FPAB-Cu²⁺ sisteminin enerji seviyeleri.

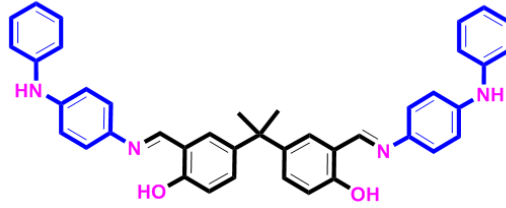
5.3.1.7 Sensör FPAB'ın ve FPAB-Cu²⁺ kompleksinin silikajel plaka üzerindeki uygulanabilirlik çalışması

Çalışmada uygulama olarak **FPAB**'ın bakır(II) iyonlarını algılama kabiliyeti silikajel yüzeyler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sensör **FPAB** silikajel plaka üzerine damlatıldığında ultraviyole ışık altında (365 nm) renkli görünmesine rağmen **FPAB-Cu²⁺** sistemi ise beklendiği gibi renksiz gözlenmiştir (Şekil 5.15a). Ayrıca çözücü içerisinde **FPAB** ve **FPAB-Cu²⁺** solüsyonları cam vialler içerisine konulmuş ve ultraviyole ışık altında (365 nm) görüntüleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.15b).



Şekil 5.15 : Silikajel yüzey üzerinde **FPAB** ve **FPAB + Cu²⁺**'nin görselleri ayrıca alttaki fotoda ise sensör **FPAB** ve b) **FPAB + Cu²⁺**'nin çözücü içerisinde ultraviyole ışığı altında alınan görselleri görülmektedir.

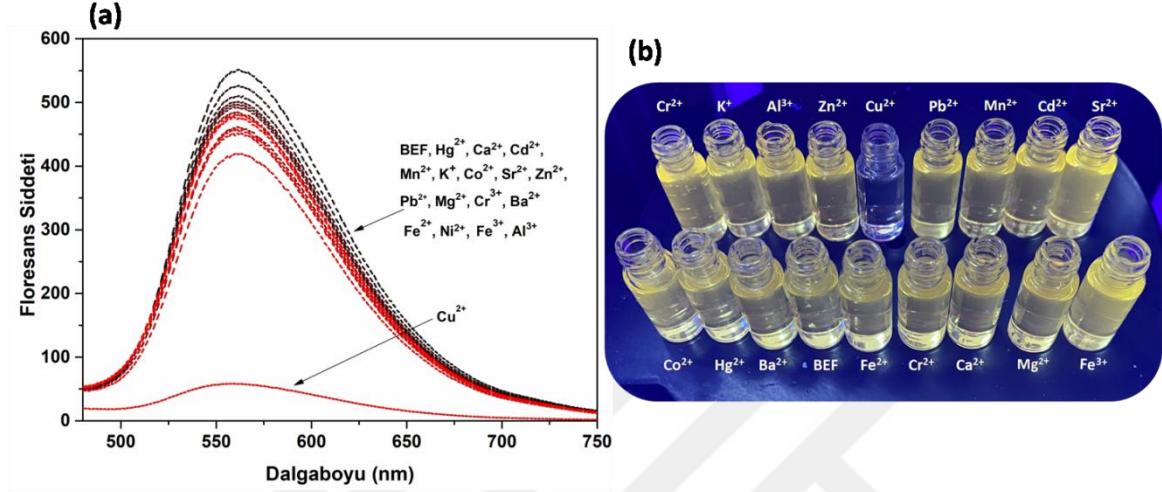
5.3.2 Reseptör BEF'in katyonlara karşı floresan ve absorbsiyon özellikleri



Şekil 5.16 : Sensör **BEF**'in molekül yapısı.

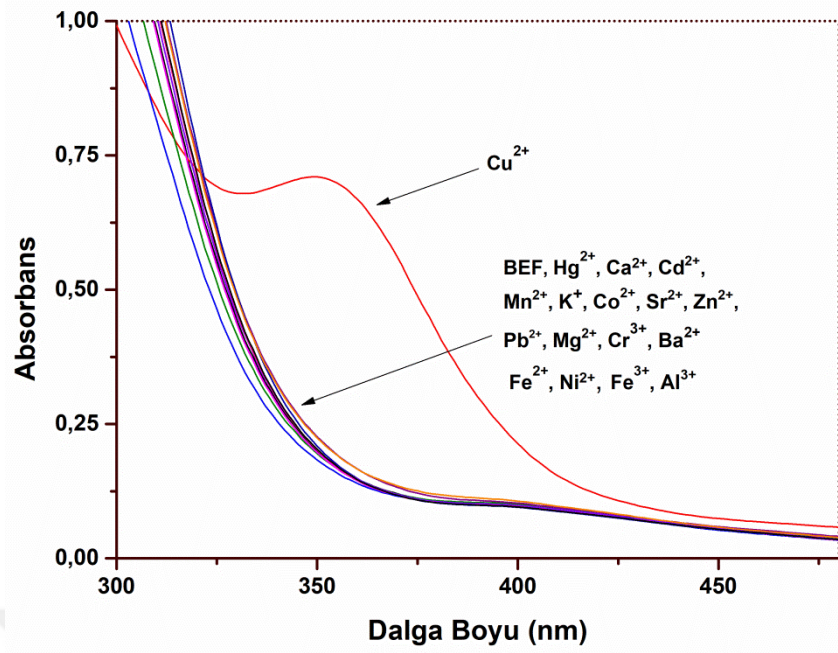
Geliştirilen bisfenol-A tabanlı **BEF** molekülünün Etanol/HEPES (60/40) ortamında hazırlanan 50 μM 'lık çözeltisi üzerine çeşitli metal iyonlarının çözeltileri eklenerek sensörün metal iyonlarına karşı duyarlılığı araştırılmıştır. Etanol/HEPES (60/40) çözücü ortamındaki **BEF** (5×10^{-5} M) çözeltisine 16.0 ekivalent çeşitli katyon çözeltileri ilave edilmesinin ardından 390 nm'de uyarılma ile floresans ölçümler alınmıştır. Şekil 5.17A'daki grafik incelendiğinde, sensör **BEF**'in test edilen katyonlar arasında sadece Cu^{2+} iyonuna karşı florimetrik olarak duyarlı olduğunu görülmektedir. Şekil 5.17A'dan görüldüğü üzere, 560 nm'deki **BEF**sensörüne ait emisyon bandında sadece Cu^{2+} iyonu varlığında sönümlenme gözlenmiş ve UV ışığı altında alınan fotoğraflar ile bu durum görselleştirilmiştir (Şekil 5.17B). Diğer metal iyonlarının ise sensör **BEF**'in emisyon bandında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir. Katyonlar arasında sadece Cu^{2+} çözeltisi eklendikten sonra meydana gelen floresandaki sönümlenme, bakır (II) iyonlarının ağır metal etkisinden

kaynaklanmaktadır (Aydin ve diğeri, 2022). Floresans çalışmalarında optimum emisyon dalga boyu olarak 560 nm kullanılmış ve yapılan analizlerde 560 nm’de bakır (II) iyonlarına karşı yüksek seçicilik ve hassasiyeti elde edilmiştir. Yapılan ölçümler neticesinde sensör **BEF**, fluorimetrik olarak sadece Cu^{2+} iyonları için seçimli bir sensör olduğu saptanmıştır.



