

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**PİREN MODİFİYELİ RODAMİN-SİYANİN PLATFORMUNA SAHİP, YENİ  
SENSÖR BİLEŞİĞİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE SENSÖR  
ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Utku ERTUĞRAL**

**Kimya Bölümü**

**Kimya Programı**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. İsmail YILMAZ**

**HAZİRAN 2022**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**PİREN MODİFİYELİ RODAMİN-SİYANİN PLATFORMUNA SAHİP, YENİ  
SENSÖR BİLEŞİĞİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE SENSÖR  
ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Utku ERTUĞRAL  
(509191260)**

**Kimya Bölümü**

**Kimya Programı**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. İsmail YILMAZ**

**HAZİRAN 2022**



İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509191260 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Utku ERTUĞRAL, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “PİREN MODİFİYELİ RODAMİN-SİYANİN PLATFORMUNA SAHİP, YENİ SENSÖR BİLEŞİĞİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE SENSÖR ÇALIŞMALARI” 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 : 22/06/2022**





*Aileme ve arkadaşlarıma,*



## ÖNSÖZ

Lisans eğitimimden, lisansüstü eğitimime kadar bilimsel bakış açısı ve hemen her konuda verdiği destek sayesinde hem akademik açıdan hem de bilimsel açıdan yoluma ışık tutan, sabırla ve çok büyük özveriyle çalışmalarımı çok yakından ilgilenip bana yol gösteren çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. İsmail YILMAZ'a,

Zorlu bir süreç de olsa eğitimim konusunda benden asla ümidini kesmeyen, eğitimime ve kendimi geliştirmeme destek olan, cesaretlendiren, ilham veren saygı değer annem Aynur ÖZBAŞ'a, kendi hayatından fedakarlıklar yapıp, asla karşılık beklemeden bana destek olan, motive eden biricik ablam Tuğçe ERTUĞRAL PERÇİNER'e,

Hem laboratuvar hem de hayatta çok büyük dersler öğrendiğim laboratuvar çalışma arkadaşlarım olan güzel insanlardan başta saygıdeğer abilerim Araş. Gör. Yusuf ALÇAY ve Araş. Gör. Özgür YAVUZ'a, bir iş değil aile sıcaklığında bilim yapabilme fırsatı sağlayan sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Mustafa Semih YILDIRIM, Dr. Öğr. Üyesi Seçil KIRLANGIÇ, Emre Özdemir, Dila ÇETİN, Mehmet KAPLAN olmak üzere tüm Yılmaz LAB ailesine,

Lisans eğitimimde tanıştığım, hemen her derste, konuda yardımına koşan, moral veren, motivasyon ve ilham kaynağım olan, beni bilime ve çalışmaya yönlendiren, çok değerli arkadaşım Hülya ARIBUĞA'ya

Hayatımda bana destek veren ve bugün olduğum kişi olmamda emeği olan tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler.

Haziran 2022

Utku ERTUĞRAL  
(Kimyager)



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖNSÖZ .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
KISALTMALAR .....	xi
SEMBOLLER .....	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET .....	xix
SUMMARY .....	xxi
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1 Floresans Spektroskopisi.....	3
2.1.1 Floresan bileşikleri ve örnekler.....	5
2.1.2 Floresan Kemosensörler.....	5
2.1.3 Floresan spektroskopisinin uygulamaları.....	6
2.2 Rodaminler.....	6
2.2.1 Rodaminlerin fotokimyasal özellikleri.....	8
2.2.2 Rodaminlerin elektronik yapısı ve spektral özellikleri .....	8
2.3 Siyaninler .....	9
2.3.1 Siyaninler ve Tarihçesi.....	9
2.3.2 Siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri .....	10
2.4 Kromenilyum Siyanin Tabanlı Yapılar.....	11
2.4.1 Kromenilyum siyaninler ve tarihçesi .....	11
2.4.2 Kromenilyum siyanin moleküllerinin elektronik ve spektral özellikleri ..	12
2.4.3 Kromenilyum siyanin tabanlı kemosensör çalışmaları .....	13
2.5 Cıva(II).....	14
2.5.1 Cıva(II) sensörleri .....	15
<b>3. DENEYSEL BÖLÜM.....</b>	<b>17</b>
3.1 Kimyasallar Ve Cihazlar .....	17
3.1.1 Kimyasallar .....	17
3.1.2 Cihazlar .....	17
3.2 Sentez Yöntemi .....	18
3.2.1 Kromenilyum-siyanin hidrazit molekülünün sentezi .....	18
3.2.2 Piren modifiyeli rodamin-siyanin tabanlı sensör platformunun sentezi ...	19
3.3 CS2P Karakterizasyonu .....	20
3.3.1 Tek kristal X-ışını kırınımı yöntemi .....	20
3.4 Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlama Çalışmalar .....	24
3.4.1 Spektrofotometrik ölçüm yöntemleri .....	25
3.4.2 CS2P molekülünün farklı pH çözeltilerindeki davranışı .....	25
3.4.3 Metal bağlanma çalışması ve CS2P ligandının Hg <sup>2+</sup> seçiciliği.....	26
3.5 CS2P-Hg <sup>2+</sup> Bağlanmasının Spektrofotometrik ve Spektrofluorometrik Yöntemle Titrasyon Çalışmaları .....	28
3.5.1 Spektrofotometrik titrasyon çalışması .....	28

3.5.2 Spektroflorometrik titrasyon çalışması .....	29
3.6 CS2P Molekülü İle Hg <sup>2+</sup> Tayininin Diğer Metal Katyonları Tarafından Girişimi Çalışması.....	29
3.6.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması .....	29
3.6.2 Spektroflorometrik yöntemle girişim çalışması .....	30
3.7 CS2P Ligandının Hg <sup>2+</sup> için Tespit Limitinin (LOD) ve K <sub>a</sub> Bağlanma Sabitinin Hesaplanması.....	31
3.8 CS2P Sensörünün Hg <sup>2+</sup> Tespiti için Gereken Tepki Süresinin Belirlenmesi.....	32
<b>4. SONUÇ VE YORUMLAR .....</b>	<b>33</b>
4.1 CS2P molekülünün sentezi.....	33
4.2 CS2P Molekülünün Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlanma Çalışmaları ....	35
4.2.1 Spektrofotometrik yöntemle katyon bağlanması çalışması.....	35
4.2.2 Spektroflorometrik yöntemle katyon bağlanma çalışması .....	36
4.2.3 CS2P molekülüne Hg <sup>2+</sup> bağlanmasının çözelti rengine etkisi .....	37
4.2.4 Hg <sup>2+</sup> seçiciliği ve CS2P molekülü ile tepki mekanizması.....	38
4.2.5 CS2P ve Hg <sup>2+</sup> iyonları etkileşiminin spektrofotometrik titrasyon çalışması .....	38
4.2.6 CS2P ve Hg <sup>2+</sup> iyonları etkileşiminin spektroflorometrik titrasyon çalışması .....	39
4.2.7 Tespit Limiti ve K <sub>a</sub> Bağlanma Sabitinin Belirlenmesi.....	40
4.2.8 CS2P molekülü ile Hg <sup>2+</sup> tespitinde diğer metal iyonları nedeniyle oluşan girişiminin incelenmesi.....	41
4.2.8.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması .....	41
4.2.8.2 Spektroflorometrik yöntemle girişim çalışması .....	42
4.3 CS2P Sensör Platformunun Gerçek Örnek Çalışması.....	43
4.3.1 İçme suyunda Hg <sup>2+</sup> analizi .....	43
4.4 Sonuç ve Tartışma .....	44
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>45</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>49</b>

## KISALTMALAR

<b>FT-IR</b>	: Fourier-Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopi
<b>NMR</b>	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopi
<b>UV-Gör</b>	: Ultraviyole Görünür Işık Spektroskopisi
<b>DCM</b>	: Diklorometan
<b>DMF</b>	: Dimetilformamid
<b>EtOH</b>	: Etanol
<b>RSD</b>	: Bağlı Standart Sapma
<b>HOMO</b>	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital
<b>LUMO</b>	: En Düşük Boş Moleküler Orbital
<b>MALDI-TOF</b>	: Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
<b>LOD</b>	: Tespit Limiti
<b>XRD</b>	: X-Işını Kırınım Yöntemi
<b>CS2P</b>	: (E)-6'-(diethylamino)-2-(((E)-piperidin-1-iletinden)amino)-4'-(2-((Z)- 1,3,3-trimetilindolin-2-iletinden)etiliden)-1',2',3',4'- tetrahidrospiro[isindolin-1,9'-ksanten]-3-on



## SEMBOLLER

<b>°C</b>	: Santigrat derece
<b>g</b>	: Gram
<b>mg</b>	: Miligram
<b>m<sup>3</sup></b>	: Metre küp
<b>L</b>	: Litre
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>µL</b>	: Mikrolitre
<b>M</b>	: Molar
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>nM</b>	: Nanomolar
<b>mmol</b>	: Milimol
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>a.u.</b>	: Atomik birim
<b>s</b>	: Saniye
<b>dk</b>	: Dakika
<b>ppm</b>	: Milyonda bir



## ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 3.1</b> : CS <sub>2</sub> P molekülü için kristalografik ve yapısal veriler. ....	21
<b>Çizelge 3.2</b> : CS <sub>2</sub> P bileşiğine ait bağ uzunlukları (Å) .....	22
<b>Çizelge 3.3</b> : CS <sub>2</sub> P bileşiğine ait bağ açıları (°) .....	23
<b>Çizelge 4.1</b> : CS <sub>2</sub> P molekülünün içme suyundaki Hg <sup>2+</sup> iyonlarının tespit çalışması.....	44



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1 : Perrin-Jablonski diyagramının şematik gösterimi.....	4
Şekil 2.2 : Yaygın olarak bilinen floresan moleküllerinin iskelet yapıları.....	5
Şekil 2.3 : İlk rodamin türevinin sentez şeması.....	7
Şekil 2.4 : Rodamin genel yapısı.....	7
Şekil 2.5 : Yaygın olarak bilinen rodamin türleri.....	8
Şekil 2.6 : Rodamin 101 ve Rodamin B'nin asidik ve bazik koşullardaki farklı moleküler dönüşümleri. ....	9
Şekil 2.7 : İlk kez sentezlenen siyanin molekülünün konjuge yapıları. ....	9
Şekil 2.8 : Siyaninlerin genel iskelet yapıları.....	10
Şekil 2.9 : Siyanin Türevleri.....	10
Şekil 2.10 : CS moleküllerinin farklı absorpsiyon ve emisyon değerlerine sahip türevleri. ....	11
Şekil 2.11 : Bazı kromenilyum-siyanin türevi moleküller ve bu moleküllerin spektral özellikleri. ....	12
Şekil 2.12 : Bu çalışmada tasarlanan kromenilyum-siyanin tabanlı sensörler. ....	13
Şekil 2.13 : Sentezlenen kromenilyum-siyanin tabanlı sensörlerin mekanizması. ....	13
Şekil 2.14 : Lin Yuan ve ekibinin yaptığı bir çalışmasındaki CC35 sensör platformu. .	14
Şekil 2.15 : John ve ekibinin 2018 yılında sentezlediği sensörün mekanizması.....	15
Şekil 2.16 : John ve ekibinin 2018 yılında sentezlediği sensörün Hg <sup>2+</sup> iyonuna seçiciliği. ....	16
Şekil 2.17 : Cheng Yao ve ekibinin 2013 yılında sentezlediği sensörün mekanizması. 16	
Şekil 3.1 : CS2P molekülünün sentez şeması.....	19
Şekil 3.2 : CS2P molekülünün atom numaralandırmasıyla gösteren moleküler çizim (Hidrojen atomları daha net görünüm için dahil edilmemiştir). ....	20
Şekil 3.3 : CS2P molekülündeki pi-pi etkileşimi gösteren moleküler çizim.....	20
Şekil 3.4 : a) Ligand CS2P'nin farklı pH ortamlarında 723 nm'de sahip olduğu absorpsiyon değerleri (siyah noktalar) b) Ligand CS2P'nin farklı pH ortamlarında 750 nm'de sahip olduğu floresan şiddetleri (siyah noktalar). Uyarma dalga boyu: 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm / 10nm. Kırmızı çizgiler hata barlarını temsil etmektedir. ....	26
Şekil 3.5 : CS2P ligandının ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda UV-Gör spektrumu. ....	26
Şekil 3.6 : CS2P ligandının ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda elde edilen floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu: 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm /10 nm.....	27
Şekil 3.7 : CS2P ligandının (1 × 10 <sup>-5</sup> M) artan Hg <sup>2+</sup> konsantrasyonlarıyla (5-350 µM) yapılan spektrofotometrik titrasyonunun UV-Gör spektrumu.....	28
Şekil 3.8 : CS2P ligandının (1 × 10 <sup>-5</sup> M) artan Hg <sup>2+</sup> konsantrasyonlarıyla (5-165 µM) yapılan spektrofotometrik titrasyon çalışmasının floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu = 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm / 10 nm. ....	29

<b>Şekil 3.9 :</b> Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$ M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine $Hg^{2+}$ eklenmesi sonucunda sahip olduğu UV-Gör spektral davranışı. ....	30
<b>Şekil 3.10 :</b> Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$ M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine $Hg^{2+}$ eklenmesi sonucunda sahip olduğu floresan spektral davranışı. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm / 10 nm. ....	31
<b>Şekil 3.11 :</b> Ligand CS2P ( $1 \times 10^{-5}$ M) çözeltisine 5 eşdeğer kat $Hg^{2+}$ eklenmesi sonucunda zamana bağlı oluşan floresan şiddetlerinin noktasal grafiği. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm / 10 nm. ....	32
<b>Şekil 4.1 :</b> CS2P bileşiğinin $^1H$ -NMR spektrumu (d-kloroform).....	34
<b>Şekil 4.2 :</b> CS2P molekülüne ait FT-IR spektrumu. ....	34
<b>Şekil 4.3 :</b> CS2P molekülünün MALDI-TOF kütle spektrumu. ....	35
<b>Şekil 4.4 :</b> DMF çözücüsü içerisinde CS2P sensör bileşiğinin 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda UV-Gör spektrumu. Bar grafikleri 723 nm'deki absorptans değerlerine aittir. ....	36
<b>Şekil 4.5 :</b> DMF çözücüsü içerisinde CS2P sensör bileşiğinin 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda UV-Gör spektrumu. Bar grafikleri 750 nm'deki absorptans değerlerine aittir. Uyarma dalga boyu:650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm / 10nm. ....	37
<b>Şekil 4.6 :</b> CS2P molekülünün DMF çözeltisine 5 kat metal iyonları eklenmesi sonucu çözeltilerin sahip olduğu renkler. ....	37
<b>Şekil 4.7 :</b> DMF çözeltisinde CS2P – $Hg^{2+}$ iyonlarının Job's grafiği.....	38
<b>Şekil 4.8 :</b> CS2P sensör bileşiğinin DMF çözücüsünde $Hg^{2+}$ ile titrasyonu sonucunda elde edilen UV-Gör noktasal verileri (Noktasal veriler 723 nm'de alınmıştır). ....	39
<b>Şekil 4.9 :</b> CS2P ligandının ( $1 \times 10^{-5}$ M) artan $Hg^{2+}$ konsantrasyonlarıyla (5-165 $\mu M$ ) yapılan spektrofotometrik titrasyon çalışmasının floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm /10 nm. ....	40
<b>Şekil 4.10 :</b> $K_a$ Bağlanma Sabitinin Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak hesaplanması. ....	41
<b>Şekil 4.11 :</b> Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$ M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine $Hg^{2+}$ eklenmesi sonucunda sahip olduğu 723 nm dalga boyundaki maksimum absorptans değerlerine ait UV-Gör bar grafiği. ....	42
<b>Şekil 4.12 :</b> Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$ M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine $Hg^{2+}$ eklenmesi sonucunda sahip olduğu 750 nm dalga boyundaki maksimum floresan şiddetlerinin bar grafiği. Uyarma dalga boyu = 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm / 10 nm.....	43

# **PİREN MODİFİYELİ RODAMİN-SİYANİN PLATFORMUNA SAHİP, YENİ SENSÖR BİLEŞİĞİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE SENSÖR ÇALIŞMALARI**

## **ÖZET**

1905 yılında sentezlendiğinden bu zamana rodamin bileşiği, ksanten grupları üzerinden ve benzene bağlı fonksiyonel gruplar üzerinden birçok farklı türevleri elde edilebildiğinden ve bu türevlerin her biri farklı özelliklere sahip olduğundan, floresan kemosensör, biyo-işaretleyici ve benzeri pek çok alanda ilgi görmüştür.

Rodamin türevleri genel olarak yüksek kuantum verimi, yüksek absorpsiyon katsayısı, uzun uyarma ve emisyon dalga boyları ve büyük sönmeme katsayısına sahiptir. Dolayısıyla, son yıllardaki araştırmalarda rodamin moleküllerinin fotofiziksel ve fotokimyasal avantajlarının üzerine durulmakta, bu avantajları gerçek örnekler üzerinde uygulama girişimlerine dönüştürülmektedir. Rodaminlerin genel sensör mekanizması, spiroolaktam halkası üzerinden çalışmaktadır. Spirolaktam halkası, sensörün hassas olduğu analit konsantrasyonunun artmasıyla birlikte açık konuma gelir bu değişim sonucu molekülde konjugasyon daha geniş bir alana yayılır ve sonuç olarak görünür bölgede güçlü bir absorpsiyon ve emisyon şiddeti oluşur. Ek olarak rodaminlerdeki bu spiroolaktam halkasının açık-kapalı konum arasında geçiş yapabilme kapasitesi sayesinde, rodamin bileşikleri tekrar kullanılabilirlik açısından birçok kemosensöre göre daha avantajlıdır.

Rodaminler, siyanin gibi başka moleküllerle modifiye edilerek yakın kızılötesi bölgede çalışabilen kemosensörler haline getirilebilirler. Bu bölgede çalışan bir sensör geliştirebilmek iki açıdan çok önemlidir. Birincisi bu bölgede çalışma yaparken hücre içi analizlerde hücreye verilen zarar en aza indirilir. İkincisi ise bu bölgede otofloresan şiddeti veya cihaz gürültüsü gibi istenmeyen şiddetler daha az olduğundan çok daha hassas ölçümler yapılabilir.

Cıva, çok düşük miktarlarda bile hayati risklere sebep olabilen, doğada var olan zehirli bir ağır metaldir. Canlılarda merkezi sinir sistemi başta olmak üzere birçok organda ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Çok az miktarlarda bile cıvaya maruz kalan bir insan kısa zamanda merkezi sinir sistemi hastalıkları ve salgı bozuklukları gibi semptomlar göstermeye başlar. Bunlara ek olarak kardiyak aritmiler ve böbrek hastalıkları da cıva zehirlenmesinin bir başka belirtisi olabilmektedir.

Cıvanın vücutta parçalanmaması ve vücuttan uzaklaştırılmaması onu daha da tehlikeli bir metal yapmaktadır. Temizlenemediği için bir birikim sürecine girer ve bu biyobirikim sonucunda cıvanın merkezi sinir sisteminin üzerindeki etkileri artarak nörotoksik sonuçlar doğurur.

Cıvanın tehlikeleri bütün dünya tarafından kabul edilmiştir ve ABD Çevre Koruma Ajansı'na göre (EPA), vücut ağırlığından yola çıkılarak, günlük olarak maruz kalınan cıva miktarı kilogram başına 0,1 µg miktarını aşılması durumunda, vücutta biriken cıva artık ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir.

Tüm bu nedenlerle cıva miktarının doğru ve hızlı bir şekilde tayin edilmesi çok önemlidir. Günümüzde bilinen yöntemler arasında cıva tayini için AAS ve ICP-MS gibi analitik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler pahalı cihaz ve ekipman gerektirmesi, karmaşık hazırlık süreci gerektirmesi, kalifiye-uzman eleman gerektirmesi bakımından dezavantajlıdır. Bu yöntemlere alternatif olarak florometrik ölçüm sağlayabilen kemosensörler, hem kullanım kolaylığı hem gerçek zamanlı analiz yapabilme yetenekleri başta olmak üzere, hassas, seçici, pahalı ekipman gerektirmeme, basit ve kolay hazırlık aşamalarına sahip olma gibi avantajlarından dolayı son zamanlarda daha çok ilgi görmektedirler.

Bu bağlamda, bu tez çalışmasında hem UV-Gör hem de floresan teknikleriyle  $Hg^{2+}$  analizi gerçekleştirebilen, piren ile modifiye edilmiş, kromenilyum-siyanin tabanlı bir yakın kızıl ötesi bölgede ölçüm yapabilme özelliğine sahip sensör platformu (CS2P) sentezlenmiştir. Sentezlenen bu sensör bileşiğin karakterizasyonu X-Işını Kristallografisi, NMR, IR ve MALDI-TOF gibi yöntemlerle yapılarak, sensörün yapısı net bir biçimde aydınlatılmıştır. Çalışma koşullarında sensör DMF çözücüsü ile çözülerek çalışılmıştır. Normalde uçuk sarı renge sahip olan bu sensör çözeltisi  $Hg^{2+}$  iyonu varlığında koyu yeşile dönerek hem kolorimetrik hem de bu dönüşüm sonucunda 750 nm'de şiddetli bir floresan emisyonu ve UV-Gör spektrumunda 723 nm'de yeni bir bant oluşumu görülmektedir.

$Hg^{2+}$  iyonuna seçici ve hassas olan sensörün titrasyon çalışmaları yapılmıştır ve bu veriler ışığında tespit limiti UV-Gör ve floresan titrasyon ölçümleri için sırasıyla  $2,09 \times 10^{-8}$  M ve  $1,27 \times 10^{-8}$  M olarak bulunmuştur. Bağlanma sabiti ( $K_a$ ) değeri, UV-Gör titrasyon verileri üzerinden hesaplanmış ve  $1,39 \times 10^4 M^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Tasarlanan CS2P kemosensörünün,  $Hg^{2+}$  iyonunu tayin etme süresi ise florometrik olarak incelenmiş olup 10 saniye gibi çok kısa bir sürede analite yanıt verebildiği belirlenmiştir. Daha sonra sensör ile  $Hg^{2+}$  analizi yapılmasının diğer metal iyonları tarafından girişime uğrayıp uğramadığı incelenmiş ve çinko ve demir(II) katyonları hariç hiçbir metalin belirgin bir girişim göstermediği görülmüştür. Buna ek olarak, içme suyu örneklerinde  $Hg^{2+}$  tespit potansiyeline sahip bir sensör olduğu UV-Gör ve florometrik çalışmaları ile ortaya konulmuştur. Böylelikle, piren modifiyeli rodamin-siyanin tabanlı, UV-Gör ve floresan olmak üzere çift kanallı analiz yapabilen,  $Hg^{2+}$  iyonuna seçici ve hassas bir kemosensör literatüre kazandırılmıştır.

# **SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND SENSOR STUDIES OF THE NEW SENSOR COMPOUND WITH THE PYRENE MODIFIED RHODAMINE- CYANINE PLATFORM**

## **SUMMARY**

The reaction of phthalic anhydride and m-aminophenol in the presence of a Lewis acid produced the first rhodamine compound in 1905. Since then, rhodamine compounds have been widely used in many fields such as chemosensors, biomarkers, etc.

