

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI SEÇİCİ VE HASSAS BİSÜLFİT
SENSÖRÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emre ÖZDEMİR

Kimya Bölümü

Kimya Programı

HAZİRAN 2022

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI SEÇİCİ VE HASSAS BİSÜLFİT
SENSÖRÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Emre ÖZDEMİR
(509201208)**

Kimya Bölümü

Kimya Programı

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İsmail YILMAZ

HAZİRAN 2022

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün 509201208 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Emre ÖZDEMİR, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI SEÇİCİ VE HASSAS BİSÜLFİT SENSÖRÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

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

Jüri üyeleri : Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Aydın TAVMAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Teslim Tarihi : 03.06.2022
Savunma Tarihi : 23.06.2022





Babamın anısına,



ÖNSÖZ

Genel Kimya derslerinden beri kendisini tanıdığım, derslerde ve yanında çalıştığım zamanlarda geniş bilgi birikimi ve vizyonu ile bana farklı bakış açıları kazandıran, ne zaman ihtiyacım olsa vaktini ayırıp bana yol gösteren, her zaman yanımda olduğunu bildiğim çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. İsmail YILMAZ'a;

Beni bu günlere kadar sabırla getiren, eğitimim için her türlü fedakarlığı yapmış ve şefkatlerini asla eksik etmemiş olan sevgili annem Fatma ÖZDEMİR ve babam Muhittin ÖZDEMİR'e; bugüne kadar benimle tıpkı bir arkadaş gibi yanımda olan, hayatım boyunca sevincimi ve hüznümü paylaştığım biricik kardeşim Melike ÇADIRCI'ya ve bana dayılık duygusunu tattıran çok kıymetli yeğenim Nesibe Serra ÇADIRCI'ya;

Laboratuvar derslerinden beri tanıdığım ve beraber çalıştığımız ilk günden beri yardımlarını esirgemeyen, her ihtiyacım olduğunda her zaman yardımlarını isteyebileceğimi bildiğim ve benimle öz kardeşleriymiş gibi ilgilenen çok değerli abilerim Araş. Gör. Yusuf ALÇAY ve Araş. Gör. Özgür YAVUZ'a; birlikte çalışmaktan keyif duyduğum, hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. Mustafa Semih YILDIRIM, Araş. Gör. Hülya Arıbuğa, Dila ÇETİN, Utku ERTUĞRAL, Dr. Öğr. Üyesi Seçil KIRLANGIÇ ATAŞEN, Mehmet KAPLAN, Elif YILMAZ, Vuslat BASAN ve tüm Yılmaz LAB grubuna;

Bilimsel ve felsefi konularda tartışmaktan keyif aldığım, fikirlerine değer verdiğim, her türlü desteğini bana gösteren ve yanımda olan değerli dostum ve silah arkadaşım Emirhan GENÇOSMAN'a; lise yıllarımdan beri tanıdığım ve tüm kalbimle güvendiğim, orijinal fikirlerini benden esirgemeyen kadim dostum Sait Furkan TEKE'ye;

Bu çalışmayı destekleyen (Proje Numarası: TYL-2022-43645) İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne;

Hayatım boyunca yollarımızın kesiştiği ve bugün olduğum kişi olmamda emeği olan tüm dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Haziran 2022

Emre ÖZDEMİR
(Kimyager)



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET	xix
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Floresans Spektroskopi Prensibi ve Uygulanması	3
2.1.1 Floresans spektroskopi prensibi	3
2.1.2 Uygulama alanları	4
2.2 Rodamin Boyalar.....	4
2.2.1 Rodaminlerin tarihçesi ve bazı türevleri	4
2.2.2 Rodaminlerin elektronik ve spektral özellikleri.....	5
2.3 Siyanin Boyalar	6
2.3.1 Siyaninlerin tarihçesi ve bazı türevleri.....	6
2.3.2 Siyanin boyaların elektronik ve spektral özellikleri	7
2.4 Kromenilyum-Siyanin Boyaları	8
2.4.1 Kromenilyum-siyaninlerin tarihçesi ve bazı türevleri	8
2.4.2 Kromenilyum-siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri	9
2.4.3 Kromenilyum-siyanin türevi moleküllerle yapılan bazı kemosensör çalışmaları	9
2.5 Bisülfıt tespit mekanizmaları ve bazı bisülfıt kemosensörleri	12
2.6 Analizde Akıllı Telefon.....	17
2.6.1 Kablosuz elektrokimyasal sensörler.....	18
2.6.2 Kablosuz optik kimyasal sensörler	19
3. DENEYSEL BÖLÜM	23
3.1 Kimyasallar ve Cihazlar	23
3.1.1 Kimyasallar	23
3.1.2 Cihazlar	23
3.2 Sentez Prosedürü	24
3.2.1 Kromenilyum-siyanin hidrazit (CS ₂ H) molekülünün sentezi.....	24
3.2.2 Aldehit fonksiyonel gruplu kromenilyum-siyanin tabanlı bisülfıt sensörünün (CyR) sentezi	24
3.3 Tek Kristal X-Işını Kırınımı Yöntemi.....	25
3.4 CyR'nin Spektral Davranışı ve Uygun Çalışma Koşullarının Bulunması	29
3.5 Seçicilik Çalışması	30
3.6 Diğer Anyonların Girişimi	31
3.7 Cevap Süresi.....	31
3.8 Oransal Yöntem Kullanılarak UV-Gör Cihazıyla Yapılan Bisülfıt Titrasyonu.....	32
3.9 Floresans Spektrofotometrisiyle Bisülfıt Titrasyonu	33

3.10 Bisülfıt Bağlanma Modu	33
3.11 Gerçek Örnekler İçerisinde Bisülfıt Analizi	35
3.12 Test Kağıdı ile Bisülfıt Tayini	36
3.13 Akıllı Telefon ile Bisülfıt Analizi.....	37
3.14 CyR'nin Literatürdeki Bazı Bisülfıt Sensörleriyle Karşılaştırılması.....	38
4. SONUÇ VE YORUMLAR	41
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	51



KISALTMALAR

FT-IR	: Fourier-Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopi
UV-Gör	: Ultraviyole Görünür Işık Spektroskopisi
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
DCM	: Diklorometan
DMF	: Dimetil formamit
RSD	: Bağlı Standart Sapma
HOMO	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital
LUMO	: En Düşük Boş Moleküler Orbital
MALDI-TOF	: Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
LOD	: Tespit limiti
XRD	: X-Işını Kırınım Yöntemi
CyR	: (E)-2-(((E)-6'-(diethylamino)-3-oxo-4'-(2-((E)-1,3,3- trimethylindolin-2-ylidene)ethylidene)-1',2',3',4'- tetrahydrospiro[isoindoline-1,9'-xanthen]-2-yl)imino)acetaldehyde



SEMBOLLER

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



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 : CyR için kristal ve yapı iyileştirme parametreleri.....	27
Çizelge 3.2 : Bağ uzunlukları	28
Çizelge 3.3 : Bağ açıları (soldaki) ve burulma açıları (sağdaki)	26
Çizelge 3.4 : Gerçek örneklerde florometriyle bisülfid analiz sonuçları.....	36
Çizelge 3.5 : Akıllı telefon ile yapılan şeker numunesindeki bisülfid analizi sonuçları.....	38
Çizelge 3.6 : Literatürdeki bazı bisülfid kemosensörlerin bir takım parametrelerinin CyR ile karşılaştırılması.....	39



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : S_0 düzeyinde bulunan elektronun uyarılmasıyla temel hale geri dönerken molekülün floresans ve fosforesans yapma mekanizması (Perrin-Jablonski Diyagramı).	3
Şekil 2.2 : Rodamin B'nin lakton formunun sentez şeması.....	4
Şekil 2.3 : Rodamin B, rodamin 6G ve rodamin 123 moleküllerinin yapıları.....	5
Şekil 2.4 : Rodamin 101'in katyonik, anyonik ve laktin formunun denge hali ve rodamin B'nin asidik ile bazik koşullardaki formları.	5
Şekil 2.5 : İlk sentezlenen siyanin boyasının konjugasyon yapısı.....	6
Şekil 2.6 : Siyanin boyalarının genel yapısı.	7
Şekil 2.7 : Bazı siyanin boyaları.	7
Şekil 2.8 : Kromenilyum-Siyanin iskeletinin karboksilik asit formunun bazı türevleri.	8
Şekil 2.9 : Bazı kromenilyum-siyanin türevi bileşikler (a) ve bu bileşiklerin UV-Gör (b) ve floresans (c) spektrumları.	9
Şekil 2.10 : Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörün hipoklorit ile bakır bağlama mekanizması.....	10
Şekil 2.1 : Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörün yapısı, bu yapının ve bakır(II) kompleksinin kristal yapıları.	10
Şekil 2.12 : N-Cys kemosensörünün sistein tayin etme mekanizması, pH çalışma aralığı ve hücre içi çalışma görüntüleri.	11
Şekil 2.13 : L kemosensörünün önerilen civa bağlama mekanizması.	12
Şekil 2.14 : Nükleofil bisülfitin elektrofil karakteri taşıyan karbonil grubuna katılma mekanizması.....	12
Şekil 2.15 : Rodamin B türevi olan bisülfid sensörünün tespit mekanizması.	13
Şekil 2.16 : 1 numaralı bisülfid sensörünün çalışma mekanizması.	13
Şekil 2.17 : 1 numaralı sensörün bisülfid derişimiyle değişen floresans spektrumundaki değişimi ve bisülfid varlığında floresans ışık altındaki renk değişimi.	14
Şekil 2.18 : PCN bisülfid sensörünün önerilen tespit mekanizması.....	14
Şekil 2.19 : PCN bisülfid sensörünün bisülfid derişimi değişmesiyle beraber değişen UV-Gör ve floresans spektrumları, cevap süresi ölçüm sonucu ve bisülfid varlığıyla renk değişimi.....	15
Şekil 2.20 : Kumarin-tiazol kemosensörünün bisülfitle olan reaksiyon mekanizması ve bisülfid varlığında renk değişimi.	15
Şekil 2.21 : Kumarin-tiazol kemosensörünün bisülfid derişimi değişmesiyle floresans spektrumundaki değişimi.	16
Şekil 2.22 : Rodamin türevi bisülfid kemosensörünün bisülfid tespit mekanizması, bisülfid varlığındaki UV-Gör ve floresans spektrumundaki ve çözelti rengindeki değişimi.	17
Şekil 2.23 : Rodamin türevi bisülfid sensörünün zebra balığı hücrelerindeki bisülfid analizi.	17
Şekil 2.24 : Kablosuz elektrokimyasal analiz yöntemi genel şeması.	19
Şekil 2.25 : Optik kimyasal sensörle analiz yönteminin genel şemaları.	20

Şekil 2.26 : Sindirim sisteminde kanama tespiti yapabilen kimyasal sensörde kullanılan cihazlar.	21
Şekil 2.27 : Ter analizi yapan kimyasal sensör (a) ve vücut üzerindeki ölçümü (b).	22
Şekil 3.1 : CS ₂ H'den başlayarak CyR sentez şeması.	25
Şekil 3.2 : CyR'nin termal elipsoidleri %50 olasılıkla çizilmiştir. Netlik sağlamak için hidrojen atomları kaldırılmıştır.	28
Şekil 3.3 : CyR'nin farklı pH ortamlarında bisülfitle olan davranışlarının UV-Gör (solda) ve floresans (sağda) ölçümleri.	29
Şekil 3.4 : Seçicilik çalışmasının UV-Gör (üstte) ile floresans (altta) ölçümleri ve çeşitli anyonlar varlığında renk değişimleri.	30
Şekil 3.5 : Girişim çalışmasının UV-Gör (solda) ve floresans (sağda) ölçümleri.	31
Şekil 3.6 : Bisülfid katılma reaksiyonun UV-Gör (sağda) ve floresans (solda) cihazı ile takibi.	31
Şekil 3.7 : Bisülfid titrasyonunun UV-Gör spektrumu (solda) ve bu spektrumla oransal yöntem kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi (sağda).	32
Şekil 3.8 : Bisülfid titrasyonunun floresans spektrumu (solda) ve bu spektrumla hazırlanan kalibrasyon eğrisi (sağda).	33
Şekil 3.9 : CyR ve CyR'ye bisülfid katılmış yapının FT-IR karşılaştırması.	34
Şekil 3.10 : CyR ve CyR'ye bisülfid katılmış yapının ¹ H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması.	34
Şekil 3.11 : CyR'ye bisülfid katılmış yapının MALDI-TOF analiz sonuçları.	35
Şekil 3.12 : CyR adsorplanmış test kağıtlarının farklı bisülfid derişimli çözeltileri damlatıldığında oluşan renk değişimleri (a: 10 ⁻¹ M HSO ₃ ⁻ , b: 10 ⁻² M HSO ₃ ⁻ , c: 10 ⁻⁴ M HSO ₃ ⁻ , d: 10 ⁻⁵ M HSO ₃ ⁻ , e: 10 ⁻⁵ M HSO ₃ ⁻ , f: 10 ⁻⁶ M HSO ₃ ⁻ , g: CyR).	36
Şekil 3.13 : Akıllı telefon yardımıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi ve artan bisülfid miktarına göre çözeltideki renk değişimi.	37

KROMENİLYUM-SİYANİN TABANLI SEÇİCİ VE HASSAS BİSÜLFİT SENSÖRÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

İlk olarak 1905 yılında m-aminofenol ve ftalik anhidritle bir Lewis asidi varlığında sentezlenmiş olan rodamin bileşiği, ksanten grubunun bir türevi olup kemosenör alanında oldukça yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Kendine özgü bir tespit mekanizmasına sahip olmasının yanında yüksek floresans verimi, yüksek absorpsiyon katsayısı ve uzun uyarılma ve emisyon dalgaboyuna sahip olması gibi özelliklerinden ötürü bu bileşiklerle yapılan analizlerin sonuçları hassas ve kesindir. Geniş bir pH aralığında kapalı spirolaktam halkasından ötürü zayıf floresan halde bulunan rodamin türevi bileşikler bir analit varlığında ya da asidik koşullarda bu halkanın açılması sayesinde bütün molekül boyunca π bağı konjugasyonu sağlandığı için kuvvetli floresan hale gelip absorpsiyon ve emisyon sinyallerinin artışı sayesinde kantitatif analizi mümkün kılar.

Yakın kızılötesi kemosenörleri hem yakın kızılötesi bölgesinde biyomoleküllerin oto-floresanından kaynaklı arkaplan gürültüsünün az olmasından hem de hücre içi çalışmalarda analiz yaparken bu bölgedeki ışığın yüksek doku penetrasyonu sayesinde daha derin görüntülemeyi mümkün kılabileceğinden ve bu dalgaboyundaki ışığın hücreye zarar verme olasılığının oldukça azalmasından ötürü biyolojik ve çevresel analizlerde sıklıkla tercih edilir. Siyanin türevi, spesifik olarak rodamin-siyanin (ya da kromenilyum-siyanin) türevi kemosenörler özellikle yakın kızılötesi bölgede çalışmalarından dolayı tercih edildiği gibi rodamin türevi bileşiklerdeki özgün tespit mekanizmasına da sahiptir.

Bisülfid anyonu; enzim inhibitörü, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinden dolayı özellikle şekerli ve alkollü gıdalarda koruyucu olarak kullanılıp bu gıdalara uzun raf ömrü sağlayabilen bir anyondur. İnsan vücudundaki aşırı vücutta, özellikle solunum problemleri yaratan astım, akciğer kanseri, solunum sistemine zarar veren alerjik reaksiyonlar gibi hastalıkların yanında kalp rahatsızlıklarına da sebebiyet verebilir. Bu nedenle gıdalardaki denetimi ve kısıtlamaları oldukça önemlidir. Bisülfid anyonunun tespiti için spektrofotometri, spektrofotometri, kemilüminesans,

kromatografi gibi halihazırda birçok yöntem bulunmaktadır. Fakat bu yöntemlerin uygulanması, analiz için zaman harcayıcı ön hazırlık prosedürü ve bu yöntemlerde kullanılan cihazları kullanabilen uzmanlar gerektirir. Bu yöntemlerin bahsedilen olumsuz yönlerinden dolayı; hızlı, kesin ve hassas analizi mümkün kılan kemosensörler, bisülfid analizi için oldukça ilgi görmektedir.

UV-Gör ve floresan cihazlarıyla analizin yanısıra, son zamanlarda hızlı ve kolay kantitatif analiz için geliştirilen bir yöntem kolorimetrik kemosensörlerde analiz için gereken tek cihazı sadece akıllı telefona kadar indirgemıştır. Renkler dijital ortamda kırmızı, mavi ve yeşil rengin farklı oranlarda birleşmesiyle tanımlanır. Dolayısıyla hazırlanan sensör bileşimi çözeltisinin-eğer rengi varsa- dijital ortamda (R, G, B) formatında sayısal bir karşılığı vardır. Analit derişiminin değışmesiyle gerçekleşen çözelti rengindeki değışim; dijital ortamdaki bu sayısal değerlerin değışmesi, dolayısıyla değışen analit miktarına karşı bu değışimin doğrusal olabileceğı manasına gelir. Bu prensip kullanılarak geliştirilmiş bu yöntem kolorimetrik kemosensörlerle yapılan kantitatif analizi oldukça pratik hale getirmiştir.

Bu bağlamda, bu tez çalışması kapsamında, aldehit fonksiyonel grubuna sahip kromenilyum-siyanın tabanlı kemosensör (**CyR**) UV-Gör, floresan spektrometre cihazları ve akıllı telefonla bisülfid tayinin yapılabilmesi için geliştirilmiştir. Daha önce sentezlenmiş olan bu kemosensörün kristal yapısı X-Işını Kristalografisi ile aydınlatılmıştır. Bisülfid anyonunun aldehit fonksiyonel grubuna nükleofilik katılması sonucu spirolaktam halkasının açılabilceğı öngörüsünde bulunduğumuz sensörün, içinde %50 DMF yardımcı çözücüsü bulunan pH 5 tampon ortamındaki çözeltisine bisülfid eklendiğinde başlangıçta sarı olan **CyR** çözeltisinin rengi bisülfid nükleofilik katılma sonucu spirolaktam halkası açılmasıyla öngöröldüğü gibi yeşile dönmüştür. Moleküldeki bu değışiklik UV-Gör spektrumunda 724 nm ve 480 nm bandındaki absorpsanların artarken 385 nm 'deki absorpsanın artması şeklinde gözlemlenmiştir. Bu eş zamanlı değışim UV-Gör analizinde oransal yöntemi kullanmayı mümkün kılmaktadır. Floresans spektrumunda ise 745 nm 'de zayıf emisyon veren molekülün bisülfid varlığında bu dalga boyundaki emisyonunun şiddetini arttırdığı gözlenmiştir. Bu sonuçla beraber optimizasyon çalışmaları sonucunda spektrofotometrik çalışma koşulları %50 DMF yardımcı çözücüsüyle pH 5 sulu tampon ortamında **CyR**'nin 30 µM 'lık çözeltisi olmuştur. Optimizasyonun ardından katılma reaksiyonun ne sürede bittiğini anlayabilmek için sensörün cevap süresi çalışması yapılmış ve reaksiyonun

dengeye gelme süresi yaklaşık 300 saniye olarak belirlenmiştir. Bu sonuca göre bütün çalışmalar bu süre dikkate alınarak yapılmıştır. Analiz için uygun pH ortamını belirlemek için pH çalışması yapılmış olup **CyR**'nin pH 1-10 aralığındaki verdiği absorpsiyon ve emisyon sinyallerinin bisülfite katılmasıyla nasıl değiştiği gözlenmiştir. Bu çalışmaya göre **CyR**'nin pH 5 ve 7 sulu tampon ortamlarında bisülfite uygun cevap verdiği gözlenmiştir. Fakat bisülfite anyonu sulu ortamda sülfite anyonuyla denge halinde olduğundan ve bazik ortamın bu dengenin yönünü sülfite doğru kaydıracağından çalışma koşulu olarak pH 5 sulu tamponu seçilmiştir. Uygun çalışma ortamı kesinleştirildikten sonra seçicilik ve girişim çalışması yapılmış olup bu çalışmanın sonucuna göre **CyR**'nin herhangi bir anyon varlığında absorpsiyon ve emisyon sinyallerinde bir değişime uğramadan sadece bisülfite cevap verdiği görülmüş ve bisülfite seçici olduğu gözlenmiştir. Bisülfite derişimine göre absorpsiyon ve emisyon sinyallerinin kalibrasyon eğrisinin çıkarılması için titrasyon çalışması yapılmış ve lineer aralığın UV-Gör ölçümlerine göre 10-160 μM ve floresan ölçümlerine göre 145-270 μM olduğu saptanmıştır. Bu kalibrasyon eğrisine göre yapılan tespit limiti sırasıyla 1.15 μM ve 0.09 μM olarak hesaplanmıştır. Bisülfite bağlanma modunun daha iyi anlaşılması için FT-IR, ^1H -NMR ve MALDI-TOF ölçümleri yapılmış olup bisülfitin öngörüldüğü gibi aldehit fonksiyonel grubuna katıldığı doğrulanmıştır. Buna ek olarak; **CyR**'nin kırmızı şarap, roze şarap ve toz şekerde yüksek geri kazanım oranlarıyla bisülfite tespiti yapabildiği gözlenmiştir. Akıllı telefonla bir numunede bisülfite tayini yapılabildiği ise yine akıllı telefon yardımıyla toz şekerde yapılan bisülfite analizinin yüksek geri kazanım yüzdeleri göstermiştir. Son olarak, bir diğer uyguma alanı olan kağıt testi çalışması yapılmıştır. **CyR**, hazırlanan derişik DMF'teki çözeltisinden kağıt şeritlerine emdirilip bu şeritlerin üzerine farklı derişimlerde bisülfite sulu çözeltisi damlatıldığında bisülfite derişimine göre başlangıçta sarı olan kağıt şeritlerinin farklı yoğunlukta yeşil renkleri elde edilmiştir. Böylece bir numunede kağıttaki yeşil rengin yoğunluğuna göre bisülfite derişimi yaklaşık olarak belirlenebilmektedir. Bütün bu çalışmalar ışığında UV-Gör, floresan ve akıllı telefon olmak üzere üç kanallı analiz gerçekleştiren, UV-Gör ölçümlerine göre oransal yöntem kullanılabilen, seçici ve hassas bir kolorimetrik bisülfite sensörü geliştirilip literatüre kazandırılmıştır.



DEVELOPMENT OF CHROMENYLIUM-CYANINE BASED SELECTIVE AND SENSITIVE BISULFITE SENSOR

SUMMARY

Rhodamine compound, which was first synthesized by the reaction of m-aminophenol and phthalic anhydride in the presence of a Lewis acid in 1905, is a derivative of the xanthene group and has been widely used in the field of chemosensors. In addition to having unique detection mechanism, the result of the analyzes performed with these compounds are sensitive and precise due to their properties such as high fluorescence yield, high absorption coefficient and long excitation and emission wavelengths. Rhodamine derivative compounds, which are weakly fluorescent due to the closed spirolactam ring in a wide pH range, enable quantitative analysis in the presence of an analyte or in acidic conditions, due to the opening of this ring, because π bond conjugation is provided throughout the molecule, it becomes strongly fluorescent and increases absorption and emission wavelength.

Near-infrared chemosensors are used in both biological and environmental analyzes because the device background noise is low due to absorption and emissions in the near infrared region, and because it enables deeper imaging thanks to the high tissue penetration of the light in this region when analyzing in intracellular studies, and the possibility of damaging the cell at this wavelength is considerably reduced. Cyanine-derived, specifically rhodamine-cyanine (or chromenylum-cyanine) derivative chemosensors are preferred because they work especially in the near infrared region, and they also have a unique detection mechanism in rhodamine-derived compounds.