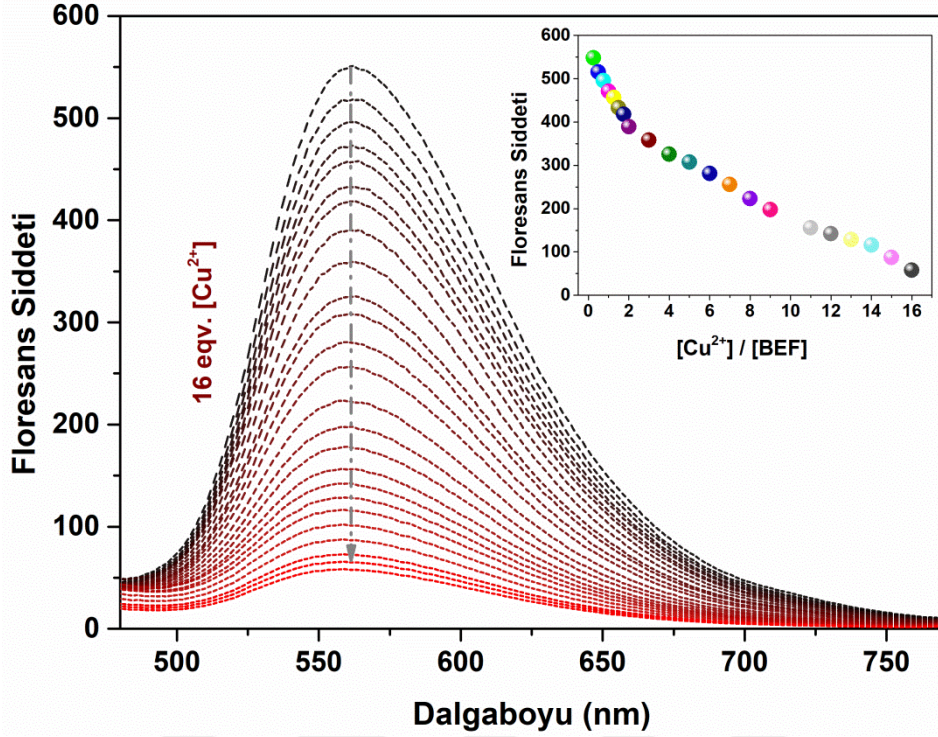
Şekil 5.17 : (a) BEF’in farklı katyonlara karşı floresans spektrumu ve (b) BEF çözeltisinin farklı metal iyonları varlığında ve yokluğunda UV ışığı altında (365 nm) alınan fotoğrafları.

Floresanda alınan ölçümlere ilave olarak, **BEF** molekülünün herhangi bir metal iyonuna karşı kolorimetrik olarak duyarlı olup olmadığı da incelenmiştir. Bu inceleme için Etanol/HEPES (60/40) çözücü karışımında hazırlanan **BEF**’in 5×10^{-5} M’lik çözeltisi üzerine çeşitli konsantrasyonlarda farklı metal iyonlarının (16.0 ekiv.) ilave edilmesi sonucu absorbans değerleri UV-vis spektrofotometresi ile incelenmiştir. Şekil 5.18’de görüldüğü gibi **BEF** molekülü test edilen metal iyonlarına karşı seçimli kolorimetrik cevabı sadece Cu^{2+} iyonlarına karşı göstermiştir. Yani diğer metallerin varlığında sensör **BEF**’in absorbans şiddetinde herhangi bir değişim gözlenememiştir.



Şekil 5.18 : **BEF**'in çeşitli metal iyonları varlığında absorbans grafiği.

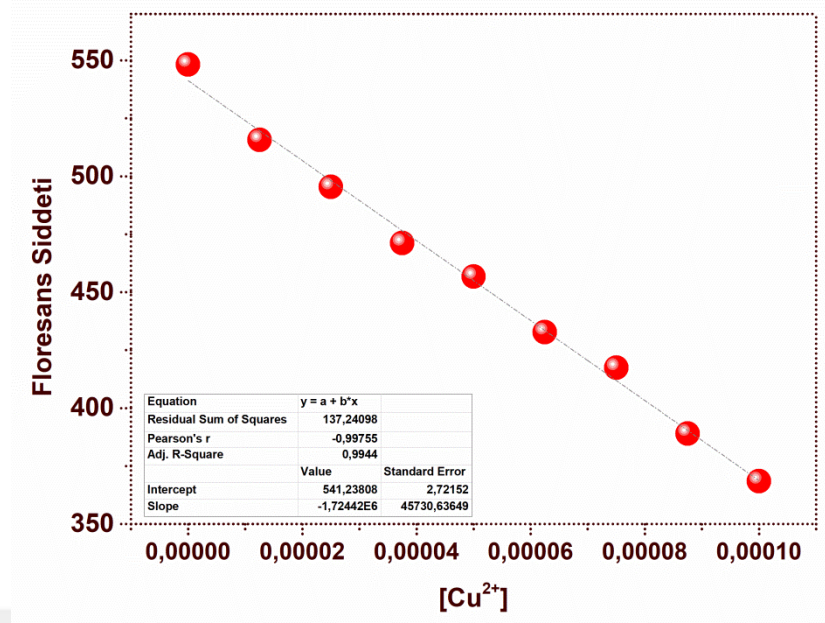
BEF ve Cu^{2+} iyonu arasındaki etkileşim konsantrasyona bağlı olarak daha detaylı incelemek için floresan titrasyon çalışması yapıldı. Bu çalışma için $50.0 \mu\text{M}$ **BEF** çözeltisi üzerine farklı konsantrasyonlarda (0-16.0 ekivalent) bakır(II) iyonları içeren çözeltiler eklenerek gerçekleştirilmiştir. Grafikten de görüldüğü gibi 560 nm dalga boyundaki emisyon şiddetinde Cu^{2+} derişimi arttıkça emisyon şiddetinde kademeli azalma gözlemlenmiş ve sonrasında emisyon bandının şiddetinde bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 5.19).



Şekil 5.19 : BEF molekülünün çeşitli ekivalentlerdeki (0-16 equiv.) Cu^{2+} varlığında floresanda titrasyon grafiği.

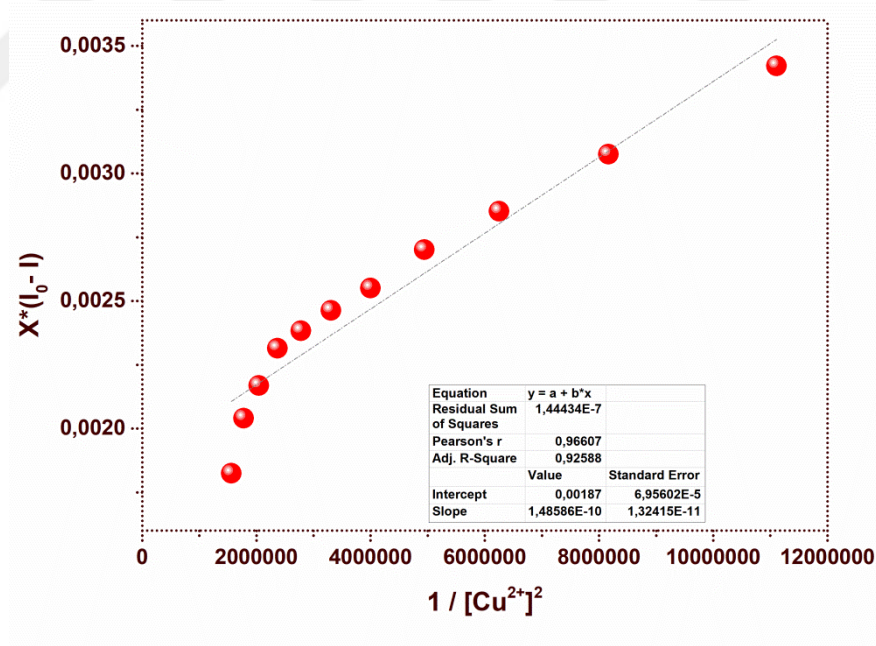
5.3.2.1 Tayin limiti (LOD) ve Benesi-Hildebrand bağlanma sabiti

Floresans titrasyon çalışmasından elde edilen verilerden faydalanılarak, **BEF**'in Cu^{2+} iyonu konsantrasyonuna karşı kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Şekil 5.20'den görüldüğü gibi emisyon şiddeti, artan derişimdeki Cu^{2+} konsantrasyonuna karşı kademeli olarak azalış göstermektedir. LOD hesaplaması için eşitlik 4.3 kullanılmış ve **BEF**'in Cu^{2+} için algılama limiti 36 nM olarak hesaplanmıştır. Bu değer dünya sağlık örgütü tarafından belirlenen içme sularındaki Cu^{2+} iyonu konsantrasyon limiti değerinden oldukça düşüktür.



Şekil 5.20 : Farklı konsantrasyonlardaki Cu^{2+} iyonlarına karşı **BEF** molekülündeki floresans grafiği (λ_{em} : 560 nm).