Rhodamine molecules have significant photophysical and photochemical advantages, which is making rhodamines an important subject of research in many areas, in the recent years.

Rhodamines have high fluorescence quantum efficiency, long excitation and emission wavelengths, high absorption coefficient, and large extinction coefficient. Therefore, rhodamines are studied mainly in the chemosensor field.

As rhodamine compounds can be modified both on the xanthene groups and on the benzene groups, there are many different rhodamine derivatives have been reported in the literature. Every new design has its own unique properties.

With the pH of the environment or the addition of the analyte, the spirolactam ring on the molecule opens, causing it to shine brightly in the visible region. Furthermore, the spirolactam ring's propensity to be easily reclosable indicates that they are appropriate compounds for research requiring reusability.

Rhodamine compounds can be derivated by cyanines to shift their absorbance and emission values closer to the near infrared region. The reason for that is near infrared chemosensors can be used in biological studies because reduce the risk of damaging the cell in this wavelength. Also, for a better and more sensitive imaging in the cell can be done with near infrared chemosensors since the device background noise is very low in the near infrared region.

Mercury is an incredibly toxic heavy metal in nature that can cause life-threatening risks even in very low amounts. It can cause serious problems in many organs, especially in the central nervous system. A person exposed to even small amounts of mercury soon begins to show symptoms such as central nervous system diseases and secretion disorders. In addition, cardiac arrhythmias and kidney diseases can be another symptoms of mercury poisoning.

The fact that mercury is not broken down and removed from the body makes it an even more dangerous metal. Since it cannot be cleaned, it enters a process of accumulation, and as a result of this bioaccumulation, the effects of mercury on the central nervous system increase, resulting in neurotoxic consequences.

The dangers of mercury have been recognized by the whole world, and according to the US Environmental Protection Agency (EPA), if the daily exposure to mercury, based on body weight, exceeds 0,1  $\mu\text{g}$  per kilogram, the mercury accumulated in the body can now lead to fatal results.

For all these reasons, it is very important to determine the amount of mercury accurately and quickly. Among the known methods today, analytical methods such as AAS and ICP-

MS are used for the determination of mercury. However, these methods are disadvantageous in that they require expensive devices and equipment, require complex preparation processes, and require qualified-expert personnel. As an alternative to these methods, chemosensors that can provide fluorometric measurements have recently attracted more attention due to their advantages such as being sensitive, selective, not requiring expensive equipment, and having simple and easy preparation steps, especially their ease of use and their ability to perform real-time analysis.

In this thesis, a pyrene-modified, chromenylium-cyanine-based sensor platform (CS2P) capable of performing  $\text{Hg}^{2+}$  analysis with both UV-Vis and fluorescence techniques has been synthesized. The characterization of this synthesized sensor compound was performed with some methods such as X-Ray Crystallography, NMR, IR and MALDI-TOF, and the structure of the sensor was clearly elucidated. The sensor was studied by dissolving it with a DMF solvent. This sensor solution, which normally has a pale yellow color, turns dark green in the presence of  $\text{Hg}^{2+}$  ion, and as a result of this conversion, a strong fluorescent emission at 750 nm and a new band formation at 723 nm in the UV-Vis spectrum are observed.

Titration studies of the sensor, which is selective and sensitive to  $\text{Hg}^{2+}$  ion, were carried out, and in the light of these data, the detection limit was found to be  $2,09 \times 10^{-8}$  M and  $1,27 \times 10^{-8}$  M for UV-Visible and fluorescence titration measurements, respectively. Response time of the CS2P chemosensor for  $\text{Hg}^{2+}$  is found as short as 10 seconds by fluorometric experiments. After that, the interference of other metal ions are investigated by both UV-Vis and fuorometric studies, it was observed that zing and iron(II) showed an interference with  $\text{Hg}^{2+}$ . In addition, the CS2P compound is tested to analyze  $\text{Hg}^{2+}$  ions in drinking water samples, and it was observed that CS2P can successfully analyze  $\text{Hg}^{2+}$  ions in real samples such as drinking water. Thus, a selective and sensitive  $\text{Hg}^{2+}$  chemosensor, which is pyrene modified rhodamine-cyanine-based, able to perform dual-channel analysis by UV-Vis and fluorescence techniques, has been added to the literature.





## 1. GİRİŞ

Cıva, yeryüzünde doğal olarak var olan, çok düşük miktarlarda bile son derece zehirli olan bir ağır metaldir. Yüksek miktarlarda cıvaya maruz kalmak merkezi sinir sistemi hastalıkları başta olmak üzere birçok hastalığa sebep olmaktadır. Cıva maruziyeti, merkezi sinir sistemi anormallikleri ve salgı bozukluklarının yanı sıra kardiyak aritmiler, kardiyomiopati ve böbrek hasarı gibi hastalıklar ile de ilişkilendirilmiştir [1]. Vücutta parçalanması ve vücuttan uzaklaştırılması çok zor olduğu için başa çıkılması çok zor bir zehirleyici metaldir. Bu nedenle, cıvaya maruz kalan canlılar bir toksik biyobirikim sürecine girerler, bu birikim sonucunda miktarına bağlı olarak cıvanın özellikle nörotoksik etkisi artar. Bu ölümcül etkileri dolayısıyla cıva küresel bir sorun haline gelmiştir ve ABD Çevre Koruma Ajansı'na göre (EPA), vücut ağırlığından yola çıkılarak, günlük olarak maruz kalınan cıva miktarı kilogram başına 0,1 µg miktarını aşılması durumunda ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir. Bu nedenle cıvanın miktarının doğru ve hızlı bir şekilde tayin edilmesi çok önemlidir. Günümüze dek, Hg<sup>2+</sup> iyonunu tespit etmek için voltametri [2], atomik absorpsiyon spektrometri [3], yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, indüktif eşleşmiş plazma spektroskopisi ve kütle spektroskopisi [4] gibi çeşitli analitik yöntemler kullanılmıştır. Ancak bu yöntemler gerek pahalılık gerek karmaşık ve uzun süren hazırlık aşamaları sebebiyle geliştirilmelidirler. Dolayısıyla bu yöntemlerin yerine daha kolay daha basit yöntemler getirmek amacıyla kolorimetrik ve florometrik ölçüm sağlayabilen kemosensörler geliştirilmiştir. Kemosensörlerin diğer yöntemlere göre avantajları; daha yüksek duyarlılığa sahip sonuçlar, gerçek zamanlı tespit imkanı, düşük maliyet, kısa hazırlık aşamaları, yöntem kolaylığı dolayısıyla uzman kişiler gerektirmemesi, cihaz bakımı vb. problemler gerektirmemesidir. Kemosensörler günümüzde yoğun olarak anyon, katyon veya aminoasitler gibi moleküllerin tespitinde kullanılmaktadır. Bu kemosensörlere örnek olarak rodaminler, ftalosiyaninler, taç eterler, siyaninler vb. bir çok molekül verilebilir [5]. Rodamin tabanlı sensörlerdeki mekanizma spiro-laktam halkasına dayanmaktadır. Ortama ilave edilen analit, halka yapısının açılmasına neden olur. Analit varlığında molekül içi konjugasyonu engelleyen bağ açılarak konjugasyon halkaya yayılır ve tüm molekül konjugasyona sahip olur. Normal

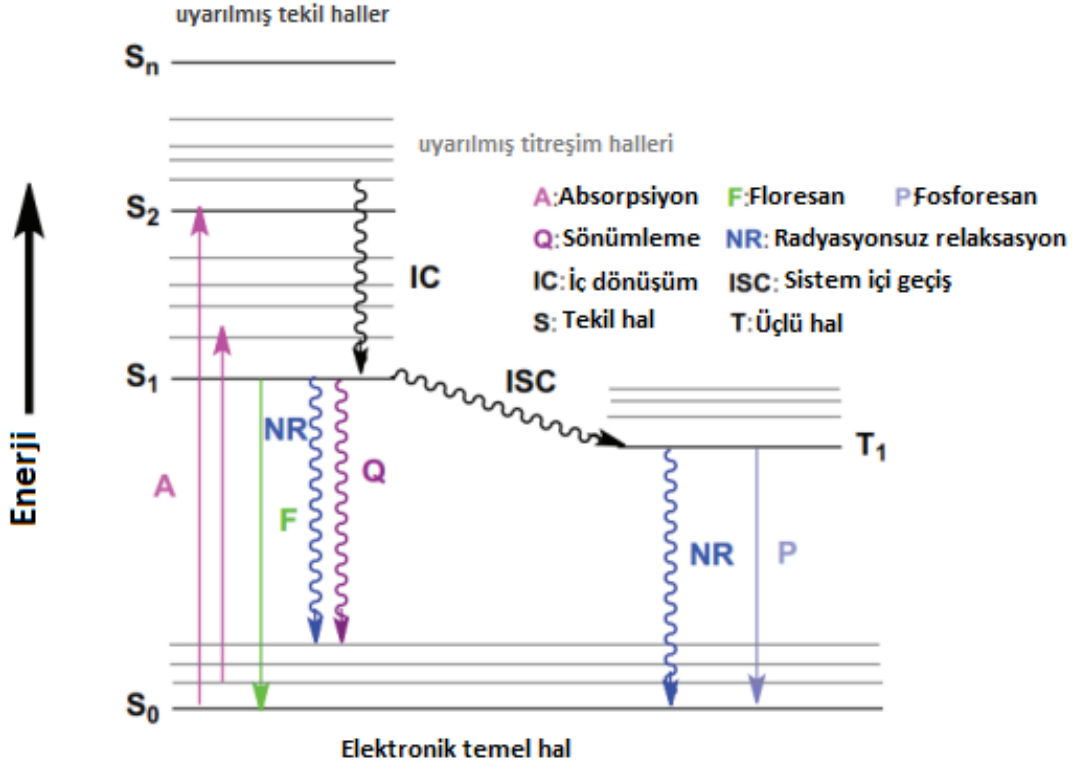
koşullarda rodamin türevlerindeki bu halka açılımı sadece pH 1 ve 2 gibi şiddetli asidik koşullarda gözlemlenmektedir. Rodamin sensörleri, bazik veya nötr ortamda spirolaktam halkası kapalı halde olduğundan konjugasyon tüm moleküle yayılmamış durumda bulunmaktadır. Analit varlığında yeniden düzenlenen bu  $\pi$  bağlarının UV-Gör ve floresan yöntemleriyle tespit edilmesi sonucunda molekülün “turn-on” özelliği olduğu görülür. 550-650 nm arası kuvvetli bir absorpsiyon ve emisyon artışı gözlemlenir [6,7]. Çeşitli türevlendirmeler ile bu dalga boyu daha da yakın kızıl ötesi bölgeye (NIR) taşınabilmektedir. Siyanin grubu gibi dalga boyunda batokromik etki yapan gruplar ile türevlendirilen rodamin bileşiklerinin absorpsiyon ve emisyon şiddetleri daha da yakın bölgeye ilerler. Son zamanlarda çok fazla ilgi çeken bu rodamin-siyanin türevlendirilmeleri bir diğer adıyla kromenilyum-siyanin sensör platformu, sahip olduğu uzun absorpsiyon ve emisyon dalga boyu sayesinde literatürdeki en uzun absorpsiyon ve emisyonu sahip sensörler arasında yerini almaktadır [8]. Bu çalışmada kromenilyum-siyanin platformuna ek olarak piren molekülü ile türevlendirme yapılarak, absorpsiyon ve emisyon dalga boyları sırasıyla, 720-750 nm civarına kadar çıkartılabilmemiş bir kemosensör tasarlanmıştır. Bu dalga boyunun yakın kızılötesi bölgeye yakın olması, çalışılan ligandın hücre dokusuna zarar vermeden hücre içi analit tespiti imkanı doğurmaktadır. Bu türevlendirmeler sonucu yakın kızılötesi bölgeye yaklaşmanın iki temel sebebi vardır. Birincisi, biyolojik sistemlerde doku hasarını minimize ederek hücre içi analit tespiti imkanı sağlamaktır. Hücre içerisinde gönderilen ışığın dalgaboyu uzadıkça bu ışık dokulara daha az zarar vermeye başlar. Bu sayede daha sağlıklı bir analit tespiti imkanı sağlanmış olur. İkincisi ise yine biyolojik ortamdaki biyomoleküllerin kendi sahip olduğu arkaplan oto-floresan şiddetlerinin yakın kızılötesi bölgesinde çok daha az olduğu için yapılan analit tespitinin daha doğru sonuç vermesidir. Bu sayede yapılan ölçümler daha hassas, daha doğru ve daha güvenilir olmaktadır [9–11]. Tüm bu bilgiler ışığında kromenilyum-siyanin tabanlı kemosensörler hem sağlıklı hem de hassas bir sensör platformu olma potansiyeli taşımaktadır. Bu çalışmadaki amaç  $Hg^{2+}$  tayini için yeni bir rodamin-siyanin tabanlı florometrik ve kolorimetrik sensör geliştirerek, tayin için uygulanan diğer yöntemlerde karşılaşılan kritik eksikliklere bir çözüm sağlamaktır. Tasarladığımız bu sensör DMF çözücü ortamında,  $Hg^{2+}$  iyonuna seçici ve hassas olan sensörün titrasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucu elde edilen veriler varlığında tespit limiti UV-Gör ve floresan titrasyon ölçümleri için sırasıyla  $2,09 \times 10^{-8}$  M ve  $1,27 \times 10^{-8}$  M olarak bulunmuştur.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Floresans Spektroskopisi

Floresans bir tür lüminesanstır. Kısa dalga boyundaki bir ışık bir atom veya bir molekül tarafından emilerek, farklı ve daha uzun bir dalga boyundaki ışık emisyon yapmasına fotolüminesans denir. Fotolüminesans, yapısına göre floresan ve fosforesan olarak ikiye ayrılır. Floresanın ilk gözlemleri 16. yüzyılın ortalarında Fransa'da Bernardino de Sahagun ve İspanya'da Nicolas Monardes tarafından rapor edilmiştir [12]. 19. yüzyılın ortalarında, ünlü fizikçi ve matematik profesörü George Gabriel Stokes, floresan araştırmaları açısından önemli ilerlemeler kaydetmiştir. 1852 yılında "On the Change of the Refrangibility of Light" (Işığın Kırılabilirliği Üzerine) adlı ünlü yayınından, dağınık yansıma adını verdiği evrensel bir kavramı belirgin bir şekilde açıklamıştır. Bu yayında, dağılan ışığın dalga boyu, orijinal uyarma radyasyonunun dalga boyuna kıyasla genellikle daha uzun olduğunu anlatmıştır. Bu olaya daha sonra Stokes Shift, Stokes kayması adı verilmiştir [13].

Bir atomun ya da molekülün belirlenen bir dalga boyundaki bir ışığı emdiği (uyarma) ve bu emdiği ışığı daha uzun bir dalga boyunda bir ışık olarak geri yayması sürecine fotolüminesans denir. Fotolüminesans sürecinde maddenin ısısı değişmez, sadece ışınım gerçekleşir. Bu duruma bilimde soğuk ışık ya da soğuk ışımaya olarak da bilinmektedir. Absorplanan ışığın sebep olduğu enerji dışarı atılmak üzere molekülde hızlı hal geçişleri meydana gelir. Bu enerji molekülden iki farklı şekilde dışarı atılır. Enerjiyi dışarı atış yönüne göre fotolüminesans, enerjinin dönüş yoluna göre floresan ve fosforesan olmak üzere iki sınıfa ayrılabiliriz bunlar floresan ve fosforesandır. Her iki süreç de saniyenin milyarda birinden daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Günümüzde, floresan ve fosforesan mekanizmasını net bir şekilde gösteren yaklaşım Polonya'lı fizikçi Aleksander Jablonski'ye aittir [14]. Şekil 2.1'de görüldüğü gibi Perrin-Jablonski diyagramı, fotolüminesans ve moleküler enerji durumları arasındaki ilişkiyi temiz bir biçimde aydınlatmaktadır. Perrin-Jablonski diyagramında yer alan  $S_0$  temel enerji seviyesini,  $S_1$ ,  $S_2$  ve  $T_1$  ise uyarılmış halleri temsil etmektedir.



Şekil 2.1 : Perrin-Jablonski diyagramının şematik gösterimi.

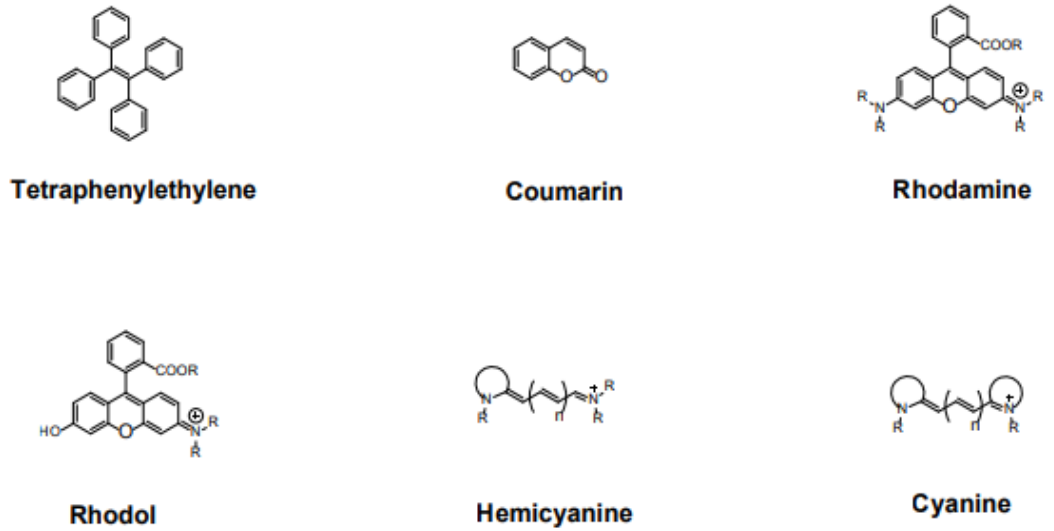
Belirli bir enerjiye sahip foton absorblanarak ilk geçişi elektronik geçiş gerçekleşir. Absorpsiyon sürecinde bir elektron, düşük bir enerji seviyesinden daha yüksek enerjili bir seviyeye uyarılır. Belirli bir enerjiye sahip olan ışığın molekül tarafından absorplanmasının ardından, moleküldeki uyarılan elektronlar  $S_1$  ve  $S_2$  gibi uyarılmış seviyelere geçiş yapar. Absorplanan enerji sebebiyle moleküller temel halden uyarılmış hale geçiş yapar. Bir molekülün  $S_1$  haline uyarılması genellikle bir elektronun HOMO'dan (en yüksek dolu moleküler orbital) LUMO'ya (en düşük boş moleküler orbital) geçmesiyle çok hızlı bir şekilde meydana gelir. Daha sonra molekül, iç dönüşüm adı verilen ve uyarılmış elektronik durumdan daha düşük enerjili titreşim seviyesine doğru hızlı bir dönüşüm gerçekleştirerek gevşemeye uğrar. Bu gevşeme de floresan biçiminde radyasyonel emisyon üretir. Florofor molekülündeki elektronun tekli elektronik uyarılmış ( $S_1$ ) halden, temel durum seviyesine ( $S_0$ ) izinli geçiş yapması ile meydana gelir.

Ayrıca, Jablonski diyagramından, floresan emisyon dalga boyunun her zaman radyasyon absorpsiyon dalga boyundan daha uzun olduğu sonucuna varabiliriz, çünkü çoğu durumda floresansın enerjisi her zaman uyarma radyasyonunununkinden daha azdır.

### 2.1.1 Floresan bileşikleri ve örnekler

Floresansın pratik uygulamaları 19. yüzyılın ortalarına kadar uzanmaktadır. 1857 yılında Edmond Becquerel, floresan tüpün kullanımına yol açacak ilk öneri olan elektrik deşarj tüpünün iç yüzeyini bir floresan malzeme ile kaplama konseptini dile getirdi. 1868 yılında, floresan analizi ilk olarak Göppel Schröder tarafından rapor edildi: Morin ile  $Al^{3+}$  arasında bir kompleksleşme oluşturularak moleküldeki floresan şiddetinin yoğunluğunda önemli bir artış gözlenmiştir. Bu sayede alüminyum iyonlarının tespiti için yeni bir yöntem geliştirilmiştir [15]. Floresan kimyasal sensörlerin yüksek hassasiyeti, geniş konsantrasyonlarda tespit yapabilmesi, doğru ve hassas ölçüm imkanı mümkün kılan özellikleri floresan kimyasal sensörleri giderek daha da yaygınlaşan bir teknoloji haline getirmeye başlamıştır [16].

Floresan parametrelerinin farklı özelliklerine sahip floresan kimyasal bileşikler olan floroforlar, floresan algılama ve etiketlemede çok önemli bir rol oynamaktadır. Şekil 2.2'de yaygın olarak bilinen floresan moleküllerinin iskelet yapıları verilmiştir.



Şekil 2.2 : Yaygın olarak bilinen floresan moleküllerinin iskelet yapıları.

### 2.1.2 Floresan Kemosensörler

Sensör kısaca ortamdaki ısı, ışık, hareket veya diğer bir çevresel bilgi değişikliklerini algılayıp bu değişikliklere karşı elde edilen verilerden bir yanıt oluşturan cihazdır. Bu yanıt bilgileri bir bilgisayar vasıtasıyla çıktı olarak insanlar tarafından okunabilir halde

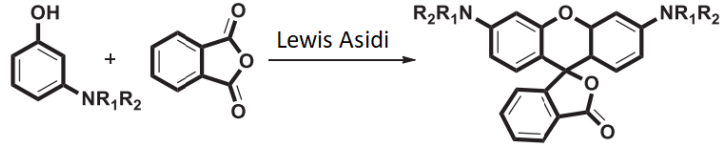
bilgilere dönüştürülebilirler [17]. Kemosensörler, analizi yapılmak istenen analit veya molekülü tayin etmeye yarayan kimyasal moleküllerdir. Kemosensörler, mekanizmaları dolayısıyla tasarlandıkları analite göre yüksek seviyede seçiciliğe sahip olarak bağlanırlar. Kemosensör ve analit arasında oluşan bu bağlanma sonucunda sistemin absorpsiyon, floresan spektrumu veya redoks potansiyellerinde bazı değişiklikler olur. Analitlere karşı bu hassas bağlanma özellikleri dolayısıyla yüksek seçiciliğe sahiptirler. Kemosensörler, düşük maliyetleri, basit hazırlık aşamaları, gerçek zamanlı izleyebilme yetenekleri ve kısa tepki süreleri nedeniyle analitleri *in vivo* ve *in vitro* izleyebilmek için son derece önemli moleküller olduğundan son dönemde çok fazla ilgi çekmektedir [18]. Kemosensörler, katyon, anyon ve moleküler sensörler için özel olarak tasarlanabilmektedirler. Bu çalışmadaki tasarlanan kemosensör katyon analizi için tasarlanmıştır.