Bisulfite anion; due to its enzyme inhibitor, antimicrobial and antioxidant properties, it is an anion that can be used as a preservative especially in sugary and alcoholic foods and can provide these foods with a long shelf life. In excess, it can cause heart diseases as well as diseases such as asthma, lung cancer, allergic reactions that damage the respiratory system, which cause respiratory problems in the human body. For this reason, control and restrictions of bisulfite anion in foods are very important. There are currently many methods for the detection of bisulfite anion, such as spectrofluorometry, spectrophotometry, chemiluminescence, chromatography. However, the application of these methods requires time-consuming preparation

procedure for analysis and specialists who can use the devices used in these methods. Due to the mentioned negative aspects of these methods; Chemosensors, which enable fast, precise and sensitive analysis, are of great interest for bisulfite analysis.

In addition to analysis with UV-Vis and fluorescent devices, a method recently developed for quick and easy quantitative analysis has reduced the only device required for analysis in colorimetric chemosensors to just a smartphone. Colors are defined by the combination of red, blue and green colors in different proportions in the digital environment. Therefore, the prepared sensor compound solution, if it has color, has a digital equivalent in (R, G, B) format. The change in solution color with the change of analyte concentration; the change of these numerical values in the digital environment means that this change can be linear against the changing amount of analyte. Developed using this principle, this method has made quantitative analysis with colorimetric chemosensors very practical.

In this context, within the scope of this thesis, a chromenylium-cyanine based chemosensor (**CyR**) with aldehyde functional group has been developed for bisulfite determination with fluorescence and UV-Vis spectrometer devices and smartphone. The crystal structure of this chemosensor, which was synthesized before, was brought to the literature by X-Ray Crystallography. When bisulfite was added to the solution of the sensor in pH 5 buffer medium containing 50% DMF co-solvent, the color of the **CyR** solution, which was initially yellow, turned green as predicted by the opening of the spiro lactam ring as a result of bisulfite nucleophilic addition. The response of this change in UV-Vis measurements was observed as a ratiometric decrease of the band with a maximum absorbance of 385 nm at the beginning, together with the increase in the band with the maximum absorbance of 724 nm. With this result, as a result of optimization studies, spectrophotometric working conditions were found to be a 30 mM solution of **CyR** in pH 5 aqueous buffer with 50% DMF co-solvent. In order to understand how long the addition reaction takes after the optimization, the response time of the sensor was studied and the time for the reaction to reach equilibrium was determined as approximately 300 seconds. According to this result, all studies were carried out taking this time into account. A pH study was carried out to determine the appropriate pH environment for the analysis, and it was observed how the absorption and emission signals of **CyR** in the pH range of 1-10 changed with the addition of bisulfite. According to this study, it was observed that **CyR** responded appropriately

to bisulfite in pH 5 and 7 aqueous buffer environments. However, since the bisulfite anion is in equilibrium with the sulfide anion in the aqueous medium and the basic medium will shift the direction of this balance towards the sulfite, the pH 5 aqueous buffer was chosen as the operating condition. After the appropriate working environment was determined, selectivity and interference studies were carried out, and according to the results of this study, it was observed that **CyR** only responded to bisulfite without any change in the absorption and emission signals in the presence of any anion, and it was selective to bisulfite. Titration study was carried out to calculate the calibration curve of the absorption and emission signals according to the bisulfite concentration and it was determined that the linear range was 10-160 μM according to the UV-Vis measurements and 145-270 μM according to the fluorescence measurements. The detection limit made according to this calibration curve was calculated as 1.15 μM and 0.0868 μM , respectively. In order to better understand the bisulfite binding mode, FT-IR, ^1H -NMR and MALDI-TOF measurements were made and it was confirmed that bisulfite joined the aldehyde functional group as predicted. In addition; it has been observed that **CyR** can detect bisulfite with high recovery rates in red wine, rose wine and granulated sugar. It has been shown that bisulfite determination can be made in a sample with a smartphone, and bisulfite determination with a high recovery rate in granulated sugar according to the calibration curve prepared using a smartphone before. Finally, a paper test study, which is another application area, was carried out. When **CyR** was absorbed from its solution in concentrated DMF to the paper strips and bisulfite aqueous solution of different concentrations was dripped onto these strips, different intensities of green colors of the paper strips, which were initially yellow, were obtained according to the bisulfite concentration. Thus, the bisulfite concentration can be approximately determined in a sample according to the intensity of the green color in the paper. In the light of all these studies, a selective and sensitive colorimetric bisulfite sensor, which performs three-channel analysis, namely UV-Vis spectrometer with ratiometric method, fluorescence spectrometer and smartphone, has been developed and brought to the literature.



1. GİRİŞ

Bisülfıt, SO₂ türevi bir anyon olup eski çağlardan günümüze kadar gıdalarda koruyucu olarak kullanılmış ve halen aynı amaçla kullanılmaya devam etmektedir. Eski zamanlarda Romalılar ve Mısırlılar SO₂ gazını şarap kaplarınının dezenfeksiyonu için kullanmışlardır. Daha sonralarında aynı mantıkla elma şaraplarının depolandığı kaplar ve fiçılar SO₂ gazıyla dezenfekte edilmiştir. 1921 yılında ise sodyum bisülfıt ilk kez gıda katkı maddesi olarak kullanılmıştır[1]. Bisülfıtın antioksidan ve enzim inhibitör özelliği, onu genellikle alkollü gıdalarda, meyve sularında ve kuru meyvelerde koruyucu olmaya uygun olmasını sağlamıştır. Sülfıtlerin oksitlenerek sülfatlara dönüşürken oluşturduğu radikalik ara ürünler, gıdalarda koruyucu niteliğinde etkili bir antioksidan madde görevi görmesini sağlar[2]. Bisülfıtın, mikroorganizma ortamına eklendiğinde bu canlıların üreme hızlarını azalttığı görülmüş olup bu yönden de gıdalarda koruyucu madde olarak kullanmak için ideal bir anyon haline gelmiştir[3]. İnsanların bu gıda ürünlerini sıklıkla tükettiği düşünülürse, gıdalara eklenen bisülfıt miktarının kısıtlanması ve kontrol edilmesi önemli bir hale gelmektedir. Çünkü insan vücuduna alınan aşırı bisülfıtın astım, akciğer kanseri, solunum sistemine zarar veren alerjik reaksiyonlar gibi özellikle solunumu etkileyen birçok zararı bazı çalışmalar sayesinde sabittir. Bunun yanısıra bir takım kalp rahatsızlığına da yol açtığı bilinmektedir[1,4–7]. İnsanlara verebileceği bu zarardan ötürü Avrupa Parlamento ve Konsey Yönetmeliği bir insanın bir günde alabileceği güvenli bisülfıt miktarını 0.7 mg.kg⁻¹ olarak belirlemiştir[8]. Bu bağlamda gıdalardaki bisülfıt miktarını kolay ve kesin bir şekilde tespit edebilmek hayati bir öneme sahip hale gelmiştir. Günümüzde halihazırda bisülfıt analizi için spektrofotometri[9–11], spektrofotometri[12–14], kemiluminesans[15–17], kromatografi[18] gibi birçok yöntem bulunmaktadır fakat bu yöntemlerin uzun ön hazırlık prosedürlerine sahip olması ve bu yöntemler için gereken cihazları kullanmasını bilen uzman kişilere ihtiyaç duyulmasından ötürü bisülfıt analizi için daha pratik yollar tercih edilmeye başlanmıştır. Kolorimetrik floresan kemosensörler uygulama kolaylığı, hızlı ve kesin sonuç vermeleri ve az maliyetli olmalarından ötürü bisülfıt analizi için mükemmel

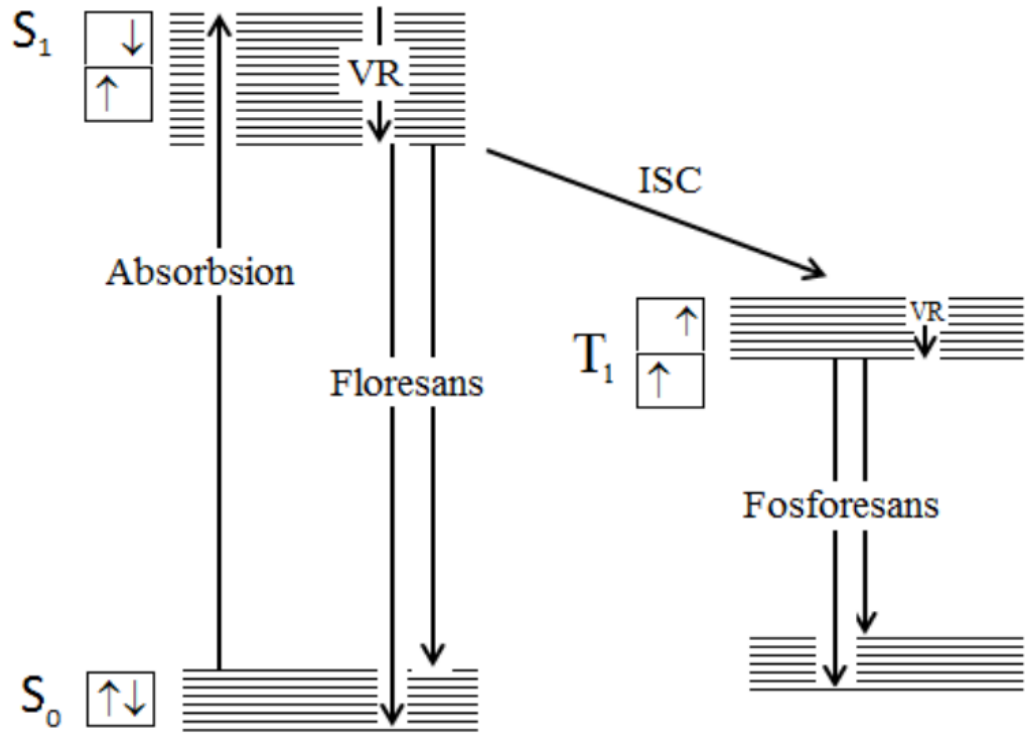
adaylar olmuşlardır[19–21]. Günümüzde anyon, kation ya da aminoasitler gibi birçok analit tespiti için rodamin, siyanin, BODIPY türevleri gibi birçok sensör kullanılmaktadır. Bu sensörlerin yüksek kuantum verimine, yüksek molar absorpsiyon katsayısına, yakın kızılötesi bölgede absorpsiyon ve emisyon dalgaboyuna sahip olmaları gibi üstün fotofiziksel özellikleri bu molekülleri mükemmel kemosenörler yapmaktadır. Bisülfitin nükleofilik karakterinden ötürü bu kemosenörlerin arasından reaksiyon temelli tespit mekanizmasına sahip; yapısında elektrofil karakterli aldehit, keton ya da 1,4 konjuge alken fonksiyonel gruplarını bulunduran moleküller tasarlandığında bisülfite karşı seçicilik rahatlıkla sağlanmaktadır[22–24]. Rodamin türevli kemosenörler spirolaktam ortamdaki analit derişimi tetiklemesiyle halka yapısının açılması gibi özgün bir tespit mekanizmasına sahiptir. Nötr veya bazik koşullarda geniş bir pH aralığında zayıf floresan halde olan spirolaktam halkası kapalı yapısındaki rodamin türevli bileşikler bir analit varlığında veya şiddetli asidik koşullarda molekül içi konjugasyonu kesen bu halka açılır ve tüm molekül içerisinde konjugasyon sağlanır. Yeniden düzenlenen bu π bağlarının UV-Gör ve floresan cihazlarında molekülün yapısına bağlı olarak, kemosenöre “turn-on” özelliği kazandıran, 550-650 nm arası kuvvetli bir absorpsiyon ve emisyon artışı gözlenir[25,26]. Siyanin grubuyla da türevlendirilen bu rodamin sensör platformu, bu grupla türevlendirildiğinde absorpsiyon emisyon dalga boyları yakın kızılötesi bölgeye daha da yaklaşmaya başlar. Bu kategori altında bulunan ve son zamanlarda büyük ilgi gören rodamin-siyanin (kromenilyum-siyanin) sensör platformu, bünyesinde en uzun absorpsiyon ve emisyon dalgaboyuna sahip molekülleri barındırır[27]. Rodamin türevli kemosenörlerin özgün tespit mekanizmasına sahip bu moleküllerin yakın kızılötesi bölgede çalışıyor olmalarının 2 önemli avantajı vardır. Bunların ilki, numunede bulunan biyomoleküllerden kaynaklı arkaplan oto-floresanın bu bölgede oldukça az olması yapılan ölçümlerin hassasiyetini ve güvenilirliğinin büyük ölçüde artırır. Bir diğer avantaj ise biyolojik sistemlerdeki uygulamasındadır. İnsanda veya hayvanda vücut içi görüntüleme yapılırken doku içine nüfuzun artırılması ve ışığın gönderildiği bölgede hasar oluşturmaması adına uzun dalga boylu ışık tercih edilir. Eğer vücut içine enjekte edilen boyar madde ne kadar uzun dalga boyunda uyarılıyorsa görüntüleme daha önce bahsedilen nedenlerden dolayı o kadar sağlıklı olur[28–30]. Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosenörlerin uyarılma dalga boyu oldukça uzun olduğu için bu alanda çalışılması için yüksek bir potansiyele sahiptir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Floresans Spektroskopisi Prensipleri ve Uygulanması

2.1.1 Floresans Spektroskopisi Prensipleri

Fotoluminesans, bir molekülün belli bir dalga boyunda ışıkla uyarıldığında absorplanan bu ışığın, moleküle ait uyarılmış elektronların enerjisinin bir kısmını sistem içi geçişlerle kaybederek temel hale dönerken uyarılan ışıktan daha düşük enerjili bir ışıkla emisyon yapma durumudur. Bu durum floresans veya fosforesans olarak uyarılmış fotoluminesansın doğasına göre iki şekilde gözlenebilir. Perrin-Jablonski diyagramı (Şekil 2.1) bu durumu net bir şekilde göstermektedir[31].



Şekil 2.1 S_0 düzeyinde bulunan elektronun uyarılmasıyla temel hale geri dönerken molekülün floresans ve fosforesans yapma mekanizması (Perrin-Jablonski Diyagramı).

Molekülün temel halinde HOMO' da bulunan (S_0) elektron belirli bir dalga boyundaki fotonla uyarıldığında LUMO'ya (S_1) geçer. Uyarılmış bu elektron temel hale geri dönmeden önce uyarılmış halde bulunduğu orbitalin en düşük enerji düzeyine iç

dönüşüm adı verilen bir süreçle geçer ve böylece değiştirdiği iki düzey arasındaki enerji farkı kadar enerjisini kaybetmiş olur. Uyarılmış halin en düşük enerji düzeyinde bulunan elektron temel hale floresan emisyonu yaparak geri döner. Böylece floresans spektroskopisinde uyarma ve emisyon dalgaboyunda bir fark gözlenir. Bu farka aynı zamanda Stokes Kayması da denir. Bu emisyon sadece elektronun tekli elektronik uyarılmış durumdan izin verilen bir temel hal seviyesine geri dönmesiyle gerçekleşir[32].

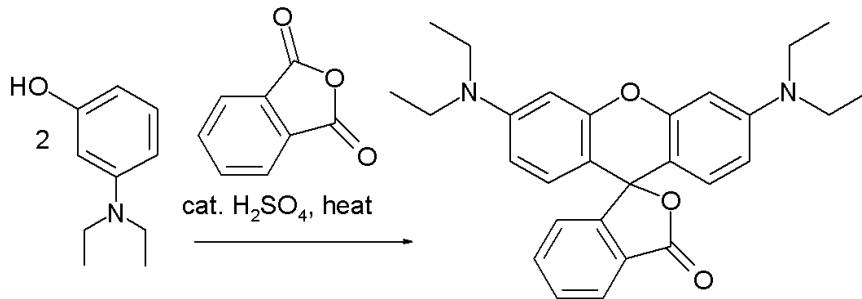
2.1.2 Uygulama Alanları

Bu yöntem genellikle bir florofor molekülün ortamdaki bir analit etkisiyle yaptığı emisyondaki değişim gözlenerek gerçekleştirilir. Bu iki parametre kendi arasında ilişkilendirilerek kantitatif bir analizin yapılması mümkün hale gelir. Floresans spektroskopisi kimya, biyokimya, çevre, eczacılık, tarım, endüstri gibi birçok alanda analiz olanağı sunmaktadır. Özellikle çevreye ve biyolojik sistemlere zararlı organik, inorganik, organometalik ve metalik kimyasalların analizinde önemli bir yere sahiptir[33].

2.2 Rodamin Boyalar

2.2.1 Rodaminlerin Tarihçesi ve Bazı Türevleri

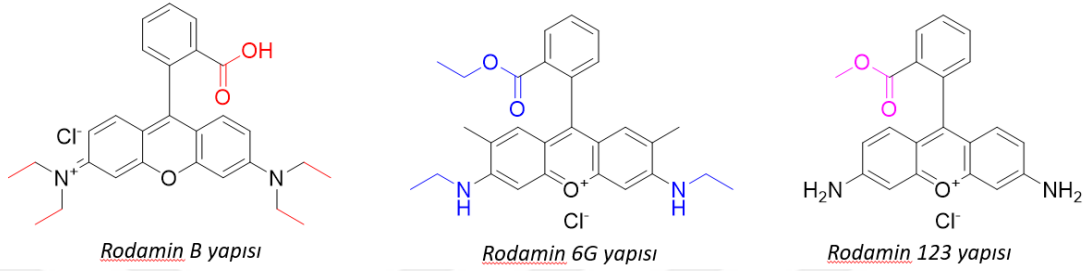
İlk defa 1905 yılında Noelling ve Dziewonsky tarafından sentezlenmiş olan rodaminler ksanten grubuna ait bileşiklerdir. Sentez m-aminofenol ve ftalik anhidritin Lewis asidi varlığındaki reaksiyonuyla gerçekleştirilmiştir. Sentezin genel şeması Şekil 2.2’de görülmektedir[34].



Şekil 2.2 Rodamin B’nin lakton formunun sentez şeması.

Yapısında ksanten, karboksilik asit, amino veya ester gibi grupları barındıran rodamin türevli moleküllerin uyarıldığında 550-650 nm arası dalgaboyunda güçlü bir emisyon

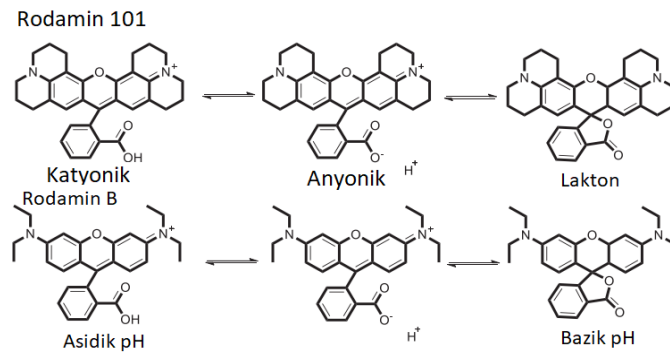
yapar. Ayrıca 540-600 nm dalgaboyu arasında ise yine güçlü bir absorpsiyon bandı gözlenir. İskelet yapıda yapılan kromofor değişiklikleri; rodamin B, rodamin 6G, rodamin 123 gibi çeşitlerin ortaya çıkmasını sağlar. Rodamin B’de ksantene bağlı benzoik asit ve dietil amin; rodamin 6G ‘de ksantene bağlı metil, etil amin ve etil fenil ester; rodamin 123’te ise yine ksantene bağlı amin, ve metil fenil ester grupları bulunur. 3 molekülün yapısı Şekil 2.3’te gösterilmiştir[26].



Şekil 2.3 Rodamin B, rodamin 6G ve rodamin 123 moleküllerinin yapıları.

2.2.2 Rodaminlerin Elektronik ve Spektral Özellikleri

Amino ve ksanten grupları arasında elektron transferi görülen rodamin yapılarında bu transferden dolayı batokromik kayma görülür. Bu kayma rodaminin içerisinde bulunduğu çözücünün polaritesi, pH değeri veya viskozitesi gibi özelliklerine göre değişkenlik gösterebilir.



Şekil 2.4 Rodamin 101’in katyonik, anyonik ve laktin formunun denge hali ve rodamin B’nin asidik ile bazik koşullardaki formları.

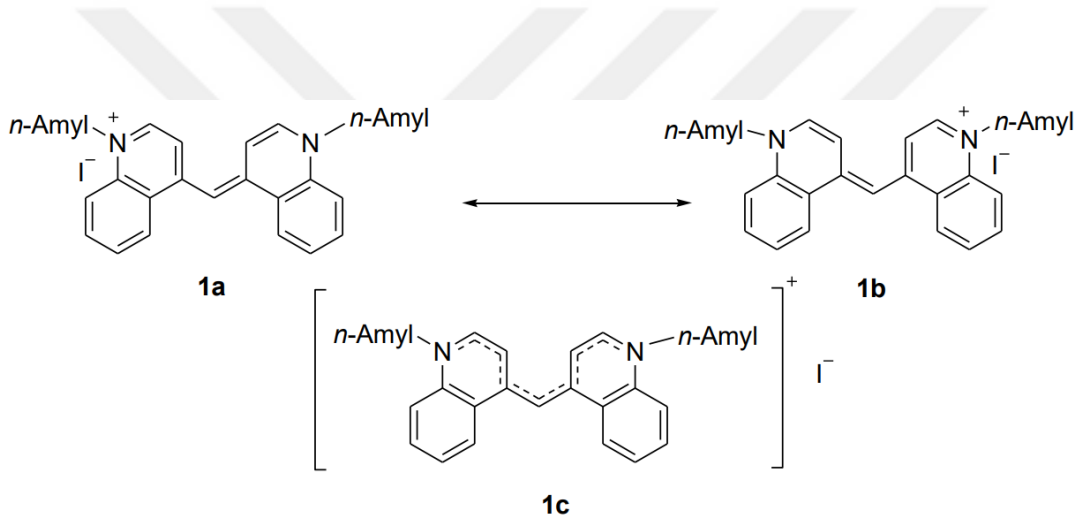
Rodaminler asidik ortamda yapısına proton katarak katyonik forma geçer. Öte yandan, bazik ortamda ise rodaminler ayrışır ve zwitter iyonu formuna dönüşür. Bu iki yapı özünde aynı olup negatif yük hipokromik kaymaya sebebiyet veren ksanten yapısında indüktif etkiye neden olur. Düşük polariteli çözücülerde zwitter iyon formunun pi konjugasyonunun kesilmesinden dolayı çözeltisine renksiz formu kazandıran bir lakton

formuna dönüşür. Bu formlar arasındaki yapı değişimleri Şekil 2.4'te görülmektedir[26].

2.3 Siyanin Boyalar

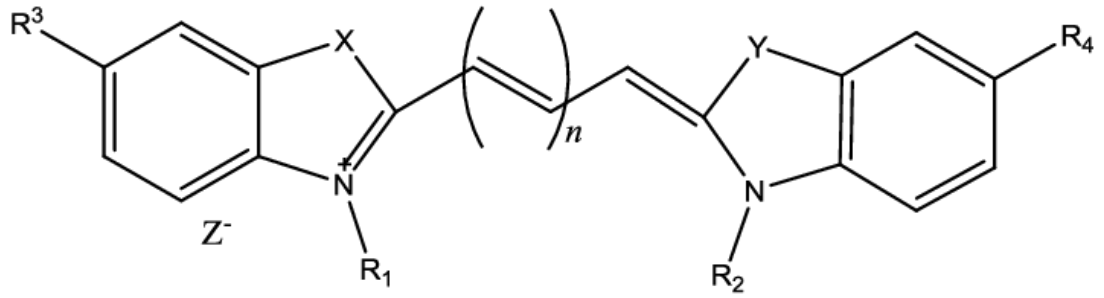
2.3.1 Siyaninlerin Tarihçesi ve Bazı Türevleri

İlk siyanin boya, 1856 yılında C. H. G. Williams tarafından, N-amil kinolinyum ile N-amil lepidinyumu amonyak içinde ısıtıp oldukça parlak mavi bir çözelti elde ederek sentezlemiştir. Siyanin boyaların ismi ise mavi anlamına gelen Latin köklü “cyanos” kelimesinden gelmektedir. Daha sonraki yıllarda ise siyanin türevi birçok boyar madde sentezlenmiştir. Sentezlenen ürünün konjuge yapıları Şekil 2.5'te gösterilmiştir[35].