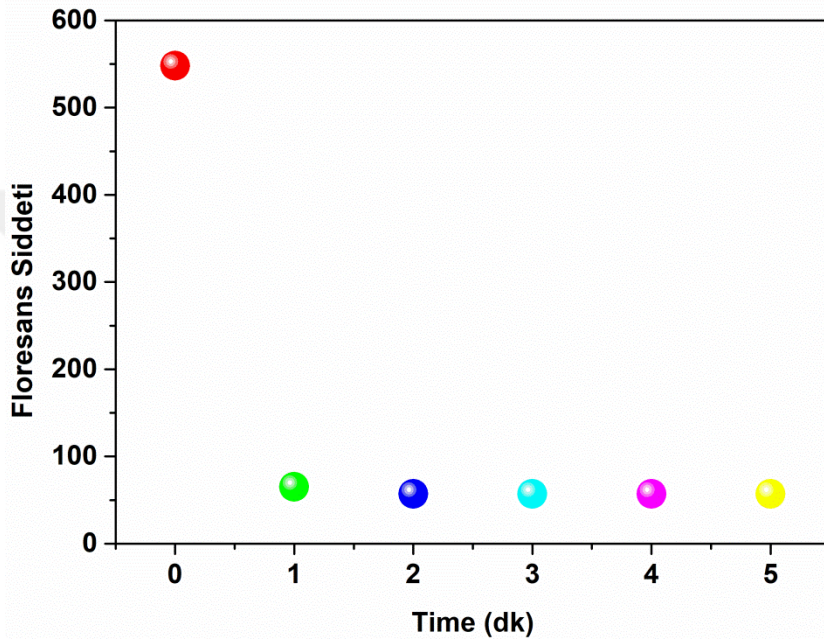
Ayrıca, **BEF**- Cu^{2+} eşitlik 4.1 kullanılarak bağlanma sabiti $1.258 \times 10^7 \text{ M}^{-2}$ olarak bulunmuştur (Şekil 5.21).



Şekil 5.21 : **BEF**- Cu^{2+} (1:2) kompleksine ait Benesi-Hildebrand Grafiği (λ_{em} : 560 nm).

5.3.2.2 BEF'in cevap süresi

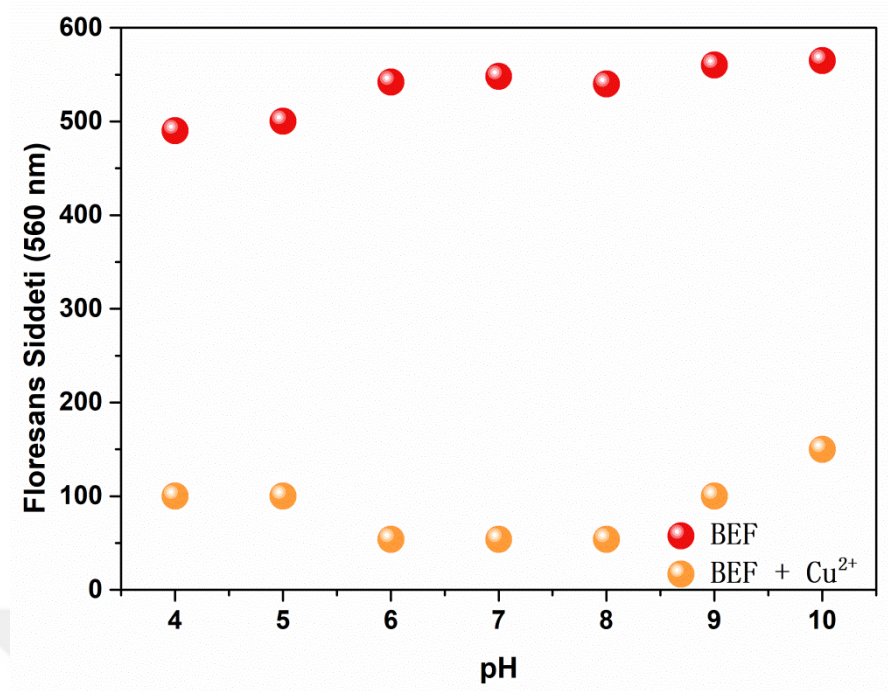
Optik sensör **BEF**'in Cu^{2+} iyonları varlığında ve yokluğunda zamana bağlı floresan şiddetindeki değişim, **BEF** ve **BEF-Cu²⁺** sisteminin floresan şiddetindeki değişikliklerin kaydedilmesiyle gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.22). **BEF** yaklaşık bir dk gibi kısa bir süre içerisinde Cu^{2+} iyonları ile stabil bir kompleks oluşturmuş ve bir dakikadan sonra emisyon şiddetinde herhangi bir değişim gözlemlenmemesi oluşan stabil kompleksi kanıtlamaktadır.



Şekil 5.22 : **BEF** molekülünün 560 nm'de Cu^{2+} varlığında cevap süresi grafiği Etanol/HEPES (60/40), (λ_{eks} :390 nm).

5.3.2.3 BEF'in pH çalışması

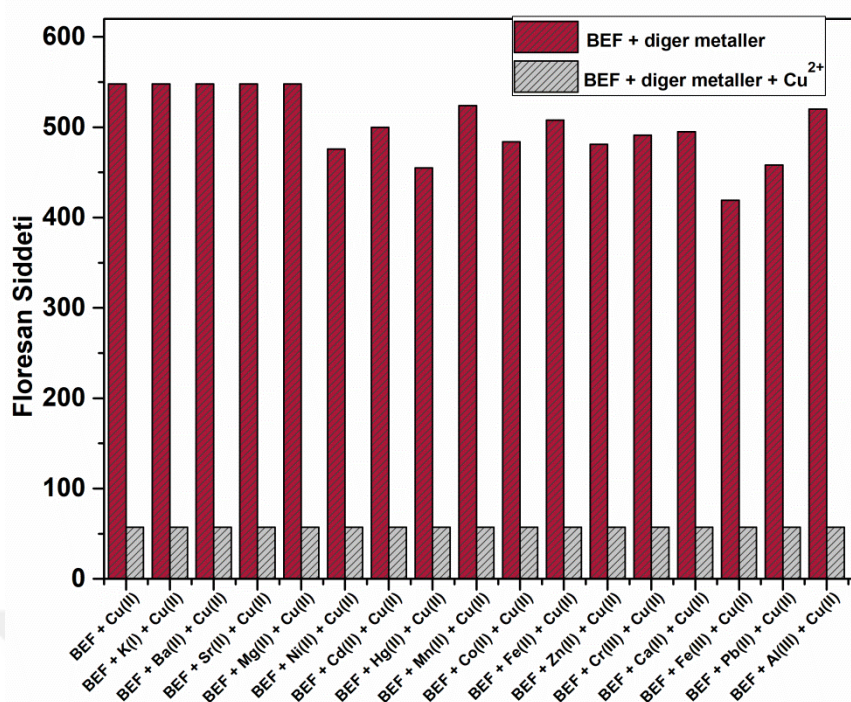
BEF molekülünün optimum pH değerinin tespiti için Cu^{2+} iyonları varlığında ve yokluğunda pH 4-10 aralığında floresans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.23'de görüldüğü gibi, 4.0 ila 10.0 pH aralığında **BEF** için emisyon şiddeti neredeyse sabitti. Fakat, **BEF-Cu²⁺**'nin emisyon yoğunluğu 4 ila 9 arasında düşük olduğu ve sensör **rBEF** için pH 4-9 arası çalışılabilir bir pH aralığıdır. Elde edilen pH verilerine göre, **BEF** molekülünün fizyolojik sistemlerde Cu^{2+} algılaması için kullanılabilecek umut verici bir optik sensör olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 5.23 : BEF ve BEF-Cu²⁺ için pH grafiği.

5.3.2.4 Sensörünün seçicilik çalışması

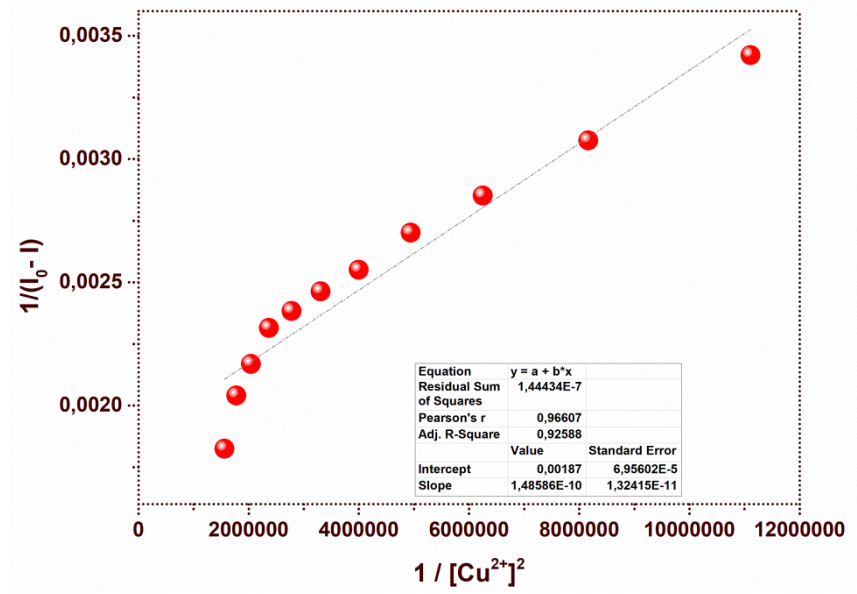
Tez çalışması kapsamında sentezlenen ve florimetrik olarak Cu²⁺ iyonlarına karşı sensor özelliği gösteren **BEF** molekülünün diğer metal iyonları varlığında Cu²⁺ iyonlarının algılama performansı incelendi. Çeşitli metal iyonları (Cr³⁺, Ni²⁺, Hg²⁺, Mg²⁺, K⁺, Al³⁺, Fe³⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Mn²⁺, Sr²⁺, Zn²⁺, Ba²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, ve Fe²⁺) varlığında **BEF** molekülünün Cu²⁺ iyonuna karşı sergilediği floresans spektrum alınmıştır (Şekil 5.24). Şekil 5.24’de verilen grafik incelendiğinde, **BEF** molekülü diğer metal iyonları varlığında da Cu²⁺ iyonuna karşı florimetrik olarak seçicilik göstermektedir.