### **2.1.3 Floresan spektroskopisinin uygulamaları**

Floresan spektroskopisi sayesinde floresan bir molekülün yaydığı ışının maksimum dalga boyu kullanılarak, kimya, endüstri, çevre, eczacılık, tarım alanlarında analit araştırması yapılabilmektedir. Gelişen floresan teknolojisi sayesinde organik, inorganik, ilaç, tarım ürünleri, karbonhidratlar, enzimler, organometalik bileşikler, lipidler gibi bir çok molekülün analizi floresan spektroskopisi ile kolay, hızlı ve hassas bir şekilde yapılabilir hale gelmiştir. Ayrıca çevreye ve insan sağlığına zararlı ağır ve zehirli metallerin analizi de yine floresan spektroskopisinin uygulama alanlarının başında gelmektedir [19]. Bunlara ek olarak son birkaç yılda doku görüntüleme, çevrimiçi çevresel izleme, hücresel olayların araştırılması ve hatta havacılık teknolojisi gibi potansiyel uygulamaları nedeniyle iyon seçici, kolorimetrik sensörlerin tasarımına artan bir ilgi olmuştur [20–23].

## **2.2 Rodaminler**

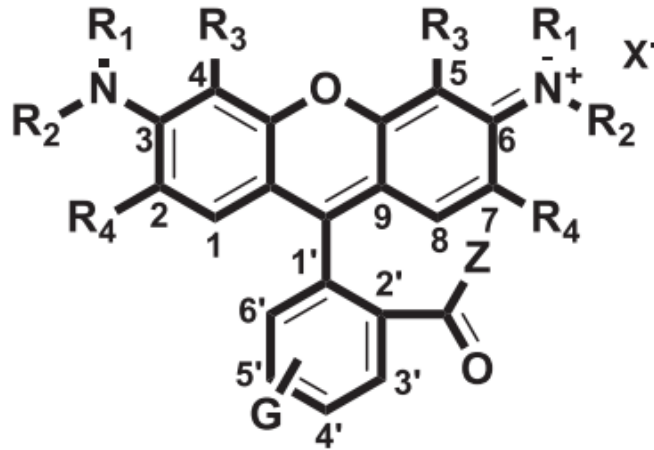
Rodaminler, ksanten ailesinin bünyesinde bulunan florofor moleküllerdir ve ilk olarak 1905 yılında Noelting ve Dziejowsky tarafından sentezlenmişlerdir (Şekil 2.3). İlk olarak rodaminler, ftalik anhidrit ve m-aminofenol ile bir Lewis asidi varlığında meydana gelen tepkimenin sonucunda elde edilmiştir [24].



**Şekil 2.3** : İlk rodamin türevinin sentez şeması.

Rodamin bileşiklerinin yüksek floresan kuantum verimi, yüksek absorpsiyon katsayıları ve yüksek fotokararlılıkları gibi önemli fotofiziksel özelliklere sahip olması onları son yıllarda dikkat çeken bir konu haline getirmektedir. Genellikle, renksiz ve floresan aktif olmayan rodamin spirolaktam yapısı yalnızca belirli bir analit varlığında molekül spirolaktam halkasını açarak amit formuna dönüşür ve konjugasyon artar. Dolayısıyla, absorpsiyon ve floresan şiddetlerinde ciddi değişiklikler meydana gelir. Yalnızca absorpsiyon veya floresan ölçümleri ile değil, aynı anda gözle görülür renk değişimi de gözlenebilmektedir [25].

Şekil 2.4’de gösterildiği gibi moleküldeki R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> ve G gruplarından ve ayrıca eşlenik iyon kısmından düzenleme yapılarak farklı fotokimyasal özelliklere sahip rodaminler tasarlanabilmektedir. Bu tasarımlar sonucu farklı fotofiziksel özelliklere sahip, farklı emisyon ve absorpsiyon dalga boyları olan veya farklı floresan kuantum verimi olan rodamin türevleri elde edilebilir.

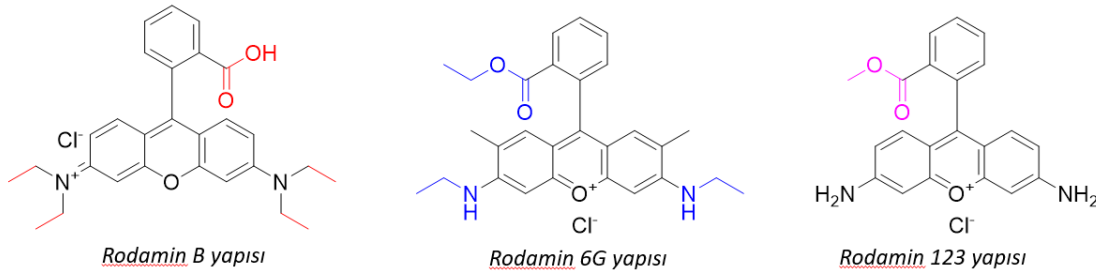


**Şekil 2.4** : Rodamin genel yapısı.

Rodaminler kemosenörler olarak tercih edildiği kadar farklı alanlarda da kullanılmaktadırlar. Örneğin boyar madde olarak, genellikle kağıt ve mürekkepleri boyamak için kullanılırlar. Ayrıca sentetik boyalar, lazer boyalar ve biyoloji çalışmalarında floresan standart ve floresan işaretleme işlemlerinde de kullanılmaktadırlar [25].

### 2.2.1 Rodaminlerin fotokimyasal özellikleri

Yapılarında amino grupları, ksanten grubu ve karboksili asit veya ester gibi fonksiyonel gruplar bulunduran rodaminler, genellikle UV-Gör absorpsiyon dalga boyları yaklaşık 540-600 nm ve floresan emisyon dalga boyları ise yaklaşık olarak 550-600 nm arasındadır. Yüksek dalga boylarında absorpsiyon ve emisyon yapabilmeleri sebebiyle boyar madde ve fotohassaslaştırıcı gibi birçok alanda uygulama imkanlarına sahiptirler. Yaygın olarak bilinen rodamin türevleri: rodamin B, rodamin 6G ve rodamin 123'tür. Şekil 2.5'te de gösterildiği gibi bu türlerin birbirinden farklı fonksiyonel grupları vardır. Rodamin B'nin yapısında ksanten grubuna bağlı N,N-dietil amino ve benzen halkasına bağlı kısımda ise karboksili asit bulunmaktadır. Rodamin 6G'nin yapısında ksantene bağlı N-etil amino grubu ve metil varken benzen halkası da ester fonksiyonel grubu ile bağ yapmış haldedir. Son olarak rodamin 123'ün yapısında ise ksanten grubuna bağlı amin grupları varken benzen halkasına bağlı bir ester grubu bulunmaktadır [26].



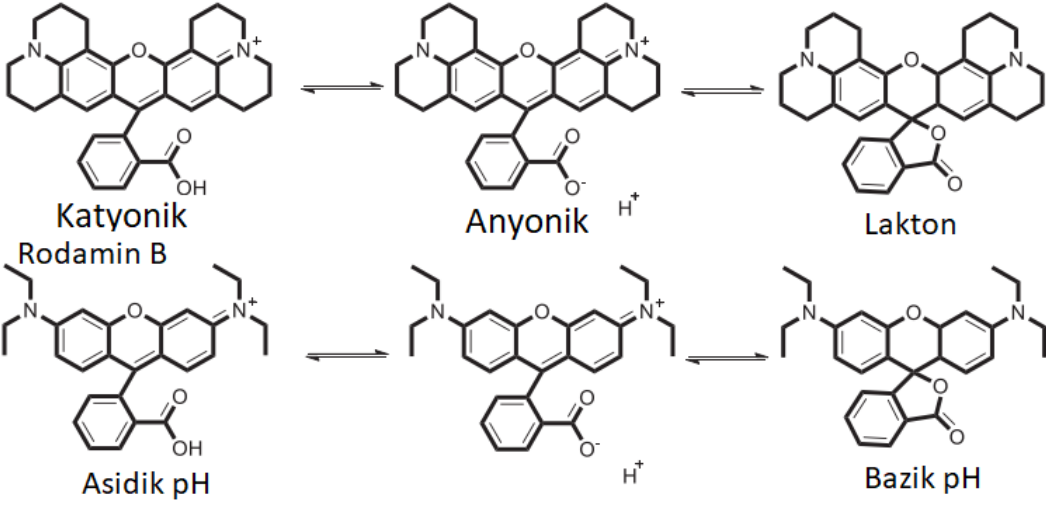
Şekil 2.5 : Yaygın olarak bilinen rodamin türleri.

### 2.2.2 Rodaminlerin elektronik yapısı ve spektral özellikleri

Rodamin türevlerinde, yapının emisyonunda batokromik kaymaya sebep olan elektron transferi, ksanten ve amino grupları arasındaki elektronik geçişten kaynaklanmaktadır.

Ortamın pH'ı, polaritesi veya viskozitesi değişirse, rodaminin elektronik ve spektral özellikleri de değişiklik gösterebilir. Örneğin asidik pH değerlerinde ortamdaki protonlar karboksil grubuna katılarak rodamin kationik forma dönüştürebilirler. Bazı koşullarda ise, rodamin parçalanarak zwitter iyon formuna dönüşüm gerçekleştirebilir. Zwitter iyon formundayken ortamın polaritesi düşürülürse, pi konjugasyonu bozulur. Dolayısıyla rodamin tersinir bir şekilde renksiz bir lakton formuna dönüşür (Şekil 2.6) [25].

## Rodamin 101

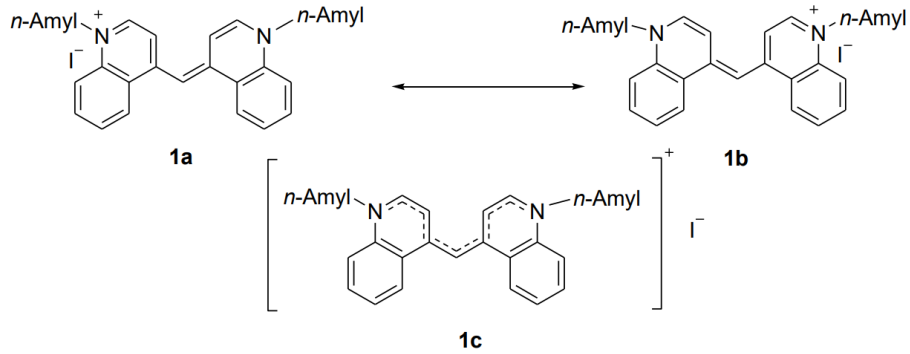


**Şekil 2.6** : Rodamin 101 ve Rodamin B'nin asidik ve bazik koşullardaki farklı moleküler dönüşümleri.

## 2.3 Siyaninler

### 2.3.1 Siyaninler ve Tarihçesi

Siyaninler, isimlerini Latince “cyanos” Türkçe karşılığı mavi olan kelime kökünden almaktadırlar. Tarihte ilk olarak 1856 yılında C.H.G Williams tarafından keşfedilmişlerdir. Keşfedildiklerinden bu yana fotoğrafçılık, boyar madde gibi alanlarda kendilerine uygulama alanları bulmuşlardır. Sentezinde, amonyağın içinde N-amil kinolinyum ve N-amil lepidinyum molekülleri ısıtılıp, karıştırılarak mavi renkte çözelti elde edilmiştir. Bu rengi dolayısıyla boyar madde olarak kullanılabilirler ve ilerleyen yıllarda siyanin türevi farklı boyar maddeler de sentezlenmiştir. Siyaninlerin konjuge yapıları Şekil 2.7’te gösterilmiştir [27].

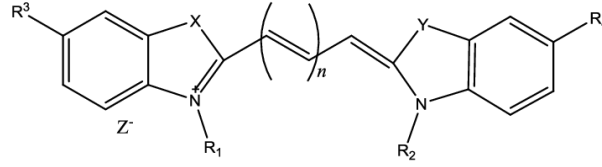


**Şekil 2.7** : İlk kez sentezlenen siyanin molekülünün konjuge yapıları.

Siyaninler yakın kızıl ötesi bölgede yaklaşık olarak 600-700 nm dalga boyu arasında güçlü absorpsiyon ve emisyon şiddetlerine sahiptirler. Siyaninlerin bir diğer önemli

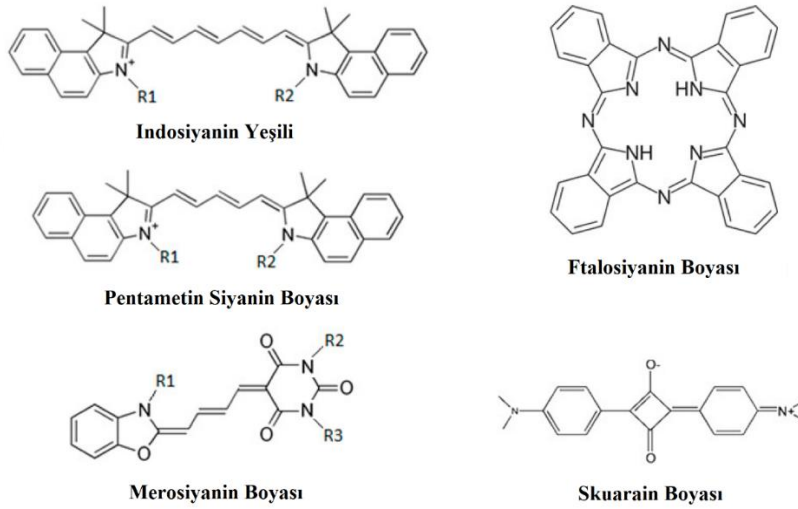
floresan özelliklerine örnek olarak floresan rezonans enerji transfer (FRET) mekanizması ve floresan *in situ* hibridizasyonu (FISH) verilebilir [28].

Şekil 2.8’de görüldüğü gibi siyaninlerin genel iskelet yapıları biri pozitif yüklü olan iki azot atomu ve bu azotlara bağlı konjuge polimetin zincirinden oluşmaktadır.



**Şekil 2.8 :** Siyaninlerin genel iskelet yapıları.

Polimetin zinciri, pozitif yüklü azot ile nötr yüklü azot arasında bir bağlayıcı görev yaparak yükün aktarılmasında görev alır ve bu yük transferi sayesinde, molekülün derin renklere sahip olmasına yol açar [29]. Siyaninler, azot atomu üzerinden veya polimetin zinciri üzerinden türevlendirilerek farklı renklere ve farklı özelliklere sahip siyaninler haline getirilebilirler. Şekil 2.9’da bazı siyanin türevleri verilmiştir.



**Şekil 2.9 :** Siyanin türevleri.

### 2.3.2 Siyaninlerin elektronik ve spektral özellikleri

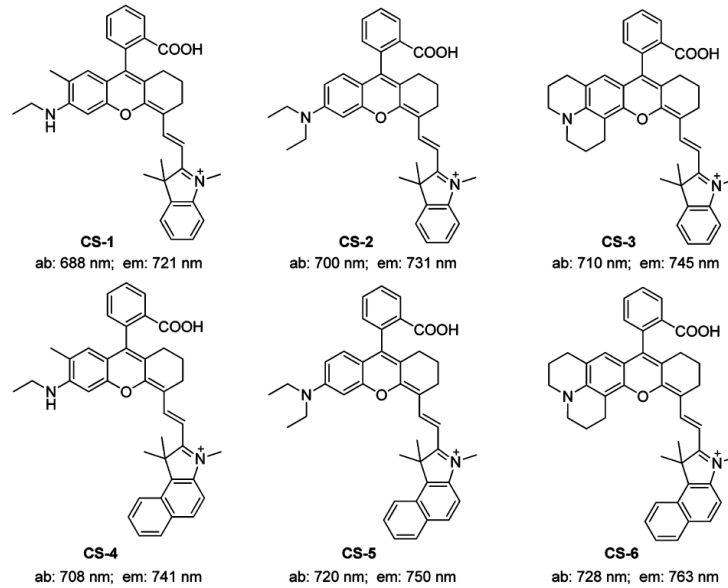
Yapılarında bulundukları azot atomları arasındaki polimetin zinciri vasıtasıyla gerçekleşen yük transferi sayesinde siyaninler, yakın kızıl ötesi bölgede uzun dalga boylarında yaklaşık 600-700 nm arasında absorpsiyon ve emisyon yapabilmektedirler. Ayrıca yüksek molar absorpsiyon katsayılarına sahip olduklarından dolayı floresan kemosensör, lazer boyalar ve foto-hassaslaştırıcı olarak yaygın bir biçimde uygulama alanları mevcuttur [30]. Yakın kızıl ötesi bölgesinde sahip oldukları dalga boyları sayesinde hücre dokularına verilen zarar minimize edilmiş olur. Bu yüzden bu tür

kemosensörler ile dokulara en az zarar vererek hücre içi analizler yapılabilmektedir. Yakın kızıl ötesi bölgesinin bir başka avantajı ise bu bölgede biyomoleküllerin kendi floresan şiddetleri çok azdır ve analiz edilecek analitler ile çakışma yaşanmadan daha doğru ve hassas bir biçimde tayin imkanı sağlamaktadır.

## 2.4 Kromenilyum Siyanin Tabanlı Yapılar

### 2.4.1 Kromenilyum siyaninler ve tarihçesi

Kromenilyum-siyanin tabanlı yapılar, yayınlanmış çalışmalar arasında şu anda bilinen en uzun dalga boylarına sahip moleküllerdir. İlk olarak 2011 yılında, Yuan ve ekibi, Changsha (CS) boyası olarak isimlendirilen karboksilik asit türevli kromenilyum-siyanin moleküllerini sentezlemişlerdir. Bu sentez sonucunda elde edilen bileşiklere kısaca “CS” kodlaması yapılmıştır ve bu CS moleküllerinin absorpsiyon maksimum ve emisyon şiddetleri yaklaşık 700 nm dalga boyundadır. Sentezlenen bu CS molekülleri analit etkileşiminde “turn-on” mekanizması ile halka açılmasına uğrayarak absorpsiyon ve emisyon değerlerinde şiddetli bir değişim meydana gelirken, aynı zamanda gözle görünür bir renk değişimi de sergilerler. Şekil 2.10’da görüldüğü gibi Yuan ve ekibi CS moleküllerinin farklı türevlerini de sentezleyerek bu moleküllerin sahip olduğu absorpsiyon ve emisyon değerlerini literatürde paylaşmışlardır [31].

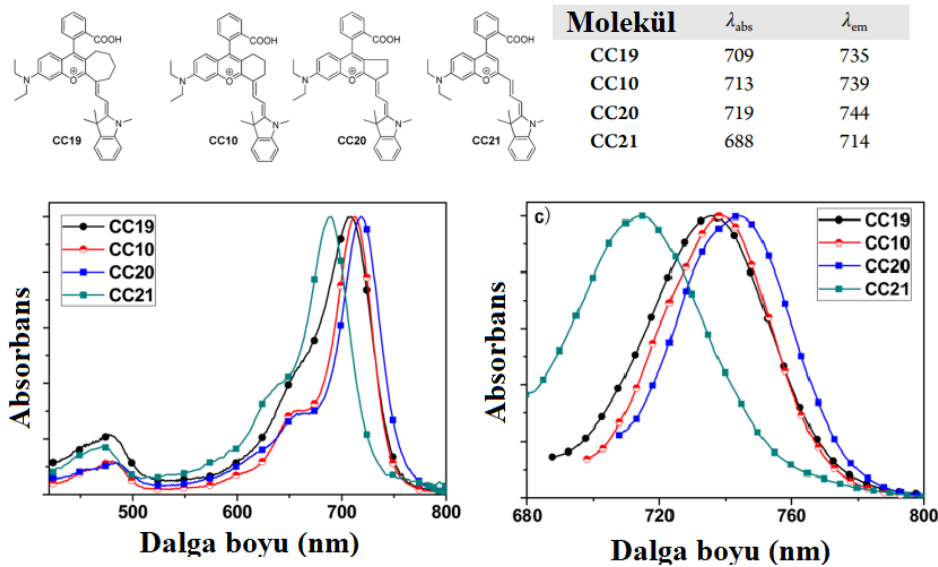


Şekil 2.10 : CS moleküllerinin farklı absorpsiyon ve emisyon değerlerine sahip türevleri.

## 2.4.2 Kromenilyum siyanin moleküllerinin elektronik ve spektral özellikleri

Kromenilyum kısımlarından kromofor grupları ile türevlendirilen kromenilyum-siyanin molekülleri, normal siyanin moleküllerinin sahip oldukları dalga boylarına göre daha kırmızı bölgede dalga boylarında absorpsiyon ve emisyon özellikleri taşımaktadırlar. Kromenilyum-siyanin molekülleri, genellikle pH 1-2 harici pH'larda "turn on" sinyal üretirken, fizyolojik pH (pH 7,4) değerinde bir sinyale sahip olmadığı için biyolojik uygulamalar için ideal bir kemosensör potansiyeli taşımaktadırlar.

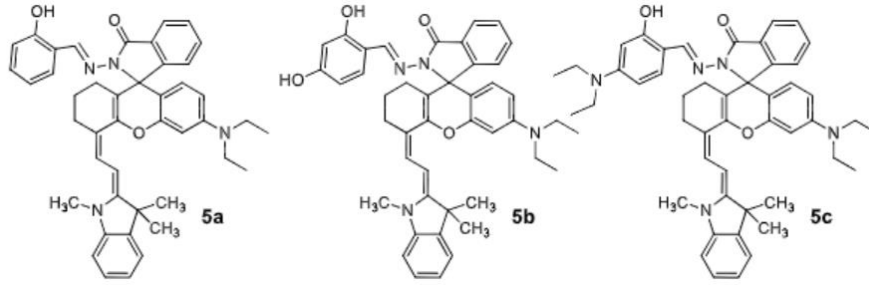
Kromenilyum-siyanin moleküllerinin karboksilik asit türevleri, spiroolaktam halkası açıkken yaklaşık 700 nm'de geniş bir absorpsiyon ve floresan şiddetine sahiptir. Bunun sebebi moleküldeki konjugasyonun diğer rodamin bileşiklerine oranla daha geniş bir alana yayılmasıdır. Konjugasyon kesildiğinde ise 700 nm civarındaki sinyaller kaybolmaktadır. Ayrıca kromenilyum-siyanin tabanlı moleküllerde UV-Gör spektrumlarında yaklaşık 375 nm'de bir elektron geçiş bandı görülmektedir, bu bandın şiddeti analit miktarı ile genellikle azalırken, 700 nm'lerde oluşan halka açılması kaynaklı bandın şiddeti ise artmaktadır. Dolayısıyla kromenilyum-siyanin moleküllerinde 375 ve 700 nm'deki bantlar arasında oransal bir analiz imkanı mümkündür. Bazı kromenilyum-siyanin tabanlı örnek moleküller ve spektral özellikleri özet olarak şekil 2.11'de sunulmuştur [32].



Şekil 2.11 : Bazı kromenilyum-siyanin türevi moleküller ve bu moleküllerin spektral özellikleri.