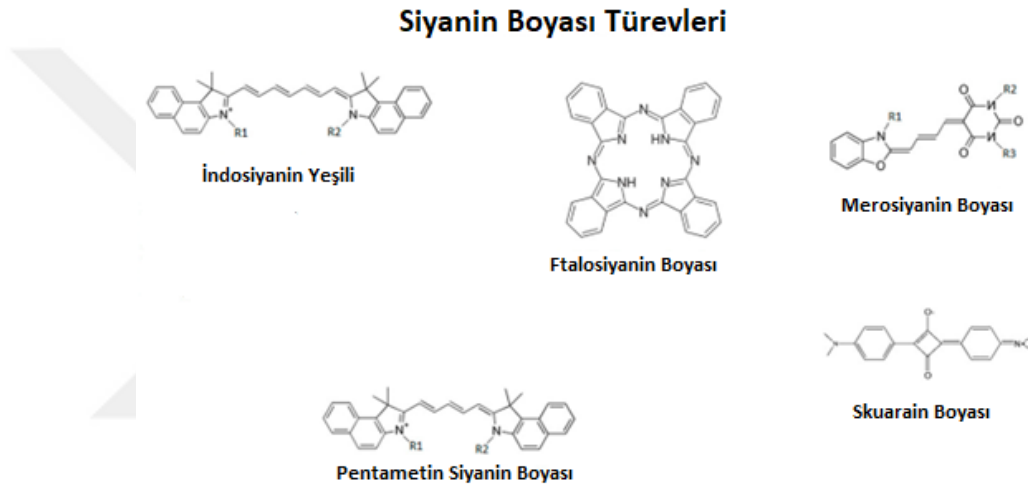
Şekil 2.5 İlk sentezlenen siyanin boyasının konjugasyon yapısı.

Polimetin boyaların bir türü olan siyanin boyalar 600-700 nm dalgaboyu arası yakın kızılötesi bölgede güçlü floresan emisyonuna sahip olmakla beraber floresans rezonans enerji transfer (FRET) ve floresans *in situ* hibridizasyonu (FISH) gibi sistemlerde yaygınca kullanılır[36]. Siyanin boyaların genel iskeletini tarif etmek gerekirse, biri pozitif yüklü olan iki azot atomunun birkaç konjuge karbondan oluşan polimetin zinciriyle bağlanmış yapısı olarak özetlenebilir. Bu iskeletin genel yapısı Şekil 2.6'da görülmektedir. Bağlayıcı polimetin zinciri, pozitif yüklü azot atomunun yükünü rahatça diğer azot atomua doğru molekül içinde dağıtmasına yardımcı olur ve bu yük transferi molekülün çözeltisinin ve kristalinin kuvvetli renkelere sahip olmasını sağlar[37].



Şekil 2.6 Siyanin boyalarının genel yapısı.

Polimetin zincirinde ve azot atomu üzerinde yapılan değişikliklerle siyanin boyları birçok şekilde türevlendirilebilir. Şekil 2.7’de siyanin boyların bazı türevleri görülebilmektedir.



Şekil 2.7 Bazı siyanin boyları.

2.3.2 Siyanin Boyaların Elektronik ve Spektral Özellikleri

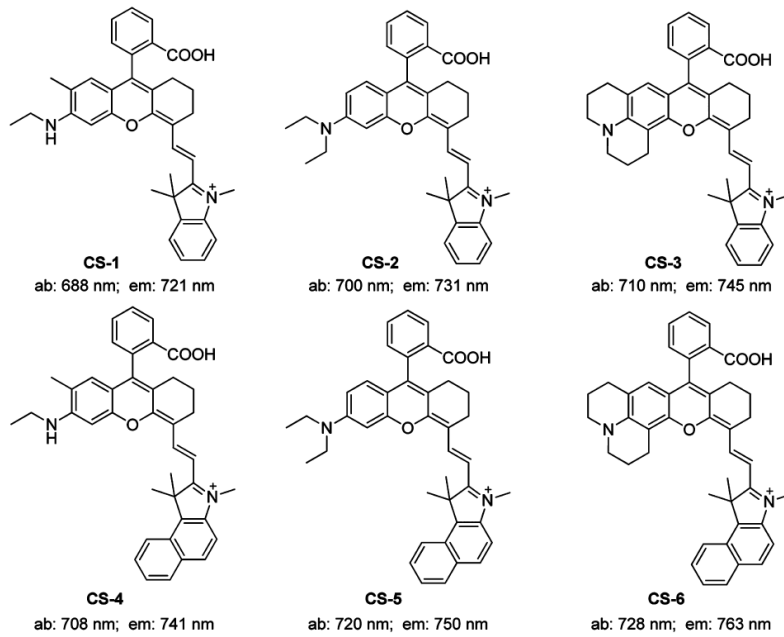
Daha önce bahsedildiği gibi siyanin boyaların iskelet yapısında bulunan iki azot atomu arasındaki polimetin zinciri aracılığıyla gerçekleşen verimli yük transferi bu boyların yakın kızılötesi bölgede bulunan uzun dalgaboylarında kuvvetli emisyon yapmaları (600-750 nm) ve bununla beraber yüksek molar absorpsiyon katsayılarına sahip olmaları lazer boyları, fotoğrafik hassaslaştırıcılar ve floresan kemosenörleri olarak yaygınca kullanılmalarını sağlar[38]. Aynı zamanda bu bölgede yapılan düşük enerjili emisyon bu boyların biyoörneklerle az hasar vermeleri, biyomoleküllerin otofloresanından dolayı görülen girişimin minimuma inmesi ve derin doku penetrasyonundan dolayı biyoloji alanında da çok yaygın kullanımı bulunmaktadır. Öte yandan, birçok siyanin boyların kuantum verimleri nispeten düşüktür ve polimetin zincirinin floresan emisyonunu sönmülemesine neden olan agregasyona yol

açma ihtimali vardır. Günümüzde bu sorunlar, hareket kabiliyeti zayıf olan elektron verici grupların yapıya eklenmesiyle giderilmeye çalışılmaktadır[39–41].

2.4 Kromenilyum-Siyanin Boyaları

2.4.1 Kromenilyum-Siyaninlerin Tarihçesi ve Bazı Türevleri

İlk olarak Aralık 2011’de Yuan ve ekibi tarafından merosiyaninlerin sentezi fikrinden yola çıkarak sentezlenen, rodamin tespit mekanizmasına sahip Changsha (CS) boyası adı verilen ve karboksilik asit fonksiyonel grubuna sahip kromenilyum-siyanin boyaları literatürdeki en uzun floresan emisyon dalgaboyuna sahip boyalardır. Moleküldeki kromofor gruplarının değiştirilmesiyle türevlendirilebilen bu boyaların bazıları Şekil 2.8’de görülmektedir.

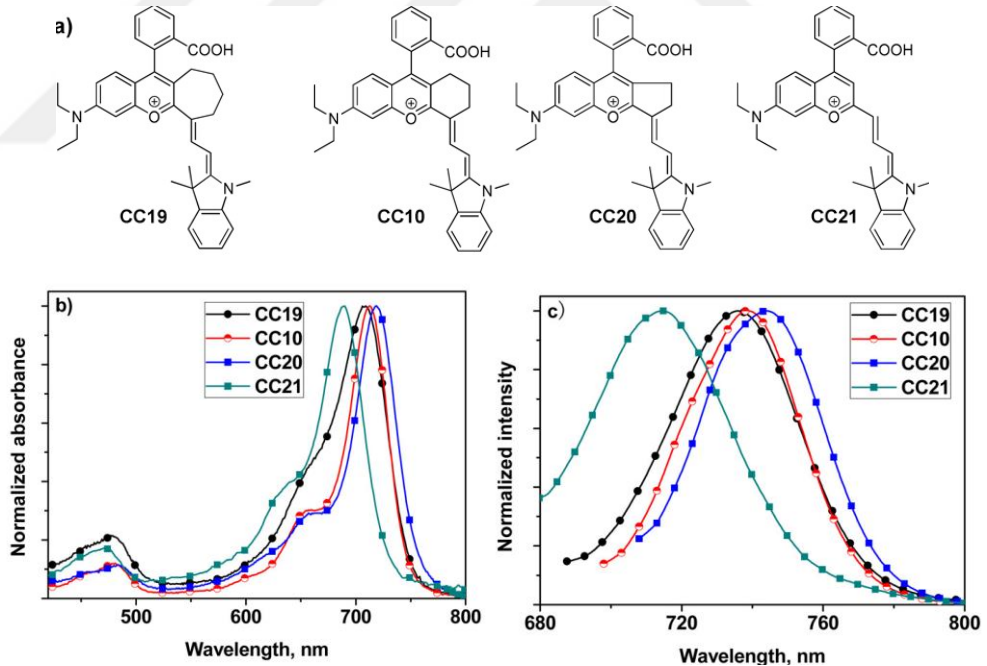


Şekil 2.8 Kromenilyum-Siyanin iskeletinin karboksilik asit formunun bazı türevleri.

Rodaminler ve siyaninler genel olarak 550-650 nm arasında emisyon yaparken kromenilyum-siyaninler 700 nm üzerinde dalgaboylu emisyon yapabilmektedir. Temelde siyanin iskeletine sahip olan bu yapılar aynı zamanda rodamin türevli kemosensörlerin analit tetiklemesiyle “turn-on” olarak çalışan özgün tespit mekanizmasına da sahiptir. Geri dönüşümlü spirolaktam halka açılması mekanizması bu moleküllerde de olduğu için kemosensör alanında rodamin türevli moleküllerin geniş yelpazesi bu platform için de çalışma potansiyeli olarak görülebilir[42].

2.4.2 Kromenilyum-Siyaninlerin Elektronik ve Spektral Özellikleri

Siyanin türevi moleküllerle aynı mekanizmayla emisyon yapan kromenilyum-siyaninler, kromenilyum kısmından gelen kromofor grupları sayesinde emisyon dalgaboyları siyanin boyalara göre daha kırmızı bölgede kalmaktadır. Kromenilyum-siyaninlerin yakın kızılötesi bölgede emisyon yapma ve spirolaktam halka açılma mekanizmasının biyolojik pH ortamında düzgün çalışıyor olma özelliği biyolojik sistemlerde çalışılması için idealdir. Karboksilik asit formunun 700 nm civarında geniş bir floresans spektrumu gözlenmesiyle beraber eğer spirolaktam halkası kapatılırsa karboksilik asit grubu ile siyanin kısmındaki azot grubu arasındaki konjugasyon kesildiği için bu sinyal kaybolur. Benzer davranışın UV-Gör spektroskopisinde görülmesiyle beraber bu spektrumda 380 nm civarında, analit tespiti için oransal yöntem kullanmaya imkan sağlayan bir elektron transfer bandı da görülür. Bu bandın şiddeti ortamdaki analit miktarının değişmesiyle 700 nm'deki bandın şiddetiyle ters orantılı olarak değişir. Şekil 2.9'da bazı kromenilyum-siyanin türevleri ve bu moleküllerin UV-Gör ve floresans spektrumları gösterilmiştir[43].

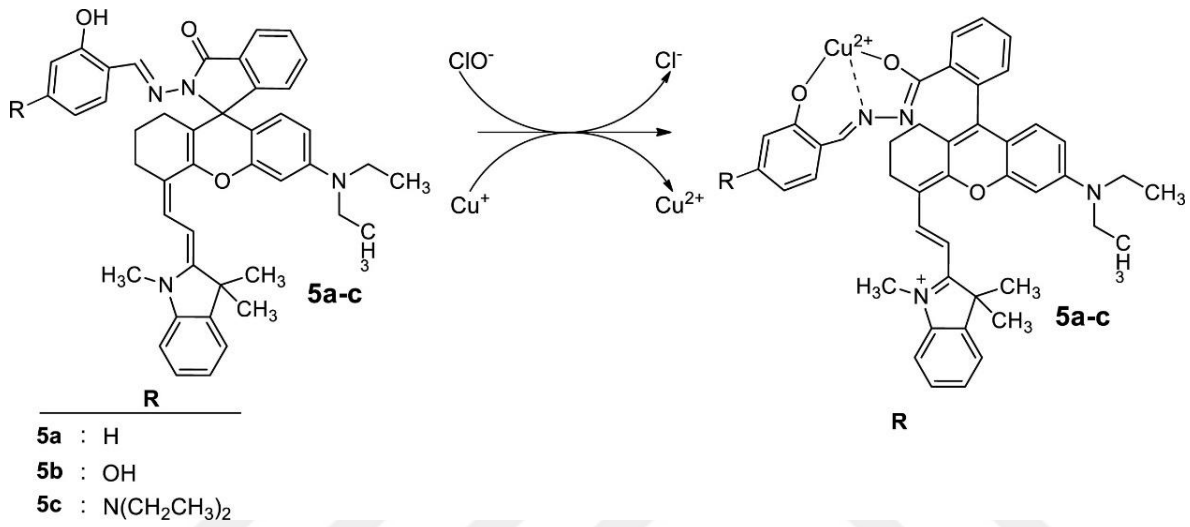


Şekil 2.9 Bazı kromenilyum-siyanin türevi bileşikler (a) ve bu bileşiklerin UV-Gör (b) ve floresans (c) spektrumları.

2.4.3 Kromenilyum-Siyanin Türevi Moleküllerle Yapılan Bazı Kemosensör Çalışmaları

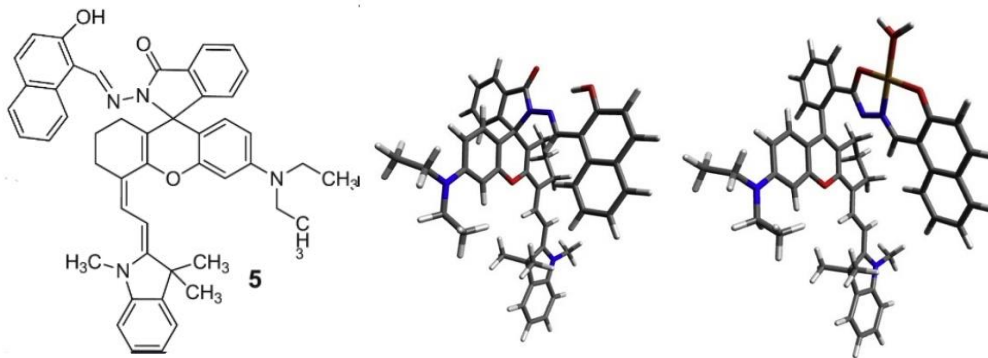
2020'de yapılan bir çalışmada hem Cu^{2+} hem de ClO^- hassas analizini yapabilen bir kemosensör sentezlenmiştir. Sensör bakır(II) katyonlarını rodamin spirolaktam halka

açılma mekanizmasıyla tespit ederken, hipoklorit tespitini ortamda bulunan bakır(I) katyonlarını yükseltgeyerek bu katyonların yine spirolaktam halka açılma mekanizmasını tetiklemesiyle yapmaktadır. Kompleksleşme mekanizması Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Yakın kızılötesi bölgede ve fizyolojik pH aralığında çalışan bu sensörün analit tespit hassasiyeti; bakır(II) için $3,30 \times 10^{-8}$ M, $1,93 \times 10^{-8}$ M ve $2,36 \times 10^{-8}$ ve hipoklorit için $2,83 \times 10^{-8}$ M, $2,10 \times 10^{-8}$ M ve $2,60 \times 10^{-8}$ M tayin limiti değerleri göz önünde bulundurulduğunda oldukça yüksek olduğu görülmektedir[44].



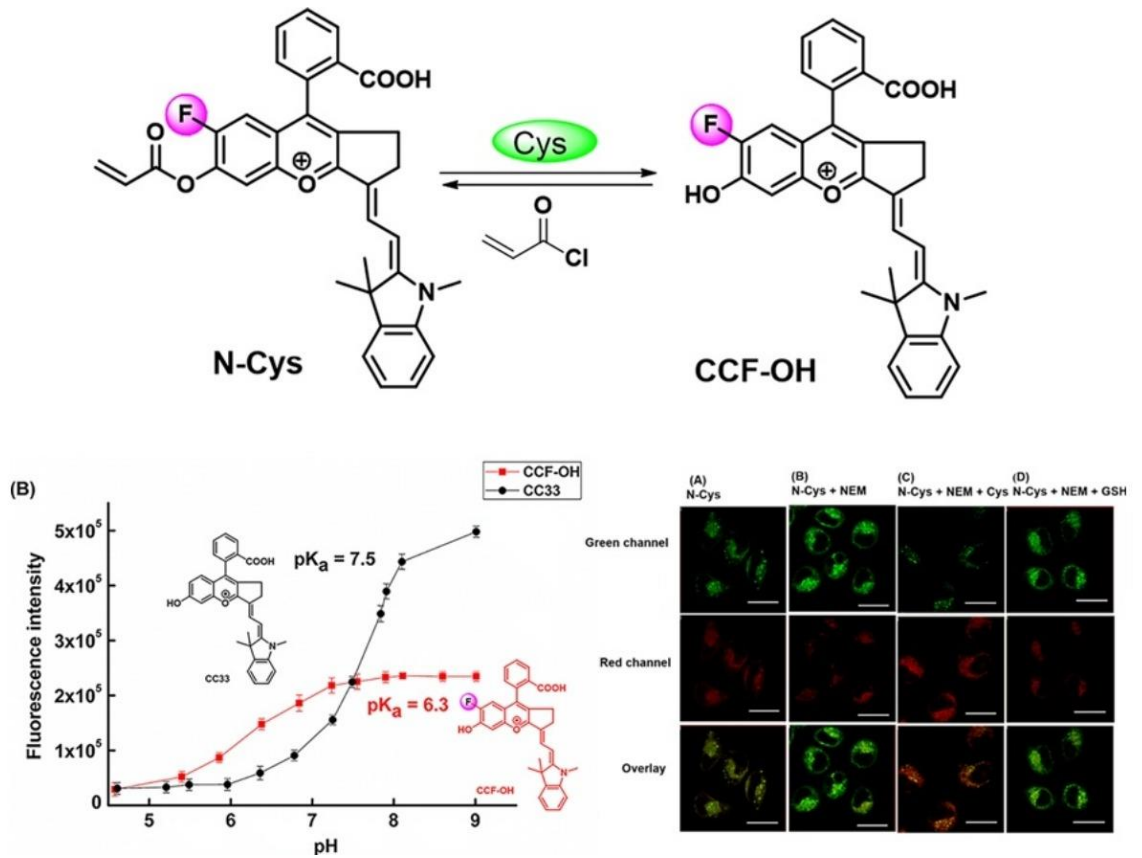
Şekil 2.10 Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörün hipoklorit ile bakır bağlama mekanizması.

Yine 2020' de yapılan bir çalışmada sentezlenen kemosensör yakın kızılötesi bölgesinde $1,28 \times 10^{-8}$ M tayin limiti hassasiyetiyle hiçbir katyon tarafından girişime uğramadan fizyolojik pH aralığında bakır(II) tespiti yapabilmektedir. Ayrıca ligandın ve ligand-metal kompleksinin yapısı, bu yapıların kristalleri elde edilerek aydınlatılmış olup bu yapılar Şekil 2.11'de gösterilmiştir[45].



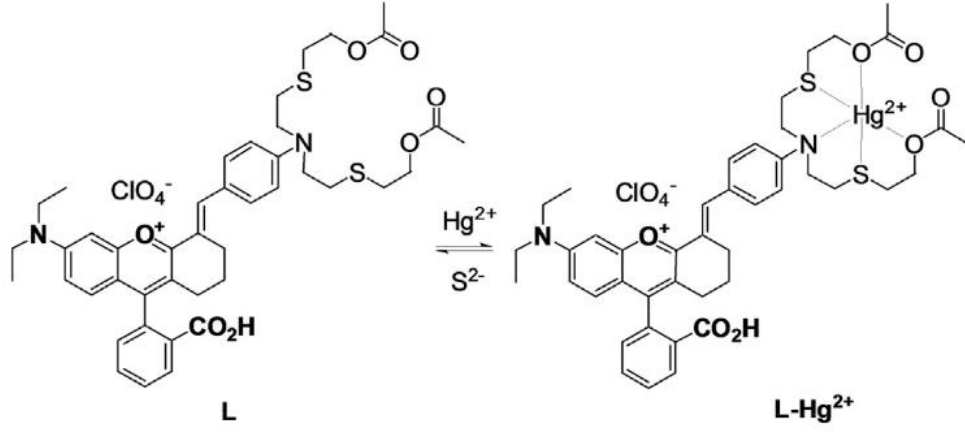
Şekil 2.11 Kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörün yapısı, bu yapının ve bakır(II) kompleksinin kristal yapıları.

Bir başka çalışmada, Zhu ve ekibi tarafından sentezlenen, flor fonksiyonel gruplu, yakın kızılötesi bölgede çalışan, oransal yöntemle sistein tayini yapabilen bir kemosensör geliştirmişlerdir. Fizyolojik pH aralığında çalışabilen ve mitokondri içerisinde çalışması hedeflenen bu sensör aynı zamanda 0,47 değerinde yüksek bir kuantum verimine de sahiptir. Ek olarak HeLa hücrelerinde yapılan çalışma bu kemosensörün hücre içinde çalışabildiğini açıkça göstermektedir. Sensörün tespit mekanizması, pH aralığı ve hücre içi çalışması Şekil 2.12’de gösterilmiştir[46].



Şekil 2.12 N-Cys kemosensörünün sistein tayin etme mekanizması, pH çalışma aralığı ve hücre içi çalışma görüntüleri.

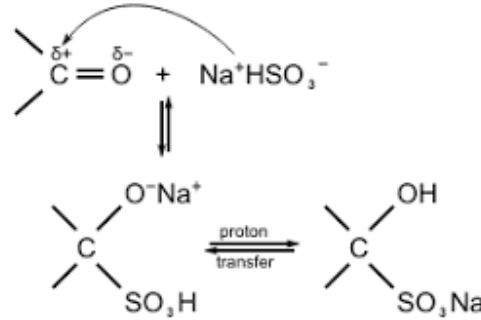
Jiao ve ekibi civa(II) sensörü olarak sentezledikleri floresan ve kolorimetrik kemosensörle yapısındaki civa bağlayan grup sayesinde, spirolaktam halka açılma mekanizması yerine molekül içi yük transferi mekanizmasını kullanarak oransal yöntemle civa analizi yapabilmektedir. Cıva bağlanma mekanizması Şekil 2.13’te gösterilmiştir. 9,59 nM mertebesinde tayin limiti bulunan bu kemosensörün ayrıca hücre içi çalışmalarla biyolojik sistemlerde çalışabileceği ispatlanmıştır[47].



Şekil 2.13 L kemosensörünün önerilen civa bağlama mekanizması.

2.5 Bisülfid Tespit Mekanizmaları ve Bazı Bisülfid Kemosensörleri

Bisülfid anyonu, nükleofilik karakterinden dolayı bir molekülün elektrofilik grubuna katılır. Bisülfid genelde moleküldeki aldehit, keton ya da elektrofil karakteri taşıyan konjuge alken sistemleriyle reaksiyon verir.[48] Şekil 2.14'te bisülfidin nükleofilik katılma mekanizması gösterilmektedir. Bu mekanizmadan yararlanarak molekül içi yük transferi, floresans rezonans enerji transferi veya spirolaktam halka açılma sistemleri gibi mekanizmalar kullanılarak çeşitli kemosensörler geliştirilebilir[24,49,50].

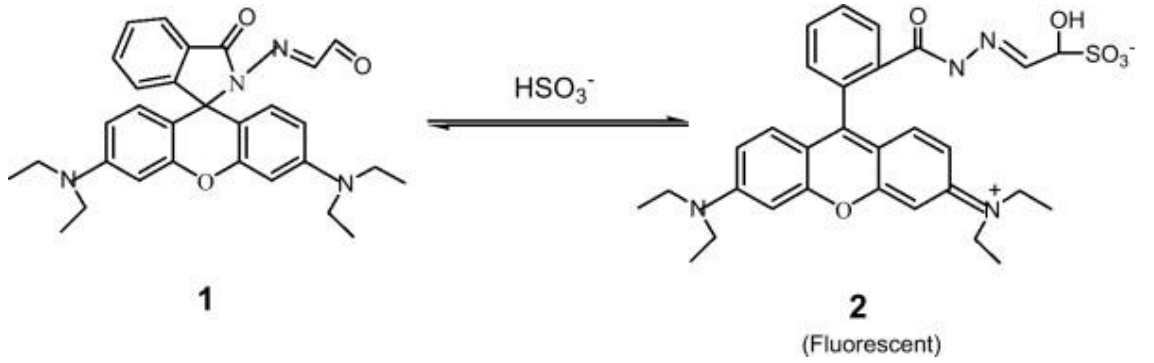


Şekil 2.14 Nükleofil bisülfidin elektrofil karakteri taşıyan karbonil grubuna katılma mekanizması.