Şekil 5.24 : BEF'in 560 nm'de diğer metaller varlığında Cu²⁺ iyonuna floresans cevabı.

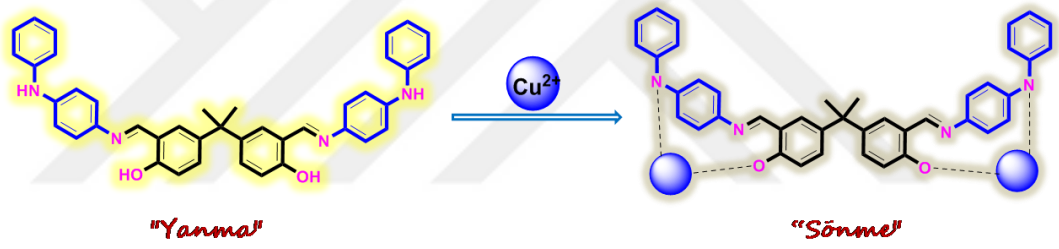
5.3.2.5 BEF-Cu²⁺ kompleksinin Job's grafiği ve oluşum mekanizması

BEF-Cu²⁺ kompleksinin bağlanma oranını öğrenmek amacıyla Job's metodu kullanıldı. Elde edilen Job's grafiğinin tepe noktası 0.33 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değer, kompleks stokiyometrisinin 1:2 (BEF:Cu²⁺) olduğunu göstermektedir (Şekil 5.25).



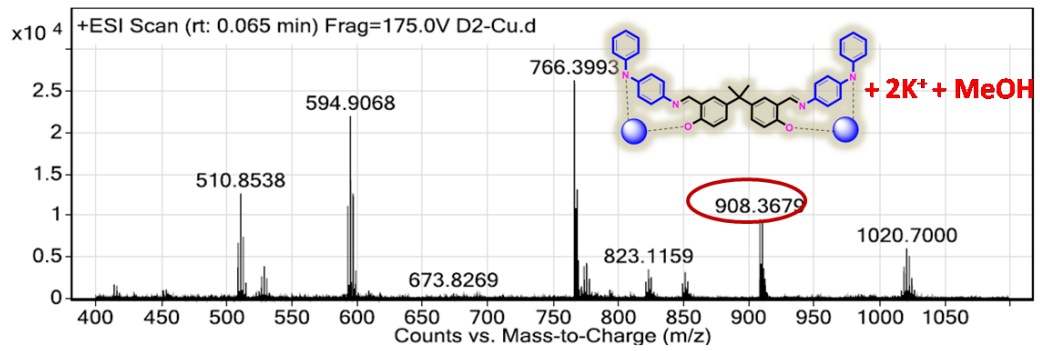
Şekil 5.25 : BEF-Cu²⁺ kompleksinin Job's analiz eğrisi.

Bu sonuca göre, şema 5.26'de BEF-Cu²⁺ için muhtemel oluşum mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 5.26 : BEF-Cu²⁺ için muhtemel oluşum mekanizması.

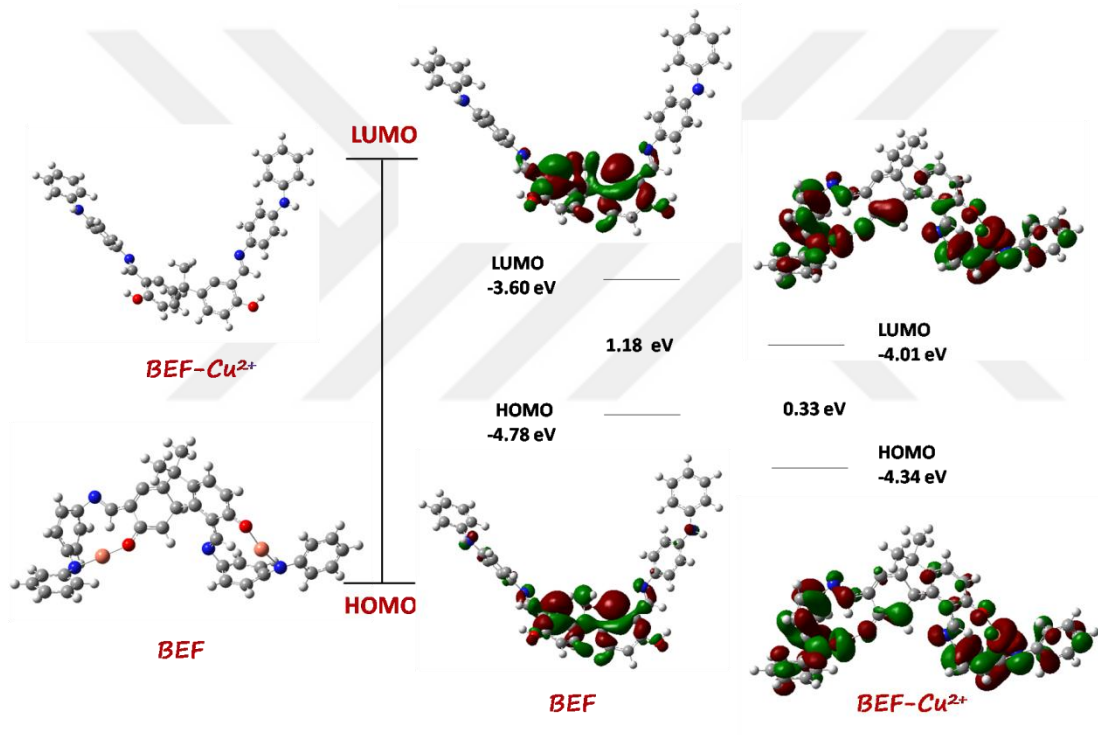
Ayrıca, BEF-Cu²⁺ kompleksi kütle spektroskopisi analizi ile incelendi ve elde edilen veri Şekil 5.27'de gösterilmiştir. Grafikten görüldüğü gibi, m/z: 908.3679 signal piki BEF-Cu²⁺ kompleksinin 1:2 (BEF : Cu²⁺) oluşumunu desteklemektedir.



Şekil 5.27 : BEF-Cu²⁺ sisteminin TOF-MS spektrumu.