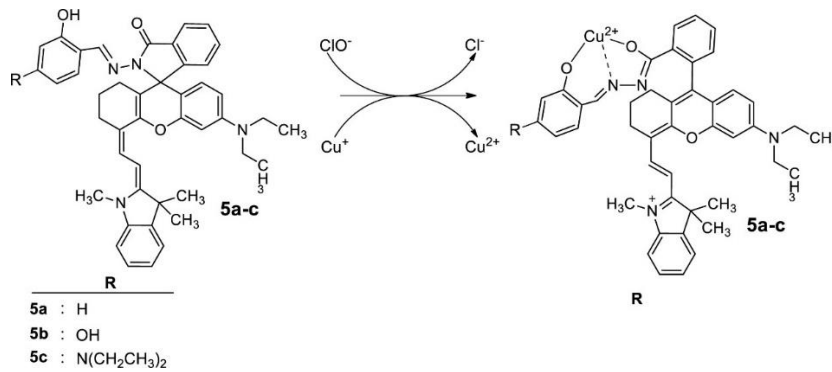
### 2.4.3 Kromenilyum siyanin tabanlı kemosensör çalışmaları

İsmail Yılmaz ve Kaan Karaoğlu'nun Dyes and Pigments dergisinde, 2020 yılında yayınladığı çalışmada  $\text{Cu}^{2+}$  ve  $\text{ClO}^-$  iyonlarına seçici, hassas ve çift kanallı kromenilyum-siyanin tabanlı sensör platformuna sahip 3 adet sensör sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve sensör çalışmaları sulu ortamda başarıyla araştırılmıştır (Şekil 2.12).



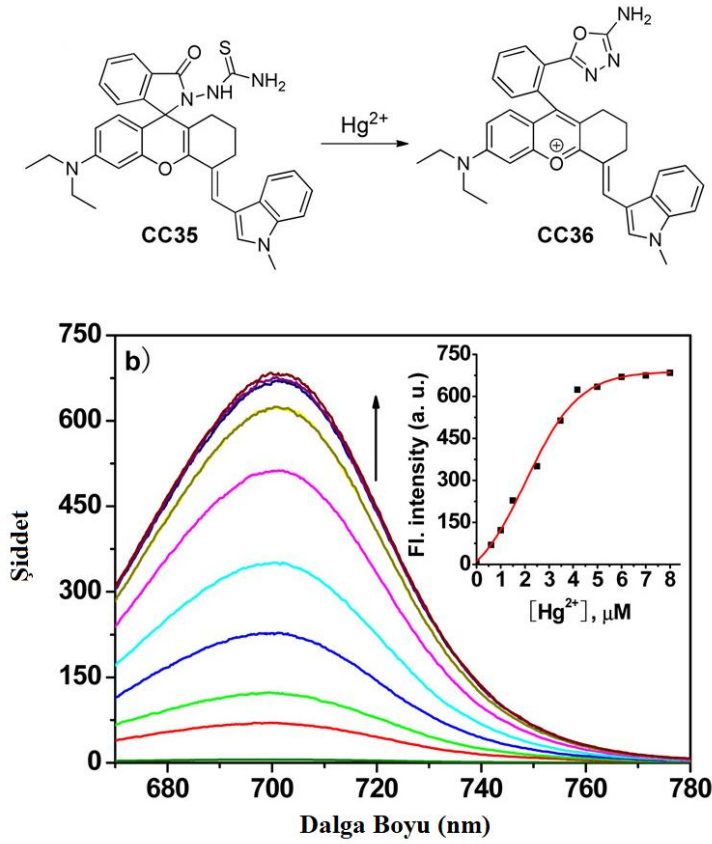
Şekil 2.12 : Bu çalışmada tasarlanan kromenilyum-siyanin tabanlı sensörler.

Bu tasarlanan sensörler yakın kızılötesi bölgesinde çalışmaktadır. “Turn-on” mekanizması ile spiroolaktam halkasının açılmasına dayanarak  $\text{Cu}^{2+}$  iyonlarını analiz edebilmektedir.  $\text{ClO}^-$  tayini için ise, ortamdaki  $\text{Cu}^+$  iyonları hipoklorit tarafından  $\text{Cu}^{2+}$  iyonuna yükseltgenmiştir. Daha sonra bu yükseltgenmiş  $\text{Cu}^{2+}$  iyonlarının ölçümü yapılarak dolaylı yoldan  $\text{ClO}^-$  tayini yapılmıştır. Tasarlanan sensörün bakır ve hipoklorit ile olan ilişkisi Şekil 2.13’de detaylıca gösterilmiştir. Fizyolojik pH’ta çalışılan bu araştırmadaki tasarlanan 5a, 5b ve 5c olarak isimlendirilen bu sensörlerin limit değerleri sırasıyla şu şekildedir:  $\text{Cu}^{2+}$  için  $3,3 \times 10^{-8}$  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. Tespit limitlerinin literatüre kıyasla oldukça düşük olduğu ve bu sayede çok daha hassas bir kromenilyum-siyanin sensör platformunun literatüre kazandırıldığı görülmektedir [33].



Şekil 2.13 : 1 Sentezlenen kromenilyum-siyanin tabanlı sensörlerin mekanizması.

Lin Yuan ve ekibinin yaptığı bir çalışmada  $Hg^{2+}$  iyonuna hassas bir kromenilyum-siyanın tabanlı sensör platformu geliştirilmiştir. Bu çalışmada birçok farklı türde kromenilyum-siyanın tabanlı moleküller sentezlenerek bu moleküllerin sensör ve pH davranışları incelenmiştir. İçlerinden CC35 ismini verdikleri kromenilyum-siyanın tabanlı platformunun  $Hg^{2+}$  iyonu tayini için en iyi seçenek olduğunu gözlemlemişlerdir. CC35'in yakın kızıl ötesi bölgede çalışabiliyor olması, biyolojik koşullarda kararlı kalabiliyor olması, bu platformunu hücre içi boyutlarda  $Hg^{2+}$  analizi için uygun kılmıştır. Tespit limiti 50 nM olarak bulunan bu sensör platformunun bilgileri Şekil 2.14'de verilmiştir [32].



Şekil 2.14 : Lin Yuan ve ekibinin yaptığı bir çalışmasındaki CC35 sensör platformu.

## 2.5 Cıva(II)

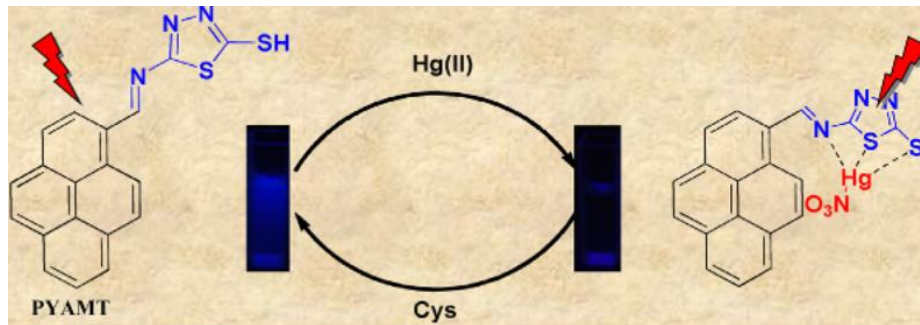
Cıva yeryüzünde doğal olarak var olan, çok düşük miktarlarda bile son derece zehirli olan bir metaldir. Cıva ekosisteme birçok şekilde dahil olabilmektedir. Erozyon ve volkanik patlamalar gibi doğal olaylar, bunların yanı sıra metal eritme, imalat ve endüstriyel kullanım gibi insan faaliyetleri nedeniyle önemli miktarlarda cıva ekosisteme girerek hem çevre kirliliğine neden olabilirken hem de insan sağlığı için

çok büyük tehdit oluşturabilmektedir. Gıdalara da bulaşan cıva ve bu gıdaların tüketimi sebebiyle, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde insanlar, cıvaya bağlı hastalık ve ölümlerin yıkıcı salgınları ile karşı karşıya kalmaktadırlar. Yüksek miktarlarda cıvaya maruz kalmanın sebep olduğu hastalıkların başında sinir sistemi hastalıkları gelmektedir. Cıvanın sebep olduğu nörotoksisite, özellikle çocukların merkezi ve periferik sinir sistemleri için çok büyük yıkıcı etkiye sahiptir. Merkezi sinir sistemi anormallikleri ve salgı bozukluklarının yanı sıra kardiyak aritmiler, kardiyomiyopati ve böbrek hasarı cıvaya maruziyeti ile ilişkilendirilmiştir [1].

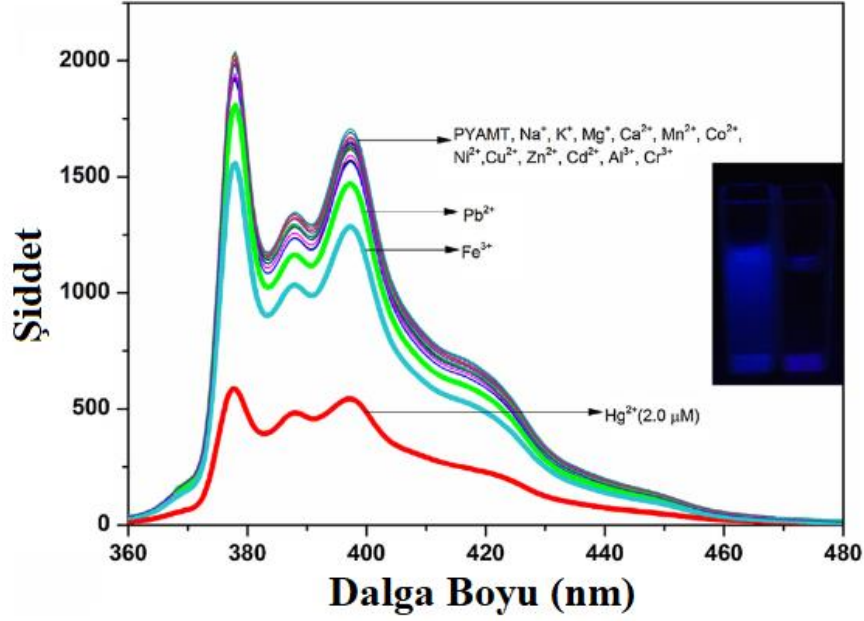
Cıva vücutta parçalanmaz ve vücuttan uzaklaştırılması çok zordur. Bu sebepten cıvaya maruz kalan bir toksik biyobirikim sürecine girerler, bu birikim sonucunda miktarına bağlı olarak cıvanın özellikle nörotoksik etkisi artar. Bu ve bunun gibi özellikler cıvayı küresel bir sorun haline getirmektedir [34]. Tüm bu tehlikeli özellikleri dolayısıyla maruz kalınan cıva miktarına çok dikkat edilmelidir. ABD Çevre Koruma Ajansı'na göre (EPA), vücut ağırlığından yola çıkarak, kilogram başına başına 0.1 µg maksimum günlük güvenli cıva dozu olarak belirtilmiştir. Günlük olarak bu dozun üstündeki cıva tüketimi ölümcül boyutlara varabilmektedir.

### 2.5.1 Cıva(II) sensörleri

Literatürde  $Hg^{2+}$  iyonu için kullanılmakta olan birçok sensör vardır. 2018 yılında John ve ekibinin yapmış olduğu bir çalışmada, cıva(II) iyonuna seçici bir sensör platformu geliştirilmiştir. Bu sensör platformu piren-amino merkapto tiadiazol tabanlı olarak sentezlenmiştir. Sensörün spektral çalışmaları pH 7,2'de yapılmıştır ve çözücü olarak asetonitril:su (1:1) kullanılmıştır. Tespit limiti ise 0,35 nM olarak bulunmuştur. Sensör aynı zamanda sistein amino asidi yardımıyla tersinir olarak çalışabilmektedir. Bu sensörün  $Hg^{2+}$  ve sistein ile olan mekanizması Şekil 2.15'te gösterilmiştir [35]. Şekil 2.16'da ise  $Hg^{2+}$  iyonuna karşı seçiciliğinin bilgileri paylaşılmıştır.

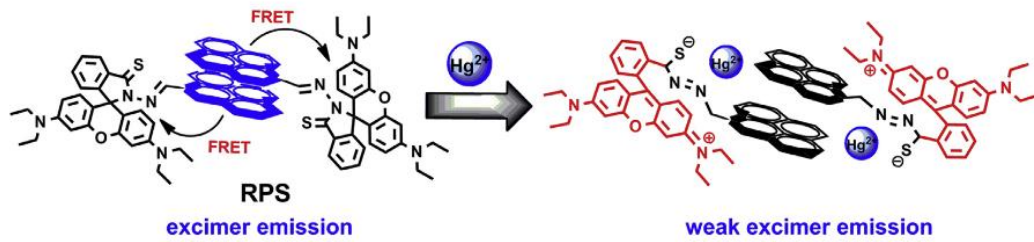


Şekil 2.15 : John ve ekibinin 2018 yılında sentezlediği sensörün mekanizması.



**Şekil 2.16 :** John ve ekibinin 2018 yılında sentezlediği sensörün  $Hg^{2+}$  iyonuna seçiciliği.

Bir başka tür  $Hg^{2+}$  sensör platformuna örnek olarak ise 2013 yılında Cheng Yao ve ekibinin geliştirdiği rodamin-piren tabanlı sensör platformu verilebilir. Bu çalışmada iki adet rodamin-piren tabanlı sensör platformu geliştirilmiş ve bu sensörlerin  $Hg^{2+}$  iyonuna seçici olduğu tespit edilmiştir. Sensörün çalışma mekanizması hem spirolaktam halkasının açılması üzerinden hem de piren molekülünün yarattığı FRET (floresan rezonans enerji transferi) mekanizması üzerinden ilerlemektedir (Şekil 2.17). Bu çalışmadaki sensörün tespit limiti  $4,34 \times 10^{-7}$  M olarak bulunmuştur.



**Şekil 2.17 :** Cheng Yao ve ekibinin 2013 yılında sentezlediği sensörün mekanizması.

### 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, potasyum 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 ağ) ile gerçekleştirilmiştir.

##### 3.1.2 Cihazlar

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

elde edildi. UV-Gör spektrumları Agilent 8453 spektrofotometre ile 1 cm uzunluğundaki kuartz küvet ile oda sıcaklığında elde edilmiştir. Floresan spektrumları ise Varian Cary Eclipse florofotometresi ile 650 nm’de uyarılarak ölçülmüştür.

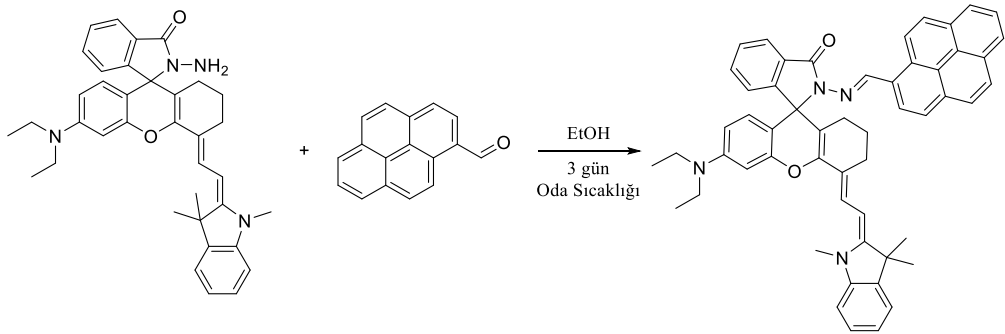
### 3.2 Sentez Yöntemi

#### 3.2.1 Kromenilyum-siyanın hidrazit molekülünün sentezi

CS<sub>2</sub>H, Yuan ve ekibinin 2012’de paylaşmış olduğu makaleden esinlenerek, farklı bir yöntem ile sentezlenmiştir. Daha önce de literatürde yer alan prosedüre göre, kromenilyum-siyanın yapısının karboksilik asit formunun (CS<sub>2</sub>) hidrazin hidrat (%80) ile kuru DCM içerisinde oda sıcaklığında reaksiyona sokulmasıyla sentezlenmiştir [36]. CS<sub>2</sub> literatürdeki prosedüre uygun biçimde sentezlenmiştir. CS<sub>2</sub> (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 dakika sonunda hidrazin hidrat (%80) (7,6 mmol, 0,5 ml) çözeltinin içerisine eklenmiştir. Daha sonra bu çözelti 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Reaksiyonun sonunda, reaksiyon karışımı vakum altında uçurularak elde kalan katı, sabit fazın silika jel ve mobil fazın etil asetat:hekzan (1:1, v/v) çözelti sistemi olduğu kolon kromatografisiyle saflaştırılmıştır. CS<sub>2</sub>H bileşiği sarı toz halinde elde edilmiştir. Verimi %62 (0,27 g) olarak hesaplanan bu bileşiğin karakterizasyon işlemleri için yapılan MALDI-TOF kütle analizi ve NMR analizi değerleri şu şekildedir: hesaplanan m/z 572,75; bulunan [M+H]<sup>+</sup> = 573,50; [M+3Na]<sup>+</sup> = 643,3; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, aseton-d<sub>6</sub>) 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). <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, aseton-d<sub>6</sub>) 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, 105.85, 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 Piren modifiyeli rodamin-siyenin tabanlı sensör platformunun sentezi

CS2P molekülünün sentezi için Şekil 3.1’de gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir. CS2H (0,803 mmol, 345 mg), 10 ml kurutulmuş EtOH içerisinde çözüldü. Ortamdaki oksijeni uzaklaştırmak amacıyla 15 dakika boyunca argon gazı atmosferinde karıştırıldı. Daha sonra piren karboksaldehit bileşiği (0,912 mmol, 210 mg) bu çözeltiye eklenildi ve reaksiyon 3 gün oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu süre sonunda karışıma santrifüj yapıldı ve katı madde ile sıvı maddelerin ince tabaka kromatografisi ile ön analizi yapıldı. Oluşan ürünün katı malzemede olduğu görüldüğü için katı kısım EtOH ile 2 kere daha santrifüjlendi. Santrifüj işlemi sonrasında katı maddeden devam edildi. Elde edilen katı maddenin ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflığı kontrol edildi ve daha sonra tüm safsızlıkları gidermek amacıyla kolon kromatografisi yöntemiyle saflaştırma işlemi (DCM:EtOH 3:1) yapılarak sarı renkte saf madde elde edildi. Verimi %30 olarak hesaplanan CS2P bileşiğinin karakterizasyonunu aydınlatmak amacıyla çeşitli işlemler yapıldı. Bu karakterizasyon belirleme işlemleri için yapılan yöntemlerin verileri şu şekildedir: hesaplanan m/z 784,38 ve bulunan  $[M+3H]^+ = 787,11$ ;  $^1H$  NMR (500 MHz, Chloroform-d)  $\delta$  9.65 (s, 1H), 8.67 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.43 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 8.13 (dd, J = 7.9, 6.2 Hz, 2H), 8.03 (dtd, J = 17.7, 9.3, 8.6, 4.3 Hz, 6H), 7.96 – 7.90 (m, 3H), 7.78 – 7.70 (m, 1H), 7.59 (td, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 7.55 – 7.41 (m, 7H), 7.31 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.25 – 7.13 (m, 9H), 7.07 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.93 – 6.81 (m, 4H), 6.67 – 6.56 (m, 4H), 6.52 – 6.45 (m, 1H), 6.40 – 6.24 (m, 7H), 5.51 – 5.35 (m, 3H), 3.76 – 3.62 (m, 6H), 3.35 (dq, J = 14.5, 6.9 Hz, 17H), 3.23 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.17 (d, J = 6.6 Hz, 9H), 2.67 – 2.43 (m, 8H), 2.39 – 2.11 (m, 3H), 1.91 (d, J = 18.3 Hz, 4H), 1.86 (s, 0H), 1.70 (dd, J = 39.3, 11.2 Hz, 20H), 1.39 (s, 4H), 1.33 – 1.12 (m, 30H), 0.93 (d, J = 7.2 Hz, 1H).

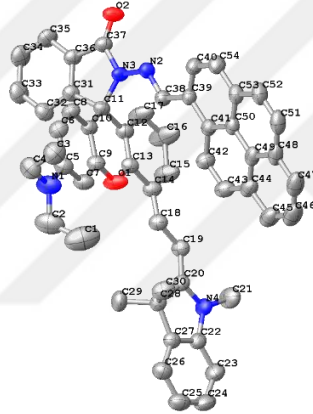


Şekil 3.1 : CS2P molekülünün sentez şeması.

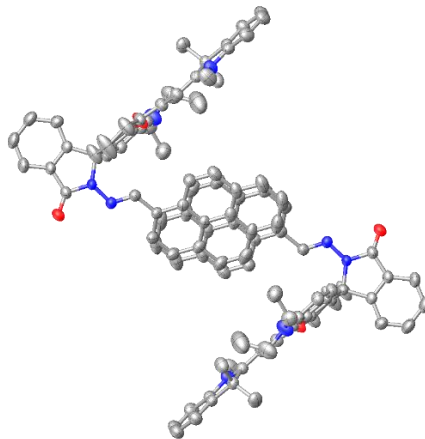
### 3.3 CS2P Karakterizasyonu

#### 3.3.1 Tek kristal X-ışını kırınımı yöntemi

Elde edilen CS2P molekülünün x-ışını tek kristali DCM çözücü ortamında elde edilmiştir. CS2P, her birim hücre 2 molekül ( $Z=2$ ) içeren P1 uzay grubuna sahip triklinik bir kafes içinde kristalleşmektedir. Detaylı kristal verileri Çizelge 3.1’de verilmiştir. CS2P'nin kristal yapıları ve atom numaralandırmaları Şekil 3.2’de net bir şekilde gösterilmektedir. CS2P'nin kristal kafesi, Çizelge 3.2’de ayrıntıları verilen ve Şekil 3.3’de görülebilen pi-pi etkileşimini içermektedir. Bu tür etkileşimler daha önce literatürde rapor edilmiştir [37–39]. Kristal yapıya ait bağ mesafeleri (Çizelge 3.2) ve bağ açıları (Çizelge 3.3) çizelgeler halinde paylaşılmıştır. Tüm bağ mesafeleri ve bağ açıları yapı ile uyumludur.



**Şekil 3.2 :** CS2P molekülünün atom numaralandırmasıyla gösteren moleküler çizim (Hidrojen atomları daha net görünüm için dahil edilmemiştir).