Literatürde bisülfid tespiti için sentezlenen ve çeşitli sistemler kullanılarak geliştirilen birçok kemosensör bulunur.

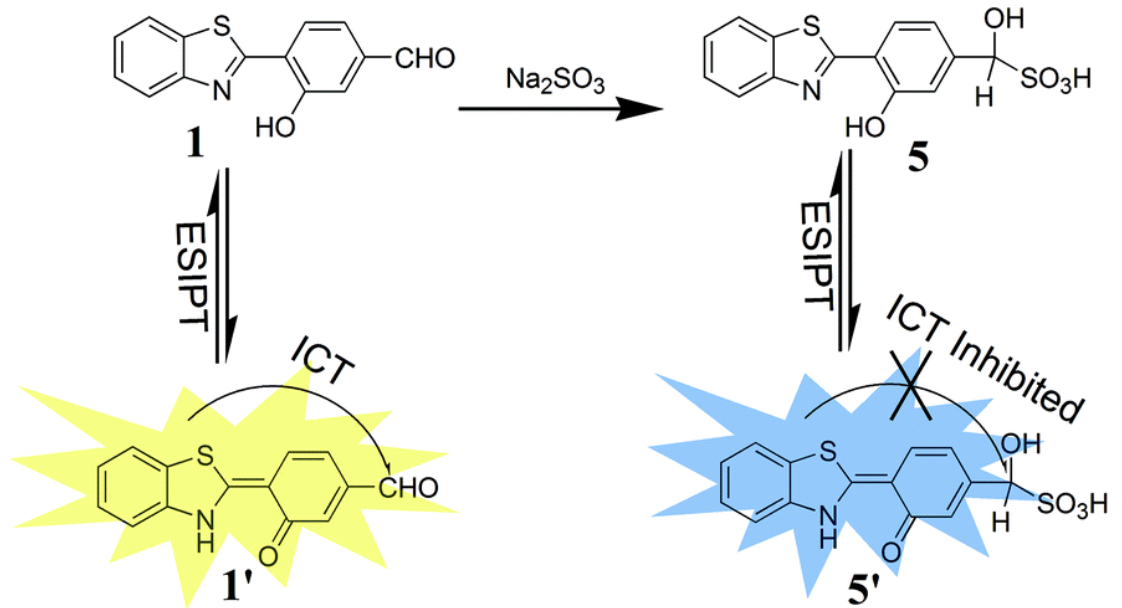
Yang ve ekibi, aldehit grubu içeren rodamin B türevi seçici bir bisülfid sensörü geliştirmiştir. Bisülfidin aldehite katılması ile çalışan bu kemosensör, rodamin türevi bileşiklerde görülen spirolaktam halka açılma mekanizmasına sahiptir. Bisülfid

katılmasıyla önerilen yapı Şekil 2.15'te gösterilmiştir. Kolorimetrik ve florometrik olan bu sensörün tayin limiti 0,89 μM olarak tespit edilmiştir[51].

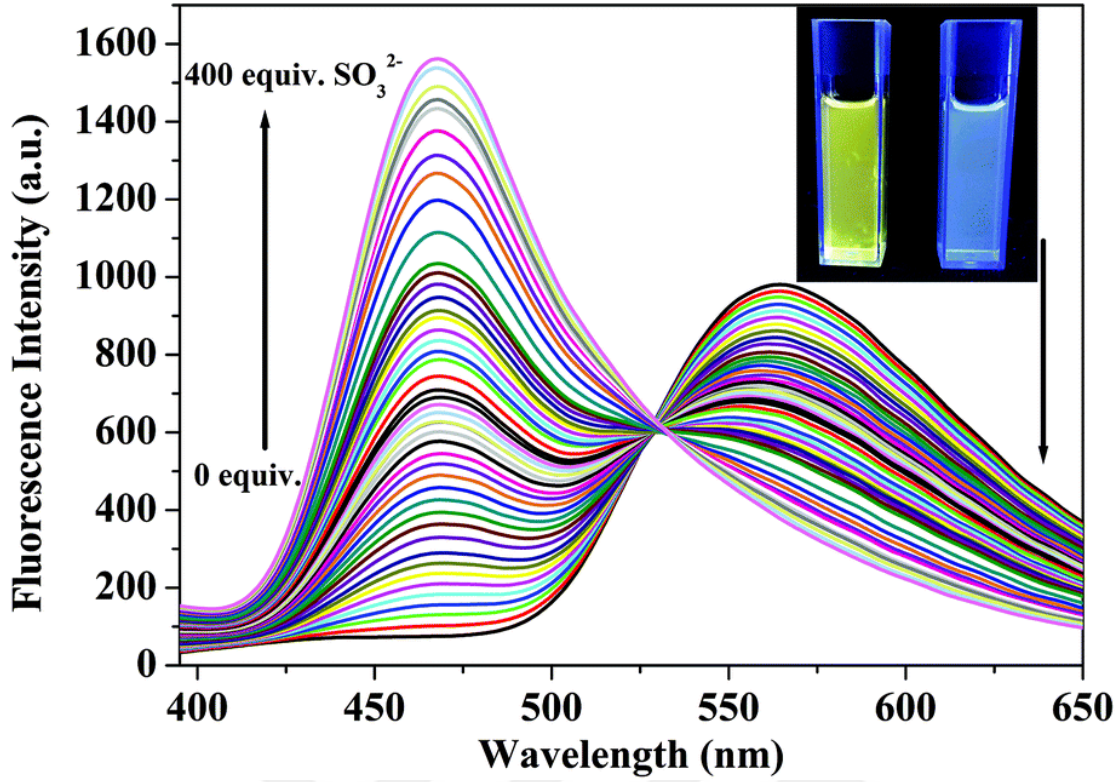


Şekil 2.15 Rodamin B türevi olan bisülfıt sensörünün tespit mekanizması.

Liu ve ekibi, bisülfıt anyonunu seçici ve hassas bir şekilde oransal yöntemle aldehit grubuna nükleofilik katılma sayesinde bisülfıt anyonlarını tespit edebilen ve molekül içi yük transferi mekanizmasına sahip bir kemosensör geliştirmişlerdir. Saniyeler içinde cevap veren bu kemosensörün göze çarpan bir diğer özelliği 186 nm gibi uzun bir Stokes kaymasına sahip olmasıdır. Molekülün kendi hali floresan ışık altında sarı renkte emisyon yaparken bisülfıt varlığında mavi renkte emisyon yapmaya başlamaktadır[52].

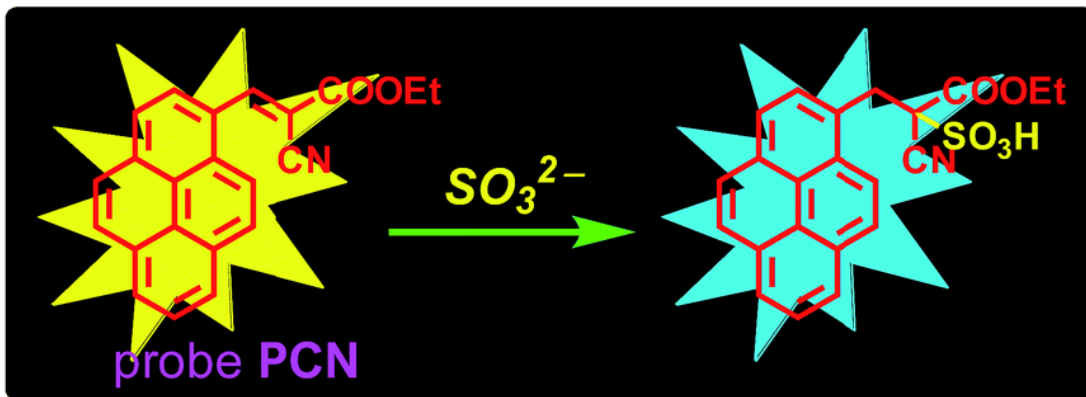


Şekil 2.16 1 numaralı bisülfıt sensörünün çalışma mekanizması.



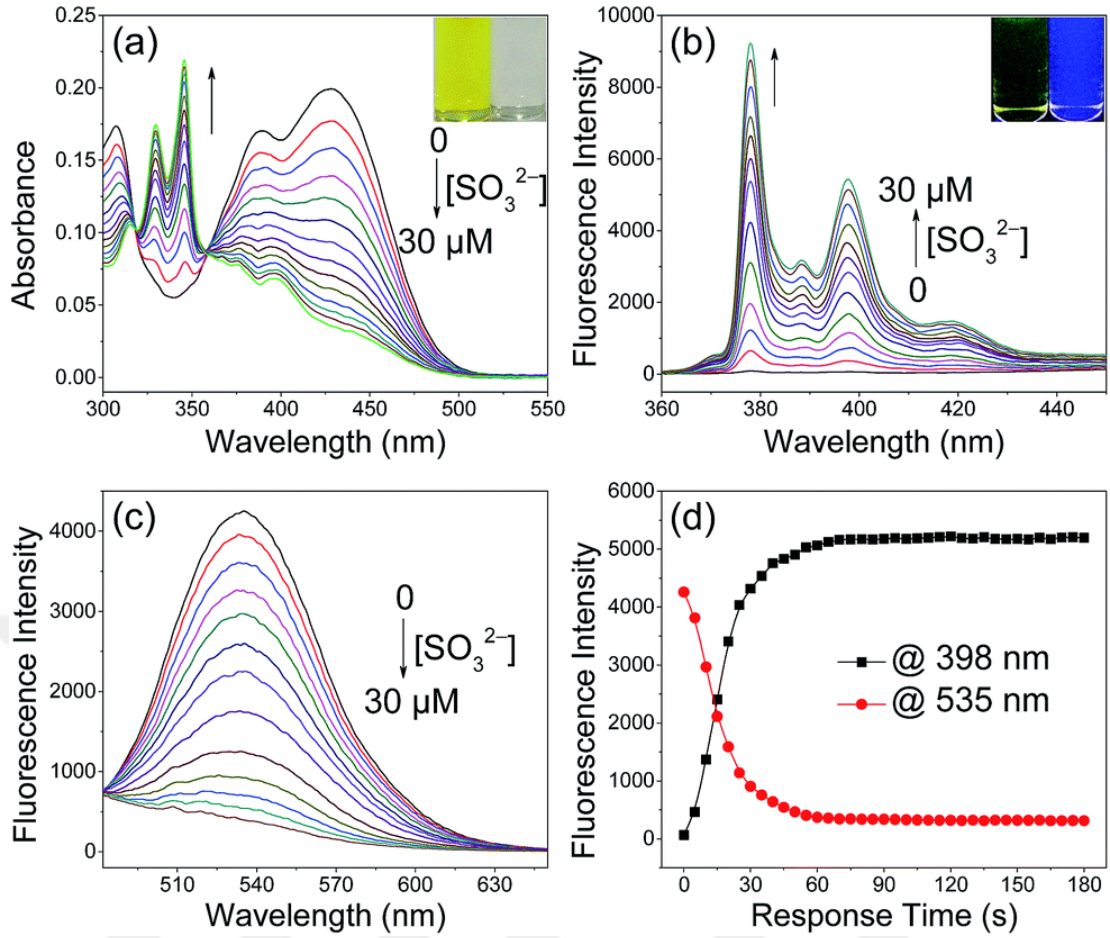
Şekil 2.17 1 numaralı sensörün bisülfite derişimiyle değişen floresans spektrumundaki değişimi ve bisülfite varlığında floresans ışık altındaki renk değişimi.

Jiang ve ekibi, yapısında piren grubu olan ve oransal yöntemle bisülfite analizi yapabilen kolorimetrik bir bisülfite sensörü geliştirmişlerdir. Michael katılması mekanizmasına sahip bu kemosenörün bisülfite seçici cevabı 30 saniye gibi kısa bir süredir. Katılma mekanizması ve titrasyon spektrumları sırasıyla Şekil 2.18 ve Şekil 2.19’ da gösterilmiştir.



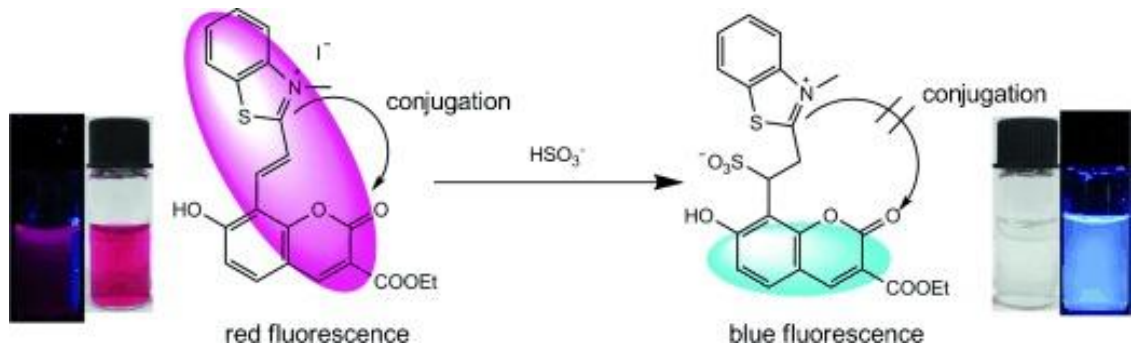
Şekil 2.18 PCN bisülfite sensörünün önerilen tespit mekanizması.

Tayin limiti 12 nM olarak hesaplanan bu bisülfite sensörü toz şekerde ve test kağıdıyla analiz uygulama alanlarına sahiptir[53].



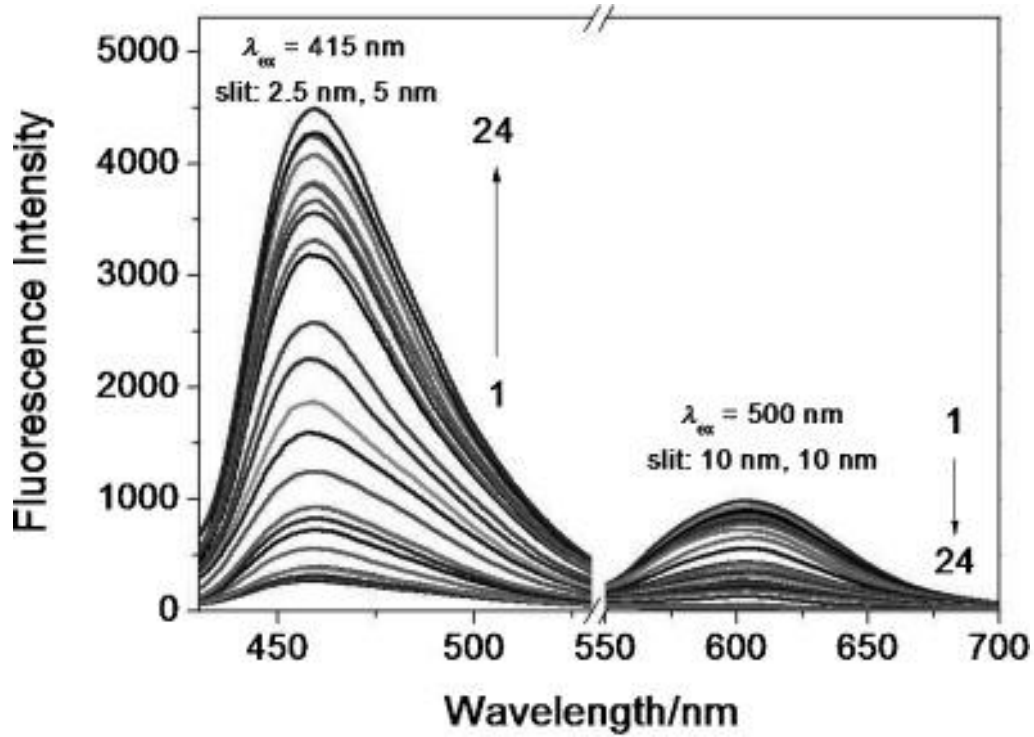
Şekil 2.19 PCN bisülfid sensörünün bisülfid derişimi değişmesiyle beraber değişen UV-Gör ve floresans spektrumları, cevap süresi ölçüm sonucu ve bisülfid varlığıyla renk değişimi.

Peng ve ekibi, bisülfid anyonunu kolorimetrik ve florometrik bir şekilde analiz edebilen hibrit bir kumarin-tiazol kemosensörü sentezlemişlerdir. Bu sensör, Şekil 2.20’ de gösterildiği gibi, bisülfidin konjuge alken sistemine katılarak molekül içindeki konjugasyonun kesilip var olan emisyonun mavi bölgeye kayması prensibine dayalı bir mekanizmayla çalışmaktadır.



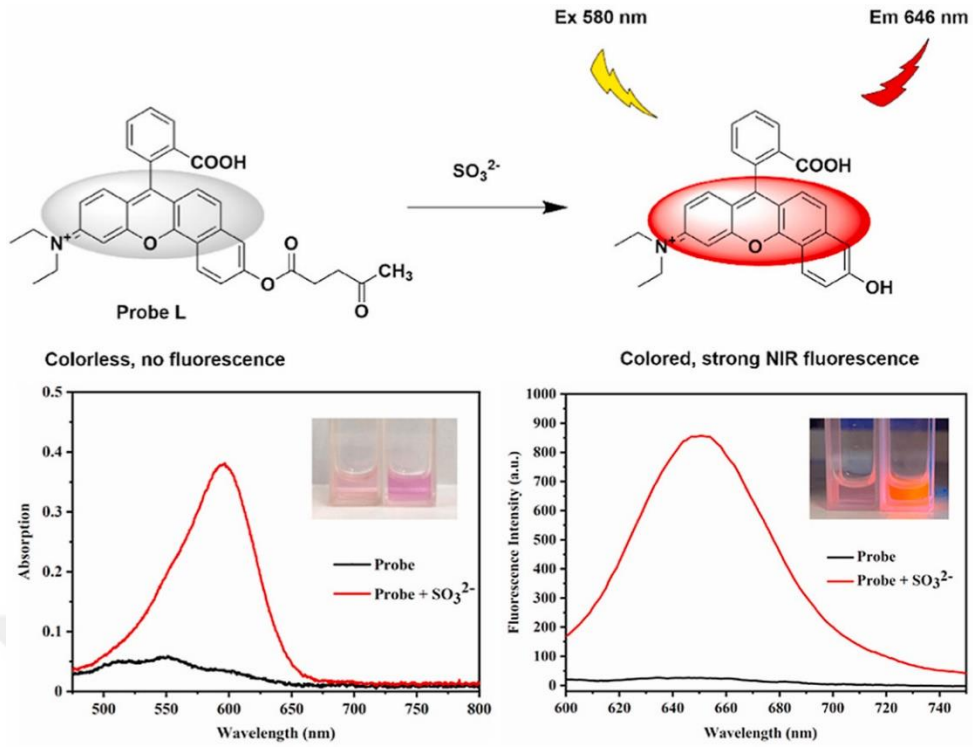
Şekil 2.20 Kumarin-tiazol kemosensörünün bisülfitle olan reaksiyon mekanizması ve bisülfid varlığında renk değişimi.

Molekölün kendi hali 600 nm’ de emisyon yaparken, bisülfite varlığında moleköl içi konjugasyon kesildiği için bu emisyon 450 nm’ye kaymaktadır. Bu iki dalgaboyundaki değişim eş zamanlı olduğu için bisülfite analizinde oransal yöntem kullanılabilir. Uygulama alanı olarak göğüs kanseri ve toz şekerde bisülfite analizi yapılmış olup başarılı sonuçlar alınmıştır. Sülfite katılma mekanizması ve floresans titrasyon spektrumu sırasıyla Şekil 2.20 ve Şekil 2.21’ de gösterilmiştir[54].

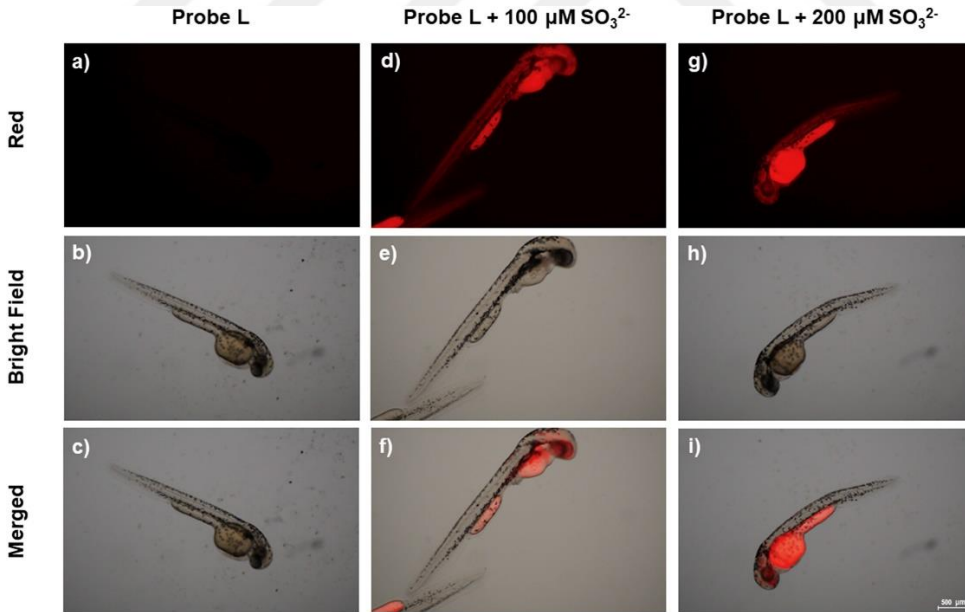


Şekil 2.21 Kumarin-tiazol kemosensörünün bisülfite derişimi değişmesiyle floresans spektrumundaki değişimi.

Wang ve ekibi, rodamin türevi bir bileşik sentezleyerek bisülfite keton karboniline nükleofilik katılma mekanizması prensibiyle bir bisülfite sensörü geliştirmiştir. Moleküle bağlı konjugasyonu sayıflatan ester grubu olduğundan ilk başta zayıf floresan halde olan sensör, bisülfite ester karboniline katıldığında bu ester yapısı molekülden ayrılıp sensörü güçlü floresan hale getirir. Sülfite katılma mekanizması ve UV-Gör ile floresans spektrumlarındaki değişimi Şekil 2.22’ de görölmektedir. Molekül içi yük transferi mekanizmasıyla çalışan bu bisülfite sensörü 10 dakika gibi bir sürede sonuç verip 645 nm gibi oldukça uzun bir dalgaboyunda emisyon vermektedir. Bisülfite karşı seçiciliği kanıtlanan bu sensörün tayin limiti ise 0,6 µM olarak tespit edilmiştir. Bu kemosensörün, Şekil 2.23’ te de göröldüğü gibi, zebra balığı hücrelerinde de bisülfite tayini yapabildiği de görölmüştür[24].



Şekil 2.22 Rodamin türevi bisülfid kemosensörünün bisülfid tespit mekanizması, bisülfid varlığındaki UV-Gör ve floresans spektrumundaki ve çözelti rengindeki değişimi.



Şekil 2.23 Rodamin türevi bisülfid sensörünün zebra balığı hücrelerindeki bisülfid analizi.