5.3.2.6 BEF ve BEF-Cu²⁺'nin teorik hesaplama çalışmaları

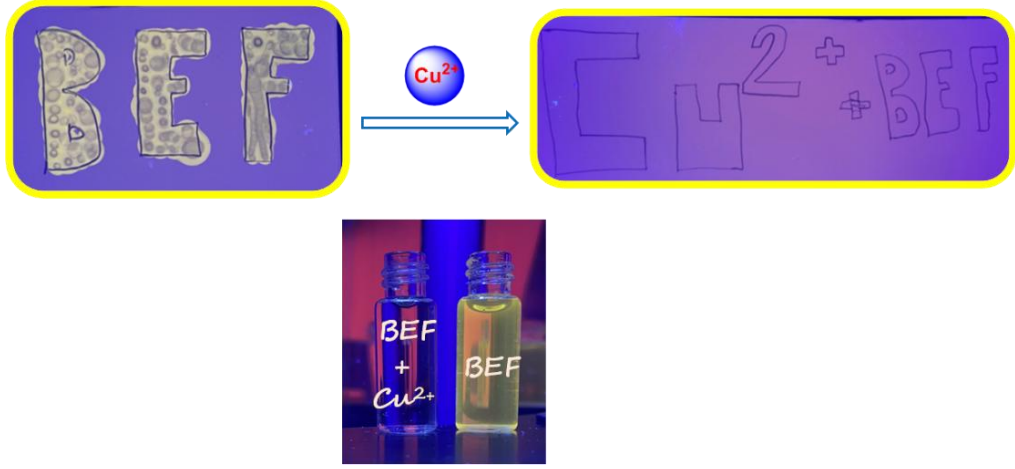
BEF ve **BEF-Cu²⁺** sisteminin minimum enerjili kararlı hallerini B3LYP/6-31G(d) fonksiyonu Gaussian 09 seti kullanılarak hesaplanmıştır. **BEF** ve **BEF-Cu²⁺** sistemi için yapılan hesaplamalar gaz fazında gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.28). Hesaplamalar sonucunda **BEF**'in yük dağılımı bakır (II) iyonları ile etkileşimden sonra etkilendiği gözlemlenmiştir. **BEF**, bakır (II) iyonları ile etkileşimden sonra HOMO ve LUMO enerji farkı 0.33 eV olarak hesaplanmış ve bu değer **BEF** molekülünün HOMO ve LUMO enerji seviyeleri arasındaki farktan (1.18 eV) daha düşük olarak elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, **BEF-Cu²⁺** yapısının **BEF**'e göre daha kararlı olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.28 : BEF ve BEF-Cu²⁺ sisteminin enerji seviyeleri.

5.3.2.7 Sensör BEF'in ve BEF-Cu²⁺ kompleksinin silikajel yüzey üzerindeki uygulanabilirlik çalışması

Çalışmada uygulama olarak silikajel yüzeyler üzerinde floresan görüntüleme kullanılmıştır. Sensör **BEF** silikajel kâğıt üzerine damlatıldığında ultraviyole ışık altında (365 nm) renkli görünmesine rağmen **BEF-Cu²⁺** sistemi ise beklendiği gibi renksiz gözlenmiştir. Ayrıca çözücü içerisinde **BEF** ve **BEF-Cu²⁺** solüsyonları cam vialler içerisine konulmuş ve ultraviyole ışık altında (365 nm) görüntüleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.29).



Şekil 5.29 : Silikajel yüzey üzerinde **BEF** ve **BEF+Cu²⁺**’nin görselleri ayrıca alttaki fotoda ise sensör **BEF** ve **BEF + Cu²⁺**’nin çözücü içerisinde ultraviyole ışığı altında alınan görselleri.

6. SONUÇLAR

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, başlangıç materyali olarak fenolftalein ve bisfenol-A kullanılmıştır. Bu tez kapsamında sentezi hedeflenen sensörlere (**FPAB** ve **BEF**) ulaşmak için ilk olarak başlangıç maddesi olan dialdehit türevli fenolftalein ve bisfenol-A literatüre uygun olarak sentezlenmiştir. Bu amaçla, fenolftalein ve bisfenol-A ayrı ayrı hekzametilen tetraamin (HMTA) ile trifloroasetik asit (TFA) içerisinde reaksiyona sokulmuş ve böylece dialdehit türevli fenolftalein ve bisfenol-A sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen fenolftalein dialdehit ve bisfenol-A dialdehit bileşiklerinin kimyasal yapıları ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile doğrulanmıştır.

Sentezi gerçekleştirilen fenolftalein dialdehit ve bisfenol-A dialdehit moleküllerinin etanol içerisinde N-fenilbenzen-1,4-diamin ile reaksiyonundan hedef reseptörler **FPAB** ve **BEF** elde edildi. Sentezlenen **FPAB** ve **BEF** moleküllerinin yapısı ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR gibi spektroskopik teknikler yardımıyla aydınlatıldı.

Geliştirilen **FPAB** molekülünün ACN/HEPES (50/50) ortamında hazırlanan 50.0 μM çözeltisi üzerine çeşitli metal iyonlarının çözeltileri eklenerek sensörün metal iyonlarına karşı duyarlılığı kolorimetrik ve florimetrik olarak araştırıldı.

Benzer şekilde, tez çalışmasında sentezi gerçekleştirilen bisfenol A tabanlı **BEF** molekülünün Etanol/HEPES (60/40) ortamında hazırlanan 50.0 μM çözeltisi üzerine çeşitli metal iyonlarının çözeltileri eklenerek sensörün metal iyonlarına karşı duyarlılığı kolorimetrikflorimetrik olarak araştırıldı.

ACN/HEPES (50/50) çözücü ortamındaki **FPAB** (5×10^{-5} M) çözeltisine çeşitli katyon çözeltileri ilave edilmesinin ardından sensör **FPAB**'ın test edilen katyonlar arasında sadece Cu^{2+} iyonuna karşı florometrik olarak duyarlı olduğunu anlaşıldı. Etanol/HEPES (60/40) çözücü ortamındaki **BEF** (5×10^{-5} M) çözeltisine çeşitli katyon çözeltileri ilave edildiğinde ise sensör **FPAB**'a benzer şekilde sensör **BEF**'inde test edilen katyonlar arasında sadece Cu^{2+} iyonuna karşı florometrik olarak duyarlı olduğu tespit edildi. **FPAB**'ın Cu^{2+} için algılama limiti 84 nM ve **BEF**'in ise Cu^{2+} için algılama limiti 36 nM olarak hesaplanmıştır.

FPAB-Cu²⁺ ve **BEF**-Cu²⁺ kompleksinin bağlanma oranları Job's metodu ile belirlendi ve her iki kompleks için bu oran 0.33 olarak hesaplandı. Ayrıca komplekslerin kütleleri TOF-MS ile ve teorik olarak DFT hesaplamaları ile incelendi.

Çalışmada uygulama olarak **FPAB** ve **BEF** sensörlerinin bakır(II) iyonlarını algılama kabiliyeti silikajel yüzeyler kullanılarak gerçekleştirildi. Sensör **FPAB** ve **BEF** silikajel kâğıt üzerine damlatıldığında ultraviyole ışık altında (365 nm) renkli görünmesine rağmen **FPAB**-Cu²⁺ ve **BEF**-Cu²⁺ sistemi ise beklendiği gibi renksiz gözlenmiştir.

Sonuç olarak, sentezlenen yeni **FPAB** ve **BEF** moleküllerinin bakır(II) iyonlarını hızlı, kolay ve düşük miktarlarda tespit etme yeteneği sayesinde bakır(II) iyonlarını etkili bir şekilde tespit edebilecektir. Böylece, bakır(II) iyonlarının sebep olduğu birçok hastalık ve bu iyonlardan kaynaklanan çevre kirliliği önlenilecektir. Bu çalışmada sentezlenen moleküllerden alınan sonuçlar göz önüne alındığında Cu²⁺ iyonlarını çözeltilerde basit, seçici, düşük maliyetli ve etkili bir tanıma sistemi geliştirilmesine ışık tutacaktır. Ayrıca fenolftalein ve bis-fenol A moleküllerinin diğer alanlarda kullanılabilirliğinin yanı sıra, sensör alanında da kullanılabilirliğine ve yeni araştırmalara yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Alici, O. ve Aydin, D. (2021). A Schiff-base receptor based on phenolphthalein derivate appended 2-furoic hydrazide: highly sensitive fluorogenic “turn on” chemosensor for Al^{3+} . *Journal of Photochemistry and Photobiology A Chemistry*, 404, 112876. doi:10.1016/j.jphotochem.2020.112876
- Aydin, D. (2020). Sensing of aluminum and cyanide ions utilizing a novel bis-phenol a based fluorogenic probe: Applications in test strips. *Microchemical Journal*, 159, 105477. doi:10.1016/j.microc.2020.105477
- Beydoun, H.A., Beydoun, M.A., Jeng, H.A., Zonderman, A.B. ve Eid, S.M. (2016). Bisphenol-A and sleep adequacy among adults in the National Health and Nutrition Examination Surveys. *Sleep*, 39 (2), 467-476. doi:10.5665/sleep.5466
- Drummen, G.P.C. (2012). Fluorescent Probes and Fluorescence (Microscopy) Techniques Illuminating Biological and Biomedical Research. *Molecules*, 17, 14067-14090. doi:10.3390/molecules171214067
- Erdemir, S., Yuksekogul, M., Karakurt, S. ve Kocyigit, O., (2017). Dual-channel fluorescent probe based on bisphenol A-rhodamine for Zn^{2+} and Hg^{2+} through different signaling mechanisms and its bioimaging studies. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 241, 230-238. doi:10.1016/j.snb.2016.10.082
- Erdemir, S. ve Kocyigit, O. (2017). A novel dye based on phenolphthalein-fluorescein as a fluorescent probe for the dual channel detection of Hg^{2+} and Zn^{2+} . *Dyes and Pigments*, 145, 72–79. doi:10.1016/j.dyepig.2017.05.053
- Erdemir, S., Malkondu, S. ve Kocyigit, O. (2019). A reversible calix [4] arene armed phenolphthalein based fluorescent probe for the detection of Zn^{2+} and an application in living cells. *Luminescence*, 34 106–112. doi:10.1002/bio.3585
- Erdemir, S. ve Malkondu, S. (2019). Dual-emissive fluorescent probe based on phenolphthalein appended diaminomaleonitrile for Al^{3+} and the colorimetric recognition of Cu^{2+} . *Dyes and Pigments* 163, 330–336. doi:10.1016/j.dyepig.2018.12.017
- Erickson, B. (2010). FDA raises flag on bisphenol A. AMER CHEMICAL SOC 1155 16TH ST, NW, WASHINGTON, DC 20036 USA.
- Harry, R. Gamrath, St. Louis, Mo., assignor to Monsanto Chemical Company, St. Louis, Mo., a corporation of Delaware (1950). Process for production of phenolphthalen. *U.S. Patent*, 2,522,939.
- Homocianu, M. (2011). Solvent Effects on the Electronic Absorption and Fluorescence Spectra. *Journal of Advanced Research in Physics*, 2 (1), 011105.
- Horace, W., Soper, M.D. ve F.A.C.P. (1938). Phenolphthalein. *The American Journal of Digestive Diseases*, 5, 297. doi:10.1007/BF03020549