**Şekil 3.3 :** CS2P molekülündeki pi-pi etkileşimi gösteren moleküler çizim.

**Çizelge 3.1 : CS2P molekülü için kristalografik ve yapısal veriler.**

CS2P	
Ampirik formül	C <sub>55</sub> H <sub>47</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Molekül ağırlığı (g/mol)	866,86
T (K)	298(2)
Kristal sistemi, uzay grubu	Triklinik, P-1
a	11,5851(7)
b	13,2308(9)
c	15,8361(10)
β	107,088(2)
V (Å <sup>3</sup> )	2272,3(3)
Z	2
Absorpsiyon katsayısı (mm <sup>-1</sup> )	0,190
D <sub>calc</sub> (g/ cm <sup>3</sup> )	1,267
F(000)	910,0
Kristal boyutu (mm <sup>3</sup> )	0,34 × 0,09 × 0,02
Veri toplama için θ aralığı (°)	4,496 – 50,128
Endeks aralığı	-13 ≤ h ≤ 13 -15 ≤ k ≤ 15 -18 ≤ l ≤ 18
Toplanan yansımalar	75396
Bağımsız yansımalar	8006
Veri/kısıtlamalar/parametreler	8006/807/574
Son R endeksleri [I ≥ 2σ(I)]	R <sub>1</sub> = 0,0699 wR <sub>2</sub> = 0,1165
R endeksleri (tüm veriler)	R <sub>1</sub> = 0,1300 wR <sub>2</sub> = 0,1509
F <sup>2</sup> üzerinde uyumluluğu	1,034
Pik ve boşluk arasındaki en büyük fark (e Å <sup>-3</sup> )	0,58 /-0,56

CS2P bileşiğinin kristal yapısına diklorometan çözeltisinde yavaş buharlaşma yöntemiyle ulaşılmıştır. X-ışınımı tek kristal yönteminde maddenin kristal yapısı bir dik eksen üzerine yerleştirilir. Daha sonra silindirik bir film bu maddenin etrafına yerleştirilir ve kristal, seçilen bu eksenin etrafında döndürülür. Kristal döndükçe gelen ışın ile örgü düzlemleri takımı bir noktada doğru Bragg açısı yapacak ve o noktada kırınım gerçekleştirilecektir. Bu kristalin yapısı bu şekilde incelenmiştir. Yukarıda belirtilmiş olan Çizelge 3.1 CS2P molekülü için kristalografik ve yapısal verilerin tamamı gösterilmektedir. Bu verilere göre triklinik kristal sistemine sahip, P-1 uzay grubunun üyesidir. Absorpsiyon katsayısı 0,190 mm<sup>-1</sup>'dir. CS2P kristalinin boyutları 0,34 × 0,09 × 0,02 mm<sup>3</sup> olarak ölçülmüştür. Molekül ağırlığı 866,86 g/mol olarak gösterilen CS2P bileşiğinin kristal yapısı içinde diklorometan bileşiği de dahil edilmiştir. Çizelge 3.2'de her bir atom ve bu atomların diğer atomlarla yaptığı bağların uzunlukları paylaşılmıştır. Çizelge 3.3'te ise molekülde bulunan atomların birbirleri ile yaptığı bağ açıları detaylıca gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2 : CS2P bileşiğine ait bağ uzunlukları (Å)**

Atom	Atom	Bağ Uzunluğu(Å)
Cl2	C55	1,725(5)
O1	C13	1,380(4)
O1	C9	1,379(4)
N3	N2	1,375(3)
N3	C11	1,505(4)
N3	C37	1,382(4)
O2	C37	1,212(4)
N2	C38	1,279(4)
N4	C20	1,382(4)
N4	C22	1,395(4)
N4	C21	1,443(4)
C11	C31	1,523(4)
C11	C12	1,511(4)
C11	C10	1,508(4)
C13	C12	1,328(4)
C13	C14	1,462(4)
C9	C10	1,372(4)
C9	C7	1,381(4)
C31	C36	1,373(4)
C31	C32	1,380(4)
N1	C5	1,375(4)
N1	C4	1,454(5)
N1	C2	1,458(5)
C12	C17	1,501(4)
C10	C8	1,386(4)
C41	C39	1,415(4)
C41	C50	1,430(4)
C41	C42	1,434(4)
C20	C28	1,536(4)
C20	C19	1,348(4)
C28	C27	1,518(4)
C28	C30	1,527(4)
C28	C29	1,529(4)
C27	C22	1,380(4)
C27	C26	1,377(4)
C39	C38	1,456(4)
C49	C48	1,423(5)
C53	C54	1,394(5)
C53	C52	1,434(5)
C18	C19	1,435(4)
C5	C6	1,402(5)
C44	C43	1,423(5)
C44	C45	1,402(5)
C8	C6	1,370(4)
C40	C54	1,369(5)
C48	C51	1,418(5)
C48	C47	1,394(5)
C42	C43	1,346(5)
C32	C33	1,383(5)
C26	C25	1,386(5)
C35	C34	1,375(5)
C23	C24	1,383(5)
C52	C51	1,338(5)
C4	C3	1,487(5)
C15	C16	1,424(5)
C25	C24	1,363(5)
C34	C33	1,385(5)
C17	C16	1,389(5)
C47	C46	1,370(6)
C45	C46	1,381(6)
C2	C1	1,477(7)
C55	C11	1,724(5)

**Çizelge 3.3 : CS2P bileşiğine ait bağ açıları (°)**

Atom	Atom	Atom	Bağ Açıları(Å)
C9	O1	C13	119,2(2)
N2	N3	C11	126,4(2)
N2	N3	C37	118,7(3)
C37	N3	C11	114,1(2)
C38	N2	N3	118,1(3)
C20	N4	C22	111,8(3)
C20	N4	C21	123,9(3)
C22	N4	C21	124,4(3)
N3	C11	C31	99,3(2)
N3	C11	C12	111,8(3)
N3	C11	C10	111,0(2)
C12	C11	C31	110,8(3)
C10	C11	C31	112,2(3)
C10	C11	C12	111,2(2)
O1	C13	C14	112,2(3)
C12	C13	O1	122,8(3)
C12	C13	C14	124,9(3)
O1	C9	C7	114,5(3)
C10	C9	O1	122,7(3)
C10	C9	C7	122,7(3)
C36	C31	C11	111,3(3)
C36	C31	C32	120,8(3)
C32	C31	C11	127,9(3)
C5	N1	C4	122,2(3)
C5	N1	C2	120,5(3)
C4	N1	C2	117,2(3)
C13	C12	C11	122,8(3)
C13	C12	C17	120,0(3)
C17	C12	C11	117,2(3)
C9	C10	C11	120,9(3)
C9	C10	C8	116,2(3)
C8	C10	C11	122,9(3)
C39	C41	C50	118,9(3)
C39	C41	C42	123,8(3)
C50	C41	C42	117,3(3)
N4	C20	C28	107,7(3)
C19	C20	N4	124,4(3)
C19	C20	C28	127,8(3)
C27	C28	C20	101,4(2)
C27	C28	C30	109,8(3)
C27	C28	C29	110,1(3)
C30	C28	C20	112,9(3)
C29	C28	C20	111,1(3)
C29	C28	C30	111,1(3)
C22	C27	C28	109,8(3)
C26	C27	C28	130,3(3)
C26	C27	C22	119,9(3)
C41	C39	C38	120,7(3)
C40	C39	C41	118,9(3)
C40	C39	C38	120,3(3)
C27	C22	N4	109,3(3)
C23	C22	N4	129,4(3)
C23	C22	C27	121,3(3)
C41	C50	C49	120,3(3)
C53	C50	C41	120,2(3)
C53	C50	C49	119,6(3)
N2	C38	C39	121,9(3)

C13	C14	C15	115,7(3)
C18	C14	C13	120,6(3)
C18	C14	C15	123,7(3)
C31	C36	C37	109,8(3)
C31	C36	C35	121,4(3)
C35	C36	C37	128,8(3)
C9	C7	C5	120,8(3)
C44	C49	C50	120,2(3)
C44	C49	C48	120,0(3)
C48	C49	C50	119,8(3)
C50	C53	C52	118,8(3)
C54	C53	C50	119,0(3)
C54	C53	C52	122,2(3)
C14	C18	C19	128,1(3)
N3	C37	C36	105,6(3)
O2	C37	N3	125,9(3)
O2	C37	C36	128,5(3)
N1	C5	C7	121,7(3)
N1	C5	C6	121,7(3)
C7	C5	C6	116,6(3)
C20	C19	C18	125,8(3)
C49	C44	C43	118,3(3)
C45	C44	C49	119,0(4)
C45	C44	C43	122,7(4)
C6	C8	C10	122,6(3)
C54	C40	C39	122,3(3)
C51	C48	C49	118,8(3)
C47	C48	C49	118,6(4)
C47	C48	C51	122,7(4)
C43	C42	C41	121,8(3)
C8	C6	C5	120,9(3)
C31	C32	C33	117,9(3)
C40	C54	C53	120,7(3)
C27	C26	C25	119,4(4)
C42	C43	C44	122,1(4)
C34	C35	C36	118,0(3)
C24	C23	C22	117,5(4)
C51	C52	C53	121,4(4)
C52	C51	C48	121,7(4)
N1	C4	C3	114,1(3)
C16	C15	C14	115,8(3)
C24	C25	C26	119,8(4)
C35	C34	C33	120,6(3)
C32	C33	C34	121,3(4)
C25	C24	C23	122,0(4)
C16	C17	C12	115,5(3)
C46	C47	C48	121,1(4)
C46	C45	C44	120,3(4)
C47	C46	C45	121,0(4)
N1	C2	C1	113,4(4)
C11	C55	C12	111,4(3)
C17	C16	C15	125,2(4)

### 3.4 Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlama Çalışmalar

Katyon bağlama çalışmasında, ligand CS2P ile çeşitli metal katyonları arasındaki bağlanma incelenerek bu bağlamda katyonlar arasındaki yalnızca Hg<sup>2+</sup> iyonu ile

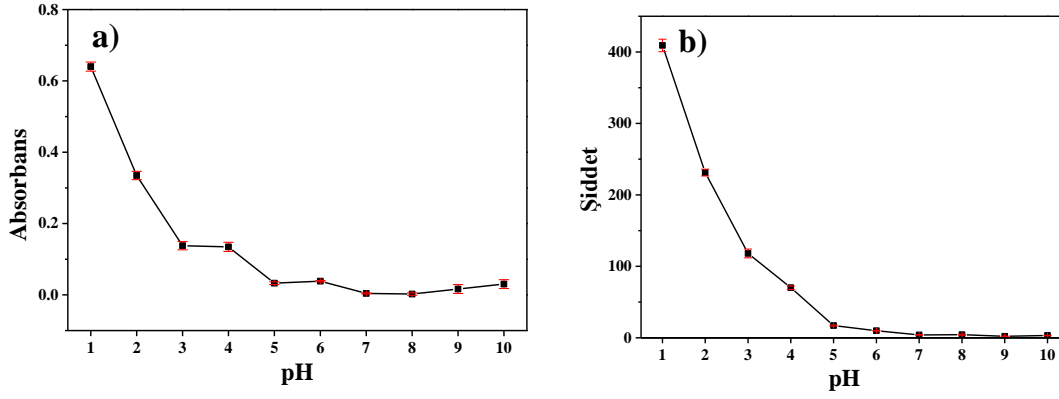
kompleks oluşturduğu belirlendi. UV-Gör ve floresan yöntemleri kullanılarak ligand ile  $Hg^{2+}$  arasındaki kompleksin özellikleri üzerine araştırmalar yapıldı.

### 3.4.1 Spektrofotometrik ölçüm yöntemleri

Çalışmada kullanılan tüm metal katyonlarının ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ve  $Hg^{2+}$ ) perklorat tuzlarının  $5 \times 10^{-3}$  M konsantrasyondaki stok çözeltileri, çift distile su kullanılarak hazırlandı.  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P stok çözeltisi, DMF kullanılarak hazırlandı. UV-Gör ve floresan spektrofotometrik çalışmaları, uygun miktarda ligand, DMF ve metal katyonları karıştırılarak 3 mL'lik kuvars küvette gerçekleştirildi. Elde edilen çözeltinin absorbansı ve floresans şiddeti ölçülerek kaydedildi. Ortalama bir sonuç elde edebilmek amacıyla, her çalışma  $24,5 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de en az üç kez tekrar edildi ve her bir çalışma bu sonuçların ortalaması esas alınarak, her bir grafiğe bu ortalamaya ait hata barları dahil edilerek raporlandı.

### 3.4.2 CS2P molekülünün farklı pH çözeltilerindeki davranışı

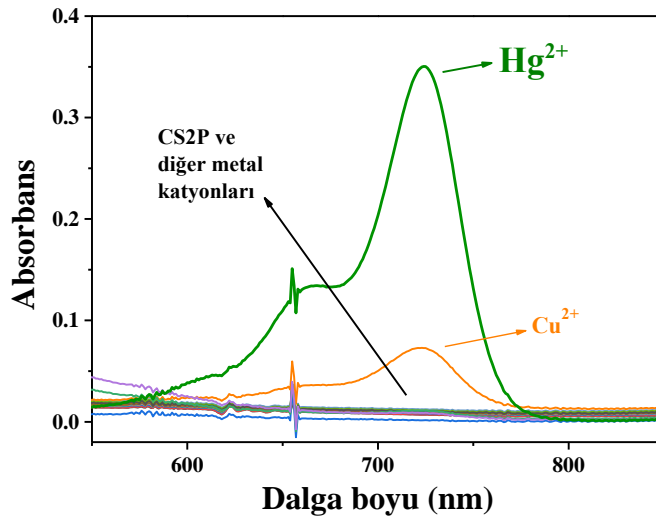
Katyon bağlanması deneylerine başlamadan önce CS2P bileşiğinin optimizasyon işlemleri yapıldı. Burada uygun çözücü sistemleri ve çözücü oranları belirlendi. Daha sonra belirlenen optimize koşullarda, farklı pH ortamlarında sahip olduğu absorbans ve floresan şiddetleri ölçüldü. Ligand bileşiğinin sadece pH 1, 2, 3 ve 4'de UV-Gör spektrumunda 723 nm'de yeni bir band oluşturduğu görüldü. CS2P bileşiğinin pH davranışını daha detaylı görebilmek amacıyla aynı işlem floresan sisteminde yapıldı. Bu yöntemle alınan sonuçlarda ise yalnızca pH 1, 2 ve 3'te, 750 nm'de floresan şiddetinde bir artışa sahip olduğu görüldü. Bu davranış spirolaktam halkasının açılıp kapanmasından kaynaklanmaktadır. Elde edilen bu spektrofotometrik veriler ışığında molekülde bulunan kuarterner karbonun protonlanarak spirolaktam halkasının açılmasından kaynaklanmaktadır. Başlangıçta kapalı olan spirolaktam halkası molekül üzerindeki konjugasyonda kesintiye sebep olmakta iken halka açılması sonucunda gerçekleşen konjugasyon artışı absorbans ve floresan şiddetlerinde artışa neden olmaktadır. pH 5, 6, 7, 8, 9 ve 10'da absorbans ve floresan şiddetinde herhangi bir artış alınamaması bu pH ortamlarında molekülün spirolaktam halkasının kapalı formda olduğunu gösterir (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4 :** a) Ligand CS2P'nin farklı pH ortamlarında 723 nm'de sahip olduğu absorbans değerleri (siyah noktalar) b) Ligand CS2P'nin farklı pH ortamlarında 750 nm'de sahip olduğu floresan şiddetleri (siyah noktalar). Uyarma dalga boyu: 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm / 10nm. Kırmızı çizgiler hata barlarını temsil etmektedir.

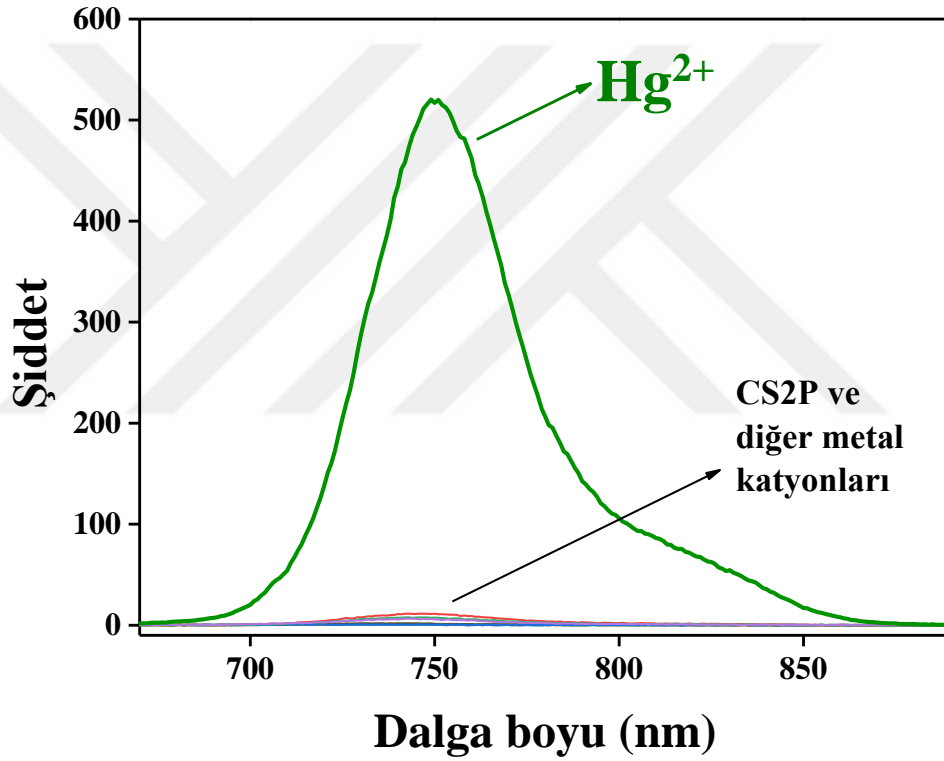
### 3.4.3 Metal bağlanma çalışması ve CS2P ligandının $Hg^{2+}$ seçiciliği

Metal bağlanma çalışmasının gerçekleştirileceği UV-Gör ve floresan küvetlerine DMF ile hazırlanan  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P çözeltisinden alındı. Ardından küvetlere  $5 \times 10^{-3}$  M metal katyonlarının ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ve  $Hg^{2+}$ ) saf su ile hazırlanmış çözeltilerinden ligand konsantrasyonunun 5 eşdeğer katı olacak şekilde 30  $\mu$ L eklendi. Çözeltilerin homojen şekilde karıştırılmasının ardından UV-Gör ve floresan spektrumları kaydedildi. Çeşitli metal katyonlarının eklenmesinin sonucunda CS2P ligandının UV-Gör spektrumu Şekil 3.5'de ve floresan spektrumu ise Şekil 3.6'da görülmektedir.



**Şekil 3.5 :** CS2P ligandının ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda UV-Gör spektrumu.

Şekil 3.6'da görüldüğü gibi, ligand CS2P'nin metal katyonları ilave edilmeden önce sahip olduğu UV-Gör spektrumunda spirolaktam halka açılmasına bağlı olarak herhangi bir belirgin band yer almaz iken eklenen metal katyonları arasında bakır(II) iyonu varlığında zayıf bir absorbans artışı oluşurken, yalnızca Hg<sup>2+</sup> iyonu ilavesinde 723 nm'de şiddetli bir absorbans artışı meydana gelmiştir. Bu dalga boyundaki absorbansın artışına, moleküle Hg<sup>2+</sup> iyonu bağlandıktan sonra halka açılmasının sağladığı konjugasyon artışı neden olmaktadır. UV-Gör çalışmasından elde edilen bu sonuç, ligand CS2P'nin katyonlar arasından yalnızca Hg<sup>2+</sup>'ye karşı bu sinyali oluşturduğu ve dolayısıyla Hg<sup>2+</sup> tayinini seçici bir şekilde başarıyla gerçekleştirecek özelliğe sahip olduğunu gösterdi.



Şekil 3.6 : CS2P ligandının ve 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda elde edilen floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu: 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm /10 nm.

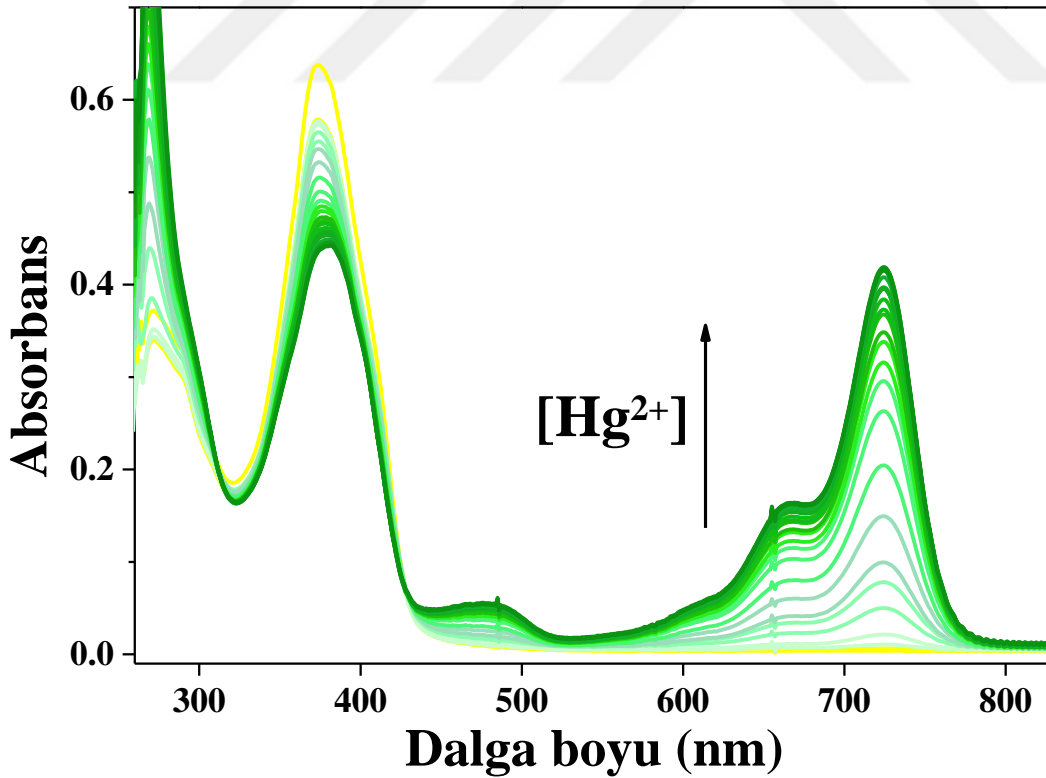
Ligand CS2P'nin kendi başına ölçülen floresan spektrumunda moleküldeki spirolaktam halkasının kapalı olması nedeniyle herhangi bir floresan sinyali görülmedi. CS2P ligandına metal katyonları eklendikten sonra spektral yanıtta herhangi bir değişim görünmez iken sadece Hg<sup>2+</sup> iyonu ilavesinde 750 nm'de floresan şiddetinde gözle görülür bir artış gerçekleşti. Bu dalga boyundaki floresan şiddetinin artışına, moleküle Hg<sup>2+</sup> iyonu bağlandıktan sonra spirolaktam halka açılmasının

sağladığı konjugasyon artışı neden olmaktadır. Floresan çalışmasından elde edilen bu sonuç, ligand CS2P'nin katyonlar arasından yalnızca  $Hg^{2+}$  iyonuna karşı bu sinyali oluşturduğu ve dolayısıyla  $Hg^{2+}$  tayinini seçici bir şekilde başarıyla gerçekleştirecek özelliğe sahip olduğunu gösterdi.