2.6 Analizde Akıllı Telefon

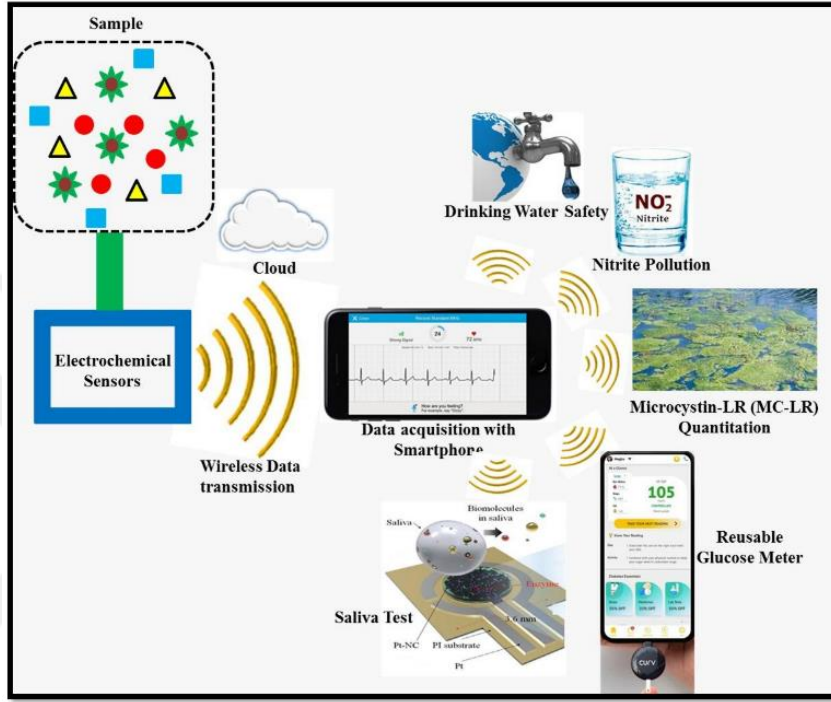
Günümüzde dünyanın yaklaşık %80 gibi büyük bir kesiminin kullandığı akıllı telefonların çevreyle etkileşime girmelerini sağlayan ivmeölçer, termometre ve en sık

kullanılan sensör olarak optik kamera gibi çeşitli sensörler bulunmaktadır[55]. Ayrıca akıllı telefonlar sistemlerinde geniş hafıza, çok çekirdekli işlemci, USB girişi, dokunmatik ekran ve bütün bu parçalara güç veren dayanıklı pil; akıllı telefonların işlem gücünü oldukça arttırmaktadır. Bunların yanısıra; akıllı telefonlarda bulunan kablosuz bağlantı sistemleri, toplanan bilgilerin acil durumlarda bile uzaktan işlenmesine olanak sağlar[56]. Bu imkanlar göz önünde bulundurulduğunda akıllı telefonların geniş çaplı ve gelişmiş işleme ve bağlantı kurma kabiliyeti sayesinde bu cihazların, masaüstünde kullanılan analiz cihazlarının yerine kullanılmaya başlandığı görülmektedir. Akıllı telefonlar günümüzde analiz için atık yönetimi, güvenlik, ev otomasyonu, sağlık, su kirliliği, gaz ve su sızıntı tespiti, hava kirliliği gibi alanlarda kullanılmaktadır. Son zamanlarda ise akıllı telefonlar akademik ve endüstri araştırma alanlarında oldukça ilgi çeken cihazlardır[57].

2.6.1 Kablosuz Elektrokimyasal Sensörler

1960’lardan bu yana sensör alanında yapılan çalışmalar hızla artış göstermiştir. Bu süreç içerisinde literatürde kimyasal sensör ve fiziksel dönüştürücüleri birbirinden ayırt eden birçok tanım oluşmuştur[58–60]. Fiziksel dönüştürücü genel olarak çevrede oluşan bir değişiklik ile elektrik sinyali üreten ve bunu işlemesi için ana bilgisayara gönderen cihaz olarak tanımlanır. Bu cihazlara örnek olarak sıcaklık temelli termistör, termokupl ya da platin çubuklar; fiziksel özellik temelli piezoelektrik basınç dönüştürücüleri, debiölçer ya da nem sensörleri; ışık şiddeti temelli fotodiyotlar, fotorezistörler ya da fotoçoğaltıcılar örnek olarak gösterilebilir. Bu sensörler genel olarak ucuz, kolay ulaşılabilir, hassas ve seçici ölçümler yapabilen ideal sensör tanımına yakın cihazlardır. Kimyasal sensör ise, bir kimyasal seçici membran, film ya da katman yardımıyla çevresinin kimyasal karakterini ortaya koyabilen cihazlardır. Bu sensörlerin yüzey katmanının bileşeni sensörün etkili, seçici ve uzun ömürlü olarak çalışması için oldukça önemlidir. Fiziksel dönüştürücüler kimyasal sensörlerde toplanan bilgiyi ana bilgisayara işlenmesi için gönderen bileşenlerdir. Yakın zamanlarda üretilen bu sensörlere internet aracılığıyla uzaktaki bir bilgisayara -daha da pratik olarak bir akıllı telefona- bağlanabilme özelliği getiren modüller entegre edilmesi sayesinde akıllı telefonlar analiz için kullanılabilir hale gelmiştir. Şekil 2.24’te kablosuz analiz yönteminin genel bir şeması gösterilmiştir[61]. Kablosuz elektrokimyasal sensörlerin arasında günümüzde özellikle biyomedikal alanda oldukça kullanışlı olan ve en yaygın olarak kullanılan sensörler giyilebilir

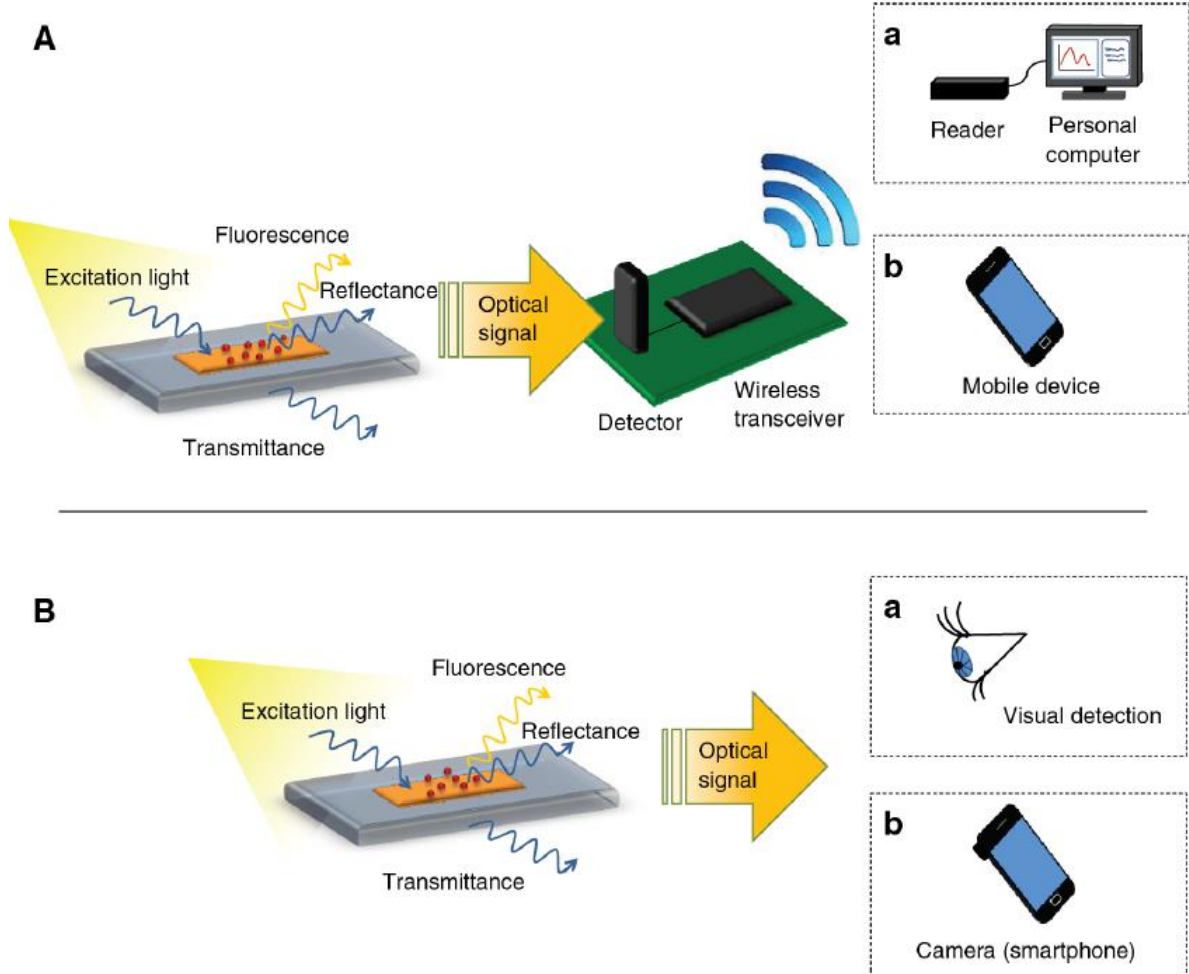
elektrokimyasal sensörlerdir. Bu tip sensörler oldukça esnek kullanım alanı olan, günlük yaşamda kendini fark ettirmeyen, giyilebilir ya da implante edilebilir, biyolojik sistemlere uyumlu, hafif, üretimi kolay ve daha ekonomik cihazlardır. Bu cihazların üretilme amaçlarından biri, cihaz deri üzerine ya da vücut içine entegre edilmişken cihazın gerçek zamanlı olarak pH, sıcaklık, kalp ritmi, nöral sinyaller, kan basıncı gibi fizyolojik değerleri okuyup işleyebilmesidir[62].



Şekil 2.24 Kablosuz elektrokimyasal analiz yöntemi genel şeması.

2.6.2 Kablosuz Optik Kimyasal Sensörler

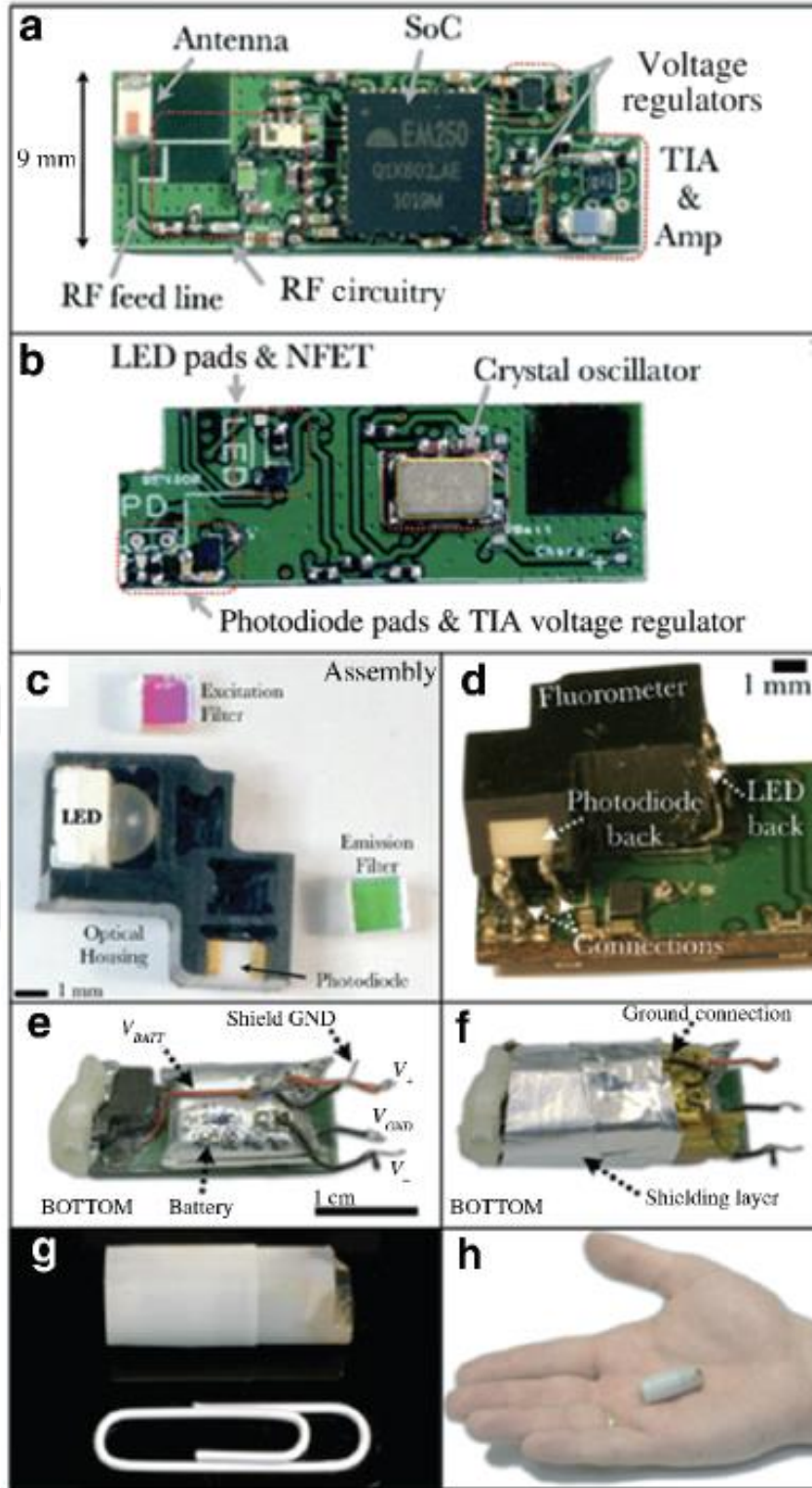
Optik kimyasal sensörler, bir kimyasal ya da biyolojik analit bir reseptörle etkileşime girdiğinde oluşan optik sinyale tepki veren ya da bu etkileşimle optik sinyal üreten cihazlardır. Basitçe somutlaştırmak gerekirse; bir optik kimyasal sensör ya bir analitin veya analitle etkileşime giren indikatör molekülün çözelti ortamındaki absorban değerini doğrudan işleyebilir ya da bir optik kimyasal sensör reseptör katmanındaki indikatör molekülün analit etkileşimiyle yapmış olduğu floresans emisyon cevabını işleyebilir. Radyo sinyaliyle çalışan bir optik kimyasal sensörler, analit ya da indikatörün vermiş olduğu cevabı elektrik sinyaline dönüştürür; bu sinyal, sonrasında üretilen radyo frekansı aracılığıyla -akıllı telefonlar için kablosuz internet bağlantısı olabilir- uzaktaki kablosuz alıcıya üretilen bilginin işlenmesi için gönderilir. Bu yöntemin genel şeması Şekil 2.25'te gösterilmiştir. Son zamanlarda bu sistem kullanılarak çevresel, biyomedikal gibi alanlarda birçok çalışma yapılmıştır[62].



Şekil 2.25 Optik kimyasal sensörle analiz yönteminin genel şemaları.

Su kalite analizi için ilk yapılan optik kimyasal sensörlerden biri sahada cevap verebilen otoamatik bir fosfat görüntüleme cihazıdır. Fosfat ölçümü, mikroakışkan bir çipin reaktif (molibdovanadofosforik asit) örneklerle karıştırılmasıyla oluşan absorbansın LED ve fotodiyotlarla ölçülmesine dayandırılarak yapılmaktadır. Kablosuz bağlantıyı sağlamak için bir GSM alıcısı kullanılmıştır. Ayrıca toplanan bilgiler SMS mesajı olarak da gönderilebilir[63].

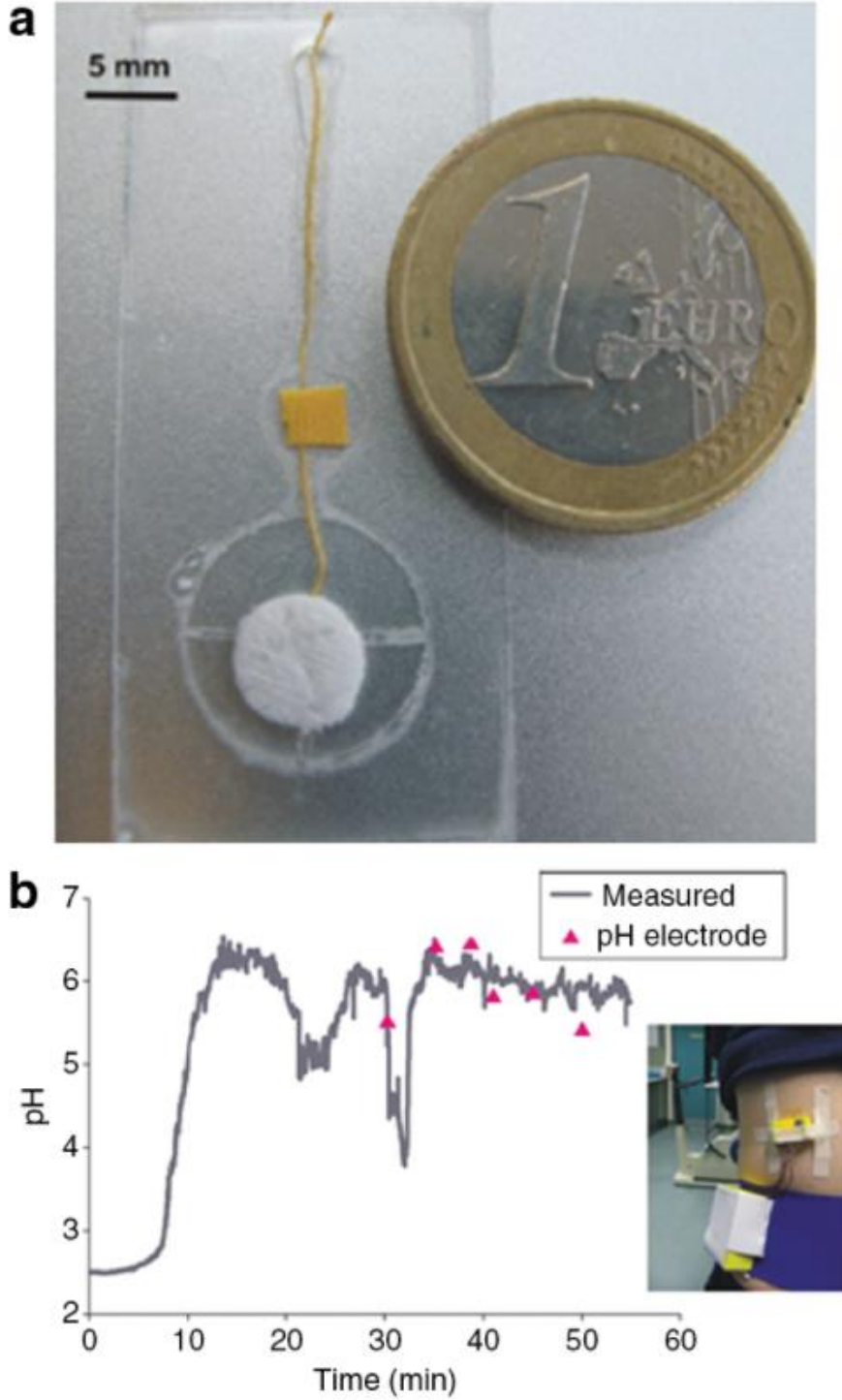
2015'te yapılan bir çalışmada minyatür bir florometre içeren, midede ve bağırsakta oluşabilecek bir kanamayı görüntüleyebilen, yutulabilir kablosuz bir kapsül geliştirilmiştir. Kapsüldeki florometre, kana önceden enjekte edilmiş floresein boyar maddesini, eğer bir kanama varsa, sindirim sisteminde tespit edebilmektedir. Kapsül kandaki 20 nM floreseini algılayabilmektedir. Toplanan bu bilgi ZigBee (bilgi transferi için radyo dalgaları kullanan bir sistem) protokolü aracılığıyla kablosuz bir alıcıya gönderilmektedir. Bu analiz, ölçüm ve aktarma hızına göre birkaç gün sürebilir. Analiz için kullanılan cihazlar Şekil 2.26'da gösterilmiştir[64].



Şekil 2.26 Sindirim sisteminde kanama tespiti yapabilen kimyasal sensörde kullanılan cihazlar.

Giyilebilir bir optik kimyasal sensöre örnek olarak 2012’de yapılan bir çalışma gösterilebilir. Bu çalışmada tekstil tabanlı giyilebilir bir pH sensörü geliştirilmiştir. Sensörde bir pH indikatörü olan metil kırmızısı bir pamuğa emdirilmiş olarak hibrit

bir biyocam sistemi yardımıyla entegre edilmiştir. Sensörde ışık tespiti için beyaz LED ve fotodiyot kullanılmıştır. Sensörün çalışması için gereken enerji oldukça düşük olup terin pH aralığına uygun olan pH 4 ve 8 arasında 0,05 pH çözünürlüğüne sahiptir. Bilgi kablosuz bir alıcıya Bluetooth aracılığıyla yapılmaktadır. Sensör tarafından toplanan pH bilgisi kişinin fiziksel aktivitesi hakkında bilgi vermektedir. Şekil 2.27’de sensör ve vücut üzerinde yaptığı analiz gösterilmektedir[65].



Şekil 2.27 Ter analizi yapan kimyasal sensör (a) ve vücut üzerindeki ölçümü (b).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1 Kimyasallar

3-dietilamino fenol, ftalik anhidrit, sikloheksanon, sülfürik asit, perklorik asit, Fischer Aldehit (2-(1,3,3-trimetilindolin-2-iliden)asetaldehit), asetik anhidrit, hidrazin hidrat (%80), BOP reaktifi ((benzotriazol-1-oksi)tris(dimetilamino)fosfonyum hekzaflorofosfat), glioksal (%40), toluen, diklorometan (DCM), tetrahidrofuran (THF), etil asetat, N,N-dimetil formamit (DMF), etanol, hekzan, silika jel, sodyum florür, botasyum klorür, potasyum bromür, sodyum iyodür, sodyum nitrit, sodyum nitrat, sodyum benzoat, sodyum sülfür, sodyum sülfat, sodyum tiyosülfat, potasyum pirosülfat, sodyum sülfid, sodyum bisülfid, sodyum siyanür, sodyum tiyosiyanür, EDTA (etilendiamin tetraasetik asit) disodyum tuzu, potasyum fosfat, potasyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat, potasyum bromat, potasyum kromat, sodyum perklorat, sodyum klorat, potasyum iyodat, sodyum okzalat, sodyum hipoklorit kimyasalları ticari kaynaklardan elde edilerek bu kimyasallara hiçbir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. Çalışmaların yürütüldüğü pH ortamı asetik asit ve sodyum asetat ile sağlanmıştır. Çalışma boyunca çifte distile su kullanılmıştır. Kromatografik saflaştırmalar Merck Silika 60 (200-400 veya 70-230 mikron) ile gerçekleştirilmiştir.

3.1.2 Cihazlar

Döner buharlaştırıcı (Heidolph Laborata 4011), manyetik karıştırıcı (Heidolph), hassas terazi (Precisa), UV Spektrofotometre (Agilent 8453), etüv (Heraeus), vakum etüvü (Heraeus Vacutherm), ultrasonik banyo (Wise Clean), kül fırın (SFL), ¹H, ¹³C-NMR Agilent VNMRS 500 (İTÜ Kimya Bölümü), FT-IR (Perkin-Elmer İTÜ Kimya Bölümü), kristalografik veriler tek kristal X-ışını difraktometresi (Bruker D8 Venture, İTÜ Kimya Bölümü) kullanılarak alındı. Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF-MS) ise BRUKER Microflex LT marka ile ditranol ve 2,5-dihidroksibenzoik asit matrisinde

elde edildi. UV-Gör spektrumları Agilent 8453 spektrofotometre ile 1 cm uzunluğundaki kuartz küvet ile oda sıcaklığında elde edilmiştir. Floresan spektrumları ise Varian Cary Eclipse florofotometresi ile 670 nm de uyarılarak ölçülmüştür.