- Hubacher, M. ve Sprey, V. (1940). Process of producing phenolphthalein. *U.S. Patent*, 2, 192, 485.
- Johnson, I. ve Harvey, P. (2002). Study on The Scientific Evaluation of 12 Substances In The Context of Endocrine Disrupter Priority List of Actions European Commission. *Wrc-Nsf Ref: Uc*, 6052.
- Kim, S., Kim, H., Yoon, J. ve Kim, J. (2007), Calixarenes in the Nano world (Fluorescent Chemosensors, Chapter 15), Springer.
- Kong, X-y., Hou, L-J., Shao, X-q., Shuang, S-M., Wang Y. ve Dong C. (2019). A phenolphthalein based fluorescent probe for these quential sensing of Al^{3+} and F^- ions in aqueous medium and live cells. *Spectrochimica Acta A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 208, 131–139.
- Lakowicz, J.R. (2013). Principles of fluorescence spectroscopy. *Springer science & business media*. doi:10.1007/978-0-387-46312-4-2
- Lindstrom, C.D. ve Zhu XY, (2006). Photo induced Electron Transfer at Molecule–Metal Interfaces. *Chemical Reviews*, 106, 10, 4281-300.
- Michałowicz, J., (2014). Bis-phenol A sources, toxicity and biotransformation, *Environmental toxicology and pharmacology*, 37 (2), 738-758.
- Miyawaki, A., (2011). Development of Probes for Cellular Functions Using Fluorescent Proteins and Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Annual Review of Biochemistry*, 80, 357-373.
- Prokop, Z., Hankova, L. ve Jerabek, K. (2004). Bis-phenol A synthesis–modeling of industrial reactor and catalyst deactivation. *Reactive and Functional Polymers*, 60, 77-83.
- Rajasekaran, D., Venkatachalam, K. ve Periasamy, V. (2020). A bis-phenol based fluorescence chemosensor for the selective detection of Zn^{2+} and PPI ions and its bio-luminescence imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 242, 118730.
- Rendell, D. (1987). Fluorescence and Phosphorescence, ACOL, *Thames Polytechnic*, London.
- Rubin, B. S. ve Soto, A. M. (2009). Bisphenol A: perinatal exposure and body weight. *Molecular and cellular endocrinology*, 304 (1-2), 55-62.
- Schiff, H. (1869). Untersuchungen über salicin derivat, Justus Liebigs Annalen der Chemie, 150 (2), 193-200.
- Stokes, G.G. (1852). On The Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A*, 142, 463–562.
- Tabakci, B., Ahmed, H. M. A. ve Erdemir, S. (2019). Fast and Reversible "Turn on" Fluorescent Sensors Based on Bis-phenol A for Zn^{2+} in Aqueous Solution. *Journal of fluorescence*, 29 (5), 1079-1087.
- Tamura, Z., Abe, S., Ito, K. ve Maed, M. (1996). Spectrophotometric analysis of the relationship between dissociation and coloration, and of the structural formulas of phenolphthalein in aqueous solution. *Analytical Sciences*, 12, 1927-1930. doi:10.2116/analsci.12.927.

- Tsai, W.T. (2006). Human health risk on environmental exposure to bisphenol-A: a review, *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 24 (2), 225-255.
- Tsien, R. Y. (1980). New calcium indicators and buffers with high selectivity against magnesium and protons: design, synthesis, and properties of prototype structures. *Biochemistry*, 19 (11), 2396-2404.
- Türker, Ş. L. (2006). Floresans Spektroskopisi Yöntemlerinin Biyolojik Etkileşimlerin ve Enzimatik Etkinliklerin İncelenmesinde Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul.
- Valeur, B. (1994). Principles of Fluorescent Probe Design for Ion Recognition. In: *Topics in Fluorescence Spectroscopy: Probe Design and Chemical Sensing*. Eds: Lakowicz JR. Boston, MA: Springer US, p. 21-48.
- Valeur, B. (2001). *Molecular Fluorescence Principles and Applications*. Molecular Fluorescence: Principles and Applications. Wiley-VCH Verlag GmbH.
- Valeur, B. ve Leray, I. (2000). Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. *Coordination Chemistry Reviews*, 205 (1), 3-40.
- Wainwright, M. (2009). *Photosensitisers in Biomedicine*, John Wiley&Sons.
- Wayne, R.P. (1988). *Principles and Applications of Photochemistry*, John Wiley&Sons.
- Wenzel, A., Muler, J. ve Ternes, T. (2003). Study on Endocrine Disrupters in Drinking Water Final Report, Schmollenberg and Wiesbaden Env, D.
- Zhan, S., Wu, Y., Luo, Y., Liu, L., He, L., Xing, H. ve Zhou, P. (2014). Label-free fluorescent sensor for lead ion detection based on lead (II)-stabilized G-quadruplex formation. *Analytical biochemistry*, 462, 19-25.
- Zhang, J., Zhang, T., Guan, T., Yu, H. ve Li, T., (2017). In vitro and in silico assessment of the structure-dependent binding of bisphenol analogues to glucocorticoid receptor. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 409 (8), 2239-2246.