### 3.5 CS2P- $Hg^{2+}$ Bağlanması ve Spektrofotometrik ve Spektrofluorometrik Yöntemle Titrasyon Çalışmaları

#### 3.5.1 Spektrofotometrik titrasyon çalışması

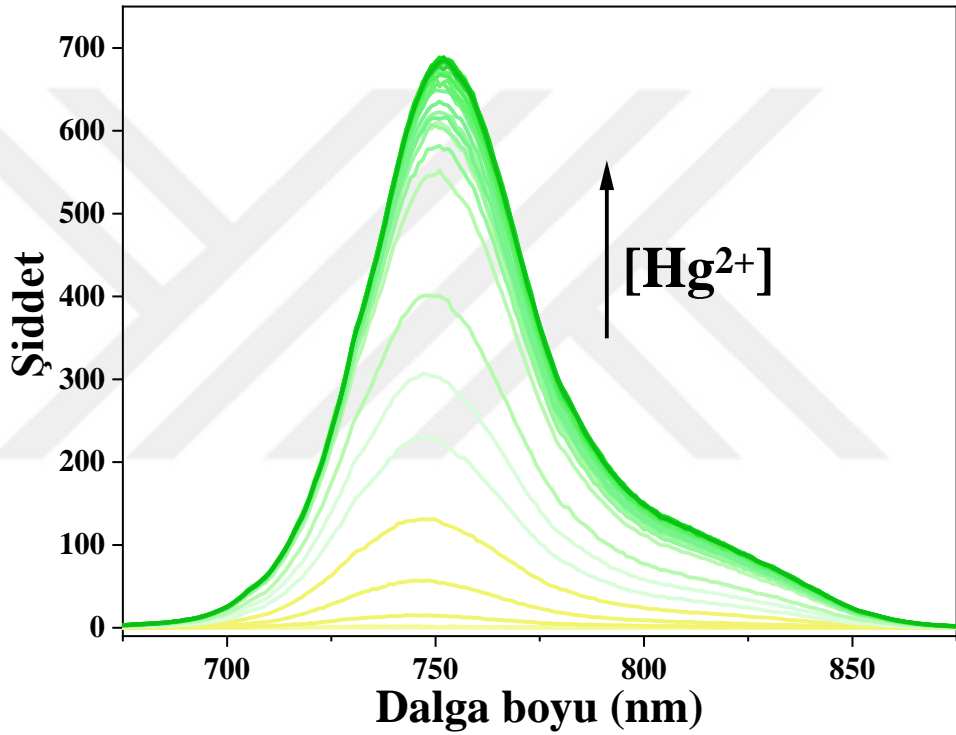
Spektrofotometrik yöntemle yapılan titrasyon çalışmasında öncelikle 3 mL'lik UV-Gör küvetine 300  $\mu$ L  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P çözeltisinden alındı ve üzerine 2670  $\mu$ L DMF eklenerek ligandın spektral yanıtı kaydedildi (Hazırlanan 3 mL'lik çözeltideki CS2P =  $1 \times 10^{-5}$  M). Çözeltiye  $5 \times 10^{-3}$  M  $Hg(ClO_4)_2$  çözeltisinden artan konsantrasyonlarda eklendi ve çözelti homojen şekilde karıştırıldı. Her bir eklemenin sonucunda çözeltinin UV-Gör spektrumu kaydedildi. Spektrofotometrik titrasyon çalışmasına ait UV-Gör spektrumu Şekil 3.7'de görülmektedir.



Şekil 3.7 : CS2P ligandının ( $1 \times 10^{-5}$  M) artan  $Hg^{2+}$  konsantrasyonlarıyla (5-350  $\mu$ M) yapılan spektrofotometrik titrasyonunun UV-Gör spektrumu.

### 3.5.2 Spektrofluorometrik titrasyon çalışması

Spektrofluorometrik yöntemle yapılan titrasyon çalışmasında öncelikle 3 mL'lik UV-Gör küvetine 300 µL  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P çözeltisinden alındı ve üzerine 2670 µL DMF eklenerek ligandın spektral yanıtı kaydedildi (Hazırlanan 3 mL'lik çözeltideki CS2P =  $1 \times 10^{-5}$  M). Çözeltiye  $5 \times 10^{-3}$  M Hg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> çözeltisinden artan konsantrasyonlarda eklendi ve çözelti homojen şekilde karıştırıldı. Elde edilen çözelti 650 nm dalga boyunda uyarıldı. Her bir eklemenin sonucunda çözeltinin floresan spektrumu kaydedildi. Spektrofluorometrik titrasyon çalışmasına ait floresan spektrumu Şekil 3.8'de görülmektedir.



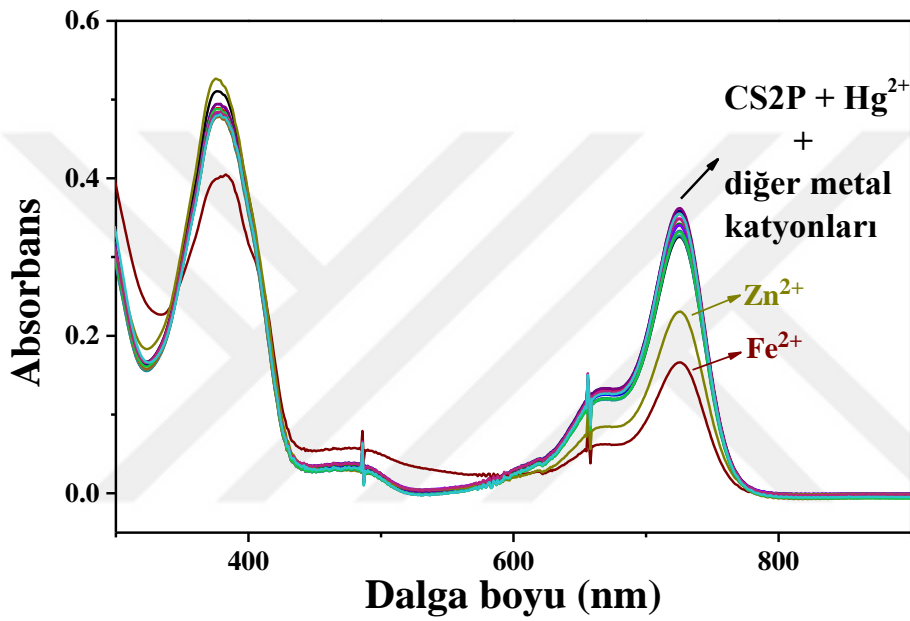
Şekil 3.8 : CS2P ligandının ( $1 \times 10^{-5}$  M) artan Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonlarıyla (5-165 µM) yapılan spektrofluorometrik titrasyon çalışmasının floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu = 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm / 10 nm.

### 3.6 CS2P Molekülü İle Hg<sup>2+</sup> Tayininin Diğer Metal Katyonları Tarafından Girişimi Çalışması

#### 3.6.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması

Çözelti ortamında bulunan diğer metal katyonlarının Hg<sup>2+</sup> tayinini engelleyip engellemediğini göstermek amacıyla spektrofotometrik yol ile bir girişim çalışması yapılmıştır. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Cs<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>,

$\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  metal iyonlarını içeren DMF ortamındaki CS2P çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu ilave edildi ve her bir çözeltinin UV-Gör spektrumu kaydedildi. Şekil 3.9’da görüldüğü gibi, çözelti ortamında diğer metal katyonları bulunduğu halde moleküldeki halka açılmasından kaynaklı olarak oluşan 723 nm’de bant varlığını korumuştur. Bu durum, sentezlenen sensör molekülünün diğer metal katyonları tarafından herhangi bir girişime uğramadan  $\text{Hg}^{2+}$  tayini gerçekleştirebildiğini göstermektedir. Metal iyonları arasından yalnızca  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$  iyonlarının bulunduğu çözeltinin absorbansında düşüş olmasına rağmen sensör bu çözeltilerde de  $\text{Hg}^{2+}$  tayinini gerçekleştirebilmektedir.

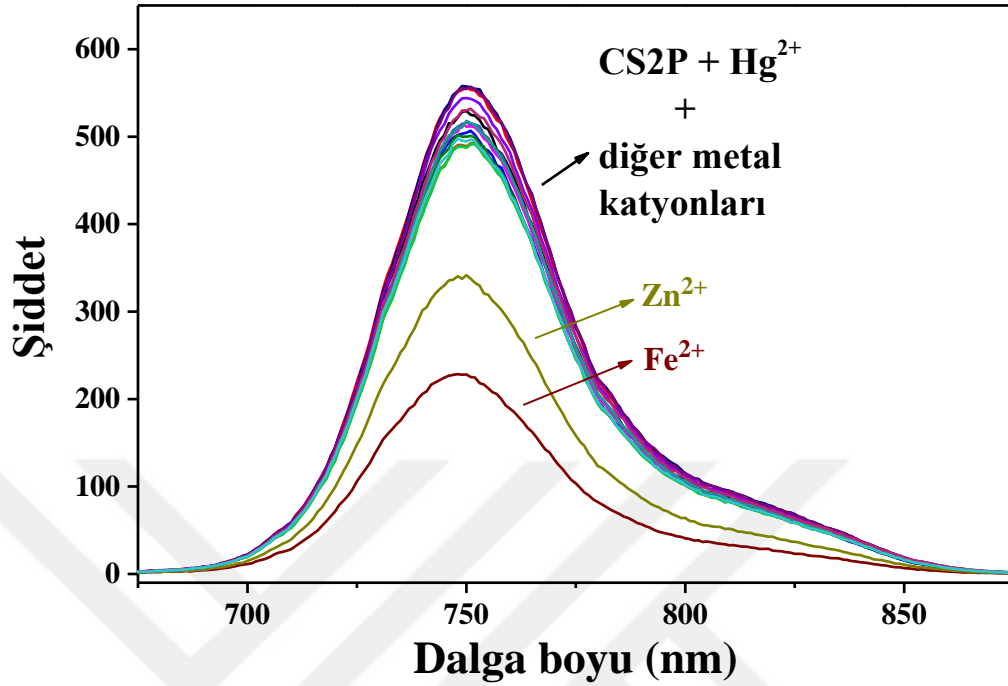


**Şekil 3.9 :** Ligand CS2P’nin ( $1 \times 10^{-5}$  M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  eklenmesi sonucunda sahip olduğu UV-Gör spektral davranışı.

### 3.6.2 Spektroflorometrik yöntemle girişim çalışması

Çözelti ortamında bulunan diğer metal katyonlarının  $\text{Hg}^{2+}$  tayinini engelleyip engellemediğini göstermek amacıyla spektroflorometrik yöntemle bir girişim çalışması yapılmıştır.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  metal iyonlarını içeren DMF ortamındaki CS2P çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu ilave edildi ve her bir çözeltinin floresan spektrumu kaydedildi. Şekil 3.10’da görüldüğü gibi, çözelti ortamında diğer metal katyonları bulunduğu halde molekülde halka açılmasından kaynaklı olarak 750 nm’de oluşan floresan şiddetindeki artış varlığını korumuştur. Bu durum, sentezlenen sensör molekülünün diğer metal katyonları tarafından herhangi bir girişime uğramadan  $\text{Hg}^{2+}$  tayini gerçekleştirebildiğini göstermektedir. Metal iyonları arasından yalnızca  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$

iyonlarının bulunduğu çözeltinin floresan şiddetinde azalma olmasına rağmen sensör bu çözeltilerde de  $Hg^{2+}$  tayinini gerçekleştirebilmektedir.



**Şekil 3.10 :** Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$  M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine  $Hg^{2+}$  eklenmesi sonucunda sahip olduğu floresan spektral davranışı. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm / 10 nm.

### 3.7 CS2P Ligandının $Hg^{2+}$ için Tespit Limitinin (LOD) ve $K_a$ Bağlanma Sabitinin Hesaplanması

CS2P ligandının  $Hg^{2+}$  iyonu için sahip olduğu tespit limiti denklem 3.1'de yer alan formül kullanılarak hesaplanmıştır.

Tespit limitinin belirlenmesinde kullanılan formül, tespit limiti (LOD) =  $3 \times \sigma_{blank} / k$ ; formülde  $\sigma_{blank}$ , metal içermeyen ligand çözeltisinin (blank) sinyallerinin 20 ölçümüne ait standart sapmayı temsil ederken, k eğim ise titrasyon çalışmasından elde edilen kalibrasyon eğrisinin sahip olduğu eğimi simgelemektedir.

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

Ligand CS2P ve  $Hg^{2+}$  arasındaki kompleksleşmenin bağlanma sabiti ( $K_a$ ) hesaplanırken denklem 3.2'de gösterilen Benesi-Hildebrand denkleminde yararlanılmıştır.

$$1/(A-A_0) = 1/(A_{max}-A_0) K_a C_{Hg^{2+}} + 1/(A_{max}-A_0) \quad (3.2)$$

Denklem 3.2'ye göre;

$A_0 = \text{Hg}^{2+}$  eklenmeden önce ligandın 723 nm'deki absorbansını,

$A =$  Liganda eklenen  $\text{Hg}^{2+}$  konsantrasyonlarının sonucunda 723 nm'de görülen absorbansını,

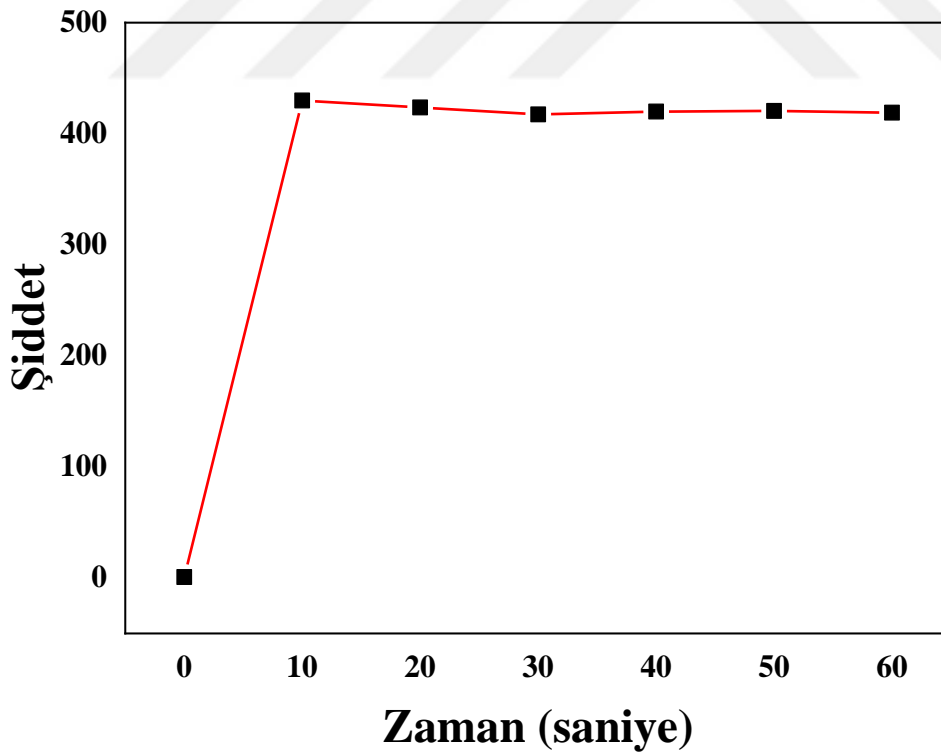
$C_{\text{Hg}^{2+}} =$  Çözelti içindeki  $\text{Hg}^{2+}$  konsantrasyonunu (mol/L),

$K_a =$  Bağlanma sabitini simgelemektedir.

Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak bağlanma sabiti  $K_a$ 'nın hesaplanmasında UV-Gör titrasyonunun sonuçlarından yararlanılmıştır.

### 3.8 CS2P Sensörünün $\text{Hg}^{2+}$ Tespiti için Gereken Tepki Süresinin Belirlenmesi

Ligand CS2P'nin ortamdaki  $\text{Hg}^{2+}$  iyonlarını tespit edebilmesi için gereken tepki süresi, spektrofotometrik ve spektrofluorometrik yöntemle belirlenmiştir.  $1 \times 10^{-5}$  M CS2P çözeltisine 5 eşdeğer kat  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu eklenerek çözelti homojen bir şekilde karıştırıldı. Ardından floresan ve UV-Gör spektrumları zamana bağlı olarak kaydedildi. Zaman içerisinde çözeltinin sahip olduğu floresan spektrumu Şekil 3.11'de görülmektedir.



**Şekil 3.11** : Ligand CS2P ( $1 \times 10^{-5}$  M) çözeltisine 5 eşdeğer kat  $\text{Hg}^{2+}$  eklenmesi sonucunda zamana bağlı oluşan floresan şiddetlerinin noktasal grafiği. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm / 10 nm.

#### 4. SONUÇ VE YORUMLAR

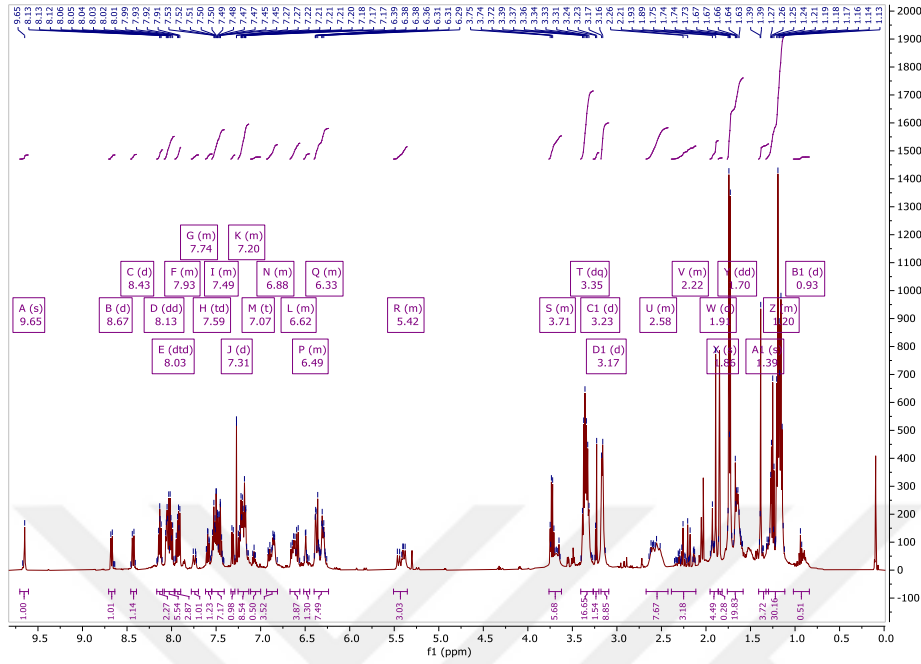
Bu tez çalışmasında, florometrik ve kolorimetrik olarak  $Hg^{2+}$  tespiti gerçekleştirebilen rodamin siyanin tabanlı yeni bir ligand sentezlenerek sensör özellikleri incelenmiştir. Geliştirilen sensörün  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ve  $Hg^{2+}$  gibi metal katyonları içinden sadece  $Hg^{2+}$  iyonu varlığında spektral davranışında ciddi bir değişim gözlemlenmiştir.

Daha önce de bahsedildiği gibi cıvanın canlıların sağlığına tüm bu zararları dolayısıyla hızlı ve doğru tespiti çok önemlidir. Bu çalışmada geliştirilen sensör platformu cıva için seçici ve hassas bir tespit imkanı sunabilmektedir. Tasarlanan CS2P bileşiğinin karakterizasyonu NMR, FT-IR, MALDI-TOF MS ve X-Işını Kırınımı (Sensör molekülü) yöntemiyle yapılmıştır. Spektrofotometrik ve spektrofluorometrik  $Hg^{2+}$  titrasyonu çalışmaları ile çok düşük tespit limitlerine ulaşılmıştır. UV-Gör ve floresan titrasyon ölçümleri için sırasıyla  $2,09 \times 10^{-8}$  M ve  $1,27 \times 10^{-8}$  M olarak bulunmuştur. Sensörün tepki süresini ölçmek amacıyla yapılan florometrik çalışmalar sonucunda 10 saniye gibi çok kısa bir süre içinde etkili bir tespit imkanı sunduğu görülmüştür. CS2P ve  $Hg^{2+}$  arasındaki bağlanma oranının 1:1 (ligand:metal) olduğu Job's yöntemi ile kanıtlanmıştır. Ayrıca, bağlanma sabiti ( $K_a$ ) Benesi-Hildebrand yöntemi kullanılarak güçlü bağlanmayı destekleyen bir değer olarak  $1,39 \times 10^4$  M<sup>-1</sup> bulunmuştur. Buna ek olarak, sensörün pratik uygulaması olarak içme suyunda, kirletme yöntemiyle  $Hg^{2+}$  tespiti başarıyla gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada kolorimetrik ve florometrik yolla  $Hg^{2+}$  analizini hızlı ve seçici olarak gerçekleştirmeyi başarabilen bir sensör platformu tasarlanmış ve geliştirilmiş olup sensör özellikleri detaylıca incelenmiştir.

##### 4.1 CS2P molekülünün sentezi

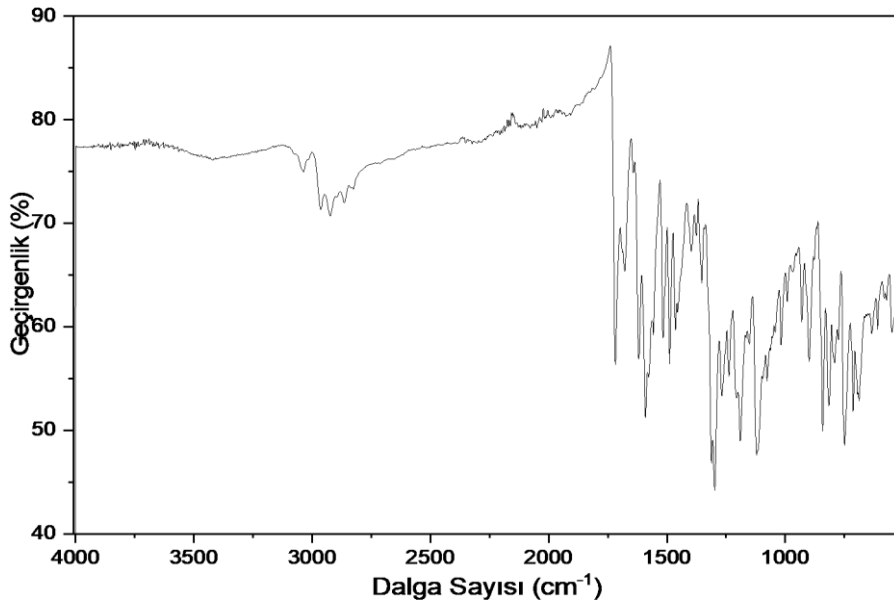
CS2P molekülü, CS2H ile pirenkarboksaldehit moleküllerinin EtOH çözücü ortamında, 3 gün boyunca oda sıcaklığındaki reaksiyonundan %30 verimle elde edilmiştir. Daha sonra gerekli saflaştırma işlemleri yapılarak, saf madde üzerinden

karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.1’de CS2P molekülüne ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu yer almaktadır.