3.2 Sentez Prosedürü

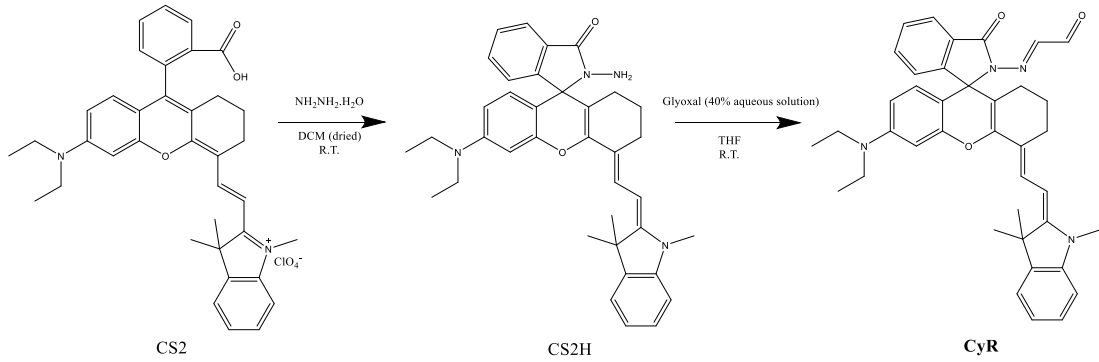
3.2.1 Kromenilyum-Siyanin Hidrazit (CS2H) Molekülünün Sentezi

CS2H, literatürde yer alan prosedüre göre, kromenilyum-siyanin yapısının karboksilik asit formunun (CS2) hidrazin hidrat (%80) ile kuru DCM içerisinde oda sıcaklığında reaksiyona sokulmasıyla literatürde bahsedildiği gibi sentezlenmiştir[66]. CS2 (0,76 mmol, 0,55 g) ve BOP reaktifi (0,80 mmol, 0,36 g) 25 ml kuru DCM içerisinde çözülüp, oluşan yeşil renkli çözelti 100 ml'lik reaksiyon balonunda 30 dk boyunca azot gazı altında karıştırılmıştır. 30 dk sonunda hidrazin hidrat (%80) (7,6 mmol, 0,5 ml) çözeltinin içerisine eklenmiştir ve bu çözelti 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Reaksiyonun sonunda, reaksiyon karışımı vakum altında uçurulup elde kalan katı, sabit fazın silika jel ve mobil fazın etil asetat/hekzan (1/1) çözelti sistemi olduğu kolon kromatografisiyle saflaştırılmıştır. CS2H sarı toz halinde elde edilmiştir. Verim %62 (0,27 g); hesaplanan m/z 572.75, bulunan $[M+H]^+ = 573.50$, $[M+3Na]^+ = 643,3$, 1H -NMR (500 MHz, aseton-d₆) δ 7,78 (ddt, J = 7,5, 3,8, 1,0 Hz, 1H), 7,58 – 7,48 (m, 3H), 7,26 (dt, J = 7,3, 1,6 Hz, 1H), 7,21 – 7,14 (m, 2H), 6,83 (tt, J = 7,4, 1,3 Hz, 1H), 6,74 (dd, J = 7,9, 2,1 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 6,40 – 6,36 (m, 1H), 6,32 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 5,49 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 3,40 (qd, J = 7,1, 4,1 Hz, 4H), 3,20 (s, 3H), 2,82 – 2,30 (m, 2H), 1,92 – 1,62 (m, 1H), 1,72 (t, J = 3,6 Hz, 6H), 1,63 – 1,40 (m, 2H), 1,17 (td, J = 7,0, 1,3 Hz, 6H). ^{13}C -NMR (126 MHz, aseton-d₆) 171,65, 160,94, 157,26, 152,52, 150,67, 148,51, 147,13, 145,44, 138,63, 132,12, 131,23, 128,24, 128,22, 127,70, 123,40, 122,37, 121,48, 120,33, 119,22, 119,14, 108,00, 106,18, 10,85, 105,17, 97, 43, 92,28, 67,49, 45,14, 43,94, 29,42, 29,27, 29,11, 28,96, 28,80, 28,65, 28,50, 28,47, 27,83, 25,14, 23,06, 22,09, 12,00.

3.2.2 Aldehit Fonksiyonel Gruplu Kromenilyum-Siyanin Tabanlı Bisülfid Sensörünün (CyR) Sentezi

CyR sentezi literatürde bahsedilen prosedüre göre Şekil 3.1'de görüldüğü gibi sentezlenmiştir[66]. Glioksalin %40'lık sulu çözeltisi (6,3 mmol, 0,72 ml) 50 ml'lik

reaksiyon balonuna eklenip buz banyosuyla 0 °C' ye soğutulmuştur. CS2H (0,32 mmol, 0,18 g) ayrı bir şekilde 4,2 ml THF içerisinde çözülüp soğutulan glioksal çözeltisinin içerisine damlatılarak eklenmiştir. Ekleme bittikten sonra buz banyosu kaldırılıp reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 48 saat boyunca karıştırılmıştır. Reaksiyon sonunda reaksiyon çözeltisi vakum altında uçurulup elde kalan katıya DCM ve su ile ekstraksiyon yapılmıştır. Organik faz toplanıp herhangi bir kurutma işlemi yapmadan vakum altında uçurulmuştur. Elde edilen yeşil renkli katı, sabit fazı silika jel ve mobil fazı DCM/EtOH (25/1) olan kolon kromatografisiyle saflaştırılmıştır. **CyR** turuncu toz halinde elde edilmiştir. Verim %40; hesaplanan m/z 612,77, bulunan $[M+H]^+=613,44$ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, aseton-d₆) δ 9,40 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,77 (td, J = 7,5, 1,2 Hz, 1H), 7,65 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 7,34 – 7,20 (m, 2H), 7,17 (td, J = 7,7, 1,3 Hz, 1H), 6,85 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,47 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 6,47 – 6,38 (m, 2H), 5,50 (d, J = 12,7 Hz, 1H), 3,41 (q, J = 7,1 Hz, 4H), 3,20 (d, J = 15,6 Hz, 3H), 2,54 (p, J = 5,2 Hz, 2H), 1,73 (s, 6H), 1,62 (p, J = 6,3 Hz, 2H), 1,55 – 1,26 (m, 2H), 1,17 (t, J = 7,0 Hz, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, aseton-d₆) δ 191,90, 164,98, 158,15, 152,17, 150,57, 149,16, 147,98, 145,32, 141,84, 138,65, 134,94, 129,15, 128,28, 127,74, 127,47, 123,85, 123,51, 121,52, 120,58, 119,44, 119,21, 108,63, 106,03, 104,16, 102,48, 97,36, 92,07, 68,12, 45,28, 43,94, 29,41, 29,26, 29,11, 28,95, 28,80, 28,64, 28,49, 27,81, 24,86, 23,73, 22,77, 21,92, 11,89.



Şekil 3.1 CS2H'den başlayarak **CyR** sentez şeması.

3.3 Tek Kristal X-Işını Kırınımı Yöntemi

CyR'nin 0,01 x 0,02 x 0,20 mm boyutlarındaki tek kristali molekülün aseton çözeltisinin yavaş buharlaştırılmasıyla elde edilmiştir. Kristal mikroyuvaya yerleştirilip PHOTON100 CMOS detektörü ile donatılmış bir Bruker D8 VENTURE

difraktometre üzerindeki bir gonyometre başlığına bağlanmış olup 1° Ω ve Φ döndürme çerçeveleri kullanılarak oda sıcaklığında (296 K) grafit monokromlu Mo- $K\alpha$ radyasyonu ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) ile ölçülmüştür. Yapı, SHELXS[67] kullanılarak intrinsik yöntemle çözüldü ve SHELXL[68] kullanılarak rafine edildi. **CyR**'nin kristal verileri ve yapı iyileştirme parametreleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3, Çizelge 3.1 için seçilen bağ uzunluklarını, bağ ve burulma açılarını içermektedir. OLEX2[69] kullanılarak moleküler çizimler oluşturulmuştur. Termal elipsoidler Şekil 3.2'de gösterilmiştir. CCDC 2168347, **CyR** için ek kristalografik verileri içermektedir. Kristal verileri, veri toplama ve iyileştirmeler hakkında daha fazla ayrıntı destekleyici bilgiler de bulunabilir. Çözümlenen kristal yapısı şekilde gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 Bağ açıları (soldaki) ve burulma açıları (sağdaki).

Atom	Atom	Atom	(°)	Atom	Atom	Atom	Atom	(°)
C13	C11	N1	98,5(3)	N2	N1	C11	C2	-58,9(6)
C1	O1	C39	119,0(3)	C4	C6	N3	C9	-3,6(8)
C25	C26	C27	126,4(4)	C25	C26	C27	C28	-179,4(4)
C27	C28	N4	123,0(4)	C28	N4	C37	C36	-177,6(5)
C25	C39	C21	124,9(4)					
C3	C2	C1	116,3(4)					

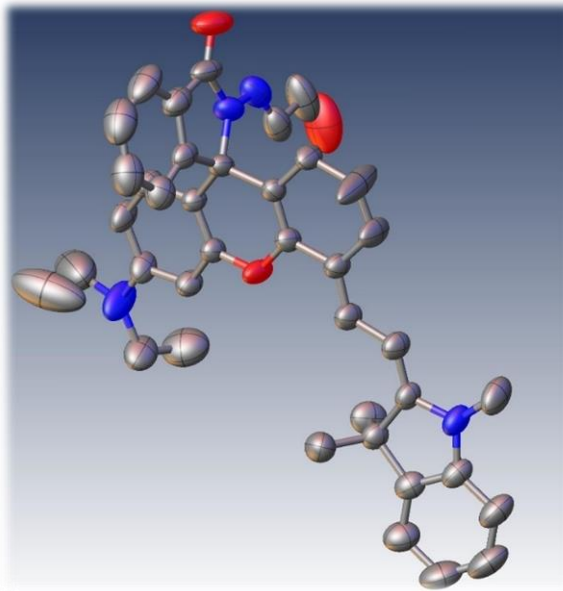
CyR, uzay grubu ile bir triklinik kristal sisteminde kristalleştirildi. Her birim hücre iki molekül içermektedir. ($Z=2$). Kristal kafes herhangi bir hidrojen bağı ya da π - π istiflenmesinden yoksundur. Ksanten ve izoindolinon gruplarının oluşturduğu düzlemsel $86,8^\circ$ dihedral açı ile birbirine neredeyse dikken, ksanten ve izoindol gruplarının oluşturduğu düzlemler arasında bu açı $11,0^\circ$ 'dir. Dietil amino grubunun tüm karbon atomları, bu tür kristaller için yaygın olan bazı bozukluklar içerir. Tüm bağ mesafeleri ve açıları benzer yapıya sahip kristal literatürü ile uyumludur[44,70–72].

Çizelge 3.2 CyR için kristal ve yapı iyileştirme parametreleri.

Parametre	CyR
Kapalı Formül	$C_{39}H_{37}N_4O_3$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	609,72
T(K)	296(2)
$\lambda(\text{\AA})$	0,71073
Kristal Sistemi	Triclinic
Uzay Grubu	P-1
Birim Hücre Boyutları: ($\text{\AA}$, °)	
a	12,47(3)
b	12,89(3)
c	13,06(3)
$V(\text{\AA}^3)$	1696.(7)
α	109,71(4)
β	102,03(5)
γ	111,80(4)
Z	2
Absorpsiyon Katsayısı (mm^{-1})	0,076
Dcalc (g/cm^3)	1,194
F(000)	646
Kristal Boyutu (mm)	0,01 x 0,02 x 0,20
Veri Toplama İçin θ Aralığı (°)	2,54 to 25,00
İndeks Aralığı	-14 $\leq h \leq$ 14 -15 $\leq k \leq$ 15 -15 $\leq l \leq$ 15
Toplanan Yansımalar	71394
Bağımsız Yansımalar	5971
Bağımsız Yansımaların Oranı (%)	99,9
Veri/Parametre	5971/421
Son R İndisleri [$I \geq 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0779 wR2 = 0,1611
R İndisleri (Tüm Veriler)	R1 = 0,1589 wR2 = 0,2061
F ²	1,022

Çizelge 3.3 Bağ Uzunlukları.

Atom	Atom	Å
N3	C9	1,463(9)
C9	C10	1,480(7)
N2	C19	1,293(8)
C19	C40	1,444(8)
O3	C40	1,239(9)
C26	C25	1,358(7)
C26	C27	1,435(7)
C27	C28	1,350(7)
C28	C29	1,538(7)
C29	C30	1,537(6)
C29	C31	1,545(6)
C11	N1	1,501(7)
N1	C12	1,416(7)
C39	C25	1,457(7)
C25	C24	1,498(8)
C23	C22	1,45(1)
C22	C21	1,510(8)

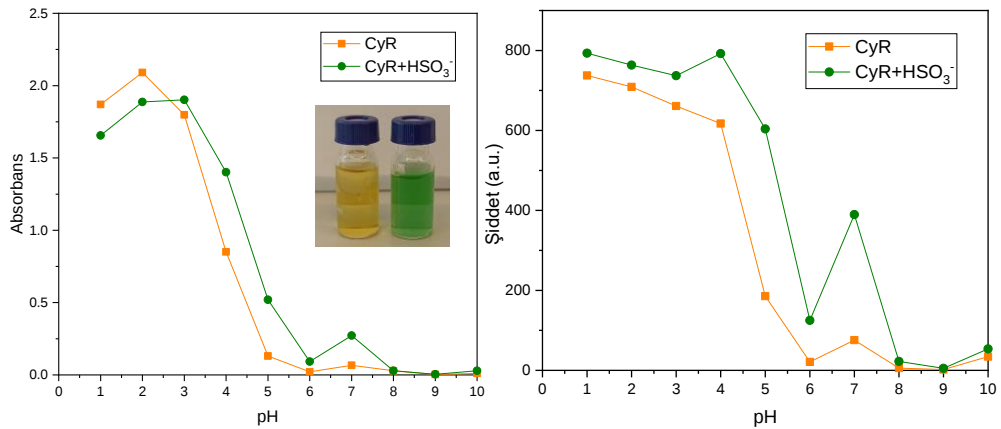


Şekil 3.2 CyR'nin termal elipsoidleri %50 olasılıkla çizilmiştir. Netlik sağlamak için hidrojen atomları kaldırılmıştır.

3.4 CyR'nin Spektral Davranışı ve Uygun Çalışma Koşullarının Bulunması

En uygun çalışma koşulunun bulunması için öncelikle çeşitli çözücülerde çözünürlük testi yapıldı. Bu testin sonunda **CyR** için en uygun çözücü; molekülü iyi çözmesi, suyla karışması ve molekülün yapısını bozmaması açısından, DMF olarak tespit edildi. Uygun su oranının bulunması için DMF %10-%90 aralığında farklı oranlarda suyla karıştırılıp 30 μM 'lık **CyR** çözeltisinin bisülfite ile reaksiyonu bu koşullarda incelendi. %50 su oranının üzerine çıkıldığında molekül sistemde çözünmezken, altına inildiğinde ise bisülfite katılma reaksiyonunun gerçekleşmediği görüldü. Bu yüzden çalışma koşulu olarak DMF/su (1/1) sistemi seçildi. Spektral çalışmalar için **CyR** derişimi 30 μM , bisülfite derişimi **CyR**'nin 15 ekivalenti seçilmiştir.

Bisülfite katılma reaksiyonu UV-Gör ve floresan cihazlarıyla takip edildi. UV-Gör cihazında molekülün sadece 385 nm bandında bir absorbansı görülürken, ortama bisülfite eklendiğinde çözeltinin rengi sarıdan yeşile dönerken 385 nm'deki absorbanın şiddetinin azaldığı, 420 nm ve daha şiddetli olarak 724 nm'de yeni bantların ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca 724 nm'deki bandın yüksek enerji tarafında ise bir omzu olduğu gözlenmektedir. Floresan cihazına bakıldığında ise 670 nm dalgaboylu ışıkla uyarmayla ilk başta 745 nm'de zayıf floresana sahip olan **CyR** çözeltisine bisülfite katıldığında, aynı dalgaboyunda uyarmanın ardından hafif bir kırmızıya kaymayla 750 nm'de şiddetli bir emisyon verdiği gözlenmektedir. Bütün bu davranışlar spiroolaktam halka açılması mekanizmasıyla örtüşmektedir.

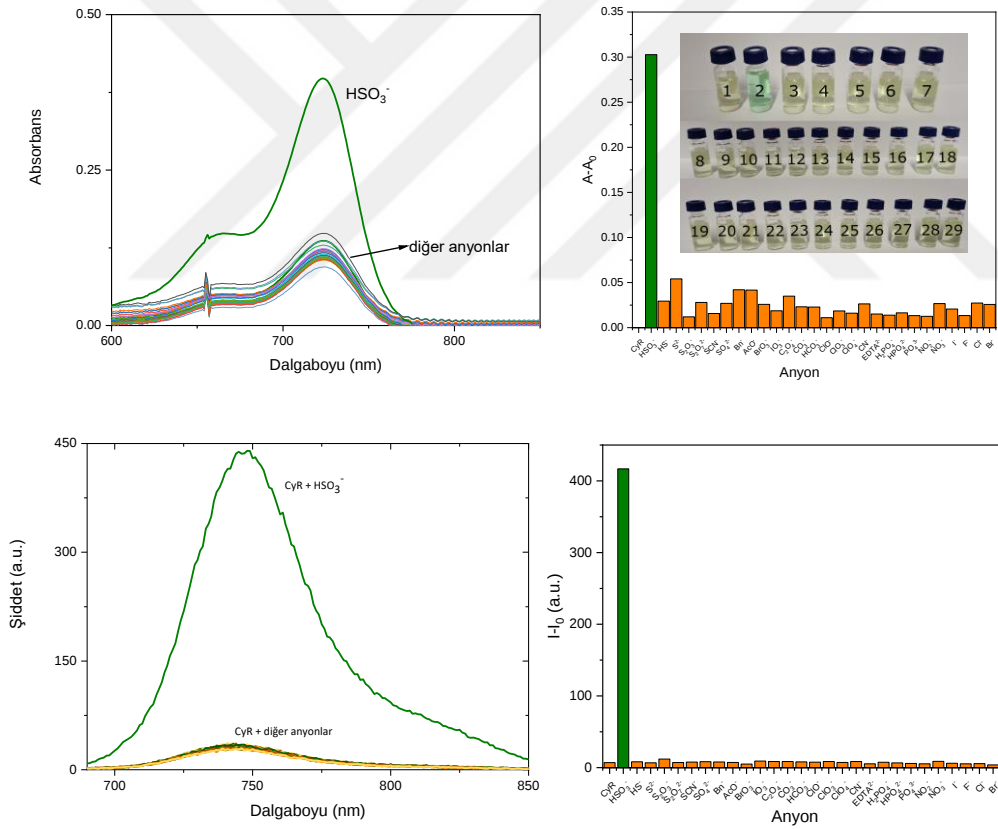


Şekil 3.3 **CyR**'nin farklı pH ortamlarında bisülfitle olan davranışlarının UV-Gör (solda) ve floresans (sağda) ölçümleri.

Uygun pH ortamının bulunması için, bisülfite katılma reaksiyonu DMF/pH (1/1) koşullarında, pH 1-10 arasındaki tampon çözeltileri kullanılarak takip edilmiştir. UV-Gör ve floresan cihazlarıyla yapılan bu çalışmada en net sinyal değişimi pH 5 ve 7’de görülmüş olup, bisülfitin yüksek pH koşullarında proton verebileceği ve bisülfitin sülfite dengeye girebileceği göz önünde bulundurularak, reaksiyonun sadece bisülfitle gerçekleştiğinden emin olmak için uygun tampon ortamı pH 5 olarak seçilmiştir[73]. Sinyal değişimleri Şekil 3.3’de görülmektedir.

3.5 Seçicilik Çalışması

CyR’nin bisülfite karşı seçiciliğini görmek için, 15 ekivalent HS^- , $\text{S}_2\text{O}_7^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , SCN^- , S^{2-} , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , ClO^- , ClO_4^- , ClO_3^- , BrO_3^- , IO_3^- , Br^- , I^- , Cl^- , F^- , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, CO_3^{2-} , HCO_3^- , AcO^- , Bn^- , EDTA^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , CN^- anyonlarına karşı



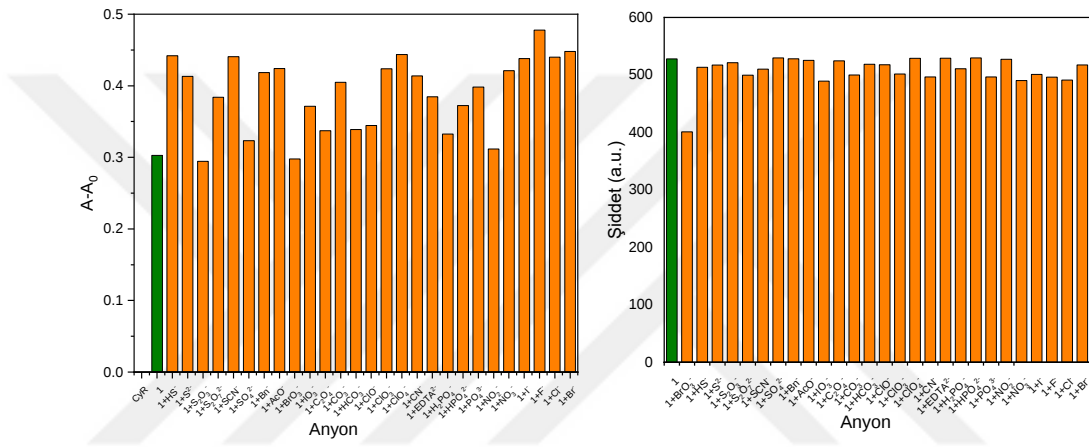
Şekil 3.4 Seçicilik çalışmasının UV-Gör (üstte) ile floresans (altta) ölçümleri ve çeşitli anyonlar varlığında renk değişimleri.

cevaplarına ayrı ayrı bakıldı. Hiçbir anyondan cevap alınmazken, sadece 15 ekivalent HSO_3^- eklendiğinde sinyal artışı, absorpsiyon spektrumunda 724 nm’de ve floresans spektrumunda 750 nm’de görülmüştür. UV-Gör ve floresan ölçümlerinin sonuçları

şekillerde görülmektedir. Aynı zamanda bu anyonların eklenmesiyle çözeltilerde görülen renginin sadece bisülfitle sarıdan yeşile döndüğü Şekil 3.4’de görülmektedir.

3.6 Diğer Anyonların Girişimi

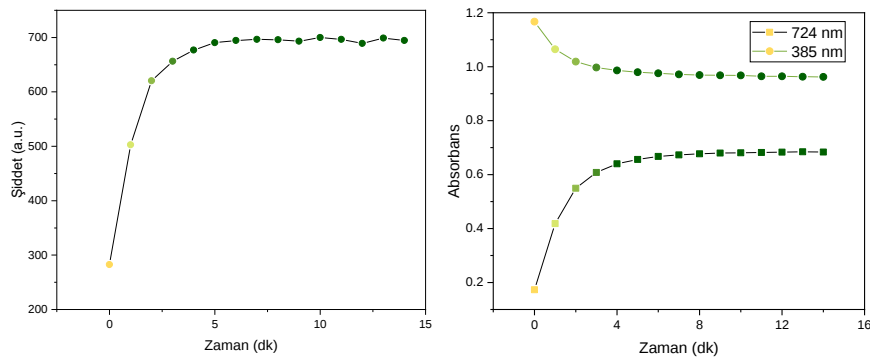
Bisülfite verilen cevabı diğer anyonların etkileyip etkilemediğini görmek için seçicilik testinde kullanılan bütün anyonların ayrı ayrı bulunduğu ortamda aynı miktarda bisülfitin cevapları ölçülmüş ve hiçbir anyonun bisülfite verilen cevabı etkilemediği görülmüştür. UV-Gör ve floresans cihazlarıyla yapılan girişim testinin ölçümlerinin sonuçları Şekil 3.5’te görülmektedir.



Şekil 3.5 Girişim çalışmasının UV-Gör (solda) ve floresans (sağda) ölçümleri.

3.7 Cevap Süresi

Bisülfitin aldehit fonksiyonel grubuna katılma reaksiyonunun ne zaman sonlandığını tespit etmek için cevap süresi çalışması yapıldı. Çalışmanın sonuçları Şekil 3.6’te görülmektedir.