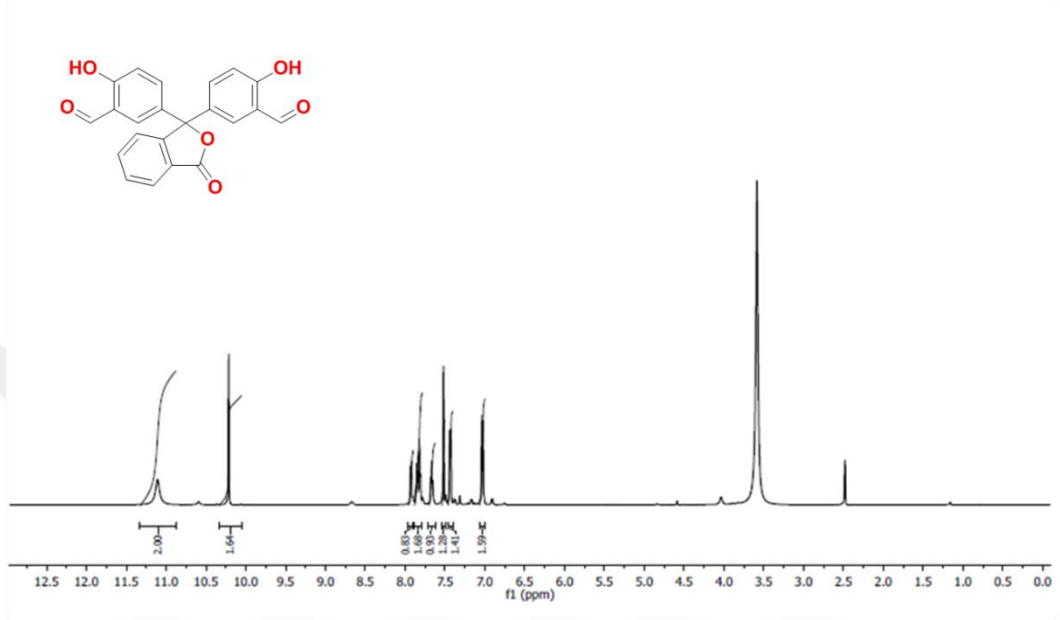


EKLER

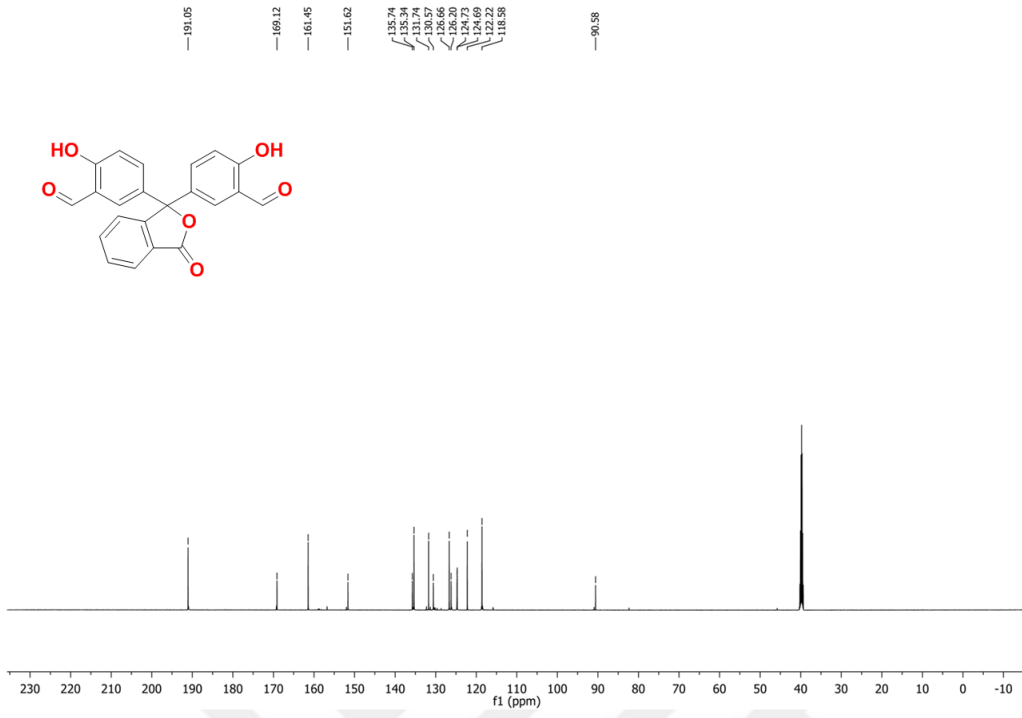
EK A: Ek Şekiller



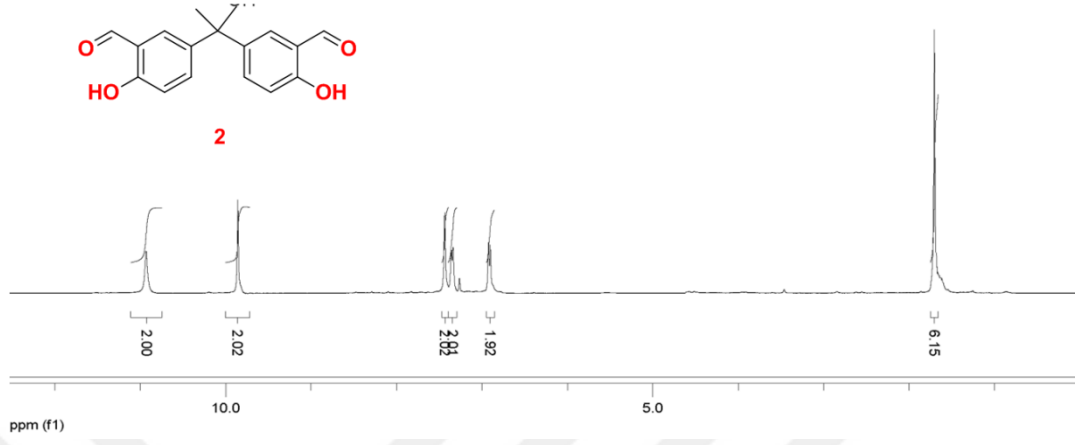
EK A



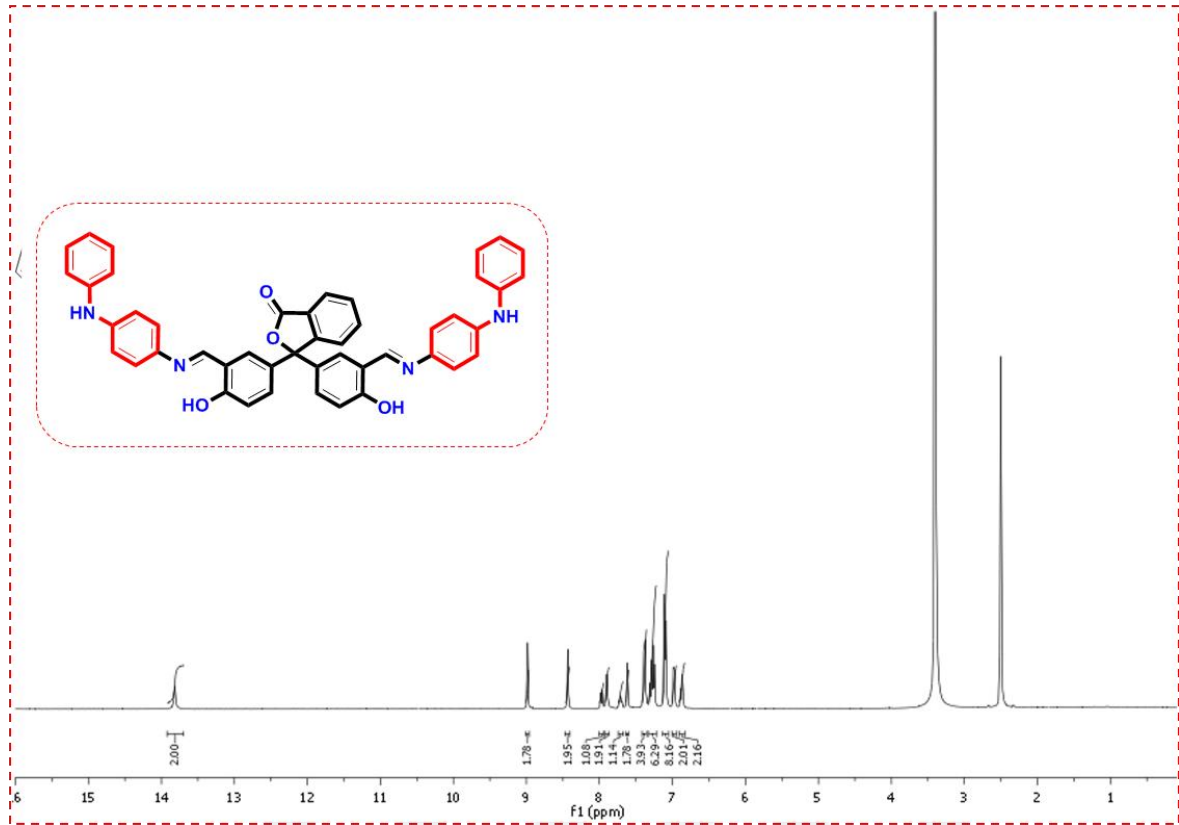
Şekil A.1 : Fenolftalein dialdehit bileşiğinin ^1H -NMR spekturumu.