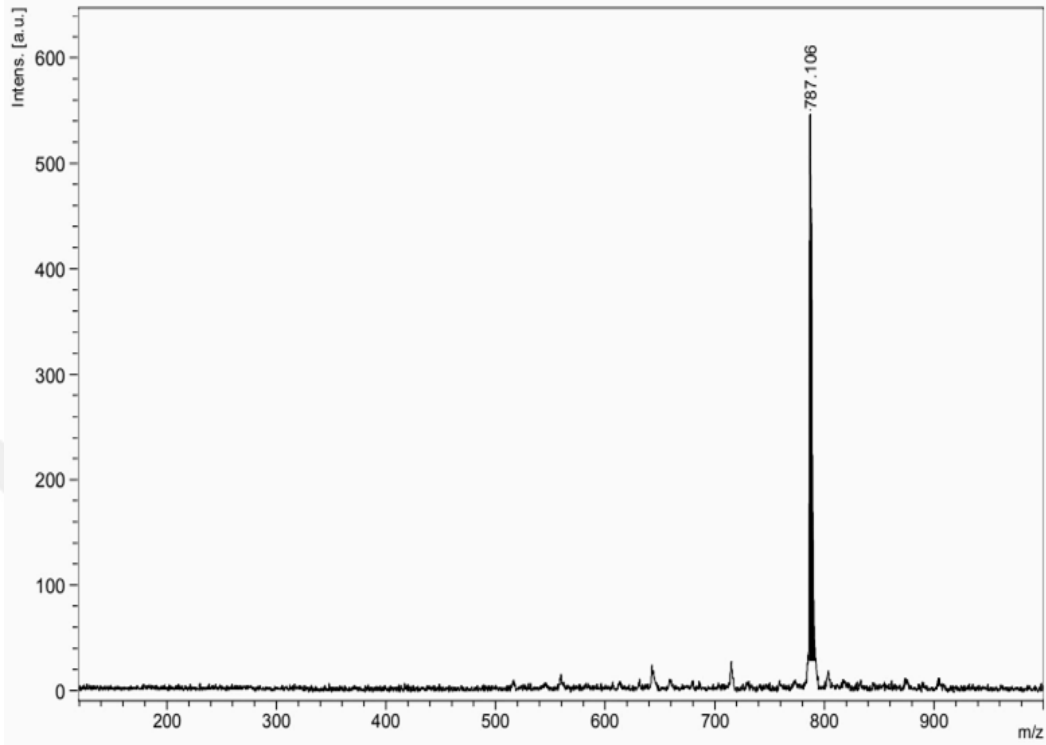
Şekil 4.1 : CS2P bileşiğinin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu (d-kloroform).

CS2P sensörünün  $^1\text{H}$ -NMR ile karakterizasyonu yapılmıştır. Spektrumda yer alan piklerin kimyasal kayma ve integrasyon değerleri yapı ile uyumlu bulunmuştur. CS2P bileşiğinin bir başka karakterizasyon aşamasında FT-IR spektroskopi yöntemi uygulanmıştır. Şekil 4.2’de görüldüğü gibi moleküldeki fonksiyonel grupların karakteristik bantları, CS2P molekülü ile uyumlu olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2 : CS2P molekülüne ait FT-IR spektrumu.

CS2P molekülü için yapılan bir diğer karakterizasyon çalışması MALDI-TOF kütle spektroskopisi kullanılmıştır. Bileşiğe ait  $[M+3H]^+$  değeri 787,11 m/z olarak spektrumda gözlemlenmektedir (Hesaplanan değer: 784,38 m/z) (Şekil 4.3).

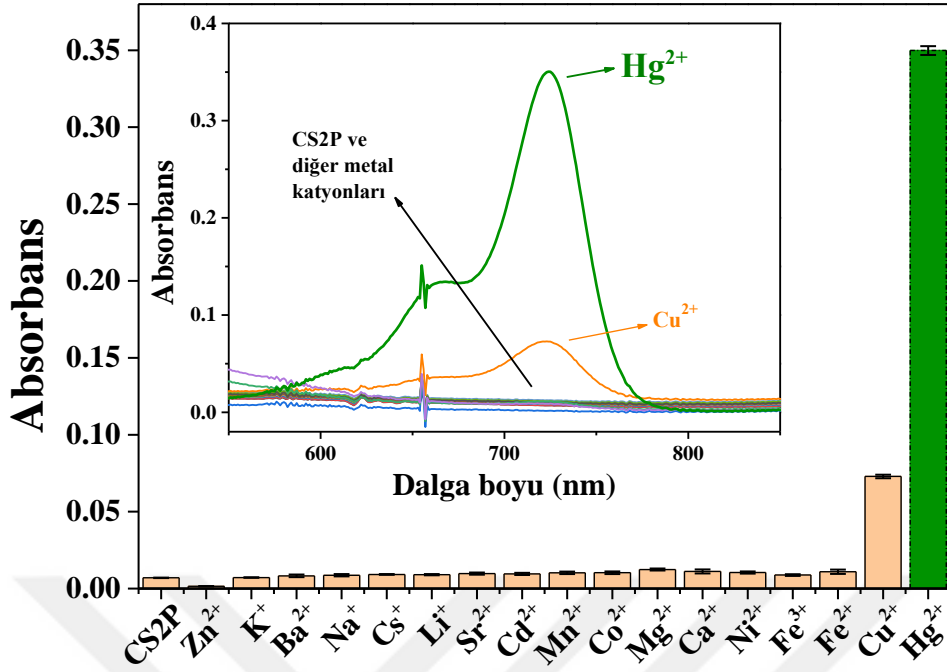


Şekil 4.3 : CS2P molekülünün MALDI-TOF kütle spektrumu.

## 4.2 CS2P Molekülünün Titrasyon Yöntemleri ile Katyon Bağlanma Çalışmaları

### 4.2.1 Spektrofotometrik yöntemle katyon bağlanması çalışması

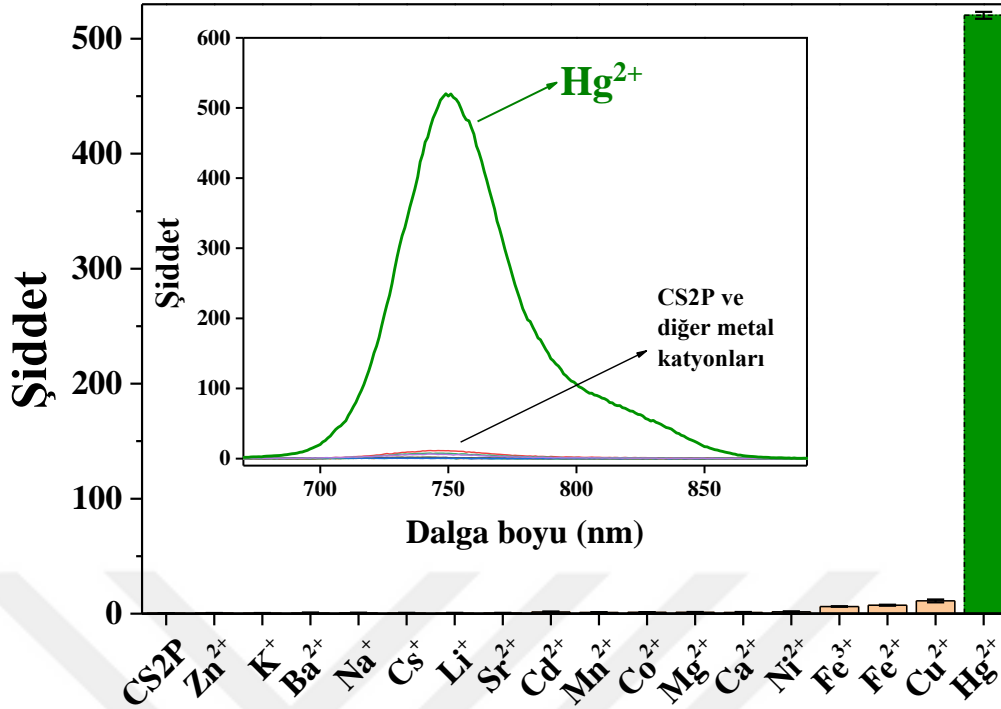
Bu çalışma, CS2P bileşiğinin DMF ile çözeltisi hazırlanılarak yapılmıştır. Hazırlanan çözeltiye, ligandın 5 eşdeğer miktarı olacak şekilde metal iyonlarının ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ve  $Hg^{2+}$ ) sulu çözeltilerinden, daha önce hazırlanmış olan  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P çözeltisine eklendi. Çözeltilerin homojen şekilde karıştırılmasının ardından UV-Gör spektrumları kaydedildi. Eklemelerin ardından CS2P molekülünün metal içermeyen çözeltisinin ve diğer metal iyonlarının ilave edildiği çözeltilerin UV-Gör spektrumlarında ciddi bir değişiklik görülmezken  $Hg^{2+}$  iyonu ilave edilen çözeltinin 723 nm'de, yakın kızıl ötesi bölgesinde güçlü bir absorbans artışına sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.4). Bu absorbans artışının sebebi moleküldeki spiroolaktam halkasının açılmasıyla oluşan konjügasyonun molekülün tamamına yayılmasından kaynaklanmaktadır.



**Şekil 4.4 :** DMF çözücüsü içerisinde CS2P sensör bileşiğinin 5 eşdeğer metal katyonu ilave edilmesi sonucunda UV-Gör spektrumu. Bar grafikleri 723 nm'deki absorbans değerlerine aittir.

#### 4.2.2 Spektroflorometrik yöntemle katyon bağlanma çalışması

Bu çalışma, CS2P bileşiğinin DMF ile çözeltisi hazırlanılarak yapılmıştır. Hazırlanan çözeltiye, ligandın 5 eşdeğer miktarı olacak şekilde metal iyonlarının ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ve  $\text{Hg}^{2+}$ ) sulu çözeltilerinden, daha önce hazırlanmış olan  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P çözeltisine eklendi. Çözeltilerin homojen şekilde karıştırılmasının ardından, 650 nm dalga boyunda uyarıldı. Bu uyarılma işlemi sonrasında her bir çözeltinin floresan spektrumları elde edildi. Elde edilen spektrumlarda görüldüğü üzere, CS2P molekülünün metal içermeyen çözeltisinin ve diğer metal iyonlarının ilave edildiği çözeltilerin floresan spektrumlarında ciddi bir değişiklik görülmezken  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu ilave edilen çözeltinin 750 nm'de yani yakın kızıl ötesi bölgesinde çok güçlü bir floresan şiddeti olduğu görüldü (Şekil 4.5). Bu floresan şiddetine ek olarak cıva(II) eklenen çözeltide gözle görünür bir renk değişimi (açık sarıdan yeşile) oldu. UV-Görünür bölge tekniğinde de elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar floresan teknolojisiyle de kanıtlanmış oldu. Böylelikle maddenin denenen diğer metaller arasından sadece cıva(II) iyonuna seçici olduğu ispatlandı.



**Şekil 4.5 :** DMF çözücüsü içerisinde CS2P sensör bileşiğinin 5 eşdeğer metal kationu ilave edilmesi sonucunda UV-Gör spektrumu. Bar grafikleri 750 nm'deki absorbans değerlerine aittir. Uyarma dalga boyu:650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları:5 nm / 10nm.

#### 4.2.3 CS2P molekülüne Hg<sup>2+</sup> bağlanmasının çözelti rengine etkisi

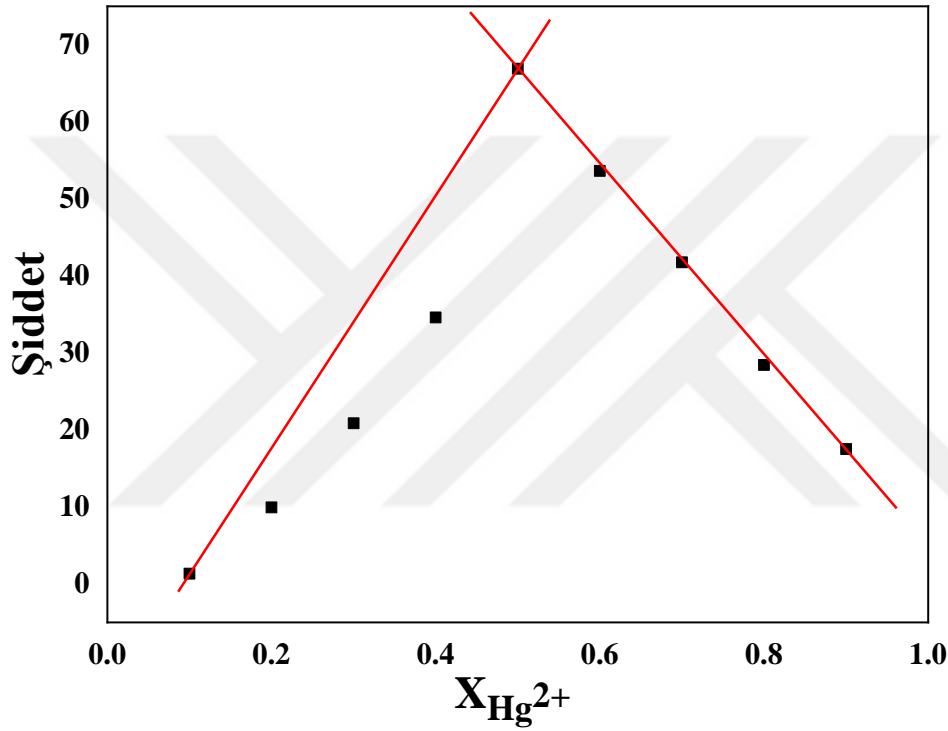
Şekil 4.6'da CS2P sensörünün, görünür ışık altındaki rengi ve metal iyonları eklenildikten sonra oluşan renkler görülmektedir. Şekilden de görüldüğü üzere, çözelti başlangıçta renksiz iken sadece Hg<sup>2+</sup> eklenildikten sonra derin bir yeşil renge bürünmüştür. Diğer metal iyonları ile böyle bir etkileşime girmemiştir. Renk değişiminin yalnızca Hg<sup>2+</sup> iyonuna özel olması, CS2P molekülünün çıplak gözle Hg<sup>2+</sup> iyonu için kolorimetrik bir sensör olduğunu gözler önüne sermiştir.



**Şekil 4.6 :** CS2P molekülünün DMF çözeltisine 5 kat metal iyonları eklenmesi sonucu çözeltilerin sahip olduğu renkler.

#### 4.2.4 Hg<sup>2+</sup> seçiciliği ve CS2P molekülü ile tepki mekanizması

Hg<sup>2+</sup> ve CS2P ligandı arasındaki reaksiyon mekanizmasını ve buradaki bağlanma oranını incelemek adına Job's yöntemi yapılmıştır. Job's yönteminde metal iyonunun mol fraksiyonu 0,0 – 1,0 aralığında değiştirilerek farklı CS2P-Hg<sup>2+</sup> çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin floresans şiddetleri ölçüldüğünde, maksimum şiddetin Hg<sup>2+</sup> iyonunun 0,5 molar fraksiyonu ile oluştuğu görülmüştür. Bu bilgiler ışığında CS2P bileşiği ile Hg<sup>2+</sup> iyonu arasındaki koordinasyon oranının 1:1 olduğunu söyleyebiliriz. (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 : DMF çözeltilisinde CS2P – Hg<sup>2+</sup> iyonlarının Job's grafiği.

#### 4.2.5 CS2P ve Hg<sup>2+</sup> iyonları etkileşiminin spektrofotometrik titrasyon çalışması

UV-Gör titrasyonunun yapılacağı küvete 300 µL 1 × 10<sup>-4</sup> M CS2P çözeltisinden alındı ve üzerine 2670 µL DMF eklenerek ligandın spektral yanıtı kaydedildi. Çözeltiye 5 × 10<sup>-3</sup> M Hg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> çözeltisinden artan konsantrasyonlarda eklendi ve çözelti homojen şekilde karıştırıldı. Her bir eklemenin sonucunda çözeltinin UV-Gör spektrumu kaydedildi. Spektrofotometrik titrasyon çalışmasına ait 723 nm'deki absorbans değerlerine ait sonuçlar Şekil 4.8'de görülmektedir.

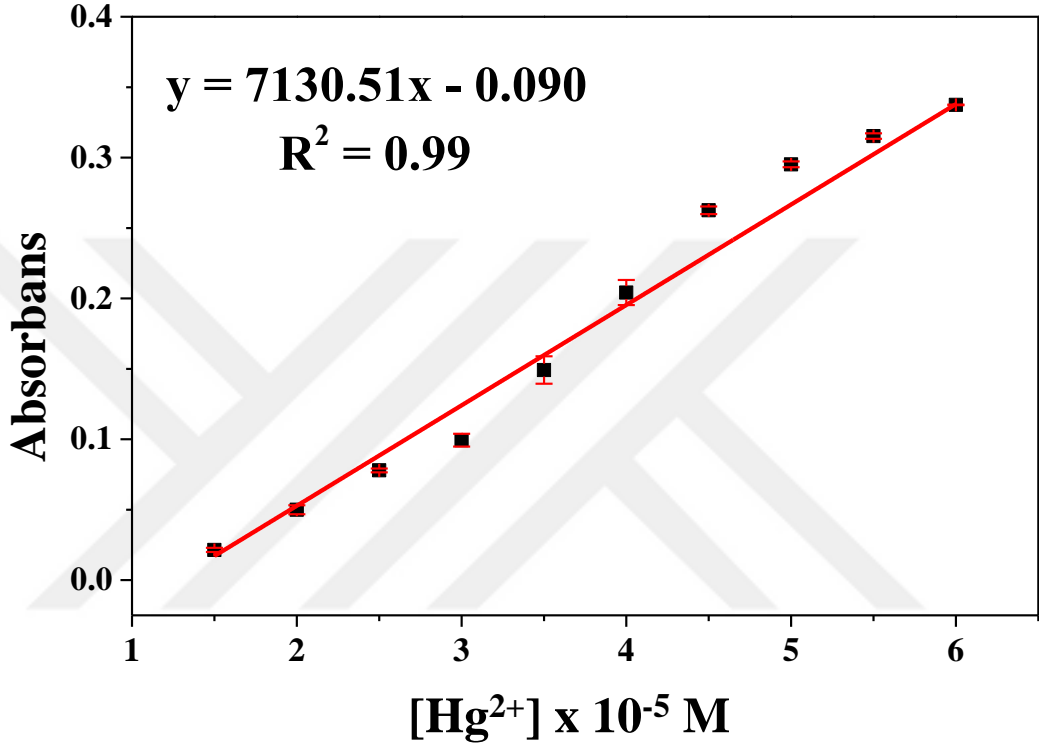
Çözelti içinde bulunan Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonunun 1,5 - 6,0 × 10<sup>-5</sup> M olduğu çözeltilerden alınan sonuçlarda absorbans ile konsantrasyon arasında oldukça iyi bir

lineer ilişki olduğu görülmüştür. Spektrofotometrik titrasyon sonucunda belirlenen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve  $R^2$  değeri aşağıda sırasıyla belirtilmiştir:

$$A = 7130,51c - 0,090 \quad (4.1)$$

$$R^2 = 0,99$$

Denklemden yer alan A, absorbansı; c: çözeltideki  $Hg^{2+}$  konsantrasyonunu simgelemektedir.



**Şekil 4.8 :** CS2P sensör bileşiğinin DMF çözücüsünde  $Hg^{2+}$  ile titrasyonu sonucunda elde edilen UV-Gör noktasal verileri (Noktasal veriler 723 nm’de alınmıştır).

#### 4.2.6 CS2P ve $Hg^{2+}$ iyonları etkileşiminin spektrofotometrik titrasyon çalışması

Fluorometrik titrasyonun yapılacağı kuvete 300  $\mu$ L  $1 \times 10^{-4}$  M CS2P çözeltisinden alındı ve üzerine 2670  $\mu$ L DMF eklenerek ligandın spektral yanıtı kaydedildi. Çözeltiye  $5 \times 10^{-3}$  M  $Hg(ClO_4)_2$  çözeltisinden artan konsantrasyonlarda eklendi ve çözelti homojen şekilde karıştırıldı. Her bir eklemenin sonucunda çözelti 650 nm dalga boyunda uyarılarak floresan spektrumu kaydedildi. Spektrofotometrik titrasyon çalışmasına ait 750 nm’deki floresan şiddetlerine ait sonuçlar Şekil 4.9’da görülmektedir.

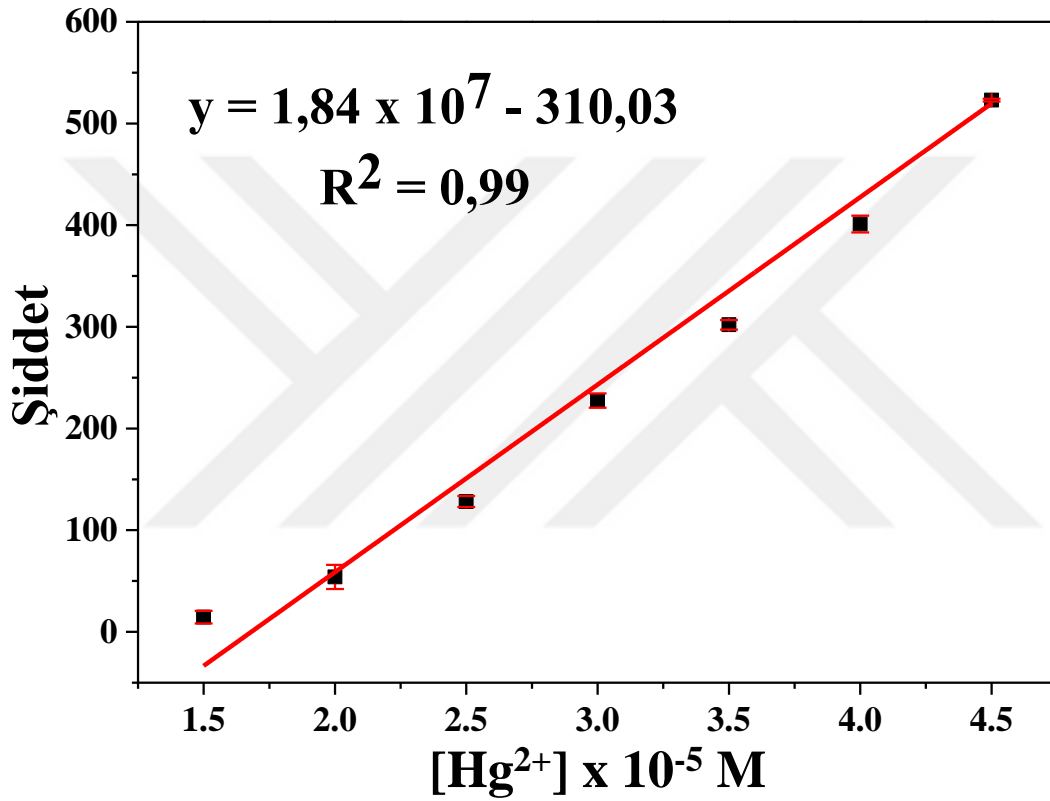
Çözelti içinde bulunan  $Hg^{2+}$  konsantrasyonunun  $1,5 - 4,5 \times 10^{-5}$  M olduğu çözeltilerden alınan sonuçlarda floresan şiddeti ile konsantrasyon arasında oldukça iyi

bir linear ilişki olduğu görülmüştür. Spektroflorometrik titrasyon sonucunda belirlenen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve  $R^2$  değeri aşağıda sırasıyla belirtilmiştir:

$$I = 1,84 \times 10^7 c - 310,03 \quad (4.2)$$

$$R^2 = 0,99$$

Denklemden yer alan I, floresan şiddetini; c: çözeltideki  $Hg^{2+}$  konsantrasyonunu simgelemektedir.



**Şekil 4.9 :** CS2P ligandının ( $1 \times 10^{-5}$  M) artan  $Hg^{2+}$  konsantrasyonlarıyla (5-165  $\mu$ M) yapılan spektroflorometrik titrasyon çalışmasının floresan spektrumu. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5nm /10 nm.

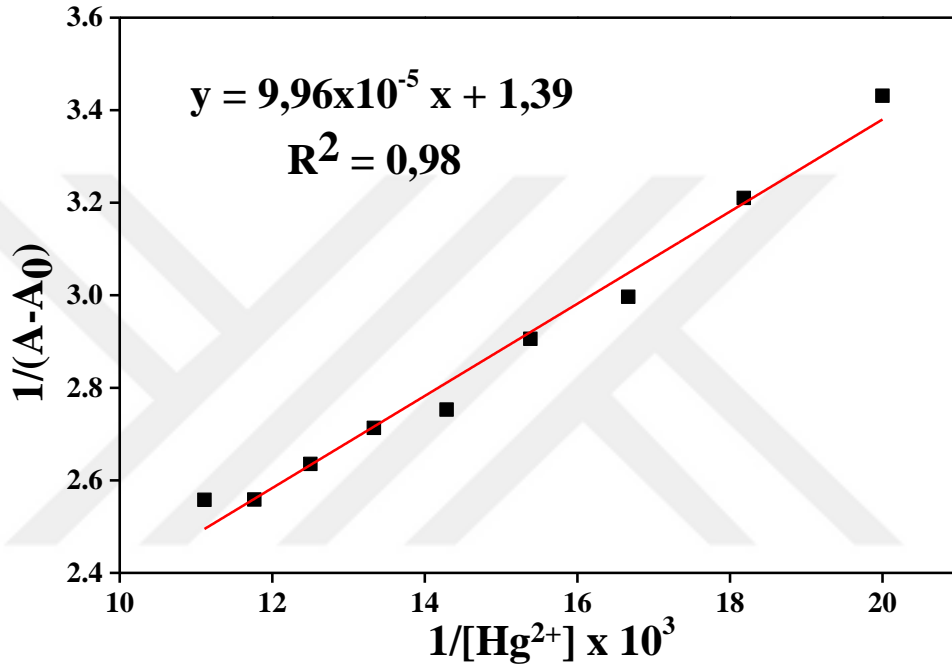
#### 4.2.7 Tespit Limiti ve $K_a$ Bağlanma Sabitinin Belirlenmesi

CS2P'nin  $Hg^{2+}$  iyonlarına karşı sahip olduğu tespit limitini belirtmek için daha önce denklem 3.1'de gösterilmiş olan tespit limiti =  $3 \sigma / k$  formülüyle hesaplanarak UV-Gör ve floresan titrasyon ölçümleri için sırasıyla  $2,09 \times 10^{-8}$  M ve  $1,27 \times 10^{-8}$  M olarak bulunmuştur. Şekil 4.8 ve 4.9'da UV-Gör ve floresan titrasyonlarına ait lineer aralıklar göstermektedir. UV-Gör yöntemi ile yapılan  $Hg^{2+}$  titrasyonundan elde edilen eğrinin denklemi  $A = 7130,51c - 0,090$  ve  $R^2$  değeri 0,99 olarak bulunmuştur. Floresan

yöntemi ile yapılan  $\text{Hg}^{2+}$  iyonları titrasyonundan elde edilen eğrinin denkleminin verileri ise  $I = 1,84 \times 10^7 c - 310,03$  ve  $R^2$  değeri 0,99'dır.

CS2P bileşiğinin  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu ile oluşturduğu kompleksin sahip olduğu bağlanma sabiti ( $K_a$ ) Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 4.10). UV-Gör titrasyonunun 723 nm dalga boyuna karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak  $K_a$  bağlanma sabiti  $1,39 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

$$1/(A-A_0) = 1/(A_{\max}-A_0) K_a [\text{Hg}^{2+}] + 1/(A_{\max}-A_0)$$



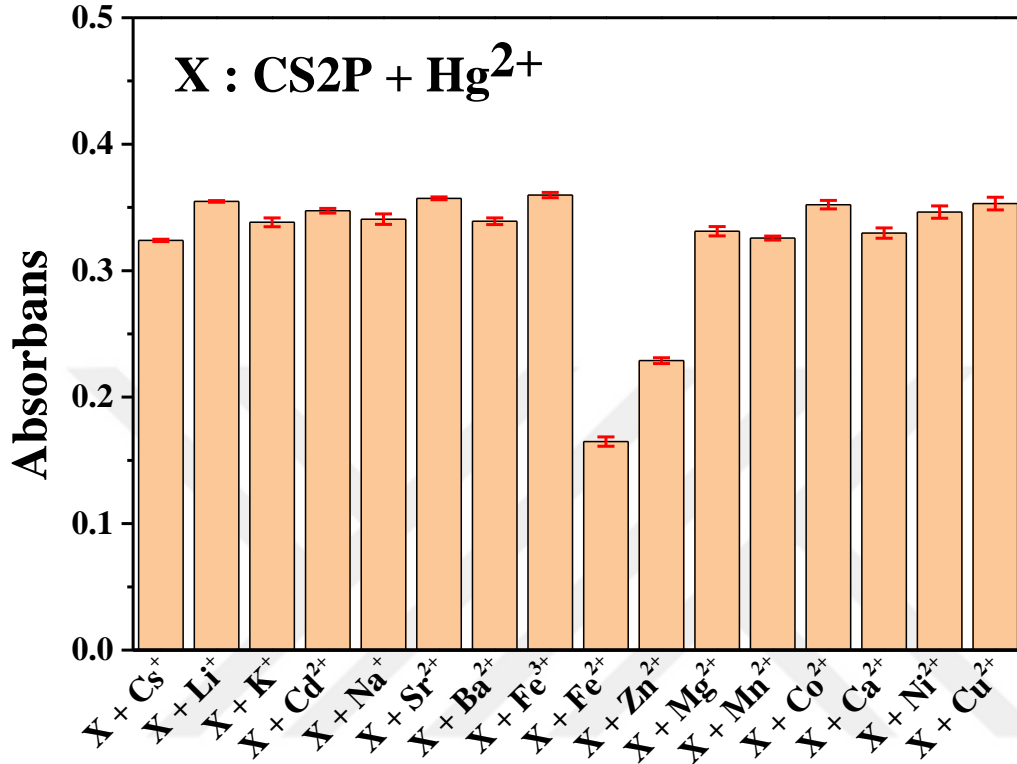
Şekil 4.10 :  $K_a$  Bağlanma Sabitinin Benesi-Hildebrand eşitliği kullanılarak hesaplanması.

#### 4.2.8 CS2P molekülü ile $\text{Hg}^{2+}$ tespitinde diğer metal iyonları nedeniyle oluşan girişiminin incelenmesi

##### 4.2.8.1 Spektrofotometrik yöntemle girişim çalışması

Çözelti ortamında bulunan diğer metal katyonlarının  $\text{Hg}^{2+}$  tayinini engelleyip engellemediğini göstermek amacıyla spektrofotometrik yol ile bir girişim çalışması yapılmıştır.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  metal iyonlarını içeren DMF ortamındaki CS2P çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu ilave edildi ve her bir çözeltinin UV-Gör spektrumu kaydedildi. Şekil 4.11'de görüldüğü gibi, çözelti ortamında diğer metal katyonları bulunduğu halde moleküldeki halka açılmasından kaynaklı olarak oluşan 723 nm'de band varlığını korumuştur. Bu

durum, sentezlenen sensör molekülünün diğer metal kationları tarafından herhangi bir girişime uğramadan  $\text{Hg}^{2+}$  tayini gerçekleştirebildiğini göstermektedir. Metal iyonları arasından yalnızca  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$  iyonlarının bulunduğu çözeltinin absorbansında düşüş olmasına rağmen sensör bu çözeltilerde de  $\text{Hg}^{2+}$  tayinini gerçekleştirebilmektedir.

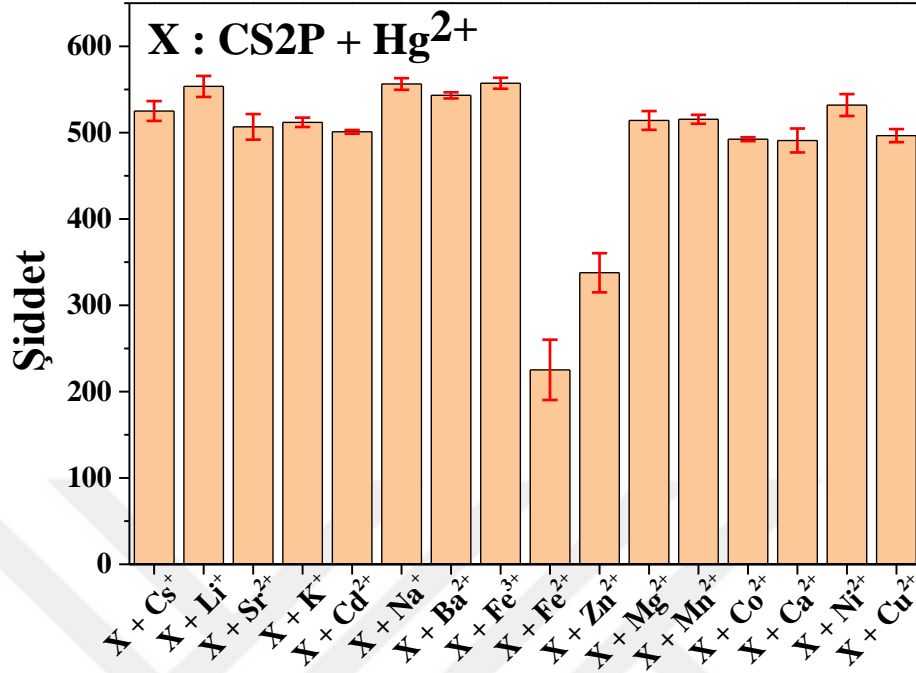


Şekil 4.11 : Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$  M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  eklenmesi sonucunda sahip olduğu 723 nm dalga boyundaki maksimum absorbans değerlerine ait UV-Gör bar grafiği.

#### 4.2.8.2 Spektroflorometrik yöntemle girişim çalışması

Çözelti ortamında bulunan diğer metal kationlarının  $\text{Hg}^{2+}$  tayinini engelleyip engellemediğini göstermek amacıyla spektroflorometrik yöntemle bir girişim çalışması yapılmıştır.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  metal iyonlarını içeren DMF ortamındaki CS2P çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  iyonu ilave edildi ve her bir çözeltinin floresan spektrumu kaydedildi. Şekil 4.12'de görüldüğü gibi, çözelti ortamında diğer metal kationları bulunduğu halde molekülde halka açılmasından kaynaklı olarak 750 nm'de oluşan floresan şiddetindeki artış varlığını korumuştur. Bu durum, sentezlenen sensör molekülünün diğer metal kationları tarafından herhangi bir girişime uğramadan  $\text{Hg}^{2+}$  tayini gerçekleştirebildiğini göstermektedir. Metal iyonları arasından yalnızca  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$

iyonlarının bulunduğu çözeltinin floresan şiddetinde azalma olmasına rağmen sensör bu çözeltilerde de  $\text{Hg}^{2+}$  tayinini gerçekleştirebilmektedir.



**Şekil 4.12 :** Ligand CS2P'nin ( $1 \times 10^{-5}$  M) diğer metal iyonlarını içeren çözeltisine  $\text{Hg}^{2+}$  eklenmesi sonucunda sahip olduğu 750 nm dalga boyundaki maksimum floresan şiddetlerinin bar grafiği. Uyarma dalga boyu= 650 nm. Uyarma/emisyon slit aralıkları: 5 nm / 10 nm.

### 4.3 CS2P Sensör Platformunun Gerçek Örnek Çalışması

#### 4.3.1 İçme suyunda $\text{Hg}^{2+}$ analizi

CS2P molekülünün çalışma koşullarında  $\text{Hg}^{2+}$  iyonuna seçici ve hassas bir şekilde tespit edebildiği anlaşıldıktan sonra, içme suyu örneklerinde gerçek örnek çalışması yapılmıştır.

Öncelikle hiçbir işlem uygulanmamış içme suyu analiz edildiğinde UV-Gör ve floresan spektrumlarında herhangi bir cevap alınamadı. Bunun sebebi, analiz edilen su örneklerinin içinde bulunan  $\text{Hg}^{2+}$  miktarının sensörün tespit edebileceği miktardan çok daha az olmasıdır. Bu nedenle kirlenme yöntemi ile içme suyu örnekleri  $\text{Hg}^{2+}$  ile kirlendi. Bu aşamada uygulanan adımlar sırasıyla şu şekildedir: Sensörün çalıştığı lineer aralıktan 0,20; 0,30 ve 0,40  $\mu\text{M}$  olmak üzere 3 farklı konsantrasyon seçildi. Daha sonra bu konsantrasyonları sağlayacak şekilde içme suyu örneği  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$  çözeltisi

ile kirletildi. Titrasyon çalışmalarında yapıldığı gibi, ancak bu sefer kirletilmiş su örneklerinden ekleme yapılarak floresan ve UV-Gör spektrumları verileri kaydedildi.

İçme suyu örneği için yapılan gerçek örnek çalışmalarının sonuçları şu şekildedir: Alınan UV-Gör ve floresan yanıtlarına karşılık gelen değerler, denklem 4.1 ve 4.2’de y değerlerinin yerine yazılarak, bu denklemlerden  $Hg^{2+}$  konsantrasyonu hesaplandı. İlgili sonuçlar Çizelge 4.1’de detaylıca paylaşılmıştır. Elde edilen sonuçlar, sensörün içme suyunda  $Hg^{2+}$  analizi için etkili bir pratik uygulamaya elverişli olduğunu göstermiştir.

**Çizelge 4.1 :** CS2P molekülünün içme suyundaki  $Hg^{2+}$  iyonlarının tespit çalışması.

Örnek	Eklene (µM)	Bulunan (Floresan) (µM)	Geri Kazanım ± RSD (% , n=3)	Bulunan (UV-Gör) (µM)	Geri Kazanım ± RSD (% , n=3)
İçme Suyu Örneği 1	0,20	0,21	106,07 ± 2,78	0,17	82,63 ± 0,02
İçme Suyu Örneği 2	0,30	0,27	88,85 ± 4,47	0,26	86,41 ± 0,01
İçme Suyu Örneği 3	0,40	0,33	82,50 ± 5,79	0,32	80,58 ± 0,01

#### 4.4 Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında florometrik ve kolorimetrik yöntemle  $Hg^{2+}$  iyonuna seçici ve hassas bir sensör platformu geliştirilerek, sensör özellikleri incelenmiştir. Sensörün  $Hg^{2+}$  iyonunu tespit limiti UV-Gör ve floresan titrasyon ölçümleri için sırasıyla  $2,09 \times 10^{-8}$  M ve  $1,27 \times 10^{-8}$  M olarak tespit edilmiştir. CS2P bileşiğinin  $Hg^{2+}$  iyonlarının varlığına verdiği tepki süresi 10 saniye kadar çok kısa bir süre olarak ölçülmüştür. Gerçek örnek çalışmalarını görebilmek adına kullanılan içme suyu örneğinde  $Hg^{2+}$  iyonlarını başarıyla tespit edebildiği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, pratik uygulama açısından başarılı bir sensör olduğunu kanıtlamıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] **Tchounwou, P. B., Ayensu, W. K., Ninashvili, N., & Sutton, D.** (2003). Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environmental Toxicology*, 18, 149–175.
- [2] **Faller, C., Stojko, N. Y., Henze, G., & Brainina, K. Z.** (1999). Stripping voltammetric determination of mercury at modified solid electrodes: Determination of mercury traces using PDC/Au(III) modified electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 396, 195–202.
- [3] **Costley, C. T., Mossop, K. F., Dean, J. R., Garden, L. M., Marshall, J., & Carroll, J.** (2000). Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. *Analytica Chimica Acta*, 405, 179–183.
- [4] **Wang, M., Feng, W., Shi, J., Zhang, F., Wang, B., Zhu, M., Li, B., Zhao, Y., & Chai, Z.** (2007). Development of a mild mercaptoethanol extraction method for determination of mercury species in biological samples by HPLC-ICP-MS. *Talanta*, 71, 2034–2039.
- [5] **Yavuz, O., Alcay, Y., Kaya, K., Sezen, M., Kirlangic Atasen, S., Yildirim, M. S., Ozkilog, Y., Tuzun, N. Ş., & Yilmaz, I.** (2019). Superior Sensor for Be 2+ Ion Recognition via the Unprecedented Octahedral Crystal Structure of a One-Dimensional Coordination Polymer of Crown Fused Zinc Phthalocyanine. *Inorganic Chemistry*, 58, 909–923.
- [6] **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.
- [7] **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.
- [8] **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.
- [9] **Yuan, L., Lin, W., Zheng, K., He, L., & Huang, W.** (2013). Far-red to near infrared analyte-responsive fluorescent probes based on organic fluorophore platforms for fluorescence imaging. *Chem. Soc. Rev.*, 42, 622–661.
- [10] **Guo, Z., Park, S., Yoon, J., & Shin, I.** (2014). Recent progress in the development of near-infrared fluorescent probes for bioimaging applications. *Chem. Soc. Rev.*, 43, 16–29.

- [11] **Zhang, M., Zheng, S., Liu, X., Long, Y., & Yang, B.** (2016). A series of novel NIR fluorescent dyes: Synthesis, theoretical calculations and fluorescence imaging applications in living cells. *Dyes and Pigments*, 125, 220–228.
- [12] **Valeur, B. & Berberan-Santos, M. N.** (2011). A brief history of fluorescence and phosphorescence before the emergence of quantum theory. *Journal of Chemical Education*, 88, 731–738.
- [13] **Stokes, G. G.** (1852) On the change of refrangibility of light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 142, 463–562.
- [14] **Jabłoński, A.** (1933). Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes. *Nature 1933 131:3319*, 131, 839–840.
- [15] **Goppelsröder, F.** (1868). Ueber eine fluorescirende Substanz aus dem Kubaholze (Fortsetzung) und über Fluorescenzanalyse. *Journal Für Praktische Chemie*, 104, 10–27.
- [16] **Demchenko, A. P.** (2015). *Introduction to Fluorescence Sensing*. Cham: Springer International Publishing.
- [17] **Duke, R. M., Veale, E. B., Pfeffer, F. M., Kruger, P. E., & Gunlaugsson, T.** (2010). Colorimetric and fluorescent anion sensors: an overview of recent developments in the use of 1,8-naphthalimide-based chemosensors. *Chemical Society Reviews*, 39, 3936.
- [18] **Dumbare, S., Doshi, A., & Ravindran, S.** (2021). Rhodamine B and Rhodamine 6G Based Sensing of Copper Ions in Environmental and Biological Samples: Recent Progress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30, 3445–3455.
- [19] **Andersen, C. M. & Mortensen, G.** (2008). Fluorescence spectroscopy: A rapid tool for analyzing dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 720–729.
- [20] **Xie, J. Y., Li, C. Y., Li, Y. F., Fu, Y. J., Nie, S. X., & Tan, H. Y.** (2017). A near-infrared chemosensor for determination of trivalent aluminum ions in living cells and tissues. *Dyes and Pigments*, 136, 817–824.
- [21] **Zhang, S., Chen, T. H., Lee, H. M., Bi, J., Ghosh, A., Fang, M., Qian, Z., Xie, F., Ainsley, J., Christov, C., Luo, F. T., Zhao, F., & Liu, H.** (2017). Luminescent probes for sensitive detection of pH changes in live cells through two near-infrared luminescence channels. *ACS Sensors*, 2, 924–931.
- [22] **ŞAHİN, Ö., ŞAHİN, M., KOÇAK, N., & YILMAZ, M.** (2013). A new anthracene derivative of calix[4]arene as a fluorescent chemosensor. *TURKISH JOURNAL OF CHEMISTRY*, 37, 832–839.
- [23] **Karaoglu, K.** (2020). A new chromenyl-cyanine chemosensor for switch-ON near-infrared copper (II) sensing. *Journal of Molecular Structure*, 1205, 127640.
- [24] **Noelting, E. & Dziewoński, K.** (1905). Zur Kenntniss der Rhodamine. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 38, 3516–3527.
- [25] **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.

- [26] **Chen, X., Pradhan, T., Wang, F., Kim, J. S., & Yoon, J.** (2012). Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives. *Chemical Reviews*, 112, 1910–1956.
- [27] **Mojzych, M. & Maged Henary,** (2008). Synthesis of Cyanine Dyes. *Heterocyclic Polymethine Dyes*, 14, 1–9.
- [28] **Fernández-Suárez, M. & Ting, A. Y.** (2008). Fluorescent probes for super-resolution imaging in living cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2008 9:12, 9, 929–943.
- [29] **Armitage, B. A.** (2005). Cyanine Dye–DNA Interactions: Intercalation, Groove Binding, and Aggregation. *Topics in Current Chemistry*, 253, 55–76.
- [30] **Gorka, A. P., Nani, R. R., & Schnermann, M. J.** (2015). Organic & Biomolecular Chemistry Cyanine polyene reactivity: scope and biomedical applications. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13, 7584.
- [31] **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.
- [32] **Wei, Y., Cheng, D., Ren, T., Li, Y., Zeng, Z., & Yuan, L.** (2016). Design of NIR Chromenylium-Cyanine Fluorophore Library for “Switch-ON” and Ratiometric Detection of Bio-Active Species In Vivo. *Analytical Chemistry*, 88, 1842–1849.
- [33] **Karaoglu, K., Kaya, K., & Yilmaz, I.** (2020). New Chromenylium–cyanine based dual channel chemosensors for copper and hypochlorite sensing. *Dyes and Pigments*, 180, 108445.
- [34] **Yang, L., Ho, N. Y., Müller, F., & Strähle, U.** (2010). Methyl Mercury Suppresses the Formation of the Tail Primordium in Developing Zebrafish Embryos. *Toxicological Sciences*, 115, 379–390.
- [35] **Rani, B. K. & John, S. A.** (2018). Fluorogenic mercury ion sensor based on pyrene-amino mercapto thiadiazole unit. *Journal of Hazardous Materials*, 343, 98–106.
- [36] **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.
- [37] **Li, Y., Ma, Z., Li, A., Xu, W., Wang, Y., Jiang, H., Wang, K., Zhao, Y., & Jia, X.** (2017). A Single Crystal with Multiple Functions of Optical Waveguide, Aggregation-Induced Emission, and Mechanochromism. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9, 8910–8918.
- [38] **Sahana, A., Banerjee, A., Lohar, S., Banik, A., Mukhopadhyay, S. K., Safin, D. A., Babashkina, M. G., Bolte, M., Garcia, Y., & Das, D.** (2013). FRET based tri-color emissive rhodamine–pyrene conjugate as an Al<sup>3+</sup>

selective colorimetric and fluorescence sensor for living cell imaging.  
*Dalton Transactions*, 42, 13311.

- [39] **Zhou, Y., Wang, F., Kim, Y., Kim, S.-J., & Yoon, J.** (2009). Cu<sup>2+</sup>-Selective Ratiometric and “Off-On” Sensor Based on the Rhodamine Derivative Bearing Pyrene Group. *Organic Letters*, 11, 4442–4445.



## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Utku Ertuğral

### EĞİTİM

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

### İŞ TECRÜBESİ

- **Paşabahçe Şişecam – İnce Film Laboratuvarı Stajyeri**
- **Abdi İbrahim – Kalite Kontrol Laboratuvarı Stajyeri**