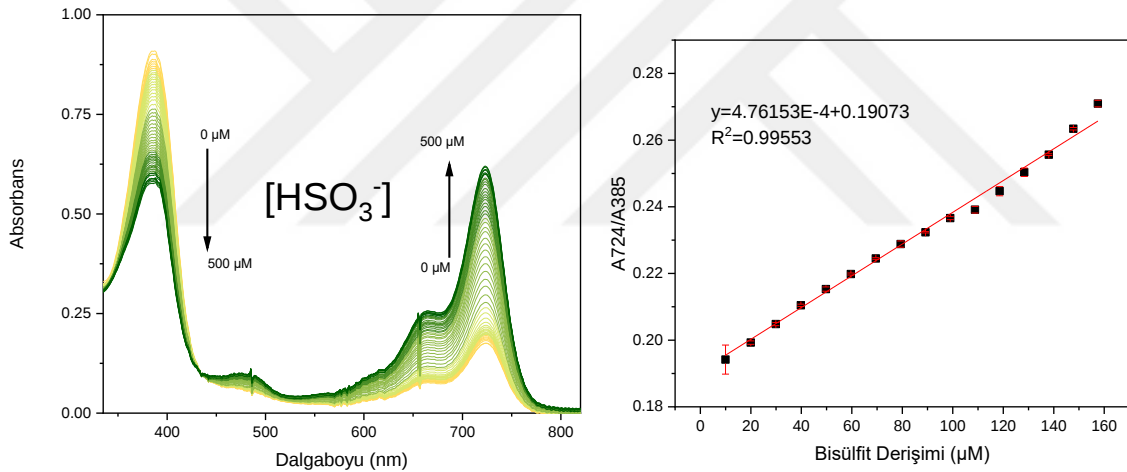
Şekil 3.6 Bisülfit katılma reaksiyonunun UV-Gör (sağda) ve floresans (solda) cihazı ile takibi.

15 ekivalent bisülfıt ve 30 μM **CyR**'nin kullanıldığı ve UV-Gör ile floresan cihazlarıyla ölçüm yapıldığı bu çalışmaya göre reaksiyonun bitiş süresi 300 saniye olarak ölçüldü. Bütün çalışmalar bu süre dikkate alınarak yürütüldü.

3.8 Oransal Yöntem Kullanılarak UV-Gör Cihazıyla Yapılan Bisülfıt

Titrasyonu

Bisülfıt derişimiyle absorbans şiddetinin bağdaştırmak için aynı derişimde **CyR** çözeltisi içerisine farklı miktarlarda bisülfıt eklendi ve absorbans ölçümleri alındı. Bu ölçümlere göre, bisülfıt miktarı arttıkça 724 nm'deki bandın şiddeti artarken 385 nm'deki bandın şiddetinin azaldığı gözlemlendi. Bu değişimlerin oranı bisülfıt derişimine göre grafiğe döküldüğünde 10-160 μM bisülfıt aralığında oran artışının doğrusal olduğu görüldü.

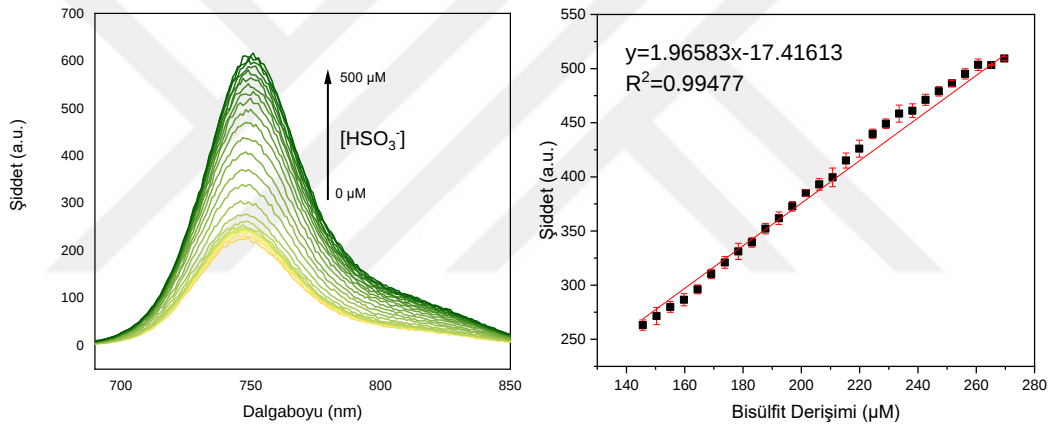


Şekil 3.7 Bisülfıt titrasyonunun UV-Gör spektrumu (solda) ve bu spektrumla oransal yöntem kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi (sağda).

Spektruma bakıldığında bisülfıt eklendikçe bu bantların haricinde 480 nm'de de bir bandın ortaya çıktığı görüldü. Bu ölçümlere göre, $A_{724}/A_{385} = 0,19073 + 4,76163 \times 10^{-4}C$ ($C = \mu\text{M}$ cinsinden bisülfıt derişimi) denkemli ve 0,99553 R^2 değerine sahip kalibrasyon grafiğine göre tayin limiti ($\text{LOD} = 3 \alpha / \text{eğim}$) 1,15 μM (0,120 ppm) olarak hesaplanmıştır (α , **CyR** çözeltisinin 5 kere ölçümünden alınan standart sapma değeri olup 0,000183 değerine sahiptir.). UV-Gör spektrumu ve oransal yöntemle hazırlanmış kalibrasyon eğrisi Şekil 3.7'te gösterilmiştir.

3.9 Floresans Spektrofotometrisiyle Bisülfıt Titrasyonu

CyR çözeltisinin içerisine eklenen az miktarlardaki bisülfitle, floresans spektrumuna göre, 745 nm'deki zayıf floresan şiddetinin 670 nm ışıqla uyarma üzerine bisülfıt artışıyla orantılı olarak arttığı görüldü. Floresans şiddetinin artmasıyla beraber başlangıç noktasıyla doyum noktası arasında 5 nm'lik bir kırmızıya kayma da görüldü. Floresans spektrumu ve bu ölçümden çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 3.8'de gösterilmiştir. Bisülfıt derişimine karşı florsans şiddetinin kullanıldığı kalibrasyon eğrisine göre sinyal artışının 145-270 μM aralığında doğrusal olduğu görülmüştür. $I = -17,41613 + 1,96583C$ ($C = \mu\text{M}$ cinsinden bisülfıt derişimi) denklemine sahip kalibrasyon eğrisinin R^2 değeri 0,99477 olarak bulunmuştur. Standart sapması 0,0568 olan 5 adet **CyR** çözeltisinin ölçümü de kullanılarak hesaplanan tayin limiti ($\text{LOD} = 3\alpha / \text{eğim}$) 0,09 μM (0,0091 ppm) olarak hesaplanmıştır ($\alpha = \text{standart sapma}$).

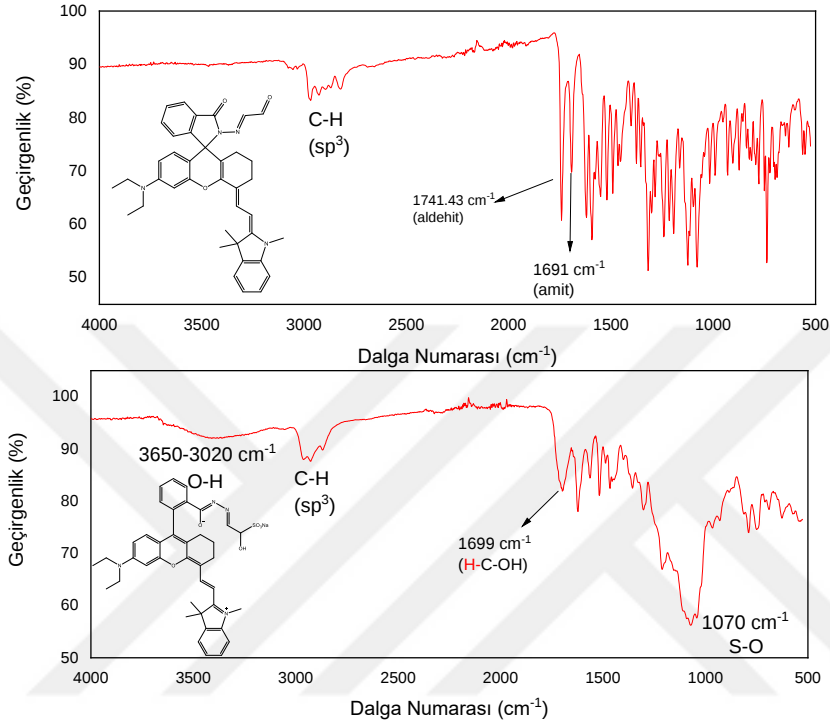


Şekil 3.8 Bisülfıt titrasyonunun floresans spektrumu (solda) ve bu spektrumla hazırlanan kalibrasyon eğrisi (sağda).

3.10 Bisülfıt Bağlanma Modu

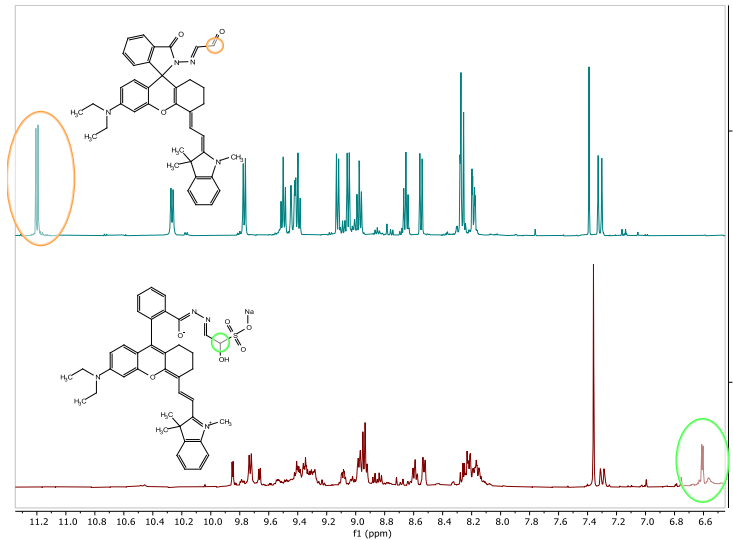
Bisülfıtın **CyR**'ye bağlanma mekanizmasını daha iyi anlamak için oluşan bisülfıt bağlanmış ürünün FT-IR, $^1\text{H-NMR}$ ve MALDI-TOF olmak üzere, üç analiz yöntemiyle yapısı açıklığa kavuşturuldu. Şekil 3.9'daki FT-IR sonuçlarına bakıldığında önemli değişiklikler görülmüştür. Bunlardan ilki, 3500 cm^{-1} bandında yeni bir geniş OH bandının ortaya çıktığı gözlenmiştir. Ortaya çıkan bu bant, aldehit grubunun bisülfıt ile değişikliğe uğrayıp hidroksi grubuna dönüştüğünü gösterebilir. Nitekim literatüre göre de aldehit grubuna bisülfıt katılması sonucu bu grubun hidroksi grubuna dönüştüğü görülmektedir. İkincisi, **CyR**'de görülen 1741 cm^{-1} 'deki karakteristik aldehit pikinin 1690 cm^{-1} 'e kaydığı görülmüştür. Bu kayma da aldehit

grubundaki değişime işaret eder. Ayrıca amid karbonili piki olarak gösterilebilen 1691 cm^{-1} 'deki pikin de kaybolduğu gözlenmiştir. Katılma sonucu moleküldeki bu yapı da kaybolmaktadır. Son olarak, 1000-1300 cm^{-1} bandında güçlü bir S-O absorpsiyon bandının oluştuğu da açıkça görülmekte olup yapıdaki bisülfite varlığını desteklemektedir.



Şekil 3.9 CyR ve CyR'ye bisülfite katılmış yapının FT-IR karşılaştırması.

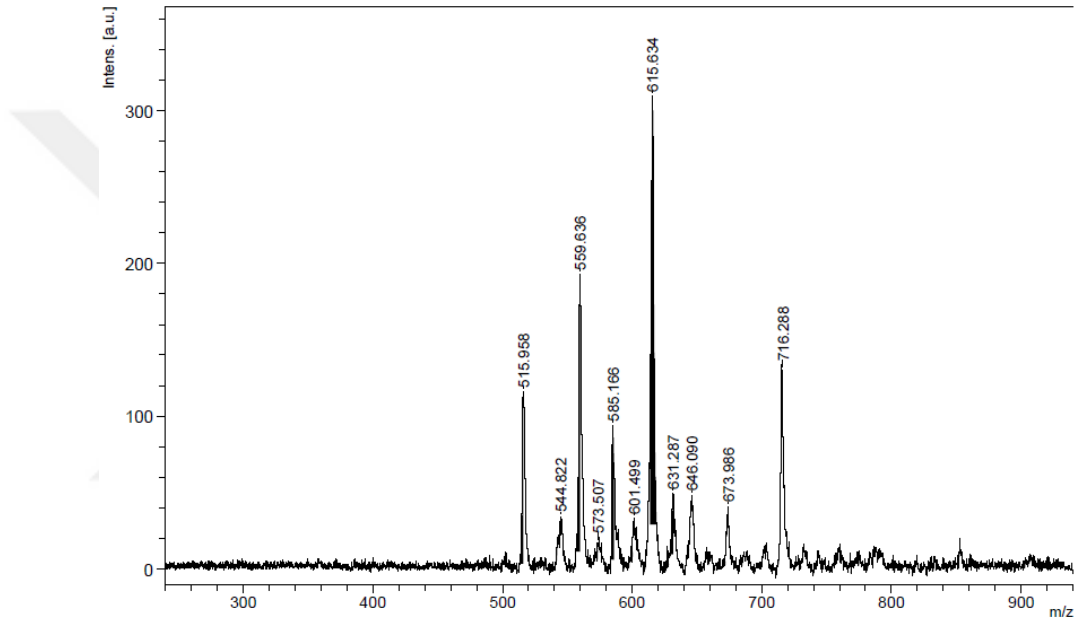
¹H-NMR spektrumundaki tek önemli değişim, Şekil 3.10'de görüldüğü üzere, aldehit protonunun spektrumda önemli bir yer değişikliği yapmış olmasıdır.



Şekil 3.10 CyR ve CyR'ye bisülfite katılmış yapının ¹H-NMR spektrumlarının karşılaştırılması.

Başta 11,2 ppm’de görülen aldehit protonu piki, katılma sonrası yer değişikliği yapıp 6,6 ppm’e kaymıştır. Literatürde de bu değerlere benzer kaymalar görülmüş olup bu sonuçları destekler niteliktedir. Bu spektrumdaki diğer değişiklikler ufak kaymalardan ibarettir.

Son olarak MALDI-TOF sonuçları, Şekil 3.11’de görüldüğü üzere, bisülfite katılmış yapının sodyum tuzu olarak oluştuğunu söylemektedir. 716,288 g/mol’deki pik yapının tek sodyum tutmuş haline işaret etmekte olup, spektrumda **CyR** (615,634 g/mol) ya da CS2 (559,636 g/mol) gibi bozunma pikleri de görülmektedir.



Şekil 3.11 **CyR**’ye bisülfite katılmış yapının MALDI-TOF analiz sonuçları.

3.11 Gerçek Örnekler İçerisinde Bisülfite Analizi

Kırmızı şarap, rose şarap ve toz şeker olmak üzere 3 adet farklı gerçek örnek üzerinde **CyR** kullanılarak bisülfite analizi yapılmıştır. Öncelikle, bu ürünlerde halihazırda koruyucu olarak bisülfite katıldığı için, başlangıçta bulunan bisülfite miktarı iyodometri standart yöntemiyle tayin edilmiştir. Bulunan bisülfite tayin aralığının dışında kaldığı için bu örnekler fazla bisülfite eklenip örnek içerisinde bulunan toplam bisülfite miktarı **CyR** yardımıyla florometri analiziyle tespit edilmiştir. Bu ölçümlerin sonuçlarına göre, Çizelge 3.4’te görüldüğü üzere, yüksek geri kazanım değerleri **CyR**’nin gerçek örneklerde hızlı ve isabetli şekilde bisülfite analizi yapabileceği görülmüştür.

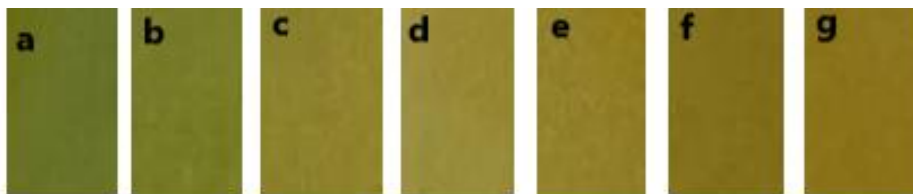
3.12 Test Kağıdı ile Bisülfid Tayini

CyR'nin laboratuvar koşulları olmadan bisülfid tayini yapıp yapamayacağını görmek için, üzerinde CyR adsorplanmış test kağıtları hazırlandı. Bu test kağıtları, CyR'nin 10^{-2} M'lık DMF çözeltisinde bekletilip 3 saat boyunca vakum etüvünde kurutulan

Çizelge 3.4 Gerçek örneklerde florometriyle bisülfid analiz sonuçları.

	Toplam Bisülfid (μM)	Bulunan Bisülfid (μM)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%)
Kırmızı Şarap	176,80	169,51	96,87 $\pm$ 0,21
	200,09	188,34	94,12 $\pm$ 0,059
	223,15	213,35	95,20 $\pm$ 0,99
Rose Şarap	160,49	160,39	99,94 $\pm$ 0,72
	183,92	173,70	94,44 $\pm$ 0,64
	207,12	185,45	89,60 $\pm$ 0,35
Toz Şeker	160,52	167,11	104,10 $\pm$ 0,27
	183,95	177,30	96,38 $\pm$ 0,77
	207,16	192,19	92,78 $\pm$ 0,72

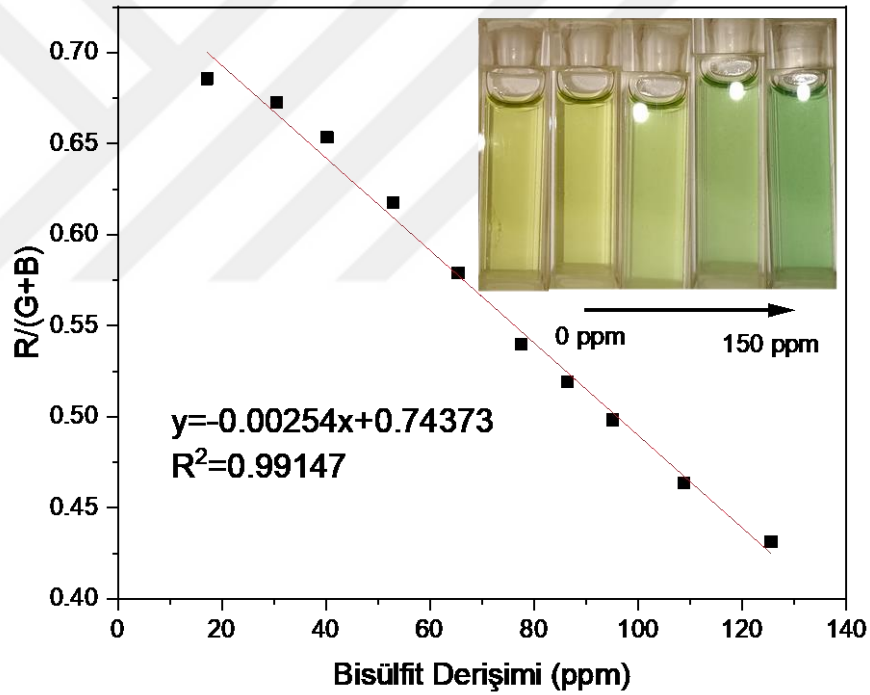
süzgeç kağıtlarından hazırlanmıştır. Hazırlanan test kağıtları 10^{-1} – 10^{-6} M aralığındaki bisülfidçözeltilerine daldırılıp renk değişimi gözlenmiştir. Başlangıçta sarı olan test kağıdının rengi, bisülfid derişimine bağlı olarak farklı tonlarda yeşile dönüşmüştür. Bu renk değişimleri Şekil 3.12'de görülmektedir. Bu çalışma göz önünde bulundurularak CyR'nin laboratuvar koşulları olmadan hızlı bir şekilde bisülfid analizi yapabileceği görülmüştür.



Şekil 3.12 CyR adsorplanmış test kağıtlarının farklı bisülfid derişimli çözeltileri damlatıldığında oluşan renk değişimleri (a: 10^{-1} M HSO_3^- , b: 10^{-2} M HSO_3^- , c: 10^{-4} M HSO_3^- , d: 10^{-5} M HSO_3^- , e: 10^{-5} M HSO_3^- , f: 10^{-6} M HSO_3^- , g: CyR).

3.13 Akıllı Telefon ile Bisülfıt Analizi

Bisülfıt analizini, güvenilirlikten ödün vermeden, hızlı ve pratik bir şekilde gerçekleştirmek için bir akıllı telefonla analiz yöntemi kullanıldı. Kolorimetrik kemosensörlerde gerçekleştirilebilecek bu yöntemle analiz yapmak için önce içerisinde farklı miktarlarda bisülfıt olan **CyR** renkli çözeltilerinin fotoğrafları bir akıllı telefon (Redmi Note 10S) kamerası yardımıyla çekilip, bu renklerin RGB değerleri Color Assist Free telefon uygulaması yardımıyla elde edilip, $y=R/(G+B)$ fonksiyonu bisülfıt derişimine karşı kalibre edilmiştir. Çizilen kalibrasyon eğrisi ve çözeltilerdeki renk değişimi Şekil 3.13'te görülmektedir. $R/(G+B) = 0,74373 + (-0,00254)C$ ($C = \text{ppm}$ ünitesinde bisülfıt derişimi) denklemine sahip kalibrasyon eğrisinin 17-126 ppm aralığında doğrusal ($R^2 = 0,99147$) olduğu görülmüştür.



Şekil 3.13 Akıllı telefon yardımıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi ve artan bisülfıt miktarına göre çözeltideki renk değişimi.

Bu veriler ışığında akıllı telefon analizinin gerçek örneklerde nasıl çalıştığını görmek için toz şeker örneğinde, çıkarılan bu kalibrasyon eğrisine göre bisülfıt analizi yapılmıştır. Ölçümlerin sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre yüksek geri kazanım değerleri, son yıllarda pratik ve isabetli analiz için değer gören

bu yöntemin **CyR** için düzgün çalıştığı ve bisülfıt analizi için kullanılabileceğı görölmüştür.

Çizelge 3.5 Akıllı telefon ile yapılan şeker numunesindeki bisülfıt analizi sonuçları.

Toplam Bisülfıt (μM)	Bulunan Bisülfıt (μM)	Geri Kazanım $\pm$ RSD (%)
68,32	70,57 $\pm$ 1,05	103,30 $\pm$ 2,96
136,63	140,16 $\pm$ 1,67	102,58 $\pm$ 2,39
204,95	199,48 $\pm$ 3,56	97,33 $\pm$ 3,57

3.14 CyR'nin Literatürdeki Bazı Bisülfıt Sensörleriyle Karşılaştırılması

Geliştirilen **CyR** kolorimetrik bisülfıt sensörünün literatüre ne kazandırdığını daha iyi görebilmek için daha önceden yapılan ve bisülfıt tayini için geliştirilen diğer kemosenörler incelendi ve seçilen parametreler karşılaştırıldı. Bu karşılaştırmaya göre **CyR**'nin birçok bisülfıt sensöründen daha hassas analiz yapabilmesiyle beraber bisülfıt tespiti açısından uygulama alanında literatüre hem test kağıdı analizi hem de akıllı telefonla analiz olanağı gibi üstünlükleri görölmüştür. Birçok sensörden hızlı olarak 5 dakika gibi kısa bir sürede sonuçlar görülebiliyorken UV-Gör spektrometresiyle oransal yöntem kullanılarak oldukça güvenli sonuçlar elde edilebilmektedir. Floresans spektrometresinde diğer bisülfıt sensörlerinden daha hassas analiz yapabilidiğı açıkça görölmektedir. Ayrıca literatüdeki en uzun emisyon dalgaboyuna sahip bisülfıt sensörü olması, bu kemosenörü hücre içinde bisülfıt analizi için çalışmaya ideal bir aday yapmaktadır. Literatür karşılaştırması Çizelge 3.6'da görölmektedir.

Çizelge 3.6 Literatürdeki bazı bisülfıt kemosensörlerin bir takım parametrelerinin **CyR** ile

ör	Ortam	LOD (μM)	Doğrusal Aralık (μM)	Cevap Süresi (s)	Girişim	Emisyon Dalgaboyu (nm)	Oransal Yöntem	Akıllı Telefon, Test Kağıdı	Ç
Red	0,2 M Na ₂ HPO ₄ ⁻ sitrik asit tamponu, pH 5	1,76	5-30	Hemen	Hayır	575	Hayır	Hayır, Hayır	Ç
	CTAB-PBS tamponu, 10% DMSO, v/v, pH 8,0	11,03	0-45	4800	Hayır	395	Evet	Hayır, Hayır	
	CTAB-PBS tamponu, 1mM, pH 7,4	0,200	0,5-150	7200	Hayır	465	Evet	Hayır, Hayır	
	PBS tamponu, 10mM, 1% DMSO v/v, pH 7,4	0,600	0-80	600	Hayır	646	Hayır	Hayır, Hayır	
	PBS tamponu, 1% THF, v/v, pH 5,0	3	0-300	-	Hayır	484	Hayır	Hayır, Hayır	
	PBS tamponu, 30% THF, v/v, pH 5,0	2	0-60	1800	Hayır	400	Evet	Hayır, Hayır	
	AcOH-AcONa tamponu, 50% DMF, v/v, pH 5,0	1,15 (floresans spektrometre için 0,09)	10-160 (floresans spektrometre için 145-270)	300	Hayır	745	Evet	Evet, Evet	Ç

karşılaştırılması.



4. SONUÇ VE YORUMLAR

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında florometrik ve kolorimetrik yöntemle bisülfitin hassas ve seçici olarak tayinini gerçekleştirebilen, kromenilyum-siyanin tabanlı, aldehit fonksiyonel grubu bulunan kemosensör geliştirilmiş; bu kemosensörün yapısı X Işını kırınımı yöntemiyle aydınlatılmış olup bisülfit türevinin karakterizasyonu FT-IR, ¹H-NMR ve MALDI-TOF analiz yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Cevap süresi 5 dakika olarak tespit edilen bu sensörün bisülfit için tayin limiti UV-Gör spektrometresiyle oransal yöntem kullanılarak 1,15 µM, floresans spektrometresi kullanılarak 0,09 µM olarak bulunmuştur. Kırmızı şarap, rose şarap ve toz şeker olmak üzere üç numunede yüksek isabet oranlarıyla bisülfit analizi yapabilen sensörün kolorimetrik özelliği kullanılarak test kağıdı ve akıllı telefon ile bisülfit analizi yapılabilmesi mümkündür. Ayrıca bu kemosensörün literatürdeki bisülfit kemosensörleri arasında en uzun dalgaboyu emisyonuna sahip olması bu sensörü hücre içinde bisülfit analizi için yüksek bir potansiyele sahip olmasını sağlamaktadır.



KAYNAKLAR

- [1] **Taylor, S. L., Higley, N. A., & Bush, R. K.** (1986). Sulfites in Foods: Uses, Analytical Methods, Residues, Fate, Exposure Assessment, Metabolism, Toxicity, and Hypersensitivity. *Advances in Food Research*, 30, 1–76.
- [2] **Wedzicha, B. L.** (1992). Chemistry of sulphiting agents in food. *Food Additives and Contaminants*, 30, 449–459.
- [3] **Robakis, N. K.** (1980). Growth Inhibition Of Bacteria By Bisulfite (Order No. 8027923). Available from ProQuest Dissertations & Theses Global. (303036229). Retrieved July 5, 2022, from <https://www.proquest.com/dissertations-theses/growth-inhibition-bacteria-bisulfite/docview/303036229/se-2?accountid=11638>.
- [4] **Su, X., Li, X., Ding, T., Zheng, G., & Liu, Z.** (2015). A new cycloruthenated complex: Synthesis, characterization and colorimetric detection of bisulphite in water. *Journal of Organometallic Chemistry*, 781, 59–64.
- [5] **Iwasawa, S., Kikuchi, Y., Nishiwaki, Y., Nakano, M., Michikawa, T., Tsuboi, T., Tanaka, S., Uemura, T., Ishigami, A., Nakashima, H., Takebayashi, T., Adachi, M., Morikawa, A., Maruyama, K., Kudo, S., Uchiyama, I., & Omae, K.** (2009). Effects of SO₂ on Respiratory System of Adult Miyakejima Resident 2 Years after Returning to the Island. *Journal of Occupational Health*, 51, 38–47.
- [6] **Wang, X. B., Jin, H. F., Tang, C. S., & Du, J. B.** (2010). Significance of endogenous sulphur-containing gases in the cardiovascular system. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 37, 745–752.
- [7] **Xu, W., Teoh, C. L., Peng, J., Su, D., Yuan, L., & Chang, Y. T.** (2015). A mitochondria-targeted ratiometric fluorescent probe to monitor endogenously generated sulfur dioxide derivatives in living cells. *Biomaterials*, 56, 1–9.
- [8] **Ruiz-Capillas, C. & Jiménez-Colmenero, F.** (2009). Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: A review. *Food Chemistry*, 112, 487–493.
- [9] **Guoquan, G., He, X., & Huaigong, W.** (1995). A Fluorimetric Method for the Determination of Atmospheric Sulphur Dioxide With 2', 7'-Dichlorofluorescein. *Analytical Letters*, 28, 909–915.
- [10] **Yang, X. F., Guo, X. Q., & Zhao, Y. B.** (2002). Novel spectrofluorimetric method for the determination of sulfite with rhodamine B hydrazide in a micellar medium. *Analytica Chimica Acta*, 456, 121–128.

- [11] **Akasaka, K., Ohrui, H., Meguro, H., Suzuki, T., & Miwa, H.** (1993). Fluorometric Determination of Total and Bound Sulfite in Wine by N-(9-Acridinyl)maleimide. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 76, 1385–1388.
- [12] **A. Segundo, M., S. Rangel, A. O. S., Andreu Cladera, & Víctor Cerdà** (2000). Multisyringe flow system: determination of sulfur dioxide in wines. *Analyst*, 125, 1501–1505.
- [13] **Williams, T. R., McElvany, S. W., & Ighodalo, E. C.** (1981). Determination of sulfur dioxide in solutions by pyridinium bromide perbromide and titrimetric and flow injection procedures. *Analytica Chimica Acta*, 123, 351–354.
- [14] **Abdel-Latif, M. S.** (2006). New Spectrophotometric Method for Sulfite Determination. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/00032719408002664](http://Dx.Doi.Org/10.1080/00032719408002664), 27, 2601–2614.
- [15] **Liu, J., Zhou, J., Liu, F., Yue, X., Kong, Y., & Wang, X.** (2019). Interaction Analysis and Sustainable Development Strategy between Port and City: The Case of Liaoning. *Sustainability* 2019, 11, Page 5366.
- [16] **Huang, Y., Zhang, C., Zhang, X., & Zhang, Z.** (1999). Chemiluminescence of sulfite based on auto-oxidation sensitized by rhodamine 6G. *Analytica Chimica Acta*, 391, 95–100.
- [17] **Yao, X., Zhang, J., Li, J., Yao, X., Zhang, J., & Li, J.** (2011). Flow Injection Determination of Tramadol Based on Its Sensitizing Effect on the Chemiluminescent Reaction of Permanganate-Sulfite. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2, 768–775.
- [18] **Michigami, Y., Morooka, M., & Ueda, K.** (1996). Determination of sulphite and sulphate by ion chromatography using a weakly basic phthalate eluent. *Journal of Chromatography A*, 732, 403–407.
- [19] **Zhang, X., Zhang, L., Liu, S., Zhu, X., Zhou, P., Cheng, X., Zhang, R., Zhang, L., & Chen, L.** (2022). Insight into sulfur dioxide and its derivatives metabolism in living system with visualized evidences via ultra-sensitive fluorescent probe. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127179.
- [20] **Liu, S., Feng, D., Zhang, L., Song, H., Wang, Y., Zhang, X., Zhao, Q., & Chen, L.** (2020). A reaction-based ratiometric fluorescent probe for mercury ion detection in aqueous solution. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 243, 118817.
- [21] **Wang, Y., Wu, H., Wu, W. N., Mao, X. J., Zhao, X. L., Xu, Z. Q., Xu, Z. H., & Fan, Y. C.** (2019). Novel rhodamine-based colorimetric and fluorescent sensor for the dual-channel detection of Cu²⁺ and Co²⁺/trivalent metal ions and its AIRE activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 212, 1–9.
- [22] **Yin, C., Li, X., Yue, Y., Chao, J., Zhang, Y., & Huo, F.** (2017). A new fluorescent material and its application in sulfite and bisulfite bioimaging. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 246, 615–622.
- [23] **Peng, M.-J., Yang, X.-F., Yin, B., Guo, Y., Suzenet, F., En, D., Li, J., Li, C.-W., & Duan, Y.-W.** (2014). A Hybrid Coumarin-Thiazole Fluorescent Sensor for Selective Detection of Bisulfite Anions in Vivo and in Real Samples. *Chemistry - An Asian Journal*, 9, 1817–1822.

- [24] **Wang, K., Wang, W., Chen, S. Y., Guo, J. C., Li, J. H., Yang, Y. S., Wang, X. M., Xu, C., & Zhu, H. L.** (2021). A novel Near-Infrared rhodamine-derivated turn-on fluorescence probe for sensing SO₃²⁻ detection and their bio-imaging in vitro and in vivo. *Dyes and Pigments*, 188, 109229.
- [25] **Kim, H. N., Lee, M. H., Kim, H. J., Kim, J. S., & Yoon, J.** (2008). A new trend in rhodamine-based chemosensors: application of spirolactam ring-opening to sensing ions. *Chemical Society Reviews*, 37, 1465–1472.
- [26] **Beija, M., Afonso, C. A. M., & Martinho, J. M. G.** (2009). Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes. *Chemical Society Reviews*, 38, 2410–2433.
- [27] **Koide, Y., Urano, Y., Hanaoka, K., Terai, T., & Nagano, T.** (2011). Development of an Si-rhodamine-based far-red to near-infrared fluorescence probe selective for hypochlorous acid and its applications for biological imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 133, 5680–5682.
- [28] **Yuan, L., Lin, W., Zheng, K., He, L., & Huang, W.** (2012). Far-red to near infrared analyte-responsive fluorescent probes based on organic fluorophore platforms for fluorescence imaging. *Chemical Society Reviews*, 42, 622–661.
- [29] **Guo, Z., Park, S., Yoon, J., & Shin, I.** (2013). Recent progress in the development of near-infrared fluorescent probes for bioimaging applications. *Chemical Society Reviews*, 43, 16–29.
- [30] **Zhang, M., Zheng, S. T., Liu, X. J., Long, Y., & Yang, B. Q.** (2016). A series of novel NIR fluorescent dyes: Synthesis, theoretical calculations and fluorescence imaging applications in living cells. *Dyes and Pigments*, 125, 220–228.
- [31] **Lakowicz, J. R.** (2006). Principles of fluorescence spectroscopy. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3, 27-61.
- [32] **Lakowicz, J. R.** (2006). Introduction to Fluorescence. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3, 1–26.
- [33] **Andersen, C. M. & Mortensen, G.** (2008). Fluorescence spectroscopy: a rapid tool for analyzing dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 720–729.
- [34] **Noelting, E. & Dziewoński, K.** (1905). Zur Kenntniss der Rhodamine. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 38, 3516–3527.
- [35] **Mojzych, M. & Maged Henary, ·** (2008). Synthesis of Cyanine Dyes. *Heterocyclic Polymethine Dyes*, 14, 1–9.
- [36] **Fernández-Suárez, M. & Ting, A. Y.** (2008). Fluorescent probes for super-resolution imaging in living cells. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 9, 929–943.
- [37] **Armitage, B. A.** (2005). Cyanine Dye–DNA Interactions: Intercalation, Groove Binding, and Aggregation. *Topics in Current Chemistry*, 253, 55–76.
- [38] **Gorka, A. P., Nani, R. R., & Schnermann, M. J.** (2015). Cyanine polyene reactivity: scope and biomedical applications. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13, 7584–7598.

- [39] **Karton-Lifshin, N., Albertazzi, L., Bendikov, M., Baran, P. S., & Shabat, D.** (2012). “donor-two-acceptor” dye design: A distinct gateway to NIR fluorescence. *Journal of the American Chemical Society*, 134, 20412–20420.
- [40] **Li, Y., Sun, Y., Li, J., Su, Q., Yuan, W., Dai, Y., Han, C., Wang, Q., Feng, W., & Li, F.** (2015). Ultrasensitive near-infrared fluorescence-enhanced probe for in vivo nitroreductase imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 137, 6407–6416.
- [41] **Gong, Q., Shi, W., Li, L., Wu, X., & Ma, H.** (2016). Ultrasensitive fluorescent probes reveal an adverse action of dipeptide peptidase IV and fibroblast activation protein during proliferation of cancer cells. *Analytical Chemistry*, 88, 8309–8314.
- [42] **Yuan, L., Lin, W., Yang, Y., & Chen, H.** (2012). A unique class of near-infrared functional fluorescent dyes with carboxylic-acid-modulated fluorescence ON/OFF switching: Rational design, synthesis, optical properties, theoretical calculations, and applications for fluorescence imaging in living animals. *Journal of the American Chemical Society*, 134, 1200–1211.
- [43] **Wei, Y., Cheng, D., Ren, T., Li, Y., Zeng, Z., & Yuan, L.** (2016). Design of NIR Chromenylum-Cyanine Fluorophore Library for “switch-ON” and Ratiometric Detection of Bio-Active Species in Vivo. *Analytical Chemistry*, 88, 1842–1849.
- [44] **Karaoglu, K., Kaya, K., & Yilmaz, I.** (2020). New Chromenylum–cyanine based dual channel chemosensors for copper and hypochlorite sensing. *Dyes and Pigments*, 180, 108445.
- [45] **Karaoglu, K.** (2020). A new chromenylum-cyanine chemosensor for switch-ON near-infrared copper (II) sensing. *Journal of Molecular Structure*, 1205, 127640.
- [46] **Zhu, X., Yuan, L., Hu, X., Zhang, L., Liang, Y., He, S., Zhang, X. B., & Tan, W.** (2018). Construction of a fluorine substituted chromenylum-cyanine near-infrared fluorophore for ratiometric sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259, 219–225.
- [47] **Jiao, X., Liu, C., He, S., Zhao, L., & Zeng, X.** (2019). Highly selective and sensitive ratiometric near-infrared fluorescent probe for real-time detection of Hg²⁺ and its bioapplications in live cells. *Dyes and Pigments*, 160, 86–92.
- [48] **Morton, M., & Landfield, H.** (1952). Kinetics of Bisulfite Addition to α , β -Unsaturated Compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 74(14), 3523–3526.
- [49] **Wu, M. Y., Li, K., Li, C. Y., Hou, J. T., & Yu, X. Q.** (2014). A water-soluble near-infrared probe for colorimetric and ratiometric sensing of SO₂ derivatives in living cells. *Chemical Communications*, 50, 183–185.
- [50] **Yu, C., Luo, M., Zeng, F., & Wu, S.** (2012). A fast-responding fluorescent turn-on sensor for sensitive and selective detection of sulfite anions. *Analytical Methods*, 4, 2638–2640.
- [51] **Yang, X. F., Zhao, M., & Wang, G.** (2011). A rhodamine-based fluorescent probe selective for bisulfite anion in aqueous ethanol media. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 15, 8–13.

- [52] **Liu, X., Yang, Q., Chen, W., Mo, L., Chen, S., Kang, J., & Song, X.** (2015). A ratiometric fluorescent probe for rapid, sensitive and selective detection of sulfur dioxide with large Stokes shifts by single wavelength excitation. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 13, 8663–8668.
- [53] **Jiang, X., Xu, J., Zhang, Y., Wang, H., Zeng, L., & Zhang, Y.** (2016). A colorimetric and ratiometric fluorescent probe for the rapid and sensitive detection of sulfite in sugar. *Analytical Methods*, 8, 1572–1576.
- [54] **Peng, M.-J., Yang, X.-F., Yin, B., Guo, Y., Suzenet, F., En, D., Li, J., Li, C.-W., & Duan, Y.-W.** (2014). A Hybrid Coumarin–Thiazole Fluorescent Sensor for Selective Detection of Bisulfite Anions in Vivo and in Real Samples. *Chemistry – An Asian Journal*, 9, 1817–1822.
- [55] **Krichen, M.** (2021). Anomalies Detection through Smartphone Sensors: A Review. *IEEE Sensors Journal*, 21, 7207–7217.
- [56] **Lu, Y., Shi, Z., & Liu, Q.** (2019). Smartphone-based biosensors for portable food evaluation. *Current Opinion in Food Science*, 28, 74–81.
- [57] **Kishore, S. C., Samikannu, K., Atchudan, R., Perumal, S., Immanuel Edison, T. N. J., Alagan, M., Sundramoorthy, A. K., & Lee, Y. R.** (2022). Smartphone-Operated Wireless Chemical Sensors: A Review. *Chemosensors* 2022, 10, 55.
- [58] **Myasoedov, B. F.** (1992). Chemical sensors (review). *Bulletin of the Russian Academy of Sciences, Division of Chemical Science* 1992 41:3, 41, 383–387.
- [59] **Creager, S.** (2001). *Electrochemical Sensors in Bioanalysis* By Raluca-Ioana Stefan and Jacobus Frederick Van Staden (University of Pretoria, Pretoria, South Africa) and Hassan Y. Aboul-Enein (King Faisal Specialist Hospital and Research Centre, Riyadh, Saudi Arabia). Marcel Dekker Inc: New York and Basel. 2001. xxii + 288 pp. \$150.00. ISBN 0-8247-0662-5. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 511–512.
- [60] **Janata, J. & Bezegh, A.** (1988). Chemical sensors. *Analytical Chemistry*, 60, 62–74.
- [61] **van Staden, J. F., Stefan-van Staden, R. I., & Balasoiu, S. C.** (2010). Wireless Electrochemical Sensors: A Tool for Process Control Past, Present and the Future. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408347.2010.515450](http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408347.2010.515450), 40, 226–233.
- [62] **Kassal, P., Horak, E., Sigurnjak, M., Steinberg, M. D., & Steinberg, I. M.** (2018). Wireless and mobile optical chemical sensors and biosensors. *Reviews in Analytical Chemistry*, 37(4), 1–27.
- [63] **Tong, K., Slater, J., Cleary, J., McGraw, C. M., Yerazunis, W. S., Tong Lau, K., Diamond, D., & Slater, C.** (2007). Autonomous field-deployable device for the measurement of phosphate in natural water. [Https://Doi.Org/10.1117/12.733754](https://doi.org/10.1117/12.733754), 6755, 98–105.
- [64] **Nemiroski, A., Ryou, M., Thompson, C. C., & Westervelt, R. M.** (2015). Swallowable fluorometric capsule for wireless triage of gastrointestinal bleeding. *Lab on a Chip*, 15, 4479–4487.

- [65] **Caldara, M., Colleoni, C., Guido, E., Re, V., & Rosace, G.** (2016). Optical monitoring of sweat pH by a textile fabric wearable sensor based on covalently bonded litmus-3-glycidoxypolytrimethoxysilane coating. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 222, 213–220.
- [66] **Xie, J.-Y., Li, C.-Y., Li, Y.-F., Fei, J., Xu, F., Ou-Yang, J., & Liu, J.** (2016). Near-Infrared Fluorescent Probe with High Quantum Yield and Its Application in the Selective Detection of Glutathione in Living Cells and Tissues. *Analytical Chemistry*, 88, 9746–9752.
- [67] **Sheldrick, G. M.** (2007). A short history of SHELX. *Urn:Issn:0108-7673*, 64, 112–122.
- [68] **Sheldrick, G. M.** (2015). Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry*, 71, 3–8.
- [69] **Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K., & Puschmann, H.** (2009). OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program. *Journal of Applied Crystallography*, 42, 339–341.
- [70] **Suramitr, S., Teanwarawat, J., Ithiapa, N., Wattanathana, W., & Suramitr, A.** (2020). Crystal structure, Hirshfeld surface analysis and computational study of a rhodamine B salicylaldehyde Schiff base derivative. *Acta Crystallographica Section E: Crystallographic Communications*, 76, 1027–1032.
- [71] **Li, K., Wu, J., Lan, H., Wang, J., & Yuan, J.** (2022). Crystal structure of (4'E)-6'-(diethylamino)-2-[(E)-[(6-methylpyridin-2-yl)methylidene]amino]-4'-{2-[(2E)-1,3,3-trimethyl-2,3-dihydro-1H-indol-2-ylidene]ethylidene}-1',2,2',3,3',4'-hexahydrospiro[isindole-1,9'-xanthene]-3-one, C₄₄H₄₅N₅O₂. *Zeitschrift Fur Kristallographie - New Crystal Structures*, 237, 51–54.
- [72] **Tong, H. C., Wang, P. Y., Kuo, Y. L., Lin, C. H., & Lo, Y. H.** (2009). (Benzonitrile-N)chlorido[hydrido-tris(pyrazol-1-yl-N 2)borato](triphenyl-phosphine-P)ruthenium(II) ethanol solvate. Corrigendum: (Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online (2009) E65 (m438)). *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 65, e14.
- [73] **Cheng, X., Jia, H., Feng, J., Qin, J., & Li, Z.** (2013). “Reactive” probe for hydrogen sulfite: “Turn-on” fluorescent sensing and bioimaging application. *Journal of Materials Chemistry B*, 1, 4110–4114.
- [74] **Chao, J., Zhang, Y., Wang, H., Zhang, Y., Huo, F., Yin, C., Qin, L., & Wang, Y.** (2013). Fluorescent Red GK as a fluorescent probe for selective detection of bisulfite anions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 188, 200–206.
- [75] **Wang, W., Li, N., Liu, J. T., Miao, J. Y., Zhao, B. X., & Lin, Z. M.** (2020). A new FRET-based ratiometric fluorescent probe for the detection of SO₂ derivatives in mitochondria of living cells. *Dyes and Pigments*, 181, 108639.
- [76] **Tian, H., Qian, J., Sun, Q., Bai, H., & Zhang, W.** (2013). Colorimetric and ratiometric fluorescent detection of sulfite in water via cationic surfactant-promoted addition of sulfite to α,β -unsaturated ketone. *Analytica Chimica Acta*, 788, 165–170.

- [77] **Cheng, X., Jia, H., Feng, J., Qin, J., & Li, Z.** (2013). “reactive” probe for hydrogen sulfite: Good ratiometric response and bioimaging application. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 184, 274–280.





ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emre Özdemir

--

ÖĞRENİM DURUMU

- **LİSANS** : 2012-2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **YÜKSEK LİSANS** : 2019-2022, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

MESLEKİ DENEYİM

- İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümü – Stajyer (2 dönem)
- Medipol Üniversitesi REMER Araştırma Merkezi – Stajyer

YAYINLAR

- **Ozgur Yavuz, Mustafa Sezen, Yusuf Alcay, Mustafa Semih Yildirim, Hulya Aribuga, Emre Ozdemir, Utku Ertugral, Yilmaz Ozkilog, Nurcan Senyurt Tuzun, Ismail Yilmaz.** 2022. A new highly Selective, sensitive and NIR spectrophotometric probe based on A2B2-Type of unsymmetrical phthalocyanine for hazardous Be²⁺ recognition. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*

BİLDİRİLER

- 33. Ulusal Kimya Kongresi, 7-9 Ekim 2022, Rodamin-Siyanin Tabanlı Seçici ve Hassas Bisülfid Sensörünün Geliştirilmesi
- 33. Ulusal Kimya Kongresi, 7-9 Ekim 2022, Piren Modifiyeli Rodamin Siyanin Platformuna Sahip Yeni Sensör Bileşiminin Sentezi, Karakterizasyonu ve Sensör Çalışmaları
- 33. Ulusal Kimya Kongresi, 7-9 Ekim 2022, İndol Halkalı Rodamin-Siyanin Sensör Bileşiminin Sentez ve Karakterizasyonu