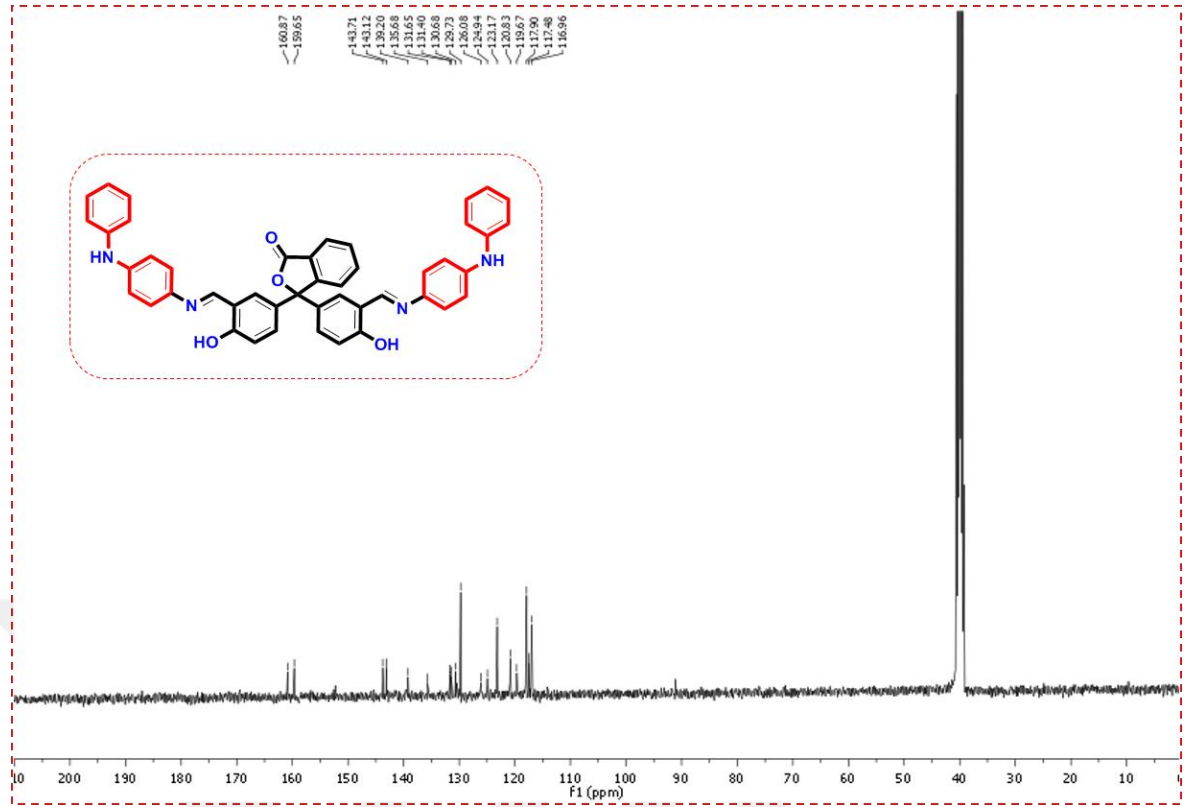
Şekil A.2 : Fenolftalein dialdehit bileşiğinin ^{13}C -NMR spekturumu.



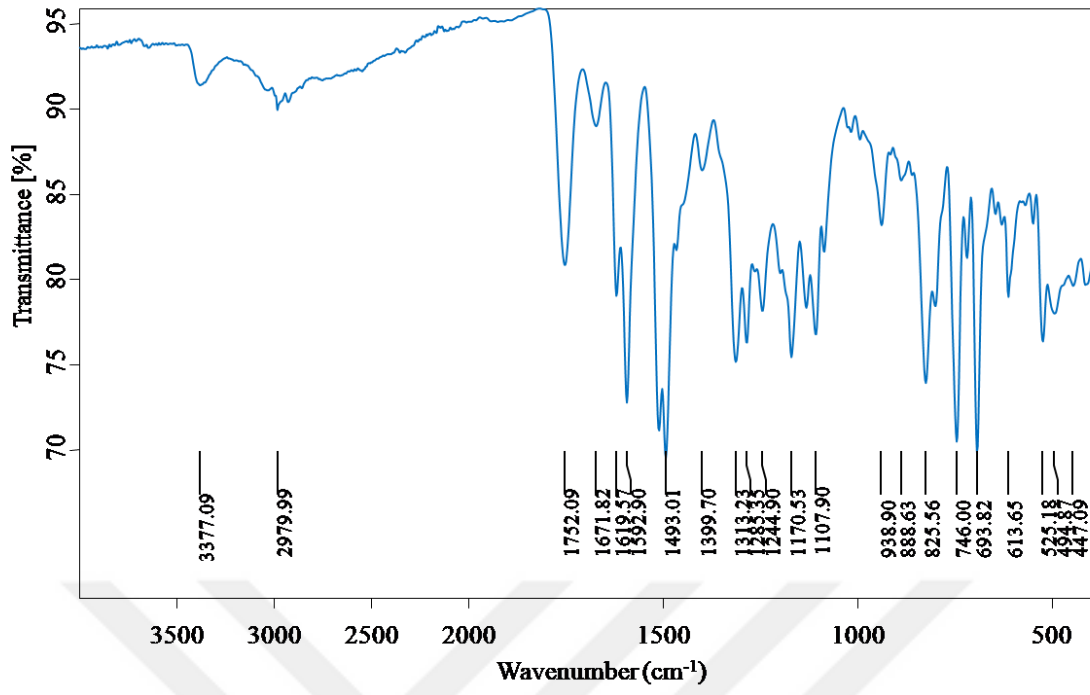
Şekil A.3 : Dialdehit türevli Bisfenol-A bileşiğinin ¹H-NMR spekturumu.



Şekil A.4 : FPAB'ın ^1H -NMR spektrumu.

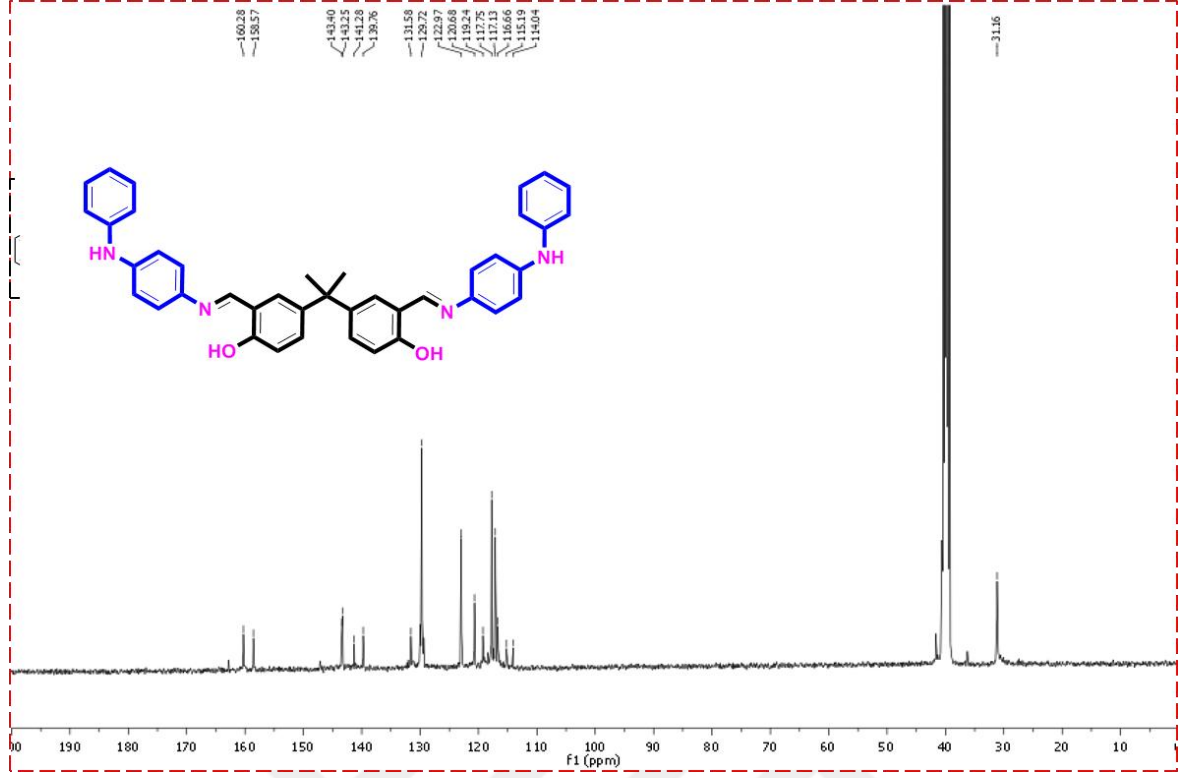


Şekil A.5 : FPAB'ın ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil A.6 : FPAB bileşiğinin FTIR spektrumu.





Şekil A.8 : BEF'in ^{13}C -NMR spektrumu.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Hüseyin KÜÇÜKBASMACI

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

Öğrenim Durumu:

Lise :

Lisans :

Yüksek Lisans / Doktora Tezinden Üretilen Yayınlar, Sunumlar ve Patentler: